

Kultivace kvasinek na kalcium bisulfitových výluzích v kombinaci se syntetickým etanolem v pokusném fermentoru VB-IZ s ponořeným paprskem

663.132
663.14.031.236

Ing. MOJMÍR RYCHTERA, CSc., Vysoká škola chemicko-technologická, Praha,
Dipl. Ing. GUSTAV PANUSCHKA, Dipl. Ing. HANS FISCHER, Vogelbusch, GmbH, Wien,
Ing. JANA VERNEROVÁ, CSc., Výzkumný ústav krmivářského průmyslu a služeb, Praha

Zajištění dostatečného množství bílkovin pro výživu rychle rostoucího počtu obyvatelstva stojí neustále v popředí zájmu mnoha výzkumných pracovišť, institucí, průmyslových a zemědělských závodů. Způsob, jakým má být tohoto cíle dosaženo, se podstatně liší podle přírodních a průmyslových možností jednotlivých států. V ČSSR a některých jiných státech se zcela reálně uvažuje o zpracování a využití lignin-celulózových odpadů k výrobě mikrobiálních proteinů. K těmto odpadům, které slouží jako suroviny pro mikrobiologický průmysl, možno zařadit i sulfitové výluhy, jejichž zpracováním se z hospodárni nejen využít původní suroviny — dřeva, ale lze tak ušetřit i devizové prostředky jinak potřebné na nákup nedostatkových zdrojů bílkovin.

Sulfitové výluhy jsou velmi komplexní médium, při jejichž mikrobiální utilizaci se setkáváme s řadou problémů teoretických i praktických. Výroba sulfitové celulózy je známa již delší dobu [1] a rovněž i aplikace mikrobiologických postupů není nová. Již téměř před 40 lety byly vypracovány postupy ke zpracování sulfitových výluhů ve velkém měřítku. Práce *Finka* a spolupracovníků tvoří základ pro mikrobiologické zpracování výluhů ještě dnes [2–4]. Velké možnosti ke zvýšení výtěžnosti kvasničné biomasy nejsou zcela vyčerpány, neboť ve většině závodů se pohlíží na sulfitový výluh jako na odpad a ne jako na využitelnou surovinu. V průmyslu papíru a celulózy je a bude celulóza primárním výrobkem. To ovšem neznamená, že není možno výrobní proces optimalizovat, a to zvláště při přechodu na nové, efektivnější technologie jak z hlediska výroby celulózy, tak z hlediska složení výluhů, příznivějšího pro následné biologické využití.

Původní, u nás ještě používaný, kalcium-bisulfitový způsob se postupně nahrazuje progresivnějšími technologiemi, jimiž se dosahuje vyšších výtěžků celulózy, nižšího znečištění prostředí a možnosti regenerace chemikálií. *Bárta* [5] rozděluje sulfitové způsoby vaření takto:

1. Vaření kyselé v oblasti pH 1,5 až 3 (Ca-, Mg-, Na-). Získané výluhy jsou vhodné pro mikrobiální využití.
2. Polokyselý způsob (Mg- a Na-) se provádí při pH 4 až 5. Výtěžnost biomasy je však nižší než v předcházejícím způsobu a výroba je obtížnější.

3. Dvoustupňové vaření (Mg- a Na-). První stupeň je veden při pH 4,5, druhý při pH 1,8. Výluhy takto získané jsou použitelné pro mikrobiální produkci SCP.

Kromě těchto postupů existuje ještě řada sulfitových a sulfátových procesů. Těmito změnami v procesu vaření vznikají nová a pro fermentační technologii ne příliš prozkoumaná média. Omezíme-li vliv inhibičních látek sulfitových výluhů některými známými způsoby, ukazuje se, že koncentrace látek asimilovatelných mikroorganismy je nízká [obvykle nepřekračuje hodnoty 40 g redukcujících látek — RL — v litru]. Před deseti a více lety a někde ještě i nyní se nehledí příliš na ekonomický

koeficient, který je představován množstvím biomasy vzniklé utilizací vstupujícího substrátu. Zvláště při zavádění nových výkonných fermentorů je nutné dbát na to, aby se maximálně využila jejich kapacita. Při nízkých koncentracích substrátu se využije jejich účinnost pouze částečně a nelze dosáhnout při kontinuálním způsobu maximální ekonomické produktivity (vysoká hodnota zředovací rychlosti, vysoká koncentrace biomasy ve výtoku, vysoká výtěžnost biomasy, povolená koncentrace zbytkových asimilovatelných látek apod.). Netřeba ani mluvit o vyšších energetických nákladech na kultivace v médiích s nízkou koncentrací substrátu.

Existuje několik možností zvýšení asimilovatelných látek v médiu:

1. Přidáním dalšího vhodného asimilovatelného zdroje [např. kyseliny octové [6], syntetického etanolu [7] aj.].

2. Snížením obsahu neasimilovatelných oligosacharidů a polysacharidů dodatečnou hydrolyzou [např. 0,4 až 7,4 % H_2SO_4 při teplotě 80 až 85 °C se za 2 hodiny zvýší RL o 4 až 22 % [8]].

3. Přidáním některých růstových látek, jako jsou kvasničný autolyzát, obilné a sladové extrakty, hydrolyzáty mořských řas apod. Tímto způsobem lze zvýšit výtěžnostní koeficient např. o 5 až 6 %, zvýšit specifickou růstovou rychlost apod. [9].

4. Použitím nových mikrobiálních kmenů, především však směsných kultur, které se vyznačují širokým asimilačním spektrem, rychlejším růstem, vyššími výtěžnostmi aj. [10–12].

Z těchto hledisek se vycházelo při návrhu nového způsobu společné utilizace sulfitových výluhů a syntetického etanolu [7]. Syntetický etanol představuje pro výrobu kvasničné biomasy látku velmi dobře asimilovatelnou, dobře skladovatelnou a lehce transportovatelnou. Na rozdíl od většiny petrochemických surovin se vyznačuje i nižšími nároky na spotřebu kyslíku a nižší produkcí tepla při biochemickém pochodu [13]. Asimilace etanolu různými druhy bakterií, kvasinek a plísní byla intenzivně studována již v minulém století. V mikrobiologické literatuře lze najít velké množství mikroorganismů schopných utilizovat etanol. Přehled o nich podává např. *Kvasnikov a kol.* [14]. Z technologického a ekonomického hlediska je v první řadě důležité vybrat ty mikroorganismy, jejichž vlastnosti jsou stálé, zaručují vysokou růstovou rychlost, vysoký výtěžnostní koeficient a jsou přijatelné z hlediska hygienického a zdravotního. Detailnější podmínky syntézy biomasy z etanolu jsou předmětem mnoha patentů a průmyslové literatury [15–21]. Při řešení problematiky průmyslového využití syntetického etanolu se v ČSSR udělalo dosti práce [13, 22].

Společné využití sulfitových výluhů a etanolu vykazuje obecně výhody i nevýhody kultivací na směsných substrátech. V tomto případě může být katabolická re-

Tabulka 1. Složení kalciumbisulfitového výluhu

Měrná hmotnost (20°C)	1 067 kg.m ⁻³
pH	3,45
Těkavé kyseliny (jako kyselina octová)	3,5 kg.m ⁻³
Celkové redukující látky (jako glukosa)	48,9 kg.m ⁻³
Kyslíčník siričitý celkový	3,9 kg.m ⁻³
Kyslíčník siričitý volný	0,45 kg.m ⁻³
Furfural	0,60 kg.m ⁻³
Sušina (105°C)	166 kg.m ⁻³
Aldonové kyseliny (jako kyselina manonová)	8,4 kg.m ⁻³
Xylósa + arabinosa	15,2 kg.m ⁻³

Tabulka 2. Složení surového syntetického etanolu

Hustota (20 °C)	811,6 kg.m ⁻³
Etanol	95,3 obj. %
Kyseliny (jako kyselina octová)	5,0 kg.m ⁻³
Acetaldehyd	0,12 %
Diethyleter	1,72 %

prese spolu s konkurenčními vztahy při transportních pochodech jedním z nejúčinnějších regulačních mechanismů při syntéze klíčových enzymů [23]. Diauxické či polyauxické chování pozorovatelné při jednorázové kultivaci nemusí vždy v kontinuální kultuře vést k odpovídajícím dynamickým prodlévám [24]. Diauxický lag je relativním měřítkem adaptační rychlosti mikroorganismů k druhému uhlíkatému zdroji a projevuje se většinou při vyšších zředovacích rychlostech. Na základě některých nedávných prací se ukázalo, že v přechodové oblasti, tj. mezi přítokem etanolového média a glukózo-ového média, jde o kratší induktivní fázi než při opačném sledu přítoků substrátů [25]. Byly studovány i jiné dvojice změn např. etanol—kyselina octová [25]. Ukazuje se, že při současné utilizaci etanolu a sulfitového výluhu nevznikají při normálním procesu potíže z hlediska horší využitelnosti etanolu a naopak. Existují dokonce důkazy o lepším využití RL při určitých koncentracích etanolu [26]. Při výrobě biomasy ze surovin obsahujících vyšší koncentraci asimilovatelných zdrojů

se výrazně uplatní vlastní větrací a míchací zařízení fermentoru. Hodnocení musí být provedeno z nejbližších pohledů, avšak vždy se zřetelem na měřítko zařízení.

Cílem naší práce bylo navázat na experimenty prováděné v Ústavu experimentální botaniky ČSAV, na katedře kvasné chemie a technologie VŠCHT v Praze a v oddělení fermentačních výrob Výzkumného ústavu krmivářského průmyslu a služeb, podle kterých byly provedeny ověřovací zkoušky v poloprovozním měřítku na Mikrobiologickém ústavu ETH v Zürichu v roce 1975. Výsledky pokusů byly publikovány [27]. V nich se potvrdilo, že při společné utilizaci sulfitových výluhů (o koncentraci RL 35 kg.m⁻³) a syntetického etanolu (o koncentraci kolem 25 kg.m⁻³ v přítoku) jsou všechny asimilovatelné C-zdroje s výjimkou L-arabinosy velmi dobře využity. Další přídavek etanolu v závislosti na použité zředovací rychlosti je možný, ale jeho obsah v odtékajícím médiu by neměl být větší než 0,5 kg.m⁻³ a obsah D-xylózy musí být nulový. Při koncentraci etanolu v přítoku 70 kg.m⁻³ a při D = 0,2 h⁻¹ došlo však již k totálnímu vyplavení kvasinek ze systému. Pokusy byly provedeny v 200litrovém fermentoru Chemap.

Úkolem tohoto článku je podat hodnocení poloprovozních pokusů na pokusném fermentoru VB-IZ („Tauchstrahl“*, „Deep-jet“, systém s ponořeným paprskem), o jehož konstrukčních zvláštnostech a funkci bylo zevrubně referováno [28]. Pokusné zařízení má celkový objem 400 l, což odpovídá při běžných podmínkách objemu kapalně fáze kolem 200 l. Schéma zařízení je znázorněno na obr. 1.

Pokusy byly provedeny v r. 1977 u firmy Vogelbusch GmbH ve Vídni. Fermentor byl opatřen automatickou regulací teploty, pH, měřením kyslíku a kyslíčníku uhlíkatého v plynu, regulací objemu kapaliny ve fermentoru, měřením průtoku vzduchu, chladicí kapaliny a média. Dynamické měření etanolu bylo prováděno přístro-

* Podle licence VEB IZ, Böhlen, NDR

Tabulka 3. Výsledky analýzy ustálených stavů kontinuální kultivace kvasinek na kalciumbisulfitovém výluhu

Číslo	Parametr	Pokusy				
		1	2	3	4	5
1	S_0 (kg.m ⁻³), vstupní koncentrace RL v médiu	31,0	31,4	31,5	32,0	31,0
2	E_0 (kg.m ⁻³), vstupní koncentrace etanolu	0	0	0	0	0
3	V (m ³), objem kapaliny ve fermentoru	0,205	0,212	0,200	0,210	0,165
4	D (h ⁻¹), zředovací rychlost	0,27	0,31	0,38	0,36	0,41
5	\bar{X} (kg.m ⁻³), rovnovážná koncentrace biomasy	13,0	13,4	14,7	14,7	14,5
6	\bar{S} (kg.m ⁻³), rovnovážná koncentrace RL	6,8	4,8	4,3	5,4	5,2
7	\bar{E} (kg.m ⁻³), rovnovážná koncentrace etanolu	0	0	0	0	0
8	p (kg.m ⁻³ .h ⁻¹), produktivita systému, $p = D \cdot \bar{X}$	0	0	0	0	0
9	$Y_{X/S}$, výťažnost biomasy	3,51	4,15	5,59	5,30	5,94
	a) $Y_{X/S} = \bar{X}/S_0$, resp. $Y_{X/S} = \bar{X}/(S_0 + E_0)$	0,42	0,43	0,47	0,46	0,47
	b) $Y_{X/S} = \bar{X}/(\bar{S} - \bar{S}_0)$, resp. $Y_{X/S} = \bar{X}/[\bar{S}_0 + E_0 - (\bar{E} + \bar{S})]$	0,54	0,50	0,54	0,55	0,56
10	\dot{V}_G , průtok vzduchu (m ³ vzduchu.m ⁻³ kapaliny.min ⁻¹)	1,22	1,18	1,75	1,2	1,5
11	C_L (% nasycení), koncentrace rozpuštěného kyslíku	62	46	42	40	48
12	kg O ₂ (kg biomasy.h) ⁻¹ , specifická rychlost spotřeby kyslíku	0,29	0,36	0,42	0,38	0,43
13	$Y_{O_2/X}$ (kg O ₂ .(kg biomasy) ⁻¹), specifická spotřeba kyslíku	1,07	1,14	1,08	1,06	1,05
14	$K_L a$ (h ⁻¹), objemový součinitel přestupu hmoty, $K_L a = q_{O_2} \cdot \bar{X}/(C^* - C_L)$	1 360	1 235	1 450	1 300	1 600
15	RQ , respirační kvocient	1,01	1,01	1,00	0,99	1,0
16	a) ΔO_2 , úbytek kyslíku (obj. %)	3,65	4,85	4,1	5,50	5,0
	b) ΔCO_2 , přírůstek CO ₂ (obj. %)	3,7	4,9	4,1	5,45	4,9
17	OP , Spotřeba odpěňovacího prostředku (ml.kg ⁻¹ biomasy)	1,37	3,4	5,2	4,5	0
18	Využití kyslíku (%)	17,4	23,0	19,5	26,1	23,1
Analýza odseparovaného média						
19	Volný SO ₂ (g.m ⁻³)	300	270	—	280	—
20	Popel (kg.m ⁻³)	—	15,2	—	15,4	—
21	Sušina (kg.m ⁻³)	90,8	91,7	—	92,4	—
22	Papírová chromatografie cukrů	—	—	stopy arabinosy	stopy arabinosy	—
23	L-arabinosa (kg.m ⁻³)	—	0,51	0,51	0,4	0,5

Tabulka 4. Výsledky analýzy ustálených stavů kontinuální kultivace kvasinek na kalcium bisulfidovém výluhu s pří-
davkem syntetického etanolu (Význam symbolů viz tabulka 3)

Číslo	Parametr	Pokus						
		1	2	3	4	5	6	7
1	S_0	31,0	32,1	32,1	32,1	31,9	31,7	31,7
2	E_0	7,5	16,3	16,3	26,46	26,4	26,4	26,4
3	V	0,210	0,200	0,170	0,205	0,179	0,195	0,171
4	D	0,338	0,380	0,332	0,246	0,287	0,320	0,330
5	\bar{X}	20,2	28,0	27,4	31,9	31,9	32,1	32,6
6	\bar{S}	4,9	5,3	4,7	4,8	5,1	5,2	5,3
7	\bar{E}	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,32	0,4
8	P	6,83	10,64	9,1	7,85	9,15	10,27	10,76
9	$Y_{X/S}$ a) b)	0,52 0,60	0,58 0,65	0,57 0,63	0,54 0,59	0,55 0,60	0,55 0,61	0,56 0,62
10	\bar{V}_g	1,58	3,33	3,43	3,25	3,80	3,85	4,4
11	CL	14	5,5	10,0	6,5	6,0	5,5	5,5
12	Q_{O_2}	0,38	0,41	0,43	0,37	0,39	0,40	0,43
13	$Y_{O_2/X}$	1,13	1,07	1,29	1,47	1,37	1,25	1,33
14	$K_L a$	1 232	1 655	1 786	1 713	1 830	1 865	2 058
15	RQ	0,89	0,70	0,72	0,64	0,66	0,64	0,63
16	a) AO_2 b) ACO_2	5,7 5,1	4,0 2,8	4,0 2,9	4,2 2,7	3,85 2,55	3,9 2,5	3,8 2,4
17	OP	5,0	3,4	0,0	5,1	3,7	3,3	0,0
18	Využití kyslíku	27,1	19,0	19,0	20,0	18,3	18,6	18,1

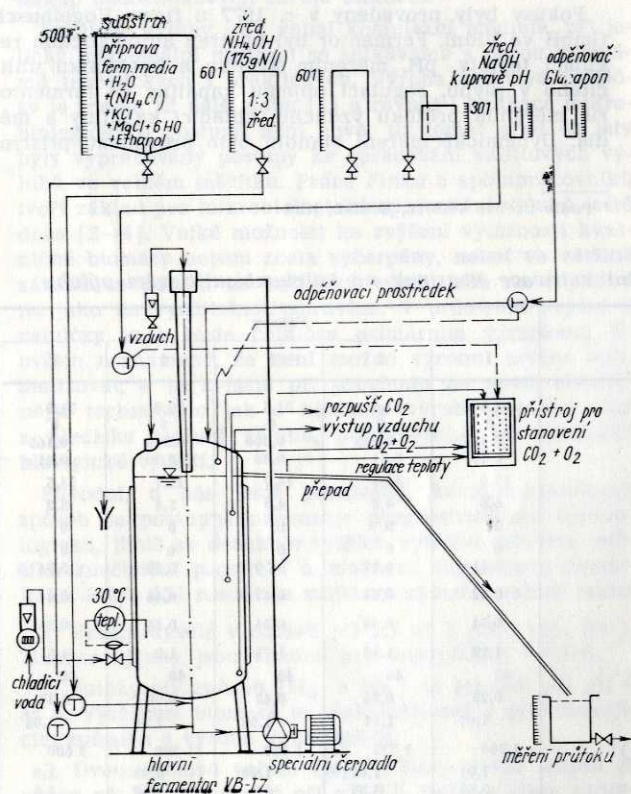
Analýza odseparovaného média								
19	SO_2	—	—	—	275	—	—	280
20	Popel	—	—	—	15,8	—	—	—
21	Sušina	—	97,8	100,0	98,2	98,5	99,5	99,5
22	Cukry, papírová chromatografie	arabinosa. stopy 0,43	arabinosa stopy	arabinosa stopy 0,44	arabinosa stopy 0,41	arabinosa stopy 0,50	arabinosa stopy 0,51	arabinosa stopy 0,53
23	L-arabinosa	—	—	—	—	—	—	—

Jeho složení udává tabulka 2.

Jako anorganických živin bylo použito čistých nebo technických chemikálií: NH_4Cl , NH_4OH (175 g N/l), KCl , $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, H_3PO_4 (50 %). K chemickému odpěňování byl použit odpěňovací olej Glanapon 2000 konc., výrobek firmy Busseti & Co. GmbH, Vídeň. Živení bylo počítáno obvyklým způsobem. Výchozí výluh byl ředěn na sušinu $110 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ vzhledem ke srovnatelnosti výsledků s předcházejícími pokusy [27]. Jako mikroorganismu byla použita kvasničná provozní kultura ve formě pasty z Vratimovských papíren, která obsahuje směs *Candidy utilis* a *Canadidy tropicalis*. Poměr těchto dvou druhů kvasinek se řídí průtokovou rychlostí média a koncentrací redukujících látek a etanolu. Díky dobré kvalitě násadního droždí se podařilo lag fázi velmi podstatně zkrátit. Většina stanovení byla prováděna běžnými analytickými metodami: redukující látky metodou Luff-Schoorlovou, etanol byl stanoven plynovou chromatografií na přístroji Perkin Elmer F6 (kolona $3 \text{ m} \times 4 \text{ mm}$, náplň 0,4 % Carbowax 1500 na Carbowax A, teplota 90°C , nosný plyn N_2 , 17 ml/min, plamenionizační detektor). Aldonové kyseliny byly stanoveny po oddělení cukrů na koloně Dowex 1X8 v acátovém pufru a vytěsněním aldonoých kyselin 0,5 N kyselinou octovou. Stanovení bylo provedeno kolorimetricky po reakci s jodistanovým činidlem [29]. D-xyulóza byla stanovena orcinovou mikrometodou [30]. Všechny pokusy byly prováděny v kontinuálním procesu bez přerušení, jak ukazují tabulky 3 a 4. Rozbor produktu je uveden v tab. 5 a 6.

Stručné hodnocení výsledků

Při pokusech na čistém sulfidovém výluhu se celková výtěžnost biomasy v závislosti na zředovací rychlosti (v rozmezí od $0,27 \text{ h}^{-1}$ do $0,41 \text{ h}^{-1}$) měnila v průběhu fermentace jen nepatrně. Maximální výtěžnosti vztahované na využití RL bylo dosaženo při $D = 0,41 \text{ h}^{-1}$ ($Y_{X/S} = 0,56$). Při kombinaci sulfidového výluhu se syntetickým etanolem vzrůstají výtěžnostní koeficienty s rostoucím obsahem etanolu. Výtěžnostní koeficient byl v tomto případě vztahován na oba substráty, resp. úbytek obou sub-



Obr. 1 Schéma pokusné fermentační stanice

jem GS-2 vyvinutým u firmy Vogelbusch. Reprezentativní vzorek kvasinek byl získán odstředěním na separátorech Westfalia DA05, kvasničné mléko bylo několikrát promýto a bez termolýzy usušeno v rozprašovací sušárně Niro. Médium bylo připraveno ze sulfidových výluhů (Jihočeské papírny, n. p., Větrní), jejichž složení je uvedeno v tabulce 1. Surový syntetický etanol byl dodán z Chemických závodů ČSSP v Záluží v Krušných horách.

Tabulka 5. Základní rozbor biomasy

Analýza	Sulfitový výluh		Sulfitový výluh s etanolem	
	ve vzorku (%)	v sušině (%)	ve vzorku (%)	v sušině (%)
Voda	5,84	—	6,53	—
Sušina	94,16	100,0	93,47	100,0
Dusíkaté látky ($N \times 6,25$)	56,99	60,52	52,77	56,45
Tuk po hydrolyze	6,14	6,52	7,45	7,97
Popel	9,09	9,65	7,87	8,42
Stravitelné dusíkaté látky in vitro	38,61	41,00	32,62	34,90
Vápník	0,72	0,76	0,67	0,72
Fosfor	1,74	1,85	1,50	1,60
Síra	0,14	0,15	0,17	0,18
pH	5,4	—	5,5	—
Bílkovina podle Barnsteina	51,85	55,06	47,62	50,95
Stravitelná bílkovina	33,47	35,54	27,47	29,39

Pozn.: Analýzy provedeny Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským v Praze.

Tabulka 6. Aminokyselinové složení biomasy

Aminokyselina	Sulfitový výluh		Sulfitový výluh s etanolem	
	v sušině (%)	v bílkovině (%)	v sušině (%)	v bílkovině (%)
Asparagová kyselina	4,79	7,92	4,81	0,52
Threonin	2,73	4,51	2,87	5,08
Serin	2,64	4,37	2,65	4,70
Glutamová kyselina	6,62	10,94	7,18	12,72
Prolin	1,91	3,16	2,00	3,55
Glycin	2,45	4,05	2,45	4,33
α -alanin	3,28	5,43	3,27	5,79
Valin	3,14	5,20	3,01	5,33
Methionin (po kyselé hydrolyze)	0,71	1,17	0,72	1,28
Isoleucin	2,56	4,22	2,55	4,52
Leucin	4,00	6,61	4,17	7,39
Tyrosin	2,00	3,31	2,05	3,63
Fenylalanin	2,40	3,96	2,42	4,30
Lysin	4,63	7,69	4,30	7,62
Histidin	1,68	2,77	1,40	2,48
Arginin	3,10	5,13	3,05	5,40

Pozn.: Analýzy provedeny Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským v Praze.

strátů. Maximální hodnoty výtěžnostního koeficientu bylo dosaženo při poměru $(S_0 - \bar{S}) : E_0 = 1,7$.

Koncentrace biomasy se měnila na čistém sulfitovém výluhu v rozmezí uvedených zředovacích rychlostí velmi málo ($13-14,7 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$). Maximální hodnoty bylo dosaženo při $D = 0,38 \text{ h}^{-1}$. Při kultivaci na směsném substrátu dosáhla koncentrace biomasy maximální hodnoty při $D = 0,33 \text{ h}^{-1}$ a při poměru $\Delta S : E_0 = 1$.

Produktivita systému je jednou z důležitých charakteristik systému. Její hodnota vzrůstá se zředovací rychlostí. Podrobná závislost nebyla v naší práci prověřena. U sulfitových výluhů bylo dosaženo při $D = 0,41 \text{ h}^{-1}$ produktivity $6 \text{ kg biomasy} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$. Při kultivaci na směsi s etanolem dosáhla produktivity při $D = 0,33-0,34 \text{ h}^{-1}$ těchto hodnot:

$$p = 6,83 \text{ pro } (S_0 - \bar{S}) : E_0 = 3,45,$$

$$p = 9,1 \text{ pro } (S_0 - \bar{S}) : E_0 = 1,7,$$

$$p = 10,76 \text{ pro } (S_0 - \bar{S}) : E_0 = 1.$$

Ve všech případech byla koncentrace zbytkových RL přibližně rovna $5,0 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$. Kromě stanovení D-xylozy bylo kontrolováno kvalitativní složení cukrů fermentačního média, aby se nezvýšil obsah D-xylozy, jejíž koncentrace má být při správném technologickém režimu nulová. Obsah L-arabinózy byl prakticky $0,5 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$. Zbytkový obsah etanolu v odstředěném médiu byl nižší než $0,08 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$. Pouze při poměru $(S_0 - \bar{S}) : E_0 = 1$ a $D = 0,32 \text{ h}^{-1}$, resp. $0,33 \text{ h}^{-1}$ byl zjištěn „zvýšený“ obsah etanolu $0,32 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$, resp. $0,4 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$. V čistém sulfitovém výluhu poklesla koncentrace rozpuštěného

kyslíku za uvedených podmínek maximálně o 60 %, vezmeme-li 100 % jako počátek vsádkové fermentace. Přidáme-li do výluhu etanol, vzrůstá hodnota $Y_{O/x}$ (specifické spotřeby kyslíku), takže koncentrace rozpuštěného kyslíku při poměru $(S_0 - \bar{S}) : E_0 = 1$ je právě hranice kritické koncentrace kyslíku. Pokusné zařízení VB-IZ má další možnost zvýšit průtok přísávaného vzduchu, tj. např. z používané hodnoty $45 \text{ Nm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ až na $60 \text{ Nm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, čímž lze zvýšit dále produktivitu systému. Využití vzduchu bude však nižší. Tyto předpoklady byly dokázány při jiných příležitostech pracovníky firmy Vogelbusch, např. při pokusech na melase, n-alkánech a sulfitových výluhách. Specifická spotřeba kyslíku — $Y_{O/x}$ — je pro sulfitové výluhy a experimentální podmínky nezávislá na zředovací rychlosti a rovná se přibližně $1,11 \text{ kg kyslíku na kg produkované biomasy}$. Přídavkem etanolu se s rostoucím množstvím etanolu tato hodnota zvyšuje a při poměru $(S_0 - \bar{S}) : E_0 = 1$ dosahuje hodnoty 1,3. Respirační kvocient RQ je v daném rozmezí zředovacích rychlostí a při použití pouze sulfitových výluhů prakticky rovný 1; v kombinaci s etanolem tato hodnota klesá s rostoucí koncentrací etanolu a při poměru $(S_0 - \bar{S}) : E_0 = 1$ se rovná 0,63. Specifická rychlost spotřeby kyslíku q_{O_2} — se s rostoucí koncentrací etanolu či zředovací rychlosti zvyšuje z hodnoty 0,29 na $0,43 \text{ kg O}_2 \cdot (\text{kg biomasy})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$.

Hodnoty objemového součinitele přenosu kyslíku K_{La} považujeme pouze za orientační údaj. Jeho stanovení bilanční metodou je zdrojem určitých a často diskutovaných chyb. Především jsou způsobeny velikostí jmenovatele výrazu $K_{La} = q_{O_2} \cdot \bar{X} / (C^* - C_L)$, který nezávisí pouze na aktuální koncentraci C_L , ale i na velikosti C^* , tj. rovnovážné koncentraci kyslíku v médiu bez buněk. Hodnoty K_{La} vzrůstají s rostoucí koncentrací etanolu, což souvisí s vysokou koncentrací biomasy a vysokou spotřebou kyslíku. Tuto hodnotu ovlivňuje však rovnovážné složení média a dosti výrazně se mění. Kromě toho je výraz ovlivněn i množstvím použitého odpěňovacího prostředku, jehož spotřeba se pohybovala kolem 4 l Glanaponu 2000 konc. na 1 tunu biomasy. Zařízení je možno použít i bez přídavku odpěňovacího prostředku, přičemž se sníží účinný objem fermentoru pouze o 12 až 21 % a současně se zvýší i K_{La} až o 10 %. Hodnoty využití kyslíku jsou u většiny laboratorních, čtvrtprovozních a poloprovozních zařízení nižší než u provozních jednotek. Hodnoty pro sulfitové výluhy vykazují nepatrné zvyšování se zředovací rychlostí. Průměrná hodnota konečných pokusů pro $D = 0,37 \text{ h}^{-1}$ je 23 %. Při kombinaci s etanolem klesá využití kyslíku s růstem koncentrace etanolu v přítoku. Pro konečné pokusy, tj. pro poměr $(S_0 - \bar{S}) : E_0 = 1$ je využití kyslíku 18,4 %. Na rozdíl od míchaných systémů není množství dodávaného vzduchu proporcionální spotřebě energie. Nasávaná množství vzduchu jsou dosti velká a odpovídají u sulfitového výluhu 1,18–1,75 VVM a pro směs s etanolem v poměru $(S_0 - \bar{S}) : E_0 = 1$ je tato hodnota rovna 3,25 až 4,4 VVM. Vysoká spotřeba vzduchu je spojena s nižším využitím kyslíku.

Často diskutovaným parametrem fermentačních zařízení je spotřeba energie vztažená na jednotku množství spotřebovaného kyslíku či na jednotku objemu. V našich experimentech nebyla tato otázka sledována. Na základě dřívějších prací pracovníků firmy Vogelbusch je spotřeba energie na tomto pokusném zařízení 1,75–2,0 kWh./kg O_2^{-1} . S rostoucím objemem fermentoru tyto hodnoty klesají. V pokusném zařízení projde cirkulačním čerpadlem 5,5 objemu systému kapalina—vzduch za minutu.

Pokusné zařízení ukázalo velmi dobré vlastnosti, a to jak při zpracování sulfitového výluhu samotného či ve směsi se syntetickým etanolem. Dosažené výsledky po-

tvrdily možnost společné utilizace sulfitového výluhu o vstupní koncentraci $RL\ 35\text{ kg.m}^{-3}$ a syntetického etanolu o vstupní koncentraci 26 kg.m^{-3} při zředovací rychlosti až $0,33\text{ h}^{-1}$ ve fermentorech VB-IZ. Výsledky fermentačních pokusů získané na pokusném zařízení potvrdily naše dřívější zjištění [27]. Studovaný fermentační systém má dobré odpěňovací vlastnosti, které jsou určovány částečně odpěňovacími schopnostmi cirkulačního čerpadla a částečně účinkem rychle vytékající kapaliny.

Literatura

- [1] SANYER, N., CHIDESTER, G. H.: The Chemistry of Wood, Eiley, New York, 1963, s. 441
- [2] FINK, H., LECHNER, R., ILLIG, R.: Vorratspflege u. Lebensmittelforsch. **5**, 1942, s. 100
- [3] FINK, H., LECHNER, R.: Z. Spiritusind. **62**, 1939, s. 251
- [4] FINK, H., LECHNER, R.: Angew. Chem. **49**, 1936, s. 775
- [5] BARTA J. a kol.: Závěrečná zpráva dílčího úkolu P-08-322-030, ÚEB-ČSAV, Praha 1977
- [6] KVASNIKOV E. I., TEVELEVIČ M. V., PANTJUŠINA L. P., KOZUBENKO O. V.: Mikrob. ž. (Ukr.) **37**, 1975, s. 284
- [7] MOSTECKÝ J. a kol.: AO 174431, 1976
- [8] IVANOVA V. M.: Gidroliz. Lesochim. Prom., 1976, č. 1, s. 21
- [9] KVASNIKOV E. I., TEVELEVIČ M. B., PANTJUŠINA L. P., SADJACHMATOV V.: Mikrob. ž. (Ukr.) **38**, 1976, s. 1960
- [10] CAMHI J. D., ROGERS P. L.: J. Ferment. Technol. (Jap.) **54**, 1976, s. 437
- [11] Process Biochem. **8**, 1973 s. 19, 24
- [12] KARCZEWSKA H.: Pr. Inst. Badaw. Les. **358**, 1968, s. 85
- [13] LASKIN A. I.: Biotechnol. Bioeng. Symp. **7**, 1977, s. 91
- [14] KVASNIKOV E. I., KOTLJAR A. N., VASILJEVA Z. A., NAGORNAJA S. S.: Mikrob. ž. (Ukr.) **38**, 1976, s. 108
- [15] LINDQUIST R. H.: US Pat. 3954561, 1976
- [16] URAKAMI T., GOTO K.: Japan. Kokai 75 157583, 1975
- [17] GARRIDO M. J.: Span. Pat. 407 704, 1975
- [18] SCHICK J. H., GARRIDO M. J.: Ger. Offen. 2700698, 1978
- [19] VERNEROVÁ J., ROSA M.: AO 109 658, 1964
- [20] ADÁMEK L., ŠTROS F., ŠVOJGR M., HAUSER K., PROKOP A.: AO 158 991, 1975
- [21] OZAKI A.: SCP No Seisan To Riyo 1975, s. 53
- [22] MADRON F., RUT M., ŠTROS F.: Kvasný průmysl **22**, 1976, s. 202
- [23] K. VON MEYENBURG.: Dizertační práce, ETH Zürich, 1969
- [24] SILVER R. S., MATELES R. I.: J. Bacteriol. **97**, 1969, s. 535
- [25] RYCHTERA M.: SCP Production from Sulphite Waste Liquors and Ethanol, předneseno na 12. mezinárodním mikrobiologickém kongresu, září 1978, Mnichov
- [26] VERNEROVÁ J., BARTA J., RYCHTERA M., MOSTECKÝ J.: PV-1822-78
- [27] RYCHTERA M., BARTA J., FIECHTER A., FINSELE A.: Process Biochem. **12**, 1977, s. 26
- [28] SCHREIER K.: Chemiker Zeitung **99**, 1975, s. 328
- [29] CARLSSON I., SAMUELSON O.: Carb. Research **11**, 1969 s. 347
- [30] ROZENTAL M., TOMASZEWSKI L.: Med. Labortechnik **16**, 1975, s. 191

Rychtera M., Panuschka G., Vernerová J., Fischer H.: Kultivace kvasinek na kalcium-bisulfitových výluzích v kombinaci se syntetickým etanolem v pokusném fermentoru VB-IZ s ponořeným paprskem. Kvas. prům., **25**, 1979, č. 12, s. 270—274.

V experimentální práci byly hledány optimální koncentrace syntetického etanolu přidávaného do média obsahujícího sulfitové výluhy o koncentraci redukujících látek 32 kg.m^{-3} a současně i vliv zředovací rychlosti na základní parametry kultivace v oblastech důležitých pro průmyslovou aplikaci. Průmyslová směsná kultura obsahující kvasinky *Candida utilis* a *Candida tropicalis* byla kultivována v pokusném fermentoru s ponořeným paprskem (licence VEB, IZ Böhlen, NDR) o celkovém objemu 400 litrů. Při vstupní koncentraci etanolu 26 kg.m^{-3} a zředovací rychlosti $0,33\text{ h}^{-1}$ bylo dosaženo produktivity systému $10\text{ kg biomasy.h}^{-1}.\text{m}^{-3}$. Systém vykazuje mimo jiné a známé výhody i velké mechanické odpěňovací vlastnosti.

Рихтера, М. — Панушка, Г. — Вернерова, Я. Фишер, Г.: Разведение дрожжей в питательной среде, состоящей из кальций-сульфитных шелоков и синтетического этанола в экспериментальном броидильном аппарате ФБ—ИЦ с погруженной струей, Квас. прум. 25, 1979, № 12, стр. 270—274.

Авторы определяли экспериментально оптимальную концентрацию синтетического этилового спирта, добавляемого в питательную среду, содержащую сульфитные шелоки с концентрацией восстанавливающих веществ 32 кг.м^{-3} . Одновременно изучалось влияние скорости разбавления на основные параметры разведения дрожжей в промышленных масштабах. Культура, состоящая из дрожжей *Candida utilis* и *Candida tropicalis* разводилась в экспериментальном броидильном аппарате с погруженной струей. Этот ферментер емкостью 400 л был изготовлен с использованием лицензии, купленной в ГДР (ИЦ Бэлэн). При начальной концентрации этилового спирта 26 кг.м^{-3} и скорости разбавления $0,33\text{ ч}^{-1}$ составила производительность системы 10 кг биологической сухой массы в час на 1 кубический метр субстрата. Кроме других, хорошо известных, преимуществ описываемая система отличается эффективным механическим пеногашением.

Rychtera, M. - Panuschka, G. - Vernerová, J. - Fischer, H.: Cultivation of Yeast in Calcium-Bisulphite Spent liquor Containing Synthetic Ethanol, in an Experimental Fermenter VB-IZ with Submerged Jet. Kvas. prům. **25**, 1979, No. 12, pp. 270—274.

The paper is trying to find the optimal concentration of synthetic ethanol added to media containing sulphite waste liquors in a concentration of reducing matters 32 kg.m^{-3} as well as the impact of the dilution rate on the basic cultivation parameters in regions vital for industrial application. Industrial mixed culture containing yeasts *Candida utilis* and *Candida tropicalis* had been cultivated in an experimental „Deep jet“ fermenter with a total volume of 400 l (licensed by VEB Ingenieur-technisches Zentralbüro Böhlen, GDR). At an initial ethanol feed concentration of 26 kg.m^{-3} and a dilution rate of $0,33\text{ h}^{-1}$ has been reached a system productivity of $10\text{ kg biomass.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$. The system shows beside other and known advantages also great mechanical defoaming properties.

Rychtera, M. - Panuschka, G. - Vernerová, J. - Fischer, H.: Kultivace kvasinek na kalcium-bisulfitových výluzích v kombinaci se syntetickým etanolem v pokusném fermentoru VB-IZ s ponořeným paprskem. Kvas. prům. **25**, 1979, No. 12, s. 270—274.

In dem experimentalen Teil der Arbeit wurden die optimalen Konzentrationen des synthetischen Äthanols gesucht, der zu dem Medium beigegeben wird, das Sulfitablaugen mit einer Konzentration von 32 kg.m^{-3} enthält. Zugleich wurde auch der Einfluß der Verdünnungsgeschwindigkeit auf die wesentlichen Kultivationsparameter in den für die betriebliche Applikation wichtigen Gebieten ermittelt. Die betriebliche Mischkultur der Hefen *Candida utilis* und *Candida tropicalis* wurde in einem „Tauch Strahl“ Versuchsfermenter (Lizenz der VEB IZ Böhlen, DDR) mit dem Gesamtgehalt von 400 Liter kultiviert. Bei der Eingangskonzentration des Äthanols 26 kg.m^{-3} und Verdünnungsgeschwindigkeit $0,33\text{ h}^{-1}$ wurde an dem System eine Produktivität von $10\text{ kg Biomasse/h}^{-1}.\text{m}^{-3}$ erreicht. Neben anderen bekannten Vorteilen weist das System auch beträchtliche mechanische Entschäumungseigenschaften auf.