



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

218 857

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

(11)

(B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 12 12 78
(21) (PV 8250-78)
(89) 840 099, SU

(51) Int. Cl.¹C 12 N 9/28

(40) Zveřejněno 31 12 81
(45) Vydáno 01 07 84

(75) Autor vynálezu	PROSVETOVA TAŤJANA, DVADCATOVA ELIZOVETA, JAROVENKO VIKTOR, VASILJEVA NINA, NACHMANOVIČ BORIS,	MOSKVA, MIČURINSK, MOSKVA (SU)	USTINNIKOV BORIS, ŠANIN VITALIJ, KARAČEV SERGEJ, PYCHOVA SVETLANA, LAZAREVA ANNA, VORONOVA LARIŠA,	MOSKVA, MIČURINSK, MOSKVA (SU)
------------------------	--	--	---	--

(54) Způsob zcukernování škrobové suroviny při výrobě lihu

Způsob zcukernování škrobové suroviny ve výrobě lihu. Pro intenzifikaci procesů zcukernování, a také pro zmenšení spotřeby látek, potřebných pro zcukernování, které se uskutečňuje pomocí směsi kmene *ENDOMYCOPSIS fibuligera* Dekker-21, producent *glukoamylázy* a bakteriální kultury *Bac. mesentericus* PB, producent α -amylázy, v poměru 6 až 8 jednotek /ml Gla a 1,0 až 1,5 jednotek /ml AS na lg škrobu.

Z druhu *Bacillus mesentericus* PB se využívá kmen *Bac. mesentericus* PB sp. VNII PrB, deponovaný číslem 1755, kultivovaný v prostředí, které obsahuje bramborový škrob, kukuřičnou mouku, kukuřičný extrakt, $(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$ a CaCO_3 . Jako producent *glukoamylázy* se používá kultura *Endomycopsis fibuligera* Dekker, která je kultivovaná v prostředí, obsahujícím škrob, sojovou mouku, kukuřičný extrakt $\text{NH}_4 \text{H}_2 \text{PO}_4$ a $\text{KH}_2 \text{PO}_4$.

218 857

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Заявлено 0.9.12.77

2548551/28-13

М.Кл. С 12 С 7/04

Авторы изобретения: Т.И.Просветова, Е.А.Двадцатова, В.Л.Яровенко, Н.Я.Васильева, В.М.Нахманович, В.А.Устинников, В.Ф.Шамрин, С.И.Каричев, С.В. Рыхова, А.Н. Лазарева и Л.И.Воронова

Заявитель: Всесоюзный научно-исследовательский институт продуктов брожения

СПОСОБ ОСАХАРИВАНИЯ КРАХМАЛИСТОГО СЫРЬЯ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ

СПИРТА

Изобретение относится к спиртовой промышленности, в частности, к способам осахаривания крахмалистого сырья.

Известен способ осахаривания крахмального сырья при производстве спирта путем внесения в него культуры-продуцента *d* - амилазы из рода *Bacillus* в смеси с культурой-продуцентом глюкоамилазы /1/.

Недостатком известного способа является длительность процесса осахаривания и сбраживания, так как используемые культуры обладают недостаточной активностью, а также большой расход осахаривающих культур.

Целью изобретения является интенсификация процесса осахаривания и сбраживания и сокращение расхода осахаривающих культур.

Это достигается тем, что в предлагаемом способе из рода

Bacillus используют штамм дрожжей *Bacillus menestericus* Sp ВНИИПрБ № ЦМПМВ-1559 в виде культуральной жидкости, а в качестве культуры - продуцента глюкоамилазы - штамм дрожжей *Endomycopsis fibulagera* Dekker

- 21 в соотношении соответственно 6-8 ед/мл ГЛА и 1,0 - 1,5 ед/мл АС на 1 г крахмала.

Штамм-продуцент *α*-амилазы выращивают на среде, содержащей картофельный крахмал, кукурузную муку, кукурузный экстракт, двузамещенный фосфат аммония и карбонат кальция.

Предлагаемый способ осуществляется следующим образом.

Разваренную крахмалосодержащую массу охлаждают до температуры 55-60°C и задают в нее смесь культур *Bacillus menestericus* ПБ Sp ВНИИПрВ № ЦМПМВ-1559 и *Endomycopsis fibuligera* /Lindner/ Dekker -21 в соотношении соответственно 6-8 ед/мл ГЛА и 1,0-1,5 ед/мл АС на 1 г крахмала. Осахаривание осуществляется в течение 15-20 минут, а затем осахаренную массу охлаждают до температуры 20-24°C и передают на сбраживание.

Штамм *Bacillus menestericus* ПБ Sp ВНИИПрВ, № ЦМПМ В-1559 получен в результате лабораторной изменчивости при длительном хранении на питательной среде, состоящей из картофеля и физиологического раствора.

Предлагаемый штамм обладает высокой активностью *α*-амилазы-30-70 ед/мл культуральной жидкости /в зависимости от состава среды/. Наибольшая активность при культивировании при 40°C достигает 70 ед/мл /активность фермента определялась по методу А.П. Рухлядовой и М.Г. Горячевой/.

Культура *Bacillus menestericus* ПБ ВНИИПрВ относится к группе бактерий сенной и картофельной палочек.

Штамм имеет следующую характеристику.

Морфологические признаки.

Палочки размером 4-5 мкх 0,8-1, 0мк, иногда образующие цепочки из 2-4 палочек. Однобразно окрашенные, без капсул, неподвижные, окраска по Граму положительная, окрашиваются разбавленным раствором метиленовой сини или нейтральротом.

Протоплазма окрашивается однородно.

218 857

Бактерия спорообразующая.

Рост культуры на питательных средах.

На картофельном агаре культура вырастает колониями округлой формы; колонии по цвету белые или тускло-белые.

Поверхность колоний шероховатая, центр выпуклый.

На МПА-колонии белые или тускло-белые, округлой формы, диаметр 2-2,5 мм;

На МПБ культура вырастает белой складчатой пленкой. Возможно однородное или хлопьевидное помутнение.

Дыхание аэробное.

Ферментирует без выделения газа: глюкозу, мальтозу, сахарозу, ксилосу, маннит, сорбит.

Использует цитрат.

Крахмал разжижает.

Казеин гидролизует.

Ацетилметилкарбинол образует.

Оптимальная температура роста для биосинтеза α -амилазы 40-42°C. Минимальная температура роста 20°C, максимальная -50°C.

Патогенными и токсическими свойствами не обладает.

Культивирование *Bacillus menestericus* ПБ Sp ВНИИПрБ-продуцента α -амилазы - осуществляют на среде, в которой в качестве источника углерода используют картофельный крахмал и кукурузную муку, а из минеральных солей - двухзамещенный фосфат аммония и карбонат кальция. Источником биологически активных веществ является кукурузный экстракт, или ОВК, или кормовые дрожжи.

Процентное соотношение ингредиентов среды, %:

картофельный крахмал	1,0-1,2
кукурузная мука	1,5-1,7
$\text{NH}_4/\text{H}_2\text{PO}_4$	0,25-0,30
CaCO_3	0,20-0,22

кукурузный экстракт	0,20-0,22
ОВК	3,50-4,00
дрожжи кормовые	4,00-4,10
вода	остальное

Штамм *Endomycopsis fibuligera* /Lindner/ Dekker

-21-продуцент глюкоамилазы - имеет следующую характеристику: на жидком сусле - септированный мицелий, незначительное число почкующих дрожжевых клеток овальной формы размерами 9-10хх 5-6 мкм. На сусло-агаре колонии беловатые, пушистые, выпуклые, с ровными краями. Сбраживает глюкозу, сахарозу, мальтозу, рафинозу - слабо, галактозу и лактозу не сбраживает. Ассимилирует многие сахара, крахмал, высшие спирты, органические кислоты.

Нитраты не ассимилирует, арбутин не расщепляет, в среде без витаминов не растет. Для накопления глюкоамилазы данным штаммом используется среда следующего состава, %: растворимый крахмал-1,6;1 соевая мука-8; кукурузный экстракт -4; фосфорнокислый калий -0,06; Однозамещенный фосфорнокислый аммоний -0,16.

Примеры осуществления способа.

Пример № 1.

Разваренную массу охлаждали до температуры 55°C и задавали в нее смесь культур *Endomycopsis fibuligera* Dekker -21, денсифицированный в ИВФМ АН СССР под № У744, и *Bacillus menestericus* ПБ Sp ВНИИПрБ, депенированный в ВНИИгенетики ЦМПВ1559, в соотношении 8 ед/мл ГЛА и 1,5 ед/мл АС.

Штамм *Endomycopsis fibuligera* Dekker

-21 выращивали на среде следующего состава /в %/: крахмал-1,6; соевая мука -8; кукурузный экстракт -4; KH_2PO_4 -0,06; $NH_4H_2PO_4$ -0,16.

Штамм *Bacillus menestericus*

ПБ Sp ВНИИПрБ

выращивали на среде следующего состава /в вес.%/: крахмал картофельный -1,0; мука кукурузная-1,5; $(NH_4)_2HPO_4$ - 0,25;

218 857

CaCO_3 - 0,20; кукурузный экстракт - 0,2; вода - остальное.

Расход культуральной жидкости на осахаривание *Bacillus menesterikus* ПБ Sp ВНИИПрВ с активностью 30 ед-мл составил 0,05 мл, *Endomycopsis fibuligera* Dekker - 21-0,4 мл на 1 г крахмала.

Процесс осахаривания вели при температуре 57°C, после чего в нее задавалась суспензия дрожжей *Sascharomyses cerevisiae* расы X11, из расчета содержания в 1 мл сусла 10-12 млн. клеток.

Процесс сбраживания осуществляется при температуре 28-30°C в течение 60 часов.

Пример 2.

Технологические операции осуществляли аналогично примера 1, только в питательную среду для выращивания *Bacillus menestericus* ПБ ВНИИПрВ задавали вместо кукурузного экстракта - обогащенный белковый концентрат в количестве 4%.

Расход культурной жидкости *Bacillus menestericus* ПБ Sp ВНИИПрВ с активностью 50 ед/мл составил 0,03 мл, а *Endomycopsis fibuligera* Dekker 21 - 0,3 мл на 1 г крахмала.

Таким образом данные примеры не исчерпывают возможности предлагаемого способа, но показывают, что штамм вида *Bacillus menestericus* ПБ Sp ВНИИПрВ 1755 обладает комплексом амилолитических протеолитических ферментов, необходимых для глубокого осахаривания крахмалистого сырья.

Способность комплекса амитических ферментов быстро и полно гидролизовать крахмал до сбраживаемых сахаров, а комплекса в течение 20 мин., pH среды составляет 5,2+5,0.

Осахаренная масса охлаждалась до температуры 30°C, протеолитических ферментов катализировать гидролиз белков и пептидов до аминокислот делает данный вид и штамм ценным для производства спирта, так как способствует интенсификации процесса осахаривания, происходящего под действием комплекса ферментов.

Протеолитическая активность штамма 1,6-1,7 ед/мл способствует накоплению в процессе спиртового брожения в среде аминокислот, необходимых для ускорения дрожегенерации, и активизации дрожжей.

Все это в совокупности с высокоактивным штаммом *Endomycopsis fibuligera* Dekker -21 обеспечивает интенсификации процесса осахаривания и сбраживания, сокращает расход осахаривающих культур, кроме того, достигается более глубокое сбраживание полисахаридов, и снижение содержания неображенных сахаров в бражке.

ФОРМУЛА ИЗОВРЕТЕНИЯ

1. Способ осахаривания крахмалистого сырья при производстве спирта путем внесения в него культуры-продуцента -амилазы из рода *Bacillus* в смеси с культуро-продуцентом глюкоамилазы, отличающийся тем, что, с целью интенсификации процесса осахаривания и сбраживания и сохранения расхода осахаривающих культур, из рода *Bacillus* используют штамм дрожжей *Bacillus menestericus* ПБ Sp ВНИИПрВ № ЦМИМ В-1559 в виде культурной жидкости а в качестве культуры-продуцента глюкоамилазы-штамм дрожжей *Endomycopsis fibuligera* Dekker - 21 в соотношении и соответственно 6-8 ед мл Гла и 1,0-1,5 ед/мл АС на 1 г крахмала.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что штамм-продуцент-амилазы выращивают на среде, содержащей картофельный крахмал, кукурузную муку, кукурузный экстракт, двухзамещенный фосфат аммония и карбонат кальция.

218 857

АННОТАЦИЯ

Способ осахаривания крахмалистого сырья при производстве спирта

Изобретение относится к спиртовой промышленности.

С целью интенсификации процессов осахаривания и сбраживания и сокращение расхода осахаривающих материалов осахаривание крахмалистого сырья осуществляется смесью *Endomycopsis*

fibuligera Dekker -21-продуцента глюкоамилазы и бактериальной культуры *Bacillus menestericus*

ПВ - продуцента α -амилазы, в соотношении 6-8 ед/мл ГЛА и 1,0 - 1,5 ед/мл АС на 1 г крахмала.

Из вида *Bacillus menestericus*
Bacillus menestericus

ПВ используют штамм
ПВ Sp ВНИИПрВ,

депонированный под № 1755, выращиваемый на среде, содержащей картофельный крахмал, кукурузную муку, кукурузный экстракт, $(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$ и CaCO_3 .

В качестве продуцента глюкоамилазы используют культуру *Endomycopsis fibuligera* Dekker выращиваемую на среде, содержащей крахмал, соевую муку, кукурузный экстракт $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ и KH_2PO_4 .

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

1. Způsob zcukernování škrobové suroviny při výrobě lihu kulturou produkující α - amylázu, z rodu *Bacillus* ve směsi s kulturou produkující glukaoamylázu, vyznačující se tím, že pro intenzifikaci procesu zcukernování a zkvasování a pro zmenšení spotřeby kultur přispívajících zcukernování, se používá kmen *Bacillus mesentericus* PB Sc. VNIIPrB č. CMIM V-1559 v tekutém kultivačním mediu a jako kultury produkující glukaoamylázu se používá kmen kvasinek *Endomycopsis fibuligera* Dekker-21 v poměru odpovídajícím 6 až 8 jednotek/ml Gla a 1,0 až 1,5 jednotek /ml AS na 1 g škrobu.
2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že kmen produkující amylázu je kultivován v prostředí které obsahuje bramborový škrob, kukuřičnou mouku, kukuřičný extrakt, hydrogen-fosforečnan amonný a uhličitán vápenný.

Uznáno vynálezem na základě výsledků expertizy, provedené Státním výborem pro vynálezy a objevy SSSR, Moskva, SU.