

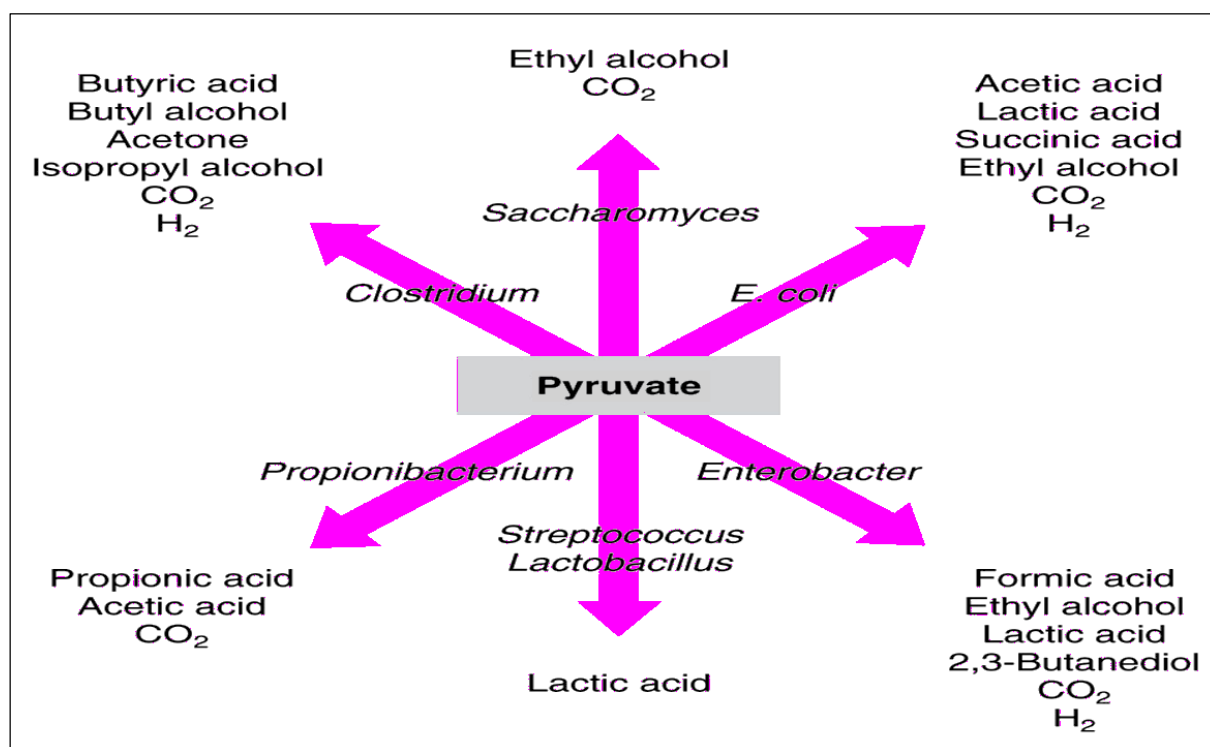
1. Anaerob technológiák

Anaerob technológiák = erjedési iparok

Az erjedés a heterotróf mikroorganizmusok anaerob energiatermelő folyamata, amely a szénhidrátok ill. egyes származékaik egy vagy több szén-szén kötésének hasításával és az oxigénatomok átrendeződésével jár. A heterotróf mikroorganizmusok energiatermelése anaerob körülmények között erjedéssel történik.

Adalék: a fermentáció (fermentation, Gährung) szó eredetileg csak ezt az anaerob folyamatot jelentette. A XX. században a biotechnológia kialakulásával és térhódításával viszont a jelentés eltolódott, az aerob mikrobiális folyamatokat is így nevezzük.

Az anaerob anyagcserének sokféle reakciója és terméke van, de néhány közös szabályszerűséget megfigyelhetünk. A szénhidrátokat hasznosító glikolízis anaerob ATP-termelő folyamat, tehát oxigén nélkül is működik. Végterméke a piruvát és a NAD-hoz kötött hidrogének. Ez utóbbiak okozzák a nehézséget, ezeket kell valahová deponálni, hogy a koenzimek újra felhasználhatók legyenek. Ez az a természetes folyamat, amit az ipari enzimes reakcióknál „koenzim regenerálás” néven tudatosan, tervezetten alkalmazunk. Sokféle molekula lehet hidrogén akceptor, ennek megfelelően sokféle termék képződhet, akár molekuláris hidrogén is. A külön-



1. ábra Az anaerob termékek sokfélesége

böző anyagcseréjű mikrobák más-más termékeket hoznak létre (1. ábra).

Ha ebben a fázisban megállítjuk a folyamatot, sokféle hasznos terméket kaphatunk. Továbbvive viszont a metanogén fázisba jutunk, ahol már csak metán, szén-dioxid és szerves anyagok maradnak.

Anaerob technológiákkal nagyipari léptékben állítanak elő olyan tömegtermékeket, mint

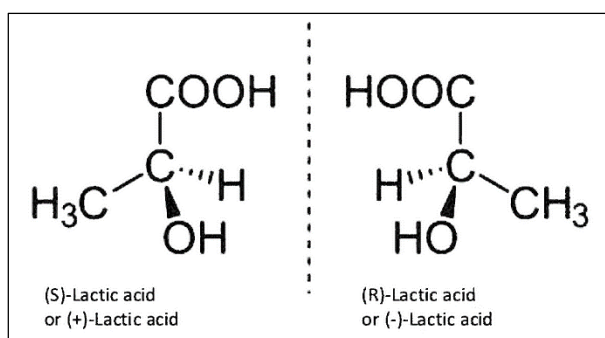
- Etanol
- Biogáz
- Tejsav
- Aceton-butanol-etanol elegy
- Dextrán
- B12 vitamin

Az etanol és a biogáz gyártás más tantárgyak anyaga, ezért itt nem foglalkozunk vele. A B12 vitamin fermentáció az előző „Vitaminok” fejezetben szerepel, a dextrans gyártás pedig később, a mikrobiális poliszacharidok között kerül sorra. Így csak két technológia marad, a tejsav és az ABE gyártás.

1.1. Tejsav gyártás

1.1.1. Tulajdonságok

A tejsav optikailag aktív vegyület, két izomer, az L(+) és a D(-) formájában, illetve a kettő racém elegyeként (DL tejsav) fordul elő a természetben. A forgatás iránya megfordul, ha a szabad savból észter vagy kétértékű fémsó képződik.

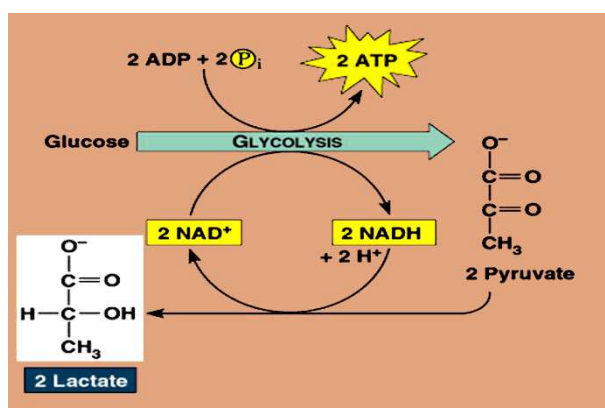


2. ábra A tejsav optikai izomerei

Érdekes jelenség, hogy az izomerek olvadáspontja jelentősen különbözik. A tiszta izomereknél 53 °C, a racém keveréknél viszont csak 16,8 °C. Vízzel korlátlanul elegyedik, forrponjtja magas (~228 °C), ezért vákuumban kell desztillálni (fp.: 0,5 Hgmm-nél 82 °C, 14 Hgmm-nél 122 °C).

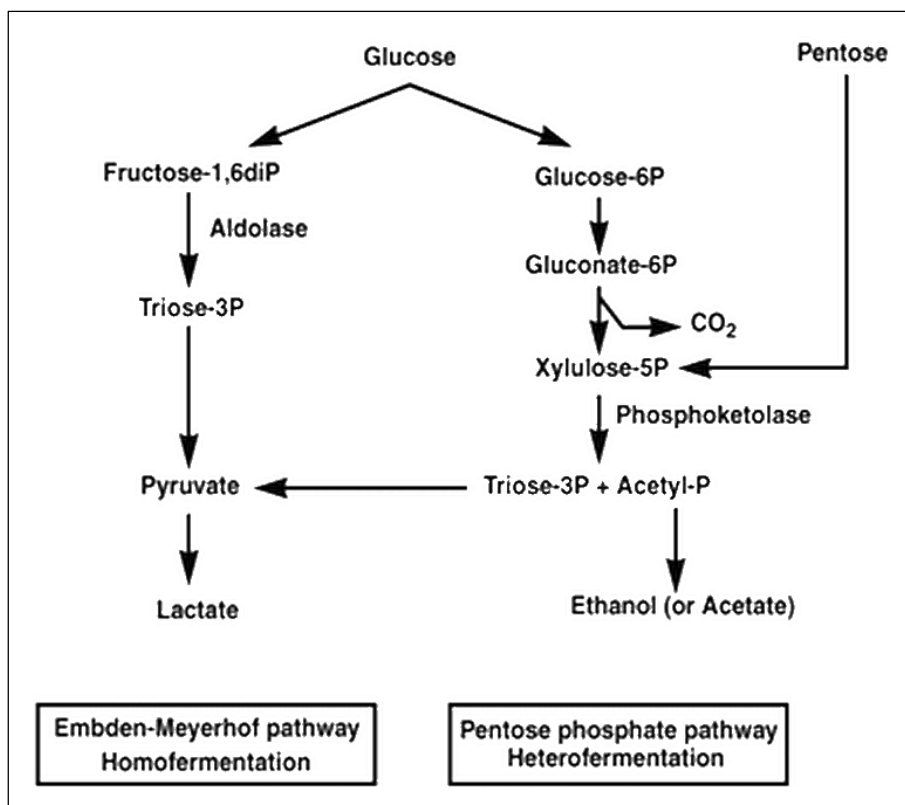
1.1.2. Bioszintézis

Az (L)-tejsav tipikusan az anaerob anyagcsere terméke, a piroszőlősav hidrogénezésével keletkezik. A tejsavas erjedés esetén a tejsav-dehidrogenáz egy NADH és egy proton segítségével a piruvátot laktáttá redukálja.



3. ábra A tejsav képződés a glikolízishez kapcsolt reakció

A tejsav termelők anyagcsereje nem egységes, két alaptípusba sorolható. A különbség abban áll, hogy a kiindulási hexózból különböző úton jutnak el a piruvátiig.



4. ábra A homo- és heterofermentatív tejsav képződés

A homofermentatív törzsek egy hexózból két tejsavat képeznek, melléktermék nélkül, míg a heterofermentatívok csak egy molekula tejsavat termelnek, mellette egy kétszénatomos egységet (ecetsavat és etanolt) és egy szén-dioxidot.

A heterofermentatív törzsekben az aldoláz enzim hiányzik, és emiatt a tejsav mellett számottevő mennyiségben etanol és ecetsav is képződik. Ez esetben a glükóz a pentóz-foszfát-úton hasznosul, és a xilulóz-5-foszfátból csak egy piruvát lesz, mellette egy acetát és egy szén-dioxid. A homofermentatív törzsekben glikolízis jól működik, ezért elméletileg 1 mól hexózból 2 mól tejsav jöhet létre. A gyakorlatban ez az arány valamivel kevesebb, de a hozam a 90% fölötti.

A tejsav termelésnél termékkihibíció érvényesül. A nem-disszociált tejsav fejt ki gátló hatást, a disszociált nem. Tehát savas közegben lelassul a fermentáció, de ha közömbösítjük a savat, akkor ez a hatás nem lép fel.

Anaerob viszonyok között a keletkezett laktát kidiffundál a citoplazmamembránon át a környezetbe.

1.1.3. A tejsav termelő törzsek

A szénhidrátokat tejsavvá lebontó baktérium nemzetségek és fajok a Bergey's Manual szerint a következő csoportokra oszthatók:

17. csoport: Gram pozitív coccusok: *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pedicoccus*, *Saccharococcus*, *Streptococcus*;

18. csoport: endospóráképző Gram pozitív pálcák és coccusok: *Bacillus*, *Sporolactobacillus*;

19. csoport: normál, nem spórázó Gram pozitív pálcák: *Lactobacillus*

A tejtermékek (joghurt, kefir, sajtok) előállításában nagyon sok faj, jellemzően vegyes kultúrában részt vesz, de a tejsav gyártásánál a *Lactobacillus*-okat használják, mert ezek jóval savtűrőbbek, mint a többi tejsav baktérium.

A baktériumok mellett több gombanemzetség is termel tejsavat, pl. a *Rhizopus*, *Mucor* és *Monilia*, ám az *Aspergillusok*, *Fusariumok* és *Penicilliumok* nem. Egyes *Rhizopus* fajok fermentációs szempontból gazdaságosabban termelik a tejsavat, mint a baktériumok. Egyrészt képesek keményítóből is tejsavat előállítani hidrolizáló enzimrendszerük segítségével, másrészt szervesetlen nitrogén forrásokat is tudnak hasznosítani, valamint nem igényelnek aminosav és vitamin-kiegészítést sem. Anyagcseréjük elméletileg 1,5 mol tejsavat ad 1 mol glükózból. Ennek dacára az iparban *Lactobacillus*-okkal állítják elő a tejsavat.

A *Lactobacillus*-ok között homo- és heterofermentatív fajok egyaránt előfordulnak. A legtöbb törzs az egyik tiszta enantiomert termeli, de néhányban racém keverék képződik. Ezekben mindkét sztereospecifikus laktát-dehidrogenáz enzim megtalálható. Többségében az L(+) tejsavat gyártják.

Baktérium	anyagcsereút	enantiomer	szénforrás
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i> korábban <i>L. bulgaricus</i>	obligát homolaktikus	D(-)	laktóz, savó, permeátum
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> korábban <i>L. delbrueckii</i>	homolaktikus, indukálható heterolaktikus	L(+)	glükóz, szacharóz, burgonya
<i>Lactobacillus helveticus</i>	obligát homolaktikus	DL	laktóz, permeátum
<i>Lactobacillus amylophilus</i>	obligát homolaktikus	L(+)	keményítő
<i>Lactobacillus amylovorus</i>	obligát homolaktikus	DL	keményítő
<i>Lactobacillus casei ssp. casei</i> és <i>ssp. rhamnosus</i>	homolaktikus, indukálható heterolaktikus	L(+)	laktóz, savó
<i>Lactococcus lactis ssp. lactis</i> és <i>ssp. cremoris</i> korábban <i>Streptococcus lactis</i>	obligát homolaktikus	L(+)	laktóz, permeátum
<i>Streptococcus thermophilus</i>	obligát homolaktikus	L(+)	laktóz

1. táblázat A tejsav termelő törzsek jellemzői

Az ipari termelő törzseknél alapvető követelmény a sav-tolerancia (pH=4,4-ig) és a bakteriofágokkal szembeni ellenálló képesség. A fágok igen nagy károkat okozhatnak a tenyészetekben, ezért kulcskérdés a genetikailag rezisztens vonalak szelekciója.

1.1.4. A tejsav termelő törzsek tápanyagigénye

Az alkalmazott szénforrás faj-, esetenként törzsfüggő: glükózból, laktózból, maltózból, sőt keményítóből is képesek tejsavat erjeszteni.

A tejsav baktériumok anyagcseréje több ponton hiányos. Nem képesek a citokrom és a porfirin (légzési lánc részei) létrehozására, a proton-gradiensek segítségével nem tudnak ATP-t létrehozni, azt főként a glikolízisból nyerik. Nem tudják hasznosítani a szervesetlen nitrogén vegyületeket, komplex, szerves nitrogén forrást igényelnek. Emellett szükségük van vitaminokra, purin és pirimidin bázisokra.

Adalék: Érdekes jelenség, hogy ezek a törzsek ilyen hiányos anyagcserével fenn tudtak maradni az evolúciós túlélési versenyben. Meg tudták találni azokat az élőhelyeket, ökológiai fiúkéket, amelyekben komplex tápanyagokhoz juthattak (pl. növényi nedvek – ld. silózás). Savtermelésük ugyanakkor versenylőnyt jelent a többi baktériumfajjal szemben.

A tejsav baktériumok mindegyike képes a laktózt felvenni és hidrolizálni, majd a galaktózt hasznosítani.

1.1.5. A tejsav fermentáció

A teljesség kedvéért említsük meg, hogy a tejsav előállításra létezik szintetikus vegyipari technológia. Acetaldehid és hidrogén cianid reakciójával laktonitril keletkezik, majd ezt erős savval tejsavvá hidrolizálják. A kapott termék racém, ami korlátozza a felhasználhatóságát, másrészt a rendkívül mérgező alapanyag miatt különlegesen kialakított üzemre van szükség. A világ tejsav termelése viszont nagyrészt (~70%) biotechnológiai eredetű. A tejsavas erjedés spontán módon is végbemegy, a háztartásokban empirikus módon évezredek óta alkalmazzák. Ilyen folyamat a

- káposzta savanyítás
- aludttej, kefir, joghurt, gyártás
- kovászolás
- kovászos uborka készítés

Az ipari fermentációs technológiákra jellemző a nagy szénforrás koncentráció (120-150 g/l). A tápoldatban komplex nitrogén tartalmú komponenseket adnak a tejsav baktériumokra jellemző vitamin- és aminosav auxotrófiák miatt, mint pl. a kukoricalekvár, maláta kivonat, szója kivonat. Jó tápanyag a melasz is, de a benne lévő egyéb anyagok megnehezítik a termék tisztítását a feldolgozási szakaszban, ezért nem terjedt el. Savó szénforrás esetén a tejcukor mellett oldatban lévő egyéb komponensek nagyrészt fedezik a baktériumok tápanyag igényét. Ugyanakkor a túlzott sejtnövekedés lelassítására nitrogén- és/vagy foszfor limitációt állítanak be.

A fermentációt magas hőmérsékleten (40-60 °C) vezetik. A fermentorok szinte tetszőlegesen nagy méretűek lehetnek (akár több száz m³), mivel a technológia anaerob, nem kell levegőztetni. A savtartalom miatt a készülékeket rozsdamentes acélból kell készíteni. Egy minimális keverésre szükség van, de ez csak a fermentlé homogenizálására, az ülepedés megakadályozására szolgál. A keletkező tejsavat közömbösíteni kell, mivel a savas közeg károsítja a sejteket. Erre többféle megoldást alakítottak ki.

- CaCO₃ (mészköliszt) a tápoldatban. Ez a megoldás nem igényel pH mérést és szabályozást, kémiai automatizmussal történik, de plusz egy szilárd fázist visz be rendszerbe, ami problémákat okozhat.
- Alkáli lúgok adagolásával. Ehhez szükség van pH mérő elektródra és szabályozó rendszerre, valamint jelentősen hígítja a fermentlevet.
- NH₃ gáz befúvatásával. Az ammónia azonnal beoldódik a lébe, és ammónium-hidroxidként reagál a tejsavval. A bázis drágább, mint az alkáli lúgok, de nem hígítja a fermentlevet.

A sterilitás megőrzésére nem kell nagy gondot fordítani. Az oxigénhiány, a savas közeg és a magas hőmérséklet együttesen kedvezőtlen környezet a legtöbb gyorsan növő mikroorganizmus számára.

A fermentáció időtartama 2-4 nap. A kinyerés szempontjából fontos, hogy a cukor koncentráció a végén minimális legyen a fermentlében. A folyamat végén el lehet érni a 12-15%-os tejsav koncentrációt, de ennek határt szab a kalcium-laktát oldhatósága. A keletkezett biomassza a beadott cukor súlyának kb. 15%-a, azaz a fermentlére nézve 2-2,5%.

A folyamat klasszikus kivitelezése a szakaszos fermentáció, mivel ezzel lehet nagy termék koncentrációt elérni. A produktivitás értékek viszont a folytonos fermentációnál sokkal jobbak, de alacsonyabb tejsav koncentrációval. A kettő előnyeit egyesíti a sejtviisszatartásos folytonos rendszer, ahol egy membránon keresztül veszik el terméket tartalmazó levét, míg a

sejtek a fermentorban maradnak. Így extrém nagy sejtsűrűség érhető el, ami megnöveli a biokémiai reakció sebességét. Ilyen megoldásokkal fenn lehetett tartani a 60-120 g/l-es termék-koncentrációt igen nagy produktivitás értékek mellett.

1.1.6. A tejsav izolálása (downstream processing)

A feldolgozási műveletsor nagyon sokféle változatban ismert, kialakításuk függ:

- fermentlé tulajdonságaitól (milyen koncentrációban és milyen kationnal alkotott só formájában van jelen a laktát)
- végtermék kívánt tisztaságától, azaz a végső felhasználási céltól

A fermentlében a sejtek és sejttermékek mellett mindig található kis mennyiségű fel nem használt cukor, egyéb szerves sav (ecetsav, esetleg fumársav), színanyagok, szervesetlen sók, ezen belül fémionok.

A tejsav végtermék megkívánt tisztasága lehet ipari, élelmiszeripari vagy gyógyszerkönyvi minőség. A polimerizációs célra használt tejsav egyes tisztasági mutatói szigorúbbak, mint a gyógyászati minőségénél, például nem tartalmazhat szénhidrátot.

A „heat stable” minősítés olyan tisztaságú tejsavat jelent, amely kénsavval melegítve sem ad elszíneződést.

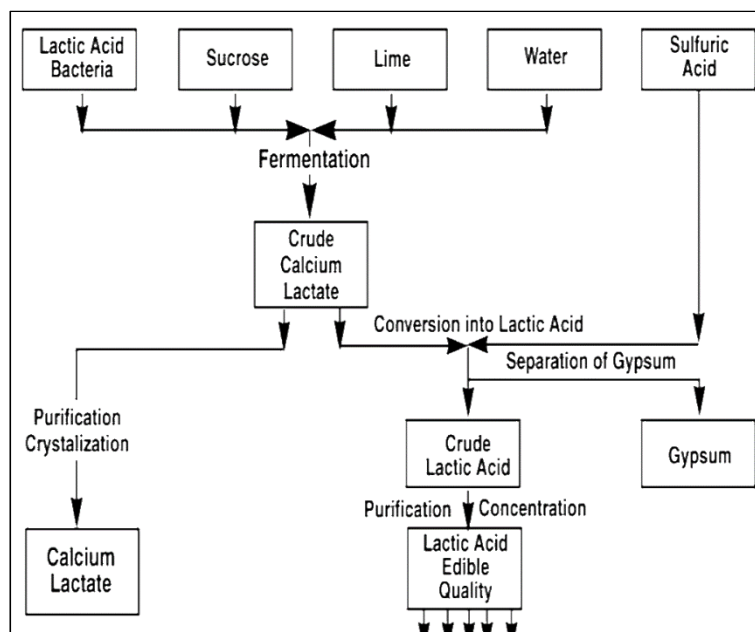
A „klasszikus”, kalciumos technológia

A „klasszikus” feldolgozási technológia a „klasszikus”, kalcium-laktátot tartalmazó fermentlére épül. Lépései a következők:

1. A fermentáció vágása után a hőmérsékletet 80-90 °C-ra emelik, az oldat pH-ját kalcium-hidroxiddal 10-11 közé állítják. Ezzel a lúgos főzéssel a mikroorganizmusokat elölílik és a jelen lévő fehérje természetű anyagokat kicsapják. Ezen a hőmérsékleten és pH-n a kalcium-laktát oldhatósága jó, teljes egészében oldatba megy.
2. A kivált csapadékot melegen elválasztják (jellemzően szűréssel)
3. Az oldatban kénsav hozzáadásával felszabadítják a tejsavat, a kalcium gipsz formájában kicsapódik.
4. A jelenlévő fémionokat (vas, réz) kénhidrogén, vagy hexaciano-ferrát só adagolásával lecsapják.
5. A csapadékos oldatot leszűrik, jellemzően vákuum dobszűrővel, esetleg szűrőpréssel.
6. A színanyagokat és a szennyező ionokat aktív szenes derítéssel távolítják el.
7. A kapott tejsav oldat tetszőlegesen töményíthető, akár 80-90 %-ig, csökkentett nyomáson.

A bemutatott technológia előnye, hogy jól ismert, kidolgozott eljárás, amelyet ipari léptékben is sokszorosán kipróbáltak. Hátránya, hogy:

- nagyok a veszteségek, a teljes sorban a termék mintegy 20 %-a elvész.
- igen nagy a vegyszerigénye, 100 tonna termék kinyeréséhez mintegy 45 tonna Ca(OH)_2 és 55 tonna kénsav szükséges
- ennek megfelelően a termékkel közel azonos tömegű melléktermék (gipsz, $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) keletkezik
- ílymódon csak élelmiszeripari tisztaságú tejsav állítható elő, nagyobb tisztasághoz további műveletekre van szükség.



5. ábra A tejsav gyártás anyagforgalama

A „kalcium nélküli” technológiák műveletei

A tejsav gyártás fejlesztése során egyre inkább arra törekedtek, hogy a mellőzzék a kalciumot, és más bázisokkal (NaOH, NH₄OH, esetleg KOH) közömbösítsék a keletkező savat. Ez a változtatás kihat a feldolgozási technológiákra is. Megfelelő technológia kialakításával a bázis a feldolgozás során visszanyerhető és újra felhasználható a fermentált sav közömbösítésére. A fejlesztések iránya a kalcium mellőzésén kívül a kinyerés hatékonyságának fokozása és a termék tisztaságának növelése.

Ha a feldolgozási technológiákat lépésekre bontjuk, az egyes műveleteket három kategóriába sorolhatjuk, amelyek sorrendje nem kötött, hanem opcionális:

1. a szabad sav felszabadítása sójából
2. koncentráló műveletek
3. tisztítási műveletek

A szabad sav felszabadítása sójából

A folyamat kulcslépése minden esetben a szabad tejsav előállítása sójából. Ennek megvalósítására többféle eljárást dolgoztak ki, ezeknek megfelelően változik a vegyszerigény és a keletkező melléktermékek mennyisége. Néhány változat:

- A szűrt fermentlé savanyítása kénsavval. A módszer hátránya, hogy sztöchiometrikus mennyiségű kénsav szükséges, és ennek megfelelő mennyiségű ammónium-szulfát melléktermék keletkezik. Ez értékesíthető műtrágyaként, de mivel viszonylag kis koncentrációban (kb. 1 M) jelenik meg, töményítése és kristályosítása sok energiát igényel.
- A szabad sav előállítása történhet kationcserélő gyantán is. A H⁺ ázisban lévő gyantával lecserélik az elleniont, és ezzel tejsavat kapnak. Az eljárás elegánsnak tűnik, azonban óriási méretű gyantaágyra van szükség, amelynek regenerálásánál szintén sztöchiometrikus mennyiségű erős savra van szükség, amelyből melléktermékként ásványi só keletkezik.
- A laktát só megbontására alkalmas a bipoláris membránokat alkalmazó elektrodialízis (EDB) is.

Koncentráló műveletek

A képződő tejsav, illetve laktát koncentrációja a fermentáció végén közelítőleg 1 mól/liter. Ez különféle akkumuláló technikák alkalmazásával növelhető kb. 1,5 mól/ig. A végtermékként kiadott tejsav koncentrációja viszont igény szerint 80-90-95%, esetleg efölötti érték. Eszerint a technológia során mindenképpen szükség van a koncentrációt növelő művelet(ek)re:

- **Bepárlás.** A tejsav forráspontja igen magas (228 °C), emiatt a víz lehajtásának látszólag semmi akadályja. A 100 °C körüli hőmérsékleten azonban káros folyamatok indulnak be, egyrészt a fermentléből származó anyagok sötét színanyagokat képeznek, másrészt a tejsavmolekulák is kondenzálódni kezdenek. A gyakorlatban ezért vákuumdesztillációt alkalmaznak (fp.: 0,5 Hgmm-nél 82 °C, 14 Hgmm-nél 122 °C).
- **Extrakció.** A savazással visszazorított disszociációjú tejsav sokféle szerves oldószerrel extrahálható (C4-C8 alkoholokkal, ketonokkal vagy éterekkel – MIBUK, DIBUK, DIPE).
- **Reverz ozmózis.** A klasszikus fordított ozmózis, amely csak a vizet engedi át, alkalmas ipari léptékben is a laktát oldatok koncentrálására. pH=6 körüli értéken körülbelül 90%-os retenció érhető el.
- **(Monopoláris) elektrodialízis.** Az eredetileg sómentesítésre kidolgozott elektrodialízis jól alkalmazható sóoldatok koncentrálására is. Az ammónium laktát oldatot 20-25 %-os koncentrációig lehet töményíteni, ugyanakkor a nemionos szennyező anyagok egy részétől is meg lehet szabadulni.

Tisztítási műveletek

A technológia során, illetve a végtermék minőségének beállítása során szükséges a kis mennyiségben jelen lévő, de zavaró hatású komponensek eltávolítása. Ezek az anyagok többféle elv szerint csoportosíthatók. Egy részük makromolekula, amely a tápoldatból marad, illetve a mikroorganizmusok lízisénél képződik. Jelen vannak ezen kívül kis szerves molekulák (cukrok, aminosavak, szerves savak, színanyagok) illetve ásványi ionok is. Tulajdonságaiknak megfelelően sokféle elválasztási műveletet alkalmazhatunk.

1.1.7. A tejsav felhasználása

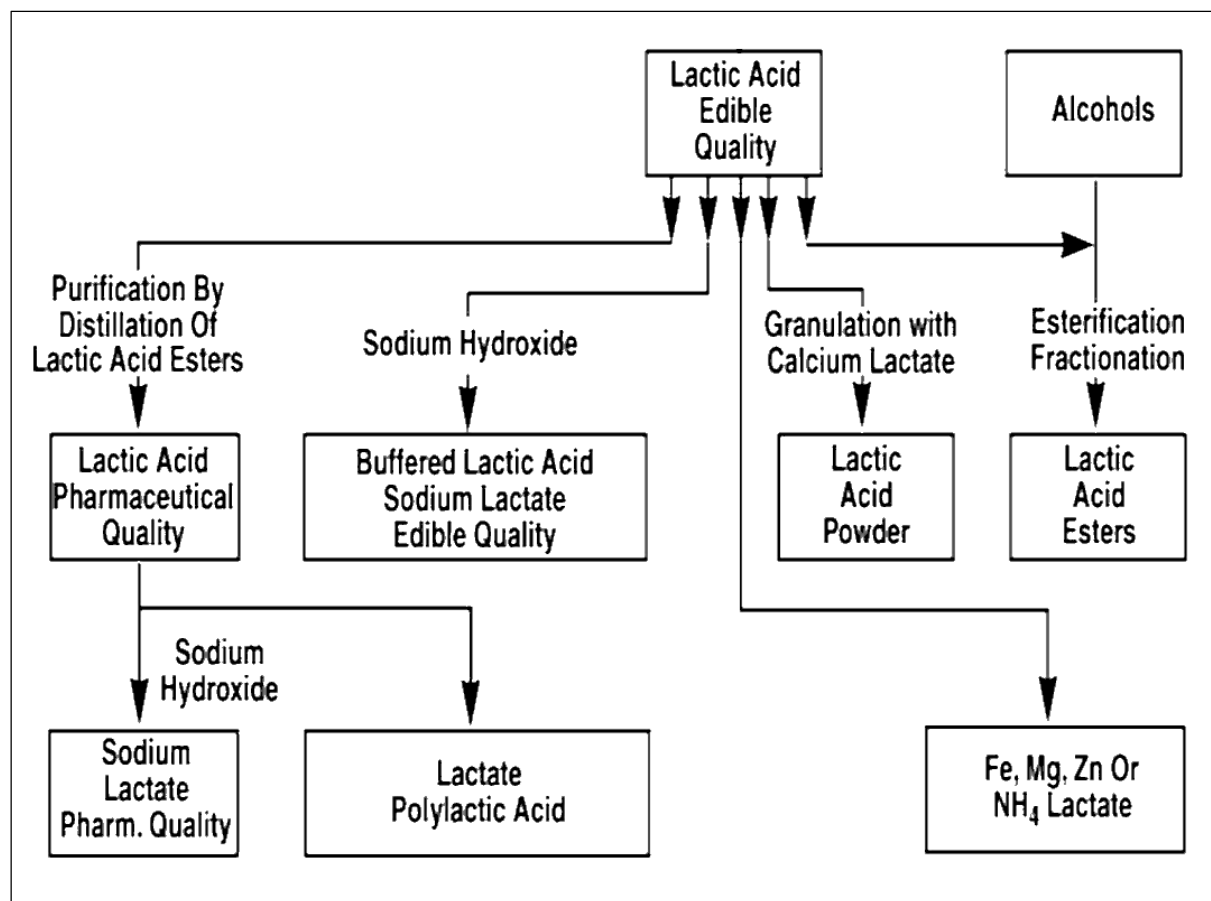
Az emberiség nagyon régóta fogyaszt tejsav tartalmú élelmiszereket (tejtermékek, kovászolt áruk, kovászos uborka, bor, sör). Így természetes, hogy az iparszerű élelmiszergyártásban is használják a tejsavat, mint kellemes ízű (lágy, nem karcos) savanyító- és tartósítószer. A tejsavat és sóit az FDA is biztonságosnak minősítette (GRAS: generally recognized as safe). Ugyanígy engedélyezték a sztearoil-lakátokat és más észtereket, amelyeket a sütőiparban a tészta állagjavítására használnak. Ezek gyártásához nagyon tiszta „hőstabil” tejsavra van szükség.

A bőriparban és a textiliparban technikai minőségű tejsavat használnak a savas áztatáshoz. A szerves savak használata olcsóbb ezekben a folyamatokban, de a környezetvédelmi szempontok miatt terjed a tejsav használata.

Sok gyógyszer- és kozmetikai termék tartalmaz tejsavat, illetve származékait. A kozmetikai termékekben hidratáló, emulgeáló és stabilizáló komponensként szerepelnek. A kalciumlaktátot széles körben használják a kalcium-hiány kezelésére, pl. a várandósság ideje alatt.

Nagy potenciál van a politejsavnak, mint biológiailag lebomló műanyagoknak az elterjedésében. Puha csomagolóanyagok és filmek készítésére alkalmas. A talajban nedves körülmények között három hónap alatt szétesik és egy-két év alatt teljesen lebomlik. Becslések szerint a polilaktát elterjedésével a jelenlegi ~200.000 t/éves termelés meg is duplázódhat.

Másik „zöld” alkalmazás a tejsav észterek, pl. a butil-laktát alkalmazása a szénhidrogén alapú oldószerek helyett. Jól használhatók festékek, lakkok, lemosók oldószereként. Alkalmazással csökkenthető a kőolaj felhasználás, másrészt a természetben gyorsan lebomlanak.



6. ábra A tejsav származékai és alkalmazása

1.2. Aceton-butanol-etanol (ABE) fermentáció

1.2.1. Bevezetés

A butanolt erjesztési termékként először Pasteur említi 1861-ben. Termelése az aceton-butanol-etanol (ABE) anyagcsereúton történik. A három termék párhuzamosan képződik, arányuk általában 3:6:1. Az ipari fermentációs gyártás a huszadik század legelején kezdődött. A változó igényeknek megfelelően mindig más anyagot tekintettek főterméknek. Az I. Világháború előtt a szintetikus gumi (butadién) gyártásához a butanolra volt szükség. Az I. Világháború idején viszont inkább az acetont tekintették főterméknek, mert ezt használták a TNT robbanóanyag gyártásához. A Világháború után újra a butanol válik fontossá, a festékek, lakkok oldószereként (butilacetát formában).

A második világháború alatt megint az acetona volt nagyobb igény, ezúttal a Cordite (tüzérségi lőszer robbanó anyaga) gyártásához.

A század második felében a kőolaj bázisú termékek kiszorították a fermentált oldószereket. A kőolajipar fejlődése mellett a közrejátszott a melasz árának jelentős emelkedése is. Az üzemek nagy részét az ötvenes években leállították, kivéve néhány speciális adottságú országot (pl. Tajvan és Dél-Afrika) ahol a gyártás fennmaradt a nyolcvanas évekig. Az olajválság idején néhány üzem újraindították, majd ezek is leálltak. Jelenleg csak néhány kisebb üzem működik, olyan helyeken, ahol olcsó és másképpen nem hasznosítható melasz keletkezik.

A XXI. században a butanol, mint bioüzemanyag/adalék került újra a kutatások fókuszába. A természeti erőforrások kimerülése megnövelte az alternatív üzemanyagok iránti keresletet és ez arra készítette a tudósokat, hogy újabb stratégiákat tárjanak fel ebben az irányban. A mai napig az etanolt tartják a legmegfelelőbb bioüzemanyagnak, mert gyártása egyszerű a már kidolgozott erjesztési technológiákkal. Azonban az etanol nem a legjobb választás, mert higroszkópos és nagy a gőznyomása. Ha alternatívát keresünk, akkor talán a butanol a legígéretesebb, mert egyrészt jobb a fizikai tulajdonságai, másrészt 30%-os koncentrációig hozzákeverhető a benzinnel a motor módosítása nélkül. A teljesen butanolos hajtáshoz is csak minimális változtatások kellenek. Ráadásul nem csak a benzinnel adható, hanem a dízel üzemanyaghoz is, igaz, kisebb koncentrációban (10-15%).

Tulajdonság	Butanol	Etanol	Benzin
Energiasűrűség (MJ/liter)	29,2	21,2	32,5
Oldhatóság vízben (ml/100 ml)	9,1	elegyedik	<0,01
Gőznyomás	6,4	18-22	6,4-11,9
Oxigéntartalom (m/m%)	21,6	34,8	0
Oktánszám	96	112-129	91-99

2. táblázat Üzemanyag komponensek tulajdonságainak összehasonlítása

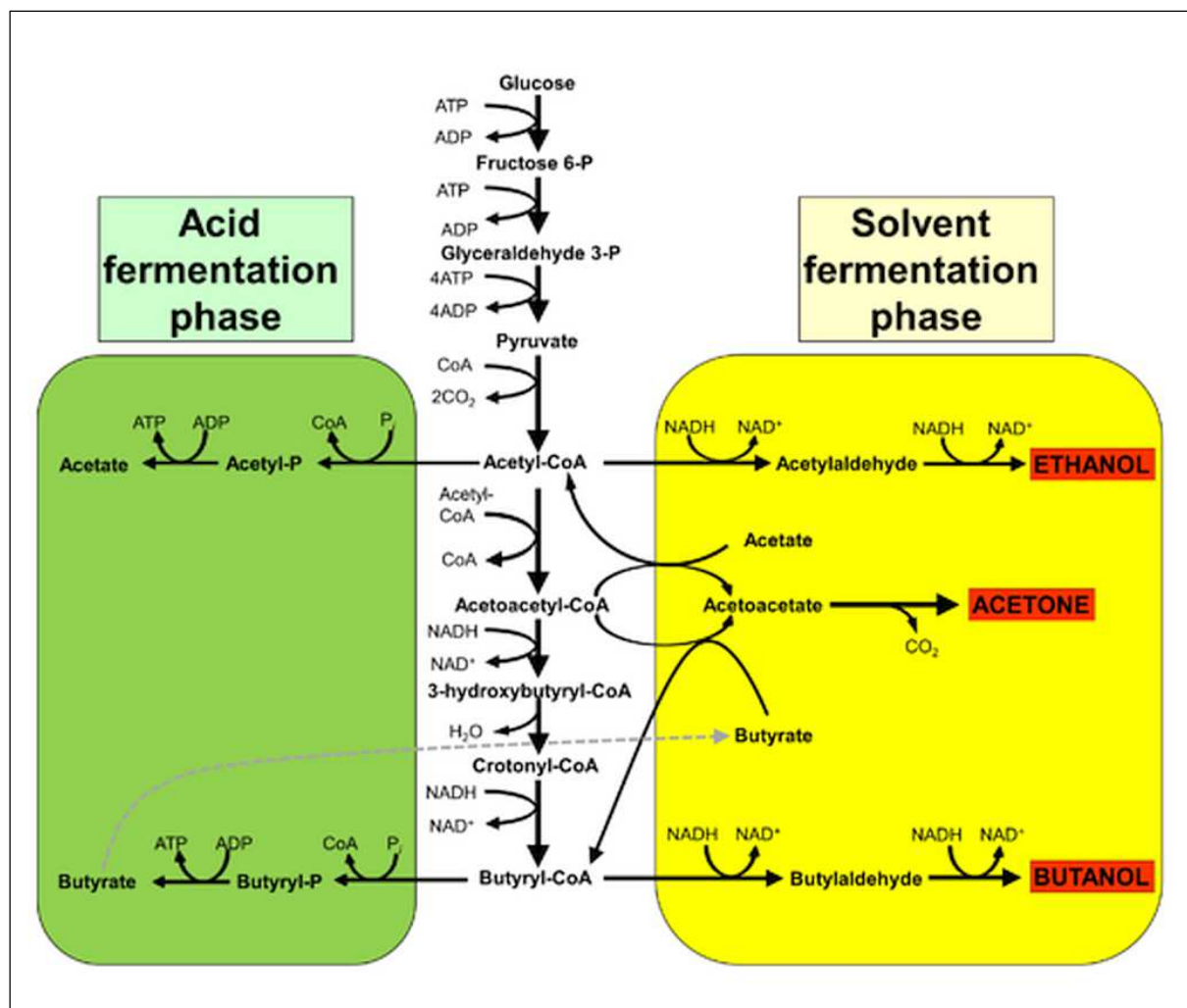
A butanol energiataralma nagyobb és gőznyomása kisebb, mint az etanolé (2. Táblázat). Kis nedvszívó hatása miatt kevésbé korrodálja a motort. Könnyen szállítható, és könnyen elegyíthető a benzinnel. Benzinnel kombinálva a hosszabb szénláncú alkoholok, így a butanol is hozzájárulhat a fosszilis energiahordozók felhasználásának csökkentéséhez és így a globális felmelegedés fékezéséhez.

Hiába jók az anyag tulajdonságai, a gyártás gazdaságosságát javítani kellene ahhoz, hogy versenyképes legyen az etanollal. Az ABE-fermentáció a legtöbb ipari fermentációs technológiához képest kevésbé hatékony. A végső termékkoncentráció csak 17-20 g/l, mivel ennél a koncentrációnál a butanol már károsítja a termelő mikroorganizmusokat. Emellett a hozam is alacsony (0,28-0,33 g/g cukor). További problémát jelent a szubsztrát magas ára a termékhez képest. Emellett az oldószer kinyerésének (downstream) költségei is nagyok.

1.2.2. Bioszintézis

A *Clostridium*-ok a többi anaerob mikroba anyagcseréjétől eltérően az egyszerű cukrokból előbb szerves savakat állítanak elő, majd ezeket redukálva hozzák létre az oldószereket (7. ábra).

Az ABE erjesztő *Clostridium* fajok energiatermelése összetett reakcióhálózat. A termékek szempontjából három folyamatot különíthetünk el: (1) a szerves savak termelését (ecetsav, vajsav és tejsav), (2) a gáztermelést (szén-dioxid és hidrogén) és (3) az oldószertermelést (aceton, butanol és etanol). Az ABE fermentáció kétfázisú folyamat. Az első fázis acidogén, ezalatt ecetsav és vajsav, valamint H₂ és CO₂ keletkezik. Ez a fázis egybeesik a baktériumok exponenciális növekedésével, mivel ezekben a reakciókban sok ATP képződik. A savtermelés hatására a pH csökken. Ha intenzív a folyamat és bőséges a szubsztrát ellátás, akkor a pH lemehet 4,5-re is, ami már gátolja a sejtek életfolyamatait. Ezért a fermentáció során a pH-t szabályozzák, nem engedik 5,0-5,4 érték alá. A második fázisban a szerves savakból oldószerek keletkeznek. Ennek során a redukált koenzimek regenerálása folyik, aminek sokkal kisebb az energiahozama. Az anyagcsere lassulásával a tenyészet spórásodni kezd. A savak fogyása a pH emelkedését eredményezi.



7. ábra Az ABE termékek bioszintézise

A folyamatnak nincs rögzített sztöchiometriája, a termékek molaránya közelítőleg 6:3:1. Nyomokban mindig keletkeznek egy kevés izopropanol is.



A termékek relatív aránya függ:

- baktérium törzstől
- fermentációs körülményektől

A termékarányok szerint három fermentáció típust különböztet meg:

1. Aceton-butanol fermentáció → *Clostridium acetobutylicum*
2. Butanol - izopropanol fermentáció → *Clostridium butylicum*
3. Vajsav - ecetsav fermentáció → *Clostridium butyricum*

Ipari jelentősége az első típusnak van, a fenti reakcióegyenlet ezt írja le. A továbbiakban erre a folyamatra és a *C. acetobutylicum* törzsre koncentrálnak.

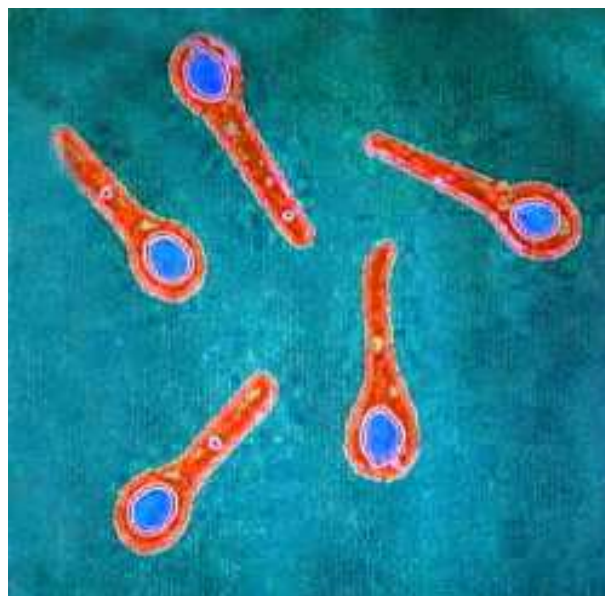
1.2.3. ABE termelő törzsek

A butanol termelésre képes vad törzsek túlnyomórészt a *Clostridium* nemzetséghez tartoznak. Ezek Gram-pozitív spóráképző pálcák, egyik végükön több ostorszerű mozgásszervük van. Elnevezésük onnan ered, hogy spórázáskor a nagy méretű endospórák deformálják, kitágítják a sejtfalat, ezáltal a sejt egyik végén buzogányszerű dudort alkotnak. A spórák nagyon ellenállóak, és hosszú ideig eltarthatók, homokban tárolva akár 30 évig is életképesek. A törzsek igen érzékenyek a fágfertőzésekre, ami jelentős károkat okozott az ipari termelésben is.

A *Clostridium* baktériumcsaládba tartozó mikroba képesek a keményítőt (egyesek a cellulózt is), vagy egyszerűbb szénhidrátokat (glükózt, fruktózt, xilózt, szacharózt, laktózt, stb.) anaerob körülmények között erjeszteni. A *Clostridium*-ok extracelluláris enzimeket választanak ki, amelyekkel lebontják az összetett szénhidrátokat. Az „enzimkoktél” α -amilázt, α -glükozidázt, β -amilázt, β -glükozidázt, glükooamilázt, pullulanázt és amilopullulanázt is tartalmaz. A kapott monoszacharidokat membránkötött transzporterek viszik be a sejtekbe. A szénhidrátok ezt követően a glikolízisben vagy a pentóz-foszfát úton metabolizálódnak. Ugyanakkor bőséges tápanyag ellátás esetén keményítőszerű tartalék tápanyagot (granulózt) képeznek.

Elsőként Chaim Weizmann 1916-ban izolált és azonosított egy *C. acetobutylicum* törzset, amely keményítőtől butanolt és etanolt erjesztett. Ez egy Gram-pozitív, spóráképző, szigorúan anaerob baktérium, amely aerob körülmények között néhány óra alatt elpusztul. Ez a tulajdonsága korlátozza az alkalmazhatóságát.

A termelt oldószerek is toxikusak a sejtek számára. A MIC50 (a sejtszaporodást 50%-ban gátló koncentráció) butanolra 11 g/l, etanolra 51 g/l, és acetonnal 84 g/l. Azaz a legértékesebb termékkel viseli el a legkevesebbet a tenyészet. Az oldószertűrést hosszú törzsjavítási munkával kb. másfélszeresére növelték, így lehet elérni a folyamat végére a 17-20 g/l szintet.



8. ábra Spórázás *Clostridium* mikroszkópos képe

Törzs	Szubsztrát	Butanol, g/l	kihozatal, g/g	Fermentációs technika
<i>C. acetobutylicum</i>	kasszava keményítő	20,1	0,23	Bioreaktor, szakaszos
	glükóz	19,12		Bioreaktor, rátáplálásos
	glükóz	18,9	0,29	Bioreaktor, szakaszos
	glükóz	17,1		Bioreaktor, rátáplálásos
<i>C. tyrobutyricum</i>	cukornád lé	16	0,24	Bioreaktor
<i>C. pasteurianum</i>	glicerinn	12	0,27	Bioreaktor, szakaszos
<i>C. beijerinckii</i>	glükóz	18,6	0,32	Bioreaktor, szakaszos

3. táblázat Különböző *Clostridium* törzsek butanoltermelésének összehasonlítása

A törzsfeljesztő munka, a genetikai manipuláció során a *C. acetobutylicum* törzs genomjába sok ponton beavatkoztak. A változtatások jellemzően a savképző reakciók génjeinek kiütésére és az oldószer termelő lépések enzimeinek overexpressziójára irányultak. (3. Táblázat)

A génmanipulációval a termékarány is megváltoztatható. 1980-ban leírtak egy olyan *C. acetobutylicum* törzset, amelynél a termelt aceton arányát a szokásos 30%-ról (60:30:10 arány) 70%-ra (20:70:10 arány) növelték.

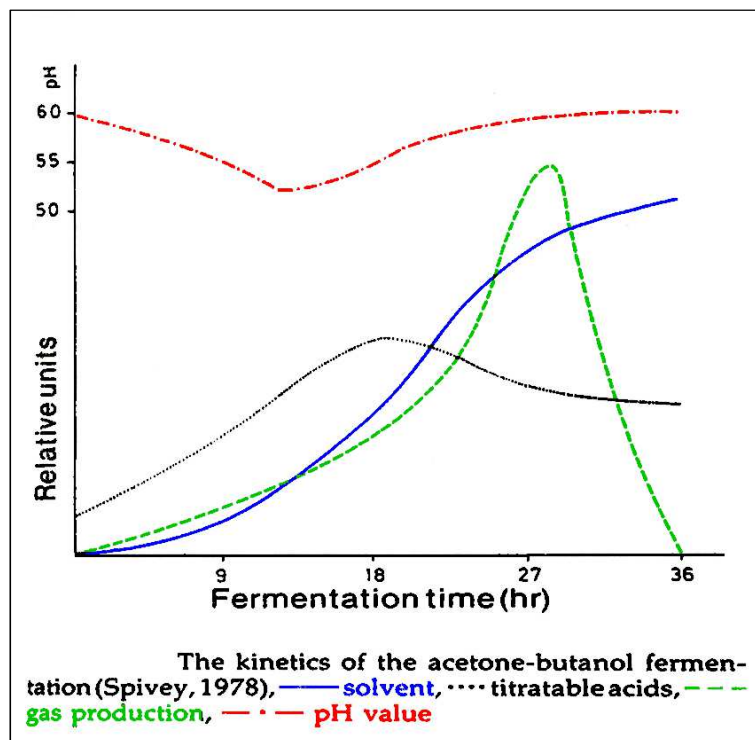
1.2.4. Aceton-butanol fermentáció, a klasszikus technológia

Mivel az ismert mikroorganizmusok között a *C. acetobutylicum* és a hozzá nagyon hasonló *C. beijerinckii* termeli és türi a legnagyobb koncentrációban a butanolt, ezek a leggyakrabban használt termelő organizmusok. Tulajdonságaikat és a fermentációs folyamat paramétereit részletesen vizsgálták, a cél mindig a végső butanol koncentráció növelése volt. Törzskonzervként a spórákat steril homokban vagy talajban tárolják. Az inokulum készítés első lépéseként a spórákat hővel aktiválják, 65-100 °C-on 1-3 percig. Két-négy felszaporítási lépcső után a fermentorokat 2-4 %-nyi inokulummal oltják.

Az ipari fermentorok 200-700 m³-es, mechanikus keverő nélküli tartályok. Ezeket üresen gőzzel sterilizik, a tápoldatot folyamatos sterilizáción keresztül vezetik be.

A fermentorokat kapacitásuk 90-95%-áig töltik fel a steril tápoldattal, tiszta szén-dioxid atmoszférában. Az oltás közben és után a folyadékban steril szén-dioxidot buborékoltatnak át, ezzel biztosítják a keverést. A későbbiekben a gázfejlődés pezsgése mozgatja, keveri a folyadékot, másrészt kiszorítja az esetleges oxigén nyomokat.

A folyamat fázisai jól követhetők a koncentráció görbéken. Az indulási pH-t 5,8-6 közé állítják. Az első, acidogén szakaszban a pH csökken, mert szerves savak (ecetsav és vajsav) keletkeznek. Nagyobb mennyiségű szénforrás átalakítása esetén olyan sok sav keletkezhet, hogy a pH lemehet 4,5-re is, ahol a törzs anyagcsereje lefékeződik. Az oldószertermelés szempontjából az optimális pH értéke még a *C. acetobutylicum* különböző izolátumai között is eltérő. Van olyan törzs, amely pH=4,5 értéknél termel jól, mások a kiindulási hatos pH állandósí-



9. ábra Szakaszos ABE fermentáció lefutása

tása mellett halmoznak fel sok oldószert. Célszerű megoldás, hogy a pH-szabályozás során nem alkáli lúgokat adagolnak, hanem ammónium-acetátot, acetát puffert vagy kalcium-karbonátot. Az acetát az oldószerképzési fázisban belép az anyagcserebe, és maga is oldószer molekulákká

alakul. Ugyanígy kimutatható, hogy ha a fermentáció során vajsavat adagolnak, akkor az is jól hasznosul, egy része közvetlenül butanollá alakul át. Az ammóniumion is hasznosul, pótolja az elfogyasztott nitrogénforrást.

A tápoldatba bemért kalcium-karbonátnak nincs ilyen hatása, de megvan az az előnye, hogy pH-mérés és adagolás nélkül pufferolja a közeget, önszabályozó módon közömbösíti a savakat és nem engedi a pH-t 4,8 alá.

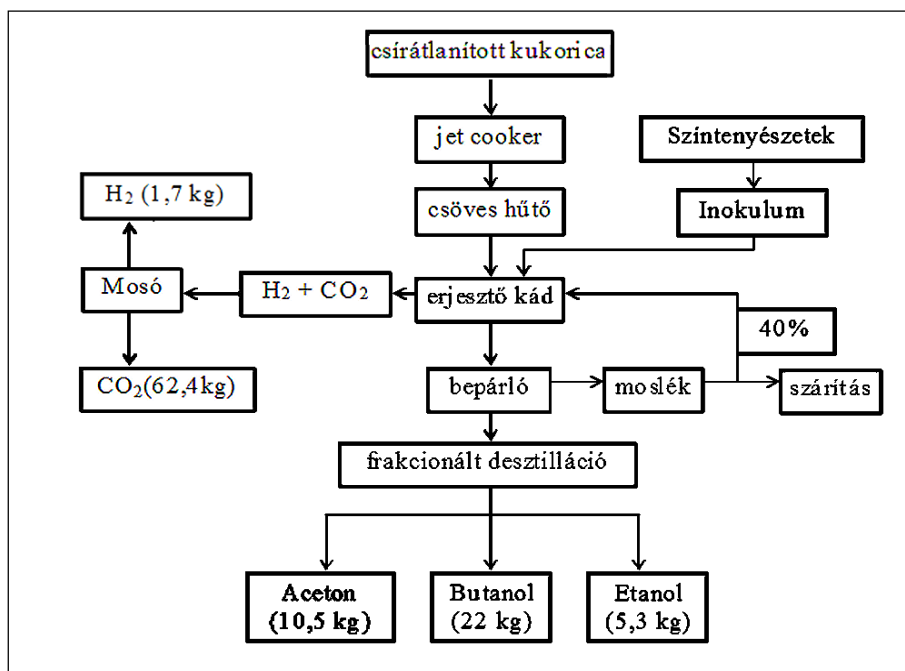
A nyomelemek közül a cink ion szerepe jelentős, elősegíti a savak átalakítását oldószerrekké.

A következő szakaszban a pH emelkedik, mert a savak tovább alakulnak, aceton és butanol képződik. Amikor felesleges NADH_2 van jelen, akkor a sejtek felveszik a megtermelt vajsavat és butanollá redukálják. Erre a fázisra jellemző a spóráképzés megindulása és a granulóz termelés is.

Végül a növekedés és az oldószer termelés leáll. A legnagyobb változás a gáztermelés sebességében mutatkozik. Ez jelzi az anyagcsere leállítását, a fermentáció végét. A pH közelítőleg visszaáll a kiindulási értékre.

1.2.4.1. ABE fermentáció kukorica szénforráson

A hagyományos ipari folyamatban a kukoricából cefrét készítenek. A szemekből a csírárt eltávolítják (kitörlik), és a szemeket megőrlik. A darából szuszpenziót készítenek, ezt folyamatos főzőben 130-133 °C-on 60-90 percig elcsirizesítik és megfőzik. Ez a keményítő mellett sok egyéb anyagot is tartalmaz, így nem volt szükség egyéb tápanyagok hozzáadására. Viszont a tápoldat készítésénél víz helyett egyharmad részben az oldószer lepárlás üstmaradékát használták, így sok hasznos anyag, „főtt” biomassza került a lébe. A kukorica felhasználás kb. 8-10% volt a fermentálé mennyiségére vonatkoztatva.



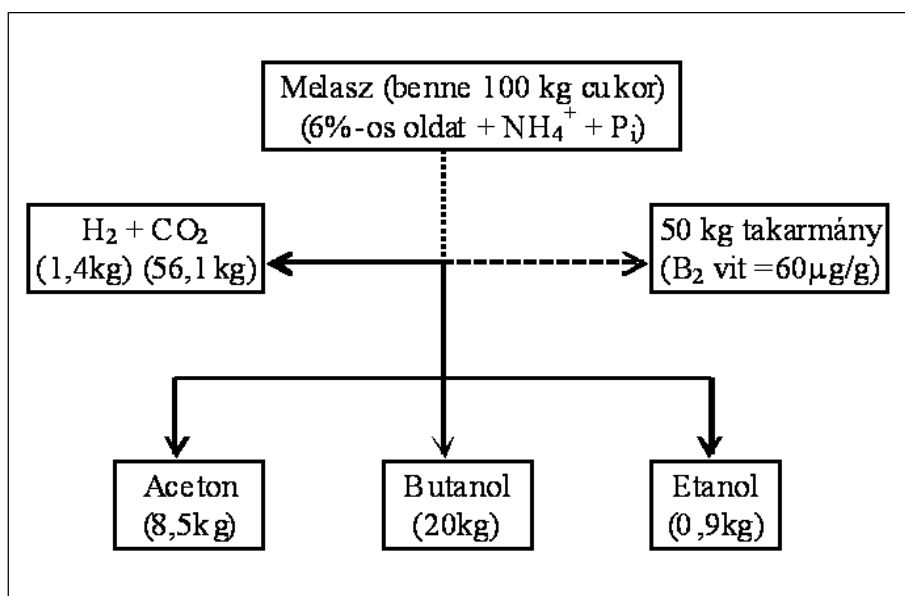
10. ábra A kukorica alapú ABE fermentáció anyagforgalma

A kukorica alapú fermentáció hőmérséklete 34-39 °C, időtartama 40-60 óra és a hozama mintegy 25-26% a kukorica szárazanyagra vonatkoztatva. A végső oldószer koncentráció 12 és 20 g/liter között mozog, általában alacsonyabb, mint melasz alapon. A kapott oldószer-arány nagyjából megfelel a Weizmann-féle 6:3:1-nek.

1.2.4.2. ABE fermentáció melasz szénforráson

A melasznak több előnye is van a kukorica szénforrással szemben. Nem kell hidrolizálni, azonnal könnyen metabolizálható cukrot tartalmaz, emiatt időben is rövidebb (~36 óra). Nem kell a csirizes, extrém viszkozitású anyagot nagyon magas hőfokra hevíteni és mozgatni. A melasznál is körülbelül 6,5 % erjeszhető cukor koncentrációt állítanak be. A sterilizálásnál elegendő a 107-120 °C hőfok és a 15-60 perces hőkezelés. A csirizesítő helyett elegendő egy gőzinjektoros folytonos sterilizáló alkalmazása. A melasznál viszont az egyharmad rész üstmaradékon túl további tápanyag kiegészítésre is szükség van, szerves és szervetlen nitrogénforrást és foszfát sókat adagolnak.

A melasz alapú fermentációk optimális hőmérséklete alacsonyabb (29-35 °C), legtöbbször 31-32 °C. Az oldószer koncentrációk és a hozamok (29-33%) nagyobbak, mint a keményítő alapú technológiáknál. A sejtek anyagcseréjét gátolja, ha az oldószer koncentrációja eléri a 18-22 g/litert, bár a gyakorlatban ritkán kaptak ilyen nagy értéket.



11. ábra A melasz alapú ABE fermentáció anyagforgalma

Az erjesztés során termelt szén-dioxidot és hidrogént elválasztják, és különböző célokra használják fel. Az fermentáció után az oldószerket előbb szakaszos vagy folytonos lepárlással választották el, majd és a párlatot rektifikálva tiszta acetont, butanolt és egy kevert oldószeres frakciót kaptak. A desztillációs maradék 4-4,5% (tömeg/térfogat) szárazanyagot tartalmaz. Ez a biomassza nagy tápértékű, 28-30% fehérjét és B vitaminokat tartalmaz. Szárított formában széles körben használták állati takarmányok adalékaként.

1.2.4.3. Erjesztési technikák

Az eljárás alapja a klasszikus szakaszos fermentáció volt. De mivel a második fázis, az oldószer termelés előfeltétele a viszonylag nagy cukor koncentráció (>7 g/l), már a korai gyártásoknál is alkalmaztak rátáplálást. Így a vad típusú törzsekkel 10-12 g/l, a manipulált törzsekkel 17-20 g/l-es butanol szintet lehetett elérni.

A folytonos fermentációs technika előnye, hogy nagy produktivitást lehet elérni, viszont a termékkoncentráció lényegesen alacsonyabb. Az ABE fermentációnál viszont a kétszakaszos lefutás megnehezíti a folytonos fermentációt. Ha az első szakasz egy pontjában folytonosítunk, akkor csak savakat termel a tenyészet, ha viszont a szolventogenezis szakaszát állandósítjuk,

akkor egy lassuló növekedésű, spórázó tenyészet állapotát kellene állandósítani. Ez a gyakorlatban is így működött, az egylépcsős kemosztatók rövid működés után instabillá váltak, minden paraméter leromlott.

Kétszakaszos fermentáció esetén logikus lépés a kétlépcsős folytonos technika alkalmazása. Az első lépésben nagyobb hígítási sebességgel a sejtzaporodási, savtermelő fázist állandósítják, míg a másodikban kisebb hígítási sebességgel, azaz nagyobb térfogatban az oldószer termelést. Ezzel a megoldással el lehet érni a szakaszos fermentációk kb. 20 g/l-es termék-koncentrációját, lényegesen jobb produktivitás mellett.

Adalék: A kaszkád rendszerek csúcstartója a Szovjetunióban (Doksukino, 1961) megépített nyolclépcsős folytonos fermentációs ABE üzem, 220-280 m³-es reaktorokkal. A gyártás a produktivitása kb. 20%-kal, a hozama 4%-kal volt jobb, mint a korábbi technológia.

A folytonos fermentáció további intenzifikálását jelentette a sejtviisszatartásos rendszer bevezetése. A elfolyó fermentléből még a desztilláció előtt lecentrifugálták a sejteket (steril és szigorúan anaerob körülmények között = containment!), és ezek egy részét visszavitték a fermentorba. Ezzel a sejtsűrűséget a többszörösére emelték, amitől a produktivitás is megnövekedett.

A fermentációs technikák további fejlesztését az upstream és downstream műveletek összekapcsolása jelenti, amellyel lehetővé válik a keletkező oldószer folyamatos eltávolítása a fermentorból. Ezt a későbbiekben részletezzük.

1.2.5. További fejlesztési irányok

Az utóbbi évek gazdasági tanulmányai szerint a bio-butanol termelése a petrokémiai gyártáshoz viszonyítva nem gazdaságos.

Ahhoz, hogy a biotechnológiai út versenyképes legyen a kémiai előállítással további fejlesztésekre van szükség,

1. Genetikailag módosításokkal olyan új törzseket létrehozni, melyek képesek lignocellulózból származó cukrok felhasználására és rezisztensek e hidrolizátumok a mikrobiális inhibitoraival szemben
3. Minél olcsóbb szénforrások hasznosítása (melléktermékek, hulladékok, például a kukorica rost hidrolizátum)
4. a szénhidrát alapanyag minél teljesebb elerjesztése és az értéktelen melléktermékek képződésének minimalizálása. Ez a kihozatal javítása mellett a szennyvízbe kerülő szerves anyag mennyiségét is csökkenti.
5. A sejt tömeg visszavezetése, nagy sejtsűrűség
6. A fermentációs melléktermékek (CO₂, H₂, biomassza) hasznosítása
7. A termelt oldószeres folyamatos elvétele a fermentorból, az upstream és a downstream műveletek integrálása.

1.2.5.1. További lehetőségek: olcsóbb szénforrások

A fermentációs technológia költségeinek mintegy hatvan százaléka a szubsztrátok ára. Emiatt fontos lenne, hogy olcsó, megújuló, élelmiszeripari célokra nem használható nyersanyagokat válasszanak, ezzel csökkenhet a szubsztrát költség. A konfliktus alapja ugyanaz, mint a többi bioüzemanyag gyártásánál. Az első generációs gyártások az élelmiszeripartól vonnak el alapanyagokat (cukrok, keményítő növények). Emiatt minden gyártásnál, így a biobutanol termelésnél is célszerű átállni a második generációs eljárásokra, amelyek az élelmezésre nem használható szénhidrátokat (cellulóz, hemicellulóz, lignocellulóz) hasznosítják.

A butanolt termelő *Clostridium*-ok sokféle szubsztrátot képesek hasznosítani, a hexózon túl pentózokat, glicerint, sőt a szintézisgázt (CO+CO₂+H₂) is, csak kisebb hatékonysággal. A legnagyobb potenciál a cellulóz hasznosító törzsekben van. Genetikailag manipulált *C.*

cellulovorans, *C. cellulolyticum* és *C. thermocellum* törzsek közvetlenül is képesek a cellulózt lebontani és butanollá alakítani. Ezek a sejtek celluloszómákat tartalmaznak, amelyek a kristályos cellulóz és hemicellulóz bontására specializálódtak. Ezen a területen sokan kutatnak, de a hatékonyság számai még jelentősen elmaradnak a cukor és keményítő alapú technológiáktól.

A mezőgazdasági hulladékok (pl. a cukornád baggasz és a rizsszalma) hatalmas mennyiségben állnak rendelkezésre, és más módon nem is hasznosíthatók. De ezekkel az a fő probléma, hogy ezekből nehéz erjeszhető cukrot előállítani. A növényi rostok komplex szerkezete miatt a poliszacharid molekulák nehezen hozzáférhetők, és a szükséges hidrolizáló enzimek is drágák. Ezek a nyersanyagok előkezelést igényelnek, és ez megnöveli a költségeket. Sokféle kezelési eljárásról dolgoznak világszerte, de még nincs optimális megoldás.

Egy hatékony előkezelési technológiával szemben az az igény, hogy kevés vegyszer és energia felhasználásával és hatékony enzimes hidrolízissel működjön, ugyanakkor kevés erjedésgátló mellékterméket hozzon létre. Az alkoholt termelő élesztőkhöz képest a *Clostridium*-ok sokkal érzékenyebbek a lignocellulózok hidrolizátumaiban előforduló inhibitorokra (pl. a hidroximetil-furfurol, a furfurol és a lignin származékokra). A hidrolízis során különféle öt- és hat szénatomos cukrok keveréke keletkezik, amelyek eltérő módon metabolizálódnak és gátolhatják egymás hasznosulását. A kezelés során mindig marad egy oldhatatlan rostokból álló szilárd frakció, ami megnehezíti a további műveleteket.

1.2.5.2. További lehetőségek: Génmanipuláció

A *Clostridium* törzsek oldószer-tűrőképességét nem egyszerű tovább növelni. Már évtizedek óta foglalkoznak vele, és így jutottak el az eredeti 10-12 g/l-es koncentrációtól a 17-20 g/l-es jelenlegi szinthez.

Sokszoros genetikai átalakításokat végeztek az *E. coli*-n és a *S. cerevisiae*-n is, remélve, hogy az eleve nagyobb oldószer-tűrős törzsekbe klónozva a megfelelő géneket magasabb butanol szintet lehet elérni. Napjainkig laboratóriumi léptékben is csak 14-15 g/l-es oldószer koncentrációt értek el így, ami kisebb, mint a *Clostridium*-oknál ipari fermentorban is reprodukálható 17-20 g/l-es szint. További manipulált baktériumok fajoknál a termék koncentráció 1 g/l alatt maradt.

1.2.5.3. További lehetőségek: Downstream fejlesztések

Az etanol gyártásnál a leerjedt cefre koncentrációja általában 5-9 %, de el lehet elérni a 16 %-os koncentrációt is. Ezzel szemben az ABE fermentációnál az elérhető butanol koncentráció csak 17-20 g/l, az összes oldószer együtt kb. 3%. Ennek megfelelően az ABE feldolgozási költsége jóval nagyobb, mint az etanolé. Járható útnak tűnik az oldószeres folyamatos elvétele az erjesztés során, így a koncentráció a toxikus szint alatt tartható. A folyamatos elvételre többféle művelet is alkalmas lehet.

Sztrippelés gázzal

A sztrippelés az illékonyság különbségen alapul. Ha a folyadékban, adott esetben a fermentlén gázt (célszerűen a termelődő szén-dioxidot) buborékoltatnak keresztül, akkor megindul a párolgás, és az illékony anyagok gőznyomásuknak megfelelően megjelennek a gázban. Az egyensúly beállítására a buborékok élettartama alatt nincs idő, a gázáram folyamatosan oldószer gőzöket és vízgőzt visz magával. Egy hűtőben ezek lekondenzálhatók és elvezethetők. A gáz felmelegítés után recirkuláltatható a fermentorba további oldószer kinyerésére. Mivel a *Clostridium*-ok érzékenyek az oxigénre, a sztrippelésre semmiképpen sem szabad levegőt használni. A folyamat során jelentős mennyiségű szén-dioxid keletkezik (az összes szénatom kb. egyharmada ebben a formában távozik), így van kellő mennyiségű inert gáz a sztrippeléshez.

Pervaporáció

A fermentlé egy membránnal érintkezik, amelynek másik oldalán áramló inert gáz vagy vákuum van. A termelt oldószer molekulák beoldódnak a membrán apoláris anyagába, átdiffundálnak rajta és a másik oldalon gőzként jelennek meg. Az egyensúly akkor állna be, amikor a gázoldalon a gőzök koncentrációja eléri az adott hőmérséklethez tartozó gőznyomást. Ha viszont a gőzöket egy szivattyúval folyamatosan elvisszük egy kondenzátorba, a termelt oldószer elvétele is folyamatosává válik.

A művelet hatékonyságát két paraméterrel jellemezhetjük:

- szelektivitás: az eltérő polaritású illékony anyagok áteresztésének/visszatartásának mértéke
- fluxus: az egyes komponensek anyagtranszportjának sebessége, egységnyi időre és membránfelületre vonatkoztatva

A pervaporáció szelektív és hatékony művelet, de a drága membránok és az eltömődés veszélye korlátozza a nagy volumenű alkalmazását.

Extrakció/persztrakció

A butanol jobban oldódik a szerves fázisban, mint a vizesben (a fermentlében), megoszlás jön létre. Az egyensúly beállása után a fázisokat szétválasztják (ülepítés/centrifugálás). Problémát jelenthet, hogy a fermentlé felületaktív (emulgeátor tulajdonságú) anyagai stabil, nehezen szétválasztható emulziót hoznak létre. Emellett előfordul, hogy a sejtek a két fázis határfelületére tapadnak, a homogenitás megszűnik.

A folyadék-folyadék extrakció is szelektív művelet, de a számításba jöhető hatékony oldószerek általában mérgezőek a baktériumokra. Még legapolárosabb oldószer is kis mértékben oldódik a vizes fázisban, így eljut a sejtekhez és károsítja sejtmembránt. Az átoldódás egyben oldószerveszteséget is okoz. A legkevésbé mérgező oldószer a biodízel, azaz a hosszú szénláncú zsírsavak metilészterei.

Az extrakció hátrányait felsorolt hátrányait nagymértékben csökkenthetjük, ha a két fázis közé egy apoláris membránt helyezünk. A két, egymással nem elegyedő folyadék csak membrán anyagán keresztül érintkezik (membránextrakció = persztrakció) Nincs direkt kapcsolat a két fázis között, így az oldószer toxicitása, fázis diszperzió, emulzió és réteg képződés drasztikusan lecsökken vagy megszűnik.

Apoláris anyagú membrán esetén a butanol (és a többi oldószer) beoldódik a membrán anyagába és átdiffundál rajta, míg más, hidrofil komponensek illetve fermentációs köztitermékek (pl: ecetsav, vajsav) visszamaradnak a vizes fázisban. A membrán túoldalán a molekulák beoldódnak a szerves fázisba, és elvileg beállna a megoszlási egyensúly. Ha viszont az szerves fázist áramoltatjuk, akkor az egyensúly nem áll be, mert a termékeket folyamatosan elvisszük a rendszerből.

További hátrány, hogy az extrakció/persztrakció után a termelt oldószereket el kell választani az extraháló oldószertől. Ez desztillációval lehetséges, ami energiaigényes folyamat. Tehát ilyen módon a desztilláció műveletét nem lehet megkerülni.

A különböző fermentációs és feldolgozási technikák integrációjával kapott eredményeket mutat be a 4. Táblázat. Ha az oldószereket folyamatosan elvesszük, akkor egy liter fermentléből nem csak ~20 g butanolt lehet kinyerni, hanem akár több száz grammot is.

Oldószer kinyerés	Fermentáció	Szubsztrát	Törzs	ABE hozam (g/g)	ABE titer (g/l)	Butanol titer (g/l)	ABE produktivitás (g/l-h)
sztrippelés gázzal	Szakaszos	Glükóz	<i>C. beijerinckii</i> BA101	0.39	75.9	46.4	0.61
		fapép hidrolizátum	<i>C. beijerinckii</i> CC101	0.44	17.7	13.5	0.25
	Rátáplálásos	Glükóz	<i>C. beijerinckii</i> BA101	0.47	232.8	151.7	1.16
		elcukrosított kukorica-keményítő	<i>C. beijerinckii</i> BA101	0.36	81.3	56.2	0.59
		Glükóz	<i>C. acetobutylicum</i> JB200	0.36	172	113.3	0.53
			<i>C. acetobutylicum</i> ABE1401	0.38	177.6	108.3	0.67
	Rátáplálásos; FBB	besűrített kasszava baggasz hidrolizátum	<i>C. acetobutylicum</i> JB200	0.37	108.5	76.4	0.53
	Rátáplálásos; FBB	Glükóz	<i>C. acetobutylicum</i> B3	0.36	106.3	66.1	0.61
	Rátáplálásos; immobilizált		<i>C. acetobutylicum</i> ABE1401	0.38	255.6	166.8	1.15
kétlépcsős sztrippelés	Rátáplálásos; FBB	Glükóz	<i>C. acetobutylicum</i> JB200	0.40		532.3	0.64
Extrakció és sztrippelés	Szakaszos	Glükóz	<i>C. acetobutylicum</i> ATCC824	0.37	204	113	0.46
	Rátáplálásos		<i>C. acetobutylicum</i> ATCC824	0.43	460	250	0.65
sztrippelés és pervaporáció	Rátáplálásos	Glükóz	<i>C. acetobutylicum</i> JB200	0.35	622.9	521.3	0.50
			<i>C. acetobutylicum</i> ABE1401	0.38	706.7	482.6	0.67
pervaporáció	Rátáplálásos	Glükóz	<i>C. beijerinckii</i> BA101	0.43	165.1	–	0.98
			<i>C. acetobutylicum</i> XY16	0.37	118	–	0.30
				0.28	142	–	0.29
				0.31	90	–	0.62
	Folytonos	Glükóz	<i>C. acetobutylicum</i> ATCC 824	~0.36	62.6–117	35.3–64.0	0.30
				~0.35	85.6–202	60.4–131.6	1.13
			<i>C. acetobutylicum</i> DP217	0.37	160	104.6	0.30
		Kasszava		0.38	201.8	122.4	0.76
kétlépcsős pervaporáció	Folytonos	Glükóz	<i>C. acetobutylicum</i> ABE1401	0.35	782.5	452.0	0.45

4. táblázat Integrált ABE fermentációk hatékonysági paramétereit

A butanol gyártás gazdaságossá tételében, a törzsek és a technológiák fejlesztésében nagy kihívások vannak, sokan foglalkoznak a K+F-el. Az EU a H2020 program keretén belül jelentős támogatással elindította a ButaNexT projektet a butanol gyártási technológia fejlesztésére. Ez a program felöleli a fent felsorolt fejlesztési irányok mindegyikét. Sajnos ennek a programnak nincs magyar résztvevője.

A butanol világpiaca 2019-ben kb. 6500 millió Euro. Az 1,2-1,3 €/kg árral visszszámolva ez ~5 millió tonna/év. Ennek túlnyomó része jelenleg petrokémiai eljárással készül. A fő felvevő piac Kína (~50%), szinte bármilyen mennyiséget átvenne. A termelés éves növekedési üteme ~3,5 %.

8. Tartalomjegyzék

1.	Bevezetés.....	Hiba! A könyvjelző nem létezik.
2.	Anaerob technológiák	1
2.1.	Tejsav gyártás.....	2
2.1.1.	Tulajdonságok	2
2.1.2.	Bioszintézis	2
2.1.3.	A tejsav termelő törzsek.....	3
2.1.4.	A tejsav termelő törzsek tápanyagigénye.....	4
2.1.5.	A tejsav fermentáció.....	5
2.1.6.	A tejsav izolálása (downstream processing)	6
2.1.7.	A tejsav felhasználása	8
2.2.	Aceton-butanol-etanol (ABE) fermentáció	9
2.2.1.	Bevezetés.....	9
2.2.2.	Bioszintézis	10
2.2.3.	ABE termelő törzsek	12
2.2.4.	Aceton-butanol fermentáció, a klasszikus technológia	13
2.2.4.1.	ABE fermentáció kukorica szénforráson	14
2.2.4.2.	ABE fermentáció melasz szénforráson	15
2.2.4.3.	Erjesztési technikák.....	15
2.2.5.	További fejlesztési irányok	16
2.2.5.1.	További lehetőségek: olcsóbb szénforrások.....	16
2.2.5.2.	További lehetőségek: Génmanipuláció	17
2.2.5.3.	További lehetőségek: Downstream fejlesztések	17
8.	Tartalomjegyzék.....	20