

(19) DEUTSCHE DEMOKRATISCHE REPUBLIK

PATENTSCHRIFT



Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 5 Absatz 1 des Änderungsgesetzes
zum Patentgesetz

ISSN 0433-6461

(11)

201 459

Int.Cl.³

3(51) C 12 N 1/00

AMT FUER ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP C 12 N/ 2360 266

(22) 21.12.81

(44) 20.07.83

- (71) AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN DER DDR; DD;
(72) TRIEMS, KLAUS, DR.RER.NAT. DIPL.-CHEM.; GLOMBITZA, FRANZ, DR.RER.NAT. DIPL.-CHEM.; SOYEZ,
KONRAD, DR.DIPL.-ING.; POEHLAND, DIETER, DR.RER.NAT. DIPL.-BIOL.; PRAUSE, MICHAEL, DR.SC.
DIPL.-CHEM.; JAGUSCH, LEONHARD, DIPL.-ING.; SCHOENHERR, WERNER, DIPL.-ING.; GABSCH,
KLAUS, DIPL.-ING.; SCHRECK, REINHARD, DIPL.-ING.; WEISKE, DIETER; BERGER, HANS-WERNER,
DIPL.-ING.; HINZE, THOMAS, DIPL.-KRISTALLOGRAPH; SCHUETZE, ACHIM, DD
(73) siehe (72)
(74) ADW DER DDR, INST. F. TECHN. CHEMIE, AG PATENTWESEN, 7050 LEIPZIG, PERMOSERSTR. 15

(54) **VERFAHREN ZUR KULTIVIERUNG VON MIKROORGANISMEN**

(57) Verfahren zur Kultivierung von Mikroorganismen in Reaktoren, besonders in Kreislaufsystemen, aber auch anderen Fermentoren wie Rührkesselreaktoren, das eine Prozeßführung erlaubt, die neben der mikrobiologischen Stoffwandlung die Wirkungsweise des Reaktors und die Wirksamkeit der zugeführten Tenside berücksichtigt. Durch die Betriebsweise des Reaktors sowie die Art der Reaktionsführung werden die Medieneigenschaften beeinflußt und damit die Stoffübergangsgeschwindigkeiten, die Produktivitäten, der spezifische Energiebedarf und der Ausstoß, bezogen auf den Reaktor, festgelegt. Es wird deshalb als Kenngröße und Steuergröße für das Fermentationsregime der Gasgehalt und das Zerschäumungsverhalten des Fermentationsmediums gewählt. Dabei werden der Gasgehalt in einem Bereich zwischen 30 und 60 Vol.-% und das Zerschäumungsverhalten konstant gehalten. Dabei werden Tenside zum Einsatz gebracht, die ein gutes Dispergieren des eingetragenen Gases bei ausreichender Koaleszenzneigung gewährleisten. Die Wirksamkeit der Tenside wird durch geeignete Testversuche mit der Fermentationsflüssigkeit untersucht und danach die Auswahl getroffen.

Zur PS Nr. 201 459

ist eine Zweitschrift erschienen.

(Teilweise bestätigt gem. § 18 Abs. 1 d. Änd.Ges.z.Pat.Ges.)

Titel

Verfahren zur Kultivierung von Mikroorganismen

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein kontinuierliches und diskonti-
5 nuierliches Verfahren zur Zellenzüchtung in Reaktoren.
Sie ist in der technischen Mikrobiologie anwendbar und
läßt sich in die IPK C 12 N einordnen.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Verfahren der kontinuierlichen und diskontinuierlichen Züch-
10 tung von Mikroorganismen bestehen in der Regel darin, daß in
einem Reaktor den Mikroorganismen Luft oder Sauerstoff, Sub-
strat und Nährstoffe zur Verfügung gestellt und die Reak-
tionsprodukte wie Wärme, Kohlendioxid sowie bestimmte Sub-
stanzen entfernt und die gezüchteten Mikroorganismen abge-
15 trennt werden.

Dabei ist es bei aeroben Zellsubstanzsynthesen notwendig,
den Sauerstoff aus der Luft in das Fermentationsmedium ein-
zutragen, die Mikroorganismen ausreichend mit Nährsalzen
zu versorgen sowie die Kohlenstoffquelle mit einer dem Ver-
20 brauch angepaßten Geschwindigkeit zuzuführen.

Für einen solchen Prozeß werden spezielle Reaktoren wie Rühr-
kessel oder Umlaufsysteme (z.B. IZ-Strahlfermentor) verwendet,
die alle eine optimale Versorgung der Mikroorganismen mit
Sauerstoff, Nährstoffen und Substrat zum Ziele haben und auf
25 unterschiedlichste Weise diese Aufgabe zu realisieren ver-
suchen.

Um diese Prozesse zu führen werden deshalb unterschiedliche Steuerungssysteme und Prinzipien verwendet, die eine Zellzucht bei bestimmten Limitationen oder in Gegenwart bestimmter Stoffe und Konzentrationen erreichen.

- 5 So ist eine Fermentation bei einem eingeschränkten Phosphatangebot (WP 129 846) oder bei einem bestimmten Nutzungsgrad der angebotenen Paraffine und Sauerstofflimitation (WP C 12 D/222 574) oder bei einer bestimmten konstant zu haltenden Oberflächenspannung des Fermentationsmediums (WP 96 727) bereits bekannt.

10 Diese praktizierten bekannten Methoden streben den sparsamsten Verbrauch einer Substanz und damit niedrige Verbrauchskoeffizienten, die Steuerung der biologischen Stoffwandlung nach dem intrazellulären Energieumsatz, die Fermentation bei konstantem Hilfsstoffeinsatz an.

- 15 So wird im WP 129 846 der Phosphatgehalt minimiert und damit über minimales spezifisches Phosphatangebot der Energieumsatz und über diesen der Substratverbrauch beeinflusst. Das wiederum hat einen niedrigen Sauerstoffverbrauch zur Folge.

20 In einem anderen Verfahren wird bei minimiertem Phosphatangebot über den Sauerstoffeintrag der Umsetzungsgrad der Paraffine in einer Erdöldestillatfraktion derartig beeinflusst, daß die Substrat- und Sauerstoffverbrauchswerte bestimmte Grenzen nicht übersteigen können (WP C 12 D/222 574). Zu diesem Zwecke wurde der Grenzwert der Paraffinumsetzung mit 65% angegeben.

- 25 Die Verwendung von Hilfsstoffen während der Fermentation ist weitgehend bekannt (WP C 12 C/214 043). Sie können durch ihren Einsatz die gas-flüssig und flüssig-flüssig Stoffübergänge in Mehrphasensystemen bedeutend verbessern. Da sie bereits in sehr geringen Konzentrationen wirksam sind, werden entweder die Mengen (FR-PS 1 445 857) oder aber über physikalische Größen ihre Wirkungen gemessen und danach der Fermentationsprozeß geregelt. In der Patentschrift WP 96 727 werden deshalb die Tenside nach der Höhe der Oberflächenspannung der wäßrigen Phase zugeführt. Zum anderen ist ins-

besondere bei der Fermentation von bestimmten kohlenhydrathaltigen Substraten, wie Melasse, Sulfitablaugen, Schlempen, die Zufuhr von Tensiden zur Schaumbekämpfung, d.h. zur Verringerung des Gasinhaltes und Erhöhung der Oberflächenspannung der Fermentationsflüssigkeit, bekannt. Hierdurch soll insbesondere ein höherer Ausnutzungsgrad des Fermentationsvolumens gesichert werden.

Allen diesen Prozeßvarianten haftet in der Regel ein entscheidender Mangel an. Dieser besteht darin, daß vorzugsweise nur das biologische System oder die biologische Stoffwandlung im Mittelpunkt steht und nicht das gesamte Reaktionssystem bestehend aus Prozeß und Apparat als Einheit mit spezifischen Wechselwirkungen gesehen wird.

Diese Einheit ergibt sich aus der Wirkung und Arbeitsweise des Reaktors, der als Stoffübertragungssystem den Übergang des Sauerstoffes aus der Gas- in die flüssige Phase realisiert sowie den Übergang der Paraffine aus dem Kohlenwasserstofftropfen und den Übergang der Kohlenstoffquelle, des Sauerstoffes und anderer Nährstoffe aus der flüssigen Phase in die Zelle maßgeblich beeinflusst.

Gleichzeitig besitzt der Reaktor die Aufgabe, durch die Vermeidung von Totzonen eine weitgehende optimale und kontinuierliche Versorgung der Mikroorganismen mit Sauerstoff, Substrat und Nährsalzen zu garantieren.

Das ist jedoch nur möglich, wenn das gesamte Fermentationssystem eine homogene Verteilung im Fermentor aufweist.

Das Einstellen der geforderten Homogenität wird noch problematischer, wenn als Substrat Kohlenwasserstoffgemische bzw. Erdöldestillate verwendet und dadurch eine 2. flüssige Phase existiert. Dieses 4-Phasensystem verlangt auf Grund der unterschiedlichen individuellen Eigenschaften jeder Phase einen größeren Aufwand, um eine homogene Verteilung im Fermentor zu erreichen.

Ein weiteres Problem besteht in der optimalen, d.h. für den Wachstumsprozeß der Mikroorganismen nicht hemmend wirkenden Entfernung von Stoffwechselprodukten und Reaktionsprodukten. Solche Produkte sind zum Beispiel CO_2 , die verbrauchte sauerstoffarme Luft oder die gebildete Wärme.

- Weiterhin muß bei einem kontinuierlich arbeitenden Reaktor die Zufuhr der Nährstoffe und damit die Aufenthaltszeit bzw. die Austragung der Mikroorganismen so geregelt sein, daß auf der einen Seite eine optimale Biomassebildung, d.h.
- 5 bei minimalen spezifischen Verbrauchswerten an Roh- und Hilfsstoffen, auf der anderen Seite ein optimaler Ausstoß, d.h. bei einem möglichst minimalen spezifischen Energieaufwand ein maximaler Ausstoß, erhalten wird.
- So ist es zum Beispiel möglich, daß ein Hochleistungsreaktor sehr große Sauerstoffübertragungsgeschwindigkeiten je
- 10 Flüssigkeitseinheit durch einen hohen Lufteintrag erreicht. Dadurch ist der Anteil der dispergierten Luft sehr hoch, die gebildete Biomassemenge in einer Zeiteinheit ebenfalls groß, jedoch der Reaktorausstoß auf Grund des geringen
- 15 Flüssigkeits- und hohen Gasinhaltes sehr gering. Ein weiteres Problem existiert besonders bei Umwälzsystem mit Zwangsumwälzung z.B. über Kreiselpumpe wie beim IZ-Strahlfermentor. Bei diesen Systemen ist die Sauerstoffübergangsleistung in erster Linie von der Umwälzmenge und dem Gasgehalt in der
- 20 Fermentationsflüssigkeit abhängig. Die Umwälzleistung und der energetische Wirkungsgrad der Fördereinrichtung sind dabei ebenfalls vom Gasgehalt der Fermentationsflüssigkeit abhängig, wobei die Umwälzleistung auch den Gasgehalt erheblich beeinflusst. Der Gasgehalt in der Fermentationsflüssigkeit wird jedoch primär durch die Inhaltsstoffe der Fermentationsflüssigkeit mitbestimmt, die wiederum durch die Fermentationstechnologie, d. h. durch den Einsatz der Roh- und
- 25 Hilfsstoffe, der Verweilzeit usw., gegeben sind.
- Es liegt somit ein sehr komplexer Zusammenhang zwischen
- 30 Sauerstoffübertragungsgeschwindigkeit, Umwälzleistung, energetischem Wirkungsgrad, Gasgehalt und den technologischen Bedingungen vor.
- Veränderungen der Inhaltsstoffe der Fermentationsflüssigkeit, hervorgerufen durch unterschiedliche technologische
- 35 und mikrobiologische Bedingungen, wie Veränderungen der Rohstoffdosierung, Rückführung von Prozeßwässern in verschiedener Menge und Qualität oder der Verweilzeit, führen somit zwangsläufig zu sich ändernden Stoffübergangsleistungen

unter unterschiedlichen energetischen Bedingungen und entsprechenden Rückwirkungen auf das biologische System, wie Veränderungen der Biomassekonzentration, der Konzentration an Roh- und Hilfsstoffen oder der spezifischen Verbrauchskennwerte, so daß der Gesamtprozeß nicht in jedem Fall optimal verläuft. Dabei können Medieneigenschaften auftreten, die scheinbar für den Sauerstoffübergang einen guten Gasgehalt im Fermentor sichern, jedoch auf Grund einer zu stabilen Emulsionsbildung den Gasaustausch erschweren (stark koaleszenzgehemmtes System) und somit für die Sauerstoffübergangsleistung ungünstig sind. Alle diese Probleme werden bei den bekannten und vorgestellten Prozeßführungen nicht oder nur zum Teil berücksichtigt.

Ziel der Erfindung

15 Ziel der Erfindung ist es deshalb, eine Prozeßführungskonzeption zu entwickeln, die bestmögliche Stoffübertragungsleistungen und Produktivitäten sowie einen höchsten Betrag an produzierter Biomasse bei möglichst minimalem spezifischen Energieaufwand erreicht.

20 Darlegung des Wesens der Erfindung

Aufgabe der Erfindung ist es, Kenngrößen aus dem Fermentationsprozeß auszuwählen, die als Charakteristikum der Eigenschaften des Fermentationsmediums sowohl vom Fermentationsprozeß als auch vom Reaktor beeinflußt werden und zur Steuerung des Fermentationsregimes geeignet sind.
25 Die Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß der Fermentationsprozeß anhand der Beschaffenheit des als Mehrphasensystem-Wasser/Hefe/Substrat/Luft - vorliegenden Fermentationsmediums gesteuert wird, wobei als charakteristische Größen für diese Beschaffenheit die Dichte bestimmende Gasgehalt und das Zerschäumungsverhalten wie Dispergier- und Koaleszenzverhalten des Fermentationsmediums verwendet und als Steuergröße für die Prozeßführung ge-

Der Gasgehalt wurde durch die automatische Zugabe eines entschäumenden Tensides, Paraffinsulfamid, über den Bodendruck im Fermentationsbehälter bei 55 % konstant gehalten. Dem Fermentor werden stündlich 4,05 t Einsatzmedium, bestehend aus Wasser, Melasse, Nährlösung und Tensid zugeführt. Bei dieser Prozeßführung stellt sich eine Hefekonzentration von 35,6 kg HTS/t ein. Das entspricht einer Produktivität von 8,9 kg HTS/th und einem Ausstoß von 144 kg HTS stündlich.

10 Beispiel 2

In einer Testapparatur wurde das Fermentationsmedium aus Beispiel 1 unter definierten Bedingungen dispergiert und anschließend das Koaleszenzverhalten bestimmt, wobei verschiedene Tenside bzw. Tensidgemische verwendet wurden.

15 Es wurde gefunden, daß bei Einsatz des Tensidgemisches Paraffinsulfamid/Propylenoxid-Äthylenoxid-Addukt die Blasenkoaleszenzgeschwindigkeit sich mehr als verdoppelte bei gleichem Gasgehalt nach der Dispergierung des Fermentationsmediums unter definierten Bedingungen.

20 Unter Einhaltung der im Beispiel 1 genannten Fermentationsbedingungen wurde durch das Tensidgemisch der Gasgehalt automatisch bei 55 % konstant gehalten. Bei einem stündlichen Durchsatz von 4,05 t an Einsatzmedium stieg bei dieser Prozeßführung die Hefekonzentration auf 48 kg HTS/t.

25 Das entspricht einer Produktivität von 12 kg HTS/th und einem Ausstoß von 194 kg HTS/h. Der Elektroenergieverbrauch blieb auf Grund des gleichen Gasgehaltes im umgewälzten Fermentationsmedium konstant, d.h. der spezifische Energieverbrauch verringerte sich um ca. 25 %.

30 Beispiel 3

In einem kleintechnischen IZ-Strahlfermentor mit einem Gesamtvolumen von 350 l wurden auf einer paraffinhaltigen Erdöldestillatfraktion von 240 bis 380° C Siedebereich mit einem Paraffingehalt von 16 Ma.-% in Erdöldestillat und

35 einer Kettenlängenverteilung von 9 bis 30 C-Atomen Hefen

der Gattung *Lodderomyces elongisporus* bei kontinuierlicher Zugabe von 500 ... 600 mg/Kg eines Emulgators, des nicht-ionogenen Tensides Ferman - ein Propylenoxid - Ethylenoxid-Addukt, dessen Wirkung wesentlich vom Verhältnis Propylenoxid zu Ethylenoxid und dem Polymerisationsgrad abhängt - und bei konstanter Drehzahl der Umwälzpumpe in mehreren Versuchsreihen gezüchtet. Die Verweilzeit betrug 5 Stunden, der pH-Wert 4,1 und die Fermentationstemperatur 33° C. Dabei wurden folgende Ergebnisse erzielt:

10	Hefekonzentration	13	...	18	g/kg
	Produktivität	2,6	...	3,6	kg/th
	Hefeaussstoß	0,52	...	0,72	kg/h
	spezifischer theoretischer Energiebedarf für den O ₂ -Eintrag	0,2	...	0,25	KWh/kg O ₂
15	mittlerer Gasgehalt im Fermentor	57	...	47	Vol.-%

Die genannten Parameter schwankten je nach Zusammensetzung und Polymerisationsgrad des eingesetzten Tensids erheblich.

Beispiel 4

Bei einer anderen Versuchsreihe unter sonst gleichen Bedingungen wie im Beispiel 3 wurde der mittlere Gasgehalt im Fermentationsmedium durch entsprechende Steuerung der Tensidzugabe trotz unterschiedlicher Zusammensetzung und unterschiedlichem Polymerisationsgrad des Tensides bei einem vorgegebenen Wert $54 \pm 0,5$ Vol.-% konstant gehalten.

25 Unter diesen Bedingungen ergaben sich die folgenden Werte:

	Hefekonzentration	15	...	18	g/kg
	Produktivität	3,0	...	3,6	kg/th
	Hefeaussstoß	0,6	...	0,72	kg/h
30	spezifischer theoretischer Energiebedarf für den O ₂ -Eintrag	0,2	...	0,23	KWh/kg O ₂

Es ist ersichtlich, daß die Ergebnisse trotz unterschiedlicher Tensidzusammensetzung und unterschiedlichen Polymerisationsgrades geringeren Streuungen unterliegen und ein Mittel über bzw. unter dem des Beispiels 3 liegen. Die Untersuchung der

Eigenschaften des Fermentationsmediums hinsichtlich des Dispergier- und Koaleszenzverhaltens in einer Testapparatur gemäß Beispiel 2 zeigte trotz konstanten Gasgehaltes im Fermentor eindeutige Unterschiede in Abhängigkeit von den eingesetzten Tensidchargen.

Beispiel 5

Bei einer weiteren Versuchsserie unter sonst gleichen Bedingungen wie in Beispiel 3, jedoch bei einem konstanten Gasgehalt von $54 \pm 0,5$ Vol.-% wie im Beispiel 4, wurde ausgehend von den Testuntersuchungen eine Tensidcharge ausgewählt und eingesetzt, die in der Testapparatur eine intensive Dispergierung des Mediums bewirkte, jedoch bei Beendigung des Dispergiervorganges eine hohe Blasenkoaleszenzgeschwindigkeit zur Folge hatte.

Hierbei wurden folgende Ergebnisse ermittelt:

Hefekonzentration	17 ...	18 g/kg
Produktivität	3,4 ...	3,6 kg/th
Hefeaussstoß	0,68...	0,72 kg/h
spezifischer theoretischer Energiebedarf für den Sauerstoffeintrag	0,20...	0,21 KWh/kgO ₂

Der Vergleich der Beispiele zeigt, daß für die Realisierung stabiler und technisch-ökonomisch günstiger Fermentationsparameter erfindungsgemäß sowohl die Einhaltung eines konstanten optimalen Gasgehaltes im Fermentationsmedium durch entsprechende Steuerung der zugeführten Tensidmenge als auch die Auswahl der für das jeweilige Fermentationsmedium geeigneten Tensidwirkung bezüglich des Dispergier- und Koaleszenzverhaltens des Fermentationsmediums entscheidend sind.

Beispiel 6

In einem Rührreaktor mit einem Volumen von 250 m³ und einem Turbinenbegasungssystem bestehend aus einem Blattrührer und einer Begasungseinrichtung werden Hefen der Gattung *Lodderomyces elongisporus* bei einem pH-Wert von 4,2 und einer Temperatur von 33° C gezüchtet.

Als Substrat wird eine Kohlenstoffquelle verwendet, die eine Rohöldestillatfraktion mit einem Siedebereich von 240 bis 380° C ist und n-Alkane mit einer Kettenlänge von 9 bis 30 C-Atome enthält.

- 5 Die vorgegebene und im Reaktor vorhandene Erdöldestillatfraktion beträgt 15 Ma.%, die im Erdöldestillat vorhandene Paraffinkonzentration 16,5 Ma.% bezogen auf geradkettige n-Alkane.

- 10 Der Fermentor wird mit einem Inhalt von 80 t der angegebenen Zusammensetzung gefüllt und die Füllmenge über den Bodendruck gemessen.

- An der Flüssigkeitsoberkante befinden sich Elektroden, die zur Kontrolle des Füllstandes dienen. Der vorgegebene Prozeß wird mit einem Volumen von 175 m³ entsprechend einer Dichte von 0,46 g/cm³ betrieben. Das entspricht einem Gasgehalt von 46 %.

In den Fermentor wird eine Luftmenge von 6 500 m³/h eingetragen, der Energieeintrag des Rührsystems beträgt 180 kW bzw. 2,25 kW/m³.

- 20 Die Verweilzeit im Fermentor wird mit 5 h eingestellt. Dabei betragen die zugeführten Mengen 13,6 t/h Wasser, Nährlösung, Fermanlösung, Lauge wobei ein großer Teil des Wassers aus der Aufrahmung wieder in den Prozeß zurückgeführt wird, und 2,4 t ED.

- 25 Bei dieser Prozeßführung stellt sich eine Hefekonzentration von 18,5 g/kg ein. Das entspricht einer Produktivität von 3,7 g/kg h und einem Ausstoß von 29,6 kg/h.

- Wenn diese eingestellten Fermentationsparameter durch Veränderungen der Medieneigenschaften andere Werte annehmen, ist eine Korrektur notwendig.

- 30 So ist die Rückführung der tensidhaltigen wäßrigen Phase aus der Heißseparation des Prozesses möglich. Dabei kommt es zu einem Sinken der Dichte und das Volumen steigt auf Werte über 200 m³. Gleichzeitig kann eine beträchtliche Beeinflussung des Zerschäumungsverhaltens stattfinden.
- 35 Das äußert sich in einem veränderten Aufrahmverhalten, als dessen Maß die Aufrahmgeschwindigkeit gewählt wird.

Es wird deshalb zunächst die eingetragene Luftmenge auf $5000 \text{ m}^3/\text{h}$ reduziert.

Dadurch sinkt der Gasinhalt und die Dichte steigt auf $0,45 \text{ g/cm}^3$. Anstelle der Luftmenge kann auch der Energie-

5 eintrag durch Senken der Drehzahl reduziert werden.

Das ist auf 120 kW bzw. $1,5 \text{ kW/m}^3$ möglich. Bei einem weiteren Sinken des Energieeintrages ist die geforderte Homogenität in dem Reaktor nicht mehr gewährleistet.

Die gesunkene Aufrahmggeschwindigkeit kann durch eine
10 Verringerung der Fermandosierung wieder auf den alten Wert gebracht werden.

Durch das Konstanthalten der Dichte und des Zerschäumungsverhaltens bleibt die Sauerstoffeintragsleistung im notwendigen Bereich und die Produktivität sowie der stündliche Anlagenausstoß ändern sich nicht.

15

Beispiel 7

In einem Rührkesselreaktor mit einem Gesamtvolumen von 200 l mit einem Blattrührer und einer Begasungseinrichtung werden Bakterien der Gattung *Gluconobacter* auf Methanol
20 als Kohlenstoff- und Energiequelle bei einer Verweilzeit von 8 h , bezogen auf den Masseninhalte der begasten Reaktorkammer, einem pH-Wert von $4,2$ und einer Temperatur von 34°C gezüchtet.

Der Fermentor wird mit einem Inhalt von 110 kg gefüllt. Die
25 Regelung der Füllmenge erfolgt über den Bodendruck.

Ohne Zugabe von Ferman wird eine Dichte von $0,75$ bis $0,82 \text{ g/cm}^3$ erreicht. Unter diesen Bedingungen wird eine Biomassekonzentration von $6,5 \text{ g/kg}$ erreicht. Das entspricht einer Produktivität von $0,8 \text{ g/kg}$.

30 Nach der Zugabe von Ferman sinkt die Dichte auf Werte um $0,6 \text{ g/cm}^3$ ab. Durch die damit verbundene Verbesserung der Sauerstoffversorgung erhöht sich die Wachstumsgeschwindigkeit und die Biomasse wächst auf eine Konzentration von $15,5 \text{ g/kg}$ an. Das entspricht einer Produktivität von $1,9$

35 g/kg und einem Ausstoß des Fermentors von 213 g/h .

- Zur Aufrechterhaltung gleichförmiger Wachstumsbedingungen werden im weiteren Verlauf des Züchtungsprozesses die Dichte und das Zerschäumungsverhalten des Fermentationsmediums im Bereich von 0,550 bis 0,600 g/cm³ durch Zugabe von Ferman, das als 10 %ige wäßrige Lösung dosiert wird, konstant gehalten. Die zur Konstanthaltung der Dichte erforderliche Fermanmenge beträgt 250 mg/kg.
- In den Fermentor wird eine Luftmenge von 5m³/h eingetragen. Der Energieeintrag des Rührsystems beträgt 2,8 kW bzw. 2,5 W/kg. Die Konstanthaltung der Dichte im Bereich von 0,550 bis 0,600 g/cm³ sichert eine gleichbleibende Produktivität und damit einen festen Ausstoß des Fermentors von 213 g/h im Langzeitversuch.

Beispiel 8

- Die Züchtung von methanolassimilierenden Bakterien der Gattung Gluconobacter erfolgt in einem Tauchstrahlfermentorsystem mit einer Gesamtmasse von 900 kg und einer Masse im Fermentor von 410 kg (α -Wert = 2,2) unter Züchtungsbedingungen wie in Beispiel 7 .
- Während einer diskontinuierlichen Züchtungsphase von 9 h wächst die Biomasse von 1,8 g/kg auf 9,7 g/kg an. Bei einer Verweilzeit von 9 h wird diese Konzentration im kontinuierlichen System beibehalten. Während des diskontinuierlichen Züchtungsprozesses steigt die Dichte von etwa 0,500 auf 0,750 bis 0,820 g/cm³ und ändert sich auch unter kontinuierlichen Züchtungsbedingungen nicht.
- Durch Fermanzugabe wird die Dichte auf Werte zwischen 0,600 und 0,550 abgesenkt und anschließend durch automatische Zugabe von 3 %iger wäßriger Fermanlösung konstant gehalten. Gleichzeitig damit wird das Zerschäumungsverhalten des Fermentationsmediums konstant gehalten. Die Biomasse wächst unter der durch die Dichteänderung verbesserten Sauerstoffversorgung auf eine Konzentration von 21,3 g/kg, d.h. die Produktivität des Fermentationssystems erhöht sich von 1,10 g auf 2,35 g/kg · h. Die zugeführte Luftmenge beträgt 240 Nm³/h.

Die Dichtekonstanthaltung wurde bei Fortführung des Fermentationsversuches im Druckbereich bis zu 3 ata beibehalten. Bei dieser Fahrweise wurde eine Biomassekonzentration von 52,2 g/kg erreicht. Das entspricht einer Produktivität von 5,8 g/kg · h. Die Konstanthaltung der Dichte sicherte die volle Ausnutzung der Sauerstoffübertragungsleistung des Tauchstrahlsystems und einen festen Ausstoß der Fermentationsanlage.

Erfindungsanspruch

1. Verfahren zur Kultivierung von Mikroorganismen in Gegenwart einer Gasphase und unter Verwendung von Tensiden als Fermentationshilfsmittel, das vorzugsweise in Umlaufsystemen (IZ-Tauchstrahlfermentor) aber auch in
5 Rührkesselreaktoren durchgeführt wird, gekennzeichnet dadurch, daß der Fermentationsprozeß anhand der Eigenschaften des Fermentationsmediums, die sowohl durch den Reaktor als auch den Fermentationsverlauf und die Wirksamkeit der zugeführten Tenside beeinflusst werden, gesteuert wird, wobei als Kenngröße und Steuergröße für
10 das Fermentationsregime der Gasgehalt und das Zerschäumungsverhalten, wie Dispergier- und Koaleszenzverhalten des Fermentationsmedium verwendet und durch die gezielte Zugabe von entschäumenden und/oder zu verstärkter Schaumbildung führenden Tensiden in Abhängigkeit vom speziellen
15 Fermentationsprozeß und Fermentorsystem der Gasgehalt in einem vorgegebenen Bereich zwischen 30 und 60 Vol.-% und das Zerschäumungsverhalten konstant gehalten werden.
- 20 2. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß als Substrat Kohlenwasserstoffe, wie Paraffine, paraffinhaltige Erdöldestillate oder in einer Trägerphase gelöste Paraffine, oder gasförmige Kohlenwasserstoffe wie Methan, Ethan oder methan- und ethanhaltige Erdgasfraktionen, Alkohole wie Methanol, Ethanol, Glyzerin, Kohlenhydrate
25 und kohlenhydrathaltige Produkte wie Zucker, Melasse, Schlempe, organische Säuren in freier oder gebundener Form wie Essigsäure, Propionsäure, Sulfitablaugen verwendet werden.

-2-
15

236026 6

3. Verfahren nach Punkt 1 und 2, gekennzeichnet dadurch, daß als Mikroorganismen Hefen und/oder Bakterien in Reinkultur oder Mischpopulation verwendet werden.