

URZĄD PATENTOWY w WARSZAWIE OPIS PATENTOWY

cz. d. 1104

Nr 31936

Kl. 6 b, 16/02

Průmyslová Akciová Společnost Kaznějov-Bránsy, Praha

Sposób przyrządzania roztworów pożywkowych, np. roztworów melasowych, do technicznego wytwarzania kwasu cytrynowego przez fermentację

Zgłoszono 29 lutego 1940

Udzielono 19 czerwca 1943

Pierwszeństwo: 22 grudnia 1938 (Czechosłowacja)

Jak wiadomo pewne rodzaje pleśniowców z gatunku *Aspergillus*, *Citromyces*, *Mucor* i *Penicilium* posiadają zdolność przetwarzania cukru z roztworów na kwas cytrynowy.

Jako roztwory fermentujące można również stosować rozcieńczone melasy cukrowe (patrz patent niemiecki nr 461356), w których zawartość substancji pożywnych może być ewentualnie uzupełniona przez substancje mineralne zwłaszcza fosforany, znajdujące się w melasie przeważnie w ilości niedostatecznej. Fermentację przeprowadza się w ten sposób, że wyjałowiony roztwór pożywkowy melasy zaszczenia się zarodnikami odpowiednio wy-

branych i przeszczepianych pleśniowców wyżej podanych rodzajów. W odpowiedniej temperaturze np. 30°C zarodniki rozmnażają się szybko na powierzchni roztworu pożywkowego i tworzą micelę pleśniowcową, w której zachodzi proces przemiany cukru na kwas cytrynowy. Podczas tego procesu biochemicznego tylko część cukru uległa przemianie na kwas cytrynowy, podczas gdy część cukru zostaje zużyta do odbudowy organicznej substancji miceli grzybowej, pozostała zaś część cukru zostaje przez oddechanie spalona na dwutlenek węgla, wskutek czego uzyskuje się energię potrzebną do przebiegu procesu. W celu osiągnięcia dobrego wy-

niku gospodarczego całego procesu potrzebna, aby możliwie szybko i możliwie dużo cukru uległo przemianom na kwas cytrynowy. Jest więc rzeczą celową, aby ilość cukru, która zostaje przemieniona na substancję miceli, oraz ta ilość cukru, która uległa przemianom na dwutlenek węgla były możliwie małe.

Z tego też względu proponowano oddechanie miceli hamować przez dodawanie trucizn (patrz patent niemiecki nr 544589) albo rozrost miceli grzybowej powyżej wielkości koniecznej ograniczać przez niszczenie substancji powodujących ten rozrost.

Ponieważ miejsce, w którym proces wytwarzania się kwasu cytrynowego z cukru zachodzi samoistnie, stanowi micela grzybowa na powierzchni roztworu fermentującego, jest więc rzeczą konieczną, aby ta micela z prawidłową i dużą zdolnością działania była wytwarzana szybko w dostatecznej ilości. Dobra micela grzybowa o dużej sile działania nie jest zbyt gruba, tworzy zwartą mocną błonę o suchej, bardzo pofałdowanej powierzchni i o silnie rozgałęzionym rozroście w głąb pożywki oraz o gładkiej powierzchni wewnętrznej, która styka się z ciekłą pożywką.

Po zaszczepieniu roztworów melasowych lub innych roztworów pożywkowych zarodnikami pleśniowców często daje się zauważyć, że aczkolwiek zarodniki rozrastają się, to jednak tworzy się cienka błona grzybowa, która wówczas przemaka i opada pod powierzchnię pożywki, albo nie powstaje w ogóle błona zrosnięta, lecz tylko pojedyncze wysepki pleśniowców. O ile taka „chora” micela grzybowa przemoknie lub się rozerwie albo spadnie pod powierzchnię pożywki, wówczas trzeba skutecznie nowe szczepienie, po którym zwykle powstaje już nowa zrosnięta micela grzybowa. Powoduje to jednak przedłużenie czasu fermentacji, z jednej

strony z powodu przedłużenia czasu potrzebnego do wytworzenia miceli, a z drugiej strony wskutek tego, iż opadła micela przemoczona przeszkadza dyfuzji roztworu fermentacyjnego do nowej zdrowej miceli. Przemoczenie miceli grzybowej zwiększa niebezpieczeństwo zakażenia, ponieważ mokra powierzchnia błony grzybowej łatwiej ulega zakażeniu bakteriami i innymi drobnoustrojami. Ponadto stwierdzono, że błona grzybowa, która ulega przemoczeniu albo tworzy tylko powoli błonę zwartą, na stronie wewnętrznej nie jest gładka, lecz chropawa, i źle przepuszcza roztwór pożywkowy do komórek.

Stwierdzono, że to „chorobliwe” tworzenie się miceli grzybowej na roztworze melasy zależy od substancji czynnych powierzchniowo, które się nagromadzają na powierzchni roztworu pożywkowego nie wydzielając się przy tym jako nowa faza powierzchniowa. Substancje te powodują zmianę napięcia powierzchniowego i nadają roztworowi skłonność do wytwarzania piany.

Stwierdzono, że temu niekorzystnemu zjawisku można zapobiec w ten sposób, że usuwa się te substancje posiadające wpływ na napięcie powierzchniowe roztworu, tj. substancje silnie czynne powierzchniowo.

Środki do usuwania tych substancji i zapobiegania wyżej podanemu niekorzystnemu ich działaniu mogą być różnego rodzaju. Czasami wystarczy tylko zwykłe zebranie wymienionych substancji z powierzchni cieczy. O wiele skuteczniejsze są jednak takie środki, które umożliwiają prawidłowe usunięcie substancji czynnych powierzchniowo. Do takich środków należy w pierwszym rzędzie usuwanie piany z roztworu pożywkowego przez wdmuchiwanie bardzo rozdrobnionego powietrza albo innych gazów. W wytworzonej pianie usuwa się czynne substancje z powierzchni roztworu pożywkowego i moż-

na to usuwanie skutecznieć przez zmianę ilości wdmuchiwanego powietrza albo zmianę okresu czasu usuwania piany. Przez zmianę tych czynników można osiągnąć najlepsze warunki dla rozrostu i przebiegu fermentacji w sposób przemysłowy przy pomocy szeregu doświadczeń przeprowadzanych w skali laboratoryjnej.

Inny zabieg prowadzący do całkowitego lub częściowego usunięcia substancji czynnych powierzchniowo polega na zastosowaniu adsorpcji przy wytwarzaniu roztworu pożywkowego. Można przy tym postępować w ten sposób, że do roztworu fermentującego wprowadza się gotowe adsorbujące substancje nierozpuszczalne, które po działaniu w ciągu pewnego czasu usuwa się z roztworu przez pozostawienie do odstania albo przez odsączenie.

Jako takie substancje można z korzyścią stosować węgiel drzewny albo węgiel aktywny, glinę (glinki bielące), żel krzemowy albo żel glinkowy.

Inny celowy środek polega na tym, że w roztworze pożywkowym strąca się substancje, które wykazują znaczne działanie adsorbujące. Należy tu np. wytwarzanie osadów siarczanu baru, nierozpuszczalnych siarczków, wodorotlenków lub węglanów albo innych nierozpuszczalnych związków metali ciężkich albo wapniowców, przy czym środków strącających dodaje się do roztworu pożywkowego. Przez zmianę ilości substancji adsorbujących albo rodzaju lub ilości środków strącających, przebiegu i szybkości tworzenia się osadu można za pomocą wstępnych prób uzyskać najkorzystniejsze warunki i wielkość stopnia usuwania substancji czynnych powierzchniowo, tak iż w ten sposób osiąga się najlepsze warunki pracy przyrządzania roztworów pożywkowych.

Jest rzeczą zrozumiałą, że podane środki do przyrządzania roztworów pożywkowych można odpowiednio łączyć ze

sobą w celu uzyskania jak najlepszego wyniku.

Niżej podaje się kilka przykładów wykonania, które ułatwiają zrozumienie sposobu pracy według wynalazku i wyjaśniają wpływ opisanych środków.

Do przeprowadzania sposobu według wynalazku w skali laboratoryjnej stosuje się miski emaliowane o średnicy 20 cm (powierzchni 315 cm²) i wysokości 10 cm. Miski te napełnia się 2 litrami roztworu pożywkowego, który przyrządzono rozpuszczając 600 g cukru melasowego. Roztwór pożywkowy zakwasza się około 20 cm³ 2n kwasu siarkowego i dodaje się około 4 cm³ 10%-owego roztworu kwasu fosforowego. Roztwór ten wyjaławia się przez gotowanie i w pomieszczeniu wyjałowionym wprowadza się do misekzek doświadczalnych. Roztwór oziębiony do mniej więcej 35°C zasiewa się specjalnie przeszczepianymi zarodnikami odpowiednich pleśniowców.

Po 12-dniowej fermentacji w temperaturze około 30°C roztwory dobrze przefermentowane zawierają tylko około 2—5% nieprzefermentowanego cukru w stosunku do ilości początkowej. Wówczas roztwór się odstawia, wyjmuje się micle grzybową, odciska ją i wyługowuje. Ciecz wyługowaną dodaje się do cieczy fermentującej i w cieczy tej przez dodanie wapna strąca się podczas gotowania cytrynian wapnia. Analitycznie określona w nim ilość kwasu cytrynowego po przeliczeniu na 100 części użytego cukru stanowi wydajność fermentacji.

W niżej podanych przykładach przeprowadzano stale w tych samych warunkach pięć jednakowych doświadczeń, aby otrzymać dobrą średnią wyników. W każdej misce znajdowało się 600 g melasy, tj. 300 g cukru.

Przykład porównawczy. W pierwszej grupie doświadczeń pracę prowadzono z wyżej opisanym roztworem pożywkowym.

wym melasy bez żadnego innego środka. Po zaszczepieniu powstała po 24 godzinach silnie wilgotniejąca micela grzybowa, która w trzech z pięciu użytych misek zatonała, tak iż roztwory te musiały być szczepione ponownie. W dwóch następnych miskach micela grzybowa wytworzyła się po 48 godz. W dwóch miskach szczepienie okazało się stosunkowo obfite i wytworzyło miękką, dającą się z trudnością odcisnąć powłokę grzybową. Po 12-dniowej fermentacji z pięciu misek, zawierających razem 1500 g cukru, otrzymano 993 g suchego cytrynianu wapnia i 705 g kwasu cytrynowego, tak iż wydajność wynosiła 47 g kwasu cytrynowego na 100 g cukru.

Przykład I. Użyto tej samej melasy, jak i w przykładzie porównawczym, i przygotowano taki sam roztwór pożywkowy. Po wyjałowieniu całą ilość, wynoszącą 10,5 litra roztworu pożywkowego, pozbawiono piany wdmuchując powietrze za pomocą porowatej płyty ceramicznej pod ciśnieniem 100 mm słupa rtęci w ciągu 10 minut. Z 10,5 litra roztworu pożywkowego usunięto $\frac{1}{2}$ litra piany. Pozostałe 10 litrów rozdzielono do 5 misek fermentacyjnych i poddano fermentacji. Wytwarzanie się miceli grzybowej i cały przebieg fermentacji był bez zarzutu. Uzyskano mocną, zdrową niezakażoną błonę grzybową. Po 12-dniowej fermentacji otrzymano z 1500 g cukru 1345 g suchego cytrynianu wapnia i 976 g kwasu cytrynowego, tak iż proces fermentacji przebiegał z wydajnością 65 g kwasu cytrynowego w obliczeniu na 100 g użytego cukru.

Przykład II. Pracę prowadzono z tą samą melasą, jak i w przykładzie porównawczym, i z tak samo przygotowanym roztworem pożywkowym. Różnica polegała na tym, że do całego ładunku, wynoszącego 10 litrów, przy wyjaławianiu użyto 25 g węgla aktywnego. Po półgodzinnym mieszaniu wrzącego roztworu roztwór

ten odsączono i po ostudzeniu poddano szczepieniu jak w poprzednim przykładzie. Powstała zdrowa micela grzybowa i cały proces fermentacji przebiegł bez zakażenia. Po 12-dniowej fermentacji z 1500 g cukru otrzymano ogółem 1280 g suchego cytrynianu wapnia i 952 g kwasu cytrynowego, tak iż wydajność wynosiła 63,5 g kwasu cytrynowego na 100 g użytego cukru.

Przykład III. Z tej samej melasy, jak w poprzednich przykładach, przygotowano taki sam roztwór pożywkowy. Przy wyjaławianiu w roztworze tym z użytych 5 g siarczanu cynku po dodaniu roztworu siarczku sodowego w małym nadmiarze strącił się silnie adsorbująco działający osad siarczku cynku, który odfiltrowano. Po zaszczepieniu wytworzyła się mocna zdrowa micela grzybowa. Fermentacja przebiegała bardzo prawidłowo. Po 12 dniach otrzymano z 1500 g cukru 1408 g cytrynianu wapnia i 1038 g kwasu cytrynowego. Wydajność wynosiła zatem 69,2 części kwasu cytrynowego w obliczeniu na 100 części cukru, znajdującego się w melasie.

Pod określeniem „substancje silnie czynne powierzchniowo” w opisie i zastrzeżeniach patentowych należy rozumieć substancje, które nawet w małych ilościach znacznie zmieniają napięcie powierzchniowe roztworu powierzchniowego, tj. zwiększają je albo ewentualnie zmniejszają.

Oprócz melasy można w dowolny sposób stosować również inne zaciery, zawierające węglowodany, jak roztwory cukrowe różnego stopnia czystości, soki wytłaczane albo scukrzzone, zawierające skrobię zaciery, które następnie można przefermentować na kwas cytrynowy według sposobu niniejszego.

Środki wskazane w podanych przykładach wykonania, za pomocą których usuwa się substancje czynne powierzchniowo,

są stosowane w przemyśle fermentacyjnym, lecz zasadniczo do zupełnie innego celu niż do fermentacji kwasu cytrynowego z zacierów zawierających węglowodany, jak melasy.

A więc w zacierach poddawanych fermentacji alkoholowej, która jako taka jest związana z obfitym wydzielaniem się piany wskutek wytwarzania się gazu, pianę powstającą przy gotowaniu zacieru usuwa się przez wyszumowanie. Również wytwory fermentacji, jak piwo albo wino, zostają utrwalone przez dodanie gotowych środków klarujących albo przez strącanie ich z dodawanych roztworów soli; wszystkie te zabiegi mają jednak inny cel i są stosowane zupełnie inaczej niż według sposobu niniejszego.

Zastrzeżenia patentowe.

1. Sposób przyrządzania roztworów pożywkowych, np. roztworów melasowych, do technicznego wytwarzania kwasu cytrynowego przez fermentację, znamienny

tym, że substancje czynne powierzchniowo usuwa się z roztworów pożywkowych częściowo albo całkowicie.

2. Sposób według zastrz. 1, znamienny tym, że substancje czynne powierzchniowo usuwa się z roztworu pożywkowego przez odszumowywanie.

3. Sposób według zastrz. 1, znamienny tym, że substancje czynne powierzchniowo usuwa się przez dodawanie substancji adsorpcyjnych (np. węgla aktywnego albo ziem bielących, żelu krzemowego lub żelu glinowego) i następne oddzielanie ich przed zaszczepianiem roztworu.

4. Sposób według zastrz. 1, znamienny tym, że substancje czynne powierzchniowo usuwa się przez strącanie substancji adsorpcyjnych i wydzielanie ich z roztworu pożywkowego przed zaszczepianiem.

Průmyslová Akciová Společnost
Kaznějov - Brasy

Zastępca: inż. St. Pawlikowski
rzecznik patentowy