

# Speciální fermentační procesy

## Porovnání růstových a fyziologických vlastností buněk v různých typech fermentorů

663.15  
683.131 579.8.095.19

### I. Vliv zředovací rychlosti

Ing. JAN PÁCA, CSc., Vysoká škola chemicko-technologická, katedra kvasné chemie a bioinženýrství, Praha

#### 1. Úvod

V posledních letech se několik pracovišť zabývalo výzkumem víceúrovňových kultivačních systémů. První práce byly zaměřeny převážně na sledování růstu biomasy a spotřeby zdroje uhlíku a energie [1–3]. Další studie, provedené ve věžovém víceúrovňovém fermentoru a v kaskádě fermentorů zapojených v sérii, byly zaměřeny kromě sledování růstových vlastností [4–6] současně i na sledování fyziologické charakteristiky buněčné populace v jednotlivých kultivačních stupních [7–11]. Goto et al. [12] byli jedni z prvních autorů, kteří porovnávali výsledky kultivací provedených ve věžovém víceúrovňovém fermentoru bez mechanického míchání s jednostupňovým systémem. Měřili však, stejně jako nedávno Voigt a Schügerl [13], opět jen základní růstové parametry (kromě chemicko-inženýrských).

Cílem této práce je porovnání nejen růstových, ale i fyziologických vlastností buněčné populace získaných v ustálených stavech kontinuálních kultivací provedených v klasickém jednostupňovém fermentoru a ve věžovém víceúrovňovém fermentoru s mezistupňovým promícháváním při různých hodnotách zředovací rychlosti.

### 2. MATERIÁLY A METODY

#### 2.1 Fermentory a kultivační podmínky

Experimenty byly provedeny v pětistupňovém věžovém fermentoru [14] a v klasickém jednostupňovém fermentoru. Rozměry věžového fermentoru, uspořádání míchadel a osazení měřičními a regulačními prvky bylo publikováno v předchozím článku [14]. Perforované přepážky oddělující jednotlivé stupně měly průměr otvorů 2 mm a celková plocha otvorů činila 9,97 % průřezu věže. Jednostupňový fermentor byl obdobou jednoho stupně věžového fermentoru. Jeho popis a rozměry jsou publikovány jinde [15]. Obě zařízení byla sterilována přímo párou při teplotě 115 °C po dobu 2 h. Vzduchové filtry byly sterilovány suchým teplem při teplotě 160 °C po dobu 2 h. Kultivace byly prováděny při konstantní teplotě 30 °C a pH 7,0. Přítok sterilního živného média do fermentorů se prováděl peristaltickým čerpadlem typu 680 14/2 (VD ČSAV, Praha). Aby bylo možno provést porovnání obou systémů, byla frekvence otáčení a průměr míchadel, stejně jako objemový průtok aeračního plnu, u obou systémů stejné. Výsledkem tedy je i stejná hodnota koeficientu  $K_L a = 176 \text{ h}^{-1}$ .

Start kultivace po inokulaci probíhal vsádkovým způsobem. Kontinuální kultivace se zahajovala po dosažení exponenciální fáze růstu. Dosažení ustáleného stavu se předpokládalo přibližně po uplnutí nětinasobku teoretické střední doby zdržení kapalné fáze ve fermentoru a bylo kontrolováno měřením optické hustoty.

#### 2.2 Mikroorganismus a média

Při kultivacích se použila kultura *Klebsiella aerogenes*

2318 z Československé sbírky mikroorganismů v Brně.

Složení kultivačního média je uvedeno v předchozí práci [16]. Zdrojem uhlíku a energie byla glukosa.

#### 2.3 Analytické metody

Rychlost přenosu kyslíku byla určena siřičitanovou metodou [17]. Hodnota objemového koeficientu přenosu kyslíku byla vypočtena podle Lipka et al. [18].

Koncentrace glukosy byla určena glukosooxidázou a peroxidázou podle Bergmeyer a Berna [19].

Koncentrace buněčné sušiny se určovala gravimetricky po odstředění a dvojnásobném promytí. Sušení probíhalo 1 h při 70 °C a 2 h při 105 °C. Měření optické hustoty při 445 nm sloužilo jako kontrolní stanovení pro dosažení podmínek ustáleného stavu.

Specifická rychlost spotřeby kyslíku a produkce oxidu uhličitého se měřila přímou Warburgovou metodou [7] na aparátu typu WA 0110 (Stützerbach, NDR) při frekvenci kyvů 125 min<sup>-1</sup>. Tato frekvence třepání eliminuje vliv rychlosti dodávky kyslíku na rychlost jeho spotřeby buňkami [20]. Kromě vzorků s nulovou koncentrací glukosy, provádělo se měření  $[q_{O_2}]_i$  a  $[q_{CO_2}]_i$  se suspenzí buněk odebranou přímo z fermentoru. V případech, kdy koncentrace glukosy byla nulová, byla glukosa přidávána do manometrické nádoby v koncentraci 0,4 g.l<sup>-1</sup> a měření se provádělo v průběhu 5 až 10 min, aby se zabránilo přírůstku počtu buněk. Tato krátkodobá měření byla umožněna vysokou koncentrací buněk v nádobce. Získané hodnoty se použily pro výpočet respiračního kvocientu.

#### 2.4 Výtěžnosti a produktivita

Výtěžnost biomasy vztažená na spotřebovanou glukosu v *i*-tém stupni fermentoru byla určena ze vztahu

$$[Y_{X/S}]_i = \frac{\bar{X}_i}{S_R - S_i}$$

Výtěžnost biomasy vztažená na spotřebovaný kyslík byla určena ze vztahu

$$[Y_{X/O_2}]_i = \frac{\mu_i}{[q_{O_2}]_i}$$

Produktivita tvorby biomasy se určila ze vztahu

$$[P_R]_i = D_i \cdot \bar{X}_i$$

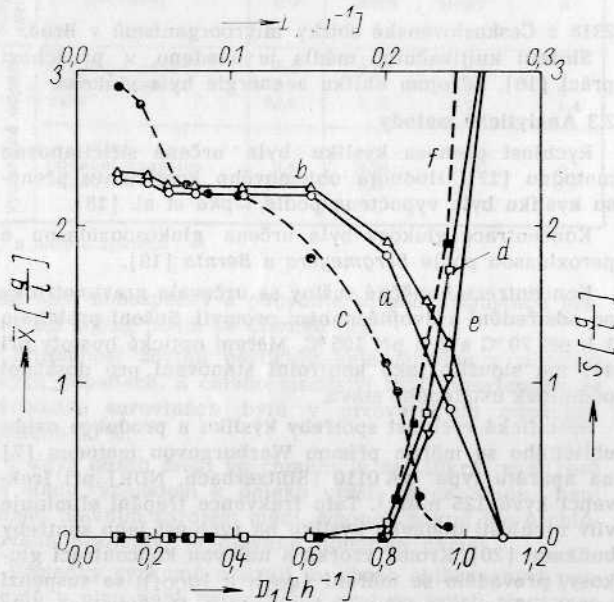
Buněčná sušina a glukosa se stanovovala v ustálených stavech v půlhodinových intervalech. Měření  $[q_{O_2}]_i$  a  $[q_{CO_2}]_i$  se provádělo v intervalech po 1 h. Výsledky uvedené v obrázcích jsou průměrnými hodnotami 16, resp. 8 stanovení.

### 3. VÝSLEDKY A DISKUSE

Kultivace byly prováděny při konstantní koncentraci glukosy v přítoku živného média 4 g.l<sup>-1</sup>.

Na obr. 1 je uvedeno porovnání změn koncentrace biomasy a zdroje uhlíku a energie v závislosti na zředovací

rychlosti v 1. a 4. stupni věžového fermentoru a v jednostupňovém zařízení. Průběh koncentrace biomasy v jednostupňovém zařízení vykazuje odchylku od teoretického průběhu uváděného pro kontinuální kultivaci [21, 22] při nízkých zředovacích rychlostech ( $D < 0.2 \text{ h}^{-1}$ ). Za těchto podmínek probíhá růst v limitu glukosy a v přebytku kyslíku. Výsledkem je výrazný vzrůst koncentrace biomasy. Podobné chování uvádí i Senior [23], který pozoroval vzrůst koncentrace biomasy při kultivaci na glukose za aerobních podmínek při současné limitaci amoniakem. Naopak Harrison a Loveless [24] tento vzrůst za podmínek bez limitace  $\text{NH}_4$ -ionty nezjistili. Lze tedy



Obr. 1. Změny v koncentracích biomasy v 1. stupni (a), ve 4. stupni (b) a v jednostupňovém fermentoru (c) a koncentraci glukosy v 1. stupni (d), ve 4. stupni (e) a v jednostupňovém fermentoru (f) v závislosti na zředovací rychlosti.

předpokládat, že výrazný vzrůst koncentrace biomasy při  $D < 0.2 \text{ h}^{-1}$  je důsledkem zvýšené tvorby rezervních látek na úkor bílkovin, což je pro buňky méně energeticky náročné. Porovnáme-li tyto výsledky s hodnotami zjištěnými ve věžovém vícešupňovém fermentoru je patrné, že i v tomto kultivačním zařízení vzrůstala koncentrace biomasy. Následkem odlišné metabolické aktivity mikrobiální populace podmíněné hydrodynamickými parametry zařízení byl však vzrůst biomasy při  $D_1 < 0.2 \text{ h}^{-1}$  téměř zanedbatelný.

V rozsahu  $D = 0.3$  až  $0.4 \text{ h}^{-1}$ , kdy růst byl stále limitován glukosou, bylo dosaženo prakticky stejné koncentrace biomasy v obou použitých kultivačních zařízeních. Malý koncentrační rozdíl mezi prvním a čtvrtým stupněm věžového fermentoru byl způsoben úplnou utižitostí glukosy již v prvním stupni. Zatímco ve věžovém fermentoru byla koncentrace biomasy jak v prvním, tak i ve čtvrtém stupni konstantní bez ohledu na změnu zředovací rychlosti tak dlouho, dokud byl růst limitován zdrojem uhlíku a energie (tzn. do  $D_1 = 0.6 \text{ h}^{-1}$ ), došlo v jednostupňovém zařízení při překročení  $D \sim 0.42 \text{ h}^{-1}$  k poklesu  $X$  i přes limitaci růstu glukosou. Příčinou byl přechod kultury do limitace růstu kyslíkem, což se projevilo výrazným vzrůstem produkce kyselin a ethanolu, tzn. neúplně oxidovaných metabolických produktů glukosy

[15]. Vzrůst tvorby kyselin a přítomnost ethanolu v médiu je neklamným indikátorem přechodu na podmínky limitace růstu kyslíku [25]. Vzhledem k tomu, že k limitaci růstu kyslíkem došlo ve věžovém fermentoru až při vyšší zředovací rychlosti než tomu bylo v jednostupňovém zařízení, je zřejmé, že buněčná populace je v jednotlivém kultivačním zařízení fyziologicky odlišná, což dokumentují i výsledky specifické rychlosti spotřeby kyslíku uvedené na obr. 4.

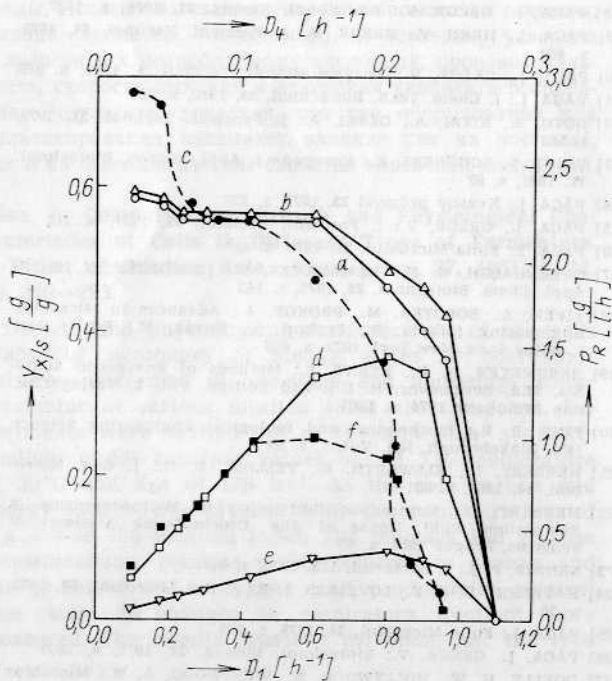
Rychlejší pokles koncentrace biomasy s růstem  $D$  v jednostupňovém zařízení je důsledkem menší teoretické střední doby zdržení buněk v tomto systému ve srovnání s věžovým vícešupňovým fermentorem. Toto tvrzení vyplývá z porovnání s hodnotami naměřenými ve věžovém systému. Lze tedy hovořit o pozitivním efektu mezistupňového promíchávání vzhledem k trvalé reinokulaci buňkami adaptovanými na dané kultivační podmínky. Důsledkem zpětného toku mezi stupni [resp. mezistupňového promíchávání] je i vyšší hodnota zředovací rychlosti, při níž nastává vyplavování buněk zjištěné u vícešupňového systému. Výsledkem pak je, jak vyplývá nejen z obr. 1, nýbrž i z předchozích experimentů [5], že ve věžovém vícešupňovém fermentoru lze pracovat při vyšších zředovacích rychlostech, aniž by hrozilo riziko vyplavení buněk ze systému. Tento poznatek je z hlediska praktické aplikace velmi významný. Nicméně je třeba upozornit na skutečnost, že pro přiblížení k optimálním podmínkám produkce biomasy je nezbytné volit přesně definovanou hodnotu mezistupňového promíchávání. Při překročení této hodnoty se ekonomicky významné parametry, tzn. výstupní koncentrace biomasy, zdroje uhlíku a energie i výtěžnosti a produktivity snižují, což vyplývá ze srovnání s výsledky získanými při kultivacích kvasinek [26].

Porovnání změn výtěžnosti  $Y_{X/S}$  a produktivity v závislosti na zředovací rychlosti v obou systémech je uvedeno na obr. 2. V oblasti nízkých zředovacích rychlostí ( $D_1 < 0.2 \text{ h}^{-1}$ ), kdy kultivace probíhaly za podmínek limitace zdrojem uhlíku a energie a glukosa byla metabolisována procesem aerobní respirace se výtěžnosti výrazně lišily. V jednostupňovém fermentoru se vysoké hodnoty dosáhlo hromaděním rezervních látek. Ve věžovém vícešupňovém systému za podmínek, kdy zdroj uhlíku a energie byl buňkami spotřebován již v 1. stupni, docházelo v dalších stupních k hladovění na C-zdroj. Tato skutečnost spolu s podstatným prodloužením střední doby zdržení buněk v systému vlivem mezistupňového promíchávání pak vedly k nižším výtěžnostem  $Y_{X/S}$ . Toto vysvětlení potvrzují i nízké hodnoty produktivity vztahené na celkový objem vícešupňového fermentoru. V úzkém rozmezí  $D_1 = 0.2$  až  $0.45 \text{ h}^{-1}$  se dosáhlo stejných výtěžností  $Y_{X/S}$ . S dalším zvýšením  $D$  došlo v jednostupňovém systému již k poklesu výtěžnosti. Je tedy patrné, že mezistupňové promíchávání (zpětný tok) ve vícešupňovém systému má kladný efekt na hodnoty výtěžnosti  $Y_{X/S}$  i na koncentraci biomasy v zařízení v oblasti vyšších zředovacích rychlostí. Naproti tomu při nízkých hodnotách zředovací rychlosti je efekt zpětného toku z hlediska nárůstu biomasy negativní.

S růstem zředovací rychlosti vzrůstá hodnota produktivity (obr. 2). Za podmínek limitace růstu zdrojem uhlíku a energie (asi do  $0.6 \text{ h}^{-1}$ ) bylo v 1. stupni věžového fermentoru dosaženo stejných produktivit jako v jednostupňovém zařízení. Také vysoké hodnoty  $P_R$  v 1. stupni pro  $D_1 \geq 0.6 \text{ h}^{-1}$  potvrzují pozitivní efekt zpětného toku. Za těchto podmínek (růst v přebytku uhlíku a energie) jsou výsledky získané v 1. stupni věžového fermentoru podobné více systému s recyklem než chemostatu.

Také hodnota výtěžnosti  $Y_{X/O_2}$  vzrůstá úměrně s růstem zředovací rychlosti (obr. 3). Na rozdíl od výtěžnosti  $Y_{X/S}$  a dalších parametrů charakterizujících pouze růs-





Obr. 2. Změny výtěžnosti biomasy vztážené na glukosu v 1. stupni (a), ve 4. stupni (b) a v jednostupňovém fermentoru (c) a produktivity v 1. stupni (d), ve 4. stupni (e) a v jednostupňovém fermentoru (f), v závislosti na zředovací rychlosti.

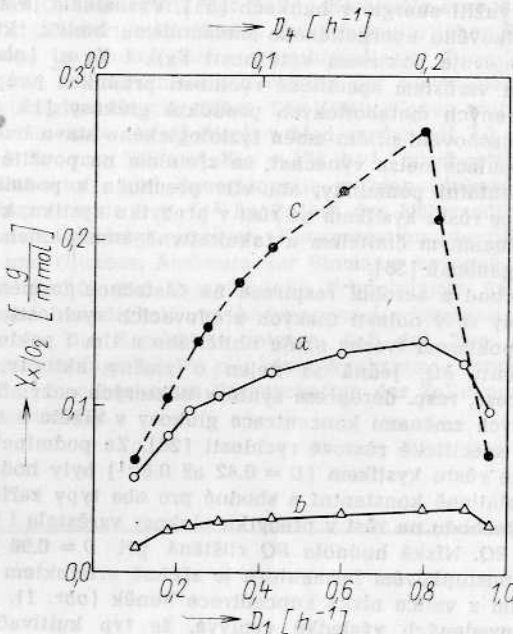
tové vlastnosti populace, výtěžnosti  $Y_{X/O_2}$  se v jednotlivých zařízeních lišily. Důvodem je odlišný fyziologický stav mikrobiální populace. Nejrychlejší vzrůst  $Y_{X/O_2}$  s růstem  $D$  byl za podmínek, kdy glukosa byla metabolisována procesem aerobní respirace v obou použitých zařízeních. S postupným přechodem na fermentativní metabolismus při prohlubující se limitaci kyslíkem klesal i sklon vzrůstu  $Y_{X/O_2}$ .

Pokles výtěžnosti  $Y_{X/O_2}$  při  $D_1 > 0.8 h^{-1}$  je výsledkem nastupujícího glukosového efektu, který prokázali i Doelle a Hollywood [27, 28]. Porovnáme-li změny výtěžností  $Y_{X/S}$  a  $Y_{X/O_2}$  v závislosti na velikosti růstové rychlosti plyne z dosažených výsledků, že výtěžnost  $Y_{X/O_2}$  je podstatně citlivějším indikátorem metabolických a fyziologických změn populace fakultativně anaerobních mikroorganismů.

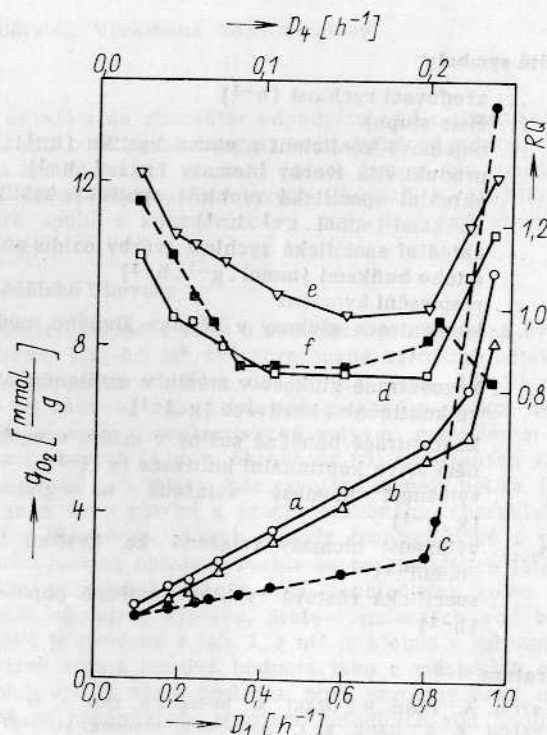
Na obr. 4 jsou uvedeny změny rychlosti respirace a  $RQ$  kvocientu buněčné populace z obou typů zařízení. Postupný přechod z procesu aerobní respirace na částečnou fermentaci glukosy v žádném z obou zařízení neovlivnil hodnoty respirační rychlosti. Také přechod z podmínek, kdy růst byl limitován zdrojem uhlíku a energie ( $D_1 < 0.6 h^{-1}$ ) na podmínky přebytku glukosy se neprojevil změnou  $q_{O_2}$ . V prvním stupni věžového fermentoru, shodně s jednostupňovým zařízením, rostla rychlost respirace lineárně s růstem specifické růstové rychlosti až do  $D_1 \leq 0.8 h^{-1}$ . Ve 4. stupni věžového fermentoru byl lineární vzrůst  $q_{O_2}$  zjištěn ještě při  $D_4 = 0.225 h^{-1}$ . V oblasti zředovacích rychlostí blízkých se rychlosti vyplavení nastal výrazný vzrůst specifické rychlosti spotřeby kyslíku buňkami. Podobné chování zjistili i Harrison a Lovelless [24]. Důvodem tohoto vzrůstu  $q_{O_2}$  je zřejmě změna fyziologického stavu populace. Doležal a Kaprátek [29] také zjistili podobnou změnu fyziologického stavu při růstových rychlostech vyšších než  $0.69 \mu_{max}$  a vyslovili hypotézu, že se jedná o částečné odpřažení růstu od energetického metabolismu. Výsledky na obr. 4 tuto hypotézu potvrzují.

Zajímavé je kvantitativní porovnání hodnot  $q_{O_2}$  pro

obě zařízení. Zatímco v oblasti nízkých zředovacích rychlostí jsou hodnoty respirace prakticky stejné na přechodu do podmínek růstu v přebytku glukosy ( $D_1 = 0.6 h^{-1}$ ) byly hodnoty ve věžovém fermentoru téměř dvojnásobné vůči hodnotám zjištěným v jednostupňovém zařízení. Naopak při  $D$  blízkých se rychlosti vyplavování došlo v jednostupňovém zařízení k daleko vyššímu vzrůstu respirační rychlosti. Oba uvedené poznatky nasvědčují tomu,



Obr. 3. Vliv zředovací rychlosti na výtěžnosti biomasy vztážené na kyslík v 1. stupni (a), ve 4. stupni (b) a v jednostupňovém fermentoru (c).



Obr. 4. Změny rychlosti respirace v 1. stupni (a), ve 4. stupni (b) a v jednostupňovém fermentoru (c) a respiračního kvocientu v 1. stupni (d), ve 4. stupni (e) a v jednostupňovém fermentoru (f) v závislosti na zředovací rychlosti.

že změna fyziologického stavu buněčné populace je ovlivněna nejen specifickou rychlostí růstu buněk [30, 31], nýbrž i stářím buněk (vliv průměrné doby zdržení buněk v systému, resp. v jednotlivých stupních). Jak známo, „stářím“ buněčné populace ovlivňuje mimo jiné kvalitativně a kvantitativně i obsah cytochromů, resp. přítomnost násobných terminálních oxidás [32–34]. Tvorba násobných terminálních oxidás ovlivňuje pak účinnost využití energie v buňkách [35]. Výsledkem je změna celkového energetického metabolismu buněk, která se projevuje poklesem výtěžnosti  $Y_{X/S}$  i  $Y_{X/O_2}$  (obr. 2 a 3) a vzrůstem specifické rychlosti produkce neúplně oxidovaných metabolických produktů glukosy [15, 25]. Při objasňování příčin změn fyziologického stavu buněčné populace nelze vynechat, se zřetelem na použité experimentální podmínky, ani vliv přechodu z podmínek limitace růstu kyslíkem na růst v přebytku kyslíku, který je významným činitelem u fakultativně anaerobních mikroorganismů [36].

Přechod z aerobní respirace na částečnou fermentaci glukosy se v oblasti nízkých zředovacích rychlostí projevuje poklesem tvorby oxidu uhličitého a tím i poklesem kvocientu  $RQ$ . Jedná se nejen o změny aktivity, ale i represe, resp. dereprese syntézy některých enzymů vyvolaných změnami koncentrace glukosy v médiu a změnami specifické růstové rychlosti [28]. Za podmínek limitace růstu kyslíkem ( $D = 0.42$  až  $0.8^{-1}$ ) byly hodnoty  $RQ$  relativně konstantní a shodné pro oba typy zařízení. Při přechodu na růst v přebytku glukosy vzrůstala i hodnota  $RQ$ . Nízká hodnota  $RQ$  zjištěná při  $D = 0.96$  h $^{-1}$  v jednostupňovém fermentoru je zřejmě artefaktem plynoucím z velice nízké koncentrace buněk (obr. 1).

Z uvedených výsledků vyplývá, že typ kultivačního zařízení vykazující určitou hydrodynamickou charakteristiku, do značné míry ovlivňuje nejen charakter růstu buněk, nýbrž i jejich metabolickou aktivitu, což je třeba mít na zřeteli při průmyslové aplikaci.

#### Použité symboly

$D$	... zředovací rychlost (h $^{-1}$ )
$i$	... číslo stupně
$K_{La}$	... objemový koeficient přenosu kyslíku (h $^{-1}$ )
$P_R$	... produktivita tvorby biomasy (g.l $^{-1}$ .h $^{-1}$ )
$q_{O_2}$	... aktuální specifická rychlost spotřeby kyslíku buňkami (mmol.g $^{-1}$ .h $^{-1}$ )
$q_{CO_2}$	... aktuální specifická rychlost tvorby oxidu uhličitého buňkami (mmol.g $^{-1}$ .h $^{-1}$ )
$RQ$	... respirační kvocient
$S_R$	... koncentrace glukosy v přítoku živného média (g.l $^{-1}$ )
$S$	... koncentrace glukosy v médiu v ustáleném stavu kontinuální kultivace (g.l $^{-1}$ )
$X$	... koncentrace buněčné sušiny v médiu v ustáleném stavu kontinuální kultivace (g.l $^{-1}$ )
$Y_{X/S}$	... výtěžnost biomasy vztažená na glukosu (g.g $^{-1}$ )
$Y_{X/O_2}$	... výtěžnost biomasy vztažená ke kyslíku (g.mmol $^{-1}$ )
$\mu$	... specifická růstová rychlost buněčné populace (h $^{-1}$ )

#### Literatura

- [1] KITAI, A., TONE, H., OZAKI, A.: Biotechnol. 1969, s. 911
- [2] FALCH, E. A., GADE, E. L.: Biotechnol. Bioeng. 11, 1969, s. 927
- [3] PROKOP, A., ERICKSON, L. E., FERNANDEZ, J., HUMPHREY, A. E.: Biotechnol. Bioeng. 11, 1969, s. 945
- [4] PÁČA, J., GRÉGR, V.: J. Ferment. Technol. 57, 1979, s. 277
- [5] PÁČA, J.: Enzyme Microb. Technol. 2, 1980, s. 133
- [6] PÁČA, J.: European J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 9, 93, 1980
- [7] PÁČA, J., GRÉGR, V.: Biotechnol. Bioeng. 19, 1977, s. 539

- [8] PÁČA, J., GRÉGR, V.: Biotechnol. Bioeng. 21, 1979, s. 1827
- [9] PÁČA, J., JIRKU, V., GRÉGR, V.: J. Ferment. Technol. 51, 1973, s. 460
- [10] PÁČA, J., GRÉGR, V.: Enzyme Microb. Technol. 1, 1979, s. 100
- [11] PÁČA, J.: J. Chem. Tech. Biotechnol. 30, 1980, s. 764
- [12] GOTO, S., KITAI, A., OZAKI, A.: J. Ferment. Technol. 51, 1973, s. 582
- [13] VOIGT, J., SCHÜGERL, K.: European J. Appl. Microb. Biotechnol. 11, 1981, s. 97
- [14] PÁČA, J.: Kvasný průmysl 23, 1977, s. 257
- [15] PÁČA, J., GRÉGR, V.: J. Ferment. Technol. 55, 1977, s. 213
- [16] PÁČA, J.: Folia Microbiol. 21, 1976, s. 417
- [17] GREENHALGH, S. H., McMANAMEY, W. J., PORTER, K. E.: J. Appl. Chem. Biotechnol. 25, 1975, s. 143
- [18] LIPEK, A., SOBOTKA, M., PROKOP, A.: Advances in Microbiol. Engineering (Sikyta, B., Prokop, A., Novák, M., Eds.), Part 1, Wiley Sons, New York 1973, s. 429
- [19] BERGMAYER, H. U., BERNT, E.: Methods of Enzymatic Analysis, (Ed. Bergmeyer, H. U.), 2nd Edition, Vol. 3, Verlag Chemie Weinheim 1974, s. 1205
- [20] FINN, R. K.: Biochemical and Biological Engineering Science (Ed. Blakebrough, N.), Vol. 1, s. 69
- [21] HERBERT, D., ELSWORTH, R., TELLING, R. C.: J. Gen. Microbiol. 14, 1956, s. 601
- [22] HERBERT, D.: Continuous Cultivation of Microorganisms A Symposium Publ. House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague 1958, s. 45
- [23] SENIOR, P. J.: J. Bacteriol. 123, 1975, s. 407
- [24] HARRISON, D. E. F., LOVELESS, J. E.: J. Gen. Microbiol. 68, 1971, s. 35
- [25] PÁČA, J.: Folia Microbiol. 24, 1979, s. 352
- [26] PÁČA, J., GRÉGR, V.: Biotechnol. Bioeng. 21, 1979, s. 1809
- [27] DOELLE, H. W., HOLLYWOOD, N., WESTWOOD, A. W.: Microbios 9, 1974, s. 221
- [28] HOLLYWOOD, N., DOELLE, H. W.: Microbios 17, 1976, s. 23
- [29] DOLEŽAL, I., KAPRÁLEK, F.: Folia Microbiol. 21, 1979, s. 168
- [30] PÁČA, J.: Folia Microbiol. 23, 1978, s. 108
- [31] STOUTHAMER, A. F., BETTENHAUSEN, C. W.: FEMS Microbiology Letters 10, 1981, s. 33
- [32] KNOCK, D. L., VAN RIET, J., PLANTA, R. J.: Biochim. Biophys. Acta 292, 1973, s. 237
- [33] MAYER, D. J., JONES, C. W.: FEMS Letters 33, 1973, s. 101
- [34] MAYER, D. J., JONES, C. W.: Europ. J. Biochim. 36, 1973, s. 144
- [35] STOUTHAMER, A. H.: Yield Studies in Microorganisms, s. 17, Meadowfield Press, Durham 1976
- [36] WIMPFENNY, I. W. T., NECKLEN, D. K.: Biochim. Biophys. Acta 253, 1971, s. 352

#### Páča, J.: Porovnání růstových a fyziologických vlastností buněk v různých typech fermentorů. I. Vliv zředovací rychlosti. Kvas. prům., 27, 1981, č. 11, s. 249–253.

Porovnání růstové a fyziologické charakteristiky buněk *Klebsiella aerogenes* v ustálených stavech kontinuálních kultivací v jednostupňovém a věžovém více-  
stupňovém fermentoru při různých hodnotách zředovací rychlosti. Kultivace se prováděly v minimálním svatečnickém médiu při pH 7.0, teplotě 30 °C a  $K_{La} = 176$  h $^{-1}$ . Zdrojem uhlíku a energie byla glukosa o koncentraci 4 g.l $^{-1}$  v přítoku živného média. Byly sledovány koncentrace biomasy a glukosy, výtěžnosti biomasy vztažené na zdroj uhlíku a energie a na spotřebovaný kyslík, produktivita, rychlost respirace a změny respiračního kvocientu. Výsledky prokázaly, že typ kultivačního zařízení ovlivňuje iak růstové, tak i fyziologické vlastnosti buněčné populace.

Пача, Я.: Сопоставление ростовых и физиологических свойств клеток в разных типах ферментеров I Влияние скорости разбавления. Квас. прум., 27, 1981, № 11, стр. 249–253.

Проведено сравнение ростовой и физиологической характеристик клеток *Klebsiella aerogenes* в установившемся состоянии непрерывных процессов культивирования в одноступенчатом и башенном многоступенчатом ферментерах при разных величинах скорости разбавления. Культивирование проводилось в минимальной синтетической среде при pH 7.0, температуре 30 °C и  $K_{La} = 176$  ч $^{-1}$ . Источником углерода и энергии служила глюкоза концентрацией в 4 г.л $^{-1}$  в подаче питательной

среды. Исследовались концентрации биомассы и глюкозы, выхода биомассы, отнесенного к источнику углерода и энергии и к потребляемому кислороду, производительность, скорость дыхания и изменения квоциента респирации. Результаты доказали, что тип оборудования для культивирования оказывает влияние как на ростовые, так и на физиологические свойства клеточной популяции.

**Páca, J.: Comparison of Growth and Physiological Characteristics of Cells in Different Types of Fermentors. I. Effect of Dilution Rate.** Kvas. prům. 27, 1981, č. 11, pp. 249—253.

Growth and physiological characteristics of the cells *Klebsiella aerogenes* at steady states of continuous cultures performed in one-stage and multistage tower fermentor at various dilution rates are compared. Experiments were carried out in the minimum synthetic medium under constant values of pH 7.0, temperature of 30 °C and  $K_{La}$  of 176 h<sup>-1</sup>. As the sole carbon and energy source was glucose with the concentration of 4 g.l<sup>-1</sup> in the medium input. The biomass and glucose concentrations, biomass yields referred to carbon and energy source and to oxygen used, productivity, respiration rates and changes in respiratory quotient were measured. The results provided evidence that the type

of fermentor used affected both the growth and physiological properties of the cell population.

**Páca, J.: Vergleich der Wachstums- und physiologischen Eigenschaften der Zellen in verschiedenen Typen der Fermentoren.** Kvas. prům. 27, 1981, No. 11, S. 249—253.

Es wurde ein Vergleich der Wachstums- und physiologischen Charakteristik der Zellen *Klebsiella aerogenes* in den stabilisierten Zuständen der kontinuierlichen Kultivationen in einstufigem und mehrstufigem Turm-Fermentor und bei verschiedenen Werten der Verdünnungsgeschwindigkeit durchgeführt. Die Kultivationen wurden in dem minimalen synthetischen Medium bei pH 7,0, der Temperatur von 30° und  $K_{La} = 176 \text{ h}^{-1}$  durchgeführt. Als Kohlenstoff- und Energiequelle wurden Glukose in der Konzentration 4 g.l<sup>-1</sup> im Zufluß des Nährmediums angewandt. Verfolgt wurden: Konzentration der Biomasse und Glukose, Ausbeute der Biomasse bezogen auf die Kohlenstoff- und Energiequelle, Produktivität, Respirationsgeschwindigkeit und Änderungen des Respirationsquotienten. Die Ergebnisse zeigten, daß der Typ der Kultivationsanlage nicht nur das Wachstum, sondern auch die physiologischen Eigenschaften der Zellenpopulation beeinflusst.