

PATENTSCHRIFT 142719

Ausschließungspatent

Erteilt gemäß § 5 Absatz 1 des Änderungsgesetzes zum Patentgesetz

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

		Int. Cl. ³			
(11)	142 719	(44)	09.07.80	3(51)	C 12 N 1/02
(21)	AP C 12 B / 212 004	(22)	04.04.79		
(31)	P 28 15 030.3	(32)	07.04.78	(33)	DE

(71) siehe (73)

(72) Mitzlaff, Michael, Dr.; Schlingmann, Merten, Dr.; Faust, Uwe, Dr.,
DE

(73) Hoechst AG, Frankfurt/Main, DE

(74) Internationales Patentbüro Berlin, 1020 Berlin, Wallstraße 23/24

(54) Verfahren zur Anreicherung von Biomasse

(57) Biomasse wird durch Koagulation des Farbstoffes einer Fermentationssuspension angereichert. Die Fermentationssuspension wird bei 20 bis 100 °C der Wirkung eines elektrischen Stromes ausgesetzt. Die Stromdichten betragen bis zu 10mA/cm² und die Frequenz soll zwischen 0 und 200 Hz liegen. Die Verwendung von Gleichstrom ist besonders vorteilhaft. Das Verfahren kann diskontinuierlich in einer Trogzelle oder kontinuierlich in einer Durchflußzelle durchgeführt werden.

.....
Verfahren zur Anreicherung von Biomasse

Aerobe Fermentationsprozesse werden in steigendem Maße industriell herangezogen, um organische Rohstoffe wie zucker- und stärkehaltige Medien, n-Paraffine, Methanol und Aethanol in hochwertige biologische Produkte wie Enzyme, Metaboliten oder Einzellerproteine umzuwandeln [vgl. z.B. DE-OS 1.442.051, DE-OS 24 23 766, DE-OS 24 07 740, SU 498.940, JA 50-6778_7].

Diesen mikrobiologischen Prozessen ist gemeinsam, daß als Fermentationsprodukt zunächst eine wäßrige Suspension mit einem Biomassegehalt von bis zu 5 % Feststoff anfällt. Die Produktion der Biomasse erfolgt in begasten Fermentationsbehältern, in denen im Chargenbetrieb oder kontinuierlich die für das Wachstum von Mikroorganismen günstigsten Bedingungen wie Temperatur, pH-Wert, Ionenstärke, Substratkonzentration, Sauerstoffpartialdruck und Turbulenz eingestellt werden können.

Zur Aufarbeitung der Fermentationsmasse und Gewinnung der gewünschten Produkte ist als erster Schritt häufig eine Trennung der Feststoffe vom wäßrigen Fermentationsmedium notwendig. Man verwendet Absetzverfahren oder Separatoren

Im speziellen sind auch Verfahren bekannt, bei denen durch Einwirkung eines elektrischen Stroms die Entfernung von Schmutzstoffen aus wäßrigen Lösungen bewirkt wird. So können organische Schmutzstoffe enthaltende Abwässer durch Oxydation mit anodisch gebildetem Sauerstoff an großflächigen Elektroden gereinigt werden. Hierbei werden die Schmutzstoffe chemisch verändert (FR-PS 2.316.196).

Außerdem sind verschiedene Verfahrensvarianten bekannt, bei denen durch Elektrolyse gebildete feine Gasbläschen nach einer fakultativen Vorflockung der suspendierten Partikel durch pH-Wert-Änderung, Zugabe mehrwertiger Kationen, mono- oder polymere Flockungsmittel sich mit diesen Partikeln verbinden und diese flotieren. Bei der Elektrolyse ist zur Erzeugung der Gasblasen jedoch ein entsprechend hoher Energieaufwand erforderlich [J 5.111.528-0; DE-OS 25 00 455; DE-OS 25 45 875; DE-OS 25 45 909; Food Technology, Febr. 1974, S. 18]. Hierdurch wird in jedem Falle eine Flotation bewirkt, die zu großvolumigen, schlecht unter Druck förderbaren Schäumen führt.

Ferner lassen sich hochverdünnte Partikelsuspensionen klären, indem man sie durch ein elektrisches Feld einer Gleichspannung von 100 - 500 V leitet und die Einzelpartikel zur Wanderung in diesem Feld anregt. Das Verfahren ist nur bei wäßrigen Lösungen mit sehr geringen Feststoffgehalten (50 mg/l) wirkungsvoll (s. Pat. SU 573-713).

Zur Abwasserreinigung von Nahrungsmittelabwässern ist unter der Bezeichnung "Elektrokoagulation" die Flockung und Flotation infolge von Gasentwicklung und Kationenbildung durch Einfluß von elektrischem Strom auf das Abwasser bekannt (s. Food Technology, Febr. 1974, S. 18). Dieser Vorgang erfordert jedoch den gleichen Zeitaufwand wie eine Prozeßführung mit chemischen Flockungsmitteln und stellt damit keinen besonderen Vorteil dar.

Konzentration der jeweiligen Fermentationssuspension abhängig. Es ist möglich, die erfindungsgemäße Anreicherung sowohl kontinuierlich als auch diskontinuierlich durchzuführen. Eine für die diskontinuierliche Durchführung geeignete Reaktionsapparatur stellt beispielsweise eine Trogzelle dar (vgl. Figur 1). Bei dieser ist der eigentliche Zellenbehälter (1) mit einem dichtschießenden Deckel (2) versehen, durch den die Stromzuleitung für die Elektroden (3) und (4) zugeführt werden und in dem sich die Öffnungen (5) für den Zulauf der Suspension, (6) für die Ableitung von Gasen und (11) für ein Thermometer (9) befinden. Die Öffnung für die Ableitung von Gasen kann mit einem Rückflußkühler versehen sein (nicht dargestellt), in dem verdampfende Anteile der Suspension kondensiert werden können. Die Trogzelle ist ummantelt und kann durch die Ein- (7) und Ausgangsstutzen (8) an einen Heiz- oder Kühlflüssigkeitskreislauf angeschlossen werden. Die Temperatur der Suspension wird über ein Thermometer (9) oder einen Thermofühler überwacht. Die zwei Elektroden (3 = Anode) und (4 = Kathode) sind in einem Abstand von 0,5 bis 50 mm, vorzugsweise von 1 bis 15 mm, zueinander angeordnet.

Als Elektrodenmaterial werden beispielsweise Netze oder Bleche aus Palladium oder Platin sowie edelmetallbeschichtete Metallelektroden, vorzugsweise Titanelektroden, mischoxidbeschichtete Metallelektroden (als Anoden), vorzugsweise Titananoden, oder auch geschlitzte und ungeschlitzte Platten aus Graphit eingesetzt. Die vertikale Anordnung der Elektroden kann auch durch eine horizontale ersetzt werden. Ebenso ist die Anordnung mehrerer Elektrodenpaare möglich, wie sie sich vor allem in der blockartigen Kombination von gewinkelten oder nicht gewinkelten Kapillarspaltelektroden mit und ohne Vibration der Elektroden bewährt hat. Während des Stromdurchleitens kann die Suspension durchmischt werden,

vorzugsweise durch einen Rührer, z.B. Magnetrührer (10), oder durch Umpumpen, vor allem bei den blockartigen Kombinationen. Wird das Verfahren kontinuierlich betrieben, so ist in dem Deckel (2) des Elektrolysegefäßes (1) eine weitere Öffnung zum kontinuierlichen Umpumpen der Suspension vorgesehen.

Aus der im Kreislauf umgepumpten Suspension wird jeweils ein Teil der Suspension zur Weiterverarbeitung abgetrennt und jeweils entsprechend frische Suspension zugegeben.

Eine andere, insbesondere für kontinuierliche Verfahrensweise geeignete, Reaktionsapparatur stellt die Durchflußzelle dar. Besonders geeignet sind Plattenzellen (vgl. Figur 2). In einem Zellkörper aus Kunststoff oder Stahl mit rechteckigem Querschnitt (1) befinden sich in der einfachsten Ausführung zwei plattenförmige Elektroden, die Anode (3) und die Kathode (4) im Abstand von 1 bis 60 mm. Die Suspension wird entsprechend temperiert durch den Einlaß (5) zugeführt und am Auslaß (12) abgenommen. Dabei ist neben dem einmaligen Durchleiten der Suspension auch mehrfach wiederholtes Durchleiten möglich.

Eine andere geeignete Durchflußzelle ist die Rohrzelle (vgl. Figur 3). In einem Zellkörper aus Kunststoff oder Stahl (1) befinden sich zwei konzentrische Elektroden, die Anode (3) und die Kathode (4), die einen Abstand von 1 bis 60 mm voneinander besitzen. Die Suspension wird entsprechend temperiert durch den Einlaß (5) zugeführt und am Auslaß (12) abgenommen. Dabei ist neben dem einmaligen Durchleiten auch mehrfaches Durchleiten der Suspension möglich.

Das Verfahren wird normalerweise bei Normaldruck durchgeführt. Es kann auch bei erhöhtem Druck betrieben werden.

Unter Biomasse ist die Masse von Mikroorganismen zu verstehen, welche bei Fermentationsprozessen als aus Einzelpartikeln bestehender Feststoff in einer Fermentationslösung enthalten ist.

Üblicherweise werden als Mikroorganismen Bakterien, Hefen und Pilze verwendet. Beispiele für solche Mikroorganismen sind Methanol verwertende Bakterien der Gattung *Methylomonas*, z.B. *Methylomonas clara* ATCC 31 226, Hefen wie *Candida lipolytica* ATCC 20.383, die durch Züchtung auf n-Paraffinen in Gegenwart eines wäßrigen Nährmediums erhalten werden können, oder Pilze, wie sie bei der bekannten Herstellung von Antibiotika allgemein verwendet werden, wie z.B. *Penicillium chrysogenum*.

10

Die Erfindung soll durch die folgenden Beispiele erläutert werden, ohne sie jedoch einzuengen:

Beispiel 1:

Methylomonas clara ATCC 31266 wurde in einer Nährlösung, enthaltend Methanol als Kohlenstoffquelle, Ammoniak als Stickstoffquelle, Phosphat sowie Eisen-, Magnesiumsalze und
5 andere übliche Spurenelemente unter aeroben Bedingungen gezüchtet. 500 ml einer so erzeugten Bakteriensuspension mit einem Feststoffgehalt von 1,1 Gew.-% wurden in eine Trogzelle (s. Figur 1) gefüllt. In diese Suspension tauchen
10 zwei konzentrisch angeordnete Platinnetzzyylinder mit 225 Maschen/cm² mit 24 und 36 mm Durchmesser und 95 mm Höhe. Die äußere Elektrode dient als Anode. Die Temperatur wird während der Elektrolyse auf 35°C gehalten. Nach Einschalten des Gleichstromes beträgt im Versuch 1 die Stromstärke
15 0,1 A. Das bedeutet eine mittlere Stromdichte, bezogen auf die Anodenfläche, von 0,93 mA/cm².

Nach 15 Minuten wird der Strom abgeschaltet. Die errechnete mittlere Zellspannung beträgt 1,8 Volt. Der Zellinhalt wird dann in ein Sedimentationsgefäß gefüllt.

20

Der klare Überstand wird dekantiert und das Sediment der weiteren Verarbeitung zugeführt. In gleicher Weise wie im Versuch 1 wird der Versuch 2 bis 5 durchgeführt. Bei den Versuchen 3 bis 5 wird jedoch anstelle von Gleichstrom
25 Wechselstrom mit Frequenzen von 20 Hz (Versuch 3), 200 Hz (Versuch 4) und 2000 Hz (Versuch 5) verwendet. Die entsprechenden Strom- und Spannungswerte sind dann Angaben des Effektivwertes. In Tabelle 1 sind die Ergebnisse der Versuche einem entsprechenden Blindversuch gegenübergestellt.
30 Bei den Versuchen 3 bis 5 sind die Effektivwerte des Stromes und der Spannung angegeben.

Tabelle 1

Versuch Nr.	Strom [A]	Stromdichte [mA/cm ²]	Spannung [V]	Sedimentvolumen [ml] nach		
				30'	60'	90'
5 1	0,1	0,93	1,8	nicht meßbar	50 ml	50 ml
2	0,01	0,093	1,6	nicht meßbar	nicht meßbar	45 ml
10 3 ^{a)}	0,18 ^{b)}	1,67 ^{b)}	0,5 ^{b)}	nicht meßbar	45 ml	45 ml
4 ^{c)}	0,3 ^{b)}	2,79 ^{b)}	0,5 ^{b)}	nicht meßbar	nicht meßbar	40 ml
5 ^{d)}	0,18 ^{b)}	1,67 ^{b)}	0,5 ^{b)}	nicht meßbar	nicht meßbar	40 ml
15 Kontrolle	0	0	0	nicht meßbar	nicht meßbar	nicht meßbar

a) Frequenz 20 Hz b) Effektivwert c) Frequenz 200 Hz
d) Frequenz 2000 Hz

20

Man erkennt deutlich die gute bis sehr gute Sedimentation der elektrisch behandelten Proben im Vergleich zur nicht behandelten Probe.

25 Beispiel 2:

Ein Kohlenwasserstoffe-verwertender Stamm der Hefe *Candida lipolytica* ATCC 20.383 wurde auf n-Paraffinen in Gegenwart eines wäßrigen Nährmediums und eines Sauerstoff-enhalten-den Gases kultiviert. 500 ml dieser Suspension (Feststoff-
30 gehalt: 2 Gew.-%) wurden in eine Trogzelle gefüllt (s. Figur 1) und wie in Beispiel 1 beschrieben behandelt.

Der Überstand wurde dekantiert, das Sediment getrocknet und gewogen. Das Trockengewicht der gewonnenen Biomasse bezogen auf die in der Suspension enthaltende Zellmasse ist ein Maß
35 für die gute Flockulierung.

Tabelle 2 zeigt die Anteile der gewonnenen Biomasse für 5 Versuche in Abhängigkeit von Stromstärke, Spannung, Stromdichte und Zeit.

Tabelle 2

Versuch Nr.	Strom [A]	Stromdichte [mA/cm ²]	Spannung [V]	Zeit [min]	Biomasse	
					eingesetzt [g]	gewonnen [g]
1	0,01	0,093	1,5	10	10,0	9,0
2	0,01	0,093	1,6	15	10,0	9,4
3	0,05	0,465	1,7	15	10,0	9,6
4	0,1	0,93	1,8	15	10,0	9,8
5	0,1	0,93	1,8	30	10,0	9,8
Kontrolle	0	-	0	-	10,0	5,0

Man erkennt den deutlich erhöhten Anteil der gewonnenen Biomasse der elektrisch behandelten Proben im Vergleich zur nicht behandelten Probe.

Beispiel 3:

Penicillium chrysogenum ATCC 10.238 würde in einer Nährlösung, enthaltend Lactose, Cornsteep flüssig, Phosphat, Carbonat und Magnesiumsulfat, nach üblichen Methoden aerob gezüchtet.

Unter Verwendung der in Beispiel 1, Versuch 1, beschriebenen Elektroden wird Gleichstrom für eine bestimmte Zeit angelegt und die Filtrierbarkeit der Suspension durch Messung des Filtratvolumens/Zeit gemessen.

Versuch 1:

500 ml einer Mycelsuspension mit 10 Gew.-% Feststoff werden für 15 Minuten mit 0,005 A bei 20°C elektrolysiert. Anschließend filtrierte man die Suspension über eine Nutsche (Durch-

messer 11 cm, Papier, Vakuum 15 Torr) und mißt das Volumen des Filtrates nach 1 Minute.

Die Ergebnisse der Versuche 1 - 5 von Beispiel 3 sind in Tabelle 3 zusammengefaßt und einem entsprechenden Blindversuch gegenübergestellt.

10 Tabelle 3

Versuch Nr.	Strom [<u>A</u>]	Stromdichte [<u>mA/cm²</u>]	Spannung [<u>V</u>]	Zeit [<u>min</u>]	Filtratvolumen [<u>ml/min</u>]
15 1	0,005	0,0465	1,4	15	5
2	0,01	0,093	1,5	15	30
20 3	0,05	0,465	1,6	15	85
4	0,1	0,93	1,7	15	90
25 5	0,1	0,93	1,7	10	90
Kontrolle	0	0	0		3

Man erkennt deutlich das größere Filtratvolumen der elektrisch behandelten Proben im Vergleich zur nicht behandelten Probe.

Hierzu 2 Seiten Zeichnungen

Verfahren zur Anreicherung von Biomasse

PATENTANSPRÜCHE

1. Verfahren zur Anreicherung von Biomasse durch Koagulation des Feststoffes einer Fermentationssuspension unter Einwirkung von elektrischem Strom, dadurch gekennzeichnet, daß man die Suspension bei 20° - 100°C der Wirkung eines elektrischen Stromes bis zu Stromdichten von 10 mA/cm² und einer Frequenz von 0 bis 2000Hz, vorzugsweise 0 bis 50 Hz, insbesondere 0 Hz ([≙] Gleichstrom) aussetzt.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man es diskontinuierlich - vorzugsweise unter Rühren oder Umpumpen der Suspension - in einer Trogzelle durchführt.
3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man es kontinuierlich in einer Durchflußzelle durchführt.

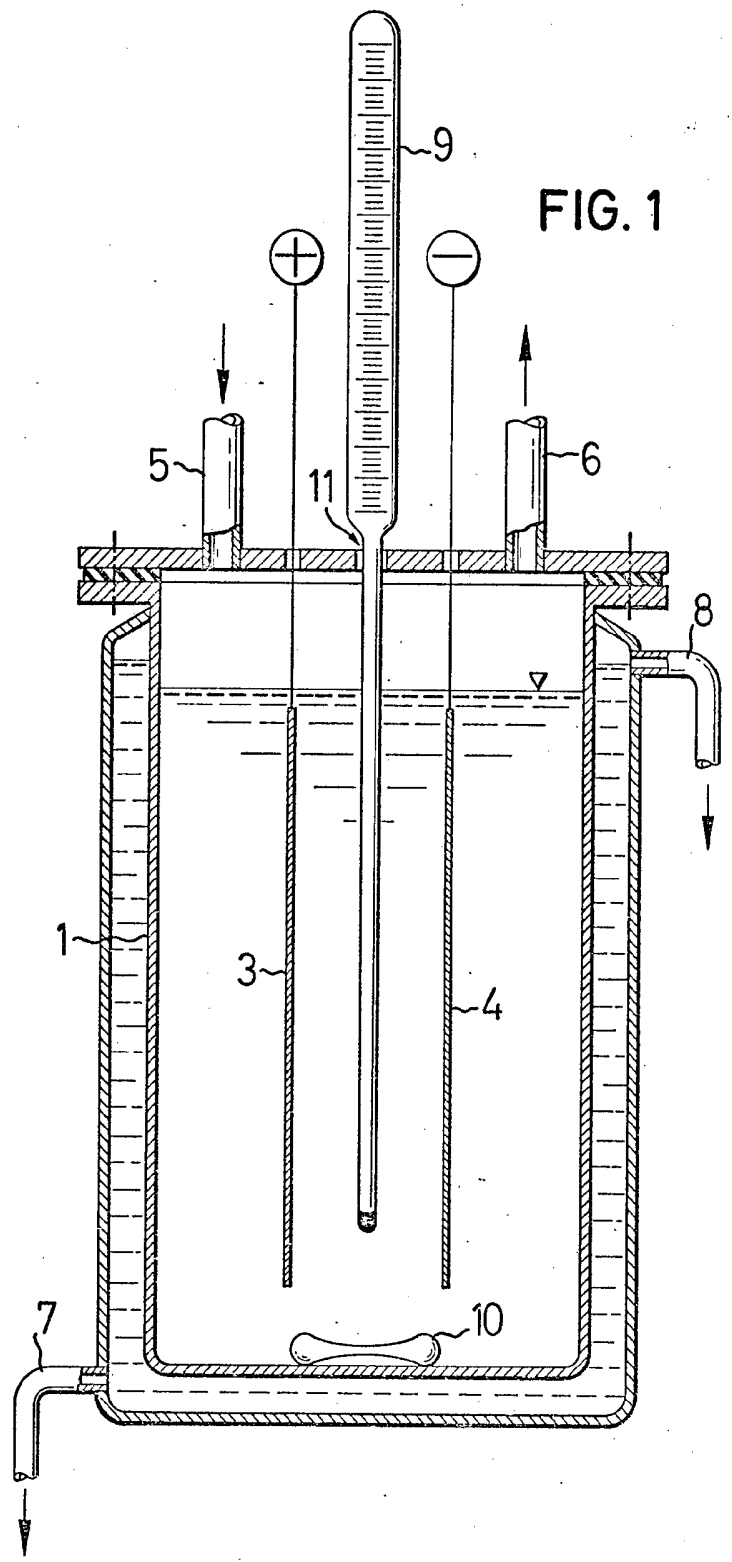


FIG. 1

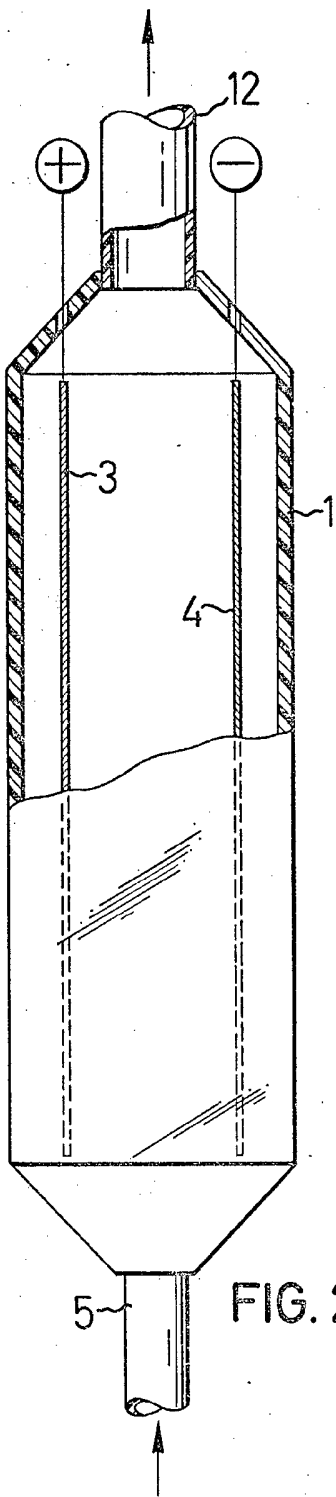


FIG. 2

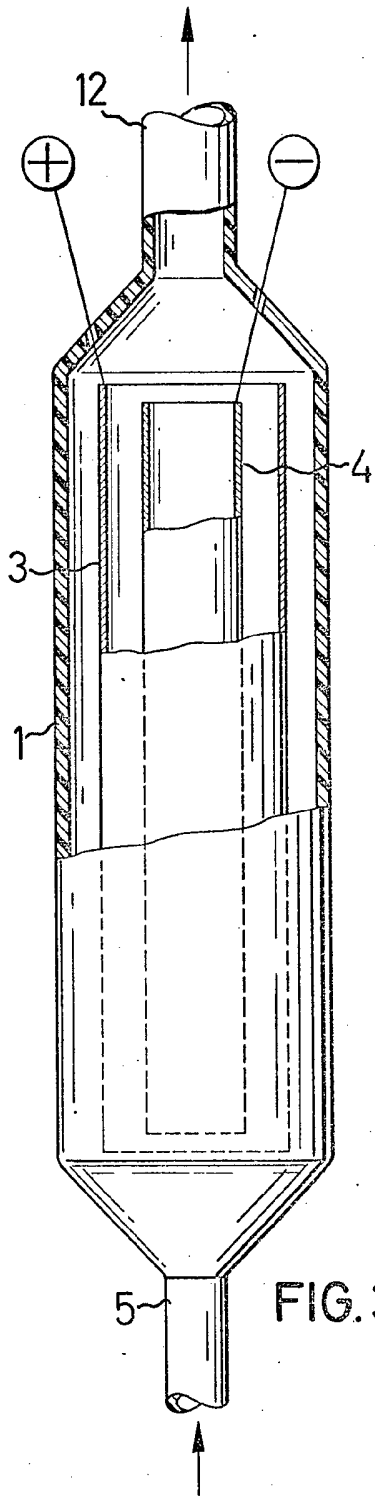


FIG. 3