



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU 196 964

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 24 01 78
(21) PV 465-78

(11)

(B1)

(51) Int. Cl.³ C 12 N 1/16

(40) Zveřejněno 31 07 79

(45) Vydáno 01 3 82

(75)

Autor vynálezu RYBÁŘOVÁ JOHANNA ING., PRAHA
ŠTROS FRANTIŠEK ING.CSC., PRAHA
ADÁMEK LUBOMÍR DR., PRAHA

(54) Způsob aerobní kultivace kvasinek

1

Vynález se týká způsobu aerobní kultivace kvasinek v mediu obsahujícím etanol, především zlepšení průběhu kultivace zpřesněním dávkováním některých stopových prvků.

Při výrobě kvasničné biomasy ze syntetického etanolu podle čs. autorských osvědčení č. 158954, č. 158991, 182649 se do kultivačního media přidávají jednoduché minerální sole, kterými jsou vnášeny základní biogenní prvky N, P, K, Mg, S a stopový Zn. Nepřidává se žádný definovaný zdroj dalších prvků, neboť se předpokládá, že stopové prvky jsou v dostatečném množství přítomny v provozní vodě a jako doprovodné nečistoty i v technicky čistých minerálních živinách.

V čs. patentu č. 109658, který chrání způsob adaptace kvasinky *Candida utilis* pro kultivaci na etanolu, je popsáno živné medium obsahující kromě základních biogenních prvků ještě vápník a sodík. Při výrobě kvasnic z etanolu podle USA patentu č. 3 847 750 se používá živné medium se základními biogenními prvky a celou řadou dalších převážně stopových prvků (Ca, Na, Fe, Mn, Zn, Mo, J, Cu).

Při kultivaci kvasinek na etanolu se může v mediu hromadit nežádoucí vedlejší metabolit kyselina octová. Její akumulace v mediu závisí na podmínkách kultivace a je spojena se zhoršením kultivačních parametrů, např. se snížením výtěžnosti kvasničné sušiny z etanolu. Podle čs. autorského osvědčení č. 169587 lze potlačit hromadění kyseliny octové v mediu a zvýšit výtěžnost přidávkou odpadů po fermentačním zpracování melasy, např. me-

198 984

lasových lihovarských výpalků, odpadů po kvasné výrobě kyseliny citronové nebo popela melasových výpalků. Nevýhodou tohoto postupu je složitost a nestabilní složení odpadů po fermentačním zpracování melasy. Kromě toho může být postup s výhodou použit hlavně v závodech sousedících s výrobami produkujícími jmenované odpady.

Uvedené nevýhody odstraňuje způsob aerobní kultivace kvasinek v mediu obsahujícím etanol a biogenní prvky a zinek podle vynálezu, při němž se k základnímu mediu přidávají rozpustné soli vápenaté a železnaté nebo železité v množství 40 až 75 mg Ca a 2 až 3,6 mg Fe na 10 g přírůstku sušiny biomasy při poměru hmot Ca ku Fe 20 : 1.

Vynález řeší úpravu živného media, zajišťující potlačení tvorby kyseliny octové a zvýšení výtěžnosti přidávkou malých množství přesně definovaných látek, a to solí vápníku a železa, a je založen na překvapujícím zjištění, že nejvyšší účinek je dosažen při společném dávkování obou prvků a při dodržení určitého poměru jejich hmot.

Postup podle vynálezu je objasněn nikoliv však omezen následujícími příklady.

Příklad 1

V laboratorním fermentoru o obsahu 30 l a užitečném plnění 17 l byla provedena série srovnávacích kultivací kvasinky *Candida utilis* CCY 29-38-64 na syntetickém etanolu. Ve fermentoru opatřeném samonasávacím míchadlem a cirkulačním válcem se dosahuje rychlosti přenosu kyslíku $190 \text{ mmol O}_2 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$.

Při všech kultivacích bylo použito totéž základní živné medium, které v 1 litru obsahovalo tyto živiny:

0,8	g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
1,0	g H_3PO_4 - 85 % hmot.
0,45	g KOH
0,55	g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$
0,008	g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$

Kultivace byly vedeny při 30 °C, pH kultivačního media se udržovalo na hodnotě 4,0 automatickým dávkováním čpavkové vody. Společně se čpavkovou vodou používanou jako zdroj N a k regulaci pH se podle čs. autorského osvědčení č. 158954 do media dával i etanol. Použitá směs etanolu a amoniaku obsahovala 4 obj. díly syntetického lihu 90 % hmot. a 1 obj. díl čpavkové vody (21 % hmot. NH_3). Při všech kultivacích bylo takto do media přidáno shodné množství syntetického lihu, které odpovídalo 350 g absolutního etanolu. Přidávané inokulum odpovídalo počáteční koncentraci kvasničné sušiny 2,3 g/l. Kultivace trvaly v průměru 5 hodin a konečné koncentrace sušiny biomasy se pohybovaly od 12,6 do 13,8 g/l.

První kultivace sloužila jako kontrolní pokus a byla vedena na základním mediu. Při dalších kultivačních pokusech se k základnímu mediu přidávala různá množství chloridu vápenatého nebo chloridu železitého. Při kultivaci č. 6 byla k základnímu mediu přidána směs obou jmenovaných solí.

Výsledky srovnávacích kultivací jsou shrnuty v tabulce 1 a vyplývá z nich, že přídavek Ca i Fe k základnímu mediu potlačoval akumulaci kyseliny octové a poněkud zvyšoval výtěžnostní koeficient. Nejpriznivější výsledky však byly dosaženy při šesté kultivaci, kdy byly k základnímu mediu přidány oba prvky.

Tabulka č. 1

Pokus č.	1	2	3	4	5	6
Ca - mg na 10 g suš. kvas.	0	55	75	0	0	55
Fe - mg na 10 g suš. kvas.	0	0	0	2,1	6,5	2,1
Kys. octová - mg/l						
2. h	650	400	430	850	430	330
4. h	1560	640	550	570	550	370
$y_{x/s} - g/g$	0,61	0,64	0,63	0,65	0,63	0,67

Příklad 2

Na zařízení popsaném v příkladě 1, stejnou kultivační technikou a za týchž kultivačních podmínek byla provedena druhá série srovnávacích kultivací, při kterých byla k základnímu mediu přidávána různá množství chloridu vápenatého a železnatého a sledován optimální poměr hmot Ca ku Fe. Z výsledků shrnutých v tabulce 2 vyplývá, že optimální výtěžnostní koeficienty 0,69 g kvasničné sušiny z 1 g absolutního etanolu byly dosaženy při poměru hmot Ca ku Fe 20 : 1. Při nejvyšších dávkách 130 mg Ca a 6,5 mg Fe na 10 g předpokládaného přírůstku sušiny biomasy byl sice dosažen ještě dobrý koeficient výtěžnosti 0,68, ale kvasinky měly silný sklon k aglutinaci. Ve srovnání s kontrolním pokusem (příklad 1, kultivace 1) zvýšily přídavky Ca a Fe k základnímu mediu v případě optimálního poměru jejich hmot 20 : 1 výtěžnostní koeficient z 0,61 až na 0,69, tj. o 13 %.

198 984

Tabulka č. 2

Pokus č.	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Ca - mg na 10 g přírůstku suš. biom.	55	75	43	55	75	130	30	43	55
Fe - mg na 10 g přírůstku suš. biom.	2,1	2,85	2,1	2,85	3,6	6,5	2,1	2,85	3,6
Poměr hmot Ca : Fe	26:1	26:1	20:1	20:1	20:1	20:1	15:1	15:1	15:1
Kyselina octová - mg/l									
2. h pokusu	330	790	520	650	400	410	730	560	530
4. h pokusu	370	540	350	400	490	540	440	520	490
$y_{x/s}$ - g/g	0,67	0,66	0,69	0,69	0,69	0,68	0,68	0,67	0,66

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob aerobní kultivace kvasinek v mediu obsahujícím etanol, biogenní prvky a zinek, vyznačený tím, že se k základnímu mediu přidávají rozpustné soli vápenaté a železité nebo železnaté v množství 40 až 75 mg Ca a 2 až 3,6 mg Fe na 10 g přírůstku biomasy při poměru hmot Ca ku Fe 20 : 1.