

# Lihovarství a droždářství

## Nepřímé metody automatického dávkování substrátu při aerobních kultivacích mikroorganismů

663.14.033  
663.132:66.028

Ing. FRANTIŠEK ŠTROS, CSc., Dr. LUBOMÍR ADÁMEK, Ing. MILOSLAV RUT

Výzkumný ústav krmivářského průmyslu a služeb, Pečky, odbor mikrobiálních výrob, Praha

Nalezení vhodného postupu automatického dávkování zdroje uhlíku je důležitým krokem k dosažení úplné automatizace kultivačního procesu. Metody specifického stanovení koncentrace určitého substrátu v médiu jsou pro regulační postup většinou příliš komplikované a nevyhovují při zpracovávání surovin obsahujících směs asimilovatelných látek, např. při výrobě kvasničných bílkovin ze sulfidových výluhů, melasových výpalků, izolovaných n-alkánů apod. Proto jsou pro praxi výhodnější nepřímé postupy, reagující na spotřebování asimilovatelných zdrojů uhlíku nebo využívající určité fyzikálně chemické vlastnosti substrátu.

U fermentačních výrob zaměřených na produkci biomasy se potřeba automatického dávkování zdroje uhlíku nejdříve projevila při výrobě pekařského droždí. Při běžně používaných jednorázových přítokových kultivacích je růst pekařských kvasinek do značné míry synchronizován a přírůstek biomasy v jednotlivých hodinách kultivace neodpovídá klasické růstové křivce [1, 2]. Proto plně nevyhovují ani exponenciální ani lineární přítoková schémata. Také empiricky sestavené programy přítoků dávají dobré výsledky jen u některých kultivací, protože fáze růstu a prodlevy mohou být časově posunuty. Nevhodně seřízené přítoky melasové zářary mají za následek nadměrnou tvorbu etanolu a snižují výtěžnost. Při výrobě pekařského droždí v hustých zářarách se vliv nevhodného způsobu dávkování melasy projevuje ještě výrazněji. Proto již v roce 1958 přihlásila rakouská firma Patentausswertung Vogelbusch GmbH k patentování vynález, podle něhož se přítok melasové zářary do fermentoru reguluje v závislosti na obsahu etanolu ve výdechu z fermentoru [3]. Původně navrhované kolorimetrické stanovení etanolu se pro automatickou regulaci ukázalo jako málo vhodné a bylo v dalším patentu [4] nahrazeno měřením koncentrace hořlavých látek ve výdechu metodou tepelného zabarvení. Zařízení na automatickou regulaci přítoku melasové zářary „Autoymax“ bylo velmi rychle uvedeno do praxe, stalo se součástí technologie firmy Vogelbusch a zajistilo rakouské firmě na dlouhou dobu přední místo mezi výrobci droždářského zařízení. Jiný z předních evropských výrobců fermentorů, západoněmecká firma H. Frings použila pro regulaci přítoků melasové zářary v droždárnách přístroj na stanovení etanolu, resp. těkavých látek „Alkohol“, založený na porovnání bodů varu tekutiny obsahující těkavé látky a téže tekutiny, ze které byly těkavé látky oddestilovány [5, 6]. V ČSSR vyvinuli analyzátor pro stanovení etanolu v zářare pracovníci katedry automatizace VŠCHT [7]. Je to modifikovaný přístroj „Metrex“, používaný pro stanovení hořlavých plynů a par v ovzduší metodou tepelného zabarvení. Přístroj byl v roce 1970 úspěšně vyzkoušen v droždárně Kolín a v současné době je instalován v dalších dvou československých droždárnách.

Mnohem pomaleji a v omezeném měřítku se automatická regulace přítoku zdroje uhlíku prosazuje při výrobě krmných, popřípadě potravinářských kvasničných

bílkovin. Při výrobě krmných kvasnic z klasických surovin jako jsou sulfitové výluhy, melasové výpalky nebo hydrolyzáty dřeva, se obecně používá při pěstování kvasinek kontinuální kultivace v limitu substrátu, při níž se přebytek asimilovatelných uhlíkatých látek v médiu, popřípadě jejich únik v prokvašeném médiu eliminuje použitím optimální, experimentálně zjištěné, zředovací rychlosti. Dokonalé využívání zdrojů uhlíku bývá navíc často pojišťováno zařazováním dozrávacích kádí a pro kontrolu kultivačního procesu postačuje namátková analytická kontrola. Při těchto výrobcích se automatická regulace přítoku zdrojů uhlíku může uplatnit jen při rozkvašování fermentorů na počátku kontinuálních kultivací. Kontinuální kultivace kvasinek na jmenovaných surovinách však většinou probíhají bez vážnějších poruch velmi dlouhou dobu, někdy i několik měsíců, a za těchto podmínek je krátký úsek rozkvašování zanedbatelný. Zájem o automatické dávkování zdroje uhlíku vzrostl až u výrob vycházejících z petrochemických surovin. Relativně vysoká čistota těchto surovin umožňuje mnohonásobné vrácení odstředěného média do fermentoru. Petrochemické suroviny se do fermentujícího média většinou přidávají v koncentrované formě, čímž se zvyšuje možnost předávkování. Nebezpečí předávkování nespočívá ani tak v možnosti úniku nespotebované suroviny se zralým médiem, protože při recirkulaci supernatantu se většina nespotebovaného zdroje uhlíku vrací do fermentoru, ale při vyšších koncentracích asimilovatelných uhlíkatých látek v médiu vznikají často vedlejší metabolity, které snižují výtěžnost biomasy a často i brzdí rozmnožování kvasinek. Cykly kontinuálních kultivací s recirkulací odstředěného média bývají poměrně krátké a zřídka trvají déle než týden. Tím se zvyšuje význam rozkvašování jednorázovou přítokovou kultivací, jejíž průběh často rozhoduje o výrobních parametrech celého kultivačního cyklu. Zájem o automatické dávkování zdrojů uhlíku zvyšují v poslední době také práce [8], upozorňující na výhody kultivace mikroorganismů v limitu kyslíku. Ve srovnání s kultivací v limitu substrátu se při ní dosahuje vyšší výtěžnosti a bez automatického dávkování substrátu je její vedení velmi obtížné.

Systémy používané ke kontrole přítoků melasové zářary při výrobě pekařského droždí jsou použitelné jen pro výrobu krmných kvasnic z těkavých surovin jako je syntetický etanol, metanol nebo uhlovodíkové plyny. V rámci výzkumu výroby krmných kvasnic ze syntetického etanolu byl v ČSSR důkladně vyzkoušen regulační postup založený na stanovení par etanolu ve výdechu metodou tepelného zabarvení [9, 10]. Při zpracování nerafinovaného etanolu mohou být výsledky měření obsahu etanolu v médiu do jisté míry zkreslovány diethyleterem. Obsah diethyleteru v surovině je však poměrně stálý, a proto mohou být odchylky poměrně snadno kompenzovány. Regulace přítoku etanolu modifikovaným přístrojem „Metrex“ je spolehlivá jak



při kontinuální kultivaci, tak i při přítokovém rozkvašování.

Další postupy navrhované pro regulaci přítoku zdroje uhlíku při aerobních kultivacích jsou většinou založeny na změnách některých kultivačních parametrů, způsobovaných spotřebováním zdroje uhlíku v médiu. Nejstarší z nich je regulační postup využívající náhlého vzestupu koncentrace rozpuštěného kyslíku, který nastává po spotřebování substrátu. Postup regulace byl přihlášeno k patentování již v roce 1963 [11, 12], ale průmyslové realizace se dosud nedočkaly. Důvodem toho byla nízká trvanlivost čidel používaných pro měření koncentrace rozpuštěného kyslíku a dále skutečnost, že se autoři pokoušeli aplikovat regulační postup nejprve při výrobě pekařského droždí. Právě pro tuto fermentační výrobu je regulační metoda nepoužitelná, protože v průběhu kultivace může koncentrace rozpuštěného kyslíku stoupat i když je v médiu přítomno dostatečné množství zdroje uhlíku. Regulační postup založený na prudkém vzestupu koncentrace rozpuštěného kyslíku je ostatně málo vhodný pro všechny jednorázové přítokové kultivace, v jejichž průběhu až do dosažení limitu koncentrace rozpuštěného kyslíku postupně klesá. Velmi citlivá je metoda naopak při kontinuálních kultivacích v limitu kyslíku a při použití dostatečně stabilních čidel má velkou naději na široké využití v průmyslovém měřičku.

V průběhu výzkumu výroby krmných kvasnic z izolovaných n-alkánů vyvinuli pracovníci Výzkumného ústavu krmivářského průmyslu a služeb ve spolupráci s pracovníky Mikrobiologického ústavu ČSAV postup, při němž se zdroj uhlíku do média dává regulačním pH-metrem [13, 14]. Tento typ automatické regulace přítoku zdroje uhlíku využívá skutečnosti, že v syntetickém médiu, obsahujícím jako zdroj draslíku a kyslíčnicku fosforečného hydrogenfosforečnan amonný a dusík ve formě amonné soli silné minerální kyseliny, je pH fermentujícího média v rozhodující míře ovlivňováno pouze silnou minerální kyselinou, uvolňovanou z amonné soli při syntéze kvasničných bílkovin. Množství uvolněné kyseliny je úměrné vytvořené sušině biomasy. Udržuje-li se při kultivaci pH média na konstantní hodnotě přidáváním roztoku báze, např. amoniaku, je také spotřeba báze úměrná vytvořené kvasničné sušině. Za předpokladu stabilního obsahu N v sušině kvasinek a při známém výtěžnostním koeficientu lze vypočítat množství zdroje uhlíku, které je možno dávkovat regulačním pH-metrem společně s bází používanou k udržování konstantního pH.

Množství báze  $Q_b$  potřebné pro neutralizaci silné kyseliny uvolněné do média přírůstkem kvasničné sušiny  $\Delta x$  lze vypočítat ze vzorce:

$$Q_b = \frac{\Delta x \cdot P_N \cdot E_b}{100 A_N}$$

kde  $P_N$  je předpokládaný obsah dusíku v sušině biomasy v % hm.

$E_b$  — gramekvivalent báze

$A_N$  — atomová hmota dusíku

Množství zdroje uhlíku  $Q_s$  potřebné pro zajištění stejného přírůstku kvasničné sušiny  $\Delta x$  se zjistí ze vzorce

$$Q_s = \frac{\Delta x}{y}$$

kde „y“ je výtěžnostní koeficient. Z takto vypočtených hodnot je možno určit vhodný poměr dávek roztoků báze určené k udržování pH a paralelně dávkovaného zdroje uhlíku.

Popsaný regulační systém je možno použít k automa-

tickému dávkování řady surovin. Podmínkou je, aby zdroj uhlíku byl v surovině přítomen v dostatečně vysoké koncentraci a aby surovina neobsahovala asimilovatelný dusík, draslík a fosfor, popř. látky, které by výrazněji ovlivňovaly pH fermentujícího média. Zdroj uhlíku se do média přidává dávkovačem paralelně připojeným k dávkovači báze, ovládanému regulačním pH-metrem. Poměr výkonů obou dávkovačů musí odpovídat vypočítanému poměru báze a uhlíkatého zdroje a koncentracím účinných složek v dávkovaných roztocích. Při zpracování zdroje uhlíku rozpustného ve vodě je možno dávkovat regulačním pH-metrem jediný roztok, ve kterém jsou báze i zdroj uhlíku přítomny v žádaném poměru. Použije-li se k regulaci pH amoniaku, zajišťuje regulační systém i automatické dávkování zdroje N. Dalším dávkovačem připojeným paralelně k dávkovači báze lze regulačním pH-metrem dávkovat do fermentujícího média i roztok minerálních živin obsahující zdroj draslíku, fosforu, hořčíku a popř. i stopových prvků. Postup automatického dávkování zdroje uhlíku regulačním pH-metrem je možno použít jak při jednorázové přítokové kultivaci, tak i při kultivaci kontinuální. Obsah amonného dusíku v médiu má být v průběhu kultivace udržován v rozmezí 100 až 200 mg/l.

Při popsaném postupu regulace se optimální dávkování zdroje uhlíku dosáhne jen při správně stanoveném poměru báze a substrátu, což je možné jen u dobře prostudovaných a zvládnutých kultivačních postupů, při nichž je obsah dusíku ve vyrobené biomase a výtěžnostní koeficient stabilní. U méně známých kultivací, pro něž není možno s dostatečnou přesností předem určit poměr báze a zdroje uhlíku, může nastat vyčerpání nebo předávkování zdroje uhlíku. Za nepřítomnosti zdroje uhlíku se kultivační proces zastaví, při jeho přebytku se mohou tvořit nežádoucí metabolity a snížit výtěžnost. Proto byl později zdokonalen systém automatického dávkování substrátu regulačním pH-metrem [15].

Při zlepšeném regulačním postupu se společně s roztokem báze na regulaci pH dává pouze část — většinou 80 % — potřebného množství substrátu. Za těchto podmínek koncentrace zdroje uhlíku ve fermentujícím médiu postupně klesá. Při poklesu pod kritickou mez se zpomalí rozmnožování kvasinek, což se projeví prodloužením intervalu mezi jednotlivými dávkami báze a zdroje uhlíku. Po prodloužení intervalu mezi dávkami nad určitou stanovenou mez dá časový prvek, napojený na výstup z pH-metru k dávkovači báze a odměřující čas od poslední dávky, impuls k dávce samotného zdroje uhlíku. Po doplnění substrátu dosáhne biosyntetický pochod velmi rychle původní rychlosti a zdroj uhlíku se opět přidává v pravidelných dávkách společně s roztokem báze na úpravu pH. Místo časového prvku lze ke korekci přítoku substrátu využít i jiných zařízení reagujících na pokles koncentrace substrátu pod kritickou mez. V průběhu kontinuálních kultivací je možno doplňkové množství zdroje uhlíku, např. dávkovat při rychlém vzestupu koncentrace rozpuštěného kyslíku [16] nebo při náhlé změně redoxního potenciálu.

Studiu oxidačně redukčního potenciálu při aerobních kultivacích byla doposud věnována jen malá pozornost a práce zabývající se touto problematikou jsou ojedinělé [17, 18, 19]. V rámci výzkumu výroby krmných kvasnic ze syntetického etanolu jsme zjistili, že při poklesu koncentrace substrátu pod kritickou mez nastává prudká změna redox-potenciálu. Při kontinuální kultivaci v ustáleném stavu, kdy se složení média podstatně nemění, a za konstantní teploty a pH jsou změny elektrodového potenciálu ovlivňovány pouze změnami úhrnného redox-potenciálu reakcí probíhajících v kul-



тиваčním médiu a změnami koncentrace kyslíku v okolí elektrody, tj. pouze faktory úzce souvisejícími s oxidoredukčními pochody v mikroorganismech. Na základě těchto poznatků byl navržen nový způsob regulace přítoku zdroje uhlíku pro aerobní kultivace mikroorganismů, při němž se substrát do fermentačního média dávkuje v okamžiku, kdy nastane náhlá změna redox-potenciálu [20]. Čidlo snímající oxidačně redukční potenciál média reaguje velmi citlivě na změny v metabolismu buněk způsobené nedostatkem zdroje uhlíku, takže je možno doplnit substrát dříve, než se zastaví růst. Nedostatek zdroje uhlíku je indikován mimořádně citlivě především při nízkých koncentracích rozpuštěného kyslíku ve fermentačním médiu, tj. za podmínek obvyklých při průmyslových kultivacích mikroorganismů, kdy je snaha maximálně využít kapacity fermentačního zařízení. Další výhodou je jednoduchost elektrodového systému a měřicího zařízení.

K řízení přítoku zdroje uhlíku při aerobních kultivacích mikroorganismů je možno využít i změny ve složení výdechových plynů, které nastávají při vyčerpání substrátu nebo při jeho nedostatečné koncentraci. V některých případech, např. při kultivaci kvasinek na syntetickém etanolu, mohou být tyto změny velmi výrazné [21]. Nedostatek substrátu je však indikován se značným zpožděním a regulační zásah není proto možno provést dostatečně rychle.

Zahraniční výzkum věnuje automatické regulaci přítoku substrátu pro výrobu mikrobiálních bílkovin zatím malou pozornost a návrhy regulačních principů jsou ojedinělé. Například americká firma Mobil Oil Co. patentovala postup, při němž se substrát přidává do média spolu s odpěňovadlem při zvýšeném pění kultivační kapaliny [22]. Pro kultivaci mikroorganismů na izolovaných n-alkánech navrhli regulační systém na podobném principu *Ostroumov et al.* [23], kteří doporučují dávkovat surovinu v závislosti na zádrži vzduchu ve fermentujícím médiu.

Výzkum automatického dávkování zdroje uhlíku při aerobních kultivacích mikroorganismů zdaleka ještě neskončil. Rychlý rozvoj přístrojové techniky a automatických analyzátorů může vést k nalezení specifických metod kontinuálního stanovení některých substrátů. Přesto lze doufat, že pro svoji jednoduchost a širokou použitelnost najdou nepřímé metody dávkování substrátu uplatnění v systémech automatické regulace kultivačních procesů.

#### Literatura

- [1] STUHLÍK V.: Kalkulation und Bilanzierung der Hefefermentation. *Brannweinwirtschaft* 114, 1974, č. 4, s. 73–83
- [2] SYHOVÁ V., ŠTOS F., HAUSER K.: Probleme der Backhefeherzeugung in konzentrierten Melassewürzen. Symposiumberichte, Bd. II., s. 657–665. Forschungsinstitut für Gärungsindustrie, Enzymologie und technische Mikrobiologie der DDR, Berlin, 1968/1969.
- [3] Patentauswertung Vogelbusch G. m. b. H.: Verfahren und Vorrichtung zur Regelung der Zufuhr von Nährlösung und Luft während des Hefewachstums in Back-, Nähr- oder Futterhefemaischen. Rakousko, patent č. 203802, 1960.
- [4] Patentauswertung Vogelbusch G. m. b. H.: Verfahren und Vorrichtung zur Regelung der Zufuhr von Nährlösung und Luft während des Hefewachstums in Back-, Nähr- oder Futterhefemaischen. Rakousko, patent č. 214392, 1961.
- [5] EBNER H., ENENKEL A.: Verfahren zur Herstellung von Backhefe. NSR, Offenlegungsschrift 2 109 896, 1971.
- [6] EBNER H.: Verfahren zur Ermittlung von Rechenwerten für eine quantitative destillative Analyse einer Komponente eines Flüssigkeitsgemisches und Geräte für quantitative destillative Analysen einer Komponente eines Flüssigkeitsgemisches. NSR, Auslegungsschrift 1 168 125, 1964.
- [7] KADLEC K., SLÁDEČEK J.: Analyzátor pro stanovení etanolu v zápaře. ČSSR, patent č. 142883, 1971.
- [8] RIDGWAY J. A., LAPPIN T. A., BENJAMIN B. M., CORNS J. B., AKIN C.: Aerobic fermentation apparatus. USA, patent č. 3 847 750, 1974.
- [9] KRUMPHANZL V., KADLEC K., PELECHOVÁ J., UHER J., SLÁDEČEK J.: Způsob regulace fermentačního procesu. ČSSR, A. O. č. 164 315, 1974.
- [10] KADLEC K., SLÁDEČEK J., SNOPEK S., STEINER V.L.: Kontinuální stanovení etanolu při výrobě pekařského droždí II. *Kvasný průmysl* 17, 1971, č. 8–9, s. 197–199.
- [11] HOSPODKA J., ČASLAVSKÝ Z.: Způsob a zařízení pro aerobní kvašení na tekutých živných půdách. ČSSR, patent č. 118 642, 1965.
- [12] ČASLAVSKÝ Z., HOSPODKA J.: Method and equipment for aerobic fermentation in liquid culture mediums. USA, patent č. 3 384 553, 1968.
- [13] ŠTOS F., PROKOP A., HAUSER K., ŠVOJGR M., ADÁMEK L.: Způsob aerobní kultivace kvasinek v syntetických médiích. ČSSR, A. O. č. 158 954, 1974.
- [14] MACHEK F., ŠTOS F., PROKOP A., ADÁMEK L.: Production and isolation of protein from synthetic ethanol. Continuous culture, 6, Applications and new fields, s. 135–144, Ellis Horwood Ltd, Chichester 1976.
- [15] ADÁMEK L., ŠTOS F., ŠVOJGR M., HAUSER K., PROKOP A.: Způsob aerobní kultivace kvasinek v syntetických médiích. ČSSR, A. O. č. 158 391, 1974.
- [16] PROKOP A., SOBOTKA M., ŠVOJGR M., FENCL Z., ŠTOS F., RUT M., KVASNIČKA J.: Verfahren zur aeroben Kultivierung von Mikroorganismen, NSR, Offenlegungsschrift 25 46 236, 1976.
- [17] HUANG SHIH YOW, WU CHI SRENK: J. Ferment. Technol. 58, 1974, č. 11, s. 818.
- [18] ISHIZAKI A., SHUBAI H., HIROSE Y.: BASIC aspects of electrode potential change in submerged fermentation. *Agr. Biol. Chem.* 38, 1974, č. 12, s. 2399–2408.
- [19] SHUBAI H., ISHIZAKI A., KOBAYASHI L., HIROSE Y.: Simultaneous measurement of dissolved oxygen and oxidation-reduction potentials in the aerobic culture. *Agr. Biol.* 38, 1974, č. 12, s. 2407–2411.
- [20] RUT M., ŠTOS F., ADÁMEK L.: Způsob dávkování zdroje uhlíku při aerobní kultivaci mikroorganismů. ČSSR, A. O. č. 182 649, 1977.
- [21] ADÁMEK L., RUT M., ŠTOS F.: Hromadění kyseliny octové při kultivaci kvasinky *Candida utilis* na etanolu. *Kvasný průmysl* 22, 1976, č. 7, s. 153–159.
- [22] COTY V. J., HEIWEIL I. J., LEAWITT R. I.: Proces for growing cells of a microorganism on a carbon-containing liquid substrate. USA, patent č. 3 672 353, 1972.
- [23] OSTROUMOV V. N., RYVKINA I. S., FRIDMAN A. N., VERCHORUBOV B. A.: Spůsob nepřerývného kultivování mikroorganismů. SSR A. O. č. 390 136, 1973.

**ŠTOS, F. - ADÁMEK, L. - RUT, M.: Nepřímé metody automatického dávkování substrátu při aerobních kultivacích mikroorganismů. Kvas. prům. 24, 1978, č. 6, s. 128 až 131.**

V průběhu jednorázových přítokových kultivací a při kontinuálních kultivacích v limitu kyslíku je výhodné přidávat do média substrát v dávkách odpovídajících rychlosti rozmnožování mikroorganismů. Hladina substrátu v médiu má zajišťovat nebrzděný růst, nemá však překročit mez, nad kterou probíhají nežádoucí vedlejší metabolické pochody. Vedle metod založených na fyzikálně chemických vlastnostech některých substrátů lze pro automatické dávkování zdroje uhlíku využít změn parametrů kultivace vyvolaných poklesem substrátu pod kritickou mez, jako jsou např. změna pH, vzestup koncentrace rozpuštěného kyslíku, náhlá změna redox-potenciálu, změny ve složení výdechových plynů nebo zvýšení zádrže vzduchu.

**Штрос, Ф. — Ададек, Л. — Рут, М.: Косвенные методы автоматического дозирования питательной среды при аэробном разведении микроорганизмов. Квас. прум. 24, 1978, № 6, стр. 128—131.**

Как при периодическом, так и непрерывном методах культивирования микроорганизмов лимитированных кислородом весьма целесообразно прибавлять субстрат в основную среду в дозах, отвечающих скорости размножения данных микроорганизмов. Концентрация субстрата в среде должна обеспечивать быстрое размножение, не должна, однако, превышать предел, вызывающий нежелательные побочные метаболические процессы. Возможны разные решения автоматизации. Так напр. дозирующие устройства могут реагировать на физические или химические свойства некоторых субстратов. Для автоматического дозирования источников углерода можно использовать изменения параметров процесса культивирования, вызванные снижением концентрации субстрата под критическое значение. С помощью соответству-



ющих датчиков можно следить за изменениями pH, повышением концентрации растворенного кислорода, резким изменением окислительно-восстановительного потенциала, изменениями состава отходящих газов или увеличением задержки воздуха.

**Štros, F. - Adámek, L. - Rut, M.: Indirect Methods of Automatic Substrate Dosing for Aerobic Cultivation of Microorganisms.** Kvas. prům., 24, 1978, č. 6, pp. 128—131.

In fed batch cultivations or in continuous cultivations under the limit of oxygen it is advantageous to add substrate in doses related to the growth rate of microorganisms. The concentration of nutritive substrate in medium must be high enough to enable a non retarded growth but must not exceed certain limits above which may cause undesirable metabolic processes. Beside methods based on chemical and physical properties of some substrates indirect methods can be practical, too. So e. g. automatic dosing of a carbon source can be based on changes of cultivation parameters caused by the drop of substrate concentration under the critical value. Among parameters reacting both quickly and markedly are: increased concentration of dissolved oxygen, sudden change of the redox potential, change in

the composition of exhaled gases and higher retention of air.

**Štros, F. - Adámek, L. - Rut, M.: Indirekte Methoden der automatischen Substratdosierung bei aeroben Kultivationen von Mikroorganismen.** Kvas. prům., 24, 1978, No. 6, S. 128—131.

Im Verlauf der periodischen Zuflußkultivationen und bei kontinuierlichen Züchtungen im Sauerstofflimit ist es von Vorteil, wenn das Substrat zum Medium in Dosen zugegeben wird, die der Geschwindigkeit der Vermehrung der Mikroorganismen entsprechen. Das Substratniveau im Medium soll ein ungehemmtes Wachstum gewährleisten, ohne jedoch die Grenze zu überschreiten, über der ungewünschte metabolische Nebenprozesse verlaufen. Neben den Methoden, die auf den physiko-chemischen Eigenschaften einiger Substrate begründet sind, können für die automatische Dosierung der Kohlenstoffquelle auch die Änderungen der Parameter der Kultivation ausgenutzt werden, die durch die Herabsetzung des Substrats unter die kritische Grenze hervorgerufen werden, wie z. B. die Änderung des pH, der Anstieg der Konzentration des gelösten Sauerstoffs, jähe Änderungen des Redox-Potentials, Veränderungen in der Zusammensetzung der Abluft oder Erhöhung der Luftanhaltung.