

ČESKOSLOVENSKÁ
SOCIALISTICKÁ
REPUBLIKA
(19)



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

248901

(11)

(B1)

(51) Int. Cl.⁴

C 12 P 1/06

/22/ Přihlášeno 13 11 74
/21/ PV 7728-74

(45) Vydáno 15 01 88

(75)
Autor vynálezu

ČÍŽEK STANISLAV ing., CECHNER VÁCLAV ing., ROZTOKY u Prahy,
PROCHÁZKA VLADIMÍR ing., PRAHA

(54) Způsob výroby fungicidinu

Vynález se týká způsobu výroby fungicidinu kultivací mikroorganismu *Streptomyces noursei* v tekuté živné půdě, obsahující zdroje asimilovatelného uhlíku a dusíku a minerální živné soli, za aerobních podmínek. Jako zdroje dusíku byly použity sušené kvasnice, popř. extrakt z nich a/nebo sojové mouky a/nebo kukuričného škrobu a/nebo arašidové mouky a/nebo pšeničného šrotu a/nebo sladového šrotu v množství 0,2 až 2,0 % hmot. objemových.

Vynález se týká způsobu výroby fungicidinu kultivací mikroorganismu *Streptomyces noursei* v tekuté živné půdě obsahující zdroje asimilovatelného uhlíku a dusíku a minerální živné soli, za aerobních podmínek.

Při dosavadním způsobu výroby uvedeného antibiotika se používá jako složek živné půdy v různých fázích přípravy kultur produkčního kmene *Streptomyces noursei*, například prosa, aminokyselin, jako tyrosinu, nikotinové kyseliny, asparaginu, glutamové kyseliny, L-cysteinu /k přípravě spor pro očkování/, kukuřičného extraktu, uhličitanu vápenatého nebo mikromletého vápence, glukózy, dusičnanu amonného a chloridu sodného /k přípravě vegetativního inokula/.

Pro přípravu vlastní produkční půdy se používá obvykle kukuřičného extraktu jako zdroje organického dusíku a růstových faktorů, jako živné soli, uhličitanu vápenatého nebo mikromletého vápence, jako zdroje anorganického dusíku amonných solí a jako zdroje uhlíku glukózy, fruktosového sirupu, popř. škrobu. Na živných půdách tohoto složení se dosahuje určité výše výtěžků, která se podle podmínek pohybuje v rozmezí 25 000 až 30 000 mj/ml fungicidinu.

Bylo zjištěno, že výtěžky fungicidinu při fermentaci na půdách obvyklého složení lze zvýšit o 30 až 60 % opatřením, které je předmětem tohoto vynálezu a jehož podstata spočívá v tom, že se jako zdroje asimilovatelného dusíku organického původu používá úplně nebo částečně sušených kvasnic a/nebo extraktu z kvasnic a/nebo sojové mouky a/nebo kukuřičného šrotu a/nebo arašidové mouky a/nebo pšeničného šrotu a/nebo sladového šrotu, v množství 0,2 až 2,0 % hmotnostně objemových.

Sušenými kvasnicemi lze s výhodou nahradit směs aminokyselin, používanou dosud při přípravě sporového inokula, v půdě pro přípravu vegetativního inokula lze jmenovanou složkou nahradit kukuřičný extrakt a v produkční nesuspensní půdě lze nahradit kukuřičný extrakt, využívaný dosud jako jediný zdroj organického dusíku a růstových faktorů, buď úplně nebo částečně, popřípadě s přidávkou dalších uvedených látek.

Způsob podle vynálezu znamená značný ekonomický přínos při fermentační výrobě fungicidu, především podstatným zvýšením výtěžků. Je jednoduše realizovatelný bez jakýchkoliv úprav zařízení a bez mimořádných nároků na obsluhu.

Bližší podrobnosti způsobu podle vynálezu jsou patrné z následujících příkladů provedení.

Příklady provedení

P ř í k l a d 1

Fermentační půda objemu 60 ml, obsahující 0,5 % kukuřičného extraktu, 0,5 % sušených kvasnic, 2,0 % glukózy, 8,0 % fruktosového sirupu, 0,25 % sojové mouky /nebo stejné váhové množství arašidové mouky/ a 1,0 % mikromletého vápence, byla zaočkována 3 ml vegetativního inokula kmene *Streptomyces noursei*, starého 28 hod.

Vegetativní inokulum bylo připraveno na inokulační tekuté půdě tohoto složení: kukuřičný extrakt 0,25 %, sojová mouka 1 %, glukóza 4,4 %, dusičnan amonný 0,5 %, mikromletý vápenec 0,5 % a chlorid sodný 0,2 %. K očkování bylo použito prostých konzerv, kde aminokyseliny byly nahrazeny 1,0 % sušených kvasnic.

Fermentace probíhala 120 hod. na reciprokém třepacím stroji při teplotě 28 °C. Po ukončení fermentace obsahovala půda 38 000 mj/ml fungicidinu. Kontrolní fermentace, provedená s inokulem připraveným na prose, obsahujícím 0,01 % tyrosinu, asparaginu, kyseliny glutamové, kyseliny nikotinové a L-cysteinu, poskytla výtěžek 26 000 mj/ml fungicidinu.

P ř í k l a d 2

Fermentační půda objemu 60 ml, obsahující 0,5 % kukuřičného extraktu, 0,001 % kyselého fosforečnanu draselného, 0,5 % sušených kvasnic, 0,25 % sojové mouky, 2,0 % glukózy, 8,0 % fruktosového sirupu, 0,5 % dusičnanu amonného a 1,0 % mikromletého vápence, byla zaočkována 3 ml vegetativního inokula kmene *Streptomyces noursei*, starého 28 hod., připraveného na půdě, ve které byl kukuřičný extrakt úplně nahrazen sušenými kvasnicemi.

Složení inokulační půdy: 1,0 % sušených kvasnic, 0,5 % sojové mouky, 4,4 % glukózy, 0,5 % dusičnanu amonného, 0,5 % mikromletého vápence, 0,2 % chloridu sodného. Fermentováno na reciprokém třepacím stroji při teplotě 28 °C. Po ukončení fermentace obsahovala půda 44 000 mj/ml fungicidinu.

Kontrolní fermentace provedená s půdou, obsahující 1,18 % kukuřičného extraktu, 2,0 % glukózy, 8,0 % fruktosového sirupu, 0,5 % dusičnanu amonného a 1,0 % mikromletého vápence, zaočkována vegetativním inokulem *Streptomyces noursei*, starým 28 hod., připraveným na inokulační půdě s obsahem 0,25 % kukuřičného extraktu, 1,0 % sojové mouky, 4,4 % glukózy, 0,5 % mikromletého vápence a 0,2 % chloridu sodného, poskytla výtěžek 25 000 mj/ml fungicidinu.

P ř í k l a d 3

Fermentační půda objemu 60 ml, obsahující 1,0 % sušených kvasnic, 0,001 % kyselého fosforečnanu draselného, 0,5 % sojové mouky, 2,0 % glukózy, 8,0 % fruktosového sirupu, 1,0 % mikromletého vápence a 0,5 % dusičnanu amonného, byla zaočkována 3 ml vegetativního inokula kmene *Streptomyces noursei*, starého 28 hod. připraveného na inokulační půdě se sušenými kvasnicemi. Fermentováno 120 hod. na reciprokém třepacím stroji při teplotě 28 °C. Po ukončení fermentace obsahovala půda 50 000 mj/ml fungicidinu.

Kontrolní fermentace provedená na půdě s kukuřičným extraktem, očkovaná inokulem 28 hod. starým, poskytla výtěžek 28 000 mj/ml fungicidinu.

P ř í k l a d 4

Fermentační půda objemu 60 ml, obsahující 1,0 % sušených kvasnic, 0,001 % kyselého fosforečnanu draselného, 0,5 % kukuřičného šrotu, 2,0 % glukózy, 8,0 % fruktosového sirupu, 1,0 % mikromletého vápence a 0,5 % dusičnanu amonného, byla naočkována 3 ml vegetativního inokula kmene *Streptomyces noursei*, starého 28 hod. Fermentováno 120 hod. na reciprokém třepacím stroji při teplotě 28 °C. Po ukončení fermentace obsahovala půda 56 000 mj/ml fungicidinu.

Kontrolní fermentace provedená na půdě s kukuřičným extraktem, očkovaná inokulem 28 hod. starým, poskytla výtěžek 31 000 mj/ml fungicidinu.

P ř í k l a d 5

60 ml fermentační půdy, obsahující 1,0 % sušených kvasnic, 0,5 % pšeničného šrotu, 2,0 % glukózy, 8,0 % fruktosového sirupu, 1,0 % mikromletého vápence a 0,5 % dusičnanu amonného bylo po zaočkování 3 ml vegetativního inokula kmene *S. noursei* fermentováno za stejných podmínek jako v příkladu 4 s produkcí 50 000 mj/ml fungicidinu. Kontrolní fermentace poskytla výtěžek 28 000 mj/ml fungicidinu.

P ř í k l a d 6

60 ml fermentační půdy, obsahující 1,0 % sušených kvasnic, 0,001 % kyselého fosforečnanu draselného, 0,25 % sladového šrotu, 6,0 % rozpustného škrobu, 1,0 % mikromletého vápence a 0,5 % dusičnanu amonného, bylo po zaočkování 3 ml vegetativního inokula kmene *S.noursei* fermentováno za stejných podmínek jako v příkladu 4 s produkcí 38 000 mj/ml fungicidinu. Kontrolní fermentace poskytla výtěžek 26 000 mj/ml fungicidinu.

P ř í k l a d 7

60 ml fermentační půdy, obsahující 0,5 % kvasničného extraktu, 0,5 % sojové mouky, 2,0 % glukózy, 0,001 % kyselého fosforečnanu draselného, 6,0 % fruktozového sirupu, 0,5 % dusičnanu vápenatého a 1,0 % mikromletého vápence, bylo po zaočkování 3 ml vegetativního inokula kmene *S.noursei* fermentováno za stejných podmínek jako v příkladu 4 s produkcí 44 000 mj/ml fungicidinu. Kontrolní fermentace poskytla výtěžek 30 000 mj/ml fungicidinu.

P ř í k l a d 8

60 ml fermentační půdy, obsahující 1,0 % sušených kvasnic, 0,5 % sojové mouky, 0,5 % dusičnanu amonného, 7,0 % amylázou ztekuceného škrobu, 1,0 % mikromletého vápence a 0,001 % kyselého fosforečnanu draselného bylo po zaočkování 3 ml vegetativního inokula kmene *Streptomyces noursei* fermentováno za stejných podmínek jako v příkladu 4 s produkcí 48 000 mj/ml fungicidinu. Při kontrolní fermentaci bylo dosaženo produkce 30 000 mj/ml fungicidinu.

P Ř E D M Ě T V Y N A L E Z U

Způsob výroby fungicidinu kultivací mikroorganismem *Streptomyces noursei* v tekuté živné půdě obsahující zdroje asimilovatelného uhlíku a dusíku a minerální živné soli, za aerobních podmínek, vyznačující se tím, že se jako zdroje asimilovatelného dusíku organického původu používá úplně nebo částečně sušených kvasnic a/nebo extraktu z kvasnic a/nebo sojové mouky a/nebo kukuřičného šrotu a/nebo arašidové mouky a/nebo pšeničného šrotu a/nebo sladového šrotu, v množství 0,2 až 2,0 % hmot. objemových.