

Využití lihovarských rafinačních odpadů k výrobě krmných ethanolových kvasnic

663.5 663.551.6 663.132

Dr. LUBOMÍR ADÁMEK, Ing. MIROSLAV RUT, Ing. FRANTIŠEK ŠTROS, CSc., Výzkumný ústav potravinářského průmyslu, Praha

Ing. JIŘÍ UHER, CSc., Vysoká škola chemickotechnologická, Praha

Klíčová slova: ethanol, syntetický ethanol, rafinace, odpad, krmivo, kvasnice, mikroorganismus, zdroj, uhlík, růst, biomasa, kvalita, výtěžnost, výroba, rafinační odpad

Při výrobě kvasného ethanolu se v ČSR ročně produkuje při jeho rafinaci asi 50 000 hl odpadů (úkap, dokap), které se využívají v chemickém průmyslu. V potravinářském, resp. ve fermentačním průmyslu, se tyto rafinační odpady zatím nevyužívají pro nevhodné organoleptické vlastnosti a poměrně vysoký obsah aldehydů, esterů a vyšších alkoholů, které se považují za potenciální inhibitory růstu mikroorganismů [1, 2].

V souvislosti s rozvojem výroby krmných ethanolových kvasnic ze syntetického ethanolu se ukazují možnosti využití tohoto substrátu bez jakékoliv další úpravy. Využitím veškerého úkapu a dokapu jako C-zdroje by bylo možno vyrobit až 3000 tun sušených ethanolových kvasnic vysoké kvality, při značné úspoře materiálových nákladů. Předběžné fermentační pokusy s náhradou syntetického ethanolu směsí úkapu a dokapu prokázaly, že lze tento odpad využít jako plnohodnotný zdroj uhlíku při syntéze kvasničné biomasy.

Metodická část

Pro prokázání využitelnosti úkapu a dokapu jako zdroje uhlíku pro ethanolové kvasinky byla zvolena metoda jednorázové kultivace ve 30litrovém skleněném laboratorním fermentoru s míchadlem typu Waldhof a cirkulačním válcem.

Porovnávaly se kultivační parametry série kultivací s odpadními rafinačními produkty (směs úkapu a dokapu) s pokusy se syntetickým ethanolom jako kontrolou. Sledovala se rychlost růstu, výtěžnost biomasy a zjišťoval se eventuální vliv použitých rafinačních odpadů na vznik, popříp. délku lag-fáze. Trvání kultivace bylo vymezeno spotřebováním veškerého vloženého ethanolového substrátu, který byl měřen a regulován analyzátozem METREX (VD VŠCHT — stanovení alkoholu ve výdechových plynech).

Grafický záznam z analyzátorů plynů (stanovení koncentrace O_2 a CO_2 ve výdechových plynech) umožnil stanovit přesně skutečnou dobu kultivace a určit délku růstové lag fáze. Pokusné kultivace se prováděly s kmenem *Torulopsis ethanolitolerans* RIFIS 235, který je provozním kmenem při průmyslové výrobě krmných ethanolových kvasnic [3].

Živné soli se do laboratorního fermentoru přidávaly jednorázově ve formě živných roztoků I. a II., které obsahovaly v 1 litru:

Živný roztok I
35 ml 85% H_3PO_4
30 g KOH
32 g $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$

0,5 g $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$
0,02 g $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$
0,05 g $MnCl_2 \cdot 4 H_2O$

Živný roztok II

156 g $CaCl_2 \cdot 2 H_2O$
10,6 g $FeCl_3 \cdot 6 H_2O$

Po naplnění fermentoru vodovodní vodou a přidání živných roztoků solí I (300 ml) a II (30 ml), 15 g síranu amonného a 300 g pasty kvasničného inokula (22,5 % sušiny) byl objem doplněn na 15 litrů. Kultivace byla zahájena nadávkováním 20 ml předlohy ethanolového substrátu. Kultivační pH se udržovalo na hodnotě 4,0 automatickým dávkováním lihoamoniakové směsi regulačním pH metrem. Průběžná koncentrace ethanolu v živném médiu nepřesáhla rozmezí 0,2 až 0,3 %. Lihoamoniaková směs se připravila smíšením 450 ml směsi úkapu a dokapu (96 obj. % ethanolu), resp. syntetického ethanolu (93,5 obj. % ethanolu) a 130 ml koncentrované amoniakové vody (24 %). Po skončení kultivace se kvasničná biomasa izolovala separací na laboratorní odstředivce Westfalia a z množství získané pasty se stanovila výtěžnost. Získaná biomasa byla analyzována na obsah sušiny, dusíkatých látek, nukleových kyselin (NK) a popela [4, 5].

Složení rafinačních odpadů (směs úkapu a dokapu) se stanovilo chromatograficky na přístroji Carlo Erba Fractovap 2450D, Physics- Carlo Erba- MEGA SERIES. K detekci jednotlivých složek se použil plamenoionizační detektor. Pracovalo se na kapilární koloně z křemenného skla o délce 25 m s vnitřním průměrem 0,2 mm a se zakotvenou fází Carbowax 20 M.

Zhodnocení výsledků

Při hodnocení rafinačních odpadů jako možného uhlíkového zdroje pro ethanolové kvasinky *Torulopsis ethanolitolerans* se vycházelo z faktu, že obsahují řadu meziproduktů lihového kvašení (aldehydy, estery, vyšší alkoholy), které by v určitých kritických koncentracích mohly být inhibitory růstu kvasinek. Přítomnost většího množství těchto látek by mohla způsobovat prodlužování kultivací a změnu složení kvasničné biomasy. Předpokládali jsme, že inhibicí růstu by se mohl snižovat hlavně obsah dusíkatých látek.

V tabulce 1 jsou uvedeny analytické rozborů 7 různých vzorků směsí úkapu a dokapu z několika lihovarů. Na základě dříve provedených screening testů pro stanovení inhibičního vlivu některých doprovodných složek surového syntetického ethanolu na růst ethanolových

Tabulka 1. Složení různých partií směsi úkapu a dokapu

Původ vzorku	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
Kralupy č. 1.	0,145	0,045	0,333	98,674	stopy	0,673	0,067	stopy	stopy	0,063
Kralupy č. 2.	0,162	0,040	0,338	98,421	stopy	0,823	0,093	0,012	0,015	0,095
Chrudim	0,038	0,034	0,081	99,153	stopy	0,082	0,127	stopy	stopy	0,484
Pardubice	0,104	0,091	0,048	99,401	stopy	0,107	0,162	stopy	stopy	0,087
Svinov	0,112	0,088	0,197	99,284	0,05	0,014	0,273	stopy	stopy	0,015
Hodolany	0,167	0,093	0,139	98,384	0,015	0,244	0,278	stopy	0,252	0,428
Kojetín	0,113	0,033	0,280	98,565	stopy	0,820	0,097	stopy	0,021	0,071
Průměr	0,120	0,061	0,202	98,84	0,033	0,395	0,157	0,012	0,096	0,178

1. Acetaldehyd
2. ethylacetát
3. methanol
4. ethanol

5. 2-butanol
6. 1-propanol (n-propylalkohol)
7. 2-methyl-1-propanol (isobutylalkohol)

8. 1-butanol (n-butylalkohol)
9. 2-methyl-1-butanol (d-amyalkohol)
10. 3-methyl-1-butanol (isoamyalkohol)

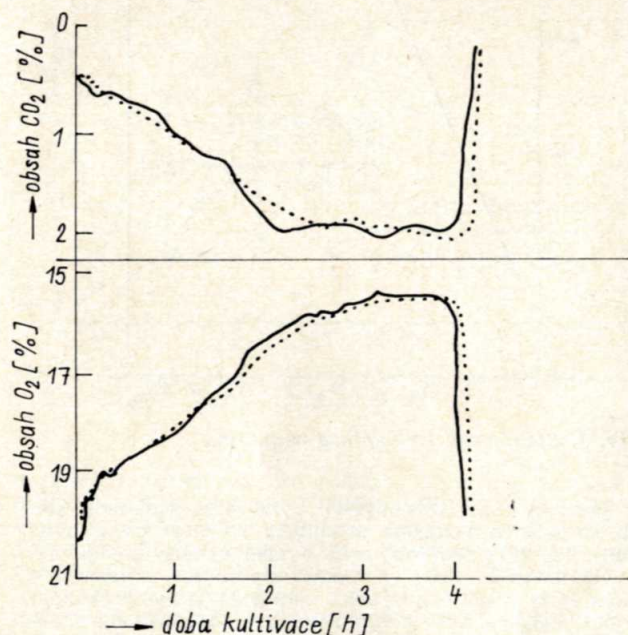
kvasnic *Candida utilis* [2] bylo možno očekávat toxické působení acetaldehydu, ethylacetátu, propanolu a 2-propanolu.

Pro zjištění toxicity lihovarských rafinačních odpadů na průběh fermentačního procesu byl použit směsný vzorek, reprezentující průměrnou kvalitu vyráběného odpadního meziproduktu.

Tabulka 2. Kultivační parametry kultury ethanolových kvasinek *Torulopsis ethanolitolerans* v 30litrovém laboratorním skleněném fermentoru C-zdroj: směs úkap-dokap syntetický ethanol (kontrola)

C-zdroj	Lihomoni- ková směs spotřeba [ml]	Obsah alkoholu [g, a. a.]	Inokulum [g pasty]	separ. biomasy [g pasty]	Přirůstek sušiny [g]	Doba kultiv. [h]	Výtěžnost [%]
úkap	470	356,2	300	1620	288,3	4.15	80,09
	470	356,2	300	1570	279,4	4.20	78,40
	470	356,2	300	1570	279,4	4.20	78,40
synte- tický ethanol	470	346,8	300	1555	276,1	4.10	79,40
	470	346,8	300	1515	267,3	4.10	77,00

Celkem byly provedeny dvě série fermentačních pokusů. V první sérii se uskutečnily tři fermentační pokusy s rafinačními odpady jako zdrojem—C. Druhá série byla kontrolní a představovala dva fermentační pokusy se syntetickým ethanolom jako zdrojem — C. Výsledky hodnocení obou sérií fermentačních pokusů jsou shrnuty v tabulce 2. Z tabulky je zřejmé, že kultivační parametry jsou identické jak v délce doby kultivace, tak i dosahované výtěžnosti biomasy. Kultivační doby obou sérií nebyly delší než 4 1/4 hodiny, při výtěžnosti 78,4 až 80,09 %. Stejně doby trvání všech fermentačních pokusů svědčí o tom, že použitá směs úkapu a dokapu neobsahuje významnější množství inhibičních látek, které by brzdily růst a vývoj kvasničné kultury ethanolových kvasnic *Torulopsis ethanolitolerans*. Potvrzením toho je



Obrázek 1. Složení výdechových plynů v průběhu kultivačních pokusů — sledování analyzátorů plynů

C zdroj: syntetický ethanol (kontrola)
směs úkap — dokap

i grafický záznam analyzátorů plynů spotřeby O_2 a metabolicky tvořeného CO_2 ve výdechových plynech fermentoru, v pokusném a kontrolním fermentačním pokusu. Z průběhu grafického záznamu je rovněž zřejmé, že počátky kultivačních pokusů nejsou zatíženy významnou lag-fází růstu a že růst kvasničné kultury ve směsi úkapu a dokapu začínal prakticky okamžitě po přidání počátečního inokula a vložení počáteční předlohy zdroje — C. Rovněž i průběh složení výdechových plynů v pokusných fermentacích odpovídal průběhu v kontrolní fermentaci (obr. 1).

K doplnění údajů vlivu náhrady syntetického ethanolu rafinačními odpady byl proveden analytický rozbor kultivované biomasy stanovením obsahu základních složek (tabulka 3). Z tabulky je zřejmé, že biomasa získaná na rafinačních odpadech ethanolu nevykazovala odchylky od hodnot získaných na kontrolním substrátu, syntetickém ethanolu. Obsah dusíku v kvasnicích na rafinačních odpadech byl 9,6—9,8 % v sušině a odpovídal hodnotám, které jsou typické pro kultivace krmných kvasnic na syntetickém ethanolu.

Tabulka 3. Porovnání složení biomasy *Torulopsis ethanolitolerans* získané kultivací na směsi úkap-dokap a syntetickém ethanolu

Použitý C-zdroj	Obsah N v suš. [%]	Obsah NK v suš. [%]	Obsah popelu v suš. [%]
Lihovarské rafinační odpady	9,82 9,46 9,69	11,25 9,82 10,47	7,41 7,08 6,92
Syntetický ethanol	9,78 9,60	9,6 9,8	7,23 7,32

Literatura

- [1] SOUKUP J., ZAPLETAL V., ROŽIČKA V.: Rafinační dehydrogenace syntetického ethanolu. Závěr. zpráva VŠCHT, Praha, 1968.
- [2] ŠESTÁKOVÁ M., ADÁMEK L., ŠTROS F.: Folia Microbiol., 21, 1976, s. 444.
- [3] ADÁMEK L., ŠESTÁKOVÁ M., RYBÁŘOVÁ J., ŠTROS F.: Kvas. prům., 27, 1981, s. 278.
- [4] SYHOROVÁ V., ŠTROS F.: Kvas. prům., 2, 1955, s. 202.
- [5] RUT M.: Kvas. prům., 19, 1973, s. 131.

Adámek, L. - Rut, M. - Štros, F. - Uher, J.: Využití lihovarských rafinačních odpadů k výrobě krmných ethanolových kvasnic. Kvas. prům., 32, 1986, č. 7—8, s. 176—178.

Provedené fermentační batch pokusy ukázaly, že se mohou lihovarské rafinační odpady (úkap, dokap) využít jako zdroj uhlíku při syntéze kvasničné biomasy z ethanolu. V průběhu pokusů nebylo zjištěno inhibiční působení látek znečišťujících ethanol na růst a vývoj kvasničných kultur a nezhoršovala se kvalita biomasy. Výtěžnost biomasy na rafinačních odpadech ethanolu a složení biomasy odpovídalo hodnotám běžně dosažovaným na půdě se syntetickým ethanolom. Rafinační odpady je možno při výrobě krmných ethanolových kvasnic použít jako rovnocenné náhrady syntetického ethanolu.

Ада́мек, Л., Ру́т, М., Штро́с, Ф., Уге́р, И.: Использование отходов производства спирта и рафинации для производства кормовых этанольных дрожжей. Квас. прум. 32, 1986, № 7—8, стр. 176—178.

Проведенные ферментационные эксперименты batch показали, что отходы производства спирта и рафинации (головная фракция и сивушный погон) могут использоваться в качестве источника углерода при синтезе дрожжевой биомассы из этанола. В течение экспериментов не было установлено ингибирующее действие веществ, загрязняющих этанол, на рост и развитие дрожжевых культур и также не ухудшались качества биомассы. Вы-

ход биомассы из отходов рафинации этанола и состав ее соответствовали величинам обычно достигающимся в среде с синтетическим этанолом. Отходы рафинации можно применить как равноценное замещение синтетического этанола.

Adámek, L. - Rut, M. - Štros, F. - Uher, J.: Utilization of Distillery Wastes in a Production of Fodder Yeasts from Ethanol. Kvas. prům. **32**, 1986, No.7—8, pp. 176—178.

The results of batch cultivations showed that distillery wastes (the first and last fractions) can be used as a carbon source for the synthesis of yeast biomass from ethanol. No inhibitory effect of compounds contaminating ethanol on a growth of yeast populations was observed during experiments. Also the biomass quality was not changed. The biomass yield and the biomass composition were the same using the waste fractions of ethanol and synthetic ethanol, resp. Therefore, the waste fractions of ethanol distillation can be used as a substitute for synthetic ethanol.

Adámek, L. - Rut, M. - Štros, F. - Uher, J.: Ausnützung der Brennerei-Raffinationsabflüsse zur Produktion von Äthanol-Futterhefe. Kvas. prům. **32**, 1986. Nr. 7—8, S. 176—178.

Die durchgeführten Fermentations-Batch-Versuche zeigten, daß die Raffinationsabfälle aus Brennereien (Vorlauf, Nachlauf) als Kohlenstoffquelle bei der Synthese der Hefebiomasse aus Äthanol ausgenützt werden können. Im Verlauf der Versuche wurde keine Inhibitionswirkung der Äthanol-verunreinigender Substanzen auf das Wachstum und die Entwicklung der Hefekulturen festgestellt und es wurde auch keine Verschlechterung der Biomasse-Qualität beobachtet. Die Ausbeute der Biomasse auf den Raffinationsabfällen des Äthanol sowie auch die Zusammensetzung der Biomasse entsprachen den Werten, die geläufig auf dem Boden mit synthetischem Äthanol erzielt werden. Die Raffinationsabfälle können bei der Herstellung von Äthanol-Futterhefe als gleichwertiger Ersatz des synthetischen Äthanol verwendet werden.