

1. Egysejt-fehérje (Single Cell Protein, SCP) termelés

1.1. Bevezetés

A fermentációs ipar technológiái közül a legegyszerűbbek azok, amelyekben maga a sejt tömeg a termék. A mikrobiális sejteknek két fő felhasználási területe van:

1. Proteinforrás (egysejt-fehérje, single cell protein, SCP) emberi és állati fogyasztásra.
2. Inokulum (oltó-, starter-) kultúrákként, élelmiszeriparban (pékélesztő), mezőgazdaságban, hulladékkezelésben.

1.1.1. Proteinigény

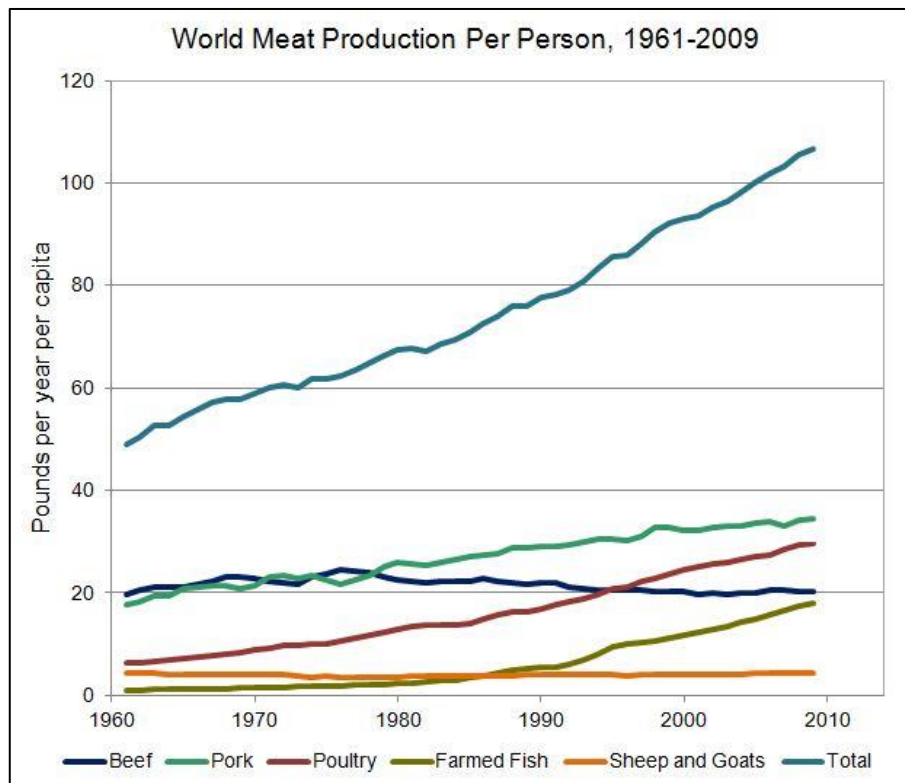
A világ fejlődő országainak nagy részében gondot jelent a növekvő lakosság megfelelő élelmiszer ellátása. Ennek egyik aspektusa a fehérje hiány. Nem elegendő a szükséges kalória mennyiséget pl. szénhidrátokból biztosítani, a megfelelő fehérje bevitelre is szükség van. A táplálékláncban az originális fehérje termelők a növények. Az állati szervezet csak fehérjéből tud fehérjét termelni, és ráadásul ez az átalakítás elég rossz hatásfokú (jó esetben is csak kb. 2-3 kg takarmány fehérjéből lesz 1 kg állati fehérje. Tisztán növényi (vegetáriánus) étrenddel körülményes a megfelelő fehérje bevitel biztosítani, így az állattenyésztés közvetítő, átalakító szerepét nem lehet megkerülni. Így a fehérjeigény mind az emberi, mind az állati táplálkozásban jelentkezik.

A fehérje alultápláltság kétféle formában is jelentkezhet: mennyiségi és minőségi hiányként. A mennyiségi hiány azért lép fel, mert az emberi szervezet a beviteltől függetlenül naponta kb. 8-10 g elemi nitrogénnek megfelelő nitrogénvegyületet választ ki, elsősorban a vizelettel. Ennek pótlására legalább ugyanennyi nitrogént kell bevinni, szerves vegyületek, elsősorban fehérjék formájában. Tehát napi 50-60 g fehérje bevitel szükséges. A minőségi fehérjeéhezés viszont abból adódik, hogy az esszenciális aminosavakat szervezetünk nem képes előállítani, ezért azokat a táplálékkal kell elfogyasztanunk. A megfelelő aminosav összetételű, teljes értékű fehérje bevitelre külön figyelmet kell fordítani. A legnagyobb mennyiségben termelt haszonnövények (gabonafélék) fehérje tartalma kicsi, és ebben is kevés az esszenciális aminosav. Egyedül a hüvelyesek (szója, csicseriborsó, babfélék) tartalmaznak nagyobb mennyiségű és teljes értékű fehérjét. Az állati eredetű termékek (hús, tej, tojás) fehérjetartalma és összetétele megfelelő, de ez csak fehérjék átalakításával jön létre.

Ennek fényében a világ egyre növekvő élelmiszerigénye ösztönzi az ún. nem-konvencionális proteinforrásokra irányuló kutatásokat, amellyel kiegészíthetjük a már meglévő forrásokat. A növények és állatok átalakító kapacitása mellett célszerűnek látszik a lényegesen gyorsabban szaporodó mikroorganizmusok anyagcseréjét igénybe venni.

Nagy érdeklődés irányul az olcsó anyagok hasznosításával nyerhető mikrobiális fehérjére, vagy más néven **egysejt-fehérjére** (Single Cell Protein). Az egysejt-fehérje igény két területen is jelentkezik. Egyfelől a jelenleg meglévő fehérje források mellett a táplálék bázis kiszélesítése, másfelől a takarmányozásban alkalmazott konvencionális fehérje-komponensek (szója, halliszt, tejfehérje) kiváltása lehetőleg olcsóbb mikrobiális fehérjékkel.

Az egysejt-fehérjének tipikusan olyan, többféle fehérjéből álló fehérjeforrást nevezünk, amelyet tiszta vagy vegyes összetételű alga, élesztő, gomba vagy baktérium kultúrákból vonnak ki. A kultúrákat olcsó mezőgazdasági vagy élelmiszeripari hulladékon tenyésztik, a fehérjét pedig nagy protein-tartalmú tápanyagok helyettesítésére lehet felhasználni akár emberi, akár állati célra.



1. ábra A húsfogyasztás alakulása

A Single Cell Protein (magyarul egysejt-fehérje) kifejezést a Massachusettsi Műszaki Egyetem (MIT) tudósainak egy csoportja alkotta meg 1966-ban. A kifejezés félrevezető, mert valójában nem csak az izolált sejtfehérjét jelenti, hanem valójában „bármely mikrobiális biomassza, akár egy-, akár soksejtű baktériumok, élesztők, fonalas gombák vagy algák, amelyek használhatók táplálékként, vagy takarmány-adalékanyagként.”

1.1.2. Történeti áttekintés

Az élesztőt empirikusan már 5000 éve használták kenyér és italok előállításánál, anélkül, hogy tudtak volna a mibenlétéről. A fermentált élelmiszerekben maradó biomasszát öntudatlanul is elfogyasztották. A sörgyártás melléktermékeként keletkező élesztőt a sörtörkölyel együtt már nagyon régen állatok hizlalására használták fel. Az élesztő tulajdonságait és működését végül Pasteur munkássága tárta fel. A szárított, élelmiszerminőségű élesztők és ezek autolizátumai sok éve használatosak. A szárított gombamicéliumok a kellemes ízük miatt felhasználhatók levesekben, szószokban, mártásokban. A második világháború során az élelmiszerhiány enyhítésére mind Németországban, mind a Szovjetunióban nagy mennyiségű élesztőt termeltek emberi fogyasztásra. 1966-ban, amikor az SCP kifejezést először használták, ekkor a világon összesen kb. 800.000 tonna mikroba biomasszát állítottak elő, ebből 600.000 tonna pékélesztő volt.

Általánosan elmondhatjuk, hogy az ár, ezzel a gazdaságosság erősen függ a felhasználási céltól. A pusztán takarmányozási célú termék gyártása a gazdaságosság határán billeg. Csak nagyon olcsó szubsztrátból, olcsó technológiával lehet gazdaságos. Ha a sejtömeget élelmiszerként vagy élelmiszer adalékként lehet eladni, az ár máris többszöröse az előzőnek, drágább szubsztrátok és technológia is alkalmazható. Ugyanez a helyzet az inokulum/starter tenyészetekkel is, magasabb áron értékesíthetők.

Az SCP-gyártás előnyei

A tradicionális fehérje-előállító módszerekkel szemben az egysejt-fehérje termelés a következő előnyökkel rendelkezik:

- A mikroorganizmusok nagyon erőteljesen növekednek, és nagy hozammal gyarapodnak. (100 kg élesztő 500 tonna fehérjét termel 24 óra alatt, míg egy 500 kilós fiatal marha ennyi idő alatt csupán fél kg fehérjét képes szintetizálni – 5,5-9 kg növényi fehérje elfogyasztása után. Hasonlóan, a mesterséges tóban élő algák 50 tonnányi (száraz tömeg) fehérjét képesek termelni évente egy hektárnyi területen. Ez a hozam 10-15-ször nagyobb, mint a szójababé, és 25-50-szer nagyobb, mint a kukoricáé.)
- Nagy a fehérjetartalmuk – ld. a táblázatot
- Az egysejt-fehérjében sok esszenciális aminosav van.
- A termelt élesztő tömeg vitamintartalma is nagy.
- Nyersanyagként mezőgazdasági és ipari hulladékok és melléktermékek is hasznosíthatók a mikrobák számára.
- A magas hozamú, jó összetételű törzseket kiválaszthatjuk, és relatíve könnyen szaporíthatjuk.
- A biomassza-gyártás független az évszakoktól és az időjárástól.

Az SCP-gyártás hátrányai

- A sejtfalak anyagai nem, vagy csak nehezen emészthetők. Ez egyrészt veszteség, másrészt ezek a makromolekulák allergiás reakciókat okozhatnak.

1.1.3. Az SCP és termelő mikrobák tulajdonságai

Ha a biomasszát más fehérjék helyettesítésére akarjuk használni, akkor az első megvizsgálendő kérdés az, hogy összetételükben, tulajdonságaikban mennyire hasonlók.

Általánosságban a mikrobiális biomassza 45-55 % fehérjét tartalmaz, habár néhány baktérium proteintartalma akár 80% is lehet. A biomassza egyéb esszenciális tápanyagokat is tartalmaz, így ideális kiegészítés a hagyományos tápanyagok mellett vagy helyett.

| % | élesztő | metanol-baktérium | tisztított fehérje | gombák | algák | szójaliszt | tejpor |
|-------------------|---------|-------------------|--------------------|--------|-------|------------|--------|
| fehérje | 60.0 | 83.0 | 80.0 | 42.0 | 70.0 | 45.0 | 34.0 |
| aminosavak | 54.0 | 65.0 | | | | 40.0 | |
| zsírok | 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 |
| nedvességtartalom | 4.5 | 2.8 | 4.0 | 13.0 | 6.0 | 12.0 | 5.0 |

1. táblázat Különböző fehérjeforrások összetétele

A táblázat jobb oldalán látható a klasszikus teljes értékű fehérje források összetétele. Ehhez képest az egysejtű biomasszák fehérjetartalma jóval nagyobb. Az aminosav tartalom sor az összes fehérjéből emésztéssel felszabadítható mennyiséget jelenti. Az összes fehérje tartalomnak csak 80-90%-a hasznosul az enzimes bontás után, a többi a nehezen bontható frakciókban (pl. sejtfal) található. Az összetétel 100%-ához hiányzó anyagmennyiség a nem mért

szénhidrát tartalomnak tudható be. A „tisztított fehérje” a metanol hasznosító baktérium biomassájából kinyert, nukleinsav-mentesített preparátumot jelenti. A hagyományos fehérje források nukleinsav tartalma gyakorlatilag nulla, míg a mikrobáké, különösen a baktériumoké jelentős. Ez azért hátrányos, mivel a szervezetben a nukleinsavak, pontosabban a purinvázis nukleotidok húgysavvá bomlanak le. 1 g RNS-ből 100-150 mg húgysav képződik. Ennek pedig rossz az oldhatósága, hajlamos kristályos formában kiválni. Megjelenhet vesekő formájában, de kirakódhat az ízületi felszínre is, ami fájdalmas gyulladást okoz (köszvény). A zsírtartalom összehasonlítása nem releváns, mert a szójadara és a tejpör olaj/zsírtartalmát előzetesen kivonják, szójaolaj illetve vaj formájában élelmiszerként hasznosítják.

Az összetételen túl más praktikus szempontok is befolyásolják, hogy melyik mikroorganizmust választják ki a technológiához.

A **baktériumokra** gyakran magas fehérjetartalom jellemző és nagy a növekedési sebességük, de emellett hátrányos tulajdonságaik is vannak:

- A sejtek kis méretűek és kis sűrűségűek, ami nehezé és költségessé teszi a szaporító közegtől való elválasztást.
- nukleinsav tartalmuk magas a gombákhoz és élesztőkhöz képest. A nukleinsav mennyiségének csökkentésére további lépéseket kell bevezetni az eljárás során, ezzel emelkednek a költségek.
- Az általános közvélekedés szerint minden baktérium káros és betegségeket okoz. Széleskörű tájékoztató programok kellenének, hogy ezt a félreértést megszüntessük, és a társadalom elfogadja a bakteriális fehérjét is.

Az **élesztők** előnyeiket jelentik a nagyobb sejt méret (könnyebb elválasztás), alacsonyabb nukleinsav-tartalom, magas lizin-tartalom és a savas pH-n való szaporítás lehetősége. Ám a legfőbb előny mégiscsak a társadalom felőli bizalom, elfogadás a tradicionális erjesztési eljárások és a sok éves történelem miatt. Hátrányt jelent a lassabb növekedés, az alacsonyabb fehérjetartalom, és az, hogy a baktériumoknál kevesebb metionint tartalmaznak.

A **fonalas gombák** előnye az egyszerű elválasztásuk, de lassabban növekednek, alacsonyabb a fehérjetartalmuk és a társadalmi elfogadottságuk. Az **algáknál** hátrány, hogy a sejtfa-lukban lévő cellulózt az ember nem képes megemészteni, valamint hajlamosak a nehézfémek felhalmozására.

A törzs kiválasztásában nem elhanyagolható szempont, hogy milyen **szubsztrátok hasznosítására** képes. Mivel az egysejt-fehérje termelésénél a költségek nagy hányadát a szubsztrát költsége teszi ki, a választás is aszerint történik, hogy melyik, olcsón rendelkezésre álló szénforrást melyik mikroba képes gazdaságosan hasznosítani. Mik lehetnek ezek az olcsó szénforrások? A legolcsóbb a légköri szén-dioxid, valamint az ipari és mezőgazdasági melléktermékek és hulladékok.

| | Mikroorganizmus | Nyersanyag |
|-------------|------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| Baktériumok | <i>Hydrogenomonas, Cellulomonas, Pseudomonas, Methylomonas, stb.</i> | kőolajipar szénhidrogén maradékai, metanol |
| Élesztők | <i>Candida sp, Saccharomyces fragilis, Torula sp, Rhodoturula spp.</i> | Savó, etil-alkohol, keményítő, n-paraffinok, szulfid, stb. |
| Penészek | <i>Aspergillus terreus, Trichoderma reesei, Penicillium spp.</i> | Papírcellulóz, keményítő, szalma, cukornád bagassz/répaszelet, stb. |
| Algák | <i>Scenedesmus sp, Spirulina, Chlorella</i> | légköri szén-dioxid |

2. táblázat A különböző szubsztrátokon szaporítható mikroorganizmusok

A mikrotörzs kiválasztásában a következő tényezőket kell figyelembe venni:

- milyen szubsztrátot igényel szén- és nitrogénforrásként, illetve milyen kiegészítő tápanyagok szükségesek

- nagy fajlagos növekedési sebesség, termelékenység és hozam egy adott szubsztrát esetén
- pH- és hőmérséklettűrés
- levegőztetési igény, habzási jellemzők
- növekedés morfológiája a reaktorban
- biztonság és elfogadottság – nem patogén, nem termel toxinokat
- könnyű elválaszthatóság
- a termék fehérje, RNS és tápanyag-tartalma. A baktériumok az élesztőknél és gombáknál több és értékesebb fehérjét termelnek. Azonban a magasabb protein-szintekhez több nemkívánatos RNS is tartozik.
- a végtermék szerkezeti tulajdonságai
- általánosságban a baktériumok gyorsabban és magasabb hőmérsékleten növekednek, mint a gombák, így kevesebb hűtésre van szükség.
- A bakteriális és élesztő fermentációk levegőztetése egyszerűbb.
- A gombákkal összevetve, amelyek szűréssel könnyen elválaszthatók, a baktériumok és élesztők esetében ülepítési technikák és centrifugálás szükséges.
- Az SCP-gyártásban alkalmazott mikroorganizmusoknak biztonságosnak és élelmiszeripari használatra elfogadottnak kell lennie. A szervezeteknek genetikailag stabilnak kell lenniük, hogy az optimális biokémiai és fiziológiai tulajdonságú törzsek a folyamat során több száz generáción keresztül fenntarthatók legyenek.

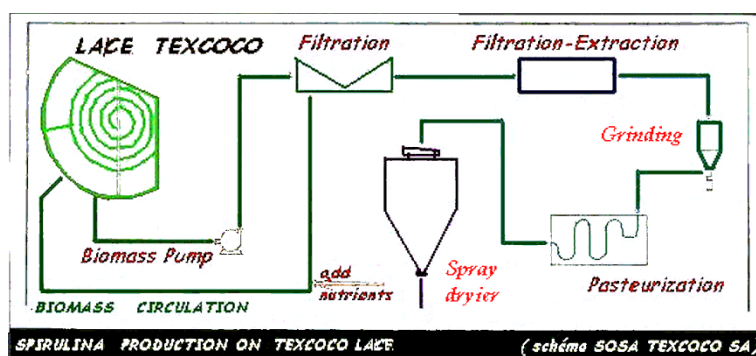
1.1.4. Az SCP-gyártási technológia

Sejtszaporítás a felsorolt alapanyagokon, aerob fermentációval történik. A gyártás gazdaságossága a minél nagyobb, több száz, vagy akár több ezer köbméteres fermentorok alkalmazását indokolja. Ezekben intenzív levegőztetéssel nagy oxigénbevitelt kell biztosítani, ami elősegíti a mikroba légzését. Ez viszont több metabolikus hőt termel, aminek elvezetéséhez pedig hatékony, nagy felületű hűtőrendszer szükséges. A produktivitás maximálásához folytonos fermentációt célszerű alkalmazni. Ennél viszont a kilépő fermentlében viszonylag alacsony a biomassza koncentráció, ez a feldolgozás költségeit növeli. A különböző eljárásokhoz különböző fermentor konstrukciók szükségesek, figyelembe véve a kérdéses folyamat által támasztott igényeket.

A sejtek kinyerésére változatos műveleteket alkalmaznak, így növekvő költség szerint rendezve: ülepítés, flotálás, kicsapás, szűrés, membránszűrés és legdrágább a centrifugálás. Ha a terméket nem használják fel azonnal, helyben, akkor a tárolhatóság, szállíthatóság érdekében szárítják, esetleg savanyítják, ami további költségekkel jár.

1.1.4.1. SCP termelés CO₂-on

A létező legolcsóbb szénforrás a levegő szén-dioxid tartalma. Ennek hasznosításához azonban energia szükséges, ezt a fotoautotróf szervezetek a szintén ingyenes napfényből biztosítják. Fotoszintézisre egysejtű szervezetek, a kékbaktériumok és a zöldalgák is képesek, ezekre több egysejt-fehérje előállítási technológia épül.



Spirulina – Arthrospira fajok

A kékbaktériumok (*Cyanobacteria*) közé tartozó *Spirulina* (más néven *Arthrospira*) fajokat már a mai Mexikó területén élő aztékok is fogyasztották. A Texcoco tó vizéből szűrték ki a láncokat formázó sejteket. Ettől teljesen függetlenül Afrikában, a Csád tó mellett élő kanembu törzs is fogyasztotta, sőt piacra is vitték a szárított algalepényeket. Iparszerűen az 1970-es évektől foglalkozik vele a Sosa Texcoco vállalat. A tenyésztés szabad téren, mintegy 10 hektáron elhelyezkedő sekély tavakban történik. A mélységük kb. 60 cm, a napfény körülbelül ilyen mélységig hatol be a vízbe. A bikarbonátban gazdag víz (pH~8,5) a légkörből tud felvenni további szén-dioxidot és oxigént. Nitrogénforrásként nitrát sókat is adnak a vízhez. A terméket félfolytonos üzemben lefejtik, szűrés és pasztörizálás után porlasztva szárítják. Annak dacára, hogy a prokariótáknak nincs zöld szintestük, termék mégis sötétzöld színű.



2. ábra Étkezési Spirulina termékek

A technológia elsősorban a napfényes, meleg éghajlatú országokban terjedt el, jelenleg 22 országban foglalkoznak vele Hawaiiától Indiáig. Európában egyedül Görögországban próbálkoznak vele.

Valódi zöldalgák

A zöldalgák között számos olyan faj található, amelyik szuszpenzióban magányosan vagy néhány sejtből álló csoportokban növekszik (*Chlorella*, *Scenedesmus*). A fotoszintézisen alapuló szaporítást az előzőekhez hasonlóan szabad téren, sekély (20-50 cm mély) beton vagy műanyag lagúnákban, csatornáknak végzik. Nitrogénforrásként szervesetlen sókat alkalmaznak. A folyadékon időnként levegőt fúvatnak át, inkább az ülepedés meggátlása, mint a gázcsere érdekében. Folytonos betáplálást és elvételt alkalmaznak. Veszélyt jelenthet a baktériumok megjelenése. Az algák és a baktériumok hajlamosan szimbiózisba lépni (az algák oxigént termelnek és szén-dioxidot fogyasztanak, a baktériumok éppen fordítva). A vegyes biomassa tulajdonságai már nem olyan kedvezőek, ezért a vegyes populáció tenyésztése nem előnyös.

Az algák fehérjetartalma 40-50%, nukleinsav tartalma kicsi, mindössze 4-6%. A biomassa kinyerésére nem alkalmaznak centrifugálást, mert az túl drága művelet, hanem méz-tejjel kicsapják az algákat.

A tenyésztéssel csak a napfényes országokban érdemes foglalkozni (Izrael, Florida). A telep kialakítása elég nagy beruházást igényel, ami csak nehezen térül vissza. Az előállítási költség: 4-10 USD/kg között mozog, míg a szójadara csak 3 USD/kg. Tehát takarmányozási célra nem gazdaságos, élelmiszerként viszont az lehet.

Átmenetet jelent a következő fejezethez (ahol a szénhidrát szénforrásokat vizsgáljuk) a *Chlorella* alga heterotróf tenyésztése. Japánban az algát aseptikusan, zárt fermentorban, melasz szénforráson szaporítják. Az így kapott alga tömeget a japán konyha speciális ételízeszer adalékként használja. Az éves termelés ~3.000 t/év, az előállítási költsége: 10-15 USD/kg.

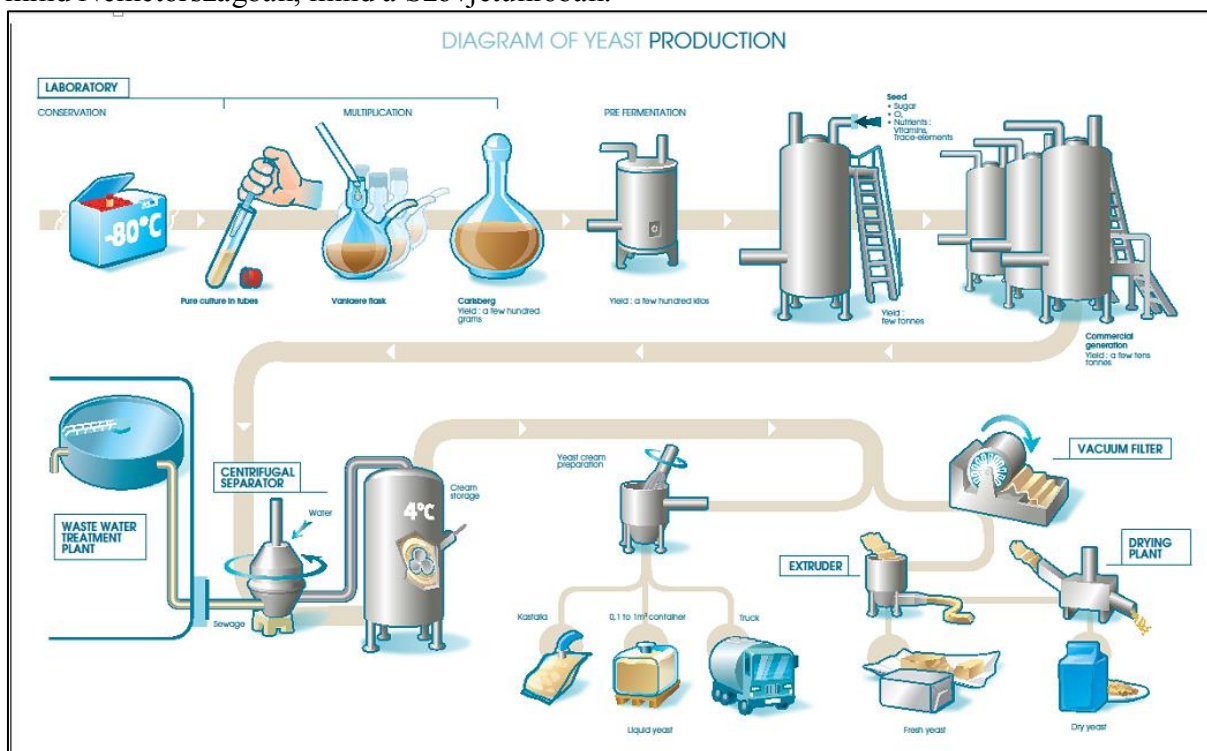
1.1.4.2. Egysejt-fehérje szénhidrátokon

Az egysejt-fehérje előállításához ugyanazok a számításba jöhető szénhidrátok, mint a fermentációs ipar egyéb területein. Egyedül az ár a kritikus tényező, a más területen megszokott glükóz, izocukor, (tiszt) szacharóz itt drágának számít, csak akkor jöhet számításba, ha a biomasszát ételízeszerként és nem takarmányként lehet eladni.

Célszerű megkülönböztetni a könnyen metabolizálható cukorforrásokat (melasz, tejsavó, szulfid szennylég, gyümölcs feldolgozási maradékok), és a nehezen bontható összetett szénhidrátokat (keményítő maradékok, cellulóz).

Élesztőszaporítás melaszon

Jellemzően ezen szénforráson termelik a pékélesztőt, ami az egyik legnagyobb mennyiségben gyártott biomassza termék. A melasz a cukorgyártás mellékterméke (anyalúgja), ami ~40% cukrot, túlnyomórészt nem-kristályosítható szacharózt tartalmaz. A melaszt eredeti töménységében nagyon nehéz sterilizálni, mert védőközeget jelent a benne lévő mikrobák számára, ezért hígítás (4-6%-ra) után sterilizálják, és kiegészítik szerves sókkal. Az élesztők közül a *Saccharomyces cerevisiae* mellett a *Candida utilis*-t tenyésztik, jellemzően folytonos fermentációban, $D=0,2-0,3 \text{ h}^{-1}$ hígítási sebességgel. Intenzív levegőztetésre van szükség ahhoz, hogy az teljesen eloxidálja a cukrot szén-dioxiddá és vízzé és ne termelődjen alkohol. A sejteket szeparátor centrifugával besűrítik (élesztőtej) majd a felhasználásnak megfelelően dolgozzák fel. A sütőélesztőben meg kell őrizni az enzimaktivitásokat, ezért a vizet préseléssel vagy kémleletes szárítással távolítják el. A takarmányélesztőnél ez nem szempont, a denaturált fehérjék is megfelelőek az állatok számára. Az élesztő emberi fogyasztása manapság nem jellemző, a második világháború alatt viszont nagy mennyiségben termelték az ételízeszerhiány enyhítésére mind Németországban, mind a Szovjetunióban.



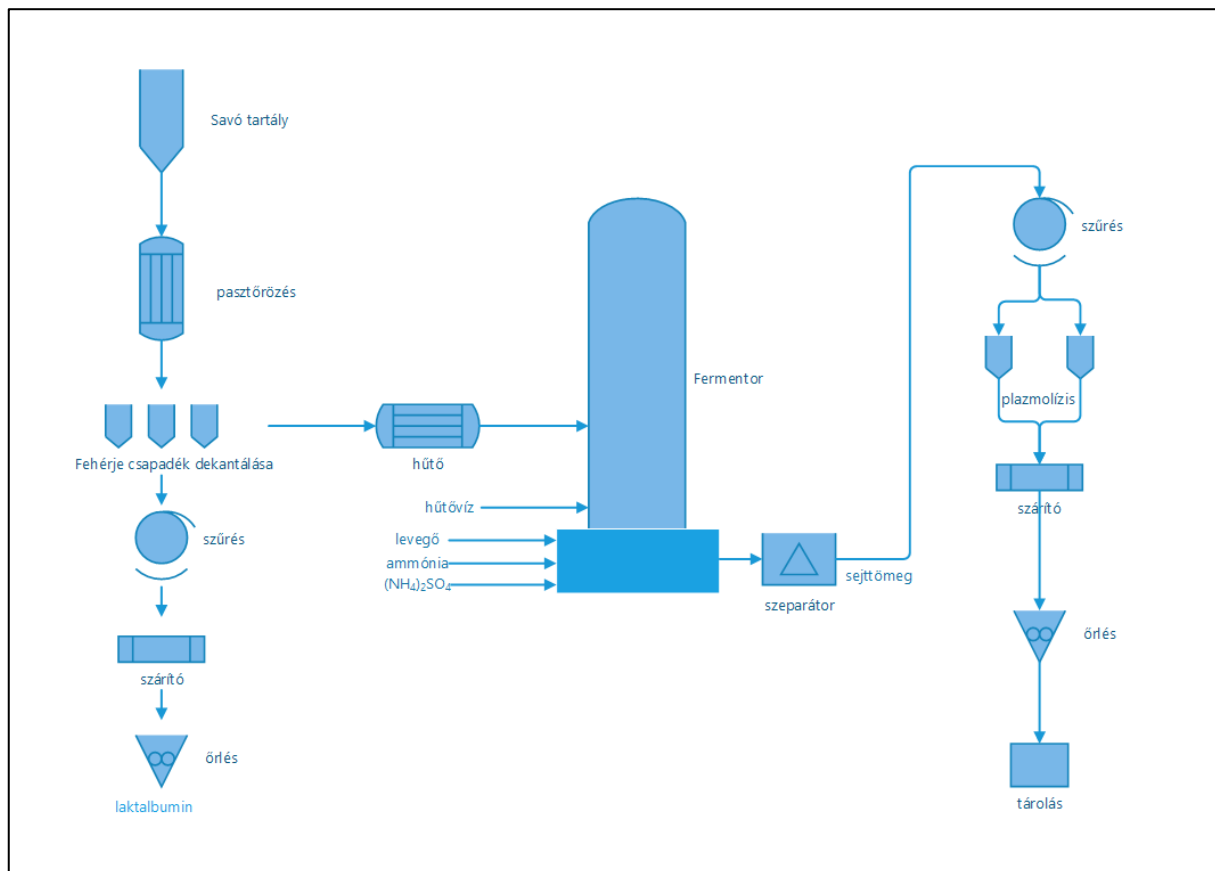
3. ábra Az élesztőgyártás teljes folyamata

Élesztőszaporítás laktózon (sajtgyári savón)

A sajtgyártás mellékterméke, a savó kb. 5% tejcukrot kb. 1% fehérjét és oldott ásványi anyagokat tartalmaz. A gyártás során nagy mennyiségben keletkezik, a sajt tömegének többszöröse. Ha ezt szennyvízként tekintjük, a BOI = 70.000 mg O₂/l, ami igen nagy szerves anyag terhelést jelentene. Valamilyen ártalmatlanítási/hasznosítási módot mindenképpen találni kell. Kis szárazanyag tartalma miatt elszállítani gazdaságtalan, helyben érdemes megoldást találni. A fehérje tartalmat érdemes elkülöníteni és hasznosítani (főzéssel kicsapható, vagy ultraszűréssel betöményíthető), ez tápszerekben, élelmiszeripari adalékként felhasználható. A laktózt a legtöbb mikroorganizmus nem képes szénhidrátforrásként felhasználni, csak egyes élesztők képesek β -galaktozidáz termelésére:

- *Saccharomyces lactis*,
- *Candida utilis*,
- *Saccharomyces fragilis*,
- *Kluyveromyces lactis*
- *Kluyveromyces marxianus* (a törzsek nevét többször megváltoztatták)

Ennek jellegzetes példája a BEL Fromageries (francia tejipari cég) eljárása. *Kluyveromyces marxianus* törzset szaporítottak tejsavón, amiben az 5% laktóz mellett jelen volt 0,8% protein (nem választották el) és 0,2-0,6% tejsav is. A biomassa termeléshez intenzív levegőztetés szükséges, ezt keverő nélkül, air lift fermentorban oldották meg. A takarmányozási célú biomassa mellett az ásványi anyagok és a tejsav is megmaradhatnak. Az élelmiszer minőségű sejtömegnél viszont nem, a sejteket lecentrifugálják, az oldott anyagokat mosással eltávolítják, és a terméket szárítják. A sejthozam 0,45-0,55 g/g, az elfogyasztott laktózra vonatkoztatva.



4. ábra BEL Fromagerie eljárás

Szulfít szennylég, mint szénforrás

A szulfít szennylég a cellulóz/papíripar mellékterméke. A faanyagot a kalcium-hidrogén-szulfittal, kén-dioxid feleslegben főzve a lignin lignoszulfosavvá alakul és feloldódik, a cellulóz szálak kiszabadulnak, ezeket használják papírgyártásra. Eközben a hemicellulóz részben monoszacharidokká hidrolizál, amit egyes mikroorganizmusok képesek hasznosítani. A szabad cukrok összetétele, és mennyisége (2-7 %) az alapanyag és a főzési eljárás típusával változik, rendszerint nagyrészt pentózokat tartalmaz. Ez a cukortartalmú lé a szulfít szennylég. Szennyvízként ez nagyon környezetterhelő, a BOI 50.000 mg O₂/l körül van, célszerű helyben ártalmatlanítani/hasznosítani. Svédországban 1909 óta fermentációs alapanyagként használják. A második világháború idején az élelmiszerhiány enyhítésére az így termelt élesztőt emberi fogyasztásra is felhasználták. Elsőként *Saccharomyces cerevisiae*-t szaporítottak, de ez a törzs rosszul hasznosítja a pentózokat. Később áttértek a *Candida tropicalis* és *Candida utilis* törzsekre, amelyek az ötszénatomos cukrokat is jól metabolizálják.

Candida utilis törzsszel Csehországban is építettek egy nagy, 25.000 t SCP/év kapacitású üzemet a szulfít lóg hasznosítására.

Finn szakemberek fejlesztették ki a finn fafeldolgozó iparra alapozva a Pekilo-eljárást, amelyben szulfít lóg szubsztráton tenyésztik az erre a célra szelektált *Paecilomyces varioti* törzset. A pentózokat a gomba nagy fehérjetartalmú sejtömeeggé alakítja. Egy nagy, 360 m³-es keverős, levegőztetett fermentort működtettek folytonos üzemben, D = 0.2 h⁻¹ hígítási sebességgel. Ezzel évi 10.000 tonna biomasszát kaptak, aminek fehérjetartalma 55-60%. A fonalas gomba elválasztása a fermentlétől egyszerűbb, mint az élesztőké, mert nem kell centrifugálni, szűréssel is kinyerhető. A biomasszát Finnországban élelmiszerként engedélyezték.

Keveset tudunk a szovjet/orosz fermentációs technológiákról. Annyi bizonyos, hogy minden papír/cellulóz gyárhoz építettek egy SCP üzemet (kb. 30 db), amelyben *Candida* élesztőt szaporítottak takarmányozási célra. Az 1985-ös évben összesen kb. egy millió tonna terméket jelent.

Glükóz szénforrás

A glükóz túlságosan drága alapanyag a takarmánycélú egysejt-fehérje gyártásához. De ha humán étkezési célra termelik, akkor a magasabb eladási ár elbírja a nagyobb költségeket. Ez mutatkozik meg a Rank Hovis McDougall (RHM) Mycoprotein húshelyettesítő készítményénél. Az igény az Angliában élő, százezrekben mérhető vegetáriánus, elsősorban indiai populáció részéről merült fel. Számukra fejlesztették ki ezt húshoz hasonlóan rostos szerkezetű, nagy fehérjetartalmú készítményt. A rostos jelleghez inkább micélium szükséges, ezért ebben az esetben nem egy élesztőt, hanem fonalas gombát választottak. Az RHM mintegy 3000 törzset vizsgált meg, ezek közül bizonyult a legjobbnak a *Fusarium venenatum* (eredetileg *F. graminearum*) faj.

Adalék: a törzseket nagyon sok helyről begyűjtött talajmintákból izolálták. A „nyertes” törzs végül is egy Buckinghamshire-i kertből származott, ami mindössze négy kilométerre volt az RHM központi laboratóriumától.

A tápoldat élelmiszer minőségű glükóz szirupot, szervesetlen sókat és biotint tartalmaz. A fermentáció során a pH-t ammónia gáz (N-forrás is) adagolásával (a levegőztető rendszeren keresztül) 6-os értéken tartják. A fermentációt magas (kb. 40 m) air lift fermentorokban, folytonos üzemben (D=0,2 h⁻¹) végzik. Állandósult állapotban 15-20 g/l sejt koncentrációt lehet elérni. A folytonos fermentációt 5-6 hétig tartják fenn, azután két hét tisztítási, karbantartási szünet következik.

A feldolgozás során egy hidrociklonos elősűrítés után az RNS tartalom csökkentésére hőkezelést iktatnak be. A levét 30 percig 64°C-on tartják, ezalatt a sejtek saját hőstabil RNÁza

lebontja a ribonukleinsavakat, az RNS-koncentráció 80 mg/g-ról 2 mg/g-ra csökkenthető. A keletkezett mononukleotidok kiáramlanak a sejtekből, a makromolekulák viszont bent maradnak. Ugyanakkor a sejtek proteázai inaktíválódnak, a fehérjetartalom nem bomlik, ezáltal stabilizálódik a termék. Ezután a micéliumot szűrőcentrifugával leválasztják, egy tésztaszerű masszát kapnak, amelyben a szárazanyag fehérjetartalma 45%. Ezt tojásfehérjével dolgozzák össze, ami „összeragasztja” a fonalakat és ezáltal javítja a textúrát. Az anyagot kb. 30 percig gőzben főzik, a kicsapódó, denaturálódó fehérjék megszilárdulnak. A lehűtés után ugyanúgy szeletelik, kockázzák vagy darálják, mint a húsokat. Záró lépésként megfagyasztyják, a kialakuló jégkristályok alakítják ki a végső struktúrát.

Sokféle félkész és késztermék termék formájában emberi fogyasztásra szánt húshelyettesítőként Quorn néven hozzák forgalomba. A teljesen vega étrenden élőknek kifejlesztettek egy tojásmentes változatot is, ebben egy burgonya frakció a ragasztó.



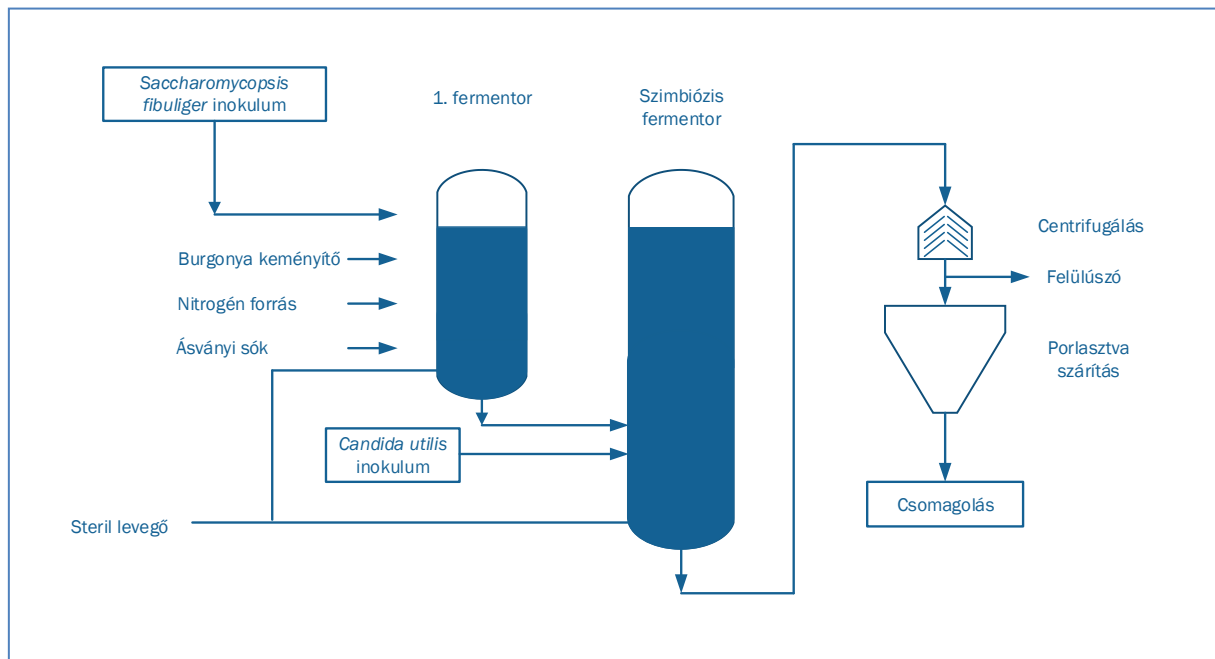
5. ábra Étkezési Quorn termékek

Külön történet az élelmiszerként való engedélyeztetés. Amikor belekezdtek a projektbe, még nem volt meg az engedélyezési protokoll, nem volt olyan hivatalos szerv, aminek a jogkörébe tartozott volna az engedélyezés. Ezek miatt 10 évbe telt procedúra, laboratóriumi, állati és klinikai vizsgálatok sorát végezték el, mire kiadták az engedélyt. A Quorn termékeket azóta is sokan támadják, de ez elsősorban piaci konkurenciaharc.

Keményítő szénforrás

Svédországban fejlesztették ki a Symba eljárást, amelyben burgonyakeményítóből két lépésben SCP-t állítsanak elő. A tiszta, élelmiszer minőségű keményítő ennél az eljárásnál is túlságosan drága szubsztrát lenne, ezért a burgonya feldolgozás során keletkező hulladékokat (héj, nyesedék, mosóvíz) használják fel.

A folyamat két olyan élesztőtörzs felhasználásával megy végbe, amelyek képesek szimbiózisban együtt élni. A *Saccharomycopsis fibuliger* (más néven: *Endomyces fibuliger*, *Endomycopsis fibuliger*) amiláz enzimet termel, ami cukrokká bontja a keményítőt, ezzel pedig lehetővé teszi a gyorsabban, jobb hozammal növekedő *Candida utilis* szaporodását is. Az első lépésben egyedül a *S. fibuliger*-t szaporítják, egy kisebb térfogatú reaktorban, sterilizált burgonyahulladékon, amit nitrogén és foszfor forrásként szervesetlen sókkal egészítenek ki. A részben elcukrosított szénhidrátot tartalmazó tenyészetet szivattyúzzák át a nagyobb, 300 m³-es második fermentorba. Itt oltják rá a *C. utilis* inokulumot, a két törzs kevert kultúrában növekszik tovább. Ez a folyamat „egyidejű elcukrosítás és fermentáció”-ként (SSF = simultaneous



6. ábra Symba eljárás

saccharification and fermentation) ismert. A *Candida* fokozatosan túlnövi az eredetileg nagyobb sejtszámú *Saccharomycopsis*-t, a tíznapos fermentáció végére a sejtömegnek már 90%-a *Candida*. A feldolgozás során szeparátor centrifugával elválasztják a biomasszát, majd szárítással konzerválják. A termék fehérjetartalma 45%, állati takarmányozásra használható.

Cellulóz, lignocellulóz

A bioszférában évről évre hatalmas mennyiségű cellulóz keletkezik. Az ember által, a mezőgazdaságban és az erdőgazdálkodásban keletkező cellulóz a legnagyobb tömegű biomassza, sokszorosan meghaladja a keményítő mennyiségét.

A növényi anyagokból és fahulladékból származó cellulóz bősége miatt az egysejt-fehérje-előállításához vonzó alapanyagot jelent. A cellulóz hidrolízis után megfelelő szubsztrát lenne az SCP termeléshez, de a természetben általában ligninnel, hemicellulózzal, kombinálva képződik. A lignocellulóz szerkezetű anyag felhasználásához általában előkezelés szükséges. Ez lehet lúgos, vagy savas kezelés vagy gőzrobbantás is. Ezek költsége az intenzív fejlesztési munka ellenére is gazdaságtalanná teszi a hasznosítást.

*Adalék: Jelenleg a lignocellulóz hulladékok egyetlen gazdaságos hasznosítása a gombatermesztés. A közismert csiperke (*Agaricus bisporus*) mellett nagy mennyiségben természetesen szii-takét (*Lentinus edodes*) és más ázsiai gombákat.*

Ha a kinyert cellulózt szubsztrátként kívánják használni, azt kémiai- (savas hidrolízis) vagy enzimatis uton (cellulázok) még le kell bontani fermentálható cukrokká. Ma már az extracelluláris enzimekkel fermentációval előállított cellulázokat ipari méretben is gyártják.

A celluláz teljes bontásához legalább három enzim (endocelluláz, cellobiohidroláz, cellobiáz) együttes működésére van szükség.

Endo- β 1,4-glükánáz (endocelluláz, Cx enzim): ennek hatására az oldható cellulózból cellobióz és oligomerek keletkeznek.

Exo- β 1,4-glükánáz (cellobiohidroláz, C1 enzim): kristályos cellulózból a láncvégekről a C1 enzim cellobiózt hasít le.

β -1,4-glükozidáz (cellobiáz): a cellobiózt két glükózzá hidrolizálja.

Számos hatékony celluláz termelő törzset találtak, de a *Trichoderma viride* hosszabb ideje az általánosan használt enzimtermelő mikroorganizmus. A *Chaetomium cellulolyticum* egy

másik hatékony cellulózbontó gomba, amely cellulóz szubsztráton gyorsabban növekszik, és 80%-kal több biomassza fehérjét képez, mint a *Trichoderma*, de a kinyerhető enzim mennyisége jóval kevesebb. Ez azt jelenti, hogy a *C. cellulolyticum* elsősorban SCP-termelésre alkalmas, míg a *T. viride* a cellulázok gyártásában használható.

A tiszta cellulóz bontása (pl. hulladék papír) enzimes bontása megoldható, de a valós, mezőgazdasági eredetű komplex alapanyagok gazdaságos hasznosítása még nem megoldott.

Számos helyen foglalkoznak a cellulóz tartalmú szilárd hulladékok átalakításával is. Ennek a technikának a rövidítése is SSF (solid state fermentation). Az alapanyagot (pl. szalma) silókban vagy nagyméretű zsákokban benedvesítik az inokulumot és a tápanyagokat (pl. ammóniumsók) tartalmazó folyadékkal. A levegő hozzáférését biztosítják, és a gombafonalak néhány hét alatt átszövik a rostos anyagot. A kapott termékben a biomassza mellett jelentős a maradék növényi anyag mennyisége, de ez takarmányozási szempontból nem hátrány. *Trichoderma* törzssel a szalma alapon fermentált takarmány adalék fehérjetartalma eléri a 15%-ot.

1.1.4.3. Egysejt-fehérje termelés kőolajszármazékokon

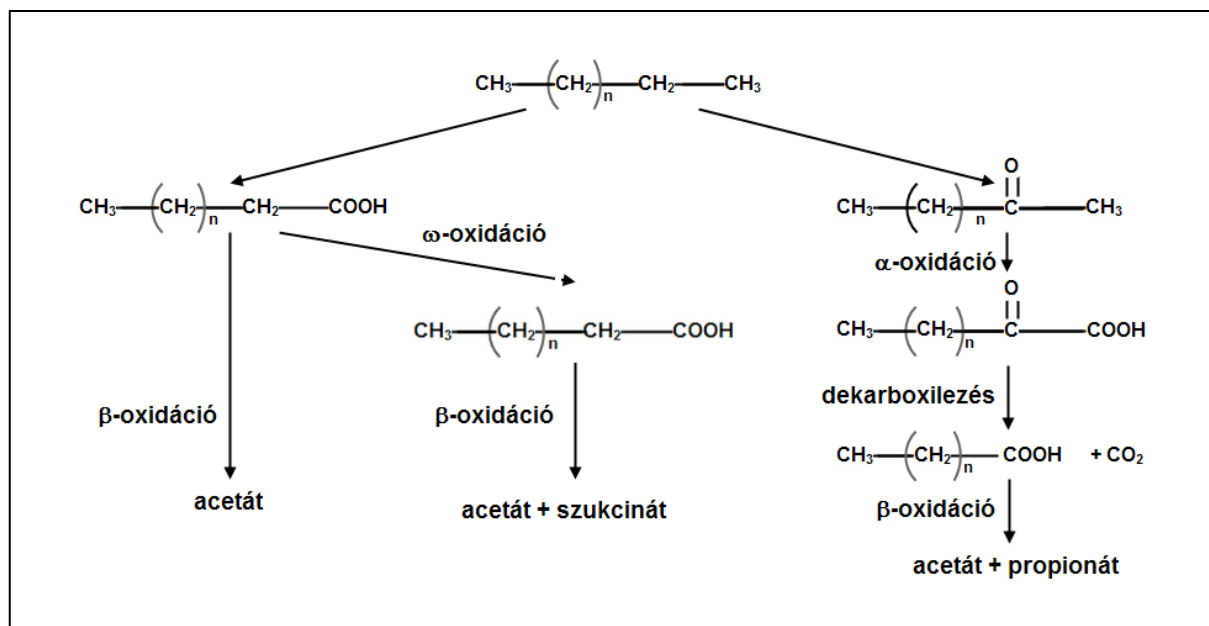
n-Alkánok

Az SCP-termelés szempontjából felmerült az élelmezési célra alkalmatlan anyagok közül a kőolajnak vagy származékainak átalakítása biomasszává. A második világháborútól az olajválságig terjedő évtizedekben a kőolaj ára nagyon alacsony volt, ami vonzóvá tette, mint fermentációs szubsztrátot, és nem csak az egysejt-fehérje gyártásánál. A nyersolaj feldolgozásánál a hosszabb láncú alkánokra (C₁₀-C₁₇ frakció, 10-20%) kisebb az igény (pl. kenőolajok, zsírok). A megmaradó paraffin vagy viasz frakciót vagy kisebb molekulákra tördelik (krakkolják), vagy a pakurával együtt elégetik. Így merült fel a biológiai hasznosítás lehetősége. Az első probléma, amivel szembe kellett nézni, az volt, hogy a mikrobák csak az egyenes szénláncú alkánokat tudták hasznosítani, az elágazó láncokat nem, így ezek megmaradtak és szennyezték a terméket. A normál-frakció elválasztását molekulaszűrőkkel oldották meg, de még így is maradtak szennyezések, amelyek kellemetlen mellékízt okoztak és fennállt a karcinogén vegyületek (különösen a benzpirén származékok) veszélye is.

Elsőként tekintsük át, hogyan képesek a mikroorganizmusok az alkánokat hasznosítani. A szénhidrogének nem szokványos vegyületek a természetben, mégis számos törzsből előfordulnak olyan enzimrendszerek, amelyek képesek ezeket hasznosítani. A kulcslépés az első, oxidációs reakció, amelyben az addig kevésbé reakcióképes (paraffin = parum affinis) molekulába az első oxigén atomot beviszik. A továbbiakban a reakciósor becsatlakozik a zsírsav lebontás folyamatába. A támadáspont szerint két mechanizmust különböztethetünk meg. A terminális oxidációnál a láncvégi szénatomon, a szubterminális oxidációnál a másodikon indul reakció.

A terminális oxidációnál elsőként hidroxil csoport alakul ki, majd ezt az alkohol-dehidrogenáz és az aldehid-oxidáz karbonsavvá oxidálja. Az így kapott zsírsav azután a β -oxidáció folyamatában acetyl-CoA-vá alakulva belép az anyagcserébe. A hosszú szénláncú alkánok esetében előfordulhat, hogy a folyamat mind a két láncvégen elindul (ω -oxidáció) és így dikarbonsav keletkezik. Ekkor a reakciósor végén szukcinát marad, ami a citrátkör természetes eleme.

A szubterminális oxidáció a második szénatomon (szekunder) alkohol létrejöttével kezdődik. Ez aztán ketocsoporttá oxidálódik. A láncvégi metil csoport ettől könnyebben támadhatóvá válik, további oxigén bevitelével α -keto-karbonsav alakul ki. Ez dekarboxileződik, széndioxid lép ki (analógia: a piruvát dekarboxilezése). Az így kapott zsírsav a β -oxidációban hasznosul.



7. ábra Az alkánok biológiai lebontási útvonalai

Mivel a kőolajban páros és páratlan szénatomszámú molekulák egyaránt előfordulnak, mindkét reakciósor végén a zsírsav lebontásnál előfordulhat, hogy legvégül három szénatomos propionil-CoA marad. Ez a biokémiában szokatlan ugyan, de a legtöbb sejt képes hasznosítani.

Az első alkán alapú SCP fermentációs eljárást a British Petroleum (BP) fejlesztette ki Franciaországban. Két élesztőtörzset, a *Candida lipolytica*-t és a *C. tropicalis*-t találták alkalmasnak a gyártásra.

A fermentációs technológia kialakítása során különleges problémát jelentett, hogy négyfázisú rendszerben kellett dolgozni. A szokásos fermentálé-sejt-levegőbuborék hármassal jelen van a vízzel nem elegyedő olaj fázis is. A sejtek a vizes fázison keresztül érintkeznek a szén- és oxigénforrással, ez két elkülönült anyagtranszportot jelent. Mindkettőnél az a cél, hogy az anyagátadás sebessége nagyobb legyen, mint a mikroba anyagcserejének sebessége, így a sejtnövekedés ne kerüljön limitált állapotba. Ehhez viszont mindkét fázisnál nagy fajlagos felületre van szükség, azaz mind a buborékokat, mind az olajcseppeket erőteljesen diszpergálni kell. Az olajoknál valamelyes könnyebbséget jelent, hogy az olaj az élesztősejtek lipid részeiben (membránok, vakuólumok) jól oldódik, ezek mintegy kivonják, extrahálják az apoláris molekulákat a körülvevő vizes fázisból. A finom olajemulzió kialakításához felületaktív, emulzióképző és stabilizáló anyagokra is szükség van. Szerencsére maguk az élesztők is termelnek valamennyi detergens jellegű vegyületet, ezzel csökkenthető a vegyszerigény. Az olajfázis akkor hasznosul jól, ha a cseppek mérete nagyságrenddel kisebb (0,01-0,5 μm), mint a sejteké (5-10 μm).

Mivel a szubsztrát molekulában nincs oxigén, mint a szénhidrátokban, a tenyészeteknek nagyon sok oxigénre van szüksége. Az n-hexadékanon szaporított aerob mikroorganizmus egy-egynyi biomasszára vonatkoztatott fajlagos oxigénigénye 2,5-szer nagyobb, mint a glükózon növekedett biomasszáé, eléri a 2,2 kg O_2 /kg biomassza értéket. Ennek biztosításához intenzív levegőztetésre van szükség. Használhatnak teljesen átkevert, turbinakeverős fermentorokat és airlift megoldásokat is. Ez utóbbiaknál magas készülékeket és túlnyomást alkalmaznak, ezzel javítják az oxigén oldhatóságát. A levegőztető rendszeren keresztül adják be a pH szabályozásához használt ammónia gázt is. Az alkánok energiatartalma is jóval nagyobb, mint a szénhidrátoké, így a fermentáció hőtermelése is több. 1 kg SCP előállításához szükséges 1-1,2 kg alkán, elfogy 2,0-2,2 kg O_2 és 25-27.000 kJ hő szabadul fel. Ennek elvezetéséhez jókora felületű hőcserélőket kell beépíteni a készülékekbe.

A termelés nagy, több száz köbméteres fermentorokban folyik, általában folyamatos technológiával.

A sokkal jobb hozam előnyeit sajnos kompenzálja az, hogy a szénhidrogéneken az élesztők lassabban szaporodnak. Számszerűen:

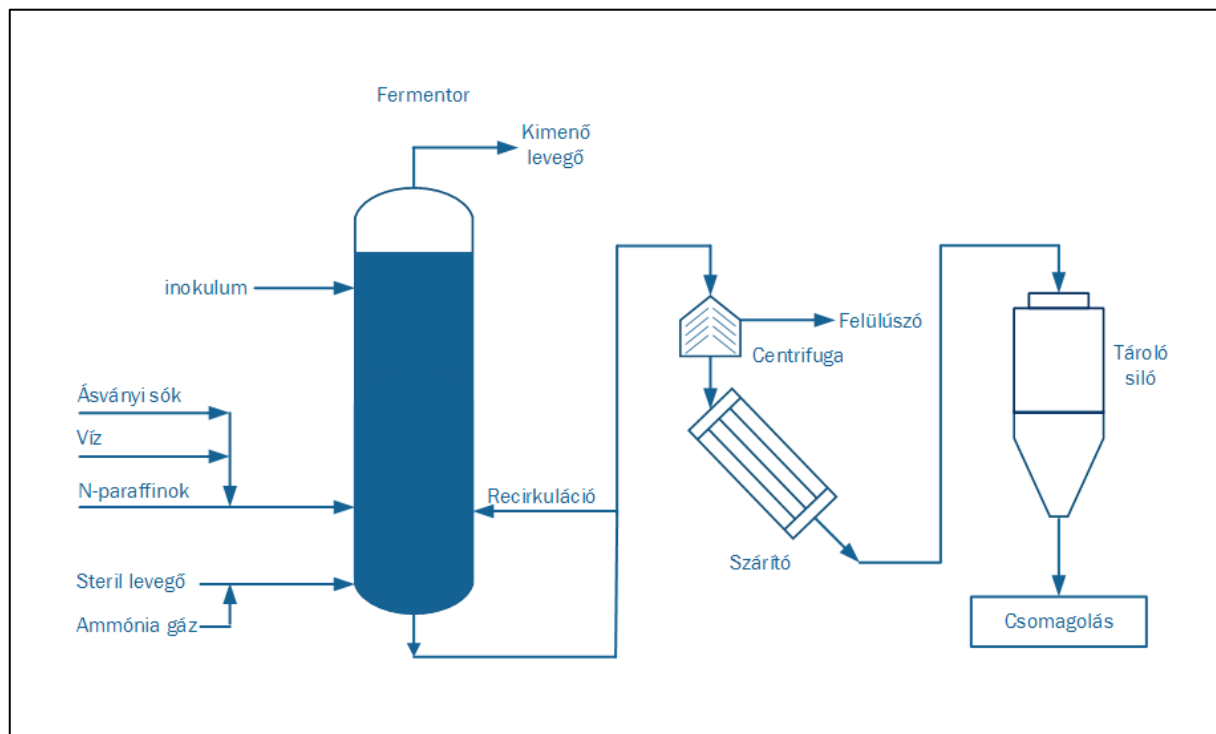
- n-alkánál: $\mu_{\max} = 0,28$ 1/óra $Y = 0,98$ kg/kg
- glükóznál: $\mu_{\max} = 0,62$ 1/óra $Y = 0,51$ kg/kg

A kilépő fermentléből a sejtek kinyerésének első lépése centrifugálás, ekkor egy 15% szárazanyag-tartalmú levet kaptak, ezt azután bepárlással 25%-ig koncentrálták, végül porlasztva szárították.

A BP által kifejlesztett terméket TOPRINA néven hozták forgalomba. Engedélyeztetése jelentősen elhúzódott, mivel az 1960-as években még nem létezett az engedélyeztetési protokoll, és még az sem volt világos, hogy melyik intézménynek kellene ezzel foglalkozni. A Toprina-t így 12 éven keresztül vizsgálták, többek között az emészthetőségét, toxicitását és karcinogenitását. Végül takarmányadalékként engedélyezték, fehérje forrásként a halliszt, húsliszt és kazein helyettesítésére.

A BP Szardínia szigetén 1971-ben építette fel SCP üzemét, amelynek kapacitása 200.000 t/év volt. 1973-ban már viszont be is kellett zárni. A kudarcnak gazdasági és társadalmi okai is voltak. Ebben az évben kezdődött az olajválság, a kőolaj árak a sokszorosukra emelkedtek, míg a szója árak éppen alacsonyok voltak. Másrészt bírálták a terméket magas nukleinsav tartalma és a gyártás környezeti ártalmai miatt.

Olaszországban, Japánban, Romániában más alkán bázisú technológiákat is kifejlesztettek, viszont mindig problémát okoztak a potenciálisan karcinogén maradékok, és a legtöbb üzem soha sem működött teljes kapacitással vagy be kellett zárni. Romániában létrehoztak egy üzemet 60.000 t/év kapacitással, de ez is csak a szocialista hiánygazdálkodás körülményei között és a saját román kőolaj termelésre alapozva tudott néhány évig működni.



8. ábra Egysejt-fehérje gyártás n-paraffinokon

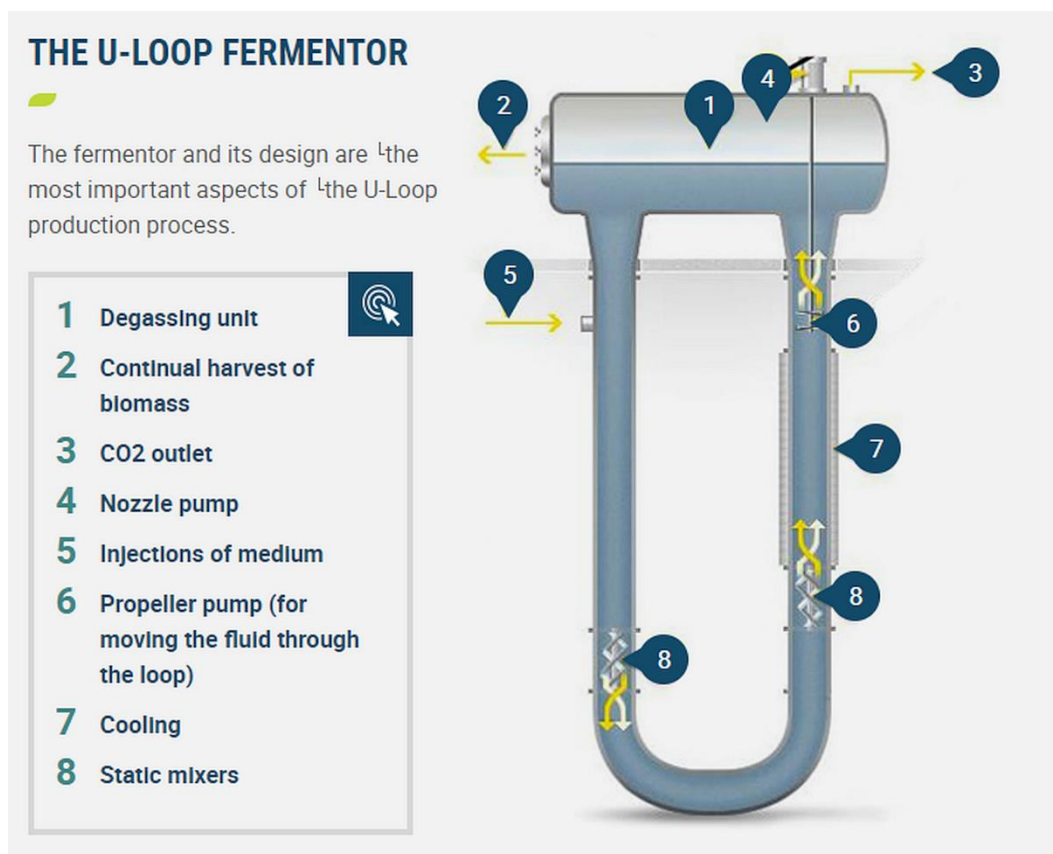
Viszonylag keveset lehet tudni a szovjet/orszag technológiákról. Termelési adat, hogy a szovjet idokben legalább hat uzem termelt olaj alapon kb. 100.000 t/év élesztő sejtömeget.

A fő ellenző Japán volt, az első ország, amely megtiltotta a petrolkémiai alapú fehérje gyártást. Ebben nyilván nagy szerepe volt annak, hogy Japán piaci áron kénytelen importálni teljes olajsükségletét, és arra törekednek, hogy ezt minél nagyobb hozzáadott értékű termékékké dolgozzák fel. Olaszország 1977-ben állította le az SCP termelését alkánokból az olajárak emelkedése miatt. A szója fehérjeforrás tartósan versenyképesebbnek bizonyult. Manapság nincs olyan gyár, amely petrolkémiai alapon fehérjét termel.

Metán

A szénhidrogének közé tartozik, de a paraffinokhoz képest másképpen viselkedik és ezért más technológiát igényel a metán. Megfelelő mikroorganizmusok alkalmazásával ebből is lehet biomassát, egysejt-fehérjét előállítani. A metilotrófok egyszerű, C1 (egyszénatomos) szubsztrátokon is képesek növekedni. A C1 vegyületekben nincs szén-szén kötés, pl. a metán (CH₄) vagy metanol (CH₃OH), de ide sorolható a dimetil-éter és a dimetil-amin is. Ezek között a metánhasznosítókat metanotrófoknak nevezik. Tovább szűkítve a kört léteznek szigorúan (strict) metanotrófok, olyan baktériumok, amelyek csak metán szénforráson élnek meg.

Technológiailag az előző fejezethez képest jelentő eltérés, hogy a metán gáz halmazállapotú, nem cseppek, hanem buborékok formájában van jelen a reaktorban. Oldhatósága vizes közegben szintén csekély. Kézenfekvőnek látszik, hogy a két betáplált rosszul oldódó gázt, a metánt és az oxigént együtt vigyék be és oszlassák el a rendszerben. A metán-levegő elegyek viszont tűz- és robbanásveszélyesek, így a technológiákban kerülendők. A másik alapvető különbség, hogy a levegő oxigéntartalma a fermentoron áthaladva nem fogy el teljesen, a kilépő gázban kétharmad, háromnegyed része még jelen van. Ugyanez a metánnál nem engedhető meg. Ha a kiengedett gázban metán marad, az egyrészt anyagi veszteség, másrészt megint csak tűz- és robbanásveszélyes keverék, harmadsorban pedig üvegház hatású gázként súlyos

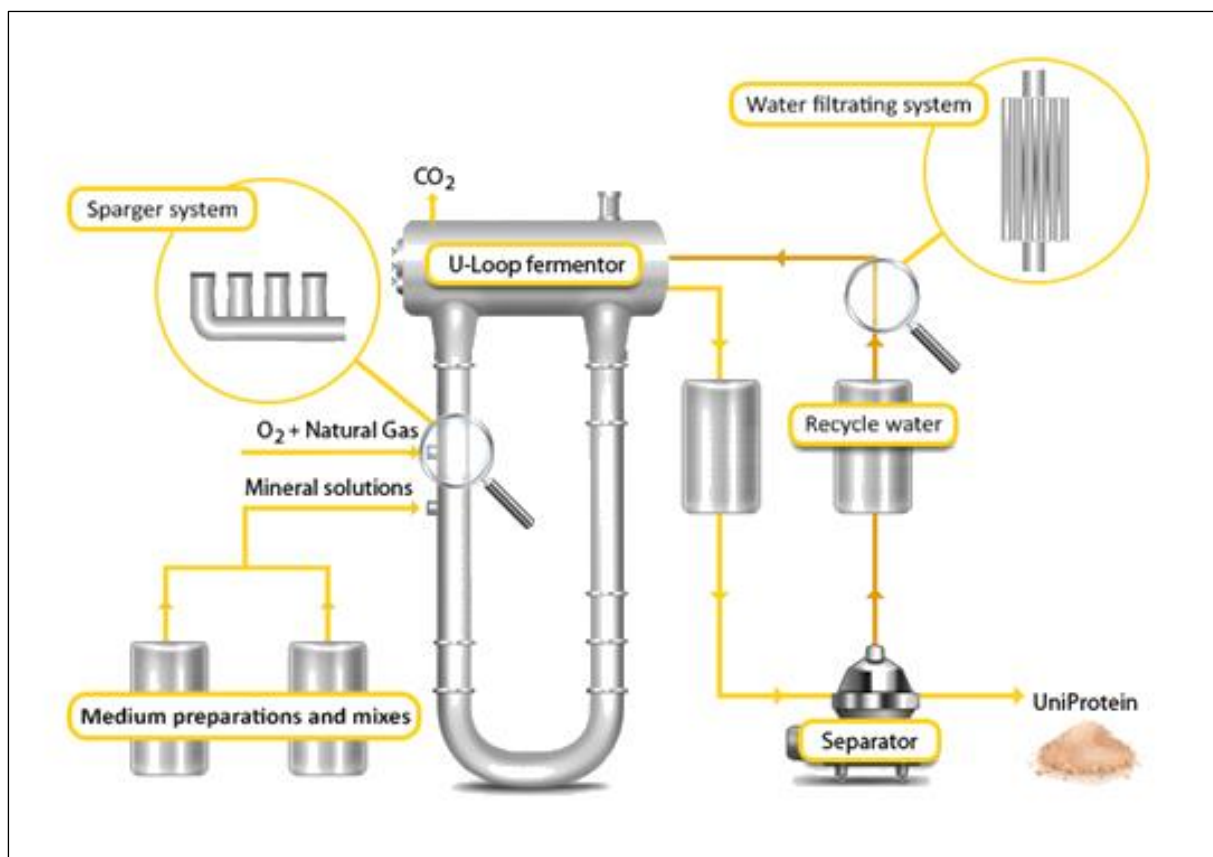


9. ábra Az „U-loop” fermentor kialakítása

környezeti ártalmat okoz. A bevitt metánnak tehát a folyadékon áthaladva teljesen el kell fogynia. Ez nehezen oldható meg egy (közel) ideálisan kevert tartályreaktorban, ahol a koncentráció mindenhol azonos. Jobb megoldás a csőreaktor, ahol metán koncentráció a belépési ponttól a kilépésig fokozatosan csökken, végül elfogy. Továbbgondolva belátható, hogy az áthaladás során csak annyi biomassza képződik, amennyi a kevéske beoldódott metánból létre tud jönni. Egy áthaladás tehát nem hatékony, inkább cirkulációs reaktort érdemes kialakítani, ahol minden körülfordulásnál a telítési metán koncentrációnak megfelelő mennyiségű sejttömeg keletkezik. Megfelelő elrendezéssel elérhető, hogy a levegő és a metán gáz ne érintkezzenek egymással. Ez a folyamat is jelentős hőfejlődéssel jár, ezért megfelelő hűtőfelületet kell beépíteni a reaktorba.

Ezen az elven alapul a dán Nozzle-U-Loop fermentor kialakítása. A gázok betáplálása a hurok felső pontján történik. A kényszeráramlás lefelé viszi el a buborékokat, és mire a felszálló ág tetején kilépnek, a metán elfogy és szén-dioxidra cserélődik. A készülékben nincs forgó keverő, a keringető szivattyú mellett a statikus keverő elemek biztosítják a két fázis megfelelő diszperzióját.

Erre a fermentor típusra alapozták az UniProtein eljárást. Fő nyersanyaga a földgáz, amelyet a *Methylococcus capsulatus* törzs szén- és energiaforrásként hasznosít. A hatékonyabb levegőztetés érdekében technikailag tiszta oxigént fűvatnak be és nitrogénforrásként ammóniát használnak. Emellett a tápoldathoz csak szervesen sókra van szükség. Minden vegyi anyag élelmiszer minőségű. A pH-t $6,5 \pm 0,3$ értéken tartják, és a hőmérsékletet $45\text{ }^\circ\text{C}$.



10. ábra A metán alapú egysejt-fehérje gyártás folyamata

A fermentációt folyamatos üzemen, $0,20\text{-}0,25\text{ h}^{-1}$ hígítási sebességgel végzik. Az állandósult biomassza koncentráció $20\text{-}30\text{ g}$ szárazanyag/liter. A kilépő fermentlevet centrifugálásal mintegy tízszeresen, 22% -ra koncentrálják. Ezt követően mintegy $70\text{ }^\circ\text{C}$ -ra melegítik. A

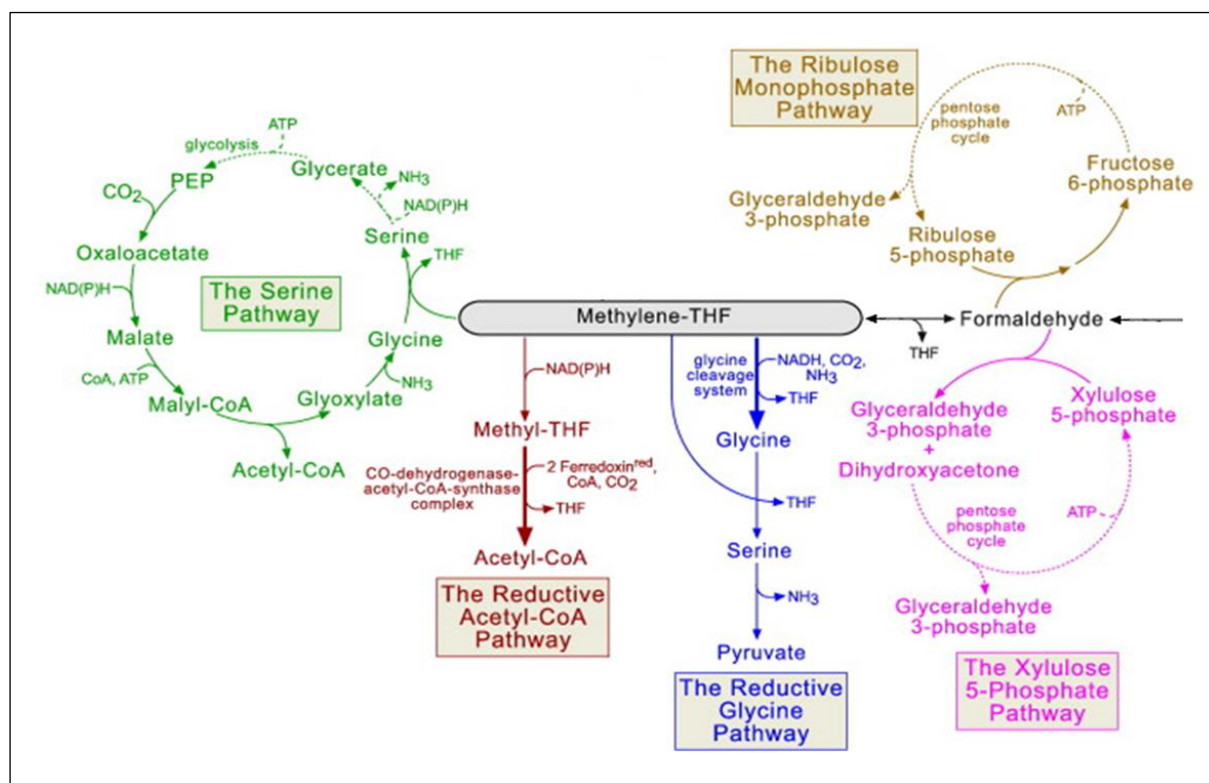
folyamatban a biomassza inaktiválódik, és a sejtek lizálni kezdenek, ettől a fehérje hozzáférhetőbbé válik. Végül a biomasszát porlasztva szárítják. A vízigény minimalizálása és a szennyvíz mennyiségének csökkentése érdekében a centrifugákból származó felülúszót visszaviszik a fermentorba.

A produktivitás eléri a $4 \text{ kg/m}^3/\text{h}$ -t, ami mintegy kétszerese a hagyományos fermentorokban elérhető kihozatalnak.

1.1.4.4. Egysejt-fehérje termelés metanolon

A metán katalitikusan könnyen konvertálható metanollá, fermentációs hasznosítása kisebb oxigénigénnyel jár, nem kell olyan intenzív hűtés, és a metanol jól oldódik vízben, valamint a robbanás kockázata is sokkal kisebb. Kézenfekvő tehát a gondolat, hogy a metán helyett a valamivel kisebb energiataralmú, de sokkal jobban kezelhető metanolt használjuk szénforrásként az egysejt-fehérje gyártáshoz. A metanol kis mennyiségben, de előfordul a biokémiai folyamatok során, így a mikrobák enzimszisztemei „felkészültek” a hasznosítására. A baktériumok között obligát metilotrófokat is találunk: *Methylobacter*, *Methylococcus*, *Methylomonas*, *Methylosinus*, *Methylocystis* törzsek. Fakultatív metilotrófok minden nagy rendszertani egységben előfordulnak. Így a baktériumok között *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Protaminobacter*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Rhodopseudomonas*, *Vibrio* fajok képesek a metilalkohol hasznosítására. Az élesztők között nem általános a metanol szubsztrát, a gyakran használt *Saccharomyces cerevisiae* és a *Candida utilis* például nem képesek ezen növekedni. Jól szaporodik viszont a *Pichia pastoris* és a *P. haplophila*, a *Candida boidinii*, a *Hansenula capsulata* és a *Torulopsis glabrata*. A fonalas gombák között a *Paecilomyces* és a *Trichoderma* fajok bizonyultak alkalmasnak.

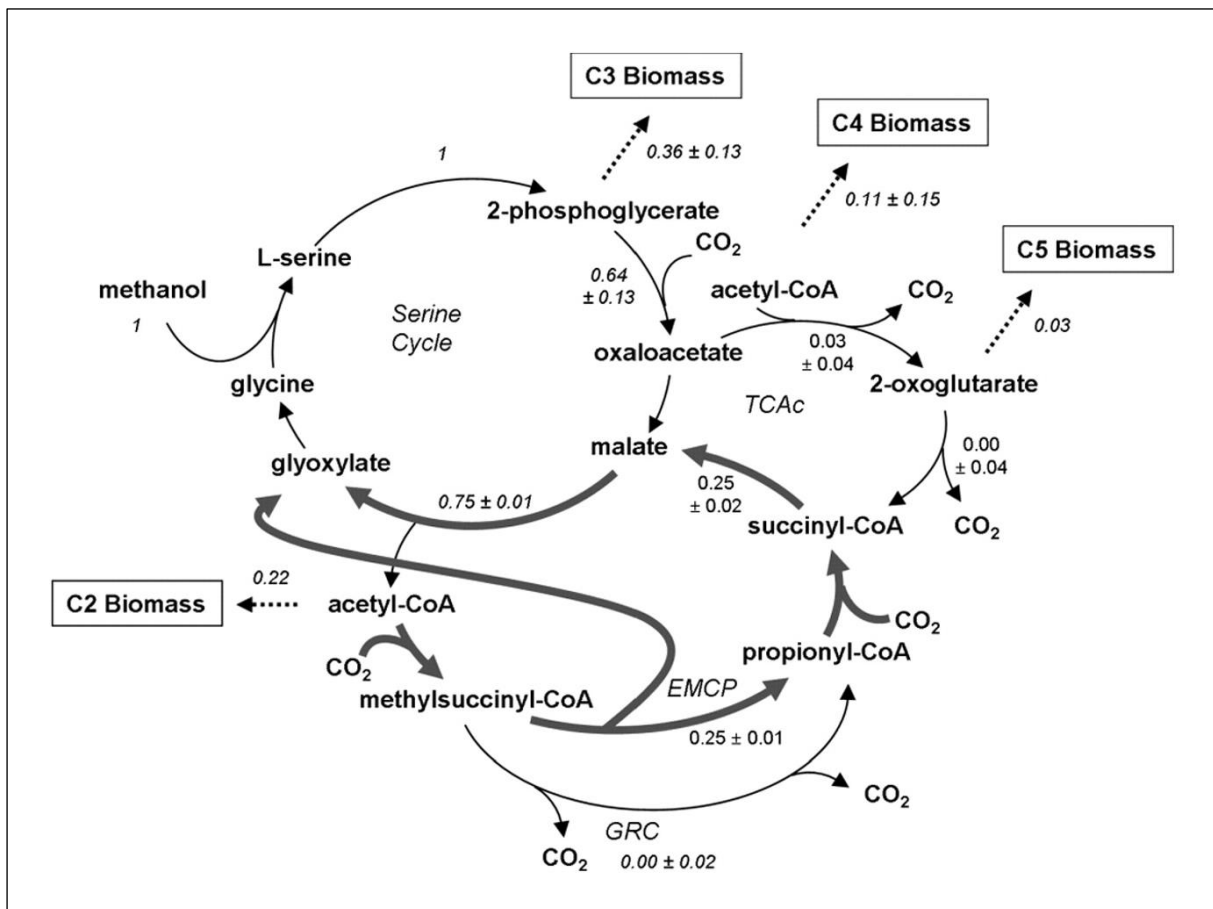
A metanol biokémiai hasznosításának első lépése mindenhol azonos. Az alkohol-dehidrogenáz enzim formaldehiddé oxidálja. Ez azonban nem jelenik meg szabad formában, hanem tetra-hidro-fólsavhoz (THF) kötve „aktív C1 egységként” sokféle biokémiai reakcióban vehet részt.



11. ábra A metanol hasznosításának biokémiai útvonalai

Az energiatermelő folyamat, a katabolizmus viszonylag egyszerű. A formaldehid hanyagasavvá oxidálódik, majd ez szén-dioxiddá és vízzé alakul. Az anabolikus hasznosulásnak viszont ötféle változata is van, ezt, mutatja be (leegyszerűsítve) a . ábra.

A **szerin út** kulcsenzime a szerin-transz-hidroximetiláz. A glicin szubsztráthoz kapcsolja az aktivált formaldehidet és ezáltal szerin keletkezik. Ez eddig egy aminosav termelő reakció, amit ténylegesen ki lehet használni szerin gyártásra. De a sejtek növekedése szempontjából érdekesebbek a mögötte lévő körfolyamatok, amelynek során a metanol szénatomjai beépülnek a sejt anyagaiba. A folyamatok nem egész számú sztöchiometriával jellemezhetők, a metabolikus fluxusok elemzése kimutatta, hogy C2, C3, C4 és C5-ös molekulák is átlépnek a sejt anyagcseréjébe. A képet bonyolítja, hogy a metanolból származó szén mellett több szén-dioxid fixálási lépés is működik, ami javítja a hozamot. Ezzel együtt a metanolra vonatkoztatott hozam csak 0,3 g/g körül van.

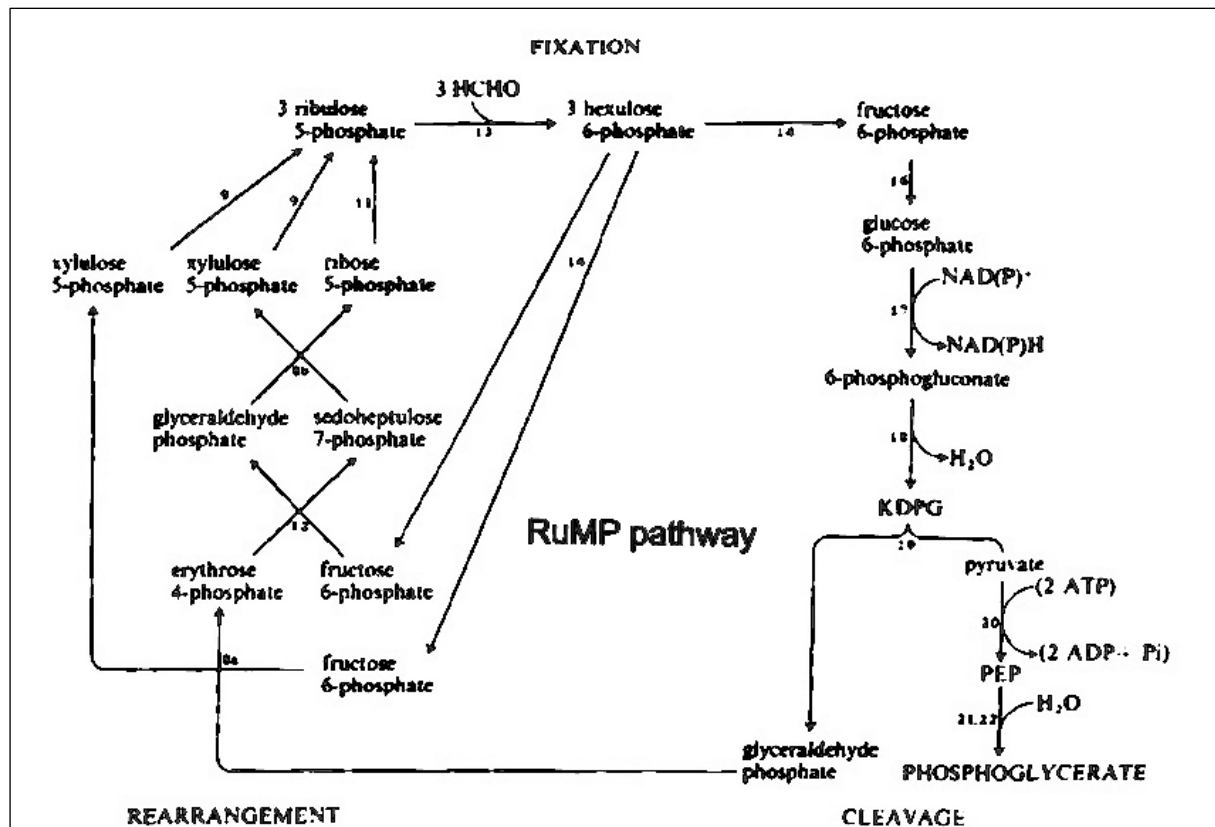


12. ábra A metanol hasznosulásának metabolikus fluxusai a szerin úton

A metanolt szerin úton hasznosító mikrobák azonosítását megkönnyíti, hogy a szilárd táptalaj felületén kinövő telepek általában rózsaszín pigmentet termelnek.

A **ribulóz-monofoszfát út** (Quayle-ciklus) kulcsenzime a hexulóz-foszfát-szintetáz, amely az öt-szénatomos ribulóz-foszfáthoz kapcsolja az aktív formaldehidet és így hexulóz-foszfátot hoz létre. Ez aztán fruktóz-6-foszfáttá alakul. Itt egy elágazás következik a reakcióutakban, az F6P molekulák három úton haladnak tovább. Egyik elhasad két három-szénatomos egységre, amelyek közül a foszfo-glicerát belép az anyagcserébe, ez a reakciósor nyeresége a sejt számára. A másik, a gliceraldehid-foszfát a másik két fruktózzal együtt a pentóz-foszfát ciklus reakcióin keresztül visszaépíti a kiindulási három ribulóz-5-foszfátot, így újraindulhat a ciklus. A körfolyamatban tehát három metanol felhasználásával egy foszfo-glicerát keletkezett.

Ebben az anyagcsere-folyamatban nincs szén-dioxid fixálás, mégis jobb a hatásfoka, a hozam 0,5 g/g körül alakul.



13. ábra A ribulóz-monofoszfát körfolyamat lépései

ICI Technológia: Az Imperial Chemical Industries (ICI, brit vegyipari óriáscég), amely nagy mennyiségben gyárt metanolt, ezt választotta szubsztrátnak bakteriális SCP előállításához. Ennek érdekében elindítottak egy óriási R+D projektet.

Ennek egyik területe a törzs szelekciója és fejlesztése volt. Részletesen vizsgálták a metanolhasznosítók biokémiáját, tulajdonságait és rendszertanát. Végül a *Methylophilus methylotrophus* törzs mellett döntöttek. Ez a törzs a hexulóz-foszfát úton hasznosítja a metanolt, a hozam is kiemelkedő, 0,53 g/g. Gyorsan szaporodik, fajlagos növekedési sebessége eléri a 0,5 h⁻¹-t is. Számos kedvező tulajdonsága mellett azonban volt egy hátránya is. A glutaminsav bioszintézise minden élőlényben azonos módon megy végbe: α-keto-glutársavban a keto-csoport transzaminálással amino-csoportra cserélődik. Az amino-donor molekula viszont többféle lehet, egyes élőlények meg tudják oldani ammónium ionnal, míg mások aminosavakat igényelnek a reakcióhoz. A kiválasztott törzsnél is ez volt a probléma, a glutaminsav szintéziséhez glutamint igényelt. Ez megnehezítette, illetve drágává tette a fehérje szintézist. Emiatt a törzset genetikailag átalakították, a saját glutaminsav szintézise helyett az *E. coli* enzimét vitték be, amely szervesen (NH₄⁺) ionnal alakítja ki a terméket.

A másik kiemelkedő műszaki teljesítmény a fermentor megtervezése és felépítése volt.

Egy óriási méretű air-lift reaktort terveztek, keverő nélkül, amelyben a felszálló levegő hurokáramlást idéz elő. Az air-lift csőben buborékok összeállását, koaleszcenciáját speciális kivitelezésű perforált tálcákkal akadályozták. A keletkező hőt a külső, leszálló áramláshoz épített hőcserélőkkel vezették el. Ez volt a világ legnagyobb aerob fermentora, a térfogata 3000 m³, ebben kb. 2000 m³ volt a fermentáló mennyisége. A magassága 60 méter, az átmérője 7-11 m. A fejrész nagyobb átmérője az áramlási sebességet lelassítja, és csökkenti a kialakuló

habréteget. A reaktor alján a nagy hidrosztatikai nyomás miatt igen jó az oxigén oldhatósága, ugyanakkor a levegő befűtéséhez a kompresszornak le kell győznie ezt az ellenállást. A levegőztető rendszeren keresztül ammónia gázt is adagoltak a rendszerbe. Ez azonnal beoldódott a fermentlébe, és helyreállította a pH értéket (~7 értékre) és nitrogénforrásként is hasznosult. Külön megoldást igényelt a metanol beadagolása. Mivel a tenyészet igen gyorsan elhasználja a szubsztrátot, nincs idő az elkeveredésre. Emiatt nagyon sok szinten, nagyon sok ponton, összesen 8000 helyen vitték be a metanolt. Utólag kiderült, hogy még ez sem volt elegendő, nem tudták tartani a szükséges metanol koncentrációt, és ettől leromlott a hozam kb. 0,3 g/g-ra. Mivel a szén- és nitrogénforrást külön vitték be, a tápoldat csak ásványi sókat tartalmazott. A fermentációt 37 °C-on, pH=7-en vezették.

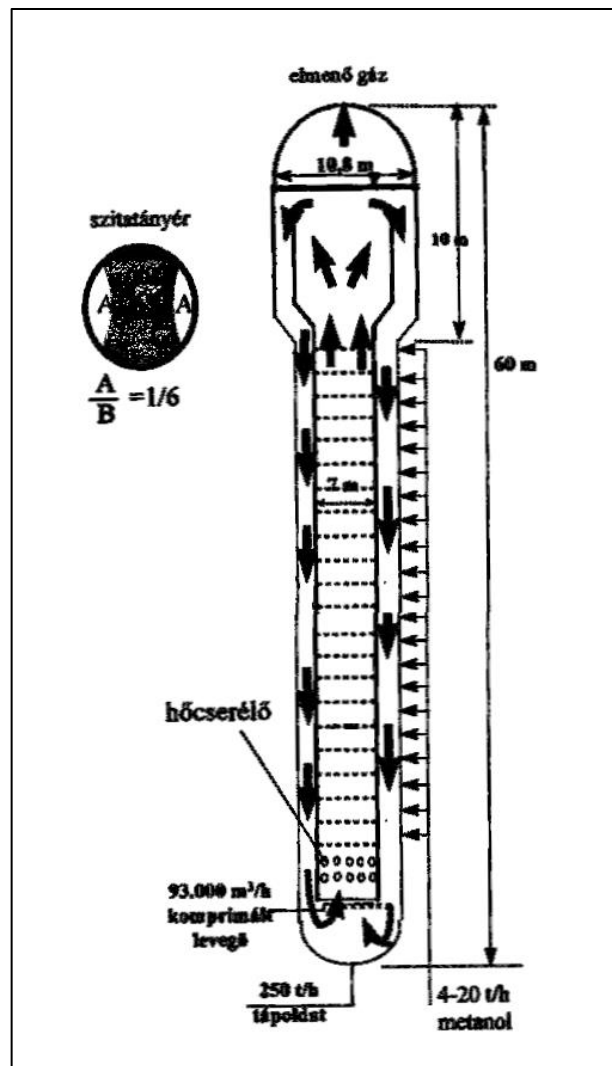
A berendezést folyamatos üzemben működtették, a hígítási sebességet 0,2 h⁻¹-re állították be. A kilépő lé egy részét a biomassza eltávolítása után a betápláláshoz keverve visszavitték a rendszerbe. Így a maradék metanolt és a sókat is hasznosítani lehet. Az állandósult (=kilépő) sejtkoncentráció 30 g/l. A rendszer produktivitása 4 g/l.h, ami összehasonlításban jónak mondható. Az üzem tehát évente 50-60 000 tonna SCP-t állítására képes.

A lé feldolgozása során a sejteket savas közegben 70°C-on kezelik, ezalatt az RNáz enzimek hatására az RNS koncentráció lecsökken. Steril körülmények között centrifugálással elválasztják a sejteket, a felülúszó vizes oldatot visszatáplálják. A sejteket megszáritják.

A technológiát 1979-80-ban helyezték üzembe, és egy 100 napos próbaüzemet végeztek el fertőződés nélkül. Ebben szerepe volt a megfelelő sterilizésen kívül a metanol szubsztrátnak (más mikrobákra mérgező, de legalább is nem tudják hasznosítani), és a nagy hígítási sebességnek – minden lassabban szaporodó mikroba kimosódik a rendszerből.

A terméket az ICI *Pruteen* néven állati takarmányként hozta forgalomba.

Sajnálatos módon mire az üzem megvalósult és működni kezdett, az árviszonyok megváltoztak. A termelt fehérje ára 600 USD/t körül alakult, a szójafehérje viszont 1980 után már csak a feleannyiba került. Ezek a gazdasági gondok ahhoz vezettek, hogy az ICI közös vállalkozást hozott létre az RHM-mel, hogy a fermentorban az állati takarmány *Pruteen* helyett az élelmiszerként eladható *Mycoproteint* (Quorn, *Fusarium* SCP, ld. korábban) állítsanak elő. Ez a műszaki csúcsteljesítmény, amit a Queens' s Award-dal is elismertek, csak rövid ideig működött, a fermentort 1988-ban lebontották.



14. ábra Az ICI fermentor felépítése



15. ábra Az ICI fermentor szállítása és felállítása



16. ábra Az ICI fermentor bontása

A projekt harmadik területe az engedélyezés és az ehhez kapcsolódó biológiai vizsgálatok elvégzése volt. A Toprina-hoz hasonlóan ennek az anyaghoz is meg kellett találni az engedélyezési protokollt, sok toxikológiai, emészthetőségi, allergológiai vizsgálatot kellett elvégezni.

1.1.5. Az egysejt-fehérje előállítás gazdasági helyzete

Árucikként az SCP-nek versenyképesnek kell lennie az egyéb kereskedelemben lévő állati és növényi proteinnal szemben az ár és tápérték szempontjából, valamint igazodnia kell az emberi és állati ételmiszerbiztonsági feltételekhez. A termelékenység, a hozam és az értékesítési ár azok a fő tényezők, amelyek befolyásolják a gyártás gazdasági helyzetét. A mikrobiális inokulumok, amelyeket bizonyos folyamatok elősegítésére használnak, általában nagyobb értékűek. Ebben az esetben az előállítási folyamat célja optimális hozam elérése olyan szaporodóképes sejtekből, amelyek meghatározott biológiai aktivitással rendelkeznek és jók a tárolhatósági jellemzőik. A *Saccharomyces cerevisiae* elsősorban ilyen mikrobiális inokulumnak tekinthető. Az inaktív, szárított sör-, vagy sütőélesztő szintén étkezési céllal használatos, mint vitamin- és nyomelem-forrás egyes speciális egészségügyi állapotokban. Számottevő mennyiségű élesztő-extraktumot állítanak elő sütőélesztőből, ízesítőanyagként és vitaminforrásként.

A cégek, mint a BP és ICI kezdeti érve az volt az SCP-gyártásba való bekapcsolódás mellett, hogy alacsony költségekkel nagy értékű fehérje állítható elő kőolajból az állati takarmányok kiegészítésére. A szándék az importált fehérjepótlók (pl. szójaliszt) helyettesítése volt. A szénhidrogén alapú egysejt-fehérje-gyártás bukásában az 1973-as drámai olajár-emelkedés játszotta a legfőbb szerepet, ami megemelte a betáplált nyersanyag- és energiaköltségeket, míg a mezőgazdasági termékek (pl. szójabab) ára csak kisebb mértékben emelkedett. Figyelembe véve, hogy a nyersolaj ára 6-szorosára emelkedett 1973-ban és hogy az SCP előállítás teljes költségeinek 40-60%-át a szubsztrát beszerzése jelenti, érthető a negatív hatás.

A mezőgazdasági termények, amelyek az állati takarmányozás tekintetében az SCP fő versenytársai, képesek voltak piaci nyomásra a stabil ár fenntartására. Az emberi fogyasztásra szánt protein kiegészítő termékek ára sokkal magasabb, mint a takarmány fehérjéé, így nem okoz problémát, hogy a gyártási eljárásához konvencionálisabb és költségesebb szubsztrátokat (pl. glükóz) kell használni. Ezek a termékek jó húshelyettesítőként szolgálnak, amit a vegetáriánusok is fogyaszthatnak. A Quorn és a Spirulina márkanévű termékek régóta, stabilan jelen vannak a piacon.

A magas tökeigény és a steril körülmények biztosítása éppen a fejlődő országok számára, ahol gyakori az ételmiszerhiány, teszi problémássá az egysejt-fehérje gyártás bevezetését. De az állati takarmányozás céljára, mezőgazdasági hulladékokon termelt SCP bizonyosan meg fogja találni a jövőben a helyét ezen országok gazdaságában.

1.1.6. Termékminőség és -biztonság

Az egysejt-fehérje a fehérje főkomponensen kívül zsírt, nukleinsavakat, szénhidrátot, vizet és ásványi anyagokat is tartalmaz (pl. foszfor és kálium). Az összetétel az adott mikroorganizmustól, valamint a táptalaj összetételétől függ. A nem-konvencionális ételmiszerekből felvett RNS mennyisége nem haladhatja meg a napi 5 g-ot, ugyanis az RNS-bomlásból származó purin vegyületek megemelik a plazma húgysav-koncentrációját, ami köszvényt és vesekövet idézhet elő.

Ha az SCP-t sikeresen piacra kívánjuk juttatni, akkor a következő kritériumoknak kell megfelelni:

1. Fogyasztás szempontjából teljesen veszélytelen legyen.
2. Az aminosav-összetétel szempontjából a tápértéke legyen nagy.
3. A közvélemény által legyen elfogadott.
4. Funkcionálisan hasonlítson a legfontosabb közönséges ételmiszerekre.
5. A gazdasági megvalósíthatóság rendkívül komplex, még bizonyításra vár.

2. Tartalom

| | | |
|----------|-----------------------------------------------------------|----|
| 1. | Egysejt-fehérje (Single Cell Protein, SCP) termelés | 1 |
| 1.1. | Bevezetés | 1 |
| 1.1.1. | Proteinigény | 1 |
| 1.1.2. | Történeti áttekintés | 2 |
| 1.1.3. | Az SCP és termelő mikrobák tulajdonságai | 3 |
| 1.1.4. | Az SCP-gyártási technológia | 5 |
| 1.1.4.1. | SCP termelés CO ₂ -on | 5 |
| 1.1.4.2. | Egysejt-fehérje szénhidrátokon | 7 |
| 1.1.4.3. | Egysejt-fehérje termelés kőolajszármazékokon | 12 |
| 1.1.4.4. | Egysejt-fehérje termelés metanolon | 17 |
| 1.1.5. | Az egysejt-fehérje előállítás gazdasági helyzete | 22 |
| 1.1.6. | Termékminőség és -biztonság | 22 |