



Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 29 Absatz 1 des Patentgesetzes

ISSN 0433-6461

(11) 206 493

Int.Cl.³ 3(51) C 12 M 1/36
C 12 Q 1/00

AMT FUER ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

(21) WP C 12 M/ 2317 497

(22) 14.07.81

(45) 25.01.84

- (71) AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN DER DDR, BERLIN, DD
(72) SAWISTOWSKY, JOACHIM, DR. RER. NAT. DIPL.-CHEM.; ROGGE, GERLIND, DIPL.-BIOL.; STANNEK, MONIKA, DD
(73) siehe (72)
(74) ADW DER DDR INST. F. TECHN. CHEMIE. ABT. PATENTW. 7050 LEIPZIG PERMOSERSTR. 15

(54) VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR KONZENTRATIONSBESTIMMUNG WASSERLOESLICHER
FERMENTATIONSSUBSTRATE

(57) Die Erfindung betrifft das Gebiet der technischen Mikrobiologie. Das Ziel der Erfindung besteht darin, eine ökonomische Führung von Fermentationsprozessen durch eine vollständige Nutzung der Kohlenstoffquelle zu gewährleisten. Die Aufgabe der Erfindung besteht darin, in einer einfachen Vorrichtung mit einem sehr einfachen Verfahren die Restkonzentration der wasserlöslichen Kohlenstoffquelle in einem beliebigen Fermentationsmedium zu bestimmen. Das Wesen der Erfindung besteht darin, daß eine Probe des Fermentationsmediums in eine als Meßzelle gestaltete Vorrichtung gegeben wird und dort bei Belüftung bis zum Wachstumsstillstand der Mikroorganismen verbleibt. Dieser Zeitpunkt wird durch ein Indikatorsystem angezeigt. Diese Zeit ist proportional der Substratrestkonzentration. Als Indikatorsystem sind geeignet: Gelöst-Sauerstoff-Elektrode, pH-Elektrode, Redox-Elektrode, Mikrokalorimeter, Abluftanalysengerät oder Cytochrom-C-Gerät. Dieses Verfahren ist sehr einfach und kann unmittelbar neben einem Fermentor angewandt werden. Das Ergebnis liegt innerhalb weniger Sekunden nach der Probenahme vor.

Titel

Verfahren und Vorrichtung zur Konzentrationsbestimmung
wasserlöslicher Fermentationssubstrate

Anwendungsgebiet

- 5 Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung
zur Bestimmung der aktuellen Restkonzentration beliebiger
wasserlöslicher Substrate direkt im Kulturmedium von Fer-
mentationsprozessen. Sie kann sowohl bei Fermentations-
prozessen im Labormaßstab als auch in klein- und großtech-
10 nischen Prozessen angewandt werden.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

- Bei der Führung von technischen Fermentationsprozessen,
z.B. bei der Futterhefeherstellung, ist die vollständige
15 Nutzung des Fermentationssubstrates, d.h. der Kohlenstoff-
quelle eine sehr wichtige Zielgröße.
Die Kenntnis der aktuellen Restsubstratkonzentration ist
daher unerlässlich.
Die Bestimmung der Restkonzentration des jeweiligen Sub-
20 strates erfolgt durch bekannte chemische Analysen bzw.
physikalische Methoden. Diese Methoden sind sehr arbeits-
aufwendig, da in jedem Fall erst die Biomasse aus der Pro-
be abgetrennt werden muß.
Speziell bei der Verhefung von Zucker, Melasse oder Sulfit-
25 ablage werden nach Abtrennung der Biomasse im Labor Analyse
zur Zuckerbestimmung bzw. der gesamtreduzierenden Substanz

(RS-Wert) durchgeführt. Diese Analysemethoden sind sehr zeitaufwendig.

Die Bestimmung der Konzentration flüchtiger Substrate, wie Fettsäuren und Alkohole kann direkt in der Fermentorabluft
5 mittels Flammenionisationsdetektor (DE-OS 2 440 948) oder mittels katalytischer Verbrennung erfolgen. Diese Methoden erfordern jedoch einen recht erheblichen technischen und damit auch finanziellen Aufwand.

Die Nutzung von Prozeßgrößen aus dem Fermentationsprozeß
10 selbst, wie den Sauerstoff- bzw. CO_2 - Gehalt der Abluft, die Gelöst-Sauerstoffkonzentration oder den Stickstoffverbrauch (AP C 12 D/200 194) gestattet uns bedingt eine Aussage über die aktuelle Restsubstratkonzentration, da diese Werte auch noch von anderen Prozeßgrößen abhängen.

15 Eine Unterbrechung der Substratzufuhr in den Fermentor ermöglicht die Bestimmung der sogenannten Auszehrzeit, die wiederum Rückschlüsse auf die aktuelle Restsubstratkonzentration gestattet, jedoch stellt diese Maßnahme für den Fermentationsprozeß eine zu große Prozeßstörung mit nach-
20 teiligen ökonomischen Auswirkungen dar, als daß diese Methode allgemein genutzt werden könnte.

Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung besteht darin, eine ökonomische Prozeßführung bei Fermentationsprozessen durch voll-
25 ständige Ausnutzung der angebotenen Kohlenstoffquelle zu gewährleisten.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Die Aufgabe der Erfindung besteht darin, ein einfaches Verfahren in einer geeigneten Vorrichtung anzuwenden, wodurch
30 es möglich ist, in einem beliebigen Fermentationsmedium die Restkonzentration der wasserlöslichen Kohlenstoffquelle zu bestimmen. Eine genaue Kenntnis der aktuellen Substratrestkonzentration ist Voraussetzung für eine optimale Prozeßsteuerung.

- Erfindungsgemäß wurde die Aufgabe so gelöst, daß eine Probe des Fermentationsmediums in eine als Meßzelle gestaltete Vorrichtung gegeben wird, dort ohne Substratzugabe bei Fermentationstemperatur und bei Belüftung bis
- 5 zum Wachstumsstillstand der Mikroorganismen verbleibt und dieser Zeitpunkt durch ein Indikatorsystem angezeigt wird. Dieses Indikatorsystem kann aus einer der folgenden Meßeinrichtungen bestehen, die alle geeignet sind, den Zeitpunkt des Wachstumsstillstandes der Mikroorganismen, der durch
- 10 das endgültige Auszehren des Substrates aus dem Fermentationsmedium hervorgerufen wird, anzuzeigen: Gelöst-Sauerstoff-Elektrode, pH-Elektrode, Redox-Elektrode, Mikrokolorimeter, Abluft-Meßgerät oder Cytochrom-C-Gerät.
- Die Vorrichtung zur Bestimmung der Konzentration wasserlöslicher Substrate in Fermentationsmedien besteht aus einem
- 15 temperierbaren mit Begasungseinrichtung versehenen Gefäß, wobei der Boden des Gefäßes aus einer Frittenplatte besteht durch die die Luft aus der Lufteintrittsleitung eintritt und fein verteilt wird. Oberhalb der Frittenplatte befindet
- 20 sich das Zulaufrohr für das Fermentationsmedium und im oberen Drittel des zylindrischen Gefäßes ist das Überlaufrohr angeordnet, durch das das Fermentationsmedium und die Luft aus der Meßzelle austreten können. In der Mitte des Gefäßes, von oben hereinragend, befindet sich das Indika-
- 25 torsystem, z.B. eine Gelöst-Sauerstoff-Elektrode. Die Meßzelle wird zu Beginn des Versuches mit etwa 5 m³ Wasser gefüllt und bei konstanter Temperatur, die entsprechend der Temperatur des Fermentationsprozesses zu wählen ist, mit einer konstanten Luftmenge begast. Eine Gelöst-
- 30 Sauerstoff-Elektrode zeigt unter diesen Bedingungen die Sättigungskonzentration an, da kein sauerstoffverbrauchender Prozeß stattfindet.
- Danach wird das Wasser aus der Meßzelle entfernt und über das Zulaufrohr wird frisches Fermentationsmedium zugegeben.
- 35 Das Elektrodensystem zeigt einen sauerstoffverbrauchenden Prozeß an, d.h. die Anzeige liegt weit unter dem Sättigungs

wert. Dies wird durch das Wachstum der Mikroorganismen hervorgerufen. Nach der Auszehrung des Substrates aus dem Fermentationsmedium durch die Mikroorganismen hört deren Wachstum auf, was durch das Elektrodensystem angezeigt wird.

Ausführungsbeispiel

Die Erfindung wird anhand eines Ausführungsbeispiels erläutert.

Die Zeichnung zeigt den Aufbau der Meßzelle zur Bestimmung wasserlöslicher Substrate in Fermentationsmedien. Die Meßzelle 1 ist mit einer Gelöst-Sauerstoff-Elektrode⁽⁶⁾ ausgestattet. Die in die Meßzelle 1 über die Frittenplatte 2 eingebrachte Luftmenge beträgt 5 l Luft/Stunde. Die Temperatur der Meßzelle wird durch einen Thermostaten auf 35°C gehalten. In die Meßzelle werden nach Ablassen des darin befindlichen Wassers über das Ablaufrohr 4 10ml Fermentorablauf einer bakteriellen Methanolfermentation zugegeben. Die Anzeige der Gelöst-Sauerstoff-Elektrode sinkt sofort vom ursprünglichen Wassersättigungswert 100% für 20 sec. auf ca. 15%. Danach steigt die Anzeige der Gelöst-Sauerstoff-Elektrode wieder steil an und erreicht den Wassersättigungswert.

Nach den zuvor durchgeführten Eichungen beträgt die Methanolkonzentration für eine Auszehrung von 20 sec. in der Meßzelle 150 mg Methanol/l.

Der Vorteil der Erfindung besteht besonders darin, daß sich die Vorrichtung durch einen einfachen Aufbau und das Verfahren durch eine einfache Handhabung auszeichnet. Dadurch eignet sie sich besonders für die Bestimmung niedriger Substratrestkonzentrationen, die für eine optimale Prozeßführung günstig sind.

Die Bestimmung der Substratrestkonzentration kann unmittelbar am Fermentor ohne jede Probenvorbereitung durchgeführt werden.

Das Ergebnis liegt innerhalb weniger Sekunden vor, im Gegensatz zu den üblichen chemischen Analysen und herkömmlichen Verfahren.

Erfindungsanspruch

1. Verfahren zur Konzentrationsbestimmung wasserlöslicher Fermentationssubstrate, gekennzeichnet dadurch, daß eine Probe des Fermentationsmediums in eine als
5 Meßzelle gestaltete Vorrichtung gegeben wird, dort ohne Substratzugabe bei Belüftung bis zum Wachstumsstillstand der Mikroorganismen verbleibt und dieser Zeitpunkt durch ein Indikatorsystem angezeigt wird.
2. Verfahren nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß
10 das Indikatorsystem aus einer der Meßeinrichtungen Gelöst-Sauerstoff-Elektrode, pH-Elektrode, Redox-Elektrode, Mikrokalorimeter, Abluftmeßgerät oder Cytochrom-Gerät besteht.
3. Vorrichtung zur Konzentrationsbestimmung wasserlöslicher Fermentationssubstrate, gekennzeichnet dadurch,
15 daß die Meßzelle aus einem temperierbaren, mit Begasungseinrichtung und Indikatorsystem (6) versehenen zylindrischen Gefäß (1) besteht, wobei der Boden des Gefäßes (1) eine Frittenplatte (2) enthält, durch die
20 die Luft eintritt, oberhalb der Frittenplatte (2) das Zulaufrohr (4) für das Fermentationsmedium und im oberen Drittel des zylindrischen Gefäßes (1) das Überlaufrohr (5) für das Fermentationsmedium und die austretende Luft angeordnet ist.

Hierzu 1 Seite Zeichnungen

