

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

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:

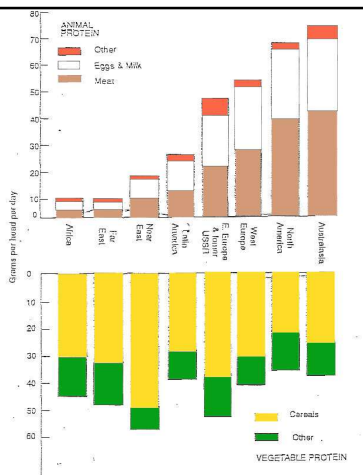
- Nagy a nukleinsav tartalom (→ húgysav → köszvény)
- Toxikus és vagy karcinogén anyagok (szénhidrogén szubsztárból)
- Nehezen emészthető sejtfa → lassú emésztés, allergia
- Az aminosav összetétel nem ideális (Met, Cys kevés)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

4

A FEHÉRJE FOGYASZTÁS MEGOSZTLÁSA



BME Alkalm

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

EGYSEJT-FEHÉRJE (SCP) ELŐÁLLÍTÁSA

%	élesztő	metanolbaktérium	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

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
 CO_2 + kevés O_2 betáplálás – ülepedés miatt,
 + N forrás,
 baktériumos befertőződés felléphet.
 Befektetés: 20.000 USD/ha,
 A termék fehérjetartalma 40-50%, nukleinsav tartalma kicsi, 4-6%.
 Sejtkinyérés: flokuláltatással $\text{Ca}(\text{OH})_2$ adagolással, mert a centrifugálás drága.
 Előállítási költség: 4-10 USD/kg (a szója csak 3 USD/kg)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

7

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

10

SZUBSZTRÁTOK

b2) HETEROTRÓF ALGASZAPORÍTÁS.

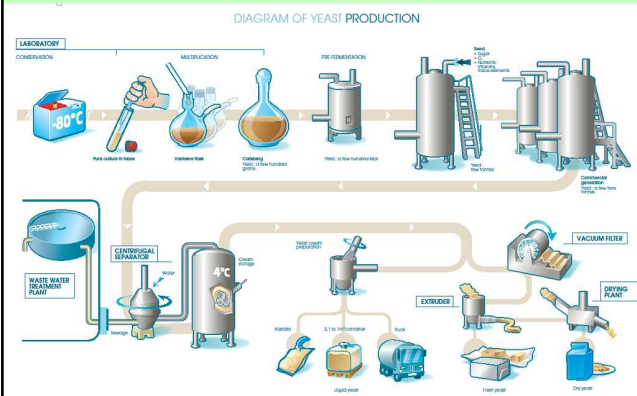
Chlorella sp. melaszon, folytonos, aszeptikus eljárás.
 Japán: termelés 3.000 t/év,
 előállítási költsége: 10-15 USD/kg,
 felhasználás: speciális élelmiszer adalék.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

8

PÉKÉLESZTŐ GYÁRTÁS



TENYÉSZTÉS SZÉNHIDRÁTOKON

Ideális szubsztátok, 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	
zöldség feldolgozás maradáka	106
cellulóz	
préselt cukornád	58
búzakorpa	864
búzaszalma	599
rizsszalma	193
kukorica maradék	152
városi hulladékok (papír)	61
faipari és erdészeti maradék	



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

9

TENYÉSZTÉS SZÉNHIDRÁTOKON

b.) SCP termelés laktózon:

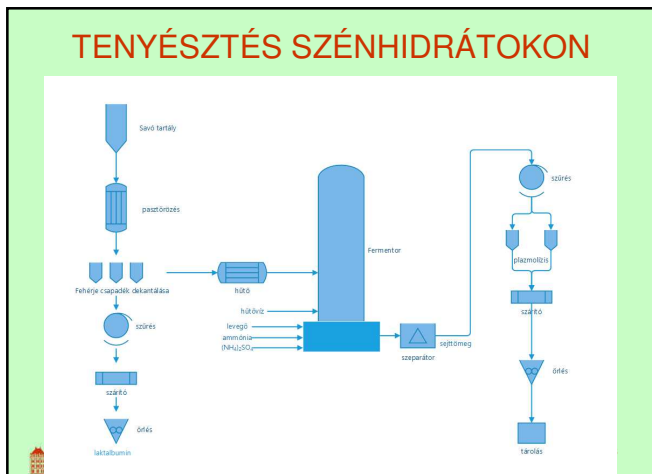
A sajtgyári savó kb. 5 % tejcukrot és 1 % fehérjét tartalmaz.
 Ha ez szennyvízként megy el, akkor BOI = 70.000 !!
 Ezért inkább ultraszűréssel elválasztják a fehérjét (tápszer,
 élelmiszeripari adalék) és a laktózon
Saccharomyces lactis,
Candida utilis,
Saccharomyces fragilis,
Kluyveromyces lactis
 törzseket szaporítanak. →



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

12

TENYÉSZTÉS SZÉNHIDRÁTOKON



TENYÉSZTÉS SZÉNHIDRÁTOKON

d.) glükózon

általában nem gazdaságos, de az RHM Mycoprotein (élelmiszer) eljárása: *Fusarium graminearum* törzssel 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, gőzőléssel, fagyasztással javítják a textúráját.

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

16

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.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14



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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

TENYÉSZTÉS SZÉNHIDRÁTOKON

c.) szulfitszennylúgon

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

Candida utilis, törzssel (Csehország)

Folytonos eljárás, 3x800 m³-es fermentor,

Termelése: 25.000 t SCP/év

Pekilo eljárás

Paecilomyces varioti törzssel (Finnország) 10.000 t/év, a pentózt és ecetsavat jobban használítja

Fehérjetartalom: 55-60 %

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

15

TENYÉSZTÉS SZÉNHIDRÁTOKON

e.) keményítő hulladékon

Symba eljárás (svéd)

Keményítő hulladékok a keményítő gyártásból, pl. burgonya szelet.

1. lépcső: *Endomycopsis fibuliger* (amiláz termelő) + NH₃

2. lépcső: *Candida utilis* élesztő sejt tömeg

Folytonos eljárás,

A BOD lemegey ~ 1000 mg O₂/l -re

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

szilárd hulladék + NH₄ + só + mikroba,

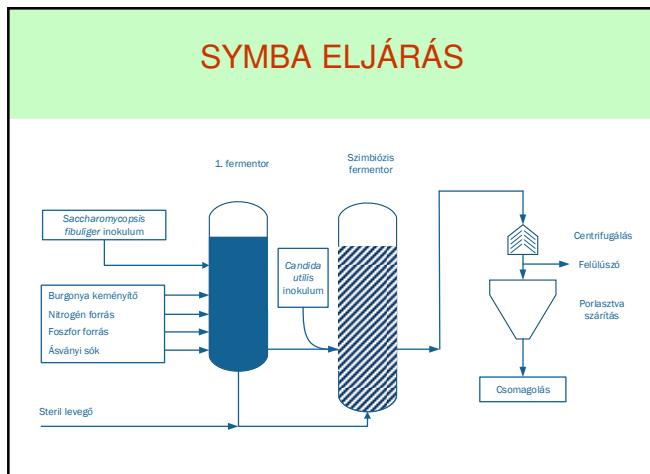
Fehérjetartalom 10-15%, sok rost és hamu ballaszt



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

18

SYMBA ELJÁRÁS



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.

→



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

22

TENYÉSZTÉS SZÉNHYDRÁTOKON

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 β1,4-glukanáz, endocelluláz, C₁ enzim, oldható cellulózból C₁ hatására lesz cellobióz és oligomerek

Exo-β1,4-glukanáz, cellobiohidroláz, c1 enzim, a *Trichoderma viridae* enzimei-nek 80%-a ez. Kristályos cellulózból c1 hatására lesz cellobióz

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

Hatásukra → glükóz + ötszénatomos cukrok keletkeznek.

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

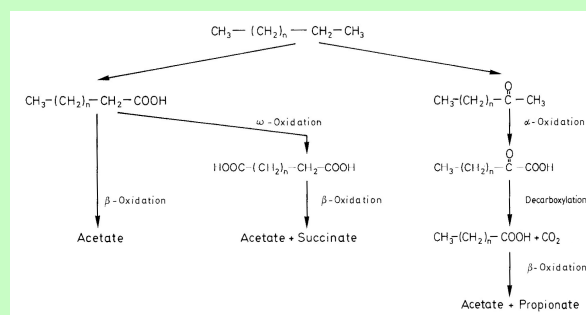
SSF: *Trichoderma* + NH₄ + szalma → takarmány, ~15% fehérjetartalom



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

20

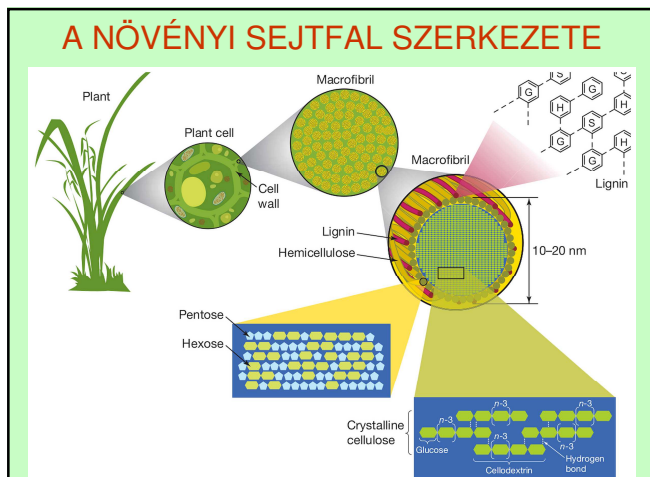
TENYÉSZTÉS SZÉNHYDROGÉNEKEN



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

23

A NÖVÉNYI SEJTFAL SZERKEZETE



TENYÉSZTÉS SZÉNHYDROGÉNEKEN

n-alkánokon

C₁₀-C₁₇ 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 O₂ igény (2-3 vvm) és a hőfejlesztés: 1kg SCP-hez 1-1,2 kg alkán, 2,2 kg O₂ és 27000 kJ hőfejlesztés tartozik.

Airlift, magas reaktor, túlnyomásos, nagy térfogatok.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

24

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?



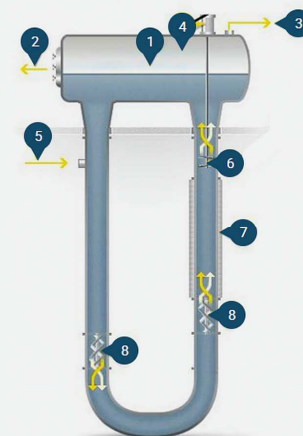
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

25

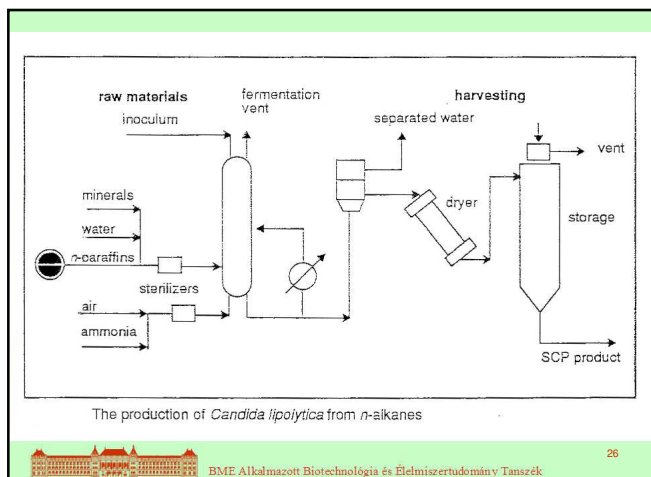
THE U-LOOP FERMENTOR

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



26



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

26

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.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

29

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: $D=0,20-0,25 \text{ h}^{-1}$
 biomassa: 20-30 g szu/liter

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

27

TENYÉSZTÉS METANOLON

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

Nagyon sokféle baktérium képes a metanol 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*

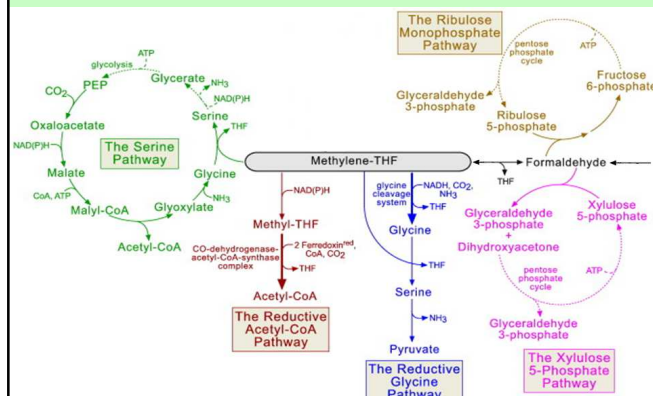
Fakultatív metilotróf gombák: *Paecilomyces*, *Trichoderma*



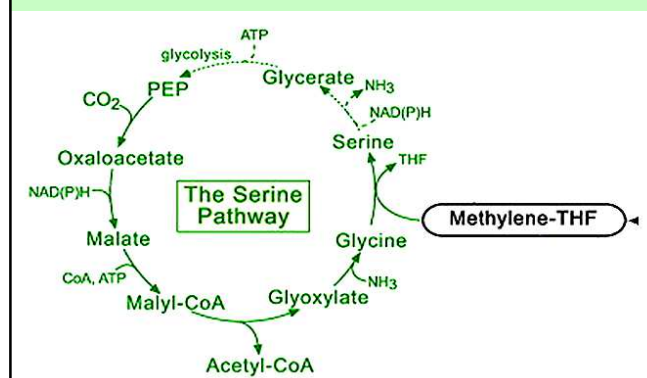
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

30

A METANOL ASSZIMILÁCIÓ ÚTJAI



METANOL ASSZIMILÁCIÓ

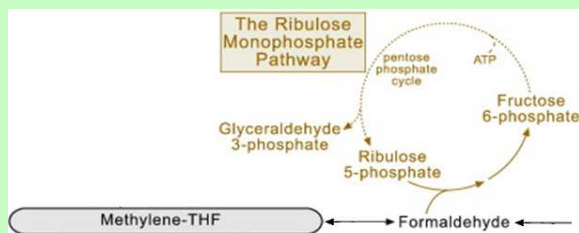


METANOL ASSZIMILÁCIÓ

1. ribulóz-monofoszfát út:

Kulcsenzime a hexulóz-foszfát szintáz

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



32

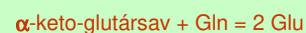
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

ICI TECHNOLÓGIA

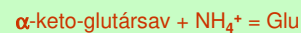
Törzs: *Methylophilus methylotrophus*

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.

35

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

METANOL ASSZIMILÁCIÓ

2. szerin út:

Kulcsenzime a szerin-transzihidroxi-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.

→

33

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

ICI TECHNOL

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

MŰSZAKI CSÚCSTELJESÍTMÉNY!

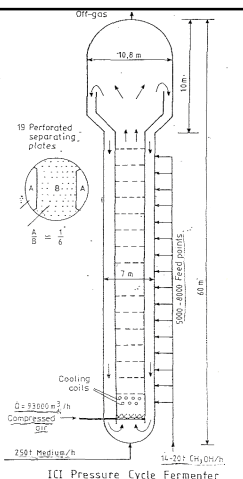
A metanol 8000 (!) ponton táplálták a koncentrációja. Emiatt a hozam Folytonos, $D = 0,2$, $t = 37 \text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 7$ ~100 napig üzemelt fertőződés nélkül

A sejtek szeparálása után a levét (ré

Produktivitása: 4 g/l/h

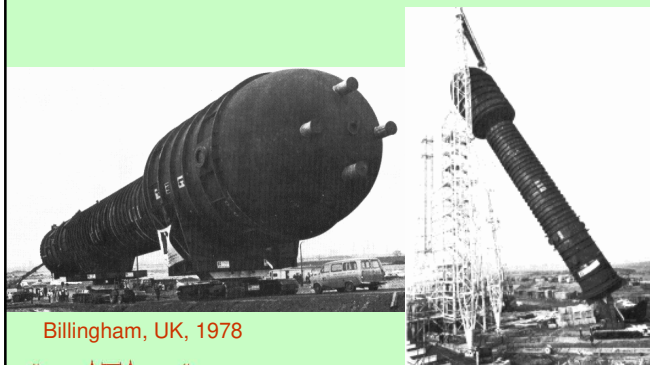
Kilépő koncentráció: 30 g/l

Kapacitás: 70.000 t/év



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

ICI REAKTOR



Billingham, UK, 1978



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

37

ENGEDÉLYEZTETÉS

Amikor az ICI elkezdte a projektet, még nem volt sem szervezet, sem szabály az engedélyezésre, 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

ICI TECHNOLOGIA

Feldolgozás:

- a lefejtett levet savas közegben 70°C-on kezelik, így az RNS koncentráció csökken,
- steril centrifugálás,
- a levet (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