

(19) HU

MAGYAR
NÉPKÖZTÁRSASÁG



ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL

SZABADALMI LEÍRÁS

B

(11)

191997

Bejelentés napja: (22) 1984.03.02. (21) (847/84)

Elsőbbsége: (32) 1983.03.03.

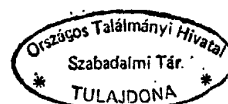
(31) (83 03487)

(33) Franciaország

Közzététel napja: (41) (42) 1986.06.30.

Megjelent: (45) 1988.08.19.

Nemzetközi
osztályozás:
(51) NSZO:
A 23 K 1/00



Feltaláló: (72)
Rouy Noel, Yverres,
Franciaország

Szabadalmas: (71)
AEC, Société de Chimie Organique
et Biologique, Commeny, FR

(54) ELJÁRÁS LIZINTARTALMÚ ÁLLATI TAKARMÁNYKÉSZÍTMÉNY ELŐÁLLÍTÁSÁRA

1

(57) KIVONAT

A találmány 35-48 tömeg% lizint tartalmazó, szilárd, stabil állati takarmánykészítmény előállítására vonatkozik.

Az eljárás szerint a lizint termelő mikroorganizmust a fermentálható anyagokat az összes szárazanyagra vonatkoztatva több, mint 80%-ban tartalmazó szénforrást, továbbá nitrogénforrást tartalmazó közegben tenyésztik, a szénforrás koncentrációja 5-15 g/liter, a nitrogénforrása 1-5 g/liter, a pH célszerűen 7.3, majd a kapott fermentlevet koncentrálják és vízmentesítik.

191997

A találmány lizintartalmú állati takarmánykészítmény előállítására szolgáló eljárásra vonatkozik.

A lizin egyszerű gyomrú állatok eszen-
ciális aminosava, amit elsősorban az állati ta-
karmányozásban alkalmaznak.

A lizin előállítható kémiai vagy biokémiai
módszerekkel. Habár a biokémiai módszerek
gazdaságilag sokkal értékesebbek, mint a ké-
miai módszerek, a lizin extrahálása viszony-
lag alacsony kitermeléssel valósítható meg,
különleges berendezésekre és költséges
anyagokra van szükség.

Ha a lizint állati takarmányozásra hasz-
nálják fel, különböző takarmányokkal keve-
rik, így gabonafélékkel, amelyek összetétele
meglehetősen pontatlan. Ilyen körülmények
között a tisztított lizin használata nem tűnik
szükségesnek.

Megállapítottuk, hogy a lizin termelésére
használt tömény fermentlevek azonos tápér-
tékűek, mint a tisztított lizin. A biomasszá-
nak és a lizin termeléséhez szükséges fer-
mentációs közeg különböző alkotórészeinek,
valamint származékainak nincs semmilyen ká-
ros hatása az állatokra, emellett a fermentle-
vek, amelyeket olyan mértékben sűrítünk be,
hogy a kívánt felhasználáshoz megfelelő li-
zinttartalmúak legyenek, viszkozus folyadé-
kok, amelyeknek állati takarmányokkal alko-
tott keveréke nehézséget okozhat.

A teljesen vízmentesített fermentlevek
sűrű, ragadós és rendkívül higroszkópikus
szilárd anyagok, ennek következtében nehe-
zen kezelhetők.

Javasolták, elsősorban a 480 397 számú
szovjet leírásban és a 2 217 347 szám alatt
nyilvánosságra hozott 7 340 738 számú fran-
cia szabadalmi leírásban, olyan szilárd ké-
szítmények előállítását, amelyek a lizin kon-
centrált fermentlevéből készülnek és adott
esetben vízelvonó adalékot tartalmaznak.
Ezek a készítmények azonban nem mindig
megfelelő minőségűek, gyakran higroszkópi-
kusak vagy az adalék olyan mennyiségben
való alkalmazása szükséges, hogy a kész ké-
szítményben a lizintartalom nagyon kevés.

A 2 409 627 számú német szövetségi
köztársaságbeli nyilvánossághozatali irat
lizintartalmú állati takarmány előállítását is-
merteti. Az eljárás szerint a lizint termelő
mikroorganizmust mellett egy olyan mikroor-
ganizmust is adnak a fermentléhez, amely
cukor jelenlétében nem asszimilálja a lizint.
Az eljárással azonban legfeljebb 21% lizintar-
talmú készítmény állítható elő.

Azt is javasolták, elsősorban a 2 464 032
számon nyilvánosságra hozott 7 921 646 szá-
mú francia szabadalmi leírásban, hogy stabil,
szilárd, könnyen kezelhető készítmény előál-
lítására, amely nedvesség hatására nem duz-
dad és 10-35% lizint tartalmaz, a lizin előál-
lítására használt tömény fermentléhez szendi-
oxid gáz jelenlétében meszet vagy lecsapott
magnézium-karbonátot adagoljanak. Ezekben

a készítményekben a lizintartalom meglege-
sen alacsony és nagy az adalék mennyisége.

Az találmányunk - és ez találmányunk tár-
gya -, hogy lizint termelő mikroorganizmus
jól meghatározott körülmények között való
tenyésztésével kapott tömény fermentléből
ipari méretekben és reprodukálható módon
olyan készítmény állítható elő, amelynek nagy
a lizintartalma és rendelkezik az állati takar-
mányozáshoz való felhasználás szükséges jel-
lemzőivel.

A találmány szerint a lizint termelő mik-
roorganizmust a fermentálható anyagokat az
összes szárazanyagra vonatkoztatva több,
mint 80% arányban tartalmazó szénforrást és
nitrogénforrásként ammónium-szulfátot vagy
ammóniát tartalmazó közegben tenyésztjük,
miközben a közegben a szénforrás koncent-
rációját 5 és 15 g/liter között, az ammónium-
ionok koncentrációját 1 és 5 g/liter között,
és a pH-t kénsavval célszerűen 7,3 értéken
tartjuk, majd 30-100 órás tenyésztés után,
amikor a maradék cukor koncentrációja 2 g/
liter alá csökken, a kapott fermentlevet
koncentráljuk és vízmentesítjük.

A találmány szerint előállított készit-
mény tulajdonságai a következők:

- magas lizintartalom, amely lizinbázisban ki-
fejezve rendszerint 35 és 48 t% között
van;
- nedves levegővel szembeni ellenállóképes-
ség, még az alkalmazás során rendszerint
fellépő legkedvezőtlenebb körülmények kö-
zött is, a mechanikai tulajdonságok jelen-
tős változása nélkül, elsősorban a csomó-
képződés vagy agglomerálódás vagy össze-
ragadás elmaradása. Továbbá 120 óra hosz-
szat 25 °C-on 90%-os relatív páratartalmú
közegben tartva a termék vízfelvétele
rendszerint 5-10%, amely egyenértékű a
kristályos lizin hidrokloridjának vízfelvéte-
lével. 70%-os relatív páratartalmú közegben
a vízfelvétel általában 2-5%;
- a termék tárolása alatt stabil marad. A li-
zintartalom csökkenése 50 °C-on egy hónap
után nem haladja meg az 5%-ot, 25 °C-on 6
hónap után nincs csökkenés;
- a szokásos módszerekkel meghatározott fi-
zikai tulajdonságok a következők:

a) a folyékonyság meghatározása kalib-
rált nyílású „homokóra” módszerrel (50 g
termék kifolyásához szükséges idő 5 mm át-
mérőjű nyíláson 40-45 másodperc), a „lejtő-
szög” módszerrel rendszerint 30-35° és a
„lejtősíki hajlásszöge” módszerrel általában
28-30°;

b) agglomerálódásra való hajlamosság
hiánya kompresszometriás csomósodási vizs-
gálatban;

- alkalmasság az állati takarmányozásban
használatos teljes takarmányokkal és pre-
mixekkel való keveréshez. A keveredés ho-
mogenitását a diszpergálódás mértéke alap-
ján határoztuk meg, amely általában 5%
alatt van, bármennyi is a lizinadalék adag-

ja, lizinbázisban kifejezve és amely 0,05-20% lehet;

- a termék bevitel után a teljes takarmány és/vagy a premix stabil: 50 °C-ig terjedő hőmérsékleten kéthónapos tárolás után a lizintartalom csökkenése általában kisebb, mint 10% és csökkenést nem tapasztaltunk 25 °C-on hat hónapos tárolás után.

Általánosan a találmány szerint előállított készítményt a következő módon jellemezhetjük:

finom, rózsás bézsszínű-barna por;	
relatív sűrűség 0.4-0.6;	
százalékos összetétel (tömeg%):	
szárazanyag	95-98%
lizin (bázisban kifejezve)	35-48%
fehérjék	10-15% (1)
lizintől eltérő összes szabad aminosav	1-3 % (2)
tejsav	0.5-3% (3)
más savak, amelyek szénatomszáma 8 alatt van	2-10% (3)
poliszacharidok, oligoszacharidok	2-7% (4)
zsírok, olajok	1-6% (6)
víz	0.5-3%
ásványi anyagok	10-25% (6).

(1) A fehérjetartalmat a szerves nitrogéntartalom alapján szokásos módszerekkel határoztuk meg (az összes nitrogénből levonva az ásványi nitrogént). Ebből levontuk a lizinnek és a többi szabad aminosavnak megfelelő nitrogéntartalmat, amelyet ioncserélő gyantán való kromatografálással vagy kolorimetrián határoztunk meg és értékeltünk.

(2) Meghatározás Biotronic készülékkel.

(3) Meghatározás gázfázisú kromatografálással derivatizálás után.

(4) A redukáló cukor meghatározása hidrolízis után.

(5) Meghatározás etil-éterrel való extrahálás után.

(6) Meghatározás kéntartalmú hamu alapján. Az ásványi anyagok a fermentációs közeg alkotórészeiből és a lizin sóképzéséből erednek a képződés sorrendjében.

Figyelembe véve a fermentációs közegben alkalmazott szubsztrát összetételének változását és minden fermentációs művelet önmagából következő ingadozásait, a találmány szerint előállított készítmény jellemzői eltérhetnek a fent megadott értékektől anélkül, hogy a találmány egyéb ismérvei csorbát szenvednének.

A találmány szerinti készítmény előállítható a lizint termelő fermentálóból kiindulva.

A lizin termelésére nagy mértékben képes mikroorganizmussal, például *Brevibacterium* vagy *Corynebacterium* nembe tartozó mikroorganizmussal megfelelő közegben, amely legalább egy szénforrást és egy asszimilálható nitrogén forrást, valamint ásványi sókat tartalmaz, 25-40 °C-on és 5-8 pH-értéken való fermentálással állítjuk elő. Rendsze-

rint a szénforrás és a nitrogénforrás komplex elegy, így cukorrépa vagy nádcukor melasz, kukoricalekvár vagy szójaliszt hidrolizátum. Ilyen közegek használata esetén, a későbbi vízmentesítés után kapott tömény fermentlevék olyan termékeket eredményeznek, amelyek nem rendelkeznek a kívánt tulajdonságokkal.

Megállapítottuk, hogy a kívánt hatás elérése érdekében szükséges, hogy a tenyészközeg, az oltóközeg és a termelőközeg könnyen ellenőrizhető mennyiségű és minőségű, kevésbé komplex összetevőket tartalmazzon. Nevezetesen fontos, hogy olyan szénforrást alkalmazzunk, amelyben a fermentálható anyag és az összes szilárd anyag tömegaránya 80% fölött legyen, és a fermentálható anyagok olyan anyagok, amelyek a fermentáció során hatásosan metabolizálhatók, ha közvetlenül nem asszimilálhatók a termelő törzs által. A szénforrások közül megemlíthetjük a glükózt, a szacharózt, amidon-hidrolizátumokat és minden olyan más elegyet, amely alkalmas megfelelő mértékű tisztasági arányban asszimilálható szén és oxigén szolgáltatására. A mikroorganizmus tenyésztésére szükséges többi anyag, valamint a lizin előállításához szükséges anyagok előnyösen gyakorlatilag tiszták vagy legalább koncentráltak.

A fermentációs műveletet oly módon hajthatjuk végre, hogy a közegben a fő reagensek koncentrációja az előzőekben meghatározott értékek között legyen. Ilyen módon lehetséges nemcsak a lizin képződését, hanem a termelő törzs normális metabolizmusából származó melléktermékek képződését is vagy lehetséges eltéréseiket is ellenőrizni, amelyek fontos szerepet játszanak a végtermék tulajdonságainak kialakulásában.

Egyébként a lizin képződése folyamán sóvá való alakítását különösen előnyösen úgy oldhatjuk meg, hogy a fermentáléhoz folyamatosan vagy szakaszosan ásványi savat, így kénsavat adunk. Gyakorlati szempontból a sóképzést megoldhatjuk úgy, hogy a fermentációs közeghez ammóniumsót, így ammónium-szulfátot ammónia jelenlétében vagy ammóniát sav, így kénsav jelenlétében adagolunk oly módon, hogy az ammóniumion-tartalmat állandó értéken tartjuk, és a pH-t is ellenőrizhessük.

A fermentáció időtartama rendszerint 30-100 óra és a fermentációt megállítjuk, ha az asszimilálható szén és nitrogén koncentrációja eléggé lecsökkent, például ha a maradék cukor koncentrációja 2 g/liter alá csökken. Ilyen módon a fermentlé koncentrállását minden előzetes elválasztás nélkül kézben tarthatjuk.

A fermentlé szárazanyag tartalma a koncentrállás előtt általában 10-20 t%.

A 10-20 t% szárazanyagot tartalmazó fermentlevet szokásos módszerekkel koncentrállhatjuk olyan hőmérsékleten, nyomáson és időtartam alatt, amelyek elpusztítják az élő

mikroorganizmusokat a lizin bomlása nélkül. Például a koncentrált megvalósíthatjuk vékonyréteges bepárlóban, amelyet 130 °C-os gőzzel fűtünk, és a koncentrált fermentlé hőmérséklete 110-120 °C lehet.

Általánosan azt mondhatjuk, hogy a koncentrált addig folytatjuk, amíg a szárazanyag-tartalom eléri az 50-70 t%-ot.

Az így kapott koncentrátumot ezt követően vízmentesítjük szokásos módszerekkel, amelyek alkalmasak az ilyen műveletekhez, adott esetben adalékok hozzáadása után, amelyek elősegítik a végtermék kialakítását olyan körülmények között, hogy a termék jellemzőit és összetételét jelentősen ne befolyásolják. Például a vízmentesítést megvalósíthatjuk porlasztással, gyűrővel és granulálással, szárítással és leválasztással, alkalmas oldószer jelenlétében való azeotróp vízmentesítéssel.

Általánosan azt mondhatjuk, hogy a vízmentesítést olyan körülmények között valósítjuk meg, amely a végterméket nem károsítja. Például ha azeotróp desztillálást alkalmazunk, a tömény fermentlevet takarmányozási szempontból összeférhető és elfogadható oldószerrel keverjük össze, majd a desztillálást előnyösen csökkentett nyomáson véghezvük. Erre a célra különösen célszerű takarmányozási célokra alkalmas paraffinolajat, mint oldószert használni. Az azeotróp desztillálás befejezése után a találmány szerinti vízmentes készítmény az oldószerben szuszpendálva van, amelytől szűréssel elkülöníthető, majd szárítható.

A találmány szerint előállított készítmény jellemzőit túlnyomó részben a kapott termék kémiai összetétele alapján határozzuk meg. Az összetételt befolyásolja a vízmentesítési művelet folyamán kapott szilárd anyag szerkezete.

Különösen előnyös az előállítási művelet úgy végezni, hogy a kapott termékben a kristályok aránya 50% körül legyen (röntgen-diffrakciós módszerrel meghatározva), a mikroporozitás körülbelül 0,3 ml/g és a fajlagos felület körülbelül 0,5 m²/g.

Az alkalmazott fermentációs közegtől és a fermentáció során hozzáadott savtól függően a lizin a végtermékben só, például szulfát formájában lehet.

Akarmilyen vízmentesítési műveletet is alkalmazunk, a kapott termék közvetlenül felhasználható állati takarmány-adalékként.

A találmány szerinti eljárással előállított termék kitűnik kiváló stabilitásával. Hat hónapig körülbelül 25 °C-on tárolva, a végtermék lizintartalma nem változik.

A találmány szerinti termék elsősorban állati takarmányozáshoz alkalmazható. Mivel a termék szilárd és nedvességre lényegében közömbös, kiválóan keverhető az állatok takarmányozására szolgáló tápokhoz. A kapott termék stabilitásának következtében, a teljes

takarmány felhasználását megelőzően, lényegesen korábban elkészíthető.

A találmány szerinti takarmánykészítmények mind baromfinál, mind sertésnél egyenértékűek a tisztított lizin-hidrokloriddal.

A következő példa mutatja be a találmány gyakorlati megvalósítását anélkül azonban, hogy oltalmi körünket korlátozná.

Példa

Keverővel és levegőztetővel felszerelt 20 literes fermentorba a következő anyagokat 15 töltjük:

víz	3 liter
kukorica-kivonat	250 g

A közeget 20 percig 120 °C-os gőz átvezetésével sterilizáljuk. 35 °C-ra való lehűlés után steril vízzel a térfogatot 5 literre kiegészítjük.

A következő steril oldatokat állítjuk elő: 8 liter, 650 g/literes glükóz oldat; 1 liter, 500 g/literes ammónium-szulfát-oldat;

2 liter, 15 s/tf%-os ammónium-hidroxid-oldat;

0,15 liter, 10 g leucint tartalmazó leucin-foszfát-oldat;

0,1 liter szójaolaj.

Összekeverés után a pH-értéket steril ammónium-hidroxiddal 7,30-ra állítjuk.

A fermentort 2 literes lombikban lévő, az előzőekben megadott tenyészközzel analóg táptalajon tenyésztett 500 ml-es tenyésztettel beoltjuk.

A keverés sebessége 500/perc, a levegőztetés aránya 600 liter/óra.

A fermentációs közeget 5 és 15 g/literes glükóz-oldattal tápláljuk; a pH-érték 7,30-on tartására ammónium-hidroxid-oldatot, és az ammónium-ionok 1 és 5 g/liter közötti koncentráción tartására ammónium-szulfátot adunk hozzá.

A fermentációs közeghez 3 ml/óra mennyiségben leucin-foszfát-oldatot, valamint időszakonként a habképződés csökkentésére szójaolajat adunk.

50 óra hosszat 35 °C-on való tenyésztés után körülbelül 12 liter fermentlevet kapunk, amely 70 g/liter lizint tartalmaz lizinbázisban kifejezve és szárazanyag-tartalma 15%.

A 15% szárazanyag tartalmú fermentlevet csökkentett nyomáson, 130 °C-os gőzzel melegített vékonyréteg bepárlóban bepároljuk. A közeg hőmérsékletét körülbelül 90 °C-on tartjuk. A koncentrált addig folytatjuk, amíg 60 t% szárazanyag-tartalmú koncentrátumot kapunk.

2 liter, 160 °C fölötti forráspontú paraffinolajjal töltött, keverővel felszerelt lombikba beletöltjük a 60 t% szárazanyag tartalmú koncentrátumot, majd csökkentett nyomáson (4-13,3 kPa) desztilláljuk a kondenzvíz eltávolításával.

Végül 100 °C körüli hőmérsékleten olajban lévő porszuszpénziót kapunk.

A port kiszűrjük, majd bepárlóban szárítjuk. 245 g terméket kapunk, amelynek jellemzői a következők:

finom, rózsás bézs-sötétbarna por;

relatív sűrűsége: 0.52

lizintartalom (bázisként): 44%

t%-os összetétel:

szárazanyag	kb.	97%
fehérjék		13%
olaj, zsírszerű anyagok		1.2%
ásványi anyagok		3.8%
teljes foszfor		0.35%
összes aminosav (lizinen kívül)		2.5%
szulfátion (kénsavban kifejezve)		14.5%
víz		1.2%

SZABADALMI IGÉNYPONT

Eljárás 35-48 tömeg% lizint tartalmazó, szilárd, stabil állati takarmánykészítmény előállítására fermentálással és a lizint tartalmazó fermentló vízmentesítésével, azzal jellemezve, hogy a lizint termelő mikroorganizmust a fermentálható anyagokat az összes szárazanyagra vonatkoztatva több, mint 80% arányban tartalmazó szénforrást és nitrogénforrásként ammónium-szulfátot vagy ammóniát tartalmazó közegben tenyésztjük, miközben a közegben a szénforrás koncentrációját 5 és 15 g/liter között, az ammóniumionok koncentrációját 1 és 5 g/liter között, és a pH-t kénsavval célszerűen 7,3 értéken tartjuk, majd 30-100 órás tenyésztés után amikor a maradék cukor koncentrációja 2 g/liter alá csökken, a kapott fermentlevet koncentrálnak és vízmentesítjük.

Rajz nélkül

A kiadásért felel a Közgazdasági és Jogi Könyvkiadó igazgatója

88.553.66-4 Alföldi Nyomda Debrecen - Felelős vezető: Benkő István vezérigazgató