



Patent dodatkowy
do patentu nr _____

Zgłoszono: 10.08.77 (P. 200179)

Pierwszeństwo _____

Zgłoszenie ogłoszono: 12.03.79

Opis patentowy opublikowano: 30.10.1981

Int. Cl.²

C12B 3/04

CZYTELNIA

Urzedu Patentowego

Twórcy wynalazku: Jerzy Żęcin, Adam Jaworski

Uprawniony z patentu: Zakład Doświadczalny Produkcji Kwasu Cytrynowego, Zgierz (Polska)

Sposób sterylizacji podłoży melasowych do fermentacji cytrynowej

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób sterylizacji podłoży melasowych do fermentacji cytrynowej.

Fermentacja cytrynowa prowadzona jest na podłożach melasowych z dodatkiem odpowiednich szczepów pleśni *Aspergillus niger*. Istotnym czynnikiem dla prawidłowego i wydajnego przebiegu procesu fermentacji cytrynowej, w efekcie której uzyskuje się kwas cytrynowy, jest czystość podłoża melasowego. Podłoże to jest szczególnie podatne na zakażenie różnorodnymi bakteriami, przy czym wstępne zakażenie powodują zazwyczaj przetrwalniki bakterii odporne na działanie temperatur do 100°C w ciągu stosunkowo długiego czasu wynoszącego 30 minut, a nawet więcej.

W warunkach przemysłowej biosyntezy kwasu cytrynowego na podłożach melasowych, zakażenie bakteryjne powoduje poważne zaburzenia procesu fermentacji, a niekiedy całkowite zahamowanie wzrostu pleśni i przerwanie biosyntezy kwasu cytrynowego.

Do najczęściej stosowanych metod sterylizacji podłoży melasowych należy metoda termiczna, polegająca na ogrzewaniu melasu w temperaturze 115–120°C i podwyższonym ciśnieniu przez co najmniej 1 godzinę.

W warunkach tych następuje jednak karmelizacja cukru, zwiększenie zawartości inwertu oraz kompleksów białkowo-cukrowych, co powoduje znaczne obniżenie przydatności podłoży do fermentacji w ogóle, a w szczególności do fermentacji

2

cytrynowej, gdyż ich wydajność fermentacyjna wynosi 30–45%.

Znane są również inne metody sterylizacji, polegające na dodawaniu do podłoży melasowych środków chemicznych, niszczących niepożądaną florę bakteryjną. Do środków tych należą antybiotyki oraz sulfonamidy.

Opisane środki chemiczne wykazują jednak ograniczony zakres działania i podrażają koszt produkcji kwasu cytrynowego. Ponadto stosowanie antybiotyków prowadzi do wytworzenia i rozpowszechnienia się szczepów bakteryjnych, odpornych na antybiotyki.

Celem wynalazku jest opracowanie metody sterylizacji podłoży melasowych do fermentacji cytrynowej, łączącej pasteryzację z działaniem środka chemicznego i umożliwiającej uzyskanie podłoży jałowych o zwiększonej wydajności fermentacyjnej.

Cel ten osiągnięto drogą łagodnej pasteryzacji podłoży melasowych, prowadzonej w temperaturze poniżej 100°C i połączonej z działaniem aktywnego chloru.

Sposób według wynalazku polega na tym, że ogrzewa się wodny roztwór melasu w temperaturze 80°C przez 15–30 minut, po zakończeniu zaś ogrzewania roztwór schładza się do temperatury 40–50°C, po czym dodaje się wapno chlorowane, ewentualnie z dodatkiem aktywatora w postaci chlorku amonowego tak, aby stężenie końcowe aktywnego chloru wynosiło 0,1–0,2% g/V i przez

5—30 minut prowadzi się proces chlorowania, a następnie uzupełnia się roztwór podłoża sterylnymi pożywkami i doprowadza do nagłego zawrzenia w ciągu 2—5 minut.

Zbliżone wyniki uzyskuje się, jeśli do wodnego roztworu wapna chlorowanego o temperaturze 40—80°C ewentualnie z dodatkiem aktywatora w postaci chlorku amonowego o stężeniu końcowym aktywnego chloru, wynoszącym 0,1—0,5% g/V, wprowadzi się melas, a następnie podgrzeje się roztwór do temperatury 80°C, utrzymując ją przez 15—30 minut, po zakończeniu zaś ogrzewania uzupełni się roztwór podłoża sterylnymi pożywkami i doprowadzi do nagłego zawrzenia w ciągu 2—5 minut.

Uzyskane podłoża melasowe charakteryzują się dużą sterylnością oraz 2—2,5-krotnie zwiększoną wydajnością fermentacyjną w porównaniu z podłożami, uzyskanymi metodą sterylizacji bądź gotowania.

Przykład I. W sterylizatorze umieszcza się 1350 kg melasu i rozcieńcza się wodą do zawartości cukru, wynoszącej 15%, po czym podgrzewa się roztwór przy ciągłym mieszaniu do temperatury 80°C i utrzymuje w tej temperaturze przez 15 minut. Po zakończeniu ogrzewania roztwór schładza się do temperatury 40°C, dodaje się wapno chlorowane z aktywatorem w postaci chlorku amonowego tak, aby stężenie końcowe aktywnego chloru wynosiło 0,1% g/V i przez 5 minut prowadzi się proces chlorowania. Po zakończeniu chlorowania uzupełnia się podłoże sterylną pożywką w postaci fosforanów potasu i doprowadza się do nagłego zawrzenia w ciągu 2 minut.

Uzyskane podłoże melasowe jest jałowe, a jego wydajność fermentacyjna jest dwukrotnie wyższa od wydajności fermentacyjnej podłoży uzyskanych znanymi sposobami.

Przykład II. Do sterylizatora wlewa się 3500 kg wody i podgrzewa ją do temperatury 40°C, po czym dodaje się wapno chlorowane z dodatkiem

aktywatora w postaci chlorku amonowego tak, aby stężenie końcowe aktywnego chloru wynosiło 0,2% g/V. Następnie wprowadza się w sposób ciągły melas aż do osiągnięcia zawartości 15% cukru w roztworze, po czym roztwór podgrzewa się do temperatury 80°C i utrzymuje ją przez 30 minut. Po zakończeniu ogrzewania uzupełnia się podłoże sterylną pożywką w postaci siarczanu cynkowego i doprowadza się do nagłego zawrzenia w ciągu 2 minut.

Uzyskane podłoże melasowe jest jałowe, a jego wydajność fermentacyjna jest 2,5-krotnie wyższa od wydajności fermentacyjnej podłoży, uzyskanych znanymi sposobami.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób sterylizacji podłoży melasowych do fermentacji cytrynowej, **znamienny tym**, że wodny roztwór melasu ogrzewa się w temperaturze 80°C przez 15—30 minut, po zakończeniu zaś ogrzewania roztwór schładza się do temperatury 40—50°C, po czym dodaje się wapno chlorowane, ewentualnie z dodatkiem aktywatora w postaci chlorku amonowego tak, aby stężenie końcowe aktywnego chloru wynosiło 0,1—0,2% g/V i przez 5—30 minut prowadzi się proces chlorowania, a następnie uzupełnia się roztwór podłoża sterylnymi pożywkami i doprowadza do nagłego zawrzenia w ciągu 2—5 minut.

2. Sposób sterylizacji podłoży melasowych do fermentacji cytrynowej, **znamienny tym**, że do wodnego roztworu wapna chlorowanego o temperaturze 40—80°C, ewentualnie z dodatkiem aktywatora w postaci chlorku amonowego o stężeniu końcowym aktywnego chloru, wynoszącym 0,1—0,5% g/V, wprowadza się melas, a następnie podgrzewa się roztwór do temperatury 80°C i utrzymuje ją przez 15—30 minut, po zakończeniu zaś ogrzewania uzupełnia się roztwór podłoża sterylnymi pożywkami i doprowadza do nagłego zawrzenia w ciągu 2—5 minut.