



**URZĄD  
PATENTOWY  
PRL**

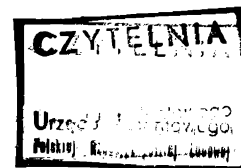
Patent tymczasowy dodatkowy  
do patentu nr ———

Int. Cl.<sup>3</sup> C12P 7/48

Zgłoszono: 29.12.79 (P. 221010)

Pierwszeństwo ———

Zgłoszenie ogłoszono: 03.11.80



Opis patentowy opublikowano: 30.11.1983

**Twórcy wynalazku:** Władysław Leśniak, Waldemar Podgórski, Jerzy Ziobrowski,  
Jerzy Pietkiewicz

**Uprawniony z patentu tymczasowego:** Akademia Ekonomiczna im. Oskara Langego,  
Wrocław (Polska)

### **Sposób wytwarzania kwasu cytrynowego metodą fermentacji węgłębnej**

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania kwasu cytrynowego metodą fermentacji węgłębnej w warunkach tlenowych, na substratach zawierających cukry albo inne fermentujące węglowodany, a w szczególności na substratach z melasy buraczanej lub trzcinowej.

Z obszernej literatury oraz z opisów patentowych znane są sposoby produkcji kwasu cytrynowego metodą fermentacji węgłębnej na substratach melasowych. Na tych substratach dla ograniczenia nadmiernego wzrostu grzybni oraz stymulacji tworzenia kwasu cytrynowego dodawany jest żelazocyjanek potasowy, na przykład według opisu patentowego St. Zjedn. Am. 3 941 656.

Znane są również metody regulacji stężenia tlenu rozpuszczonego w różnych typach fermentacji tlenowych, na przykład z polskiego opisu patentowego nr 108041. Celem ich jest uzyskanie oszczędności zużycia powietrza w przypadku hodowli na przykład drożdży oraz oszczędności energii wydatkowanej na mieszanie środowiska w odniesieniu do fermentacji cytrynowej.

Wadą znanych sposobów fermentacji kwasu cytrynowego na podłożach melasowych jest duże zużycie źródeł węgla zawartych w substracie na oddychanie i na wzrost grzybni w początkowej fazie procesu, to znaczy przez pierwsze trzy doby, co uniemożliwia uzyskiwanie wyższych wydajności kwasu cytrynowego.

Istota sposobu wytwarzania kwasu cytrynowego według wynalazku polega na tym, że w początkowej fazie fermentacji aż do momentu, gdy przyrosty szybkości wydzielania CO<sub>2</sub> określane jako I<sub>CO2</sub> zaczynają przybierać wartości ujemne, limituje się intensywność oddychania grzybni drogą ograniczania stężenia tlenu rozpuszczonego w brzeczce, do poziomu niższego od wartości krytycznej, a następnie stopniowo zwiększa się stężenie tlenu rozpuszczonego w brzeczce do wartości wyższych od stężenia krytycznego. Przez stężenie krytyczne tlenu rozpuszczonego rozumie się granicę, która zaczyna limitować oddychanie grzybni. Poniżej poziomu krytycznego oddychanie jest zahamowane. Stwierdzono, że stężenie krytyczne wynosi dla pleśni około 10% stanu nasycenia, a w przypadku drożdży około 2–3% stanu nasycenia.

Stężenie tlenu rozpuszczonego w brzeczce ogranicza się do wartości niższych od poziomu krytycznego za pomocą regulacji natężenia przepływu powietrza wprowadzanego do środowiska hodowlanego, zmiany obrotów mieszadła, dodatku substancji chemicznych zmniejszających roz-

puszczalność tlenu w brzeczce lub innymi znanymi metodami. W procesie fermentacji kwasu cytrynowego stosuje się szczepy *Aspergillus niger* W-78-B, W-78-C, IT-81, KB-376-UU, SBE-423-UU.

Sposób według wynalazku pozwala uzyskać wyższą wydajność kwasu cytrynowego od 15% do 30%, zależnie od stosowanego szczepu pleśni. Jest to spowodowane mniejszym zużyciem cukru na oddychanie i wzrost grzybni. Ponadto uzyskuje się oszczędność w zużyciu energii elektrycznej na napowietrzanie środowiska hodowlanego i mieszanie.

**Przykład I.** Proces fermentacji węgłnej kwasu cytrynowego prowadzono z użyciem jako podłoża wodnego roztworu melasy buraczanej o zawartości 14% cukrów, w fermentorze o pojemności roboczej 10 dm<sup>3</sup>, z mieszaniem i z regulacją stężenia tlenu rozpuszczonego za pomocą ilości dostarczanego powietrza do środowiska hodowlanego. Stosowano szczep *Aspergillus niger* W-78-B wyselekcjonowany w Instytucie Technologii Przemysłu Chemicznego i Spożywczego Akademii Ekonomicznej we Wrocławiu. W trakcie procesu fermentacji prowadzono pomiar i rejestrację gazów odlotowych (CO<sub>2</sub> i O<sub>2</sub>), pomiar pH, potencjału redox oraz temperatury.

Po 18 godzinach od momentu wprowadzenia inokulum stężenie tlenu rozpuszczonego, mierzone w procentach stanu nasycenia przez „Oxyster”, spadło do poziomu zerowego i utrzymywane było na tym poziomie do końca drugiej doby procesu, czyli do momentu, kiedy zmalała aktywność oddechowa grzybni. Moment ten określano na podstawie wskaźnika I<sub>CO2</sub> (szybkości wydzielania CO<sub>2</sub>). Od tego momentu zwiększano stężenie tlenu rozpuszczonego do poziomu około 40% stanu nasycenia.

Proces trwał 6 dób. Uzyskano wydajność kwasu cytrynowego 73,7% bezwodnego kwasu cytrynowego w stosunku do ilości wprowadzonego cukru, przy czym stwierdzono tylko śladowe, nie wykrywalne za pomocą CaCl<sub>2</sub>, ilości kwasu szczawiowego.

**Przykład II.** Proces fermentacji węgłnej prowadzono w warunkach jak w przykładzie I, z tym, że nie stosowano w początkowej fazie hodowli limitowania intensywności oddychania grzybni, na skutek czego stężenie tlenu rozpuszczonego kształtowało się powyżej 10% stanu nasycenia, czyli powyżej stężenia krytycznego.

Proces przebiegał przez 6 dób z wydajnością 51,2% bezwodnego kwasu cytrynowego w stosunku do wprowadzonych cukrów z melasą. (Roztwór wyjściowy melasy zawierał 14% cukrów).

### Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania kwasu cytrynowego metodą fermentacji węgłnej w warunkach aerobowych na podłożu, które stanowi melasa buraczana lub trzcinowa, przy użyciu pleśni *Aspergillus niger*, **znamienny tym**, że w początkowej fazie fermentacji, aż do momentu, gdy przyrosty szybkości wydzielania CO<sub>2</sub> określane jako I<sub>CO2</sub> zaczynają przybierać wartości ujemne, limituje się intensywność oddychania grzybni drogą ograniczania stężenia tlenu rozpuszczonego w brzeczce, do poziomu niższego od wartości krytycznej, a następnie stopniowo zwiększa się stężenie tlenu rozpuszczonego w brzeczce do wartości wyższych od stężenia krytycznego.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że stężenie tlenu rozpuszczonego w brzeczce ogranicza się drogą regulacji natężenia przepływu powietrza wprowadzanego do środowiska hodowlanego, zmianą obrotów mieszadła, lub dodatkiem substancji chemicznych zmniejszających rozpuszczalność tlenu w brzeczce.

3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że w procesie fermentacji kwasu cytrynowego stosuje się szczepy *Aspergillus niger* W-78-B, W-78-C, IT-81, KB-376-UV, SBE-423-UV.