

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY 92872

Patent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 29.07.74 (P. 185526)

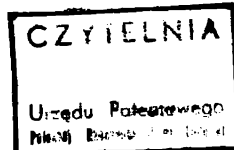
Pierwszeństwo: _____

Zgłoszenie ogłoszono: 02.05.75

Opis patentowy opublikowano: 30.12.1978

MKP A23I 1/20

Int. Cl.² A23L 1/20



Twórcy wynalazku: Stefan Poznański, Włodzimierz Bednarski, Halina Kozłowska,
Antoni Rutkowski, Jadwiga Andrzejewska, Bożena Lossow

Uprawniony z patentu : Akademia Rolniczo-Techniczna, Olsztyn (Polska)

Sposób hydrolizy tioglikozydów wyekstrahowanych serwatką z rzepaku

Przedmiotem wynalazku jest sposób hydrolizy tioglikozydów uprzednio wyekstrahowanych za pomocą serwatki z rzepaku.

Dotychczas znany jest z polskiego opisu patentowego nr 76310 mikrobiologiczny sposób usuwania związków toksycznych z makuchów roślinnych.

Wspomniany sposób polega na tym, że makuchy rzepakowe poddaje się działaniu grzybów *Geotrichum candidum*. W środowisku wodnym uzupełnionym dodatkiem $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Hodowlę grzybów prowadzi się w fermentorach w temperaturze 30–45°C przy kwasowości środowiska pH 4,0–6,5 przez 48 godzin. Po hodowli drożdży *Geotrichum candidum* prowadzi się ekstrakcję czystych białek z makuchów oraz ich wysalanie lub strącanie w punkcie izoelektrycznym. Uzyskane preparaty białkowe suszy się.

Sposób pozwala na usunięcie związków siarkowych z rzepaku w tym również toksyczne tioglikozydy pochodne VTO.

Ekstrakcję tioglikozydów ze śruty bądź z nasion rzepaku można również prowadzić przy użyciu wody, rozpuszczalników organicznych lub serwatki – według polskiego opisu nr 88088. W procesie ekstrakcji do serwatki oprócz tioglikozydów przechodzą inne niskocząsteczkowe związki wymywane z rzepaku takie jak: cukry, rozpuszczalne niskocząsteczkowe związki azotowe, związki mineralne, związki barwne – fenole, które dodatkowo wzbogacają serwatkę. Ilość związków rozpuszczalnych przechodzących do serwatki wynosi od 10–14% składników suchej masy rzepaku. Zawartość substancji wolotwórczych pochodnych VTO L–5 winylo-2-tiooxazolidonu waha się od 55,0 do 65 mg/litr serwatki poekstrakcyjnej. Otrzymane ekstrakty w końcowej fazie procesu są odprowadzone do ścieków zatruwając wody odpływowe z zakładu przetwórczego lub wymagają bardzo kosztownego i kłopotliwego oczyszczenia.

Znane są również sposoby namnażania biomasy drobnoustrojów na podłożu z serwatki. W tym celu serwatkę wzbogaca się dodatkiem związków mineralnych: azotu, fosforu, siarki, magnezu np. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$, K_2HPO_4 , MgSO_4 itp. w ilości 0,1–1,0%. Hodowlę bakterii lub drożdży prowadzi się najczęściej metodą wglębną przy intensywnym napowietrzaniu podłoża w temperaturze 25–45°C przez 10–20 godzin.

Natomiast pleśń namnaża się metodą hodowli wgłębnej lub powierzchniowej w temperaturze 25°C przez 60–96 godzin. Uzyskaną biomasę oddziela się od podłoża względnie suszy się łącznie z podłożem.

Według wynalazku serwatkę, którą uprzednio zastosowano do odgoryczenia rzepaku wzbogaca się niewielką ilością mikroelementów takich jak: azot, fosfor, potas, magnez i doprowadza kwasowość czynną środowiska do pH 4,0–6,5 w znany sposób. Następnie na otrzymanym podłożu serwatki przeprowadza się namnażanie wybranych szczepów bakterii: *Streptococcus lactis* lub *Streptococcus cremoris* lub *Escherichia Coli* lub drożdży: *Saccharomyces fragilis* lub *Candida tropicalis* var *lactosa* lub grzybki kefirowe lub pleśni: *Oidium lactis* lub *Oospora lactis* lub *Byssoschlamys fulva*, które z jednej strony zdolne są do hydrolizy tioglikozydów a z drugiej strony do biosyntezy biomasy ze składników serwatki i substancji pochodzących z rzepaku. Hodowlę drobnoustrojów na tym podłożu prowadzi się w warunkach optymalnych dla poszczególnych szczepów aż do ubytku substancji pochodnych VTO w granicach 35,0–90,0%; wykorzystania cukrów w granicach 20,0–1000%; przyrostu białka netto od 1,1 gram/litr w przypadku bakterii a w przypadku drożdży i pleśni do 18,0 gram/litr. Następnie otrzymaną biomasę oddzielnie lub łącznie z podłożem poddaje się suszeniu w znany sposób.

Sposób według wynalazku pozwala na całkowite unieszkodliwienie związków toksycznych typu tioglikozydów wyekstrahowanych z rzepaku za pomocą serwatki w wyniku ich hydrolizy z jednoczesną biosyntezą białka o wyższej wartości biologicznej niż w przypadku stosowania tradycyjnego podłoża z serwatki. Z uwagi na wzbogacenie podłoża składnikami wyekstrahowanymi z rzepaku sposób ten umożliwia zmniejszenie średnio o 50% ilości wymaganych mikroelementów tradycyjnie wprowadzonych do serwatki przed hodowlą drobnoustrojów w celu zapewnienia intensywnego ich rozwoju. Sposób ten pozwala na zagospodarowanie serwatki jako paszy bez dodatkowego wytwarzania ścieków, które zatrują środowisko.

Sposób postępowania według wynalazku wyjaśniają bliżej przykłady.

Przykład I. Do 1000 litra serwatki otrzymanej po ekstrakcji nasion rzepaku dodaje się niezbędne związki chemiczne w następującej ilości: 0,1% NH_4NO_3 , 0,01% K_2HPO_4 , 0,01% $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ przy zachowaniu proporcji C : N : P = 1 : 0,7 : 0,2. Kwasowość czynną podłoża ustala się dodatkiem kwasów lub ługów do wartości pH 5,5. Tak przygotowane podłoże zaszczepia się 48 godzinnym inoculum pleśni *Oidium lactis* w ilości 5% podłoża. Hodowlę prowadzi się w warunkach tlenowych w fermentorach stosując napowietrzanie i mieszanie środowiska w temperaturze 28°C przy pH 5,5 przez 48 godzin. Hodowlę drobnoustrojów prowadzi się do momentu całkowitej utylizacji substancji energetycznych obecnych w podłożu. Uzyskaną biomasę oddziela się od podłoża przez wirowanie lub prasowanie i suszy metodą konwencjonalną w standardowych warunkach. Wydajność biomasy białka wynosi od 1,1 gram do 15,0 gram białka/litr podłoża. Stopień hydrolizy substancji pochodnych VTO sięga od 30,3–91,0%. Z 1000 litrów serwatki wzbogacone w niskocząsteczkowe substancje wyekstrahowane z nasion rzepaku uzyskano 50 kg biomasy pleśniowej o zawartości białka 50% i wysokiej zawartości witamin z grupy B, którą można stosować jako dodatek przy produkcji mlekopanu lub w produkcji wysokowartościowych mieszanek paszowych.

Przykład II. Podłoże z serwatki przygotowuje się sposobem opisanym w przykładzie I. Kwasowość podłoża doprowadza się pH 5,5 dodatkiem kwasów lub ługów. Następnie podłoże zaszczepia się inoculum drożdży *Saccharomyces fragilis* lub *Candida tropicalis* var *lactosa*. Hodowlę drożdży prowadzi się w fermentorze przy intensywnym napowietrzaniu podłoża 4–8 litrów tlenu na minutę przez okres od 10–18 godzin. Uzyskaną biomasę drożdży oddziela się od podłoża względnie suszy się łącznie z podłożem.

Stopień hydrolizy substancji pochodnych VTO wynosi od 45–85%. Z 1000 litrów serwatki wzbogaconej w niskocząsteczkowe substancje wyekstrahowane z nasion rzepaku uzyskuje się 40–60 kg biomasy drożdży o zawartości 40–50% białka.

Przykład III. Kwasowość podłoża z serwatki po ekstrakcji z nasion rzepaku przygotowanej jak w przykładzie I doprowadza się do pH 6,5–7,0 i zaszczepia się inoculum bakterii *Streptococcus cremoris* lub *Streptococcus lactis* lub *Escherichia Coli*. Hodowlę bakterii *Streptococcus lactis* lub *Streptococcus cremoris* prowadzi się w fermentorach w temperaturze 25–28°C przez 12–18 godzin przy ciągłym mieszaniu 200 obr/min. Natomiast hodowlę bakterii *Escherichia Coli* prowadzi się w fermentorach w temperaturze 37°C przez 12–18 godzin.

Z 1000 litrów serwatki poekstrakcyjnej uzyskuje się od 10–15 kg biomasy o zawartości białka od 50–70% w zależności od rodzaju bakterii. Stopień hydrolizy pochodnych VTO wyekstrahowanych z nasion rzepaku wynosi 30–80%. Po hodowli podłoża wraz z biomasą suszy się.

Przykład IV. Na podłożu z serwatki przygotowanym sposobem jak w przykładzie I wstępnie namnaża się bakterie *Escherichia Coli* jak w przykładzie III a następnie podłoże zaszczepia inoculum pleśni *Oidium lactis* i prowadzi się ich hodowlę jak w przykładzie I.

Sposób hodowli mieszanej bakteryjno-pleśniowej umożliwia uzyskanie pełniejszej substancji pochodnych VTO w granicach 95% w stosunku do zawartości w podłożu przez hodowlę drobnoustrojów.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób hydrolizy tioglikozydów wyekstrahowanych serwatką z rzepaku, z n a m i e n n y t y m, że serwatkę poekstrakcyjną wzbogaca się w takie mikroelementy jak: azot, fosfor, potas, magnez i doprowadza kwasowość środowiska do pH 4,0–6,5 a następnie otrzymane podłoże zaszczebia się inoculum bakterii: *Streptococcus lactis* lub *Streptococcus cremoris* lub *Escherichia Coli* lub drożdży: *Saccharomyces Frágilis* lub *Candida tropicalis* var *lactosa* lub grzybki kefirowe lub pleśni *Oospora lactis* lub *Oidium lactis* lub *Byssochlamys fulvá*, zdolnych do jednoczesnej hydrolizy tioglikozydów i wykorzystania składników pochodzących z serwatki i wyekstrahowanych z rzepaku do biosyntezy biomasy, po czym prowadzi się hodowlę w warunkach optymalnych dla poszczególnych drobnoustrojów a otrzymaną biomasę oddzielnie lub łącznie z podłożem poddaje się suszeniu w znany sposób.