



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

196 474

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 23 01 78
(21) PV 430-78

(51) Int. Cl.³

C 12 P 21/06

(40) Zveřejněno 29 06 79
(45) Vydáno 01 3 82

(75)
Autor vynálezu

ZAHRADNÍK JARKA ing., BRANÁ
MIKULÍK KAREL RNDr. CSc., PRAHA

PROKEŠ BOHUMÍR RNDr. CSc., PRAHA
CHALOUPKA JIŘÍ RNDr. DrSc., PRAHA

(54) Způsob výroby bílkovinného koncentráту z buněčné hmoty mikroorganismů

1

Vynález se týká způsobu výroby bílkovin z mikrobiální buněčné hmoty.

Buněčná hmota mikroorganismů je bohatá na bílkoviny, které mohou být použity v krmivářství, potravinářství apod. nejlépe tehdy, jsou-li odděleny od ostatních složek biomasy. Izolace bílkovin je chemicky i technologicky obtížná. Je třeba uvolnit buněčný obsah, šetrným způsobem solvatovat proteiny a izolovat je od ostatních komponent buněčné hmoty a od použitých chemikálií. Hmota se během procesu snadno kontaminuje a kazí. Izolace proteinu ze sušené biomasy dává jen nízké výtěžky.

Uvolní-li se buněčný obsah dezintegrací nesusušených buněk, získá se suspenze velmi drobných částic, které nelze odfiltrovat a obtížně se odštěďují i na nejvýkonnějších separátorech. Proteinová frakce se většinou solvatuje alkalickými hydroxidy, např. hydroxidem sodným, přičemž vznikají suspenze neobyčejně obtížně odstředitelné a navíc se při vyšším pH tvoří tmavě zbarvené produkty, které snižují kvalitu a použitelnost konečného preparátu. Neutralizací vznikají pak soli, které se strhávají do vysráženého proteinu, který je pak nutno čistit přesrážením.

Jiným účinným extrakčním činidlem je karbamid, je však nezbytné používat koncentrovaných roztoků, v nichž snadno vznikají jedovaté kyanatany, a karbamid se musí oddělovat od proteinů zdlouhavou dialýzou, přičemž regenerace činidla z velmi zředěných roz-

toků po dialýze je neekonomická.

Uvedené nedostatky jsou odstraněny způsobem výroby bílkovinných koncentrátů z buněčné hmoty mikroorganismů podle vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, že se buněčná biomasa vyluhuje roztokem kyseliny při pH 4,0 až 4,25, načež se oddělí suspenze od roztoku a k získanému sedimentu se přidá 100 až 200 g suspenze CaO a H₂O, která se maceruje po dobu 12 až 24 h při teplotě 30 až 60 °C, načež se roztok saturuje plynným kysličníkem uhličitým tak dlouho, až pH roztoku dosáhne hodnoty 6,5 až 7,5, načež se přefiltruje a získaný filtrát se vysuší a zpracuje na bílkovinný koncentrát.

Při zpracování buněčné hmoty kyselinou dochází k vyloužení některých nebílkovinných frakcí biomasy a k odstranění zbytků rekultivačního média. Navíc se rehydratují některé bílkoviny, zvláště při použití výchozí sušené hmoty. Přidáním směsi CaO a H₂O dochází k solvataci proteinů, některé lipidy se převádějí na nerozpustná vápenatá mýdla a současně se snižuje kontaminace v buněčné hmotě. Saturací roztoku plynným kysličníkem uhličitým dochází k vysrážení přebytečného hydroxidu vápenatého ve formě uhličitanu, přičemž se do sraženiny adsorbují zbytky tmavých melanoidů. Současně se do sraženiny strhávají jemné suspendované částice, takže se filtrací získá čistý roztok proteinů. Ten se buď přímo usuší nebo se proteiny vysráží v izoelektrickém bodě, znovu se odseparují, zneutralizují a usuší na přečištěný koncentrát.

Uvedený způsob výroby bílkovinného koncentráту má proti dosavadním postupům následující výhody: je možno vynechat nákladnou dezintegraci buněk, odstraní se nevhodné látky před extrakcí proteinů, dojde k částečné rehydrataci proteinů, při extrakci se nemohou množit kontaminanty, některé lipidy se vážou do sedimentu, roztok proteinů se snadno odděluje od balastu, tmavé produkty vznikají při procesu v napatrném množství, roztok proteinů lze pro některá použití zpracovat bez přečišťování. Výtěžky jsou významně vyšší než u postupů obdobných, odpad po izolaci proteinů obsahuje neškodný uhličitan vápenatý a je proto dále sužitkovatelný.

Dále je podstata vynálezu objasněna na konkrétních příkladech provedení, aniž by jej jakýmkoliv způsobem omezovaly.

Příklad 1 - extrakce ze sušené biomasy

1 díl sušené biomasy *Micrococcus varians* byl resuspendován v 10 dílech vody zahřáté na +60 °C. Přidána zředěná kyselina sírová až pH suspenze kleslo na 4,2. Mícháno 1 hodinu, odstředěno, sediment ponechán 6 hodin při teplotě +3 °C. Potom přimícháno do sedimentu 0,15 dílů CaO s malým množstvím vody. Ponecháno v termostatu přes noc při +45 °C, potom doplněno horkou vodou na původní objem a mícháno 1 hod. Probubláváno kysličníkem

uhličitým až pH kleslo na hodnotu 7,0. Odstředěno, získáno 7 dílů čirého roztoku, který byl usušen lyofilizací. Výtěžek : 0,33 dílů suchého koncentráту s obsahem 75 % hrubého proteinu.

Příklad 2 - extrakce z nativní biomasy

10 litrů zahuštěné suspenze *Bacillus megaterium* zahřáto na +60 °C a okyseleno kyselinou sírovou na pH = 4,25. Mícháno 1 hodinu, odstředěno, sediment smíchán se 150 g CaO a ponechán 24 hod. při teplotě +37 °C. Potom doplněno vodou na 10 l a 1 hod. mícháno při +80 °C. Probubláno kysličníkem uhličitým do pH = 7,5. Odstředěno, supernatant okyselen kyselinou solnou na pH = 3,5, ponecháno v chladničce přes noc. Znovu odstředěno, sediment zneutralizován hydroxidem sodným a usušen ve vakuu. Výtěžek - 250 g koncentrátu s obsahem 82 % hrubého proteinu.

Příklad 3 - extrakce z řasové pasty

3 kg pasty, vzniké jako zbytek po extrakci biostimulátorů ze sušené biomasy *Chlorella vulgaris*, bylo rozmícháno s malým množstvím vody na hustou kaši a okyseleno kyselinou sírovou na pH = 4 a ponecháno přes noc v chladničce při +3 °C. Potom smícháno s 200 g CaO a macerováno 12 hod. při +50 °C. Zředěno horkou vodou na objem 10 litrů a mícháno 1 hod. při +75 °C. Saturováno kysličníkem uhličitým do pH = 6,5, potom odfiltrováno a filtrát usušen ve sprejové sušárně. Výtěžek - 160 g bílkovinného koncentrátu s obsahem 85 % hrubého proteinu.

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

Způsob výroby bílkovinných koncentrátů z buněčné hmoty mikroorganismů, vyznačený tím, že se buněčná biomasa vyluhuje roztokem kyseliny při pH 4,0 až 4,25, načež se oddělí suspenze od roztoku a k získanému sedimentu se přidá 100 až 200 g suspenze CaO a H₂O a maceruje při teplotě 30 až 60 °C, načež se roztok saturuje plynným kysličníkem uhličitým tak dlouho, až pH roztoku dosáhne hodnoty 6,5 až 7,5, načež se přefiltruje a získaný filtrát se vysuší a zpracuje na bílkovinný koncentrát.