



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

224356

(11)

(B1)

(22) Přihlášeno 30 04 81

(21) (PV 3225-81)

(40) Zveřejněno 25 02 83

(45) Vydáno 01 12 85

(51) Int. Cl.³
A 23 J 1/16

(75)

Autor vynálezu

ŠTROS FRANTIŠEK ing. CSc., ŠESTÁKOVÁ MILADA ing. CSc.,
RYBÁŘOVÁ JOHANNA ing. CSc., ROSA MILAN ing. CSc., PRAHA

(54) Způsob výroby kvasničných bílkovin

Vynález se týká způsobu výroby kvasničných bílkovin z vedlejších produktů a meziproduktů cukrovarenského průmyslu.

Vedlejší produkty a meziprodukty cukrovarského průmyslu patří mezi klasické suroviny používané pro výrobu kvasničných bílkovin ke krmnému i potravinářskému použití. Nejčastěji používanými surovinami tohoto typu jsou řepná a třtinová melasa, navrhovány však byly i výroby kvasnic z řepné a difuzní šťávy, z černého sirupu apod. Jako produkční kultura se většinou používá *Candida utilis*, jejímž hlavními přednostmi jsou široké asimilační spektrum, příznivé morfologické vlastnosti a zdravotní nezávadnost prokázaná dlouhodobou provozní aplikací.

Výtěžnosti dosahované při průmyslové výrobě kvasnic z vedlejších produktů a meziproduktů cukrovarského průmyslu odpovídají obvykle 0,5 kg sušiny biomasy získané za 1 kg sacharózy obsažené v surovině. Při zpracovávání řepné melasy to např. odpovídá spotřebě 4 t melasy na výrobu 1 t suchých kvasnic. Tyto dosahované výtěžnosti jsou relativně nízké vezme-li se v úvahu, že teoreticky lze z 1 kg sacharózy dosáhnout až 0,6 kg kvasničné sušiny a že z melasy mohou kvasinky kromě sacharózy využívat i další zdroje uhlíku např. aminokyseliny a jiné organické kyseliny. Jednou z příčin nižší výtěžnosti je to, že v průběhu

kultivace vznikají ze sacharózy vedlejší metabolity jako acetaldehyd, etanol, kyselina octová a etylacetát, které jsou těkavé a snadno se z média vyvětrávají a jejichž zpětná přeměna na biomasu není již zdaleka tak efektivní jako přímá tvorba kvasničné hmoty ze sacharózy. Vysoké koncentrace sekundárních metabolitů mohou případně i brzdit růst kvasinek.

Tvorbu vedlejších metabolitů podporuje přítomnost některých doprovodných necukerných látek v surovině, vysoká koncentrace asimilovatelných cukrů v médiu a kultivace v limitu kyslíku nebo v jeho blízkosti. Pro dosažení vysokých výtěžností je proto při přítokových nebo kontinuálních kultivacích v médiu udržována nízká koncentrace cukrů a přebytek kyslíku. Nízká koncentrace cukrů však omezuje růstovou rychlost kvasinek a ze přebytku rozpuštěného kyslíku v médiu se plně nevyužívá výrobní kapacita fermentoru, snižuje se produktivita a stoupá měrná spotřeba elektrické energie.

Uvedené nedostatky odstraňuje způsob výroby kvasničných bílkovin z vedlejších produktů cukrovarského průmyslu podle vynálezu, při němž se kultivace provádí v přítomnosti směsné kultury, sestávající z kvasinky dobře asimilující sacharózu a z kvasinky neasimilující sacharózu, ale dobře využívající vedlejší metabolity jejího mikrobiálního odbourávání, zvláště etanol a etylacetát, při-

čemž obě kvasinky jsou ve směsné kultuře zastoupeny v poměru 1 : 1 až 9 : 1.

Kvasinkou dobře asimilující sacharózu může být *Candida utilis*, jako kvasinku neasimilující sacharózu a dobře využívající vedlejší metabolity lze použít *Torulopsis ethanolitolerans*.

Výhoda postupu podle vynálezu tkví v tom, že ani při vyšších koncentracích cukrů a při kultivacích v limitu kyslíku se v médiu nehromadí těkavé metabolity, které jsou okamžitě spotřebovávány kvasinkou neasimilující sacharózu, ale dobře využívající etanol a etylacetát. K akumulaci vedlejších metabolitů nedochází ani při zpracovávání surovin se zvýšeným podílem doprovodných necukrů. V důsledku toho jsou při aplikaci postupu podle vynálezu docilovány vyšší produktivita, příznivější měrná spotřeba elektrické energie na větrání a míchání a zvýšená výtěžnost.

Postup podle vynálezu je vysvětlen nikoliv však omezen následujícím příkladem.

Příklad

V laboratorním skleněném fermentoru o obsahu 30 l a užitečném plnění 15 l byly provedeny dvě srovnávací vsádkové kultivace kvasinek v melasové živné půdě. Fermentor je opatřen samonasávacím míchadlem a při vzdušnění 0,73 VVM je

dosahovaný přenos kyslíku charakterizován šifíci-tanovým číslem $200 \text{ mmol O}_2 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$.

Na počátku kultivací se fermentor naplnil 15 litry živného média, které obsahovalo 800 g melasy (400 g sacharózy), 39 g močoviny, 7 ml kyseliny fosforečné (85 % hmot.) a 2,5 g síranu hořečnatého ($7 \text{ H}_2\text{O}$). Potom se do média přidalo inokulum v množství odpovídající počáteční koncentraci kvasničné sušiny asi $2,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ a zahájilo se míchání a vzdušnění.

V průběhu obou kultivací se teplota udržovala na 33°C a pH v rozmezí 4,0 až 4,8 přidávkem roztoků hydroxidu draselného (20 % hmot.) respektive kyseliny sírové. Obě kultivace trvaly 5 hodin a v jejich průběhu se stanovovaly vázkovou metodou koncentrace kvasničné sušiny, polarograficky rozpuštěný kyslík a plynovou chromatografií koncentrace těkavých metabolitů v médiu.

S výjimkou kvality inokula byly podmínky obou srovnávaných kultivací naprosto shodné. U kontrolní kultivace K 1 byl jako inokulum použit koncentrát kvasinky *Candida utilis* RIFIS 49 (CCY 29 38 64) u kultivace K 2 směsná kultura tvořená kvasinkami *Candida utilis* RIFIS 49 (CCY 29 38 64) a *Torulopsis ethanolitolerans* RIFIS 235 (CCY 26 58 1) v poměru 1 : 1. Nejdůležitější údaje o průběhu obou kultivací jsou shrnuty v tabulce 1.

Tabulka 1

Hodina kultivace	Koncentrace kvas. sušiny $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$		Rozpuštěný kyslík % nasycení		Etanol $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$		Etylacetát $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$	
	K 1	K 2	K 1	K 2	K 1	K 2	K 1	K 2
0	2,6	2,5	100	100	122	13	0	0
1	3,0	3,1	75	79	1795	23	0	0
2	5,0	4,9	44	66	130	78	130	0
3	10,1	9,2	14	29	146	238	0	0
4	15,5	14,8	7	4	1300	210	103	0
5	16,5	18,9	52	37	6	8	0	0

Při kontrolní kultivaci samotné kvasinky *Candida utilis* vznikalo největší množství etanolu v počáteční fázi kultivace, kdy byla v médiu relativně vysoká koncentrace sacharózy a ve čtvrté hodině, kdy se kultivace dostávala do limitu kyslíku. Přibližně ve stejných obdobích byly dosaženy i vrcholy v koncentraci etylacetátu. Při kontrolní kultivaci K 1 byl dosažen výtěžnostní koeficient 0,521.

V médiu z kultivace směsné kultury bylo nalezeno podstatně méně etanolu a jeho tvorba nebyla podstatně ovlivněna ani koncentrací sacharózy, ani limitací kyslíkem. Octan etylnatý nebyl v médiu z této kultivace dokázán vůbec. Výtěžnostní koeficient dosažený při kultivaci směsi kvasinek byl 0,615, tj. podstatně vyšší než při kultivaci kontrolní.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob výroby kvasničných bílkovin z vedlejších produktů a meziproduktů cukrovarského průmyslu, vyznačený tím, že se kultivace provádí v přítomnosti směsné kultury sestávající z kvasinky dobře asimilující sacharózu a z kvasinky neasimilující sacharózu, ale dobře využívající vedlejší metabolity jejího mikrobiálního odbourávání, zvláště etanol a etylacetát, přičemž obě kvasinky jsou ve

směsné kultuře zastoupeny v poměru 1 : 1 až 9 : 1.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačený tím, že kvasinka dobře asimilující sacharózu je *Candida utilis* a kvasinka neasimilující sacharózu a dobře využívající metabolity je *Torulopsis ethanolitolerans*.