



(12) Ausschließungspatent

(11) DD 295 867 A5

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1
Patentgesetz der DDR
vom 27. 10. 1983
in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) C 12 N 1/00
C 12 Q 3/00

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) DD C 12 N / 318 368 2 (22) 28.07.88 (44) 14.11.91

- (71) Akademie der Wissenschaften, Otto-Nuschke-Straße 22/23, O - 1080 Berlin, DE
(72) Menzel, Klaus-Dieter; Schulz, Volkmar, Dr. rer. nat.; Riesenberger, Dieter, Dr. sc. nat., DE
(73) Akademie der Wissenschaften, Zentralinstitut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie, Beutenberg-
straße 11, O - 6900 Jena, DE
(74) siehe (73)

(54) Verfahren zur Steuerung des Wachstums von aerob-submersen Mikroorganismen-Kulturen

(55) hochproduktive Steuerung; Wachstum, aerob-submers; Mikroorganismen-Fermentationen; stabilisierter Kultivierungszustand; Sauerstoff-Übergangsrate OTR; primäre Fermentationsparameter

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Steuerung des Wachstums von aerob-submersen Mikroorganismen-Kulturen. Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur hochproduktiven Steuerung des Wachstums von aerob-submersen Mikroorganismen-Fermentationen. Sie verfolgt das Ziel, die Produktivität von nicht-kontinuierlichen, aerob-submersen Fermentationen für Mikroorganismen zu erhöhen. Die diesem Ziel zugeordnete Aufgabe wird gelöst, indem, nachdem die Fermentationskultur am Verfahrensbeginn in einen sogenannten stabilisierten Kultivierungszustand gebracht worden ist, das weitere Wachstum der Kultur durch definierte Änderung der Sauerstoff-Übergangsrate OTR gesteuert wird. Die Einstellung sowie Veränderung dieser Übergangsrate erfolgt durch Variation wenigstens eines zugeordneten primären Fermentationsparameters (Belüftungsrate, Rührerdrehzahl, Zirkulationsmengenstrom oder Fermentordruck).

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Steuerung des Wachstums von aerob-submersen Mikroorganismen-Kulturen, **gekennzeichnet dadurch**, daß in der Startphase dieser Kultivierung bei Absinken der Gelöst-Sauerstoff-Konzentration auf 10% bis 80% ihres Sättigungswertes ein stabiler Kultivierungszustand, charakterisiert durch Limitation wenigstens eines Substrates sowie durch Stabilisierung der Gelöst-Sauerstoff-Konzentration auf einem nicht das Wachstum limitierenden Niveau, eingeleitet wird, und anschließend eine stetige und/oder schrittweise-approximierte, tendenziell steigende Veränderung der Sauerstoff-Übergangsrate OTR entlang einer proportionalen Abbildung des gewählten weiteren Wachstumsverlaufes bis zum Erreichen eines verfahrens- oder reaktortechnischen Maximalwertes vorgenommen wird.
2. Verfahren gemäß Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Sauerstoff-Übergangsrate OTR schrittweise, relativ um 0,5% bis 20% je Schritt, verändert wird.
3. Verfahren gemäß Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Sauerstoff-Übergangsrate OTR schrittweise mit konstanter relativer Schrittweite von 1% bis 20%, vorzugsweise 10% bis 20%, vorzugsweise 10% bis 20%, in konstanten Zeitintervallen der Dauer einer 0,014- bis 0,26-, vorzugsweise 0,14- bis 0,26fachen Verdopplung der mikrobiologischen Kultur erhöht wird.
4. Verfahren gemäß Anspruch 1 bis 3, **gekennzeichnet dadurch**, daß an Knickpunkten des gewählten weiteren Wachstumsverlaufes, an denen sich die spezifische Wachstumsrate μ um 10% bis 90% verringert, eine sprunghafte Reduzierung der Sauerstoff-Übergangsrate OTR um 7% bis 70% vorgenommen wird.
5. Verfahren gemäß Anspruch 1 bis 3, **gekennzeichnet dadurch**, daß an Knickpunkten des gewählten weiteren Wachstumsverlaufes, an denen sich die spezifische Wachstumsrate μ um 10% bis 90% verringert, eine Fixierung der Sauerstoff-Übergangsrate OTR auf dem erreichten Niveau für die Dauer einer 0,26- bis 1,5fachen Verdopplung der mikrobiologischen Kultur vorgenommen wird.
6. Verfahren gemäß Anspruch 1 bis 5, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Kultivierung innerhalb des stabilisierten Kultivierungszustandes in eine zyklische fed-fatch-Fermentation überführt wird, und die Sauerstoff-Übergangsrate OTR am Ende jedes Zyklus um jenen Faktor verringert wird, um den infolge der Zugabe frischen Nährmediums die Biotrockenmassekonzentration abnimmt.
7. Verfahren gemäß Anspruch 1 bis 6, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Einstellung und Veränderung der Sauerstoff-Übergangsrate OTR durch primäre Fermentationsparameter wie
 - Rührerdrehzahl oder Zirkulationsmengenzustrom,
 - Belüftungsrate,
 - Fermentordruck,
 - Sauerstoffgehalt des Belüftungsgases,
 - Sollwert der Gelöst-Sauerstoff-Konzentration
 vorgenommen wird.

Hierzu 1 Seite Zeichnung

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur hochproduktiven Steuerung von aerob-submersen Mikroorganismen-Fermentationen. Solche mikrobiellen Verfahren werden bekanntlich herangezogen, um einerseits Biotrockenmasse X und single cell-Protein bzw. andererseits nützlich einsetzbare Stoffe wie etwa ausgewählte Aminosäuren, Sekundärmetaboliten oder – nach Modifizierung der jeweils gewählten Produktionsstämme mittels gentechnologischer Techniken – heterologe Genprodukte vorzugsweise eukaryotischen Ursprungs zu gewinnen. Das Anwendungsgebiet der Erfindung liegt somit in der Biotechnologie, speziell in der mikrobiologisch-pharmazeutischen Forschung und Industrie sowie auch bei der Abwasserbehandlung.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Bekanntlich hängt die spezifische Geschwindigkeit und damit der zeitliche Verlauf des Wachstums einer mikrobiellen Kultur entscheidend ab von primären, d. h. aufgeprägten Parametern des Fermentationsprozesses, wie der Temperatur und dem pH-Wert sowie weiterhin von den Substratkonzentrationen im Fermentationsmedium (S. J. Pirt, Principles of Microbe and Cell Cultivation, Blackwell Scientific, 1975). Die Variation der Temperatur ist unter anderem dadurch begrenzt, daß bestimmte erwünschte Stoffwechselvorgänge, so zum Beispiel die Produktbildung, relativ schmale Temperatur-Optima besitzen. Dies gilt in analoger Weise auch für die pH-Wert-Variation. Fermentationsverfahren, bei denen der Wachstumsverlauf über eine zeitabhängige Zufütterung limitierender Substrate gesteuert wird, sind schon mehrfach beschrieben worden (V. M. Fishman und V. V. Biryukow, Biotechn. Bioeng. Symp. 4, 1974, 647–662; J. Fieschko und T. Ritsch, Chem. Eng. Commun. 45, 1986, 229–240). Bei

diesen Verfahren wirkt sich besonders nachteilig aus, daß eine Echtzeitmessung der aktuellen Substratkonzentration im Kulturmedium (als Steuergröße) nur in Ausnahmefällen (und dann nur auf der Grundlage eines hohen technischen Aufwandes) möglich ist (W. Crueger u. A. Crueger, Biotechnologie – Lehrbuch der angew. Mikrobiologie, Oldenburg Verlag, 1984). Eine Alternative besteht in der Messung on-line verfügbarer, sekundärer, d. h. responsiver, infolge des Stoffwechsels veränderbarer Prozeßparameter wie Kohlendioxid- und Sauerstoff-Gehalt der Abluft, Wärmebildung u. a., und in deren Verwendung als Regelgrößen für die Substratzulaufsteuerung. So beschrieben Mou und Cooney vor einigen Jahren eine computergestützte fed-batch-Penicillin-Fermentation, bei der über einen bestimmten Zeitraum der Kultivierung die Substratzufütterung gemäß einem Sollwert-Zeitverlauf des Kohlendioxid-Gehaltes der Abluft geführt wird (D. G. Mou u. C. L. Cooney, Biotech. Bioeng. 25, 1983, 257–269). Der Nachteil dieses Verfahrens besteht in erster Linie darin, daß die Steuerung nur für eine begrenzte Wachstumsperiode in Abhängigkeit des CO_2 -Gehaltes der Abluft geführt werden kann. Von W. W. Anuvriew wurde ein System vorgeschlagen, welches die Substratzufütterung hingegen in Abhängigkeit von dem in der Belüftung gemessenen Sauerstoff-Verbrauch der Kultur sowie eines zeitvariablen Sollwertes, inklusive einer Erhöhung der Belüftung bei steigendem Sauerstoff-Verbrauch, korrigiert durch Signale der aktuellen Biomasse-Konzentration und der jeweiligen Temperatur, steuert (Patentschrift SU 1027209). Nachteilig ist an diesem System insbesondere der hohe technische Aufwand. Prinzipiell besteht die Schwierigkeit, daß die Beurteilung des jeweiligen aktuellen Prozeßzustandes – vor allem hinsichtlich der Substratversorgung – über die genannten sekundären Parameter bzw. Meßgrößen mit Unschärfen verbunden ist. Weitere Methoden der Steuerung des Wachstums über den Substratzulauf beinhalten die Verwendung eines on-line meßbaren Signales der Biomasse-Konzentration als Regelgröße (siehe Patentschrift DD 200431). Die Gewinnung eines solchen Signales ist jedoch oft nur ungenau oder mit erheblichem technischen Aufwand realisierbar.

Neben den Kohlenstoff- sowie Stickstoffquellen, neben Phosphat und anderen Substanzen kann bekanntlich auch der für das aerobe Wachstum benötigte Sauerstoff als limitierendes Substrat fungieren. Für verschiedene Mikroorganismen, so z. B. für *Escherichia coli* und für *Saccharomyces cerevisiae*, sind Angaben über die kritische Konzentration des Gelöstsauerstoffes im Kulturmedium, bei deren Unterschreitung die Sauerstoff-Aufnahmerate OUR mit der Gelöstsauerstoff-Konzentration korreliert, gemacht worden. Befindet sich die Kultur im steady state, also beispielsweise in einer Chemostatenkultur, so kann das Verhältnis von spezifischer Wachstumsrate μ und Sauerstoff-Aufnahmerate OUR hinreichend genau bestimmt werden. Für batch- und fed batch-Verfahren, bei denen kein Fließgleichgewicht existiert, kann eine derartige Aussage bisher nicht getroffen werden, weil der jeweilige Momentanwert des Sauerstoff-Konversionsgrades sowie des Sauerstoff-Erhaltungskoeffizienten von verschiedenen Kultivierungsparametern – wie Substratkonzentrationen, C/N-Verhältnis u. a. – abhängt (W. Crueger u. A. Crueger, a. a. O.).

Es ist auch bereits bekannt, die Gelöst-Sauerstoffkonzentration im Kulturmedium durch Variation der Zuflußrate bei der Zufütterung verbrauchter Nährsubstrate auf einen bestimmten (vorgegebenen) Wert einzustellen und konstant zu halten (DD 256 149 A 1). Die vorgeschlagene Verfahrensweise, die insbesondere die Produktion hoher Biotrockenmasse-Konzentrationen zum Ziel hat, ist durch einen charakteristischen Fermentationsverlauf gekennzeichnet, ohne jedoch die gezielte Einstellung eines bestimmten ausgewählten Wachstumsverlaufes oder einer ausgewählten spezifischen Wachstumsrate μ zu beinhalten.

Ziel der Erfindung

Die Erfindung verfolgt das Ziel, die Produktivität von aerob-submersen Fermentationskulturen für Mikroorganismen zu erhöhen und damit eine Steigerung der Ausbeute zellulärer Produkte zu erreichen.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein einfaches fermentatives Verfahren zu beschreiben, mit dem unter Rückgriff auf variable primäre Fermentationsparameter eine effektive Steuerung des Wachstums aerob-submerser Mikroorganismen-Kulturen realisiert werden kann.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe wie folgt gelöst:

Für den jeweils ausgewählten Mikroorganismus, der in ein Kulturmedium eingebracht worden ist, welches Kohlenstoff- und Stickstoffquellen sowie Mineralsalze enthält, wird in einem belüfteten Fermentationsgefäß die Kultivierung in an sich bekannter Weise gestartet. Zur Fermentation werden aerob kultivierbare Bakterien, Hefen, Pilze oder deren Rekombinanten eingebracht. In der Startphase dieser Kultur wird in einem Zeitpunkt, in dem ein signifikantes Absinken der Gelöst-Sauerstoff-Konzentration auf 10% bis 80% ihres Sättigungswertes erkennbar ist, ein stabilisierter Kultivierungszustand, charakterisiert durch Limitation wenigstens eines Substrates sowie einer Stabilisierung der Gelöst-Sauerstoff-Konzentration auf einem nicht das Wachstum limitierenden Niveau, eingeleitet. Der so bezeichnete Kultivierungszustand wird erzeugt durch Anwendung jenes Verfahrens und jener Vorrichtung zur Regelung der Gelöst-Sauerstoff-Konzentration, welche Gegenstand der voranstehend skizzierten früheren Patentanmeldung des Zentralinstituts sind.

Für einen in den stabilisierten Kultivierungszustand gebrachten aeroben Fermentationsprozeß wurde nun gefunden, daß

- eine eindeutige Abbildung zeitlicher Veränderungen der Sauerstoff-Übergangsrate OTR auf die Wachstumskinetik der Kultur erfolgt sowie
- eine in weiten Grenzen von Art, Menge und Verhältnis der nichtlimitierenden Substratkomponenten unabhängige, fixe Relation zwischen der spezifischen Sauerstoff-Aufnahmerate q und der spezifischen Wachstumsrate μ der mikrobiologischen Kultur besteht.

Die Relation zwischen der spezifischen Sauerstoff-Aufnahmerate q und der spezifischen Wachstumsrate μ wird durch das Modell

$$q = m + \mu/y$$

mit m = Sauerstoff-Erhaltungskoeffizient
und y = Sauerstoff-Ertragskoeffizient

beschrieben.

Innerhalb des stabilisierten Kultivierungszustandes haben Sauerstoff-Aufnahmerate OUR und Sauerstoff-Übergangsrate OTR gleiche Beträge. Die Werte der Koeffizienten (m , y) können für den jeweiligen Mikroorganismus als Konstanten betrachtet werden.

Nach Einleitung des stabilisierten Kultivierungszustandes beginnt nun eine gezielte, stetige und/oder schrittweise approximative, tendenziell steigende Veränderung der Sauerstoff-Übergangsrate OTR entlang einer proportionalen Abbildung des gewählten weiteren Wachstumsverlaufes, die bis zum Erreichen eines reaktor- oder verfahrenstechnisch determinierten Maximalwertes fortgesetzt wird. Unter einer proportionalen Abbildung wird hierbei verstanden, daß der Betrag der Sauerstoff-Übergangsrate OTR in einem bestimmten Zeitintervall um jenen Faktor vergrößert wird, um den sich die Wachstumsgrößen, z. B. Biomasse, Zellzahl o. ä., im gleichen Zeitintervall erhöhen soll.

Bei der schrittweisen Approximation einer proportionalen Abbildung des Wachstumsverlaufes wird eine relative Änderung der Sauerstoff-Übergangsrate OTR um 0,5 % bis 20 % je Schritt vorgenommen. Die Abbildungstreue, mit der das mikrobiologische Wachstum den aufgeprägten Veränderungen der Sauerstoff-Übergangsrate OTR folgt, verhält sich umgekehrt proportional zur relativen Schrittweite und ist bei einer stetigen Veränderung der Sauerstoff-Übergangsrate OTR am höchsten.

Eine spezielle Form einer schrittweisen Veränderung der Sauerstoff-Übergangsrate OTR bewirkt die Realisierung eines weiteren Wachstumsverlaufes mit einer konstanten spezifischen Wachstumsrate μ . Dazu wird die Sauerstoff-Übergangsrate OTR mit konstanter relativer Erhöhung um 1 % bis 20 %, vorzugsweise 10 % bis 20 % je Schritt, in konstanten Zeitabständen der Dauer einer 0,014- bis 0,26fachen, vorzugsweise 0,14- bis 0,26fachen, Verdopplung der mikrobiologischen Kultur, verändert. Zwischen der relativen Schrittweite und den Zeitabständen zwischen zwei Schritten besteht in den genannten Wertebereichen annähernd Proportionalität, so daß Zwischenwerte hinreichend genau interpoliert werden können.

Die Verdopplungszeit T_d wird durch die ausgewählte spezifische Wachstumsrate μ gemäß der Beziehung

$$T_d = 1 \ln 2 / \mu$$

bestimmt. Enthält der gewählte weitere Wachstumsverlauf Knickpunkte, an denen sich die spezifische Wachstumsrate μ verringert, so wird die Führung der Sauerstoff-Übergangsrate OTR entlang einer proportionalen Abbildung des Wachstumsverlaufes an diesen Stellen durch eine sprunghafte Veränderung ergänzt oder durch eine zeitlich begrenzte Fixierung unterbrochen. Eine sprunghafte Reduzierung der Sauerstoff-Übergangsrate OTR um 7 % bis 70 % führt zu einer sprunghaften Reduzierung der spezifischen Wachstumsrate μ um 10 % bis 90 %. Dagegen bewirkt eine Fixierung der Sauerstoff-Übergangsrate OTR auf dem eben erreichten Niveau für die Dauer der 0,26- bis 1,5fachen Verdopplung der mikrobiologischen Kultur eine stetige Absenkung der spezifischen Wachstumsrate μ um 10 % bis 90 % in diesem Zeitintervall.

Wird innerhalb des stabilisierten Kultivierungszustandes die Fermentation in eine zyklische fed-batch-Fermentation überführt, dann wird am Ende eines jeden Zyklus die Sauerstoff-Übergangsrate OTR um jenen Faktor verringert, um den infolge der Zugabe Nährmediums die Biotrockenmasse-Konzentration abnimmt.

Zur Einstellung und Veränderung der Sauerstoff-Übergangsrate OTR werden primäre Fermentations- oder Belüftungsparameter, wie

- Rührerdrehzahl- oder Zirkulationsmengenstrom,
- Belüftungsrate,
- Fermentordruck,
- Sauerstoffgehalt des Belüftungsgases,
- Sollwert der Gelöst-Sauerstoff-Konzentration

herangezogen, wobei bevorzugt einer dieser Parameter verändert und die übrigen konstant gehalten werden.

Die Anwendung des beschriebenen Verfahrens bietet im Vergleich zu bisher bekannten Lösungen nachstehende Vorteile:

1. Das zugrundegelegte Steuerungsprinzip unabhängig und ohne Rückkopplung von Verfahrensbedingungen ist mit niedrigem Aufwand und hoher Zuverlässigkeit unter Verwendung üblicher Fermentortechnik realisierbar.
2. Der Grad der Sauerstoffversorgung als primäre Steuergröße ist über die on-line-Erfassung der Gelöst-Sauerstoff-Konzentration sowie der Sauerstoff-Konzentration in Zu- und Abluft direkt meßbar.
3. Die vorgeschlagene Verfahrensweise ist innerhalb der Gruppe der aerob kultivierbaren Mikroorganismen leicht übertragbar.
4. Das Verfahren zeichnet sich durch eine hohe Reproduziergenauigkeit und Robustheit aus.

Ausführungsbeispiel

Im belüfteten 30-l-Rührfermentor wird der Stamm *Escherichia coli* TG 1 in einem Glucose-Mineralsalzmedium unter aseptischen Bedingungen aerob kultiviert. Die Fermentation erfolgt mit der Maßgabe, daß nach Erreichen einer Biotrockenmasse-Konzentration von 10 g/l bis 15 g/l (Biotrockenmasse X) das weitere Wachstum mit einer spezifischen Wachstumsrate μ von 0,15/h bis zu hohen Biotrockenmassen X geführt wird.

Temperatur und pH-Wert werden auf Werten von 29 °C und pH 6,9 während der gesamten Fermentation konstant gehalten.

Die Gelöst-Sauerstoff-Konzentration im Kulturmedium soll einen Wert von 20 % der Sauerstoff-Sättigungskonzentration pO_2 nicht unterschreiten. Glucose als limitierendes Substrat wird zu Fermentationsbeginn in einer begrenzten Menge von 25 g/l Nährlösung vorgelegt. Alle weiteren Komponenten des Nährmediums sind für ein Wachstum bis zu Biotrockenmassekonzentrationen von 60 g/l ausreichend enthalten.

Die Veränderung der Sauerstoff-Übergangsrate OTR wird allein über die im Bereich von 0rpm bis 1000rpm stufenlos verstellbare Rührerdrehzahl N vorgenommen.

Die Belüftungsrate von 1,0vvm und der Fermentorüberdruck von 70kPa werden vor Fermentationsbeginn eingestellt und während der gesamten Kultivierung konstant gehalten.

Mit Zugabe des Inoculums entsprechend einer Menge von 1,25g Biotrockenmasse X und 14l Nährlösung erfolgt zu 0. Fermentationsstunde (0 · h) der Start der Fermentation bei einer Rührerdrehzahl N von 300rpm und einer relativen Sauerstoffsättigungskonzentration pO_2 von 100%. Nach Überwindung einer kurzen Lag-Phase beginnt ein exponentielles Wachstum mit einer spezifischen Wachstumsrate μ von 0,45/h. Durch Zunahme des Sauerstoffverbrauches der Kultur sinkt die Sauerstoff-Sättigungskonzentration pO_2 stetig ab und erreicht zur 10. Stunde die Schwelle von 20%. Ein weiteres Absinken wird zunächst durch schrittweise Erhöhung der Rührerdrehzahl N kompensiert.

Zur 12,5. Stunde ist bei einer Biotrockenmasse X von 12,2g/l bzw. 163g/Fermentor (Biotrockenmasse X) und einem erreichten Wert der Rührerdrehzahl N_0 von 500rpm die vorgelegte Glucose im Kulturmedium verbraucht. Im weiteren wird die Sauerstoff-Sättigungskonzentration pO_2 mittels einer Regel- und Dosiervorrichtung über stetige Zufütterung von Glucoselösung auf dem konstanten Sollwert von 20% stabilisiert. In den nun folgenden postexponentiellen Kultivierungsphasen stellt sich eine sehr niedrige, wachstumslimitierende Konzentration kleiner als 0,2g Glucose/l Kulturlösung ein.

Nun wird für eine Zeit von 3 Stunden, gleich der Dauer einer Verdopplung der Biomasse, die Sauerstoff-Übergangsrate OTR durch Konstanthaltung der Rührerdrehzahl N (500rpm) auf dem erreichten Wert von etwa 35% ihres verfahrenstechnischen Maximalwertes fixiert. Dabei sinkt bei Fortdauer des Wachstums der Kultur die spezifische Wachstumsrate μ stetig von dem Anfangswert $\mu = 0,45/h$ auf den angestrebten Wert $\mu = 0,15/h$ ab.

In der darauffolgenden Phase der Kultivierung wird nun die Sauerstoff-Übergangsrate OTR proportional zum Wachstum in Form einer stetigen Veränderung erhöht.

Der gewählte weitere Wachstumsverlauf mit einer konstanten, reduzierten spezifischen Wachstumsrate $\mu = 0,15/h$ bedeutet eine stetige Erhöhung der Biomasse um den Faktor $\exp 0,15$ je Stunde. Diese Veränderung wird gemäß der Steuergleichung

$$OTR = OTR_0 \cdot \exp \mu t; OTR_0 = OTR(t = 0)$$

proportional auf die Sauerstoff-Übergangsrate OTR abgebildet. Der Zeitpunkt $t = 0$ wird dem Beginn dieser Veränderung zur 15,5. Fermentationsstunde zugeordnet.

Für das verwendete Rührer/Reaktor-System und unter den bestehenden rheologischen Bedingungen wird das Verhältnis von Sauerstoff-Übergangsrate OTR und Rührerdrehzahl N durch die Proportion

$$OTR \sim N^{2/3}$$

beziehungsweise deren Umkehrung

$$N \sim OTR^{3/2}$$

beschrieben.

Davon ausgehend lautet die auf die Rührerdrehzahl N übertragene Steuergleichung:

$$N(t) = N_0 \cdot \exp (2/3 \cdot \mu \cdot t),$$

mit $N(t)$ = Sollwert der Rührerdrehzahl N

N_0 = Anfangswert der Rührerdrehzahl N (500rpm)

μ = spezifische Wachstumsrate (0,15/h)

t = Zeitmaßstab ($0 \leq t \leq 7$ h).

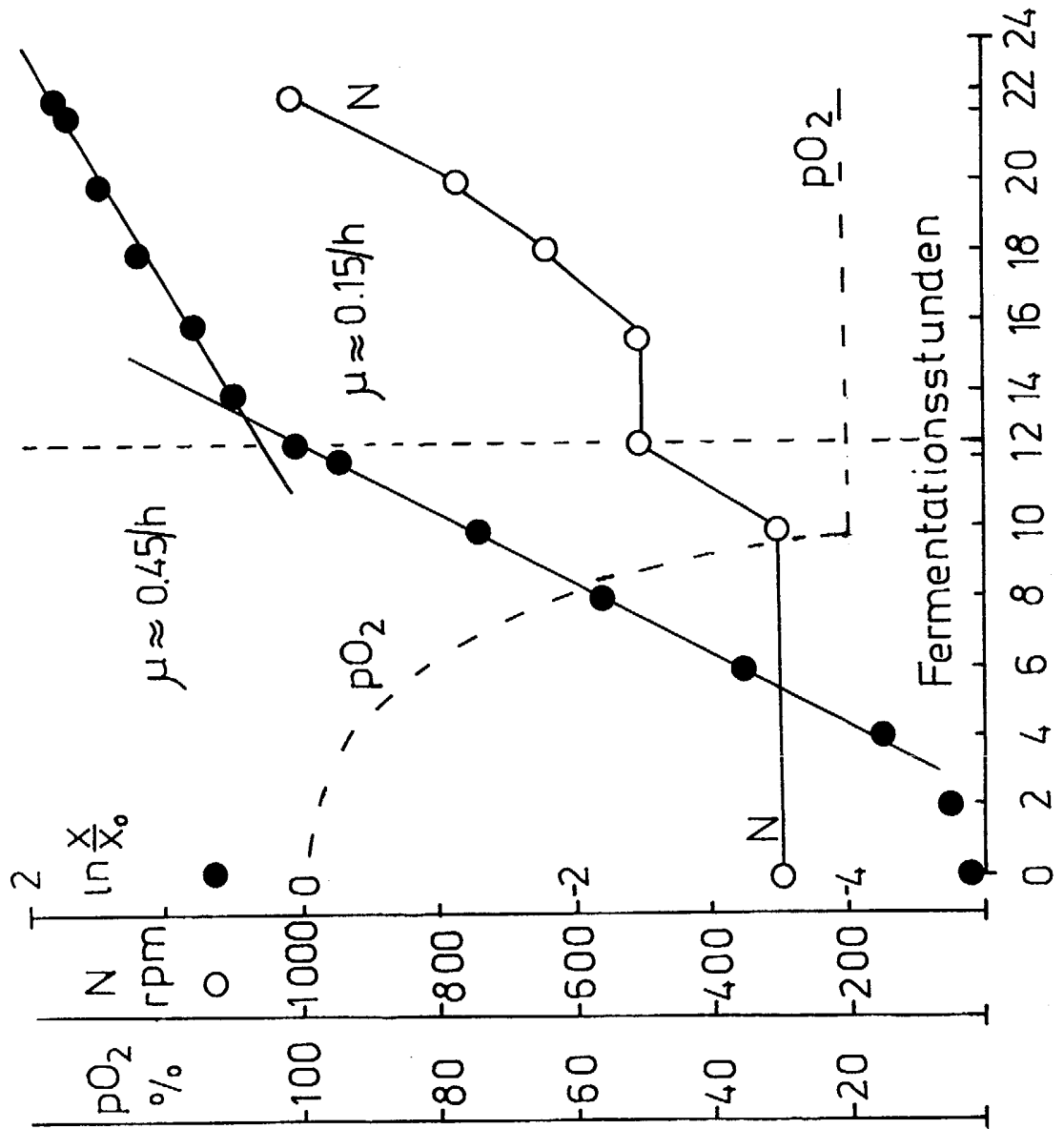
Damit wird die Rührerdrehzahl N stetig, innerhalb einer Zeitspanne von 7 Stunden, bis auf den reaktortechnischen Maximalwert von 1000rpm erhöht.

An diesem Punkt erfolgt zur 22,5. Fermentationsstunde der Abbruch der Kultivierung.

Es wird eine Biotrockenmasse X von 55g/l beziehungsweise 940g/Fermentor geerntet. Das Arbeitsvolumen hat sich durch Zudosierung der Glucoselösung auf 17l erhöht.

Die Figur zeigt den resultierenden zeitlichen Verlauf

- der Biotrockenmasse X/Fermentor im halblogarithmischen Maßstab $\ln(X/X_0)$ mit $X_0 = 163g$ = Biotrockenmasse X zur 12,5. Fermentationsstunde
- der Rührerdrehzahl N und
- der Sauerstoff-Sättigungskonzentration pO_2 in linearem Maßstab.



Figur