

Námelový olej - nový substrát pro fermentační procesy

Ing. PETR ETTLER, CSc., VLADISLAV VLČEK, Výzkumný ústav antibiotik a biotransformací, Roztoky u Prahy
JAROMÍR LINDOVSKÝ, Ing. PAVEL HARAZIM, GALENA, n. p., Opava-Komárov

865.321.2.663.11

Klíčová slova: námelový olej, extrakce námele, biostimulátor, fermentace

Úvod

Při biosyntetických výrobcích se v průběhu kultivace produkčního mikroorganismu tvoří pěna v závislosti na složení média a intenzitě míchání a vzdušnění. Tato je pak odstraňována, resp. regulována prostředky mechanickými (rozrážeče apod.), fyzikálně chemickými (ultrazvuk, vodivost apod.) nebo přísady chemických protipěnicích prostředků [1]. Ve všech případech se jedná o porušení povrchové aktivity na rozhraní pevná fáze — kapalina, pevná fáze — plyn a kapalina — plyn [2]. Povrchové napětí, kapilarita a v neposlední řadě napětí mezních ploch jsou určujícími faktory účinného potlačování tvorby pěny [3]. Přehled komerčně používaných protipěnicidel uvádí Ross [4]. Zahrnuje přírodní a minerální oleje, alkoholy, mastné kyseliny, jejich estery, amidy, aminy, organické sloučeniny křemíku apod. Protipěnidla by měla vykazovat tyto vlastnosti [5]:

- rychlý pokles pěny (pro dodržení sterility procesu),
- dlouhodobé působení,
- vysoká účinnost již při nízkých koncentracích,
- snadné odstranění z média při zpracovatelských operacích,
- nízká hořlavost,
- nízká cena,
- protipěnidlo by nemělo ovlivňovat rychlost přenosu kyslíku.

Splnění všech těchto kritérií není však prakticky možné a tak se při fermentacích setkáváme s velmi účinnými chemickými odpěňovacími, která však snižují absorpci kyslíku a ve větším množství mohou mít inhibiční vliv na růst produkčního kmene a tvorbu produktu.

Z přírodních chemických protipěnicidel jsou nejpoužívanější rostlinné oleje a živočišné tuky, které jsou produkčními mikroorganismy též částečně využívány jako zdroje uhlíku. Některé eukaryotické mikroorganismy jako houby (*Fusarium moniliforme*, *Penicillium spinulosum*), kvasinky (*Rhodotorula gracilis*, *Lipomyces lipofer*, *Cryptococcus terricolus*) a řasy (*Phaeodactylum tricornutum*, *Chlorella pyrenoidosa*) jsou schopny kumulovat až 70 % suché váhy biomasy ve formě lipidů, které se svým složením podobají glyceridům z rostlin. Biotransformace glycidů na tuky probíhá však s malým výtěžkem (konverze nepřesahuje 20 %) a postup není ekonomicky výhodný [6].

Cílem naší práce bylo nalézt ekonomicky vhodný chemický odpěňovací prostředek, který by mohl v řadě biosyntetických výrob nahradit sójový olej, využívaný přednostně pro humánní výživu. Bylo zjištěno, že biomasa pyrenomycety *Claviceps - mycelium* či *sklerocia* (námel) obsahují jako produkt uhlíkatého metabolismu směs triglyceridů vyšších mastných kyselin s ergosterolem a jinými rostlinnými steroly a triterpenickými alkoholy. Tato směs odpadá při extrakci námelových alkaloidů z dané biomasy, pod názvem námelový olej. Práce pojednává o způsobu přípravy tohoto substrátu a jeho využití v biosyntetických výrobcích.

Materiál a metody

Pro pokusy byl používán odpadní námelový olej se

zbytky rozpouštědel, vody, barviv, vznikající po extrakci námelových alkaloidů ze sklerocií a mycelia kultury *Claviceps purpurea*. Stanovení hustoty, čísla kyselosti, čísla zmýdelnění a jodového čísla bylo provedeno podle Československého lékopisu 3. Stanovení obsahu zbytků rozpouštědel plynovou chromatografií na přístroji Pye Unicam 106 metodou standardního přídatku 1-butanolu [7]. Semikvantitativní stanovení obsahu námelových alkaloidů bylo provedeno na tenké vrstvě s použitím detekčního činidla 1% p-dimethylaminobenzaldehydu ve směsi s koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou a ethanolem v poměru 1 : 1 [8].

Výsledky a diskuse

Námelový olej se před použitím jako protipěnidlo zbavuje zbytků organických rozpouštědel z extrakce důkladným odpařením, aby manipulace s ním a aplikace do fermentačních či kultivačních médií byla přípustná z bezpečnostního hlediska. Při sterilizaci tohoto substrátu se inaktivuje zbytkový obsah námelových alkaloidů. Námelový olej byl identifikován jako hnědožlutá čirá olejovitá kapalina slabého charakteristického arómatu o těchto parametrech totožnosti:

hustota	0,9228
číslo kyselosti	9,96
číslo zmýdelnění	192,72
číslo jodové	57,2
obsah vody	0,36 %
obsah námelových alkaloidů	0,005 %
obsah organických rozpouštědel	0,07 %

Je zřejmé, že kvantitativní obsah těchto látek a ukazatelů se bude měnit v závislosti na výrobní šarži podle klimatických poměrů sklizně námele apod.

Jednotlivé složky námelového oleje byly stanoveny jako metylestery mastných kyselin (tab. 1).

Byla vypracována vnitropodniková norma zahrnující přípravu, použití a předpisy na zkoušení tohoto substrátu. Námelový olej vyniká značnou stabilitou. Po ročním skladování se nezmění jeho vlastnosti.

Tabulka 1. Složení námelového oleje

Kód kyseliny	Název kyseliny	% zastoupení v námelovém oleji
C 14	—	1,24
C 14	myristová	0,89
C 16	palmitová	30,26
C 16/1	palmitolejová	6,1
C 16/2	—	1,06
C 18	stearová	6,71
C 18/1	olejová	28,24
C 20	arachová	1,38
C 20/1	eikasen-kyselina	1,43
C 20/2	—	0,27

Uvedené složení odpovídá jak po stránce kvantitativní, tak i kvalitativní, údaj z literatury [7].

Při kultivaci mikroorganismů se námellový olej přidává do půdy po rozmíchání a suspendaci všech surovin, úpravě pH, před zahájením sterilace v množství 0,5–2 %. Při výskytu pěnění v průběhu kultivace může být vstříkovan ve sterilních dávkách samostatně nebo v emulzi se silikonovým olejem. Bylo potvrzeno poloprovodními pokusy při kultivaci *Penicillium chrysogenum*, *Claviceps purpurea*, *Claviceps paspali*, *Streptomyces fradiae* a *Streptomyces aureofaciens*, že tento substrát se uplatňuje i jako částečný zdroj asimilovaného uhlíku pro růst produkčních mikroorganismů.

Ekonomické zhodnocení přínosu použití námellového oleje představuje využití druhotné suroviny, snížení nákladů na izolaci surového souhrnu námellových alkaloidů, snížení nákladů na provoz podnikové spalovny odpadů, náhradu sójového nebo ostatních olejů rostlinného či živočišného původu v biosyntetických výrobcích tužemskou surovinou. Nezanedbatelný je přínos v možném zvýšení výtěžků produktů vlivem biostimulátorů a prekursorů obsažených v námellovém oleji.

Použití námellového oleje je chráněno PV 9073-80 a AO 215 779. Cena této suroviny byla předběžně stanovena na 6 Kčs/kg.

Literatura

- [1] HALL, M. J. a kol.: Progr. in Ind. Microbiol. **12**, 1973, s. 171
- [2] TENT, W.: Seminář o významu a využití odpadních produktů v kvasném a škrob. průmyslu, VŠCHT Praha, 1975
- [3] GADEN, E. L., KEORKIAN, V.: Chem. Eng. **10**, 1956, s. 173
- [4] ROSS, S.: Chem. Eng. Progr. **63**, 1967, s. 9
- [5] EVANS, J. I., HALL, M. J.: Proc. Biochem. **6**, 4, 1971, s. 28
- [6] WERDELMANN, B. W., SCHMID, R. D.: Fette, Seifen, Anstrichmittel **184**, 1982, s. 436
- [7] THEILE, O. W.: Biochem. Biophys. Acta **84**, 1964, s. 483

Ettler, P. — Lindovský, J. — Vlček, V. — Harazim, P.: **Námellový olej — nový substrát pro fermentační procesy**. Kvas. prům., **31**, 1985, č. 3, s. 61–62.

Nový substrát pro fermentační procesy se získává ze surového námellového oleje, který odpadá při regeneraci organických rozpouštědel po extrakci námele. Surový olej je zbavován zbytku organických rozpouštědel, vody

a event. barviv. Ekonomické zhodnocení použití tohoto substrátu představuje snížení nákladů na provoz spalovny kapalných odpadů, náhradu sójového oleje nebo jiných chemických odpadních prostředků používaných při fermentačních procesech jako odpadních a částečně zdroje uhlíku. V neposlední řadě byl v řadě procesů potvrzen pozitivní vliv eventálních biostimulátorů, prekursorů a bioprveků tohoto substrátu na zvýšení produkce fermentačního procesu.

Эттлер, П., Линдовски, И., Влчек, В., Гаразим, П.: **Масло из спорыньи — новый субстрат для ферментационных процессов**. Квас. прум. **31**, 1985, № 3, стр. 61–62.

Масло из спорыньи является отходом в процессе регенерации органических растворителей после экстракции спорыньи. Из сырого масла удаляют остатки растворителей, воды и, при случае, красителей. Оно представляет собой заметительное соевого масла или других химических средств для устранения пены в течение ферментационных процессов и также добавочных источников углерода.

Ettler, P. - Lindovský, J. - Vlček, V. - Harazim, P.: **Ergot-oil — a new substrate for fermentation industry**. Kvas. prům. **31**, 1985, No. 3, s. 61–62.

During the cultivation of *Claviceps sp.* besides ergot alkaloids a large amount of ergot oil is formed. A separate isolation process for purification of refined oil was developed. This substrate was successfully used for some biosynthetic processes as antifoam agent partial carbon source. Phys. chem. properties of ergot oil are presented.

Ettler, P. - Lindovský, J. - Vlček, V. - Harazim, P.: **Ergot-Öl, ein neues Substrat für Fermentationsindustrie**. Kvas. prům. **31**, 1985, Nr. 3, S. 61–62.

Während der Kultivierung von *Claviceps sp.* entsteht als Nebenprodukt in der großen Menge ein neues Substrat, Ergot Öl kann als Antischaummittel und partial Kohlenhydratsubstrat in mehreren Processen ausgenutzt sein. Phys.-chemische Charakteristiken sowie die Ausnützungsmöglichkeiten eingegeben sind.