

Vliv mezistupňového promíchávání na růst a metabolickou aktivitu kvasinek ve vícestupňových kultivačních systémech

663.13
663.14.033.2

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

Klíčová slova: kvasinky, kultivace kvasinek, zvýšení růstu, fermentor mezistupňové promíchávání ethanol, inhibiční účinek, snížení

Úvod

Výhody vícestupňových kultivačních systémů ve srovnání se systémem jednostupňovým prokázaly předchozí práce [1–3]. Kromě možnosti eliminace substrátové inhibice [4, 5] a eliminace limitace dodávky kyslíku [6–9] byl prokázán i pozitivní účinek mezistupňového promíchávání ve věžovém vícestupňovém fermentoru [10, 11].

Cílem této práce bylo zjistit vliv mezistupňového promíchávání na chování populace kvasinek *Candida utilis* v závislosti na koncentraci ethanolu v médiu v ustálených stavech kontinuálních kultivací.

Materiály a metody

Při experimentech bylo použito kvasinky *Candida utilis* č. 136 ze sbírky mikroorganismů Katedry kvasné chemie a bioinženýrství VŠCHT v Praze.

Složení kultivačního média a příprava inokula byly popsány v předchozí práci [1]. Kultivace byly prováděny jednak ve věžovém vícestupňovém fermentoru [12] a jednak v kaskádě tří fermentorů v sériovém zapojení [3]. Fermentory zapojené v kaskádě byly geometricky podobné jednotlivým stupňům věžového vícestupňového fermentoru.

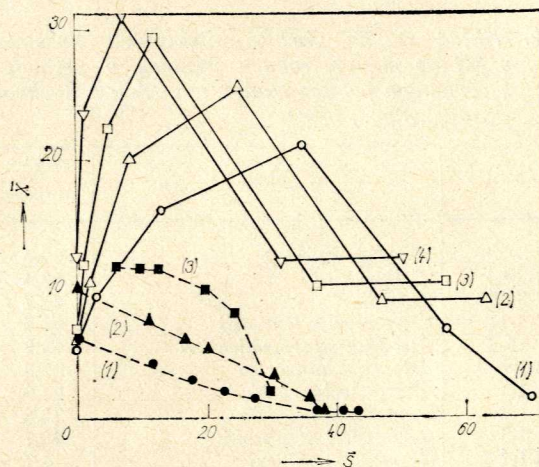
Kultivace probíhaly za těchto podmínek: zředovací rychlost vztažená na jeden stupeň $0,3 \text{ h}^{-1}$, pH 4,5, teplota 30°C a rychlostech přenosu kyslíku uvedených dříve [1]. Jediným zdrojem uhlíku a energie byl syntetický ethanol. Měření byla prováděna v ustálených stavech kontinuálních kultivací v jednohodinových intervalech. Výsledky v obrázcích jsou průměrnými hodnotami šesti stanovení.

Koncentrace sušiny biomasy byla stanovena gravimetricky [1]. Ethanol byl stanoven metodou plynové chromatografie [13]. Metabolická aktivita byla hodnocena na základě spotřeby O_2 a tvorby CO_2 postupem popsaným dříve [1].

Výsledky a diskuse

Pro posouzení vlivu mezistupňového promíchávání na růstovou a metabolickou charakteristiku buněk *Candida utilis* bylo nutné vzájemně porovnat výsledky získané v systému s definovaným zpětným tokem s výsledky ze sériového zapojení kaskády fermentorů, kde hodnota zpětného toku byla nulová. Koeficient zpětného toku definovaný poměrem zpětného toku perforovanou přepážkou k objemovému přítoku živného média do fermentoru činil v případě věžového fermentoru asi 0,05 (určeno pro

systém voda-vzduch) [14]. Navíc bylo třeba zachovat u obou systémů geometrickou podobnost, stejnou hodnotu zředovací rychlosti vztaženou na jeden stupeň a stejné rychlosti přenosu kyslíku v jednotlivých stupních. Věžový fermentor byl čtyřstupňový, zatímco kaskáda obsahovala pouze 3 členy (čtvrtý fermentor nebyl k dispozici). Výsledky jsou vyneseny v závislosti na koncentraci ethanolu v médiu, což dovoluje provést porovnání chování buněčné populace i ve vztahu k inhibičním účinkům vyšších koncentrací ethanolu.



Obr. 1. Koncentrace biomasy v jednotlivých stupních věžového fermentoru (prázdné symboly) a kaskády fermentorů (plně symboly) jako funkce koncentrace ethanolu v médiu.

(1) ... 1. stupeň, (2) ... 2. stupeň, (3) ... 3. stupeň, (4) ... 4. stupeň

Na obr. 1 jsou uvedeny změny koncentrace biomasy v obou systémech. Ve věžovém fermentoru vzrůstají v oblasti nízkých koncentrací ethanolu hodnoty sušiny biomasy ve všech stupních bez ohledu na růst koncentrace ethanolu v médiu. To je důkazem, že v tomto systému jsou buňky schopny využívat přítomný ethanol jako zdroj uhlíku a energie i ve vyšších koncentracích. Při překročení určité koncentrace ethanolu, pro každý stupeň odlišné, docházelo s dalším růstem jeho koncentrace již k inhibici růstu, což se projevilo poklesem koncentrace biomasy při konstantní hodnotě zředovací rychlosti. Ve vyšších stupních (2. až 4. stupeň) však citlivost růstové rychlosti na koncentraci ethanolu v médiu byla re-

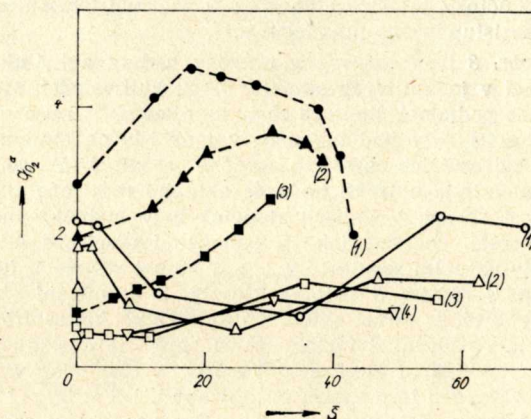
lativně malá, což dokazují konstantní hodnoty biomasy zjištěné pro určitý interval koncentrací.

V kaskádě fermentorů v 1. a 2. stupni docházelo ihned s růstem koncentrace ethanolu v médiu k inhibici růstu. Ve 3. stupni, zřejmě v důsledku adaptace buněk na přítomnost ethanolu, byly koncentrace biomasy konstantní, až do hodnoty $\bar{S} = 12 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$. S dalším růstem koncentrace ethanolu naopak ve srovnání s nižšími stupni nejrychleji klesala koncentrace biomasy ve 3. stupni.

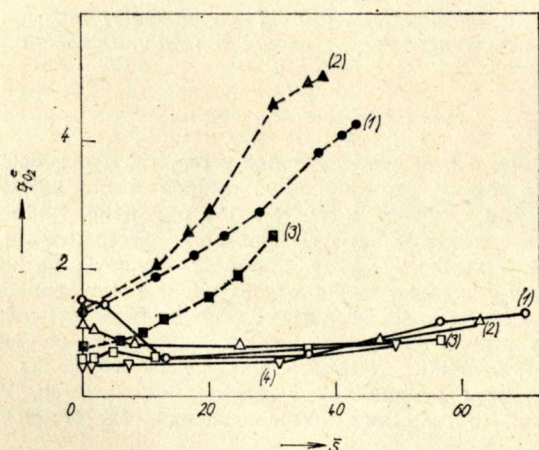
Specifická růstová rychlost buněčné populace je determinována dvěma faktory. Prvním je schopnost utilizace ethanolu buňkami a druhým je schopnost využití uvolněné volné energie k růstu buněk. Přibližným měřítkem obou zmíněných faktorů je specifická rychlost spotřeby ethanolu buňkami v jednotlivých stupních obou kultivačních systémů. Výsledky ukázaly, že za podmínek dosažení maximální hodnoty specifické růstové rychlosti se hodnoty rychlosti spotřeby ethanolu buňkami pohybují v rozsahu $q_s = 0,55$ až $0,8 \text{ g etOH} \cdot \text{g}^{-1} \text{suš} \cdot \text{h}^{-1}$ v obou použitých typech zařízení. S nástupem inhibice ethanolem vzrůstá hodnota rychlosti q_s . Zde se však již projevila vliv mezistupňového promíchávání, neboť v 1. stupni věžového fermentoru stoupla hodnota q_s asi na $8 \text{ g etOH} \cdot \text{g}^{-1} \text{suš} \cdot \text{h}^{-1}$ (tj. o 1 řád), avšak ve 2.—4. stupni zůstala na hodnotě asi $1,0$ – $1,2 \text{ g etOH} \cdot \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$. V kaskádě fermentorů byl vzrůst ve všech 3 stupních ještě vyšší než v 1. stupni věžového fermentoru. Z těchto výsledků je patrné, že výrazný vzrůst specifické rychlosti disimilace ethanolu při vyšších (inhibičních) koncentracích je způsoben snahou buněk snížit toxickou hladinu ethanolu a tím umožnit přežití buněk. Toto chování je však podmíněno přebytkem kyslíku v médiu.

Celkově podstatně vyšší dosažené hodnoty biomasy ve všech stupních věžového fermentoru ve srovnání s kaskádou fermentorů jsou dostatečným důkazem pozitivního

Druhá část práce byla zaměřena na sledování změn fyziologické aktivity populace v jednotlivých stupních obou kultivačních systémů. Obrázek 2 ukazuje průběhy endogenních respirací buněčné populace. Ve věžovém fermentoru hodnoty q_{eO_2} v 1. a 2. stupni s růstem koncentrace ethanolu v médiu asi do $12 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ klesaly. Ze vzrůstu koncentrace biomasy na obr. 1 je zřejmé, že buňky za těchto podmínek ethanol účinně využívaly jako zdroj uhlíku a energie k růstu (těsné sprášení katabolismu s růstem). Toto tvrzení podporuje i skutečnost, že počátek inhibičního působení ethanolu na specifickou růstovou rychlost odpovídá i počátku vzrůstu endogenní respirace buněčné populace (při stejné hodnotě S , kvantitativně odlišné v jednotlivých stupních fermentorů).



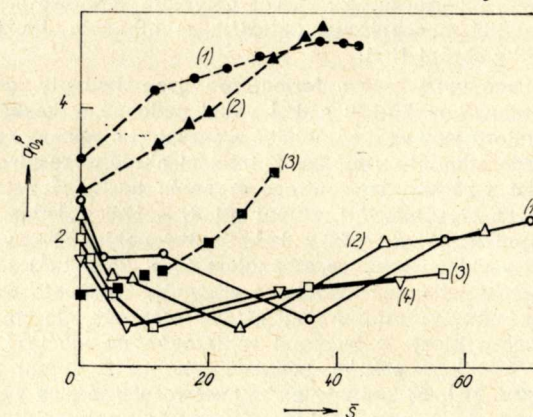
Obr. 3. Aktuální respirace v jednotlivých stupních věžového fermentoru (prázdné symboly) a kaskády fermentorů (plné symboly) jako funkce koncentrace ethanolu v médiu. Označení viz obr. 1



Obr. 2. Endogenní respirace v jednotlivých stupních věžového fermentoru (prázdné symboly) a kaskády fermentorů (plné symboly) jako funkce koncentrace ethanolu v médiu. Označení viz obr. 1.

účinku mezistupňového promíchávání, které v důsledku částečné trvalé reinokulace adaptovanými buňkami dovoluje zpracovat vyšší koncentrace inhibičního substrátu a tím dosáhnout vyšších koncentrací biomasy ve výstupu ze zařízení.

* **Poznámka redakce:** Z technických důvodů je dále v textu místo \bar{S} vysazeno S .



Obr. 4. Potenciální respirace v jednotlivých stupních věžového fermentoru (prázdné symboly) a kaskády fermentorů (plné symboly) jako funkce koncentrace ethanolu v médiu. Označení viz obr. 1.

V kaskádě fermentorů bez mezistupňového promíchávání, kde v 1. a 2. stupni s růstem koncentrace ethanolu ihned klesá koncentrace biomasy, také výrazně vzrůstají hodnoty q_{eO_2} . Navíc v tomto systému vzrůstají ihned od nízkých koncentrací ethanolu i hodnoty q_{eO_2} ve 3. stupni, přestože $X_3 \sim \text{konst.}$ až do $S \sim 12 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$. Je však třeba upozornit že při $S = 12 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ je hodnota q_{eO_2} ve 3. stupni stále menší, než jsou hodnoty endogenní respirace v 1. a 2. stupni za podmínek limitace růstu ethanolem. V rozsahu koncentrace ethanolu do $12 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ jsou hodnoty q_{eO_2} v 1. a 2. stupni prakticky shodné a zhruba o 40 %

vyšší než hodnoty ve 3. stupni. Je to způsobeno tím, že následkem adaptace buněk na ethanol, ovlivněné dobou zdržení buněk v systému, je pro $S \leq 12 \text{ g.l}^{-1}$ růstu buněčné populace ve 3. stupni neinhibován [obr. 1]. Při vyšších koncentracích ethanolu vzrůstá rychleji hodnota endogenní respirace ve 2. stupni ve srovnání s 1. stupněm, což vyplývá ze vzájemného vztahu inhibice růstu buněk nejen ethanolom, ale i hromaděním acetátu, což bylo prokázáno v předchozí práci [5].

Celkově výrazně vyšší hodnoty endogenní respirace ve všech stupních kaskády ve srovnání s věžovým více- a mezistupňovým fermentorem jsou významným dokladem nejen odlišného fyziologického stavu populace v těchto dvou kultivačních systémech, ale i dokladem značně intenzivnějšího účinku inhibice ethanolom v kaskádě fermentorů (bez mezistupňového promíchávání).

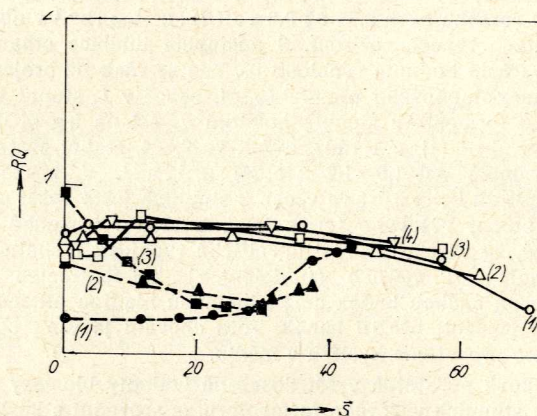
Na obr. 3 jsou porovnány průběhy hodnot aktuálních respirací v jednotlivých stupních obou kultivačních systémů. Za podmínek limitace růstu zdrojem uhlíku a energie ($S = 0$) byly hodnoty q^{aO_2} v jednotlivých stupních obou kultivačních systémů značně rozdílné. V obou systémech byla nejvyšší hodnota aktuální respirace zjištěna v 1. stupni. V dalších stupních byly hodnoty podstatně nižší. Podobně jako u endogenní respirace také hodnoty aktuální respirace v 1. a 2. stupni věžového fermentoru s růstem S nejprve klesaly. Z porovnání obr. 1–3 vyplývá, že vzrůst aktuální respirace při koncentraci ethanolu vyvolávající inhibici růstu buněk je důsledkem vzrůstu endogenní respirace. Výrazný vzrůst q^{aO_2} v 1. stupni věžového fermentoru pozorovaný při $S > 35 \text{ g.l}^{-1}$ je důsledkem zvýšení spotřeby kyslíku na oxidaci ethanolu na acetát, který souvisí se zvýšenou aktivitou alkoholdehydrogenasy (EC 1.1.1.1) a aldehyddehydrogenasy (EC 1.2.1.3). Toto zjištění je v dobré shodě s výsledky jiných autorů [15–19]. Za těchto podmínek jsou hodnoty aktuální respirace dokonce vyšší než hodnoty potenciální respirace (obr. 4), což potvrzuje hypotézu předpokládající mechanismus detoxifikace ethanolu, kterým se buňky chrání [20].

Zatímco ve věžovém fermentoru jsou hodnoty q^{aO_2} v rozsahu $S = 10–50 \text{ g.l}^{-1}$ velmi podobné, v kaskádě fermentorů jsou značně odlišné a vzrůstají s růstem koncentrace ethanolu v médiu. K inhibici aktuální respirace dochází s růstem koncentrace ethanolu postupně v jednotlivých stupních. V 1. stupni při $S_1 \sim 17,5 \text{ g.l}^{-1}$ a ve 2. stupni až při $S_2 \sim 30 \text{ g.l}^{-1}$. Prudký pokles q^{aO_2} v 1. stupni v oblasti inhibice ethanolom ($S > 35 \text{ g.l}^{-1}$) souvisí s inhibicí úplné disimilace ethanolu. Za těchto podmínek buňky výrazně zvyšují oxidaci ethanolu, ale pouze na acetát, který je buňkami sekretován do média [10, 11]. Výsledkem pak je, podobně jako ve 2. stupni při $S > 30 \text{ g.l}^{-1}$, že hodnoty endogenní respirace jsou vyšší než hodnoty respirace aktuální, tzn. že buňky aktivují a využívají své zásobní látky, aby získanou energii využily k přežívání při inhibičním působení ethanolu.

Na obr. 4 jsou uvedeny průběhy potenciální respirace v jednotlivých stupních obou kultivačních systémů. Hodnoty potenciální respirace charakterizují maximální kapacitu buněk z hlediska spotřeby kyslíku. Ve věžovém fermentoru hodnoty potenciální respirace ve všech stupních klesají s růstem S podobně jako v případě aktuálních respirací. Příčinou tohoto poklesu je zřejmě pokles endogenní respirace (obr. 2). Pokles q^{pO_2} je větší ve vyšších stupních věžového fermentoru. Důvodem je těsné sprážením růstu s katabolismem, plynoucím z adaptace buněk na vyšší koncentrace ethanolu, výrazně zesílená mezistupňovým promícháváním. Při koncentracích ethanolu odpovídajících v jednotlivých stupních hodnotám, kdy nastává pokles specifické růstové rychlosti (obr. 1) vzrůstají také hodnoty potenciální respirace.

V prvních dvou stupních kaskády fermentorů byly zjiš-

těny hodnoty potenciální respirace značně vyšší než ve 3. stupni kaskády, resp. i než hodnoty zjištěné ve věžovém fermentoru. Hodnoty q^{pO_2} vzrůstaly ihned od nejnižších koncentrací ethanolu. Ze srovnání hodnot potenciálních a aktuálních respirací (obr. 3 a 4) je patrné, že v 1. a 2. stupni kaskády fermentorů nedošlo při vyšších koncentracích ethanolu v médiu k poklesu pozorovanému u hodnot aktuálních respirací. Znamená to, že odstraněním inhibičních koncentrací ethanolu, resp. acetátu (q^{pO_2} měřena při nízkých koncentracích ethanolu) jsou buňky ihned schopny zvýšit rychlost spotřeby kyslíku a tedy i zvýšit rychlost oxidace ethanolu. Naopak ve věžovém fermentoru se eliminace inhibičního účinku ethanolu na buněčnou respiraci projevila při $S > 35 \text{ g.l}^{-1}$ také, avšak podstatně méně výrazně. Je to pravděpodobně způsobeno větší adaptací buněk na vyšší koncentrace ethanolu v důsledku mezistupňového promíchávání.



Obr. 5. Změny respiračního kvocientu v jednotlivých stupních věžového fermentoru (prázdné symboly) a kaskády fermentorů (plně symboly) jako funkce koncentrace ethanolu v médiu. Označení viz obr. 1.

Na obr. 5 jsou uvedeny hodnoty respiračního kvocientu vypočtené pro jednotlivé stupně obou zařízení z aktuální respirace a tvorby oxidu uhličitého. Hodnoty RQ charakterizují aktivitu buněčného metabolismu [21 až 23]. Výsledky prokazují, že hodnoty RQ závisí na koncentraci ethanolu v médiu a fyziologickém stavu buněčné populace. Metabolická aktivita buněk není ovlivněna pouze kultivačními podmínkami v jednotlivých stupních obou kultivačních systémů, ale také „historií“ buněk, tj. kultivačními podmínkami v předchozích stupních. Významnou roli zde hraje faktor mezistupňového promíchávání.

V kaskádě fermentorů bez mezistupňového promíchávání pohybují se hodnoty RQ v 1. stupni okolo 0,2 za podmínek vyčerpání ethanolu nebo jeho nízkých koncentrací v médiu. Nízká hodnota RQ ukazuje, že ethanol je disimilován v procesu aerobní respirace a uvolněná energie je účinně využívána k růstu. Vyšší hodnoty RQ ve 2. a 3. stupni vyplývají z utilizace rezervních polysacharidů v nepřítomnosti ethanolu v médiu. Podobné výsledky zjistili v jednorázových kultivacích i Krajovan *et al.* [24]. S růstem koncentrace ethanolu ve vyšších stupních kaskády fermentorů klesají postupně hodnoty RQ až do dosažení koncentrace, při které nastává inhibice ethanolom (asi 32 g.l^{-1}) [25]. Tento pokles RQ vyplývá z růstu endogenní respirace (obr. 2) a byl zmíněn již Nyírím *et al.* [26]. Naopak při překročení kritické koncentrace ethanolu v 1. stupni (inhibiční účinek) vzrůstá hodnota RQ. Toto chování souvisí také s růstem

koncentrace acetátu v médiu [3], který inhibuje respiraci [27, 28].

Ve věžovém fermentoru byly hodnoty RQ v jednotlivých stupních vyrovnanější. Lze to zdůvodnit menší fyziologickou odlišností plynoucí z určitého mezistupňového promíchávání. Celkově vyšší hodnoty RQ v rozsahu 0,7 až 0,8 ve srovnání s kaskádou fermentorů plynou z celkově nižších hodnot rychlostí spotřeby kyslíku buňkami v tomto systému (obr. 3). Postupný pokles hodnoty RQ při vysokých koncentracích ethanolu potvrzuje předpoklad [29, 30], že za těchto podmínek je více ethanolu disimilováno glyoxalátovým cyklem na úkor citrátového cyklu a více uhlíku je dodáváno do anabolismu [30].

V souhlasu s předchozími pracemi [10, 11] prokázaly i výsledky této studie, že ve věžovém vícestupňovém systému s mezistupňovým promícháváním se dosáhne podstatně vyšších koncentrací biomasy při současně vyšších hodnotách respiračního kvocientu. Lze tedy říci, že hodnoty RQ jsou dostatečným důkazem výrazně odlišného fyziologického stavu populace kvasinek vyvolaného mezistupňovým promícháváním.

Použité symboly

q^{aO_2}	aktuální respirace [$\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]
q^{eO_2}	endogenní respirace [$\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]
q^{pO_2}	potenciální respirace [$\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]
q_s	specifická rychlost spotřeby ethanolu [$\text{g}_{\text{EtOH}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{suš}} \cdot \text{h}^{-1}$]
RQ	respirační kvocient [—]
S	koncentrace ethanolu v médiu v ustáleném stavu [$\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$]
X	koncentrace sušiny buněk v ustáleném stavu [$\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$]

Literatura

- [1] PÁČA, J., GRÉGR, V.: Biotechnol. Bioeng. **19**, 1977, s. 539
- [2] PÁČA, J., GRÉGR, V.: J. Ferment. technol. **57**, 1979, s. 227
- [3] PÁČA, J., GRÉGR, V.: Enzyme Microb. Technol. **1**, 1979, s. 103
- [4] PÁČA, J.: J. Chem. Biotechnol. **30**, 1980, s. 784
- [5] PÁČA, J.: Enzyme Microb. Technol. **3**, 1981, s. 123
- [6] PÁČA, J., GRÉGR, V.: Biotechnol. Bioeng. **21**, 1979, s. 1827
- [7] PÁČA, J.: Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. **9**, 1980, s. 93
- [8] PÁČA, J.: Prov. Biochem. **16** (No. 6) 1981, s. 40
- [9] PÁČA, J.: Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. **15**, 1982, s. 9
- [10] PÁČA, J., GRÉGR, V.: Biotechnol. Bioeng. **21**, 1979, s. 1809
- [11] PÁČA, J.: Enzyme Microb. Technol. **2**, 1980, s. 133
- [12] PÁČA, J., GRÉGR, V.: Biotechnol. Bioeng. **18**, 1976, s. 1675
- [13] UNGER, P., VOŽŇÁKOVÁ, Z., PÁČA, J.: J. Appl. Chem. Biotechnol. **27**, 1977, s. 150
- [14] PÁČA, J.: Kvas. prům. **26**, 1980, č. 12, s. 276
- [15] OHNISHI, T., SOTTOCASA, G., ERNST, L.: Bull. Chim. Biol. (Paris) **48**, 1966, s. 1189
- [16] MAITRA, P. K., ESTABROOK, R. W.: Arch. Biochem. Biophys. **121**, 1967, s. 117
- [17] MAITRA, P. K., ESTABROOK, R. W.: Arch. Biochem. Biophys. **121**, 1967, s. 140
- [18] OSUMI, M., MIRVA, N., TERANISHI, Y., TANAKA, A., FUKUI, S.: Arch. Microbiol. **99**, 1974, s. 181
- [19] ABBOTT, B. J.: J. Gen. Microbiol. **75**, 1973, s. 383
- [20] PROKOP, A., SOBOTKA, M., PANOŠ, J.: Proc. 7th Symp. Continuous Cultivation of Microorganisms (Eds. Sikyta, B., Fencel, Z., Poláček, V.), Inst. of Microbiol., Czech Acad. Sci., Prague 1980, s. 629
- [21] SPRUYTENBURG, R., DUNN, I. J., BOURNE, J. R.: Proc. 1st Eur. Congress on Biotechnology, Part 1, Dechema, Frankfurt/Maine 1978, s. 170
- [22] FIECHTER, A., VON MEYENBURG, K.: Biotechnol. Bioeng. **10**
- [23] RIBBONS, D. W.: Appl. Microbiol. **18**, 1969, s. 438
- [24] KRAJOVAN, V., KALAČEVIC, I., PEJIN, D., MARINKOVIC, R.: in Yeast Models in Science and Technics (Eds. Kocková-Kratochvilová, A., Minárik, E.), SAV, Bratislava 1972, s. 621
- [25] OMATA, S., MURAO, S., TERASHIMA, H.: J. Ferment. Assoc. Japan **26**, 1970, s. 317
- [26] MYRIL, L. K., TOTH, G. M., CHARLES, M.: Biotechnol. Bioeng. **17**, 1975, s. 1863
- [27] STOUTHAMER, A. H.: Ield Studies in Microorganismism Meadowfield Press, Durham 1976, s. 18
- [28] HUŇKOVÁ, Z., FENCIL, Z.: Biotechnol. Bioeng. **20**, 1978, s. 1235

[29] RICKARD, P. A., HOGAN, C. B. J.: Biotechnol. Bioeng. **20**, 1978, s. 1111

[30] MOR, J. R., FIECHTER, A.: Biotechnol. Bioeng. **10**, 1968, s. 159

Páča J.: Vliv mezistupňového promíchávání na růst a metabolickou aktivitu kvasinek ve vícestupňových kultivačních systémech. Kvas. prům. **30**, 1984, č. 2, s. 38—42.

Byl sledován vliv mezistupňového promíchávání na charakter růstu a metabolickou aktivitu buněk *Candida utilis* v závislosti na koncentraci ethanolu v médiu. Experimenty byly prováděny ve věžovém vícestupňovém fermentoru s definovaným mezistupňovým promícháváním a v kaskádě fermentorů. Posouzení vlivu mezistupňového promíchávání vyplývá z porovnání výsledků získaných v obou typech zařízení za podmínek geometrické podobnosti, stejných rychlostí přenosu kyslíku a zředovacích rychlostí v jednotlivých stupních. Kultivace byly prováděny v syntetickém médiu při konstantní hodnotě zředovací rychlosti, teploty a pH média. Bylo prokázáno, že mezistupňové promíchávání zajišťující trvalou reinkulaci adaptovanými buňkami významně ovlivňuje fyziologický stav buněčné populace, což se projevilo snížením inhibičního účinku ethanolu na růst buněk a rychlost oxidace ethanolu.

Паца, Я.: Влияние межступенчатого перемешивания на рост и метаболическую активность дрожжей в случае многоступенчатых систем культивирования. Квас. прум. **30**, 1984, № 2, стр. 38—42.

Исследовалось влияние межступенчатого перемешивания на характер роста и метаболическую активность клеток *Candida utilis* в зависимости от концентрации этанола в среде. Эксперименты проводились в башенном многоступенчатом ферменторе с определенным межступенчатым перемешиванием и в каскаде ферменторов. Обсуждение влияния межступенчатого перемешивания вытекает из сравнения результатов, полученных в обоих типах установок в условиях геометрического подобия, тех же условиях передачи кислорода и скоростях разбавления в отдельных степенях. Культивирование проводилось в синтетической среде при константной величине скорости разбавления и pH среды. Было доказано, что межступенчатое перемешивание, обеспечивающее постоянную реинкуляцию адаптированными клетками, оказывает влияние на физиологическое состояние клеток, что проявилось в понижении ингибирующего действия этанола на рост клеток и скорость окисления этанола.

Páča, J.: Effect of Interstage Mixing on Growth and Metabolic Activity of Yeasts in Multistage Culture Systems. Kvas. prům. **30**, 1984, No. 2, pp. 38—42.

The significance of the interstage mixing on growth characteristics and metabolic activity of cells *Candida utilis* at different levels of ethanol in the cultivation broth was studied. The experiments were performed in a multistage tower fermentor and in fermentors in series. The effect of the interstage mixing can be evaluated from comparison of results obtained from both culture systems under conditions of geometrical similarity, identity of oxygen transfer rate and identity of dilution rate per stage. Cells were cultivated on a synthetic medium with constant values of dilution rate, temperature and pH of the medium. It was demonstrated that the interstage mixing, which ensures the permanent reinoculation by adapted cells, significantly affects the cell physiology that resulted in the decreased inhibitory effect of ethanol on the cell growth and on the rate of ethanol oxidation.

Páca, J.: Einfluß des Zwischen-Stufen-Durchmischens auf das Wachstum und die metabolische Aktivität in mehrstufigen Kultivationsystemen. Kvas. prům. **30**, 1984, Nr. 2, S. 38—42.

Es wurde der Einfluß des Zwischen-Stufen-Durchmischens auf den Charakter des Wachstums und die metabolische Aktivität der Zellen *Candida utilis* Abhängigkeit von der Äthanolkonzentration im Medium verfolgt. Die Experimente wurden in einem mehrstufigen Turmfermentor mit definiertem Zwischen-Stufen-Durchmischen und in einer Fermentorenkaskade durchgeführt. Der Einfluß des Durchmischens zwischen den einzelnen Phasen zeigt sich aus dem Vergleich der Ergebnisse, die

in den beiden Anlagentypen unter den Bedingungen der geometrischen Ähnlichkeit, identischer Geschwindigkeiten der Sauerstoffübertragung und Verdünnungsgeschwindigkeiten in den einzelnen Stufen. Die Kultivationen wurden in synthetischem Medium bei einem konstanten Wert der Verdünnungsgeschwindigkeit, Temperatur und des Medium-pH durchgeführt. Die Versuche bestätigten, daß das Zwischen-Stufen-Durchmischen, daß eine dauernde Reinokulation durch adaptierte Zellen gewährleistet, den physiologischen Zustand der Zellenpopulation bedeutend beeinflusst, was sich in der Verringerung der Inhibitionswirkung des Äthanol auf das Zellenwachstum und auf die Geschwindigkeit der Äthanoloxidation offenbarte.