



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) DD (11) 232 927 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 / 271 670 1	(22)	27.12.84	(44)	12.02.86
------	-----------------------	------	----------	------	----------

(71)	VEB Chemieranlagenbaukombinat Leipzig/Grimma, Außenstelle Böhlen, 7202 Böhlen, PSF 12, DD
(72)	Hemmann, Hans-Georg, Dipl.-Ing.; Jagusch, Leonhard, Dipl.-Ing.; Schönherr, Werner, Dipl.-Ing., DD

(54)	Verfahren zur Kultivierung von Mikroorganismen mittels Umwälzbegasung
------	---

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Kultivierung von Mikroorganismen in Fermentoren mit hohem Raum-Zeit-Ausbeuten bzw. unter erhöhtem Systemdruck, die nach dem Umwälzprinzip arbeiten. Aufgabe und Ziel der Erfindung ist es, die bei diesen Fermentorsystemen auftretenden Sauerstoffmangelzonen in der Umwälzleitung zu beseitigen und damit ihre Effektivität zu erhöhen. Erfindungsgemäß werden zur Gewährleistung einer gleichmäßigen Sauerstoff- und Substratversorgung an den Stellen in der Druckseite der Umwälzleitung, wo eine kritische Gelöstsauerstoffkonzentration erreicht wird, eine oder mehrere Einspeisungen einer oder mehrerer sauerstoffhaltige Phasen unter gleichzeitiger Energiezuführung vorgenommen, wobei gleichzeitig eine Zugabe adäquater Mengen an kohlenstoffhaltigem Substrat und Nährsalzen an den Stellen der Energiezufuhr erfolgt. Als sauerstoffhaltige Phase wird Luft, technischer oder reiner Sauerstoff oder Prozeßgas enthaltendes Fermentationsmedium verwendet.

Erfindungsanspruch:

1. Verfahren zur Kultivierung von Mikroorganismen in Fermentoren mit, nach dem Umwälzprinzip arbeitenden Begasungsverfahren und externer Förderung, Entgasung und Druckerhöhung, **gekennzeichnet dadurch**, daß bei Fermentationsprozessen mit hohen Raum-Zeit-Ausbeuten bzw. unter erhöhtem Systemdruck eine oder mehrere Einspeisungen für eine oder mehrere sauerstoffhaltige Phasen bei gleichzeitiger Zufuhr von Energie, die aus dem in der Umwälzleitung strömenden Fermentationsmedium zur Einspeisung und Dispergierung der sauerstoffhaltigen Phase entnommen wird, vorzugsweise an den Stellen erfolgen, wo der in dem Fermentationsmedium gelöste Sauerstoff durch die Mikroorganismen weitgehend aufgezehrt ist, wobei die Zufuhr der sauerstoffhaltigen Phase und der Energie mit der gleichzeitigen Zugabe adäquater Mengen von kohlenstoffhaltigem Substrat und Nährsalzen gekoppelt ist.
2. Verfahren nach Punkt 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Einspeisung und Dispergierung der Sauerstoff enthaltenden Phase nur an einer Stelle der Umwälzleitung erfolgt und an einer oder mehreren Stellen eine weitere Energiezufuhr und Aufsättigung des Fermentationsmediums durchgeführt wird, und die Zugabe der adäquaten Mengen von kohlenstoffhaltigem Substrat und Nährsalzen an den Stellen der Energiezufuhr erfolgt.
3. Verfahren nach Punkt 1 und 2, **gekennzeichnet dadurch**, daß als sauerstoffhaltige Phase Druckluft oder unter einem entsprechenden Druck stehender technischer Sauerstoff verwendet wird.
4. Verfahren nach Punkt 1 und 2, **gekennzeichnet dadurch**, daß als sauerstoffhaltige Phase Prozeßgas verwendet wird, das aus dem Gasraum einer oder mehrerer Etagen des Fermentorbekalters entnommen wird.
5. Verfahren nach Punkt 1 und 2, **gekennzeichnet dadurch**, daß als sauerstoffhaltige Phase Prozeßgas enthaltendes Fermentationsmedium verwendet wird, das an einer oder mehreren Stellen am Fermentorbekalter entnommen wird.
6. Verfahren nach Punkt 1, 2 und 5, **gekennzeichnet dadurch**, daß das Volumen des Prozeßgas enthaltenden Fermentationsmediums 20... 100 %, vorzugsweise 30... 60 %, des Volumens an entgastem und über die Umwälzpumpe geförderten Fermentationsmediums beträgt.

Hierzu 2 Seiten Zeichnungen

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Kultivierung von Mikroorganismen mit Begasungsverfahren, die nach dem Umwälzprinzip mit externer Förderung, Entgasung und Druckerhöhung arbeiten. Sie ist in der technischen Mikrobiologie bei intensiven aeroben Fermentationsprozessen mit flüssigen und gasförmigen Substraten sowie unter Anwendung von Überdruck anwendbar.

Charakteristik bekannter technischer Lösungen

Bekannt sind Verfahren zur Begasung von Flüssigkeiten, bei welchen die Begasung des Fermentationsmediums über eine nach dem Umwälzprinzip arbeitende Begasungseinrichtung erfolgt, wobei der Gaseintrag in das Fermentationsmedium über die Begasungseinrichtung mit Hilfe des zirkulierenden Fermentationsmediums erfolgt, das zu diesem Zweck über eine Umwälzpumpe und entsprechende Rohrleitungen der Begasungsvorrichtung aus dem Fermentorbekalter zugeführt wird. Eine typische Lösung für ein Begasungsverfahren nach dem Umwälzprinzip stellt das Verfahren der Begasung mittels Strahlapparat oder Schachtüberfällen dar.

Dieses Begasungsverfahren repräsentiert eine der fortgeschrittensten Technologien. Die bei diesem Verfahren vorhandenen Nachteile treten auch bei anderen Umwälzbegasungsverfahren auf. Bei diesem Tauchstrahlbegasungsverfahren wird das Fermentationsmedium mit Hilfe einer Umwälzpumpe auf eine bestimmte Höhe gebracht und stürzt in den Schachtüberfall über offene oder geschlossene Einlaufkronen als Ringstrom nach unten, reißt dabei das am Schachteintritt unter Atmosphärendruck oder unter Überdruck stehende Gas mit und trägt es auf diese Weise in den Fermentorbekalter ein (DD-WP 56763). Weiterhin ist bekannt, daß dieses Begasungsverfahren in mehreren Stufen übereinander angeordnet werden kann (DD-WP 59549).

Zur technischen Vervollkommenung dieses Begasungsverfahrens wurde eine spezielle Pumpe zur Förderung des stark gashaltigen Fermentationsmediums entwickelt (DD-WP 101947), wobei eine weitgehende Entgasung des Fermentationsmediums in der Pumpe erfolgt. Die Vervollkommenung des Fermentorsystems fand in einer weiteren Erfindung (DD-WP 111144) ihren Niederschlag, wobei insbesondere eine Bodenentgasung, die Rückführung von Fermentorabgas in den Fermentationsprozeß, die Wärmeabführung im Außenkreislauf sowie eine Begasung des Außenkreislaufes durch Frischgas vorgeschlagen wurden.

Wie umfangreiche experimentelle Untersuchungen zeigten, kommen die Vorzüge des beschriebenen Tauchstrahlbegasungsverfahrens vor allem bei Fermentationsprozessen mit gutem Dispergierverhalten der Fermentationsflüssigkeit voll zur Geltung. Dabei wird im gesamten Fermentationssystem eine homogene Verteilung der Mikroorganismen mit ausreichend gleichmäßiger Sauerstoff-, Kohlenstoff- und Nährsalzversorgung gesichert. Bei großen technischen Fermentorsystemen und sehr hohen Intensitäten (Raum-Zeit-Ausbeute) oder bei der Anwendung von Druck ist, bedingt durch die höheren Verweilzeiten im Umwälzsystem einerseits und durch die höheren Intensitäten andererseits, für bestimmte Prozesse eine Verschlechterung der Fermentationsbedingungen zu verzeichnen. Das zeigt sich z. B. in der Weise, daß sowohl der spezifische Energieverbrauch als auch der spezifische Rohstoffverbrauch in großtechnischen Fermentorsystemen sowie bei höheren Intensitäten ansteigen. Die wesentlichste Ursache für diese Erscheinung besteht darin, daß in einem Teil des Fermentorsystems, der über 50 % seines Masseinhaltes betragen kann, die Bedingungen für die Versorgung der Mikroorganismen mit Sauerstoff ungenügend sind, so daß in diesen Zonen abschnittsweise ein ausgesprochener Sauerstoffmangel bei gleichzeitigem Substratüberschuß besteht, auf den die Mikroorganismen mit einer verringerten Wachstumsaktivität und einem erhöhten Rohstoffverbrauch oder der Bildung von unerwünschten Stoffwechselprodukten reagieren. Diese Mangelzone innerhalb des Fermentorsystems wird vor allem durch die Druckleitung des Umwälzsystems, d. h. die Leitung zwischen Druckstutzen der Umwälzpumpe und Schachtüberfall gebildet. In diesem Abschnitt ist der Gasgehalt des Fermentationsmediums sehr gering und das Gas, das in diesem Abschnitt in feinsten Blasen dispergiert ist, besitzt außerdem noch einen übermäßig hohen Anteil an inerten Komponenten. Das hat zur Folge, daß in diesem Abschnitt nur eine geringe Menge an Sauerstoff in das Fermentationsmedium übergehen und von den Mikroorganismen genutzt werden kann, die jedoch bei großen technischen Fermentoren und bei intensiven Fermentationsprozessen nicht ausreicht und die o. g. Nachteile mit sich bringt.

Zur Einbeziehung der Druckleitung in den Stoffübergang wurde deshalb vorgeschlagen, nach der Umwälzpumpe eine Begasung der Druckleitung mit Druckluft über eine entsprechende Dispergiervorrichtung vorzunehmen (DD-WP 111144). Dieses Verfahren hat jedoch den Nachteil, daß dazu bei drucklosem Betrieb ein spezieller Verdichter für die einzuspeisende Luft erforderlich ist und daß eine gleichmäßige Sauerstoffversorgung der Mikroorganismen auf Grund des in der Umwälzleitung nach oben stetig abnehmenden hydrostatischen Druckes, der Abnahme der Sauerstoffkonzentration in der Gasblase sowie auf Grund der zunehmenden Koaleszenz ohne eine zusätzliche Zuführung von Energie nicht gesichert werden kann.

Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung besteht darin, die Effektivität von Fermentationsprozessen, die bei hohen Raum-Zeit-Ausbeute-Verhältnissen bzw. unter Druck betrieben werden und nach dem Umwälzprinzip arbeiten, hinsichtlich des spezifischen Verbrauches an Rohstoff und Energie zu erhöhen.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, bei Fermentationsprozessen, die nach dem Umwälzprinzip arbeiten und eine homogene Verteilung der Mikroorganismen in der Kulturflüssigkeit sichern, eine optimale Sauerstoff-, Kohlenstoff- und Nährsalzversorgung der Mikroorganismen im gesamten System gewährleisten, um eine erhöhte Wachstumsaktivität der Mikroorganismen zu erreichen und die Bildung unerwünschter Stoffwechselprodukte zu vermeiden. Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß dem Fermentationsmedium in der Druckleitung nach der Umwälzpumpe an einer oder mehreren Stellen eine Sauerstoff enthaltende Phase unter gleichzeitiger Zufuhr von Energie sowie von adäquaten Mengen an kohlenstoffhaltigem Substrat und Nährsalzen zugesetzt wird, wobei die Zugabe der Sauerstoff enthaltenden Phase erstmalig dort erfolgt, wo in dem Fermentationsmedium die kritische Gelöst-Sauerstoffkonzentration erreicht wird. Überraschenderweise wurde gefunden, daß bei einem Druck-Fermentationsprozeß, insbesondere bei Einsatz von Methanol oder gasförmigen Substraten, die Zugabe von 0,1 bis 0,4 vvm Gas zu dem Fermentationsmedium zu einer Steigerung der Raum-Zeit-Ausbeute um mehr als 60 % führt, obwohl dem keine entsprechende Steigerung des Energieeintrages gegenübersteht. Gleichzeitig gelingt es, zum Beispiel bei dem Einsatz von Methanol als kohlenstoffhaltiges Substrat, die Ausbeute an Biomasse von 42 auf 50 % zu steigern, wenn die Zugabe des Methanols in adäquaten Mengen an den Stellen der Energiezufuhr erfolgt.

Als Sauerstoff enthaltende Phase wird Frischluft eingesetzt, wobei die Zugabe unmittelbar nach der Umwälzpumpe über einen Ejektor oder eine Zweistoffdüse durchgeführt wird, indem in jedem Fall die Dispergierung des Gases mit Hilfe der Energie des Umwälzstromes erfolgt. Dabei wird ein Teil der in der Umwälzpumpe zugeführten Druckenergie zur Dispergierung genutzt. Eine zusätzliche Steigerung der Raum-Zeit-Ausbeute kann dadurch erzielt werden, daß nach einer gewissen Strecke in der Umwälzleitung eine erneute Dispergierung des eingetragenen Gases durch entsprechende Einbauten in der Druckleitung erfolgt. Zweckmäßigerweise wird dieser Vorgang immer dann wiederholt, wenn sich die Gelöstsauerstoffkonzentration dem für das Mikroorganismenwachstum kritischen Wert nähert.

Als Sauerstoff enthaltende Phase kann auch Prozeßgas aus dem Fermentor verwendet werden, indem es direkt aus dem Gasraum mit Hilfe von Ejektoren angesaugt und an mehreren Stellen der Druckleitung, vorzugsweise jedoch nur an einer in diese eingespeist wird. Diese Variante bietet eine bessere Ausnutzung der Triebkräfte für den Sauerstoffübergang, da der niedrige Partialdruck des Sauerstoffes in dem Prozeßgas durch einen sehr hohen $k_L a$ -Wert kompensiert wird.

Eine weitere Möglichkeit, dem Fermentationsmedium in der Umwälzleitung eine Sauerstoff enthaltende Phase zuzuführen besteht darin, aus dem Fermentorbehälter Fermentationsmedium, das sehr viel Prozeßgas enthält, abzusaugen und mit Hilfe eines Ejektors in die Umwälzleitung einzuspeisen, wobei wiederum die Energie des in der Umwälzleitung strömenden Fermentationsmediums zum Transport und zum Dispergieren des Mediums aus dem Fermentorbehälter verwendet wird. Durch die Einspeisung von 20... 100 % der Fördermenge der Pumpe, vorzugsweise 30... 50 %, läßt sich die Anzahl an Umwälzpumpen an einem Fermentor bei entsprechender Steigerung der Förderhöhe der einzelnen Pumpen vermindern.

Ausführungsbeispiele

Die Erfindung soll nachstehend an drei Beispielen sowie anhand von drei Zeichnungen näher erläutert werden.

Beispiel 1

Fig. 1 zeigt das Grundprinzip der Erfindung bei der Begasung des Umwälzsystems mit Frischluft. Aus dem Fermentorbehälter 1 wird in bekannter Weise über die Saugleitung 2 Kulturflüssigkeit entnommen und mit Hilfe der Pumpe 3 über die Druckleitung 4, in der sich der Wärmeübertrager 5 befindet, zu dem Schachtüberfall 6 gefördert, der die Begasungsvorrichtung eines bekannten Tauchstrahlbegasungssystems darstellt und mit dessen Hilfe die Begasung des Fermentorbehälters 1 erfolgt und die Sauerstoffversorgung der Mikroorganismen im Fermentorbehälter sichergestellt wird.

Die Sauerstoffversorgung der Mikroorganismen in der Druckleitung 4 erfolgt mit Hilfe der Begasungseinrichtung 7, die unmittelbar nach der Umwälzpumpe 3 installiert ist und aus einem Strahlapparat besteht, der über die Leitung 8, die unter dem Systemdruck von 400 kPa stehende Frischluft ansaugt und dispergiert. Die dafür erforderliche Energie erhält der Strahlapparat aus der in der Umwälzleitung 4 unter Druck stehenden Kulturflüssigkeit. Durch die hohe Energiedissipation kommt es zu einer intensiven Dispergierung des Gases und zu einer hohen Sauerstoffeintragsleistung in das Fermentationsmedium. Über die Leitung 16 wird in die Begasungseinrichtung 7 eine adäquate Menge an kohlenstoffhaltigem Substrat und Nährsalzen gegeben.

Wenn der so in Lösung gebrachte Sauerstoff bis auf die für das Mikroorganismenwachstum kritische Konzentration abgefallen ist, erfolgt mit Hilfe der Düse 9 eine erneute Zufuhr von Energie, wodurch eine weitere intensive Dispergierung des Gases in der Flüssigkeit erfolgt, der Sauerstoffübergang intensiviert wird und die Gelöstsauerstoffkonzentration in dem Fermentationsmedium der Umwälzleitung ansteigt. Nachdem der so in Lösung gebrachte Sauerstoff durch die Mikroorganismen erneut weitgehend aufgebraucht wurde, erfolgt eine nochmalige Aufsättigung des Fermentationsmediums mit Sauerstoff durch die Düse 10 in der beschriebenen Weise. Die Einspeisung von adäquaten Mengen an kohlenstoffhaltigem Substrat und an Nährsalzen erfolgt über die Leitung 16 in die Düsen 9 und 10.

Die Begasung des Fermentorbehälters 1 erfolgt mit dem über die Leitung 8 eingespeisten Frischgas und mit dem Kreislaufgas, das über die Leitung 11 aus dem Gasraum des Fermentors entnommen und in die Begasungsvorrichtung 6 eingespeist wird. Das Abgas tritt über die Leitung 12 aus dem Fermentor aus.

In der Tabelle sind einige Werte angegeben, die unter Anwendung des beschriebenen Verfahrens in einem 1-m³-

Tauchstrahlfermentor bei der Einspeisung von Frischluft über einen Strahlapparat und nur einmaliger Dispergierung bei der Fermentation von Methanol verwerteten Bakterien unter einem Systemdruck von 400 kPa erzielt wurden. Zum Vergleich sind die bei gleichem Systemdruck ohne Begasung der Umwälzleitung erreichten Ergebnisse angeführt.

Beispiel 2

Ein weiteres Prinzip der Erfindung zur Begasung des Umwälzsystems mit Hilfe von Prozeßgas ist in Fig. 2 dargestellt, wobei mit Hilfe des Strahlapparates 7, der unmittelbar nach der Pumpe 3 angeordnet ist, über die Leitung 13 aus dem Fermentor Prozeßgas abgesaugt und der Kulturflüssigkeit in der Druckleitung zugeführt wird. Bei nicht ausreichender Begasung kann mit Hilfe des Strahlapparates 14 der Vorgang nach dem Wärmeübertrager 5 noch einmal wiederholt werden. Die entsprechende adäquate Zufuhr von kohlenstoffhaltigem Substrat und Nährsalzen in die Strahlapparate 7 und 14 erfolgt über die Leitung 16.

In der Tabelle sind die Werte dargestellt, die unter Anwendung eines Strahlapparates unmittelbar nach der Pumpe beim Einsatz von Methanol und Bakterien erreicht wurden.

Beispiel 3

Fig. 3 zeigt die Zuführung von Sauerstoff enthaltender Phase in Form von gashaltiger Fermentationsflüssigkeit, wobei mit Hilfe des Strahlapparates 7 unmittelbar nach der Pumpe 3 diese Flüssigkeit in die Druckleitung 4 eingespeist wird und mit der in der Druckleitung vorhandenen Flüssigkeit intensiv vermischt wird. Die Zugabe der adäquaten Menge an kohlenstoffhaltigem Substrat und Nährsalzen in den Strahlapparat 7 erfolgt über die Leitung 16.

In der Tabelle sind die bei der Anwendung dieses Begasungsverfahrens erreichten Werte unter Einsatz von Methanol und Bakterien angegeben.

Tabelle

		ohne Begasung der Druck- leitung	Begasung der Druckleitung durch Strahl- apparat und Frischluft		
			Strahl- apparat und Prozeßgas	Strahl- apparat und Prozeßgas	Strahl- apparat und Fermentations- medium
Sauerstoffeintrag	kg O ₂ /h	11,8	21,9	18,9	23,9
Theoretischer Energieeintrag	kW/t	14,9	16,8	16,8	16,9
Produktivität	kg/t h	6,7	11,2	9,7	12,2
Spezifischer theoretischer Energieverbrauch	kWh/kg	2,2	1,5	1,73	1,4
Spezifischer Sauerstoff- verbrauch	kg O ₂ /kg	2,3	1,95	1,95	1,95
Spezifischer Methanolverbrauch	kg Me/kg	2,4	2,0	2,0	2,0
Biomasseausstoß		5,1	9,6	8,0	10,2

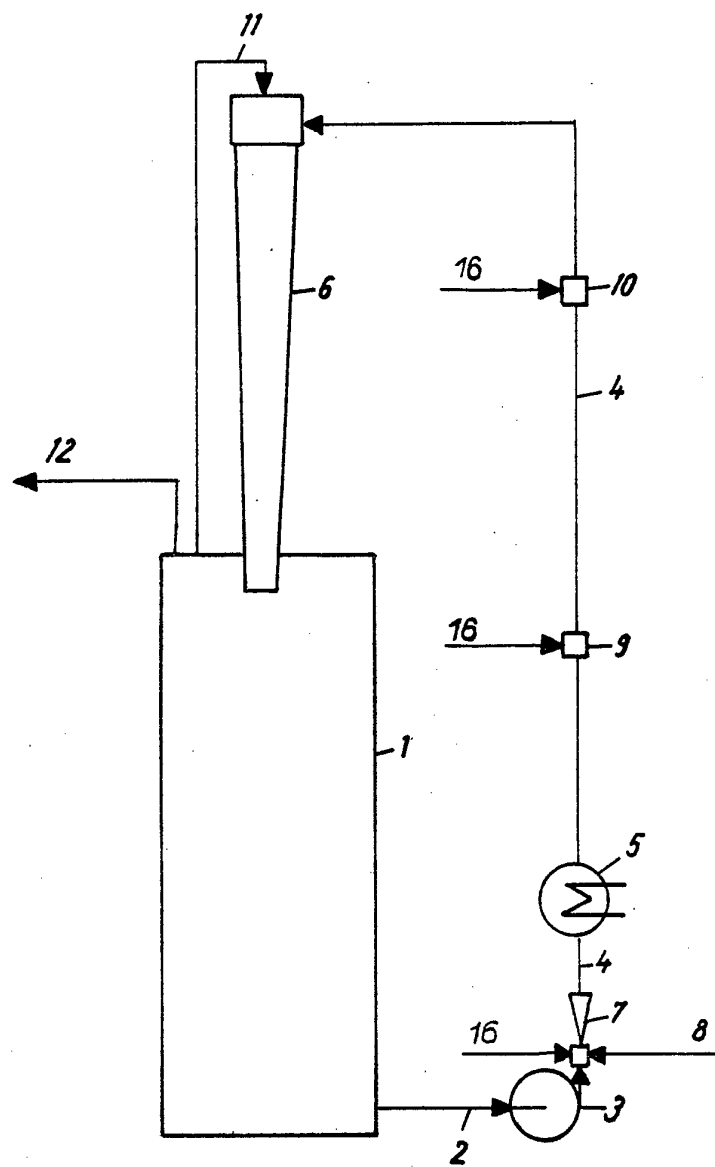


Fig. 1

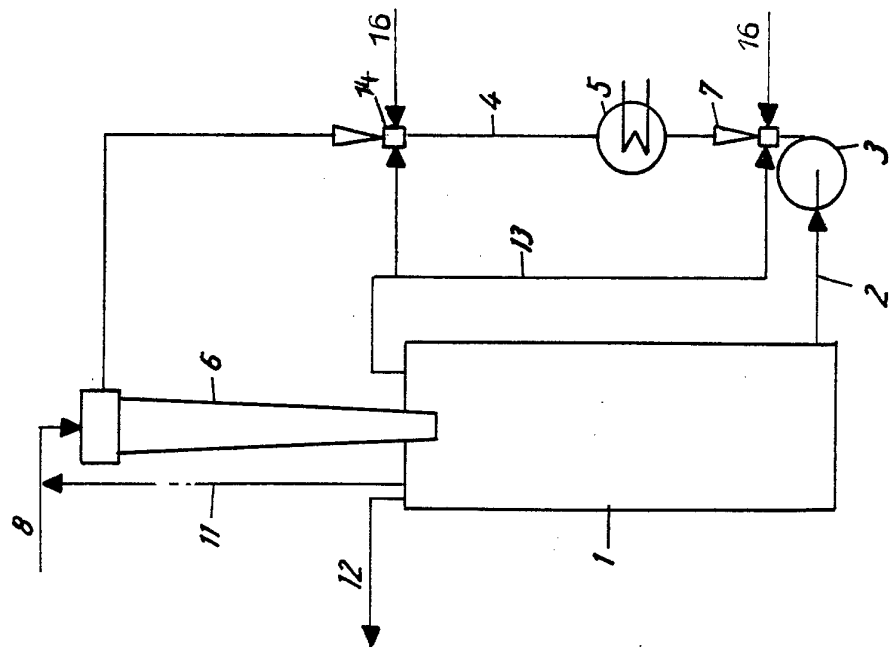


Fig. 2

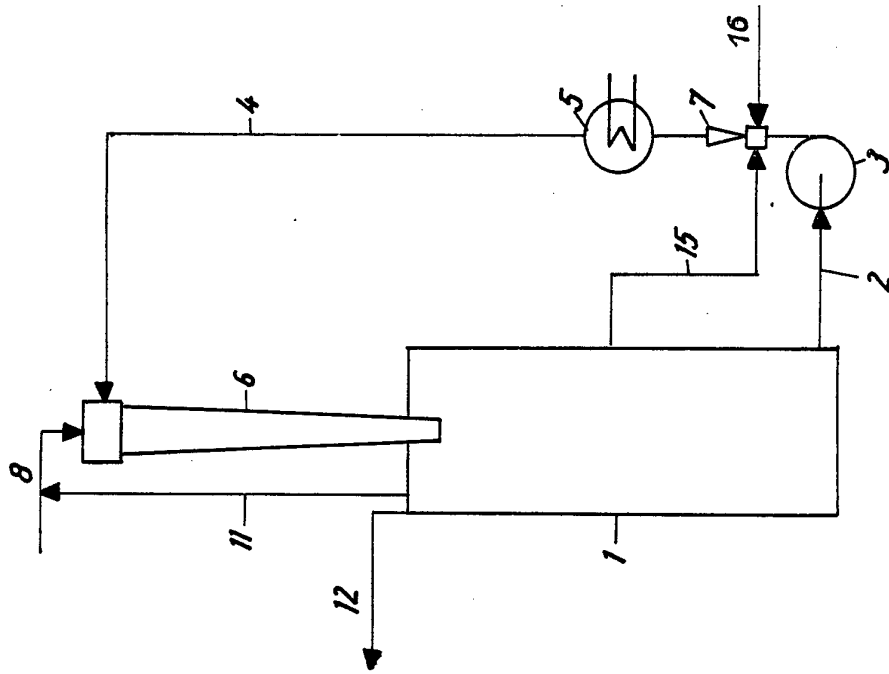


Fig. 3