

Dynamika kontaminácie *Saccharomyces cerevisiae* aspórogennými kvasinkami počas kultivácie

663.13
582.282.232

L. N. MENDELSOHN, L. S. MALINOVSKIJ, Kazgipropiščeprom, SSSR

Technologická schéma kultivácie pekárskoho droždia zahrňuje rad po sebe nasledujúcich štádií periodického rastu biomasy s nasledujúcou etapou prietokovej kultivácie. Dĺžka poslednej etapy sa určuje kvalitatívnymi ukazovateľmi odťahovanej kultúry a v domácich droždiarňach nepresahuje 10–15 hodín. Jednou z hlavných príčin zhoršenia aktivity *Sacch. cerevisiae* je kontaminácia média vedľajšou mikroflórou, včítane rôznych druhov aspórogenných kvasiniek.

Súčasný rozmnožovanie *Sacch. cerevisiae* a aspórogenných kvasiniek v podmienkach prietokovej kultivácie sa môže vyjadriť systémom diferenciálnych rovníc:

$$\frac{dx}{dt} = \mu x,$$

$$\frac{dx_{c1}}{dt} = \mu_{c1} x_{c1} + i_{c1},$$

$$\frac{dx_{cm}}{dt} = \mu_{cm} x_{cm} + i_{cm},$$

kde x — je hmotnosť kvasiniek *Sacch. cerevisiae* [kg]
 x_{c1}, \dots, x_{cm} — hmotnosti aspórogenných kvasiniek [kg]
 μ — špecifická rýchlosť rastu *Sacch. cerevisiae* [h^{-1}]
 $\mu_{c1}, \dots, \mu_{cm}$ — špecifické rýchlosti rastu aspórogenných kvasiniek [h^{-1}]
 i_{c1}, \dots, i_{cm} — rýchlosti prítoku aspórogenných kvasiniek [kg/h]
 t — doba kultivácie [h]

Pre špeciálny prípad, keď okrem sacharomycét je prítomný jeden druh vedľajších kvasiniek, je opodstatnený systém dvoch diferenciálnych rovníc, ktorých súčasné riešenie umožňuje získať závislosť, vyjadrujúcu zmenu relatívneho obsahu (podiel) vedľajších mikroorganizmov v systéme:

$$p_c^p = \frac{x_{oc} e^{\mu_c t} + \frac{i_c}{\mu_c} (e^{\mu_c t} - 1)}{x_{oc} e^{\mu_c t} + \frac{i_c}{\mu_c} (e^{\mu_c t} - 1) + x_o e^{\mu_c t}} \quad (1)$$

kde x_o, x_{oc} je príslušný začiatkový obsah *Sacch. cerevisiae* a aspórogenných kvasiniek [kg]

Pri zostrojení matematického modelu kontinuálnej kultivácie si rozoberieme varianty vedenia procesu v režime turbidistatu a chemostatu.

Pre turbidistat pri konštantnej kontaminácii média ($i_c = \text{konšt.}$) má systém diferenciálnych rovníc tvar:

$$\frac{dx}{dt} = \mu x - Dx,$$

$$\frac{dx_c}{dt} = \mu_c x_c + i_c - Dx_c,$$

$$x + x_c = x_T,$$

kde D je zriedňovací koeficient kultúry [h^{-1}]

Prvá rovnica vyjadruje prírastok μx a odťah Dx droždia *Sacch. cerevisiae*, druhá — prírastok $\mu_c x_c + i_c$ a odťah Dx_c vedľajších mikroorganizmov. Podmienky stálosti sumárneho (hmotnostného) množstva mikroorganizmov v systéme predstavuje posledná rovnica. Riešenie tohto systému umožňuje získať závislosť pre analýzu dynamiky relatívneho prírastku vedľajších buniek v režime turbidistatu:

$$p_c^T = \frac{1 - \frac{i_c}{\sigma x_T} \cdot \frac{1 - p_{oc}}{p_{oc} + \frac{i_c}{\sigma x_T}} e^{-\left(1 + \frac{i_c}{\sigma x_T}\right) \sigma t}}{1 + \frac{1 - p_{oc}}{p_{oc} + \frac{i_c}{\sigma x_T}} e^{-\left(1 + \frac{i_c}{\sigma x_T}\right) \sigma t}}$$

kde $\sigma = (\mu_c - \mu)$ — rozdiel špecifických rýchlostí rastu kontaminujúcich a kultúrnych kvasiniek, $[h^{-1}]$;

$P_{oc} = \frac{x_{oc}}{x_T}$ — začiatočný podiel vedľajších kvasiniek.

Režim chemostatu je vyjadrený prvými dvoma diferenciálnymi rovnicami zo skôr uvedeného systému za podmienky konštantného koeficientu zriedenia kultúry ($D = \text{konšt.}$).

V danom prípade

$$\frac{x_{oc} e^{(\mu_c - D)t} + \frac{i_c}{\mu_c - D} \left[e^{(\mu_c - D)t} - 1 \right]}{x_{oc} e^{(\mu_c - D)t} + \frac{i_c}{\mu_c - D} \left[e^{(\mu_c - D)t} - 1 \right] + x_o(\mu_c - D)t}$$

Pri analýze dynamiky nahromadenia kontaminujúcich mikroorganizmov podľa všetkých rovníc, boli použité ako východzie parametre kontaminácie čistej kultúry, surovín a vzduchu, výsledky našich výskumov a literárne údaje. Tak pre aerobnú prítokovú kultiváciu boli vzaté maximálne hodnoty kontaminácie melasy ($3 \cdot 10^5$ kolónií/g) a vzduchu ($2 \cdot 10^4$ kolónií/m³), zistené v droždiarni v Alma-Ate. Pri tom sme pripustili, že aspórogeenné kvasinky vnesené do kultivačného média, sa začínajú rozmnožovať bez lag-fázy, s maximálnou špecifickou rýchlosťou $\mu_c = 0,3 h^{-1}$. Pre *Saccharomyces cerevisiae* $\mu = 0,15 h^{-1}$.

Tabuľka 1

Štádium kultivácie kvasiniek	Koncentrácia aspórogeenných kvasiniek [% hmotn.]	
	1. variant	2. variant
ČK I	0,0012	0,45
ČK II	0,006	1,9
B	0,27	8,0
V	0,12	27,8

Pri prepočte množstva buniek na hmotnosť sme uvažovali obsah 10^{10} buniek v 1 g biomasy o sušine 25 %.

Uvažovali sme dve varianty procesu:

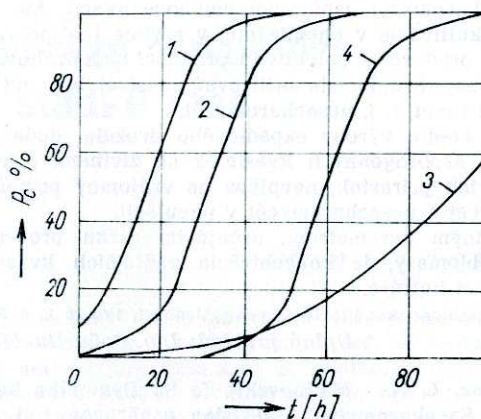
- 1 — keď čistá kultúra kvasiniek (ČK II) neobsahuje vedľajšie mikroorganizmy a
- 2 — keď ČK II je kontaminovaná vedľajšími bunkami, ale ich koncentrácia je nízka, napríklad 0,1 % (tabuľka 1).

Ak ČK nie je kontaminovaná aspórogeennými kvasinkami, tak ich prítok so živinami a vzduchom a prírastok sa podstatne neprejaví na relatívnej koncentrácii kontaminujúceho druhu.

Ak množstvo vnesených vedľajších mikroorganizmov do fermentora bude 10X väčšie ako podľa výpočtu, tak aj v tomto prípade expedičné droždie obsahuje najviac 1,5–2,0 % aspórogeenných buniek. Súčasne aj nízka kontaminácia ČK aspórogeennými kvasinkami napomáha ich rýchlemu nahromadeniu, a teda zhoršeniu kvality pekárskeho droždia. Teda vysoká kontaminácia kvasiniek *Sacch. cerevisiae* v posledných štádiách aerobnej prítokovej kultivácie je hlavne výsledkom kontaminácie čistej kultúry.

Pre získanie porovnateľných údajov o dynamike rastu vedľajších kvasiniek pri kontinuálnej kultivácii bola študovaná rovnica (2) s použitím EVM. Hodnoty východných parametrov boli vzaté v dostatočne širokom rozpätí, umožňujúcom maximálne priblížiť analyzovaný proces prevádzkovým podmienkam. Tak vplyv začiatkovej koncentrácie aspórogeenných kvasiniek sa uvažoval pre hod-

noty 0–10 % pri špecifickej rastovej rýchlosti 0,2 — 0,4 h^{-1} . Pre vypočítané množstvo pridávaných živných roztokov a vzduchu bolo i_c okolo 0,05 g/h.



Obr. 1. Dynamika zväčšenia špecifickej koncentrácie aspórogeenných kvasiniek pri nepretržitej kultivácii

os x	t [h]	os y	Pc [%]
P_{op} [%]		i_c [g/g]	σh^{-1}
1–10		0,05	0,15
2–1		0,05	0,15
3–1		0,05	0,15
4–10 ⁻²		1,0	0,15

Aby sa proces študoval v kritických podmienkach, zväčšili sme túto hodnotu 2 a 20krát. Poslednému variantu odpovedá kontaminácia melasy $8 \cdot 10^4$ kolónií/g a vzduchu $5 \cdot 10^5$ kolónií/m³. Program pre EVM bol zostavený tak, že najprv sa podľa rovnice (1) vypočítal relatívny obsah aspórogeenných kvasiniek v štádiu prítokovej kultivácie. Keď sumárna hmotnosť droždia dosahovala danú hodnotu x_T (1000 kg), analyzovali sme proces podľa rovnice (2). Ako vidno z obrázka, pri nízkej východnej koncentrácii aspórogeenných kvasiniek ($< 1\%$) sa pozoruje pomalý prírastok vedľajšej kultúry a pri dosiahnutí koncentrácie 1–2% rýchlosť nahromadenia značne vzrastie. Takáto zákonitosť objasňuje v prevádzke známe rýchle zhoršenie enzymatickej aktivity kultúry v štádiu prítokovej kultivácie. Ešte väčšia je rýchlosť náhrady sacharomycét v zložitej populácii pri vysokom začiatkovej obsahu aspórogeenných kvasiniek ($\sim 10\%$).

Ako ukazovateľ, určujúci možnú dĺžku kontinuálneho procesu kultivácie, sme vzali úsek do nahromadenia 20 % (hmotn.) aspórogeenných kvasiniek v populácii (t_{20}). Bolo zistené, že t_{20} sa značne skracuje so zvyšovaním P_{oc} a σ . V oboch prípadoch sa závislosť blíži k monotónne klesajúcej mocnínovej funkcii. Súčasne vplyv P_{oc} a σ je vzájomný: čím vyššia je špecifická rastová rýchlosť kontaminujúcich mikroorganizmov, tým v menšom stupni sa prejaví na t_{20} zvýšenie ich začiatkovej koncentrácie. Vnesenie aspórogeenných kvasiniek s roztokmi živín a so vzduchom sa prakticky neprejaví na dynamike procesu.

Teda v tom prípade, keď kontaminácia živín a vzduchu bola značne vyššia ako v prevádzkových podmienkach, zaznamenáva sa nevýznamné zníženie t_{20} . Len v oblasti veľmi nízkej kontaminácie násadnej kultúry ($10^{-3}\%$), dodatočná kontaminácia média znižuje dĺžku kultivácie sacharomycét.

V prevádzkových podmienkach patria najpravdepodobnejší predstavitelia vedľajšej mikroflóry k rodom *Candida* a *Torulopsis* ($\mu_c \approx 0,3 h^{-1}$).

Ich koncentrácia v násadnom materiáli expedičného štádia je 1–10 %, ale niekedy oveľa vyššia. Pri takýchto parametroch môže sa možná doba kultivácie spolu

s prítokovou etapou pohybovať v medziach 10–20 hodín, čo sa zhoduje s prevádzkovými údajmi.

Analogická analýza pre rovnicu chemostatu odhalila blízke kvantitatívne zákonitosti postupnej náhrady kultúry *saccharomycét* asporogennými kvasinkami. Ale podmienky kultivácie v chemostate, v režime limitácie substrátom, predurčujú selektívnu prednosť tých druhov, ktoré sú schopné úplnejšie využívať substrát bez zníženia rýchlosti rastu, t. j. *nesaccharomycét*.

Tak v štádiu výroby expedičného droždia dodatočné vnesenie asporogenných kvasiniek so živinami a vzduchom a ich prírastok, nevplyva na vzájomný pomer *saccharomycét* a *nesaccharomycét* v populácii.

Základným parametrom, určujúcim dĺžku procesu a kvalitu biomasy, je koncentrácia vedľajších kvasiniek v následnej kultúre.

Chlebopekarnaja i konditerskaja promyšlennost', 1977, č. 2, s. 38–39

Úplný preklad: Ing. Soňa Hunčíková

Mendelson, L. N. - Malinovskij, L. S.: Dynamika kontaminácie *Saccharomyces cerevisiae* asporogennými kvasinkami počas kultivácie. Kvas. prům., 23, 1977, č. 12, s. 274–281.

Súčasný rozmnožovanie *Saccharomyces cerevisiae* a asporogenných kvasiniek v podmienkach prítokovej kultivácie sa môže vyjadriť systémom diferenciálnych rovníc. Ak je okrem *saccharomycét* prítomný len jeden druh cudzích kvasiniek, je opodstatnený systém dvoch diferenciálnych rovníc, ktorých riešenie umožňuje stanoviť závislosť vyjadrujúcu zmenu relatívneho obsahu cudzích mikroorganizmov v systéme.

Predmetom práce je analýza dynamiky nahromadenia kontaminujúcich mikroorganizmov podľa systému rovníc pre varianty vedenia kontinuálnej kultivácie v režime turbidistatu a chemostatu.

Vysoká kontaminácia kvasiniek *Sacch. cerevisiae* v posledných štádiách aerobnej prítokovej kultivácie je hlavne dôsledkom kontaminácie čistej kultúry. V štádiu výroby expedičného droždia základným parametrom, určujúcim dĺžku procesu a kvalitu biomasy, je koncentrácia cudzích kvasiniek v následnej kultúre. Dodatočné vnesenie asporogenných kvasiniek s roztokmi živín a so vzduchom, sa prakticky neprejaví na dynamike procesu.

Мендельсон, Л. И. - Малиновский, Л. С.: Динамика инфицирования *Sac. cerevisiae* аспорогенными дрожжами при культивировании. Квас. прум., 23, 1977, № 12, стр. 274–281.

Одновременное размножение дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* с аспорогенными дрожжами в условиях дрожжерастильных аппаратов приточного типа можно представить в форме системы дифференциальных уравнений. Если кроме сахаромисетов в размножающемся материале присутствует лишь один вид посторонних дрожжей, можно ограничиться двумя дифференциальными уравнениями. Их решение дает возможность установить зависимость, показывающую закономерность изменений относительной концентрации посторонних микроорганизмов в данной системе.

В статье рассматривается динамика накопления обсеменяющих микроорганизмов и выводятся уравнения, охватывающие два варианта непрерывного культивирования, т. е. режимы турбидистата и хемостата.

Высокая степень заражения дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в последних фазах аэробного приточного куль-

тивирования объясняется главным образом обсеменением чистой исходной культуры. При производстве товарных дрожжей основным показателем, определяющим длительность процесса рашения и качество биологической массы является поэтому концентрация посторонних дрожжей в первичной культуре. Дополнительное обсеменение аспорогенными дрожжами, присутствующими в питательной среде и в воздухе не имеет на динамику процесса практически никакого влияния.

Mendelson, L. N. - Malinovskij, L. S.: Dynamics of Contamination by Asporogenous Yeast of *Saccharomyces cerevisiae* in the Cultivation Stage. Kvas. prům., 23, 1977, No. 12, pp. 274–281.

Simultaneous propagation of *Saccharomyces cerevisiae* and asporogenous yeast in the inflow type propagators can be described with a system of differential equations. If beside *Saccharomyces* only one kind of foreign yeast is present, the conditions can be expressed by two differential equations. Their solution shows the relative proportion of foreign yeast in the system and its changes.

The article deals with the dynamic propagation of contaminating microorganisms and with the equations for two methods of continuous cultivation, viz. in turbidistats and chemostats.

High contamination of *Saccharomyces cerevisiae* in final stages of aerobic cultivation in inflow plants is due mainly to the contamination of pure primary culture used as starter. In the final commercial stage of yeast production, the principal parameter determining the quality of yeast and duration of the process, is the concentration of foreign yeast in the seed yeast. Asporogenous yeast, which may get into the vessel with the nutrient medium or with air, has practically no effects upon the dynamic characteristic of the process.

Mendelson, L. N. - Malinovskij, L. S.: Dynamik der Kontamination der *Saccharomyces cerevisiae* durch asporogene Hefen während der Kultivation. Kvas. prům., 23, 1977, No. 12, S. 274–281.

Die gleichzeitige Vermehrung der *Saccharomyces cerevisiae* und der asporogenen Hefen unter den Bedingungen der Zuflußkultivation kann durch ein System von Differentialgleichungen ausgedrückt werden. Wenn neben den *Saccharomyces* nur eine einzige Fremdhefenart anwesend ist, ist ein System von zwei Differentialgleichungen begründet, deren Lösung die Bestimmung der Abhängigkeit ermöglicht, nach der sich der relative Gehalt der Fremdmikroorganismen im System ändert.

Die Forschungsarbeit war auf die Analyse der Dynamik der Anhäufung der kontaminierenden Mikroorganismen nach dem System der Gleichungen für die Varianten der Führung der kontinuierlichen Kultivation im Turbidistat- und Chemostat-Regime gerichtet.

Die hohe Kontamination der Hefen *Saccharomyces cerevisiae* in den letzten Stadien der aeroben Zuflußkultivation wird hauptsächlich durch die Kontamination der Reinkultur verursacht. In dem Stadium der Herstellung der Expeditionshefe stellt die Konzentration der Fremdhefen in der Anstellkultur den Grundparameter dar, der die Dauer des Prozesses und die Qualität der Biomasse bestimmt. Die nachträgliche Zuführung der asporogenen Hefen in den Nährstofflösungen und mit der Luft sind praktisch ohne Bedeutung für die Dynamik des Prozesses.