



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) **DD** (11) **251 999 A1**4(51) C 12 P 1/02  
C 12 N 11/00  
C 12 N 9/14

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP C 12 P / 293 396 8

(22) 04.08.86

(44) 02.12.87

(71) Akademie der Wissenschaften der DDR, Otto-Nuschke-Straße 22/23, Berlin, 1080, DD

(72) Körner, Dieter, Dr. Dipl.-Ing., DD; Schiweck, Erhard, verstorben; Radosta, Rainer, Dipl.-Chem., DD; Parde-  
mann, Bernhard, DD; Ruttloff, Heinz, Prof. Dr. Dipl.-Lebensmittelchem., DD

(54) Verfahren und Vorrichtung zur submersen Kultivation von Schimmelpilzen

- |                     |                        |
|---------------------|------------------------|
| (55) – Kultivation  | – Mikroorganismen      |
| – Schimmelpilze     | – Stoffwechselprodukte |
| – Stoffumwandlung   | – Trägerfixierung      |
| – Substratumwälzung | – Temperierung         |
| – Belüftung         | – Rohrreaktor          |
| – Trägerverbund     | – Pektinasen           |

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur submersen Kultivation von filamentös wachsenden Mikroorganismen. Sie läßt sich vorzugsweise anwenden, um Stoffwechselprodukte zu gewinnen, die an die vitale, wachsende Zelle gebunden sind. Weiterhin ist sie für Stoffumwandlungen in Substraten geeignet, bei denen zelleigene Enzyme der verwendeten Mikroorganismen zur Wirkung gelangen. Ein spezielles Anwendungsgebiet bezieht sich auf die Herstellung pektinolytischer Enzyme mittels *Aspergillus niger*. Erfindungsgemäß werden filamentös wachsende Mikroorganismen auf einem Trägerverbund aus flächigem, porösem Material zum Anwachsen gebracht und bilden während des weiteren Wachstums die gewünschten Produkte. Die Versorgung mit Nährstoffen und Sauerstoff erfolgt durch Umwälzung des Substrates im Kreislauf durch den Reaktor. Die erfindungsgemäße Vorrichtung besteht aus einem Rohrreaktor, der mit einem äußeren Medienkreislauf ausgestattet ist. Im Reaktor stehen die als Trägerverbund ausgebildeten flächigen Trägerelemente auf einem Tragrings. Zwischen den Trägern befindet sich freier Raum, der dem wachsenden Organismus zur Verfügung steht und der vom Substrat durchflossen wird.

**Patentanspruch:**

1. Verfahren zur submersen Kultivierung von Schimmelpilzen auf einem in einem Reaktionsgefäß eingesetzten Trägersystem für die Gewinnung extrazellulärer Stoffwechselprodukte, vorzugsweise von Enzymen, oder der Durchführung mikrobieller Stoffumwandlungen in Substraten, bei den die Biomasse in einem Reaktor auf einem Trägersystem zum Anwachsen gebracht, die Kultivierung unter Ausbildung einer kompakten Mycelschicht auf dem Trägersystem fortgesetzt, das Substrat nach Bildung der gewünschten Produktmenge abgelassen sowie mehrfach neues Substrat in den Reaktor eingefüllt, und der Kultivierungsvorgang weitergeführt wird, **dadurch gekennzeichnet**, daß nach einer vorgegebenen Anzahl von Reaktorneufüllungen mit dem Kultivierungsmedium nach der letzten Kultivierung der Reaktor entleert, die obere mit Anschlußstutzen für den Medieneintritt, Abluft, Beimpfung und Medienzuführung versehene Haube entfernt, das mit der kompakten Mycelschicht bewachsene Trägersystem gegen ein bewuchsfreies Trägersystem ausgetauscht und die Kultivierung, gegebenenfalls nach vorausgegangener Sterilisation, erneut eingeleitet wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Nährlösung durch Klär- und Sterilfiltration mittels Schichtenfilter gereinigt, zur Konzentrierung hochmolekularer und Abtrennung niedermolekularer Bestandteile eine Behandlung durch Ultrafiltration und eine Reinigung der hochmolekularen Fraktion durch Diafiltration erfolgt.
3. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Zuführung der für die Sauerstoffversorgung der Organismen notwendigen Luft über einen Injektor oder durch Einspeisung mittels Verteiler in das Reaktionsgefäß unterhalb des Trägerverbundes oder durch direkte Einleitung in ein Umlaufrohr erfolgt.
4. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Temperierung des Mediums durch Zu- bzw. Abführung von Wärme mittels eines Wärmeübertragers im äußeren Kreislauf des Reaktors erfolgt.
5. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Temperierung des Mediums durch Zu- bzw. Abführung von Wärme mittels eines Wärmeübertragers im Reaktionsgefäß unterhalb des Trägerverbundes erfolgt.
6. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 5, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Temperierung des Mediums durch Zu- bzw. Abführung von Wärme durch eine Kombination von innerem und äußerem Wärmeübertrager erfolgt.
7. Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens nach Anspruch 1, **gekennzeichnet durch ein** zylindrisches senkrechtstehendes Reaktionsgefäß mit einer im Verhältnis zum Durchmesser großen Länge, welches am unteren und oberen Ende durch Deckel oder Hauben, die zentrale Stutzen für einen Medienein- und Medienaustritt sowie weitere Stutzen für Abluft, Beimpfung, Medienzuführung, Probenahme und Entleerung enthalten, verschlossen ist, einem zwischen der unteren Haube und dem Reaktionsrohr angeordneten Tragring, durch in einer Haltekonstruktion angeordnete Trägerelemente, einer am unteren Stutzen angesetzten Rohrleitung, in der sich Stutzen für die Aufnahme von Meßfühlern befinden, einer mit dieser Rohrleitung verbundenen Pumpe und einer von dort abgehenden Rohrleitung, die einen Wärmeübertrager enthält und zum oberen Stutzen führt und einem im oberen Reaktorteil angeordneten Kegel bzw. anders gestalteten Verteiler.
8. Vorrichtung nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß anstelle der Pumpe eine direkte Rohrverbindung angeordnet ist, in derem senkrechten Abschnitt sich ein Injektor befindet.
9. Vorrichtung nach den Ansprüchen 7 und 8, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Injektor zusätzlich zur Pumpe nach dieser in der Rohrleitung installiert ist.
10. Vorrichtung nach den Ansprüchen 7 bis 9, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Trägersystem flächenförmige Gebilde aus porösen Trägermaterialien, vorzugsweise aus Metallgewebe, deren Breite dem runden Reaktorquerschnitt angepaßt ist, oder röhrenförmige Gebilde aus diesen Materialien eingesetzt sind.
11. Vorrichtung nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß zwischen den Trägerflächen Trennbleche angeordnet sind.
12. Vorrichtung nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß im Reaktorrohr ein oder mehrere Trägersysteme übereinander angeordnet werden.

Hierzu 5 Seiten Zeichnungen

## Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung für die submersive Kultivierung von Schimmelpilzen auf einem Trägersystem, wobei der wachsende Organismus kompakte Biomassestrukturen bildet. Verfahren und Vorrichtung sind sowohl geeignet, mittels der fixierten Organismen Stoffumwandlungen in Substraten durchzuführen, als auch extrazelluläre Stoffwechselprodukte, vorzugsweise Enzyme, zu gewinnen. Erfindungswesentlich sind die jeweiligen Merkmale bei der Verfahrensführung und der eingesetzten Vorrichtung und deren Zusammenhang.

## Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Schimmelpilze erlangen als Produzenten mikrobieller Produkte zunehmende Bedeutung. Im industriellen Maßstab werden sie bereits genutzt, um beispielsweise Enzyme, insbesondere Amylasen, Proteasen und Pektinasen, zu gewinnen. Aber auch Stoffumwandlungen von Substratkomponenten können mit Hilfe der zelleigenen Enzyme direkt durch die vitale Biomasse herbeigeführt werden.

Bei der submersen Fermentation derartiger Organismen werden Verfahren bevorzugt, bei denen in unterschiedlichster Weise eine Fixierung bzw. Immobilisierung der Zellen erfolgt.

Dafür gibt es folgende wesentliche Gründe:

1. Vermeidung hoher mechanischer Beanspruchungen filamentös wachsender Organismen, wie sie beispielsweise in herkömmlicher Rührfermentoren auftreten.
2. Erzielung einer hohen Biomassedichte, bezogen auf das Mediumvolumen, um möglichst hohe Umsatzraten bzw. Ausbeuten an Stoffwechselprodukten zu erzielen.
3. Einschränkung bzw. Vermeidung von Wachstumsprozessen der Organismen bei deren Einsatz für biokatalytische Stoffumwandlungen.
4. Erzeugung kompakter Biomassestrukturen als Voraussetzung für ökonomische Bildungsraten bei der Gewinnung von Stoffwechselprodukten.

Insbesondere die Herausbildung kompakter Mycelstrukturen scheint bei Schimmelpilzen häufig die einzige Möglichkeit zu sein, sie in submerser Kultur zur effektiven Produktion bestimmter Stoffwechselprodukte anzuregen.

Die bekannten technischen Lösungen gehen mehr oder weniger von den genannten Faktoren 1 bis 4 aus und enthalten Vorschläge zur Gestaltung geeigneter verfahrensspezifischer Kultivierungsbedingungen. So werden von BATKINSON et al. (DE-OS 2 845 552) ein Verfahren und eine Vorrichtung beschrieben, wonach das biologische Material an porösen Körpern aus Stahl, Kunststoffen, Glas oder anderen Stoffen fixiert wird. Die Beschaffenheit der Träger ist von B. ATKINSON et al. (Biotechnol. Bioeng. 21, 1979, 193–200) näher beschrieben. Sie bestehen aus Glas-Ballotini oder aus kissen- bzw. kugelförmigen Gebilden, die aus Siebgewebe oder Draht geformt sind. Diese Träger werden in einem Reaktionsgefäß in der Art eines Fest- oder Fließbettes angeordnet. Sie tragen die Mikroorganismen im Inneren der porösen Körper. Schreitet das Wachstum über die Körpergrenzen hinaus fort, so werden die Träger aus dem Reaktor entfernt, außerhalb von der Biomasse befreit und in den Fermentor zurückgeführt.

Das Verfahren dient vorzugsweise der Behandlung von Abwässern, die kontinuierlich oder im Kreislauf über die Träger geführt werden. Zur Sauerstoffversorgung ist die Belüftung des Fermentors möglich.

Der Nachteil dieses Verfahrens besteht darin, daß es die Herausbildung größerer, kompakter Biomassestrukturen bei einem gleichzeitig günstigen Verhältnis zum Substratvolumen nicht ermöglicht, da das Wachstum auf die äußeren Grenzen des Trägerkörpers beschränkt werden muß. Andernfalls wäre die Beweglichkeit des Trägers durch Zuwachsen eingeschränkt und damit der Substratdurchfluß und der Stoffaustausch behindert. Für Produktbildungsprozesse, die an das Wachstum des Mikroorganismus gekoppelt sind, ist das Verfahren daher nicht geeignet. Außerdem ist eine sterile Prozeßführung mit der beschriebenen Vorrichtung nicht möglich.

Andere Verfahren und Vorrichtungen zur Durchführung von Fermentationsverfahren werden von W. ENGELBART und F. ENGELBART (DD-WP 108 322) vorgeschlagen. Als Träger für das biologische Material dient einmal ein sogenannter „Tauchwickel“. Es handelt sich um eine in einem Behälter waagrecht angeordnete Welle, auf die in Trommel- oder Haspelform Schläuche bzw. biegsame Rohre aufgewickelt sind, auf denen sich außen oder im Inneren Mikroorganismen ansiedeln können. Der Behälter ist teilweise mit Medium gefüllt, so daß die Rotation des „Tauchwickels“ abwechselnd Kontakt mit dem Substrat oder der Luft besteht. Eine weitere in dieser Patentschrift beschriebene Verfahrensvariante stellt das sogenannte „Biogehänge“ dar. Es handelt sich um ein Umlaufsystem, in dem die Medienumwälzung nach dem Mammutpumpenprinzip erfolgt. Die Mikroorganismen können sich auf Spiralkernrohren oder zusätzlich nach einer dritten grundsätzlich dargelegten Variante auf festen Körpern, die dem Substrat beigemischt werden, ansiedeln.

Auch diese Verfahren und die entsprechenden Vorrichtungen sind in erster Linie geeignet, mit vitalen, aber nichtwachsenden Organismen zu arbeiten. Das Bestreben, große Trägeroberflächen zu erzeugen, führt zu teilweise sehr geringen Querschnittflächen, die von wachsenden Zellen leicht zugesetzt werden können. Insbesondere filamentöse Organismen würden die beabsichtigte Funktion stark beeinträchtigen. Selbst wenn durch Abrieb von Biomasse für die Schichtreduzierung gesorgt wird, wie es im Fall des „Biogehänges“ vorgesehen ist, so lassen sich Anlagerungen von Flocken an anderen Stellen nicht vermeiden. Nachteilig ist auch der hohe mechanische Aufwand zur Herstellung, Bewegung und Reinigung des „Tauchwickels“. Die genannten Nachteile führen insbesondere dazu, daß die Verfahren und Vorrichtungen eine Arbeit mit hohen Konzentrationen an wachsender Biomasse nicht gestatten.

Ein Fermentor, der das Wachstum filamentöser Organismen besser ermöglicht, wird von J. A. BLAIN et al. (Biotechnol. Lett., 1979, 1, 269–74) beschrieben. Auf einer waagrecht Welle sind Scheiben angeordnet, auf denen die Zellen fixiert werden können. Durch Drehung der Welle wird im Medium für entsprechenden Stoffaustausch gesorgt. Nachteilig ist hierbei wieder der hohe mechanische Aufwand der Fermentorkonstruktion.

Eine andere Art der Fixierung kompakter Biomasseschichten stellt auch das Verfahren von F. BAUM et al. (DWP 145 027) dar. Eine auf der Nährmedienoberfläche angezogene Myceldecke wird bei Erhöhung des Substratvolumens gegen eine perforierte Platte gedrückt und so im Fermentor fixiert. Hierbei stehen jedoch erreichbare Biomassemengen und Mediovolumen in einem ungünstigen Verhältnis, das sich bei Vergrößerung des Fermentors weiter verschlechtert.

Verfahren zur Fixierung von Mikroorganismen innerhalb von polymeren Stoffen, wie z. B. von A. GRÜNECKER et al. (DE-OS 2 633 076) vorgeschlagen, sind von vornherein auf bestimmte Anwendungen beschränkt, weil die Zellen aufgrund sterischer Einflüsse nicht wachsen können. Insbesondere können damit enzymatische Substratumsetzungen durchgeführt werden, jedoch keine Produktsynthesen, die an die voll entwicklungsfähige Zelle gekoppelt sind.

#### Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist es, ein Verfahren und eine Vorrichtung zur trägerfixierten submersen Kultur von filamentös wachsenden Mikroorganismen, vorzugsweise von Schimmelpilzen, zu entwickeln, welche die vorstehend genannten Nachteile der bekannten technischen Lösungen vermeiden und insbesondere für die Gewinnung von Stoffwechselprodukten aus wachsenden Mikroorganismen geeignet sind.

#### Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren und eine Vorrichtung zu entwickeln, die es durch eine unkomplizierte technische Lösung gestatten, filamentös wachsende Mikroorganismen trägerfixiert in kompakten Biomassestrukturen unter submersen Bedingungen zu kultivieren.

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur submersen Kultivierung von Schimmelpilzen auf einem in einem Reaktionsgefäß eingesetzten Trägersystem mit dem Ziel der Gewinnung von extrazellulären Stoffwechselprodukten, vorzugsweise von Enzymen, oder der Durchführung mikrobieller Stoffumwandlungen in Substraten, bei dem die Biomasse in einem Reaktor auf einem Trägersystem zum Anwachsen gebracht, die Kultivierung unter Ausbildung einer kompakten Mycelschicht auf dem Trägersystem fortgesetzt, das Substrat nach Bildung der gewünschten Produktmenge abgelassen sowie mehrfach neues Substrat in den Reaktor eingefüllt, und der Kultivierungsvorgang weitergeführt wird, das dadurch gekennzeichnet ist, daß nach einer vorgegebenen Anzahl von Reaktorneufüllungen mit Kultivationsmedium nach der letzten Kultivierung der Reaktor entleert, die obere mit Anschlußstutzen für Medieneintritt, Abluft, Beimpfung, Medienzuführung der Reaktor entleert, die obere mit Anschlußstutzen bewachsene Trägersystem gegen ein bewuchsfreies Trägersystem ausgetauscht und die Kultivierung, gegebenenfalls nach vorausgegangener Sterilisation, erneut eingeleitet wird.

Es ist dabei vorteilhaft, die produktthaltige Nährlösung durch Klär- und Sterilfiltration mittels Schichtenfilter zu reinigen, zur Konzentrierung der hochmolekularen und Abtrennung der niedermolekularen Bestandteile eine Behandlung durch Ultrafiltration vorzunehmen und eine Reinigung der hochmolekularen Fraktion durch Diafiltration durchzuführen, die Zuführung der für die Sauerstoffversorgung der Organismen notwendigen Luft über einen Injektor oder durch Einspeisung mittels Verteiler in das Reaktorgefäß unterhalb des Trägerverbundes oder durch direkte Einleitung in ein Umlaufrohr vorzunehmen sowie die Temperierung des Mediums durch Zu- bzw. Abführung von Wärme mittels eines Wärmeübertragers im äußeren Kreislauf des Reaktors oder mittels eines Wärmeübertragers im Reaktionsgefäß unterhalb des Trägerverbundes oder auch durch eine Kombination von innerem und äußerem Wärmeübertrager herbeizuführen.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens besteht aus einem zylindrischen senkrechtstehenden Reaktionsgefäß mit einer im Verhältnis zum Durchmesser großen Länge, welches am unteren und oberen Ende durch Deckel oder Hauben, die zentrale Stutzen für einen Medienein- und austritt sowie weitere Stutzen für Abluft, Beimpfung, Medienzuführung, Probenahme und Entleerung enthalten, verschlossen ist, einem zwischen der unteren Haube oder Deckel und dem Reaktionsrohr angeordneten Tragring, auf dem die in einer Haltekonstruktion angeordneten Trägerelemente stehen, einer am unteren Stutzen angesetzten Rohrleitung, in der sich Stutzen für die Aufnahme von Meßfühlern befinden, einer mit dieser Rohrleitung verbundenen Pumpe und einer von dort abgehenden Rohrleitung, die einen Wärmeübertrager enthält und zum oberen Stutzen führt und einem im oberen Reaktorteil angeordneten Kegel bzw. anders gestalteten Verteiler für den eintretenden Medienstrahl.

Anstelle der Pumpe ist auch eine direkte Rohrverbindung zwischen dem unteren und oberen zentralen Stutzen einsetzbar, in deren senkrechten Abschnitt sich ein Injektor für Luft befindet, oder es wird eine Kombination von Pumpe und Injektor verwendet.

Als Trägersystem werden flächenförmige Gebilde aus porösen Materialien, vorzugsweise aus Metallgewebe, deren Breite dem runden Reaktorquerschnitt angepaßt ist, oder röhrenförmige Gebilde aus diesen Materialien eingesetzt, wobei es vorteilhaft ist, zwischen den Trägerflächen jeweils Trennbleche anzuordnen und im Reaktorrohr ein oder mehrere Trägersysteme übereinander unterzubringen.

Für die der Durchführung des Verfahrens dienende Vorrichtung ist von Bedeutung, daß durch die Anordnung eines stabilen, flächenförmigen Trägers aus porösem Material, der verschiedene geometrische Formen besitzen kann und vorzugsweise aus mehreren Trägerelementen zu einem Trägerverbund zusammengesetzt ist, in einem zylindrischen Reaktionsrohr Bedingungen geschaffen werden, die es ermöglichen, einen Mikroorganismus auf dem Träger anwachsen zu lassen und ihn unter weiterem Wachstum für eine gewünschte Zeitdauer zu kultivieren. Es ist ferner von Bedeutung, daß die Versorgung der Biomasse mit Nährstoffen und Sauerstoff sowie der Abtransport gebildeter Stoffwechsel- oder Umsatzprodukte durch einen umlaufenden Strom des Nährmediums erfolgt, der in einer äußeren Kreislaufleitung durch eine Pumpe oder durch Luft mittels eines Injektors erzeugt wird. Dabei erfolgt die Temperierung des Nährmediums auf die für den Mikroorganismus erforderliche Temperatur mittels eines Wärmeübertragers, der entweder in der Kreislaufleitung angeordnet ist oder im Reaktor selbst unterhalb des Trägerverbundes, oder durch eine Kombination zweier Wärmeübertrager innerhalb und außerhalb des Reaktors.

Die für die Sauerstoffversorgung des Mikroorganismus notwendige Luft wird entweder durch einen Verteiler unterhalb des Trägerverbundes bzw. Wärmeaustauscher direkt in das Reaktorrohr zugeführt oder sie wird über den Injektor eingetragen bzw. direkt in das Umlaufrohr oberhalb der Pumpe. Sie verläßt den Reaktor durch einen Stutzen am Kopf des Apparates.

Die einzelnen Flächenelemente des Trägers sind so angeordnet, daß zwischen ihnen ein Raum für die wachsende Biomasse entsteht, wobei es vorteilhaft ist, diesen Zwischenraum zwecks Verhinderung des Ineinanderwachsens der Biomasse durch Trennbleche in zwei Sektionen zu unterteilen. Die Trägerelemente werden durch Bolzen und Distanzhülsen zu einem kompakten Trägerverbund zusammengesetzt, der im Reaktionsrohr auf einem Tragring am unteren Ende des Rohres bzw. oberhalb des Wärmeübertragers und Luftverteilers steht. Je nach Länge des Reaktorrohres besteht der Trägerverbund aus einem Stück oder er

ist aus mehreren Segmenten, welche aufeinandergestellt werden, zusammengesetzt. Um den eintretenden Medienstrahl gleichmäßig über den Querschnitt des Trägers zu verteilen, ist zwischen Einlaufstutzen und Trägerverbund ein Verteiler angeordnet.

Für die der Durchführung des Verfahrens dienende Vorrichtung ist weiter von Bedeutung, daß als Material für die Reaktorkonstruktion neben Stahl vorteilhaft auch Glas eingesetzt werden kann. In einfacher Weise ist es möglich, die Vorrichtung in der gewünschten Größe aus Normteilen zusammenzusetzen und spezifischen Verfahrensbedingungen anzupassen. Von Bedeutung ist weiterhin, daß sich in der beschriebenen Weise aufgebaute einzelne Reaktorrohre zu Reaktorbatterien zusammenschließen lassen, indem die weiteren Medienausläufe einer gemeinsamen Pumpe zugeführt und nach dieser wieder auf die Rohre verteilt werden, wodurch die Fermentationskapazität dem erforderlichen Produktionsumfang angeglichen wird.

Eine bevorzugte Ausführungsform der erfindungsgemäßen Anlage besteht aus einem zylindrischen Reaktionsgefäß, dessen Stutzen am Boden über eine Leitung mit einer Pumpe zur Förderung des Mediums verbunden ist, von der aus eine zweite Rohrleitung zum Kopfstutzen des Reaktionsgefäßes führt und die einen Wärmeübertrager zur Temperierung des Mediums enthält, sowie Anschlüsse für die Zuführung von Luft und für die Messung von Temperatur, pH-Wert und Sauerstoffpartialdruck; außerdem enthält das Reaktionsgefäß im unteren Teil eine Vorrichtung zum Einleiten und Verteilen von Luft, die beispielsweise als ringförmige Leitung ausgebildet sein kann, und am Kopf sind mehrere Stutzen angeordnet, durch die Nährmedium, Impfmateriale und Zusätze während der Fermentation eingebracht werden und Abluft austreten können. Ferner ist in dem Reaktionsgefäß ein aus mehreren Platten bestehender Träger angeordnet, wobei die Trägerplatten aus feinmaschigem Stahlgewebe bestehen, die durch eine Tragevorrichtung gehalten werden, und bei dem der Zwischenraum zwischen je zwei Platten durch ein Trennblech aus Stahl unterteilt ist.

Eine abgeänderte Ausführungsform der erfindungsgemäßen Anlage ist derart gestaltet, daß sich der Wärmeübertrager im unteren Teil des Reaktionsgefäßes befindet.

Bei einer weiteren abgewandelten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Anlage wird die Zirkulation des Mediums in der Kreislaufleitung durch Luft hervorgerufen, indem am unteren Ende der Leitung ein Injektor angeordnet ist, der einen aufsteigenden Luft-Medien-Strom erzeugt und dadurch gleichzeitig für Transport und Belüftung des Kulturmediums sorgt.

#### Ausführungsbeispiele

Durch die folgenden Ausführungsbeispiele werden die erfindungsgemäße Vorrichtung und das erfindungsgemäße Verfahren näher erläutert. Es enthalten:

- Fig. 1: Schematische Darstellung der bevorzugten Ausführungsform der Anlage
- Fig. 2: Schematische Darstellung abgewandelter Ausführungsformen der Anlage
- Fig. 3: Schematische Darstellung des Querschnittes von Ausführungsformen des Trägers
- Fig. 4: Schematische Darstellung eines bevorzugten Trägerverbundes
- Fig. 5: Technologisches Schema der Herstellung pektinolytischer Enzyme mit Hilfe des Schimmelpilzes *Aspergillus niger*

Wie die Fig. 1 zeigt, besteht die Vorrichtung aus einem zylindrischen Reaktionsgefäß 1 mit einer im Verhältnis zum Durchmesser großen Länge. Das Gefäß ist oben und unten mit je einer Haube 2, 3 verschlossen, an denen sich die zentralen Stutzen für den Medieneintritt 4 und den Medienaustritt 5 sowie weitere Öffnungen für die Abführung der Abluft 6, für die Beimpfung 7, für die Zuführung von Medien 8, für die Probenahme 9 und für die Entleerung 10 befinden. Zwischen dem zylindrischen Teil des Reaktionsgefäßes und der Bodenhaube ist ein Tragring 11 angebracht, auf dem die Trägerkonstruktion 18 steht.

Vom unteren Stutzen 5 führt eine Rohrleitung 12 zu einer Pumpe 13. In dieser Rohrleitung können sich Stutzen 14 befinden, die zur Aufnahme von Meßfühlern dienen, hier beispielsweise zur Messung des Sauerstoffpartialdruckes. Von der Pumpe führt eine Rohrleitung 15 zum zentralen Stutzen der oberen Haube. In diese Rohrleitung sind ein Wärmeübertrager 16 eingefügt, der der Kühlung bzw. Heizung des Nährmediums dient und weitere Stutzen 14a für die Luftzuführung bzw. für weitere Meßsonden. Der in das Reaktionsgefäß eintretende Medienstrom wird über einen Kegel 17 verteilt, um das direkte Auftreffen auf den Träger zu vermeiden. Der Trägerverbund 18, der im Reaktionsgefäß durch den Tragring 11 gehalten wird, besteht aus mehreren parallel angeordneten Platten 19 aus Edelstahl-Maschengewebe. Der freie Raum zwischen ihnen wird durch Trennbleche 20 unterteilt. Die Breite der Trägerplatten und Trennbleche ist der Rundung der Gefäßwand angepaßt. Der Verbund der Trägerelemente wird durch Bolzen und Distanzhülsen erreicht, so daß ein kompaktes Gebilde entsteht, welches man insgesamt von oben in das Reaktionsgefäß einsetzen kann. Einzelheiten zur Trägergestaltung und zum Trägerverbund werden in Fig. 3 und Fig. 4 gezeigt.

Bei einer abgewandelten Ausführungsform der Vorrichtung wird die Umwälzung des Nährmediums nicht mit Hilfe einer Pumpe erreicht, sondern mit Luft nach dem Injektorprinzip, indem die Pumpe 13 durch eine Rohrleitung 12a ersetzt wird, in der sich der Injektor 21 befindet.

Bei einer weiteren abgewandelten Ausführungsform der Anlage Fig. 2 ist der Wärmeübertrager 22 zur Heizung bzw. Kühlung des Mediums im unteren Teil des Reaktorrohres angeordnet.

Bei einer anderen abgewandelten Ausführungsform der Anlage wird die Luft zur Sauerstoffversorgung des Mikroorganismus durch einen Verteiler 23 im unteren Teil des Reaktorrohres zugeführt. Fig. 2 zeigt in schematischer Darstellung eine Kombination dieses Aufbaus. Ebenso ist auch die Kombination dieser abgewandelten Ausführungsformen mit der Ausführung gemäß Fig. 1 möglich.

Die Fig. 5 zeigt eine Ausführungsform der Vorrichtung, bei der diese unmittelbar mit dem Verfahren zur Herstellung pektinolytischer Enzyme, insbesondere eines Gemisches aus Endo-Polygalacturonase und Pektinesterase, mit Hilfe des Schimmelpilzes *Aspergillus niger* (Stamm R 1/214, hinterlegt in der Stammsammlung der DDR unter ZIMET 43 692) zusammen genutzt werden. Zur Durchführung des Verfahrens wird eine Reaktorausführung gemäß Fig. 1 oder Fig. 2 verwendet. Dem Reaktor 24 sind je nach Menge und Behandlungsmodus der Substrate ein oder mehrere Ansatzbehälter 25 sowie Sterilisatoren 26 für die Nährlösungen vorgeschaltet. Die Sterilisation kann dabei sowohl diskontinuierlich in Rührautoklaven als auch kontinuierlich in Durchlaufsterilisatoren oder durch Sterilfiltration erfolgen. Der Fermentationsprozeß verläuft als zyklisches Batch-Verfahren, indem auf dem Träger im 1. Zyklus eine Biomasseschicht angezogen wird, die im Verlaufe von bis zu 5 Tagen das gewünschte Enzymgemisch produziert. Anschließend wird die Kulturlösung geerntet und es schließt sich durch Auffüllen frischer Substrate unmittelbar nach der Ernte oder nach einer Trocknungsphase von bis zu 24 h ein zweiter Fermentationszyklus an. In analoger Weise können weitere Zyklen folgen, solange die Biomasse keinen störenden Einfluß auf die Zirkulation des Mediums im Reaktor ausübt. Bei der Ernte der enzymhaltigen Kulturlösung gelangt das Medium mittels der Pumpe 27 in einen kühlbaren Zwischenbehälter 28, aus dem sie durch ein ein- oder mehrstufiges Schichtenfilter 29 zwecks Klärung und gegebenenfalls Entkeimung in einen zweiten Behälter 30 gefördert wird. Mit Hilfe der Ultrafiltrationsanlage 31 wird die Kulturlösung auf das gewünschte Maß konzentriert und gegebenenfalls durch Diafiltration weiter gereinigt.

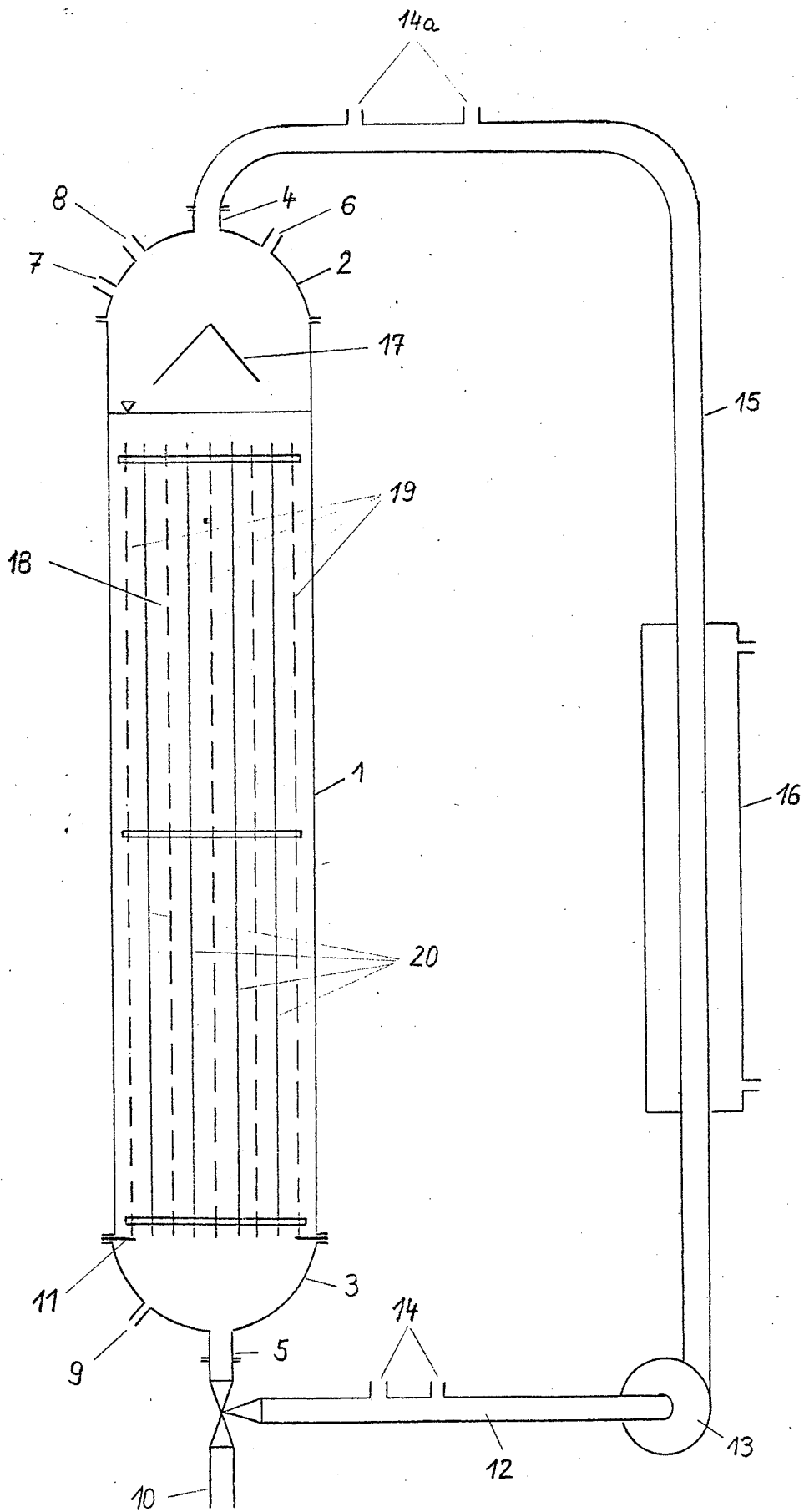


Fig. 1

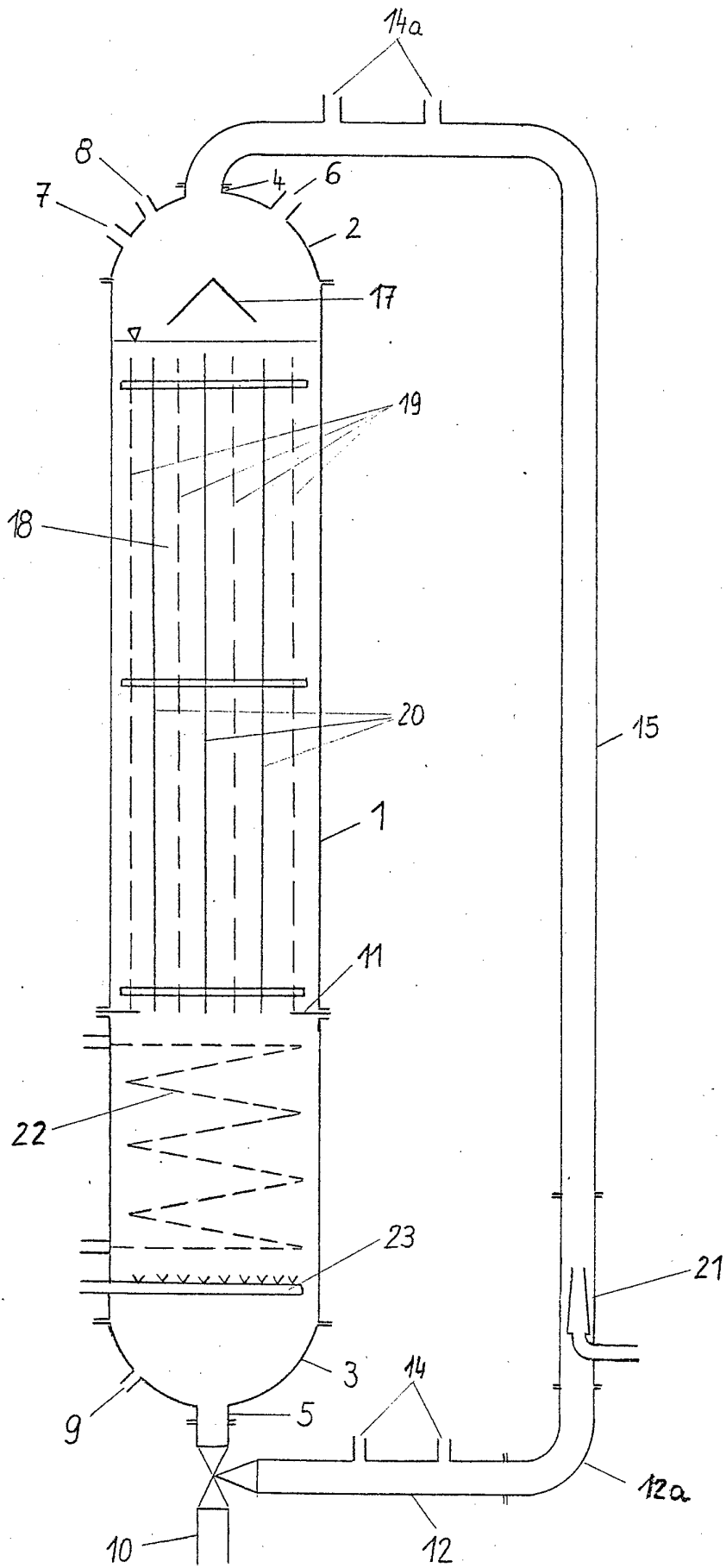


Fig. 2

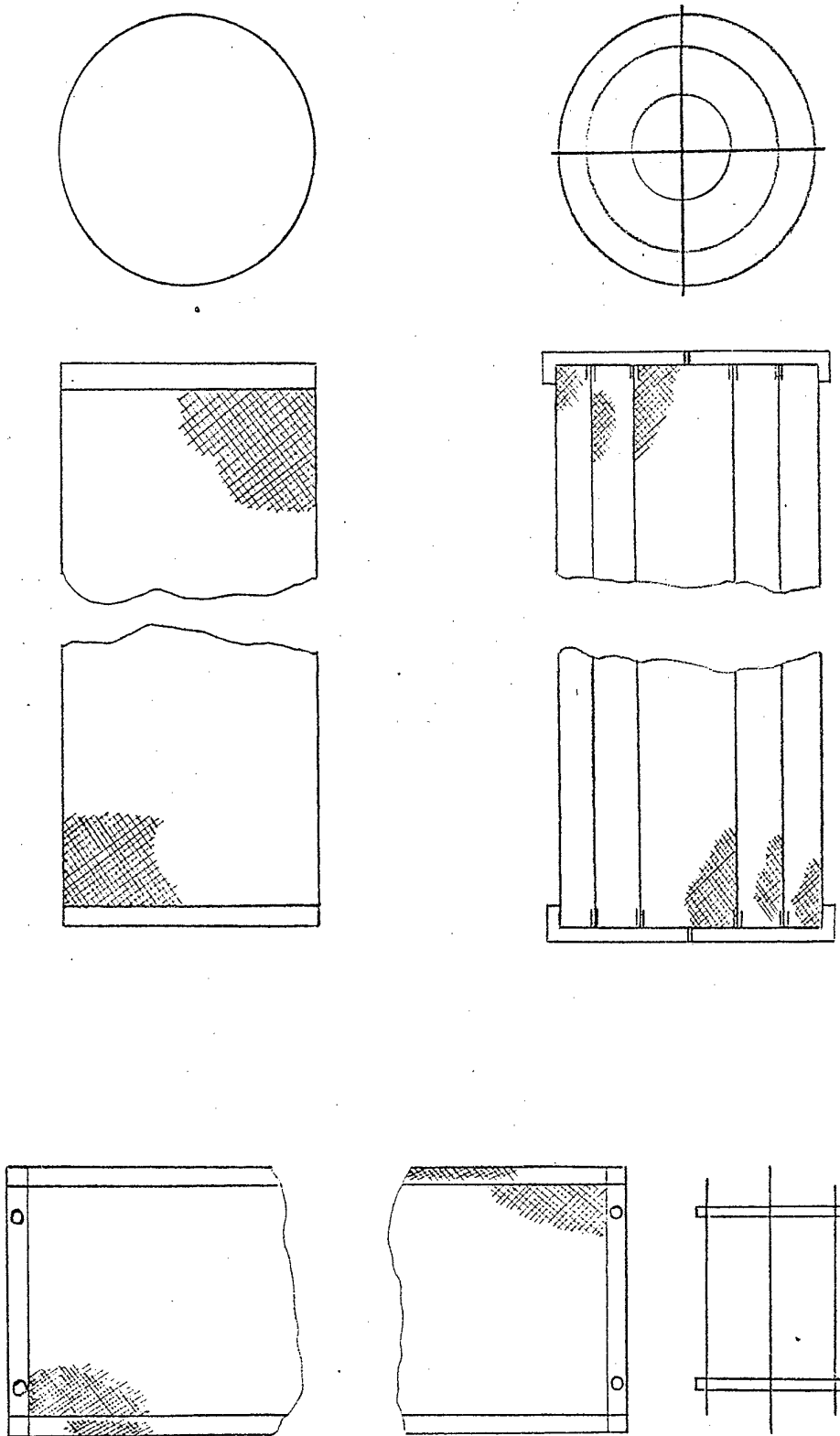


Fig. 3

-4.AUG.1986\*365434

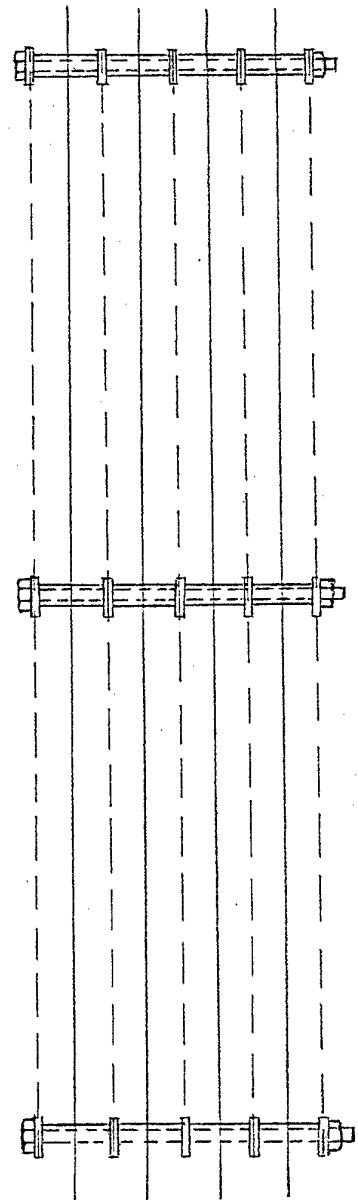
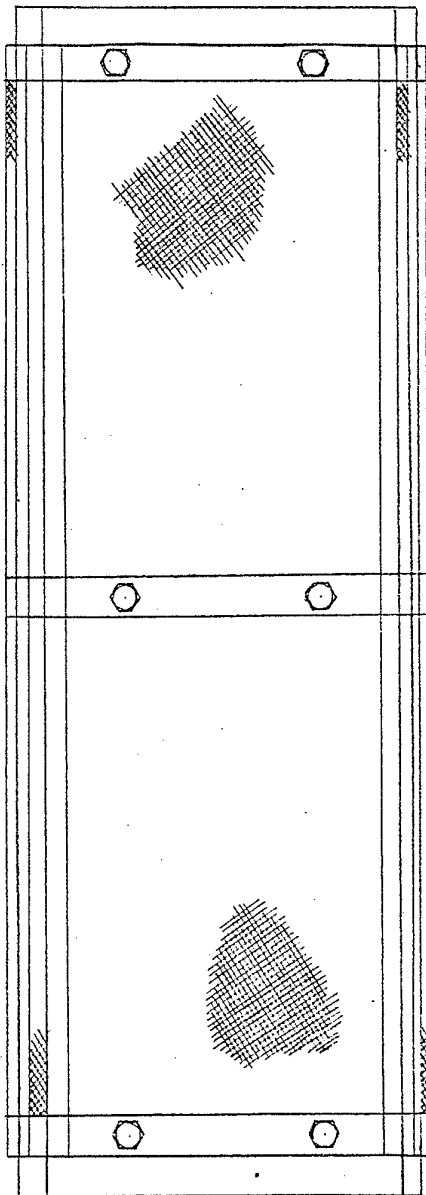
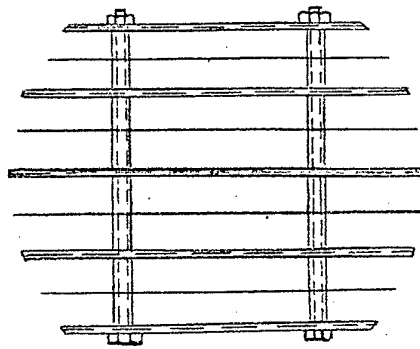


Fig. 4

-4 AUG. 1986 \* 365434

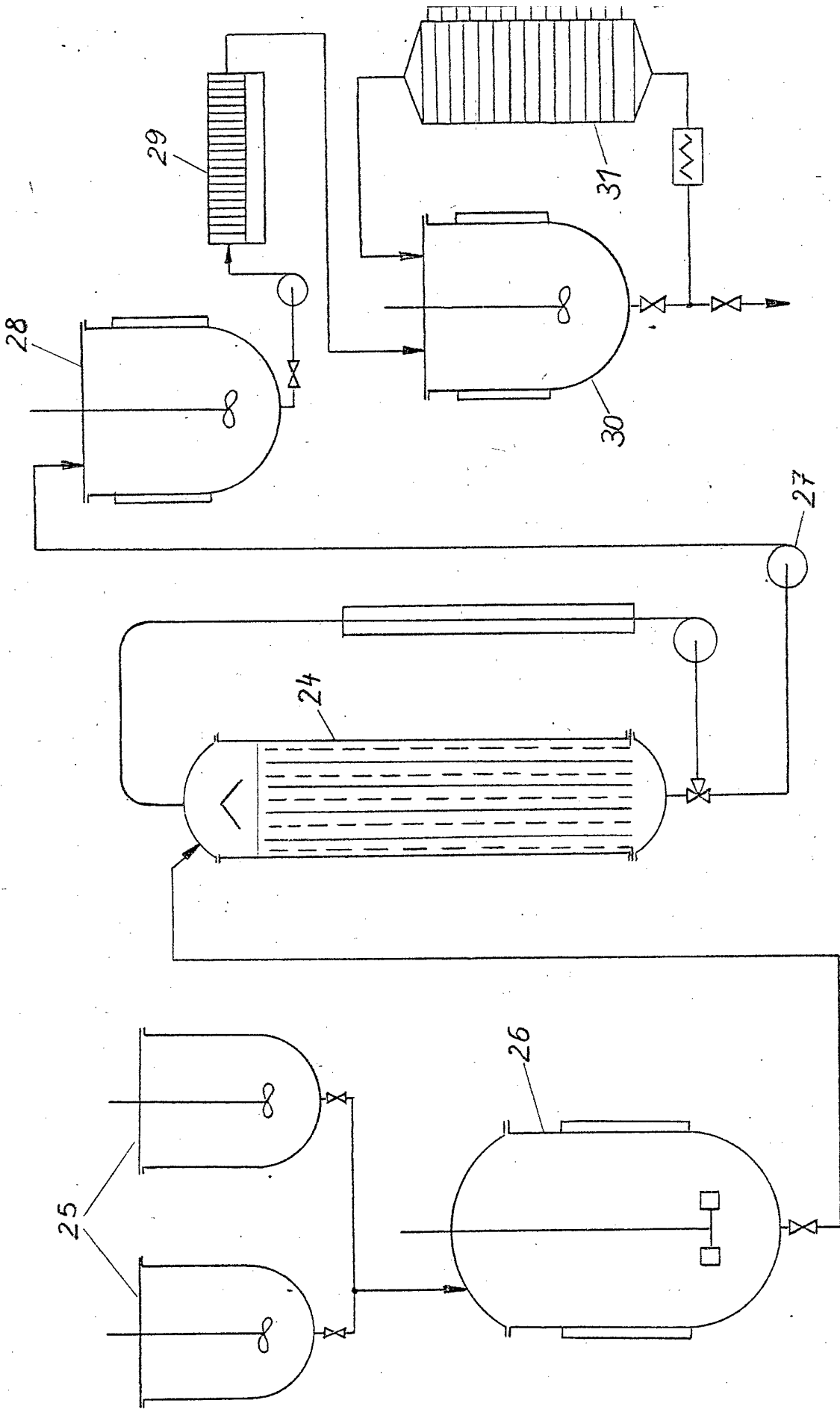


Fig. 5

-4. AUG. 1936 \* 385434