

## Aufgabenstellung

Formeln:

Allgemeine Wachstumsgleichung:  $cX = cX_0 e^{\mu_{\max} t}$

Monod-Gleichung:  $\mu = \mu_{\max} \cdot s / (K_S + s)$

Beispiel 1: Schätzen Sie ab, ob die Monod-Gleichung zur Berechnung der Fermentation von E. coli unter den vorgegebenen Bedingungen vernachlässigt werden kann?

Glucose-Anfangskonzentration = 10 g l<sup>-1</sup>

K<sub>S</sub> von E. coli für Glucose = 0,022 g l<sup>-1</sup>

μ<sub>max</sub> von E. coli für Glucose = 1,20 h<sup>-1</sup>

Anmerkungen: Die Batch-Fermentation wird üblicherweise mit der allgemeinen Wachstumsgleichung unter Verwendung von μ<sub>max</sub> berechnet. Diese berücksichtigt nicht, dass die tatsächliche Wachstumsrate μ gemäß Monod-Gleichung eine Funktion der Substratkonzentration ist.

Lösungsansatz beispielsweise: Bei welcher Substratkonzentration ist die tatsächliche Wachstumsrate μ auf 95% des Wertes von μ<sub>max</sub> abgefallen?

## Vorgaben

c <sub>so</sub>	10,0000	g/l
k <sub>S</sub>	0,022	g/l
m <sub>y</sub> max	1,200	1/h

**Aufgabenstellung**

Ein Stamm von *Escherichia coli*, der genetisch verändert wurde, um menschliches Protein zu bilden, wird in Batch-Kultur gezüchtet. Der Fermenter, ein 100 m<sup>3</sup>-Blasensäulenreaktor, wird mit 12 kg Zellen beimpft. Die Glucosekonzentration beträgt 10 kg/m<sup>3</sup>, die maximale spezifische Wachstumsrate der Kultur ist 0,9 h<sup>-1</sup> und die Biomasseausbeute aus Glucose ist 0,575 [kg X/kg S].  
Nach welcher Zeit wird die stationäre Phase erreicht?

**Vorgaben**

VR	100000	L
cs,0	10	g/l
cx0	0,12	g/l
$\mu_{\max}$	0,9	1/h
Yx/s	0,575	g/g

## Aufgabenstellung

- a** Mit welcher Menge einer Vorkultur von *E. coli* muss ich meinen Fermenter mit einem maximalen Arbeitsvolumen von 9,5 l inokulieren, um nach einer vorgegebenen Fermentationsdauer von 6 h die gewünschte Menge von 80 g Trockensubstanz an *E. coli* zu erlangen? Weitere Angaben: Die maximale Wachstumsrate des eingesetzten Stamms wurde in Vorversuchen mit 1,20 h<sup>-1</sup> ermittelt. Die Biomassekonzentration in der Vorkultur beträgt 2 g Trockensubstanz pro Liter.
- b** Die Messung der Biomasse der Fermentation ergab 64 g Trockensubstanz an *E. coli*. Wie hoch ist die auf diese Weise experimentell ermittelte mittlere Wachstumsrate und steht sie im Einklang mit jener Wachstumsrate, die zu erwarten gewesen wäre?
- c** Der zugegebene Zucker (128 g Glucose) war am Ende der Fermentation vollständig verbraucht. Wie hoch war der Ausbeutekoeffizient  $Y_{X/S}$ ?

## Vorgaben

VR	9,5	L
t_end	6	h
c <sub>x0</sub> , inoc	2	g/l
μ <sub>max</sub>	1,2	1/h
c <sub>xt</sub>	8,421	g/l

# Produktivität\_1

## Aufgabenstellung

Ein Laborfermenter mit einem Arbeitsvolumen von 975 ml wird bei einer Flussrate von 60 ml h<sup>-1</sup> und einer Substratkonzentration von 5 g l<sup>-1</sup> im Feed betrieben. Es werden in regelmäßigen Zeitabständen Proben zur Bestimmung von Biomasse X und Substratkonzentration S im Fermenter gezogen bis sich ein Gleichgewicht eingest. Danach wird die Flussrate auf 100 ml h<sup>-1</sup> erhöht und die Probennahme bzw. Messung wie oben beschrieben wiederholt.

Berechnen Sie die maximale Wachstumsrate sowie die Monod-Konstante des Organismus.

Bei welcher Verdünnungsrate müssten Sie den Fermenter für diesen Organismus betreiben, damit die Produktivität bezüglich Biomasse optimal ist.

Wie hoch ist die bei dieser optimalen Verdünnungsrate erzielte Biomassekonzentration sowie Produktivität.

Berechnen Sie abschließend jene Verdünnungsrate, deren Überschreitung die Auswaschung des Fermenters zur Folge hätte.

Vorgaben	$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S}$		$\frac{1}{\mu} = \frac{K_s}{\mu_{\max} S} + \frac{1}{\mu_{\max}}$			
	Feedrate F [ml h <sup>-1</sup> ]	Biomassekonzentration x [g/l]	Substratkonzentration S [g/l]		Volumen V	0,975 L
Zeit [h]					Feedkonzentration S <sub>0</sub>	5 g/L
10	60	1,1	1,1	1,02		
20	60	1,5	1,5	0,1		
40	60	1,78	1,78	0,041		
60	60	1,8	1,8	0,042		
70	100	1,7	1,7	0,15		
80	100	1,82	1,82	0,301		
90	100	1,79	1,79	0,39		
100	100	1,72	1,72	0,397		

$$D_{\text{opt}} = \mu_{\max} \left( 1 - \sqrt{\frac{K_s}{K_s + S_0}} \right)$$

# Erhaltungsstoffwechsel\_1

## Aufgabenstellung

Ein Laborfermenter mit einem Arbeitsvolumen von 975 ml wird bei einer Flussrate von 5 ml h<sup>-1</sup> und einer Substratkonzentration von 5 g l<sup>-1</sup> im Feed betrieben. Es werden in regelmäßigen Zeitabständen Proben zur Bestimmung von Biomasse X und Substratkonzentration S im Fermenter gezogen bis sich ein Gleichgewicht eingest. Danach wird die Flussrate auf 10 ml h<sup>-1</sup> erhöht und die Probennahme bzw. Messung wie oben beschrieben wiederholt.

Berechnen Sie die spezifische Substratverbrauchsrate für den Erhaltungsstoffwechsel  
Berechnen Sie den wahren Ausbeutekoeffizienten

## Vorgaben

Zeit [h]	Feedrate F [ml h <sup>-1</sup> ]	Biomassekonzentration x [g/l]	Substratkonzentration S [g/l]	Volumen V	Feedkonzentration S <sub>0</sub>
10	5	1,1	0,43	0,975 L	5 g/L
20	5	1,3	0,15		
40	5	1,44	0,11		
60	5	1,42	0,13		
70	10	1,54	0,129		
80	10	1,61	0,133		
90	10	1,65	0,15		
100	10	1,66	0,16		

## Aufgabenstellung

Der Bakterienstamm Pseudomonas 5401 wird für die Herstellung von Einzellerprotein verwendet.

Die Zusammensetzung der Zellen ist C H<sub>1,83</sub> O<sub>0,55</sub> N<sub>0,25</sub>.

Wenn die Zellkonzentration zu Versuchsende 25 g/l beträgt, welche minimale Konzentration an Ammonsulfat muss vorliegen, wenn Ammonsulfat die einzige Stickstoffquelle ist?

## Vorgaben

$C_{\text{Biomasse}}$		25	g/L
Biomasse			
	C	1	
	H	1,83	
	N	0,25	
	O	0,55	

## Aufgabenstellung

Eine Hefe mit der Zusammensetzung  $C\ H_{1,8}\ O_{0,5}\ N_{0,2}$  (5 % Asche) erzielt einen Umsatz  $v$   $0,5\ g\ Biomasse/g\ Substrat$ . Es werden keine weiteren Metabolite gebildet.

Welcher RQ stellt sich ein, wenn als Substrat Glycerol ( $C_3H_8O_3$ ) eingesetzt wird?

Wo liegt der RQ bei Glukose?

## Vorgaben

Biomasse

C	1	
H	1,8	
N	0,2	
O	0,5	
Y <sub>x/s</sub>	0,5	g/g

## Aufgabenstellung

Citronensäure (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>) wird aus Glucose durch Fermentation mit *Aspergillus niger* (CH<sub>1,8</sub>O<sub>0,5</sub>N<sub>0,2</sub>) unter Belüftung hergestellt. Der pH liegt zwischen 1,8 und 2,0.

Die Stickstoffquelle ist Ammonnitrat. Es wird kein Kohlendioxid gebildet.

Eine typische Ausbeute unter diesen Bedingungen ist 68 g Citronensäure pro 100 g Glucose.

Bestimme den entsprechenden Sauerstoffverbrauch unter der Annahme, dass nur Biomasse und Citronensäure gebildet wird!

## Vorgaben

Yp/s		0,68	[g/g]
Biomasse			
	C	1	
	H	1,8	
	N	0,2	
	O	0,5	
		4,2	
C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> + O <sub>2</sub> + AmmonSulfat → C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> + CH <sub>1,8</sub> O <sub>0,5</sub> N <sub>0,2</sub>			



**Aufgabenstellung**

Stellen Sie die Stoffbilanz für den Substratzulauf im Zulaufverfahren auf,  
und begründen Sie jeden Term!

Die Kultur ist aerob, Temperatur und pH kontrolliert

Leiten Sie Gleichung für den initiellen Feed im Zulaufverfahren ab ( $\mu$ ,  $x_0$ ,  $Y_{x/s}$ ,  $V_0$ ,  $c_{s,in}$ )

Nehmen Sie an, dass die Wachstumsrate konstant ist.

**Vorgaben**

$$\dot{V}_{In} c_{i,In} - \dot{V}_{Out} c_{i,out} + V_R r_i = V_R \frac{\partial c_i}{\partial t} + c_i \frac{\partial V_R}{\partial t}$$

## Aufgabenstellung

Eine Fermentation mit Bakterien hat nach Inokulation einer Zelldichte von  $10^8$  Zellen/ml und wird mit einer Zelldichte von  $10^9$  Zellen/ml beendet. Wie hoch ist der Anteil an Infektionskeimen oder Mutanten zu Züchtungsende, wenn das Inokulum einen Infektionskeim/ml enthält und sich dieser (a) 0,5 x; (b) 1,1 x; (c) 2 x so schnell vermehrt wie das Bakterium.

## Vorgaben

$c_{X0,A}$	$1,00E+05$
$c_{Xt,A}$	$1,00E+09$
$\mu_B = x \cdot \mu_A$	
x1	0,5
x2	1,1
x3	20
$c_{X0,B}$	1

## Aufgabenstellung

Eine Hefe mit der Zusammensetzung C H<sub>1,6</sub> O<sub>0,5</sub> N<sub>0,2</sub> (5 % Asche) erzielt einen Umsatz von 0.6 g Biomasse/g Substrat. Es werden keine weiteren Metabolite gebildet.

Welche Wärme muss abgeführt werden, wenn in einem 15 m<sup>3</sup> Reaktor eine Kultur mit 50g/l Biomasse mit einer spezifischen Wachstumsrate von 0.1 1/h wächst, 5 kW/m<sup>3</sup> Rührarbeit dissipiert wird und Glukose (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) als Substrat eingesetzt wird?

## Vorgaben

Biomasse

C	1	
H	1,6	
N	0,2	
O	0,5	
Y <sub>x/s</sub>	0,6	g/g
μ <sub>y</sub>	0,1	1/h
c <sub>X</sub>	50	g/l
Reaktorvolumen	15000	L
spezWärme	460	kJ/molO <sub>2</sub>

## Aufgabenstellung

Ein Produktstrom von 500 L mit 1 g/l rekombinantem Protein muss innerhalb 3 Stunden (Gesamtprozesszeit) von Proteasen mittels IonExchange Chromatography getrennt werden. Legen Sie das Chromatographie System und Säule aus!

Hinweis: Die Säulendurchmesser sind wie folgt gestaffelt: 30/40/45/50/60/80/100 cm

### Vorgaben

Max. Binding capacity	15	g/l
Column height	20	cm
Equil	5	BV
Wash 1	2	BV
Wash 4 = regenerate	2	BV
Elution	5	BV
Elution Cut fraction	2,0	BV
Load / Elute Velocity	100	cm/h
Equil Wash / Regenerate Velocity	200	cm/h

## Aufgabenstellung

Ein Produktstrom von 500 L mit 1 g/l rekombinantem Protein muss 5 fach konzentriert und für die nächste Chromatographie umgepuffert werden.

Die Umpufferung darf maximal 7% vom initiiell vorhanden Puffersystem enthalten .

Gesamtprozesszeit ist maximal 3 Stunden

Legen Sie die Membranfläche und das System aus!

### Vorgaben

mp	Transmembranfluss	20	l/m <sup>2</sup> /h
mf	Tangentialflussrate	8	l/m <sup>2</sup> /min

## Aufgabenstellung

Skizzieren Sie einen kompletten Prozess für rekombinante Proteinproduktion mit der methylotrophen Hefe *Pichia pastoris* (CH1.800.5N0.2) in einem Laborfermenter mit 5L Arbeitsvolumen. Der Batch dauert 12 Stunden und es entstehen 10g/L Biomasse. Die Kultur ist rein oxidativ, es entstehen keine Metabolite. Anschließend folgt ein Fedbatch mit Glycerol und eine Induktionsphase mit Methanol, in der rekombinantes Protein produziert wird.

- Berechnen Sie die Wachstumsrate im Batch.
- Legen Sie einen Fedbatch mit einer Wachstumsrate von 80% der Wachstumsrate im Batch aus. Berechnen Sie dafür die initiale Feedrate. Wie lange dauert der Fedbatch wenn 500g Biomasse produziert werden sollen?
- Berechnen Sie einen konstanten Feed für 10% der maximalen Wachstumsrate in der Induktionsphase. Da Methanol die rekombinante Proteinproduktion induziert wird keine Biomasse mehr gebildet. Welcher maximale OTR/OUR stellt sich in der Induktionsphase ein, wenn die Produktbildung vernachlässigt wird? Wie lange dauert die Induktionsphase wenn 20g Protein produziert werden sollen?
- Was ist die Gesamtprozessdauer? Wieviel Protein kann in einem Produktionsreaktor von 1000L pro Jahr produziert werden, wenn zwischen den Prozessen 1 Tag für Reinigung und 1 Tag für die Vorbereitung der Sterilisation ansteht?

## Vorgaben

### Generell

Biomasse  $\text{CH}_{1,8}\text{O}_{0,5}\text{N}_{0,2}$   
 $Y_{x/s}$  0,5 g/g

### BATCH

$V_{R0}$  2 L  
 Inokulum  $c_{x0}$  0,5 g/L  
 $c_x$  Batchende 10 g/L  
 Dauer Batch 12 h

### Fedbatch

$c_{S,in}$  Fedbatch Glycerol 500 g/L  
 $\rho$  Glycerol Feed 1170 g/L

### Induktion

$c_{S,in}$  Induktion Methanol 850 g/L  
 $\rho$  Methanol Feed 820 g/L  
 $M_{\text{Methanol}}$  32 g/c-mol  
 Produktivität Proteinproduktion 0,001 g/g/h

### Produktivität Gesamtprozess

Arbeitstage pro Jahr 250 d  
 Produktionsfermenter 1000 L  
 Protein 5 g/L

## Aufgabenstellung

Legen Sie die Reaktorgeometrie für einen 80L Reaktor fest  
Führen Sie einen Scale-up auf  
800L und auf  $10\text{m}^3$  durch,  
halten sie dabei die  
Rührerspitzengewindigkeit  
konstant

### Vorgaben

Rührerdrehzahl 1000rpm		1000 rpm
wässriges Medium		
dynamische Viskosität Wasser	$\eta$	0,001 Pa*s = kg/m/s
Dichte Wasser	$\rho$	1000 kg/m <sup>3</sup>
Newtonzahl	$N_p$	5 -
Aspect ratio	a	0,3333 $d_R/h_R$
Durchmesser Rührer	$d_i$	0,3 $d_i/d_R$