

Project brief

Thünen-Institut für Agrartechnologie

2021/07

Substitution von Hefeextrakt in industriell relevanten Bioprozessen (SubBioPro)

Anja Kuenz¹, Susan Krull¹, Victoria Hancock¹, Silvia Brock¹, Ulf Prüße¹

- **Komplexe Stickstoffquellen (z.B. Hefeextrakt) sind in industriellen Fermentationen ein wesentlicher Kostenfaktor; Kostensenkung soll durch Hydrolyse agrarischer Nebenprodukte erreicht werden.**
- **Nach Optimierung der Hydrolyse proteinreicher agrarischer Nebenprodukte konnten die Kosten der Stickstoffquelle auf rund 10 % gesenkt werden.**
- **Bei der Herstellung von L-Milchsäure und 1,3-Propandiol konnte der Hefe- und Fleischextrakt vollständig bzw. zum größten Teil ersetzt werden, ohne Verlust in der Produktkonzentration und der maximalen Produktivität.**

Hintergrund und Zielsetzung

Durch die Knappheit fossiler Erdölressourcen gewinnen biotechnologische Prozesse, in denen nachwachsende Rohstoffe in industriell wichtige Ausgangsstoffe umgewandelt werden können, an Bedeutung. In vielen biotechnologischen Prozessen wird Hefeextrakt als komplexe Nährstoffquelle verwendet. Er ist reich an Aminosäuren, Nukleotiden, Spurenelementen und Vitaminen, die für das Zellwachstum der Mikroorganismen benötigt werden. Hefeextrakt stellt aber einen hohen Kostenfaktor in industriellen Prozessen dar, so dass der Einsatz kostengünstiger, proteinreicher, agrarischer Nebenprodukte als Nährstoffquelle wünschenswert ist. Diese haben aber in der Regel geringere Produktkonzentrationen und Produktivitäten im Fermentationsprozess zur Folge, so dass Folgendes in diesem Projekt im Fokus stand:

- Optimierung der chemischen Hydrolyse der proteinreichen agrarischen Reststoffe.
- Aufklärung der Nährstoffanforderungen für die Fermentationsprozesse von L-Milchsäure, Erythrit, 1,3-Propandiol und Biomasseanzucht zur Produktion von 3-Hydroxypropionaldehyd.
- Ersatz der komplexen Nährstoffquelle durch proteinreiche agrarische Reststoffe.
- Technologie- und Wirtschaftlichkeitsbetrachtung für die Hydrolyse und die Bioprozesse.

Vorgehensweise

Für die Optimierung der Hydrolyse von den agrarischen Reststoffen Rapsextraktionsschrot und ProtiGrain® (DDGS) wurden Aufschlüsse zwischen 110 und 160 °C und zwischen 1 und 24 h durchgeführt. Zusätzlich wurde die Molarität der Schwefelsäure zwischen 0,1 und 3M variiert mit dem Ziel, möglichst viele freie Aminosäuren durch die Hydrolyse zu

erzeugen. Parallel wurden die Nährstoffanforderungen der eingesetzten Mikroorganismen untersucht und anschließend die komplexen Nährstoffe durch das Hydrolysat des agrarischen Reststoffs ersetzt und ggf. geringe Mengen an Vitaminen und Aminosäure zugesetzt.

Ergebnisse

Im Bereich der Optimierung der Hydrolyse der proteinreichen agrarischen Reststoffe zeigte sich, dass die Molarität der Schwefelsäure einen deutlichen Einfluss hat. Mit zunehmender Molarität der Säure steigt der freigesetzte Aminostickstoff. Um akzeptable Aminostickstoffkonzentrationen mit reduzierter Molarität der Schwefelsäure zu erreichen, wurde die Temperatur auf 160 °C angehoben. Durch diese Erhöhung um 50 °C war es möglich, mit 1M Schwefelsäure 81,3 % der Aminostickstoffkonzentration zu erzielen. Durch diese Optimierung belaufen sich die Kosten für das Hydrolysat Rapsextraktionsschrot auf 8,4-14 % d.h. im Schnitt rund 10 % der ursprünglichen Kosten des Hefeextraktes bei gleichbleibendem Stickstoffanteil.

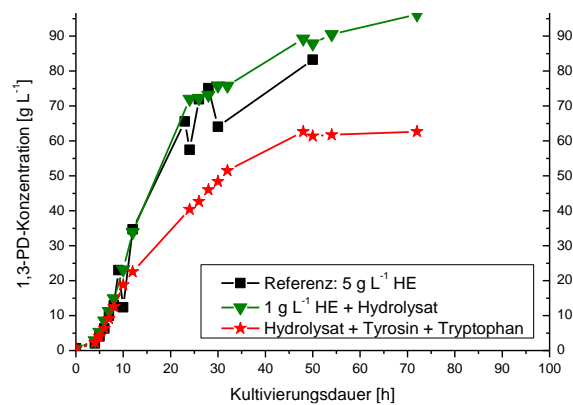


Quelle: Thünen-Institut/Anja Kuenz(2021).

Am Beispiel der biotechnologischen Produktionen von L-Milchsäure, Erythrit, 1,3-Propandiol und 3-Hydroxypropionaldehyd konnten die Nährstoffanforderungen an Aminosäuren, Nucleotiden, Spurenelementen und Vitaminen von den eingesetzten Mikroorganismen teilweise aufgeklärt werden. Auf dieser Basis wurde der Hefeextrakt bzw. Fleischextrakt durch das Rapsextraktionsschrot-Hydrolysat unter Zugabe essentieller Bestandteile für zwei von den vier untersuchten Prozessen erfolgreich ersetzt. Bei der Herstellung von Erythrit war der Ersatz der komplexen Bestandteile durch das Rapsextraktionsschrot-Hydrolysat nicht erfolgreich. Bei der Herstellung von 3-Hydroxypropionaldehyd ist die äußerst geringe Enzymaktivität bei der Biomasse, die auf Rapsextraktionsschrot-Hydrolysat angezogen wurde, problematisch.

Bei der Herstellung von 1,3-Propandiol hingegen erwies sich die Strategie als erfolgreich. Abbildung 1 zeigt einen Versuch, in dem der Anteil an Hefeextrakt von 5 auf 1 g L⁻¹ reduziert und Rapsextraktionsschrot-Hydrolysat (Aminostickstoffgehalt von 4 g L⁻¹ HE) zugegeben wurde. Die maximale Produktivität entsprach nahezu der maximalen Produktivität der Referenz mit 5 g L⁻¹ Hefeextrakt und nach 72 h Kultivierungsdauer wurden 96 g L⁻¹ 1,3-Propandiol hergestellt.

Abbildung 1: 1,3-Propandiolproduktion von *C. butyricum* bei teilweiser (grüne Dreiecke) und vollständiger Substitution von Hefeextrakt (HE) (rote Sterne) durch Reststoffhydrolysate

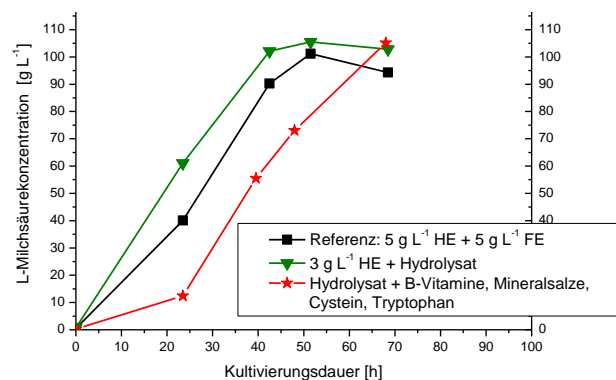


Quelle: Thünen-Institut/Anja Kuenz(2021).

Allerdings zeigt der Versuch auch, dass unter vollständigem Ersatz des Hefeextraktes (Abbildung 1: rote Kurve „Hydrolysat+Tyrosin+Tryptophan“) die Wachstumsphase nahezu der Wachstumsphase der Referenz entspricht, aber im weiteren Verlauf bisher unbekannte Substanzen die Produktivität einschränken und nach 48 h lediglich 63 g L⁻¹ 1,3-Propandiol erreicht wurden.

Auch bei der Herstellung von L-Milchsäure kann Hefeextrakt durch Hydrolysate ersetzt werden (Abbildung 2). Die lag-Phasen der drei Ansätze unterscheiden sich, aber nach ca. 24 h wurde mit einer vergleichbaren maximalen Produktivität, auch komplett ohne Zusatz an Hefeextrakt oder Fleischextrakt, die Glucose zu einer Endkonzentration von 105 g L⁻¹ L-Milchsäure umgesetzt.

Abbildung 2: L-Milchsäureproduktion von *L. casei* bei teilweiser (grüne Dreiecke) und vollständiger Substitution von Hefeextrakt (HE) und Fleischextrakt (FE) (rote Sterne) durch Reststoffhydrolysate



Quelle: Thünen-Institut/Anja Kuenz(2021).

Damit konnte gezeigt werden, dass bei der Herstellung von 1,3-Propandiol Hefeextrakt zum größten Teil (80 %) ersetzt werden konnte, bei gleichbleibender Produktkonzentration und maximaler Produktivität. Bei der L-Milchsäureherstellung wurden die teuren, komplexen Bestandteile an Hefeextrakt und Fleischextrakt vollständig durch kostengünstiges, chemisch aufgeschlossenes Rapsextraktionsschrot ersetzt, und unter Zugabe von B-Vitaminen, Mineralsalze, Cystein und Tryptophan wurde mit vergleichbarer maximaler Produktivität die gleiche Produktkonzentration an L-Milchsäure erzielt.

Weitere Informationen

Kontakt

¹ Thünen-Institut für Agrartechnologie
Anja.Kuenz@thuenen.de
Ulf.Pruesse@thuenen.de
www.thuenen.de/at

Laufzeit

5.2017-8.2020

Projekt-ID

1866

Veröffentlichungen

Krull S, Brock S, Prüße U, Kuenz A (2020) Hydrolyzed Agricultural Residues—Low-Cost Nutrient Sources for L-Lactic Acid Production. Fermentation 6, 97.

Brock S., Hancock V., Krull S., Kuenz A., Prüße U. (2020) Schlussbericht zum Vorhaben "Substitution von Hefeextrakt in industriell relevanten Bioprozessen (SubBioPro)"; Laufzeit des Vorhabens: 01.05.2017 bis 15.08.2020. Braunschweig: Thünen-Institut, 85 p

Gefördert durch

