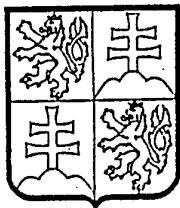


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

PATENTOVÝ SPIS 276 119

(11) Číslo dokumentu :

(21) Číslo přihlášky : 3161-90.H

(22) Přihlášeno : 26 06 90

(30) Prioritní data :

(13) Druh dokumentu : B6

(51) Int. Cl.⁵ :

C 12 N 1/12

(40) Zveřejněno : 15 01 92

(47) Uděleno : 21 02 92

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku : 15 04 92

(73) Majitel patentu : MIKROBIOLOGICKÝ ÚSTAV ČSAV, PRAHA

(72) Původce vynálezu : DOUCHA JIŘÍ ing. CSc.,
LÍVANSKÝ KAREL ing. CSc., TŘEBONĚ,
KAJAN MIROSLAV ing., BRILICE,
SIMMER JAN dr. CSc., TŘEBONĚ,
SLAVÍČEK FRANTIŠEK ing., PRAHA,
ŠETLÍK IVAN dr. CSc., TŘEBONĚ

(54) Název vynálezu : Způsob velkoplošné kultivace fotoauto-
trofních řas a sinic a zařízení k pro-
vádění tohoto způsobu

(57) Anotace :

Způsob velkoplošné kultivace fotoauto-
trofních řas a sinic pod širým nebem,
přičemž oxidem uhličitým nasycená sus-
penze řas, obohacená potřebnými živina-
mi, stéká po spádových plochách. Dále
se řešení týká příslušného zařízení,
jehož podstata spočívá v tom, že spá-
dové plochy mají sklon 1 až 2 % a jsou
opatřeny prostředky pro zajištění tur-
bulence toku.

Vynález se týká způsobu velkoplošné kultivace fotoautotrofních řas a sinic pod širým nebem, přičemž oxidem uhličitým nasycená suspenze řas obohacená potřebnými živinami stéká po spádových plochách, jakož i zařízení a provádění tohoto způsobu.

Způsoby pěstování mikroskopických řas a sinic pod širým nebem se ve světě vyvíjejí od 50. let. Zabývá se jimi řada pracovišť neboť vhodná kultivační technologie je základní podmínkou vysokých výnosů a tím i ekonomicky výhodné výroby řasové biomasy, o kterou je pro její biologickou hodnotu ve světě stále větší zájem. Kultivace se provádí převážně na základě technologií vyvinutých v Japonsku, SRN, Československu (Šetlík et al., 1970, Algolog. Stud. 1, 111 až 164; Goldman et al., 1979, Mater Res. 13, 119 až 136; Richmond 1980, Interdisc. Sci. Rev. 1, 68 až 78; Soeder 1986, Microalgal Mass Culture, 25 až 41) nebo v zařízeních, které z těchto systémů vycházejí.

Nejčastěji používaná západoněmecká zařízení pro venkovní kultivaci mají tvar elipsoidních bazénů, v nichž se 20 až 30 cm tlustá vrstva řasové suspenze uvádí do pohybu nejčastěji lopatkovými míchadly.

Zcela jinak je vyřešena kultivační plocha zařízení vyvinutého a používaného v Československu. Suspenze řas o tloušťce vrstvy 5 cm stéká po mírně nakloněné ploše (sklon 3 %), která může být např. střechou skleníku (pak ji tvoří skleněné tabule v ocelové konstrukci), nebo je uložena v úrovni terénu (pak je obvykle z betonu různě povrchově upraveného). Plocha je ve směru sklonu rozdělena na pásy o šířce 1 až 2 m a v nich jsou kolmo na směr toku suspenze uloženy pod úhlem 60° zešíkmené přepážky, vysoké 4 cm a vzdálené od dna 3 až 5 mm. Suspenze proudí pod přepážkami a nad nimi a tím vzniká intenzivní víření, které suspenzi dokonale promíchává, zabráňuje usazování řas a zajišťuje rovnoměrné vystavení řas slunečnímu záření. Kromě toho se tak dosahuje rovnoměrné tloušťky řasové suspenze po celé kultivační ploše, která stéče po nakloněné střeše skleníku, se na jejím dolním konci jímá do sběrného žlabu. Z něho je svedena do zpětného potrubí ústící do oběhového čerpadla, které suspenzi kontinuálně vytlačuje na horní okraj spádové plochy. U kultivační plochy, uložené na zemi, je suspenze vytlačována na její horní okraj potrubím pomocí čerpadla, uloženého pod dolním okrajem spádové plochy.

Hlavními nedostatky kultivačních jednotek typu bazénů jsou: Při používané hloubce vrstvy řas (20 až 30 cm) je nutné pracovat s velmi řídkými suspenzemi, u nichž množství suché hmoty řas nepřevyšuje $0,3 \text{ g.l}^{-1}$. Při vyšších hustotách se projevuje limitace růstu nedostatkem fotosynteticky účinného záření, které neprotrpí do hlubších vrstev suspenze. Nízká koncentrace suspenze způsobuje, že separace řas je velmi nákladná, suspenze uvedená do pohybu pomocí lopatek se málo míchá, čímž nastává limitace růstu nedostatkem fyzikálně rozpustného CO_2 zejména v horní, nejvíce prosvětlené vrstvě řas, tok blízký laminárnímu způsobuje nerovnoměrnou rychlost pohybu suspenze v různých hloubkách vrstvy. Pomalejší pohyb spodních vrstev a suspenze v blízkosti bočních stěn bazénu má za následek sedimentaci řas na dně a zvýšenou adhezi řas na stěnách bazénu, nedokonalé míchání a pomalý pohyb suspenze má za následek nedostatečné odstraňování kyslíku, vznikajícího při fotosyntéze. Jeho vyšší koncentrace zejména v horní vrstvě suspenze může snižovat rychlost fotosyntézy a růstu řas.

Nevýhody uvedeného československého kultivačního systému spočívají zejména v tom, že pěticentimetrová vrstva suspenze představuje na kultivační ploše s tříprocentním sklonem značné nároky na příkon energie potřebné pro práci cirkulačního čerpadla. U produkční plochy 1000 m^2 prochází čerpadlem cca 8000 l suspenze za minutu; velký objem suspenze (u produkční jednotky 1000 m^2 je to 50 000 l) představuje značnou spotřebu energie na vyzdušnění suspenze, které se ve sběrné nádrži provádí v době mimo kultivaci; ukládání jednotlivých přepážek na kultivační plochu je velmi pracné, i když je optimální hustota suspenze při kultivaci v pěticentimetrové vrstvě řas 5x vyšší než při kultivaci v bazénech, je separace hmoty řas v živném roztoku nákladná.

Uvedené nevýhody odstraňuje způsob podle vynálezu, jehož podstatou je, že suspenze řas

stéká po spádových plochách se sklonem 1 až 2 % za turbulentního režimu proudění, přičemž tloušťka vrstvy řasové suspenze je 5 až 30 mm.

Potřebného režimu proudění ve stékající vrstvě suspenze se docílí zdrsňením (profilací) spádové plochy nebo pomocí příčných přepážek.

Vynález se dále týká příslušného zařízení se spádovými plochami tvořícími střechu skleníku nebo uloženými na zemi, vratným potrubím s čerpadlem a sytičem oxidu uhličitého, jehož podstata spočívá v tom, že spádové plochy mají sklon 1 až 2 % a jsou opatřeny prostředky pro zajištění turbulence toku.

Výhodně spádová plocha s vlastní cirkulací suspenze nepřesahuje 500 m² a délka kultivačních pásů je v rozmezí 30 až 60 m.

Výhody navrhované technologie vyplývající zejména z nižších nákladů na jednotku produktu spočívají:

v levnější konstrukci zařízení použitím menších nádrží snížením objemu kultivované suspenze řas až o 85 až 90 % a použitím cirkulačního čerpadla s výkonem nižším až o 80 % a v nižších nákladech na provoz zařízení, spočívajících zejména:

ve snížených energetických nárocích na cirkulaci suspenze a její vzduchování ve sběrných nádržích a na separaci biomasy od živného roztoku a v možnosti rozdělení celkové plochy, nepřesahující 500 m², což umožňuje zjednodušit obsluhu zařízení a optimalizovat kultivační režim.

Srovnání energetických nároků na provoz zařízení a separaci biomasy je uvedeno v tabulce 1.

Tabulka 1

	původní přepážkový systém	modifikovaný přepážkový systém	bezpřepážkový systém
kultivační plocha	1 000 m ²	2 x 500 m ²	2 x 500 m ²
celkový objem suspenze	50 000 l	25 000 l	5 - 8 000 l
potřebný výkon čerpadla	7 500 l.min ⁻¹	1 600 l.min ⁻¹	1 600 l.min ⁻¹
k separaci 1 000 g suché hmoty je nutné zpracovat	1 000 l suspenze	500 l suspenze	100 l suspenze

Na obr. 1 a 2 je schematicky znázorněno zařízení podle vynálezu.

Čerpadlo 1 vytlačuje suspenzi řas z nádrže 5 do rozvodného žlabu 2, ze kterého se rovnoměrně rozděljuje na spádovou kultivační plochu 3, po níž stéká do spojovacího žlabu 4, který suspenzi převádí na protilehlou spádovou plochu 5. Z té suspenze stéká do nádrže 6 a celý pochod se nepřetržitě opakuje. Spádová plocha kultivačních pásů je buď bezpřepážková (obr. 1) nebo je vybavena příčnými přepážkami (obr. 2).

Příklad

Ke kultivaci se použije produkční kmen jednobuněčných řas *Chlorella vulgaris* XYZ, přechovávaný ve zkumavkách na agarových půdách obohacených minerálním živným roztokem při teplotě 15 °C a ozáření 10 Wm⁻²FAR. FAR znamená fotosynteticky účinné záření měřené spektrálně neselektivním čidlem, citlivým pouze v oblasti 400 až 700 nm.

Kultura se z agaru převede do tekutého živného roztoku tohoto složení:

Sloučenina:		Koncentrace: mg.l^{-1}
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	močovina	600,00
KH_2PO_4	dihydrogenfosforečnan draselný	340,00
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	síran hořečnatý	500,00
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	síran železnatý	13,90
H_3BO_3	kyselina boritá	3,10
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	síran manganatý	1,10
$\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	síran měďnatý	1,25
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	síran zinečnatý	1,45
$(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$	molybdenan amonný	1,00
$\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	síran kobaltnatý	1,40
$\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	chlorid vápenatý	10,50

V uvedeném živném roztoku se kultura pěstuje v šedesátilitrovém trubcovém skleněném fotoreaktoru s umělými zdroji zářivé energie při ozáření 80 Wm^{-2} , teplotě 28 až 30°C a takové koncentraci CO_2 ve směsi se vzduchem, která odpovídá 1,5 až 2,5 % rozpuštěného CO_2 v suspenzi řas až do hustoty začátku stacionární fáze růstové křivky, tj. 5 až 6 g suché hmoty řas $\cdot \text{l}^{-1}$.

Poté se 95 % suspenze převede do chlazeného a vzdušeného zásobníku a růstový cyklus ve fotoreaktoru se opakuje. Když se takto připraví 250 l suspenze, inokuluje se modul produkčního venkovního zařízení o kultivační ploše 500 m^2 tak, že se zásobní inokulum zředí na objem 2 500 l a hustota suspenze přibližně na $5 \text{ g suché hmoty řas} \cdot \text{m}^{-2}$ kultivační plochy.

Vlastní fotosyntetická produkce organické hmoty řas probíhá během dne tak, že je cirkulující suspenze řas vystavena na spádové ploše slunečnímu záření.

Dosáhne-li množství suché hmoty řas v jednotce objemu stanovené hodnoty, která je funkcí tloušťky vrstvy suspenze a intenzity FAR, dopadajícího na povrch kultivované vrstvy řas (stupněm absorpce FAR), část hmoty se separuje. Separace se provádí podle potřeby tak, aby hustota suspenze se v závislosti na období vegetační sezóny pohyboval v rozmezí 40 až $60 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$. Prakticky se denně separuje cca 20 až 30 % celkového objemu suspenze. Supernatant, obohacený o spotřebované biogenní prvky se z 80 % vrací do kultivačního procesu. Prakticky se denně separuje cca 20 až 30 % celkového objemu suspenze. Separace se provádí v době, kdy je suspenze uložena ve sběrných nádržích buď ve večerních hodinách nebo ráno. Biomasa řas ztrácí přes noc cca 10 % své hmoty prodáváním, přičemž se mění i její chemické složení: klesá množství zásobních polysaharidů a zvyšuje se poměrně i absolutní množství pigmentů a bílkovin.

Při kultivaci se sledují a optimalizují tyto parametry: hustota suspenze, množství v suspenzi fyzikálně rozpuštěného oxidu uhličitého a kyslíku, koncentrace iontů základních biogenních prvků živného roztoku, pH suspenze, kultivační teplota, zdravotní stav a biologická čistota pěstované kultury.

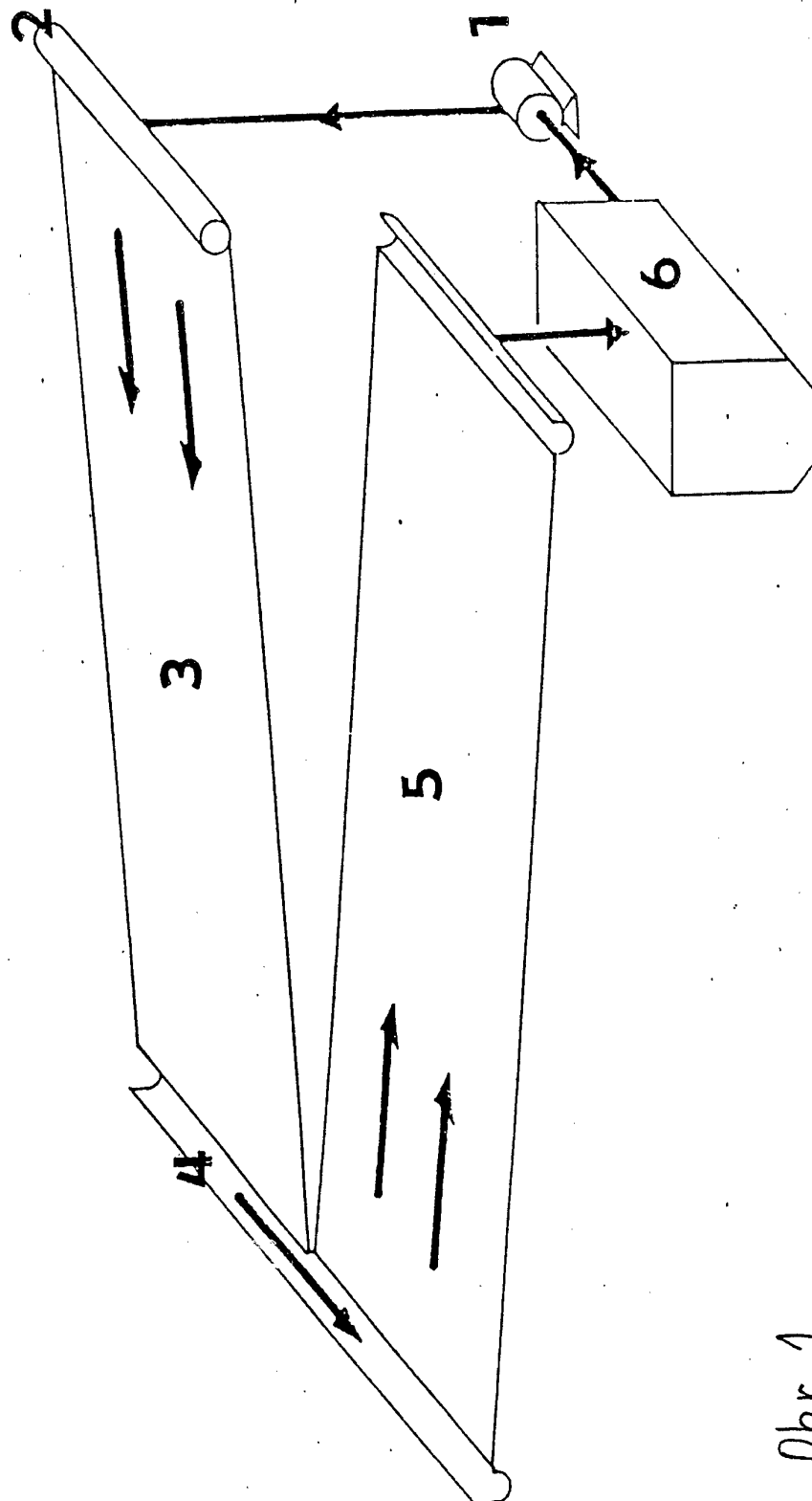
Hustota suspenze se sleduje stanovením suché hmoty řas v jednotce objemu suspenze vážením, které se nejčastěji provádí na začátku a na konci denní kultivace a periodickým fotometrickým měřením optické hustoty suspenze. Průběžně se měří i fotosynteticky aktivní záření, které vrstva kultivované suspenze řas absorbuje.

Během růstu řas se suspenze sytí oxidem uhličitým, dodávaným nejlépe z centrálního

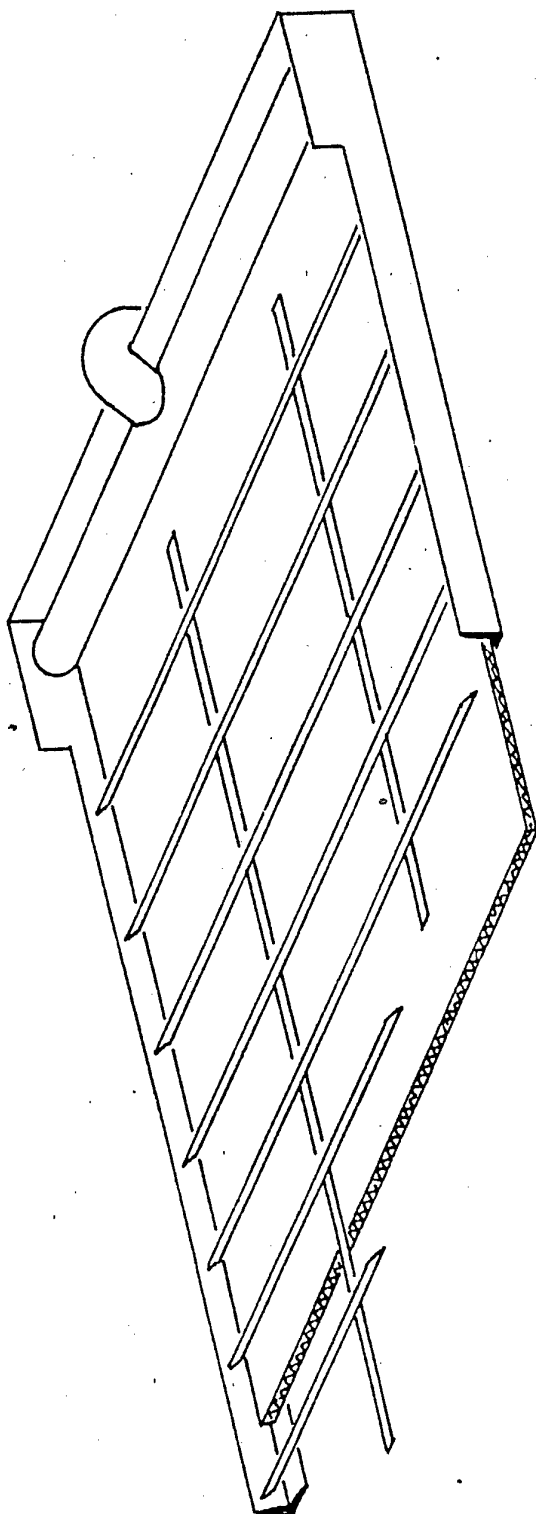
zásobníku. Koncentrace fyzikálně rozpuštěného CO_2 se průběžně sleduje v analytické smyčce pomocí infraanalyzátoru, jímž prochází CO_2 , jehož koncentrace je v rovnováze s koncentrací CO_2 rozpuštěného v suspenzi. Optimální parciální tlak CO_2 v suspenzi, 1 až 2 kPa, se udržuje pomocí tlakového regulátoru s nastavitelným průtokem plynu. Součástí analytické smyčky je i průtokový analyzátor plynného kyslíku, která je v rovnovážném stavu s fyzikálně rozpuštěným kyslíkem v suspenzi na konci spádové plochy. V případě, že pO_2 v suspenzi přesáhne kritickou hodnotu 50 kPa, je suspenze před vstupem na sání čerpadla rozstříkována tak, aby vytvořením velkého povrchu došlo k potřebnému uvolnění kyslíku.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Způsob velkoplošné kultivace fotoautotrofních řas a sinic pod širým nebem, přičemž oxidem uhličitým nasycená suspenze řas obohacená potřebnými živinami stéká po spádových plochách, vyznačující se tím, že stékání probíhá za turbulentního režimu proudění při tloušťce vrstvy v rozmezí 5 až 30 mm.
2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že turbulentního proudění se dosahuje zdrsňením povrchu spádových ploch.
3. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že turbulentního proudění se dosahuje příčnými přepážkami ve směru toku.
4. Zařízení k provádění způsobu podle bodu 1, tvořené spádovými plochami střechy skleníku nebo uloženými na zemi, čerpadlem a sytičem oxidu uhličitého, vyznačující se tím, že spádové plochy mají sklon 1 až 2 % a jsou opatřeny prostředky pro zajištění turbulence toku.
5. Zařízení podle bodu 4, vyznačující se tím, že prostředky pro zajištění turbulentního toku jsou tvořeny příčnými přepážkami o výšce 10 až 20 mm, umístěnými nad spádovými plochami ve výšce 3 až 5 mm, které jsou výhodně ke směru proudění sešikmené.
6. Zařízení podle bodu 4, vyznačující se tím, že spádové plochy jsou zdrsňené na drsnost $\mu\text{m} = 0,1$ až $0,2$.
7. Zařízení podle bodů 4 až 6, vyznačující se tím, že povrch spádových ploch s vlastní cirkulací suspenze nepřesahuje 500 m^2 a jejich délka je v rozmezí 30 až 60 m.



Obr. 1



0br.2