Integrierte Produktaufarbeitung mittels Elektrodialyse bei der mikrobiellen Produktion organischer Säuren*

Jörg von Eysmondt und Christian Wandrey**

Biotechnologische Verfahren zur Produktion von organischen Säuren (z. B. Citronen-, Milch- oder Essigsäure) erreichen infolge einer meist vorhandenen Produktinhibierung nicht die von chemischen Prozessen gewohnten Produktkonzentrationen und volumenbezogenen Produktivitäten. Zudem muß das Produkt mit meist hohem Energie- und Chemikalienaufwand aus verdünnten, wäßrigen Lösungen isoliert werden, wobei zusätzliche Entsorgungsprobleme entstehen. Diese Nachteile können durch den Einsatz integrierter Aufarbeitungsmethoden weitgehend beseitigt werden, da das hemmende Produkt hierbei kontinuierlich aus der Fermentationslösung abgeführt werden kann.

Die mikrobielle Produktion von Essigsäure mit *Acetogenium kivui* [1, 2], einem thermophilen, anaeroben Bakterium, das in hoher Ausbeute Glucose ($C_6H_{12}O_6$) direkt zu Essigsäure (CH_3COOH) umsetzt, wurde als Modellsystem untersucht. Essigsäure besitzt als Industriechemikalie weitreichende Bedeutung (Fasern, Lacke, Lösungsmittel etc.), wird aber derzeit überwiegend auf chemischem Wege hergestellt. Die Weltjahresproduktion 1981 betrug 1,7 Mio. t [3]. Als gravierender Nachteil des mikrobiellen Verfahrens ist die Tatsache anzusehen, daß infolge einer vorhandenen Produktinhibierung durch Essigsäure nur geringe Produktivitäten (15 bis 30 g/l d) und Produktkonzentrationen (20 bis 40 g/l) erzielbar sind.

Man beobachtet eine starke Abnahme der Produktivität in Abhängigkeit von der Acetat-Konzentration im Bioreaktor. Optimales mikrobielles Wachstum erfolgt zudem nur im neutralen pH-Bereich (pH 6 bis 7), was einen hohen Laugeverbrauch bewirkt, da die gebildete Säure über eine pH-Regelung ständig neutralisiert werden muß. Bei der Freisetzung der Essigsäure aus dem Acetat-Salz mit Hilfe von starken Säuren (z. B. Schwefelsäure) entsteht zusätzlich noch ein Abfallsalz (Natriumsulfat oder Gips), das entsorgt werden muß.

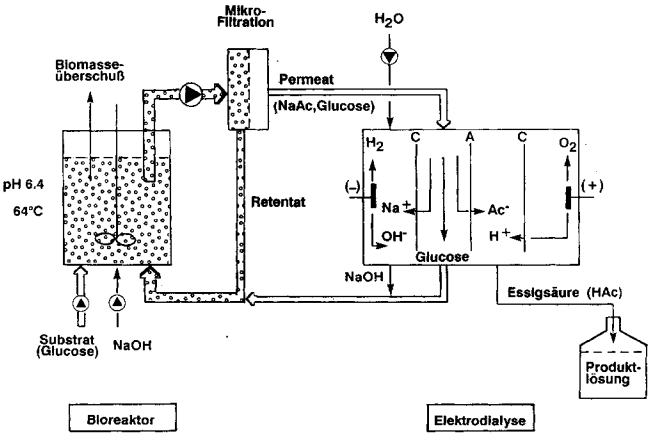

Abb. 1. Schematische Darstellung der Versuchsapparatur und der Stofftransportprozesse.

* Posterbeitrag auf dem Jahrestreffen der Verfahrens-Ingenieure, 27. bis 29. Sept. 1989 in Berlin.

** Dipl.-Chem. *J. von Eysmondt* und Prof. Dr. *Ch. Wandrey*, Institut für Biotechnologie 2 der Kernforschungsanlage Jülich GmbH, 5170 Jülich.

1 Methode

Die Elektrodialyse [4], ein elektrochemisches Membranverfahren zur Abtrennung ionischer von nicht-ionischen Komponenten, erwies sich als Methode der Wahl für das vorliegende Aufarbeitungsproblem. Da Essigsäure infolge der Neutralisierungsreaktion bei pH 6,4 als Acetat-Salz vorlag, gelang eine selektive Trennung des gebildeten Produkts von nicht umgesetzter Glucose. Durch schonende, kontinuierliche Entfernung und externe Aufkonzentrierung des hemmenden Produkts konnten die beiden Zielgrößen Produktivität und Produktkonzentration entkoppelt werden.

2 Versuchsaufbau

Abb. 1 zeigt neben dem Bioreaktor den schematischen Aufbau des Elektrodialyse-Membranstapels mit den ionenselektiven Anionen- und Kationenaustauscher-Membranen (Bezeichnung A und C). Durch Einbeziehung der Elektrodenprozesse (Kopplung von Elektrodialyse und Elektrolyse!) werden abgetrennte Acetat-Ionen in freie Essigsäure überführt, wohingegen an der Kathode Natronlauge gebildet wird, die wiederum im Prozeß zur Neutralisation eingesetzt werden kann.

Die sterile Nährlösung mit einer Glucose-Konzentration von durchschnittlich 120 g/l wurde kontinuierlich über eine selbstregelnde Dosiereinrichtung in den Versuchs-Bioreaktor von 2,5 l Volumen dosiert und zu Essigsäure umgesetzt. Ein Thermostat und ein pH-Regler hielten konstante Temperatur- und pH-Wertbedingungen (64 °C, pH 6,4) aufrecht. Über eine Cross-flow-Mikrofiltrationseinheit wurde dem Fermenter kontinuierlich ein Permeatstrom entnommen und in den Diluat-Kreislauf der Elektrodialyse gepumpt. Natriumacetat wurde dort abgetrennt, während unverbrauchte Glucose sowie intern produzierte Natronlauge in den Reaktor zurückgeführt werden konnten. Zur Datenerfassung und Prozeßregelung kam ein Personal Computer mit entsprechendem Interface und der am Institut entwickelten Software (MEAS) zum Einsatz. Die Membranfläche des Elektrodialyse-Laborstacks betrug 250 cm^2, wobei drei bzw. zwölf Elektrodialyse-Zellpaare eingesetzt wurden. Abb. 2 zeigt die fotografische Gesamtansicht der Versuchsanlage.

Abb. 3 zeigt eine REM-Aufnahme der Bakterien vom Typ *Acetogenium kivui,* die ursprünglich im Kivu-See in Zentral-Afrika beheimatet und dort auch erstmalig entdeckt worden sind [2].

3 Diskussion und experimentelle Ergebnisse

Im beschriebenen Anwendungsbeispiel konnte während kontinuierlicher Fermentationen die Raum-Zeit-Ausbeute auf durchschnittlich

Abb. 2. Fotografische Ansicht der Versuchsanlage.

 © VCH Verlagsgesellschaft mbH, D-6940 Weinheim, 1990
0009-286X/90/0202-0134 $ 02.50/0

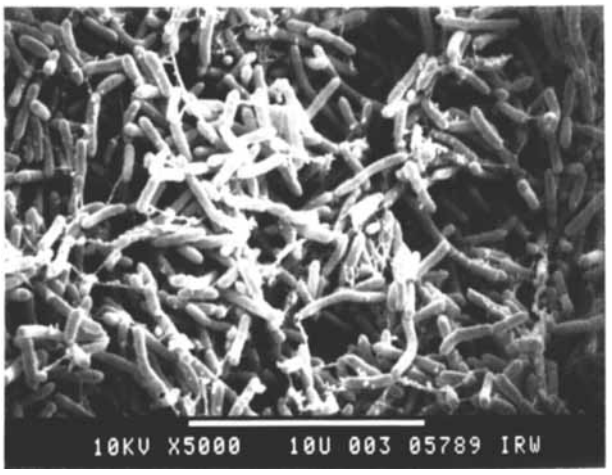

Abb. 3. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der *Acetogenium kivui*-Bakterien (5 000-fache Vergrößerung).

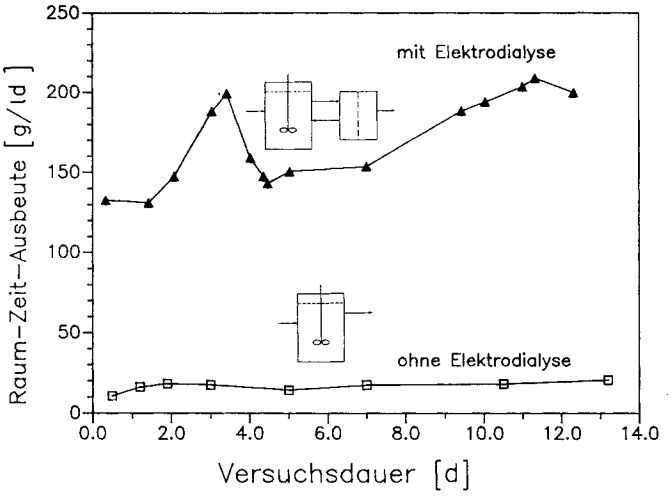

Abb. 4. Vergleich der erzielten Raum-Zeit-Ausbeuten während eines zweiwöchigen Dauerversuchs mit und ohne integrierte Aufarbeitung bei Verwendung von 12 Elektrodialyse-Zellpaaren.

180 g Essigsäure/l d) gesteigert werden (6-fache Produktivitätssteigerung, Abb. 4). Durch elektrodialytische Aufkonzentrierung des abgetrennten Produktes gelang es, Essigsäure-Konzentrationen von 120 g/l zu produzieren, was einer 3- bis 4fachen Steigerung gegenüber dem konventionellen Prozeß entspricht. Da das inhibierende Produkt kontinuierlich abgezogen wurde, konnten erstmalig Substrat-Konzentrationen bis 120 g Glucose/l umgesetzt werden gegenüber maximal 50 g/l im nicht integrierten System.

Durch Spurenelement-Optimierung des Nährmediums konnte ein rein mineralisches Medium (Glucose und anorganische Nährsalze) entwickelt werden, das billiger, einfacher handhabbar und für Bilanzierungen besser geeignet war als das ursprünglich eingesetzte Komplex-Medium.

Automatisierte Spülzyklen (Mikrofiltration) und Stromumpolungen (Elektrodialyse) erlaubten kontinuierliche, 4-wöchige Dauerversuche unter stabilen Betriebsbedingungen. Anhand von On-line-Leitfähigkeitsmessungen als indirekte Acetat-Bestimmungsmethode war im Fermenter und im Diluat eine einfache Prozeßkontrolle möglich. Bei Verwendung von einem Zellpaar konnten etwa 50 % der im Prozeß benötigten Natronlauge zur Neutralisation der gebildeten Essigsäure durch kathodische Bildung (Abb. 1) eingespart werden. Durch Rückführung dieser kathodisch gebildeten Lauge in den Diluat-Kreislauf gelang es, dort auftretende Kontaminationen durch Fremdorganismen zu vermeiden.

Bei Stromdichten von 4 bis 10 mA/cm^2 Membranfläche wurden Stromausbeuten zwischen 60 und 70 % (3 Zellpaare) bzw. 40 bis 50 % (12 Zellpaare) gemessen. Die geringere Stromausbeute bei Verwendung von 12 Zellpaaren ist offenbar auf die stärkere Entsalzung des Diluats zurückzuführen. Bedingt durch den so vergrößerten Konzentrationsgradienten zwischen Diluat und Konzentration (1: 50) führten Osmose-Effekte und Rückdiffusion zur Reduzierung der Stromausbeute.

Insgesamt gesehen erlaubt die Elektrodialyse durch die Aufhebung der Produkthemmung eine wesentliche Verbesserung des konventionellen Prozesses. Neben höheren Raum-Zeit-Ausbeuten, Produktkonzentrationen und Glucose-Umsätzen konnten auch Neutralisationschemikalien eingespart werden, was zu geringeren Umweltbelastungen durch meist nicht mehr verwertbare Neutralisationssalze (z. B. Gips) führt.

Das Potential der Elektrodialyse ist jedoch nicht nur auf dieses beispielhaft angeführte fermentative Verfahren beschränkt, sondern läßt sich sicherlich auf viele weitere Prozesse übertragen, bei denen niedermolekulare ionische Produkte gebildet werden [5].

Eingegangen am 12. Oktober 1989

Literatur

[1] *Klemps, R.; Schoberth, S. M.; Sahm, H.:* Appl. Microbiol. Biotechnol. *27* (1987) S. 229/234.

[2] *Leigh, J. A.; Mayer, F.; Wolfe, R. S.:* Arch. Microbiol. *129* (1981) S. 275/280.

[3] *Keim, W.; Behr, H.; Schmitt, G.:* Grundlagen der industriellen Chemie, Otto Salle Verlag, Frankfurt/M. 1986.

[4] *Strathmann, H.; Chmiel, H.:* Chem.-Ing.-Tech. *56* (1984) Nr. 3, S. 214/220.

[5] *Boyaval, P.; Corre, C.; Terre, S.:* Biotechnol. Letters *9* (1987) Nr. 9, S. 207/212.

Schlüsselworte: Integrierte Aufarbeitung, Elektrodialyse, organische Säuren, Fermentation, Essigsäure.