



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) DD (11) 244 562 A1

4(51) C 12 N 1/00

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP C 12 N / 285 023 3

(22) 23.12.85

(44) 08.04.87

(71) VEB Chemieanlagenbaukombinat Leipzig/Grimma, Außenstelle Böhlen, 7202 Böhlen, PSF 12, DD

(72) Listewnik, Hans-Frieder, Dipl.-Ing.; Jagusch, Leonhard, Dipl.-Ing.; Schreck, Reinhard, Dipl.-Ing.; Placht, Karl, Dr. Dipl.-Ing.; Triems, Klaus, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem.; Glombitza, Franz, Dr. sc. nat. Dipl.-Chem.; Lippold, Felix, Dipl.-Ing.; Petzold, Gerhard, Dipl.-Ing.; Gesche, Manfred, Dipl.-Chem., DD

(54) Verfahren zur Züchtung von Mikroorganismen

(57) (57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Züchtung von Mikroorganismen in der Anzuchtphase und der Phase des Überganges zum stationären kontinuierlichen Fermentationsprozeß bei der Erzeugung von Biomasse auf Erdöldestillaten bzw. -raffinaten. Ziel der Erfindung ist es, die bei der Biomasseerzeugung nach der bekannten Technologie in diesen Prozeßphasen auftretende verminderte Qualität des Endproduktes und den erhöhten Aufarbeitungsaufwand für das Produkt zu vermeiden. Die Aufgabe wird dadurch gelöst, daß diese Prozeßphasen so gestaltet sind, daß größere Abweichungen der aktuellen Konzentrationen des Rohstoffes und der Nähr- und Spurenelemente von den für den stationären kontinuierlichen Fermentationsprozeß vorgesehenen Werten vermieden werden und die reine Anzuchtphase verkürzt wird.

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Züchtung von Mikroorganismen auf der Rohstoffbasis von Erdöldestillaten bzw. -raffinaten und der Vorlage von Nähr- und Spurenelementen und Impfhefe für den Anzuchtprozeß sowie anschließendem Übergang zum stationären kontinuierlichen Prozeß, **gekennzeichnet dadurch**, daß für den Anzuchtprozeß nur so viel Nähr- und Spurenelemente vorgelegt werden, daß die für den stationären kontinuierlichen Prozeß vorgesehenen aktuellen Elementekonzentrationen in der wäßrigen Phase nur um den notwendigen Betrag für einen Biomassezuwachs von 3 bis 5 g Biomassetrockensubstanz je kg Fermentorinhalt überschritten werden, und während des Anzuchtprozesses die Dosierung von Nähr- und Spurenelementen bei Erreichen einer Biomassekonzentration von 3 bis 5 g/kg und/oder in Abhängigkeit von der Abnahme der Elementekonzentrationen in der wäßrigen Phase begonnen und erhöht wird sowie der Übergang zum kontinuierlichen Prozeß schon bei einer Biomassekonzentration von 60 bis 80 % des für den stationären kontinuierlichen Prozeß erwarteten Wertes mit weniger als 50 % der für den stationären kontinuierlichen Prozeß vorgesehenen Durchflußrate begonnen und bis zu der für den stationären kontinuierlichen Prozeß vorgesehenen Durchflußrate erhöht wird, wobei die Zufuhr von Prozeßwasser und Erdöldestillat bzw. -raffinat immer in dem für den stationären kontinuierlichen Prozeß vorgesehenen Verhältnis erfolgt.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Erhöhung der Dosierung der Nähr- und Spurenelemente und die Erhöhung der Durchflußrate während des Anzuchtprozesses und des Überganges zum stationären kontinuierlichen Prozeß in Abhängigkeit von der Zunahme der Biomassekonzentration und/oder von der Sauerstoffverbrauchsgeschwindigkeit erfolgt und schrittweise oder kontinuierlich durchgeführt wird.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Züchtung von Mikroorganismen in der Anzuchtphase und der Phase des Überganges zum stationären kontinuierlichen Fermentationsprozeß bei der Erzeugung von Biomasse auf Erdöldestillaten bzw. -raffinaten und kann in entsprechenden Eiweißgewinnungsanlagen angewendet werden.

Charakteristik der bekannten technischen Lösung

Bei der Züchtung von Biomasse auf der Rohstoffbasis von Erdöldestillaten bzw. -raffinaten werden, wie bei anderen Fermentationsprozessen auch, die für den gesamten Anzuchtprozeß benötigten Rohstoff-, Nähr- und Spurenelementemengen im Fermentor in der wäßrigen Phase vorgelegt und nur die zur pH-Regelung erforderliche Lauge oder Säure wird nach Bedarf nachdosiert. Der Anzuchtprozeß wird bis zu der im kontinuierlichen Betrieb erwarteten Biomassekonzentration durchgeführt. Bei Erreichen dieser Konzentration werden alle für den kontinuierlichen Betrieb vorgesehenen Dosierströme in Betrieb genommen und gleichzeitig die für den kontinuierlichen Betrieb vorgesehene Biomassesuspension zur nachfolgenden Aufarbeitung abgegeben.

Die im Fermentorablauf befindliche Biomasse wird durch Aufrauhmung und Separation vom größten Teil des Prozeßwassers und des Erdöldestillates bzw. -raffinates abgetrennt. Die verbleibende Biomassesuspension, die neben Prozeßwasser und den in ihm gelösten Substanzen auch noch Erdöldestillat enthält, wird nachfolgend durch Eindampfung aufkonzentriert und anschließend sprühgetrocknet. Zur Entfernung anhaltender Erdöldestillatbestandteile sowie Entfernung lipophiler Zellinhaltsstoffe wird das getrocknete Produkt einer Lösungsmittlextraktion unterzogen.

Bei der Inbetriebnahme der dem Fermentor folgenden Prozeßstufen treten gehäuft Trennprobleme in der Separationsstufe und Förderprobleme der getrockneten Biomasse in den Trocknungs- und Extraktionsstufen auf. Des weiteren können unmittelbar nach der Inbetriebnahme wesentliche Qualitätsparameter im Endprodukt nicht eingehalten werden, so daß durch Fehlchargen und erhöhten Aufarbeitungsaufwand die Effektivität des Prozesses beeinträchtigt wird.

Als Ursache für diese Probleme wurde die stoßartige Aufnahme des kontinuierlichen Durchsatzes in voller Menge angesehen, die in der Anfangsphase des kontinuierlichen Betriebes zu erheblichen Schwankungen der technologischen Parameter in den nachfolgenden Verfahrensstufen führt und infolgedessen sich auch die Qualität der Zwischenprodukte stark ändert.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist es, bei der Biomasseerzeugung auf Erdöldestillaten bzw. -raffinaten eine verminderte Qualität des Endproduktes und einen erhöhten Aufarbeitungsaufwand für das Produkt aus der Anzuchtphase und der Phase des Überganges zum stationären kontinuierlichen Fermentationsprozeß zu vermeiden.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Überraschend wurde nach langwierigen Versuchen und Untersuchungen gefunden, daß nicht die stoßartige Inbetriebnahme der dem Fermentor folgenden Prozeßstufen mit der vollen Menge die Hauptursache für die Probleme bei der Produktaufarbeitung und der Erreichung der erforderlichen Endproduktqualität ist, sondern die im Anzuchtprozeß vorliegenden vom normalen stationären kontinuierlichen Prozeß abweichenden Fermentationsbedingungen, wie überhöhte und sich ändernde Nähr- und Spurenelementkonzentration, zunehmende Konzentration an Stoffwechselprodukten, lange Verweilzeit der Hefe im Fermentor, die die Struktur und Zusammensetzung der Biomasse dergestalt beeinflussen, daß sie einen negativen Einfluß auf die Aufarbeitung des Produktes und die Endproduktqualität haben.

Aufgabe der Erfindung

Aufgabe der Erfindung ist es daher, die Anzuchtphase und die Phase des Überganges zum stationären kontinuierlichen Fermentationsprozeß dahingehend zu verändern, daß die Struktur und Zusammensetzung der Biomasse aus diesen Phasen der im stationären kontinuierlichen Prozeß erzeugten Biomasse entsprechen.

Wesen der Erfindung

Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß für den Anzuchtprozeß nur so viel Nähr- und Spurenelemente vorgelegt werden, daß die für den späteren stationären kontinuierlichen Prozeß vorgesehenen aktuellen Elementkonzentrationen in der wäßrigen Phase nur um den Betrag überschritten werden, der für einen Biomassezuwachs von 3 bis 5 g Hefetrockensubstanz je kg Fermentorinhalt notwendig ist, und bereits während des Anzuchtprozesses die Dosierung von Nähr- und Spurenelementen bei Erreichen einer Biomassekonzentration von 3 bis 5 g/kg und/oder in Abhängigkeit von der Abnahme der Elementkonzentrationen in der wäßrigen Phase begonnen und erhöht wird. Weiterhin wird der Übergang zum kontinuierlichen Prozeß schon bei einer Biomassekonzentration von 60 bis 80 % des für den stationären kontinuierlichen Prozesses erwarteten Wertes mit weniger als 50 % der für den stationären kontinuierlichen Prozeß vorgesehenen Durchflußrate begonnen und bis zu der für den stationären kontinuierlichen Prozeß vorgesehenen Durchflußrate erhöht, wobei die Zufuhr von Prozeßwasser und Erdöldestillat bzw. -raffinat immer in dem für den stationären kontinuierlichen Prozeß vorgesehenen Verhältnis erfolgt. Erfindungsgemäß wird die Erhöhung der Dosierung der Nähr- und Spurenelemente und die Erhöhung der Durchflußrate während des Anzuchtprozesses und des Überganges zum stationären kontinuierlichen Prozeß in Abhängigkeit von der Zunahme der Biomassekonzentration und/oder von der Sauerstoffübergangsgeschwindigkeit vorgenommen, wobei dies schrittweise oder kontinuierlich durchgeführt wird.

Ausführungsbeispiel

Die Erfindung wird nachstehend an einem Ausführungsbeispiel erläutert.

Zur Anzucht der Biomasse für den kontinuierlichen Fermentationsprozeß von Biomasse auf der Rohstoffbasis Erdöldestillat mit einem Siedebereich von 517 bis 633 K und einem n-Paraffingehalt von 14 Ma.-% in einem Produktionsfermentor, wurden bisher Wasser, Erdöldestillat, Nährlösungen einschließlich Phosphorsäure in einem Massenverhältnis 10:1,7:0,12 vorgelegt sowie der pH-Wert mit Ammoniakwasser und die Fermentationstemperatur eingestellt.

Nach der Zugabe der Impfhefemenge für eine Anfangskonzentration im Fermentor von 1 bis 2 g/kg wurde der Anzuchtprozeß in etwa 8 bis 12 Stunden bis zu einer Hefekonzentration im Fermentor von über 14 g/kg durchgeführt, wobei der pH-Wert durch Nachdosierung von Ammoniakwasser und die Temperatur konstant gehalten wurden. Der Sauerstoff- und CO₂-Gehalt der Abluft und damit die Sauerstoffübergangsgeschwindigkeit waren schon nach ca. 7 Stunden mit etwa 16 Vol.-% O₂ bzw. 2,8 Vol.-% CO₂ nahezu konstant. Nach Erreichen der für den kontinuierlichen Prozeß erwarteten Hefekonzentration von ca. 14 g/kg wurden alle notwendigen Produktzuführungen für die vorgesehene Durchflußrate von 0,25 1/h innerhalb kürzester Zeit in Betrieb genommen.

In demselben Produktionsfermentor wurden für den Anzuchtprozeß nach dem erfindungsgemäßen Verfahren Wasser, Erdöldestillat und Nährlösungen einschließlich Phosphorsäure in einem Massenverhältnis von 10:1:0,04 vorgelegt. Nach einer Batchzeit von ca. 2 Stunden wurde die Dosierung der Nährlösungen und Phosphorsäure mit geringen Mengen begonnen und in Abhängigkeit vom Sauerstoff- und CO₂-Gehalt in der Abluft sowie unter Berücksichtigung der aktuellen Analysenwerte für die Nähr- und Spurenelemente im Fermentationsmedium erhöht. Nach ca. 5 Stunden wurden bei einem Sauerstoffgehalt in der Abluft von etwa 17,5 Vol.-% die Prozeßwasserzufuhr und im selben Verhältnis, wie es für den stationären kontinuierlichen Prozeß vorgesehen war, die Erdöldestillatdosierung mit einer Durchflußrate von insgesamt 0,08 1/h in Betrieb genommen und in 3 Schritten innerhalb der nächsten 3 Stunden auf die für den stationären kontinuierlichen Prozeß vorgesehenen Durchflußrate von 0,25 1/h erhöht.

Die Konzentrationen der wesentlichsten Nährstoffe lagen in den beiden Fällen zu Beginn des Batchprozesses um folgende Beträge über den im stationären kontinuierlichen Prozeß vorgesehenen:

Element	kont. Proz.	Anzucht a)	Anzucht b)
K	100 mg/l	570 %	170 %
P	30 mg/l	1 300 %	400 %
Mg	20 mg/l	350 %	150 %
N	80 mg/l	50 %	100 %

Gegenüber der bekannten Technologie waren somit bei der erfindungsgemäßen Durchführung des Anzuchtprozesses und der Übergangsphase zum stationären kontinuierlichen Prozeß die Konzentrationsänderungen der Nähr- und Spurenelemente wesentlich geringer, die reine Batchzeit lag nur bei etwa 50 %, d. h. die Phase der Anreicherung von Stoffwechselprodukten war erheblich kürzer, wobei die Produktzusammensetzung bezüglich Hefe- und Erdöldestillatanteil auf Grund der verhältnismäßigen Erhöhung der Prozeßwasser- und Erdöldestillatzufuhr nahezu gleich blieb.

Der morphologische Zustand der Produktionskultur während und nach der Anzucht- und Übergangsphase war normal, die Zusammensetzung und das Verhalten der abgetrennten Biomasse bewegte sich in den für den stationären kontinuierlichen Betrieb üblichen Grenzen. Dadurch konnten die folgenden Prozeßstufen problemlos in Betrieb genommen werden, ohne daß dabei kritische Abweichungen im Produktverhalten und in der Produktzusammensetzung auftraten und ohne daß dabei längere Produktzwischenlagerungszeiten auftraten. Die Endproduktqualitätsparameter wurden sofort erreicht. Durch Einsatz von Ammoniumsulfat statt Ammoniakwasser zur Einstellung der erforderlichen Stickstoffkonzentration zu Beginn des Anzuchtprozesses kann auch der im Ausführungsbeispiel noch hohe Phosphorgehalt verringert und der Effekt der Erfindung erhöht werden.
