



Patent
aufrechterhalten nach
§ 12 Abs. 3 ErstrG

(51) Int. Cl.⁶: **C 12 N 1/32**

DEUTSCHES PATENT- UND MARKENAMT

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Aufrechterhaltung kann Einspruch eingelegt werden

(21) Aktenzeichen:	(22) Anmeldetag:	(44) Veröff.-tag der DD-Patentschrift:	(45) Veröff.-tag der Aufrechterhaltung:
DD C 12 N / 331 548 6	07. 08. 89	24. 01. 91	04. 11. 99

(30) Unionspriorität:
—

(72) Erfinder: Wagler, Dietrich, Dr. rer. nat., 04129 Leipzig, DE; Wendlandt, Karin-Dagmar, Dr. rer. nat., 04159 Leipzig, DE; Prause, Michael, Dr. sc. nat., 04328 Leipzig, DE; Wagner, Manfred, Dr. rer. nat., 39124 Magdeburg, DE; Teumer, Peter, Dr. rer. nat., 39245 Gommern, DE
(73) Patentinhaber: UFZ – Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH, Permoserstr. 15, 04318 Leipzig, DE
(74) Vertreter: Gulde, Hengelhaupt, Dr. Ziebig, Pat.-Anwälte, 10785 Berlin

(54) Verfahren zur Züchtung methanotropher Bakterien

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht gezogene Druckschriften:
GB 1 150 401

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Züchtung methanotropher Bakterien unter Begasung der Bakterien mit einem nicht-explosiven Gemisch aus einem methanhaltigen und einem sauerstoffhaltigen Gas bei teilweiser Rückführung der Abgase in den Fermenter, **dadurch gekennzeichnet**, daß als C-Quelle methanarmes, inertgasreiches Erdgas mit einem Methangehalt von 15 bis 40% verwendet wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Methangehalt des Erdgases in den Grenzen von 25-35% liegt.
3. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Fermentation unter Normaldruck oder unter erhöhtem Systemdruck (bis 1 MPa) erfolgt.

Hierzu 1 Seite Zeichnung

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung gehört in das Gebiet der mikrobiologischen Eiweißgewinnung und kann eingesetzt werden in Anlagen, in denen methanhaltige Gasgemische mit Hilfe methanotropher Bakterien in Gegenwart eines freien Sauerstoff enthaltenden Gases umgesetzt werden.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Die bekannten Verfahren gehen davon aus, daß methanotrophe Bakterien in einem Nährstoffe enthaltenden Fermentationsmedium in Gegenwart eines methan- und sauerstoffhaltigen Gases kultiviert werden, wobei Temperatur und pH-Wert des Fermentationsmediums in den für die jeweilige Kultur optimalen Bereichen gehalten werden. Schwerpunkt vieler Patente (z. B. GB-PS 1 166 964, DE-OS 2 460 672) ist der Schutz zahlreicher methanotropher Stämme und weniger die Erarbeitung optimaler, für großtechnische Verhältnisse geeigneter Prozeßführungs- und Auslegungsvarianten. Ökonomische Überlegungen für eine großtechnische Anwendung sind in der DE-OS 2 417 848 enthalten. Dieses Verfahren arbeitet aber im explosiven Bereich des Gasgemisches und sollte aus sicherheitstechnischen Gründen vermieden werden. So erklärt es sich, daß für wichtige Fermentationsparameter oft sehr weite, nicht optimale Bereiche beansprucht werden, z. B. in GB-PS 1 150 401 ein Druck bis 40 at, in GB-PS 1 320 722 ein Druck bis 1500 psig.

Die Zusammensetzung des Begasungsgemisches schwankt ebenfalls in weiten Bereichen, z. B. in DE-OS 2 610 478 ist das Verhältnis Methan zu Luft 2:1 bis 1:6, in GB-PS 1 320 722 beträgt der Methangehalt 1-97%, der O₂-Gehalt 3-74%; oder in DE-OS 2 241 258 Methan 10-50%, O₂ 10-19%.

Als C-Quelle werden reines Methan oder Erdgas beansprucht, wobei man davon ausgehen kann, daß ein hoher Methangehalt des Erdgases als Vorteil angesehen wird und deshalb neben reinem Methan auch Erdgas zum Einsatz kommt. Die GB-PS 1 150 401 geht davon aus, daß Methan die dominierende Komponente im Erdgas ist; in GB-PS 1 320 722 werden zwar als C-Quelle reines Methan oder Erdgas verschiedener Zusammensetzung genannt, doch betrifft die „verschiedene Zusammensetzung“ unterschiedliche geringe Gehalte homologer Kohlenwasserstoffe, Methan ist auch hier die dominierende Komponente. In der DE-OS 2 417 848 geht aus den beanspruchten Mengenangaben für Methan bzw. Erdgas und Luft hervor, daß der Prozentgehalt des Methans im Erdgas nahe 100% angenommen wird.

Die meisten vorgeschlagenen Verfahren arbeiten außerhalb des explosiven Bereiches des Gasgemisches, wobei eine entsprechende Gaszusammensetzung oft erst durch Zusatz von Inertgasen, z. B. in GB-PS 1 150 401: N₂ oder CO₂, in GB-PS 1 320 722: N₂ erreicht wird.

Die Bedeutung der Gaszusammensetzung für den Stoffübergang und dessen Einfluß auf die Geschwindigkeit des Fermentationsprozesses wird oft genannt, aber nicht quantitativ erfaßt.

So werden in der GB-PS 1 175 813 der Stoffübergang von CH₄ und O₂ als geschwindigkeitsbestimmender Schritt und die Bedeutung des Verhältnisses von CH₄ zu O₂ erkannt, die Existenz und quantitative Berechnung eines optimalen Gasverhältnisses aus den notwendigen Einflußgrößen bleiben aber unbekannt.

Widersprüchliche Angaben finden sich in der GB-PS 1 150 401, in der GB-PS 1 166 964 und in der DE-OS 2 604 993, in denen gleichzeitig auf die Bedeutung des Gasverhältnisses, die Vermeidung von explosiven Gasgemischen und die Verwendung von O₂-angereicherter Luft hingewiesen wird.

Am deutlichsten wird von einer optimalen Begasung in der DE-AS 2 601 254 gesprochen (eine quantitative Definition wird nicht gegeben), dort liegt der Schwerpunkt aber auf der Regelung eines bestimmten Verhältnisses von CH₄ u O₂.

Die Nichteinhaltung eines optimalen Gasverhältnisses, das von den spezifischen Verbrauchskoeffizienten, von den Stoffübergangskoeffizienten, von den Löslichkeiten von Methan und Sauerstoff sowie von den kinetischen Konstanten in den Wachstumsmodellen abhängt, hat die Folge, daß die spezifischen Verbrauchswerte ober- und unterhalb vom optimalen Gasverhältnis stark ansteigen (WENDLANDT, Dissertation, Leipzig 1979; PRAUSE, Dissertation B, Leipzig, 1982).

Aus ökonomischen Gründen wird oft eine Rückführung des Fermentationsgasgemisches vorgeschlagen, z. B. GB-PS 1 150 401, GB-PS 1 175 813, GB-PS 1 166 964, DE-OS 2 604 993, DE-OS 2 460 672 und DE-OS 2 308 087, doch sind auch diese Angaben oft widersprüchlich, weil sie gleichzeitig maximales Wachstum und maximale Gasnutzung beanspruchen, was aber wegen der partialdrucksenkenden Wirkung einer Rückführung und wegen des Einflusses des Partialdruckes auf den Stoffübergang nicht möglich ist.

Insgesamt haben die bekannten Verfahren den Nachteil, daß nie bei einem optimalen Gasverhältnis gefahren wird, daß dadurch die spezifischen Verbrauchswerte steigen, unnötig hoher Energieeintrag für den Stoffübergang erforderlich ist, kein optimales Wachstum stattfinden kann und oft Kosten für Inertgas, das zur Vermeidung explosiver Gasgemische zugegeben wird, entstehen.

Ziel der Erfindung

Die Erfindung verfolgt das Ziel, ein Verfahren zur Züchtung methanotropher Bakterien zu entwickeln, das außerhalb des explosiven Bereiches von Methan/Luftgemischen arbeitet, die Vorteile einer optimalen Gaszusammensetzung, wie optimales Wachstum, minimale spezifische Verbrauchskoeffizienten für Methan und Sauerstoff, nutzt und damit Energie und Rohstoffe einspart. Außerdem sollen Kosten für zusätzliches Inertgas vermieden werden.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, eine Gaszusammensetzung zu gewährleisten, die außerhalb des explosiven Bereiches liegt und trotzdem das für den Stoffübergang und für das Wachstum optimale Verhältnis von Methan zu Sauerstoff aufweist.

Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß als C-Quelle Erdgas mit niedrigem Methangehalt von 15-40%, bevorzugt 25-35%, als Sauerstoffquelle Luft eingesetzt und gleichzeitig eine Rückführung des Fermentationsgasgemisches vorgesehen wird, wobei man prozeßtechnische und physikalische Kennziffern, wie spezifische Verbrauchskoeffizienten, Gaslöslichkeiten, Stoffübergangskoeffizienten, Druck, Gasrückführgrad, quantitativ so darstellt, daß man das optimale Begasungsverhältnis im nichtexplosiven Bereich ableiten kann.

Durch den hohen Inertgasanteil des Erdgases und der Luft ist eine zusätzliche Einspeisung von Inertgas zur Vermeidung explosiver Gasgemische nicht erforderlich.

In der Abbildung wird das Wesen der Erfindung näher erläutert. Oberhalb der Kurve 5 liegt der explosive Bereich von Methan/Luftgemischen. Wie man sieht, liegen die meisten optimalen Gasmischungen (charakterisiert durch die Gerade 4) im explosiven Bereich. Die Geraden 1, 2 und 3 stellen verschiedene Frischgasmischungen dar: Gerade 2 eine Mischung aus reinem Methan und Luft, Gerade 1 eine Mischung aus reinem Methan und O₂-angereicherter Luft und Gerade 3 eine Mischung aus Luft und methanarmem Erdgas. Von den drei dargestellten Fällen wird Gerade 3 am wenigsten vom explosiven Bereich berührt.

Wird methanarmes Erdgas bei teilweiser Rückführung mit Luft gemischt, folgt die Zusammensetzung des Gasgemisches der Kurve 6, und man kann eine Mischung (Punkt 7) einstellen, die sowohl optimal ist als auch außerhalb des explosiven Bereiches liegt.

Durch die nachfolgenden Beispiele wird die Erfindung noch näher erläutert.

Ausführungsbeispiele

Beispiel 1

Ein Tauchstrahlfermentor mit einem Arbeitsvolumen von 200 m³ (300 m³ Gesamtvolumen) wird kontinuierlich bei einer Temperatur von 38 °C, einem pH-Wert von 5,7 (mit NH₃-Wasser geregelt) und einer Verweilzeit von 6 h betrieben. Das Impfmateriel der methanotrophen Kultur ZIMET B502 wurde vorher im kontinuierlichen Prozeß in einem 32-m³-Fermentor gezüchtet. Das Nährmedium, von dem 14,45 m³/h zugegeben werden, hat folgende Zusammensetzung:

H ₃ PO ₄ (80%ig)	2,8 l/m ³
KH ₂ PO ₄	3,5 kg/m ³
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	2,5 kg/m ³
CuSO ₄ x 5 H ₂ O	0,785 kg/m ³
MnSO ₄ x 4 H ₂ O	1,825 kg/m ³
FeCl ₂ x 4 H ₂ O	1,200 kg/m ³
ZnCl ₂	0,322 kg/m ³
CoSO ₄ x 7 H ₂ O	0,036 kg/m ³
NiSO ₄ x 7 H ₂ O	0,109 kg/m ³
Al ₂ (SO ₄) ₃ x 18 H ₂ O	0,186 kg/m ³
Ca(NO ₃) ₂ x 4 H ₂ O	0,883 kg/m ³
Na ₂ MoO ₄ x 2 H ₂ O	0,041 kg/m ³
H ₃ BO ₃	1,286 kg/m ³
CrCl ₃ x 6 H ₂ O	0,077 kg/m ³

Bei einem Druck von 1 MPa werden 12 930 Nm³/h Erdgas (25% Methan) und 22 280 Nm³/h Luft zugeführt. Es wird ein Rückführgrad des Fermentationsgemisches von 0,75 eingestellt, und Frischgas und rückgeführtes Gas werden vor dem Gaseintritt gemischt.

Bei einer Produktivität von 5,43 kg/m³ h hat das Fermentorabgas folgende Zusammensetzung: 4,23% Methan, 6,24% O₂, 3,13% CO₂ und 86,4% N₂.

Am Gaseintritt betragen die Konzentrationen 5,57% Methan und 8,15% Sauerstoff, wodurch das Gasgemisch an jeder Stelle des Fermentors außerhalb des explosiven Bereiches liegt.

Beispiel 2

Ein Rührfermentor von 200 m³ Arbeitsvolumen wird unter den gleichen Bedingungen (Temperatur, Druck, pH-Wert, Verweilzeit) wie in Beispiel 1 betrieben. Von der Nährlösung (s. Beispiel 1) werden 19,2 m³/h dosiert. Frischgase und rückgeführtes Gas werden getrennt in den Fermentor geführt. Es werden 14 025 Nm³/h Erdgas (35% Methan) und 34 335 Nm³/h Luft eingeleitet. Der Gasrückführgrad beträgt 0,7. Bei einer Produktivität von 7,22 kg/m³ h hat das Fermentorabgas folgende Zusammensetzung, die außerhalb des explosiven Bereiches liegt: 5,5% Methan, 8,3% O₂, 3,0% CO₂, 83,2% N₂.

