



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

203413

(11)

(B1)

(22) Přihlášeno 03 07 78
(21) (PV 4416-78)

(40) Zveřejněno 30 06 80

(45) Vydáno 15 09 82

(51) Int. Cl.³
C 12 N 1/22
C 12 N 1/24

(75)

Autor vynálezu

BARTA JIŘÍ ing., ŠTROS FRANTIŠEK ing. CSc.,
RUT MILOSLAV ing., ADÁMEK LUBOMÍR dr. a
KUJAN PETR ing., PRAHA

(54) Způsob výroby kvasničných bílkovin

1

Vynález se týká způsobu výroby kvasničných bílkovin z hydrolyzátů celulóзовých materiálů nebo ze sulfitových výluhů a melasových lihovarských výpalků.

Výroba krmných kvasnic z hydrolyzátů dřeva, případně dřevných nebo zemědělských odpadů je již dlouhou dobu známa a široce se uplatňuje ve výrobní praxi. Vzhledem k tomu, že se výchozí materiály v přírodě neustále obnovují, je výroba kvasničných bílkovin z hydrolyzátů celulóзовých odpadů perspektivní i v budoucnosti. Určitou nevýhodou procesu je skutečnost, že hydrolyzáty jsou silně kyselé a že před vlastní kultivací musí být neutralizovány na kultivační pH. Hydrolyzáty z perkolačního způsobu hydrolyzy obsahují např. 0,4 až 0,8 procenta kyseliny sírové a 0,15 až 0,325 % těkavých organických kyselin a při úpravě pH na kultivační hodnotu je třeba na m³ hydrolyzátu přidávat 2,5 až 5 kg CaO nebo ekvivalentní množství jiné báze. Pro růst kvasinek jsou hydrolyzáty celulóзовých materiálů výlučně zdrojem uhlíku a všechny ostatní biogenní prvky je nutno do kultivačního média přidávat ve formě jiných živin.

Také ze sulfitových výluhů jsou kvasničné bílkoviny průmyslově vyráběny již dlouhou dobu a výrobní proces má některé ob-

2

dobné znaky jako výroba kvasnic z hydrolyzátů. Sulfitové výluhy jsou rovněž silně kyselé a před fermentačním zpracováním musí být neutralizovány. Při úpravě pH se na m³ výluhů spotřebuje 2 až 5 kg CaO nebo ekvivalentní množství jiné báze, např. amoniaku. Vyvažováním kyslíčniku siřičitého ze sulfitových výluhů v kolonách lze množství potřebného neutralizačního prostředku snížit až na třetinu. Také sulfitové výluhy jsou pro kvasinky hlavně zdrojem uhlíku a pouze v některých případech obsahují i potřebné množství hořčíku.

Velmi rozšířená je výroba krmných kvasnic z melasových lihovarských výpalků. Výpalky z lihovarů zpracovávajících řepnou melasu jsou pro výrobu kvasnic cennou surovinou, protože kromě zdrojů uhlíku obsahují velké množství draslíku, asimilovatelný dusík a v některých případech i dostatečné množství hořčíku. Důležitý je i obsah růstových látek, které přecházejí do výpalků z melasy nebo vznikají při fermentačním procesu v lihovaru, jakož i přítomnost celé řady stopových prvků. Obsah biologicky hodnotných látek v melasových výpalcích však není vyrovnaný a z hlediska jejich dokonalého využití pro kultivaci mikroorganismů jsou deficitní především zdroje uhlíku. Nevýhodou výroby kvasnic z me-

lasových lihovarských výpalků je nutnost přidávání velkého množství kyselin k úpravě pH fermentačního média v průběhu kultivace. V melasových výpalcích jsou kromě glycerinu a zbytkových cukrů zdrojem uhlíku pro růst kvasinek především draselné soli organických kyselin. Při asimilaci organických kyselin se přebytečný draselný kationt uvolňuje do média a musí být neutralizován kyselinou. Na výrobu 1 kg sušiny biomasy se spotřebovává až 1 kg koncentrované kyseliny sírové nebo ekvivalentní množství jiné kyseliny.

Uvedené nevýhody odstraňuje způsob výroby kvasničných bílkovin z hydrolyzátů celulóзовých materiálů nebo ze sulfitových výluhů a melasových lihovarských výpalků podle vynálezu, při kterém se k hydrolyzátům nebo sulfitovým výluhům před kultivací přidávají melasové výpalky jako stimulant růstu kvasinek, jako zdroj draslíku a případně i jako neutralizační prostředek v množství 0,5 až 70 kg sušiny na m³.

Množství přidávaných melasových výpalků se řídí podle jejich předpokládané funkce při kultivaci a vypočítává se z obsahu draslíku v melasových výpalcích, z předpokládaného přírůstku kvasničné sušiny z redukcí látek základní suroviny, z požadovaného obsahu draslíku v kvasničné biomase a z množství báze potřebné k neutralizaci hydrolyzátů nebo výluhů.

Při používání melasových výpalků jako zdroje růstových látek a stopových prvků k stimulaci růstu je žádaný efekt dosahován již při přidávku 0,5 až 1,5 kg kvasničné sušiny výpalků na m³ hydrolyzátů nebo sulfitových výluhů.

Při používání melasových výpalků jako zdroje draslíku pro kvasinky vypěstované z redukcí látek cukrů hydrolyzátů nebo sulfitových výluhů je třeba vzít v úvahu, že se část draslíku spotřebuje k tvorbě kvasničné sušiny z uhlíkatých zdrojů samotných melasových výpalků.

Procentuální obsah draslíku v sušině melasových výpalků K_p , který je využitelný k produkci biomasy z jiných zdrojů uhlíku, se vypočte podle vzorce:

$$K_p = K_c - Y_{x/mv} \cdot K_b \quad (1)$$

kde

K_c je celkový obsah draslíku v % hmot. sušiny melasových výpalků,

$Y_{x/mv}$ je výtěžnost sušiny biomasy v g z 1 g sušiny melasových výpalků a

K_b je obsah draslíku v % hmot. sušiny biomasy.

Vzhledem k tomu, že celkový obsah draslíku v sušině melasových výpalků bývá 8 až 12 % hmot., že se výtěžnost sušiny biomasy ze sušiny melasových výpalků pohy-

buje mezi 0,11 a 0,13 g/g a že obvyklý obsah draslíku v sušině biomasy je 2 % hmot., bývá využitelný obsah draslíku v sušině melasových výpalků 7,7 až 11,8 % hmot.

Množství melasových výpalků $Q_{v/k}$ v kg, zajišťující živění draslíkem pro biomasu vypěstovanou z 1 m³ hydrolyzátů nebo sulfitových výluhů, se vypočte ze vzorce:

$$Q_{v/k} = \frac{C_{RL} \cdot Y_{x/RL} \cdot K_b}{K_p}$$

kde

C_{RL} je obsah redukcí látek v kg/m³ základní suroviny a

$Y_{x/RL}$ je výtěžnost sušiny biomasy v g na 1 g redukcí látek.

Při využitelném obsahu draslíku v melasových výpalcích 11,8 %, při obsahu 35 kg RL v m³ sulfitových výluhů a při výtěžnosti sušiny biomasy z redukcí látek výluhů 0,4 g/g je dávka sušiny melasových výpalků postačující jako jediný zdroj draslíku 2,4 kg na m³ sulfitových výluhů.

Má-li být melasových výpalků použito jako neutralizačního prostředku při kultivaci, vypočte se množství sušiny melasových výpalků v kg $Q_{v/n}$ potřebné k úpravě pH 1 m³ hydrolyzátů nebo sulfitových výluhů ze vzorce:

$$Q_{v/n} = \frac{3,91 E_b}{K_p}$$

kde

E_b je titračně stanovený počet g-ekvivalentů báze, potřebný k úpravě pH na 1 m³ hydrolyzátů nebo sulfitových výluhů na požadovanou hodnotu. V případě, že k úpravě pH na m³ sulfitových výluhů je třeba 110 g-ekvivalentů báze a že využitelný obsah draslíku v sušině melasových výpalků je 10,5 %, je k úpravě pH přidat 41 kg/m³ sušiny melasových výpalků.

Alkalizační účinek melasových výpalků se samozřejmě uplatní až po asimilaci organických kyselin výpalků kvasinkami a uvolnění draselného kationtu do média. Počáteční pH při jednorázové kultivaci hydrolyzátů nebo sulfitových výluhů nemůže být proto přidávkou melasových výpalků ovlivněno a postup je vhodný pouze pro kontinuální kultivaci. Má-li být melasových výpalků využito současně i jako zdroj draslíku, je třeba přidavek melasových výpalků zvýšit o množství vypočtené podle vzorce 2.

Výhodou postupu podle vynálezu je úspora chemikálií potřebných k úpravě pH kultivačního média, úspora draselných živných solí, zvýšení růstové rychlosti kvasinek a zvýšení výtěžnosti biomasy z obou typů surovin.

Způsob výroby kvasničných bílkovin podle vynálezu je objasněn, nikoli však omezen, následujícími příklady.

Příklad 1

V mechanicky míchaném laboratorním fermentoru s celkovým obsahem 30 litrů, užitečným plněním 12 l a přenosem kyslíku charakterizovaným siřičitanovým číslem 180 mmol O₂/l . h byla provedena série srovnávacích jednorázových kultivací kvasinky *Cryptococcus difluens* na kalcium-bisulfitových výluzích, ke kterým byla jako stimulátor růstu přidávána odstupňovaná množství melasových výpalků.

Ca-bisulfitové výluhy obsahovaly 10,8 % hmot. celkové sušiny, 36 g/l redukujících látek, 4 g/l kyseliny octové, 5600 mg/l celkového a 900 mg/l volného SO₂. Při přípravě kultivačního média byl obsah volného SO₂ ve výluzích snížen provzdušňováním na 700 mg/l a na 1 litr výluhů byly přidány minerální živiny v množství:

0,6 g KCl,
0,4 g MgSO₄ . 7 H₂O a
0,65 ml H₃PO₄ (85 % hmot.).

Přídavkem čpavkové vody (25 % NH₃) bylo pH sulfitových výluhů upraveno na hodnotu 5.

Jako stimulátor růstu byly použity zahuštěné melasové výpalky (74 % hmot. sušiny) z lihovaru pracujícího Boinotovým způsobem výroby. Obsah draslíku byl 11,2 % hmot., a obsah celkového N 4,6 % hmot. v sušině.

Kultivace byly zahajovány přídavkem inokula v množství 2,2 g/l kvasničné sušiny a vedly se při teplotě 30 °C a pH 5,0. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 1.

Tabulka 1

Pokus číslo	1	2	3	4	5
Přídavek sušiny melasových výpalků g/l	0	0,5	1,0	1,5	2,0
Doba kultivace h	11	10,5	10	10	10
Přírůstek kvasničné sušiny g/l	14,5	15,0	15,5	15,6	15,5
Výtěžnost kvasničné sušiny z RL výluhů g/g	0,403	0,417	0,430	0,433	0,430

Přídavek melasových výpalků k sulfitovým výluzům zkracoval dobu kultivace a zvyšoval výtěžnost. Při dávce vyšší než 1,5 kilogramu sušiny výpalků na m³ se stimulační účinek již dále nezvýšil.

Příklad 2

Ve fermentoru popsaném v příkladu 1 byla provedena kultivace kvasinky *Candida utilis* na hydrolyzátu dřeva, ke kterému byly přidány jako jediný zdroj draslíku lihovarské melasové výpalky.

Původní dřevný hydrolyzát obsahoval 2,2 procenta hmot. redukujících látek, 0,58 % hmot. kyseliny sírové, 0,32 % hmot. organických kyselin a 390 ml/l furalu. Před kultivací byl hydrolyzát zneutralizován nejprve vápenným mlékem na pH 3,5 a pak čpavkovou vodou na pH 4,5. Vyloučený síran vápenatý se odstředil, hydrolyzát se pro snížení inhibičního působení furalu zředil vodou na obsah redukujících látek 10 g/l a doplnil živinami v množství

0,15 g MgSO₄ . 7 H₂O a
0,23 ml H₃PO₄ (85 % hmot.) na litr.

Jako zdroj draslíku se na litr zředěného hydrolyzátu přidávalo 1,00 g zahuštěných melasových výpalků, což odpovídá 0,73 g sušiny. Složení melasových výpalků je uvedeno v příkladu 1.

Na počátku kultivace se přidalo inoku-

lum v množství 1,2 g/l kvasničné sušiny. Kultivace se vedla při teplotě 30 °C a pH se upravovalo přídavkem čpavkové vody na 4,5. Na konci kultivace, která trvala 5 hodin 30 minut, bylo v médiu stanoveno 5,6 g na litr kvasničné sušiny, což odpovídá výtěžnosti 0,44 g sušiny z 1 g redukujících látek.

Příklad 3

V laboratorním, mechanicky míchaném fermentoru, s celkovým obsahem 2 l, s užitečným plněním 0,8 l a přenosem kyslíku charakterizovaným siřičitanovým číslem 220 mmol O₂/l . h, byla provedena kontinuální kultivace kvasinek *Candida utilis* na kalcium-bisulfitových výluzích, ke kterým byly jako zdroj draslíku a jako neutralizační prostředek přidány melasové lihovarské výpalky.

Složení sulfitových výluhů i melasových výpalků je uvedeno v příkladě 1. U sulfitových výluhů byla navíc titračně stanovena spotřeba báze na úpravu pH na hodnotu 4,5, a to 0,107 g-ekvivalentů/l.

Kultivační pokus byl zahájen jednorázovou kultivací na sulfitových výluzích neutralizovaných čpavkovou vodou, ke kterým bylo přidáno potřebné množství kyseliny fosforečné, síranu hořečnatého a dále melasové výpalky v množství, odpovídajícím jejich použití jako zdroj draslíku.

Při vlastní kontinuální kultivaci přitéka-

ly do fermentoru sulfitové výluhy, obsahující v litru tyto živiny:

- 1 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$,
- 0,6 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$,
- 1 ml kyseliny fosforečné (85 % hmot. H_3PO_4) a
- 55,8 g zahuštěných melasových výpalků (74 % hmot. sušiny).

Dávka melasových výpalků odpovídá 41,3 g

sušiny na litr výluhů, z čehož 2,9 g je spotřeba výpalků jako zdroje draslíku a 38,4 g připadá na neutralizaci média.

Kultivační teplota byla 35 °C a pH se udržovalo přidávkem öpavkové vody na hodnotě 4,5. Při zředovací rychlosti 0,25 h⁻¹ se dosáhlo rovnovážné koncentrace kvasničné sušiny 22 g/l, což odpovídá výtěžnosti podstatně vyšší, než se dosahuje na obou surovinách při odděleném zpracovávání.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob výroby kvasničných bílkovin z hydrolyzátů celulóзовých materiálů nebo ze sulfitových výluhů, vyznačený tím, že se k hydrolyzátům nebo sulfitovým výluhům před kultivací přidávají melasové výpalky jako

stimulátor růstu kvasinek, jako zdroj draslíku a případně i jako neutralizační prostředek v množství 0,5 až 70 kg sušiny na metr³.