



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) DD (11) 265 909 A1

4(51) C 12 N 1/16
C 12 N 1/26

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP C 12 N / 308 746 5

(22) 06.11.87

(44) 15.03.89

(71) VEB Gärungschemie Dessau, Johann-Meier-Straße 12, Dessau, 4500, DD

(72) Teich, Walter, Dr. rer. nat.; Otto, Gerhard, Dipl.-Chem.; Flemming, Ingeborg, Dr. rer. nat.; Bergmann, Horst; Leuschner, Konrad; Elsner, Annemarie, Dipl.-Biol.; Löwe, Peter; Sawistowski, Joachim, Dr.; Meyer, Gudrun; Welz, Gerald, Dipl.-Biol., DD

(54) Verfahren zur Gewinnung von mikrobieller Biomasse

(55) Biomasse, Ausbeute, Rohprotein, C. utilis, Kohlenhydrate

(57) Die Erfindung beinhaltet ein Verfahren zur Gewinnung von mikrobieller Biomasse. Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Konvertierung von Kohlenhydraten zu mikrobieller Biomasse, die als Futtermittel verwendet werden kann. Erfindungsgemäß wird zur Herstellung der mikrobiellen Biomasse der Hefestamm TOF 2 ZIMET 43850 eingesetzt, wobei die Kultivierung bei einer Temperatur im Bereich von 30 bis 40 °C und einem pH-Wert im Bereich von 3,5 bis 8 erfolgt. Der Fermentorablauf wird in bekannter Art und Weise separiert und getrocknet.

Patentanspruch:

1. Verfahren zur Gewinnung mikrobieller Biomasse auf der Basis von Kohlenhydraten, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Kultivierung mit dem Hefestamm TOF 2 ZIMET 43850 durchgeführt wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Kultivierung des Hefestammes bei einer Temperatur im Bereich von 30 bis 40°C durchgeführt wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Kultivierung des Hefestammes bei einem pH-Wert im Bereich von 3,5 bis 6 erfolgt.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Kultivierung von Hefen durch aerobe Fermentation unter Verwendung von Kohlenhydraten als Kohlenstoffquelle. Die Erfindung kann in der mikrobiologischen Industrie zur Erzeugung von Futterhefe angewandt werden.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Zur Gewinnung mikrobieller Biomasse werden in bestimmtem Umfang Kohlenhydrate als Kohlenstoffquelle eingesetzt, wobei entweder reine Substrate (Glucose, Saccharose) oder kohlenhydrathaltige Medien (Melasse, Sulfitablauge, Schlempe) verwendet werden. Die Kultivierung wird mit Wuchshefen unter aeroben Bedingungen durchgeführt. So ist ein Verfahren bekannt, DD-PS 224615, bei dem durch Kultivierung eines Hefestammes mit der Bezeichnung C. utilis auf der Basis eines Gemisches von Saccharose/Melasse unter üblichen Bedingungen Hefebiomasse gewonnen wird. Die Ausbeute beträgt 44,6%, wobei der Rohproteingehalt der Hefebiomasse einen Wert von 55 Ma.-% aufweist. Durch elektromagnetische Behandlung der dem Fermentor zufließenden Medien wird die Ausbeute auf 53,1% gesteigert. Eine ähnliche Ausbeute wird in der Patentschrift DD-PS 142453 angegeben. Durch Kultivierung eines Hefestammes der Bezeichnung C. utilis auf der Basis von Saccharose/Melasse beträgt die Ausbeute 52%. Die genannten Verfahren haben den Nachteil, daß die Ausbeute relativ niedrig liegt und somit der eingesetzte Rohstoff nicht entsprechend genutzt wird.

Nach einem weiteren Verfahren, DD-PS 219036, wird zur Kultivierung der Hefestamm Lodderomyces elongisporus EH 15 eingesetzt und damit eine Ausbeute von 55,6% bei einem Rohproteingehalt von 50 Ma.-% erreicht. Durch eine spezielle Dosierung von Substrat, Nährlösung und Wasser in die Prozeßstufe Kultivierung kann die Ausbeute auf 69,4% verbessert werden. Der Rohproteingehalt bleibt demgegenüber konstant. Dieses Verfahren hat den Nachteil, daß der eingesetzte Hefestamm einen relativ niedrigen Rohproteingehalt aufweist, der sich auch bei Anwendung der vorgeschlagenen Verfahrensweise nicht verändert. Das Verfahren hat weiter den Nachteil, daß es für technische Anlagen zu kompliziert und deshalb störanfällig ist. Die dadurch bedingten Prozeßstörungen wirken sich nachteilig auf die Ökonomie des Verfahrens aus.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist eine Verbesserung des spezifischen Substratverbrauches von Hefen auf der Basis von Kohlenhydraten bei gleichzeitiger Gewährleistung eines hohen Rohproteingehaltes und einer einfachen Verfahrensweise.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, durch Auswahl eines geeigneten Hefestammes eine Verbesserung des spezifischen Substratverbrauches bei gleichzeitiger Gewährleistung eines hohen Rohproteingehaltes und einer einfachen Verfahrensweise zu erreichen. Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß ein Hefestamm (Hansenula jadinii) mit der Bezeichnung TOF 2 ZIMET 43850, hinterlegt im Zentrallinstitut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie der Akademie der Wissenschaften der DDR, Beuthenbergstr. 11, Jena, 6900, zur Kultivierung eingesetzt wird.

Dieser Hefestamm ist durch folgende Merkmale charakterisiert:

Morphologische Merkmale:

- 1) Kolonien nach 48 Stunden Wachstum auf Glucoseagar pH 5,4; 30°C mittelgroß, creme-grau, Rand glatt, Profil konvex, matt glänzend
- 2) Zellform nach 48 Stunden Wachstum auf Glucoseagar pH 5,4; 30°C länglich oval bis langgestreckt
Größe $8,7 \times 4,4 \mu\text{m}$, $(7-10) \times (3-6) \mu\text{m}$

Physiologische Merkmale:

Wachstum auf Agar bei 30 bis 37°C sehr gut
bei 45°C kein Wachstum

Assimilation von:

Galactose, Sorbose, Xylose, Saccharose, Maltose, Trehalose, Methyl- α -D-glucopyranosi, Cellobiose, Salicin, Arbutin, Raffinose, Melezitose, Mannit, Gluco- σ -lacton, Lactat, Succinat, Na-citrat, Na-gluconat, Nitrat,

keine Assimilation von:

Ribose, L-Arabinose, D-Arabinose, Rhamnose, Melibiose, Lactose, Inulin, Stärke, Erythrit, Ribit, Dulcitol, Gucitol, Inosit, Arabitol, Glucosamin, Glucuronsäure- σ -lacton, Xylit.

Fermentation von:

Glucose, Saccharose, Raffinose

Keine Fermentation von:

Galactose, Trehalose, Maltose, Cellobiose, Malibiose, Methyl- α -D-glucopyranosid, Melezitose, Lactose, Stärke

Die Kultivierung dieses Hefestammes erfolgt unter aeroben Bedingungen, wobei folgende Parameter eingestellt werden:

Temperatur: 30 bis 40°C

pH-Wert: 3,6 bis 6

Verweilzeit: 2,5 bis 5h

Als Kohlenstoffquelle werden reine Kohlenhydrate wie z. B. Saccharose und/oder kohlenhydrathaltige Substrate wie z. B. Melasse, Sulfitablaue und Schlompe eingesetzt.

Man führt die Kultivierung unter Berücksichtigung der genannten Parameter in bekannter Art und Weise durch und erhält einen Fermentorablauf, dessen Hefekonzentration je nach eingesetzter Kohlenstoffquelle und Verfahrensweise (kontinuierlich oder diskontinuierlich) stark variiert. Mit Hilfe von Separatoren erfolgt nach der Kultivierung eine Konzentrierung der Hefesuspension, die danach zur weiteren Wasserabtrennung in eine Vorverdampferstufe dosiert und anschließend in einer Trockenstufe (z. B. Sprühtrockner) getrocknet wird. Die so hergestellte Hefebiomasse hat einen Rohproteingehalt, der im Bereich von 55 bis 58,5 Ma.-% liegt.

Die mit der dargelegten Verfahrensweise erreichten spezifischen Ausbeutekoeffizienten lagen stets über 56%.

In den folgenden Beispielen wird das erfindungsgemäße Verfahren näher erläutert.

Beispiel 1

In einem mit einer Begasungsvorrichtung versehenen Rührfermentor mit einem Bruttovolumen von 12l und einem Masseinhalt von 4,5kg wurden kontinuierlich Hefen der Bezeichnung TOF 2 ZIMET 43850 auf der Basis von Saccharose gezüchtet. Durch Regelung wurde die Temperatur auf 33°C und der pH-Wert auf 4,1 gehalten. Dem Fermentor wurden kontinuierlich wäßrige Saccharoselösung, eine Nährsalzlösung üblicher Zusammensetzung sowie Ammoniakwasser in einer Gesamtmenge von 1350g/h zudosiert, entsprechend einer Verdünnungsrate von $D = 0,30\text{ h}^{-1}$. Die Substratkonzentration betrug im Fermentorzulauf 60g RS/kg, im Fermentorablauf 0,15g RS/kg. Unter diesen Bedingungen wurde im Fermentorablauf eine Biomassekonzentration von 3,47 Ma.-% HTS erreicht. Das entspricht einer Produktivität von 10,4g HTS/kg · h und einem Ausbeutekoeffizienten von $Y = 58\%$.

Der Fermentorablauf wurde anschließend zentrifugiert und das erhaltene Hefekonzentrat, das eine Biomassekonzentration von 18,3 Ma.-% aufwies, bei 105°C getrocknet. Bezogen auf 24h wurde ein Ausstoß von 1142g Hefetrockenprodukt erzielt, das einen Rohproteingehalt von 56,1 Ma.-% und einen Feuchtigkeitsgehalt von 2,2 Ma.-% aufwies.

Beispiel 2

In einem mit einer Begasungsvorrichtung versehenen Rührfermentor mit einem Bruttovolumen von 12l und einem Masseinhalt von 4,5kg wurden kontinuierlich Hefen der Bezeichnung TOF 2 ZIMET 43850 auf der Basis von Melasse gezüchtet. Die Fermentationstemperatur betrug 34°C, der pH-Wert wurde durch eine Regelung mittels H_2SO_4 auf einen Wert von 4 gehalten. Dem Fermentor wurden kontinuierlich wäßrige Nährsalzlösung üblicher Zusammensetzung, Ammoniakwasser sowie Melasse in einer Gesamtmenge von 1000g/h zudosiert, entsprechend einer Verdünnungsrate von $D = 0,222\text{ h}^{-1}$. Die Substratkonzentration betrug im Fermentorzulauf 62g RS/kg, im Fermentorablauf 0,1g RS/kg. Unter diesen Bedingungen wurde im Fermentorablauf eine Biomassekonzentration von 4,12 Ma.-% erreicht, was einer Produktivität von 9,15g HTS/kg · h und einem auf den RS-Gehalt bezogenen Ausbeutekoeffizienten von $Y = 66,5\%$ entsprach.

Durch Zentrifugation des Fermentorablaufs wurde ein Hefekonzentrat mit einer Biomassekonzentration von 18,5 Ma.-% erzeugt. Nach Trocknung bei 105°C wurde daraus ein Hefetrocknungsprodukt mit einem Rohproteingehalt von 55,3 Ma.-% und einem Feuchtigkeitsgehalt von 4 Ma.-% erhalten. Der auf 24h bezogene Ausstoß betrug 1020g Hefetrockenprodukt.

Beispiel 3

In einem mit einer Begasungsvorrichtung versehenen Rührfermentor mit einem Bruttovolumen von 12l und einem Masseinhalt von 4kg wurden kontinuierlich Hefen der Bezeichnung TOF 2 ZIMET 43850 auf der Basis eines Gemisches aus Melasse und reiner Saccharose gezüchtet. Die Fermentationstemperatur betrug 34°C, der pH-Wert wurde durch Regelung mittels H_2SO_4 auf einen Wert von 4,2 gehalten. Dem Fermentor wurden kontinuierlich die beiden Kohlenstoffquellen sowie Nährsalzlösung und Ammoniakwasser in einer Gesamtmenge von 1000g/h zudosiert, entsprechend einer Verdünnungsrate $D = 0,25\text{ h}^{-1}$. Die Substratkonzentration im Fermentorzulauf, die zu 50% der Saccharose und zu 50% der Melasse entstammte, betrug 51,5g RS/kg, im Fermentorablauf verblieben 0,2g RS/kg. Unter diesen Bedingungen wurde im Fermentorablauf eine Produktivität von 3g HTS/kg · h.

Der auf den RS-Gehalt bezogene Ausbeutekoeffizient betrug 62,6%. Durch Zentrifugation des Fermentorablaufs wurde ein Hefekonzentrat mit einer Biomassekonzentration von 18,2 Ma.-% gewonnen. Durch Trocknung bei 105°C wurde ein Hefetrockenprodukt mit einem Rohproteingehalt von 55,7 Ma.-% und einem Feuchtigkeitsgehalt von 2,5 Ma.-% erhalten. Der auf 24h bezogene Ausstoß betrug 782g Hefetrockenprodukt.

Beispiel 4

In einem mit einer Begasungsvorrichtung versehenen Rührfermentor mit einem Bruttovolumen von 12l und einem Masseinhalt von 4kg wurden kontinuierlich Hefen der Bezeichnung TOF 2 ZIMET 43850 auf der Basis von Buchenholz-Sulfitablaue bei einem pH-Wert von 4 und bei einer Temperatur von 33°C gezüchtet. Dem Fermentor wurden außer der Buchenholz-Sulfitablaue (RS-Gehalt 46g/l) Nährsalzlösung und Ammoniakwasser zudosiert. Die Gesamtmenge der Dosierung betrug 800g/h, entsprechend einer Verdünnungsrate von $D = 0,20\text{ h}^{-1}$.

Die Substrationskonzentration betrug im Fermentorzulauf 42 g RS/kg, im Fermentorablauf 4 g RS/kg, woraus eine RS-Abbaurate von 90,5% resultiert. Unter diesen Bedingungen wurde im Fermentorablauf eine Biomassekonzentration von 2,21 Ma.-% bei einer Produktivität von 4,4 g HTS/kg · h erreicht. Der auf den RS-Abbau bezogene Ausbeutekoeffizient betrug $Y = 58,2\%$. Der Fermentorablauf wurde anschließend zentrifugiert und das erhaltene Hefekonzentrat, das eine Biomassekonzentration von 17,2 Ma.-% aufwies, bei 105°C getrocknet. Der Ausstoß an Hefetrockenprodukt mit einem Rohproteingehalt von 55,6 Ma.-% und einem Feuchtigkeitsgehalt von 1,8 Ma.-% betrug 428 g, bezogen auf 24 h.

Beispiel 5

In einem mit einer Begasungsvorrichtung versehenen Rührfermentor mit einem Bruttovolumen von 12 l und einem Masseinhalt von 4 kg wurden kontinuierlich Hefen der Bezeichnung TOF 2 ZIMET 43850 auf der Basis eines Gemisches aus Melasse-Schlempe und Saccharose gezüchtet. Die Fermentationstemperatur betrug 35°C, der pH-Wert wurde durch Regelung auf einen Wert von 4,8 gehalten. Dem Fermentor wurde kontinuierlich in einer Menge von 720 g/h Melasse-Schlempe zudosiert, der Saccharose in einer Konzentration von 42,5 g/kg Schlempe zugesetzt worden war. Außerdem wurden in den Fermentor 80 g/h Diammoniumhydrogenphosphat-Lösung dosiert, so daß der Gesamtzulauf 800 g/h betrug, entsprechend einer Verdünnungsrate von $D = 0,20 \text{ h}^{-1}$. Unter diesen Bedingungen wurde eine Produktivität von 6,8 g HTS/kg · h erreicht. Der Fermentorablauf mit einer Biomassekonzentration von 3,4 Ma.-% wurde durch Zentrifugation auf 17,2 Ma.-% konzentriert und anschließend bei 105°C getrocknet. Der Ausstoß an Hefetrockenprodukt mit 56 Ma.-% Rohprotein und 2,3 Ma.-% Feuchtigkeit betrug 661 g, bezogen auf 24 h.

Im Vergleichsversuch mit Melasse-Schlempe gleicher Zusammensetzung ohne Saccharosezusatz wurde unter gleichen Fermentationsbedingungen eine Produktivität von 2,3 g HTS/kg · h und ein auf 24 h bezogener Ausstoß von 224 g Hefetrockenprodukt der gleichen Qualität erzielt. Damit beträgt der auf den Saccharoseteil bezogene Ausbeutekoeffizient $Y = 59,5\%$.