

# Speciální fermentační procesy

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

603.15 603.131  
579.8.093.3

### II. Vliv koncentrace glukózy v přítoku živného média

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

#### 1. ÚVOD

Fyziologický stav i metabolická aktivita mikroorganismů závisí na vnějších podmínkách kultivace. Maximální koncentrace biomasy a výtěžnost bakteriálních buněk [1, 2] v podmínkách regulovaného růstu ve fermentoru nepřesahují obvykle hodnoty kolem  $X \sim 10 \text{ g.l}^{-1}$  a  $Y_{X/S} \sim 0,5 \text{ g.g}^{-1}$ . Příčinou omezení těchto hodnot je většinou nedostatečná rychlost dodávky kyslíku vedoucí k limitaci růstu kyslíkem [3–5]. Rychlost dodávky kyslíku ovlivňuje fyziologický stav populace buněk [6, 7] a za určitých podmínek může způsobit i změnu metabolismu [8]. Růstové vlastnosti buněk včetně změn v produkci intermediálních metabolitů však ovlivňují i jiné faktory než kyslík [9–11].

V této práci je studován vliv rostoucí koncentrace zdroje uhlíku a energie v přítoku živného média na růst biomasy, tvorbu neúplně oxidovaných metabolických produktů, výtěžnost, produktivitu a fyziologické vlastnosti buněčné populace v ustálených stavech kontinuálních kultivací. Současné jsou porovnány výsledky získané v odlišných typech kultivačních zařízení.

#### 2. MATERIÁLY A METODY

##### 2.1 Fermentory a kultivační podmínky

Experimenty byly provedeny v pětistupňovém věžovém fermentoru a v klasickém jednostupňovém fermentoru. Rozměry věžového fermentoru, uspořádání míchadel a osazení měřicími a regulačními prvky bylo publikováno v předchozí práci [12]. Perforované přepážky oddělující jednotlivé stupně měly průměr otvorů 2 mm a celková plocha otvorů byla 9,97 % průřezu věže. Jednostupňový fermentor byl analogií jednoho stupně věžového fermentoru. Jeho popis a rozměry jsou publikovány jinde [5]. 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 obou fermentorů se prováděl peristaltickým čerpadlem typu 680 14/2 (VD ČSAV, Praha). Pro porovnávání obou systémů byla frekvence otáčení a průměr míchadel, stejně jako objemový průtok aeračního plynu u obou systémů stejný. Výsledkem tedy je i stejná hodnota koeficientu  $K_{La} = 176 \text{ h}^{-1}$ .

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

##### 2.2 Mikroorganismus a média

Při kultivacích se použila kultura *Klebsiella aerogenes* 2318 z Československých sbírek mikroorganismů v Brně.

Složení kultivačního média je uvedeno v předchozí práci [13]. Zdrojem uhlíku a energie byla glukóza.

##### 2.3 Analytické metody

Rychlost přenosu kyslíku byla určena širčitanovou metodou [14]. Hodnota objemového koeficientu přenosu kyslíku byla vypočtena podle Linka et al [15].

Koncentrace glukózy byla určena glukooxidázou a peroxidázou podle Bergmeyera a Berna [16].

Ethanol a kyselina octová v supernatantu po odstředění buněk se stanovily metodou plynové chromatografie na Chrom 41 (Laboratorní přístroje, Praha). Jako náplň kolony byl použit Porapak Q (60–80 mesh). Pracovní teplota kolony i nástřikové komůrky byla 178 °C. Vzorky byly před nástřikem deproteinovány kyselinou metafosforečnou.

Obsah těkavých kyselin byl určen mikrodifusní metodou podle Conwaye [17].

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 [18] 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 [19]. Kromě vzorků s nulovou koncentrací glukózy, provádělo se měření  $(q_{O_2})_i$  a  $(q_{CO_2})_i$  se suspenzí buněk odebranou přímo z fermentoru. V případech, kdy koncentrace glukózy byla nulová, přidávala se glukóza 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 přirůstku počtu buněk. Tato krátkodobá měření byla umožněna vysokou koncentrací buněk v nádobce. Získané hodnoty se použily pro výpočet respiračního kvocientu.

##### 2.4 Výtěžnost a produktivita

Výtěžnost biomasy vztažená na spotřebovanou glukózu 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

$$(Y_{X/O})_i = \frac{\mu_i}{(q_{O_2})_i}$$

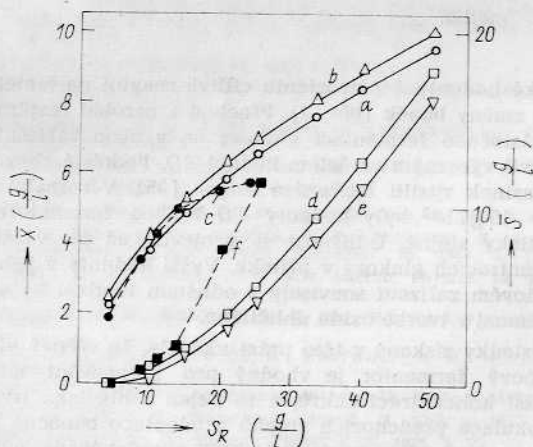
Produktivita tvorby biomasy se určila ze vztahu

$$(P_R)_i = D_i \cdot \bar{X}_i$$

Stanovení buněčné sušiny a glukosy se provádělo v ustálených stavech v půlhodinových intervalech. Měření  $(q_{O_2})_i$  a  $(q_{CO_2})_i$  se provádělo v 1 h intervalech. Výsledky uvedené v obrázcích jsou průměrnými hodnotami 16, respektive 8 stanovení.

### 3. VÝSLEDKY A DISKUSE

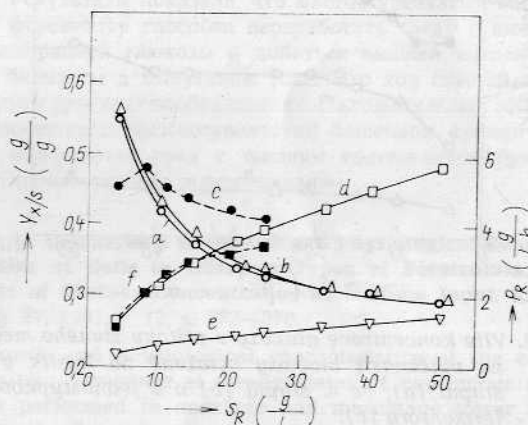
Pokusy v této části práce byly prováděny při konstantní zředovací rychlosti  $0,6 \text{ h}^{-1}$  (vztaheno na jeden stupeň). Koncentrace glukosy v přítoku živného média se pohybovala v rozsahu 4 až  $25 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  v jednostupňovém fermentoru. Ve věžovém vícestupňovém fermentoru se koncentrace glukosy v přítoku měnila v rozsahu 4 až  $50 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ . Menší rozsah  $S_R$  použitý v jednostupňovém zařízení vyplynul z obtíží spojených s potlačením tvorby pěny. Věžový vícestupňový fermentor s perforovanými přepážkami se ve srovnání s klasickým fermentorem ukázal jako výhodnější z hlediska stability tvorby pěny při použití vyšších koncentrací glukosy v přítoku živného média. Prokázalo se, že při souprůdném průtoku plynné a kapalné fáze otvory přepážky nastává destrukce vytvořené pěny. Toto zjištění je cenné pro event. aplikaci těchto systémů pro zpracování pěnivých médií.



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

S růstem koncentrace glukosy v přítoku rostla výrazně koncentrace biomasy v obou fermentorech až do hodnoty  $S_R = 15 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ . Z obr. 1 je zřejmé, že v tomto rozsahu ( $S_R \leq 15 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ ) byly jak hodnoty koncentrace biomasy, tak i glukosy v médiu v obou zařízeních stejné. Při zvýšení  $S_R$  nad  $15 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  se v jednostupňovém zařízení již přírůstek biomasy téměř neprojevil. Výrazně však vzrostla koncentrace zbytkové glukosy. To dokazuje, že za použitých experimentálních podmínek buňky již nejsou schopny disimilovat zvýšené množství glukosy. Naopak ve věžovém vícestupňovém fermentoru se toto omezení schopností disimilace glukosy projevilo až při značně vyšších koncentracích.

Z hlediska metabolické aktivity byly změny v rychlosti disimilace posuzovány nejen ve vztahu k růstu buněčné populace, nýbrž i se zřetelem na tvorbu neúplně oxidovaných metabolických produktů — ethanolu a těkavých kyselin. Za podmínek limitace růstu glukosou a v přebytku kyslíku ( $S_R \leq 4 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ ) byla veškerá glukosa ve věžovém fermentoru disimilována procesem aerobní respirace s vysokým energetickým ziskem a účinným spřažením růstu s katabolismem. Dokazuje to vysoká hodnota výtěžnosti  $Y_{X/S}$  na obr. 2 i předchozí výsledky [20]. Za těchto podmínek nebyl ve 4. stupni zjištěn žádný ethanol a specifická rychlost tvorby těkavých kyselin byla nízká. V jednostupňovém fermentoru nižší hodnota  $Y_{X/S}$  při  $S_R = 4 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  poukazuje na určitou malou tvorbu ethanolu. S růstem koncentrace glukosy v přítoku do  $15 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  vzrůstala jak specifická rychlost tvorby ethanolu, tak i kyselin. Vyšší rychlost tvorby těchto produktů je důsledkem postupného přechodu na limitaci kyslíkem [5, 9, 11, 21]. Vzhledem k současnému vzrůstu koncentrace biomasy je zřejmé, že tvorba kyseliny octové je prostředkem umožňujícím dosáhnout vyšší specifické růstové rychlosti fakultativním mikroorganismům [22].



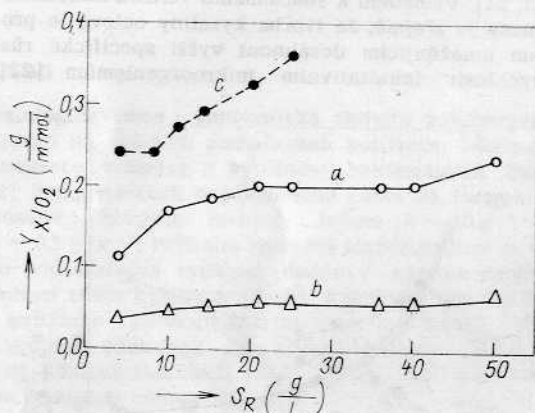
Obr. 2. Změny výtěžností biomasy vztažené na glukosu v 1. stupni (a), ve 4. stupni (b) a v jednostupňovém fermentoru (c) a produktivity v 1. stupni (d), ve 4. stupni (e) a v jednostupňovém fermentoru (f) v závislosti na koncentraci glukosy v přítoku živného média.

Huetting a Tempest [10] nedávno prokázali, že zvýšená spotřeba glukosy spolu s tvorbou kyseliny octové souvisí se zvýšením rychlosti syntézy ATP na substrátové úrovni. Tím se vyrovnává pokles tvorby ATP v procesu oxidativní fosforylace, který je důsledkem nedostatku finálního akceptoru elektronů v respiračním řetězci. Za podmínek limitace kyslíkem začíná metabolismus buněk přecházet z aerobní respirace na částečnou fermentaci [20, 23]. Důkazem toho je prudký pokles výtěžnosti  $Y_{X/S}$  (obr. 2) a rychlosti respirace (obr. 4). Kromě limitace kyslíkem začíná být s růstem  $S_R$  růst limitován i dusíkem. Předchozí práce [24, 25] ukázaly, že limitace dusíkem ovlivňuje výtěžnost  $Y_{X/S}$  podstatně výrazněji než limitace kyslíkem. Při  $S_R > 15 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  značně poklesla tvorba ethanolu i kyseliny octové, protože ve věžovém fermentoru koncentrace biomasy vzrůstala. S přihlédnutím k obr. 4 je zřejmé, že tvorba kyseliny octové souvisí se změnami rychlosti respirace, jak zjistili i Hadjipetrou et al. [26] a Stouthamer [22]. Vzhledem k rostoucí koncentraci glukosy v médiu může být vzrůst koncentrace biomasy důsledkem zvýšené syntézy rezervních látek podmíněné limitací dusíkem [27, 28]. Důkazem toho je pokles výtěžnosti  $Y_{X/S}$ . Prakticky identické hodnoty  $Y_{X/S}$  v 1. a 4. stupni věžového fermentoru dokazují, že



glukoza je za těchto podmínek disimilována procesem fermentace bez zřetele na přítomnost kyslíku (glukozový efekt) [29].

Porovnáme-li hodnoty výtěžnosti  $Y_{X/S}$  pro oba kultivační systémy, je zřejmá markantní odlišnost. Relativně malý pokles  $Y_{X/S}$  při  $S_R > 10 \text{ g.l}^{-1}$  v jednostupňovém fermentoru je výsledkem snížené schopnosti disimilace glukózy s růstem  $S_R$  (viz zastavení přírůstu biomasy na obr. 1). Naopak ve věžovém více-  
stupňovém fermentoru se následkem mezistupňového promíchávání buňky adaptují na vyšší koncentrace glukózy, což vede k dosažení vyšších koncentrací biomasy i za cenu výrazného poklesu výtěžnosti  $Y_{X/S}$ . Jinak řečeno — adaptací na vyšší koncentrace glukózy buňky zvyšují rychlost její disimilace za cenu snížené účinnosti využití uvolněné energie ke svému růstu. Podobné výsledky byly ve věžovém více-  
stupňovém fermentoru prokázány i při růstu kvasinek za podmínek substrátové inhibice [18, 30, 31].



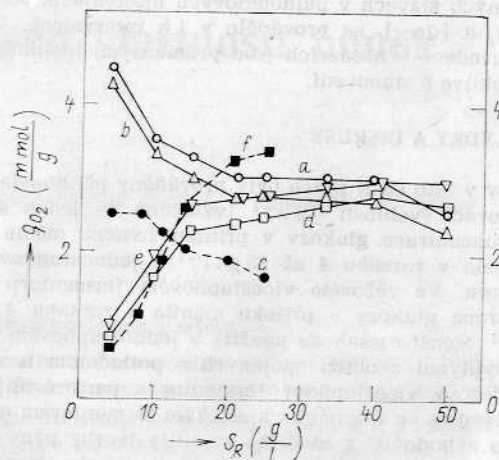
Obr. 3. Vliv koncentrace glukózy v přítoku živného média na výtěžnost biomasy vztaženou na kyslík v 1. stupni (a), ve 4. stupni (b) a v jednostupňovém fermentoru (c).

Z porovnání hodnot produktivity dosažené v obou fermentorech (obr. 2) je zřejmé, že dokud se neprojeví adaptační efekt ve věžovém více-  
stupňovém fermentoru, jsou hodnoty  $P_R$  v 1. stupni identické s hodnotami zjištěnými v jednostupňovém zařízení.

Velikost výtěžnosti  $Y_{X/O_2}$  závisí nejen na specifické růstové rychlosti buněk [20], ale i na metabolismu glukózy, což vyplývá z výsledků uvedených na obr. 3. Přechod z disimilace procesem aerobní respirace na fermentaci vedl ke vzrůstu  $Y_{X/O_2}$  v obou zařízeních. V jednostupňovém fermentoru byl tento vzrůst podstatně výraznější, neboť se zde neuplatňoval efekt adaptace buněk na vyšší koncentrace glukózy. Vzrůst výtěžnosti  $Y_{X/O_2}$  s růstem  $S_R$  je v dobrém souhlasu s předchozími výsledky [24, 32, 33] a je důkazem, že maximální hodnoty se dosáhne při téměř úplné limitaci kyslíkem bez zřetele na specifickou rychlost růstu buněk v kontinuální kultivaci. Podobné výsledky byly zjištěny i v jednorázových kultivacích [34]. Lze tedy shrnout, že kvantitativní rozdíl dosažených výtěžností  $Y_{X/O_2}$  v obou zařízeních je důsledkem jednak glukozového a kyslíkového efektu [23, 29] a jednak působení odlišné střední doby zdržení buněk v systému, výrazně zesílené mezistupňovým promícháváním ve věžovém více-  
stupňovém fermentoru [12].

Porovnání změn rychlosti respirace a  $RQ$  kvocientu v závislosti na koncentraci glukózy v přítoku je provedeno na obr. 4. S růstem  $S_R$  nastává přechod na růst limitovaný kyslíkem což nutně vede k poklesu rychlosti respirace. Konstantní hodnoty  $q_{O_2}$  ve věžovém fermentoru při  $S_R 20 \text{ g.l}^{-1}$  vyplývající z glukozového efektu. Vyšší hodnoty  $q_{O_2}$  v 1. stupni ve srovnání se 4. stupněm jsou

důsledkem vyšší specifické růstové rychlosti buněk v 1. stupni. Výrazná kvantitativní odlišnost hodnot  $q_{O_2}$  v obou zařízeních souvisí s odlišným fyziologickým stavem buněčné populace. Vyšší hodnoty ve věžovém více-  
stupňovém fermentoru vyplývají nejen z lepšího využití kyslíku z aeračního vzduchu (opakovaná dispergace bublin) [12], ale i z oxidace ethanolu ve vyšších stupních fermentoru v oblasti nízkých koncentrací glukózy v médiu.



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 koncentraci glukózy v přítoku živného média.

Také hodnoty  $RQ$  kvocientu citlivě reagují na metabolické změny buněk (obr. 4). Přechod z aerobní respirace na částečnou fermentaci glukózy se v obou zařízeních projevil výrazným vzrůstem hodnot  $RQ$ . Podobné chování u kvasinek zjistili Rickard a Hogan [35]. V rozsahu do  $S_R = 15 \text{ g.l}^{-1}$  byly hodnoty  $RQ$  v obou fermentorech prakticky stejné. Odlišnost se projevila až při vyšších koncentracích glukózy v přítoku. Vyšší hodnoty v jednostupňovém zařízení souvisely s odlišnou tvorbou kyselin i změnami v tvorbě oxidu uhličitého.

Výsledky získané v této práci ukázaly, že věžový více-  
stupňový fermentor je vhodný pro zpracování médií s vyšší koncentrací cukrů, a to nejen z hlediska trvalé reinokulace předchozích stupňů a adaptace buněčné populace plynoucí z mezistupňového promíchávání, nýbrž i z hlediska stability tvorby pěny.

#### Použité symboly

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

$Y_{X/O_2}$  ... výtěžnost biomasy vztažená ke kyslíku  
(g. mol<sup>-1</sup>)  
 $\mu$  ... specifická růstová rychlost buněčné populace  
(h<sup>-1</sup>)

## Literatura

- [1] ELSWORTH, R., MILLER, G. A., WHITAKER, A. R., KITCHING, D., SAYER, P. D.: J. Appl. Chem. **17**, 1968, s. 157
- [2] PHARES, E. F.: Methods of Enzymology (Eds. Colowick, S. P., Kaplan, N. O.), Vol. 22, Academic Press 1971, New York, s. 441
- [3] BAUER, S., SHILOACH, J.: Biotechnol. Bioeng. **16**, 1974, s. 933
- [4] SHILOACH, J., BAUER, S.: Biotechnol. Bioeng. **17**, 1975, s. 227
- [5] PÁČA, J., GRÉGR, V.: J. Ferment. Technol. **55**, 1977, s. 213
- [6] HARRISON, D. E. F., LOVELESS, J. E.: J. Gen. Microbiol. **68**, 1971, s. 35
- [7] HARRISON, D. E. F.: J. Appl. Chem. Biotechnol. **22**, 1972, s. 417
- [8] NAGODAWITHANA, T. W., CASTELANO, C., STEINKRAUS, K. H.: Appl. Microbiol. **28**, 1974, s. 383
- [9] PÁČA, J.: Folia Microbiol. **23**, 1978, s. 108
- [10] HUETING, S., TEMPEST, D. W.: Arch. Microbiol. **123**, 1979, s. 189
- [11] HARRISON, D. E. F., PIRT, S. J.: J. Gen. Microbiol. **46**, 1967, s. 193
- [12] PÁČA, J.: Kvasný průmysl **23**, 1977, s. 257
- [13] PÁČA, J.: Folia Microbiol. **21**, 1976, s. 417
- [14] GREENHALGH, S. H., MCNAMEY, W. L., PORTER, K. E.: J. Appl. Chem. Biotechnol. **25**, 1975, s. 143
- [15] LINEK, V., SOBOTKA, M., PROKOP, A.: Advances in Microbial Engineering (Sikyta, B., Prokop, A., Novák, M., Eds.), Part 1, Wiley Sons, New York 1973, s. 429
- [16] BERGMAYER, H. U., BERNT, E.: Methods of Enzymatic Analysis, (Bergmayer, H. U., Ed.), 2nd Edition, Vol. 3, Verlag Chemie, Weinheim, 1974, s. 1205
- [17] CONWAY, E. J.: Microdiffusion Analysis and Volumetric Error, Crosby Lockwood, London 1950
- [18] PÁČA, J., GRÉGR, V.: Biotechnol. Bioeng. **19**, 1977, s. 539
- [19] FINN, R. K.: Biochemical and Biological Engineering Science (Blakebrough, N., Ed.), Vol. 1, Academic Press, London 1967, s. 69
- [20] PÁČA, J.: Folia Microbiol. **24**, 1979, s. 352
- [21] HARRISON, D. E. F., LOVELESS, J. E.: Gen. Microbiol. **68**, 1971, s. 45
- [22] STOUTHAMER, A. H.: Yield Studies in Microorganism, Meadowfield Press, Durham 1976
- [23] HOLLYWOOD, N., DOELLE, H. W.: Microbios **17**, 1976, s. 23
- [24] PÁČA, J.: Sborník VŠCHT E **50**, 1979, s. 137
- [25] PÁČA, J., FABIÁNKOVÁ, M.: Sborník VŠCHT E **46**, 1976, s. 67
- [26] HADJIPETROU, L. P., GERRITS, J. P., TEULINGS, F. A. G., STOUTHAMER, A. H.: J. Gen. Microbiol. **36**, 1964, s. 139
- [27] DAWES, E. A., SENIOR, P. J.: Adv. Microb. Physiol. **10**, 1973, s. 136
- [28] TEMPEST, D. W., HERBERT, D.: J. Gen. Microbiol. **41**, 1965, s. 143
- [29] DOELLE, H. W., HOLLYWOOD, N., WESTWOOD, A. W.: Microbios **9**, 1974, s. 221
- [30] PÁČA, J., GRÉGR, V.: Biotechnol. Bioeng. **21**, 1979, s. 1809
- [31] PÁČA, J., GRÉGR, V.: Biotechnol. Bioeng. **21**, 1979, s. 1827
- [32] PÁČA, J., GRÉGR, V.: Sborník VŠCHT E **46**, 1976, s. 95
- [33] PÁČA, J.: Sborník VŠCHT E **48**, 1976, s. 111
- [34] PÁČA, J.: Sborník VŠCHT E **43**, 1975, s. 67
- [35] RICKARD, P. A. D., HOGAN, C. B. J.: Biotechnol. Bioeng. **20**, 1978, s. 1105

**Páča, J.: Porovnání růstových a fyziologických vlastností buněk v různých typech fermentorů. II. Vliv koncentrace glukózy v přítoku živného média.** Kvas. prům. **27**, 1981, č. 12, s. 272—276.

Porovnání růstové a fyziologické charakteristiky buněk *Klebsiella aerogenes* v ustálených stavech kontinuálních kultivací v jednostupňovém a věžovém vícestupňovém fermentoru v závislosti na rostoucí koncentraci glukózy v přítoku živného média. Kultivace se prováděly v minimálním syntetickém médiu při pH 7,0, teplotě 30 °C,  $K_{La} = 176 \text{ h}^{-1}$  a zředovací rychlosti  $0,6 \text{ h}^{-1}$ . Byly sledovány koncentrace biomasy a glukózy, výtěžnosti biomasy vztažené na zdroj uhlíku a energie a na spotřebovaný kyslík, produktivita, rychlosti respirace a změny respiračního kvocientu. Výsledky ukázaly, že vícestupňový věžový fermentor je schopen zpracovat médium s vyšší kon-

centrací glukózy a dosáhnout vyšší koncentrace biomasy ve výtokovém proudě. Jeho provoz je stabilnější i z hlediska tvorby pěny. Pozitivní efekt v použitém vícestupňovém věžovém fermentoru má při zpracování médií s vyšším obsahem cukru mezistupňové promíchávání.

**Паца, Я.: Сопоставление ростовых и физиологических свойств клеток в разных типах ферментеров. II. Влияние концентрации глюкозы в притоке питательной среды.** Квас. прум., **27**, 1981, № 12, стр. 272—276.

Дается сопоставление ростовой и физиологической характеристик клеток *Klebsiella aerogenes* в устойчивых состояниях непрерывного культивирования в одноступенчатом и башенном многоступенчатом ферментерах в зависимости от повышающейся концентрации глюкозы в притоке питательной среды. Культивирование проводилось в минимальной синтетической среде при pH 7,0, температуре 30 °C,  $K_{La} = 176 \text{ ч}^{-1}$  и при скорости разбавления  $0,6 \text{ ч}^{-1}$ . Исследовались концентрации биомассы и глюкозы, выхода биомассы, соотношенного к источнику углерода и энергии и к потребляемому кислороду, скорости дыхания и изменения квоциента респирации. Результаты показали, что многоступенчатый башенный ферментер способен переработать среду с высшей концентрацией глюкозы и добиться высшей концентрации биомассы в выпускном токе. Это ход стабильнее и точки зрения пенообразования. Положительный эффект в примененном многоступенчатом башенном ферментере при переработке сред с высшим содержанием сахара дает промежуточное перемешивание.

**Páča, J.: Comparison of Growth and Physiological Characteristics of Cells in Different Types of Fermentors. II. Effect of Glucose Concentration in Medium Input.** Kvas. prům. **27**, 1981, č. 12, s. 272—276.

Growth and physiological characteristics of the cells *Klebsiella aerogenes* at steady states of continuous cultures performed in onestage and multistage tower fermentor in dependence on glucose concentration in the medium input are compared. Experiments were carried out in the minimum synthetic medium under constant values of pH 7,0, temperature of 30 °C,  $K_{La}$  of  $176 \text{ h}^{-1}$  and dilution rate of  $0,6 \text{ h}^{-1}$ . 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 showed that the multistage tower fermentor is able to process medium with higher glucose concentrations and to achieve higher biomass concentrations in the outflow. The performance of this type of fermentor is also more stable with respect to foam formation. It was demonstrated that an interstage mixing taking place in the multistage tower fermentor has the positive effect on a processing of media containing higher sugar concentrations.

**Páča, J.: Vergleich der Wachstums- und physiologischen Eigenschaften der Zellen in verschiedenen Fermentortypen. II. Einfluß der Konzentration der Glukose in dem Nährmediumzufluß.** Kvas. prům. **27**, 1981, No. 12, S. 272—276.

Vergleich der Wachstums- und physiologischen Charakteristik der Zellen *Klebsiella aerogenes* in stabilisierten Zuständen der kontinuierlichen Kultivationen in einstufigem und mehrstufigem Turmfermenter in Abhängigkeit von der wachsenden Konzentration der Glukose in dem Nährmediumzufluß. Die Kultivationen wurden im minimalen synthetischen Medium bei pH 7,0, Temperatur 30 °C,  $K_{La} = 176 \text{ h}^{-1}$  und Verdünnungsgeschwindigkeit  $0,6 \text{ h}^{-1}$  durchgeführt. Verfolgt wurden die folgenden

Parameter: Konzentration der Biomasse und Glukose, Ausbeuten der Biomasse, bezogen auf die Kohlenstoff- und Energiequelle und auf den verbrauchten Sauerstoff, Produktivität, Respirationsgeschwindigkeiten und Änderungen des Respirationsquotienten. Die Ergebnisse zeigten, daß in einem mehrstufigen Turmfermentor Medien mit höheren Glukosekonzentrationen verarbeitet werden

können bei Erzielung einer höheren Konzentration der Biomasse in dem Abflußstrom. Der Betrieb dieses Fermentortyps ist stabiler auch vom Standpunkt der Schaumbildung. In dem applizierten mehrstufigen Turmfermentor hatte bei Verarbeitung von Medien mit einem höheren Zuckergehalt das Mischen zwischen den einzelnen Stufen einen positiven Effekt.