

Produkcia biomasy *Kluyveromyces marxianus* na srvátke

579.663

Ing. M. STREĎANSKÝ, Doc. Ing. E. ŠTURDÍK, CSc., Ing. M. TOMÁŠKA, Ing. T. MALIAR, L. KREMnický
Katedra biochemickej technológie, Chemickotechnologická fakulta SVŠT, 812 37 Bratislava

Kľúčové slová: Sladká srvátka, biotechnologické suroviny, produkcia kvasničnej biomasy, *Kluyveromyces marxianus*, β -galaktozidáza

ÚVOD

Problémovým vedľajším produktom pri výrobe syrov je sladká srvátka. Začiatkom 80. rokov bola jej ročná produkcia vo svete viac ako 100 miliónov ton, čo predstavuje vážny ekologický problém, pretože sa spracováva len necelá polovica tohto množstva. V ČSFR sa v súčasnosti prevažná časť srvátky využíva na krmovinárske účely. Toto využitie je však málo efektívne v porovnaní s potenciálom, ktorý srvátka má. Obsahuje 0,7–1 % proteínov, 4–5 % laktózy, širokú paletu živín, minerálie a vitamínov, čím sa zaraďuje medzi najkvalitnejšie suroviny fermentačného priemyslu. V zahraničí je zavedená výroba etanolu, β -galaktozidázy, biomasy a nutričných extraktov s využitím niektorých druhov kvasiniek z rodov *Kluyveromyces* a *Candida* [1–5], mikrobiálna produkcia metánu anaeróbnou fermentáciou zmesnými kultúrami [6] i produkcia organických kyselín. Ešte širšie možnosti využitia má srvátka s enzymovo hydrolyzovanou laktózou, pretože je vhodná aj pre mikroorganizmy, ktoré tento disacharid nedokážu utilizovať.

Táto práca je zameraná na hľadanie vhodných parametrov fermentačnej produkcie biomasy *Kluyveromyces marxianus* na sladkej deproteinizovanej srvátke v našich podmienkach a prenos získaných výsledkov z laboratórnych do poloprevádzkových pomerov. Okrem produkcie bunkovej hmoty sme sledovali aj tvorbu β -galaktozidázy, ktorá je komerčne najzaujímavejšou zložkou biomasy.

ROZBOR PROBLEMATIKY

Jedným z najčastejších spôsobov spracovania srvátky je fermentačná produkcia biomasy *Kluyveromyces marxianus*, ktorá sa ďalej môže podrobiť procesu frakcionácie s cieľom získať β -galaktozi-

dázu, kvasničný extrakt, prípadne iné frakcie buniek. Kultivácia *Kluyveromyces marxianus* je intenzívne študovaná už od 70. rokov, ale stále sa objavujú nové práce, ktoré obohacujú predchádzajúce poznatky [7–11], aj keď sú väčšinou zamerané na maximálnu tvorbu β -galaktozidázy v bunkách. Najčastejšie používaná a najlepšie popísaná je vsádzková kultivácia [2, 7, 8, 12–14]. V závislosti od podmienok sa doba fermentácie pohybuje od 7 do 15 hodín, výnimočne aj viac. Fermentačné médium pozostáva z deproteinizovanej srvátky, zdroja dusíka a rastových faktorov. Priemyselne sa srvátka deproteinizuje takmer výlučne ultrafiltráciou. Ako zdroj dusíka sa používa síran amónny pre svoju nízku cenu a dobrú účinnosť, a to v rozsahu 0,3–1 %. Zriedkavejšie sú iné dusíkaté zdroje, napr. ďalšie amóniové soli a organické zlúčeniny. Rastové faktory sa pridávajú vo forme kvasničného extraktu v množstve 0,1–0,5 %. Značný vplyv na rýchlosť procesu, výťažky biomasy ako aj hladinu β -galaktozidázy má aerácia [7, 13, 15]. Bolo zistené, že so zvyšovaním intenzity aerácie rastie výťažok biomasy, ale klesá špecifická aktivita β -galaktozidázy. Teplota nemá taký veľký vplyv na rast biomasy *Kluyveromyces marxianus*. Niektorí autori uvádzajú ako vhodnú teplotu 30 °C [8, 12, 14], iní 35 °C [13] a dokonca i 40 °C [2]. Počas fermentácie klesá pH média, ale tento pokles sa neprejavuje nepriaznivo na tvorbe biomasy, preto sa vo väčšine technológií neuskutočňuje regulácia pH. V niektorých prácach sú však uvádzané dobré výsledky dosiahnuté udržiavaním pH na konštantnej hodnote, najčastejšie 4,5 [8, 16].

MATERIÁL A METÓDY

Pre porovnanie produkcie biomasy a β -galaktozidázy bolo testovaných 23 kmeňov *Kluyveromyces marxianus*. V pokusoch sme pracovali s kmeňom

Kluyveromyces marxianus CCY 51-1-1, ktorý sa ukázal najvhodnejší z hľadiska nárastu biomasy a aktivity β -galaktozidázy v bunkách po 24h kultivácii [17].

Experimenty zamerané na optimalizáciu média prebiehali v 0,5 dm³ baničkách s objemom média 0,2 dm³ na závesnej rotačnej trepačke pri teplote 28 °C. Vplyv teploty bol sledovaný v laboratórnom fermentore LF-2 [Vývojové dílny ČSAV Praha] o celkovom objeme 5 dm³ v rozsahu 28 až 37 °C. Objem fermentačného média bol 2,5 dm³. Poloprevádzkové pokusy sme uskutočnili na fermentoroch o objeme 0,15 a 1,5 m³ [EFC 24, Electrolux, Švédsko] s obsahom média 0,1 m³, resp. 1 m³. Médium pozostávalo zo sladkej srvátky (Milex Trnava) deproteinizovanej na ultrafiltrí (LIKO, Bratislava) s membránami prepúšťajúcimi molekuly do relatívnej molekulovej hmotnosti 20 000 a obohatenej 1 % síranu amónneho (Lachema Brno) a 0,2 % kvasničného extraktu (CHTF SVŠT, Bratislava). Sterilizácia prebiehala 20 min pri teplote 120 °C.

Sušinu biomasy sme stanovili gravimetricky po predchádzajúcom odstredení buniek, premytí, rozsuspenderovaní v destilovanej vode a trojhodinovom sušení pri teplote 70 °C.

Aktivitu β -galaktozidázy sme určovali v permeabilizovaných bunkách. Odstredené a premyté bunky sme rozsuspenderovali v 0,05 mol. dm⁻³ fosforečnanom tlmivom roztoku pH 6,5 a permeabilizovali toluénom s výslednou koncentráciou 1 % pri laboratórnej teplote 20 min. Aktivitu enzýmu sme stanovili pomocou 2-nitrofenyl- β -D-galaktopyranozidu (2NPG, Lachema Brno). Reakčná zmes obsahovala 0,05 cm³ permeabilizovaných buniek, 0,45 cm³ [4 mmol. dm⁻³] 2NPG v spomínanom tlmivom roztoku s prídavkom 0,1 mmol. dm⁻³ MnCl₂. Reakciu sme po 4 min zastavili 0,2 mol. dm⁻³ roztokom Na₂CO₃. Uvoľnený 2-nitrofenol sme merali spektrofotometricky pri 416 nm [18].

Koncentráciu laktózy sme určovali metódou na stanovenie redukujúcich sacharidov pomocou kyseliny dinitrosalicyllovej [19].

Hodnoty pH v odoberaných vzorkách sme merali na pH-metri OP-211/1 [Radelkis, Maďarsko].

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Optimalizáciu fermentačného média sme robili v baničkách na trepačke. Porovnávali sme rast biomasy na srvátke neupravovanej a deproteinizovanej. Rast na neupravenej bol veľmi slabý, preto sme ďalej používali iba deproteinizovanú srvátku. Okrem toho sa pri deproteinizácii ultrafiltráciou dajú získať ako vedľajší produkt proteíny srvátky. Pri poloprevádzkových experimentoch to predstavovalo 5 kg sušených proteínov na 1 m³ srvátky. Ďalej sme skúšali prídavok síranu amónneho ako zdroja dusíka v rozsahu 0,1 až 2 % a kvasničného extraktu ako zdroja rastových faktorov v rozmedzí 0,1–0,5 %. Najlepšie výsledky boli dosiahnuté pri prídavku 1 % síranu amónneho a 0,2 % kvasničného extraktu. Prídavky síranu v množstve 0,3–0,5 % boli na produkciu biomasy dostačujúce, ale negatívne sa prejavili na tvorbe β -galaktozidázy.

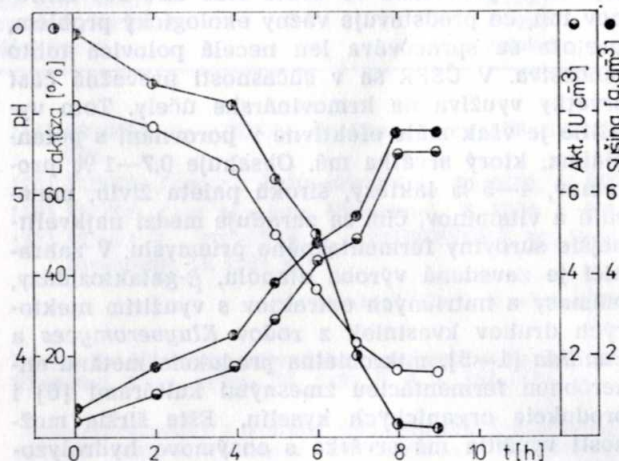
Prídavok extraktu v množstve nad 0,2 % bol neefektívny, nezvyšoval výťažok ani biomasy, ani enzýmu.

Vplyv teploty na produkciu biomasy a β -galaktozidázy sme sledovali v laboratórnom fermentore. Výsledky sú uvedené v tab. 1. Dá sa z nich usúdiť,

Tabuľka 1. Koncentrácia biomasy a aktivita β -galaktozidázy na konci kultivácie *Kluyveromyces marxianus* v laboratórnom fermentore pri rôznych teplotách v médiu obsahujúcom 1 % (NH₄)₂SO₄ a 0,2 % kvasničného extraktu v deproteinizovanej srvátke

Teplota (°C)	Biomasa (g · dm ⁻³)	β -galaktozidáza (U · cm ⁻³)
28	7,2	6,6
32	7,5	6,9
34	7,3	6,5
37	8,0	6,5

že teplota výrazne neovplyvňovala produkciu biomasy a málo vplývala na tvorbu enzýmu. Pri 37 °C bola zaznamenaná najvyššia koncentrácia biomasy, ale množstvo β -galaktozidázy prepočítané na jednotku objemu média bolo rovnaké ako pri nižších teplotách. Táto skutočnosť by sa mohla dať vysvetliť buď reguláciou syntézy enzýmu v bunkách, alebo jeho termoinaktiváciou. Najvyššia produkcia enzýmu bola pri teplote 32 °C. Priebeh kultivácie *Kluyveromyces marxianus* pri 32 °C v laboratórnom fermentore znázorňuje obr. 1. Vyznačuje sa po-

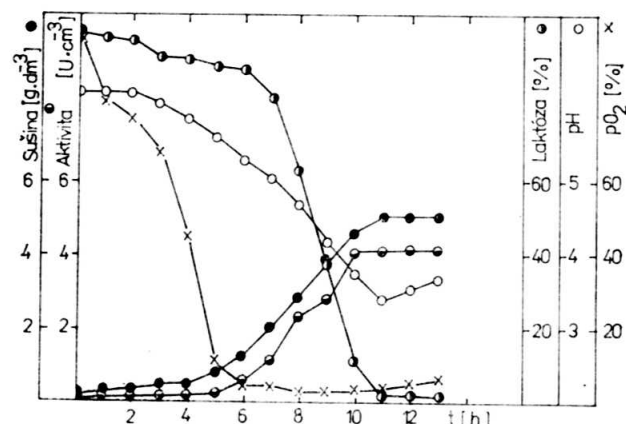


Obr. 1. Kinetika produkcie biomasy (●), laktózy (○) poklesu koncentrácie laktózy (○) a pH (○) pri kultivácii kmeňa *Kluyveromyces marxianus* CCY 51-1-1 na deproteinizovanej srvátke s obsahom laktózy 44 g · dm⁻³ (100 %) obohatenej prídavkom 2 g · dm⁻³ kvasničného extraktu a 10 g · dm⁻³ (NH₄)₂SO₄. Proces fermentácie prebiehal bez regulácie pH, pri teplote 32 °C za normálneho tlaku a frekvencie otáčok 400 min⁻¹. Vzdušenie bolo 0,45 vvm. Objem kultivačného média bol 2,5 dm³. Inokulácia 0,25 dm³ kultúry s obsahom buniek 1,9 · 10⁸ ml⁻¹.

merne strmou lag-fázou, ktorá trvala asi 4 h. Po nej nasleduje 4hodinová exponenciálna fáza, o čom svedčí podobný priebeh rastu biomasy a tvorby enzýmu i poklesu pH a koncentrácie laktózy. Výťažkový koeficient biomasy na substrát mal hodnotu $Y = 0,16$. Táto fermentácia prebiehala bez regulácie pH, za konštantného vzdušenia 0,45 vvm a pri

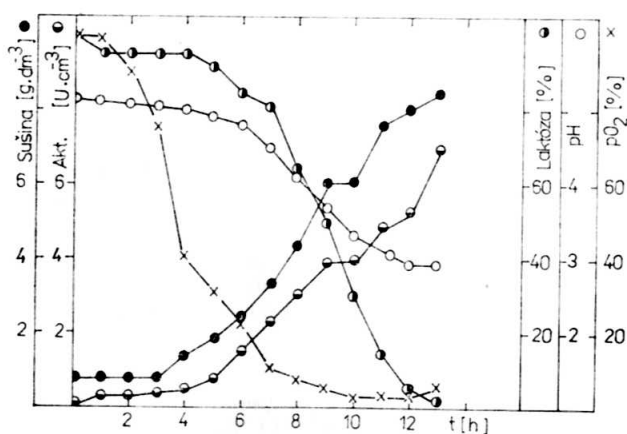
frekvencií otáčok 400 min^{-1} . Inokulum predstavovalo 10 % objemu média. Zo získaných výsledkov sme vychádzali pri príprave a vedení poloprevádzkových experimentov.

V poloprevádzkových podmienkach sme robili fermentácie vo fermentoroch s objemom média 0,1 a 1 m^3 . Menší zároveň slúžil aj ako propagačný pre veľký fermentor. Typický priebeh kultivácie v propagačnom fermentore je na obr. 2. Zmena objemu

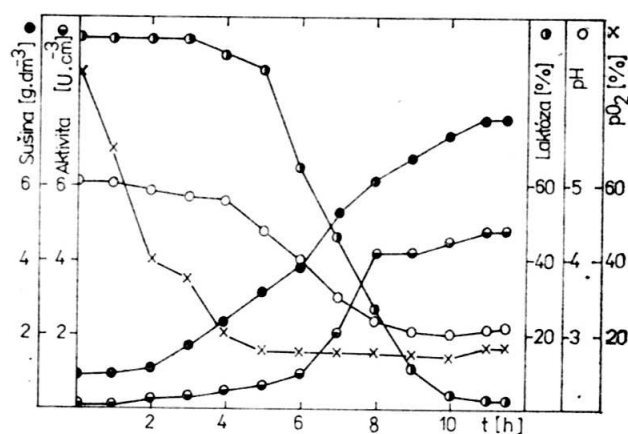


Obr. 2. Kinetika produkcie biomasy (●), laktózy (○), poklesu koncentrácie laktózy (●), pH (○) a pO_2 (x) pri kultivácii kmeňa *Kluyveromyces marxianus* CCY 51-1-1 na deproteinizovanej srvátke s obsahom laktózy $30 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ (100 %) obohatenej prídavkom $2 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ kvasničného extraktu a $10 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Proces fermentácie prebiehal bez regulácie pH, pri teplote 30°C , frekvencii otáčok 250 min^{-1} , vzdušnení $40 \text{ dm}^3 \text{ min}^{-1}$, pri pretlaku $0,15 \text{ MPa}$. K médiu bol pridaný odpeňovací olej Novanik $0,05 \text{ dm}^3$. Objem kultivačného média bol $0,1 \text{ m}^3$. Inokulácia 5 dm^3 kultúry s obsahom buniek $1,9 \cdot 10^8 \text{ cm}^{-3}$.

média, inokula (5 %) i celkovo zmenené podmienky spôsobili predĺženie fermentácie na 11 h, z čoho



Obr. 3. Kinetika produkcie biomasy (●), produkcie laktózy (○), poklesu koncentrácie laktózy (●), pH (○) a pO_2 (x) pri kultivácii kmeňa *Kluyveromyces marxianus* CCY 51-1-1 na deproteinizovanej srvátke s obsahom laktózy $38 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ (100 %) obohatenej prídavkom $2 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ kvasničného extraktu a $10 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Proces fermentácie prebiehal bez regulácie pH, pri teplote 30°C , frekvencii otáčok 250 min^{-1} , vzdušnení $100\text{--}200 \text{ dm}^3 \text{ min}^{-1}$ pri pretlaku $0,15 \text{ MPa}$. K médiu bol pridaný odpeňovací olej Novanik 2 dm^3 . Objem kultivačného média bol 1 m^3 . Inokulácia $0,1 \text{ m}^3$ kultúry s obsahom buniek $1,9 \cdot 10^8 \text{ cm}^{-3}$.



Obr. 4. Kinetika produkcie biomasy (●), laktózy (○), poklesu koncentrácie laktózy (●), pH (○) a pO_2 (x) pri kultivácii kmeňa *Kluyveromyces marxianus* CCY 51-1-1 na deproteinizovanej srvátke s obsahom laktózy $30 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ (100 %) obohatenej prídavkom $2 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ kvasničného extraktu a $10 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Proces fermentácie prebiehal bez regulácie pH, pri teplote 30°C , frekvencii otáčok $200\text{--}350 \text{ min}^{-1}$, vzdušnení $50\text{ až }200 \text{ dm}^3 \text{ min}^{-1}$, pri pretlaku $0,15 \text{ MPa}$. K médiu bol pridaný odpeňovací olej Novanik $0,18 \text{ dm}^3$. Objem kultivačného média bol 1 m^3 . Inokulácia $0,1 \text{ m}^3$ kultúry s obsahom buniek $1,9 \cdot 10^8 \text{ cm}^{-3}$.

5 h tvorila lag-fáza a 5 h exponenciálna fáza. Výťažkový koeficient biomasy na substrát Y_{XS} bol 0,16. Špecifická aktivita β -galaktozidázy v bunkách sa počas fermentácie príliš nemenila a na konci mala hodnotu $830 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny. Tieto údaje sú podobné ako laboratórne.

Pri kultivácii vo fermentore s objemom média 1 m^3 (obr. 3, 4) sme sledovali vplyv hodnoty parciálneho tlaku kyslíka v médiu na produkciu biomasy a na aktivitu β -galaktozidázy v bunkách. Fermentácia, ktorej priebeh je zobrazený na obr. 3, bola limitovaná kyslíkom. Keďže podiel inokula činil 10 %, lag fáza bola krátka (4 h). Na túto fázu nadväzovala dlhá exponenciálna v trvaní 8 h. Výrazná stacionárna fáza nebola pozorovaná. Substrát bol temer úplne spotrebovaný v 13. hodine fermentácie. Špecifická aktivita β -galaktozidázy v biomase na konci fermentácie bola $824 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny a výťažkový koeficient biomasy na substrát $Y_{XS} = 0,19$. Obrázok 4 ukazuje priebeh fermentácie, pri ktorej sme vzdušnením a rýchlejšími otáčkami miešadla udržiavali hodnotu parciálneho tlaku rozpusteného kyslíka v médiu na 15 %. Dĺžka trvania lag-fázy bola 4 h, ale exponenciálna fáza sa v porovnaní s predchádzajúcou skrátila na 6 h. Zaujímavý je odlišný priebeh nárastu biomasy, ktorý bol celkom pravidelný a vzostupu aktivity β -galaktozidázy vzťahnutom na jednotku objemu média, ktorý nebol pravidelný. Uvedené údaje o dĺžke trvania lag i exponenciálnej fázy sme preto zistili z poklesu pH a koncentrácie laktózy v médiu. Spomínaný vplyv kyslíka spôsobil nižšiu hodnotu špecifickej aktivity β -galaktozidázy v bunkách na konci fermentácie ($621 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny) a zároveň evokoval vyšší výťažkový koeficient biomasy na substrát ($Y_{XS} = 0,24$). Tieto zistenia korešpondujú s výsledkami publikovanými viacerými autormi [7, 13, 15], ktorí popisujú pozitívny vplyv zvyšovania

koncentrácie kyslíka v médiu na tvorbu biomasy a negatívny na aktivitu β -galaktozidázy. Okrem toho sme zistili, že vyššia hladina kyslíka spôsobila skrátenie fermentácie.

Ako vidieť z dosiahnutých výsledkov, prenos z laboratórnych do poloprevádzkových podmienok v prípade fermentačnej produkcie biomasy *Kluyveromyces marxianus* nie je problematický. Väčší objem fermentačného média síce trochu predlžuje dobu fermentácie, ale dosahované výsledky sú približne rovnaké, čo dokumentujú obr. 1, 2, 3. Minimálne sa mení výťažok biomasy a špecifická aktivita β -galaktozidázy v sušine buniek s výnimkou kultivácie znázornenej na obr. 4, kedy však zmenu týchto hodnôt zapríčinila zvýšená hladina kyslíka v médiu. Treba však pripomenúť, že na dosiahnutie rovnakých výsledkov v rôznych fermentoroch je potrebné meniť niektoré parametre procesu. V našom prípade šlo o vzdušenie a otáčky miešadla, reguláciou ktorých sa dá dosiahnuť približne rovnaká hladina rozpusteného kyslíka v rôznych fermentoroch. Keďže veľké fermentory sa spravidla vyznačujú lepšou rozpustnosťou kyslíka ako malé, čo je zapríčinené aj vyšším hydrostatickým tlakom v médiu, znižovali sme množstvo privádzaného vzduchu so zväčšovaním objemu fermentora. Zatiaľ čo v laboratórnom fermentore bolo vzdušenie 0,45 vvm, v propagačnom iba 0,4 vvm a vo veľkom dokonca len 0,2 vvm. Podobne frekvencia otáčok miešadla bola 400 min⁻¹ v laboratórnom a 250 min⁻¹ v poloprevádzkovom. V prípade prevádzkového fermentora bude pravdepodobne potrebné ešte menšie vzdušenie a otáčky miešadla na docelenie podobných výsledkov.

Celkovo možno konštatovať, že k zlepšeniu výťažku biomasy na substrát v procese kultivácie *Kluyveromyces marxianus* je možné dospieť zvýšením koncentrácie rozpusteného kyslíka v médiu a zvýšením teploty na 37 °C. Špecifická aktivita β -galaktozidázy v bunkách však za týchto podmienok bude podstatne nižšia.

LITERATÚRA

- [1] MOULIN, G., GALZY, P.: Alcohol Production from Whey, in *Advances Biotechnology*, Vol. II (Ed. M. Moo-Young) Pergamon Press, Toronto 1981, s. 181.
- [2] MIORELLA, B. L., CASTILLO, F. J.: *Process Biochem.* **19**, 1984, s. 157.
- [3] CONCALVES, J. A., CASTILLO, F. J.: *J. Dairy Sci.*, **65**, 1982, s. 2088.
- [4] REED, G.: In *Industrial Microbiology*, 4th edn. (ed. G. Reed) Avi Publishing Co., Westport, Connecticut, 1982, s. 541.
- [5] ORBEG, P., DANDINE, W., AYRES, J.: *J. Dairy Sci.*, **67**, 1984, s. 37.
- [6] DeHAAS, J., et al.: *J. Dairy Res* **52**, 1985, s. 457.
- [7] GARCÍA-GARIBAY, M., et al.: *Biotechnol. Lett.* **9**, 1987, s. 417.
- [8] ÖZILGEN, A., OLLIS, D. F., OGRYDZIAK, D.: *Enzyme Microb. Technol.* **10**, 1988, s. 165.
- [9] MARTINI, G., MIGNONE, C., ERTOLA, R.: *Biotechnol. Lett.* **11**, 1989, s. 545.
- [10] ANTIER, P., MOULIN, G., GALZY, P.: *Process Biochem.*, **25**, 1990, s. 9.
- [11] WALKER, G. M., O'NEILL, J. D.: *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **49**, 1990, s. 75.
- [12] SONAWAT, H. M., AGRAWAL, A., DUTTA, S. M.: *Folia Microbiol.*, **26**, 1981, s. 370.
- [13] BARBOSA, M. F. S. et al.: *J. Dairy Sci.* **68**, 1985, s. 1612.
- [14] FODA, M. S., MOHAMMED, S., HUSSEIN, L.: *Zentralbl. Microbiol.* **143**, 1988, s. 583.
- [15] U. S. Patent 4 179 335.
- [16] BRODSKY, J. A., GROOTWASSINK, J. W. D.: *J. Food Sci.* **51**, 1986, s. 897.
- [17] WICKERHAM, L. J.: U. S. Dep. Agr. Techn. Bull. No. 1029, 1951.
- [18] CHAMPLUVIER, B., KAMP, B., ROUXHET, P. G.: *Enzyme Microb. Technol.* **10**, 1988, s. 611.
- [19] BERNFELD, P.: *Methods Enzymol.* **1**, 1955, s. 149.

Lektoroval Ing. F. Machek, CSC.

Stredanský, M. - Šturdík, E. - Tomáška, M. - Maliar, T. - Kremnický, L.: *Produkcia biomasy Kluyveromyces marxianus na srvátke*. Kvas. prům., **37**, 1991, č. 5, s. 137—141.

Pre fermentačnú produkciu biomasy β -galaktozidázy bol použitý kmeň *Kluyveromyces marxianus* CCY 51-1-1. Optimalizované médium pozostávalo zo sladkej srvátky s prídavkom 1% síranu amónneho a 0,2% kvasničného extraktu. V poloprevádzkovom 1500 l fermentore bol dosiahnutý výťažkový koeficient $Y_{XS} = 0,19$ po 12 h kultivácii limitovanej kyslíkom. Udržiavaním parciálneho tlaku kyslíka v médiu na hodnote 15% bolo dosiahnuté zvýšenie Y_{XS} na 0,24 a skrátenie kultivácie na 10 h, ale špecifická aktivita β -galaktozidázy v bunkách klesla o 24%.

Стредянски, М. - Штурдик, Э. - Томашка, М. - Мальпр, Т. - Кремнишки, Л.: *Продукция биомассы Kluyveromyces marxianus на сыворотке*. Квас. прум. **37**, 1991, стр. 137—141.

В целях ферментативной продукции биомассы и β -галактозидазы исследовалось 23 штаммов *Kluyveromyces marxianus*, из которых наиболее выгодным оказался штамм CCY 51-1-1. Оптимизированная среда состояла из сладкой сыворотки с добавкой 1% сульфата аммония и 0,2% дрожжевого экстракта. В полупроизводственном 1500 л ферменторе был достигнут коэффициент выхода $Y_{XS} = 0,19$ после 12 часового культивирования, лимитированном кислородом.

Выдерживанием парциального давления кислорода в среде на величине 15% было достигнуто повышение Y_{XS} в 0,24 и сокращение культивирования до 10 часов; удельная активность однако для β -галактозидазы в клетках понизилась на 24%.

Stredanský, M. - Šturdík, E. - Tomáška, M. - Maliar, T. - Kremnický, L.: *Production of Kluyveromyces marxianus on Whey*. Kvas. prům., **37**, 1991, No. 5, pp. 137—141.

23 strains *Kluyveromyces marxianus* was screened for production of biomass and β -galactosidase. Strain CCY 51-1-1 was selected. Optimized medium for cultivation was deproteinized sweet whey with 1% ammonium sulfate and 0,2% yeast extract. Yield coefficient $Y_{XS} = 0,19$ after 12 h fermentation with oxygen limitation was obtained in 1500 l fermentor. Increasing of partial pressure to level 15% improved Y_{XS} on 0,24 and shortened fermentation time on 10 h, but specific activity of β -galactosidase in cells decreased by 24%.

Stredanský, M. - Šturdík, E. - Tomáška, M. - Maliar, T. - Kremnický, E.: Produktion der Biomasse Kluyveromyces marxianus auf Molke. Kvas. prům. 37, 1991, Nr. 5, S. 137—141.

Für die Fermentationsproduktion von Biomasse und β -Galaktosidase wurden 23 Stämme Kluyveromyces marxianus getestet, wobei als der geeignetste sich der Stamm CCY 51 -1-1 zeigte. Das optimalisierte Medium

bestand aus Süßmolke mit Zugabe von 1% Ammoniumsulfat und 0,2 % Hefeextrakt. In einem Halbbetriebs-1500-Liter-Fermentor wurde ein Ausbeutekoeffizient $Y_{XS} = 0,19$ nach 12 Stunden Sauerstoff-limitierter Kultivation erzielt. Bei Erhöhung des Partialdrucks des Sauerstoffs im Medium auf dem Wert 15 % wurde die Erhöhung von Y_{XS} auf 0,24 und die Verkürzung des Kultivation auf 10 h erzielt, aber die spezifische β -Galaktosidase-Aktivität in den Zellen sank um 24 %.