

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL** (11) **236517**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **428201**

(51) Int. Cl.
A23L 3/3409 (2006.01)
C12C 1/16 (2006.01)

(22) Data zgłoszenia: **17.12.2018**

(54) **Sposób usuwania tlenu z pożywek fermentacyjnych sterylizowanych
etodą ozonowania**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
29.06.2020 BUP 14/20

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
25.01.2021 WUP 02/21

(73) Uprawniony z patentu:
POLITECHNIKA ŁÓDZKA, Łódź, PL

(72) Twórca(y) wynalazku:
JAROSŁAW DOMAŃSKI, Łódź, PL
KRZYSZTOF ŚMIGIELSKI, Łódź, PL
DOROTA KRĘGIEL, Łódź, PL
PIOTR DZIUGAN, Zgierz, PL
JOANNA BERŁOWSKA, Łódź, PL
WERONIKA CIECIURA-WŁOCH, Bełchatów, PL

(74) Pełnomocnik:
rzecz. pat. Marcin Wróblewski

PL 236517 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest z sposób usuwania tlenu z pożywek fermentacyjnych sterylizowanych metodą ozonowania, przeznaczonych do beztlenowych procesów biotechnologicznych.

Ozonowanie stanowi skuteczną metodę sterylizacji pożywek fermentacyjnych na zimno, bez stosowania wysokich temperatur [Dziugan i wsp., Ozonation as an effective way to stabilize new kinds of fermentation media used in biotechnological production of liquid fuel additives, 2016], Zastosowanie ozonu w przetwarzaniu żywności zostało zatwierdzone przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków, jako środka przeciwdrobnoustrojowego do obróbki, przechowywania i przetwarzania żywności. Ozonowanie jest bezpieczną metodą usuwania związków toksycznych z wody pitnej, np. bisfenolu A, substancji zaburzającej gospodarkę hormonalną [Kusvuran i Yildirim, Kusvuran i Yildirim, Degradation of bisphenol A by ozonation and determination of degradation intermediates by gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-mass spectrometry, 2013],

Sterylizacja pożywek fermentacyjnych poprzez ich ozonowanie zapewnia nie tylko zabicie mikroorganizmów zanieczyszczających brzeczki melasowe, ale także powoduje odbarwienie brzeczek, utlenienie inhibitorów procesów fermentacyjnych: SO_2 i NO_2 oraz związków powierzchniowo-czynnych

Problem w zastosowaniu ozonu jako czynnika wyjąłwiającego stanowi wysoka pozostadłość tlenu w pożywce, która hamuje procesy biotechnologiczne prowadzone w warunkach beztlenowych, wynosząca ponad $16 \text{ mgO}_2/\text{l}$ w przypadku brzeczki o stężeniu wynoszącym 15°P [Dziugan i wsp., Ozonation as an effective way to stabilize new kinds of fermentation media used in biotechnological production of liquid fuel additives, 2016]. Natomiast konwencjonalne beztlenowe procesy biotechnologiczne powinny odbywać się w środowisku całkowicie pozbawionym wolnego tlenu lub z jego niewielkim dostępem, a wysokie stężenia tlenu powodują zahamowanie procesów biotechnologicznych prowadzonych z udziałem drobnoustrojów beztlenowych [Botheju i wsp., Oxygen effects in anaerobic digestion, 2009].

Znane są metody chemiczne usuwania tlenu ze środowiska wodnego za pomocą związków chemicznych. I tak w europejskim opisie patentowym EP0598384 przedstawiono metodę usuwania tlenu ze środowiska wodnego przy użyciu gazowego azotu, który pełni rolę reduktora nieorganicznego. Z kolei amerykańskie opisy patentowe US 4524015 i US 5178796 opisują adsorpcje tlenu przy użyciu kwasu askorbinowego oraz usuwanie tlenu za pomocą soli kwasu ketoglukonowego.

Powszechnie stosowaną metodą usuwania tlenu z pożywek jest użycie tiosiarczuanu sodu $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, jednakże powoduje to wzrost ilości sodu w środowisku reakcji, co może prowadzić do zaburzenia procesów beztlenowych oraz powoduje wzrost zasolenia [Sinha i wsp., Alternative methods for dissolved oxygen removal from water: a comparative study, 2000], Do usunięcia tlenu z wody mogą być także wykorzystywane siarczki nieorganiczne – jako reduktory nieorganiczne, jednakże ich obecność w brzeczkach fermentacyjnych może zaburzać wzrost i metabolizm drobnoustrojów [Luther i wsp., Thermodynamics and kinetics of sulfide oxidation by oxygen: A look at inorganically controlled reactions and biologically mediated processes in the environment, 2011; Fukushima i wsp., Use of photocatalytic reduction to hasten preparation of culture media for saccharolytic *Clostridium* species, 2003], Z kolei wykorzystanie organicznych siarczków nie jest stosowane sensu stricto do usunięcia tlenu tylko do procesów utlenienia siarczków organicznych, w wyniku czego powstają sulfotlenki i sulfony [Sun i wsp., Removal of malodorous organic sulfides with molecular oxygen and visible light over metal phthalocyanine, 2008], Znane są też metody usunięcia resztkowego tlenu oparte na użyciu hydrazyny i N,N-dietylhydroksyloaminy (DEHA), ale wymagają one podwyższonej temperatury, zaś same te substancje redukujące są toksyczne i działają negatywnie na środowisko biotyczne [Sinha i wsp., Alternative methods for dissolved oxygen removal from water: a comparative study, 2000], Stosowano również chlorowodorek cysteiny jako czynnik redukujący i obniżający potencjał redox [Mould i wsp., A review and simplification of the *in vitro* incubation medium, 2005].

Celem wynalazku jest opracowanie skutecznego sposobu usuwania tlenu z pożywek fermentacyjnych po procesie ozonowania, bez konieczności stosowania związków chemicznych mogących zaburzać procesy biotechnologiczne.

Sposób usuwania tlenu z pożywek sterylizowanych metodą ozonowania, wykorzystywanych do beztlenowych procesów biotechnologicznych, na drodze chemicznej, według wynalazku polega tym, że do pożywki, po sterylizacji metodą ozonowania dodaje się FeSO_4 w ilości od $0,02 \text{ g/l}$ do 1 g/l , po czym prowadzi się inkubację ; w temperaturze od 15 do 30°C w czasie od 6 godzin do 30 godzin.

Korzystnie jako podłoża stosuje się brzeczki słodowe i melasowe.

Korzystnie jako podłoża stosuje się brzeczki o stężeniu od 2 do 15°P .

Sposób według wynalazku pozwala na usunięcie tlenu z pożywki bez konieczności stosowania związków chemicznych mogących zaburzać procesy biotechnologiczne.

FeSO_4 jest również wykorzystywane do suplementacji żelaza u ludzi i zwierząt oraz do wzbogacenia w źródło żelaza pożywek wykorzystywanych w procesach biotechnologicznych. Sól ta jest ponadto tania i łatwo dostępna.

Przedmiot wynalazku ilustrują poniższe przykłady oraz rysunek, na którym:

Fig. 1. przedstawia wykres dynamiki usuwania tlenu z brzeczki słodowej 15°P przy użyciu FeSO_4 w dwóch różnych dawkach 0,01 g /500 ml oraz 0,1 g/500 ml;

Fig. 2. przedstawia wykres dynamiki usuwania tlenu z brzeczki melasowej 2°P przy użyciu FeSO_4 , w dwóch różnych dawkach 0,01 g /500 ml oraz 0,1 g/500 ml.

P r z y k ł a d 1

Do reaktora o pojemności 1l wprowadzono 500 ml pożywki słodowej o zawartości ekstraktu 15°P i poddano ją procesowi ozonowania w czasie 20 min, przy przepływie 0,4 ml na minutę przy stężeniu ozonu 100 g na m^3 . Następnie do ozonowanej pożywki o zawartości tlenu ponad 16 mg O_2/l wprowadzono FeSO_4 w dawkach 0,1 g/500 ml lub 0,01 g/500 ml, a następnie zawiesinę pozostawiono w temp. 25°C na okres 26 godzin. Pomiary stężenia tlenu dokonywane były w sposób ciągły za pomocą tlenomierza CO – 551 podłączonego do komputera.

Wyniki przedstawiono na Fig 1.

Wykazano, że zastosowanie FeSO_4 w dawce 0,1 g/500ml powoduje usunięcie tlenu z brzeczki słodowej do poziomu 0 mg/l w czasie 6 godzin, natomiast w dawce 0,01g/500 ml odpowiednio w czasie 26 godzin (zawartość tlenu 0,83 mg O_2/l).

P r z y k ł a d 2

Do reaktora o pojemności 1l wprowadzono 500 ml pożywki melasowej o zawartości ekstraktu 2°P i poddano ją procesowi ozonowania w czasie 20 min, przy przepływie 0,4 ml na minutę przy stężeniu ozonu 100 g O_3 na m^3 . Następnie do ozonowanej pożywki o zawartości tlenu ponad 16 mg O_2/l wprowadzono FeSO_4 w dawkach 0,1 g/500 ml lub 0,01 g/500 ml, a następnie zawiesinę pozostawiono w temp. 25°C na okres do 30 godzin. Pomiary stężenia tlenu dokonywane były w sposób ciągły za pomocą tlenomierza CO – 551 podłączonego do komputera.

Wyniki przedstawiono na Fig 2.

Wykazano, że zastosowanie dawki 0,1 g/500ml powoduje usunięcie tlenu z brzeczki słodowej do poziomu 0 mg/l w czasie 13 godzin, natomiast w dawce 0,01g/500 ml odpowiednio w czasie 30 godzin (zawartość tlenu 0,86 mg O_2/l).

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób usuwania tlenu z pożywek sterylizowanych metodą ozonowania wykorzystywanych do beztlenowych procesów biotechnologicznych, na drodze chemicznej, **znamienny tym**, że do pożywki po sterylizacji metodą ozonowania dodaje się FeSO_4 w ilości od 0,02 g/l do 1 g/l, po czym prowadzi się inkubację w temperaturze od 15 do 30°C w czasie od 6 godzin do 30 godzin.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako podłoża stosuje się brzeczki słodowe i melasowe.
3. Sposób według zastrz. 1, albo **znamienny tym**, że jako podłoża stosuje się brzeczki 2 do 15°P.

Rysunki

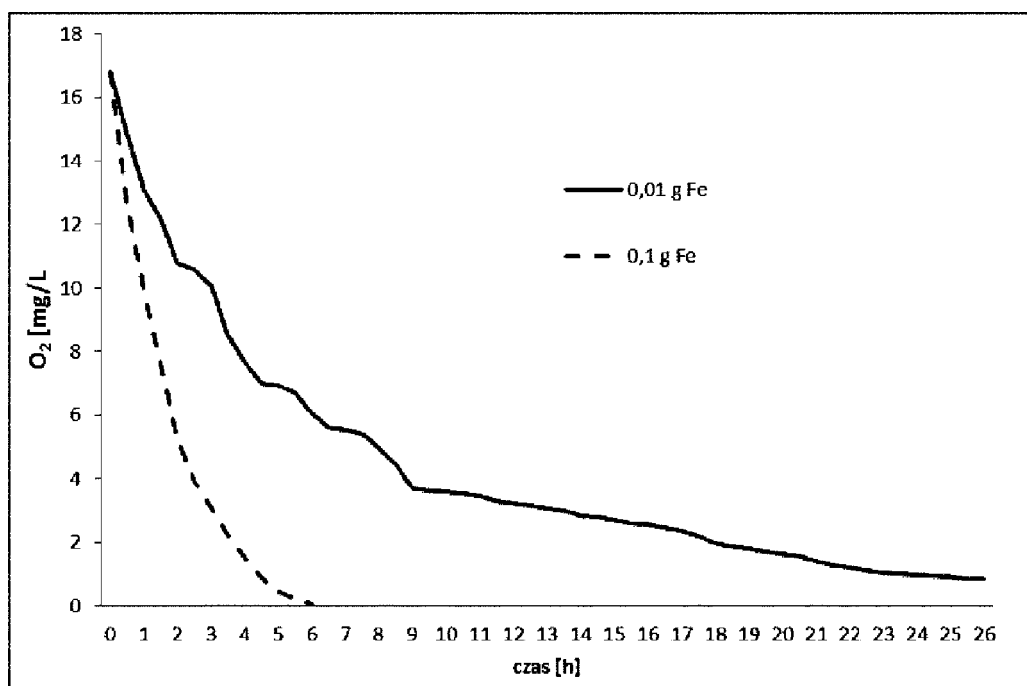


Fig. 1

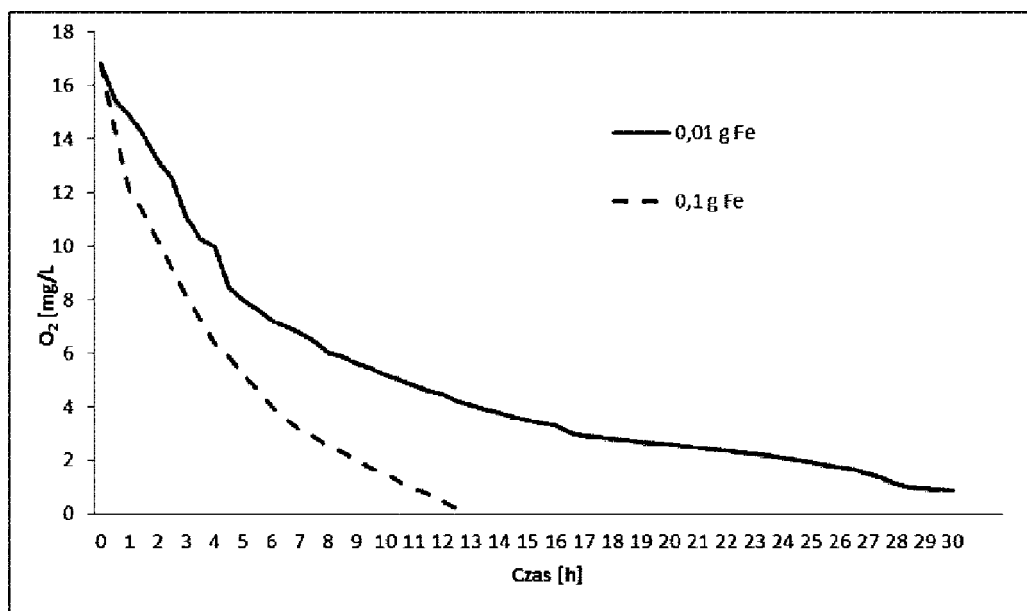


Fig. 2