

REGULOWANIE STĘŻENIA ŹRÓDŁA WĘGLA
W HODOWLI DROŹDZY PIEKARSKICH, PROWADZONEJ
NA ZASADZIE TLENOSTATU

Tadeusz Miśkiewicz

Instytut Technologii Przemysłu Chemicznego i Spożywczego AE
we Wrocławiu

Wykorzystanie węgla, tlenu i innych składników pokarmowych jako budulca nowych komórek drożdży piekarskich wyrażają bilanse materiałowe. Wynika z nich, że w procesie oddychania drożdży dostarczaniu tlenu towarzyszyć musi jednocześnie wprowadzanie źródła węgla. Zaproponowano więc, by tę współzależność wykorzystać do regulowania dopływu źródła węgla w hodowli *Saccharomyces cerevisiae* na podstawie zmian szybkości zużywania tlenu przez komórki tych drobnoustrojów [9]. Na podstawie nowszych badań wiadomo, że wskaźnikiem szybkości pobierania tlenu może być jego stężenie w podłożu. Zmiany stężenia tlenu rozpuszczonego można zatem wykorzystać do sterowania dopływem źródła węgla [3, 10]. W praktyce metoda ta polega na utrzymywaniu stałego, pożądanego stężenia tlenu rozpuszczonego w środowisku hodowlanym drogą regulowania dopływu pożywki. Dlatego można zaproponować dla niej nazwę tlenostatu.

W ostatnich latach badano tlenostat z punktu widzenia wykorzystania składników pożywki melasowej jako budulca biomasy drożdży piekarskich w hodowlach okresowych [6] i ciągłych [13]. Zaproponowano także oryginalne rozwiązania usprawniające kontrolę dopływu pożywki do podłoża [11] i odpływu przefermentowanej brzezki [12]. Dzięki wymienionym pracom sposób ten, zastosowany do regulowania dopływu melasy, odznacza się wysokim poziomem współczynnika wydajności drożdży piekarskich, dochodzącym do 130% D_{27}/M_{50} . Zalecie tej nie towarzyszy jednak wysoka produktywność ze względu na cechującą tę metodę regulacji niską względną szybkość wzrostu.

Badania uwarunkowań szybkości właściwej wzrostu i możliwości zwiększenia tempa syntezy nowych komórek drożdży piekarskich w przedstawionym systemie sterowania dopływem pożywki są przedmiotem niniejszej pracy.

CZĘŚĆ TEORETYCZNA

Wykaz stosowanych symboli

- c - stężenie źródła węgla w podłożu, mol/dm^3 ,
 c_o - stężenie tlenu rozpuszczonego w podłożu, mol/dm^3 ,
 c_o^t - robocze (bieżące) stężenie tlenu rozpuszczonego w podłożu, mol/dm^3 ,
 c_o^n - stężenie tlenu rozpuszczonego w stanie nasycenia, mol/dm^3 ,
 k_{La} - współczynnik przenikania masy tlenu, h^{-1} ,
 Q_c - szybkość właściwa zużywania źródła węgla, mol/g h ,
 Q_{o_2} - szybkość właściwa zużywania tlenu, mol/g h ,
 X - całkowita masa komórek w podłożu, g,
 x - stężenie biomasy w podłożu, g/dm^3 ,
 $Y_{o/c}$ - współczynnik wyrażający ilość wykorzystanego tlenu przez komórki przypadającą na zużyte źródło węgla, mol/mol ,
 $Y_{x/c}$ - współczynnik wydajności, g/mol,
 $Y_{x/o}$ - współczynnik wydajności dla tlenu, g/mol,
 μ - względna (właściwa) szybkość wzrostu.

Teoria omawianego sposobu bazuje na bilansie dostarczania tlenu do podłoża i jego pobieraniu przez drobnoustroje wyrażonego równaniem [3]:

$$dc_o/dt = k_{La} (c_o^n - c_o^t) - Q_{o_2} x. \quad (1)$$

Jeżeli dąży się do utrzymywania stałej wartości stężenia tlenu rozpuszczonego w podłożu, to czasowa pochodna jego zmian dc_o/dt winna być równa 0. A wtedy:

$$Q_{o_2} x = k_{La} (c_o^n - c_o^t). \quad (2)$$

W praktyce, w krótkich okresach rzędu kilku minut, zarówno współczynnik przenoszenia masy tlenu k_{La} , jak i stężenie biomasy x nie zmieniają się istotnie. Dlatego szybkie zmiany właściwej szybkości pobierania tlenu Q_{o_2} mogą być wykorzystywane do utrzymy-

wania stałej wartości roboczego stężenia tlenu rozpuszczonego c_o^t . Ale im mniejsze są oscylacje c_o^t wokół wartości nastawionej, co jest charakterystyczną cechą tej metody regulacji, tym mniejsze są zmiany Q_{O_2} niezależnie od wartości nastawionej stężenia tlenu rozpuszczonego. Pobierany przez komórki drożdży tlen, zużywany jest jako budulec nowych komórek, co wyraża następujące równanie [2]:

$$Q_{O_2} = \frac{\mu}{Y_{x/o}} \quad (3)$$

Z równania wynika, że małe zmiany Q_{O_2} prowadzą w konsekwencji do małych wartości szybkości względnej wzrostu μ przy stałej wartości współczynnika wydajności dla tlenu $Y_{x/o}$.

Zwiększenia tempa wzrostu komórek można szukać w następujących rozważaniach. Przyrost biomasy dX/dt jest wynikiem wykorzystywania przez drobnoustroje zarówno tlenu dc_o/dt :

$$dX/dt = dc_o/dt Y_{x/o} \quad (4)$$

jak i węgla:

$$dX/dt = dc/dt Y_{x/c} \quad (5)$$

Porównując równania 4 i 5 można napisać:

$$dc_o/dt Y_{x/o} = dc/dt Y_{x/c} \quad (6)$$

Ponieważ:

$$\frac{Y_{x/c}}{Y_{x/o}} = Y_{o/c} \quad (7)$$

stąd:

$$dc_o/dt = dc/dt Y_{o/c} \quad (8)$$

Wielkość $Y_{o/c}$, występująca w równaniach 7 i 8, jest współczynnikiem wyrażającym ilość pobranego tlenu przypadającą na zużyte źródło węgla. Z równania 8 wynika, że utrzymywanie stężenia tlenu rozpuszczonego na stałym poziomie jest wynikiem wprowadzania do podłoża minimalnych ilości źródła węgla. Jak wiadomo ogranicza to tempo wzrostu. Aby osiągnąć efekt przeciwny należy spowodować zwiększenie ilości tlenu pobieranego przez komórki, np. przez

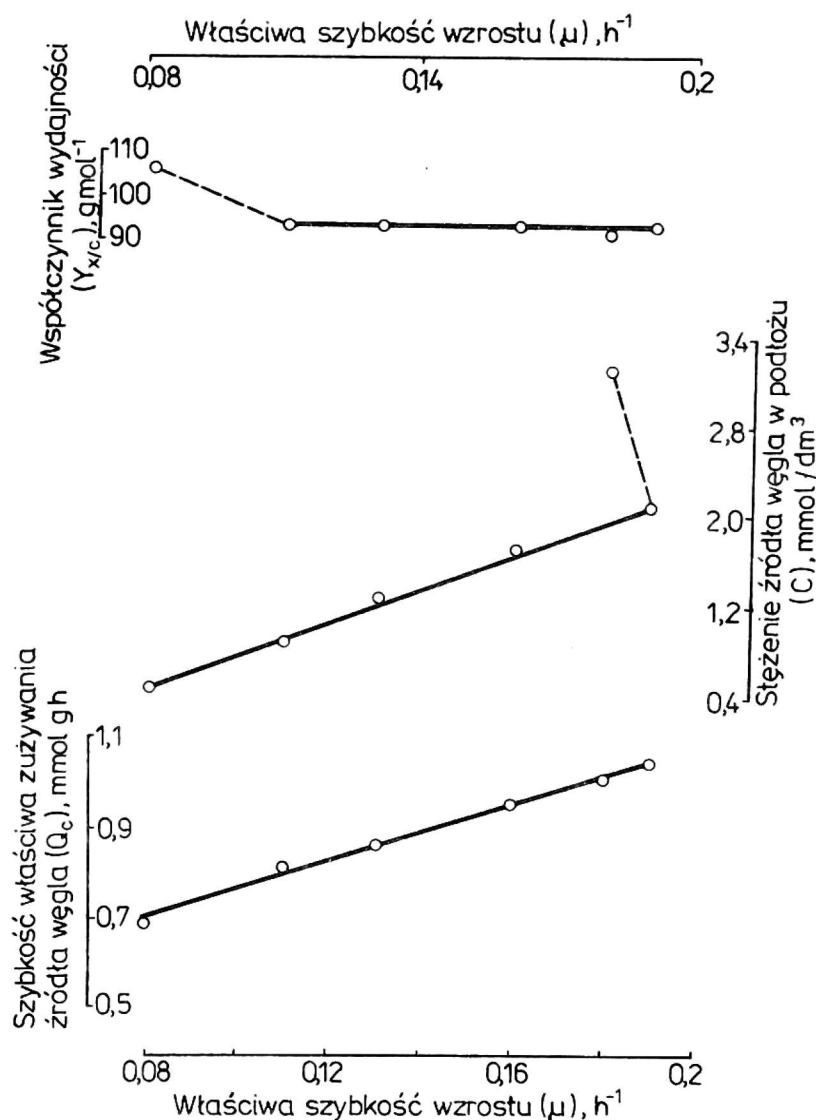
wprowadzenie do środowiska hodowlanego większych ilości źródła węgla, co wynika z równania 8. Wniosek taki zmienia dotychczasowe spojrzenie na tlenostat. Nie sugeruje bowiem utrzymywania stałej wartości stężenia tlenu rozpuszczonego, ale przeciwnie, skłania do wzrostu jego oscylacji, poprzez zwiększanie stężenia źródła węgla w podłożu tak daleko, jak jest to uzasadnione wzrostem szybkości właściwej wzrostu. Przedstawiona sugestia wymaga praktycznej weryfikacji.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Źródłem węgla i energii dla drożdży piekarskich *Saccharomyces cerevisiae* I-Sc/191 (Katalog Czystych Kultur Drożdży Instytutu Przemysłu Fermentacyjnego) był roztwór melasy buraczanej, zawierający 300 g/dm^3 substancji redukujących w przeliczeniu na glukozę, uzupełniony składnikami mineralnymi i witaminami według Janshekara i Fiechtera [4]. Wyliczone ilości pożywki dozowano na sygnał „on” tradycyjnego układu wykonawczego tlenostatu przy jednoczesnej rezygnacji z sygnału „off”. Pozwoliło to na niezbędne w tej pracy utrzymywanie stężenia źródła węgla w kolejnych hodowlach, równego odpowiednio: 0,4, 0,8, 1,2, 1,6, 2,0 i $3,0 \text{ mmola/dm}^3$. Hodowle prowadzono w fermentorze o całkowitej pojemności równej 3 dm^3 w temperaturze 30°C . Do utrzymywania pH na poziomie 5,0 używano 25% wody amoniakalnej. Stężenie tlenu rozpuszczonego mierzono czujnikiem membranowym [5], stężenie biomasy turbidymetrycznie [7], a ilość substancji redukujących oznaczano kolorymetrycznie według Nelsona [8]. Dopływ nowej porcji pożywki uruchamiano w momencie osiągnięcia 45% stanu nasycenia przez robocze stężenie tlenu rozpuszczonego.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Rezultaty badań (tab. 1, rys. 1) wykazały, że zwiększanie stężenia źródła węgla w podłożu od 0,4 do $2,0 \text{ mmola/dm}^3$ wywoływało wzrost względnej szybkości wzrostu drożdży z $0,08$ do $0,19 \text{ h}^{-1}$. Dalsze zwiększanie stężenia źródła węgla do $3,0 \text{ mmola/dm}^3$ spowodowało obniżenie μ do $0,18 \text{ h}^{-1}$. Było to rezultatem powstałego w tych warunkach efektu Crabtreego (inhibicja przez nadmierne stężenie źródła węgla).



Rys. 1. Podstawowe wskaźniki wzrostu drożdży piekarskich w zależności od względnej szybkości wzrostu

Współczynnik wydajności $Y_{x/c}$, wynoszący niewiele ponad 90 g/mol, był niezależny od względnej szybkości wzrostu w szerokim zakresie μ . Nieoczekiwana, stała wartość współczynnika wydajności jest, jak się wydaje, konsekwencją stosowania do sterowania dopływem źródła węgla zasady sprzężenia zwrotnego. Polegała ona na tym, że każda następna porcja pożywki wprowadzana była do podłoża fermentacyjnego po całkowitym zużyciu przez komórki poprzedniej, o czym świadczył wyraźny wzrost stężenia tlenu rozpuszczonego do wartości nastawionej. Bardzo wysoka wartość $Y_{x/c}$ otrzymana w hodowli, w której $c = 0,4$ mmola/dm³, sugeruje, że w warunkach bardzo małych ilości pokarmu, wykorzystanie jego składników na budowę nowych komórek było szczególnie wydajne. Zależność pomiędzy szybkością właściwą pobierania źródła węgla Q_{O_2} i szybkością właściwą wzrostu miała charakter liniowy, co jest typowe dla hodowli drożdży w warunkach tlenowych [4].

Wyniki hodowli drożdży piekarskich prowadzonej na zasadzie zmodyfikowanego tlenostatu

Stężenie źródła węgla w podłożu (w mmol/dm ³)	Współczynnik wydajności (w g/mol)	Szybkość właściwa zużycia źródła węgla (w mmol/g h)	Szybkość właściwa wzrostu (w h ⁻¹)
0,4	104,4	0,67	0,08
0,8	91,8	0,80	0,11
1,2	93,6	0,85	0,13
1,6	92,0	0,95	0,16
2,0	92,2	1,04	0,19
3,0	90,0	1,00	0,18

PODSUMOWANIE

Zwiększenie szybkości właściwej wzrostu drożdży piekarskich poprzez sterowanie stężeniem źródła węgla w podłożu fermentacyjnym potwierdziło sugestię wynikającą z rozważań teoretycznych. W związku z tym należy poddać gruntownej analizie dotychczasowe zasady sterowania dopływem źródła węgla na podstawie zmian stężenia tlenu rozpuszczonego w podłożu i opracować nowe rozwiązanie zapewniające wysokie wartości, zarówno współczynnika wydajności komórkowej, jak i szybkości właściwej wzrostu. Rozstrzygnięcia wymaga w szczególności problem ustalenia odpowiedniej szybkości dopływu pożywki, bo jak wynika z przedstawionej pracy, od szybkości dopływu pożywki zależy zarówno tempo biosyntezy nowych komórek, jak i jej wydajność.

LITERATURA

1. Crabtree H.G.: Biochem. J., 23, 536, 1929.
2. Harrison D.E.F.: The oxygen metabolism of microorganisms, Meadowfield Press Ltd., England 1976.
3. Hospodka J.: Biotechnol. Bioeng., 8, 117, 1966.
4. Janshekar H., Fiechter A.: Problems with molasses in the yeast industry, Kauppakirjapaino OY, Helsinki 1980.
5. Johnson M.J., Borkowski J., Engblom C.: Biotechnol. Bioeng., 6, 457, 1964.
6. Miśkiewicz T.: Niektóre możliwości intensyfikacji hodowli drożdży piekarskich, Akademia Ekonomiczna we Wrocławiu, praca nie publikowana (praca doktorska) 1976.

7. Miśkiewicz T.: Przem. Ferm. Rol., 22, 3, 17, 1978.
8. Nelson N.: J. Biol. Chem., 153, 375, 1944.
9. Ohashi M.: J. Chem. Soc. Japan, 61, 1001, 1958.
10. Opis patentowy Czechosłowacji nr 116642.
11. Opis patentowy Polski nr 105760.
12. Opis patentowy Polski nr 108041.
13. Pietkiewicz J.: Badania nad hodowlą ciągłą drożdży piekarskich, Akademia Ekonomiczna we Wrocławiu, praca nie publikowana (praca doktorska), 1979.
14. Pirt S.J.: Proc. R. Ser. B, 163, 224, 1965.

Т. Миськевич

РЕГУЛИРОВАНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ИСТОЧНИКА УГЛЕРОДА
В ПРОЦЕССЕ ВЕДЕНИЯ КУЛЬТУРЫ ХЛЕБОПЕКАРНЫХ ДРОЖЖЕЙ
НА ОСНОВЕ ДО-СТАТА

Р е з ю м е

Описывается новая версия ДО-стата (dissolved oxygen state) заключающаяся в регулировании количества вводимого в бродильную среду дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* источника углерода. Повышение концентрации углерода с 0,4 до 2,0 ммоль/дм³ отвечало повышению значения удельной скорости роста с 0,08 до 0,19 ч. Коэффициент преобразования субстрата в биомассу осциллировал вокруг 92 г/мол.

T. Miśkiewicz

REGULATION OF THE CARBON SOURCE CONCENTRATION
IN RUNNING THE CULTURE OF BAKING YEASTS BASED
ON THE DO-STATE PRINCIPLE

S u m m a r y

A new version of the DO-state (dissolved oxygen state) consisting in regulation of the amount of carbon source introduced into the fermenting medium of the *Saccharomyces cerevisiae* yeasts is described. Increase of the carbon source concentration from 0.4 up to 2.0 mmol/dm³ corresponded to an increase of the specific growth rate value from 0.08 up to 0.19 h⁻¹. The coefficient of substrate conversion into biomass oscillated around 92 g/mol.