

Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 29 Absatz 1 des Patentgesetzes

ISSN 0433-6461

(11)

1602 32

Int.Cl.³ 3(51) C 12 Q 1/26
C 12 N 1/30

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

(21) WP C 12 Q/ 2223 71

(22) 03.07.80

(45) 18.05.83

- (71) WISSENSCHAFTLICH TECHNISCHES ZENTRUM TECHNISCHE MIKROBIOLOGIE DES MFC, LEIPZIG, DD
(72) FINDEISEN, EBERHART, DIPL.-PHYS.; JECHOREK, MIRKO, DIPL.-ING.; JESCHE, GERHARD; DD;
(73) siehe (72)
(74) INSTITUT FÜR TECHNISCHE MIKROBIOLOGIE (ITM), 1017 BERLIN, ALT-STRALAU 62

(54) VERFAHREN ZUR KONTROLLE UND REGELUNG AEROBER FERMENTATIONSPROZESSE

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Kontrolle und Regelung biochemischer Prozesse. Durch die Erfindung sollen insbesondere Fermentationsprozesse gesteuert werden, deren Kohlenstoffsubstrate bei entsprechenden Konzentrationen inhibierend wirken können. Durch die Anwendung der Erfindung ist es möglich, bei inhibierenden Kohlenstoffsubstraten die wachstumshemmenden Konzentrationsbereiche sicher zu vermeiden. Durch Regelung des Durchflusses durch den Fermentor und die Kohlenstoffsubstratzufuhr wird eine stabile und teilautomatisierte Fermentation bei gleichbleibender Produktivität erreicht. Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Regelung von diskontinuierlichen und kontinuierlichen Fermentationen aerober Mikroorganismen, wobei während der Züchtung die Gelöstsauerstoffkonzentration konstant gehalten wird und die Veränderung der Kohlenstoffsubstratkonzentration im Fermentationsmedium durch die photometrische Messung des physiologischen Zustandes des Atmungszyklus Cytochrom C erfaßt und rückgekoppelt wird oder während der Fermentationen die Kohlenstoffsubstratkonzentration im Fermentationsmedium konstant gehalten wird und die Gelöstsauerstoffkonzentration durch die photometrische Messung des physiologischen Zustandes des Atmungszyklus Cytochrom C erfaßt und rückgekoppelt wird. Gleichzeitig ist es möglich, den Durchfluß durch den Fermentor bei kontinuierlichen Fermentationsprozessen in Abhängigkeit von der Konzentration des gemessenen Cytochrom C zu regeln.

Titel

Verfahren zur Kontrolle und Regelung aerober Fermentationsprozesse

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Kontrolle und Regelung biochemischer Prozesse. Durch die Erfindung sollen insbesondere Fermentationsprozesse geregelt werden, deren Kohlenstoffsubstrate bei entsprechenden Konzentrationen inhibierend wirken können.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Es ist bekannt (E. Hofmann, Dynamische Biochemie, Bd. 2, Akademie-Verlag Berlin 1972), daß das Atmungsenzym Cytochrom C der Mikroorganismenzelle im sichtbaren Bereich charakteristische Absorptionsbanden besitzt, aus deren Intensität und Lage Rückschlüsse auf den physiologischen Zustand der Mikroorganismenkultur und deren Konzentration im Fermentationsmedium möglich sind (H. Brauer, Dissertation TH Leipzig 1975). Zur Gewinnung der Meßsignale wird das Fermentationsmedium photometrisch abgetastet und somit die den Cytochrom-Absorptionen proportionalen Meßsignale im α -Bereich bei 550 nm bis 565 nm oder im β -Bereich bei 520 nm bis 530 nm und vorzugsweise im γ -Bereich bei 400 nm bis 420 nm gebildet. Durch eine elektronische Verknüpfung der Absorptionssignale erhält man das den physiologischen Zustand der Mikroorganismenkultur abbildende Signal und ein der Cytochrom C-Konzentration im Fermentationsmedium proportionales Signal.

Bekannte Verfahren zur Regelung von Fermentationsprozessen (BRD OS 1442076, BRD OS 1953430, BRD AS 2217909, BRD OS 2457044, BRD OS 2546236) verwenden als Regelgrößen der Kohlenstoffsubstratkonzentration im Fermentationsmedium den pH-Wert, die Gelöstsauerstoffkonzentration oder die Sauerstoffkonzentration im Abgas des Fermentationsmediums. Der Nachteil dieser vorgeschlagenen Lösungen besteht darin, daß die Mikroorganismenkultur durch inhibierend wirkende Kohlenstoffsubstratkonzentrationen in ihrer Leistungsfähigkeit beeinträchtigt oder geschädigt werden kann.

Ziel der Erfindung

Die Erfindung stellt sich das Ziel der Kontrolle und Regelung aerober Fermentationsprozesse zur Erreichung eines teilautomatisierten Prozesses.

Darlegung des Wesens der Erfindung

5 Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Steuerung und Regelung von diskontinuierlichen und kontinuierlichen Fermentationsprozessen zu entwickeln, wobei es möglich ist, bei inhibierenden Kohlenstoffsubstraten die wachstumshemmenden Konzentrationsbereiche sicher zu vermeiden und bei nichtinhibierenden und inhibierenden Kohlenstoffsubtra-
10 ten soll durch die Verbindung der Kohlenstoffsubstratregelung mit einer Regelung des Durchflusses durch den Fermentor eine stabile und teilautomatisierte Fermentation bei gleichbleibender Produktivität erreicht werden.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß die aeroben Mikro-
15 organismen in einem Nährmedium gezüchtet werden, wobei während der Züchtung die Gelöstsauerstoffkonzentration konstant gehalten wird und die Veränderung der Kohlenstoffsubstratkonzentration im Fermentationsmedium durch die photometrische Cytochrom C-Messung erfaßt und rückgekoppelt wird. Dabei dient das den physiologischen Zustand der Mikroorganismen-
20 kultur abbildende Cytochrom C-Signal als Regelgröße der Kohlenstoffsubstratzufuhr.

Der Regler der Kohlenstoffsubstratdosiervorrichtung ist so einzustellen, daß die wachstumshemmende Kohlenstoffsubstratkonzentration nicht erreicht werden kann, d.h., daß $d/u \geq 0$ erfüllt ist und damit die Fermen-
25 tation bei maximaler Wachstumsgeschwindigkeit geführt wird.

Andererseits ist es möglich, daß die aeroben Mikroorganismen in einem Nährmedium gezüchtet werden, wobei während der Züchtung die Kohlenstoffsubstratkonzentration im Fermentationsmedium konstant gehalten wird und das den physiologischen Zustand der Mikroorganismenkultur abbildende
30 Cytochrom C-Signal als Regelgröße des Sauerstoffeintrages in das Fermentationsmedium dient.

Neben einem den physiologischen Zustand der Mikroorganismenkultur kennzeichnenden Cytochrom C-Meßwert ist es möglich, aus dem Cytochrom C-Absorptionsbanden einen der Cytochrom C-Konzentration proportionalen Meß-
35 wert zu gewinnen, der mit der im Fermentationsmedium vorhandenen Mikroorganismenkonzentration korreliert. Erfindungsgemäß wird mittels dieses Meßwertes der Durchfluß durch den Fermentor so geregelt, daß bei kontinuierlicher Fermentation die Mikroorganismenkonzentration konstant gehalten werden kann.

Die Erfindung beinhaltet somit eine durch Cytochrom C-Absorptionssignale geregelte Kohlenstoffsubstrat- oder Sauerstoffzufuhr, die bei kontinuierlichen Fermentationen mit dem erfindungsgemäß geregelten Durchfluß durch den Fermentor verbunden wird.

5Ausführungsbeispiele

Beispiel 1: Regelung eines Verfahrens zur diskontinuierlichen Kultivierung von Bakterien mit Methanol als Kohlenstoffquelle
(Abbildung 1)

Das Fermentationsmedium befindet sich im Fermentor 1. Über einen Außen-
10kreislauf wird der Cytochrom C-Meßeinrichtung Fermentationsmedium zugeführt. Das dem physiologischen Zustand der Mikroorganismen proportionale Cytochrom C-Signal wirkt über eine Regelvorrichtung 5 auf eine Dosiereinrichtung 9, mittels der der Zufluß des Kohlenstoffsubstrates aus einem Vorratsbehälter 8 in den Fermentor 1 gesteuert wird. Gleichzeitig muß die
15Gelöstsauerstoffkonzentration im Fermentationsmedium konstant gehalten werden. Dies erfolgt über die Gelöstsauerstoffmeßeinrichtung 11, den Regler 12 und die Luft- bzw. Sauerstoffdosiereinrichtung 10. Bei einem vorgegebenen, den physiologischen Zustand der Mikroorganismen beschreibenden Cytochrom C-Signal und bei einer Gelöstsauerstoffkonzentration von
201,5 mg O₂/l bis 2,5 mg O₂/l sowie einem pH-Wert von 4 wurde ein Anwachsen der Biomassekonzentration von 1,5 g/l auf 22 g/l innerhalb von 16 Stunden erreicht. Dies entspricht einer durchschnittlichen relativen Wachstumsgeschwindigkeit von $\mu = 0,17 \text{ h}^{-1}$. Die mittels des Cytochrom C-Signals geregelte Methanolkonzentration im Fermentationsmedium betrug 250 mg/l bis
25300 mg/l.

Beispiel 2: Regelung eines Verfahrens zur kontinuierlichen Kultivierung von Bakterien mit Methanol als Kohlenstoffquelle
(Abbildung 1)

Das Fermentationsmedium befindet sich im Fermentor 1. Über einen Außen-
kreislauf wird der Cytochrom C-Meßeinrichtung Fermentationsmedium zuge-
30führt. Das den physiologischen Zustand der Mikroorganismen abbildende Cytochrom C-Signal wirkt über die Regelvorrichtung 5 auf eine Dosiereinrichtung 9 mittels der der Zufluß des Kohlenstoffsubstrates aus einem Vorratsbehälter 8 in den Fermentor 1 gesteuert wird. Das Cytochrom C-Konzentrationsignal steuert über den Regler 4, der auf eine Dosiereinrichtung 6
35wirkt, den Zufluß von Fermentationsmedium aus dem Behälter 7 zum Fermentor 1 und damit den Durchfluß durch den Fermentor. Im Behälter 7 befindet sich das Fermentationsmedium ohne die Kohlenstoffquelle. Gleichzeitig muß die Gelöstsauerstoffkonzentration im Fermentationsmedium konstant gehalten

werden. Dies erfolgt über die Gelöstsauerstoffmeßeinrichtung 11, den Regler 12 und die Luft- bzw. Sauerstoffdosiereinrichtung 10. Bei einer Biomassekonzentration von 18 g/l stellte sich eine durch das Cytochrom C-Konzentrationssignal geregelte Durchflußrate von $D = 0,143 \text{ h}^{-1}$ ein. Die, durch das den physiologischen Zustand anzeigende Cytochrom C-Meßsignal, geregelte Methanolkonzentration im Fermentationsmedium betrug bei einer konstanten Gelöstsauerstoffkonzentration 100 mg/l bis 150 mg/l.

Beispiel 3: Regelung einer kontinuierlichen Kultivierung von Bakterien mit Methanol als Kohlenstoffquelle, wobei die Gelöstsauerstoffkonzentration im Fermentationsmedium geregelt wird
(Abbildung 2)

Das Fermentationsmedium befindet sich im Fermentor 1. Über einen Außenkreislauf wird der Cytochrom C-Meßeinrichtung Fermentationsmedium zugeführt. Das den physiologischen Zustand der Mikroorganismenkultur abbildende Cytochrom C-Signal wirkt über den Regler 5 auf die Luft- oder Sauerstoffdosiereinrichtung 10, mittels der der Sauerstoffeintrag in den Fermentor gesteuert wird. Das Cytochrom C-Konzentrationssignal steuert über den Regler 4, der auf eine Dosiereinrichtung 6 wirkt, den Zufluß von Fermentationsmedium aus dem Behälter 7 zum Fermentor 1 und damit den Durchfluß durch den Fermentor. Im Behälter 7 befindet sich das Fermentationsmedium ohne die Kohlenstoffquelle. Die Konzentration an Kohlenstoffsubstrat im Fermentor wird durch die Meßeinrichtung 13 gemessen und über den Regler 14 und die Dosiereinrichtung 9 auf ein vorgegebenes Niveau geregelt. Im Vorratsbehälter 8 befindet sich das Kohlenstoffsubstrat, das mittels der Dosiereinrichtung 9 in den Fermentor 1 gefördert wird.

Erfindungsanspruch

1. Verfahren zur Kontrolle und Regelung aerober Fermentationsprozesse
dadurch gekennzeichnet, daß bei konstanter Gelöstsauerstoffkonzentration im Fermentationsmedium bei kontinuierlichen und diskontinu-
5 ierlichen Fermentationsprozessen der Kohlenstoffsubstratgehalt im
Fermentationsmedium in Abhängigkeit vom physiologischen Zustand des
Atmungszyklus Cytochrom C der Mikroorganismenkultur sowie bei konti-
nuierlichen Fermentationsprozessen der Durchfluß durch den Fermentor
in Abhängigkeit von der Konzentration des Atmungszyklus Cytochrom C
10 der Mikroorganismenkultur geregelt wird.
2. Verfahren gemäß Punkt 1 dadurch gekennzeichnet, daß bei konstantem
Kohlenstoffsubstratgehalt im Fermentationsmedium die Gelöstsauer-
stoffkonzentration in Abhängigkeit vom physiologischen Zustand des
Atmungszyklus Cytochrom C der Mikroorganismenkultur sowie der Durch-
15 fluß durch den Fermentor in Abhängigkeit von der Konzentration des
Atmungszyklus Cytochrom C der Mikroorganismenkultur geregelt wird.

Hierzu 2 Seiten Zeichnungen

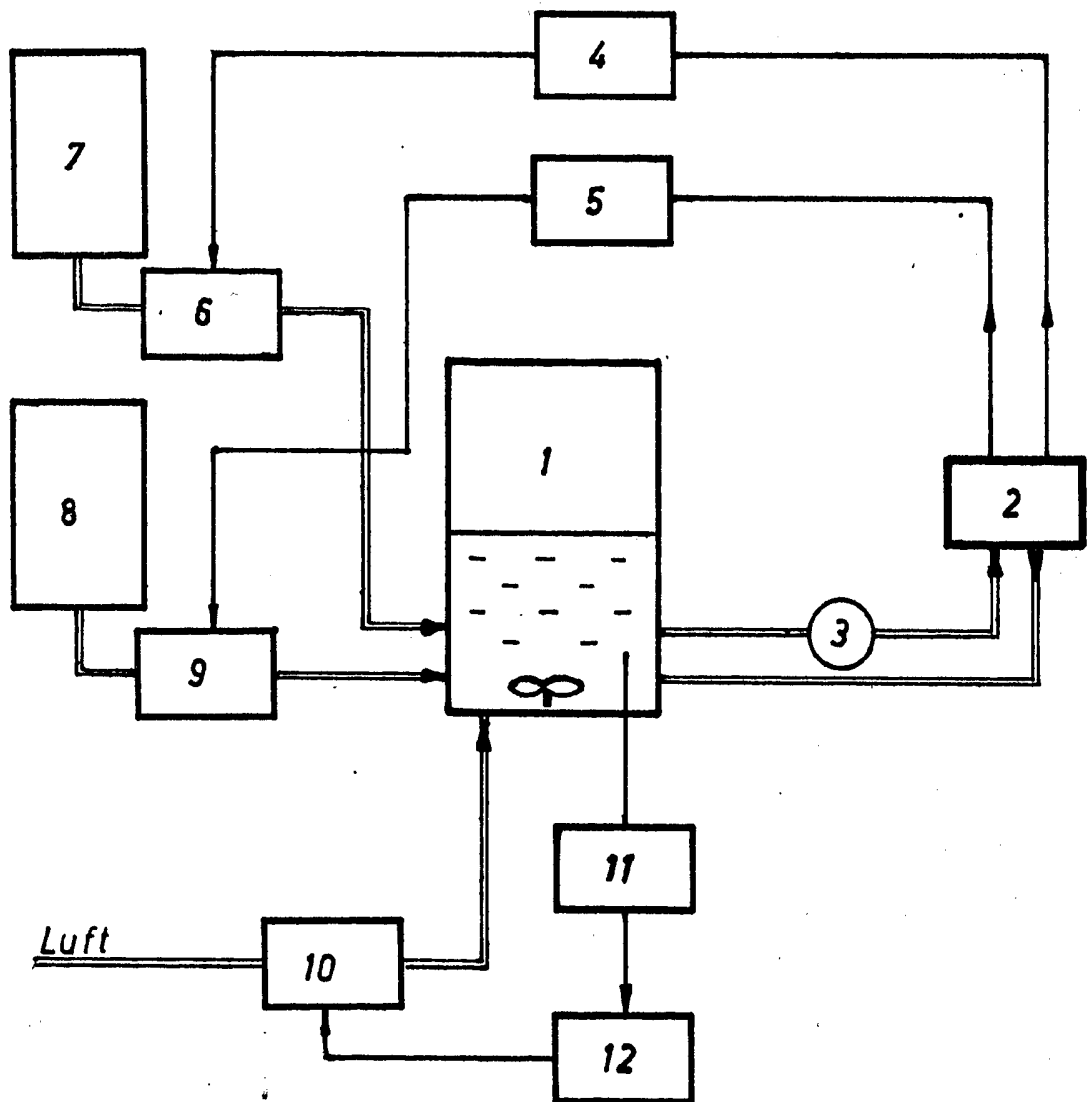


Abbildung 1

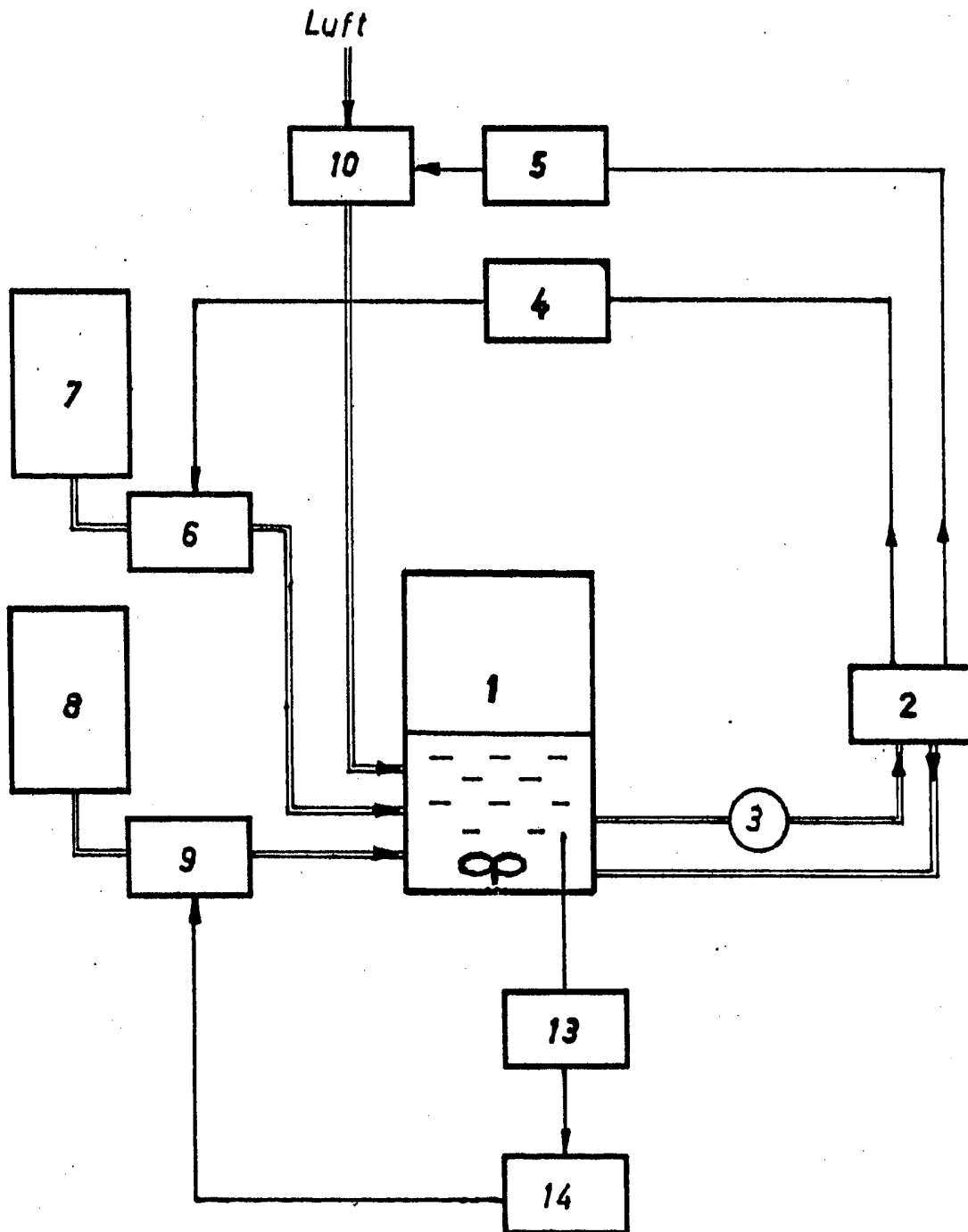


Abbildung 2