



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

209235
(11) (B1)

(51) Int. Cl.³
C 12 N 1/22

(22) Přihlášeno 24 04 79

(21) (PV 2825-79)

(40) Zveřejněno 27 02 81

(45) Vydáno 01 05 83

(75)

Autor vynálezu

BARTA JIŘÍ ing., KRUMPHANZL VLADIMÍR prof. ing. DrSc., PRAHA,
MAŠURA VLADIMÍR ing. CSc., BRATISLAVA, NĚMEC MILAN ing.,
VRATIMOV a
VERNER MIROSLAV ing., PRAHA

(54) Způsob výroby mikrobiálních proteinů z odpadů po chemickém zpracování dřevné hmoty

Využívání produktů kyselé hydrolýzy rostlinných materiálů jako je například dřevo, sláma, rákos atd., jakožto základní suroviny k mikrobiologické syntéze proteinů je dobře známo a zvládnuto i v průmyslovém měřítku. Tak například již dlouhou dobu jsou s úspěchem využívány k výrobě krmných kvasnic s vysokým obsahem proteinů odpadní louhy z kyselých bisulfitových způsobů výroby celulózy. Tyto tak zvané sulfitové výluhy jsou zatím jediným druhem odpadních vod vznikajících v celulózářském průmyslu, který se k výše uvedenému účelu v průmyslovém měřítku využívá. Tak například Lefrançois a B. Revuz 1964 Ind. Agric et Allim. Sl. No 12) nebo G. Kretschmar (1962 (I)) Zellstoff and Papier D. K. 6631 str. 14-23 popisují výrobní technologie krmných kvasnic ze sulfitových výluhů.

Jiným typem základní suroviny jsou tak zvané kyselé hydrolyzáty rostlinných materiálů, kdy je hmota například dřevo, podrobována za přídavku nejčastěji minerální kyseliny (H_2SO_4), zvýšeného tlaku a teploty při příslušném hydromodulu hydrolýzy. Vzniklý hydrolyzát se po oddělení furalu upravuje na vhodné pH a za přípravku živin (N, P, K, Mg) dále fermentuje a zpracovává známými postupy.

V obou zmíněných případech vznikají z rostlinných materiálů z přítomných polysacharidů hlavně

monosacharidy, které jsou potom ve fermentačním procesu za příslušných podmínek mikrobiálně transformovány v biomasu bohatou na proteiny. V případě sulfitových výluhů se jedná téměř výhradně o hydrolýzu ve dřevě přítomných hemicelulós, z nichž vznikají příslušné hexózy a pentózy. V případě kyselé hydrolýzy se kromě hemicelulóz štěpí hlavně celulóza a konečný substrát obsahuje převážně glukózu.

Daleko méně pozornosti z hlediska mikrobiálního využití bylo věnováno produktům alkalické hydrolýzy lignocelulóзовých materiálů. Při alkalické hydrolýze, ať již se jedná o tak zvaný natronový nebo sulfátový postup výroby celulózy, vznikají a přecházejí do odpadního louhu z potencionálně užitelných látek převážně hydroxykyseliny. Z celkového obsahu hydroxykyselin tvoří sacharinové kyseliny největší podíl. Tyto kyseliny jsou přítomny ponejvíce ve formě svých solí nebo laktonů. Konkrétně se jedná například o kyseliny C₆glukózosacharinovou, glukózomethasacharinovou, sacharinovou, C₅isosacharinovou atd.

Malinan a kol. [(1975) Pap. 57 (4a) 193, 199, 203,] uvádí, že obsah α - a β -glukózosacharinových kyselin v sulfátovém výluhu činil 60 % z celkového obsahu hydroxykyselin a obsah kyseliny mléčné 20 %. Clayton D. a kol. [(1972) Referát GIAM IV, Sao Paulo Brazil] používal alkalické

hydrolyzáty slámy ke kultivaci bakterií *Celulomonas* a *Alkaligenes*. Výsledný produkt byl používán jako krmivo. Slunyajev V. P., Sharkov V. [(1976) *Gidroliz. Lesochim. Prom. st.* (2) 4–5] používal výluh po alkalickém vaření břízy, borovice a smrku. Zjistil, že polysacharidy ze dřeva převedené na produkty hydrolyzy jsou ze 70 až 77 % využity kvasinkami. Předpokladem pro úspěšný mikrobiologický proces bylo však přečištění média elektrodiálýzou. Produkt obsahoval 49,7 až 51,1 % hrubého proteinu.

V poslední době se v průmyslu celulózy uplatňuje používání kyslíku nebo plynu kyslík obsahující, a to tak při samostatné delignifikaci dřevní hmoty, tak i při zušlechťování nebělené celulózy. Tyto postupy pracují rovněž za použití alkalií a jsou daleko účinnější. Na rozdíl od typické alkalické delignifikace například klasickým natronovým nebo i sulfátovým způsobem vaření dřevní hmoty, vznikají produkty degradace jiným mechanismem. Těchto produktů vzniká daleko více a současně se tvoří i látky, které při samotné alkalické hydrolyze nevznikají. Tak například Kolmodin a Samuelson [(1971) – *Svensk Papperstidning* 74, 301, 1971] a Kolmodin Samuelson [(1973) – *Svensk Papperstidning* 76, 71, 1973] prokázali, že jednou z hlavních komponent dřevní hmoty xylan, je alkalicko-kyslíkovým postupem hydrolyzován navíc za vzniku kyseliny lyxonové, xylonové a threonové a glycerpové. Podobně hlubší rozklad nastává i v případě dalších složek, a to i některých ligninových látek o nižší molekulové váze.

Předmětem způsobu podle vynálezu je způsob výroby mikrobiálních proteinů z odpadů po chemickém zpracování dřevní hmoty, jehož podstatou je, že kultivačním médiem jsou po úpravě pH a přidávku živin produkty alkalické neb kyselé hydrolyzy lignocelulóзовých materiálů podrobené předtím tlakové oxidaci kyslíkem neb kyslík obsahujícím plynem, které se aerobně fermentují bílkovinnými mikroorganismy rodů *Torulopsis*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Oidium* neb jejich směsí.

Podle vynálezu jsou kultivačním médiem látky, vznikající při alkalicko-kyslíkové delignifikaci lignocelulóзовých materiálů, a to například jak dřevní hmoty, tak nebělené celulózy a lze je využít jako základ k přípravě kultivačního média pro bílkovinnotvorné mikroorganismy. Proti původním produktům získaným pouhou alkalickou hydrolyzou je výtěžnost biomasy počítaná na veškerou rozpustnou organickou hmotu o 70 až 120 % vyšší. Kromě toho dochází k podstatnému zkrácení růstové doby bílkovinných mikroorganismů, a to až o 200 %. Další výhodou tohoto kultivačního média je okolnost, že oxidací kyslíkem se zneškodňuje většina inhibitorů majících například svůj původ v látkách pryskyřičného charakteru, které jsou výrazné pro určité druhy dřevin a stáří dřevní hmoty.

Jak je patrné z předchozího popisu, využívají se k mikrobiosyntéze proteinů v sulfátových celulózkách pouze výluhy z vaření dřeva, respektive ve

směsi s vodami z praní nebělené celulózy, které jsou vlastně vodou zředěné výluhy. Odpadní vody z dalších výrobních stupňů, to je zušlechťování a bělení celulózy, se dosud nevyužívaly a nevyužívají, přestože do těchto vod přechází cca 10 % organické hmoty počítáno na nebělenou celulózu. Důvodem toho bylo hlavně používání sloučenin chlóru (například chlórdioxid), velké množství alkálií a vysoké zředění. Proto i tyto druhy vod je obtížno podrobovat i biologickým způsobům čištění.

Kultivační médium tj. produkty alkalicko-kyslíkové hydrolyzy lignocelulóзовých materiálů se mohou fermentovat též společně s kultivačními médii připravenými na bázi sulfátových výluhů, kyselých dřevních hydrolyzátů a předhydrolyzátů neb jejich směsí, přičemž se pomocí produktů alkalicko-kyslíkové hydrolyzy lignocelulóзовých materiálů koriguje pH, a to buď úplně nebo parciálně před anebo v průběhu fermentace, a fermentační proces se může vést ve dvou až třech stupních.

Podle předmětného vynálezu je možno využívat větší část odpadních vod z prvních stupňů bělení – zušlechťování celulózy, kdy první stupeň alkalicko-kyslíkového zušlechťování se zařazuje před konečným stupněm bělení (například za použití chlóru). Při tomto alkalicko-kyslíkovém zušlechťování, který je určitým typem bělicího procesu, se odstraňuje z nebělené celulózy cca 50 až 70 % zbylých nežádoucích organických látek včetně menších množství celulózy.

Tyto odpadní vody je možno podle předmětného patentu využít k mikrobiosyntéze proteinů po příslušné úpravě pH a živin buď přímo anebo je v technologickém procesu cílevědomě recirkulovat a mísit s primárním odpadem vznikajícím v sulfátové celulóze, tj. se sulfátovým výluhem. Tímto způsobem je možno skutečně maximálně využít dřevnou hmotu přešlou do odpadu a finálně ji společně likvidovat.

Společné využití produktů obsažených ve výluzech a v odpadních vodách ze zušlechťování celulózy přináší sebou i další výhody, které lze spatřovat v souběžné utilizaci některých uhlíkatých látek výhodnějšími metabolickými drahami směřujícími k mikrobiosyntéze proteinu. Kromě toho produkty vzniklé při zušlechťování celulózy jsou vázány na alkalickou komponentu a jejich utilizaci dochází k uvolňování alkalií, které jsou zapotřebí ke korekci hodnoty pH samotného sulfátového výluhu.

Příklady provedení:

Příklad 1

10 m³ odpadní vody ze zušlechťování sulfátové celulózy alkalicko-kyslíkovým způsobem a obsahem 142 kg org. látek, z toho 104 kg hydroxykyselin se upraví pomocí kyseliny sírové na pH 6,0, přidá se 15,25 kg síranu amonného, 4,35 kg 38% kyseliny fosforečné, 1,7 kg síranu draselného a 0,8 kg síranu hořečtaného krystalického. Po

rozpuštění se přidá inokulum kvasničné kultury *Candida utilis* ve formě kvasničného mléka o koncentraci cca 15 % sušiny v takovém množství, aby počáteční koncentrace kvasničné sušiny činila 1,5 g/l média.

Médium se fermentuje při 32 °C po dobu 14 hodin ve fermentoru o objemu 20 m³ s turbínovým aeračním zařízením za současného vhánění komprimovaného vzduchu v množství 5 m³/min.⁻¹. Po celou dobu se udržuje pH na hodnotě 6,0.

Po ukončení fermentace se médium odstředí, získané kvasničné mléko se na další odstředivce propere a usuší na rozprašovací sušárně. Získá se produkt o sušině 94 % s obsahem 55 % hrubého proteinu s koeficientem stravitelnosti 85 % v množství 48,4 kg.

Příklad 2

10 m³ magnesiumbisulfitového výluhu (kyselá varianta varného postupu) ze smrkové dřevné hmoty o obsahu 1450 kg rozpustné sušiny, 115 kg organických látek a 250 kg redukujících látek se vyvařením zbaví volného kyslíčnicku siřičitého z původní hodnoty 950 mg/l na 300 mg/l. Poté se pH koriguje čpavkovou vodou (25 %) na hodnotu 4,5. Takto upravený výluh se smísí s 2 m³ roztoku ze „zušlechtění celulózy alkalicko-kyslíkovým postu-

pem s obsahem 38,5 kg organických látek, z toho 31 kg hydroxykyselin. Po smísení se pH koriguje čpavkovou vodou na hodnotu 6,2, přidá 7,5 kg diamonfosfátu, 6 kg K₂SO₄ a po promíchání převede do fermentoru.

Do média převedeného do fermentoru se přidá inokulum kultury *Candida utilis* ve formě kvasničného mléka v množství 24 kg sušiny tak, že výchozí koncentrace v mediu činí 2 g kvasničné sušiny v jednom litru. Po přidání inokula se fermentuje po dobu 20 hodin při teplotě 32 °C. PH se v průběhu fermentace udržuje na hodnotě 6,0. Jako fermentační systém se použije tank o brutto obsahu 25 m³, opatřený samonasávací turbínou a přívodem vzduchu pod turbínou. Počet otáček 200/min. a vzduchu 10 m³/min.

Po ukončení fermentace se vzniklá biomasa odstředí, dvakrát promyje, thermolysuje a usuší na rozprašovací sušárně.

Využitím směsi obou typů kultivačního média se získá 132 kg produktu 92 % sušiny s obsahem 52 % hrubého proteinu o koeficientu stravitelnosti 80 %.

(Pro srovnání je možno uvést, že fermentací samotného magnesiumbisulfitového výluhu téhož složení se za těchže kultivačních podmínek získá pouze 112 kg produktu téhož složení).

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob výroby mikrobiálních proteinů z odpadů po chemickém zpracování dřevné hmoty, vyznačený tím, že se na kultivačním mediu, kterým jsou po úpravě pH a přidavku živin produkty alkalické neb kyselé hydrolýzy lignocelulózových materiálů podrobené předtím tlakové oxidaci kyslíkem neb kyslík obsahujícím plynem, aerobně fermentují bílkovinatvorné mikroorganizmy rodů *Torulopsis*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Oidium* neb jejich směsi.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačený tím, že kultivační médium, tj. produkty alkalicko-kyslíko-

vé hydrolýzy lignocelulosových materiálů fermentují se společně s kultivačními médii připravenými na bázi sulfitových výluhů, kyselých dřevných hydrogelů a předhydrolyzátorů neb jejich směsí, přičemž se pomocí produktů alkalicko-kyslíkové hydrolýzy lignocelulosových materiálů koriguje pH, a to buď úplně nebo parciálně před anebo v průběhu fermentace.

3. Způsob podle bodu 1 a 2, vyznačený tím, že fermentační proces se vede ve dvou až třech stupních.