



Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 29 Absatz 1 des Patentgesetzes

ISSN 0433-6461

(11)

1602 30

Int.Cl.³

3(51) C 12 N 1/26

AMT FUER ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

(21) WP C 12 N/ 2301 408

(22) 21.05.81

(45) 18.05.83

-
- (71) AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN DER DDR, BERLIN, DD
(72) BIEDERMANN, WOLFGANG, DR.RER.NAT. DIPL.-CHEM.; HEINZE, GUENTHER, DR.RER.NAT. DIPL.-CHEM.;
SCHMIDT, JOACHIM, DIPL.-CHEM.; BECK, DIETER, DR.RER.NAT. DIPL.-CHEM., DD
(73) siehe (72)
(74) ADW DER DDR, INST. F. TECHN. CHEMIE, AG PATENTWESEN, 7050 LEIPZIG, PERMOSERSTR.
15
-

(54) VERFAHREN ZUR EXTRAKTION GETROCKNETER MIKROBIELLER BIOMASSEN

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Entfernung von Kohlenwasserstoffen aus getrockneten Biomassen, die durch Züchtung von Mikroorganismen auf kohlenwasserstoffhaltigen Substraten erhalten wurden. Sie gehört in das Gebiet der mikrobiellen Eiweißgewinnung. Es ist das Ziel der Erfindung, den Gehalt der trockenen Biomasse an Kohlenwasserstoffen deutlich zu erniedrigen und den Aufwand zur Extraktion zu verringern. Die Aufgabe der Erfindung besteht darin, Zusätze im Gemisch Biomasse/Extraktionsmittel einzusetzen, um das Ziel der Erfindung zu erreichen. Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß die Extraktion der zuvor auf einen Wassergehalt von 20 bis 60 Ma.-% gebrachten Trockenbiomasse mit Kohlenwasserstoffen im Siedebereich von 40 bis 140°C in Gegenwart von, bezogen auf Trockenbiomasse, 0,01 bis 5 Ma.-% Tensiden vom Polyethylenglycoltyp erfolgt. Die Zugabe der Tenside kann in den Stufen Fermentation und/oder Separation und/oder Extraktion erfolgen.

Titel der Erfindung:

Verfahren zur Extraktion getrockneter mikrobieller
Biomassen

Anwendungsgebiet der Erfindung:

Die Erfindung gehört in das Gebiet der mikrobiellen Ei-
5 weißgewinnung, in die IPK C 12 N. Die Erfindung kann
eingesetzt werden in Anlagen, in denen mikrobielle Biomassen
hergestellt werden und durch Lösungsmittelextraktion gerei-
nigt werden, in denen aus proteinreichen Produkten durch
Lösungsmittelbehandlung lyophile Bestandteile entfernt
10 werden.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen:

Mikrobielle Biomassen, die auf Kohlenwasserstoffen als Sub-
strat gezüchtet werden, enthalten immer noch Substratanteile,
d.h. Kohlenwasserstoffe, die aus den Biomassen entfernt wer-
15 den müssen. Dafür sind Verfahren bekannt, bei denen eine
Lösungsmittelextraktion der getrockneten Biomasse erfolgt.
Als Lösungsmittel werden Hexan bzw. niedere Benzinschnitte,
Ketone, Methanol oder Gemische aus Hexan bzw. hexanreichen
Benzinschnitten mit Ketonen (Aceton), Alkoholen (Methanol,
20 Ethanol, Isopropanol) und/oder Wasser verwendet.

Die Verwendung von Lösungsmittelgemischen, insbesondere aus
Kohlenwasserstoffen und Alkohol, führt zu technologisch nur
mit erheblichem Aufwand beherrschbaren Phasentrennungen bei
inneren Kreisläufen, wird jedoch wegen der hohen Reinheit
25 der erhaltenen gereinigten Produkte bevorzugt angewandt.

Ein technologisch leichter beherrschbares Verfahren besteht darin, die Extraktion mit Kohlenwasserstoffen durchzuführen (DD-AP 53984). Die enthaltenden Endproduktqualitäten sind jedoch wegen des höheren Gehaltes an

5 Kohlenwasserstoffen schlechter.

Weiterhin ist bekannt, daß zur Verbesserung der Endproduktqualitäten bei der Extraktion (DD-PS 110 052) bzw. zur Verbesserung des Absinkverhaltens bei der Extraktion in kontinuierlich arbeitenden Rührwerkskolonnenextraktion
10 (DD-PS 139 650) bei Verwendung von Kohlenwasserstoffen als Extraktionsmittel Wasser in das Extraktionssystem eingebracht wird, die resultierenden Feststoffe genügen in ihrem Gehalt an Kohlenwasserstoffen jedoch noch nicht den Forderungen, d.h., ihr Gehalt an Kohlenwasserstoffen
15 aus dem als Kohlenstoffquelle bei der Fermentation eingesetzten Substrat (Erdöldestillatkohlenwasserstoffe) ist noch zu hoch. Nur durch eine Vielzahl von Extraktionsstufen kann er auf das erforderliche niedrige Niveau gebracht werden.

20 Ziel der Erfindung:

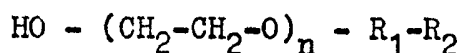
Ziel der Erfindung ist es, durch geeignete Mittel und Maßnahmen den Gehalt der extrahierten Biomasse an Kohlenwasserstoffen deutlich zu erniedrigen und somit den Aufwand zur Verbesserung des Extraktionseffektes zu verringern.

25 Darlegung des Wesen der Erfindung:

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, durch einen Zusatzstoff bei der Extraktion getrockneter und nachträglich mit Wasser oder wasserhaltigen Biomassesuspensionen auf einen Wassergehalt von 20 bis 60 Masse-% gebrachten
30 Biomassen eine raschere und damit gründlichere Entfernung der lipophilen Substanzen und damit auch der Kohlenwasserstoffe zu erreichen.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß als Zusatzstoffe bei der Extraktion von mit Wasser bzw. wasserhaltigen Biomassesuspensionen befeuchteter Biomasse mit Kohlenwasserstoffen im Siedebereich von 40 - 140°C Tenside besonders wirksam sind. Eine besonders gute Wirksamkeit zeigen nichtionogene Tenside vom Polyethylenglycoltyp. Von diesen Tensiden sind sowohl solche mit niedriger HLB-Zahl (öl- bzw. benzinlösliche) als auch solche mit mittlerer bzw. hoher HLB-Zahl (wasserlösliche) geeignet.

10 So sind Verbindungen der allgemeinen Formel



in Mengen von 0,01 bis 5,00 Ma.-%, bezogen auf Feststoffe besonders wirksam. Hierbei bedeutet:

15 R_1 einen Alkylen- oder Acylenrest mit 6-22 C-Atomen oder einen Rest $(-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{O}-)_m$ mit



$m = 3$ bis 250

R_2 einen Rest $(-\text{OH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2)_n - \text{CH}$ oder H

n eine Zahl von 3 bis 200

20 Beispielsweise sind Polyethylenglycoläther mittel- bis langkettiger Fettalkohole oder Polyethylenglycolester mittel- bis langkettiger Fettsäuren sowie Polykondensationsprodukte von Ethylenoxid an Polypropylenglycol einzeln oder in Mischung von guter Wirksamkeit.

25 Die Zugabe des Tensides oder der Tenside kann in jeder Stufe des Prozesses der Herstellung der Biomasse bis einschließlich der Extraktion erfolgen. Bevorzugt sind die Stufen Fermentation, Aufrahmung, Separation oder Extraktion einzeln oder in Kombination. Auch die Zugabe unterschiedlicher Tenside in einzelnen Stufen ist möglich.
30 Zweckmäßigerweise erfolgt die Zugabe der Tenside mit mittlerer bzw. hoher HLB-Zahl über das wäßrige System und die der Tenside niedriger HLB-Zahl über das Extraktionsmittel.

Wegen der Verwendung der extrahierten Biomassen als Tierfuttermittelzusätze sind die Tenside vom Typ der ethoxylierten Polypropylenglycole oder der ethoxylierten geradkettigen Alkohole mittlerer bis hoher Kettenlänge bzw. der
5 Polyethylenglycolfettsäureester mittel- bis langkettiger Fettsäuren sowie biogene Phospholipide oder Diglyceride von mittel- bis langkettigen Fettsäuren (C_8 bis C_{22}) oder grenzflächenaktive Zuckerester besonders geeignet.

Ausführungsbeispiele:

10 1. Beispiel:

In einem Umlaufextraktor von 10 Litern Inhalt gibt man 2,5 kg sprühgetrocknete Biomasse, welche durch Züchtung von *Lotteromyces elongisporus* auf einem Erdöldestillat des Siedebereiches 250 bis 360°C als einzige C-Quelle erhalten
15 wurde. Man fügt unter Rühren 1,25 kg Wasser hinzu, so daß die Biomasse einen Wassergehalt von 40% aufweist. Während 15 Minuten rührt man zur gleichmäßigen Verteilung des zugesetzten Wassers gelegentlich um. Dann gibt man 5 kg Benzin des Siedebereiches 60/85°C hinzu, welches eine Temperatur von 40°C besitzt und in dem 25 g 7-Eto-Dodecanol
20 gelöst sind. Unter Aufrechterhaltung der Temperatur wird 15 Minuten lang gerührt und anschließend filtriert. Der abgetrennte Filterkuchen wird noch dreimal analog mit einer Lösung von 25 g 7-Eto-Dodecanol in 5 Litern Benzin
25 vom Siedebereich 60 bis 85°C bei 40°C extrahiert und nach Abtrennen der Miszella der Filterkuchen luftgetrocknet. Der Kohlenwasserstoffgehalt des extrahierten Produktes betrug 0,14 Ma.-%, die Extraktmenge 450 g. In einem Vergleichsversuch ohne Tensidzugabe betrug der Kohlenwasserstoffgehalt
30 des extrahierten Produktes 0,58 Ma.-%, die Extraktmenge 235 Gramm.

2. Beispiel:

In einem Extraktor wie im Beispiel 1 wurden 2,5 kg Biomasse wie im Beispiel 1 gegeben. Die Befeuchtung erfolgte außerhalb des Extraktors mit einem Liter einer 19 %igen Biomassesuspension, welche 0,3% eines Tensides enthielt. Dieses Tensid war ein ethoxyliertes Polypropylenglycol vom mittleren Molekulargewicht 1950 und einem Verhältnis Propylenoxid : Ethylenoxid 53 : 47. Der befeuchtete Feststoff wurde viermal bei einer Temperatur von 40°C mit einem Benzin vom Siedebereich 60 bis 85°C wie im Beispiel 1 beschrieben extrahiert. Der getrocknete Feststoff hatte einen Kohlenwasserstoffgehalt von 0,23%, es fielen 325 g Extrakt an. In einem Vergleichsversuch ohne Tensid hatte der extrahierte Feststoff einen Kohlenwasserstoffgehalt von 0,67 Ma.-% und es wurden lediglich 215 g Extrakt erhalten.

3. Beispiel:

Auf einem Erdöldestillat vom Siedebereich 250 - 360°C wurde in einem kontinuierlich arbeitenden Rührfermentor von 30 m³ Inhalt eine Hefestamm der Spezies *Lodderomyces elongisporus* kontinuierlich kultiviert. Die Rührleistung des Fermentors betrug 20 kW bei einem Lufteintrag von 750 m³/h. Das Kulturmedium besaß, bezogen auf 1 m³ Flüssigkeit, folgende Zusammensetzung: Phosphorsäure (70 %ig) 600 ml, Kaliumchlorid 600 g, Magnesiumsulfat 280 g, Eisen(II)chlorid 20 g, Mangansulfat 20 g, Zinksulfat 15 g. Zur Verbesserung des Extraktionsverhalten des sprühgetrockneten Produktes wurden der Fermentorflüssigkeit erfindungsgemäß 800 g des Tensides wie im Beispiel 2 pro m³ Kulturflüssigkeit zugegeben. Gleichzeitig hielt die Temperatur auf 33°C und den pH-Wert durch Ammoniakzugabe bei 4,2. Die Produktivität lag bei 3,8 kg/m³·h. Durch Aufrahmen erfolgte eine Aufkonzentration an Biomasse auf 3,2 g/l bei gleichzeitiger Entgasung. Die Suspension wurde anschließend erfindungsgemäß nochmals mit 1 kg/m³ Rahm des Tensides wie im Beispiel 2 versetzt

und nach Erhitzen auf eine Temperatur im Bereich von 80 -
85°C einer separativen Abtrennung der Hauptmenge an Öl
unterzogen. In einer 2. Separationsstufe wurde auf einen
Feststoffgehalt von 20,4% aufkonzentriert. Diese Suspension
5 wurde mittels eines konventionellen Sprühtrockners mit
Druckdüsenzerstäubung getrocknet und besaß folgende Zusam-
mensetzung: Rohprotein 58,3%, Wasser 14,3%, Lipide 22,2%,
Kohlenwasserstoffe 8,3%, Tensidgehalt 1,27%, Korngröße
0,050 bis 0,500 mm. Nach Befeuchtung auf 30% Wassergehalt
10 wurde wie im Beispiel 1 viermal jedoch mit n-Hexan extra-
hiert. Der Feststoff hatte einen Kohlenwasserstoffgehalt
von 0,32%. Eine vergleichsweise ohne Tensid fermentierte
und separierte Probe hatte nach der Extraktion noch einen
Kohlenwasserstoffgehalt von 0,85%.

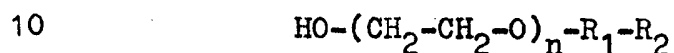
15 4. Beispiel:

Die sprühgetrocknete Biomasse aus Beispiel 3 wurde wie im
Beispiel 1 angegeben auf 45 % Wassergehalt befeuchtet und
unter Zusatz von 0,5% Laurinsäurepentaethylglycolester
zum Extraktionsbenzin extrahiert. Die Extraktion erfolgte
20 4-stufig bei 45°C. Der erhaltene Feststoff hatte einen
Kohlenwasserstoffgehalt von 0,12%.

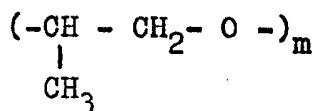
In einem Vergleichsversuch erfolgte die Extraktion des
gleichen Feststoffes mit reinem Benzin, also ohne Zusatz
des Tensides. Dieser extrahierte Feststoff enthielt noch
25 0,24% Kohlenwasserstoffe.

Erfindungsanspruch

1. Verfahren zur Extraktion getrockneter mikrobieller Biomassen aus auf Erdöldestillaten gezüchteten Mikroorganismen mit Kohlenwasserstoffen im Siedebereich von
5 40 bis 140°C, vorzugsweise 55 bis 90°C, bei einem Wassergehalt der Biomassen von 20 bis 60% dadurch gekennzeichnet, daß die Extraktion in Gegenwart von 0,01 bis 5,0%, bezogen auf Biomasse, eines oder mehrerer Tenside der allgemeinen Formel



durchgeführt wird, wobei R₁ einen Alkylen- oder Acylenrest mit 6 bis 22 Kohlenstoffatomen oder einen Rest



15 mit m = 3 bis 250, R₂ einen Rest (- O - CH₂ - CH₂ -)_n OH oder H und n eine Zahl von 3 bis 200 bedeutet.

2. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Zugabe des Tensides zum Lösungsmittel erfolgt.

3. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß
20 die Befeuchtung und Tensidzugabe vor dem Kontakt der Biomasse mit den Extraktionskohlenwasserstoffen durchgeführt wird.

4. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß Befeuchtung und Tensidzugabe nach dem Kontakt der Biomasse mit den Extraktionskohlenwasserstoffen erfolgt.
5. Verfahren nach Punkt 3 und 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Zugabe des Tensides zum Feststoff vor, während oder nach der Befeuchtung mit Wasser und/oder wäßriger Biomassesuspension erfolgt.
6. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Zugabe des Tensides in der Stufe der Fermentation und/oder Separation erfolgt.