

V. Matelová, M. Musílková, J. Nečásek a F. Šmejkal:

Vliv přerušovaného vzdušnění na produkci chlortetracyklinu

(Výzkumný ústav antibiotik, Roztoky u Prahy)

Submersní fermentaci možno provádět buď laboratorní kultivací na třepacím stroji, anebo pomocí kvasných tanků. V prvním případě je provzdušňování kultury podmíněno protřepáváním tekuté živné půdy, v druhém proháněním vzduchu za současného promíchávání media míchadlem. Jak při laboratorní fermentaci třepačkové, tak při fermentaci tankové nutno však počítat s tím, že provzdušňování kultury není nepřetržité. V laboratoři je třepání přerušováno na př. při odběru vzorků a při obvyklém smývání baňkových kultur, při tankových fermentacích vede k vypínání míchadla, které umožňuje a ovlivňuje využití vhaněného vzduchu (Brown 1950), zejména tvorba pěny, je-li nezvládnutelná protipěnovým prostředkem. Lze upozornit i na okolnosti technického rázu, na př. na závady v dodávce elektřiny.

Věnovali jsme se otázce vlivu přerušovaného provzdušňování na výtěžky fermentací chlortetracyklinu (obch. ozn. aureomycin) proto, že této okolnosti bylo možno přičítati některé nesrovnalosti, které vykazovala fermentace tohoto antibiotika na laboratorních tancích. Zde jsme používali silně pěnovou fermentační půdu suspensního charakteru.

V literatuře jsme nenalezli údajů o vlivu přestávek v provzdušňování kultur na výtěžky fermentací antibiotik, i když literatura o vlivu intenzity provzdušňování na produkci na př. penicilinu jest rozsáhlá (cf. Chain 1952). Byly však publikovány (Hromatka 1951, 1952) detailní výsledky pokusů, objasňující vliv přerušovaného provzdušňování pro submersní octové kvašení *Acetobakterem*. I když lze zde vytknouti některé methodické závady a i když nelze souhlasit se všemi uzávěry, zůstává faktem, že při octovém kvašení působí přerušování provzdušňování již na několik desítek vteřin pronikavou inhibicí oxydace ethylalkoholu na kyselinu octovou. Zbrzdění oxydace je závislé jednak na době, po kterou bylo provzdušňování vyraženo v tom smyslu, že čím delší je doba, po kterou bylo provzdušňování přerušeno, tím výraznější je inhibice tvorby kyseliny octové, a na kvalitě substrátu tak, že při chudší živné půdě je poškození produkce slabší. Budíž však upozorněno na to, že v tomto případě se jedná o jednoduchý disimilační proces. Při fermentaci chlortetracyklinu se jedná o proces ve srovnání s předchozím zřejmě nepoměrně komplikovanější.

Methodika

Fermentace v laboratoři byly prováděny běžným postupem vypracovaným pro biosyntesu chlortetracyklinu (Bělík) za použití kmene *Streptomyces aureofaciens* Bg. Pro přípravu fermentační půdy byl používán mírně modifikovaný předpis, který publikoval van Dyck a de Somer (1952). Jako hlavní složky obsahuje tato půda sacharosu, sojovou mouku, síran amonný a kukuřičný extrakt. Půllitrové varné baňky byly plněny 80 ml fermentační půdy a kultivovány

při 28 °C na reciprokém třepacím stroji o 96 kyvech za min. (délka kyvu 9,5 cm). Zaočkování inokulační baňky s identickou půdou bylo prováděno kličkou spor ze šikmého sporulačního agaru. Fermentační baňky byly očkovány 5% vegetativního inokula z inokulační baňky, kultivované 24 hod. Pro každou pokusnou šarží bylo očkováno 6 baněk, kde ve 3 bylo provedeno stanovení obsahu antibiotika v 96, a ve 3 v 120. hod. fermentace. Výsledné hodnoty byly počítány jako průměr produkčních maxim ze 3 nalezených hodnot.

Tankové fermentace byly prováděny ve 20 l nerezových laboratorních fermentačních tancích standardní konstrukce (Rivett 1950). Tanky byly plněny 101 uvedeně fermentační půdy a po sterilisaci očkovány 0,2% vegetativního baňkového dvacetičtyřhodinového inokula. Fermentace byla prováděna při 26 °C za průtoku vzduchu 5 l/min. a při 300 obr./min. Nepřetržité míchání v období intenzivního pění bylo usnadněno mechanickým odpeňovačem. Produkce byly sledovány v 24hodinových, resp. 12hodinových intervalech.

Obsah antibiotika ve fermentačních půdách byl stanovován plotnovou difusní metodou postupem obdobným methodice pro stanovení streptomycinu (Hess 1955).*

Experimentální část

Jako základní časové rozpětí, ve kterém bylo v laboratoři prováděno přerušování vzdušnění kultur (odstavováním baněk z třepacího stroje), byla volena doba 30 hod. od okamžiku naočkování. Celková délka fermentací v laboratoři činila 120 hod. Zvolené časové období odpovídá zhruba intervalu, ve kterém dochází v tankových fermentacích na uvedené půdě k intenzivnímu pění.

V sadě 4 pokusů bylo postupováno tak, že byly sledovány fermentace takto uspořádané:

1. 60 min. přestávka, 60 min. provzdušňování (60** : 60),
2. 60 min. přestávka, 120 min. provzdušňování (60 : 120),
3. 120 min. přestávka, 60 min. provzdušňování (120 : 60).

Výsledky v procentech kontroly jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1

Fermentace	1. (60 : 60)	2. (60 : 120)	3. (120 : 60)
I.	2	stopy	35
II.	stopy	stopy	107
III.	49	—	124
IV.	9	—	61

I když získané hodnoty nejsou natolik reprodukovatelné, aby je bylo možno hodnotit průměrnými čísly, je společným znakem všech fermentací skutečnost, že tam, kde poměr doby přestávky k době vzdušnění byl 2 : 1 (120 : 60), bylo dosaženo jednotně podstatně vyšších produkcí, než tam, kde poměr doby přestávek k době vzdušnění byl 1 : 1, resp. 1 : 2 (60 : 60; 60 : 120).

Vzhledem k těmto neočekávaným výsledkům byly další 2 fermentace upraveny tak, že bylo sledováno uplatnění v zásadě kratších přestávek v pro-

* Stanovení provedl J. Hess se sp.

** První číslo v poměrech je doba, po kterou kultura nebyla vzdušněna.

vzdušňování. Doby byly voleny tak, aby součet doby přestávky a doby provzdušňování byl roven 60 min. Rovněž u těchto fermentací bylo přerušování vzdušnění prováděno po dobu 30 hod. od zahájení fermentace. Byly hodnoceny takto uspořádané pokusy:

4. 5 min. přestávka, 55 min. provzdušňování,
5. 10 min. přestávka, 50 min. provzdušňování,
6. 30 min. přestávka, 30 min. provzdušňování,
7. 40 min. přestávka, 20 min. provzdušňování.

Výsledky jsou uvedeny v tabulce 2. rovněž v procentech kontroly:

Tabulka 2

Fermentace	4. (5 : 55)	5. (10 : 50)	6. (30 : 30)	7. (40 : 20)
V.	6	4	8	86
VI.	17	5	3	21

Vyplývá z nich jako ve fermentacích předchozích, že při poměru doby přestávky k době provzdušňování 2 : 1 (40 : 20) jsou produkce podstatně vyšší než při zdánlivě pro fermentaci výhodnějším poměru 1 : 1 až 1 : 11. Kromě toho je velmi významné samo zjištění, že již 5 min. opakovaná přestávka ve vzdušnění podmiňuje prakticky řádový pokles produkce.

Z orientačně provedených dalších fermentací vyplývá, že zkrácení přestávky provzdušňování na cca 1 min. nemá již na produkci prakticky vlivu, že kultura vykazuje určité období, kdy je na nedostatek kyslíku nejcitlivější a že tehdy, je-li kultura celých 30 hodin od naočkování neprovzdušňována vůbec, pohybují se produkce okolo 50 až 60 % kontroly. Výsledky, které byly získány na uvedené suspensní půdě, platí v zásadě i pro dusíkem podstatně chudší půdu rozpustnou. Detaily těchto a dalších otázek jsou ve stadiu řešení.

Zajímavá je i otázka tvorby pigmentu, který je v normálních chlortetracyklinových fermentacích žlutohnědý. K jeho tvorbě dochází při krátkodobém přerušování, t. j. při přerušování v poměru 1 : 1 až 1 : 11, v prvních hodinách fermentace prakticky shodně s kontrolou, na konci fermentace však intenzita zabarvení nedosahuje zdaleka intenzity zabarvení kultur kontrolních. Na druhé straně při dlouhodobě přerušovaných fermentacích, t. j. přerušovaných v poměru 2 : 1, nedochází po čas přerušování prakticky vůbec k jeho tvorbě. Po této periodě je však pigment rychle produkován a do 120. hodiny zpravidla je intenzita i tón zabarvení půdy prakticky totožný s kontrolou. V některých nízkovýtěžkových fermentacích, na př. při hodinovém vzdušnění a hodinovém přerušování, jsme pozorovali pigmentaci spíše narůžovělou než žlutavou.

V dosavadních analytických údajích o spotřebě sacharosy a amoniakálního dusíku* a v údajích respirometrických**, stanovených pro fermentaci s 5 min. přestávkami provzdušňování (5 : 55), nebyla zjištěna zásadní difference ve srovnání s nepřetržitě provzdušňovanou kontrolou.

* Provedla Dr. J. V o n d r á č k o v á se sp.

** Provedl L. Č e r k e s se sp.

Pro základní ověření získaných výsledků v laboratorních tancích byly fermentace upraveny tak, že vedle dvou tanků kontrolních byly za dodržení jinak jednotných podmínek fermentovány zpravidla 2 tanky, kde bylo vypínáno míchadlo na 10 min. vždy po 20 min. chodu, rovněž až do 30. hod. fermentace. Při vypnutí míchadla byl zachován normální průtok vzduchu. Dosažená produkční maxima v γ/ml jsou uvedena v tabulce 3.

Tabulka 3

Fermentace	Mícháno nepřetržitě	Mícháno s přestávkami (10 : 20)
I.	759 600	137 178
II.	552 579	151 —
III.	555 480	57 48
IV.	555 414	125 67
Průměr	561 γ/ml	109 γ/ml

Je zřejmé, že nepříznivý vliv přestávek v provzdušňování, který byl prokázán fermentacemi laboratorními, se stejně výrazně uplatňuje i při fermentacích tankových. Tím se stává tato skutečnost významným faktem pro fermentační technologii. Uvedený interval, t. j. 20 min. normální fermentace se vždy následujícími 5—10 min. přestávkou v míchání představuje přibližně způsob, jakým by na laboratorních fermentačních tancích probíhala fermentace, nebylo-li by použito mechanického odpěňovače a nemělo-li by docházet k unikání zpěněné pudy z tanku odchodem pro vzduch. Uvedené výsledky potvrzují nutnost fermentace nepřetržitě.

V programu další práce je 1) zpřesnění a rozšíření dosavadních laboratorních výsledků a jejich podrobnější ověření v tankových fermentacích, 2) vyšetření vlivu přestávek v provzdušňování při fermentacích dalších antibiotik a 3) alespoň částečné objasnění příčin empiricky získaných faktů.

Diskuse

V zásadě je známo, že výtěžky hloubkových aerobních fermentací antibiotik jsou snižovány poruchami ve vzdušnění, ke kterým dochází na př. při technických závadách a pod. Zjištěná nutnost naprosto nepřetržitého vzdušnění pro dosažení optimálních produkcí a zejména stanovený kvantitativní rozdíl uplatnění krátkodobých a dlouhodobých přestávek provzdušnění je však — pokud jsme mohli zjistit — novým příspěvkem jak k laboratorní technice fermentace antibiotika, tak zejména k technologii submersní fermentace tankové. I když byla naše práce zaměřena na fermentaci chlortetra-

cyklinu, naznačují některé další zkušenosti, že podobně tomu bude i v některých jiných submersních aerobních fermentacích, na př. u penicilinu a streptomycinu, které však patrně budou na nedostatek kyslíku méně citlivé. Nutnost nepřetržitého provzdušňování kultury pro dosažení optimálních fermentačních výsledků nese s sebou požadavek takové fermentační technologie, kde při vzdušnění (t. j. prohánění vzduchu za současného míchání) nedochází k tvorbě pěny tou měrou, aby zpěněná půda vzhledem ke svému objemu unikala spolu s odcházejícím vzduchem z tanku. Tím vyvstává totiž nejen nebezpečí kontaminací, ale zejména v provozu citelné finanční ztráty a technologické závady (na př. stoupání tlaku v tanku, vznikající velkým odporem pěny v odpadovém vzduchovém potrubí atd.). Vyloučíme-li možnost zábrany vypěňování půdy vypínáním míchadla, možno řešit uvedený požadavek při daném vzdušnicím a míchacím zařízení v zásadě trojím způsobem:

1. Vyhledáním co nejúčinnějšího protipěnového prostředku,
2. vypracováním takového složení fermentační půdy, aby měla co nejmenší schopnost pěnit,
3. rušením vytvořené pěny mechanickým odpěňovačem.

Vzhledem k tomu, že z přehledu světové literatury možno soudit na to, že není zásadního rozdílu v účinnosti jednotlivých provozně použitelných protipěnidel a vzhledem k tomu, že požadavek na nepěnovost fermentační půdy může v častých případech kolidovat se základním požadavkem maximální produktivnosti, lze počítat jako s nejschůdnější cestou s možností třetí, t. j. s aplikací mechanického odpěňovače vhodné konstrukce.

Způsob, jakým periodický nedostatek kyslíku ovlivňuje biosyntesis antibiotika, nelze přirozeně zatím určit. Vzhledem k tomu, že k pronikavé inhibici produkce stačí již relativně velmi krátká přestávka v provzdušňování, můžeme usuzovat na to, že se jedná o ovlivnění velmi citlivé oxydační nebo dehydrogenační reakce. Při periodicky opakovaném poměru doby přestávky vzdušnění k době vzdušnění 1 : 1 až 1 : 11 (60 : 60, 60 : 120 v tabulce 1, 30 : 30, 10 : 50, 5 : 55 v tabulce 2) je produkce pronikavěji inhibována než při poměru opačném, t. j. 2 : 1 (120 : 60 v tabulce 1, 40 : 20 v tabulce 2). Lze proto usuzovat, že v prvním případě dochází k irreversiblemální změně enzymatického systému, ovlivňující tvorbu antibiotika. Na druhé straně při relativně delších přestávkách provzdušňování může dojít patrně k vývinu antibiotikum ovlivňujícího enzymatického systému podstatně méně anomálního teprve tehdy, když kultura začne být vzdušněna vyhovujícím způsobem. Naznačují to zejména pokusy, kdy kultury byly bez vzdušnění ponechány po celou dobu 30 hodin, takže zde došlo i k výrazné inhibici nárůstu myceliální masy. Další rozvážení těchto úvah by bylo naprosto nekonkrétní.

Studiu příčin empiricky získaných poznatků musí zde však předcházet v prvé řadě převedení fermentace na půdu vhodnou k tomuto účelu. Dosud používaná fermentační půda, obsahující suspensi sojové mouky, je pro podrobnější sledování metabolických pochodů nevhodná.

S hlediska theoretického lze počítat s tím, že zjištěná možnost produkční inhibice opakovaným krátkodobým přerušením vzdušnění se může stát účinnou metodou při studiu mechanismu biosynthesy antibiotika vytyčením rozdílu v enzymatickém vybavení kultur. Předpokladem je přirozeně, že nedojde ke změně průběhu základních metabolických pochodů, vyplývajících z růstu kultury.

Souhrn

Při submersní fermentaci antibiotik dochází z řady důvodů k nutnosti přerušovat vzdušnění. V literatuře nejsou — pokud je nám známo — údaje o vlivu dočasného přerušení vzdušnění na produkci, i když literatura o vlivu intenzity provzdušňování na produkci, zejména penicilinu, jest rozsáhlá. Jediné práce, které se zabývají sledováním stupně poškození kvasného procesu vlivem přerušované dodávky kyslíku, jsou publikace Hromatkovy, které se týkají submersního octového kvašení.

Sledovali jsme vliv přestávek v provzdušňování při fermentaci chlortetracyklinu v laboratoři při třepačkových pokusech. K fermentaci jsme použili kmen *Streptomyces aureofaciens* Bg a mírně modifikovanou půdu van Dyck a de Somerovu. Vzdušnění bylo přerušováno až do 30. hodiny při celkové délce fermentace 120 hodin. Tomuto intervalu odpovídá období intenzivního pění při tankových fermentacích, které často vede k nutnosti vypínání chod míchadla.

Zjistili jsme, že již pětiminutová přestávka v provzdušňování, opakovaná vždy po 55 minutách normálního třepání kultury v uvedeném časovém rozpětí 30 hodin, vede k hlubokému snížení produkce. Zásadně překvapující je skutečnost, že relativně kratší přestávka v provzdušnění snižuje produkce podstatně více, než přestávka relativně delší. Při poměru doby přestávky ve vzdušnění k době vzdušnění 1 : 1 až 1 : 11 (v minutách 60 : 60; 30 : 30; 60 : 120; 10 : 50; 5 : 55) činí v průměru produkce 14 % kontroly, zatím co při poměru obráceném, to jest 2 : 1 (v minutách 40 : 20; 120 : 60) činí produkce v průměru 72 % kontroly. I když poměr produkce nebyl v jednotlivých fermentacích konstantní, jsou uvedené průměrné hodnoty diametrálně odlišné.

Při fermentacích v 20 litrových fermentačních nerezových tancích bylo pro základní ověření získaných výsledků postupováno tak, že po dobu 30 hodin bylo vypínáno míchadlo na 10 minut vždy po 20 minutách normálního chodu. Tento způsob vedení fermentací působil pokles produkce o zhruba 80 % (v průměru 561 γ /ml ku 109 γ /ml).

Z těchto výsledků je zřejmé, že nutnost přestávek ve vzdušnění při submersní fermentaci chlortetracyklinu, na př: při vypínání chodu míchadla při fermentaci v kvasných tancích, je důležitým faktorem, který ovlivňuje dosahované produkční výsledky. Nutno tedy v zásadě vyžadovati vypracování takových technologických postupů fermentace, kde jsou na minimum eliminovány potíže, vyplývající z bohatého pění, podmíněného vzdušněním a mícháním fermentační pudy.

Literatura

- B ě l í k E.: Dosud nepublikováno.
B r o w n W. E. and P e t e r s o n W. H. (1950): Factors affecting production of penicillin in semi-plant equipment. *Ind. Eng. Chem.* 42 : 1769—1774.
H e s s J. (1955): Stanovení účinnosti streptomycinu a dihydrostreptomycinu difusní methodou na kovových plotnách. *Preslia* 27 : 53—60.
H r o m a t k a O. se sp. (1951): Untersuchungen über die Essiggärung. IV. Über den Einfluss einer vollständigen Unterbrechung der Belüftung auf die submerse Gärung. *Enzymol.* 15 : 134—153.
H r o m a t k a O. (1952): Über die submerse Essiggärung. *Chem. Zeit.* 76 : 776—779.
C h a i n E. B. se sp. (1952): Studies on aeration I. *Bull. World Health Org.* 6 : 73—95.
R i v e t t R. W. se sp. (1950): Laboratory fermentor for aerobic fermentations. *Ing. Eng. Chem.* 42 : 188—190.
v a n D y c k P. and d e S o m e r P. (1952): Production and extraction methods of aureomycin. *Antib. Chemoth.* 2 : 184—197.

В. Мателова, М. Музилкова, Я. Нечасек, Ф. Шмейкал:

Влияние перерывов аэрации на продукцию хлортетрациклина

При глубинной ферментации антибиотиков приходится по различным причинам прерывать аэрацию. В литературе нет, поскольку нам известно, данных о влиянии временного перерыва аэрации на продукцию, хотя данных о влиянии интенсивности аэрации на продукцию, особенно

у пенициллина, в литературе сравнительно много. Единственные работы, в которых изучается степень повреждения процесса брожения перерывами в подаче кислорода — это статьи Громатка, которые касаются глубокого уксусного брожения.

Мы наблюдали влияние остановок в аэрации при ферментации хлортетрациклина в лабораторных опытах на качалке. Ферментацию проводили со штаммом *Streptomyces aureofaciens* Vg на среде, незначительно отличающейся от прописи Ван Дик и де-Зомер. Аэрация прерывалась до 30-го часа при общей продолжительности ферментации 120 часов. Этому интервалу соответствует интенсивное вспенивание при работе в ферментерах, которое часто заставляло выключать мешалку.

Мы наблюдали, что уже 5-ти минутный перерыв аэрации, который повторялся всегда после 55-ти минутного нормального качания культуры в течение первых 30-ти часов, ведет к глубокому понижению продукции. В основном поразителен тот факт, что относительно более короткий перерыв в аэрации влечет за собой понижение продукции значительно большее, чем при перерывах относительно более длительных. При отношении длительности остановки к длительности аэрации 1 : 1 — 1 : 11 (в минутах 60 : 60; 30 : 30; 60 : 120; 10 : 50; 5 : 10) продукция в среднем равна 14%-ам контроля, в то время, как при обратном отношении, т. е. 2 : 1 (в минутах 40 : 20; 120 : 60) продукция в среднем составляет 72% контроля. Хотя отношение продукции не было в отдельных ферментациях константно, все-же приведенные средние величины диаметрально отличны.

При ферментации в 20-ти литровых ферментерах из нержавеющей стали были основные положения проверены таким образом, что в течение 30-ти часов выключалась мешалка на 10 минут после 20-ти минутной работы. Такой способ ферментации дал понижение продукции прил. на 80% (в среднем 561 γ /мл и 109 γ /мл).

Из приведенных результатов ясно, что необходимость перерывов аэрации при глубокой ферментации хлортетрациклина, например при выключении мешалки при работе в ферментерах, является важным фактором, влияющим на высоту достигнутой продукции. Из этого вытекает необходимость разработки таких технологических условий ферментации, при которых бы были приведены к минимуму затруднения, связанные с сильным вспениванием, которое обусловлено аэрацией и размешиванием культуральной жидкости.

V. Matelová, M. Musílková, J. Nečásek und F. Šmejkal:

Der Einfluss von Durchlüftungsunterbrechungen auf die Produktion von Chlortetracyclin

Bei der submersen Fermentation antibiotischer Stoffe ist es aus einer Reihe von Gründen manchmal notwendig, die Durchlüftung von Zeit zu Zeit zu unterbrechen. Soweit uns bekannt ist, finden sich im einschlägigen Schrifttum keine Angaben über den Einfluss zeitweiliger Unterbrechungen der Durchlüftung auf die Produktion, obwohl die Literatur über den Einfluss der Durch-

lüftungsintensität auf die Produktion — namentlich von Penicillin — recht umfangreich ist. Die einzigen Publikationen, die das Ausmass der Schädigung eines Gärprozesses durch Unterbrechungen der Sauerstoffzufuhr behandeln, sind die Arbeiten Hromatka's, die die submerse Essigsäuregärung betreffen.

Bei der Fermentation von Chlortetracyclin haben wir den Einfluss von Durchlüftungspausen auf die Produktion studiert, und zwar zunächst bei Versuchsfermentationen auf der Schüttelmaschine. Es wurde dabei ein mit Bg bezeichneter Stamm von *Streptomyces aureofaciens* verwendet und in einem mässig modifizierten, von van Dyck und de Somer angegebenen Nährboden kultiviert. Die Unterbrechungen der Durchlüftung wurden — bei einer Gesamtfermentationsdauer von 120 Stunden — nur innerhalb der ersten dreissig Stunden durchgeführt, da dies dem Zeitraum entspricht, in welchem bei der Fermentation im Tank intensive Schaumbildung auftritt, die häufig zum Abstellen des Rührwerkes zwingt.

Die Versuche haben ergeben, dass schon fünfminutenlange Pausen in der Durchlüftung, die nach je 55 Minuten normalen Schüttelns eingeschaltet wurden, eine unerwartet weitgehende Einbusse der Produktionsergebnisse zur Folge hatten. Überraschend war dabei die Tatsache, dass im Verhältnis zur nachfolgenden Dauer des Schüttelns kürzere Unterbrechungen eine weit stärkere Schädigung des Produktionsvermögens hervorriefen, als relativ längere Unterbrechungen. Wenn sich die Dauer des zeitweiligen Stillstehens zur Dauer des Schüttelns wie 1 : 1 bis 1 : 11 verhielt (in Minuten 60 : 60; 30 : 30; 60 : 120; 10 : 50; 5 : 55), betrug die Produktion im Mittel nur 14 % der Kontrolle, wogegen bei umgekehrtem Verhältnis, d. h. Dauer des Stillstehens zur Dauer des Schüttelns wie 2 : 1 (in Minuten 40 : 20 und 120 : 60), der Mittelwert der Produktion rund 72 % der Produktion der Kontrolle erreichte. Wenn auch bei den einzelnen Fermentationen das Verhältnis der Produktion der beiden Gruppen nicht konstant war, so zeigen doch die angeführten Mittelwerte den diametralen Unterschied.

Zur Nachprüfung dieser Laboratoriumsergebnisse wurden Fermentationen in Versuchstanks aus nichtrostendem Stahl mit ca. 20 Liter Rauminhalt vorgenommen, bei welchen innerhalb der ersten 30 Stunden das Rührwerk nach je 20 Minuten jedesmal auf 10 Minuten abgestellt wurde. Die Folge war ein Absinken der Produktion um rund 80 %. (Im Durchschnitt von 561 γ je ml auf 109 γ je ml.)

Aus diesen Versuchsergebnissen geht hervor, dass in den Durchlüftungsunterbrechungen bei der Fermentation in Gärtanks (z. B. durch Abstellen des Rührwerkes) ein unerwartet wirksamer Faktor zu suchen ist, der die Produktionsergebnisse in massgebender Weise beeinflussen kann. Grundsätzlich ist daher zu fordern, die Technologie der Fermentation derart zu entwickeln, dass die Schwierigkeiten, die starke, durch Durchlüftung und Rühren verursachte Schaumbildung mit sich bringt, weitgehendst eliminiert und damit Unterbrechungen des Rührens und Lüftens vermeidbar werden.