

# INHIBÍCIA ETANOLOVEJ FERMENTÁCIE PRI VYSOKOM OSMOTICKOM TLAKU

PETRA BAFRNCOVÁ, DANIELA ŠMOGROVIČOVÁ, JAROSLAVA PÁTKOVÁ, MIROSLAV BEDNÁR,  
Katedra biochemickej technológie, Chemickotechnologická fakulta, Slovenská technická univerzita v Bratislave

**Kľúčové slová:** etanolová fermentácia, osmotický stres, sorbitol, osmoprotektanty

## 1 ÚVOD

Dôležitým faktorom ovplyvňujúcim priebeh vsádzkovej etanolovej fermentácie je počiatočná koncentrácia substrátu vo fermentačnom médiu. So zvyšujúcou sa koncentráciou sacharidov v médiu rastie osmotický tlak a znižuje sa aktivita vody. V roztoku glukózy s koncentráciou 100 g/l je osmotický tlak približne 1,5 MPa, pri koncentrácii 200 g/l je to 3,1 MPa, pri 250 g/l 4,1 MPa a pri 300 g/l glukózy až 5,3 MPa [1]. Ďalšie zvýšenie osmotického tlaku spôsobuje prítomnosť solí, vitamínov a iných zložiek nachádzajúcich sa vo fermentačnom médiu. Vysoký osmotický tlak vo fermentačnom médiu negatívne ovplyvňuje rast, viabilitu kvasiniek, a znižuje aj ich fermentačnú aktivitu [2, 3, 4]. Negatívny vplyv vysokého osmotického tlaku sa prejaví už pri koncentrácii sacharidov 150 až 200 g/l, avšak závisí aj od typu substrátu vo fermentačnom médiu. Úplné zastavenie fermentácie dôsledkom vysokej koncentrácie substrátu bolo pri vsádzkových fermentáciách pozorované až pri 400 g/l glukózy [5]. Príliš vysoké počiatočné koncentrácie sacharidov spôsobujú inhibíciu fermentačnej aktivity kvasiniek priamo ako dôsledok vysokého osmotického tlaku, alebo nepriamo ako dôsledok vysokej koncentrácie etanolu naprodukovanej počas fermentácie.

Každé zvýšenie vonkajšieho osmotického tlaku je kompenzované vnútrobunkovou reguláciou osmotického tlaku tak, aby sa obnovilo bunkové napätie. Glycerol má dôležitú úlohu pri adaptácii kvasiniek na zvýšený osmotický tlak, pretože ako osmolyt napomáha zmierniť osmotický stres postupným vyrovnávaním intracelulárneho osmotického tlaku [6, 7, 8]. Doterajšie výskumy ukazujú, že akumulácia glycerolu začína okamžite po vystavení kvasiniek osmotickému stresu, ale vyššie hladiny intracelulárneho glycerolu boli namerané až po niekoľkých hodinách adaptácie. To nasvedčuje tomu, že akumulácia glycerolu nie je nevyhnutná pre prežívanie kvasiniek vystavených osmotickému stresu, ale je nutná pre obnovenie normálnej biologickej aktivity buniek [9].

Trehalóza je známa ako zásobná látka kvasiniek, ktorá sa akumuluje na začiatku stacionárnej fázy rastu. V posledných rokoch bolo dokázané, že trehalóza zohráva dôležitú úlohu aj ako indikátor stresu, stabilizuje dehydratované bunkové membrány pred osmotickým šokom a zvyšuje termálnu stabilitu proteínov [7, 8, 10]. Vysoké intracelulárne koncentrácie trehalózy sa spájajú aj so zvýšenou termotoleranciou a etanoltoleranciou kvasiniek. Kmene *Saccharomyces ce-*

*revisiae* so zvýšeným obsahom trehalózy vykazujú vyššiu odolnosť voči dehydratácii, avšak úloha trehalózy pri osmotickom strese ešte nie je presne známa [7]. Osmotolerancia kvasiniek závisí nielen od koncentrácie trehalózy, ale aj od prítomnosti špecifického prenášača trehalózy, ktorý prenáša trehalózu z cytosolu do extracelulárneho prostredia a k bunkovej membráne. Autori Van Dijck a kol. [10] predpokladajú, že pri kvasinkách v stacionárnej fáze rastu a kvasinkách rastúcich na nefermentovateľnom zdroji uhlíka sú v bunkách prítomné aj rôzne iné špecifické faktory, ktoré sa spolupodieľajú na tolerancii kvasiniek ku stresu.

Optimálne zloženie solí, vitamínov a rastových látok vo fermentačnom médiu môže zohrať dôležitú úlohu pri mechanizme tolerancie kvasiniek na vysoký osmotický tlak. Pokiaľ sú splnené všetky výživové požiadavky kvasiniek, pozoruje sa zvýšenie fermentačnej aktivity a rýchlosti tvorby etanolu dokonca aj pri vysokých počiatočných koncentráciách sacharidov. Prídavok zdroja dusíka, iónov kovov alebo rôznych osmoprotektívnych látok má významný pozitívny efekt na rýchlosť a priebeh fermentácie [11, 12, 13]. Glycín patrí do skupiny výživových doplnkov, ale je známy aj ako osmoprotektívna látka. Autori Thomas a kol. [13] pozorovali zvýšenie rýchlosti fermentácie ako dôsledok obohatenia média o 40 mmol/l (3 g/l) glycínu. Je známe, že pomocou prídavku bunkových stien do fermentačného média možno stimulovať fermentáciu aj v jej poslednej fáze a predchádzať tak predčasnému zastaveniu fermentácie. Bunkové steny sa preto zvyknú označovať ako aktivátor kvasenia. Vyznačujú sa schopnosťou adsorbovať z prostredia látky, ktoré inhibujú aktivitu živých buniek kvasiniek [14, 15].

## 2 MATERIÁL A METÓDY

V práci bol použitý liehovarský kmeň kvasiniek *Saccharomyces cerevisiae* Pz 90, zo zbierky Katedry biochemickej technológie CHTF STU. Kultúra bola uchovávaná na šikmom agare so sladivým extraktom pri 4 °C a periodicky preočkovávaná každé tri mesiace.

**Fermentačné médiá:** Ako inokulačné médium bolo použité médium so zložením podľa Olsona a Johnsona [16]. Predfermentačné médiá obsahovali roztok glukózy: 100 g/l a roztok solí: kvasničný autolyzát (práškový, Oxoid) 3 g/l; síran amónny 5 g/l; dihydrogen-fosforečnan draselný 2 g/l; heptahydrát síranu horečnatého 1 g/l; dihydrát chloridu vápenatého 0,1 g/l; chlorid sodný 0,1 g/l. Fermentačné médiá obsahovali roztok glukózy a sorbitolu: glukóza 100 alebo 250 g/l, sorbitol 0, 30, 60, 90, 120 alebo

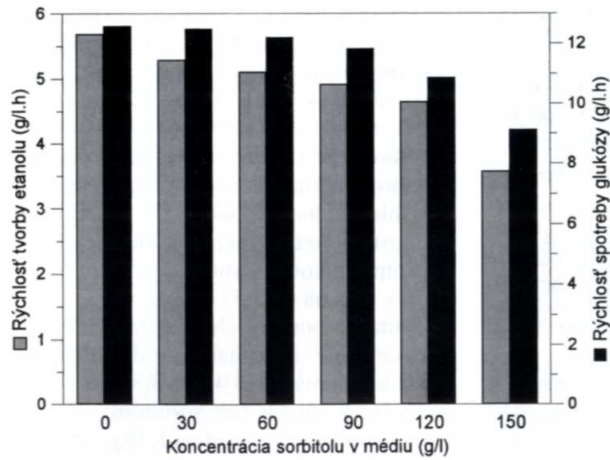
150 g/l; roztok solí s rovnakým zložením ako v predfermentačných médiách a prídavky: glycín 3 g/l, bunkové steny 0,3 g/l a etanol 5 obj. %.

Hodnota pH médií bola upravená na 5,5 roztokom HCl s koncentráciou 1 mol/l. Roztok glukózy a roztok solí boli sterilizované oddelene, aby sa zabránilo vzniku Maillardových reakcií. Koncentrácie jednotlivých zložiek sú uvádzané vo výslednom roztoku po zmiešaní roztoku glukózy a solí. Sterilizácia prebiehala 20 minút pri tlaku 120 kPa.

**Príprava inokula:** Mikroorganizmy boli preočkované zo šikmého sladivého agaru (2 očka) do 100 ml Olson-Johnsonovej inokulačnej pôdy v 500 ml bankách. Kultivácia prebiehala pri 28 °C na závesnej rotačnej trepačke (3 Hz) po dobu 24 hodín za aeróbných podmienok. Kvasinky po 24 hodinách kultivácie v Olson-Johnsonovom médiu boli preočkované do predfermentačného média (10 ml inokula do 1 banky so 100 ml média) a opäť kultivované pri 28 °C na rotačnej trepačke po dobu 24 hodín. Následne boli kvasinky scentrifugované v sterilných kvetkách (10 min, 3000 min<sup>-1</sup>) a rozsuspendované v 10 ml sterilnej destilovanej vody. Takto pripravená biomasa bola použitá ako inokulum pre fermentáciu.

**Fermentačné podmienky:** Fermentácie prebiehali v hermeticky uzavretých fermentačných nádobách s kvasným uzáverom a magnetickým miešaním po dobu 30 hodín pri teplote 30 °C. Celkový objem média vo fermentoroch bol 100 ml (80 ml roztoku glukózy, 10 ml roztoku solí a 10 ml inokula z predfermentačného média). Počiatočná koncentrácia biomasy pri jednotlivých fermentáciách bola približne 4 g/l. Počas fermentácie bolo pH udržiavané na hodnote približne 5,3 pomocou roztoku hydroxidu sodného s koncentráciou 1 mol/l.

**Analytické metódy:** Vzorky boli scentrifugované (3000 min<sup>-1</sup>, 5 min), po oddelení supernatantu bol sediment dvakrát premytý destilovanou vodou a použitý na gravimetrické stanovenie koncentrácie sušiny biomasy (105 °C, 5 h) [17] a stanovenie intracelulárnej koncentrácie trehalózy po extrakcii trichlórctovou kyselinou fenolsírovou metódou [18]. V supernatante bola stanovená koncentrácia glukózy reakciou s kyselinou dinitrosalicilovou (DNS) [19], koncentrácia etanolu plynovou chromatografiou (CHROM 5, náplňová kolóna Porapak QS, FID detektor) a koncentrácia glycerolu plynovou chromatografiou (HP 5890 II Plus GC, náplňová kolóna HP Innowax, FID detektor). Jednotlivé fermentácie boli uskutočnené v dvoch paralelných pokusoch, pričom odchýlka medzi paralelnými pokusmi bola maximálne 8 %.



Obr. 1 Maximálna rýchlosť tvorby etanolu a spotreby glukózy pri etanolovej fermentácii s koncentráciou glukózy 100 g/l a zvyšujúcou sa koncentráciou sorbitolu. Teplota 30 °C.

### 3 VÝSLEDKY A DISKUSIA

#### 3.1 Vplyv zvýšenej koncentrácie sorbitolu

Inhibičný účinok vysokého osmotického tlaku na priebeh fermentácie bol študovaný v médiách s obsahom glukózy (100 g/l) ako zdroja uhlíka a v prítomnosti zvyšujúcej sa koncentrácie sorbitolu. Sorbitol je hexitol, ktorý nie je kvasinkami *Saccharomyces cerevisiae* metabolizovaný, avšak je prijímaný cez bunkovú membránu [20]. Vplyv zvyšujúcej sa koncentrácie sorbitolu na maximálnu rýchlosť tvorby etanolu a maximálnu rýchlosť spotreby glukózy pri etanolovej fermentácii je zobrazený na obr. 1. Maximálne rýchlosti produkcie etanolu a spotreby glukózy boli stanovené ako smernice závislosti koncentrácie etanolu a glukózy od času v ich lineárnych častiach. Zvýšená koncentrácia sorbitolu v médiu (150 g/l) spôsobila pokles maximálnej rýchlosti tvorby etanolu až o 37 %, keď hodnota rýchlosti tvorby etanolu v 11. hodine fermentácie poklesla z 5,68 na 3,57 g/l.h. Maximálna rýchlosť spotreby glukózy v prítomnosti 150 g/l sorbitolu dosiahla hodnotu 9,13 g/l.h, čo v porovnaní s hodnotou 12,59 g/l.h stanovenou v médiu bez prítomnosti sorbitolu predstavuje pokles o 27 %.

Vysoký osmotický tlak, spôsobený prítomnosťou sorbitolu v médiu, mal za následok zníženie maximálneho prírastku biomasy až o 50 % a najvyššej dosiahnutej koncentrácie naprodukovaného etanolu z 46,96 na 39,36 g/l pri koncentrácii sorbitolu 120 g/l (tab. 1). Stupeň využitia glukózy zostal nezmenený a predstavoval až 99 %.

Tab. 1 Fermentačné parametre etanolovej fermentácie na glukóze s prídavkom rôznych koncentrácií sorbitolu. Teplota 30 °C.

Zloženie fermentačného média [g/l]		Maximálny prírastok biomasy [g/l]	Maximálna koncentrácia etanolu [g/l]	Stupeň využitia glukózy [%]
glukóza	sorbitol			
100	0	5,63	46,96	99
100	30	4,98	45,57	99
100	60	4,81	44,96	99
100	90	4,31	43,05	99
100	120	3,86	41,83	99
100	150	2,80	39,36	99

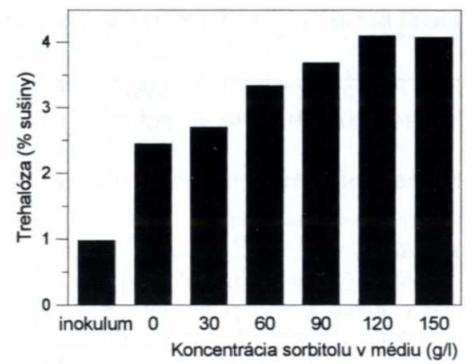
Ziffer [20] vo svojej práci pozoroval výrazný inhibičný účinok zvýšeného osmotického tlaku spôsobeného vysokou koncentráciou sorbitolu v médiu pri fermentáciách nescukrenej kukuričnej záparty s prídavkom 35 – 145 g/l sorbitolu, a to najmä v počiatočných fázach fermentácií. Po 16 hodinách fermentácie predstavoval výťažok etanolu z teoretického množstva v médiu bez sorbitolu 20,8 % a v prítomnosti 145 g/l sorbitolu len 2,5 %. Na konci fermentácie, po 119 hodinách, bol dosiahnutý výťažok etanolu z teoretického množstva 91,0 %

v médiu bez sorbitolu a 88,2 % v prítomnosti 145 g/l sorbitolu.

Zvýšený osmotický tlak sa prejavil znížením rýchlosti fermentácie, dosiahnutej koncentrácie naprodukovaného etanolu a biomasy, pričom bolo spotrebované rovnaké množstvo glukózy. Zo zníženého výťažku etanolu sa dá usudzovať, že pri vyššom osmotickom tlaku sa zvýšila tvorba vedľajších produktov, ako glycerolu a organických kyselín, a pravdepodobne aj väčšie množstvo glukózy bolo spotrebované na udržiavanie fyziologického stavu buniek a syntézu osmoprotektívnych látok. V sušine biomasy inokula kvasiniek bolo stanovených 0,98 hm.% trehalózy (obr. 2). Na konci fermentácie v médiu bez sorbitolu a so 100 g/l glukózy obsah trehalózy v sušine biomasy predstavoval 2,45 hm.%. Intracelulárna koncentrácia trehalózy so stúpajúcim osmotickým tlakom v médiu rástla a dosiahla hodnoty až 4,10 a 4,08 hm.% v médiách so 120 a 150 g/l sorbitolu a 100 g/l glukózy, čo predstavovalo nárast obsahu trehalózy až o 66 %.

V prostredí zvýšeného osmotického tlaku vzrástla aj koncentrácia extracelulárneho glycerolu (obr. 3). V neprítomnosti sorbitolu bola na konci fermentácie stanovená koncentrácia glycerolu vo fermentačnom médiu 2,21 g/l. V prítomnosti 30, 60 a 90 g/l sorbitolu koncentrácia extracelulárneho glycerolu v médiu 2,5-násobne stúpala a dosiahla približne rovnaké hodnoty (5,45; 5,59 a 5,68 g/l). S ďalším zvyšovaním osmotického tlaku v prostredí koncentrácia extracelulárneho glycerolu stúpala až na hodnoty 7,03 a 9,70 g/l v médiu so 120 a 150 g/l sorbitolu, čo predstavovalo 3,2-násobné a 4,4-násobné zvýšenie v porovnaní s médiom bez sorbitolu.

So zvyšujúcim sa osmotickým tlakom spôsobeným zvyšujúcou sa koncentráciou sorbitolu vo fermentačnom médiu postupne stúpala koncentrácia intracelulárnej trehalózy v bunkách (obr. 2). Pri fermentácii s koncentráciou sorbitolu v médiu 150 g/l sa v porovnaní s fermentáciami s nižšou koncentráciou sorbitolu už akumulácia intracelulárnej trehalózy ďalej nezvyšovala, avšak výrazne stúpil obsah vytvoreného glycerolu (obr. 3).



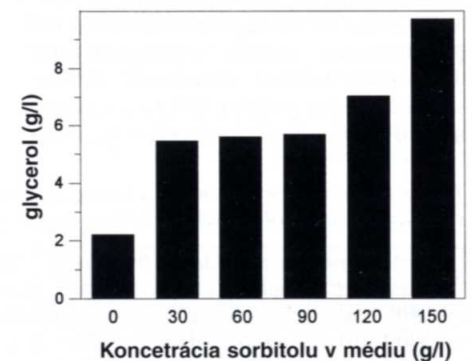
Obr. 2 Intracelulárna koncentrácia trehalózy v sušine biomasy inokula a kvasiniek po skončení etanolových fermentácií s rôznou koncentráciou sorbitolu v médiu. Teplota 30 °C.

Pokles rýchlosti tvorby etanolu a spotreby glukózy medzi jednotlivými médiami obsahujúcimi 0, 30, 60, 90 a 120 g/l sorbitolu predstavoval približne 4 % (obr. 1). Pri najvyššej testovanej koncentrácii sorbitolu a glukózy (150 g/l sorbitolu plus 100 g/l glukózy) fermentačná aktivita kvasiniek poklesla až o približne 20 % v porovnaní s predchádzajúcou koncentráciou (120 g/l sorbitolu plus 100 g/l glukózy). Prudký pokles fermentačnej aktivity kvasiniek pri najvyššej koncentrácii sorbitolu bol pravdepodobne spôsobený nedostatočnou osmotoleranciou kvasiniek. Akumulácia trehalózy sa pri vyššej koncentrácii sorbitolu ako 120 g/l už nezvyšovala, koncentrácia glycerolu stúpala až na hodnotu 9,7 g/l. Rovnaký efekt pozorovali aj autori Hounsa a kol. [6], keď pri veľmi silnom osmotickom strese významný vplyv glycerolu na osmotoleranciu kvasiniek nebol stanovený.

**3.2 Vplyv etanolu**  
Pri fermentáciách vysokokontrovaných substrátov v priebehu fermentácie vzniká veľké množstvo etanolu, ktoré inhibične pôsobí na fermentačnú aktivitu kvasiniek. Bunky kvasiniek sú potom inhibované

#### 3.2 Vplyv etanolu

Pri fermentáciách vysokokontrovaných substrátov v priebehu fermentácie vzniká veľké množstvo etanolu, ktoré inhibične pôsobí na fermentačnú aktivitu kvasiniek. Bunky kvasiniek sú potom inhibované



Obr. 3 Extracelulárna koncentrácia glycerolu vo fermentačnom médiu po skončení etanolových fermentácií s rôznou koncentráciou sorbitolu v médiu. Teplota 30 °C.

Tab. 2 Fermentačné parametre etanolovej fermentácie pri rôznych koncentráciách glukózy s prídavkom sorbitolu, resp. etanolu. Teplota 30 °C.

Zloženie fermentačného média			Rychlosť tvorby etanolu [g/l.h]	Rychlosť spotreby glukózy [g/l.h]	Maximálny prírastok biomasy [g/l]	Maximálna koncentrácia etanolu [g/l]	Stupeň využitia glukózy [%]
etanol [obj. %]	glukóza [g/l]	sorbitol [g/l]					
0	100	0	5,70	12,73	5,60	46,03	99
0	100	150	3,66	9,44	3,38	41,37	99
0	250	0	3,46	9,33	2,92	93,81	91
5	100	0	3,10	7,74	5,05	39,19	99
5	100	150	1,94	6,83	2,99	28,85	98
5	250	0	2,25	6,64	3,04	71,22	77

kombinovaným účinkom vysokého osmotického tlaku a etanolu. Pribeh etanolových fermentácií pri vysokom osmotickom tlaku sme preto sledovali aj v prítomnosti 5 obj.% externe pridaného etanolu. Média obsahovali 100 g/l glukózy a 0 resp. 150 g/l sorbitolu. Pre porovnanie sme použili aj médium s počiatočnou koncentráciou glukózy 250 g/l.

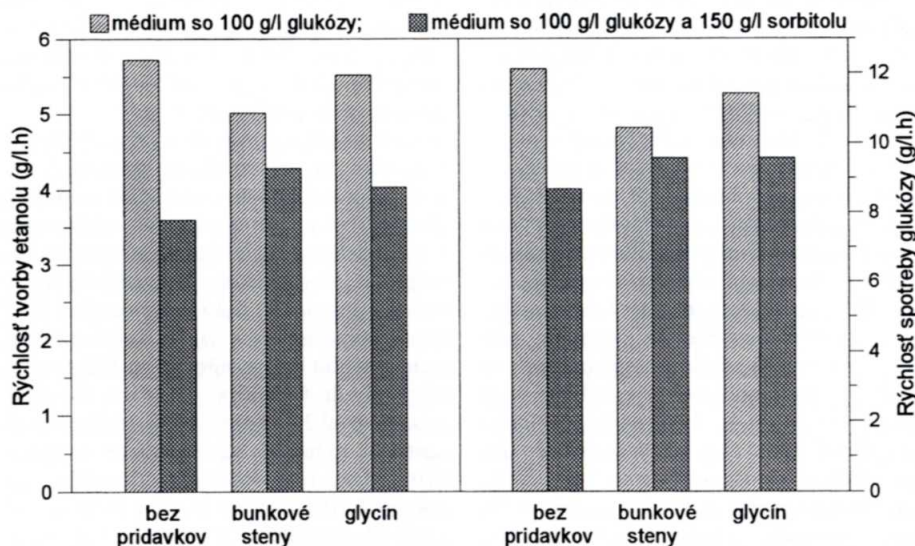
Kombinovaný vplyv vysokého osmotického tlaku a etanolu mal za následok zníženie maximálnej rýchlosti tvorby etanolu z 3,66 na 1,94 g/l.h v médiu, kde bol osmotický tlak vytváraný prídavkom sorbitolu (tab. 2). V médiu obsahujúcom 250 g/l glukózy rýchlosť tvorby etanolu poklesla z 3,46 na 2,25 g/l.h. Analogický trend bol pozorovaný aj pri maximálnej rýchlosti spotreby glukózy. Prírastok biomasy v médiu so 100 g/l glukózy, 150 g/l sorbitolu a etanolom dosiahol hodnotu 2,99 g/l, čo v porovnaní s médiom bez etanolu (3,38 g/l) predstavuje pokles o 12 %. Maximálna koncentrácia biomasy bola dosiahnutá v 12. hodine fermentácie, iba v prípade fermentácií s počiatočnou koncentráciou glukózy 250 g/l v prítomnosti etanolu bola maximálna koncentrácia biomasy dosiahnutá až v 25. hodine fermentácie. Pri koncentrácii glukózy 250 g/l prírastok biomasy sa v prítomnosti etanolu výrazne nezmenil. Stupeň využitia glukózy v médiách obsahujúcich na začiatku fermentácií 100 g/l glukózy predstavoval 99 %. V médiách s 250 g/l glukózy ani po 30 hodinách nebola fermentácia ukončená, a na konci fermentácií zostalo v médiách ešte veľké množstvo nespotrebovanej glukózy. Stupeň využitia glukózy dosiahol hodnoty 91 % v médiu bez etanolu a len 77 % v médiu s externe pridaným etanolom.

Prítomnosť vysokého osmotického tlaku a etanolu spôsobila aj zníženie množstva naprodukovanej etanolu v porovnaní s médiom bez prídavku etanolu. V médiách s koncentráciou glukózy 100 g/l a v prítomnosti 0 a 150 g/l sorbitolu bola v 9. hodine

fermentácie dosiahnutá maximálna koncentrácia etanolu 46,0 a 41,3 g/l. Externe pridaný etanol mal za následok pokles naprodukovanej množstva etanolu o 15 % v médiu bez sorbitolu a až o 30 % v médiu so sorbitolom. V médiu s počiatočnou koncentráciou glukózy 250 g/l v prítomnosti externe pridaného etanolu bola dosiahnutá o 24 % nižšia koncentrácia naprodukovanej etanolu. Môžeme konštatovať, že externe pridaný

treby glukózy (obr. 4). V médiách s obsahom glukózy 100 g/l a sorbitolu 150 g/l prídavok bunkových stien spôsobil zvýšenie hodnoty maximálnej rýchlosti tvorby etanolu z 3,60 g/l.h v médiu bez prídavkov na 4,29 g/l.h, čo predstavuje zvýšenie o 19 %. V prítomnosti glycinu maximálna rýchlosť tvorby etanolu dosiahla hodnotu 4,04 g/l.h. Maximálna rýchlosť spotreby glukózy v médiách s prídavkom bunkových stien aj glycinu stúpila o 10 % (z 8,68 na 9,57 g/l.h).

Prídavok bunkových stien mal za následok zníženie maximálneho dosiahnutého prírastku biomasy z 4,48 na 3,39 g/l vo fermentačnom médiu bez sorbitolu, a v prítomnosti sorbitolu z 2,34 na 1,39 g/l (tab. 3). Prídavok glycinu sa na dosiahnutej koncentrácii biomasy v médiu bez sorbitolu výrazne neprejavil, avšak v prítomnosti sorbitolu bolo pozorované mierne zvýšenie maximálneho prírastku biomasy z 2,34 na 2,94 g/l. Maximálna koncentrácia naprodukovanej etanolu sa v prítomnosti bunko-



Obr. 4 Maximálna rýchlosť tvorby etanolu a spotreby glukózy etanolovej fermentácie pri koncentrácii glukózy 100 g/l, sorbitolu 0 a 150 g/l a s prídavkom 0,3 g/l bunkových stien a 3 g/l glycinu. Teplota 30 °C.

etanol mal za následok pokles naprodukovanej množstva etanolu, a zároveň zníženie dosiahnutého prírastku biomasy. Stupeň využitia glukózy bol zvýšenou koncentráciou etanolu ovplyvnený iba v médiách obsahujúcich 250 g/l glukózy.

### 3.3 Vplyv protektívnych látok

V médiách so 100 g/l glukózy a v prítomnosti 0 a 150 g/l sorbitolu bol testovaný protektívny účinok prídavku bunkových stien a glycinu. Prídavok obidvoch testovaných látok do médií bez zvýšeného osmotického tlaku spôsobil mierny pokles maximálnej rýchlosti tvorby etanolu a spo-

vých stien a glycinu významne nezmenila. Stupeň využitia glukózy vo všetkých médiách dosiahol 99 %.

Porovnaním priebehu fermentácií v prostredí so zvýšeným osmotickým tlakom s prídavkom glycinu alebo bunkových stien s fermentáciou bez prídavkov možno konštatovať, že prídavok bunkových stien a glycinu spôsobil mierne zvýšenie fermentačnej aktivity kvasiniek, avšak výrazný pozitívny vplyv na maximálnu dosiahnutú koncentráciu etanolu sme nezaznamenali.

Podrobné štúdium procesu fermentácie pri vysokej koncentrácii sacharidov v médiu, a taktiež aj štúdium možností jej stimulácie, je nevyhnutné pre úspešnú aplikáciu technológie produkcie etanolu z vysoko koncentrovaných zápar (VHG technológia) [21] do praxe. VHG technológia zvyšuje kapacitu a efektívnosť zariadení, a taktiež pri-

Tab. 3 Fermentačné parametre etanolovej fermentácie na glukóze s prídavkom sorbitolu, bunkových stien, resp. glycinu. Teplota 30 °C.

Zloženie fermentačného média				Maximálny prírastok biomasy [g/l]	Maximálna koncentrácia etanolu [g/l]	Stupeň využitia glukózy [%]
glukóza [g/l]	sorbitol [g/l]	bunkové steny [g/l]	glycín [g/l]			
100	0	0	0	4,48	45,08	99
100	0	0,3	0	3,39	46,36	99
100	0	0	3	4,53	47,10	99
100	150	0	0	2,34	40,85	99
100	150	0,3	0	1,39	41,40	99
100	150	0	3	2,94	39,56	99

náša nemalé úspory energie a vody, čo vedie ku celkovému zníženiu nákladov na jednotku produktu.

**POĎAKOVANIE:** Ďakujeme Ing. Ondrejovi Čurillovi za odbornú konzultáciu pri analýzach. Táto práca vznikla s príspevom grantu VEGA 1/6252/99.

### Literatúra

- [1] NABETANI H., NAKAJIMA M., WATANABE A.: J. Chem. Engineer. Japan **25**, 1992, s. 269
- [2] CASEY, G. P., INGLEDEW, W. M.: Crit. Rev. Microbiol. **13**, 1986, s. 219
- [3] D'AMORE, T., et al.: Crit. Rev. Biotechnol. **9**, 1990, s. 287
- [4] THOMAS, K. C., et al.: Appl. Biochem. Biotech. **43**, 1993, s. 211
- [5] HOLCBERG, I., B., MARGALITH, P.: Eur. J. Appl. Microbiol. **13**, 1981, s. 133
- [6] MEIKLE, A. J., REED, R.H.: J. Gen. Mikrobiol. **134**, 1988, s. 3041
- [7] HOUNSA, CH. G., et al.: Microbiology **144**, 1998, s. 671
- [8] MAJARA, M., O'CONNOR-COX, E. S. C., AXCELL, B. C.: J. Am. Soc. Brew. Chem. **54**, 1996, s. 149
- [9] NEVOIGH, E., STAHL, U.: FEMS Microbiol. Rev. **21**, 1997, s. 231
- [10] VAN DIJCK, P., et al.: Appl. Environ. Microbiol. **61**, 1995, s. 109
- [11] JONES, A. M., INGLEDEW, W. M.: Process Biochem. **29**, 1994, s. 483
- [12] THOMAS, K. C., INGLEDEW, W. M.: Appl. Environ. Microbiol. **56**, 1990, s. 2046
- [13] THOMAS, K. C., HYNES, S. H., INGLEDEW, W. M.: Appl. Environ. Microbiol. **60**, 1994, s. 1519
- [14] MINÁRIK, E.: Vinohrad **10**, 1985, s. 232
- [15] MINÁRIK, E., et al.: Kvasny Prum. **32**, 1986, s. 169
- [16] OLSON, B.H., JOHNSON, M. J.: J. Bacteriol. **57**, 1949, s. 235
- [17] VRANÁ, D.: Kvasinky ve výskumu a praxi. Academia Praha 1986, 375 s.
- [18] STEWART, P.R.: Analytical methods for yeast. Methods in microbiology. vol. XII. In: Methods in cell biology, 1975, s. 395
- [19] MILLER, G. L.: Anal. Chem. **31**, 1959, s. 426
- [20] ZIFFER, J.: Biotechnol. Lett. **5**, 1983, s. 805
- [21] BAFRNCOVÁ, P., ŠMOGROVIČOVÁ, D.: Chemické listy **93**, 1999, s. 512