

Kultivace kvasinek na etanolu v limitu kyslíku metodou nutristatu

582.282.232 66.062.51

Ing. FRANTIŠEK STROS, CSc., Ing. JOHANNA RYBÁŘOVÁ, CSc., Výzkumný ústav krmivářského průmyslu a služeb, Praha

Při výrobě kvasničných bílkovin z čistých petrochemických surovin, jako jsou např. izolované n-alkány nebo syntetický etanol, je možno pronikavě snížit množství odpadních vod z kultivace vrácením odseparovaného média do fermentoru. Při kultivaci s recirkulací odstředěného média není nutno zařazovat za fermentor dozrávací kád a koncentrace živin v médiu odtahovaném na separaci může být vyšší než při obvyklých postupech, protože se převážný podíl nevyužitých živin vrací do kultivačního procesu. Za těchto podmínek je možno vést kontinuální kultivaci metodou nutristatu, tj. udržovat zdroje všech biogenních a stopových prvků v nadlimitních koncentracích, které podstatně neomezuji růstovou rychlost kvasinek. Dalším nutným předpokladem je, aby byl k dispozici regulační systém umožňující udržovat živiny v kultivačním médiu v potřebném rozmezí koncentrace. V případě výroby krmných kvasnic ze syntetického etanolu byla pro řízení koncentrací zdroje uhlíku, dusíku a ostatních nezbytných prvků navržena řada postupů. Z nich je nejpoužitelnější metoda založená na udržování stálé koncentrace amonných iontů v médiu regulačním pH-metrem [1, 2] a postup, vycházející z kontroly obsahu etanolu v médiu stanovováním koncentrace hořlavých par ve výdechu fermentoru [3, 4]. Dávkování dalších potřebných živin se pak řídí podle spotřeby amoniaku na úpravu pH nebo spotřebou etanolu na udržení jeho stálé koncentrace v médiu.

Při kultivaci metodou nutristatu není růst mikroorganismů podstatněji brzděn koncentrací živin, a proto se rychle dosahuje limitu kyslíku. Výhodou kultivací v limitu kyslíku je maximální využívání aerační kapacity

fermentorů, které je v provozních podmínkách nevyhnutelnou podmínkou správného hospodaření s energií.

Kontinuální kultivace metodou nutristatu v limitu kyslíku je zatím málo prostudována; většina publikovaných prací uvádí výsledky týkající se kontinuálních kultivací vedených chemostatovým způsobem, tj. v limitu substrátu. Z dosud málo uveřejněných publikací o kontinuální kultivaci v podmínkách limitace kyslíkem vyplývá, že tento způsob umožňuje dosažení vyšších výťažností ve srovnání s chemostatem [5, 6, 7, 8, 9].

Předložená práce uvádí některé závislosti, zjištěné při kultivaci kvasinek *Candida ethanolica* [10] a *Torulopsis ethanolitolerans* [11] na etanolu v podmínkách nutristatu v limitu kyslíku.

MATERIÁL A METODIKA

Mikroorganismus

Candida ethanolica RIFIS 233 (CCY 29-83-2)

Torulopsis ethanolitolerans RIFIS 235 (CCY 26-58-1)

Produkční kultury uvedených kvasničných kmenů byly udržovány následnými kultivacemi v 7–10denních intervalech v laboratorním fermentoru v syntetickém médiu s etanolem. Narostlé kvasinky byly odděleny separací na laboratorní odstředivce a získaná kvasničná pasta (s asi 21 % hm. sušiny) byla uchovávána v chladničce při 5 °C.

Surovina

Syntetický etanol 94,2 % obj. [74,36 g abs. alkoholu ve 100 ml] z CHEZA SČSP, Litvínov.

Živné médium

Základní živiny byly připraveny v koncentrovaném roztoku, který obsahoval v 1 000 ml 35 ml 85 % hm. H_3PO_4 , 30 g KOH, 32 g $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$, 0,5 g $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$, 12,2 g NaCl, 0,02 g $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$, 0,05 g $MnCl_2 \cdot 4 H_2O$. Roztok dalších prvků — vápníku a železa — byl připraven odděleně a obsahoval v 1 000 ml 156 g $CaCl_2 \cdot 2 H_2O$ a 10,6 g $FeCl_3 \cdot 6 H_2O$. K rozpouštění živných solí byla používána vodovodní voda. Do kultivačního média se dávaly roztoky živin podle očekávané produkce, a to na 1 g přírůstek kvasničné sušiny 1 ml koncentrovaného roztoku základních živin a 0,1 ml roztoku vápníku a železa. Dále se do každého litru kultivačního média přidával 1 g $(NH_4)_2SO_4$. Dávkování uhlíkatého a dusíkatého zdroje je uvedeno v dalším odstavci.

Kultivační zařízení a postup

Kultivační pokusy byly provedeny ve 30litrovém fermentoru (skleněném), jehož popis je uveden v dřívějším sdělení [12]. Pro kontinuální kultivace byl fermentor opatřen přepadem, který zabezpečoval stálý objem kultivačního média, a to 15 litrů. Teplota byla udržována na 30 °C, přívod chladicí vody byl regulován solenoidovým ventilem a kontaktním teploměrem Vertex. Vzduch byl vháněn do samonasávacího zařízení fermentoru membránovým čerpadlem (VEB Element Hettstedt, NDR) a měřen rotametrem. Množství vzduchu bylo udržováno v poměru objemu vzduchu . [objem média]⁻¹.

Úprava pH a dávkování dusíkatého zdroje bylo provedeno současně. Jako hlavní dusíkatá živina sloužila amoniaková voda (asi 20 % hm. NH_3), která byla do fermentoru dávkována přítokovým způsobem pomocí regulačního pH-metru (MBÚ ČSAV) při poklesu pH pod hodnotu 4,0.

Dávkování uhlíkatého zdroje — syntetického etanolu — bylo řízeno přístrojem Metrex (dílny VŠCHT), kterým byla udržována žádaná koncentrace etanolu v médiu. V etanolu byl rozpuštěn odpěňovací olej Kontramín 210 v množství 2 g . l⁻¹ etanolu.

Dávkování živných solí: na počátku kultivace se dávalo do fermentoru 300 ml koncentrovaného roztoku základních živin a 30 ml roztoku vápníku a železa. Po dosažení limitu kyslíku, indikovaného nulovou hodnotou koncentrace rozpuštěného kyslíku v médiu, byl zahájen průtok živného média membránovým čerpadlem (Chepos, Královopolská strojírna, Moravské Budějovice). Koncentrace živných solí v přítékajícím médiu byla přizpůsobena očekávané rovnovážné koncentraci kvasničné biomasy při dané zředovací rychlosti. Médium s narostlými kvasinkami bylo odváděno do sběrné nádoby.

Měření aktuální koncentrace rozpuštěného kyslíku

Ke stanovení aktuální koncentrace rozpuštěného kyslíku v kultivačním médiu bylo použito kyslíkové elektrody Ag/AgCl pokryté polypropylenovou membránou a přístroje Oxytest (Vývojové dílny ČSAV).

Měření koncentrace kyslíku a kysličníku uhlíkatého ve výdechu fermentoru

Měření a registrace O_2 a CO_2 v plynech vystupujících z fermentoru bylo provedeno přístroji Junkalor NDR Permolyt- O_2 a Infralyt- CO_2 . Ze získaných údajů bylo vypočítáno množství kyslíku a kysličníku uhlíkatého spotřebovaného, resp. uvolněného během kultivačního pokusu.

Analytické metody

Stanovení kvasničné sušiny, etanolu a kyseliny octové v kultivačním médiu a stanovení etanolu v surovině jsou popsány v dřívějším sdělení [13].

VÝSLEDKY A DISKUSE

Obě kvasničné kultury, s nimiž se pracovalo, patří k novým druhům rodu *Candida* a *Torulopsis*. Kvasinky *Candida ethanolica* byly izolovány z nesterilně vedené produkční kultury kvasinek používané při výrobě krmných kvasnic ze syntetického etanolu [14]. Kvasinky *Torulopsis ethanolitolerans* byly získány z provozní kultury, používané při výrobě krmných kvasnic ze sulfidových výluhů, po několikaměsíčním pasážování aerobními kultivacemi v médiu s etanolem jako jediným zdrojem uhlíku [15]. Oba nové kmeny dávaly velmi příznivé výsledky při jednorázových kultivacích na etanolu a byly proto prověřovány v dlouhodobých kontinuálních pokusech.

Kontinuální kultivace kvasinek *Candida ethanolica* byly vedeny při zředovacích rychlostech $D = 0,12 - 0,22 - 0,24 - 0,28 - 0,33 h^{-1}$. Kultura *Torulopsis ethanolitolerans* byla kultivována při $D = 0,10 - 0,18 - 0,25 - 0,31 h^{-1}$. Každý kontinuální pokus byl startován z jednorázové kultivace a vlastní kontinuální kultivace trvala nejméně 50 hodin. Aktuální koncentrace etanolu byla udržována v rozmezí 0,07–0,2 % obj. v médiu. V průběhu kultivace byla sledována spotřeba etanolu a amoniakové vody, koncentrace rozpuštěného kyslíku v médiu a složení výdechových plynů z fermentoru. Každou hodinu byla kontrolována koncentrace kvasničné sušiny centrifugační metodou a jednou za osm hodin byl zjišťován obsah kyseliny octové. Ve čtyřhodinových intervalech kultivace v ustáleném stavu byly prováděny analýzy ke stanovení základních kultivačních parametrů — koeficientu výtěžnosti, měrné spotřeby kyslíku a produktivity.

Tabulka 1. Vliv měrné růstové rychlosti na základní kultivační parametry při kultivaci kvasinek *Candida ethanolica* metodou nutristatu v limitu kyslíku.

| μ | $Y_{x/s}$ | $Y_{O/x}$ | p |
|-------|-----------|-----------|-----|
| 0,12 | 0,65 | 1,84 | 3,9 |
| 0,22 | 0,73 | 1,49 | 4,8 |
| 0,24 | 0,76 | 1,38 | 5,0 |
| 0,28 | 0,76 | 1,38 | 4,9 |
| 0,33 | 0,75 | 1,41 | 5,0 |

$Y_{x/s}$ je měrná růstová rychlost, h^{-1}

μ je výtěžnostní koeficient, g kvasn. sušiny . (g etanolu)⁻¹

$Y_{O/x}$ je měrná spotřeba kyslíku, g O_2 . (g kvasn. sušiny)⁻¹

p je produktivita, g kvasn. sušiny . (l média)⁻¹ . h^{-1}

Se stoupající zředovací, resp. růstovou rychlostí, klesala podle očekávání rovnovážná koncentrace kvasničné sušiny v kultivačním médiu: při nejnižší rychlosti (0,10–0,12 h^{-1}) se koncentrace kvasničné sušiny pohybovala kolem 30 g.l⁻¹ a při rychlosti 0,31–0,33 h^{-1} byla okolo 12 g.l⁻¹ shodně u obou kvasničných kultur. Méně již byl očekáván pokles, resp. zhoršení všech sledovaných parametrů u obou kmenů v závislosti na snižování růstové rychlosti (tabulka 1 a 2). To je v rozporu s výsledky Ridgwaye aj. [7], kteří uvádějí, že při kontinuální kultivaci kvasinek na etanolu se výtěžnost nemění v rozmezí zředovací rychlosti od 0,1 do 0,4 h^{-1} .

Pro vysvětlení změn produktivity byla věnována pozornost přenosu kyslíku při jednotlivých kultivačních pokusech. V průběhu kultivace mikroorganismů je změna koncentrace kyslíku v médiu dána vztahem:

$$dC/dt = K_L a \cdot (C^* - C_L) - r \cdot x,$$

kde:

$K_L a$ je objemový koeficient přestupu kyslíku, h^{-1} ,

- C^x — saturační koncentrace kyslíku v médiu při teplotě kultivace, $\text{mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$,
 C_L — aktuální koncentrace kyslíku v médiu, $\text{mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$,
 r — měrná respirační rychlost, $\text{mg O}_2 \cdot (\text{g kvas. suš.})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,
 x — koncentrace kvasničné sušiny v médiu, $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$.

Tabulka 2. Vliv měrné růstové rychlosti na základní kultivační parametry při kultivaci kvasinek *Torulopsis ethanolitolerans* metodou nutritatu v limitu kyslíku.

| μ | $Y_{x/s}$ | $Y_{O/x}$ | p |
|-------|-----------|-----------|-----|
| 0,10 | 0,62 | 1,82 | 3,7 |
| 0,18 | 0,72 | 1,56 | 3,9 |
| 0,25 | 0,73 | 1,52 | 4,0 |
| 0,31 | 0,74 | 1,47 | 4,2 |

Význam symbolů jako v tabulce 1

Aktuální koncentrace kyslíku byla v hodnocených úsecích všech kultivací konstantní a nulová. Proto lze předpokládat, že

$$dC/dt = 0, C_L = 0, K_L a \cdot C^x = rx,$$

což znamená, že rychlost přenosu kyslíku do média byla pro daný fermentor, průtok vzduchu a médium maximální a že byla shodná s rychlostí spotřeby kyslíku kvasinkami. Při známé hodnotě $K_L a$ a za předpokladu, že při 30 °C je saturační koncentrace kyslíku v použitém médiu 0,0074 $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$, vychází rychlost rozpouštění kyslíku při kultivaci asi 6,9 $\text{g} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Protože platí vztah:

$$r \cdot x = p \cdot Y_{O/x},$$

kde:

p je produktivita, $(\text{g kvasn. sušiny}) \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,

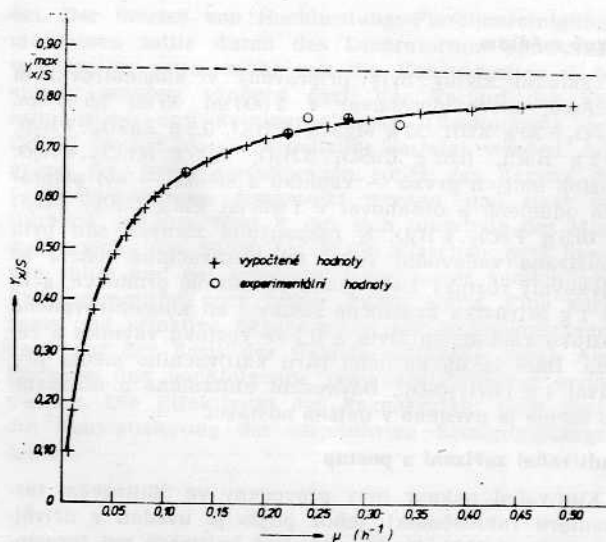
$Y_{O/x}$ — měrná spotřeba kyslíku kvasinkami, $\text{g O}_2 \cdot (\text{g kvasničné suš.})^{-1}$,

je možno rychlost spotřeby kyslíku kvasinkami vypočítat z experimentálně stanovených hodnot produktivity a $Y_{O/x}$.

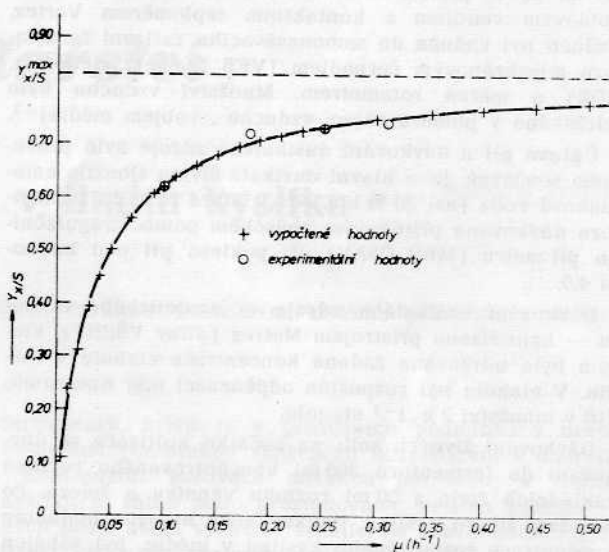
Na základě uvedených vztahů bylo zjištěno, že při kultivaci kvasinek *Candida ethanolica* se pohybovala rychlost spotřeby kyslíku mezi 6,8–7,2 $\text{g} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ a byla tedy prakticky shodná s rychlostí rozpouštění kyslíku v médiu. U pokusů s druhou kvasničnou kulturou, *Torulopsis ethanolitolerans*, byly rovněž zjištěny stejné rychlosti spotřeby kyslíku při různých růstových rychlostech, a to 6,0–6,2 $\text{g} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$; výjimkou byla hodnota 6,7 $\text{g} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, vypočtená pro růstovou rychlost 0,10 h^{-1} . Zde je nutno poznamenat, že kultivační pokusy s těmito kvasinkami byly provedeny sice ve stejném fermentoru jako pokusy s kulturou *Candida ethanolica*, avšak po jeho generální opravě. Změnami spojenými s touto opravou se pravděpodobně změnil koeficient přestupu kyslíku a tím i rychlost rozpouštění kyslíku, dosažitelná v tomto opraveném fermentoru. To by vysvětlilo nižší rychlosti spotřeby kyslíku kvasinkami *Torulopsis ethanolitolerans* ve srovnání s kvasinkami *Candida ethanolica*.

Ze zjištěných stejných hodnot rychlosti spotřeby kyslíku kvasinkami, kultivovanými při různých růstových rychlostech tedy vyplývá, že zhoršení produktivity v závislosti na snižování růstové rychlosti je způsobeno výhradně zhoršením výtěžnosti a následkem toho i zhoršenou, resp. zvýšenou měrnou spotřebou kyslíku na tvorbu biomasy.

Jestliže se výtěžnostní koeficient mění v závislosti na



Obr. 1. Závislost výtěžnostního koeficientu na měrné růstové rychlosti u kvasinek *Candida ethanolica*



Obr. 2. Závislost výtěžnostního koeficientu na měrné růstové rychlosti u kvasinek *Torulopsis ethanolitolerans*

změně růstové rychlosti, pak pro jejich vzájemný vztah platí rovnice [18]:

$$\frac{1}{Y_{x/s}} = m \cdot \frac{1}{\mu} + \frac{1}{Y_{x/s}^{\max}},$$

kde:

$Y_{x/s}$ je výtěžnostní koeficient, $\text{g kvasničné suš. (g substrátu)}^{-1}$,

$Y_{x/s}^{\max}$ — teoretický maximální výtěžnostní koeficient, když $\mu \rightarrow \mu_{\max}$, $\text{g kvasničné sušiny (g substrátu)}^{-1}$,

μ — měrná růstová rychlost, h^{-1} ,

m — koeficient zachovy, $\text{g substrátu (g kvasničné sušiny)}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, když $\mu = 0$.

Z koeficientů výtěžnosti $Y_{x/s}$ experimentálně stanovených kontinuální kultivací při různých růstových rychlostech byly vypočteny metodou nejmenších čtverců maximální výtěžnostní koeficienty [17] a jejich dosazením do uvedené rovnice byly vypočteny koeficienty zachovy. Pro kvasinky *Candida ethanolica* byl zjištěn $Y_{x/s}^{\max} =$

$= 0,85$ a $m = 0,0437$ g etanolu . (g kvasničné sušiny) $^{-1}$.
h $^{-1}$ a podobně pro kvasinky *Torulopsis ethanolitolerans*
 $Y_{x/s} = 0,83$ a $m = 0,040$ g etanolu . (g kvasničné sušiny) $^{-1}$. h $^{-1}$.

Za použití těchto konstant byly vypočítány výtěžnostní koeficienty $Y_{x/s}$ pro široké rozmezí růstových rychlostí μ . Grafické znázornění této závislosti je uvedeno na obrázcích 1 (*Candida ethanolica*) a 2 (*Torulopsis ethanolitolerans*). Je zřejmé, že při růstových rychlostech přibližně nad $0,20$ h $^{-1}$ nejsou změny ve výtěžnosti příliš výrazné a u obou kmenů je možno očekávat výtěžnostní koeficienty nad $0,70$. Naopak při růstových rychlostech pod touto hodnotou, tj. $0,20$ h $^{-1}$, klesají výtěžnostní koeficienty velmi podstatně a čím je nižší růstová rychlost, tím jsou mezi nimi větší rozdíly.

Značné zhoršování výtěžnosti při snižujících se hodnotách růstové rychlosti lze vysvětlit koeficientem zachovy — m . Koeficient zachovy představuje množství substrátu spotřebovaného na jednotku biomasy mikroorganismu za jednotku času na funkci jiné, než je produkce nové biomasy. Tyto funkce zahrnují zachovávání koncentračních gradientů, pohyblivost buněk, resyntézu nestabilních makromolekul apod. Spotřeba substrátu na zachovu je úměrná množství biomasy v kultuře a době, po kterou je biomasa v kultuře, resp. v kultivačním zařízení přítomna [16]. Z toho plyne, že čím větší bude spotřeba substrátu na zachovu, tím méně ho zůstane k dispozici pro tvorbu nové biomasy. Při nižších růstových rychlostech je spotřeba substrátu na zachovu buněčné populace vyšší v důsledku delší doby zdržení ve fermentoru a vyšší koncentrace kvasničné sušiny, a proto logicky musí být dosažená výtěžnost nižší ve srovnání s výtěžností získanou při vyšších růstových rychlostech. V provozu se pak kultivace při nízké růstové, resp. zředovací rychlosti projevuje nízkou výrobou a vysokou měrnou spotřebou substrátu.

Rychlost, se kterou se $Y_{x/s}$ mění v závislosti na změně růstové rychlosti, je závislá na hodnotě koeficientu zachovy m , jak uvádějí Abbott a Clamen [18]. Pokusy s bakteriemi ukázaly, že závislost výtěžního koeficientu na m byla nejvyšší při nejmenší růstové rychlosti. Citování autoři, kteří prováděli ekonomické zhodnocení produkce biomasy na základě vztahů mezi výtěžnostními koeficienty, růstovou rychlostí a koeficientem zachovy, konstatovali, že z ekonomického hlediska jsou nejvhodnější mikroorganismy s nízkým koeficientem zachovy. Hodnoty koeficientů zachovy $m = 0,0437$ a $0,040$ g etanolu . (g kvasničné sušiny) $^{-1}$. h $^{-1}$ stanovené u kvasničných kultur *Candida ethanolica* a *Torulopsis ethanolitolerans* jsou velmi příznivé.

Pro posouzení hranice možnosti zvyšování výtěžnosti má význam i vypočtený teoretický maximální výtěžnostní koeficient, který u kvasinek *Candida ethanolica* činí $Y_{x/s}^{max} = 0,85$ a u *Torulopsis ethanolitolerans* $Y_{x/s}^{max} = 0,83$. Tyto hodnoty naznačují, že dosahování výtěžnostních koeficientů nad hodnotu $0,85$ je již nepravděpodobné. Tento závěr podporuje i bilance uhlíku [19] při syntéze biomasy z etanolu. Na tvorbu 1 kg kvasničné sušiny se 46 % hm. uhlíku se na anabolické pochody spotřebuje 460 g uhlíku a na katabolické procesy spojené s tvorbou biomasy nejméně 200 g uhlíku, tedy celkem 660 g uhlíku. Při výtěžnostním koeficientu $0,8$ by na 1 kg kvasničné sušiny připadlo pouze 652 g etanolového uhlíku. Prakticky dosažitelná výtěžnost kvasničné biomasy z etanolu leží tedy zřejmě těsně pod hranicí 80 % hm. To ovšem platí za předpokladu, že kvasinky jsou kultivovány v čistě syntetickém médiu a mají k dispozici pouze uhlík ze substrátu, tj. z etanolu. Za přítomnosti dalších vedlejších zdrojů uhlíku lze dosáhnout i vyšší

výtěžnosti, o čemž svědčí údaje z některých zahraničních publikací [7, 8, 20]. Také při kontinuální kultivaci kvasinek *Torulopsis ethanolitolerans* na etanolu v médiu s přidavkem melasových lihovarských výpalků bylo na našem pracovišti dosaženo hodnoty výtěžnostního koeficientu $0,86$.

Literatura

- [1] ŠTROS, F., PROKOP, A., HAUSER K., ŠVOJGR M., ADÁMEK L.: Způsob kultivace kvasinek v syntetických médiích. ČSSR AO 158 954, 1974
- [2] ADÁMEK L., ŠTROS F., ŠVOJGR M., HAUSER K., PROKOP A.: Způsob aerobní kultivace kvasinek v syntetických médiích. ČSSR AO 158 991, 1974
- [3] KADLEC, K., SLÁDEČEK J.: Analyzátor pro stanovení etanolu v zápaře. ČSSR patent 142 889, 1971
- [4] KRUMPHANZL V., KADLEC K., PELECHOVÁ J., UHER J., SLÁDEČEK J.: Způsob regulace fermentačního procesu. ČSSR AO 164 315, 1975
- [5] NAGAI S., AIBA S.: J. Gen. Microbiol. **73**, 1972, s. 531
- [6] NAGAI S., NISHIZAWA Y., DOIN P. A., AIBA S.: J. Gen. Appl. Microbiol. **18**, 1972, s. 201
- [7] RIDGWAY J. A., LAPPIN T. A., BENJAMIN B. M., CORNS J. B., AKIN C.: Single-cell protein materials from ethanol. USA patent 3 865 691, 1975
- [8] MASUDA Y.: Chem. Econ. & Eng. Rev. **6**, 1974, s. 54
- [9] SENIOR P. J., BEECH G. A., RITCHIE G. A. F., DAWES E. A.: Biochem. J. **128**, 1972, s. 1193
- [10] RYBÁŘOVÁ J., ŠTROS F., KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ A.: Ztschr. f. Allgem. Mikrob. **20**, 1980, s. 579
- [11] RYBÁŘOVÁ J., ŠTROS F., KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ A.: Ztschr. f. Allgem. Mikrob. v tisku
- [12] RYBÁŘOVÁ J., ADÁMEK L., PECKA K.: Kvas. prům. **24**, 1978, s. 106
- [13] RYBÁŘOVÁ J.: Kvas. prům. **26**, 1980, s. 156
- [14] RYBÁŘOVÁ J.: Kvas. prům. **27**, 1981, s. 81
- [15] RYBÁŘOVÁ J., ŠTROS F., RUT M.: Závěrečná zpráva v. ús. P-008, VÚKPS, Praha, 1980
- [16] PIRT S. J.: Proc. R. Soc. London, Ser. B., **163**, 1965, s. 224
- [17] KUVŠINNIKOV V. D., VOROBEJEV A. V., JEROŠIN V. K., MINKEVIČ I. G.: Prikl. bioch. mikrobiol. **14**, 1978, s. 366
- [18] ABBOTT B. J., CLAMEN A.: Biotechnol. Bioeng. **28**, 1973, s. 117
- [19] HAUSER, K.: Etanol a metanol - substráty pro výrobu buněčné masy. Výzkumná zpráva VÚAnCh, Ústí n/L., 1977
- [20] MASUDA Y., NAKANISHI M., SAKAKURA Y.: Hydrocarbon Processing **55**, 1976, s. 113

Štros, F. - Rybářová, J.: Kultivace kvasinek na etanolu v limitu kyslíku metodou nutristatu. Kvas. prům., **28**, 1982, č. 3, s. 64—68.

Kontinuální kultivaci kvasinek na etanolu metodou nutristatu v limitu kyslíku bylo zjištěno, že změnou zředovací, resp. růstové rychlosti se mění i základní kultivační parametry. S klesající růstovou rychlostí klesal výtěžnostní koeficient a produktivita a stoupala měrná spotřeba kyslíku. Zhoršení kultivačních parametrů při nižších růstových rychlostech je vysvětlováno vyšší spotřebou energie, resp. substrátu na pochody spojené se zachováním kvasničných buněk. Z výsledků získaných v kontinuální kultivaci metodou nutristatu v limitu kyslíku byly pro oba kvasničné kmeny vypočteny koeficienty zachovy m a teoretické maximální výtěžnostní koeficienty. Pro kvasinky *Candida ethanolica* byl $m = 0,0437$ g

etanolu . (g kvasničné sušiny) $^{-1}$. h $^{-1}$ a $Y_{x/s}^{max} = 0,85$ a pro kvasinky *Torulopsis ethanolitolerans* byl stanoven $m = 0,040$ g etanolu . (g kvasničné sušiny) $^{-1}$. h $^{-1}$ a $Y_{x/s}^{max} = 0,83$.

Штрос, Ф., Рыбаржова, И.: Культивирование дрожжей на этаноле в лимитированном кислороде методом нутристрата. Квас. прум., **28**, 1982, No. 3, стр. 64—68.

При помощи непрерывного культивирования дрожжей на этаноле методом нутристрата с лимитированным кислородом было установлено, что при изменении скорости разбавления или же роста изменяются и основные параметры культивирования. По мере понижения скорости

роста падал и коэффициент выхода и производительность и повышалось удельное потребление кислорода. Ухудшение параметров культивирования при низших скоростях роста объясняется высшим потреблением энергии или же субстрата для процессов, связанных с сохранением дрожжевых клеток. Из результатов, полученных методом нутристора с лимитированным кислородом, были вычислены для обоих штаммов дрожжей коэффициенты сохранения и теоретические максимальные коэффициенты выхода. Для дрожжей *Candida ethanolica* составляют: $m = 0,0437$ г этанола . (г сухого вещества) $ч^{-1}$ $Y_{x/s}^{max} = 0,85$; для дрожжей *Torulopsis ethanolitolerans* был установлен $m = 0,040$ г этанола . (г дрожжевого сухого вещества) $ч^{-1}$ и $Y_{x/s}^{max} = 0,83$.

Štros, F. - Rybářová, J.: Yeast Cultivation on Ethanol with Oxygen Limitation and Nutristat Control. Kvas. prům. 28, 1982, No. 3, pp. 64–68.

Using a continuous cultivation of yeasts on ethanol with a nutristat control and oxygen limitation it was found that with a change in dilution or growth rate, respectively, the basic culture parameters are changed, too. A decrease of growth rate manifested itself in a decrease of biomass yield and productivity and in a rise of a specific consumption of oxygen. The worse culture parameters observed at lower growth rates are elucidated by an increased consumption of energy or a substrate, respectively, which is used for a maintenance of the yeast cells. The results obtained in a continuous cultivation with the nutristat control and oxygen limitation served for a calculation of maintenance coefficients m and theoretical maximum yield coefficient for both the

yeast strains used. For the yeast *Candida ethanolica* it was $m = 0,0437$ g ethanol per g cell dwt per hour and $Y_{x/s}^{max} = 0,85$. For the yeast *Torulopsis ethanolitolerans* it was $m = 0,040$ g ethanol per g cell dwt per hour and $Y_{x/s}^{max} = 0,83$.

Štros, F.: Rybářová, J.: Kultivation der Hefen auf Äthanol im Sauerstofflimit mittels der Nutristat-Methode. Kvas. prům. 28, 1982, No. 3, S. 64–68.

Durch die kontinuierliche Kultivation der Hefen auf Äthanol bei Applikation der Nutristat-Methode im Sauerstofflimit wurde festgestellt, daß sich mit der Änderung der Verdünnungs- bzw. Wachstumsgeschwindigkeit auch die Grundparameter der Kultivation ändern. Mit der herabsinkenden Wachstumsgeschwindigkeit wurde das Absinken des Ausbeutekoeffizienten und der Produktivität sowie auch der Anstieg des Sauerstoffverbrauchs festgestellt. Die Verschlechterung der Kultivationsparameter bei niedrigeren Wachstumsgeschwindigkeiten ist erklärt durch den höheren Energie-, bzw. Substratverbrauch auf die mit der Erhaltung der Hefezellen verbundenen Prozesse. Aus den Ergebnissen, die bei der kontinuierlichen Kultivation mittels der Methode des Nutristats im Sauerstoff-Limit gewonnen wurden, berechneten die Autoren für die beiden Hefestämme die Erhaltungskoeffizienten m und die theoretischen maximalen Ausbeutekoeffizienten. Für die Hefen *Candida ethanolica* war $m = 0,0437$ g Äthanol . (g Hefetrockensubstanz) $ч^{-1}$ und $Y_{x/s}^{max} = 0,85$, für Hefen *Torulopsis ethanolitolerans* $m = 0,040$ g Äthanol . (g Hefetrocken-Substanz) $ч^{-1}$ und $Y_{x/s}^{max} = 0,83$.