



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

219027
(11) (B1)

(51) Int. Cl.³
C 12 P 7/48

(22) Přihlášeno 03 05 81
(21) (PV 3416-81)

(40) Zveřejněno 30 07 82

(45) Vydáno 15 06 85

[75]
Autor vynálezu

ŠIROKÝ LUBOMÍR ing., KAZNĚJOV, LEOPOLD JINDŘICH doc. dr. ing.,
PLZEŇ

(54) Způsob výroby kyseliny citrónové povrchovým kvašením

1

2

Výroba kyseliny citrónové povrchovým kvašením melasových roztoků za použití mikroorganismů *Aspergillus niger* se provádí tak, že se v průběhu kultivace přivádí do komor stanovené množství vzduchu. Množství vháněného vzduchu a jeho teplota se řídí v závislosti na relativní vlhkosti vzduchu v komorách a na teplotě kvasného substrátu. Relativní vlhkost i teplota se mění podle časového průběhu kultivace.

Vynález se týká způsobu kultivace produkčních mikroorganismů *Aspergillus niger* při povrchovém zkvašování melasových roztoků na kyselinu citrónovou.

Jedním z důležitých technologických faktorů pro úspěšný průběh biosyntézy kyseliny citrónové při povrchovém kvašení pomocí průmyslových kmenů houby *Aspergillus niger* je vytvoření a udržení vhodných klimatických podmínek pro růst a metabolismus houby. Tyto podmínky zahrnují mimo jiné udržování optimální teploty, vlhkosti, přísunu kyslíku a umožnění plynulé výměny plyných metabolitů kvasného procesu. Interní klimatické podmínky v kvasných komorách jsou výslednicí, zejména množství vzduchu a způsobu jeho vhánění, jeho teploty a vlhkosti, intenzity metabolismu houby, velikosti plochy a objemu kvasného substrátu v komorách a tepelných ztrát. Jedná se tedy o složitý komplex dílčích technologických faktorů, které se však vzájemně ovlivňují. Hlavní dílčí složky klimatických podmínek, tj. teplota, vlhkost a množství vzduchu, popřípadě vliv CO_2 a O_2 , byly zkoumány různými autory dosud pouze odděleně, nikoliv však ve vzájemných souvislostech. Je známo, že udržování žádoucích klimatických podmínek je při průmyslové výrobě kyseliny citrónové povrchovým kvašením zajišťováno nepřetržitým vháněním značného množství přehřátého vzduchu do kvasných komor. Pro stanovení jeho množství se až dosud vychází z instalované kvasné plochy, resp. z poměru této kvasné plochy a objemu komory a udržení požadované teploty kvasného substrátu [Keil J., Chem. Rundschau **6**, 84 — 85, 1953; Karklinš R. Ja., Polučeniye org. kislot s pomošču plesněvych gribov roda *Aspergillus*, Riga 1969; Karklinš R. Ja., Proboks A. K., Biosintez org. kislot, Riga 1972]. Podle dosud známých technologických postupů se vháněné množství vzduchu pohybuje od 13,5 do 21,5 m^3 na m^2 kvasné plochy za hodinu. Řídicí technologickou veličinou bývá přitom teplota kvasného roztoku.

Protože proces biosyntézy kyseliny citrónové je velmi citlivý i na malé změny velkého počtu známých i dosud neznámých faktorů, přetrvává u výrobců tendence neměnit ty technologické podmínky, jejichž vliv nebyl dostatečně ověřen. Zatímco byla věnována značná pozornost nalezení optimálního průběhu teplotního režimu, přičemž se ukázalo, že tyto režimy mohou být rozdílné podle použitého produkčního kmene a kultivačního média [např. Owen W. L., Sugar **50**, 38 — 40, 1955; Leopold H., Fencel Z., Chem. Technik **10**, 507 — 515, 1958; Okholm L. J., Kem. Maanedst. nord. Handelsbl. kem. Ind. **41**, 17 — 21, 1960; Gorbataja E. I., Smirnov V. A., Prikl. bioch. i mikrobiol. **9**, 375 — 379, 1973], byl v daleko menší míře sledován vliv vlhkosti. I u vlhkosti se doporučované hodnoty značně liší. Např. J. Keil [Chem. Rundschau **6**, 84 — 85,

1952] uvádí široké rozmezí vlhkosti 45 až 90 % bez určení časového průběhu a podle USA patentu č. 1 779 001 je výhodné vzduch předsušovat, A. K. Banik [J. Food Sci. Technol. **12**, 111 — 114, 1975] doporučuje naproti tomu vlhčení vzduchu a G. I. Žuravskij s I. V. Aglišem [Mikrobiologija **30**, 886 až 889, 1961] zjistili, že optimální vlhkost činí 50 až 75 %, avšak pokusy při vlhkosti nižší než 50 % neprováděli a nezabývali se ani vztahem mezi vlhkostí a různou intenzitou aerace.

Systematické ověření vlivu množství vzduchu na povrchové citrónové kvašení v celém průběhu a určení vzájemné vazby hlavních dílčích parametrů, tj. teploty, vlhkosti a množství vzduchu v celkovém komplexu klimatických podmínek zatím v odborné literatuře chybí. Důsledkem tohoto stavu v průmyslové výrobě kyseliny citrónové povrchovým kvašením je ta skutečnost, že je používáno zbytečně silné aerace, nebo že není dostatečně využívána kubatura kvasných komor pro efektivní výrobu, z čehož vyplývají neúměrně vysoké nároky na spotřebu tepelné energie.

Uvedené nevýhody jsou odstraněny postupem podle vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, že kultivace produkčních mikroorganismů rodu *Aspergillus niger* při povrchovém citrónovém kvašení se provádí za přívodu vzduchu, jehož množství je sníženo na 2,7 až 10,7 m^3 na m^2 kvasné plochy za hodinu, přičemž toto množství se řídí v závislosti na vlhkosti vzduchu v kvasných komorách, která se na počátku kvašení udržuje v rozmezí 70 až 100 % a snižuje se v dalším průběhu na 45 až 78 %, a na teplotě kvasného média, jež se z počátečních 38 až 34 °C snižuje na 32 až 30 °C a ke konci se upraví na 28 až 24 °C. Tento postup vyplývá z dlouhodobých pokusů, provedených autory vynálezu, při nichž bylo prokázáno, že poměr objemu komory k ploše, resp. objemu substrátu a hodinová výměna vzduchu v komorách nejsou samy o sobě pro kultivaci houby a proces biosyntézy kyseliny citrónové kritické, nýbrž že pro úspěšný výsledek je rozhodující časový průběh vlhkosti vzduchu v komorách a teploty kvasného substrátu, přičemž aerace na plošnou jednotku produkčního mycelia může být podstatně snížena.

Způsob kultivace průmyslových mikroorganismů rodu *Aspergillus niger* při povrchovém zkvašování melasových roztoků na kyselinu citrónovou podle vynálezu umožňuje snížení spotřeby tepelné a elektrické energie při výrobě, zejména v zimním období. Další, technicky a ekonomicky výhodnou variantou postupu podle vynálezu je možnost podstatného zvýšení prostorového využití kvasných komor při rekonstrukcích stávajících nebo výstavbě nových výroben kyseliny citrónové, což by se projevilo ve snížení stavebních investičních nákladů.

Příklad 1

Vysterilizovaný melasový substrát obvyklého složení v kvasných nádobách umístěných ve větratelném systému se inokuluje konidiiem provozního kmene. Aerace se zahájí 60 minut po inokulaci a množství vháněného vzduchu činí $2,7 \text{ m}^3$ na m^2 kvasné plochy za hodinu. Relativní vlhkost vzduchu uvnitř systému se pohybuje v rozmezí 78 až 92 %, teplota kvasného substrátu vykazuje hodnotu 36 až 38 °C. Po 20 až 22 hodinách od inokulace je vytvořena souvislá blána mycelia na celém povrchu kvasných nádob. V této době se aerace zvýší na $5,4 \text{ m}^3$ na m^2 kvasné plochy za hodinu a teplota substrátu se postupně sníží na 32 °C. Za těchto podmínek pokračuje kultivace až do 144 hodin od inokulace, přičemž se relativní vlhkost vzduchu uvnitř systému pohybuje mezi 58 až 72 %. Během 144 až 150 hodin kvašení se teplota substrátu dále sníží na 28 °C. Při této teplotě probíhá kvasný proces až do 192 hodin, kdy se fermentace ukončí. Relativní vlhkost vzduchu v průběhu posledních 44 hodin vykazuje hodnoty 52 až 65 %. Výtěžek kyseliny citrónové na nasazený cukr činí 77,0 %.

Příklad 2

Melasový substrát je připraven, umístěn a inokulován stejně jako v příkladu 1. Vhánění vzduchu začíná 120 minut po inokulaci intenzitou $5,4 \text{ m}^3$ na m^2 kvasné plochy za hodinu a je až do konce kultivace konstantní. Vlhkost vháněného vzduchu se však upravuje tak, aby prvních 20 až 24 hodin fermentace činila 86 až 96 %, načež se až do konce kvasného procesu udržuje v roz-

mezí 46 až 65 %. Teplotní průběh zůstává stejný jako v příkladu 1. Po osmi dnech kvašení je dosaženo výtěžku kyseliny citrónové 81,7 % na nasazený cukr.

Příklad 3

Zpočátku se postupuje stejně jako v příkladu 1 a 2, avšak s tím rozdílem, že aerace se zahájí teprve 24 hod. po inokulaci. Relativní vlhkost vzduchu naměřená v prvních 24 hodinách uvnitř systému vykazuje hodnoty 92 až 98 %, teplota substrátu je udržována na 36 °C. Po 24 hodinách se začne vhánět vzduch v množství $5,4 \text{ m}^3$ na m^2 kvasné plochy za hodinu. Další průběh kvašení je stejný jako v příkladu 1. Po 192 hodinách fermentace činí výtěžek kyseliny citrónové na nasazený cukr 86,9 %.

Příklad 4

Kvasný substrát se připraví a inokuluje stejně jako v příkladu 1. Hodinu po inokulaci se začne vhánět vzduch, v množství $5,4 \text{ m}^3$ na m^2 kvasné plochy za hodinu. Po zahájení aerace leží hodnoty vlhkosti vzduchu uvnitř kultivačního systému v rozsahu 73 až 86 % a teploty substrátu v rozmezí 35 až 37 °C. Souvislá blána mycelia se vytvoří za 24 až 26 hodin, kdy se vzdušnění zvýší až do konce fermentace na $10,7 \text{ m}^3$ na m^2 kvasné plochy za hodinu a současně se sníží teplota substrátu na 30 °C. Vlhkost vzduchu až do konce kvašení činí 48 až 58 proc. Po 160 hodinách od inokulace se teplota substrátu sníží na 26 až 27 °C. Z nasazeného cukru se po osmi dnech kvašení získá 76,6 % kyseliny citrónové.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob výroby kyseliny citrónové povrchovým kvašením melasových roztoků za použití produkčních mikroorganismů *Aspergillus niger*, vyznačený tím, že kultivace produkčních mikroorganismů rodu *Aspergillus niger* při povrchovém kvašení se provádí za přívodu vzduchu, v množství $2,7 \text{ m}^3$ až $10,7 \text{ m}^3$ na m^2 kvasné plochy za hodinu,

přičemž toto množství se řídí v závislosti na vlhkosti vzduchu v kvasných komorách, která se na počátku kvašení udržuje v rozmezí 70 až 100 % a snižuje se v dalším průběhu na 45 až 78 %, a na teplotě kvasného média, jež se z počátečních 38 až 34 °C snižuje na 32 až 30 °C a ke konci se upraví na 28 až 24 °C.