

Vývoj axiálně míchaného fermentoru a porovnání morfologie *Aspergillus niger* během kultivace v axiálně a rotačně míchaném fermentoru

663.1.033 663.14.033
582.282.123.4

Ing. LADISLAV CHLÁDEK, CSc. - Ing. JAROSLAV BUŘIČ - JAROSLAV ŠUSTR, Výzkumný ústav potravinářského průmyslu Praha,

Ing. ŠTEFAN BÁLINT, CSc. - Dr. MATÚŠ POVAŽAJ, CSc. - Ing. JOZEF KOČAN, Výzkumný ústav LIKO Bratislava

V řadě technicky vyspělých zemí probíhá intenzivní výzkum výroby enzymů mikrobiální cestou. Souběžně s mikrobiologickou problematikou je řešena i optimalizace jednotkových inženýrských operací.

Z jednotkových operací se v bioinženýrství setkáváme nejčastěji s mícháním třífázového systému, obsahujícího buňky, event. částice živin jako tuhou fázi, roztok soli a cukrů jako kapalnou fázi a plynové bubliny. Cílem míchání je dosažení homogenity, tzn. vytvoření emulze nemísitelných kapalin a zároveň disperze plynových bublin v kapalině. Dosažení dostatečné distribuce a dispergace plyné fáze v kapalině je důležité, protože převážná většina mikrobiálních procesů vyžaduje dodávku kyslíku z plyné fáze přes kapalnou do buněk. Míchání zajišťuje i odvádění metabolických produktů od buněk a požadovaný přestup tepla.

Pro dispergaci plyné fáze v kapalině i pro homogenizaci vsádky většinou konstruktéři volí turbínové míchadla, doporučovaná literaturou [1].

Při kultivaci vláknitých mikroorganismů (*Aspergillus niger*, *Trichoderma reesei*, *Streptomyces albogriseolus* a další) je nutno věnovat problému míchání značnou pozornost, někdy i za cenu obtížnějšího řešení kultivačního procesu. Otázku vhodnosti použití turbínového míchadla při kultivaci *Aspergillus niger* (výroba kyseliny citrónové submerzním způsobem) řešil např. Placek et al. [2]. Při studiu parametrů zvětšování objemu fermentoru zjistil rozdíl v morfologii vláken plísňe a usoudil, že je důsledkem přímého mechanického působení lopatek turbínového míchadla. Toto míchadlo působí na kultivovaný mikroorganismus

- přímým nárazem,
- smykovým napětím (turbulence),
- prudké změny tlaku (kavitace).

Karrer et al. [3] navrhl proto pro fermentor určený pro kultivaci vláknitého mikroorganismu *Beauveria tenella* vrtulové míchadlo, třebaže se na nevhodnost tohoto řešení poukazuje v literatuře, např. [1].

Porovnání turbínového, vrtulového míchadla, dále turbínového míchadla s křídlovými lopatkami a míchadla Ekato-Mig z hlediska účinnosti dispergace provedl Zlo-karník a Kipke [4, 5].

Z provedených zkoušek se jako nejlepší prokázalo míchadlo Ekato-Mig, nejmenší energetickou náročnost vykazovalo vrtulové míchadlo.

Studiem dispergace vsádky, zejména stavu zahlcení turbínového míchadla se též zabýval Roustan a Bruxel-mane [6]. Extrapolací odvodili vztahy pro výpočet optimálního pracovního režimu míchadla pro daný geometrický systém a zpracovávaný materiál.

Nevhodnost turbínového míchadla pro kultivaci vláknitých mikroorganismů byla zjištěna i v předcházejících pracích [7], kdy aktivita enzymu získaného kultivací *Streptomyces albogriseolus* v baňce na laboratorní třepačce byla zpravidla vyšší než enzymu vyprodukovaného za stejných podmínek (stejný inokulát a půda) na mechanicky míchaném a nuceně aerovaném fermentoru o kapacitě 50 l, opatřeném turbínovým míchadlem.

V tomto případě je baňka míchána jen pohybem třepačky a k aeraci vsádky baňky dochází pouze hladinou, frekvenci třepání je rovněž nutno volit tak, aby nedochá-

zelo ke smočení sterilní zátky a tím možné kontaminaci vsádky. Kyslík nutný pro život mikroorganismu difunduje zátkou. Mechanicky míchaný fermentor má naproti tomu „ideální“ podmínky pro aeraci vsádky, vzduch je mechanicky komprimován mimo vlastní fermentor, po sterilizaci je nuceně vhnán a rozptylován pomocí různých mechanicky působících dispergačních elementů.

K vyrovnání hodnoty aktivity enzymů získaných z baňky a fermentoru nedocházelo ani po různých úpravách vzdušnicích poměrů (VVM) a změnách frekvence otáčení turbínového míchadla.

Proto byla hledána možnost, jak zajistit velmi šetrné míchání při dostatečně účinném rozptylu přiváděného vzduchu.

Byl vyvinut princip axiálního pulsačního míchání; jde o systém míchání připomínající vibrační míchání, od kterého se však odlišuje řádově větší amplitudou (asi stovky mm) a poměrně nízkou frekvencí kmitů — zhruba 1 Herz. U vibračního míchání je frekvence 50–60 Hz, amplituda zdvihu do 10 mm. Pro fundovaný návrh fermentačního zařízení s axiálním pulsačním míchadlem bylo nutno aspoň v minimální míře zpracovat teorii tohoto typu míchání. Bylo využito poznatků z teorie rotačního míchání, na jejímž základě byla modifikována kritéria (Reynoldsovo a Eulerovo) a na míchací stanici s axiálním míchadlem byl sestaven jejich průběh [8].

Dále bylo vypracováno kritérium účinnosti axiálního pulsačního míchání [9] a provedeny homogenizační testy [10]. Souběžně bylo provedeno pomocí statické metody vyhodnocení účinnosti axiálního pulsačního míchání při dispergaci plynné fáze v kapalině [11].

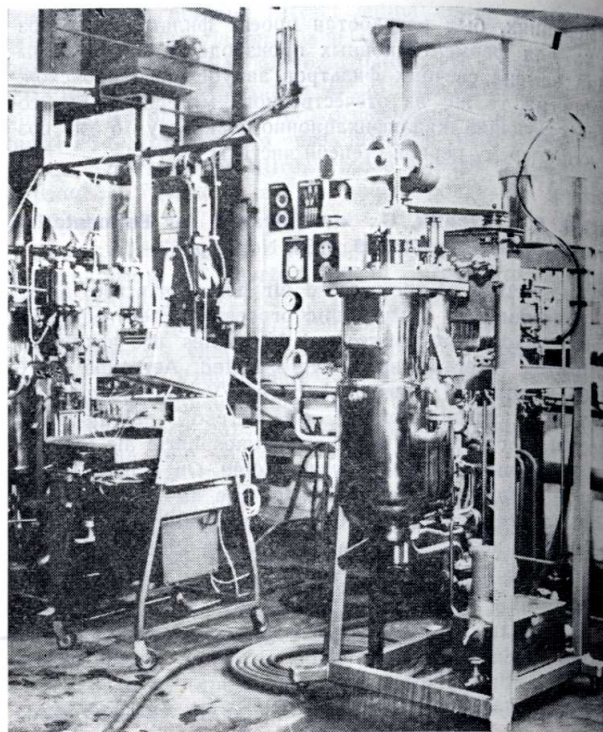
Na základě analýzy získaných výsledků byl zahájen vývoj fermentoru 50 dm³ s axiálním pulsačním míchadlem. Při jeho konstrukci a výrobě se použilo osvědčených strojních prvků z laboratorního fermentoru 50 dm³ s rotačním míchadlem, vyvinutým ve VÚPP v předcházejícím období [12, 13].

Fermentor s axiálním pulsačním míchadlem

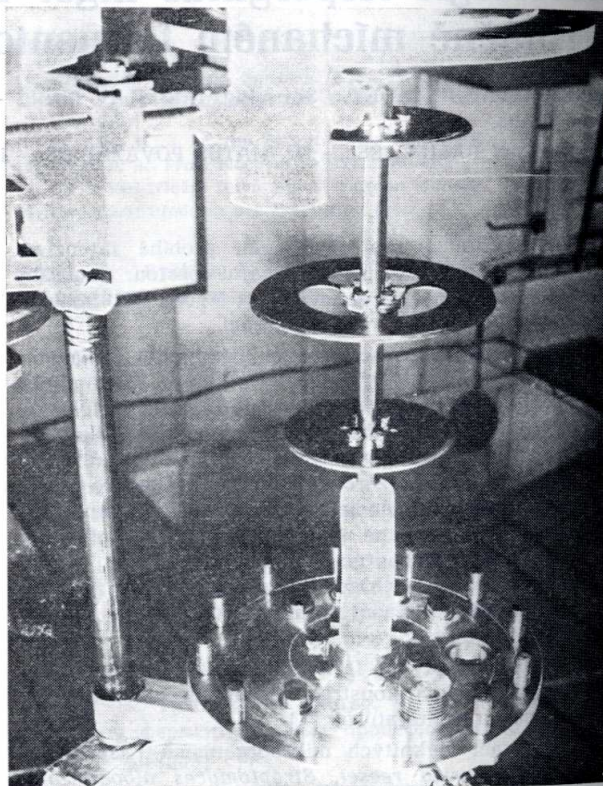
Zařízení se skládá z rámu, vyrobeného z obdélníkových trubek, na kterém je zavěšena vlastní nádoba, vyrobená z nerezavějící oceli (obr. 1). Nádoba je ve své spodní části opatřena duplikátorovým pláštěm, který slouží pro přívod temperační vody (režim kultivace) nebo redukované páry (režim nepřímé sterilizace vsádky). Pro odběr vzorků slouží sterilovatelná výpušť, umístěná na dně nádoby.

Na přírubě nádoby je umístěno mechanicky odklopné víko s otvory pro rychlouzávěr (plnicí otvor), mechanický separátor pěny a sondy teploty, pH a kyslíku. Středem víka prochází hřídel axiálního míchadla, těsněný vlnovcem (hřídel koná pouze svislý pohyb), takže odpadá nutnost instalace mechanické ucpávky a tím i možnost kontaminace vsádky chladicí kapalinou. Hřídel axiálního pulsačního míchadla slouží jako aerační potrubí — tato možnost u hřídele rotačního míchadla je obtížně realizovatelná. Na konci hřídele je přiváděn vzduch do vsádky distribuován zvláštním rozptylovačem — membránovým distributorem [14]. Homogenizaci a dispergaci vsádky zajišťují axiální míchadla, disky plného průřezu a s otvory ve střední části, připevněné střídavě na hřídeli tak, aby trajektorie vzduchových bublin ve vsádce byla co nejdelší. Tato míchadla a jejich uspořádání jsou patrna z obr. 2 a jejich konstrukce je chráněna autorským osvědčením [15].

Náhon míchadel zajišťuje jednofázový elektromotor s tyristorovou regulací frekvence otáčení. Pro transformaci rotačního pohybu na axiální byla použita kulisa. Parametry zařízení umožňují rozsah frekvence 0–2,5 Hz, amplitudu 50–120 mm.

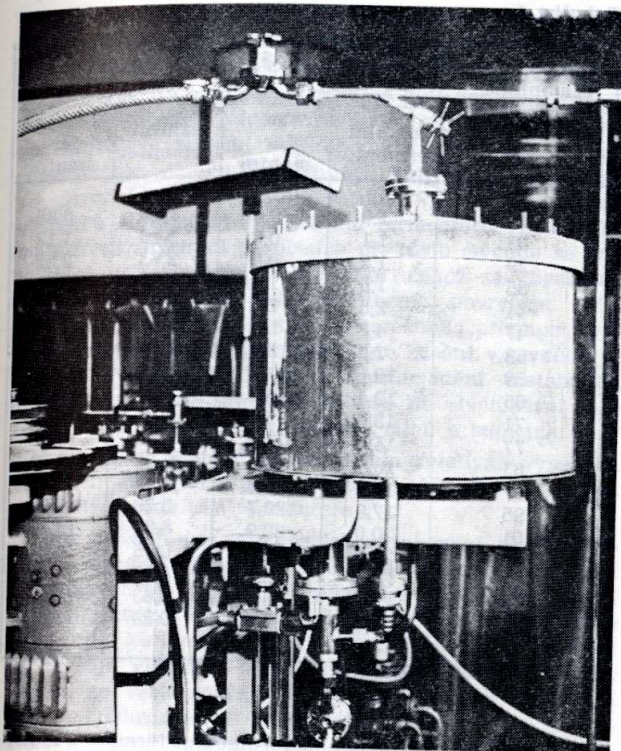


Obr. 1 Fermentor 50 dm³ s axiálním pulsačním míchadlem



Obr. 2. Axiální pulsační míchadla

Sterilní vzduch se připravuje ve filtru s tepelně sterilovatelnou kombinovanou náplní (skleněná vata + speciální filtrační papír) (obr. 3). Pro rozvod vzduchu, vody a páry byly vyvinuty zvláštní elektropneumatické třicestné ventily, které umožnily redukovat počet armatur ve



Obr. 3. Filtr na sterilaci vzduchu

srovnání s předcházejícím typem i snadnou obsluhou zařízení.

Soubor regulační a měřicí techniky zahrnoval přístroje pro měření teploty, pH, rozpuštěného O_2 i ve výstupním proudu (sonda z kysličníku zirkoničitého).

Před experimentální prací byl fermentor s axiálním pulsačním míchadlem obdobně jako předchozí typ elektrochemicky pasivován, aby se zamezilo negativnímu vlivu kovů na tvorbu kyseliny citrónové. Postup elektrochemické pasivace byl převzat z literatury [16].

Experimentální práce

Účelem experimentální práce bylo kromě ověření funkcí všech nových vyvinutých prvků hlavně porovnání vlivu střížných sil při použití rotačního a axiálního pulsačního míchadla. Proto se provedla souběžná kultivace na fermentoru s axiálním a rotačním míchadlem za dodržení shodných parametrů kultivace — oba fermentory mají shodný geometrický tvar, bylo použito stejné inkulum, vsádka a poměr vzdušnosti.

Jako vhodný mikroorganismus byl vybrán *Aspergillus niger* ze sbírky Výzkumného ústavu LIKO Bratislava, jehož pracovníci zajišťovali potřebné mikrobiologické rozbor, přípravu inkula i média.

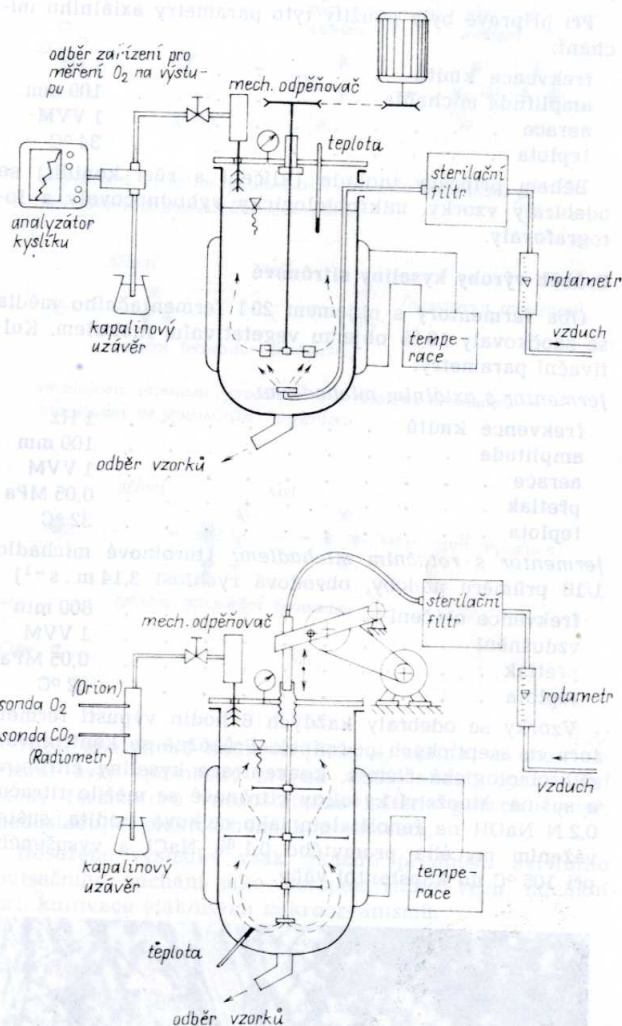
Schéma experimentální práce je patrné z obr. 4.

Metodika experimentální práce

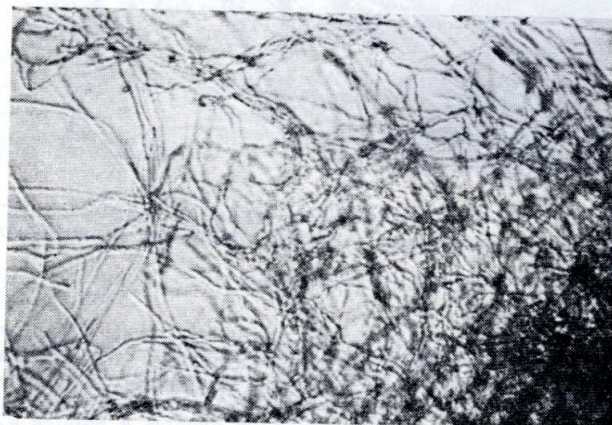
Ve fermentoru s axiálním pulsačním míchadlem se připravilo vegetativní inkulum pro oba fermentory. Po 48 hodinách kultivace se inkulum rozdělilo a oba fermentory se zaočkaly.

Vzorky se odebíraly každých 6 hodin, souběžně se vyhodnocovala koncentrace O_2 a CO_2 ve výstupním proudu. V odebraných vzorcích se hodnotila celková acidita a sušina. Mycelium se vyhodnocovalo mikroskopicky a jeho struktura se dokumentovala mikrofotograficky.

Při přípravě média se roztok technicky čisté glukosy dekationizoval na koloně silně kyselého katexu OSTION KS-2. Sterilizace vsádky (roztok glukosy, živných solí) se prováděla ve fermentačním zařízení ohřevem duplikátového pláště.



Obr. 4. Srovnávací kultivace na axiálně a rotačně míchaném fermentoru



Obr. 5. Struktura *Aspergillus niger* po 70 hodinách kultivace — fermentor s rotačním mícháním — zvětšeno 600krát

Příprava vegetativního inokula

Vegetativní inokulum bylo připravováno přidáním 20 ml konidiospor obsahujících 10^8 konidií/ml do sterilního média. Výsledná koncentrace vegetativního inokula byla 10^8 l^{-1} . Doba přípravy inokula byla 48 hodin.

Při přípravě byly použity tyto parametry axiálního míchání:

frekvence kmitů	1 Hz
amplituda míchadla	100 mm
aerace	1 VVM
teplota	34 °C

Během přípravy inokula (klíčení a růst konidií) se odebíraly vzorky, mikrobiologicky vyhodnocovaly a fotografovaly.

Průběh výroby kyseliny citrónové

Oba fermentory s objemem 20 l fermentačního média se zaočkovaly 10 % objemu vegetativním inokulem. Kultivační parametry:

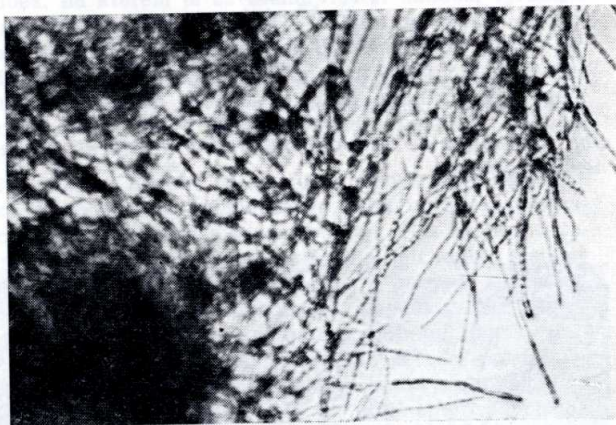
fermentor s axiálním míchadlem:

frekvence kmitů	1 Hz
amplituda	100 mm
aerace	1 VVM
přetlak	0,05 MPa
teplota	32 °C

fermentor s rotačním míchadlem: (turbínové míchadlo, 1/10 průměru nádoby, obvodová rychlost $3,14 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$)

frekvence otáčení	600 min^{-1}
vzdušnění	1 VVM
přetlak	0,05 MPa
teplota	32 °C

Vzorky se odebraly každých 6 hodin výpustí fermentoru za aseptických podmínek. Průběžně se kontrolovala mikrobiologická čistota, koncentrace kyseliny citrónové a sušina. Množství kyseliny citrónové se měřilo titračně 0,2 N NaOH na fenolftalein jako celková acidita, sušina vážením mycélia promytého 0,1 % NaCl a vysušeného při 105 °C do konstantní váhy.



Obr. 6. Struktura *Aspergillus niger* po 35. hodině kultivace — fermentor s axiálním mícháním — zvětšeno 600krát

V tabulce 1 je uveden průběh tvorby kyseliny citrónové a sušiny během kultivace *A. niger* na definovaném glukózovém médiu v axiálně míchaném fermentoru a v rotačním fermentoru. Pro použitý produkční kmen R-1 je dosažená výtěžnost nízká. Nízká produkce kyseliny citrónové byla v důsledku nedostatečné povrchové úpravy fermentorů zhotovených z uhlíkaté oceli matového provedení 17 246 s neleštěným po-

Tabulka 1

Hodina fermentace	Celková acidita [g KC/l]		Sušina [g/l]	
	axiální fermentor	rotační fermentor	axiální fermentor	rotační fermentor
17	1,0	0,8	1,90	0,80
23	1,1	0,8	2,10	1,12
29	1,2	0,9	2,73	2,32
35	1,5	1,2	3,00	4,16
41	2,5	2,4	4,71	5,90
47	4,7	5,5	5,16	6,55
53	7,7	8,6	6,32	6,75
59	10,1	11,8	6,47	7,58
65	12,4	14,2	6,57	8,04
71	13,0	15,5	7,21	10,32
77	15,9	17,9	7,35	11,56
83	16,4	18,8	7,82	12,00
87	17,5	20,6	7,95	13,90
95	17,9	20,7	8,20	15,50
101	20,0	20,9	8,82	16,3
107	20,2	23,7	9,35	15,6
113	20,3	24,6	10,90	14,2
119	21,1	24,8	9,83	14,1
125	21,0	25,0	9,24	13,9

vrchem. Při kultivaci kmenu v rotačním fermentoru, zhotovené z leštěné nerezavějící oceli, byla produkce kyseliny citrónové až 3krát vyšší. V tomto případě jde o rozpuštění stopových množství Fe, Mn, Ni, Mo, které mají negativní vliv na biochemickou aktivitu produkčního mycélia. Naproti tomu studium morfologie mycélia ukázalo rozdíly v jednotlivých systémech míchání. Ty se podrobně diskutují dále.

Významný rozdíl je v produkci biomasy. V rotačním fermentoru se vytvořilo v průběhu kultivace o 30 % biomasy více než v axiálně míchaném fermentoru. Je to tím, že v rotačně míchaném systému se vytvořila jiná morfologie mycélia a jiná struktura pelet. Z uvedených výsledků je zřejmé, že v axiálně míchaném fermentoru vytvořená biomasa měla vyšší biochemickou aktivitu pro syntézu kyseliny citrónové než biomasa vytvořená v rotačně míchaném fermentoru (více vytvořené kyseliny citrónové na jednotku biomasy).

Porovnání morfologie a dynamiky růstu *Aspergillus niger* v rotačně míchaném fermentoru a axiálně míchaném fermentoru**Makroskopický vzhled****Rotační fermentor:**

Mycélium rostlo počínaje 24. hodinou kultivace v peletách. Velikost pelet byla 0,4–1,2 mm, ojediněle byla větší ke konci fermentace. Pelety měly hladký povrch, byly kompaktní, plné, silně absorbovaly světlo.

Axiální fermentor

Mycélium rostlo prvých 40 hodin téměř difúzně. Po 41. hodině se začaly tvořit větší shluky, u kterých značná část mycélia rostla dále difúzně. Pelety měly průměr 1,5–4 mm, byly málo kompaktní, měly difúzní povrch. Jejich pevnost byla malá.

Mikroskopický obraz**Rotační fermentor**

Počínaje 30. hodinou kultivace se mycélium začalo na koncích silně větvit. Jednotlivé větve dorůstaly v hyfy, které se na koncích zužovaly a končily tenkou špičkou. V 70. hodině kultivace tvořily hyfy hrubá vlákna s množstvím světlolomných částic v cytoplasmě (obr. 5).

Axiální fermentor:

Mycélium rostlo prvních 35 hodin pravidelně. Silnější větvení bylo pozorováno po 35. hodině kultivace. Jednotlivé větve dorůstaly v téměř pravidelné hyfy jen nepatrně se ke konci zužující. Nejprve rostlo mycélium málo větvené, hrubé, se silnými světlolomnými částicemi v cytoplazmě (obr. 6). Po 70 hodinách kultivace jsou vlákna ve srovnání s obr. 5 hustá a dlouhá. Na základě analýzy výsledků lze říci, že v axiálním fermentoru v důsledku malých střížných sil působících při růstu mycélia se tvoří málo větrané hyfy, v důsledku čehož se mycélium agreguje do volných pelet s difúzním povrchem. Diferenciace mycélia v důsledku dostatečného přístupu živin a odsunu metabolitů je malá. Silné zrnění v mycéliu je důsledek vyčerpání živin a nahromadění metabolitů, v důsledku čehož přechází kultura do stacionární fáze růstu, vyznačující se hromaděním látek v buňkách.

V rotačním fermentoru se vlivem relativně vysokých střížných sil větví mycélium asi o 10 hodin dříve než u mycélia v axiálním fermentoru.

Toto větvení má za následek shlukování mycélia do pelet kompaktní struktury s relativně silnou diferenciací jednotlivých hyf v peletě. V důsledku silového namáhání povrchových hyf v peletě rostou hyfy jako krátké, silně se zužující ke konci. Při větší koncentraci mycélia, když se zvyšuje viskozita média, je účinek těchto sil nižší. Začíná se však značně projevovat důsledek vyčerpání živin a nahromadění metabolitů, majících vliv na fyziologii kmenů a též na jejich morfologii.

Hodnocení míchaných systémů při kultivaci *Aspergillus niger*

Při technologii submerzní výroby kyseliny citrónové produkční fermentor inokuluje zpravidla 3–5 % objemem vegetativního inokula. Vegetativní inokulum musí splňovat nároky na mikrobiologickou čistotu a vysokou biochemickou aktivitu mycélia.

Pro tento účel je zvláště vhodný, jak vyplývá z výsledků, axiální systém míchání.

V axiálním fermentoru se vytvoří mycélium rostoucí z části difúzně, z části ve formě velkých pelet nízké hustoty s difúzním povrchem.

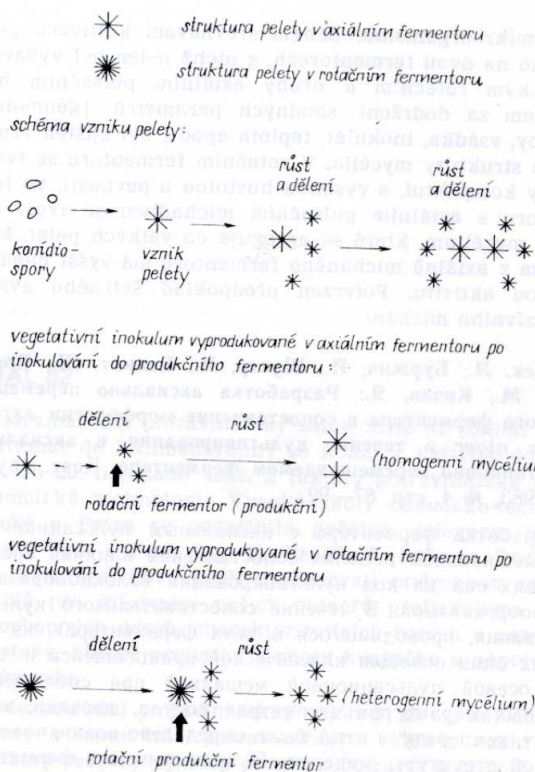
Jakmile zaočkujeme toto mycélium do rotačního (produkčního) fermentoru, nastane důsledkem vysokých střížných sil dezintegrace těchto pelet na homogenní pelety malého průměru, které jsou zárodky pro vytvoření produkčních pelet. Tím se dosáhne rychlý nárůst biomasy v první fázi fermentačního procesu s mycéliem homogenní struktury. Tento jev lze znázornit schematicky (obr. 7).

Diskuse

Byla provedena úvodní srovnávací kultivace *Aspergillus niger* na dosavadním fermentoru s rotačním míchadlem a nově vyvinutým fermentorem s axiálním pulsačním míchadlem.

Zjítlo se, že v geometricky stejných nádobách s rozdílným systémem míchání vznikají různé struktury produkčního mycélia. Ve fermentoru axiálně míchaném se tvoří difúzní mycélium, které agreguje do velkých pelet malé hustoty s nízkou pevností. V rotačním fermentoru se tvoří pelety kompaktní, s vysokou hustotou a pevností, přičemž mycélium v axiálním fermentoru má vyšší biochemickou aktivitu pro syntézu kyseliny citrónové. Tento výsledek byl dosažen díky nízkým střížným silám axiálně míchaného systému.

Ukázalo se, že tyto výsledky je možno využít při konstrukci inokulačního fermentoru při výrobě kyseliny citrónové submerzním fermentačním postupem.



Obr. 7

Nižší analytické hodnoty (acidita, sušina) u obou zařízení byly způsobeny zřejmě nižší jakostí opracování stěny fermentoru (nedostatečně leštěný povrch), popř. nedostačující elektrochemickou pasivací.

Dosažené výsledky však ukazují přednosti axiálního pulsačního míchání jako perspektivního typu míchání pro kultivace vláknitých mikroorganismů.

Literatura

- [1] STREK, F.: Míchání a m'chací zařízení. Praha SNTL 1977
- [2] PLACEK, J. a kol.: Přednáška CHISA '81 Praha 1981
- [3] KARRER, D. a kol.: Přednáška, 5th Internat. Ferm. Symp. Z. Berlin 1976
- [4] ZLOKARNIK, M.: Ruehrtechnik, Weinheim, Verlag Chemie 72
- [5] KIPKE, K.: Přednáška na konferenci VDI-GVC
- [6] ROUSTAN, BRUXELLMANN: Závěrečná zpráva VÚPP OPI 1980
- [7] CHLÁDEK, L. a kol.: Fermentor 50 dm³
- [8] GRÉE, R., CHLÁDEK, L., ŠUSTR, J., ŽITNÝ, R.: Kvas. prům. 115
- [9] CHLÁDEK, L., ŽITNÝ, R.: Prům. potr., 29, 1978, č. 7, s. 395.
- [10] CHLÁDEK L. a kol.: Ověřovací provoz fermentoru 50 l. Závěrečná zpráva VÚPP OPI 1979
- [11] CHLÁDEK, L.: Lebensmittelindustrie 27, 1980, č. 7, s. 301
- [12] ČERMÁK, V. a kol.: Fermentor 50 l, Závěrečná zpráva VÚPP OPI Praha 1977
- [13] ČERMÁK, V., CHLÁDEK, L.: Ověřovací provoz fermentoru 50 l, Závěrečná zpráva VÚPP OPI 1978
- [14] Membránový distributor. PV 2974-80
- [15] Zařízení pro míchání kapalin v nádobě s pohyblivými míchadly AO 207925
- [16] ROEHR M. et al.: Biotechnology Bioengineering Vol. XXIII, s. 2433

Chládek L. - Buřič J. - Šustr J. - Bálint Š. - Považa M. - Kučan J.: Vývoj axiálně míchaného fermentoru a porovnání morfologie *Aspergillus niger* během kultivace v axiálně a rotačně míchaném fermentoru. Kvas. prům., 29, 1983, č. 4, s. 87–92.

Vývoj fermentoru s axiálním pulsačním mícháním pro srovnání vlivu střížných sil na průběh kultivace vláknitých

tých mikroorganismů. Během srovnávací kultivace prováděné na dvou fermentorech, z nichž jeden byl vybaven klasickým rotačním a druhý axiálním pulsačním míchadlem za dodržení shodných parametrů (geometrie nádoby, vsádka, inokulát, teplota apod.) byl zjištěn vznik různé struktury mycélia. V rotačním fermentoru se tvoří pelety kompaktní, s vysokou hustotou a pevností, ve fermentoru s axiálním pulsačním míchadlem se tvoří difúzní mycélium, které se agreguje do velkých pelet. Mycélium z axiálně míchaného fermentoru má vyšší biochemickou aktivitu. Potvrzen předpoklad šetrného avšak intenzivního míchání.

Хладек, Л., Буржич, И., Шустр, И., Балинт, Ш., Поважай, М., Кочан, Я.: Разработка аксиально перемешиваемого ферментера и сопоставление морфологии *Aspergillus niger* в течение культивирования в аксиально и ротационно перемешиваемом ферментере. Квас. прум., 29, 1983, № 4, стр. 87—92.

Разработка ферментера с аксиальным пульсационным перемешиванием в целях сопоставления влияния срезающих сил на ход культивирования волокнообразных микроорганизмов. В течение сопоставительного культивирования, проводящегося в двух ферментерах, из которых один оснащен классической вращающейся и другой осевой пульсационной мешалкой при соблюдении сходных параметров (геометрия сосуда, насадка, инокулят, температура итп.) было определено возникновение разной структуры мицелия. В вращающемся ферментере образуются компактные пелеты, высокой плотности и прочности, в ферментере с осевой пульсационной мешалкой образуется диффузионный мицелий, собирающийся в большие пелеты. Мицелий из последнего типа ферментера отличается высшей биохимической активностью. Подтвердилась предпосылка о бережном однако интенсивном перемешивании.

Chládek, L. - Buřič, J. - Šustr, J. - Bálint, Š. - Považaj, M. - Kočan, J.: Development of Fermenter with Axial Mixing and Comparison of Morphology of *Aspergillus niger* During Cultivation in Fermenters with Axial and Rotation Impellers. Kvas. prům., 29, 1983, No. 4, p. 87—92.

A Development of the fermenter with a pulsed axial mixing is described. To evaluate the effect of shear stress on growth characteristics of filamentous microorganism in batch culture parallel cultivations were carried out. First cultivation was carried out in a fermenter equipped with a rotation impeller, while in the second one culture the new axial pulsed mixing was used. Both the fermenters had the same parameters (geometry of the vessel, medium, inoculum, temperature etc.). The results showed that a structure of the mycelium obtained in these two fermenters was different. In a fermenter with the rotation impeller, compact pellets with a high density and rigidity were observed. In a fermenter with the axial pulsed mixing, the diffusion mycelium aggregating into large pellets were found. The mycelium from the fermenter with an axial mixing had a higher biochemical activity. These findings confirm an assumption of the intensive but thrifty mixing which occurs using the axial mixing.

Chládek, L. - Buřič, J. - Šustr, J. - Bálint, Š. - Považaj, M. - Kočan, J.: Entwicklung eines Fermentors mit Axialmischung und Vergleich der Morphologie bei *Aspergillus niger* während der Kultivation im Fermentor mit Axial- und Rotationsmischung. Kvas. prům. 29, 1983, Nr. 4, S. 87—92.

Es wurde ein Fermentor mit einem Axialpulsationsrühren für den Vergleich des Einflusses der Scherkraft auf den Verlauf der Kultivation faseriger Mikroorganismen entwickelt. Im Verlauf der Vergleichskultivation in zwei Fermentoren, von denen der eine mit dem klassischen Rotationsrühren ausgestattet war und der zweite mit einem Axialpulsationsrührer bei Einhaltung identischer Parameter (Geometrie des Gefäßes, Eingabe, Inokulat, Temperatur), wurde die Bildung unterschiedlicher Myzeliumstrukturen festgestellt. In dem Rotationsfermentor entstehen kompakte Pellets mit hoher Dichte und Festigkeit, in dem Fermentor mit Axialpulsationsrührer bildet sich ein diffuses Myzelium, das sich in große Pellets aggregiert. Das Myzelium aus dem axial gemischten Fermentor hat eine höhere biochemische Aktivität. Es wurde die Voraussetzung des sparsamen, aber intensiven Rührens bestätigt.