



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENÍU

264 816

(11) (B1)

(13)

(51) Int. Cl.⁴

C 12 N 9/24

(22) Prihlášené 30 07 86

(21) PV 5725-86.T

(40) Zverejnené 15 12 88

(45) Vydané 15 12 89

(75)

Autor vynálezu

VOLLEK VALTER RNDr., BRATISLAVA, MAJERÍKOVÁ IVANA ing.,
BÁNOVCE nad Bebravou, ŠKÁRKA BOHUMIL doc. ing. CSc.,
CHYTILOVÁ GABRIELA, BRATISLAVA

(54) Kultivačná pôda pre výrobu amylolytických enzýmov

(57) Riešenie sa týka kultivačnej pôdy pre výrobu amylolytických enzýmov produkčnými mikroorganizmami. Kultivačná pôda podľa riešenia obsahuje hmotnostne 0,2 až 0,4 % dusičnanu sodného, 0,02 až 0,1 % síranu horečnatého, 0,05 až 0,2 % hydrofosforečnanu draselného, 0,001 % síranu železnatého, 0,5 až 10 % starého chleba a zvyšok do 100 % tvorí voda.

Vynález sa týka kultivačnej pôdy pre výrobu amylolytických enzýmov produkčnými mikroorganizmami.

Doteraz sa amylázy vyrábajú kultiváciou producentov v živných médiách, v ktorých ako zdroj uhlíka sa používajú rôzne druhy škrobu. Najčastejšie sa používa škrob zemiakový, škrob získaný s hlíz iných rastlín, škrog z kukurice, drvená kukurica a škrob z cereálií, prípadne ryžová múka. Ueda (UEDA, S.: *Trend Biochem. Sci.*, 6, 1981, s. 89) použil ako substrát na výrobu amyláz surový zemiakový škrob, kukuričný škrob a škrob z kassavy. Bhumibhamen (BHUMIBHAMEN, O.: *Thai J. Agric. Sci.*, 16, 1983, s. 173) použil ako zdroj uhlíka do kultivačného média ryžový škrob a ryžové otruby. Manomani a kol. (MANONMANI, H. K., SHAMALA, T. R., SREEKANTIAH, K. R.: *J. Food Sci. Technol.*, 20, 1983, s. 38) ako zdroj uhlíka do kultivačného média využívali tapiokovú múku a ryžové otruby. Džilavjan a kol. (DŽILAVJAN, L. R. et al.: *Ferment. Spirt. Prem-st.*, 5, 1985, s. 26) použili kukuričnú múku a pšeničné otruby. Pšeničnú múku s kukuričným výluhom použili aj Tyulin a kol. (TYULIN, V. S. et al.: *Ferment. Spirt. Prem-st.*, 5, 1985, s. 29). Seričenko a kol. (SERIČENKO, L. G. et al.: *Ferment. Spirt. Prem-st.*, 8, 1984, s. 33) skúšali využiť ako zdroj uhlíka škrob, maltózu, dextríny a hydrolyzáty škrobu. Okrem zdroja uhlíka obsahujú živné pôdy ďalšie látky, ktoré zabezpečujú potrebu ostatných makro- a mikrobiogénnych prvkov, potrebných pre rast produkčného mikroorganizmu.

Napriek prepracovaným technológiám amylolytických enzýmov vláknitými hubami majú všetky spôsoby jeden spoločný znak, ktorý možno považovať za nedostatok, lebo používané zdroje uhlíka v živných médiách sú využiteľné aj inak, často ekonomicky výhodnejšie. Použité zdroje ostatných živných prvkov vo väčšine prípadov predstavuje nedostatkový kukuričný výluh (CSL), ktorý je veľmi potrebný napríklad na výrobu antibiotík.

Uvedené nevýhody v podstatnej miere odstraňuje kultivačná pôda pre výrobu amylolytických enzýmov produkčnými mikroorganizmami podľa vynálezu, ktorej podstata spočíva v tom, že obsahuje hmotnostne 0,2 až 0,4 % dusičnanu sodného, 0,02 až 0,1 % chloridu draselného, 0,02 až 0,1 % síranu horečnatého, 0,05 až 0,2 % hydrofosforečnanu draselného, 0,01 % síranu železnatého, 0,5 až 10 % starého chleba a zvyšok do 100 % tvorí voda.

Utilizovaným zdrojom uhlíka pri kultivačnej pôde podľa vynálezu je starý chlieb, vrátený z maloobchodnej siete, prípadne odpadový chlieb z väčších stravovacích jednotiek, ako sú káse, internáty, nemocnice a pod., ktorý sa zatiaľ takmer výhradne využíva na skrmovanie hospodárskym zvieratám.

Starý, resp. odpadový chlieb je vhodné udržiavať suchý, aby sa zamedzilo jeho plesniveniu. Zaplesnivenie do 1/3 ešte umožňuje použiť chlieb ako zdroj uhlíka, vitamínov a rastových faktorov do kultivačnej pôdy.

Ďalším prínosom vynálezu je náhrada organického zdroja dusíka z kukuričného výluhu minerálnym zdrojom - použitím definovanej kultivačnej pôdy a ďalej náhrada rastových stimulačných látok pridávaných do kultivačnej pôdy, látkami prirodzene prítomnými v chlebe.

P r í k l a d 1

Pripraví sa kultivačná pôda o zložení hmotnostne 0,3 % dusičnanu sodného, 0,05 % chloridu draselného, 0,05 % síranu horečnatého, 0,12 % hydrofosforečnanu draselného, 0,001 % síranu železnatého, 2 % starý chlieb a zvyšok tvorí voda.

Na pripravenej pôde sa nechali kultivovať produkčné mikroorganizmy *Aspergillus niger* IV-123 CCM F 801, *Aspergillus oryzae* CCM F 8005 a licenčný kmeň zo ZSSR *Aspergillus battatal* za bežných kultivačných podmienok (teplota 30 °C, pA 7,0, aerácia 50 % objemu média za min).

Porovnávaním kultivačnej pôdy podľa vynálezu a kultivačnej pôdy doteraz používanej (s kukuričným žrotom ako zdrojom uhlíka a chloridom vápenatým ako rastového stimulantom) sa zistila veľmi dobrá produkcia amylolytických enzýmov.

Tak napríklad u produkčného mikroorganismu *Aspergillus niger* IV IV-123 CCM F 801, pestovaného na pôde podľa vynálezu aktivita alfa-amylázy dosahuje hodnoty okolo 89,10 n.kat.ml⁻¹ a celková amylolytická aktivita 352 n.kat.ml⁻¹, u produkčného mikroorganizmu *Aspergillus battal* (licenční kmeň zo ZSSR alfa-amyláza 105 n.kat.ml⁻¹, glukoamyláza 26 n.kat.ml⁻¹ a u ďalšieho produkčného mikroorganizmu *Aspergillus oryzae* CCM 8005 dokonca alfa-amyláza 1400 n.kat.ml⁻¹ a glukoamyláza 455 n.kat.ml⁻¹.

Použitím kultivačnej pôdy podľa vynálezu sa zvýši produkcia alfa-amyláz a zároveň sa zúžitkuje starý odpadový chlieb na výrobu vysoko užitočných výrobkov vhodných aj pre potravinársky priemysl.

P R E D M E T V Y N Á L E Z U

Kultivačná pôda pre výrobu amylolytických enzýmov produkčnými mikroorganizmami vyznačujúca sa tým, že obsahuje hmotnostne 0,2 až 0,4 % dusičnanu sodného, 0,02 až 0,1 % chloridu draselného, 0,02 až 0,1 % síranu horečnatého, 0,05 až 0,2 % hydrofosforečnanu draselného, 0,001 % síranu železnatého, 0,5 až 10 % starého chleba a zvyšok do 100 % tvorí voda.