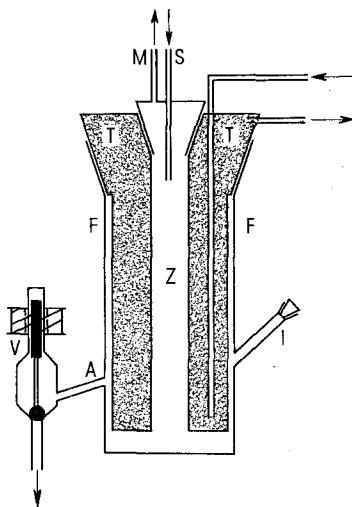


Manometrische Regelung kontinuierlicher Gärungen durch das Gärungs-CO₂

Zur Regelung einer kontinuierlichen Kultur gärender *Saccharomyces cerevisiae* wurde der Druck des entstehenden Gärungs-CO₂ durch manometrische Messung mit einem Schaltmanometer eingesetzt. Die damit durchgeführte Bestimmung der Bildung eines Stoffwechsel-Endproduktes in der Zeit kann als Mass für die Stoffwechselaktivität der untersuchten Kultur in bezug auf dieses Endprodukt angesehen werden. Während MÁLEK und FENCL¹ eine Anwendung von CO₂ zur Fermenterregelung nicht erwähnen, berichtet WATSON² über eine CO₂-Regelung, allerdings aufgrund der Messung mit einem IR-Spektrometer.

Mit dem, im folgenden angegebenen, manometrischen Verfahren konnten kontinuierliche Kulturen bis zu 11 Wochen in einem gleichbleibend stoffwechselaktiven Zustand, gemessen an der CO₂-Produktion des Fermenter-inhaltes pro Zeiteinheit, durchgeführt werden. Der Inhalt des Fermenters war 50 ml bei 100 ml Gesamtvolumen des geschlossenen Fermentersystems. Aufgrund der Möglichkeit einer derart geringen Dimensionierung erscheint das Verfahren für den Laborbetrieb besonders geeignet.



In den zylindrischen Glasfermenter (F) ist ein Temperierstutzen eingeschiffen. Auf dem Zentralrohr (Z) dieses Stutzens sitzt ein Schliff-Dom, der den Abgang (M) zur Druckentnahme für das Schaltmanometer sowie den Zulauf (S) für frisches Substrat trägt. Am Aussenmantel (F) ist der Ablauf (A) angesetzt, der direkt in ein Magnetventil (V) übergeht, ausserdem eine Impfpföpfung (I), die nach der Beimpfung mit einem Schliffstopfen verschlossen wird.

Bei Erreichen der oberen Druckgrenze am Schaltmanometer öffnet das Ablauf-Magnetventil, Überlauf und Überdruck-CO₂ entweichen, bis bei Erreichen der unteren Druckgrenze das Magnetventil schliesst und eine Schlauchpumpe frisches Substrat in den Fermenter fördert. Die Druckgrenzen am Schaltmanometer sind frei wählbar. Im vorliegenden Falle wurde in einem Druckintervall von 100 mm bis 50 mm Wassersäule gearbeitet, also in einer vergleichbaren Grössenordnung zu Arbeiten mit dem Warburg-Gerät. Der geringe Maximaldruck erleichtert zudem die notwendige Erhaltung der Druckdichtigkeit. Die Druckentnahme erfolgt vom Zentralrohr des Temperierstutzens. Die im Verhältnis zum temperierten Gesamtvolumen sehr kleine Dimensionierung des Manome-

teranschlusses gewährleistet hohe Unabhängigkeit der Druckmessung von der Umgebungstemperatur.

Das frische Substrat wird mit einer Schlauchpumpe durch das Zentralrohr im Temperierstutzen zugegeben und tropft direkt auf den Magnetrührer. Da der Stutzen unter den seitlichen Abgang reicht, muss das Substrat den ganzen Fermenter durchlaufen. Die notwendige Homogenität des Fermenter-inhaltes wird durch Magnetrührung erreicht. Aufgrund der kleinen Dimensionierung des Fermenters ist eine gute Rührkonstanz erforderlich. Zur Temperierung werden pro min ca. 5 l Wasser aus einem Thermostaten (mit Gegenkühlung) durch den Temperierstutzen gepumpt.

Bei rückführenden Regelungen lässt sich eine Konstanz nur in bezug auf die Messgrösse des Ist-Wertes erreichen. Im vorliegenden Fall ist dies ein Druck, hervorgerufen durch das Gärungs-CO₂. Während z.B. beim Turbidostat die Dichte als Messwert eingeht, gleichgültig ob sie, von lebenden oder toten Zellen oder irgendwelchen Trübungen des Fermenter-inhaltes herrührt, kann hier nur von einer Konstanz der CO₂-Produktion des Gesamt-Fermenter-inhaltes gesprochen werden. Es kann nicht unterschieden werden, ob weniger Zellen mehr oder mehr Zellen weniger CO₂ produzieren. Wurde der beschriebenen Fermenteranordnung zu verschiedenen Zeiten Material entnommen und nach Einstellung gleicher optischer Dichte die Stoffwechselaktivität mit dem Warburggerät kontrolliert, so zeigten sich entsprechende Abweichungen: bei höherer Entnahmedichte war die CO₂-Produktion geringer als bei niedriger Entnahmedichte. Inwieweit es sich dabei um zyklische Vorgänge handelt, muss noch geklärt werden, die Entnahmedichten schwanken um einen Mittelwert.

Die kontinuierliche Arbeitsdauer der beschriebenen Anordnung bei gleichbleibender Stoffwechselaktivität des Fermenter-inhaltes, gemessen an der CO₂-Produktion pro Zeiteinheit, ist bis jetzt auf 9–11 Wochen begrenzt. Nach dieser Zeit treten Undichtigkeiten auf, besonders durch Abnutzungserscheinungen am Pumpenschlauch. Nach Möglichkeit sollte eine sterilisierbare Einspritzpumpe verwendet werden.

Insgesamt zeichnet sich die manometrische Fermenterkontrolle durch technische Einfachheit und Durchschaubarkeit aus. Die freien Wahlmöglichkeiten für Druckhöhe, Druckintervall, Zugabemenge pro Schaltimpuls, Rührgeschwindigkeit, Temperatur und Medienzusammensetzung ergeben eine hohe Variabilität der Anlage. Die Steuerung über Schaltimpulse ergibt einen digitalen Ablauf, der es ermöglicht, die Überwachung mit einem einfachen Impulssummen-Schreiber durchzuführen³. Die Konstanz der Stoffwechselaktivität zeigt sich dabei an der gleichbleibenden Steigung der Registrierkurve.

Die beschriebene Fermenteranordnung ist zur Erhaltung von gleichbleibend stoffwechselaktivem Inokulationsmaterial über längere Zeiträume geeignet (Reinzuchtthehen, Pilotenanlagen für Grossvermehrung etc.). Die Verwendung einer Stoffwechselgrösse zur Regelung gibt die Möglichkeit, die Einwirkungen von Aussenfaktoren (z.B. Temperatur, Medienzusammensetzung, Förder- und Hemmstoffe) auf den «steady state» einer Kultur zu ermitteln. Möglicherweise kann das Arbeiten mit

¹ I. MÁLEK and Z. FENCL, *Theoret. and Methodol. Basis of Cont. Culture of Microorg* (Academic Press, New York 1966).

² T. G. WATSON, *J. gen. Microbiol.* 59, 83 (1969).

³ K. KLEMM, *Experientia* 28, 1527 (1972).

Gradienten bestimmter Faktoren zur Mutantenauslese und -Anreicherung führen.

Summary. Using CO_2 in manometric control of continuous cultures (Sacch. cer.), the cultures were maintained constant in intensity of metabolism in respect to CO_2 -production. The small fermentors (50 ml) are useful for

investigations in metabolism under various conditions at a steady state.

K. KLEMM

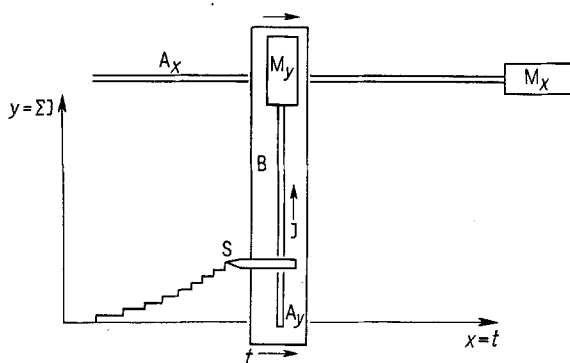
*Institut für Mikrobiologie und Weinforschung
der Johannes Gutenberg-Universität,
Ernst-Ludwig-Strasse 10, D-6500 Mainz (Germany),
9 March 1972.*

Ein einfacher Impulssummen-Schreiber zur digitalen Registrierung von Prozessabläufen

Der angegebene Schreiber registriert und summiert Impulse in der Zeit und eignet sich damit zur Aufzeichnung von Prozessabläufen in digitaler Form. Einzige Voraussetzung für den Einsatz ist die Möglichkeit der Übernahme definierter Schaltimpulse aus dem interessierenden Ablauf. Das Gerät wurde zur zeitlichen Überwachung einer manometrisch geregelten, kontinuierlichen Fermenteranlage entworfen und gebaut¹. Auch zur Verfolgung des Gärverlaufes in Standkulturen anhand der CO_2 -Bildung wurde es mit Erfolg eingesetzt.

Das Gerät unterscheidet sich von handelsüblichen Schreibern durch die vereinfachte Aufzeichnung in der Ordinate. Der Zeitvorschub in der Abszisse erfolgt in üblicher Form, entweder durch zeitlich konstanten Papervorschub oder Bewegung einer Brücke mit dem Ordinatenantrieb über das festliegende Registrierpapier.

Zur Registrierung in der Ordinate sitzt die Schreibspitze an einer Spindel, deren Antriebsmotor über ein Relais durch die zu registrierenden Impulse angesteuert wird. Die Vorschubstrecke pro Impuls kann durch Wahl der Spindelsteigerung oder des Antriebsmotors dem Verwendungszweck angepasst werden. Der Einsatz eines Schrittmotors dürfte dabei die zweckmässigste Lösung darstellen.



Bei der verwendeten Ausführung (Figur) wird entlang der Abszisse als Zeitachse eine Brücke (B) mit konstanter Geschwindigkeit über das Registrierpapier geführt (normales Millimeterpapier). Die Vorschubgeschwindigkeit ergibt sich aus der Steigung der Spindel A_x (10 mm) und der Drehzahl des Getriebemotors M_x (1 U/h) zu 10 mm/h. Zur Impulsaufzeichnung in der Ordinate sitzt die Schreibspitze S, eine Bleistiftmine, an der Spindel A_y (1,5 mm Steigung) auf der Brücke B. Der Antrieb

erfolgt durch einen Getriebemotor M_y (2 U/min), der über ein Zeitrelais (6 sec) angesteuert wird, d.h. die Vorschubstrecke pro Impuls beträgt bei dieser Ausführung 0,3 mm pro Impuls.

Da sich die Schreibspitze ohne Rücklauf bewegt, werden die Impulse in Form einer Treppenkurve registriert und damit in der Ordinate geometrisch summiert. Bei kleinen Schreiberbewegungen (wie oben angegeben und kleiner) ist die Treppenkurve als solche nur mit der Lupe deutlich zu erkennen. In einem solchen Fall kann sich die Zuschaltung eines Impulszählwerkes als zweckmässig erweisen.

Sind die Schaltimpulse durch Auslösung stets quantitativ gleicher Reaktionen auf den Prozessverlauf definiert, so ist die Summe der Impulse proportional der Summe dieser Reaktionen. Im Falle der angegebenen Fermenterüberwachung erfolgt je Schaltimpuls eine quantitativ gleiche Abgabe von CO_2 , wie auch Zu- und Abgabe von Substrat. In einem solchen Fall können diese Werte anhand der Impulssumme auf der Ordinate direkt abgelesen werden. Der Anstieg der Registrierkurve ist dabei grundsätzlich ein Mass für die Geschwindigkeit des Prozessablaufes, bei dem oben angegebenen Fermenter für die Stoffwechselaktivität der gärenden Hefen.

Ein Einbau verschiebbarer Schalter an den Achsenantrieben gibt die Möglichkeit, zusätzliche Schaltimpulse nach vorgewählter Zeit oder Erreichen einer bestimmten Impulszahl auszulösen. Sind gegenläufige Vorgänge zu registrieren, etwa eine Ph-Kontrolle durch sowohl Säure- wie Basenzugabe, kann entweder ein Motor mit umkehrbarer Drehrichtung oder ein Planetengetriebe mit gegenläufigem Gehäuseantrieb für die Ordinatenschiebung verwendet werden.

Die Verwendung von Relais zur Ansteuerung in der Ordinate erübrigt eine elektrische Anpassung. Das Gerät ist generell zur digitalen Registrierung geeignet, es muss lediglich die Möglichkeit gegeben sein, dem interessierenden Prozessablauf definierte Schaltimpulse zu entnehmen.

Summary. The coordinate plotter summarizes impulses from digital control mechanisms geometrically in terms of time. It is possible to obtain additional impulses from the plotter by mounting of special switches.

K. KLEMM

*Institut für Mikrobiologie und Weinforschung der
Johannes Gutenberg-Universität, Ernst-Ludwig-Str. 10
D-6500 Mainz (Germany), 9. März 1972.*

¹ K. KLEMM, Experientia 28, 1527 (1972).