

## Industrial Bioprocess Development, Current Status and Future Outlook: Riboflavin Production as a Case Study

Dr. L. Pasamontes\*

E-Mail: luis.pasamontes@roche.com

Dr. H.-P. Hohmann

Dr. J.B. Perkins

Roche Vitamins Ltd., Kaiseraugst Bldg. 203 CH-4070 Basel.

Vitamins are industrially important fine chemicals that are used in pharma and food applications and as a feed additive for livestock. For decades, chemical processes have been the major industrial route to produce vitamins. In recent years, however, some of these processes have been replaced by microbial fermentative processes that have greatly reduced production costs and increased the quality of the product. Some processes utilized classical mutated strains, whereas others use genetic engineered strains. However a key question remains: how to further improve production after exhausting standard mutagenesis and genetic engineering strain improvement techniques.

At Roche Vitamins Ltd., we have developed a riboflavin fermentation process utilizing the Gram-positive soil bacterium *Bacillus subtilis*. A combination of host mutations, genetically engineered biosynthetic genes, and fermentation technology was employed to generate this commercial process, which is in full scale production. We are currently developing an integrated technology platform including genomics, proteomic, metabolomics, and fluxomics to better understand the physiology of *B. subtilis* during fermentation, and with the goal of applying this information to improve riboflavin production. As a first step towards these „omic“ tools, we have developed a *Bacillus* oligonucleotide microarray based on Affymetrix technology to monitor global gene expression under any growth condition or genetic background. Discussion will center on the description of the research and development work resulting in the new riboflavin fermentation process and the use of above mentioned „omic“ tools to further improve the production strain.

## Reaktionstechnische Untersuchungen zur Produktion von L-Phenylalanin mit rekombinanten *Escherichia coli*

N. Ruffer\*

C. Wandrey

R. Takors

Forschungszentrum Jülich GmbH

## Fedbatch-Verfahren für die mikrobielle Herstellung von 1,3-Propandiol in *Klebsiella pneumoniae* und *Clostridium butyricum*

Dipl. Chemiker M. Hartlep

PD Dr. A.-P. Zeng\*

E-Mail: aze@GBF.de

Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH, D-38124 Braunschweig.

1,3-Propandiol (PD) ist ein wirtschaftlich interessanter Grundstoff, da er sich insbesondere für die Herstellung des neuen Polyesters Polypropylenterephthalat eignet. Biotechnologisch kann PD aus Glycerin hergestellt werden. Ziel dieser Arbeit sollte die Verbesserung von Fedbatch-Fermentationen zur Produktion von PD aus Glycerin sein. Für diese Untersuchungen wurden die zwei unterschiedlichen propandiolbildenden Mikroorganismen *Klebsiella pneumoniae* und *Clostridium butyricum* verwendet. In normalen Fedbatch-Fermentationen von *K. pneumoniae* hörte das Wachstum nach ungefähr 10 bis 12 Stunden abrupt auf. Des Weiteren zeigte der Verlauf des Kohlendioxids im Abgas an dieser Stelle ein Maximum und erreichte wenig später ein Minimum. Mit dem Wachstum stoppte auch die PD-Produktion. Erst nach einer Zeitspanne von etwa 10 Stunden stieg der Kohlendioxidwert wieder an, und es wurde weiteres PD gebildet. Diese Ergebnisse deuten auf einen metabolischen Engpass in der Verwertung von Glycerin hin. Mit Hilfe der Analyse des Proteinexpressionsmusters aus der 2D-Gelelektrophorese konnte gezeigt werden, dass ein für den Organismus wichtiges Enzym, welches in der späteren Phase exprimiert wird, eine zentrale Rolle bei dem Engpass spielt. Auf Basis dieser Erkenntnisse wurde ein Fedbatch-Verfahren zum verbesserten Wachstum und zur Erhöhung der PD-Produktion entwickelt.

Abbildung.  
1,3-Propandiol kann biotechnologisch aus Glycerin hergestellt werden.

