

Tadeusz Gołębiowski
Wiesław Rzędowski

Institut Biotechnologii
Przemysłu Rolno-Spożywczego
Warszawa

Biotechnologie w rolnictwie i przemyśle rolno-spożywczym. Raport z CPBR – 3.15

Koncepcja utworzenia CPBR-3.15 pn. „Biotechnologie w rolnictwie i przemyśle spożywczym” opierała się na następujących założeniach:

- Biotechnologia jest preferowanym kierunkiem rozwoju nauki i techniki w świecie od czasu powstania inżynierii genetycznej, a następnie odkrycia i wykorzystania możliwości, jakie przynosi inżynieria komórkowa, białkowa i enzymowa.

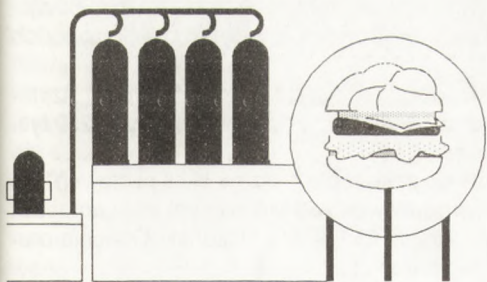
- Zapotrzebowanie gospodarki narodowej na produkty przemysłu biotechnologicznego można oszacować, wyrażając ich wartość w cenach światowych na 200 do 500 mln USD, w zależności od zmian koniunkturalnych, a przede wszystkim wielkości importu białkowych składników paszowych.

- W Polsce procesy biotechnologiczne w tradycyjnej wersji zlokalizowane są głównie w przemyśle spożywczym (gałęzie fermentacyjne) i farmaceutycznym (biosynteza antybiotyków i niektórych biopreparatów dla rolnictwa).

- Kadra naukowo-techniczna z dziedziny biotechnologii była rozproszona i nie miała dostępu do nowoczesnych centrów nauki i sprawnych warsztatów badawczych.

- Brakowało też przesłanek do obiektywnej oceny możliwości podjęcia produkcji biotechnologicznej w kraju. Spowodowane to było przede wszystkim niemożnością dostępu do nowoczesnych instalacji doświadczalno-produkcyjnych, a przez to do oceny rzeczywistej przydatności posiadanego materiału biologicznego do wytwarzania produktów biosyntezy po cenach opłacalnych.

W tej sytuacji powstał program badawczo-rozwojowy obejmujący 27 celów realizacyjnych, z których 12 miało charakter wdrożeniowy, osiem – wyprzedzający, a 7 – poznawczy.



Kryteria wyboru celów były następujące:

1. Udokumentowana konieczność podjęcia produkcji biotechnologicznej w aspekcie społeczno-gospodarczego rozwoju kraju. Zwykle dowodem na istnienie zapotrzebowania na nią był import, który z zasady pokrywał tylko część potrzeb.

2. Istnienie potencjalnego producenta, zainteresowanego przestawieniem swej produkcji na nowy asortyment, deklarującego chęć współdziałania przy realizacji zamówienia rządowego lub zbudowania instalacji doświadczalnej.

3. Kolejnym motywem była świadomość, że istniejące gałęzie przemysłu fermentacyjnego lub biosyntezy wymagają znacznej modernizacji poprzez: intensyfikację stosowanej technologii, zmniejszenie energochłonności lub uciążliwości dla środowiska i poprawy podstawowych wskaźników techniczno-ekonomicznych.

4. Należało też wykorzystać fakt, że w kraju powstały lub formują się ośrodki badawcze lub zespoły naukowe zdolne do rozwiązania istotnych zagadnień z dziedziny inżynierii bioprosesowej lub inżynierii genetycznej.

CPBR 3.15 objął 12 wdrożeniowych celów realizacyjnych, z których każdy miał zawarte wstępne porozumienia wdrożeniowe z jednostką gospodarczą. Na wykonanie trzech celów przewidziane było uzyskanie zamówień rządowych. Cele dotyczące trzech przemysłów fermentacyjnych (piwowarstwa, octownictwa i gorzelnictwa) obejmowały po kilka zadań wdrożeniowych.

Większość zadań wdrożeniowych wymagała przygotowania stosownych warunków technicznych do ich realizacji. Przyjęto bowiem założenie, że prototypowe urządzenie, węzeł lub instalacja doświadczalna, będą traktowane jako modele do zwielokrotnienia lub – w znacznym stopniu – do umożliwienia pokrycia potrzeb gospodarczych. Zakładano jednak, że tylko część aparatury będzie musiała być kupowana za granicą.

W latach 1986–1990, w okresie przeprowadzania wielokierunkowych zmian systemu gospodarczego kraju, a nawet ustroju politycznego, warunki realizacji CPBR – 3.15 nie były sprzyjające.

W pierwszych latach realizacji, główną uciążliwością był całkowity brak środków dewizowych, który uniemożliwił zakup nie tylko aparatury, lecz również odczynników, a nawet literatury fachowej. W następnych latach trudności piętrzyły się na odcinku budowy aparatury doświadczalnej i montażu instalacji niezbędnych do badań.

Dopiero w drugiej połowie roku 1989 i w roku 1990 uzyskano szansę nadrobienia zaległości powstałych w pierwszych latach realizacji programu. Nastąpiło to dzięki zakupieniu w 1990 r. kilku węzłowych urządzeń badawczych i ich uruchomieniu. Cenną możliwość dała umowa z UPNiW na rozbudowę zaplecza laboratoryjnego, dzięki której unowocześnia się aparaturę badawczą i doświadczalną Instytutu.

Realizatorzy poszczególnych problemów badawczych szansę nadrobienia opóźnień w pełni wykorzystali. Nie można było tylko skompensować niepodjęcia dwóch zamówień rządowych w celu A-4: „Uruchomienie doświadczalnej produkcji L-lizyny na podstawie licencji” i B-19: „Badania uzupełniające dla przygotowania budowy nowej wytwórni kwasu cytrynowego” mimo zawarcia umów na realizację prac przygotowawczych (wg Uchwały RM nr 100 z dnia 23 VI 1986 r.).

Natomiast następujące zadania wdrożeniowe zostały wykonane, a nawet powiększono ich zakres:

W celu realizacyjnym CR A-1: „Produkcja doświadczalna szczepionek *Rhizobium* i *Azotobacter* o zwiększonej efektywności wiązania N_2 ” w latach 1989/90 zamiast planowanych 250 tys. wyprodukowano 540 tys. jedn. hektarowych, co stanowi 216% planu.

W CR A-3: „Uruchomienie produkcji szczepionek do zakiszania pasz (w skali pilotowej)” na planowane 250 kg preparatu z instalacji pilotowej wyprodukowano 65 Mg szczepionki *Lactomix* i rozpowszechniono za pośrednictwem 20 WOPR w zakresie 65 tys. Mg kiszzonek. Obecnie uruchomiono instalację o zdolności wytwórczej 10 tys. Mg preparatu.

W CR A-5: „Opracowanie projektu procesowego linii produkcji kwasu cytrynowego według udoskonalonej metody” w lipcu 1990 r. podjęto produkcję doświadczalną w modelowej instalacji o wydajności 40 Mg/r.

W CR A-6: „Uruchomienie doświadczalnej produkcji kwasu mlekowego o podwyższonej czystości” z wyprzedzeniem rozpoczęto produkcję kwasu mlekowego o podwyższonej czystości i zapewniono pełny jej zbyt. W pierwszym półroczu 1991 r. wyprodukowano 35,9 Mg kwasu wysoko oczyszczonego o stężeniu 80–86% oraz 2,5 Mg mleczanu wapnia odpowiadającego wymaganiom farmakopealnym. Przewiduje się, że do końca roku 1991 wyprodukuje się około 200 Mg kwasu lub mleczanu o wysokiej czystości dla krajowego przemysłu farmaceutycznego i spożywczego, a także na eksport.

W CR A-7: „Udoskonalenie techniki i technologii octu” zbudowano, zainstalowano i uruchomiono wysokosprawny fermentor octowy w Zakładzie w Olsztynku. W dwóch wytwórniach octu ponadplanowo wdrożono na podstawie naszej licencji ulepszoną pożywkę, która pozwoli zwiększyć zdolność produkcyjną w sumie ponad 1 mln dm³. W jednej wytwórni, w ZPOW Tarnów w IV kwartale 1990 r. wdrożono technologię produkcji octu o podwyższonej mocy około 15%.

W CR A-8: „Uruchomienie instalacji doświadczalnej do otrzymywania preparatów enzymatycznych” wykonano kilka zadań badawczych i przygotowano linię technologiczną do produkcji preparatów enzymatycznych metodą wgłębną, której główny węzeł stanowią fermentory o łącznej poj. 80 m³.

Z zakończonych prac badawczych do wdrożenia skierowano:

- metodę otrzymywania i stosowania kompleksowego preparatu pektynolityczno-amylolitycznego (w 1990 r. wyprodukowano 27 Mg),

- technologię preparatu grzybowej, kwaśnej proteazy (wdrożenie od 1991 r. w zakresie 10 Mg),

- technologie oczyszczania i zateżenia preparatów pektynolitycznych metodą ultrafiltracji (od 1992 r. przewiduje się produkcję preparatu o aktywności 100 i 150 tys. °PM zamiast dotychczas wytwarzanego preparatu o aktywności 40 tys. °PM).

Cel A-9: „Uruchomienie produkcji doświadczalnej preparatów enzymatycznych oraz ich zastosowanie w gorzelnictwie” realizowany był wariantowo. Wypróbowano możliwości produkcji w KPGR „Biorol” w Walczu i ZPF „Polfa” w Krakowie i wykazano możliwość uzyskania preparatu glukoamylazy o aktywności 10–12 tys. j.GA/cm³ produktu o s.m. 40%. Równocześnie wykonane zostały próby produkcji preparatu glukoamylazy w podłożu stałym i uzyskano produkt o aktywności 5000 j. GA/g.

W CR A-10: „Udoskonalenie technologii gorzelnictwa” uzyskano zmniejszenie zużycia energii w gorzelnicach rolniczych o 35%, dzięki zastosowaniu tzw. „zimnego” zacierania (czyli wyeliminowaniu ciśnieniowej obróbki surowców skrobiowych) oraz odpowiedniego zestawu enzymów amylolitycznych i wyeliminowaniu przez to energochłonnego zabiegu ciśnieniowej obróbki surowca skrobiowego. Praca została wdrożona, a obecnie organizuje się jej rozpowszechnianie.

W CR A-11: „Podniesienie wartości paszowej wywaru żytniego” postawione zadanie dotyczyło podwojenia w wywarze żytnim zawartości białka przy równoczesnym zwiększeniu suchej masy do 10%, ponieważ tak zostały sformułowane wymagania żywieniowe. Osiągnięto planowane zwiększenie zawartości białka, ale suchą masę doprowadzono tylko do 8% i dzięki temu ograniczono zużycie o 0,31–0,42 kg paszy treściwej na 1 kg przyrostu masy ciała trzody chlewnej. Mimo wdrożenia tej metody (w jednym gospodarstwie), nie udało się rozpowszechnić szerszej rezultatów tej pracy.

W CR A-12: „Udoskonalenie techniki i technologii piwa i siodu” realizowano następujące zadania: uruchomiono produkcję piwa metodą jednofazowej fermentacji, oszczędności paliwa i energii oraz utylizacji odpadów w browarach. W efekcie tych badań wdrożono zintensyfikowaną metodę fermentacji, skrócono ją z 49 do 21 dni, jest ona o 20% tańsza w nakładach inwestycyjnych.

tycyjnych oraz tańsza w kosztach eksploatacji. Wdrożono także metodę utylizacji odpadkowych drożdży piwnych, bardzo ważną z ekologicznego punktu widzenia. Zainstalowano i oddano do eksploatacji urządzenie do kondensacji oparów powstających w czasie gotowania brzeczki w browarze, które umożliwia oszczędność ciepła wynoszące około 1,7 kg PU/hl piwa. W browarze tym wprowadzono odzyskiwanie ciepła z wód o niskiej temperaturze dzięki zastosowaniu pompy ciepła, osiągając oszczędność rzędu 0,7 kg PU/hl. W słodowni w Fordonie zainstalowano linię modelową do odzyskiwania ciepła z powietrza wylotowego z suszarni słodu, dzięki czemu osiągnięto oszczędność 85 kg PU na tonę słodu.

W dziale badań wyprzedzających uzyskano znaczne rezultaty. Opracowano metodę produkcji podwojonych haploidów rzepaku ozimego. Wyselekcjonowane linie charakteryzują się wysokim plonem, podwyższoną zawartością tłuszczu oraz niskim poziomem glukozyolanów. Przeprowadzono selekcję żółtonasiennych linii dihaploidalnych. Uzyskano zarodki w kulturach pylnikowych. Bada się dziedziczność uzyskanych nowych cech.

Jęczmień narażony jest na wiele chorób i dlatego istnieje potrzeba wprowadzenia genów uodparniających. Otrzymano rośliny jęczmienia o gametycznej liczbie chromosomów w komórkach somatycznych. Przez eliminację niektórych chromosomów, wykorzystania zjawiska androgenezę uzyskano linie homozygotyczne już w pokoleniu F-2. Rezultaty te wykorzystano w pracach hodowlanych.

Zamiar wzbogacenia asortymentu produkowanych w kraju kwasów organicznych był przyczyną rozpoczęcia prac nad technologią biosyntezy kwasu propionowego. Zgromadzono materiał biologiczny i przetestowano jego produktywność w małej skali.

Jednym z problemów bioinżynieryjnych, który może w znaczący sposób wpłynąć na produktywność procesów fermentacji i biosyntezy jest opanowanie metod unieruchamiania komórek drobnoustrojów lub enzymów.

W rezultacie przeprowadzonych badań określono zależności pomiędzy rodzajem stosowanego nośnika, a powstawaniem produktów ubocznych fermentacji etanolowej. Zaproponowano instalacje do fermentacji etanolowej z użyciem unieruchomionych drożdży. Scharakteryzowano również aktywne białka enzymatyczne preparatu pektynolitycznego „Pektopol”.

Podjęto również przygotowania do rozszerzenia zakresu produkcji preparatów enzymatycznych. W pierwszym rzędzie zajęto się kompleksowymi enzymami macerującymi oraz preparatami o zwiększonej aktywności hemicelulaz.

W ramach nowych poszukiwań, nie wykorzystanych dotąd krajowych zasobów surowców węglowodanowych prowadzono prace nad utylizacją słomy rzepakowej, której roczna produkcja w kraju dochodzi do 2 mln Mg. Zaproponowano wielostopniowe, kompleksowe wykorzystanie słomy na drodze biotechnologicznej, po wstępnym jej użyciu do otrzymywania furfuralu. Wykazano możliwość otrzymywania cennych produktów przy przerobieniu ligniny, pozostałej po hydrolizie enzymatycznej słomy. Opracowano projekt procesowy dla stacji doświadczalnej o przerobie 4–5 Mg w ciągu doby.

Zainteresowanie krajowych odbiorców ksantanem, polisacharydem o wysokim ciężarze cząsteczkowym spowodowało badania nad technologią biosyntezy tego produktu przy użyciu szczepu *Xanthomonas campestris*. Ksantan może być wykorzystywany do celów technicznych, a po starannym oczyszczeniu, przede wszystkim z metali ciężkich, także w przemyśle spożywczym.

Badania o charakterze poznawczym w głównej mierze dotyczyły wykorzystania technik kultur *in vitro* dla celów hodowli roślin rolniczych oraz badań nad materiałem mikrobiologicznym.

Do ważnych problemów badawczych należy zaliczyć prace nad określeniem wpływu drobnoustrojów na żywienie roślin i detoksyfikację środowiska.

Wyodrębniono z ryzosfery owsa, jęczmienia, pszenicy i żyta 2 tys. szczepów bakterii i ponad tysiąc grzybów. Wykazano, że aktywniejsze pod względem biochemicznym są grzyby (produkcja substancji wzrostowych dla roślin i związków chelatyzujących żelazo, przemiany związków

azotu, fosforanu, siarki i węgla). Opracowanie technik hodowli *in vitro* objęło w pierwszym rzędzie pszenicę, następnie pszenżyto, burak cukrowy i koniczynę.

Opanowano metodę indukowania embriogenezy somatycznej. Regenerowano haploidalne rośliny pszenicy z mikrospor. Przeprowadzono ocenę zimotrwałości pszenżyta ozimego, wysianego z nasion z regenerantów. Uzyskano po raz pierwszy haploidy z załączków oraz z wierzchołków wzrostu pojedynczych buraka. Selekcję *in vitro* można przeprowadzać wielokrotnie w ciągu roku i przez to wydatnie przyspieszać prace hodowlane.

Opracowano również metodę długotrwałego przechowywania genotypów ziemniaka w hodowli *in vitro*. Wprowadzono 226 klonów do banku genotypów. Wydłużono okres pomiędzy przeszczepieniami z 6 do 12 i więcej miesięcy. Opanowano techniki przetrzymywania mikrobulw i testowania w warunkach niesterylnych.

Podstawowym celem realizacyjnym dla rozwoju biotechnologii przemysłowej są badania nad otrzymywaniem wysokowydajnych szczepów nadprodukcujących pożądane gospodarczo metabolity. W pracach tych skoncentrowano się na otrzymaniu ulepszonych szczepów grzybów mikroskopowych, wytwarzających glukoamylazę (z wydajnością zwiększoną o 20% i kwas cytrynowy) z wydajnością o 30% wyższą) oraz drożdży gorzelnicznych opornych na wysokie ciśnienie osmotyczne (30% stężenie s.m. i powyżej 12% etanolu). W wyniku zastosowania elektrofuzji otrzymano 10 szczepów drożdży gorzelnicznych o dobrych uzdolnieniach amylolitycznych. W rezultacie tych prac opanowano nowoczesne metody mutagenizacji, techniki fuzji i elektrofuzji protoplastów, a także elektrotransformacji.

Bardzo ważnym zadaniem badawczym jest zapewnienie warunków do zachowania cech biotechnologicznych szczepów drobnoustrojów stosowanych w praktyce przemysłowej. Rola tę mają spełniać odpowiednie metody przechowywania szczepów w kolekcjach. Sprawdzone skłonność wybranych drobnoustrojów do wytwarzania mikotoksyn. Opracowano metodę otrzymywania preparatów suszonych, aktywnych drożdży winiarskich. Przygotowano koncepcję struktury bazy danych o kulturach przemysłowych, która pozwoli na włączenie polskich kolekcji do skomputeryzowanej sieci europejskiej.

W zakresie doskonalenia szczepów znaczny nakład pracy skierowano na drobnoustroje wytwarzające enzymy celulozowe. Zmutagenizowano, a także zastosowano fuzję protoplastów szczepów *Aspergillus niger* i *Trichoderma reesei*. Uzyskano czterokrotny wzrost aktywności celobioazy oraz znacznie podwyższono aktywność enzymów scukrzających do 1,5 FPU/cm³ filtratu lub cieczy poekstrakcyjnej.

Istotną charakterystykę osiągnięć naukowo-badawczych programu stanowią uzyskane patenty, zgłoszenia patentowe, rozprawy habilitacyjne i doktorskie, a także publikacje naukowe i wystąpienia na sympozjach krajowych i zagranicznych.

W ramach CPBR – 3.15 uzyskano 11 patentów i złożono w UP 9 zgłoszeń patentowych. W jednym przypadku uznano opracowanie technologii jako *know-how* i nie zgłoszono do UP.

Na tle tematyki programu uzyskano 3 stopnie doktora habilitowanego i 9 stopni doktora.

W ramach popularyzacji wyników prac objętych programem zorganizowano 5 konferencji naukowo-technicznych (z udziałem specjalistów zagranicznych), w których uczestniczyło 100–150 osób (w tym także specjaliści zagraniczni).

Problemy biotechnologii propagowano w formie 125 doniesień na różnych zebraniach naukowo-technicznych, w postaci 73 publikacji w czasopismach fachowych oraz 3 audycji radiowych i 6 telewizyjnych.

W realizacji programu CPBR – 3.15 obok Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w tematyce rolniczej uczestniczyli: Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach oraz Instytut Ochrony Roślin w Poznaniu.

Ponadto określone zadania badawcze wykonywane były przez zespoły naukowe z Politechniki Warszawskiej, Uniwersytetu Warszawskiego, Uniwersytetu im. Marii Skłodowskiej-Curie,

Akademii Rolniczych w Lublinie i w Krakowie, a także Centralnego Laboratorium Koncentratów Spożywczych w Poznaniu.

Ważną rolę w przygotowaniu warunków do wykonania programu spełniały przedsiębiorstwa przemysłowe, a mianowicie ZPS „Akwawit” w Lesznie, Pegro-Cas sp. z o.o. w Rzeszowie-Tyczynie, ZPOW „Pektowin” w Jaśle, Wytwórnia octu ZPKS w Olsztynku i ZPOW w Tarnowie, Browar w Warce i Słodownia w Fordonie, KPGR „Biorol” w Wałczu, „Milipor” w Olsztynie, które podjęły się trudnych zadań zbudowania lub zestawienia instalacji i aparatury doświadczalnych.

Podsumowując można stwierdzić, że zadania postawione przed generalnym wykonawcą CPBR – 3.15 pn. „Biotechnologia w rolnictwie i przemyśle spożywczym” zostały wykonane.

Zorganizowano zespoły badawcze. Rozwiązano tezy naukowe objęte programem. Opracowano kilka nowych technologii biosyntezy lub udoskonalono dotychczas stosowane. Przygotowano instalacje doświadczalne lub elementy aparatury dla niektórych technologii. Większość wykonanych prac została wdrożona. Zespoły naukowe podniosły swoje kwalifikacje uzyskując wyższe stopnie i tytuły naukowe. Znaczna część osiągnięć naukowo-technicznych uzyskała potwierdzenie oryginalności w postaci patentów.

Okresowe niedobory środków i trudności w wyposażeniu zostały w ostatnich dwóch latach wyrównane wzmożoną pracą wykonawców programu.

Przygotowywany jest szeroki program rozpowszechniania w 1992 roku metod produkcji biopreparatów i ich zastosowania w rolnictwie i przemyśle spożywczym.