



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

209646

(11) (B1)

(51) Int. Cl.³
C 12 N 1/16

/22/ Prihlášené 03 03 77
/21/ /EV 1419-77/

(40) Zverejnené 31 03 81

(45) Vydané 15 02 83

(75)

Autor vynálezu

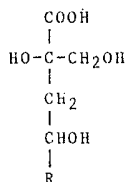
KOŠÍK MARTIN doc. ing. CSc., REISER VLADIMÍR ing. CSc.,
HOSTOMSKÝ JURAJ prof., BRATISLAVA, BARTA JIŘÍ a BARTOVÁ MARTINA, PRAHA

(54) Spôsob zúžitkovania sacharínových kyselín

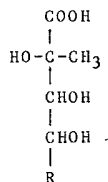
1

Vynález sa týka spôsobu zúžitkovania sacharínových kyselín.

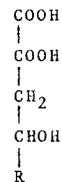
Sacharínové kyseliny sú kyseliny sumárneho vzorca $C_nH_{2n}O_n$, ktoré sa najčastejšie vyskytujú súčasne v podobe troch štruktúrálnych typov, a to ako



izosacharínový typ



sacharínový typ



metasacharínový typ

kde R je H alebo $-\text{CH}_2\text{OH}$.

Sacharínové kyseliny sú nevyužité, nachádzajú sa v rôznych odpadoch z technológií, v ktorých sa pôsobí alkalickými činidlami za tepla na polysacharidy, konkrétne pri alkalických postupoch výroby buničiny, kde predstavujú odpad. Fermentačné využitie hydrokyselín je známe a popísané u kyseliny mliečnej, zatiaľ čo využitie 2,4-dihydroxymaslovej kyseliny a ďalších monokarboxylových hydroxykyselín, obsahujúcich päť až šesť uhlíkových atómov vo svojej molekule, nie je známe.

Uvedený stav odstraňuje vynález, ktorého podstatou je spôsob zúžitkovania sacharínových kyselín ich použitím ako suroviny k príprave kultivačného média vo forme roztoku, obsahujúceho 30 až 40 hmotnostných dielov zmesi sacharínových kyselín, ďalej prídavok anorganických živín

obsahujúcich fosfor, draslík a horčík, a to s výhodou vo forme 4 až 5 hmotnostných dielov síranu amonného, 0,5 až 0,7 hmotnostných dielov 85%-nej kyseliny fosforečnej - H_3PO_4 , 0,5 až 0,8 hmotnostných dielov síranu draselného - K_2SO_4 a 0,1 až 0,5 g síranu horečnatého - heptahydrátu - $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ na 1 000 hmotnostných dielov roztoku, ktorého pH sa pomocou hydroxidu draselného upraví na hodnotu pH 3,5 až 11 a použije v tomto zložení alebo upravenom prídavkom 30 až 50 hmotnostných dielov mono- a disacharidov, s výhodou D-glukózy alebo prídavkom nižšieho alifatického alkoholu, s výhodou metylalkoholom alebo etylalkoholom. K takto pripravenému kultivačnému médiu sa pridá inokulum kultúry kvasinkových alebo plesňovitých mikroorganizmov, s výhodou *Candida utilis* vo forme odstredených kvasiniek z ich predchádzajúcej kultivácie v glukózovom roztoku, 0,2 až 0,5 %-nou obsahujúcom ďalej 2 hmotnostné diely síranu amonného, 0,3 hmotnostných dielov kyseliny fosforečnej - 85%-nej, 0,6 hmotnostných dielov síranu horečnatého, upravenom na pH 5,5, pričom táto kultivácia sa uskutočňuje za teploty 30 °C, za stáleho trepania.

Roztok kultivačného média a inokula kultúry odstredených kvasinkových alebo plesňovitých mikroorganizmov, pridaných v množstve 0,2 % ich sušiny na 1 000 hmotnostných dielov kultivačného média, za intenzívneho prevzdušňovania alebo za anaerobných podmienok pri teplote 25 až 60 °C a trepania, počas 1 až 80 hodín ďalej odstredením vzniknutej biomáasy a sušením poskytol kvasničnú sušinu s obsahom hrubého proteínu, pričom boli z kultivačného média pri aerobných podmienkach, využitie sacharínové kyseliny, okrem glukometasacharínovej a pri anaerobnom spôsobe kultivácie okrem kyseliny metasacharínovej, ktorá sa dá s výhodou po zahutnení roztoku a úprave pH na 4,5 extrahovať éterom a ďalej využiť.

Výhody uvedeného postupu sú v tom, že ako surovina k príprave kultivačného média pre mikroorganizmy môže byť použitý odpad z alkalických postupov výroby buničiny a z horúceho zúšľachtovania buničiny, z ktorého sú postupne adaptované kultúry mikroorganizmov, predovšetkým kvasiniek za uvedených podmienok aeróbnej alebo anaeróbnej fermentácie schopné utilizovať kyseliny sacharínové a izosacharínové. Proces fermentácie kontrolovaný chromatograficky ukázal, že metasacharínové kyseliny sa neutralizujú, čo je zároveň možné využiť na ich izoláciu extrakčným spôsobom pre ďalšie zužitkovanie.

Predmet vynálezu je ozrejmnený na niekoľkých príkladoch bez toho, aby sa iba na tieto vzťahoval.

P r í k l a d 1

K 1 000 ml roztoku obsahujúceho 31,5 g zmesi sacharínových kyselín zloženej z 12,5 g kyseliny glukozosacharínovej, 4,5 g kyseliny glukometasacharínovej, 6,0 g kyseliny izosacharínovej, 7,0 g kyseliny sacharínovej a 1,5 g hydroxymaslovej sa pridá 4,5 g síranu amonného, 0,6 ml kyseliny fosforečnej /85 %-nej/, 0,6 g síranu draselného a 0,3 g síranu horečnatého - heptahydrátu a po premiešaní a rozpustení sa upraví pH roztoku na 5,5 a pridá sa inokulum kultúry *Candida utilis* v množstve 0,2 % počítané na sušinu, vo forme odstredených kvasiniek z predtým uskutočnenej kultivácie na 2 %-nom glukózovom roztoku, s obsahom 2 g síranu amonného, 0,3 ml kyseliny fosforečnej /85 %-nej/, 0,6 g síranu draselného a 0,1 g síranu horečnatého - heptahydrátu, upravenom na hodnotu pH 5,5 ktorá bola prevedená pri teplote 30 °C na trepačke.

Po zakvasení bola vo fermentore uskutočnená batch-kultivácia po dobu 10 hodín pri teplote 32 °C, pri vŕhnutí vzduchu rýchlosťou 1 liter/minútu a 600 otáčkach na turbíne. Biomasa sa odstredí a usuší. Získalo sa 14,5 g kvasničnej sušiny s obsahom 56,2 % hrubého proteínu s koeficientom stráviteľnosti 87,5 %.

Chromatografickou kontrolou bolo zistené, s výnimkou kyseliny glukometasacharínovej, úplné využitie ostatných sacharínových kyselín.

P r í k l a d 2

Postupuje sa tak, že k zmesi sacharínových kyselín ako v príklade 1 a 50 g D-glukózy sa pridá 4,5 g síranu amonného, 0,6 ml kyseliny fosforečnej /85 %-nej/, 0,6 g síranu draselného a 0,3 g síranu horečnatého - heptahydrátu a po premiešaní a rozpustení sa pH roztok upraví na hodnotu 5,5. Ďalší postup a podmienky fermentácie ako v príklade 1, poskytlí 43,5 g kvasničnej sušiny s obsahom hrubého proteínu 59,1 %.

P r í k l a d 3

Postupuje sa tak, že k zmesi sacharínových kyselín ako v príklade 1 a 25 ml 96 %-ného etylalkoholu sa pridajú anorganické živiny ako v príklade 2. Ďalší postup a podmienky fermentácie ako v príklade 1, poskytlí 40,2 kvasničnej sušiny.

P r í k l a d 4

Postupuje sa tak, že k zmesi sacharínových kyselín a D-glukózy ako v príklade 2 a prídavku anorganických živín ako v príklade 2 a po úprave pH ako v príklade 2, sa fermentuje s prídavkom inokula kultúry ako v príklade 1, ale za anaerobných podmienok počas 80 hodín. Po izolácii biomasy a sušení sa roztok zahustil na objem 50 ml a extrahoval sa po okyselení na pH 4,5 éterom. Pri tomto spôsobe fermentácie sa utilizovali všetky typy sacharínových kyselín okrem kyseliny metasacharínovej, ktorej sa získalo tu popísaným spôsobom 2,7 g.

P R E D M E T V Y N Á L E Z U

1. Spôsob zúžitkovania sacharínových kyselín, tvorených zmesou hydroxykyselín, obsahujúcich päť až šesť uhlíkových atómov v molekule štruktúry sacharínového, izosacharínového a metasacharínového typu vyznačujúci sa tým, že sa z nich pripraví kultivačné médium, vo forme roztoku obsahujúceho ďalej prídavok anorganických živín, obsahujúcich fosfor, draslík a horčík, a to s výhodou vo forme 4 až 5 hmotnostných dielov síranu amonného, 0,5 až 0,7 hmotnostných dielov kyseliny fosforečnej, 0,5 až 0,8 hmotnostných dielov síranu draselného a 0,1 až 0,5 hmotnostných dielov síranu horečnatého heptahydrátu na 1 000 hmotnostných dielov roztoku kultivačného média, upraveného na pH 3,5 až 11, s výhodou hydroxidom amonným, ktoré sa ďalej zmieša s inokulom kultúry kvasinkových alebo plesňovitých mikroorganizmov, s výhodou Candida utilis, pridaných v množstve 0,2 % ich sušiny na roztok vo forme odstredených kvasiniek z ich predchádzajúcej kultivácie, v 0,2 až 0,5 %-nom glukózovom roztoku, obsahujúcom ďalej anorganické živiny, a to s výhodou 2 hmotnostné diely síranu amonného, 0,3 hmotnostných dielov kyseliny fosforečnej, 0,6 hmotnostných dielov síranu draselného a 0,1 g síranu horečnatého pri pH 5,5, teplote 30 °C za trepania a ďalej za prevzdušňovania alebo za anaeróbnych podmienok pri teplote 25 až 60 °C, za trepania a počas 1 až 80 hodín nahromadené mikroorganizmy oddelia a sušia.

2. Spôsob podľa bodu 1 vyznačujúci sa tým, že k zmesi sacharínových kyselín sa pridá 1 až 10 % mono- alebo disacharidov, s výhodou D-glukózy.

3. Spôsob podľa bodu 1 vyznačujúci sa tým, že k zmesi sacharínových kyselín sa pridá 1 až 10 % nižšieho alifatického alkoholu, s výhodou metylalkoholu alebo etylalkoholu.

4. Spôsob podľa bodu 1 vyznačujúci sa tým, že zo zmesi po ukončení fermentácie za anaeróbnych podmienok sa kyseliny metasacharínového typu izolujú, po zahustení a úprave pH, extrakciou.