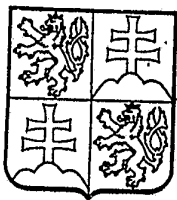


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU 273 122

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

(21) PV 6171-87.0
(22) Přihlášeno 21 08 87

(40) Zveřejněno 12 07 90
(45) Vydáno 30 12 91

(11)
(13) B1
(51) Int. Cl.⁵
C 12 P 13/08
C 07 C 229/26

(75) Autor vynálezu PELZBAUER JIŘÍ ing., ROZTOKY U PRAHY,
ČULÍK KAREL RNDr., PRAHA,
BUČKO MICHAL ing.DrSc.,
SÁLKA JÁN ing.,
MIKLÁŠ EMIL ing., BÁNSKÁ BYSTRICA

(54) Zpracování fermentovaných pūd L-lysinu
se suspenzním podílem biomasy na ionto-
měnných kolonách

(57) Řešení se týká způsobu adsorpce suspenzních pūd s obsahem L-lysinu, získaných kultivací mikroorganismů Brevibacterium nebo Corynebacterium, na sloupcích iontoměniče velkých objemů a dalšího postupu zpracování na krystalický lysin hydrochlorid. Specifikuje podmínky, umožňující průtok fermentované kapaliny, bez odstranění biomasy produkčního kmene, nebo jen s částečnou separací, ionexem s konstantními a relativně nízkými tlakovými ztrátami a konstantní kapacitou iontoměniče. Na základě výchozího poznatku je vypracován postup izolace krystalického produktu, využívající odpady s obsahem lysinu k přípravě technického krmného preparátu. Procesy na baterii jsou ovládány ASR. Těmito kroky jsou minimalizovány ztráty lysinu, je stabilizován výkon zařízení i kvalita produktu.

Vynález se týká způsobu adsorpce L-lysinu ze suspenzních fermentovaných pūd (bez odstranění biomasy produkčního kmene nebo s částečnou separací) na sloupcích iontoměniče provozní velikosti a dalšího postupu zpracování na krystalický lysin. Zároveň se účelně využívá odpadů obsahujících lysin k doplnění koncentrátů, zpracovávaných paralelně na technický krmný produkt. Vynález řeší problém nekontrolovatelně vzrůstajících tlakových ztrát při adsorpci suspenzních pūd a ztrát výtěžností procesu, vznikajících v odpadních kalech.

Izolace lysinu z fermentovaných pūd, podobně jako jiných aminokyselin, se v klasickém uspořádání provádí separací (sedimentací, filtrací) biomasy produkčního kmene, úpravou p_H filtrátu na optimální hodnotu, adsorpcí na iontoměnič, elucí alkalií, zpracováním eluátu ke krystalizaci. Tak se získá krystalický produkt, odpadají odseparovaná biomasa, chudý efluent a matečné louhy po filtraci produktu. Výtěžnost procesu se pohybuje v rozmezí 60 až 70 % (viz např. USP č. 2 841 532, 2 979 439, FP č. 7 917 012, JP č. 159 278, BP č. 2 152 509). Pokud se zpracuje fermentovaná půda na technický krmný preparát, zahustí se a usuší buď přímo, nebo po přidávku plnidel s provozní výtěžností 85 až 97 % (viz např. FP č. 8 303 487, čs. autorské osvědčení č. 163 505).

Známé postupy adsorpce lysinu z fermentovaných pūd používají zpravidla filtrátu po separaci biomasy. To je výhodné z hlediska snadnosti provedení, nevýhodné z ekonomického hlediska pro potřebu nákladných sedimentačních odstředivek s automatickým vyprazdňováním a vzhledem ke ztrátám lysinu v odpadech. Odpadající biomasa se zpracovává kyselou hydrolyzou a hydrolyzát se vrací zpět jako zdroj dusíku do výrobního cyklu. Odpadající lysin je však i takto pro výtěžnost produktu ztracen.

Adsorpce suspenzní pūd na kolonách iontoměniče způsobuje zvláště u provozních filtrů velkých objemů značné tlakové ztráty vlivem zachycení biomasy, takže proces nelze vždy spolehlivě zvládnout. Tyto potíže odstraňuje adsorpce s průtokem zespodu, s pryskyřicí ve vzhledu, nebo při nižších filtračních rychlostech. Je však úspěšná jen u sloupců menších průměrů. U provozních baterií však zcela selhává, protože vlivem nerovnoměrného rozdělení kapaliny tryskami (částečným ucpáním), vniknutím vzduchu do čerpané kapaliny atd. dochází k nekontrolovatelnému promíchávání pryskyřice.

Podle našeho vynálezu je možno výhodně provést adsorpci suspenzních pūd i u provozních sloupců s vyšší vrstvou ionexu při dodržení následujících zásad:

1. Sulfonovaná styren-divinylbenzenová pryskyřice nebo jiný silně kyselý ionex se zbaví rozpadlých částic promýváním vodou ve sloupci zdola filtrační rychlostí kolem $20 \text{ m}^3/\text{m}^2$ za hodinu, pokud se vyplavují částičky menší než 0,5 mm. U komerční nepoužité pryskyřice tvoří podíl menšího průměru cca 1,3 %.
2. Fermentovaná půda se zbaví případných větších suspenzních částic přecezením přes silonovou plachetku nebo kovové síto. Hustota síta odpovídá zrnění použité pryskyřice.
3. Cezení hrubších podílů a shluků sítem je možno kombinovat nebo alternativně nahradit separací část sedimentu na jednoduché tryskové odstředivce s tím, že zahuštěný podíl se zpracuje v paralelní výrobě krmného produktu usušením. Při kombinaci obou způsobů odpovídá hustota síta průměru trysek odstředivky.
4. V případě, že v posledních hodinách fermentace bylo nutno odpěňovat větším množstvím oleje, odstraní se jeho zbytek rozmícháním 0,1 až 0,5 % hydrofobizovaného adsorbentu, např. perlitu (Vapexu) po skončení fermentace a půda se separuje podle bodu 2 nebo 3.

Tyto kroky zaručují, že podmínky při adsorpci suspenzní pūd budou u všech šarží jednotné z hlediska ulpívání sedimentu ve vrstvě ionexu a zanášení povrchu pryskyřice. Zjistili jsme, že po 58 cyklech adsorpce nefiltrované pūd produkčního kmene *Brevibacterium* (72,5 g lys/1, p_H 1,6), s promýváním vodou a elucí 4 N NH_4OH bylo vyplaveno popsáním způsobem 17,5 % pryskyřice - částic menších než 0,5 mm, což znamená spotřebu 18 až 24 g ionexu na 1 kg krystalického lysinu. Praktická kapacita pryskyřice se po 58 cyklech nezměnila a činila 160 g lys/1 pryskyřice.

Za uvedených podmínek je při adsorpci tlaková ztráta na pryskyřici funkcí filtrační rychlosti a času, dále je přímo úměrná výšce vrstvy pryskyřice. Biomasa produkčního kmene částečně ulpívá na pryskyřici. Poznali jsme, že při nízkých filtračních rychlostech (0,3 až 2 m/hod.) má biomasa tendenci se zachycovat přednostně na povrchu a v horní vrstvě pryskyřice, při vyšších rychlostech (od 3 m/hod. výše) k tomuto jevu nedochází a biomasa se ukládá jen do určitého stupně rovnoměrně v celém objemu pryskyřice. Pak při zvolené filtrační rychlosti dochází při adsorpci na sloupci ke vzrůstu tlaku v závislosti na času jen v první fázi, tlak se po určité době ustálí a zůstane konstantní po celou fázi dosycování. Závislosti při adsorpci z fermentované půdy při provedení kroků 1. a 2. předchozího textu, jsou znázorněny v následující tabulce. Parametry: Výška vrstvy pryskyřice v NH_4 cyklu 1,3 m, filtrační rychlost 4,8 m/hod., spec. objemové zatížení 3,7 obj./obj./hod., nefiltrovaná půda 70 g lys/1, kmen *Brevibacterium*.

T a b u l k a

objem filtrátu 1	obsah lys ve filtrátu g/l	tlak nad pryskyřicí x 0,1 MPa
0,5	0	0,15
3	0	0,40
4	3	0,45
5	23	0,48
6	48	0,70
7	52	0,80
9	61	0,93
11	65	1,00
13	70	1,00
16	70	0,98

Uvedeným technologickým postupem se dosahuje ve výrobním měřítku spolehlivé a vysoce účinné izolace lysinu z fermentované půdy. Fáze adsorpce z fermentovaných půd, obsahujících produkční mikroorganismus, probíhá reprodukovatelně i u vrstev ionexu výšky kolem 2 m, tj. u kapacit vhodných pro objemy výroby řádově 10 000 t lysinu/rok. Přitom max. tlakové ztráty činí 0,1 až 0,2 MPa/sloupec. Nedochází ke ztrátám účinné látky, takže výtěžnost lze zvýšit o 10 až 15 % oproti technologiím, pracujícím s filtrátem. Odpadá nutnost instalace nákladných pulsních samovyprazdňovacích odstředivek.

Postup lze objasnit pomocí následujících příkladů:

Příklad 1

Na sloupec 60 ml katexu v NH_4 cyklu, výšky 18,8 cm, který byl zbaven drobných podílů menších než 0,4 mm, byla čerpána okyselená nativní půda (*Corynebact. glutamicum*, 67 g lys/1) o pH 1,7, filtrační rychlostí 4 $\text{m}^3/\text{m}^2/\text{hod}$. Tlak nad sloupcem se ustálil na hodnotě kolem 1 m v. sl. a neměnil se během další 1 hod. čerpání. Část biomasy, která ulpěla na pryskyřici, byla vymyta průtokem vody a promícháním vzduchem zdola, sloupec pak eluován 4 N NH_3 . Byla nalezena kapacita 11,7 % lysinu (v/o prysk.).

Příklad 2

Na sloupci z příkladu 1 byla adsorbována tatáž půda rychlostí 0,38 m/hod. Postupně se vytvořila na povrchu pryskyřice vrstva biomasy, která bránila dalšímu průtoku a pokus musel být vzhledem ke vzrůstu tlaku nad 3 m v. sl. ukončen.

Příklad 3

Fermentovaná půda (*Brevibacterium*, 70 g lys/1) byla okyselena H_2SO_4 na p_H 1,7, přecezena přes sílonovou plachetku, čímž byly odstraněny velmi malé zbytky huminových látek, shluky biomasy a jiné hrubší nečistoty. Pryskyřice Ostion KS byla zbavena částic menších než 0,55 mm, vpravena do sloupce délky 2 m a průměru 4 cm. Pryskyřice v H⁺ cyklu zaujímala objem 1,88 l, v NH_4^+ nyklu objem 1,6 l a výška vrstvy byla 1,3 m.

Takto upravená půda byla čerpána na sloupec objemovým průtokem 6 l/hod. $\pm$ 0,7, tj. průměrnou filtrační rychlostí 4,8 m/hod. Tlak nad pryskyřicí stoupal od 0 do 0,1 MPa při nasycení přibližně 80 % kapacity ionexu, kdy bylo přečerpáno 50 % kapaliny a dále se neměnil během dosycování pryskyřice, zbývajícím stejným objemem. Po dokonalém nasycení byla půda vytlačena vodou a ionex promýván shora, pokud se filtrát nevyčechil. Sloupec byl potom promýván ve vznosu obráceným průtokem, dokud odtékající kapalina nebyla čirá (2,7 l/l ionexu). Takto bylo vyplaveno 9,35 g sušiny sedimentu (biomasy), která se na pryskyřici zachytila průtokem 18 l půdy s celkovým obsahem 540 g sušiny sedimentu.

Eluce byla provedena 4 N NH_4OH průtokem 3,2 l/hod. Bohatá frakce eluátu (2,2 l) byla zahuštěna a okyselena HCl na p_H 4,2. Z koncentráту vykristaloval produkt, který byl sfiltrován a promyt. Ze získaných matečných louhů se vylučoval po zahuštění 2. produkt. Ten však nebyl izolován, matečné louhy byly zhodnoceny usušením se zahuštěnou půdou, zpracovávanou na krmný preparát.

Výtěžnost: ve ferm. půdě	1 260 g lys
v bohatém efluentu	- 985,5
k adsorpci použito	274,4 = 100 %
eluát	256,5 - ztráta 17,9 g lys
produkt	175,1 - 5,1
matečné louhy	76,3
techn. krmný lysin	66,4 - 9,9
	23,9 = 12 %

Bylo získáno 216,2 g krystalického lysinu o obsahu 81 % lys. HCl a 162 g techn. krmného lysinu o obsahu 41 %. Celková výtěžnost byla 88 % na fermentovanou půdu.

Příklad 4

Fermentovaná půda s obsahem 75 g/l lysinu o p_H 2,2 byla čerpána přes filtr opatřený ne-rezovým sítím 170 DIN (0,088 mm) o ploše 2 m² na tryskovou odstředivku průtokem 13 m³/hod. Separace části biomasy probíhala při 6 000 G. Z půdy obsahující 15 % sedimentu (měřeno po 15 min odstředování při 6 000 G v kyvetách) bylo takto získáno 10 m³/hod. částečně odstředěné kapaliny s obsahem 1 % sedimentu a zahuštěný kal s obsahem 60 % sedimentu k dalšímu zpracování v množství 3 m³/hod.

Půda byla dále vedena na baterii sloupců s 6 m³ silně kyselého katexu v NH_4^+ formě, zbaveného jemných podílů, filtrační rychlostí kolem 5 m/hod., tj. spec. obj. průtokem 1,7 m³/m³/hod./sloupec. Změna koncentrace lysinu za sloupci byla sledována refraktometricky a analyzátořem lysinu, dále byly snímány tlak, teplota, světelná propustnost a objemy kapalin. Propojování toku baterií bylo ovládáno pomocí ASŘ mikroprocesorem.

Tlaková ztráta na čtyřčlenné baterii se pohybovala v rozmezí 320 až 410 kPa, přičemž na prvních 3 sloupcích byla prakticky stejná a dosahovala mezi hladinou a spodní částí sloupce hodnot 50 až 70 kPa. Po ustálení režimu docházelo k praktickému nasycení 1. sloupce baterie vždy po průtoku kolem 12 m³ půdy. Nátok byl potom zastaven a po promytí pryskyřice 1. sloupce 6 m³ vody byl zapojen na 2. sloupec.

Nasyčený ionex byl promýván zdola vodou průtokem $20 \text{ m}^3/\text{hod.}$ po dobu 45 min. Eluce byla provedena 7 % NH_3 , eluát zahuštěn, okyselen HCl a po krystalizaci byl získán krystalický lysin hydrochlorid a matečné louhy. Zahuštěný kal a matečné louhy byly zpracovány na technický produkt usušením na rozprašovací sušárně. Bilance lysinu pro zpracování jednoho sloupce je následující:

půda	1 140 kg lys		
půda po částeč. separ.	911		
kal (sediment)	227		
eluát	857		
krystalický lysin	627	-	výtěžnost 55 %
matečné louhy	230		
techn. krmný lysin	394	-	34,5 %
celková výtěžnost			89,5 %

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

1. Způsob zpracování fermentovaných půd L-lysinu, získaných kultivací produkčních kmenů *Brevibacterium* nebo *Corynebacterium*, vyznačený tím, že okyselená a upravená suspenzní půda s mikroorganismem se nechá protékat shora sloupcem ionexu, adsorbovaný lysin po promytí pryskyřice se eluuje alkalií a eluát se zpracuje do krystalického produktu známým postupem.
2. Způsob podle bodu 1, vyznačený tím, že případné zbytky oleje v půdě se adsorbují rozmícháním hydrofobizovaného sorbentu v množství 0,1 až 0,5 %..
3. Způsob podle bodů 1 a 2, vyznačený tím, že podíl dobře filtrovatelných nebo/a sedimentujících částic a shluků biomasy, případně sorbentu, se odstraní přecezením.
4. Způsob podle bodů 1 a 3, vyznačený tím, že zahuštěný kal z tryskové odstředivky a matečné louhy po krystalizaci produktu se zpracují zahuštěním a usušením spolu s paralelní výrobou krmného technického preparátu.
5. Způsob podle bodu 1, vyznačený tím, že filtrační rychlost při adsorpci je vyšší než $3 \text{ m}^3/\text{m}^2/\text{hod.}$
6. Způsob podle bodu 1, vyznačený tím, že styren-divinylbenzenový katex se periodicky zbavuje částic menších než 0,5 mm vyplavením vodou při rychlosti filtrace kolem $20 \text{ m}^3/\text{m}^2/\text{hod.}$