

EGYSEJT-FEHÉRJE (SCP) ELŐÁLLÍTÁSA

SCP = Single Cell Protein = egysejt-fehérje

A fermentáció célja maga a sejtömeg.

Az emberiség ellátására egyre nagyobb mennyiségű fehérjére van szükség, ezt a mezőgazdaság/állattenyésztés nem tudja biztosítani. →

Mennyiségi és minőségi fehérje-éhezés – esszenciális AS

A mikroba fehérje összetétele és tápértéke jó, de fajtánként változó →

Felhasználás: rendszerint állati takarmányként hússá stb. alakítják.

De: háborús időkben emberek is fogyasztottak élesztőt (SZU, Németo.), és ma is van néhány élelmiszertermék.



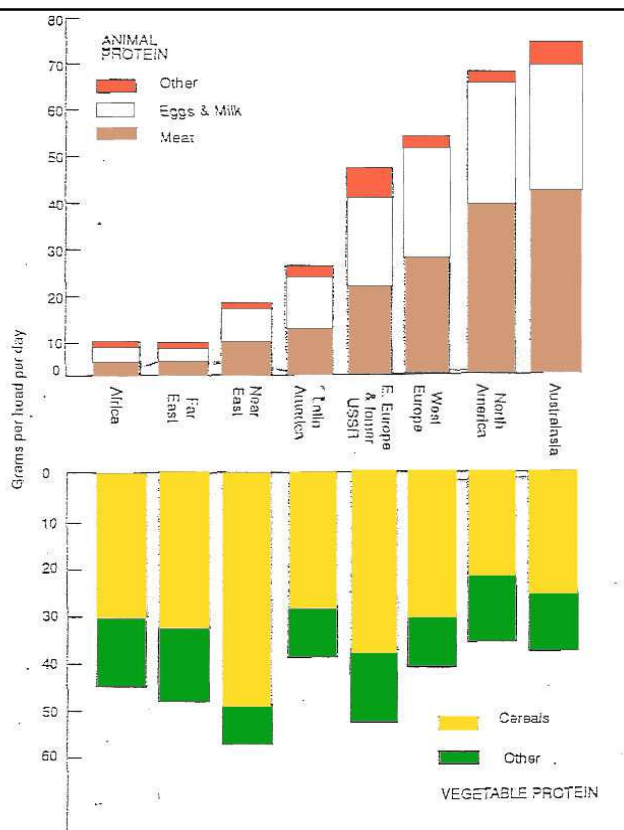
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

1

A FEHÉRJE FOGYASZTÁS MEGOSZLÁSA



BME Alkalmazott



EGYSEJT-FEHÉRJE (SCP) ELŐÁLLÍTÁSA

%	élesztő	metanol-baktérium	tisztított fehérje	gombák	algák	szójaliszt	tejpor
fehérje	60.0	83.0	80.0	42.0	70.0	45.0	34.0
zsírsavak	9.0	7.4	8.0	13.0	5.0	1.8	1.0
nukleinsavak	5.0	15.0	1.0	9.7	4.0		
ásványi sók	6.0	8.6	8.0	6.6	7.0	6.0	8.0
aminosavak	54.0	65.0				40.0	
nedvességtartalom	4.5	2.8	4.0	13.0	6.0	12.0	5.0



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

EGYSEJT-FEHÉRJE

ELŐNYEI:

- fehérje tartalma nagy,
- zsírtartalma kicsi (ezen belül is kevés a telített zsírsav), kevés rost,
- kevés a só,
- jó a tápértéke,
- vitaminok
- kicsi generációs idő (vö. állatok)

HÁTRÁNYAI:

- Nagy a nukleinsav tartalom (→ húgysav → köszvény)
- Toxikus és vagy karcinogén anyagok (szénhidrogén szubsztrátból)
- Nehezen emészthető sejttal → lassú emésztés, allergia
- Az aminosav összetétel nem ideális (Met, Cys kevés)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

4

SZUBSZTRÁTOK

Az egysejt-fehérje árában a legnagyobb tétel a szubsztrát, ezért a gyártás gazdaságossága a (szója)fehérje és a szubsztrát pillanatnyi árától függ.

FŐ SZÉNFORRÁSOK:

- Szén-dioxid (légköri)
- Szénhidrátok
- Szénhidrogének
- Alkoholok



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

5

SZUBSZTRÁTOK

Szén-dioxid (légköri)
autotróf + fény kell hozzá, napenergia



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

SZUBSZTRÁTOK

B). Algatenyésztés valódi algák = zöldalgák

b1) Beton vagy műanyag lagúnában, csatornában, 20-50 cm mély víz

Napfényes helyeken: Izrael, Florida.

Folytonos tenyésztés

CO₂ + kevés O₂ betáplálás – ülepedés miatt,
+ N forrás,

baktériumos befertőződés felléphet.

Befektetés: 20.000 USD/ha,

A termék fehérjetartalma 40-50%, nukleinsav tartalma kicsi, 4-6%.

Sejtkinyerés: flokuláltatással Ca(OH)₂ adagolással, mert a centrifugálás drága.

Előállítási költség: 4-10 USD/kg (a szója csak 3 USD/kg)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

7

SZUBSZTRÁTOK

b2) HETEROTRÓF ALGASZAPORÍTÁS.

Chlorella sp. melaszon, folytonos, aszeptikus eljárás.

Japán: termelés 3.000 t/év,

előállítási költsége: 10-15 USD/kg,

felhasználás: speciális élelmiszer adalék.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

8

TENYÉSZTÉS SZÉNHIDRÁTOKON

Ideális szubsztrátok, megújuló, heterotrófok hasznosítják.
De: a poliszacharidokat le kell bontani.

Szénhidrát források		x10 ⁶ tonna/év
cukrok	melasz	9.3
	tejsavó	1.5 (USA)
	szulfít szennylég	12
keményítő cellulóz	zöldség feldolgozás maradék	
	préselt cukornád	106
	búzakorpa	58
	búzaszalma	864
	rizsszalma	599
	kukorica maradék	193
	városi hulladékok (papír)	152
faipari és erdészeti maradék	61	



TENYÉSZTÉS SZÉNHIDRÁTOKON

a.) SCP termelés melaszon:

35-50% cukortartalom, ezt felhígítják 4-6%-ra, sterilizik.

Törzsek: *C. utilis*, *S. cerevisiae*,

Erőteljes levegőztetés

folytonos szaporítás, $D = 0,2-0,3$

Nagy produktivitás, olcsó.

Centrifugálás,

Tajvan, Dél-Afrika, Oroszország: élelmiszer kiegészítő +
takarmány, (háborús időszak)

Pékélesztő gyártás ~600.000 t/év





TENYÉSZTÉS SZÉNHIDRÁTOKON

b.) SCP termelés laktózon:

A sajtgyári savó kb. 5 % tejcukrot és 1 % fehérjét tartalmaz.

Ha ez szennyvízként megy el, akkor BOI = 70.000 !!

Ezért inkább ultraszűréssel elválasztják a fehérjét (tápszer, élelmiszeripari adalék) és a laktózon

Saccharomyces lactis,

Candida utilis,

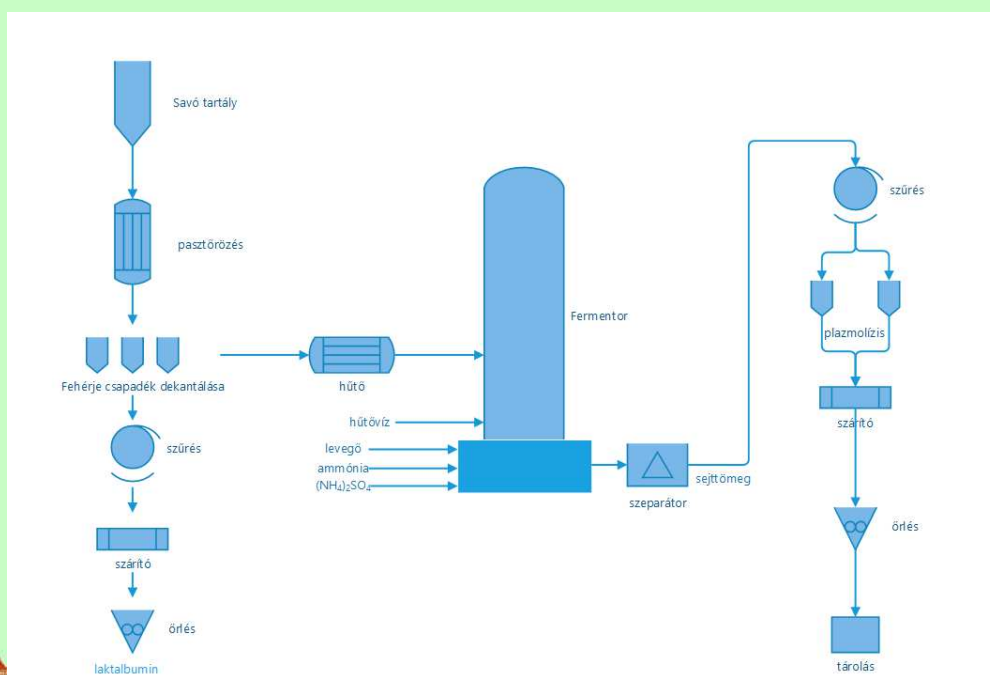
Saccharomyces fragilis,

Kluyveromyces lactis

törzseket szaporítanak. →



TENYÉSZTÉS SZÉNHIDRÁTOKON



BEL FROMAGERIES-ELJÁRÁS

Kluyveromyces marxianus-szal, tejsavón:

Szubsztrát: tejsavó ~ 5% laktózt, 0,8% proteint, és 0,2-0,6% tejsavat tartalmaz

Ha biomasszát akarunk termelni, akkor levegőztetjük a fermentációt, míg az alkohol gyártásnál minimális a levegőztetés

A takarmányozási célú biomasszához az összes ásványi anyag és tejsav is felhasználható: → bepárlás, → porlasztva szárítás

Élelmiszer minőségű biomassza előállításához a sejteket centrifugálják, mossák és szárítják.



TENYÉSZTÉS SZÉNHIDRÁTOKON

c.) szulfitszennylúgon

Papír ill. cellulóz gyártás szennyvize, 2-7 % cukrot (elsősorban pentózokat) + szerves savakat tartalmaz, BOD~50.000

Candida utilis, törzzsel (Csehország)

Folytonos eljárás, 3x800 m³-es fermentor,

Termelése: 25.000 t SCP/év

Pekilo eljárás

Paecilomyces varioti törzzsel (Finnország) 10.000 t/év, a pentózt és ecetsavat jobban hasznosítja

Fehérjetartalom: 55-60 %

360 m³-es keverős fermentor, folytonos, D = 0.2



TENYÉSZTÉS SZÉNHIDRÁTOKON

d.) glükózon

általában nem gazdaságos, de az RHM Mycoprotein (élelmiszer) eljárása: *Fusarium graminearum* törzzsel igen.

Folytonos kemosztát tenyésztés (D = 0,2) glükózon, air lift, + NH₃ gáz bevezetés (pH szabályozás és N forrás).

Feldolgozás: 1. Ciklonos sűrítés

2. Hőkezelés: 20 percig 64°C-on;

– A hőstabil RNáz lebontja az RNS-t 10%-ról 2%-ra.

– A proteázok inaktíválódnak, ezáltal stabilabb termék.

3. Szűrés, 4. Szárítás,

45% fehérjetartalmú anyag, +tojásfehérjével, extrudálással, gőzöléssel, fagyasztással javítják a textúráját.

10 éves állati és humán kísérletek után, 1985-ben engedélyezték.





A *F. graminearum*-mal glükózon előállított (RHM) gombaproteint Nagy-Britanniában Quorn márkanéven, ~50 élelmiszerben forgalmazzák „Healthy food”, húspótló, vegák.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

TENYÉSZTÉS SZÉNHIDRÁTOKON

e.) keményítő hulladékon

Symba eljárás (svéd)

Keményítő hulladékok a keményítő gyártásból, pl. burgonya szelet.

1. lépcső: *Endomycopsis fibuliger* (amiláz termelő) + NH_3

2. lépcső: *Candida utilis* élesztő sejtömeg

Folytonos eljárás,

A BOD lemegey ~ 1000 mg O_2/l -re

Solid substrate fermentation = szilárd fázisú fermentáció (mint a silózás)

szilárd hulladék + NH_4 + só + mikroba,

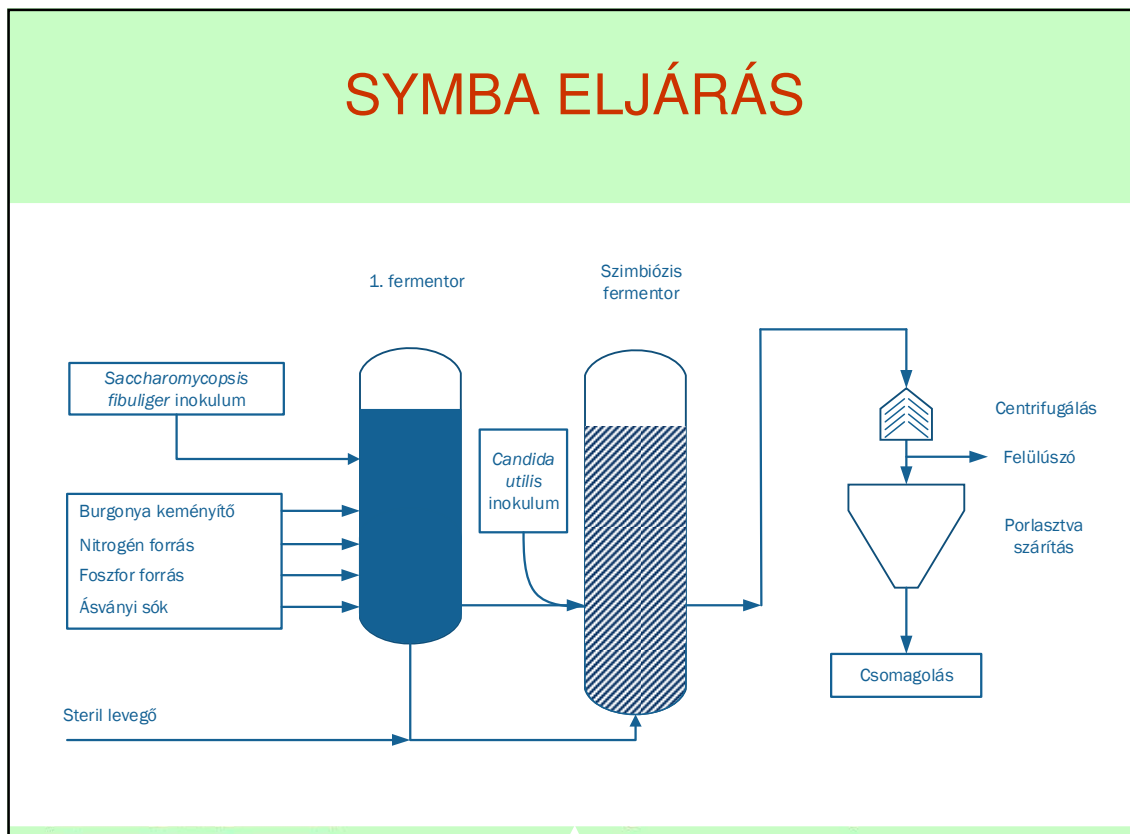
Fehérjetartalom 10-15%, sok rost és hamu ballaszt



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

18

SYMBA ELJÁRÁS



TENYÉSZTÉS SZÉNHIDRÁTOKON

f.): cellulózon/hemicellulózon

A tiszta cellulóz enzimes bontása úgy-ahogy megy, de a hemicellulózzal és a ligninnel együtt nehéz. Kémiai/fizikai előkezelés kell → megdrágítja a folyamatot.

Minimum 3 enzim kell a komplex szerkezet lebontásához:

Endo β 1,4-glükánáz, endocelluláz, C_x enzim, oldható cellulózból C_x hatására lesz cellobióz és oligomerek

Exo- β 1,4-glükánáz, cellobiohidroláz, c1 enzim, a *Trichoderma viridae* enzimeinek 80%-a ez. Kristályos cellulózból c1 hatására lesz cellobióz

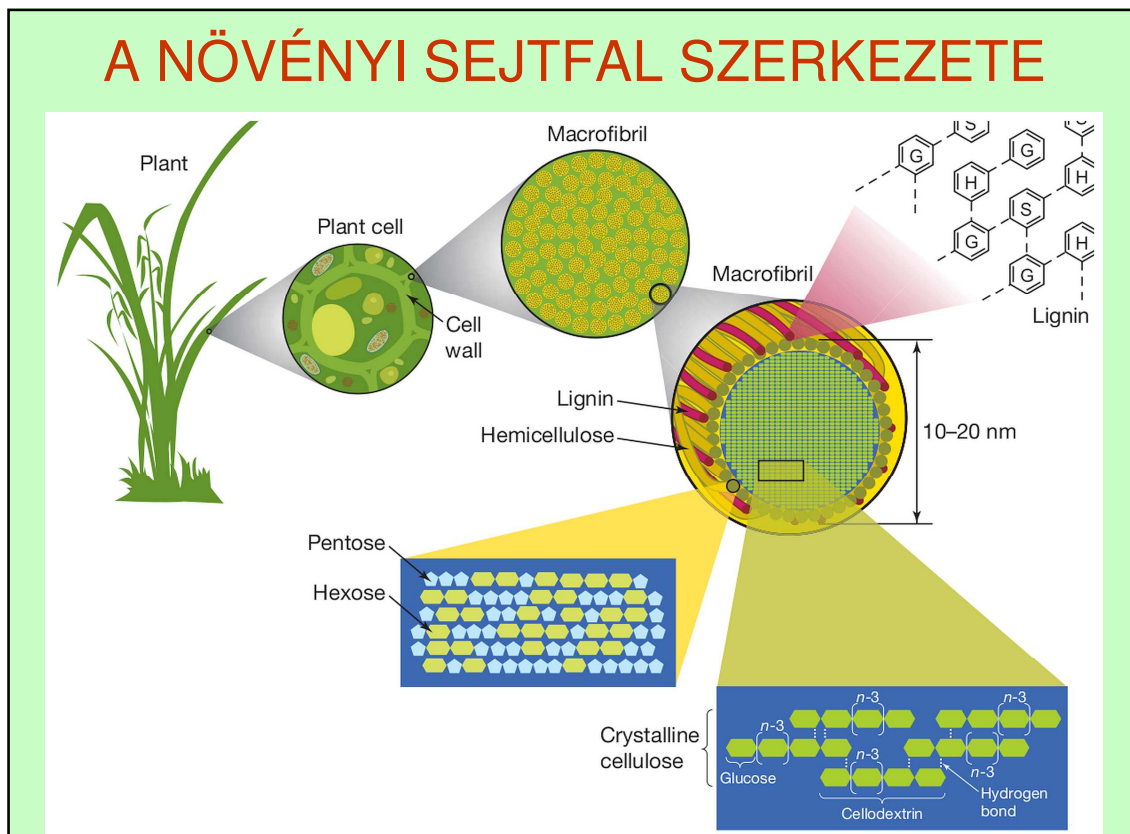
β -1,4-glükózidáz, cellobiáz a cellobiózt 2 glükózra hasítja

Hatásukra → glükóz + ötszénatomos cukrok keletkeznek.

A *Trichoderma viridae* és *Penicillium*, *Aspergillus* fajok termelik, de nem nagyipari SCP eljárás.

SSF: *Trichoderma* + NH_4 + szalma → takarmány, ~15% fehérjetartalom





TENYÉSZTÉS SZÉNHYDROGÉNEKEN

Biokémiai folyamatok:

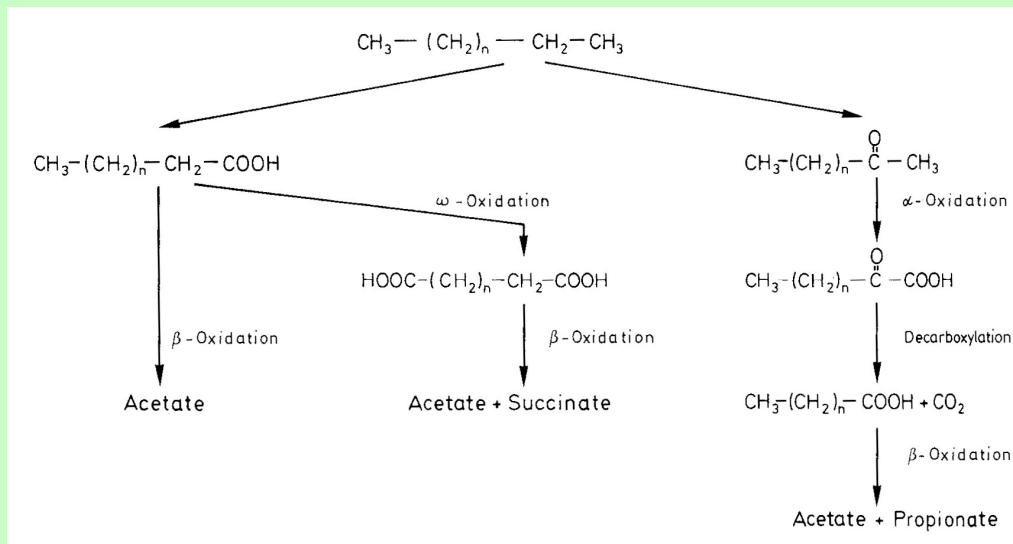
Terminális oxidáció: a lánc végén kezdődik (-OH, -CHO, -COOH) majd béta-oxidációval folytatódik

Szubterminális oxidáció: alfa helyzetben jelenik meg egy keto-csoport és egy CO₂ molekula hasad le.

→



TENYÉSZTÉS SZÉNHYDROGÉNEKEN



TENYÉSZTÉS SZÉNHYDROGÉNEKEN

n-alkánokon

C_{10} - C_{17} gázolajfrakcióból molekulaszűréssel vonják ki a n-láncúakat.

Törzsek: *Candida tropicalis*, *C. lipolytica*, *C. guilliermondii*

Technológia: az n-alkán rosszul oldódik: emulzió, 0.01-0.50 μm cseppek, felületaktív anyag kell hozzá + a mikroba is termeli, jól hasznosul. Négyfázisú rendszer: víz, olaj, sejtek, levegő – diszpergálni kell.

Az élesztőkben a passzív diffúziót elősegíti a sok lipid a citoplazma-membránban.

Nagy az O_2 igény (2-3 vvm) és a hőfejlődés: 1 kg SCP-hez 1-1,2 kg alkán, 2,2 kg O_2 és 27000 kJ hőfejlődés tartozik.

Airlift, magas reaktor, túlnyomásos, nagy térfogatok.



TENYÉSZTÉS SZÉNHYDROGÉNEKEN

Paraméterek:

- n-alkánál: $\mu_{\max} = 0,28$ $Y = 0.98$
- glükóznál: $\mu_{\max} = 0.62$ $Y = 0.51$

→

Kapacitások:

BP technológia: Szardínia, Japán

Kapacitás 200.000 t/év; de 1973-ban bezárták, társadalmi nyomás hatására, noha engedélyezett termék volt.

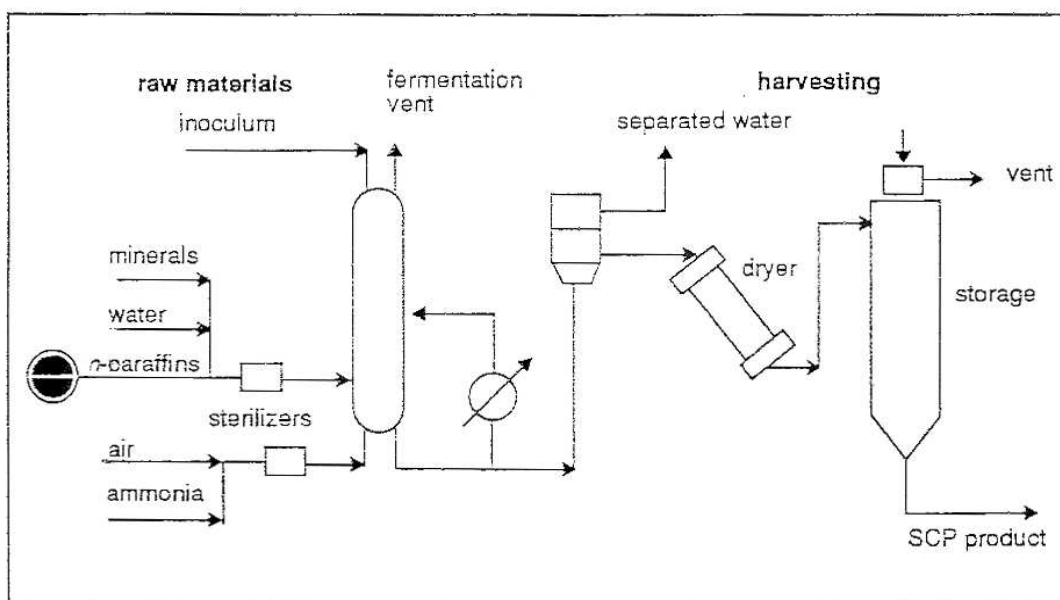
SZU/Oroszország: tömegtermelés (több százezer t/év), *Candida guilliermondii* törzssel

Romániában volt egy üzem, ~60.000 t/év, ma?



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

25



The production of *Candida lipolytica* from n-alkanes



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

26

TENYÉSZTÉS METÁNON

Eltérés: a metán gáz halmazállapotú, oldhatósága kicsi. Nem keverhető a levegővel, mert robbanásveszélyes. A metánnak a folyadékon áthaladva teljesen el kell fogynia. Kevert reaktorban ez nem megy → csőreaktor → még jobb: cirkulációs reaktor: U-loop fermentor

UniProtein eljárás:

Methylococcus capsulatus, folyamatos: $D=0,20-0,25 \text{ h}^{-1}$
biomassza: 20-30 g szá/liter

Feldolgozás: centrifugálással 22%-ra koncentrálják,
70 °C-ra melegítik (RNS csökkentés),
porlasztva szárítják



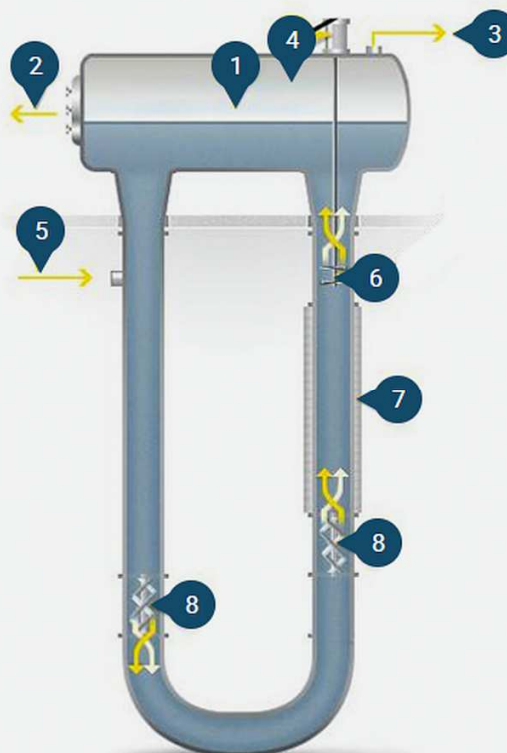
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

27

THE U-LOOP FERMENTOR

The fermentor and its design are the most important aspects of the U-Loop production process.

- 1 Degassing unit
- 2 Continual harvest of biomass
- 3 CO2 outlet
- 4 Nozzle pump
- 5 Injections of medium
- 6 Propeller pump (for moving the fluid through the loop)
- 7 Cooling
- 8 Static mixers



TENYÉSZTÉS ALKOHOLOKON

a.): etilalkoholon

Csak akkor volt versenyképes, amikor a földgázból nyert EtOH nagyon olcsó volt (etán → etilén → etanol → SCP).

Kapacitások:

USA: 7.000 t/év, *Candida utilis* törzs, Hozam: $Y = 0,7$
élelmiszer kiegészítőként alkalmazták

Csehország: volt egy nagy üzem, ahol takarmány-élesztőt gyártottak.

A rendszerváltás óta nincs információ.



TENYÉSZTÉS METANOLON

A metanolt a földgáz metánjából parciális oxidációval nagy tömegben, olcsón lehetett előállítani. Erre épült egy komoly SCP ipar.

Nagyon sokféle baktérium képes a metanolt hasznosítani.

Obligát metilotróf baktériumok: *Methylobacter*, *Methylococcus*, *Methylomonas*, *Methylosinus*, *Methylocystis*

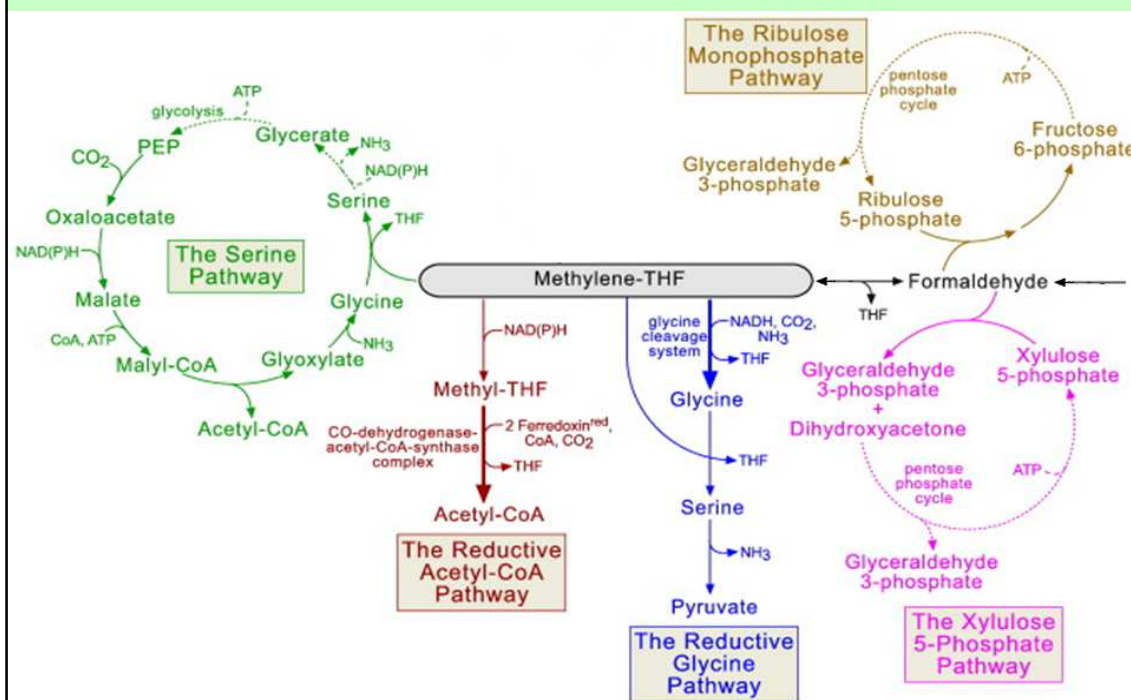
Fakultatív metilotróf baktériumok: *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Protaminobacter*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Rhodopseudomonas*, *Vibrio*

Fakultatív metilotróf élesztők: *Candida boidinii*, *Hansenula capsulata*, *Pichia haplophila*, *P. pastoris*, *Torulopsis glabrata*

Fakultatív metilotróf gombák: *Paecilomyces*, *Trichoderma*



A METANOL ASSZIMILÁCIÓ ÚTJAI

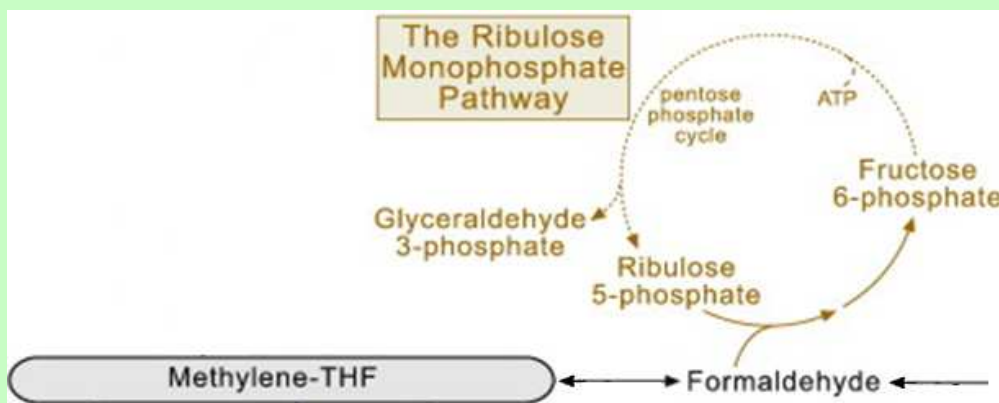


METANOL ASSZIMILÁCIÓ

1. ribulóz-monofoszfát út:

Kulcsenzime a hexulóz-foszfát szintáz

Ezen az úton hozam eléri az $Y = 0,5$ -et →



METANOL ASSZIMILÁCIÓ

2. szerin út:

Kulcsenzime a szerin-transzhydroxi-metiláz, amely egy glicinhez kapcsolja az aktív formaldehidet, és ezáltal szerint termel.

Ezen az úton a hozam csak $Y \sim 0,3$

A szerin úton hasznosító baktériumok szilárd tápoldaton általában rózsaszín pigmentet termelnek.

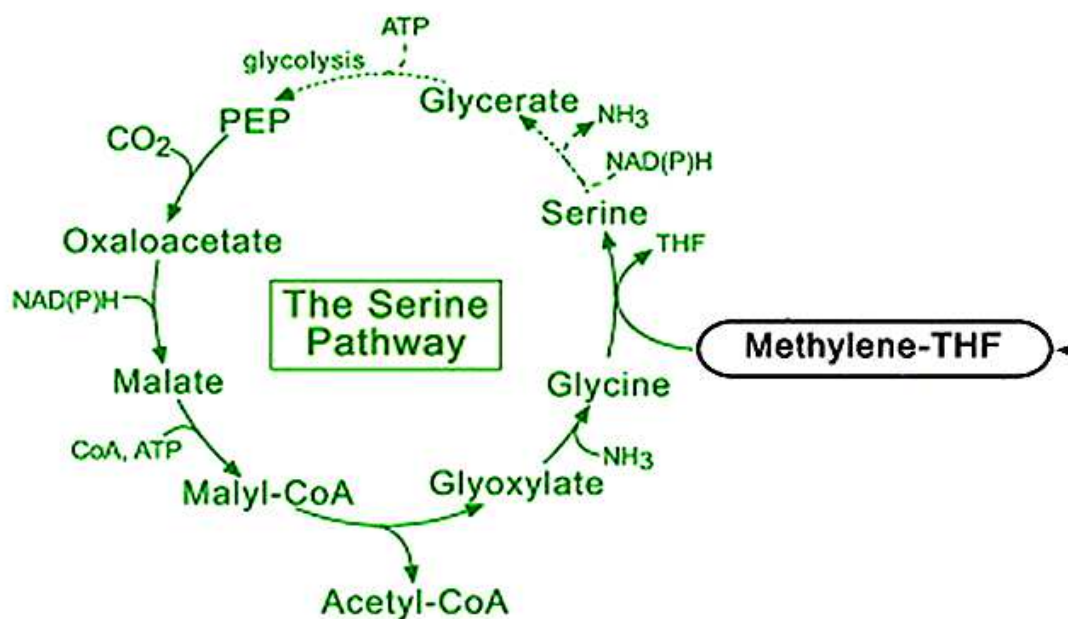
→



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

33

METANOL ASSZIMILÁCIÓ



ICI TECHNOLOGIA

Törzs: *Methylophylus methylotrophus*

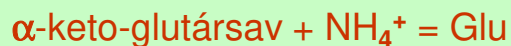
Hexulóz-foszfát út, $Y = 0,53$, és gyors növekedés.

Génmanipuláció: a sok fehérjéhez sok Glu-ra van szükség.

A *M.m.* ezt transzaminálással szintetizálja, ahol az aminoszén-donor egy Gln:



Ugyanezt az *E. coli* egyszerűbben végzi, ammónium ionnal.



Ezt az enzimet klónozták át a *M.m.*-ba, javítva a fehérje termelést.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

35

ICI TECHNOLOGIA

Reaktor: óriási toronyfermentor, 60 m magas, $V = 3000 \text{ m}^3$, benne lyukacsos tálcák találhatók.

MŰSZAKI CSÚCSTELJESÍTMÉNY!

A metánolt 8000 (!!)-al táplálták, ami a koncentrációja. Emiatt a hozam

Folytonos, $D = 0,2$, $t = 37 \text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 7$

~100 napig üzemelt fertőződés nélkül.

A sejtek szeparálása után a levet (réz)

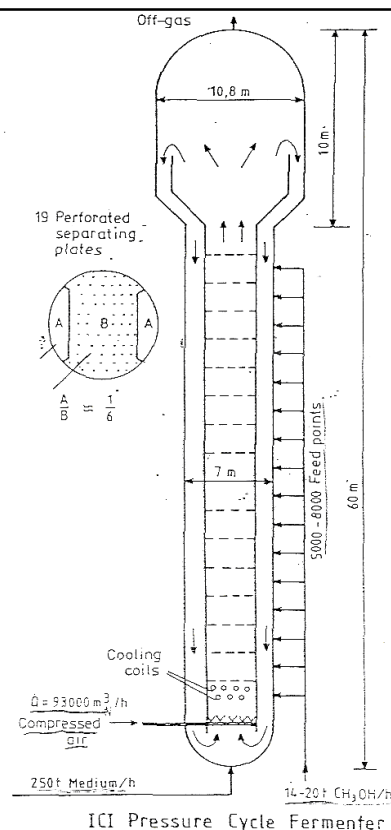
Termelése: 4 g/l/h

Kilépő koncentráció: 30 g/l

Kapacitás: 70.000 t/év

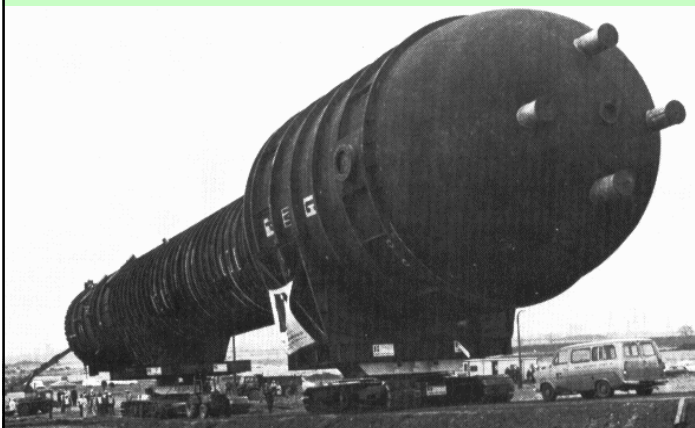


BME Alkalmazott Biotechnológia és



ICI Pressure Cycle Fermenter

ICI REAKTOR



Billingham, UK, 1978



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

37

ICI TECHNOLÓGIA

Feldolgozás:

- a lefejtett levét savas közegben 70°C-on kezelik, így az RNS koncentráció csökken,
- steril centrifugálás,
- a levét (részben) visszatáplálják,
- a sejteket szárítják.

A beruházás ~150 millió GBP-ba került.

Az egész világ a csodájára járt, de mire elkészült (1980) már gazdaságtalan volt.

A termék költsége ~600 USD/t fehérje, míg a halliszt és a szója 2-300 dollár/t-ba került.

Áttértek a Mycoprotein-re (*Fusariummal*) – de ebből nem kellett annyi, csak néhány ezer tonna.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

38

ICI REAKTOR BONTÁSA



1988



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

39

ENGEDÉLYEZTETÉS

Amikor az ICI elkezdte a projektet, még nem volt sem szervezet, sem szabály az engedélyeztetésre, ezeket menet közben kellett kialakítani. Azóta a WHO és a IUPAC foglalkozik vele, megvannak az eljárások. Vizsgálni kell:

TAKARMÁNYRA:

- » Toxikológia
- » Teratogénia
- » Mutagenitás
- » Szermaradványok
- » Emészthetőség szempontjából.

ÉLELMISZEREKRE még pluszban

- » klinikai vizsgálatokat írnak elő



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

40