

PATENTOVÝ SPIS

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2010-474**
(22) Přihlášeno: **15.06.2010**
(40) Zveřejněno: **28.12.2011**
(Věstník č. 52/2011)
(47) Uděleno: **16.10.2013**
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: **27.11.2013**
(Věstník č. 48/2013)

(11) Číslo dokumentu:

304 161

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

C12M 1/00 (2006.01)
C12M 3/04 (2006.01)
C12N 1/12 (2006.01)
A01H 13/00 (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:

CZ 279579; US 2008/0160591.

Doucha J., Livanský K.: "Productivity, CO₂/O₂ exchange and hydraulics in outdoor open high density microalgal (*Clorella* sp.) photobioreactors operated in a Middle and Southern European climate". J Appl Phycol 18: 811-826; Doucha J., Straka F., Livanský K.: "Utilization of flue gas for cultivation of microalgae (*Chlorella* sp.) in an outdoor open thin-layer photobioreactor". J Appl Phycol 17: 403-412, 2005; O. Pulz: "Photobioreactors: production system for phototrophic microorganism", Applied Microbiology and Biotechnology, Vol. 57 (3), pp 287-293, 2001.

(73) Majitel patentu:

ECOFUEL LABORATORIES s.r.o., Praha 2, CZ

(72) Původce:

Kaštánek Petr Ing. Ph.D., Praha 2, CZ

(74) Zástupce:

Mgr. Klára Studená, advokátka, patentová zástupkyně,
Na Poříčí 12, Praha 1, 11000

(54) Název vynálezu:

Fotobioreaktor pro velkoobjemovou autotrofní kultivaci sinic a jednobuněčných řas s desorpčními zónami

(57) Anotace:

Řešení se týká investičně nenáročného fotobioreaktoru pro velkoobjemovou autotrofní kultivaci sinic a jednobuněčných řas s desorpčními zónami popisuje konstrukční řešení sestávající ze skloněných kultivačních zón, které se periodicky střídají se skloněnými nebo vertikálními desorpčními zónami, na nichž dochází k snížení koncentrace rozpuštěného kyslíku v kultivačním médiu, stékajícím po periodicky se střídajících zónách. Zařízení umožňuje masově pěstovat vybrané kmeny jednobuněčných řas a sinic, které představují cennou surovinu pro řadu žádaných produktů v oblasti potravinářského a farmaceutického průmyslu, v kosmetice, jako součást potravinových doplňků, krmiv, či pro výrobu biopaliv, což je v současné době předmětem vysokého zájmu společnosti.

CZ 304161 B6

Fotobioreaktor pro velkoobjemovou autotrofní kultivaci sinic a jednobuněčných řas s desorpčními zónami

5 Oblast techniky

Vynález se týká konstrukce investičně nenáročného fotobioreaktoru pro velkoobjemovou autotrofní kultivaci sinic a jednobuněčných řas s desorpčními zónami, sestávajícího ze skloněných kultivačních zón, které se periodicky střídají se skloněnými nebo vertikálními desorpčními zónami, na nichž dochází ke snížení koncentrace rozpuštěného kyslíku v kultivačním médiu, stékajícím po periodicky se střídajících zónách.

Dosavadní stav techniky

15 Mikrořasy a sinice (kyanobaktérie, modro–zelené řasy), velmi často zmiňované pouze jako „řasy“ jsou fotosyntetizující mikroorganismy, které spojují žádoucí vlastnosti vyšších rostlin (tj. zemědělských plodin) a mikrobů (bakterií, kvasinek). Významnou je zejména jejich schopnost růst fotosynteticky, tj. využívat k růstu pouze světla, levných solí, vody a oxidu uhličitého. K autotrofnímu růstu nepotřebují organické substráty, jako např. cukry. Navíc jsou řasy schopny 20 produkovat stejné zásobní látky jako vyšší rostliny, např. škrob nebo oleje, které mohou být následně využity např. pro výrobu ethanolu či biodieselu. Vlastnosti, které mají řasy podobné mikrobům je zejména vysoká rychlost růstu některých kmenů řas.

25 Systematický výzkum mikrořas jako zdroje biologicky aktivních látek, zejména antibiotik, započal v 50tých letech 20 století. Zájem o využití řas pokračoval studiemi využití řasové fotosyntézy pro tvorbu biologických „filtrů“ pro kosmické lety, kdy měly sloužit k zachycení vydýchaného oxidu uhličitého a produkci kyslíku, případně též jako zdroj rostlinných bílkovin pro posádky kosmických letů. V 60tých letech následovala aplikace mikrořas do environmentálních technologií pro čištění odpadní vody jakož i testy s následnou fermentací vyprodukované řasové biomasy na bioplyn. 30

Myšlenka využití mikrořas jako obnovitelného zdroje energie byla podmíněna zejména energetickou krizí v roce 1974. Komerční velkoobjemová kultivace řas započala v 60tých letech 35 v Japonsku a Československu produkcí mikrořasy *Chlorella*. Následovala velkoobjemová kultivace *Spiruliny* (*Arthrispirosa*) v Mexiku.

Myšlenka kultivace mikrořas metabolizující oxid uhličitý za účelem jejich velkoobjemové produkce a průmyslového využití začala být aktuální zejména v 70–tých a 80–tých letech minulého 40 století (viz např. Y. Yamaguchi: Recent advances in microbial bioscience in Japan, with special reference to utilization of biomass and metabolites: a review. J. Appl. Phycol. 8, 487–582, 1997). Od té doby významně roste množství vědeckých prací, věnovaných laboratorní kultivaci různých druhů mikrořas a analýze jejich využitelných složek, a to jak u řas sladkovodních, tak mořských. Současně, zejména v Asii, se od 80–tých let rozrostla průmyslová kultivace řas, 45 zejména druhu *Chlorella* a *Spirulina* pro potravinářské a nutriční použití. Je uváděno, že do roku 1980 bylo v Asii 46 velkoobjemových řasových farem s individuální produkcí přesahující 1 tunu biomasy za měsíc (Spolaore P., Joaniss–Cassan C., Duran E., Ismabett A.: Commercial application of microalgae, J. Biosc. Bioeng. 101, 87–96, 2006).

50 Komerční produkce mikrořasy *Dunaliella salina* pro výrobu beta–karotenu byla realizována v Austrálii a následovaly závody v Izraeli a USA. Velkoobjemová produkce kyanobaktérie *Spirulina* byla zahájena v Indii v roce 1986. V posledních 10 letech bylo vytvořeno několik podniků produkujících mikrořasu *Haematococcus pluvialis* jako zdroj antioxidačního pigmentu astaxantinu v Indii a USA. Je uváděno, že současné produkce řasové biomasy přesahuje 5.000 tun/rok a 55 generuje tržby 1,25 miliardy USD.

- Mikrořasy obsahují řadu velmi žádaných produktů. Z hlavních složek obsahují ve značné míře proteiny, 51 až 58 % vztaženo na sušinu, 12 až 17 % škrobu a 14 až 22 % lipidů. Tyto hodnoty jsou průměrné např. pro rod zelených sladkovodních řas Chlorophyceae, v laboratořích jsou kultivovány řasy obsahující až 60 až 70 % olejů, respektive škrobu. Mikrořasy jsou zdrojem vitaminů (A, B₁, B₂, B₆, B₁₂, C, E), kyseliny listové, chlorofylu, karotenoidů, imunostatik (např. 1,3-beta glukanu), polysacharidů a řady vzácných a žádaných složek (Metting F. B.: Biodiversity and application of microalgae, J. Ind. Microbiol. 17, 477–489 (1997). Řasové lipidy jsou tvořeny glycerolem, cukry nebo bázemi esterifikovanými na nasycené či nenasycené mastné kyseliny s převážně 12 až 22 atomy uhlíku. Z nutričního hlediska jsou vysoce ceněné polynenasycené mastné kyseliny s dlouhými řetězci (s obsahem C > 18), které nejsou vyšší rostliny schopné syntetizovat, jako jsou kyseliny ARA (struktura 20:4), DHA (struktura 22:6) a EPA (struktura 22:5), které jsou nepostradatelné jako korektory vývoje mozku a očí u dětí, resp. jako doplňky pro kardiovaskulární péči u dospělých.
- V poslední dekádě panuje mezi řasovými biotechnologicky relativní shoda, že komerční produkce metabolitů s vysokou přidanou hodnotou vyžaduje venkovní uzavřené fotobioreaktory. Ačkoliv bylo popsáno a zkonstruováno mnoho experimentálních typů fotobioreaktorů, pouze nepatrná část jich byla komerčně úspěšná ve velkém měřítku. Komerční aplikace fotobioreaktorů zůstává limitována především na produkci *Chlorella* and *Haematococcus* (Olaizola 2003, Pulz O. In: Appl. Microbial. Biotechnol. 57, 287–293 (2001), a kultivace probíhá též s kyanobakteriemi (*Lyngbya* sp.), zelenými řasami (*Haematococcus pluvialis*) a červenými řasami (*Porphyridium* sp.), např. ve společnosti Mera Pharmaceuticals Inc., Hawaii.
- Od dob prvých pokusů v 50tých letech byla v pilotním měřítku navržena a testována široká škála fotobioreaktorových uspořádání (Tredici M.R.: Mass production of microalgae: Photobioreactors. In: Richmond A., Ed., Handbook of Microalgal Culture. Blackwell Science Ltd, Oxford, p. 178–214 (2004). Obecně se dají rozdělit do 4 základních skupin: ploché reaktory, mělké otevřené rybníky, trubkové reaktory a plastové vaky. Mezi těmito základními typy je však mnoho variant.
- Pro masovou produkci řady běžných typů mikrořas jsou většinou využívány otevřené horizontální bazény s kruhovým či oválným půdorysem, výškou řasové suspenze cca 150 až 30 cm a rychlostí proudění 15 až 30 cm/s, takzvané „dostihové dráhy“ (Borowitzka M. A.: Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. J. Biotechnol. 70, 313–321 (1999).
- Komerční produkce chlorelly a spiruliny je provozována primárně v tomto otevřeném uspořádání. Uzavřené systémy byly využity zejména pro výzkum a pilotní instalace (Tredici M. R. Zittelli G. C.: Efficiency of sunlight utilization: Tubular versus flat photobioreactors. Biotechnol. Bioeng. 57, 187–197 (1998). Doposud jedinou valkovacitní pěstírnou využívající uzavřený trubkový fotobioreaktor je od r. 2000 výroba *Chlorelly* v Německu (Pulz O.: Photobioreactors: Production system for phototropic microorganisms. Appl. Microbiol. Biotechnol. 57, 287–293 (2001).
- Horizontální bazény jsou charakterizovány jednoduchou stavbou a nízkými investičními náklady. Na druhou stranu jsou spojeny s řadou výrazných problémů, např. díky vysoké vrstvě kapaliny a s tím souvisejícím využitím dopadajícího fotosyntetizujícího záření, koncentrace řas v kultuře se pohybuje obvykle do 500 mg suché váhy v litru kultivačního média (Doucha J., Lívanský K.: Productivity, CO₂/O₂ exchange and hydraulics in outdoor open high density microalgal (*Chlorella* sp.) photobioreactors operated in a Middle and Southern European climate. J. Appl. Phycol. 18, 811–826 (2006). Nízká koncentrace řas zvyšuje riziko kontaminace jinými mikroorganismy a klade vysoké energetické nároky na separaci biomasy z takto řídkého média, což výrazně zvyšuje provozní náklady na zpracování. Laminární pomalý tok kultivačního média v tomto reaktorovém uspořádání může vyústit ve fotoinhibici horní vrstvy média, které je přesaturovaná světlem a vést k nežádoucí akumulaci kyslíku v systému.

Hlavní výhodou uzavřených systémů je prevence kontaminace cizími mikroorganismy, unášenými větrem. Avšak uzavření otevřených bazénů je nákladné a dochází k snížení množství slunečního záření, dopadajícího na kultivační médium. Fotobioreaktory mohou být uspořádány pro kontinuální sklizeň (např. trubkové fotobioreaktory), nebo vsádkovým systémem (např. polyethylenové vaky).

V transparentních nádržích či vakových systémech pro růst řas mikroorganismy zachycují světlo pouze ve vrstvičce o tloušťce několika milimetrů až centimetrů od povrchu nádrže, kde dochází k fotosyntéze. Jakmile se organismy vlivem proudění kultivačního média dostanou dále od osvětleného povrchu, záření již médiem nemůže proniknout a fotosyntéza se zastavuje. Pro metabolismus řas je důležitá nejenom doba vystavení fotosyntetizujícímu záření, ale i existence tmavých oblastí uvnitř objemu reaktoru. V těchto oblastech dochází k tvorbě komplexních proteinů uvnitř řas (po ozáření a absorpci fotosyntetizujícího záření potřebují řasy jistou prodlevu v temné oblasti, kdy dojde k využití zachycené sluneční energie a jejímu transferu do hmoty). Poměr doby, po kterou řasa setrvává v ozářené a temné oblasti reaktoru je rozhodující pro optimální růst řas. V nádržích a otevřených reaktorových systémech s hlubokou vrstvou kultivačního média je však tento poměr velmi vzdálený optimálním hodnotám a růst řas je tak limitován.

Trubkové reaktory řeší tento problém užitím užších průměrů trubek, které umožňují penetraci slunečního záření až ke středu trubek. Toto řešení maximalizuje objem reaktoru využitelný pro fotosyntézu. Jelikož řasy vyžadují strávit část doby v temné zóně, je proto kultivační médium cirkulováno trubkami do neosvětleného zásobníku a zpět do trubek. Další možností je využití o trochu větších průměrů trubek, nežli je penetrační hloubka záření a udržení dostatečné míry turbulence, která zajistí oscilaci řasových buněk mezi světlou a temnou částí trubky. Je však nutno konstatovat, že striktní rozdělení na světlou a temnou část je hypotetické a v reálu prochází řasová buňka oblastmi s různým gradientem intenzity záření.

Existuje celá řada různých uspořádání trubkových fotobioreaktorů, které však obecně pracují všechny na stejném principu. Transparentní trubka může být buď položena na zemi, či v temperačním bazénu, stočena do různých tvarů, položena v rovném paralelním uspořádání atd. Trubkové fotobioreaktory mají také řadu nevýhod, např. kontrolu teploty. Vzhledem k limitovanému odpařování kapaliny z trubek, může v horkých dnech dojít k přehřátí kultivačního média nad mez únosnou pro přežití kmene mikrořasy. Otevřené systémy mají částečnou seberegulační schopnost teploty díky odparu kapaliny z hladiny, kterým dochází k ochlazení média. Tento fenomén u uzavřených trubkových reaktorů nefunguje a musí být proto zařazen externí výměník tepla, což může provoz zařízení prodrazdit.

Velkým problémem je akumulace kyslíku během toku reakční suspenze (kultivačního média s řasami) v dlouhém potrubí: doba setrvání řasy ve světlé zóně se prodlužuje natolik, že využitelný oxid uhličitý je zkonsumován a může dojít k otravě řas kyslíkem, doprovázenou dále blednutím buňky spojenou s přemírou světla. Je též možno očekávat zanášení vnitřního povrchu trubek. Aby se zabránilo usazování řas, zanášení povrchu trubek a nutnosti častého čištění, je nutno zvýšit rychlost proudění na hodnotu dostatečnou pro dosažení turbulentního toku. Toho může být nejsnáze dosaženo použitím odstředivého čerpadla, avšak musí být pečlivě zváženo, zda-li nemůže toto čerpadlo poškodit, případně zcela zničit křehkou buněčnou stěnu řas. Volba vhodného čerpadla je pak významným know-how. Pro některé druhy řas může být vhodnou volbou membránové čerpadlo. S prodlužující se délkou potrubí narůstá tlaková ztráta a je nutnost instalovat dražší čerpadla s vyšší spotřebou.

Velmi účinný je otevřený tenkovrstvý reaktor tvořený nakloněnými plochými deskami, s výškou vrstvy suspenze mikrořas v rozměrech jednotek milimetrů, vyvinutý v Československu a popsáný Douchou (Doucha J., Lívanský K.: Productivity, CO₂/O₂ exchange and hydraulics in outdoor open high density microalgal (*Chlorella* sp.) photobioreactors operated in a Middle and Southern European climate. J. Appl. Phycol. 18, 811–826, 2006). Tento fotobioreaktor vykazuje vysokou produktivitu a vysoké sklizňové koncentrace biomasy (což s sebou nese snížení nákladů na zpra-

cování) a byl po desetiletí testován pro masovou kultivaci jednobuněčných řas *Chlorella* a *Scenedesmus*. Ačkoliv má tento reaktor mnoho procesních parametrů výrazně lepších, nežli jiné, výše popsané typy, má i určitá omezení, zejména při převodu do velkoobjemové průmyslové kultivace. Jedním omezením je limitovaná délka nakloněných desek, která je dána dosažením koncentrace rozpuštěného kyslíku, která je limitující či toxická pro růst řas. Další nevýhodou, omezující využití fotobioreaktoru při produkci pomalu rostoucích kmenů (které však produkují mnoho žádaných metabolitů, např. lipidy), je otevřený charakter reaktoru, který umožňuje kontaminaci pomalu rostoucích produkčních kmenů řas divokými rychle rostoucími druhy. Konstrukce fotobioreaktoru využívající skleněné desky v kovových rámech je nákladná a podstatně limituje rozšíření tohoto jinak technologicky vynikajícího řešení do průmyslové praxe. V oblastech se zvýšeným rizikem zemětřesení jsou skleněné desky náchylné k rychlé destrukci.

Ze výše uvedených faktů, publikovaných prací i ze skoupých firemních údajů je možno vzhledem ke konstrukci průmyslových fotobioreaktorů formulovat některá nezpochybnitelná pravidla. Za předpokladu, že je aplikováno optimální složení růstového média, vhodná teplota a pH systému, musí fotobioreaktor splňovat některá kritéria:

1. Dostupnost řas světelné energii. Se stoupající tloušťkou řasové suspenze významně klesá produktivita tvorby řas P , vyjádřená jako $g\text{sušiny}/l\text{suspenze}/h$, kterou lze pro danou intenzitu osvětlení například korelovat empirickým vztahem $P = A \times D^{-0.8}$, kde A je empirický koeficient charakteristický pro konkrétní kmen řas a podmínky osvitů a teploty v dané lokalitě a D je tloušťka prosvětlované suspenze v mm. Pro většinu průmyslově využitelných kmenů řas by tloušťka (výška vrstev) suspenze měla být $D \leq 100$ mm.
2. Dostupnost řas rozpuštěnému oxidu uhličitému, jehož hodnota v suspenzi by neměla poklesnout pod zhruba 5 % z hodnoty nasycení kapalného média oxidem uhličitým při dané teplotě
3. Turbulentní prostředí zaručující dobrý přestup hmoty a tepla v suspenzi, to jest zejména přestup oxidu uhličitého z bublin plynu, přestup oxidu uhličitého přes membránu řas, přestup kyslíku produkovaného fotosyntézou z řas do okolní kapaliny, který je inhibiční pro růst řas, zejména jeho přestup do bublin směsi vzduchu a oxidu uhličitého, které ho ventilují ze suspenze
4. Zajistit optimální poměr mezi světelnou a tmavou časovou prodlevou pro řasy.
5. Zajišťovat velký objem suspenze V na m^2 zastavěné plochy A , vhodně $V/A \geq 10$ l/m^2 .
6. Zajišťovat velký poměr osvětlené plochy F na objem suspenze v reaktoru V , vhodně $F/V \geq 0,02$ m^2/l suspenze.

Žádný z doposud zkoušených fotobioreaktorů nenaplnuje současně všechny shora uvedené podmínky.

Např. deskový velmi účinný s dobrou turbulencí otevřený reaktor treboňského typu (viz citace Doucha aj.) má $F/V = 0,125$, ale $V/A = 6-8$.

Mělké otevřené rybníky mají $V/A = 250-400$, ale F/V kolem 0,003, přičemž turbulence je zde nedostatečná.

Uzavřené horizontální trubkové reaktory mají sice poněkud lepší poměr F/V kolem 0,08 (jsou-li však položeny na zemi, je část plochy neosvětlená) a mohou být sdruženy i do svazků několika horizontálních trubek, takže mají i výhodný poměr V/A , ale obtížně se z nich desorbují kyslík.

Vertikální trubky mají výhodný poměr V/A i poměr F/V (ten ale významně závisí na průměru kolony, viz též shora uvedené kritérium ad 1.), ale dobře se z nich uvolňuje kyslík. Při jejich

instalaci je však nutno uvažovat, že zastavěná plocha musí zahrnovat i plochu možného stínu, která by dopadal na další řadu trubek při jejich paralelním uspořádání do řad. Nutno též počítat se zvýšenou tlakovou ztrátou při probublávání plynu s oxidem uhličitým.

- 5 Plastové rukávy, které jsou modifikací horizontálních trubek, mají stejné výhody či nevýhody jako horizontální trubky, jsou však lacinější.

Je zřejmé, že pro mastnou produkci mikrořas pro produkty s nízkou cenou, tj. např. za účelem získávání oleje pro bionaftu, nebo škrobu pro biolih, se nejspíše budeme muset vzdát nákladnějších uzavřených fotobioreaktorů, přičemž v příhodnějších otevřených reaktorech pak bude nutno pěstovat rychle rostoucí řasy, aby se potlačila nežádoucí kontaminace. Z důvodů přiblížení se ke shora uvedeným kritériím bude nutno při konstrukci fotobioreaktorů volit kompromisní přístup. Významnými faktory budou zejména jednoduchost konstrukce, snadnost údržby, nízké investiční i provozní náklady, vysoká produktivita a vysoká sklizňová koncentrace biomasy redukující náklady na odvodnění a další zpracování. Většina těchto parametrů odpovídá tenkovrstvým typům reaktorů.

Předkládaný vynález fotobioreaktoru pro velkoobjemovou autotrofní kultivaci sinic a jednobuněčných řas s desorpčními zónami řeší většinu problémů spojených s otevřenými tenkovrstevnými reaktory, zejména snižuje hodnoty rozpuštěného kyslíku, nabízí konstrukčně a investičně nenáročné řešení a umožňuje výstavbu velkých průmyslových systémů. Možnost částečného zakrytí, popsáná v jednom z význaků vynálezu dále snižuje riziko kontaminace.

25 Podstata vynálezu

Podstatou vynálezu investičně nenáročného fotobioreaktoru pro velkoobjemovou autotrofní kultivaci sinic a jednobuněčných řas s desorpčními zónami, je konstrukční řešení sestávající ze skloněných kultivačních zón, které se periodicky střídají se skloněnými nebo vertikálními desorpčními zónami, na nichž dochází ke snížení koncentrace rozpuštěného kyslíku v kultivačním médiu, stékajícím po periodicky se střídajících zónách.

Následovně jsou uvedena další řešení, respektive znaky vynálezu, které jeho podstatu dále rozvíjejí nebo alternativně doplňují.

Kultivační zóny fotobioreaktoru jsou konstruovány z hladkého rovného či profilovaného materiálu netoxického pro kultivovanou řasu a odolného kultivačnímu médiu. Pro zajištění dostatečné pevnosti, odolnosti a investiční nenáročnosti v případě průmyslových instalací je výhodné využívat komerčně běžně dostupné materiály, které jsou navíc celosvětově velkoobjemově vyráběné. Takové vlastnosti např. s výhodou splňuje profilovaný plech. Tyto materiály jsou standardně vyráběné např. pro využití jako střešní krytiny, jejich povrchová úprava zajišťuje vysokou odolnost vůči vodě a povětrnostním vlivům a díky profilaci mají vysokou pevnost, umožňující jednoduchou montáž kladením segmentů např. na konstrukci z dřevěných latí. Pro účely konstrukce kultivačních zón fotobioreaktoru je s výhodou možno použít profilovaný ocelový plech válcovaný za studena, oboustranně žárově pozinkovaný, opatřený následovně případnou další pasivační vrstvou a finální polymerní hydrofilní vrstvou, umožňující rovnoměrné stékání kultivačního média po ploše, případně profilovaný trapézový plech z aluzinku či hliníku, opatřené případně navíc ochranným nátěrem, pasivační či polymerní vrstvou. Profil tzv. trapézového plechu, je s výhodou volen tak, aby favorizoval maximální objem kapaliny na jednotku plochy kultivační zóny, přičemž je díky profilaci zajištěna dostatečná pevnost plechu.

Konstrukce kultivačních zón může být však provedena i z jiných levných materiálů, nepropustných pro kultivační médium a odolných jeho vlivu, např. plastových či skleněných desek, betonu, zpevněné zeminy potažené polymerní fólií atd. Řešení z betonu, případně opatřené penetračním nátěrem a hydrofilní úpravou povrchu, případně řešení z fólií položených na zhutněném

vyspádaném podloží jsou vhodná zejména pro levné velkoobjemové aplikace a mají velmi nízké investiční náklady, srovnatelné s náklady na „raceways ponds“.

Významným konstrukčním prvkem řešení podle vynálezu jsou zařazené desorpční zóny pro snížení obsahu rozpuštěného kyslíku v kultivačním médiu. Hlavním účelem desorpčních zón je zajištění vysokého přestupu kyslíku ven z kultivačního média do okolního vzduchu. Toho je dosaženo tím, že spontánní rychlé změny rychlostí a směru toku kultivačního média a tím vznik turbulentních vírků v řasové suspenzi, favorizující desorpci velmi málo rozpustného kyslíku z kultivačního média do okolní atmosféry. Desorpční plochy navíc pomáhají i lepší distribuci řasové suspenze po ploše kultivačních zón fotobioreaktoru. Desorpční zóny mohou být konstruovány z materiálu netoxického pro kultivovanou řasu a odolného kultivačnímu médiu. Materiálem pro konstrukci desorpčních zón, který splňuje výše uvedený požadavek na intenzivní tvorbu turbulentních vírků je např. tahokov. K desorpci kyslíku z kultivačního média však také může dojít např. rozstříkáním média při jeho pádu z výše položené kultivační zóny na níže položenou zónu, případně rozstříkáním kultivačního média čerpaného ze zásobní nádrže na kultivační zónu.

Aby bylo zajištěno rovnoměrné stékání kultivačního média, je sklon kultivačních zón typicky v rozmezí 0,5 až 5 % a desorpční zóny svírají s vodorovnou rovinou úhel 0,5 až 90°. Sклон kultivačních a desorpčních zón může být v častém případě stejný, tedy kultivační médium teče v jedné rovině podle obr. 1. Tohoto uspořádání může být s výhodou jednoduše konstrukčně dosaženo položením příčných pruhů tahokovu v pravidelných odstupech na dlouhou desku, po níž stéká kultivační médium.

V druhém výhodném uspořádání svírají desorpční zóny s vodorovnou rovinou úhel 90°, tj. jsou umístěny vertikálně k vodorovné rovině podle obr. 2. Tohoto konstrukčního řešení může být s výhodou využito jsou-li kultivační plochy, po nichž stéká kultivační médium, umístěny v kaskádách nad sebou. Desorpční zóny pak mohou být konstruovány jak kolmo k vodorovné rovině umístěnými pruhy tahokovu, po nichž kultivační médium s vysokou turbulentností toku a přestupem hmoty stéká, tak rozstříkáním při pádu kultivačního média mezi kaskádovitě umístěnými kultivačními zónami.

Délka jednotlivých kultivačních zón se může pohybovat v rozmezí 0,1 až 500 m a délka individuálních desorpčních zón je v rozmezí 0,01 až 100 m, přičemž šířka obou typů zón je v rozmezí 0,1 až 100 m. Maximální délka individuální kultivační zóny je dána dosažením kritické koncentrace rozpuštěného kyslíku v kultivačním médiu, která závisí na konkrétním kmenu řasy, koncentraci biomasy, teplotě, růstové rychlosti biomasy, lineární rychlosti proudění média po kultivační ploše atd. Volba délky individuální desorpční zóny závisí na požadovaném snížení obsahu rozpuštěného kyslíku. V praxi jsou za daných kultivačních podmínek pro daný kmen řasy délky zón voleny nejčastěji v rozmezí 20 až 50 m pro délku jednotlivé kultivační zóny a v rozmezí 0,3 až 2 m pro délku individuální desorpční zóny, přičemž šířka obou typů zón je typicky v rozmezí 1 až 20 m a je zejména dána disponibilním konstrukčním materiálem.

Pro zajištění dostatečného vystavení řasové suspenze fotosyntetizujícímu záření (typicky slunečnímu záření), je výška kultivačního média na kultivační zóně je v rozmezí 1 až 100 mm, většinou 5 až 15 mm.

Konstrukce periodicky se střídajících kultivačních a desorpčních zón může být umístěna např. na konstrukci z dřevěných latí, kovové konstrukci, betonovém fundamentu apod. S výhodou konstrukce využívá přirozeně nebo uměle vytvořený terénní profil, svah, či terénní vlny ve tvaru teras, pokrytých vhodným materiálem, nepropustným pro kultivační médium, jako je beton, plastové fólie, plechy atd., případně umístěné na nosné konstrukci.

Jednotlivé sekce periodicky se opakujících zón mohou být umístěny paralelně vedle sebe tak, že suspenze s řasami může protékat sekcemi ve vzájemně opačném nebo souhlasném směru, jak je schematicky znázorněno na obr. 3. Jednotlivé sekce periodicky se opakujících zón mohou být

umístěny kaskádovitě nad sebou tak, že suspenze řas může přetékat z výše položené sekce na níže položené sekce nebo do sběrače vyvedeného do zásobníku, jak je schematicky znázorněno na obr. 4. Z poslední kultivační zóny je řasová suspenze vedena do zásobníku a z něj čerpadlem zpět na první kultivační zónu.

Pro zajištění zvýšené ochrany před kontaminací cizorodými mikroorganismy z okolního prostředí, zavlečenými např. větrem, mohou být kultivační a desorpční zóny úplně nebo částečně zakryty materiálem transparentním pro fotosyntetizující záření, což redukuje riziko kontaminace kultivačního média. Vhodným materiálem pro zakrytí fotobioreaktoru je např. sklo, polykarbonát, polymetakrylát, polyethylen nebo polyvinylchlorid ve formě tabulí, fólií či jiných vhodných tvarů.

Fotobioreaktor je dále vybaven systémem pro syčení kultivačního média vhodným plynem s obsahem CO₂, nutným pro růst kultivovaných mikroorganismů, jako je čistý CO₂, směsí CO₂ s jinými plyny, spalné plyny z kogeneračních jednotek, spaloven odpadů, tepláren a uhelných elektráren, popř. geotermální plyny.

Příklad 1

Pro poloprovozní kultivaci mikrořasy byla použita acenická kultura řasy *Trachydiscus minutus* EC1218, vyznačující se vysokým obsahem nenasycených mastných kyselin, zejména kyseliny eicosapentaenové. Inokulum o koncentraci 8 g/l bylo vyrobeno v laboratorním fermentoru, sestávajícím ze skleněných kyvet o vnitřním průměru 35mm. Kyvety byly umístěny v termostátované lázni při teplotě 26 °C a kontinuálně osvětleny panelem fluorescenčních trubíc. Intenzita osvětlení kyvet, měřená 4π detektorem (Biospherical Instruments Inc., San Diego, CA, UAS) byla 1150 1150 μE.m⁻².s⁻¹. Kyvety byly probublávány směsí vzduchu a potravinářského CO₂ obsahující 2 % (v/v) CO₂. Průtok plynu každou kyvetou byl regulován na 2,5 l.min⁻¹. Pro kultivaci bylo použito médium o počátečním složení (mg.L⁻¹): 1100 (NH₂)₂CO, 237 KH₂PO₄, 204 MgSO₄.7H₂O, 40 C₁₀H₁₂O₈N₂NaFe, 88 CaCl₂, 0.83 H₃BO₃, 0.95 CuSO₄.5H₂O, 3.3 MnCl₂.4H₂O, 0.17 (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O, 2.7 ZnSO₄.7H₂O, 0.6 CoSO₄.7H₂O, a 0.014 NH₄VO₃ v destilované vodě. Kultivace byla prováděna ve vsádkovém režimu. Koncentrace suspendované řasové biomasy byla určena stanovením sušiny. pH kultury bylo udržováno na 6,5 až 7,5. Do kyvet byla periodicky přidávána destilovaná voda v množství odpovídající úbytku vody odparem.

Inoculum bylo poté přeneseno na poloprovozní reaktor sestávající ze 2 kultivačních zón, 2 desorpčních zón, sběrné nádrže, membránového čerpadla a potrubí. Sestava odpovídala uspořádání znázorněnému na obr. 2. Kultivační zóny byly konstruovány z profilovaného ocelového plechu válcovaného za studena a oboustranně žárově pozinkovaného podle Sendzimirovy metody (plošné pozinkování o hmotnosti 275 g/m², EN 10147), opatřeného následovně pasivační vrstvou a finální polymerní hydrofilní vrstvou. Desky profilovaného plechu jsou uchyceny v nosné konstrukci ze střešních latí. Rozměry každé kultivační zóny byly 10 m délka, 1,2 m šířka. Desorpční zóny byly tvořeny vertikálně umístěným tahokovem z pozinkované oceli o rozměrech 1,2 x 0,6 m. Sklon kultivačních zón byl 1 %, výška vrstvy kultivačního média 10 mm, objem osvětlené části suspenze byl 123 litrů. Plocha povrchu kapaliny vystavené slunečnímu osvětlení byla 12,3 m², zbylá plocha představuje profilaci plechu nepokrytou kultivačním médiem. Kultivační médium obsahovalo z hlavních sloučenin močovinu a biogenní prvky, a mělo složení stejné jako v případě produkce inokula. Experimenty proběhly v České republice, na přelomu května/června 2010, počasí polojasno, teploty denní mezi 20 až 24 °C, teploty v reaktoru v podstatě kopírovaly teploty ovzduší, noční teploty mezi 17 až 19 °C. pH bylo udržováno automaticky na pH 7,5. Během dne byla suspenze sycena potravinářským CO₂. V noci byla suspenze řas v kultivačním médiu svedena do tanku a probublávána pouze vzduchem. Při použití inokula v množství 0,25 g/l bylo dosaženo finální koncentrace 21,3 g sušiny/l kultivačního média za 10 dní kultivace. V případě uspořádání analogického experimentu bez zařazení desorpčních zón byla produkce řas na stejné ploše menší o 26 %.

Obsah mastných kyselin v lyofilizované biomase byl po extrakci a převedení na těkavé metylestery stanoven metodou plynové chromatografie a dosáhl 19,8 %. Podíl EPA jako dominantní mastné kyseliny na celkovém obsahu mastných kyselin tvořil 38,4 %.

5

Průmyslová využitelnost

Zařízení umožňuje masově pěstovat vybrané kmeny jednobuněčných řas, které představují cenovou surovinu pro řadu žádaných produktů v oblasti potravinářského a farmaceutického průmyslu, v kosmetice, jako součást potravinových doplňků, krmiv, či pro výrobu biopaliv, což je v současné době předmětem vysokého zájmu společnosti.

15

P A T E N T O V É N Á R O K Y

- 20 1. Fotobioreaktor pro velkoobjemovou autotrofní kultivaci sinic a jednobuněčných řas s desorpčními zónami, **v y z n a ě n ý t í m**, že se skládá ze skloněných kultivačních zón, které se periodicky střídají se skloněnými nebo vertikálními desorpčními zónami, na nichž dochází k snížení koncentrace rozpuštěného kyslíku v kultivačním médiu, stékajícím po periodicky se střídajících zónách.
- 25 2. Fotobioreaktor podle nároku 1, **v y z n a ě n ý t í m**, že kultivační zóny jsou konstruovány z hladkého rovného či profilovaného materiálu netoxického pro kultivovanou řasu a odolného kultivačnímu médiu.
- 30 3. Fotobioreaktor podle nároku 1, **v y z n a ě n ý t í m**, že kultivační zóny jsou konstruovány z profilovaného plechu.
- 35 4. Fotobioreaktor podle nároku 3, **v y z n a ě n ý t í m**, že profilovaný plech je ocelový, válcovaný za studena a oboustranně žárově pozinkovaný, opatřený následovně finální polymerní hydrofilní vrstvou, umožňující rovnoměrné stékání kultivačního média po ploše.
5. Fotobioreaktor podle kteréhokoliv z nároků 1 až 4, **v y z n a ě n ý t í m**, že ocelový plech je profilován pro zvýšení objemu kapaliny na jednotku plochy kultivační zóny.
- 40 6. Fotobioreaktor podle kteréhokoliv z nároků 1 až 5, **v y z n a ě n ý t í m**, že desorpční zóna pro desorpci velmi málo rozpustného kyslíku z kultivačního média do okolní atmosféry má oblastí turbulentních vírků s rychlou změnou rychlosti a směru toku kultivačního média v řasové suspenzi.
- 45 7. Fotobioreaktor podle nároku 6, **v y z n a ě n ý t í m**, že desorpční zóna je konstruována z materiálu s vysokým stupněm distribuce řasové suspenze po ploše kultivačních zón fotobioreaktoru.
- 50 8. Fotobioreaktor podle kteréhokoli z nároků 6 a 7, **v y z n a ě n ý t í m**, že desorpční zóny jsou konstruovány z tahokovu netoxického pro kultivovanou řasu a odolného kultivačnímu médiu.
9. Fotobioreaktor podle kteréhokoli z nároků 1 až 8, **v y z n a ě n ý t í m**, že sklon kultivační zóny je 0,5 až 5 % a desorpční zóny svírají s vodorovnou rovinou úhel 0,5 až 90°.

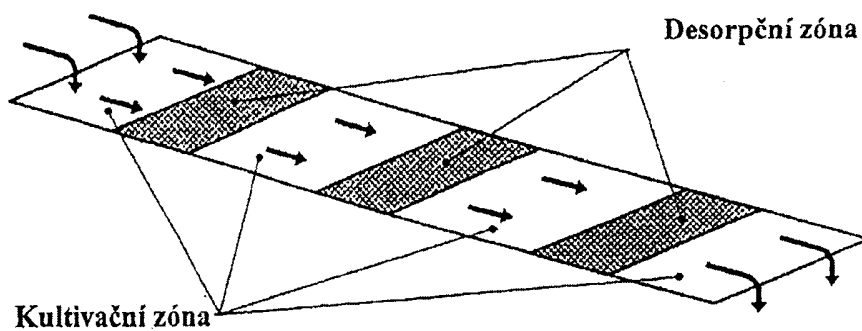
55

10. Fotobioreaktor podle kteréhokoli z nároků 1 až 9, **v y z n a ě n ý t í m**, že délka jednotlivých kultivačních zón je v rozmezí 0,1 až 500 m a délka individuálních desorpčních zón je v rozmezí 0,01 až 100 m, přičemž šířka obou typů zón je v rozmezí 0,1 až 100 m.
- 5 11. Fotobioreaktor podle kteréhokoli z nároků 1 až 10, **v y z n a ě n ý t í m**, že výška kultivačního média na kultivační zóně je v rozmezí 1 až 100 mm.
- 10 12. Fotobioreaktor podle kteréhokoli z nároků 1 až 11, **v y z n a ě n ý t í m**, že kultivační a desorpční zóny jsou dále úplně nebo částečně zakryty materiálem transparentním pro fotosyntetizující záření, což redukuje riziko kontaminace kultivačního média.

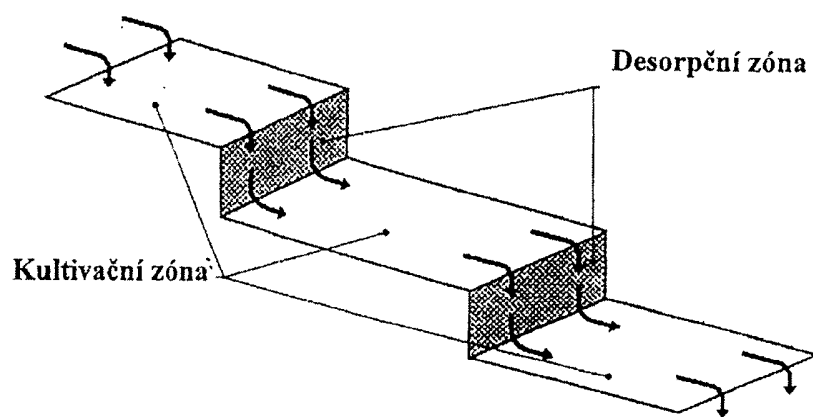
15

2 výkresy

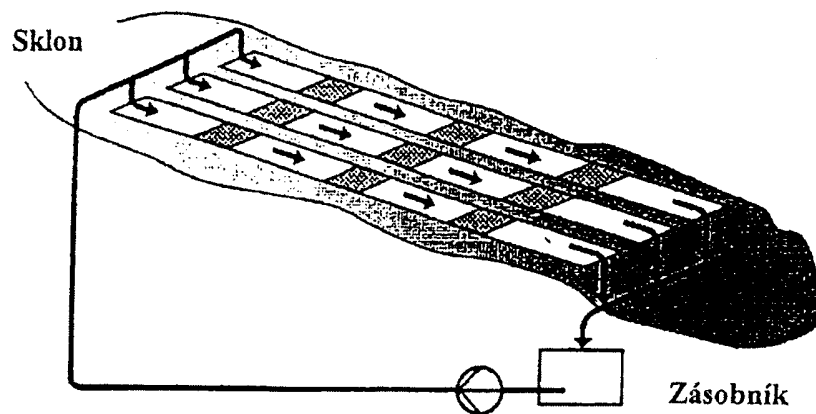
Obr 1: Uspořádání kultivačních a desorpčních zón se stejným sklonem



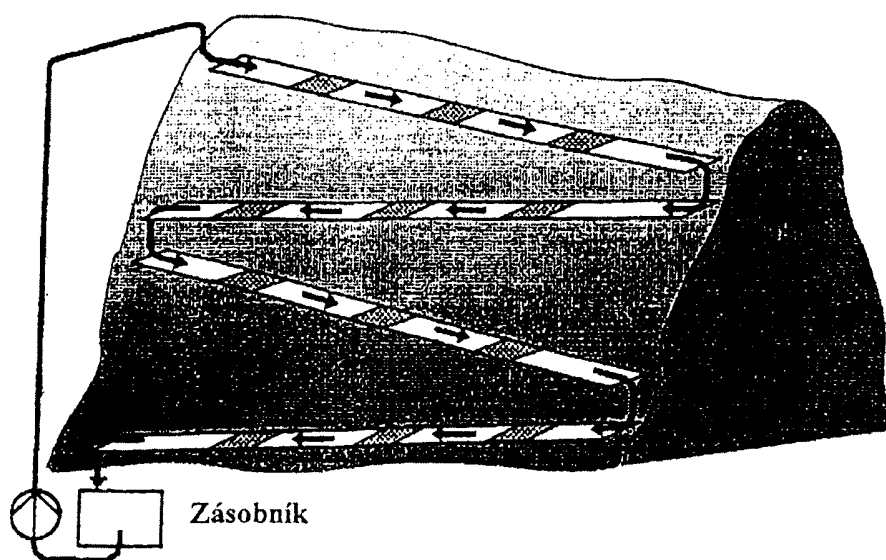
Obr 2: Uspořádání desorpčních zón vertikálně k vodorovné rovině



Obr 3: Paralelní uspořádání periodicky se opakujících zón v terénu



Obr 4. Kaskádovité uspořádání periodicky se opakujících zón v terénu



Konec dokumentu
