



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

205 659

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

(61) Autorské osvědčení závislé na A.O. 198422

(23) Výstavní priorita

(22) Přihlášeno 08 01 79

(21) PV 177-79

(11)

(B1)

(51) Int. Cl.³ G 12 P 7/48

(40) Zveřejněno 29 08 80

(45) Vydáno 01 09 83

(75)

Autor vynálezu LEOPOLD JINDŘICH doc. dr. ing., PLZEŇ, ČERNÝ VÁCLAV ing.,
PAŠEK JAROSLAV, KAZNĚJOV a RŮŽIČKOVÁ LUDMILA ing., HORNÍ BŘÍZA

(54) Způsob přípravy kvasného melasového roztoku pro citronové kvašení

1

Vynález se týká způsobu přípravy kvasného melasového roztoku pro citronové kvašení závislého na postupu podle čs. autorského osvědčení č. 198422.

V melasovém substrátu kvasnou cestou vyrobená kyselina citronová obsahuje často karbonizující látky, jejichž množství překračuje hranici, stanovenou předpisem British Pharmacopoeia 1973 (BP 73). Množství karbonizujících látek v kyselině citronové je dáno druhem melasy, způsobem přípravy kvasného substrátu použitým produkčním kmenem houby *Aspergillus niger* a pravděpodobně ještě jinými faktory. Zásahy k odstranění karbonizujících látek jsou obvykle provedeny na úseku izolace a krystalizace kyseliny citronové.

V popise vynálezu k čs. autorskému osvědčení č. 197936 je popsán vynález, který zasahuje kvasné části výrobního procesu kyseliny citronové a podle něhož lze, vhodnou přípravou kvasného substrátu snížit obsah karbonizujících látek v krystalech kyseliny citronové na úroveň, vyhovující požadavku BP-73. Melasové substráty, které jsou připraveny jiným způsobem často indukují tvorbu kyseliny citronové s nevyhovujícím obsahem karbonizujících látek.

U naposled jmenovaných a jiným způsobem přípravy kvasného melasového substrátu lze však podle vynálezu též docílit krystaly kyseliny citronové s nízkým obsahem karbonizujících látek, vyhovujícím BP-73. Při přípravě melasového substrátu jakýmkoliv způsobem (vyjma způsobu podle čs. autorského osvědčení č. 200415, u kterého se tvoří též málo karbonizují-

cích látek) se přidá podle vynálezu po ukončení varu, to je po proběhnutí reakce mezi hexakynoželeznatanem se složkami melasy, do stále vroucího roztoku formaldehyd ve formě 40 % formalínu a vaří se dále určitou dobu (např. 15 min. nebo déle). Dávku formalínu je nutno volit tak, aby se jeho vytěsňováním a reakcí s volnými $\text{Fe}(\text{CN})_6$ ionty snížilo jeho množství na koncentraci, kdy slouží jako preventivní antiseptikum. Tato dávka (asi 88 mg HCOH/l nebo 0,22 ml 40 % formalínu/l substrátu) nebrání ani klíčení konidií ani růstu mycelia produkční houby *Aspergillus niger* a nesnižuje tvorbu kyseliny citronové. Při 15minutovém do-
datečném varu lze použít množství formaldehydu 220 mg respektive 0,55 l 40 % formalínu na 1 litr hotového substrátu. Při větší původní dávce formalínu je třeba dobu varu patřičně prodloužit, aby konečná koncentrace formaldehydu v substrátu nepřekročila shora uvedený limit. Mimoto nelze zapomenout, že se podle čs. autorského osvědčení č. 198422 část volných $\text{Fe}(\text{CN})_6$ iontů rozkládá varem s formaldehydem, takže se jejich eventuálně optimální koncentrace sníží a je proto třeba tento úbytek kompenzovat přidáním hexakynoželeznatanu draselného po doplnění substrátu studenou vodou na konečný objem. Také je možno postupovat tak, že se původní dávka hexakynoželeznatanu draselného zvýší o tolik, aby jeho obsah v roztoku po varu s formalínem byl stejný jako při pokusu bez formalínu. Do zchlazeného substrátu se přidá podle vynálezu za míchání ředěnou suspensi bentonitu ve vodě v množství 0,001 až 0,05 % objemových počítáno na objem. V takto podle vynálezu připravených melasových substrátech vzniká kvašením houbou *Aspergillus niger* kyselina citronová, jejíž krystaly po zkoušení standardním testem obsahují karbonizující látky v množství pod 1,0 (BP 73).

Při srovnání běžného starého způsobu přípravy substrátu se substrátem připraveným podle vynálezu, tj. nakonec vařeného 1/4 hod. s formalínem a s přísadou bentonitu do zchlazeného substrátu, byla stanovena následující množství karbonizujících látek v citranech vápenatých a v krystalech kyseliny citronové z nich získaných (tabulka 1).

Tabulka 1

Obsah karbonizujících látek v citranech vápenatých a v krystalech kyseliny citronové, jejichž kvasná média byla připravena podle starého způsobu, z nichž polovina byla, podle vynálezu, ještě vařena s formalínem a do zchlazeného substrátu byl přidán bentonit

Nevařeno s HCOH		Vařeno s HCOH	
Ca citran	kys.citronová	Ca citran	kys. citronová
10,5	1,25	8,0	0,8
15,5	1,1	10,5	0,7
13,0	1,05	9,0	0,65
10,5	1,05	2,5	0,5

Jak vyplývá z tabulky 1, překračuje obsah karbonizujících látek v krystalech kyseliny citronové pocházejících z melasových roztoků vařených běžným způsobem normu BP-73, zatímco je obsah karbonizujících látek pod normou, byly-li řešené roztoky podle vynálezu povařeny s formalínem a byl-li do zchlazeného substrátu přidán bentonit. V naposled jmenovaných pří-

padech dosahují též Ca-citrany méně karbonizujících látek. Pomocí vynálezu byl obsah karbonizujících látek v krystalech kyseliny citronové obvykle snížen o cca 35 %, někdy o 50 %.

Způsob přípravy melasového substrátu podle vynálezu byl dále konfrontován se způsoby podle čs. patentů č. 121852 a č. 130943 a s dvěma laboratorními způsoby. U jednoho laboratorního způsobu (lab. I) byl substrát vařen 20 min. ve smaltované nádobě v konečném objemu, zatímco v druhém případě (lab. II) byl substrát připraven v uzavřené varné nádobě za 1/2 hod. varu přímou parou za míchání při kyselé reakci, která byla neutralizována roztokem NaOH. Substráty podle vynálezu byly připraveny analogicky s tím rozdílem, že byl přidán 40 % formalín 15 min. před ukončením varu a po zchlazení substrátu bentonit. V tabulce 2 jsou zachyceny výsledky stanovení množství karbonizujících látek v citranech vápenatých a v krystalech kyseliny citronové. Pouze z jednoho substrátu, připraveného podle způsobu lab. I, byla získána kyselina citronová s nižším obsahem karbonizujících látek než předepisuje BP-73, kvalita dvou vzorků kyseliny citronové ze substrátu L-V byla na hranici a dvavzorky ze substrátu lab. I a lab. II nevyhovovaly. Naproti tomu ležel obsah karbonizujících látek všech vzorků kyseliny citronové pocházejících ze substrátů připravených podle vynálezu (var s formalínem a s přísadou bentonitu) pod hranicí stanovenou BP-73. Též obsah karbonizujících látek v Ca-citranech ze substrátů získaných podle vynálezu je nižší než u citranů pocházejících z běžných substrátů.

Tabulka 2

Obsah karbonizujících látek v citranech vápenatých a v krystalech kyseliny citronové, jejichž kvasná média byla připravena podle čs. patentu č. 121852 a č. 130943 (L-V) a podle laboratorních způsobů (lab. I a lab. II). Druhá polovina byla podle vynálezu ještě vařena s formalínem a obdržela přísadu bentonitu.

Způsob přípravy melasového substrátu	Nevařeno s HCOH		Vařeno s HCOH	
	Ca-citran	kys. citronová	Ca-citran	kys. citronová
L-V	13,0	1,0	8,0	0,7
L-V	15,5	1,0	10,5	0,7
lab. I	10,5	1,25	8,0	0,8
lab. I	11,5	0,8	2,5	0,5
lab. II	14,5	1,5	11,5	0,9
lab. II	16,8	1,75	12,4	1,0

P ř í k l a d 1

Připraví se melasový substrát podle starého způsobu tak, že se smíchá voda a melasa při 80 °C v takovém poměru, aby koncentrace cukru ve vzniklém roztoku byla přibližně 32 %. Přidá se tolik kyseliny sírové, aby roztok vykazoval pH 6,6 - 6,8, dále 55 až 60 ml kyseliny fosforečné (sp. hm. 1,250) a 0,25 kg hexakvanoželeznatenu draselného, obě množství na 100 kg melasy. Roztok se za stálého míchání zahřeje do varu, který se udržuje 3/4 hod., načež se přidá na 100 kg melasy 200 ml formalínu (40 %), za jehož přítomnosti se vaří

205 658

roztok ještě 1/4 hod. Po ukončení varu se připustí tolik studené, biologicky nezávadné vody, aby koncentrace cukru v roztoku byla 15 %. Teplota substrátu klesne na 55 až 60 °C, načež se přidá za míchání 0,02 % bentonitu. Do některých melasových roztoků se přidává 4 až 8 g síranu zinečnatého na 100 kg melasy. Substrát se napustí do misek kvasné komory, naočkuje se konidii produkční houby *Aspergillus niger* a nechá kvasit při 32 °C po dobu 8 až 9 dnů. Po ukončení kvašení je v průměrném vzorku vysrážena kyselina citronová jako citran vápenatý a dále zpracován na krystal kyseliny citronové, vše podle standardní laboratorní metody. V citranu vápenatém a v krystalech kyseliny citronové je zkoušen obsah karbonizujících látek podle British Pharmacopoeia 1973. Obsah karbonizujících látek v citranu vápenatém je 9,5, v krystalech kyseliny citronové 0,75. Odpovídající hodnoty citranu vápenatého a kyseliny citronové z kvasných pokusů na substrátu připraveném stejným způsobem jak bylo popsáno, avšak bez varu v přítomnosti formalínu a bez přísady bentonitu, jsou 15,3 respektive 1,1.

P ř í k l a d 2

Melasový substrát je připraven podle čs. patentu č. 121852 tak, že se v předloze vody (asi 60 dílů na 100 dílů použité melasy) rozpustí 0,6 kg hexakynoželeznatanu draselného na 100 kg melasy. Roztok se zahřeje na 95 až 100 °C, načež se za míchání a udržení teploty připouští melasa zároveň s takovým množstvím kyseliny sírové, aby pH vznikajícího roztoku bylo 6,6 až 6,8. Po přítoku veškeré melasy a přidavku 55 ml kyseliny fosforečné (sp. hm. 1,250) na 100 kg melasy se ještě vaří 20 min, 1/4 hod. před koncem varu se přidá 200 ml formalínu (40 %) na 100 kg melasy a vaří se do konce. Doplní se studenou vodou na konečný objem (15 % cukru) a přidá se do hotového roztoku 0,025 % bentonitu. Vzorek ze zkvašeného substrátu je zpracován stejně jako u příkladu 1. Obsah karbonizujících látek v citranu vápenatém a v krystalech kyseliny citronové je 8,0 respektive 0,7. Analogické hodnoty vzorků ze substrátu připraveného stejným způsobem, avšak bez varu s formalínem a bez přísady bentonitu jsou 13,0 respektive 1,0.

P ř í k l a d 3

Melasový substrát je připraven podle čs. patentu 130943, tj. podle příkladu 2 s tím rozdílem, že se napustí do předlohy vody s hexakynoželeznatanem draselným asi 1/8 melasy a potom veškeré množství kyseliny sírové, potřebné k neutralizaci melasy; dále se postupuje stejně jak popsáno v bodu 2. Obsah karbonizujících látek v citranu vápenatém a v krystalech kyseliny citronové je 6,5 respektive 0,5. Analogické hodnoty vzorků ze substrátu připraveného stejným způsobem, avšak bez varu s formalínem a bez přísady bentonitu jsou 13,5 respektive 1,6.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob přípravy kvasného melasového roztoku pro citronové kvašení podle A0 č. 198422, vyznačený tím, že se do zchlazeného substrátu přidá bentonit v množství 0,001 až 0,05 objemových procent.