



Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 5 Absatz 1 des Änderungsgesetzes
zum Patentgesetz

ISSN 0433-8481

(11)

2004 311

Int.Cl.³

3(51) C 12 M 1/36

AMT FUER ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP C 12 M/ 2324 920

(22) 10.08.81

(44) 04.05.83

(71) AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN DER DDR, BERLIN, DD
(72) GIRA, GEORG, DR.-ING.; GUTHKE, REINHARD, DR. RER. NAT. DIPL.-PHYS.;
KNORRE, WOLFGANG ADOLF, DR. SC. DIPL.-PHYS.; DD;

(73) siehe (72)

(74) ERICH HULTSCH, ADW DER DDR, INSTITUTE UND EINRICHTUNGEN JENA, PATENTBUERO,
6900 JENA, BEUTENBERGSTR. 11

(54) VORRICHTUNG FUER MIKROBIOLOGISCHE KULTUREN

(57) Die Erfindung „Vorrichtung für mikrobiologische Kulturen“ realisiert definierte zeitliche Übergangszustände in mikrobiologischen Kulturen und ist anwendbar in der mikrobiologisch-pharmazeutischen Industrie und bei der Abwasserbehandlung. Ziel der Erfindung ist die Erhöhung bzw. Stabilisierung der Stoffwechselleistung mikrobiologischer Verfahren, bei denen eine Reihe von wirtschaftlich wichtigen mikrobiellen Produkten in erhöhtem Maße zumeist nur während zeitlicher Übergangszustände gebildet werden können. Mit Hilfe der Erfindung soll eine gewünschte Folge von Übergangszuständen, in denen Produktbildung mit großer Ausbeute erfolgt, von außen erzwungen werden. Die Aufgabe wird durch eine Vorrichtung gelöst, die den Logarithmus der Biomassekonzentration, die gegebenenfalls aus dem Logarithmus gemessener Transmissionswerte bestimmt wird, entlang der zweifach integrierten Sollwertkurve führt. Im Falle einer positiven Abweichung zwischen der doppelt zweitintegrierten Sollwertkurve und der doppelt logarithmierten Meßwertkurve erfolgt Zugabe von dem das Wachstum begrenzenden Substrat über eine Pumpe, bis diese Abweichung korrigiert ist. Figur

232492 0

Titel der Erfindung

Vorrichtung für mikrobiologische Kulturen

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Realisierung definierter zeitlicher Übergangszustände in mikrobiologischen Kulturen und ist anwendbar in der mikrobiologisch-pharmazeutischen Industrie und bei der Abwasserbehandlung.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Bekannt sind eine Reihe von Verfahren und Vorrichtungen, allgemein als kontinuierliche bzw. zugefütterte Kultivierung bezeichnet, durch deren Anwendung definierte, zeitlich stationäre Zustände in mikrobiologischen Kulturen realisiert werden können. Dabei muß grundsätzlich zwischen Vorrichtungen ohne und mit Regeleinrichtungen zur Einstellung der stationären Zustände unterschieden werden. Vorrichtungen ohne Regler werden allgemein Chemostat genannt, solche mit Regler werden dagegen als gefütterte Kultur (fed batch) bezeichnet. Mikrobiologische Prozesse mit spezifischen interessierenden Stoffwechselleistungen, wie Produktsynthesen und Abbauleistungen, sind im allgemeinen mehrphasig, wobei die verschiedenen Phasen durch Übergangszustände ineinander übergehen. Es ist bekannt /1/ Pirt, S. J., Thacheray, E. J., Harris-Smith, R. (1961). J. gen. Microbiol. 25, 119-130; /2/ Wright, D. G., Calam, C. T. (1968). Chem. Ind. (London) 38, 1274-1275; /3/ Knorre, W. A. (1968). Biochem. Biophys. Res. Commun. 31, 812-817; /4/ Maslen, F. P., Ousby, J. C., Senior, P. J.. DT 27 14 708 A1 Patentanmeldung: Verfahren zum Züchten von Zellen, daß eine Reihe von wirtschaftlich wichtigen mikrobiellen Produkten (Enzyme, Anti-

biotika, Pigmente, Antikörper, Hormone, Aminosäuren) in erhöhtem Maße nur während zeitlicher Übergangszustände gebildet werden können.

Bei den bekannten Verfahren und Vorrichtungen wird der Übergang von einem physiologischen Zustand in einen anderen lediglich von den im Organismus genetisch determinierten Stoffwechselregulationen kontrolliert, also nicht von außen geführt. Wenn wirtschaftlich wichtige Produkte während bestimmter Übergangszustände gebildet werden, erhält man keine stabil hohe Ausbeute, weil diese Übergangszustände entweder nur kurzzeitig /5/ Bley, Th.: DD-WP 140 150 Verfahren zur Gewinnung von Biomasse oder nicht ausreichend reproduzierbar durchlaufen werden /6/ Conney, C. L. (1979): Biotech. Bioeng. Symp. 9, 1-11. Jedoch ist die Ausbeute an unerwünschten Nebenprodukten hoch, so daß aufwendige Anreicherungs- bzw. Reinigungsverfahren nachgeschaltet werden müssen. Mit der Synthese von Nebenprodukten werden hochwertige Ausgangsstoffe in unwirtschaftlicher Weise umgesetzt. Es sind mikrobiologische Verfahren bekannt, bei denen durch Zufütterung von Substraten Übergangszustände zeitlich verlängert werden. Diese Verfahren beziehen jedoch keine Regler mit variablen Sollwerten ein. Diese bekannten Verfahren und Vorrichtungen kompensieren somit Abweichungen vom angestrebten Prozeßverlauf nur unzureichend.

Bekannt sind weiterhin Vorrichtungen, die zeitliche Übergänge von physikalischen, biologisch unspezifisch wirkenden Größen, wie Temperatur, pH-Wert und Gelästsauerstoffkonzentration realisieren, z. B. /7/ Constantinides, A.: Spencer, J. L., Gaden, E. L. (1970), Biotechnol. Bioeng. 12, 803. Diese zeitlichen Übergangszustände in den physikalischen Umweltbedingungen stehen in keinem eindeutigen Zusammenhang zu physiologischen Zuständen mikrobiologischer Kulturen. Es ist dagegen bekannt, daß im einfachsten Falle physiologische Zustände mikrobiologischer Kulturen durch eine einzige Größe, allgemein spezifische Wachstumsrate genannt, beschrieben werden können /8/ Bergter, F.: Wachstum von Mikroorganismen, Fischer-Verlag Jena, 1972. Methoden und Vorrichtungen zur Bestimmung dieser Größe sind bekannt /8/ Bergter, F.: Wachstum

von Mikroorganismen, Fischer-Verlag Jena, 1972. Jedoch infolge der dabei erforderlichen ersten Ableitung nach der Zeit sind diese sehr störanfällig /9/ Knorre, W. A.: Mund, K., Jakubik, L.: Analysis of growth curves of microorganisms by piecewise linear approximations. Z. Allg. Mikrobiologie 18, 609-612 (1978). Da die Bestimmung eines Übergangszustandes eine zweite Ableitung nach der Zeit erforderlich machen würde, ist die Anwendung solcher Verfahren für die Prozeßführung in Echtzeit ungeeignet.

Ziel der Erfindung

Die Erfindung beinhaltet das Ziel, die mikrobiologische Stoffwechselleistung von Verfahren zu erhöhen bzw. zu stabilisieren.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung zu beschreiben, mit der bei der Prozeßführung der physiologische Zustand der mikrobiologischen Kultur nicht wie bisher konstant gehalten oder der Übergang zwischen physiologischen Zuständen durch im Mikroorganismus vorhandene Regulationsmechanismen bestimmt wird, sondern mit der eine gewünschte Folge von Übergangszuständen von außen erzwungen wird.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe durch eine Vorrichtung gelöst, mit der der Logarithmus der Mikroorganismenkonzentration (Biomassekonzentration), die gegebenenfalls indirekt aus einem anderen Signal bestimmt werden kann, entlang der zweifachen integrierten Sollwertkurve geführt wird. Die Vorrichtung enthält sowohl Elemente zur zweifachen Logarithmierung als auch Elemente zur zweifachen Zeitintegration sowie einen Vergleicher und eine Pumpe. Dadurch, daß die aus Stabilitätsgründen praktisch nicht anwendbare doppelte Differentiation der doppelt logarithmierten Meßwertfolge durch die formal-mathematisch gleichwertige doppelte Zeitintegration der Sollwertkurve ersetzt wird, ist die Stabilität der Vorrichtung gewährleistet. Erst diese Verfahrensweise gestattet es, zeitliche Übergangszustände in definierter Weise zu realisieren. Im Falle einer positiven Abweichung zwischen der doppelt zeitintegrierten

Sollwertkurve und der doppelt logarithmierten Meßwertkurve erfolgt Zugabe von dem das Wachstum begrenzenden Substrat über die Pumpe, bis diese Abweichung korrigiert ist.

Ausführungsbeispiel

An einem Ausführungsbeispiel soll die Erfindung näher erläutert werden. Es zeigt die Fig. ein Blockschema der Vorrichtung für mikrobiologische Kulturen.

Die Vorrichtung besteht aus dem Kultivierungsgefäß 1, das mittels einer Einrichtung zur kontinuierlichen Bestimmung der Mikroorganismenkonzentration 2, 3, 4, einem Lineartransformierer 3 und einem Logarithmierer 4 an einem Eingang eines Vergleichers 7 angeschlossen ist, wobei der andere Eingang des Vergleichers über zwei Integrierer 6 mit einem Sollwertgenerator 5 verbunden ist. Der Sollwertgenerator 5 gibt die aktuelle Zeitableitung der spezifischen Wachstumsrate vor. Der Ausgang des Vergleichers ist über einen Verstärker mit einer Pumpe gekoppelt, die mit einem das Mikroorganismenwachstum begrenzenden Substrat enthaltenden Reservoir verbunden ist.

Im Kultivierungsgefäß 1 werden durch hier nicht näher beschriebene Einrichtungen (zum Beispiel Festwertregler für Temperatur, pH, pO_2 usw.) die für das Wachstum erforderlichen Bedingungen - mit Ausnahme einer, das Wachstum begrenzenden Substratkonzentration - konstant gehalten. Die Konzentration der Mikroorganismen, symbolisiert mit x , wird beispielsweise photometrisch ermittelt unter Anwendung des bekannten Lambert-Beer'schen Gesetzes für die Schwächung des Lichtes beim Durchgang durch ein optisch trübes Medium:

$$x = a \ln T^{-1} \quad (1)$$

Ein Photometer 2 liefert zunächst ein der Transmission T proportionales elektrisches Signal. (Im Falle höherer optischer Dichten ist anstelle der Messung der Transmission die Messung der Rückstreuung technisch vorteilhafter.) Dieses Signal wird mittels des Lineartransformierers 3 in das Transmissionssignal T überführt. Der Logarithmierer 4 und ein weiterer Lineartransformierer 3 führen die nach Gleichung (1) erforderlichen Operationen aus, wodurch ein der Mikroorganismenkonzentration proportionales elektrisches Signal, die normierte Mikroorganismenkonzentration x/x_0 , erhalten wird. Dieses Signal ver-

läuft über den zweiten Logarithmierer 4, so daß an einem Eingang des Vergleichers 7 der Logarithmus der normierten Mikroorganismenkonzentration zur Verfügung steht. Parallel dazu wird am zweiten Eingang des Vergleichers 7 die doppelt zeitintegrierte Sollwertkurve bereitgestellt, indem der Sollwertgenerator 5 die aktuelle Zeitableitung der spezifischen Wachstumsrate als Sollwertkurve $f(t)$ vorgibt, die von den beiden Integrierern 6 zur Sollwertkurve der logarithmierten normierten Mikroorganismenkonzentration verarbeitet wird. Der Vergleich 7 stellt die aktuelle Differenz zwischen Soll- und Istwert der logarithmierten normierten Mikroorganismenkonzentration fest. Diese Differenz läßt sich mathematisch darstellen als

$$\int_0^t \left[\int_0^{t'} f(t'') dt'' \right] dt' - \ln x/x_0 \quad (2)$$

mit x_0 = Startwert der Biomassekonzentration

t = aktuelle Fermentationszeit

t' , t'' = Integrationsvariable (t' , t'' Dimension einer Zeit)

Sobald die Differenz (2) positiv ist und eine Hysterese ϵ des Vergleichers 7 übersteigt, wird über den Verstärker 8 die Pumpe 9 eingeschaltet, die aus einem Reservoir 10, daß das Mikroorganismenwachstum begrenzende Substrat mit einer bestimmten, konstanten Rate in das Kultivierungsgefäß 1 befördert.

Im Falle einer negativen Abweichung (2) wird über den Verstärker 8 die Pumpe 9 ausgeschaltet, so daß diese kein Substrat in das Kultivierungsgefäß 1 befördert.

Solange die mit (2) symbolisierte Abweichung kleiner als ϵ ist, verläuft die erste zeitliche Ableitung $\dot{x}$ der spezifischen Wachstumsrate μ , die als $\dot{x}/x$ definiert ist, näherungsweise entlang der vorgegebenen Sollwertkurve $f(t)$, d. h. für diesen, von der beschriebenen Vorrichtung erzwungenen Fall gilt

$$\dot{x} = f(t) \quad (3)$$

Beispielsweise wird für den einfachsten Fall einer mit der Prozeßzeit linear abnehmenden spezifischen Wachstumsrate, also

für

$$\dot{u} = \text{const.},$$

(3-)

mittels der beschriebenen Vorrichtung der Logarithmus der normierten Mikroorganismenkonzentration entlang einer Parabel geführt.

Erfindungsanspruch

Vorrichtung für mikrobiologische Kulturen, gekennzeichnet dadurch, daß die mikrobiologische Kultur über eine Vorrichtung zur kontinuierlichen Bestimmung der Mikroorganismenkonzentration (2,3,4), einem Lineartransformierer (3) und einem Logarithmierer (4) an einem Eingang eines Vergleichers (7) angeschlossen ist, wobei der andere Eingang des Vergleichers (7) über zwei Integrierer (6) mit einem Sollwertgenerator (5), verbunden ist und der Ausgang des Vergleichers (7) über einen Verstärker (8) mit einer Pumpe (9) gekoppelt ist, die mit einem das Mikroorganismenwachstum begrenzenden Substrat enthaltenden Reservoir (10) verbunden ist.

Hierzu 1 Seite Zeichnung

232492 0

