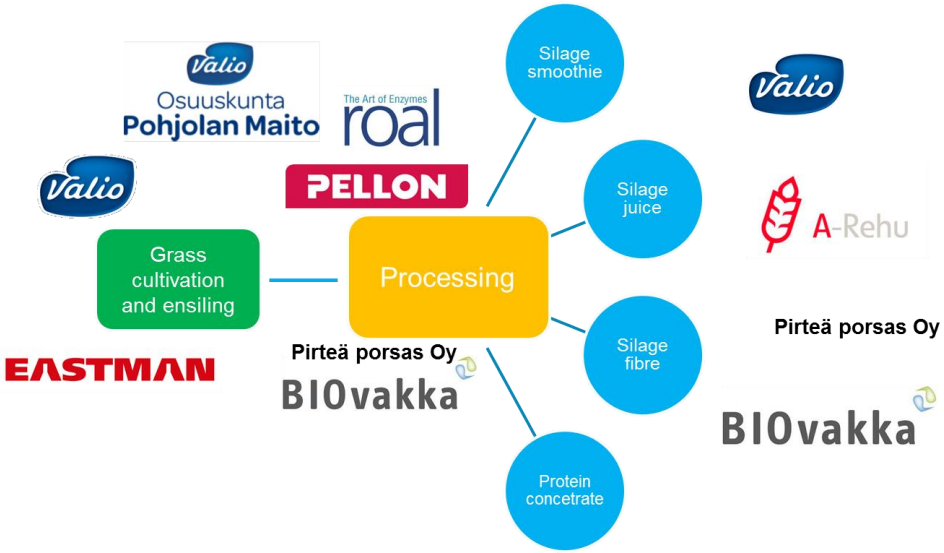


INNOFEED
Pekilo-proteiinin tuotto

Päätösseminaari

11.09.2018

Simo Ellilä, VTT

Pekilo-proteiinin tuotto

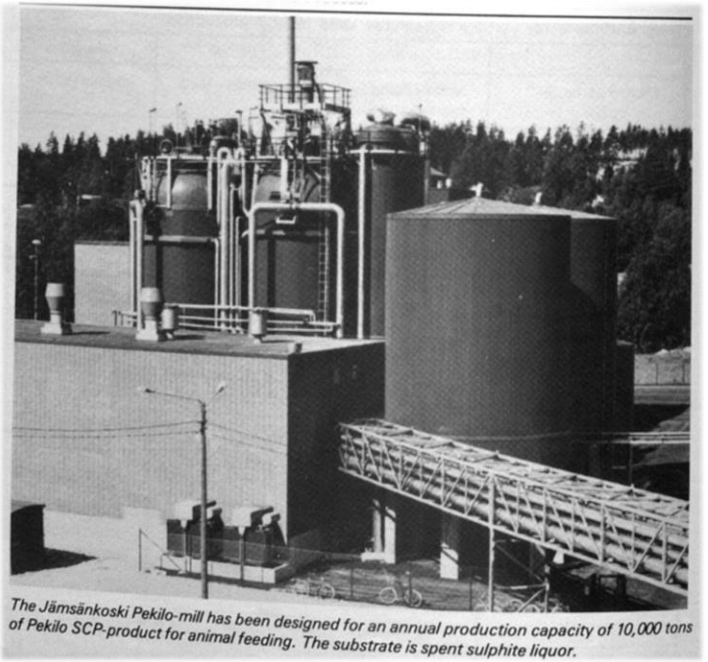
Pekilo 101 – Blast from the past

- Pekilo-prosessi kehitettiin 60-70-luvulla sulfiittisellutehtaiden jäteliemen valorisointiin

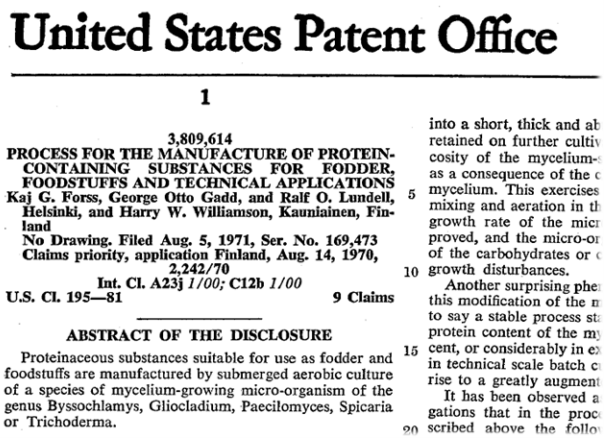
- *Paecilomyces variotii* home seulottiin n. 300 organismin joukosta:

A) Hyödyntää useimpia orgaanisia happoja ja sokereita
B) Kasvaa homeeksi nopeasti
C) Korkea valkuaispitoisuus (≥ 50%)
D) Saadaan tehokkaasti suodatettua talteen laimeasta liemestä

- Teolliset laitokset valmistuivat Mänttään ja Jämsänkoskelle. Raaka-ainepohja menetettiin sulfiittikeiton väistyessä Suomessa Kraft-prosessin tieltä ja viimeinen Pekilotehdas suljettiin 1991.



The Jämsänkoski Pekilo-mill has been designed for an annual production capacity of 10,000 tons of Pekilo SCP-product for animal feeding. The substrate is spent sulphite liquor.



United States Patent Office

1

3,809,614

PROCESS FOR THE MANUFACTURE OF PROTEIN-CONTAINING SUBSTANCES FOR FODDER, FOODSTUFFS AND TECHNICAL APPLICATIONS

Kaj G. Forss, George Otto Gadd, and Ralf O. Lundell, Helsinki, and Harry W. Williamson, Kauniainen, Finland

No Drawing. Filed Aug. 5, 1971, Ser. No. 169,473

Claims priority, application Finland, Aug. 14, 1970, 2,242/70

Int. Cl. A23j 1/00; C12b 1/00

U.S. Cl. 195—81 9 Claims

ABSTRACT OF THE DISCLOSURE

Proteinaceous substances suitable for use as fodder and foodstuffs are manufactured by submerged aerobic culture of a species of mycelium-growing micro-organism of the genus Byssochlamys, Gliocladium, Paecilomyces, Spicaria or Trichoderma.

into a short, thick and ab
retained on further culti
cosity of the mycelium-
as a consequence of the
mycelium. This exercises
mixing and aeration in th
growth rate of the micr
proved, and the micro-or
of the carbohydrates or
growth disturbances.

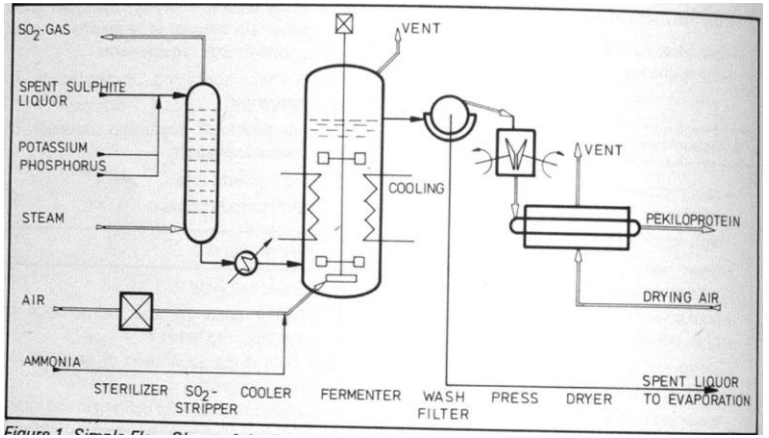
Another surprising phe
this modification of the m
to say a stable process st
protein content of the my
cent, or considerably in e
in technical scale batch c
rise to a greatly augment

It has been observed a
gations that in the proc
scribed above the follo

Pekilo-proteiinin tuotto

Pekilo 101 – Blast from the past

- Prosessissa laimeaa sulfiittilientä (n. 30 g/L sokereita ja orgaanisia happoja) syötettiin jatkuvatoimisesti fermentoriin ja solumassaa poistettiin samalla nopeudella (viipymä n. 5 h).
- Solutiheys oli n. 13-14 g/L, tuottavuus n. 2.7 g L^{-1} h^{-1} ja solujen proteiinipitoisuus n. 50%.
- Sulfiittiliemen tunnetun koostumuksen perusteella solusaannoksi voidaan olettaa n. 0.4 – 0.5 g soluja / g orgaanisia yhdisteitä, jolloin proteiinisaanto oli n. 0.2 – 0.25 g/g.
- Pääasiallisena typenlähteenä ammoniakki, myös suoloja lisättävä



growth was attained. The concentration of the micro-organism in the spent liquor could then easily be maintained within 13–14 g./l. The reducing capacity of the

continuous cultivation, the productivity figures were 2.6–2.7 and 2.8 g./l.h., respectively.

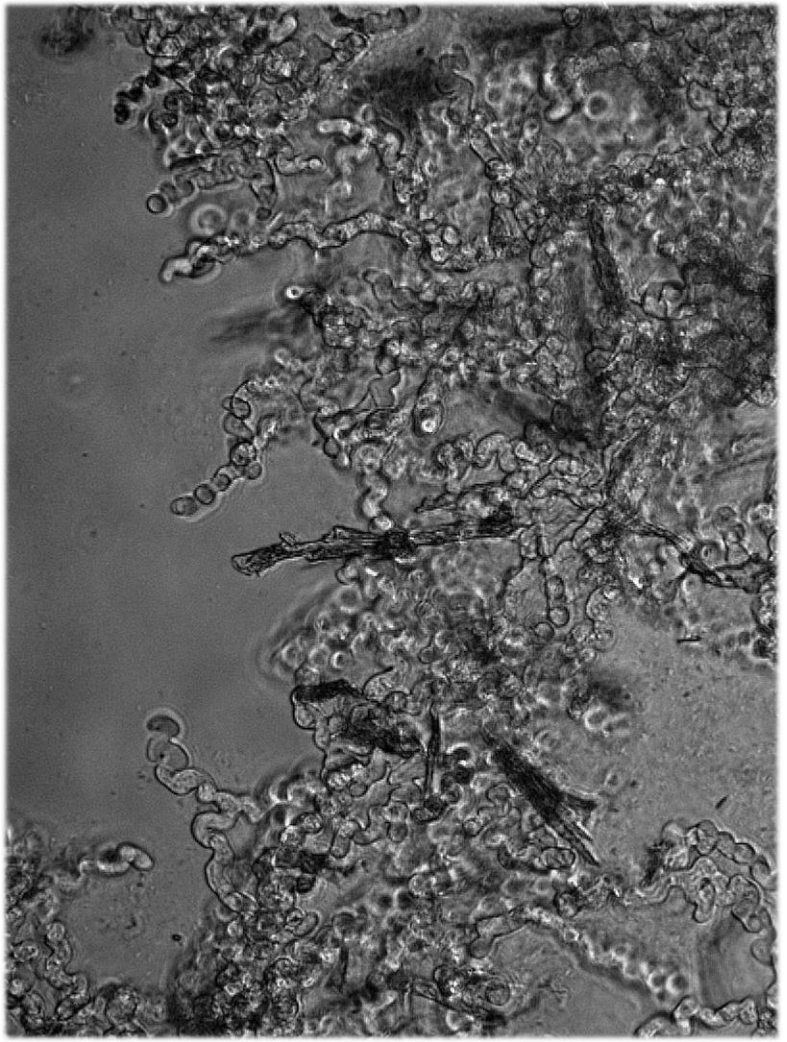
in batch cultivation. At the beginning of the continuous stage, the protein content amounted to about 40 percent. After the growth had attained equilibrium, the protein content gradually rose to 50–52 percent. The best value

Inorganic trace substances required in the process include e.g. potassium, magnesium, iron, zinc, manganese, copper and molybdenum, which are added to the culture as required, for example in the form of inorganic salts. Frequently, trace substances of this type are already in existence within the culture.

Pekilo-proteiinin tuotto

INNOFEED – Pekiloproteiinin tuotto

- INNOFEED projektissa tavoitteena oli fermentoida höyryräjäytetyn ja/tai ammoniakkikäsitellyn säilörehun entsymaattista hydrolysaattia Pekilo-rehuproteiiniksi
- Ammoniakkiprosessin kohdalla tavoitteena oli myös tutkia jäännösammoniakin hyödyntämistä prosessin typenlähteenä
- Pekilo-homeen kasvua tutkittiin laboratoriomitassa ensin ravistelupulloissa ja lopulta jatkuvatoimisena bioreaktorikasvatuksena

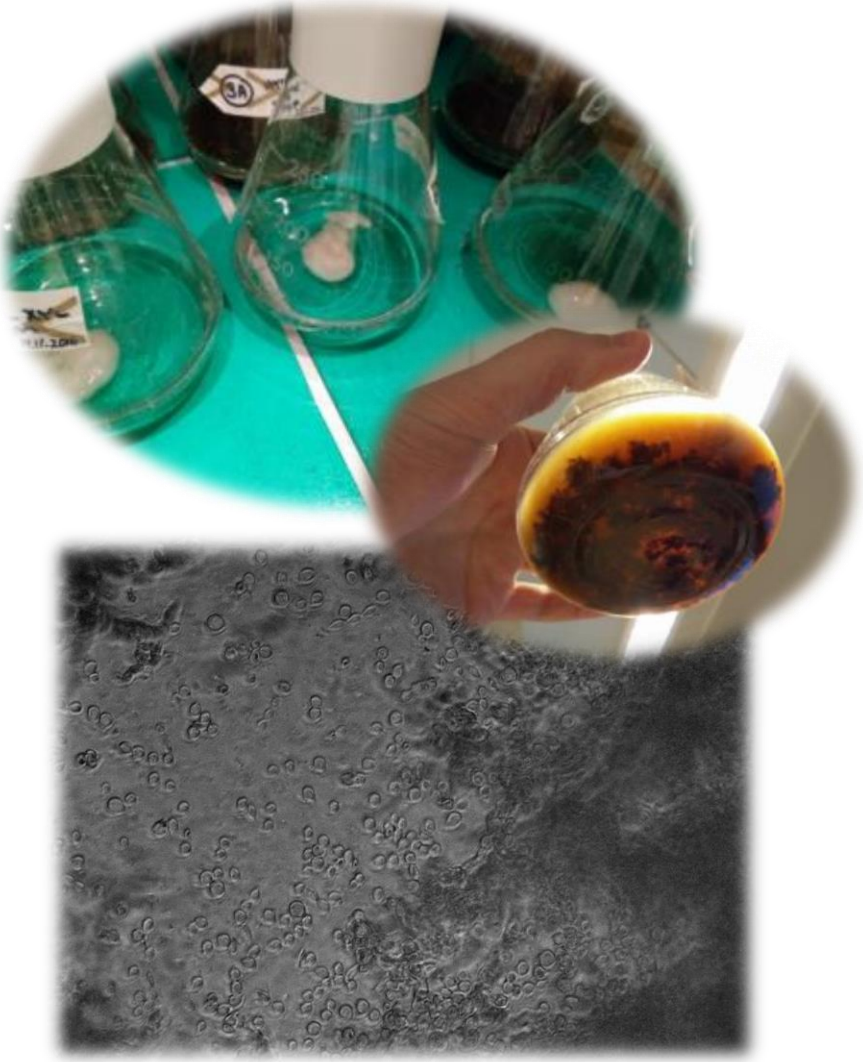


Pekilo-proteiinin tuotto

Ravistelupullokokeet

- Jatkuvatoimiseen, teollisen skaalan fermentointiin suunnitellun prosessin tutkiminen pienessä mittakaavassa osoittautui yllättävän haasteelliseksi. Erityisesti homeen morfologia hallinta vaati pitkällistä esityötä – pelletit, kasaumat, yhtenäinen kasvu, itiöinti..

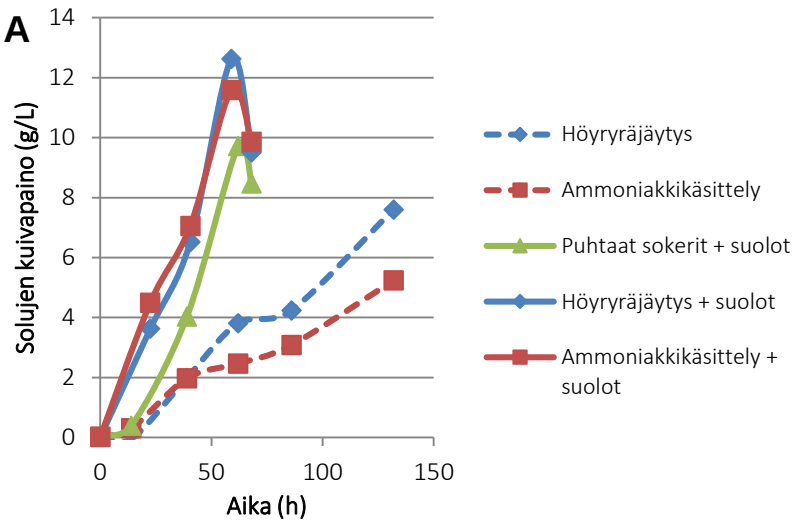
- Kokeilla saatiin kuitenkin lopulta määritettyä kasvun kannalta olennaisimmat tekijät:
  a) Lisäravinteiden tarve
  b) Sokerien kulutus
  c) Solu- ja proteiinisaanto hydrolysaattien sokereista

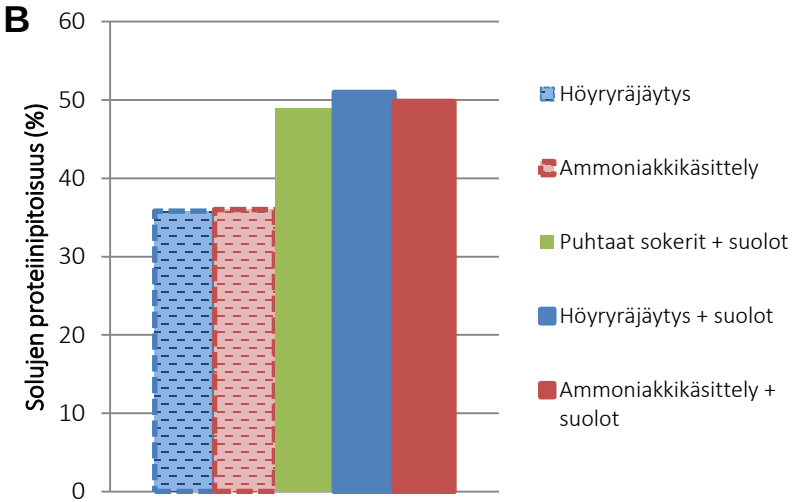


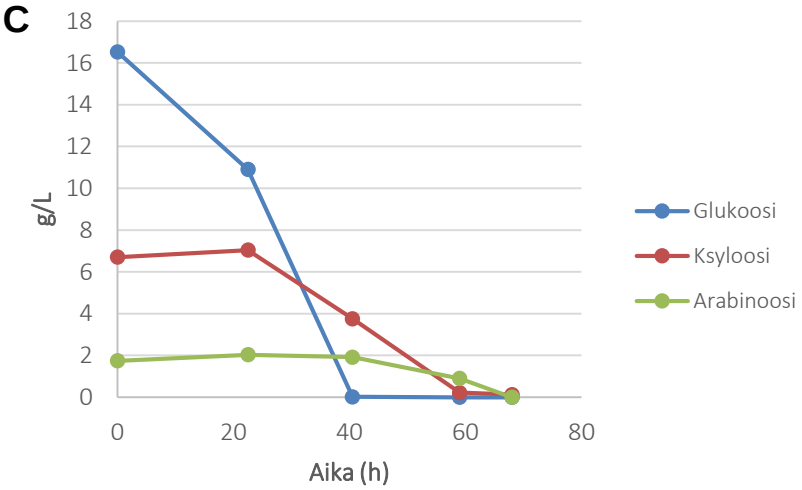
Pekilo-proteiinin tuotto

Ravistelupullokokeiden johtopäätökset

- Hydrolysaattien suolot eivät riitä Pekilohomeen optimaaliseen kasvuun.
- Ammoniakkikäsittelyn jäännösammoniakki riittää Pekilon typenlähteeksi
- Ammonium riittää typenlähteeksi – kalliita orgaanisia typenlähteitä ei vaadita
- Solusaannot kulutetusta sokerista n. 50%
- Solujen proteiinipitoisuus n. 50%
- Sokerien kulutus seuraa odotetusti järjestystä GLC → XYL → ARA







P. variotii hometta kasvatettiin ravistelupulloissa 25 g/l kokonaissokeripitoisuudessa (GLC+XYL+ARA), joko puhtailla sokereilla tai säilörehuhydrolysaateilla. Kasvatuksissa käytetty typenlähteenä 10 g/l diammoniumfosfaattia, paitsi ammoniakkikäsitellyn rehun hydrolysaatilla, jossa on luontaisesti lähes vastaava määrä ammonium-typpeä. A) Pekilosolujen kuivapainon kehitys ravistelupulloissa puhtailla sokereilla (vihreä), höyryräjäytys hydrolysaatilla (sininen) ja ammoniakkikäsitellyn säilörehun hydrolysaatilla (punainen). Katkoviivoilla kasvatukset hydrolysaateilla ilman suolojen lisäystä (0,6 g/L K_2SO_4, 0,6 g/L KH_2PO_4, 2,7 mM $CaCl_2$, 0,6 mM $MgSO_4$, Vogelin hivenaineet). B) Kylmäkuivattujen, pestyjen Pekilosolujen proteiinipitoisuus määritettynä kaasukromatografialla (kokonaistyppi X 6.25).
C) Sokereiden kulutus ammoniakkikäsitellyn säilörehun hydrolysaatilla (+ suolot) HPLC:llä määritettynä

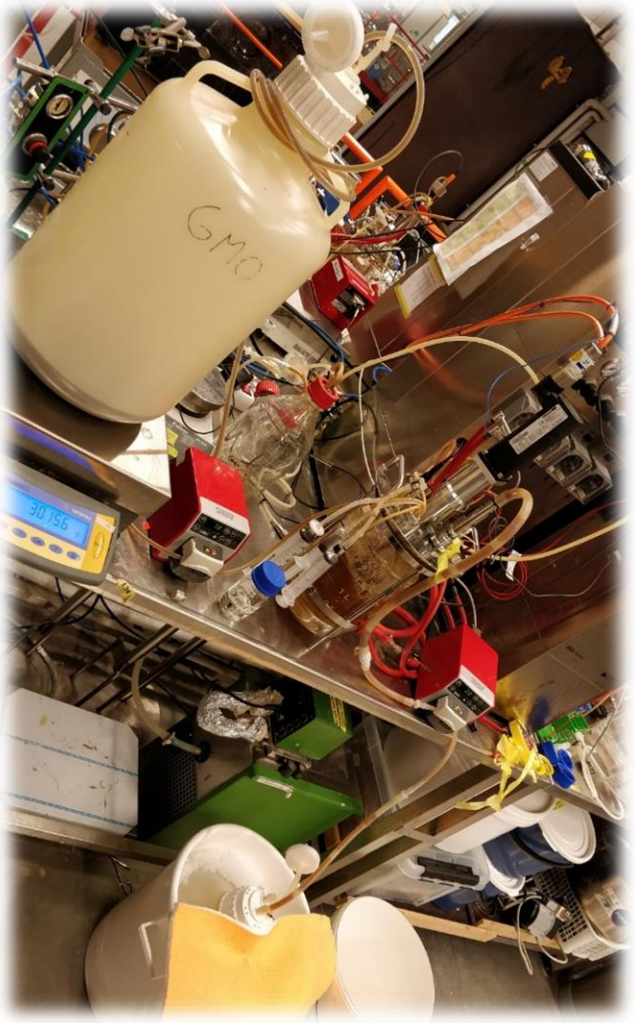
Pekilo-proteiinin tuotto

Jatkuvatoiminen reaktorikasvatus

- Ammoniakkiesikäsittelyn ja hydrolyysin skaalaus (12/17) tuotti n. 45 L hydrolysaattia, jonka avulla voitiin toteuttaa kasvatuskokeita teollisesti relevanteissa olosuhteissa, t.s. jatkuvatoimisena reaktorikasvatuksena.

- Koejärjestelyä optimoitiin joulukuussa 2017. Rajallinen 1 litran tilavuus aiheutti yhä teknisiä haasteita. Ennen kaikkea yhteiden ja putkien tukkeutuminen. Poisto järjestettiin lopulta pinnasta pulsseina 15 min. välein paksun erikseen rakennetun poistoputken kautta.

- Varsinainen jatkuvatoiminen kasvatus 1 litran käyttötilavuudessa tuotantoparametrien määrittämiseksi suoritettiin tammikuussa 2018. Muodostunut solumassa kerättiin jäävesihauteeseen ja suodatettiin talteen vuorokauden välein.



Pekilo-proteiinin tuotto

Jatkuvatoiminen reaktorikasvatus

Poistopullo tyhjennettiin n. 24h välein

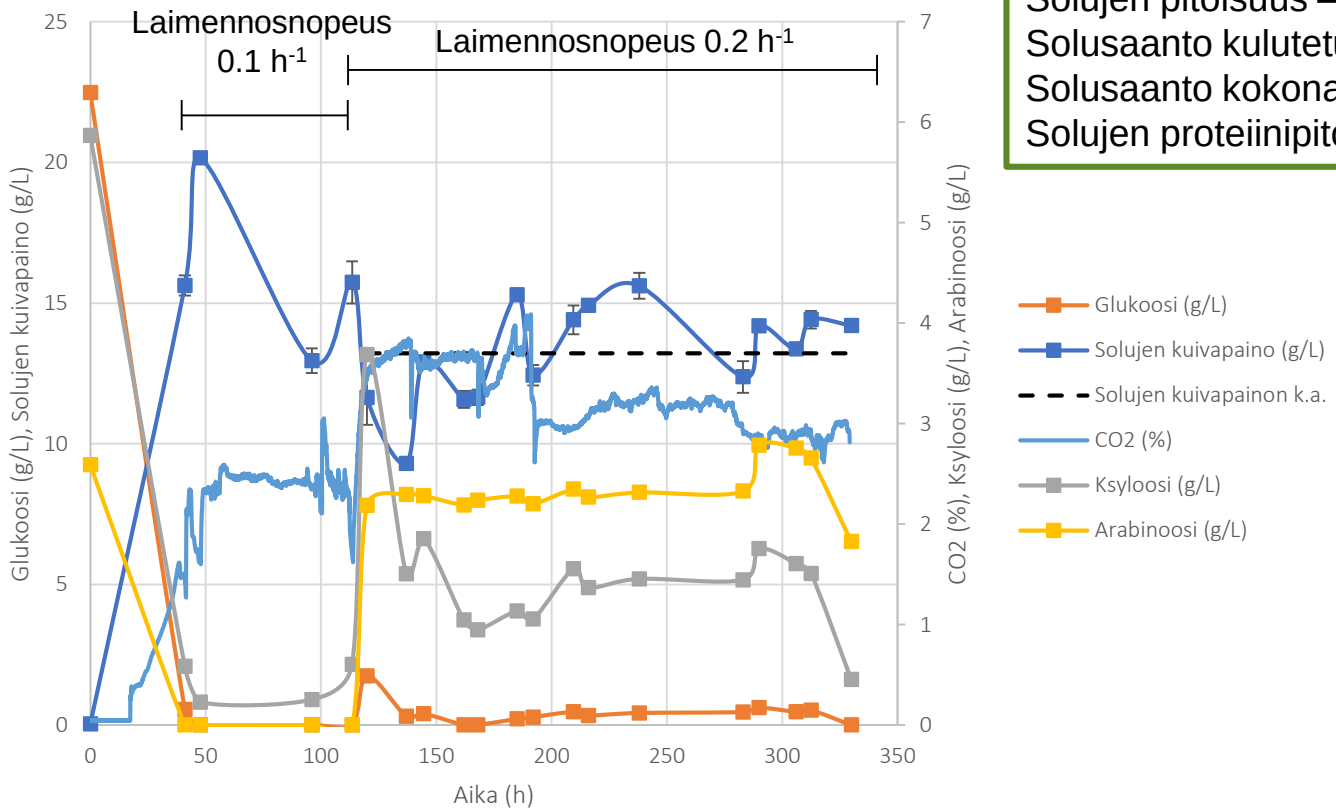
Solumassa suodatettiin 0.5 mm viirakankaalla ja pestiin 1 tilavuudella kylmää hanavettä

Pesty solumassa jäädytettiin nestetypellä ja säilöttiin -80°C:hen

INNOFEED

Pekilo-proteiinin tuotto

Jatkuvatoiminen reaktorikasvatus



Keskimääräiset tuottoparametrit 5h viipymällä:

Solujen pitoisuus – 13,2 g/L
Solusaanto kulutetusta sokerista – 50%
Solusaanto kokonaissokerista – 43%
Solujen proteiinipitoisuus – 47%

Tulokset jatkuvatoimisesta koekasvatuksesta *P. variotii* (Pekilo) –homeella ammoniakkikäsitellyn säilörehun hydrolysaatilla. Olosuhteet: 50 vol% laimennettu hydrolysaatti + suolot, 37°C, pH > 4.0 (10M KOH), 1 LPM paineilma, 0,4 g/L solujen lähtöpitoisuus, laimennosnopeus 0,1 (48h – 120h) ja 0,2 (120h – 320h). Nopeammalla laimennosnopeudella laboratorioreaktorin hapensiirto ei ollut riittävä – saattaa alentaa tuottotasoja.

Pekilo-proteiinin tuotto

INNOFEED – Pekilo-proteiinin yhteenvetoa

- Jatkuvatoimisen teollisen prosessin tutkiminen pienessä mittakaavassa aiheutti merkittäviä haasteita. Alkuperäisen Pekilo-homeen kasvattaminen säilörehuhydrolysaateilla onnistui kuitenkin lopulta hyvin

- Tuottoparametrit vastaavat erittäin hyvin alkuperäisiä 70-luvun dokumenteissa esiintyviä lukuja

- Pekilo-prosessin etuna on kyky hyödyntää laimeita, heterogeenisia seoksia eri orgaanisia yhdisteitä. Sen soveltaminen säilörehusta entsymaattisesti tuotettuihin sellusokereihin osoittautui kuitenkin teknistaloudellisessa tarkastelussa kalliiksi.