

## ALTERNATIVNÍ METODY SEPARACE KAPALNÝCH BIOPALIV Z MÉDIA PŘI FERMENTACI

PETR FRIBERT, LEONA PAULOVÁ, PETRA PATÁKOVÁ, MOJMÍR RYCHTERA a KAREL MELZUCH

Ústav biotechnologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6  
leona.paulova@vscht.cz

Došlo 14.1.13, přijato 17.5.13.

Klíčová slova: bioethanol, biobutanol, separace, stripování, pervaporace, adsorpce, kapalinová extrakce, pertrakce, reverzní osmóza

### Obsah

1. Úvod
2. Stripování plynem
3. Pervaporace
4. Další metody separace organických rozpouštědel z kultivačního média
  - 4.1. Adsorpce
  - 4.2. Kapalinová extrakce
  - 4.3. Pertrakce
  - 4.4. Reverzní osmóza
5. Závěr

### 1. Úvod

Snaha o snížení závislosti na fosilních zdrojích, která je deklarovaná i legislativně, např. Směrnicí 2008/28EC, podle níž má být do roku 2020 pokryto 20 % energetické spotřeby členských států Evropského společenství energií pocházející z obnovitelných zdrojů, vede ke zvýšenému zájmu o využití alternativních zdrojů energie. V sektoru dopravy se jedná vedle biodieselu i o výrobu bioethanolu a biobutanolu, jejichž využití má vést ke snížení spotřeby tradičních paliv. Bioethanol, který se v současné době používá jako příměs do benzínu (v ČR až do 5 objemových procent) nebo jako palivo E 85, je produkován zejména ze škrobnatých a cukernatých surovin. Fermentační produkce bioethanolu v členských státech EU vzrostla v posledních šesti letech zhruba 3,5krát, odhad produkce na rok 2012 činil 5510 milionů litrů (USDA Foreign Agricultural Service, 2011)<sup>1</sup>. Biobutanol, který se vyrábí fermentačně bakteriemi rodu *Clostridium*, je možné mísit se standardním benzinem podobně jako ethanol, který se dnes běžně do paliva přidává, avšak z hlediska palivářských

vlastností představuje 1-butanol vhodnější alternativu než bioethanol, neboť je méně korozivní, má nižší tlak par, neabsorbuje vodu a energetický obsah molekuly 1-butanolu je přibližně o 20 % vyšší než energetický obsah molekuly ethanolu<sup>2</sup>.

Tradiční metodou separace jak ethanolu, tak i organických rozpouštědel produkovaných při aceton-butanol-ethanolové (ABE)<sup>3,4</sup> fermentaci bakteriemi rodu *Clostridium* je destilace. Tato metoda je zejména v případě biobutanolu energeticky a investičně náročná, neboť 1-butanol má vyšší bod varu než voda a koncentrace produkovaných rozpouštědel v kultivačním médiu je ve srovnání s fermentační výrobou ethanolu zhruba sedmkrát nižší. Butanol je třeba oddělit od dalších produktů (aceton, ethanol, případně isopropanol) při komplikovanější rafinaci. Ve snaze snížit energetické nároky produkce 1-butanolu jsou proto testovány alternativní způsoby separace produktů ABE fermentace, jako např. stripování plynem, extrakce, adsorpce a membránové metody, jako např. pervaporace, pertrakce a reverzní osmóza.

Použití alternativních metod separace rozpouštědel vzniklých při ABE fermentaci má ještě další výhodu, a tou je možnost snižování koncentrace rozpouštědel v průběhu kultivace, čímž se omezí jejich toxické působení na buňky a tento postup může vést jak ke zvýšení konečné koncentrace produkovaných rozpouštědel, tak ke zvýšení produktivity procesu. 1-butanol tvořený během fermentace totiž na buňky mikrobiálního producenta působí toxicky již při překročení koncentrace  $4 \text{ g dm}^{-3}$ . Toxicita tohoto metabolitu je způsobena zejména jeho delším uhlíkovým řetězcem a hydrofobním charakterem molekuly, která narušuje fosfolipidovou dvojvrstvu cytoplazmatické membrány buňky a tím zvyšuje její fluiditu. Dále má přítomnost 1-butanolu v médiu negativní vliv na enzym ATPasu. Zvýšená fluidita cytoplazmatické membrány spolu s narušenou funkcí ATPasy má za následek fatální narušení gradientu pH ( $\Delta\text{pH}$ ) buňky, destabilizaci membrány a narušení dalších membránových funkcí, jako jsou transportní procesy, které ovlivní např. příjem glukosy do buňky. Konkrétně u buněk *Clostridium acetobutylicum* při koncentraci  $7 \text{ g dm}^{-3}$  1-butanolu v kultivačním médiu dojde ke snížení  $\Delta\text{pH}$  z 1,2 na 1,0 a při koncentraci  $10 \text{ g dm}^{-3}$  1-butanolu v médiu je gradient  $\Delta\text{pH}$  zcela narušen<sup>5</sup>. Vhodná separační technika, kterou lze *in situ* integrovat do vlastního fermentačního procesu, může pomoci omezit toxický efekt fermentačních produktů na buňky tak, že umožňuje udržet jejich koncentraci pod inhibiční mezí, což se projeví zvýšením produktivity. Integrace separace s fermentačním procesem je vhodně využít zejména při přítokované nebo kontinuální kultivaci, kdy se substrát dává postupně v průběhu kultivace. V posledních letech byl zaznamenán velký pokrok v oblasti vývoje fermentačních systémů s integrovanou separací rozpouštědel, a to zejména

v případě spojení fermentace s odstraňováním rozpouštědel pervaporací nebo stripováním plynem.

## 2. Stripování plynem

Stripování plynem umožňuje selektivní separaci těkavých látek z média v průběhu kultivace bez nutnosti použití membrány nebo drahých chemikálií<sup>6</sup>. Proces stripování probíhá buď ve stripovacích kolonách, do kterých je čerpáno fermentační médium z bioreaktoru nebo přímo v bioreaktoru. Zde je kultivační médium probubláváno stripovacím plynem, do kterého jsou strhávány těkavé metabolity vzniklé činností mikrobiálního producenta a spolu s ním jsou odvedeny z bioreaktoru buď do kondenzátoru nebo do adsorbéru, který je naplněn vhodným nosičem (aktivním uhlím nebo vhodným typem zeolitu). Po separaci rozpouštědel na těchto kolonách nebo po kondenzaci za snížené teploty může být stripovací plyn recyklován<sup>7</sup>.

Konkrétní uspořádání stripovací aparatury se může pro jednotlivé procesy lišit, ale v podstatě existují dvě základní varianty. Buď může být stripovací plyn distribuován přímo do bioreaktoru, ve kterém probíhá fermentace, nebo může stripování probíhat v samostatné stripovací koloně umístěné mimo bioreaktor. V tomto případě stripované médium cirkuluje mezi bioreaktorem a stripovací kolonou, která je většinou oddělena membránou zadržující buňky v bioreaktoru. Při stripování plynem jsou organická rozpouštědla kontinuálně odstraňována z fermentačního média, což umožňuje udržovat jejich koncentraci v bioreaktoru pod toxickou mezí. Jelikož produkce rozpouštědel probíhá za anaerobních podmínek, jako stripovací plyn může být využíván buď dusík, který pomáhá udržet atmosféru bez kyslíku, nebo může být s výhodou využit fermentační plyn, který je tvořený v průběhu procesu bakteriemi a který je směsí oxidu uhličitého a vodíku<sup>6</sup>. Obdobně může být použit oxid uhličitý pro snižování koncentrace ethanolu v médiu u produkce ethanolu kvasinkami *Saccharomyces cerevisiae*<sup>8</sup>.

Stripovací plyn je do média přiváděn přes distributor plynu umístěný pod míchadlem bioreaktoru, čímž je zaručena dispergace stripovacího plynu v médiu. Typ distributoru plynu (aerační věnec, frity) ovlivňuje velikost bublin a tím i přestup hmoty z plynné do kapalné fáze. Malé bubliny mají větší mezifázovou plochu, čímž je umožněn rychlejší přestup hmoty z plynné do kapalné fáze, zatímco velké plynové bubliny zvyšují recirkulaci a míchání v bioreaktoru. Podle publikovaných studií<sup>6</sup> byly jako nejvhodnější pro stripování 1-butanolu vyhodnoceny bubliny o velikosti 0,5–5 mm, které se v roztoku nasatí rozpouštědly asi za 0,14 s. Použití menších bublin naopak způsobuje nadměrné pění média a velké tlakové ztráty v distributoru plynu<sup>3</sup>.

Účinnost procesu stripování 1-butanolu z kapaliny je hodnocena rychlostí stripování  $R_s$  [ $\text{g dm}^{-3} \text{h}^{-1}$ ], která je definována rovnicí (1):

$$R_s = \frac{-dc_s}{dt} = K_s a \cdot c_s \quad (1)$$

$K_s a$  je objemový součinitel přenosu látky z kapalné fáze do plynné [ $\text{s}^{-1}$ ],  $c_s$  koncentrace 1-butanolu v kapalné fázi [ $\text{g dm}^{-3}$ ] a  $t$  je čas [ $\text{s}$ ].

Díky možnosti snížení toxicity média stripováním lze prodloužit produkční periodu kultivace přitokováním dalšího substrátu, což vede ke zvýšení celkového množství vytvořených rozpouštědel a produktivity procesu. Z výsledků publikovaných v odborné literatuře<sup>9</sup> vyplývá, že spojením přitokované kultivace se stripováním lze v kondenzátu dosáhnout až třináctinásobného zvýšení koncentrace produktu na  $232,8 \text{ g dm}^{-3}$  a v bioreaktoru až čtyřnásobného zvýšení rychlosti tvorby 1-butanolu (z  $0,29 \text{ g dm}^{-3} \text{h}^{-1}$  na  $1,16 \text{ g dm}^{-3} \text{h}^{-1}$ )<sup>10</sup>.

Stripování lze však využít i při kontinuální výrobě rozpouštědel<sup>11</sup>, s výhodou bývají využity zejména imobilizované buňky, kdy spojením stripování s kontinuální fermentací lze dosáhnout produktivity až  $4,8 \text{ g dm}^{-3} \text{h}^{-1}$ . Aplikace stripování ve velkých provozech je stále předmětem výpočtů a ověřování.

## 3. Pervaporace

Další metodou, kterou lze využít k separaci rozpouštědel vzniklých při ABE fermentaci, je pervaporace. Jedná se o membránový separační proces, při kterém dochází k dělení kapalných směsí jejich částečným vypařováním přes neporézní polymerní membránu<sup>12</sup>. Tato metoda umožňuje selektivní odstraňování těkavých organických látek z kultivačního média. Membrána je z retentátové strany v kontaktu s kultivačním médiem, ze kterého se těkavé látky vlivem vakua nebo proudění inertního plynu odpařují a difundují přes membránu, kde jsou pak získávány na permeátové straně membrány kondenzací. Výhodou pervaporace je to, že separace a zároveň také částečné zakonzentrování čistých produktů probíhá v jednom kroku bez nutnosti dalšího odstraňování produktu z extrakčního činidla.

Efektivita separace pervaporací je kvantifikována dvěma parametry, prvním z nich je selektivita membrány ( $S$ ), která je definována rovnicí (2):

$$S = \frac{y \cdot (1 - x)}{x \cdot (1 - y)} \quad (2)$$

kde  $y$  a  $x$  jsou molární zlomky 1-butanolu na retentátové ( $x$ ) a permeátové ( $y$ ) straně membrány. Druhým parametrem je pervaporační tok ( $F_T$ ), který představuje rychlost separace a je vyjádřen rovnicí (3):

$$F_T = \frac{m}{A \cdot t} \quad (3)$$

kde  $m$  je hmotnost 1-butanolu prošlého membránou,  $A$  je plocha membrány a  $t$  je čas. Pervaporační tok vyjadřuje množství permeátu prošlého jednotkovou plochou mem-

brány za jednotku času při dané tloušťce membrány. Obvykle se vyjadřuje v jednotkách  $\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$ .

Pro separaci 1-butanolu z vodných roztoků lze použít neporézní nebo mikroporézní hydrofobní membrány, které jsou vyrobeny ze silikonu<sup>13</sup>, silikalitu<sup>14</sup>, polytetrafluoroethylenu<sup>15</sup>, polydimethylsiloxanu s tetrapropylammonium-tetrakyno-borátovou iontovou kapalinou<sup>16</sup>, polypropylenu s imobilizovaným polypropylen-oleylalkoholem, butadienstyrenového a ethylen-propylenidienového kaučuku<sup>17</sup>. Membrána může být uspořádána ve formě dutých vláken nebo jako plochá „crossflow“ membrána.

Při použití silikonových membrán dochází k efektivní separaci 1-butanolu a acetonu z kultivačního média. Selektivita silikonové membrány pro 1-butanol se pohybuje od 45 do 58. Výhodou je, že na této membráně nedochází k odstraňování organických kyselin, které jsou důležitým meziproduktem při produkci 1-butanolu<sup>13</sup>.

S výhodou lze též použít polydimethylsiloxanových membrán, které umožňují dosáhnout až pětikrát vyšší koncentrace 1-butanolu v permeátu ve srovnání s jeho koncentrací v kultivačním médiu<sup>16</sup>. Polytetrafluoroethylenové a polypropylenové membrány mají sice vysoký celkový pervaporační tok, ale bohužel jeho větší část tvoří voda, což není výhodné. Při koncentraci  $2 \text{ g dm}^{-3}$  1-butanolu projde přes polytetrafluoroethylenovou membránu  $69,4 \text{ kg}$  vody na jeden kilogram 1-butanolu a tok 1-butanolu membránou je jen  $0,5 \text{ g m}^{-2} \text{h}^{-1}$ . Podobně se chová i polypropylenová membrána<sup>14</sup>, která dovolí průchod  $45,3 \text{ kg}$  vody na kilogram 1-butanolu a tok 1-butanolu je  $30,2 \text{ g m}^{-2} \text{h}^{-1}$ , což omezuje průmyslové využití těchto membrán.

Nejvhodnější pro oddělování 1-butanolu od fermentačního média jsou ale silikalitové kompozitní membrány, které umožňují vysoké zakoncentrování 1-butanolu v permeátu, vysoký tok 1-butanolu a průchod pouze malého množství vody. Tok 1-butanolu přes tuto membránu je  $71 \text{ g m}^{-2} \text{h}^{-1}$ , což umožňuje dosáhnout koncentrace 1-butanolu v permeátu až  $673 \text{ g dm}^{-3}$  (cit.<sup>14</sup>).

Selektivita a pervaporační tok jsou ovlivněny kromě materiálu membrány i její tloušťkou, teplotou přiváděného média, koncentrací 1-butanolu v přítoku a kondenzační teplotou. Pervaporace se může využívat k separaci 1-butanolu z média po vsádkové kultivaci, nebo může být součástí integrovaného systému při přítokované kultivaci.

Integrace pervaporace do procesu výroby ABE rozpouštědel byla v poslední době testována jako jedna z možností zvýšení produktivity procesu<sup>13–19</sup>. Spojení vsádkové fermentace *Clostridium beijerinckii* BA101 s pervaporací za použití silikon-silikalit-1 kompozitní membrány umožnilo dosáhnout dvojnásobného zvýšení koncentrace produkovaných rozpouštědel ( $24,2 \text{ g dm}^{-3}$  při vsádkové kultivaci oproti  $51,5 \text{ g dm}^{-3}$  při integrovaném procesu), přičemž nebyl ovlivněn růst produkčního organismu<sup>14</sup>.

Při integraci pervaporace do procesu výroby rozpouštědel pomocí přítokované ABE fermentace bylo dosaženo téměř trojnásobného zvýšení produktivity procesu<sup>20</sup>, a to až na  $0,98 \text{ g dm}^{-3} \text{h}^{-1}$ . V kontinuálním procesu výroby ABE rozpouštědel pomocí *C. acetobutylicum* byla pro

separaci využita iontová kapalná polydimethylsiloxanová membrána, toto spojení umožnilo dosažení produktivity procesu až  $2,34 \text{ g dm}^{-3} \text{h}^{-1}$  rozpouštědel<sup>21</sup>.

Výhoda použití pervaporace k separaci 1-butanolu spočívá v tom, že nedochází k tepelnému, chemickému nebo mechanickému stresu produkčního mikroorganismu. Jediné teplo, které je potřebné dodávat, je teplo nutné ke změně skupenství 1-butanolu, proto je samotný proces pervaporace ekonomičtější než destilace, pokud bereme v potaz, že v případě výroby butanolu se získají velmi zředěné roztoky produktů ve vodné fázi. Použití klasické metody destilace znamená velkou spotřebu tepla na odpaření většího množství vody ve srovnání s množstvím odpařeného produktu (butanol, aceton, ethanol). Při použití pervaporace, která probíhá při teplotě neohrožující produkční mikroorganismy, se retentát vrací do procesu a permeát je zakoncentrován často až desetinásobně, což znamená úsporu tepla v následných procesech. Uvádí se, že při použití pervaporace k separaci 1-butanolu je spotřeba energie jen 10 % v porovnání s konvenční destilací<sup>22</sup>. Mezi nevýhody této metody se řadí především vyšší cena pervaporační membrány a také fakt, že při spojení s fermentací může docházet k zanesení pórů membrány mikroorganismy a látkami obsaženými ve fermentačním médiu (tzv. fouling), což vede ke snížení její propustnosti. Tento problém lze však částečně omezit zařazením separačního kroku, který oddělí buňky od fermentačního média před tím, než je přivedeno na pervaporační membránu. Je však třeba si uvědomit, že pro výrobu butanolu je třeba získaný permeát rafinovat, tj. oddělit nečistoty a produkt zakoncentrovat (nejméně destilací).

#### 4. Další metody separace organických rozpouštědel z kultivačního média

##### 4.1. Adsorpce

Další možností separace rozpouštědel z média při ABE fermentaci je použití adsorpce na silikáty, polymerní pryskyřice, aktivní uhlí nebo polyvinylpyridin.

Silikáty selektivně adsorbují 1-butanol, jejich sorpční kapacita se pohybuje mezi  $85\text{--}97 \text{ mg g}^{-1}$ . Voda a 1-butanol se ze silikátu desorbují sekvenčním zahříváním, tím se získá roztok 1-butanolu o koncentraci  $790\text{--}810 \text{ g dm}^{-3}$ , přičemž adsorbent se regeneruje zahřátím na  $200 \text{ }^{\circ}\text{C}$  (cit.<sup>23,24</sup>). Aktivní uhlí má ještě vyšší sorpční kapacitu 1-butanolu, a to  $130\text{--}206 \text{ mg g}^{-1}$ , jeho nevýhodou je však to, že při regeneraci sorbentu nedochází k úplné desorpci adsorbovaného 1-butanolu<sup>24</sup>.

Hlavní výhodou adsorpce je, že energetické požadavky tohoto procesu jsou mnohem nižší než u stripování plynem nebo u pervaporace. Problémem spojení adsorpce s fermentací může být nebezpečí zanesení adsorpční kolony biomasou, toto však lze vyřešit zařazením ultrafiltrační jednotky mezi fermentor a adsorpční kolonu<sup>24</sup>. Další potíží může být i snižování koncentrace živin v médiu jejich adsorbací na daný materiál v případě, že je fermentační

médium po separaci opět recyklováno do bioreaktoru. Tento problém může být eliminován vedením kultivace tak, aby při ní došlo k využití veškerých živin nebo musí docházet k doplňování nezbytných živin do recyklu.

#### 4.2. Kapalinová extrakce

Další z alternativních metod izolace produktů aceton-butanol-ethanolové fermentace, která může vést ke zvýšení celkového množství vytvořených rozpouštědel a snížení nákladů procesu je využití kapalinové extrakce. Kapalinová extrakce produktů ABE fermentace využívá rozdílu distribučních koeficientů přítomných látek. Z důvodu vyšší rozpustnosti 1-butanolu v extrakčním činidle (organická fáze), než v kultivačním médiu (vodná fáze), se 1-butanol selektivně hromadí v extrakčním činidle<sup>21</sup>.

Výhodou extrakce oproti ostatním izolačním metodám je vysoká selektivita separace fází alkohol/voda. Mezi hlavní problémy použití této metody patří toxicita extrakčních činidel vůči buňkám, možnost vzniku emulze působením povrchově aktivních látek přítomných v médiu a při použití extrakce *in situ* také kontaminace kultivačního média extrakčním činidlem<sup>21,25</sup>.

U metod založených na distribuci složky mezi dvě fáze je pro posouzení účinnosti dělení nutné znát distribuční koeficient. Distribuční koeficient představuje poměr celkových koncentrací nebo poměr množství dělené složky v obou fázích po dosažení rovnováhy, jak je uvedeno v rovnici (4):

$$K = \frac{c_{\text{org}}}{c_{\text{vod}}} \quad (4)$$

kde  $c_{\text{org}}$  představuje koncentraci látky v extrakčním rozpouštědle a  $c_{\text{vod}}$  koncentraci látky v kultivačním médiu. Schopnost systému oddělit od sebe dvě rozpouštěné látky je charakterizována separačním faktorem, což je poměr koncentrací, které se ustálí při dělení těchto látek.

Účinnost extrakce je vyjádřena jako procentuální podíl látky, který se vyextrahoval do organické fáze a lze jej spočítat podle (5):

$$E = \frac{100 \cdot K}{K + \frac{V_{\text{vod}}}{V_{\text{org}}}} \quad (5)$$

kde  $K$  je rozdělovací koeficient,  $V_{\text{org}}$  objem extrakčního rozpouštědla a  $V_{\text{vod}}$  objem kultivačního média. Účinnost extrakce lze zlepšit zvýšením fázového poměru, což je poměr objemů vodné a organické fáze  $V_{\text{vod}}/V_{\text{org}}$ . Čím je  $V_{\text{org}}$  větší, tím je extrakce účinnější. Další možností zvýšení účinnosti extrakce je opakování jednotlivých cyklů extrakce, např. pro maximalizaci výtěžku 1-butanolu je extrakce obvykle opakována třikrát.

V minulých letech byla testována řada organických sloučenin, potenciálně vhodných jako extrakční činidlo pro separaci 1-butanolu, kritériem výběru byl distribuční koeficient pro 1-butanol, selektivita separace fází alkohol/

voda (distribuční koeficient 1-butanolu/distribuční koeficient vody) a toxické působení na produkční kmen<sup>25</sup>. Na základě těchto kritérií byla jako nejvhodnější extraktant vyhodnocena skupina esterů s vysokou molekulovou hmotností, např. isopropylmyristát a ethylstearát.

#### 4.3. Pertrakce

Problémy vznikající při použití kapalinové extrakce v průběhu kultivace, jako je např. toxicita použitých organických sloučenin nebo vznik emulzí, mohou být minimalizovány použitím membrány, která bude sloužit k oddělení kultivačního média a extrakčního činidla a zároveň tvořit rozhraní, na kterém bude docházet ke sdílení hmoty mezi dvěma nemísitelnými fázemi. Tato metoda se nazývá pertrakce<sup>21</sup> a má několik výhod proti klasické extrakci – produkční mikroorganismus není v kontaktu s extrakčním činidlem, čímž se zabrání jeho toxickému působení, nedochází k akumulaci buněk v extrakčním činidle nebo na mezifázovém rozhraní a nedochází k tvorbě emulzí. V systému s pertrakční membránou dochází přednostně k difuzi 1-butanolu membránou, zatímco ostatní složky média a meziprodukty fermentace zůstávají ve vodné fázi. Celkový přestup 1-butanolu z fermentačního média do extrakčního činidla závisí na rychlosti difuze 1-butanolu membránou. Membrána tak představuje určitou bariéru, která může omezit rychlost extrakce 1-butanolu.

Membrána užívaná při pertrakci musí mít vysokou selektivitu pro 1-butanol, ale nízkou selektivitu pro živiny nebo reakční intermediáty. Dalším požadavkem je zamezení difuze extrakčního činidla membránou, aby nedocházelo k jeho toxickému působení na mikrobiální producenty. Problém zanášení membrán (fouling) mikroorganismy a složkami média je podobný jako u pervaporace.

#### 4.4. Reverzní osmóza

Problém nízké koncentrace rozpouštědel při separaci produktů u ABE fermentaci může být řešen odvodněním prokvašené záparty reverzní osmózou. Při reverzní osmóze se pomocí membrány odděluje rozpouštědlo od roztoku nízkomolekulární látky tak, že se působením vysokého tlaku (vyššího než osmotický tlak roztoku) obrátí směr osmotického toku rozpouštědla, tj. rozpouštědlo působením tlaku prochází membránou a rozpouštěné složky jsou zadrženy. Reverzní osmóza je tedy analogická ultrafiltraci, ale odlišuje se nutností používat velmi vysoké tlakové rozdíly a speciální typy hustých membrán, které rozpouštěné složky nepropouští.

Reverzní osmóza je využívána jako kontinuální proces odstraňující z média konečný toxický produkt, 1-butanol. Celé zařízení se skládá z mikrofiltrační, případně ultrafiltrační jednotky, ve které jsou odstraněny mikroorganismy a polymerní složky média a z jednotky reverzní osmózy, pomocí které jsou z média separována vytvořená rozpouštědla. Retentát obsahující živé buňky mikroorganismů je využíván jako recykl buněk a složek média a je

čerpán zpět do fermentoru, čímž je možné dosáhnout vyšší produktivity systému.

Pro využití reverzní osmózy při ABE fermentacích se jeví jako vhodné akrylamidové membrány. Při pokusech separace ABE rozpouštědel reverzní osmózou přes akrylamidovou membránu bylo dosaženo 20–45% zakonzentrování rozpouštědel. Použitím kaskády tří sériově zařazených modulů reverzní osmózy lze dosáhnout až 70% zakonzentrování rozpouštědel. Tím se výrazně sníží objem kapaliny přicházející do destilační kolony<sup>26</sup>.

## 5. Závěr

Ačkoli je v současné době pro separaci bioethanolu a biobutanolu z fermentačních médií používána destilace, existují i další separační techniky, které lze integrovat přímo do procesu fermentace. Za použití těchto metod může být dosaženo nižších energetických nákladů, vyšší produktivity a odstranění některých problémů procesů, např. toxicity produkovaných rozpouštědel.

*Tato studie vznikla s finanční podporou Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR v rámci programového projektu výzkumu a vývoje Kontakt ME10146 a s podporou Technologické agentury ČR v rámci projektu BIORAF TE01020080.*

## LITERATURA

- USDA Foreign Agricultural Service, Report NL101 EU-27 Annual Biofuels Report, 2011, online. [http://www.google.cz/url?sa=t&rct=j&q=2011%20bioethanol%20production%20in%20eu&source=web&cd=1&cad=rja&ved=0CCUQFjAA&url=http%3A%2F%2Fgain.fas.usda.gov%2FRecent%2520GAIN%2520Publications%2FBiofuels%2520Annual\\_The%2520Hague\\_EU-27\\_6-22-2011.pdf&ei=0GCaUO\\_QBsfDtAb23YD4Cg&usq=A FQjCNGm4c9835o8y18Z1q9MtplUgHu\\_AQ](http://www.google.cz/url?sa=t&rct=j&q=2011%20bioethanol%20production%20in%20eu&source=web&cd=1&cad=rja&ved=0CCUQFjAA&url=http%3A%2F%2Fgain.fas.usda.gov%2FRecent%2520GAIN%2520Publications%2FBiofuels%2520Annual_The%2520Hague_EU-27_6-22-2011.pdf&ei=0GCaUO_QBsfDtAb23YD4Cg&usq=A FQjCNGm4c9835o8y18Z1q9MtplUgHu_AQ), staženo 20.12.2012.
- Dürre P.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 1125, 353 (2008).
- Lipovský J., Patáková P., Rychtera M., Čížková H., Melzoch K.: Chem. Listy 103, 479 (2009).
- Patáková P., Maxa D., Rychtera M., Linhová L., Fribert P., Mužíková Z., Lipovský J., Paulová L., Pospíšil M., Šebor G., Melzoch K., v knize: *Biofuel's Engineering Process Technology* (Bernandes M.A.D.S. ed.), InTech, Rijeka 2011.
- Gottwald M., Gottschalk G.: Arch. Microbiol. 143, 42 (1985).
- Ezeji T. C., Karcher P. M., Qureshi N., Blaschek H. P.: Bioprocess Biosyst. Eng. 27, 207 (2005).
- Lee S. Y., Park H. J., Jang S. H., Nielsen L. K., Kim J., Jung K. S.: Biotechnol. Bioeng. 101, 209 (2008).
- Liu H. S., Hsu H. W.: Chem. Eng. Sci. 46, 2551 (1990).
- Qureshi N., Ezeji T. C.: Biofuels, Bioprod. Biorefin. 2, 319 (2008).
- Ezeji T. C., Qureshi N., Blaschek H. P.: Appl. Microbiol. Biotechnol. 63, 653 (2003).
- Qureshi N., Maddox I. S.: Bioprocess Biosyst. Eng. 6, 63 (1991).
- Izák P., Šípek M., Hodek J.: Chem. Listy 93, 254 (1999).
- Gheng Q., Park C.: Biotechnol. Bioeng. 43, 978 (1994).
- Qureshi M., Meagher M. M., Hutkins R. W.: J. Membr. Sci. 158, 115 (1999).
- Vrana D. L., Meagher M. M., Hutkins R. W., Duffield B.: Sep. Sci. Technol. 28, 2167 (1993).
- Izák P., Schwarz K., Ruth W., Bahl H., Kragl U.: Appl. Microbiol. Biotechnol. 78, 597 (2008).
- Jitesh K., Pangarkar V. G., Niranjana K.: Bioseparation 9, 145 (2000).
- Fouad E. A., Feng X.: J. Membr. Sci. 323, 428 (2008).
- García M., Sanz M. T., Beltrán S.: J. Chem. Technol. Biotechnol. 84, 1873 (2009).
- Ezeji T. C., Qureshi N., Blaschek H. P.: The Chemical Record 4, 305 (2004).
- Lee S. Y., Park H. J., Jang S. H., Nielsen L. K., Kim J., Jung K. S.: Biotechnol. Bioeng. 101, 209 (2008).
- Qureshi N., Blaschek H. P.: Bioprocess Biosyst. Eng. 24, 219 (2001).
- Milestone N. B., Bibby D. M.: J. Chem. Technol. Biotechnol. 31, 732 (1981).
- Qureshi N., Hughes S., Maddox I. S., Cotta M. A.: Bioprocess Biosyst. Eng. 27, 415 (2005).
- Groot W. J., Soedjak H. S., Donck P. B., van der Lans R. G. J. M., Luyben K. Ch. A. M., Timmer J. M. K.: Bioprocess Eng. 5, 203 (1990).
- García A., Iannotti E. L., Fisher J. L.: Biotechnol. Bioeng. 28, 785 (1986).

**P. Fribert, L. Paulová, P. Patáková, M. Rychtera, and K. Melzoch** (Department of Biotechnology, Institute of Chemical Technology Prague): **Alternative Methods for Separation of Liquid Biofuels from the Medium during Fermentation**

Although distillation is a predominant technique used for separation of liquid biofuels (bioethanol and biobutanol), other methods, which can be integrated in fermentation can be exploited as an alternative. Application of these processes (gas stripping, pervaporation, adsorption, liquid extraction, pertraction and reverse osmosis) together with their main features and advantages are discussed. By exploitation of these methods lower energy demand and enhanced productivity of fermentation can be achieved and some problems such as product toxicity in acetone-butanol-ethanol fermentation are eliminated.