Lihovarství a drožďářství

Intenzifikace a optimalizace procesu při průmyslové kultivaci mikroorganismů

663.132

ING. VLADIMÍR ŠIMEK, Výzkumný ústav krmivářského průmyslu a služeb, Praha

ÚVOD

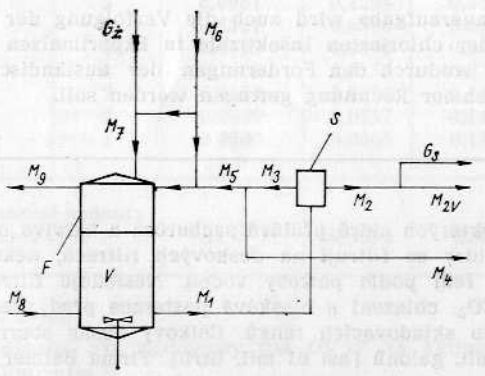
V jakékoli průmyslové výrobě je trvalou snahou snižovat náklady na výrobu a vyrábět s vyšší ekonomikou. Tato snaha působí i při produkci mikroorganismů, kde jde o intenzifikaci a optimalizaci celého procesu, čímž se dosáhne zejména úspor na provozních i investičních nákladech.

V časopisu „Kvasný průmysl" [1, 2] byly otištěny články o kontinuální kultivaci mikroorganismů s částečnou recirkulací média, v nichž bylo v této souvislosti poukázáno také na některé možnosti při zjišťování mezních hodnot intenzifikačního procesu.

V tomto článku je problém blíže rozveden, jsou určeny podmínky pro stanovení limitních mezí intenzifikačního procesu v souvislosti s recirkulací média. Na závěr je uveden přehled a zhodnocení kultivace mikroorganismů z hlediska recirkulace jednotlivých složek média.

1. Kultivace mikroorganismů při úplné recirkulaci média

Na *obr. 1* je znázorněna část linky na kontinuální průmyslovou produkci mikroorganismů, např. na výrobu krmných kvasnic ze syntetického etanolu. Je zde uvedena fermentace, separace a jsou zde označeny jednotlivé proudy k vyjádření látkových bilancí.



Obr. 1.

F — fermentor, S — separační stanice, M_1 — odtah na separaci, M_2 — proud na sušárnu, M_{2V} — kapalná část proudu M_2, G_s — hmota kvasnic v proudu M_2; M_3, M_5 — zpětné proudy do fermentoru, M_4 — odpadní voda na čističku, M_6 — přítok čisté vody, M_7 — přítok živného média (surovina a soli), M_8 — přívod vzduchu, M_9 — odvod vzduchu, G_z — přívod koncentrovaných živin a surovin, V — účinný objem fermentoru

Zapojení podle *obr. 1* umožňuje provádět kontinuální kultivaci mikroorganismů s částečnou recirkulací média, jak bylo popsáno v Kvasném průmyslu [L_1, L_2]. Při tomto zapojení je v ustáleném stavu látková bilance

$$(G_z + M_6 + M_8 - M_9)\,dt = (M_1 - M_5)\,dt \qquad (1)$$

kde t je čas,

G_z, $M_1 - M_9$ — jednotlivé proudy [kg/h]

Ve zvláštním případě může být $M_2 = 0$ a $M_4 = 0$. Potom je $M_3 = M_5 = M_1$, což představuje úplnou recirkulaci média včetně mikroorganismů, přičemž není rozhodující, zda recirkulace probíhá mimo fermentor nebo uvnitř fermentoru. Pro tento případ nemůže proces probíhat kontinuálně a objem ve fermentoru V není konstantní. Přírůstek objemu dV můžeme vyjádřit

$$(G_z + M_6 + M_8 - M_9)\,dt = dV \qquad (2)$$

Podrobněji bude přírůstek dV vyjádřen v dalších odstavcích jako úplná recirkulace jednotlivých složek.

Předpokládáme, že biochemický proces není ničím omezen, koncentrace mikroorganismů i ostatních složek je pod limitní mezí. Složky média můžeme rozdělit na složku mikroorganismů a ostatní jednotlivé složky.

1.1 *Složka mikroorganismů při úplné recirkulaci média*

Podle rovnice (2) můžeme napsat látkovou bilanci pro složku mikroorganismů, která se tvoří jako určitá část jednotlivých proudů

$$(G_z \,.\, k_1 + M_6 \,.\, k_2 + M_8 \,.\, k_3 - M_9 \,.\, k_4)\,dt = V \,.\, dz \qquad (3)$$

kde z je koncentrace mikroorganismů ve fermentoru [kg/kg],

$k_1 - k_4$ — součinitele vyjadřující hmotový podíl jednotlivých proudů pro složku biomasy

Tímto vztahem je určen poměr mezi množstvím surovin (popřípadě metabolitů) a množstvím vytvořené biomasy podle biochemické reakce. Při průmyslové kultivaci mikroorganismů je prakticky tento poměr vyjdřován normou spotřeby živných látek na jednu tunu biomasy. Není však zde určen průběh spotřeby surovin v závislosti na čase, který je nutno vyjádřit z poznatků o růstu živé hmoty. Pro živou hmotu je charakteristické, že neustále vzniká, roste a odumírá, přičemž během své existence má stále výměnu látkovou s okolím. Přírůstek živé hmoty v určitém čase můžeme vyjádřit jako jistý podíl z výchozího počtu jedinců, nebo u mikroorganismů při velkém počtu jedinců jako podíl z celkové výchozí hmoty. I když se množství mikroorganismů mění, tento podíl je za optimálních podmínek konstantní, neboť každý druh má určitou délku života a určitou rozmnožovací schopnost. V matematickém vyjádření to bude

$$(G_z \,.\, k_1 + M_6 \,.\, k_2 + M_8 \,.\, k_3 - M_9 \,.\, k_4)\,dt = V \,.\, z \,.\, k_5 \,.\, dt \qquad (4)$$

kde k_5 je součinitel vyjadřující podíl mezi hmotou nově vzniklé biomasy a výchozí hmotou biomasy za určitý čas.

Dosazením do rovnice (3) dostaneme

$$V \,.\, z \,.\, k_5 \,.\, dt = V \,.\, dz$$

po oddělení proměnných a integrací bude

$$\ln z = k_5 . t + c$$

Integrační konstantu c určíme pro $t = 0$, kdy $z = z_1$, potom $c = \ln . z_1$ a dostaneme

$$z = z_1 . e^{k_5 . t}$$

Pro určení konstanty k_5 si zvolíme $z = 2 . z_1$ a čas $t = T$, který představuje čas nutný ke zdvojnásobení biomasy. Po dosazení a logaritmování je $k_5 = \frac{\ln 2}{T}$. Dostaneme závislost

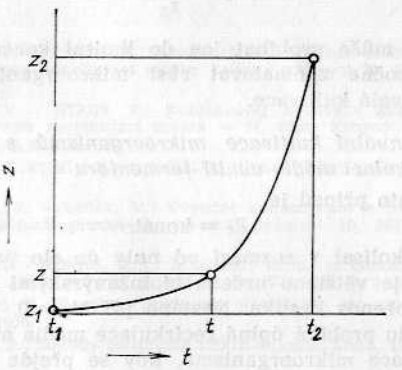
$$z = z_1 . e = z_1 . e^{\frac{\ln 2 . t}{T}} = z_1 . e^{\mu . t} \qquad (5)$$

Toto je známá závislost pro růst biomasy v batch procesu a nazývá se růstovou křivkou, když konstantu k_5 označíme μ ve významu tzv. růstové rychlosti.

Tím jsme získali závislost pro růst biomasy v batch procesu v souvislosti s recirkulací média.

Při nepřetržité produkci se úplná recirkulace média provádí jen na počátku kontinuálního cyklu, nebo při kontinuální kultivaci s periodickým odběrem, během této periody.

Na *obr. 2* je znázorněna závislost podle rovnice (5) jako tzv. růstová křivka.



Obr. 2

Při exeperimentálním zjišťování jeví se sice u této křivky určité odchylky, zejména na počátku a na konci křivky, ale pro tyto účely postačí zjednodušený průběh podle uvedené exponenciální závislosti. Krajní body růstové křivky jsou z_1 a z_2.

Bod z_1 — představuje minimální koncentraci mikroorganismů ve fermentoru. Teoreticky je možno kultivaci začínat od jedné buňky. Při průmyslové kultivaci se sice neprovádí rozmnožování od jedné buňky, ale protože až do určité limitní meze probíhá růst jednotlivé buňky nezávisle na druhých buňkách, můžeme látkovou bilanci podle *obr. 1* a rovnice (1) a (2) vyjádřit i pro jednotlivou buňku, která pak pracuje jako fermentor s kontinuální kultivací a periodickým odběrem biomasy při dělení buňky za generační dobu T. Během této periody je přírůstek biomasy jako u fermentoru s úplnou recirkulací média. Zvyšování koncentrace ostatních složek v okolí buňky (inhibitory, metabolity) je jako u fermentoru s částečnou recirkulací při kontinuálním provozu, nebo jako u fermentoru s úplnou recirkulací až do limitní meze při periodickém provozu.

Bod z_2 — představuje limitní mez při exponenciálním růstu biomasy a jeho určení bude popsáno v další části.

1.2 *Ostatní složky při úplné recirkulaci média*

Ostatní složky (stimulátory, inhibitory, metabolity) přicházejí do fermentoru ve vstupních proudech se surovinou, nebo vznikají v biochemické reakci a odcházejí ve výstupních proudech z fermentoru.

Jejich koncentraci můžeme určit jako v předchozím odstavci z látkové bilance pro jednotlivou složku, která pro úplnou recirkulaci bude mít tvar

$$G_x . dt = V . dx \qquad (6)$$

kde x je koncentrace libovolné složky mimo biomasu (kg/kg)

G_x — množství jednotlivé složky přicházející nebo vznikající ve fermentoru (kg/h)

Koncentraci jednotlivých složek však můžeme určit jednodušším postupem, který vyplývá ze zákona o zachování vzájemných poměrů hmotových při biochemické reakci, o němž předpokládáme, že platí pro jednotlivé složky až do limitní meze. Vzájemný poměr jednotlivých složek bude

$$\frac{x_1}{z_1} = \frac{x}{z} = \frac{x_2}{z_2} \qquad (7)$$

Dosadíme-li z rovnice (5) za z do rovnice (7), dostaneme závislost pro x

$$x = x_1 . e^{\mu . t} \qquad (8)$$

Z rovnice (8) vyplývá, že koncentrace ostatních složek v závislosti na čase za uvedených předpokladů se mění při úplné recirkulaci média stejně jako u složky mikroorganismů.

2. Stanovení limitní meze intenzifikačního procesu

Přírůstek biomasy v závislosti na čase podle rovnice (5) probíhá jen do určité limitní meze z_2. Za touto mezí se růst mikroorganismů zpomaluje nebo úplně zastavuje. Z těchto důvodů lze trvale produkovat biomasu kontinuálním způsobem jen v koncentracích z_2 nebo nižších.

Zjištění koncentrace z_2 je důležité jako charakteristický parametr určitého druhu mikroorganismů a jako významný parametr ovlivňující ekonomiku jeho průmyslové produkce.

Trvalou snahou je zvyšovat výkonnost výrobních zařízení, tzn. pěstovat mikroorganismy při vyšší koncentraci, čímž se uspoří zvláště na investičních a provozních nákladech. Pro vývoj nových zařízení má tento údaj značný význam, neboť udává popřípadě i perspektivně, jaké mohou být požadavky na bioinženýrské parametry, jako je např. přenos kyslíku apod.

Na dosavadních provozních nebo i laboratorních fermentorech nemůžeme limitní mez zjišťovat, protože přenos kyslíku odpovídá mnohem nižší koncentraci mikroorganismů, než je limitní mez z_2. Vyžadovalo by to většinou nové fermentační zařízení včetně různých doplňků.

Mnohem výhodnější pro zjištění limitní meze z_2 je použití stávajícího fermentačního zařízení podle *obr. 1*, ať již je v provozním nebo laboratorním provedení, tj. zapojení pro kontinuální kultivaci mikroorganismů s částečnou recirkulací média. Fermentor má určitý přenos kyslíku, při kterém se dosáhne na počátku kultivace v batch procesu koncentrace z_i, nacházející se mezi body z_1 a z_2. Pro tuto koncentraci se provede zapojení na kontinuální provoz a nastaví se rovnováha mezi přírůstkem biomasy a jejím odběrem, což představuje zapojení bez vnější recirkulace ($M_5 = 0$) s určitým stupněm vnitřní recirkulace. Po této fázi se postupným snižováním proudu M_4 a zvyšováním proudu M_5 zavede vnější recirkulace média, které obsahuje všechny složky mimo mikroorganismy. Pro libovolnou složku x platí látková bilance

$$G_x \cdot dt = V \cdot dx + (M_1 - M_5) \cdot x \cdot dt + M_9 \cdot k \cdot x \cdot dt \quad (9)$$

Po úpravě bude tato rovnice, tj. koncentrace složky x v závislosti na čase, podle vztahu, který byl uveden dříve [L_2]

$$x = x_2 \left(1 - \frac{1}{e^{\frac{t}{n}}} \right) \quad (10)$$

kde t je čas
n — časová konstanta

koncentrace složky x se zvyšuje až do bodu x_2, jenž je pro biochemický proces limitní. Jeho hodnota je dána vztahem, který byl též uveden v [L_2]

$$x_2 = \frac{G_x}{M_2 + k \cdot M_9} \quad (11)$$

kde k je konstanta

Jak vyplývá z rovnice (7), odpovídá hodnotě x_2 současně i limitní koncentrace z_2. Vyjádřeno matematicky to bude

$$z_2 = z_i \frac{x_2}{x_i} \quad (12)$$

Z uvedeného postupu vyplývá, že hodnotě proudu M_2, popřípadě M_4, M_5 odpovídá i určitá koncentrace jednotlivé složky x až k její limitní hodnotě x_2. Protože velikost proudu $M_4 \cdot M_5$ vyjadřuje určitý stupeň recirkulace média, můžeme též tuto recirkulaci vyjádřit koncentrací složky x. Je výhodné zvolit koncentraci x_2 jako stoprocentní recirkulaci a hodnoty mezi body 1 a 2 vyjádřit příslušným podílem. V matematickém vyjádření to bude

$$R_c = \frac{x}{x_2} 100 \quad (13)$$

kde R_c je stupeň recirkulace média v procentech.

Maximální recirkulace je určena limitním bodem x_2 určité rozhodující složky, ať je to složka vyjadřující vnesené nečistoty surovin nebo vznikající metabolity při biochemickém procesu. Zjištěním jednotlivých rozhodujících složek je možno upravit nebo posunout jejich limitní koncentraci a tak provést optimalizaci a zhospodárnění celého biochemického procesu, ať již jde o odstranění nečistot ze surovin nebo o přídavek vhodných růstových látek.

Výhodou uvedeného způsobu je, že umožňuje zjistit limitní koncentraci mikroorganismů při postupném zvyšování inhibičních složek, čímž se získá údaj mnohem spolehlivější a že různého stupně recirkulace média lze velmi snadno dosáhnout bez potřeby nákladných investic.

3. Přehled kultivace mikroorganismů z hlediska recirkulace média

Jak bylo uvedeno, jednotlivá buňka roste nezávisle na ostatních buňkách až do jisté limitní meze, kdy se zvýší ve fermentoru koncentrace některé složky na limitní hodnotu x_2. Potom se biochemický proces zpomaluje nebo úplně zastavuje. Podle rovnice (13) lze zvyšování této složky vyjádřit jako stupeň recirkulace média. V přehledu jsou podle *obr. 1* uvedeny nejdůležitější způsoby kultivace z hlediska recirkulace média.

3.1 *Kultivace mikroorganismů bez recirkulace média*

Pro tento případ bude

$$R_c = 0$$

Stupeň recirkulace se blíží nule, ale nenabývá nulové hodnoty, protože to by znamenalo i nulovou koncentraci mikroorganismů, což by nemělo význam. Pokud bude dále uvedena nulová recirkulace, je míněna v tomto smyslu.

Splnění uvedené podmínky můžeme provést tak, že i koncentrace mikroorganismů se blíží nule, nebo koncentrace mikroorganaismů je sice v rozmezí z_1 až z_2, ale koncentrace ostatních složek se blíží nule, čehož lze dosáhnout tím, že proud M_1 je co největší a mikroorganismy se z něj oddělují a vracejí zpět do fermentoru.

Oba tyto způsoby nemají zatím z ekonomických důvodů v průmyslové výrobě použití.

3.2 *Kultivace mikroorganismů při úplné recirkulaci média*

Při úplné recirkulaci je

$$R_c = 0 \text{ až } 100$$

a nastane při $M_5 = 0$ a $M_1 = 0$

Za těchto podmínek vznikne určitá forma recirkulace uvnitř fermentoru. Koncentrace mikroorganismů se mění od z_1 do z_2 podle vztahu

$$z = z_1 \cdot e^{ut}$$

a koncentrace ostatních složek se mění od x_1 do x_2 podle vztahu

$$x = x_1 \cdot e^{ut}$$

Protože zde platí rovnice (7), lze stupeň recirkulace vyjádřit též koncentrací mikroorganismů

$$R_c = \frac{z}{z_2} 100$$

Proces může probíhat jen do limitní koncentrace z_2, kdy se počne zpomalovat růst mikroorganismů. Není možná trvalá kultivace.

3.3 *Kontinuální kultivace mikroorganismů s částečnou recirkulací média uvnitř fermentoru*

Pro tento případ je

$$R_c = \text{konst.}$$

a může kolísat v rozmezí od nuly do sto procent. Její hodnota je většinou určena bioinženýrskými parametry, jako je přenos kyslíku. Nastane při $M_5 = 0$. V počátečním stádiu probíhá úplná recirkulace média až do určité koncentrace mikroorganismů, kdy se přejde na kontinuální kultivaci.

Při kontinuální kultivaci je koncentrace mikroorganismů konstantní a může mít hodnoty od z_1 do z_2. Koncentrace ostatních složek je též konstantní a může mít hodnoty od x_1 do x_2 a odpovídá koncentraci z podle rovnice (7). Je možný trvalý provoz v rámci výrobního cyklu.

3.4 *Kontinuální kultivace mikroorganismů s částečnou recirkulací média uvnitř i mimo fermentor*

V ustáleném stavu je

$$R_c = 100$$

Počátek kultivace je stejný jako v předchozím odstavci, kdy nejdříve probíhá kultivace s úplnou recirkulací média, která přejde na kontinuální způsob s určitým stupněm recirkulace uvnitř fermentoru.

V tomto stádiu se zahájí recirkulace média mimo fermentor tím, že se postupně zvětšuje proud M_5, až se ustálí limitní koncentrace některé složky.

Koncentrace mikroorganismů ve fermentoru je konstantní a neudává stupeň recirkulace média. Může nabývat hodnoty od z_1 do z_2 a většinou je určena bioinženýrskými parametry.

Koncentrace ostatních složek se mění od hodnot x_1 do x_2. Na počátku kultivace, kdy je úplná recirkulace všech složek, mění se, jak je uvedeno v odstavci 3.2, až do přechodu na kontinuální proces. Po zavedení recirkulace média mimo fermentor se mění koncentrace jednotlivých složek podle vztahu

$$x = x_2\left(1 - \frac{1}{e^{\frac{t}{n}}}\right)$$

a ustálí se na limitní hodnotě x_2.

Je možný trvalý provoz v rámci výrobního cyklu.

3.5 *Jiné možnosti kultivace mikroorganismů*

Při produkci mikroorganismů se mohou vyskytnout i jiné způsoby kultivace.

Například někdy je výhodný způsob kontinuální kultivace mikroorganismů s periodickým odběrem částí mikroorganismů a média, při kontinuálním přítoku živných látek během této periody. Jde zde o kontinuální kultivaci mikroorganismů s částečnou recirkulací média uvnitř fermentoru, přičemž v rozmezí odběrové periody se mění v jistém rozsahu koncentrace mikroorganismů a ostatních složek podle úplné recirkulace média.

Jsou možné i další způsoby kultivace mikroorganismů, zejména při přechodových stavech mezi jednotlivými způsoby kultivace, většinou se však jedná o různé kombinace uvedených způsobů, ať již probíhají současně nebo v určitém časovém sledu. Z hlediska průmyslového využití mají však obvykle jen menší význam.

Literatura

[1] ŠIMEK, V. - ŠTROS, F.: Kontinuální kultivace mikroorganismů s částečnou recirkulací média. Kvasný průmysl **20**, 1974, č. 10, s. 217—220.

[2] ŠIMEK, V. - ŠTROS, F.: Kontinuální kultivace mikrorganismů s částečnou recirkulací média — II. část. Kvasný průmysl **21**, 1975, č. 10, s. 226—229.

[3] MÁLEK, I. et al.: Kontinuální kultivace mikroorganismů, ČSAV, 1964.

[4] KADLEC, K. - LABÍK, V.: Výpočet koncentrace a úletu etanolu při aeračních procesech. Kvasný průmysl **19**, 1973, č. 11, s. 247—252.

[5] WHITE I. - MUNNS, D. J.: Inhibitory effect of common elements towards yeast growth, J. Inst. Brew. **57**, 1951, č. 3, s. 175—179.

[6] PERRY, J. H. Chemical Engineers Handbook. Mc grow Hill Book Comp., 1963.

[7] SIKYTA, B.: Metody technické mikrobiologie, SNTL, 1978.

Šimek, V.: Intenzifikace a optimalizace procesu při průmyslové kultivaci mikroorganismů. Kvas. prům., **26**, 1980, č. 7, s. 152—156.

Článek navazuje na publikaci [1, 2], v níž bylo v souvislosti s recirkulací média poukázáno na některé problémy spojené s intenzifikací procesu při produkci mikroorganismů.

V prvé části je rozvedena kultivace mikroorganismů při úplné recirkulaci média. Látková bilance při biochemickém procesu ve fermentoru je sledována pro složku mikroorganismů a ostatní složky, kde výsledkem jsou exponenciální vztahy pro změnu koncentrace jednotlivých složek v závislosti na čase.

V druhé části je uveden postup pro stanovení limitní meze intenzifikačního procesu pro libovolnou složku. S výhodou je použito zapojení fermentačního zařízení pro kontinuální kultivaci mikroorganismů s částečnou recirkulací média. Za měřítko intenzifikačního procesu je zvolen stupeň recirkulace média.

V závěru je přehled kultivace mikroorganismů z hlediska recirkulace média, kde celý proces kultivace je rozdělen na několik základních způsobů, s uvedením vztahů pro změnu koncentrace jednotlivých složek v závislosti na čase.

Шимек, В.: Интенсификация и оптимизация процессов разведения микроорганизмов в промышленном масштабе. Квас. прум. **26**, 1980, № 7, стр. 152—156.

Статья является продолжением работ [1, 2], посвященных рециркуляции питательной среды, в связи с чем были в них затронуты некоторые проблемы интенсификации процесса разведения микроорганизмов.

В первой части рассматривается разведение микроорганизмов в условиях рециркуляции всей питательной среды. Материальный баланс, результирующий из биохимического процесса, проходящего в бродильном аппарате, охватывает как микроорганизмы, так и все другие составляющие. Изменения их концентрации в зависимости от времени приведены в форме показательных уровнений.

Вторая часть посвящена пределам возможной интенсификации отдельных факторов. Отмечаются преимущества бродильных установок с частичной рециркуляцией питательной среды, используемых для непрерывного разведения микроорганизмов. В качестве критерия степени интенсификации применяется количество рециркулируемой среды.

В заключительной части приведены разные методы разведения в установках с рециркуляцией, а также формулы для расчета концентрации отдельных составляющих и ее изменений во времени.

Šimek, V.: Intensification and Optimization of Processes Applied in Industries Cultivating Microorganisms. Kvas. prům. **26**, 1980, No. 7, pp. 152—156.

The article deals with some problems connected with the cultivation of microorganisms on an industrial scale, especially with the recirculation of medium and intensification of processes, i. e. with problems touched already in [1, 2].

In the first part of the article the author outlines specific features of cultivation in plants with full-scale circulation of medium. Mass balance resulting from biochemical processes taking place in fermenters is calculated both for cultivated microorganisms and other components. Concentration changes of components are time dependant and can be described by exponential formulae.

In the second part limits of intensification are specified for individual components. Good results can be achieved in fermenters for continuous cultivation operating with partial medium recirculation. Intensification degree is measured by recirculation rate.

Closing paragraphs deal generally with various methods of cultivation in recirculating plants. Time dependant concentration changes for discussed methods are specified in a number of formulae.

Šimek, V.: Intensifizierung und Optimierung des Prozesses bei der industriellen Kultivation von Mikroorganismen. Kvas. prům. **26**, 1980, No. 7, S. 152—156.

Der Artikel knüpft an die Veröffentlichugen [1, 2] an, in denen im Zusammenhang mit der Rezirkulation des Mediums auf einige mit der Intensifizierung des Prozesses der Produktion der Mikroorganismen verbundene Probleme hingewiesen wurde.

In dem ersten Teil wird die Kultivation der Mikroorganismen bei der vollkommenen Rezirkulation des Mediums erörtert. Die Stoffbilanz bei dem biochemischen Prozeß im Fermentor wird für den Bestandteil der Mikroorganismen und auch für die übrigen Bestandteile verfolgt, wo das Ergebnis durch exponentiale Beziehungen für die Änderung der Konzentration der einzelnen Bestandteile in Abhängigkeit von der Zeit gegeben ist.

In dem zweiten Teil wird das Verfahren für die Ermittlung der Limitgrenze des Intensifikationsprozesses

für jedes beliebige Bestandteil angeführt. Mit Vorteil wird die Einschaltung der Fermentationsanlage für die kontinuierliche Kultivation von Mikroorganismen mit teilweiser Medium-Rezirkulation angewendet. Als Maßstab des Intensifikationsprozesses wurde der Grad der Medium-Rezirkulation gewählt.

Zum Schluß wird eine Übersicht der Kultivation der Mikroorganismen vom Standpunkt der Medium-Rezirkulation gegeben, wo der gesamte Kultivationsprozeß in einige Grundverfahren mit Anführung der Beziehungen zur Änderung der Konzentrationen der einzelnen Bestandteile in Abhängigkeit von der Zeit eingeteilt wird.