



Patent dodatkowy
do patentu nr _____

Zgłoszono: 26.04.77 (P. 197684)

Pierwszeństwo: _____

Zgłoszenie ogłoszono: 20.11.78

Opis patentowy opublikowano: 10.02.1983

CZYTAŁNIA

Urzędu Patentowego
Polskiej Rzeczypospolitej Ludowej

Int. Cl.¹ C12D 13/06

Twórcy wynalazku: Andrzej Leonowicz, Andrzej Paszczyński, Jerzy Trojanowski

Uprawniony z patentu: Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin (Polska)

Sposób wytwarzania wysokobiałkowej biomasy z wywaru gorzelniczego

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania wysokobiałkowej biomasy z wywaru gorzelniczego na drodze hodowli na wywarze grzybni.

Znane jest opracowanie przemysłowej produkcji biomasy za pomocą drobnoustrojów zdolnych do wzrostu przy wykorzystaniu niekonwencjonalnych substratów otrzymywania białka na drodze biosyntetycznej w oparciu o takie surowce jak węglowodory parafinowe, olej gazowy, etanol, kwas octowy, metanol a także słoma, odpady drzewne, ługi posiarzynowe i inne bogate w celulozę materiały. Są to przykłady rozwiązań, których część doczekała się już realizacji na skalę techniczną. Do zamienny wyżej wymienionych substratów na biomasę bogatą w białko wykorzystywane są takie bakterie jak *Pseudomonas*, *Mycobacteria*, *Nocardia*, *Sporobolomyces*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Brevibacterium*, drożdże jak *Candida*, *Torulopsis*, *Trichisporon*, *Saccharomyces*, *Rhodotorula* a z innych grzybów *Rhizopus*, *Eusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Oidium*. Zastosowanie grzybów „niedrożdżowych” do produkcji białka paszowego wciąż jest niedostateczne, jakkolwiek opracowuje się już wstępnie metody technologiczne w oparciu głównie o odpady lignino-celulozowe. Proponuje się na przykład metodę hodowli grzyba *Myrothecium verrucaria* na odpadach makulaturowych /Updergraff D.M., *Biotechnol. Bioeng.* 13, 77—97, 1971/. Badany organizm wykorzystywał z podłoża około 50% celulozy. W innym przypadku

2

uzyskano biomasę o zawartości około 20% białka podczas grzybowania słomy jęczmienia przy użyciu celulotycznego grzyba *Trichoderma viride* /Peitersen C.S., *Biotechnol. Bioeng.* 17, 361—374, 1975/. Znane jest zastosowanie grzyba *Sporotrichum pulverulentum* do produkcji biomasy na bazie odpadów z młyna papierniczego /Eriksson K.E. i L.B. Larsson, *Biotechnol. Bioeng.* 17, 327—348, 1974/. Istnieją również próby produkcji biomasy grzybowej na skalę przemysłową. Przykładem może być opracowany w Finlandii tzw. proces „Pekilo” polegający na technologicznym otrzymywaniu białka grzybowego z odpadów cukrowniczych, krochmalniczych i posiarzynowych przy użyciu grzyba *Paecilomyces variotti*.

Wynalazek dotyczy sposobu wytwarzania wysokobiałkowej biomasy z wywaru gorzelnianego stanowiącego pozostałość po odpedzeniu alkoholu etylowego ze skrobi poddanej procesowi fermentacji alkoholowej. Wywar gorzelniczny jak wiadomo, jest produktem, który ulega szybkiemu psuciu się i niszczeniu, w związku z czym problemem jest także sprawa jego racjonalnego zagospodarowania.

Z polskiego opisu patentowego nr 93 054 znany jest sposób otrzymywania biomasy z wywaru przez hodowlę na nim grzyba *Inonotus obliquus* podklasy *Basidiomycetes*. Według wymienionego patentu hodowlę prowadzi się metodą wgłębną, napowietrzaną jałowo, stosując jako inoculum grzybnię wyhodowaną w hodowlach stacjonarnych przez

kilkakrotne, najlepiej 5-krotne pasażowanie szczepu na podłoże z wywaru gorzelniczego.

Obecnie stwierdzono, że grzybnie o równej bądź większej zawartości białka, nadającą się do wykorzystania do celów paszowych bezpośrednio jako cała kultura- bądź po odwirowaniu i wysuszeniu, można otrzymać hodując na podłożu z wywaru gorzelniczego grzyb podklasy Ascomycetes Chaetomium piluliferum. Jako inoculum w sposobie według wynalazku stosuje się grzybnie uzyskaną najlepiej drogą 10-krotnego pasażowania szczepu na podłożu z wywaru w hodowlach stacjonarnych. Proces hodowli prowadzi się metodą wgłębną napowietrzaną jałowo. Grzybnia wyhodowana sposobem według wynalazku zawiera do 45% białka.

Przykład. Strzępek grzybni Chaetomium piluliferum ze skosu agarowego, zawierającego w litrze roztworu wodnego 10 gramów glukozy, 1 gram azotanu wapnia, 0,5 grama siarczanu magnezu 7-wodnego, 0,45 gramów kwaśnego fosforanu potasu, 0,47 gramów kwaśnego fosforanu sodu 12-wodnego, 2×10^{-5} grama wapnia, $2,7 \times 10^{-6}$ grama magnezu, po 1×10^{-6} grama żelaza, cynku i miedzi, 5×10^{-5} grama aneuryny i 20 gramów agaru hodowanego przez 10 dni na tym skosie w temperaturze 27°C, przeniesiono do 0,25 litra jałowej pożywki, o składzie jak wyżej, tylko bez agaru. Po 15 dniach hodowli stacjonarnej, w temperaturze pokojowej, grzybnie przeszczepiono, przenosząc jej strzępek na 0,25 litra 2% wywaru gorzelniczego, uprzednio wysterylizowanego. Po 15 dniach hodowli, ponownie zaszczipiono strzępkami wyhodowanej grzybni nową 0,25 litrową porcję 2% wywaru. Cykl pasażowania grzybni z wywaru na wywar powtarzano dziesięciokrotnie. W ostatnim pasażu uzyskano szczepy przystosowane do hodowli na wywarze gorzelnicznym. Grzybnie otrzymaną w

ten sposób, homogenizowano sterylnie, wytrząsając ze szklanymi perełkami, które uprzednio wprowadzono do pożywki ostatniej hodowli. Homogenat w ilości 1 litra wprowadzono do 9 litrów 2% sterylnego wywaru gorzelniczego i prowadzono hodowlę napowietrzając jałowym powietrzem w ilości 20 litrów na litr hodowli na godzinę, w temperaturze pokojowej przez 98 godzin. Następnie grzybnie odsączano przez gazę, wysuszono w temperaturze 53°C, zważono i oznaczono w niej białko.

Ilościowe wyniki dla omawianej hodowli ilustruje tabela.

Czas hodowli — godzin	grzybnia — wydajność z litra hodowli w gramach suchej masy	grzybnia — wydajność w procentach w przeliczeniu na suchą masę wywaru	białko grzybni w procentach do suchej masy grzybni
48	12,3	62,7	44,7

Zastrzeżenie patentowe

Sposób wytwarzania wysokobiałkowej biomasy z wywaru gorzelniczego przez prowadzenie na wywarze kultury grzyba wyższego metodą hodowli wgłębnej, napowietrzanej jałowo przy zastosowaniu jako inoculum grzybni uzyskanej w hodowlach stacjonarnych, drogą kilkakrotnego pasażowania szczepu na podłoże z wywaru, **znamienny tym**, że do hodowli stosuje się grzyb podklasy Ascomycetes rodzaju Chaetomium piluliferum.