



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

201810
(11) (B1)

(51) Int. Cl.³
C 12 P 37/00

(22) Přihlášeno 27 09 78
(21) (PV 6252-78)

(40) Zveřejněno 31 03 80

(45) Vydáno 15 02 83

(75)
Autor vynálezu

CHROMÍK JINDŘICH ing., PRAHA, MATELOVÁ VLASTA RNDr. CSc.,
ROZTOKY U PRAHY, ČULÍK KAREL RNDr., PRAHA, BUČKO MICHAL
ing. CSc., MIKLÁŠ EMIL ing., BANSKÁ BYSTRICA, SEVERA ZDENĚK
ing., PRAHA, OKÁNIK BORIS ing. a VARGA VLADIMÍR ing., BAN-
SKÁ BYSTRICA

(54) Způsob výroby penicilinů

Vynález se týká způsobu výroby penicilinů kultivací produkčního mikroorganismu *Penicillium chrysogenum* v tekuté živné půdě obsahující zdroje asimilovatelného uhlíku a dusíku, minerální živné soli a prekursorů, za submerzních podmínek.

Zdroj asimilovatelného uhlíku lze považovat za jeden z hlavních faktorů, které ovlivňují výtěžnost fermentačního procesu při biosyntetické výrobě penicilinů. Na jeho druhu, dostupnosti a ceně závisí do značné míry ekonomika výroby.

Charakterem zdroje uhlíku, jeho asimilovatelnosti, použitým množstvím a způsobem dodání do fermentační půdy lze regulovat fermentační proces, popřípadě limitovat růst biomasy. Použije-li se například pro biosyntézu penicilinu pomalu asimilovatelný sacharid, jako je laktóza, může být jeho celé množství, potřebné pro biosyntézu, obsaženo v živné půdě již od počátku fermentace a jeho využití je plynule pomalé. Jinak je tomu u rychle asimilovatelných zdrojů uhlíku, jako je například sacharóza, glukóza, melasa, ethanol apod. Tyto zdroje je třeba přidávat do fermentační půdy v průběhu fermentace, a to v takovém množství a takovou rychlostí, aby bylo dosaženo optimálního růstu a maximální produkce.

Při velkovýrobě penicilinů se jako zdroje

uhlíku používá zpravidla sacharózy nebo laktózy. Obě tyto suroviny jsou však v čistém stavu dostupné v omezeném množství, laktóza je potom cenově ještě méně výhodná. Proto byly hledány jiné suroviny jako zdroje asimilovatelného uhlíku, použitelné při velkovýrobě penicilinů, především takové, které vznikají jako vedlejší nebo odpadní produkty při různých výrobcích, a které jsou cenově výhodné a navíc dostupné v dostatečném množství.

Bylo nalezeno několik takových vhodných zdrojů asimilovatelného uhlíku, jejichž příznivé vlastnosti umožnily, aby na základě získaných poznatků a dobrých výsledků byl nově vypracován způsob výroby penicilinů kultivací produkčního mikroorganismu *Penicillium chrysogenum* v tekuté živné půdě obsahující zdroje asimilovatelného uhlíku a dusíku, minerální živné soli a prekursorů, za submerzních podmínek, přičemž při použití pomalu asimilovatelného zdroje je tento zdroj obsažen v živné půdě od začátku fermentace a při použití rychle asimilovatelného zdroje se tento zdroj v potřebném množství přidává do živné půdy ve více dávkách v průběhu fermentace, podle vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, že se jako úplného nebo alespoň částečného zdroje asimilovatelného uhlíku a/nebo dusíku používá jednotlivě nebo v směsi technických, surových nebo odpad-

ních produktů s obsahem sacharózy nebo laktózy nebo jejich štěpných produktů.

Z takových zdrojů asimilovatelného uhlíku lze jmenovat například surový řepný nebo třtinový cukr, těžkou cukrovarskou šťávu, fruktózový sirup nebo technickou laktózu. Jako zdroje asimilovatelného uhlíku a částečně i dusíku jsou použitelné například sušená sladká syrovátka, řepná nebo třtinová melasa atd.

Kontrolní fermentace prokázaly, že kterýkoli ze zmíněných zdrojů je dobře použitelný jako náhrada za čistou sacharózu nebo laktózu, bez změny zásadního rázu, které by měly podstatný vliv na dosavadní technologii. Náhradní suroviny za čistou sacharózu a laktózu se přidávají stejně, tj. technická laktóza a sušená sladká syrovátka jsou obsaženy v celém potřebném množství 6 až 15 % hmot. v živné půdě již na počátku fermentace, ostatní suroviny se přidávají do živné půdy v průběhu fermentace semikontinuálně v celkovém množství 10 až 15 % hmot., vztaženo na výchozí objem fermentační půdy.

Výtěžkově se fermentace realizované s náhradními zdroji asimilovatelného uhlíku způsobem podle vynálezu v podstatě shodují s dosavadní technologií, tj. s technologií, při které zdrojem uhlíku je čistá sacharóza, cenově jsou však podstatně výhodnější.

Bližší podrobnosti vyplývají z příkladu provedení, které způsob podle vynálezu pouze ilustrují, ale nijak neomezuji.

Příklad 1

Fermentace v laboratorním měřítku byla provedena kultivací produkčního mikroorganismu ve varných baňkách obsahu 500 ml, plněných 40 ml fermentační půdy, na rotačním třepacím stroji. Půda obsahovala jako zdroj dusíku sójovou mouku, jako zdroj síry thiosíran sodný, prekurzor pro biosyntézu penicilinu G nebo V a jako pufr uhličitan vápenatý a fosfát nebo jen uhličitan vápenatý. pH fermentační půdy po předchozí úpravě louhem sodným bylo po sterilizaci mezi 7,5 až 8,0. Inokulace kmenem *Penicillium chrysogenum* byla uskutečněna 10% vegetativního inokula, připraveného v inokulační půdě obsahující jako zdroj dusíku kukuřičný extrakt nebo sójovou mouku; zdrojem uhlíku byla sacharóza nebo třtinový cukr. Půda obsahovala dále minerální živné sole. pH po sterilizaci bylo kolem 6,5. Teplota při kultivaci byla 25 °C, doba fermentace 10 dnů. Zdrojem uhlíku byla technická laktóza, která byla přidána do půdy v množství 12 % hmot. před sterili-

zaci. Objem biomasy zaujímal v době maximální produkce 40 % fermentační půdy. Výtěžky odpovídaly výtěžkům dosaženým s čistou laktózou. Maxima produkce bylo dosaženo v 8. až 9. dnu fermentace.

Příklad 2

Laboratorní fermentace s produkčním mikroorganismem *Penicillium chrysogenum* byla vedena stejně jako v příkladu 1 s tím rozdílem, že místo technické laktózy byla zdrojem uhlíku (a částečně i dusíku) sušená sladká syrovátka v množství 14 % hmot. Maxima produkce bylo dosaženo v 9. dnu fermentace. Objem biomasy zaujímal v době maximální produkce asi 50 % fermentační půdy, dosažené produkce odpovídaly 80 až 100 % produkce dosažené s čistou laktózou.

Příklad 3

Laboratorní fermentace s produkčním mikroorganismem *Penicillium chrysogenum* byla vedena obdobně jako v příkladu 1 s určitými rozdíly. Doba fermentace byla 11 dnů. Zdrojem uhlíku byl surový třtinový cukr, který byl na začátku fermentace přidán do půdy v množství 0,75 % hmot. V průběhu fermentace byl dávkován ve formě 50 %-ního roztoku takto:

	Hodiny fermentace				
	24	48	72	96	192
dávka cukru v % hmot.	1,25	2,5	3,75	3,75	2,5

Celkové množství spotřebovaného surového třtinového cukru bylo 14,5 % hmot.

Objem biomasy v době maximální produkce zaujímal 45 % fermentační půdy, maxima produkce bylo dosaženo v 11. dnu fermentace. Produkce byla shodná s postupem, ve kterém byla přidávána sacharóza.

Příklad 4

Laboratorní fermentace s produkčním mikroorganismem *Penicillium chrysogenum* byla vedena v podstatě stejně jako v příkladu 1 s tím rozdílem, že zdrojem uhlíku byl fruktózový sirup. Objem biomasy v době maximální produkce zaujímal 50 % fermentační půdy, maxima produkce bylo dosaženo v 10. dnu fermentace, produkce odpovídala 80 až 100 % produkce při kontrolním postupu s čistou sacharózou.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob výroby penicilinů kultivací produkčního mikroorganismu *Penicillium chrysogenum* v tekuté živné půdě obsahující zdroje asimilovatelného uhlíku a dusíku, minerální živné soli a prekurzory, za submerzních podmínek, přičemž při použití pomalu asimilovatelného zdroje je tento

zdroj obsažen v živné půdě od začátku fermentace a při použití rychle asimilovatelného zdroje se tento zdroj v potřebném množství přidává do živné půdy ve více dávkách v průběhu fermentace, vyznačující se jako úplného nebo alespoň částečného zdroje asimilovatelného uhlíku a/nebo du-

síku používá jednotlivě nebo ve směsi technických, surových nebo odpadních produktů s obsahem sacharózy nebo laktózy nebo jejich štěpných produktů.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se jako zdroje asimilovatelného uhlíku používá surového řepného nebo třinového cukru.
3. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se jako zdroje asimilovatelného uhlíku používá těžké cukrovarské šťávy.
4. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že

se jako zdroje asimilovatelného uhlíku používá fruktózového sirupu.

5. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se jako zdroje asimilovatelného uhlíku používá technické laktózy.
6. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se jako zdroje asimilovatelného uhlíku a částečně i dusíku používá sušené sladké syrováty.
7. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se jako zdroje asimilovatelného uhlíku a částečně i dusíku používá řepné nebo třtinové melasy.