



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) DD (11) 260 940 A1

4(51) C 12 N 1/28
C 12 N 1/16

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP C 12 N / 304 249 4

(22) 29.06.87

(44) 12.10.88

(71) VEB PCK Schwedt, Direktion F/E, Schwedt (O.), 1330, DD

(72) Heidenreich, Günter, Dipl.-Ing.; Lübbert, Gustav-Adolf, Dipl.-Chem.; Bienek, Norbert, Dipl.-Ing.; Reiter, Ursula; Klingwer, Reingard; Lissat, Tatjana, Dipl.-Ing.; Fuchs, Roland, Dipl.-Ing.; Dzingel, Gerhard, Dipl.-Chem.; Bauch, Joachim, Dr. Dipl.-Chem.; Petzold, Gerhard, Dipl.-Chem., DD

(54) Verfahren zur Gewinnung von Biomasse

(55) Züchtung von Hefen, Erdöldestillat, Stickstoff-Phosphor-Verhältnis, thermolytische Behandlung, Fettsäurefraktionen, Prozeßwasser

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Gewinnung von Biomasse mittels kontinuierlicher Züchtung von Hefen auf n-Alkane enthaltenden Erdöldestillaten und gehört in das Gebiet der technischen Mikrobiologie. Die Fermentation erfolgt bei einem Stickstoff-Phosphor-Verhältnis von 2–20. Vor der Abtrennung der Biomasse werden aus dieser durch thermolytische Behandlung bei Temperaturen von 55–85°C zwei Fettsäurefraktionen entfernt, von denen die erste Zeit einer mittleren Kettenlänge von 6–8 C-Atomen zu mindestens 40% mit einem Teil des abgetrennten Prozeßwassers in den Fermentor zurückgeführt und die 2. Fraktion mit einer mittleren Kettenlänge von 17–18 C-Atomen gemeinsam mit dem nichtverbrauchten Anteil an Erdöldestillatfraktion abgetrennt wird.

Patentanspruch:

1. Verfahren zur Gewinnung von Biomasse mittels kontinuierlicher Züchtung von Hefen auf n-Alkane enthaltenden Erdöldestillatfraktionen, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Fermentation bei einem Stickstoff-Phosphor-Verhältnis im Kulturmedium von 2–20, vorzugsweise 3–5, erfolgt, daß vor der Abtrennung der Biomasse durch zweistufige thermolytische Behandlung bei Temperaturen von 55–85°C zwei Fettsäurefraktionen aus der Biomasse entfernt werden, wobei die 1. Fraktion mit einer mittleren Kettenlänge von 6–8 C-Atomen zu mindestens 40 %, vorzugsweise 50–70 %, mit einem Teil des abgetrennten Prozeßwassers in den Fermentor zurückgeführt und die 2. Fraktion mit einer mittleren Kettenlänge von 17–18 C-Atomen gemeinsam mit dem nichtverbrauchten Anteil der Erdöldestillatfraktion abgetrennt wird.
2. Verfahren zur Gewinnung von Biomasse nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß die 1. Stufe der thermolytischen Behandlung bei Temperaturen von 55–72°C und die 2. Stufe der thermolytischen Behandlung bei Temperaturen von 80–85°C erfolgt.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Gewinnung von Biomasse bei industrieller Gewinnung von Hefebiomasse auf Basis n-Alkane enthaltender Erdöldestillatfraktionen.

Die Erfindung gehört in das Gebiet der technischen Mikrobiologie.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Verfahren zur Gewinnung von Hefebiomasse auf Basis von n-Alkane enthaltenden Erdöldestillatfraktionen sind bekannt und vielfach beschrieben (WP 151963, WP 155080, WP 211241). Derartige Verfahren erfordern in der Regel nach der Abtrennung der gewonnenen Biomasse deren extraktive Reinigung, um den Restkohlenwasserstoffgehalt der Trockenbiomasse zu vermindern. Diese Reinigung ist meist mit einem hohen apparativen Aufwand verbunden und beinhaltet ein intensives Extraktionsverfahren (WP 227589).

Es sind auch verschiedene Verfahren bekannt geworden, den Aufwand bei der Extraktion durch Beeinflussung des Züchtungs- und Abtrennungsprozesses zu senken, dergestalt, daß der Kohlenwasserstoffgehalt in der Trockenbiomasse nach ihrer Abtrennung, aber bereits vor der extraktiven Reinigung vermindert wird (WP 239221).

Im WP 155287 wird durch Senkung des Gehaltes an vorwiegend anorganischen Aschebildern in der abgetrennten Hefesuspension das Auftrocknen von Salzen auf die Trockenhefepartikel vermindert und damit die Benetzbarkeit des Kornes durch das Extraktionsmittel verbessert.

Alle genannten Verfahren haben den Nachteil, daß keine Beeinflussung der Bindung der Kohlenwasserstoffe in der Zellmasse selbst erfolgt. Im Falle des WP 239221 wird die Menge der eingelagerten Kohlenwasserstoffe vermindert, im WP 155287 wird der „Erstangriff“ des Lösungsmittels erleichtert. Beide Verfahren führen zu einer graduellen Verminderung des KW-Gehaltes nach der Extraktion bei gleichem Aufwand. Die technische Anwendung der in den meisten Fällen praktizierten fest-flüssigen-Extraktion zeigt jedoch, daß nicht die Entfernung großer KW-Mengen, d. h. der „Erstangriff“ des Lösungsmittels bei vergleichsweise hohem KW-Gehalt die aufwandsbestimmende Barriere darstellt, sondern daß die in geringem Maße vorhandenen, aber fest in der Zellmasse gebundenen KW-Anteile den größten Extraktionsaufwand erfordern.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist die Bereitstellung einer Trockenbiomasse für die extraktive Reinigung, die es erlaubt, den technischen und/oder technologischen Aufwand für die nachfolgende Extraktion zu verringern.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, die Kultivierungs- und Abtrennungsbedingungen für die Hefebiomasse so zu verändern, daß die Bindung von Kohlenwasserstoffen in der Zellmasse gelockert wird.

Überraschend wurde gefunden, daß diese Aufgabe durch gezielte Beeinflussung der Zusammensetzung der Zelllipide gelöst werden kann. Bei der Züchtung im Fermentor wird dazu ein Stickstoff-Phosphor-Verhältnis im Medium von 2–20, vorzugsweise 3–5 eingestellt und vor der nachfolgenden Abtrennung eine zweistufige thermolytische Behandlung durchgeführt. Bei dieser thermolytischen Behandlung werden aus der Zellmasse 2 unterschiedliche Fettsäurefraktionen entfernt. Die Fettsäurefraktion 1 enthält Fettsäuren mit einer Kettenlänge von vorwiegend 4 bis 10 Kohlenstoffatomen, die mittlere Kettenlänge beträgt 6–8 C-Atome. Diese Fraktion wird mit einer beliebigen Menge des bei der Abtrennung der Biomasse anfallenden Prozeßwassers zu mindestens 40, vorzugsweise 50–70 % in den Fermentor zurückgeführt und steht damit wieder zum direkten Einbau in die Biomasse zur Verfügung. Die Fettsäurefraktion 2 enthält vorwiegend Fettsäuren mit 14–19 C-Atomen, die mittlere Kettenlänge beträgt 17–18 C-Atome. Diese Fraktion wird in dem in der Hefesuspension vorhandenen nicht utilisierten Erdöldestillatanteil gelöst und bei deren Abtrennung aus der Hefesuspension entfernt. Die selektive thermolytische Behandlung der Biomasse muß deshalb in jedem Falle vor der Abtrennung der Erdöldestillatphase erfolgen. Bei Aufarbeitung dieses nicht utilisierten Erdöldestillatanteils durch bekannte Waschverfahren (WP 99288) dürfen die verwendeten Waschmedien nur in den Fermentor

zurückgeführt werden, wenn die mittlere Kettenlänge der darin enthaltenen Fettsäuren bzw. fettsauren Salze nicht größer als 14C-Atome ist.

Bei Anwendung der erfindungsgemäßen Lösung erfolgt zunächst bei der Züchtung eine verminderte Anhäufung von Lipiden in den Hefezellen. In Kombination mit den bei der 2stufigen thermolytischen Behandlung der Biomasse ablaufenden Umlagerungsvorgängen und der Entfernung der Fettsäurefraktion 2 erfolgt eine partielle Freisetzung der innerhalb der Zelllipidfraktion gebundenen Kohlenwasserstoffe. Diese bleiben zwar in der Zelle, setzen aber dem Lösungsmittelangriff bei der nachfolgenden Extraktion der Kohlenwasserstoffe einen wesentlich geringeren Widerstand entgegen, so daß der technisch/ technologische Aufwand für diese Extraktion erheblich gesenkt werden kann.

Ausführungsbeispiele

Beispiel 1

Bei der industriellen Produktion von Futterhefe auf Erdöldestillationsbasis erfolgt die Biomassezüchtung in einem 2200 m³-Tauchstrahlfermentor unter den Bedingungen:

Fermentationstemperatur	32°C
Durchflußrate	0,2 h ⁻¹
Erdöldestillatzuführung	35 t/h

Die Zuführung von Stickstoff geschieht durch Dosierung einer 20%igen NH₃-Lösung, der Phosphorbedarf wird durch Zuführung einer 60%igen Phosphorsäure gedeckt. Die Dosierung beider Lösungen erfolgt in jeweils leichtem, aber unterschiedlichem Überschuß, so daß sich im Fermentationsmedium folgende Konzentrationen einstellen:

P	50 ± 5 ppm
N	150 ± 10 ppm

Das N/P-Verhältnis beträgt damit zwischen 2,55 und 3,56. Nach Abtrennung eines Teils der Wasserphase durch einfache Dekantation wird die Biomassesuspension zunächst auf 60° ± 3 K erwärmt und für 15 min in einem isolierten Behälter auf dieser Temperatur gehalten. Anschließend erfolgt innerhalb von 5 Minuten die Aufheizung auf 82°C ± 2 K. Danach wird in Zentrifugalseparatoren zunächst die Erdöldestillatphase und anschließend die Wasserphase bis auf einen Rest, der das 6fache der Hefetrockenmasse beträgt, abgetrennt. Die abgetrennte Erdöldestillatphase enthält in einer Konzentration von 4,2 g/l eine Fettsäurefraktion, deren mittlere Kettenlänge 17 C-Atome beträgt. Das abgetrennte Prozeßwasser enthält zu 0,6 g/l eine weitere Fettsäurefraktion mit einer mittleren Kettenlänge von 7 C-Atomen. Von den anfallenden 65 t/h wäßrige Phase werden 40 t/h in den Fermentor zurückgeführt.

Die in einem Zerstäubungstrockner gewonnene Trockenhefe wird in einer Drehscheibenextraktionsanlage mit einem Lösungsmittelgemisch, das 80% Hexan und 17% Ethanol enthält, im Gegenstrom extrahiert und weist nach Durchlaufen von 6 Extraktoren von 20 m Höhe einen Rest-KW-Gehalt von kleiner 0,3% auf.

Beispiel 2

In derselben Futterhefeanlage wie in Beispiel 1 werden bei ansonsten gleichen Fermentationsbedingungen folgende Pegel für Phosphor und Stickstoff im Fermentationsmedium eingehalten:

P	35 ± 5 ppm
N	175 ± 10 ppm

Das N/P-Verhältnis beträgt damit 4,12–6,17.

Nach derselben Dekantation wie in Beispiel 1 erfolgt die Erwärmung der Biomassesuspension auf 68°C ± 3 K, wobei diese Temperatur für 10 min gehalten wird. Innerhalb von 3 Minuten wird dann auf 83°C ± 1 K erwärmt und analog Beispiel 1 die Erdöldestillatphase, danach die Wasserphase bis auf das 4fache der Hefetrockenmasse abgetrennt. Im abgetrennten Erdöldestillat ist eine Fettsäurefraktion mit einer mittleren Kettenlänge von 18 C-Atomen zu 5,3 g/l enthalten. Die Fettsäurefraktion im Prozeßwasser weist eine mittlere Kettenlänge von 8 C-Atomen auf (Konzentration der Fraktion 0,55 g/l). Von den anfallenden 72 t/h wäßrige Phase werden 45 t/h in den Fermentor zurückgeführt.

Die danach im Zerstäubungstrockner gewonnene Trockenhefe wird analog Beispiel 1 extrahiert. Die erreichten Rest-KW-Gehalte liegen dabei stabil unter 0,25%.

Wesentliche Ergebnisse aus den Beispielen 1 (Spalte 1) und 2 (Spalte 2) sind in der folgenden Tabelle den analogen Daten, die mit einem bekannten Verfahren in derselben Anlage erreicht wurden, gegenübergestellt (Spalte 3).

	Beispiel 1	Beispiel 2	bekannte Verfahren
Kohlenwasserstoffgehalt der Trockenbiomasse vor der Extraktion (%)	5,1	5,2	4,6
Anzahl der in Reihe geschalteten Extraktoren (Höhe 20 m)	6	6	9
Höchster gefundener KW-Wert nach der Extraktion in jeweils 2wöchiger Periode (%)	0,27	0,22	0,38
Mittlerer KW-Wert (%)	0,24	0,19	0,32