

PATENTAMT der DDR

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

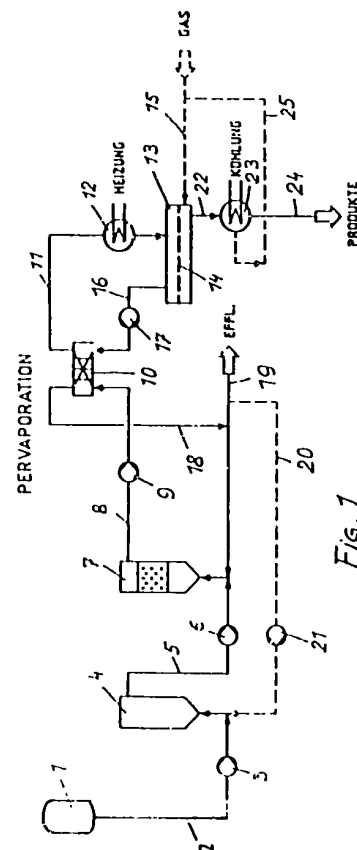
(21)	AP C 12 P / 313 498 8	(22)	08.03.88	(44)	18.07.90
(31)	A566/87	(32)	10.03.87	(33)	AT

(71)	siehe (72)
(72)	Effenberger, Helmut, Dr. Dipl.-Ing., Schmidt, Alfred, Prof. Dr. Dipl.-Ing.; Steiner, Eva, Dr. Dipl.-Ing.; Salzbrunn, Wolfgang, Dr. Dipl.-Ing., AT
(73)	siehe (72)
(74)	Internationales Patentbüro Berlin, Wallstraße 23/24, Berlin, 1020, DD

(54) Verfahren und Vorrichtung zur Vergärung und kohlenhydrathaltigen Medien mit Hilfe von Bakterien

(55) Bakterien, immobilisiert an Trägermaterial; Langzeitstabilisierung des Verfahrens; hohe Produktivität; Rührkesselbioreaktor; Festbettreaktor mit Mikroorganismen rückhaltendem Material

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren und Vorrichtung zur Vergärung von kohlenhydrathaltigen Medien mit Hilfe von Butanol, Aceton, Ethanol und/oder Isopropanol bildenden Bakterien, wobei das Verfahren wenigstens zweistufig ausgeführt wird, wobei im ersten Verfahrensabschnitt im wesentlichen die Bakterien kontinuierlich kultiviert und im zweiten, kontinuierlich oder chargenweise geführten Verfahrensabschnitt im wesentlichen das Produkt gebildet wird. Erfindungsgemäß werden die Bakterien im zweiten Verfahrensschritt an einem Trägermaterial immobilisiert. Als Trägermaterial wird erfindungsgemäß offenesporiges Sinterglase, Bimsstein oder ein gleichwertiges Material eingesetzt, welches einen hohen SiO_2 -Gehalt, eine offenporige Struktur, eine Porengröße von 20–200 μm und eine Wasseraufnahmefähigkeit von wenigstens 0,35 ml/cm³ aufweist. Das Volumen des Trägermaterials zum Gesamtarbeitsvolumen beträgt 1:10 bis 1:1,1. In einer Vorrichtung zur Ausführung des erfindungsgemäßen Verfahrens sind ein Rührkesselbioreaktor und ein mit Mikroorganismen rückhaltendem Material bestückter Reaktor hintereinander geschaltet. Fig. 1



Patentansprüche:

1. Verfahren zur Vergärung von kohlenhydrathaltigen Medien mit Hilfe von Butanol, Aceton, Ethanol und/oder Isopropanol bildenden Bakterien, wobei das Verfahren wenigstens zweistufig ausgeführt wird, wobei im ersten Verfahrensabschnitt im wesentlichen die Bakterien kontinuierlich kultiviert und im zweiten, kontinuierlich oder chargenweise geführten Verfahrensabschnitt im wesentlichen das Produkt gebildet wird, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Bakterien im zweiten Verfahrensabschnitt an einem Trägermaterial immobilisiert werden.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Trägermaterial offenporiges Sinterglas, Bimsstein oder ein gleichwertiges Material, welches einen hohen SiO_2 Gehalt, eine offenporige Struktur, eine Porengröße von 20–200 μm , vorzugsweise 50–100 μm , und eine Wasseraufnahmefähigkeit von wenigstens 0,35 ml/cm³ aufweist, eingesetzt wird, und wobei das Verhältnis des Volumens des Trägermaterials zum Gesamtarbeitsvolumen 1:10 bis 1:1,1 vorzugsweise 1:5 bis 1:1,6, beträgt.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Produktbildungsstufe Medium abgezogen, das gebildete Produkt extraktiv, vorzugsweise in an sich bekannter Weise mittels höherer Alkohole oder höherer Fettsäuren, abgetrennt und die dadurch anfallende produktarme Phase in die Produktbildungsstufe und/oder den ersten Verfahrensabschnitt rückgeführt wird.
4. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß im zweiten Abschnitt Produkt, vorzugsweise kontinuierlich, pervaporativ aus dem Medium abgeführt wird.
5. Verfahren nach Anspruch 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß für die pervaporative Produktentnahme eine Pervaporationsmembran, insbesondere aus Silikonkautschuk, eingesetzt wird, wobei eine Temperatur von 30°C–90°C, vorzugsweise 40°C–80°C, eingehalten wird, und wobei die Dampfdruckerniedrigung pervaporationsseitig durch ein Trägergas, wie N_2 , H_2 , CO_2 oder eine Mischung dieser Gase, oder durch Fermentationsgas bzw. durch Anlegen eines Vakuums erzielt wird.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß im zweiten Abschnitt eine, vorzugsweise kontinuierliche, Produktabtrennung mittels Gasstrippen durchgeführt wird.
7. Verfahren nach Anspruch 6, **dadurch gekennzeichnet**, daß für die kontinuierliche Produktabtrennung durch Gasstrippen ein Strippgas, wie N_2 , H_2 , CO_2 oder Mischungen dieser Gase, bzw. Fermentationsgas eingesetzt wird, wobei das Verhältnis der Volumenströme von Flüssigkeit zu Gas 0,05:1–1,6:1 und die Temperatur 30°C–90°C, vorzugsweise 40°C–80°C, beträgt.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Zulauf an Nährlösung und/oder Zuckerlösung in Abhängigkeit vom Produktgehalt des zweiten Verfahrensabschnittes geregelt wird.
9. Vorrichtung, **dadurch gekennzeichnet**, daß ein Bioreaktor, vorzugsweise ein Rührkesselbioreaktor (4), und ein mit Mikroorganismen rückhaltendem Material bestückter Reaktor, vorzugsweise ein Festbettreaktor (7), hintereinandergeschaltet sind, wobei gegebenenfalls an den Festbettreaktor (7) eine externe Schlaufe zur, vorzugsweise kontinuierlichen, Produktabtrennung angeschlossen ist.
10. Vorrichtung nach Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet**, daß innerhalb des Festbettreaktors ein oder mehrere Leiteinrichtungen zur Erzielung einer Zirkulation innerhalb des Reaktors vorgesehen sind.
11. Vorrichtung nach Anspruch 10, **dadurch gekennzeichnet**, daß zur Erzielung der Zirkulation örtlich Gaseinbringeinrichtungen oder Leitungen zum gerichteten Einstromen von, vorzugsweise rückgeführtem, Medium vorgesehen sind.
12. Vorrichtung nach Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet**, daß in der externen Schlaufe zur Produktabtrennung ein Pervaporationsmodul (13) angeordnet ist.
13. Vorrichtung nach Anspruch 12, **dadurch gekennzeichnet**, daß in dem Pervaporationsmodul (13) eine Membran (14), insbesondere eine Silikonkautschukmembran, vorgesehen ist.
14. Vorrichtung nach Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet**, daß in der externen Schlaufe zur Produktabtrennung eine Gegenstromstrippkolonne (44) angeordnet ist.

Hierzu 1 Seite Zeichnungen

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Vergärung von kohlenhydrathaltigen Medien mit Hilfe von Bakterien, welche Butanol, Aceton, Ethanol und/oder Isopropanol bilden, wobei das Verfahren wenigstens zweistufig ausgeführt wird, wobei im ersten Verfahrensabschnitt im wesentlichen die Bakterien kontinuierlich kultiviert und im zweiten kontinuierlich oder chargenweise geführten Verfahrensabschnitt im wesentlichen das Produkt gebildet wird.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Bei einem bekannten Verfahren dieser Art sind zwei herkömmliche Züchtungsstufen vorgesehen, wobei man mit Hilfe der Durchflußrate bzw. mit Hilfe der Phosphatlimitierung den Verfahrensablauf so einstellt, daß in der ersten Stufe (Wachstumsstufe) die Bakterienkonzentration konstant hoch bleibt, d. h. daß sich ein Fließgleichgewicht (steady state) einstellt und daß bereits ein Teil des Substrats zu Butanol, Aceton und/oder Ethanol umgesetzt wird. In der zweiten Stufe soll dann eine möglichst hohe Ausbeute an den gewünschten Gärungsprodukten in möglichst kurzer Zeit erzielt werden. Wählt man in der ersten Stufe eine zu hohe Durchflußrate, so werden mehr Zellen ausgetragen als neue gebildet. Bei zu geringer Durchflußrate hingegen kann das Zellwachstum gegebenenfalls eingestellt werden.

Ein solches Verfahren hat den Nachteil, daß einerseits die erzielten Produktivitäten noch nicht befriedigend sind, und daß andererseits eine Langzeitstabilität der kontinuierlichen Kultur nicht gegeben ist, d. h. daß über einen längeren Zeitraum von hundert Stunden und mehr keine konstanten Produktivitäten erzielt werden können. Dies liegt darin, daß die gebildeten Produkte, nämlich Butanol, Aceton und/oder Ethanol bzw. Isopropanol für die Gärungsorganismen toxisch wirken, so daß bei einer gewissen Konzentration der gebildeten Produkte entweder die Produktbildung eingestellt oder aber die Bakterienkulturen erheblich geschädigt werden. Ein weiterer Nachteil des bekannten Verfahrens ist auch darin zu erblicken, daß halbwegs befriedigende Resultate nur mit Hexosen erzielbar sind.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist die Bereitstellung eines verbesserten Verfahrens zur Vergärung von kohlenhydrathaltigen Medien.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren der eingangs genannten Art zu schaffen, mit welchem über einen langen Zeitraum hindurch konstant günstige Produktivitätswerte erzielbar sind. Außerdem soll auf Grund des Verfahrens erzielt werden, daß auch Ausgangsmaterialien eingesetzt werden können, die nicht nur Hexosen beinhalten.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe dadurch gelöst, daß die Bakterien im zweiten Verfahrensabschnitt an einem Trägermaterial immobilisiert werden.

Bei einstufigen Verfahren ist es bereits bekannt, Bakterien zu immobilisieren, und zwar werden bei diesem bekannten Verfahren Zellen in Ca-Alginat immobilisiert, wobei Glucose als Substrat eingesetzt wird. Bei diesen bekannten Verfahren konnten die Produktivitäten zwar gesteigert werden, jedoch konnten auch hier über eine längere Gärungszeit, z. B. von mehreren Wochen, nur geringe Produktivitäten aufrechterhalten werden.

Das erfindungsgemäße Verfahren ist hinsichtlich der Durchflußrate sehr flexibel, da die lebensfähigen Bakterien in der zweiten Stufe durch Adhäsion am Trägermaterial festhaften, wobei die Durchflußrate im ersten Verfahrensabschnitt so auf den Verfahrensablauf abgestimmt werden kann, daß in diesem ersten Verfahrensabschnitt nahezu ausschließlich Bakterien gebildet werden, welche dann in die zweite Verfahrensstufe teilweise mitgenommen werden. In dieser zweiten Verfahrensstufe erhält man dann eine hohe Bakterienpopulation, da sich die lebensfähigen Bakterien an das Trägermaterial anheften, wogegen bereits abgestorbene Bakterienzellen mit dem produktangereicherten Medium ausgeschwemmt werden. Es kann also mit einer so hohen Durchflußrate in der ersten Stufe gearbeitet werden, daß die Konzentration an gebildeten Produkten nicht die Toxizitätsgrenze überschreitet, so daß die Bakterienkultur im wesentlichen nicht geschädigt wird. Vorteilhafterweise kann als Trägermaterial ein offenporiges Sinterglas oder Bimsstein oder ein gleichwertiges Material mit hohem SiO_2 -Gehalt, offenporiger Struktur, einer Porengröße von 20–200 μm , vorzugsweise 50–100 μm und einer Wasseraufnahmefähigkeit von gleich oder größer 0,35 ml/cm³ eingesetzt werden, wobei das Verhältnis des Volumens des Trägermaterials um Gesamtarbeitsvolumen zwischen 1:10 bis 1:1,1, vorzugsweise 1:5 bis 1:6 beträgt, wodurch eine besonders wirksame Vergärung erzielt wird, insbesondere, wenn in dem ersten Verfahrensabschnitt unter Durchmischung des Reaktorinhalts eine Durchflußrate von 0,08 bis $0,45 \times \text{h}^{-1}$, insbesondere 0,1–0,38 h^{-1} , ein pH von 4,0–5,5, insbesondere 4,3 bis 5,1, vorzugsweise 4,5–5 und/oder eine Temperatur von 38°C–40°C, insbesondere 33°C–38°C eingehalten werden, wobei im zweiten Verfahrensabschnitt eine Durchflußrate von 0,14–0,4 $\times \text{h}^{-1}$, vorzugsweise 0,25–0,35 h^{-1} , ein pH von 3,0–5,0, insbesondere 4,0–4,8, vorzugsweise 4,2–4,5, und/oder eine Temperatur von 27°C–40°C, insbesondere 30°C–37°C, vorzugsweise 32°C–35°C, eingehalten werden. Anstelle einer Immobilisierung könnten im zweiten Verfahrensabschnitt die Zellen mittels Mikrofiltration, vorzugsweise Cross-flow-Mikrofiltration, aus dem Medium abgetrennt und rückgeführt werden, wodurch die gleiche Wirkung wie durch Immobilisierung erzielt wird.

Zusätzlich führt eine hohe Produktkonzentration in der ersten Stufe (bei niedriger Durchflußrate) zu einer Degenerierung der Bakterien, was zu einem Wechsel von der Produktbildung zur erneuten Säurenbildung führt, welcher Wechsel erfahrungsgemäß nicht mehr rückgängig gemacht werden kann. Bei zu hoher Durchflußrate in der ersten Stufe kommt es andersseits zu einem Auswaschen der Bakterien, so daß nach einiger Zeit nicht mehr genügend Bakterien für den zweiten Verfahrensabschnitt nachgeliefert werden.

Es ist also die Durchflußrate entsprechend den jeweiligen Gegebenheiten einzustellen.

In der Zeichnung sind schematisch verschiedene Ausführungsbeispiele der erfindungsgemäßen Vorrichtung dargestellt. Fig. 1 zeigt das Verfahrensschema, mit welchem das gebildete Produkt durch Pervaporation abgeschieden wird. Fig. 2 zeigt das Verfahrensschema, bei welchem die Produktabtrennung durch Extraktion erfolgt. Fig. 3 gibt das Verfahrensschema wieder, bei welchem das Produkt durch Strippen aus dem Medium ausgetrieben wird.

Bei allen drei Ausführungsbeispielen sind die gleichen Teile mit gleichen Bezugszeichen versehen. Mit 1 ist ein Vorratsgefäß bezeichnet, von welchem über eine Leitung 2 mittels einer Pumpe 3 die Nährlösung in den ersten Verfahrensabschnitt, welcher durch einen Rührkesselbioreaktor 4 gebildet ist, eingebracht wird. Von dem Rührkesselbioreaktor 4 wird das mit Biomasse angereicherte Nährsubstrat über eine Leitung 5 und eine Pumpe 6 der zweiten Verfahrensstufe zugeführt, welche durch einen Festbettreaktor 7 gebildet ist. Von diesem Festbettreaktor 7 geht eine Leitung 8 aus, über welche mittels einer Pumpe 9 das an Produkt angereicherte Medium aus dem Festbettreaktor 7 abgeführt wird.

Beim Ausführungsbeispiel gemäß Fig. 1 wird das an Produkt angereicherte Medium über einen Wärmetauscher 10 geführt, in welchem es gegen rückströmendes, vom Produkt bereits befreites Medium aufgewärmt wird. Das aufgewärmte, an Produkt reiche Medium wird über die Leitung 11 einer Heizung 12 zugeführt und von dort einem Pervaporationsmodul 13 zugeleitet. In diesem Pervaporationsmodul 13 befindet sich eine Membran 14, an deren einer Seite Medium und an deren anderer Seite ein Trägergas zugeführt wird. An dieser Membran 14 wird ein Produktaustausch vom Medium zum Gas vorgenommen, wobei das Gas über eine Leitung 15 in das Pervaporationsmodul 13 eingebracht wird. Das vom Produkt befreite Medium wird über die Leitung 16 und eine Pumpe 17 dem Wärmetauscher 10 zugeführt und über die Leitung 18 wieder in den Festbettreaktor 7 rückgeführt. Überschüssiges vom Produkt weitgehend befreites Medium wird über die Leitung 19 abgeführt. Ein Teil des Mediums wird, wie in Fig. 1 strichliert eingezeichnet, über eine Leitung 20 und eine Pumpe 21 dem Rührkesselbioreaktor 4 zugeführt. Das an Produkt angereicherte Gas wird aus dem Pervaporationsmodul 13 über die Leitung 22 einer Kühleinrichtung 23 zugeführt, in welcher das gebildete Produkt kondensiert und über die Leitung 24 abgezogen wird. Das vom Produkt befreite Gas wird über die Leitung 25 wieder dem Pervaporationsmodul 13 rückgeführt.

Beim Ausführungsbeispiel gemäß Fig. 2 wird das über die Leitung 8 und die Pumpe 9 aus dem Festbettreaktor 7 abgezogene mit Produkt angereicherte Medium einer Heizeinrichtung 30 zugeführt, von welcher es in einen Mischer 31 gelangt. In diesen Mischer 31 wird über die Leitung 32 Extraktionsmittel und an Produkt angereichertem Medium einen Abscheider 33 über die Leitung 34 zugeleitet. Im Abscheider 33 werden dann das mit Produkten beladene Extraktionsmittel und das vom Produkt befreite Medium voneinander getrennt, wobei das mit Produkten angereicherte Extraktionsmittel über die Leitung 35 und das vom Produkt befreite Medium über die Leitung 36 abgezogen wird. Das vom Produkt befreite Medium wird dann über die Leitung 37 in den Festbettreaktor 7 rückgeführt, überschüssiges Medium wird über die Leitung 38 abgezogen. Wie in Fig. 2 strichliert angedeutet, kann auch vom Produkt befreites Medium über eine Leitung 39 und eine Pumpe 40 in den ersten Verfahrensabschnitt rückgeführt werden.

Die Trennung zwischen Extraktionsmittel und Produkt kann in herkömmlicher Weise durch Destillation u. dgl. vorgenommen werden.

Beim Ausführungsbeispiel gemäß Fig. 3 wird das über die Leitung 8 und die Pumpe 9 abgezogene, an Produkt angereicherte Medium wieder einem Wärmetauscher 10 zugeführt, von welchem es über die Leitung 41 einer Heizung 42 zugeführt wird, von wo es über die Leitung 43 in eine Strippkolonne 44 gelangt. In dieser Strippkolonne 44 wird das an Produkt angereicherte Medium im Gegenstrom mit Gas behandelt, welches über die Leitung 45 und die Pumpe 46 in die Kolonne eingeblasen wird. Das an Produkt angereicherte Strippgas wird über die Leitung 47 einer Kühleinrichtung 48 zugeführt, in welcher die Produkte kondensieren und über die Leitung 49 abgezogen werden. Das vom Produkt freie Gas wird wieder über die Pumpe 46 und die Leitung 47 in die Strippkolonne 44 rückgeführt. Das vom Produkt befreite Medium wird über die Leitung 50 und die Pumpe 51 dem Wärmetauscher 10 zugeführt, in welchem das noch warme Medium gegen frisches, vom Festbettreaktor 7 kommendes Medium geführt wird. Vom Wärmetauscher 10 gelangt das vom Produkt befreite Medium über die Leitung 52 in den Festbettreaktor 7. Auch in vorliegendem Fall wird überschüssiges Medium über eine Leitung 53 aus dem System abgezogen. Die strichliert eingezeichnete Leitung 54 und die Pumpe 55 dienen wieder zur Rückführung von vom Produkt befreitem Medium in den ersten Verfahrensabschnitt, nämlich in den Rührkesselbioreaktor 4.

Ausführungsbeispiel

Das erfindungsgemäße Verfahren wird nachstehend an Hand von Ausführungsbeispielen näher erläutert.

Beispiel 1

Als Nährmedium wird ein Medium folgender Zusammensetzung genommen:

Xylose (wasserfrei)	60 g/l
KH ₂ PO ₄	1g/l
K ₂ HPO ₄	1g/l
(NH ₄) ₂ SO ₄	2 g/l
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0,1 g/l
NaCl	0,01 g/l
Na ₂ MoO ₄ · 2 H ₂ O	0,01 g/l
CaCl ₂	0,01 g/l
MnSO ₄ · H ₂ O	0,01 g/l
FeSO ₄ · 7 H ₂ O	0,015 g/l
Biotin	0,1 mg/l

Thiaminiumchlorid	0,002 g/l
p-Aminobenzoessäure	0,002 g/l
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$	0,035 g/l
Resazurin	0,001 g/l
Hefeextrakt	0,5 g/l
$\text{Na}_4\text{OOCCH}_3$	2,2 g/l.

Als Gärungsorganismus wird *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 eingesetzt. Der Gärungsorganismus wird in entsprechender Vorkultur herangezogen, bevor er in das erfindungsgemäße Verfahren eingeführt wird.

