

Aceton - butanolové kvašení sulfitových výluhů

VLASTA MALIVÁNKOVÁ

547.264×547.284.3:66315:676.1.022.168

Všechny továrny našeho poměrně rozsáhlého papírenského a celulosového průmyslu produkují kromě vlastních výrobků neustále obrovské množství odpadních látek, které jsou z největší části vypouštěny do řek ve formě odpadních vod. Odpadní látky obsahují velmi cenné suroviny, jejichž využití je však značně obtížné. Tím vznikají dvě nepříznivé skutečnosti: s odpadními látkami ztrácí naše hospodářství tyto suroviny a odpadní vody, často až nesnesitelně znečišťují řeky, čímž opět vznikají národohospodářské ztráty, nehledě k závadám zdravotním, hygienickým a pod.

Využití odpadních látek a čištění odpadních vod

papírenských a celulosových bylo věnováno již mnoho pozornosti u nás i v mnohých jiných státech, nelze však říci, že se dospělo k úplnému a komplexnímu řešení.

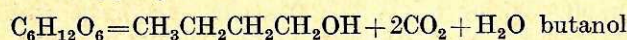
V další části článku je podáván rozbor, postup a výsledky jednoho úseku celkového problému na podkladě zkušeností jednak v SSSR a v jiných státech, jednak vlastního laboratorního a poloprovozního výzkumu.

Jde konkrétně o využití sulfitových výluhů, resp. v nich obsažených cukrů aceton-butanolovým kvašením. Aceton-butanolové kvašení je poměrně mladým průmyslovým odvětvím a jeho rozvoj a praktic-

ké využití souviselo s objevem výroby umělého kaučuku. Jako základní suroviny pro výrobu umělého kaučuku byl používán kromě jiných výchozích látek také butadien, pro nějž byl výchozí látkou butanol. V r. 1913—1914 postavila firma Strange a Graham v Anglii první továrnu na rozpustidla kvasnou cestou. Aceton-butanolové kvašení se dělo ve velkém nejen v Anglii, ale také v SSSR, v Německu, bývalém Rakousko-Uhersku, USA, a to z různých cukernatých a škrobnatých látek. Poptávka po jednotlivých produktech kvašení se řídila podle toho, zda byla válka nebo mír. Ve válečných letech stoupla poptávka po acetonu pro výrobu výbušnin, v mírových dobách se žádal více butanol, který se znamenitě osvědčil jako ředidlo stříkacích laků pro nátery aut.

Butanolové kvašení, stejně jako kvašení máselné, zařazujeme do skupiny kvašení butylového, čímž podle Neubergra označujeme takové biochemické změny, při nichž vznikají látky se čtyřmi atomy uhlíku a které spolu souvisí geneticky.

Při butanolovém kvašení jsou hlavními produkty: aceton, butanol a v malé míře ethanol. Jejich vznik se dá vyjádřit takto:



Kromě těchto hlavních produktů vzniká ještě směs látek průvodních: ethanol, isopropanol, vyšší alkoholy, 2,3 butylen-glykol, acetylmethylkarbinol, kyselina máselná, octová, mléčná, mravenčí, kaprinová. Vznikající látky jsou vesměs technicky velmi důležité a ačkoli je můžeme získat synteticky, uchylujeme se často k jejich výrobě kvasnou cestou, neboť při kvašení se jako výchozí suroviny může použít různých odpadních látek, které lze jinak těžko využít. V našem případě je to sulfitový výluh.

Výtěžky ze 100 kg škrobu jsou: 22,5 kg butanolu,
11,5 kg acetonu,
2,7 kg ethanolu,

(ale také něco isopropanolu, methylethylketonu atd.). 100 dílů konečného produktu obsahuje 62 % butanolu, 30,5 % acetonu, 7,5 % vedlejších produktů.

Biochemie kvašení

Aceton-butanolové kvašení se odlišuje od jiných kvašení ostrou dvoufázností celého procesu. První fáze je kyselinotvorná; kvašení s hromaděním kyselin a druhá fáze je tvorba neutrálních produktů, t. j. acetonu, butanolu a ethanolu. Během první fáze acidita rychle stoupá a maxima dosahuje kolem 20. hodiny (u sulfitového výluhu) a nastává rychlé množení mikrobů. V této době se tvoří kyselina máselná a octová a současně se vyvinuje velké množství plynů, a to kyslíčnicku uhličitého a vodíku. Vývin plynů dosahuje svého maxima o 10 až 12 hodin později než acidita. Největší vylučování plynu nastává po přelomu křivky acidity, po maximu pH substrátu z 5,8 klesá na 5,3 a jen nepatrně se zvyšuje, neboť v substrátu jsou vždy přítomny pufrující látky. Během druhé fáze klesá acidita na 50 % proti kyselosti, kterou měl substrát na konci fáze první a současně se vytvářejí neutrální produkty. Kyselina máselná se redukuje na butanol a kyselina octová na aceton. Na konci kvašení obsahuje substrát

více kyseliny octové než máselné, neboť kyselina máselná se ze substrátu rychleji ztrácí než octová. Druhá fáze je spojena se svéráznou degenerací bakterií, která vede k tomu, že bakterie, které dosáhly určitého počtu, podléhají autolyse a jejich množství se postupně snižuje. Tím se odůvodňuje požadavek, aby se očkovalo těsně po zlomu křivky acidity a nikoli v době, kdy bakterie již z velké části podléhají autolyse. Přídavek kyseliny máselné ke kvasici zápaře zvětší výtěžek butanolu a dodání kyseliny octové množstvím acetonu. Pokusně bylo dokázáno, že přidá-li se aceton v množství nad 2,4 %, brzdí se rozvoj kvašení, kdežto přidá-li se k zápaře butanol, stačí již v množství nad 1,5 %. Tím se dává hranice koncentrace uhlohydrátů, neboť 1,5 % butanolu odpovídá 6 % uhlohydrátů v původní zápaře.

Běchtěrevová laboratorně dokázala, že lze zkvašovat zápaře značně koncentrovanější, odnímá-li se současně vytvářený butanol ricinovým olejem nebo některou jinou látkou. Přídavek uhlíčitanu vápenatého ke kvasné tekutině vede k přerušení tvorby butanolu a acetonu a způsobuje hromadění kyseliny máselné a octové.

Vlastní kvašení

Přípravné práce pro vlastní kvašení se rozpadají na tři části:

1. příprava kultury,
2. příprava zákvasu,
3. úprava sulfitového výluhu pro kvašení samé.

Vedení kultur

Kultury, jichž se používá k výrobě, jsou většinou získávány podle Delbrückova způsobu čistého pěstování. Takto vypěstované kultury se dává přednost před čistou kulturou vypěstovanou z jedné buňky, protože vykazuje stejnoměrně vysoké výtěžky. Dříve se používalo fakultativně anaerobního *Granulobacter pectinovorum* (Weizman), nyní se pracuje s příbuznými druhy, jejichž počet je značný.

Původci aceton-butanolového kvašení nejsou ještě v bakteriální systematice pevně zařazeni. Normální kultura původců aceton-butanolového kvašení jsou malé tyčinky, které se vyvíjejí za podmínek anaerobních. V době, kdy tvoří spóry, vytvářejí značně typická klostridia, která dávají v době růstu jasně vytvářenou granulovanou reakci s jodem.

Tyčinky aceton-butanolového kvašení jsou dlouhé 2—3 μ a 0,5 μ široké a jeví vlastní pohyb. Jodem se barví tmavohnědě a jsou gram pozitivní. Na sladinném agaru vytvářejí povrchové čočkovité kolonie, které jsou mléčně bílé, kompaktní. Hlubkové kolonie roztrhávají agarovou půdu vytvářenými plyny. Jejich růst probíhá rychle, neboť za 18—20 hodin zpravidla dochází ke sporulaci. Isolují se nahromaděním zahradní prsti ze starých brambor nebo ze šrotovaného obilí. Pro pokusy s kvašením sulfitového výluhu byla kultura nahromaděna a vypěstována z kukuričné drti, kde je těchto bakterií poměrně nejvíce. Kultura byla převáděna dvoutunovou pasteurací v bramborové zápaře, za přídavku 10 % upraveného sulfitového výluhu. Spóry jsou vůči teplotě značně odolné, ponoření do vroucí vody na několik minut jim zpravidla neškodí, jen někdy se klíčení spór zpomalí. Zákvasy se musí převádět dříve, než dojde ke sporulaci.

Schopnost a vhodnost kmene pro kvašení se posuzuje podle několika měřítek. Zjišťuje se:

1. délka inkubace zaočkovaného mikrobu,
2. rychlost a hloubka prokvašení,
3. množství vzniklých neutrálních a kyselých látek.

Vhodný kmen je pak ten, který:

1. během 5—8 hodin počíná vyvíjet plyn,
2. za 96 hodin při optimálních podmínkách prokvasí záparu,
3. dává vysoký výtěžek neutrálních látek a malá množství kyselin.

Z počátku byly kultury vedeny v kukuřičné drti nebo na bramborách, později byl přidáván předem upravený sulfitový výluh v množství 10 %. Tímto způsobem byla kultura přivikána na toxické látky obsažené ve výluhu, na příklad furfural. Tento způsob dával po nějakou dobu správné výsledky, ale pak bylo pozorováno, že kultura vlivem přidávaného sulfitového výluhu přestává tvořit při kvašení nejvyšší výsledky rozpustidel, a že naopak dává vyšší množství kyselin. Zeslabenou kulturu bylo nutno nepřetržitým očkovaním regenerovat a vést ji na bramborách nebo na kukuřici. Udržet kultury ve virulentním stavu je stále ještě otevřený problém, třebaže se kultura vede v příznivém prostředí.

Zákvas

Z počátku byl zákvas připravován z brambor, ale tento zákvas nebyl s to vzbudit normální kvašení v zápare ze sulfitových výluhů. Bylo nutno přidávat soli podle Schardingera, t. j. střední fosforečnan draselný, síran amonný, chlorid hořečnatý a stopu kuchyňské soli. Množství růstových látek se zvýší přidávkou kvasničného autolysátu. Použije-li se pro rozkvas brambor, ztrácí kvašení sulfitových výluhů jednu ze svých neocenitelných výhod a to, že je lze provádět po celý rok a ne pouze kampaňově, t. j. v době, kdy jsou brambory zdravé a obsahují dostatek škrobu a růstových látek. Aby provoz mohl být veden po celý rok, byly dělány pokusy tím způsobem, že se zaměnily brambory pro rozkvas jinou surovinou, a to odpadní.

Nejlépe se k tomu osvědčily ricinové výlisky, které jsou odpadem v tukovém průmyslu. Je jich veliké množství a dosud nebyly plně využity. Soly není nutno do zápary přidávat, nebo alespoň ne v tak velkém množství. Kvašení proběhne při teplotě 37—38 °C za čtyři dny, t. j. za 96 hodin. Výtěžky rozpustidel jsou celkem stejné, jako když se na zákvas použije brambor. Sulfitové výluhy, které po úpravě mají 2—3 % cukru (látek redukujících Fehlingův roztok), prokvasily na 70—80 % (výkyv od 60—94 %). Výtěžky na zkvašený cukr:

aceton	10—14 %
butanol	16—20 %
ethanol	2—4 %

Podle analys v laboratoři by se tedy asi 6 kg rozpustidel vytěžilo z 1 m³ sulfitového výluhu. Výtěžek se ještě zvýší, a to na 7 kg rozpustidel z 1 m³, použije-li se pro rozkvas kombinace brambor s ricinovými výlisky.

Zdárny průběh kvašení závisí:

1. na kultuře, která musí být virulentní,
2. na správné úpravě sulfitového výluhu,

3. na teplotě, která nesmí klesnout pod 36 °C a přestoupit 40 °C,
4. výluhy nesmějí obsahovat arsen, jehož přítomnost ve větším množství brzdí zdárny průběh kvašení.

Mezi prováděnými pokusy byla řada zkoušek s přidáváním různých živin a výluh byl upravován různými způsoby. Přidávkou látek obsahujících dusík výtěžek rozpustidel rapidně klesal, zvláště bylo-li použito pro rozkvas ricinových výlisků. Velmi dobře na průběh kvašení působí zakvašení výluhu kvasinkami a po 12 hodinách kvašení znovu sterilace, a po zchlazení definitivní zakvašení butylogenními bakteriemi. Tento postup, třebaže sliboval dobré výsledky, nemohl být vzat v úvahu, protože znamenal velké tepelné ztráty při opětovné sterilaci celého množství zápary.

Úprava sulfitového výluhu

Výluh, aby vůbec kvasil, byl odplynován a úplně zbavován vodní parou furfuralu. K tomuto úkonu je zapotřebí značného množství tepelné energie, a proto se přistoupilo k jiné úpravě sulfitového výluhu.

Výluh se za profoukávání parou ohřeje na teplotu 90 °C a při této teplotě se srazí hydroxydem vápenatým na pH 10,5 a nesfiltrovatelný se saturuje kyslíkem uhlíčitým na pH 7. Po filtraci se pH upraví kyselinou sírovou na pH 5,8—6,0, pak se steriluje. Filtrace je poměrně snadná, neboť sraženina je částečně krystalické povahy vzniklým uhlíčením vápenatým.

Sulfitový výluh má obvykle pH mezi 2,5—3,5 a obsahuje volný i vázaný kyslík siričitý dost značné koncentrace, vápník ve vyměnitelné formě a četné jiné složky v menším množství: kyselinu mravenčí, furfural a kyselinu oxalovou, jež mohou působit na mikroorganismy více méně toxicky. Ligninové součásti působí méně jako toxický činitel, spíše jako substance, jež reaguje s anorganickými živinami prostředí, čímž prostředí o živné látky ochuzuje. Kyselina mravenčí a šťavelová působí na kvašení takto preparovaného výluhu jen nepatrně. Mohou však mít vliv na zkvašování výluhu koncentrace asi nad 15 % sušiny.

Kvašení

Aktivovaná kultura ve zkumavce s kukuřičnou záparou se vneše do zápary pro rozkvas a inkubuje se v thermostatě při 37 °C 18—20 hodin. Druhý den se touto záparou, ve stadiu nejbujnějšího kvašení, zakvasí upravený litr sulfitového výluhu (viz výše). Zakvašení se neděje najednou, nýbrž po částech, aby si bakterie postupně na nové prostředí zvykaly. Kvašení trvá čtyři dny při 37—38 °C, t. j. 96 hodin. Výtěžky se pohybují kolem 7 kg rozpustidel z 1 m³ sulfitového výluhu.

Při maloprovozní zkoušce v jednom našem lihovaru na improvizovaném zařízení se dosáhlo pouze relativně těchto výsledků, absolutně však nikoli. Důvodem byla špatná filtrace sraženého výluhu kalolisu, neboť trvala několik hodin a plachetky na kalolisu se brzy zanášely a během filtrace se trhaly. Tím nastávala hluboká destrukce cukrů, neboť výluh byl dlouho ve styku s vápnem. Relativně se tedy obdrželo 34,4 % rozpustidel ze zkvašeného cukru; protože však množství cukrů rapidně kleslo, byl výtěžek rozpustidel pouze 2,5 kg na 1 m³. První zásilka sulfitových výluhů obsahovala také značná množství arsenu, neboť v celulosce nefungo-

val elektromagnetický třidič, jak jsme později dotazem v závodě zjistili.

Podle dosavadních výsledků je třeba precizovat poznatky získané poloprovozními a laboratorními pokusy takto:

1. nejvhodnější a nejrychlejší způsob srážení výluhu vápnem,
2. zjištění všech vedlejších produktů, vznikajících při kvašení,
3. najít vhodné prostředí, ve kterém by uchovávané kultury neztrácely schopnost produkovat plynule vysoké výtěžky rozpustidel.

Tabulka uvádí výsledky aceton-butanolového kvašení sulfitových výluhů z jehličnatého dřeva.

pokus	původní cukry %	zkvašených cukrů %	celkem rozpustidel mg/l	výtěžek rozpustidel ze zkvašených cukrů %	rozdělení rozpustidel		
					butanol %	ethanol %	aceton %
1	2,55	85,13	7,333	33,81	57,27	5,82	36,91
2	2,34	85,32	6,606	33,06	53,17	11,10	35,73
3	2,51	87,78	7,673	34,80	56,82	8,43	34,75
4	2,33	94,38	6,558	29,84	52,19	6,53	41,28
5	3,01	70,76	6,344	29,77	60,14	17,39	22,47
6	3,05	71,88	8,095	36,94	67,66	5,72	26,62
7	3,40	71,91	6,740	27,56	67,11	10,22	22,67
8	2,45	78,19	7,137	37,27	55,05	18,55	26,40
9	2,54	80,33	6,907	33,82	58,15	20,13	21,72
10	2,59	79,70	6,061	29,35	56,46	7,08	36,46
11	2,43	67,57	6,432	39,22	53,20	6,67	40,13
12	2,46	63,33	6,905	44,32	63,38	6,69	29,93
13	2,30	71,40	5,318	32,44	50,52	11,17	38,31
14	2,59	79,70	6,011	29,35	56,46	7,08	36,46
15	2,65	57,46	5,756	37,74	78,65	8,58	12,77
16	2,93	72,95	8,305	38,79	54,51	3,35	42,14
17	2,52	64,51	5,719	35,18	79,15	3,38	17,47
18	2,16	65,81	5,128	36,03	58,03	5,15	36,82

Srovnáváme-li zkvašování sulfitových výluhů na aceton a butanol se zkvašováním na ethanol, vidíme při bližším rozboru, že aceton-butanolové kvašení je rentabilnější. Je zde totiž i to, že zlepšování kvality vyrobeného sulfitového lihu naráží na značné obtíže. K aceton-butanolovému kvašení se doporučuje používat sulfitového výluhu z bukového dřeva, které obsahuje dvojnásobné množství

redukujících cukrů. Tyto cukry jsou zkvasitelné v malé míře na lžh, neboť převážnou jejich část tvoří pentosy a hlavně xylosy, které kvasinky nezvyšují. Butylogenní bakterie zvyšují však různé druhy cukrů a mezi nimi i pentosy a xylosy. Kvasné produkty se získají normální, je však třeba vhodně upravit destilaci. Při kvašení na rozpustidla je nutno pečlivě dbát čistoty a udržovat teplotu stále na optimální výši. Butanolové kvašení je na tyto podmínky mnohem citlivější než kvašení lihové a infekce vzniká při kvašení je zpomaluje a nezřídka zastaví. Vážnou otázkou je udržování virulence kultur na nejvyšším stupni, aby výroba dávala vysoké a hlavně stejnoměrné výsledky. Tepelné bilance by byly značně příznivější, kdyby se na příklad přidávaly k sulfitovému výluhu předhydrolyzáty, aby se koncentrace cukrů zvedla na 6—8 %, což je síla záparů obvyklá při butanolovém kvašení.

Úplné zvládnutí problému a zavedení do našeho průmyslu by mohlo mít značný význam s národohospodářského hlediska, neboť by se využilo odpadních surovin a získaly látky důležité pro různá odvětví průmyslu. Chemická výroba by se obohatila o výchozí produkty pro výrobu dalších důležitých látek.

Literatura

- [1] Šapošnikov: Technická mikrobiologie, Moskva, 1948.
- [2] Fedorov: Mikrobiologie, Moskva, 1949.
- [3] Kaškin: Mikrobiologie, Moskva, 1949.
- [4] Vogel: Sulfitzellstoffablaugen, Basel, 1948.
- [5] Patentní spis č. 635572 I. G. Farben (1936).
- [6] Bernauer: Gärungsschem'sches Praktikum.
- [7] Wiley, Johnson, Mc Coy, Peterson: Acetone-Butyl Alcohol, Ing. Eng. Chemistry 33 (1941), č. 5, 606.
- [8] Schoeder: Verwertung der Sulfitaugen durch Vergärung auf Aceton-Butanol mittels Butylbakterien. Wochenblatt für Papierfabrikation, No 2, Ende Januar 1953.
- [9] Šarkov: Gidroliznoe proizvodstvo, Moskva, 1950.
- [10] Boríšek, Šála, Svatoň: Sulfitové výluhy a jejich zužitkování, Praha, 1953.
- [11] Schoedler: Das Papier 8 (1954), č. 23/24.
- [12] Prescott, Dunn: Industrial Mikrobiology, 1949.