



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) **DD** (11) **224 615 A1**

4(51) C 12 N 1/00

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	WP C 12 N / 259 253 7	(22)	06.01.84	(44)	10.07.85
------	-----------------------	------	----------	------	----------

(71)	VEB Getreidewirtschaft Malchin, 2040 Malchin, Industriegelände, DD
(72)	Brandt, Karl-Heinz, Dipl.-Ing.; Frommholz, Gerhard, Dipl.-Ing.; Lemke, Marion, Dipl.-Biol.; Zimmer, Rudolf, DD

(54) Verfahren zur Steigerung der Leistungsfähigkeit von Mikroorganismen

(57) Die Erfindung betrifft ein biotechnologisches Verfahren zur Kultivierung von Mikroorganismen durch aerobe Fermentation. Das Ziel der Erfindung besteht darin, die Verwertung der Kohlenstoffsubstrate durch Mikroorganismen so zu beeinflussen, daß daraus eine höhere Ausbeute an Zellsubstanz resultiert. Das Ziel wird dadurch erreicht, daß die dem Fermentor zugeführten Flüssigkeitsströme zuvor einem magnetischen Feld ausgesetzt wurden. Das Magnetfeld kann durch einen Permanentmagneten oder vorzugsweise einen Elektromagneten erzeugt werden. Zur Steuerung der Magnetisierung können die Verweilzeit der Flüssigkeit sowie die magnetische Feldstärke variiert werden. Die magnetische Feldstärke lag zwischen 10^1 – 10^9 A/m, vorzugsweise zwischen 10^3 – 10^9 A/m. Die Erfindung kann in der mikrobiologischen Industrie zur Erzeugung von mikrobiellen Eiweiß sowie anderen Stoffwechselprodukten der gezüchteten Mikroorganismen wie Enzyme, organische Säuren und Antibiotika genutzt werden.

Erfindungsansprüche:

1. Verfahren zur Steigerung der Leistungsfähigkeit von Mikroorganismen bei der Fermentation von Kohlenstoffsubstraten, **dadurch gekennzeichnet**, daß die dem Fermentor zugeführten Flüssigkeitsströme zuvor einem Magnetfeld mit zeitlich konstanter Polung ausgesetzt werden.
2. Verfahren nach Punkt 1, wobei das Magnetfeld durch Permanentmagneten oder Elektromagneten erzeugt wird.
3. Verfahren nach Punkt 1, wobei zum Betrieb des Elektromagneten eine konstante oder pulsierende Gleichspannung verwendet wird.
4. Verfahren nach Punkt 1, wobei die magnetische Feldstärke zwischen $10^1 \dots 10^9$ A/m, bevorzugt zwischen $10^3 \dots 10^9$ A/m liegt.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft das Gebiet der mikrobiologischen Industrie, speziell kontinuierlich betriebene Verfahren zur Erzeugung von mikrobiellen Biomassen.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Bei der Züchtung von Mikroorganismen, die beispielsweise als Eiweißquelle für Futterzwecke Verwendung finden, wird angestrebt, daß die zur Verfügung stehende Kohlenstoffquelle optimal genutzt wird. Der spezifische Verbrauchskoeffizient, ausgedrückt als die zur Gewinnung einer Gewichtseinheit Trockenprodukt notwendige Kohlenstoffsubstratmenge, soll möglichst niedrig sein.

Bekanntermaßen wird das dadurch erreicht, daß die für eine optimale Verwertung des Kohlenstoffsubstrates günstigen Milieubedingungen für die Mikroorganismen, wie pH-Wert, Temperatur und Durchflußrate, aufrechterhalten werden. Des weiteren muß durch eine geeignete Zusammensetzung der Nährlösung dafür gesorgt werden, daß den Mikroorganismen alle für ihr Wachstum notwendigen anorganischen Ionen und akzessorischen Substanzen in ausreichender Menge zugeführt werden. Dadurch wird das Wachstum der Mikroorganismen allein durch das Kohlenstoffsubstrat begrenzt, wodurch eine hohe Ausbeute an Zellsubstanz erzielbar ist.

Ebenso muß auch die ausreichende Versorgung der Mikroorganismen mit Sauerstoff gewährleistet sein, um eine Gelöst-Sauerstoff-Konzentration über 0 ppm im Fermentationsmedium aufrechtzuerhalten und Sauerstofflimitation zu vermeiden. Über diese allgemeinen Züchtungsbedingungen hinaus wurden spezielle Verfahren angegeben, um durch physikalische Mittel das Wachstum von Mikroorganismen zu beschleunigen und mikrobiologische Prozesse effektiver zu gestalten.

In der OS DE 2020068 wird beschrieben, wie durch Einwirkung von Druckstößen auf eine Mikroorganismenpopulation die Aufnahme der in der wäßrigen Phase vorhandenen Nährsubstrate durch die Zellen verbessert werden konnte, womit eine Verkürzung der Generationszeit der Mikroorganismen verbunden war. Die Aktivierung von Luftsauerstoff, der für die Sauerstoffversorgung von Mikroorganismen verwendet wird, wird in der OS DE 2213904 beschrieben.

Die Luft wurde vor dem Eintritt in den Fermentor einem magnetischen Feld ausgesetzt. Bei Wachstumsversuchen mit Bakterien bewirkte der magnetisierte Sauerstoff eine erhebliche Steigerung des Wachstums gegenüber Bakterien, die mit unbehandelten Sauerstoff begast wurden.

Schließlich wird in der PS DD 124913 ein Verfahren zur Verbesserung der biologischen Abwasserreinigung beschrieben, in dem die Mikroorganismen einem elektromagnetischen Feld ausgesetzt wurden. Durch Einwirkung des elektromagnetischen Feldes wurde der Stoffwechselprozeß der Mikroorganismen beschleunigt, so daß die Aufenthaltszeit des zu reinigenden Abwassers im Bioreaktor verkürzt werden konnte. Bei gleichbleibendem Durchsatz konnte das Reaktorvolumen wesentlich verkleinert werden.

Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung besteht darin, die Verwertung von Kohlenstoffsubstraten durch Mikroorganismen so zu beeinflussen, daß daraus eine höhere Ausbeute an Zellsubstanz resultiert.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, durch Vorbehandlung der dem Fermentor zugeführten Flüssigkeitsströme mit physikalischen Mitteln den Stoffwechselprozeß der Mikroorganismen so zu beeinflussen, daß der Umsatz des Kohlenstoffsubstrates zu Zellmasse steigt.

Es wurde gefunden, daß der spezifische Verbrauch an Kohlenstoffsubstrat bei der Züchtung von Mikroorganismen gesenkt werden kann, wenn die dem Fermentor zugeführten Flüssigkeitsströme zuvor einem magnetischen Feld ausgesetzt wurden. Das Magnetfeld kann durch einen Permanentmagneten oder einen Elektromagneten erzeugt werden.

Günstig sind Elektromagnete, weil die Flüssigkeit in einfacher Weise in einem Rohr aus unmagnetischen Material durch die Magnetspule geleitet werden kann.

Zur Steuerung der Magnetisierung können die Verweilzeit der Flüssigkeit im Magnetfeld sowie die magnetische Feldstärke variiert werden.

Die günstigste magnetische Feldstärke lag bei Untersuchungen im Laboratoriumsmaßstab bei 10^3 – 10^5 A/m, bei Anwendung im Produktionsmaßstab bei 10^4 – 10^9 A/m.

Der Magnetisierungseffekt ist am größten, wenn die Flüssigkeit durch ein Magnetfeld mit zeitlich konstanter Polung geleitet wird. Dementsprechend muß die dem Elektromagneten zugeführte Spannung eine Gleichspannung sein.

Wie Versuche zeigten, ist pulsierende Gleichspannung weniger wirksam als eine geglättete Gleichspannung.

Mit Wechselspannung erzeugte Magnetfelder hatten keinen oder nur geringen Einfluß auf die Effektivität der Substratverwertung.

Zur technischen Anwendung der Erfindung gibt es verschiedene Möglichkeiten.

Einem Fermentor werden meist mehrere Flüssigkeitsströme zugeführt. Von diesen Flüssigkeitsströmen können mehrere oder nur einer durch ein Magnetfeld geleitet werden.

Der Weg zwischen Magnetfeld und Fermentoreingang soll möglichst kurz sein.

Die Erfindung wird an den folgenden Beispielen erläutert.

Beispiel 1

In einem Rührfermentor mit einem Arbeitsvolumen von 40 l wurde ein Gemisch von Rohrohrzucker und Melasse unter kontinuierlichen Fermentationsbedingungen mit einem Stamm von *Candida utilis* verheft.

Die Nährlösung hatte die folgende Zusammensetzung:

Saccharose	30 g/l
H ₃ PO ₄ 75 %	1,05 g/l
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0,33 g/l
FeSO ₄ · 7 H ₂ O	31,1 mg/l
ZnSO ₄ · 7 H ₂ O	10,5 mg/l
MnSO ₄ · 5 H ₂ O	10,5 mg/l
CuSO ₄ · 5 H ₂ O	1,9 mg/l

Folgende Fermentationsparameter wurden eingehalten:

pH-Wert des Fermentationsmediums	4,0
Fermentortemperatur	35 °C
Durchflußrate	0,25 h ⁻¹

Die Stickstoffversorgung der Hefe erfolgte mit wäßriger Ammoniaklösung über die pH-Regelung (der Gehalt an NH₄⁺ — N im Fermentationsmedium betrug 400–600 mg/l).

Die Sauerstoffversorgung der Hefe erfolgte mit Luft (ca. 1 l Luft/l Fermentorinhalt × min, Gelöst-O₂-Konzentration ≥ 2 ppm).

Die Fermentation erfolgte ohne magnetische Beeinflussung der dem Fermentor zugeführten Flüssigkeitsströme.

Die Versuchsdauer betrug 100 h.

Unter diesen Züchtungsbedingungen wurden folgende Ergebnisse erhalten:

Hefe-Konzentration	13,4 g HTS/l
Ausbeute	0,446 g HTS/g Sacch.
Produktivität	3,35 g HTS/l × h
Rohproteingehalt der Hefe	553 g/kg HTS

Beispiel 2

Die Züchtungsbedingungen waren identisch mit denen von Beispiel 1, ebenso die Versuchsdauer.

Die Nährlösung wurde kurz vor Eintritt in den Fermentor durch eine Magnetspule geleitet, die mit Wechselstrom (50 Hz) betrieben wurde. Die magnetische Feldstärke betrug 12300 A/m. Unter diesen Bedingungen wurden folgende Ergebnisse erhalten:

Hefe-Konzentration	13,7 g HTS/l
Ausbeute	0,457 g HTS/g Saccharose
Produktivität	3,42 g/l × h
Rohproteingehalt der Hefe	554 g/kg HTS

Die Ausbeute an Hefe erhöhte sich im Vergleich zu Beispiel 1 nur um 2,5%.

Beispiel 3

Die Züchtungsbedingungen waren identisch mit denen vom Beispiel 1, ebenso die Versuchsdauer.

Die Nährlösung wurde kurz vor Eintritt in den Fermentor durch eine Magnetspule geleitet, die mit pulsierendem Gleichstrom (erhalten aus Wechselstrom durch Einweggleichrichtung) betrieben wurde.

Die magnetische Feldstärke betrug 11200 A/m.

Unter diesen Bedingungen wurden folgende Ergebnisse erhalten:

Hefe-Konzentration	14,2 g HTS/l
Ausbeute	0,474 g HTS/g Saccharose
Produktivität	3,55 g HTS/l × h
Rohproteingehalt der Hefe	549 g/kg HTS

Die Ausbeute an Hefe erhöhte sich im Vergleich zu Beispiel 1 um 6,3%.

Beispiel 4

Die Züchtungsbedingungen waren identisch mit denen von Beispiel 1, ebenso die Versuchsdauer.

Die Nährlösung wurde kurz vor Eintritt in den Fermentor durch eine Magnetspule geleitet, die mit geglättetem Gleichstrom (Kapazität des Ladekondensators 50 µF) betrieben wurde. Die magnetische Feldstärke betrug 10800 A/m.

Unter diesen Bedingungen wurden folgende Ergebnisse erhalten:

Hefe-Konzentration	15,2 g HTS/l
Ausbeute	0,506 g HTS/g Sacch.
Produktivität	3,8 g HTS/l × h
Rohproteingehalt	554 g/kg HTS

Die Ausbeute an Hefe erhöhte sich im Vergleich zu Beispiel 1 um 13,4%.

Beispiel 5

In einem Produktionsfermentor mit einem Arbeitsvolumen von 100 m³ wurde ein Gemisch von Rohrohrzucker und Melasse unter kontinuierlichen Fermentationsbedingungen mit einem Stamm von *Candida utilis* verheft.

Die Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung

Saccharose	70 g/l
H ₃ PO ₄	2,415 g/l

Alle übrigen Nährstoffe entsprechen dem Saccharosegehalt analog Beispiel 1.

Die Fermentationsparameter waren identisch mit denen im Beispiel 1 angegebenen.

Die Fermentation erfolgte ohne magnetische Beeinflussung der den Fermentor zugeführten Flüssigkeitsströme.

Der Versuchszeitraum betrug 3360 Stunden.

Unter diesen Bedingungen wurden folgende Ergebnisse erhalten:

Hefekonzentration	32,13 g HTS/l
Ausbeute	0,459 g HTS/g Saccharose
Produktivität	8,03 g HTS/l $\times$ h
Rohproteingehalt d. Hefe	580 $\pm$ 20 g/kg HTS

Beispiel 6

Die Züchtungsbedingungen waren identisch mit denen von Beispiel 5.

Die Versuchsdauer betrug 336 h.

Die Nährlösung wurde kurz vor Eintritt in den Fermentor durch eine Magnetspule geleitet.

Die magnetische Feldstärke betrug $10^5 \dots 10^9$ A/m.

Unter diesen Bedingungen wurden folgende Ergebnisse erhalten:

Hefe-Konzentration	37,17 g/l
Ausbeute	0,531 g HTS/g Saccharose
Produktivität	9,29 g HTS/l $\times$ h
Rohproteingehalt der Hefe	580 g/kg HTS

Die Ausbeute erhöhte sich im Vergleich zu Beispiel 5 um 7,2%.