

# Růst a množení

- Růst – mikrobiální buňka se nachází ve vhodném fyzikálně - chemickém prostředí, přijímá živiny a syntetizuje “sama sebe“, zvětšuje svoji hmotnost i objem
- Množení – po dosažení daného objemu a hmotnosti se buňka rozdělí ve dvě dceřinné buňky
- *Při běžné komunikaci jsou tyto dva procesy spojovány pod jedním termínem – **růst**.*

# Růst a množení bakterií

# Růst a množení

- Růst jednotlivé buňky – **vyvážený** – hmotnost, objem, obsah DNA, peptidoglykanu atd. roste za časovou jednotku rovnoměrně. Jestliže nejsou splněny podmínky jde o růst **nevyvážený**.
- Růst populace – pokud jednotlivé buňky populace vykazují růst vyvážený, nachází se populace v **ustáleném stavu** (ve stavu dynamické rovnováhy)

# Další aspekty růstu

- Růst nelimitovaný – všechny živiny jsou v nadbytku po celou dobu kultivace
- Růst v tekutém prostředí (ve formě homogenní suspenze) nebo na/v zpevněném prostředí (ve formě kolonií)
- Růst v přirozeném prostředí a v prostředí *in vitro*
- Růst v prostředí homogenním (fermentor) a nehomogenním (půda, voda)
- Růst v prostředí chemicky definovaném
- Růst v otevřeném (kontinuální kultivace) a uzavřeném (zkumavka)
- Růst čisté a směsné kultury

# Buněčný cyklus u mikroorganismů

- Buněčný cyklus je základní biologický jev
- Jde vlastně o **ontogenetický vývoj buňky**, který začíná vznikem buňky jako samostatné soustavy schopné existence a končící rozdělením této buňky opět na dvě existence schopné soustavy
- Jedná se tedy v podstatě o **historii buňky mezi dvěma po sobě následujícími děleními**

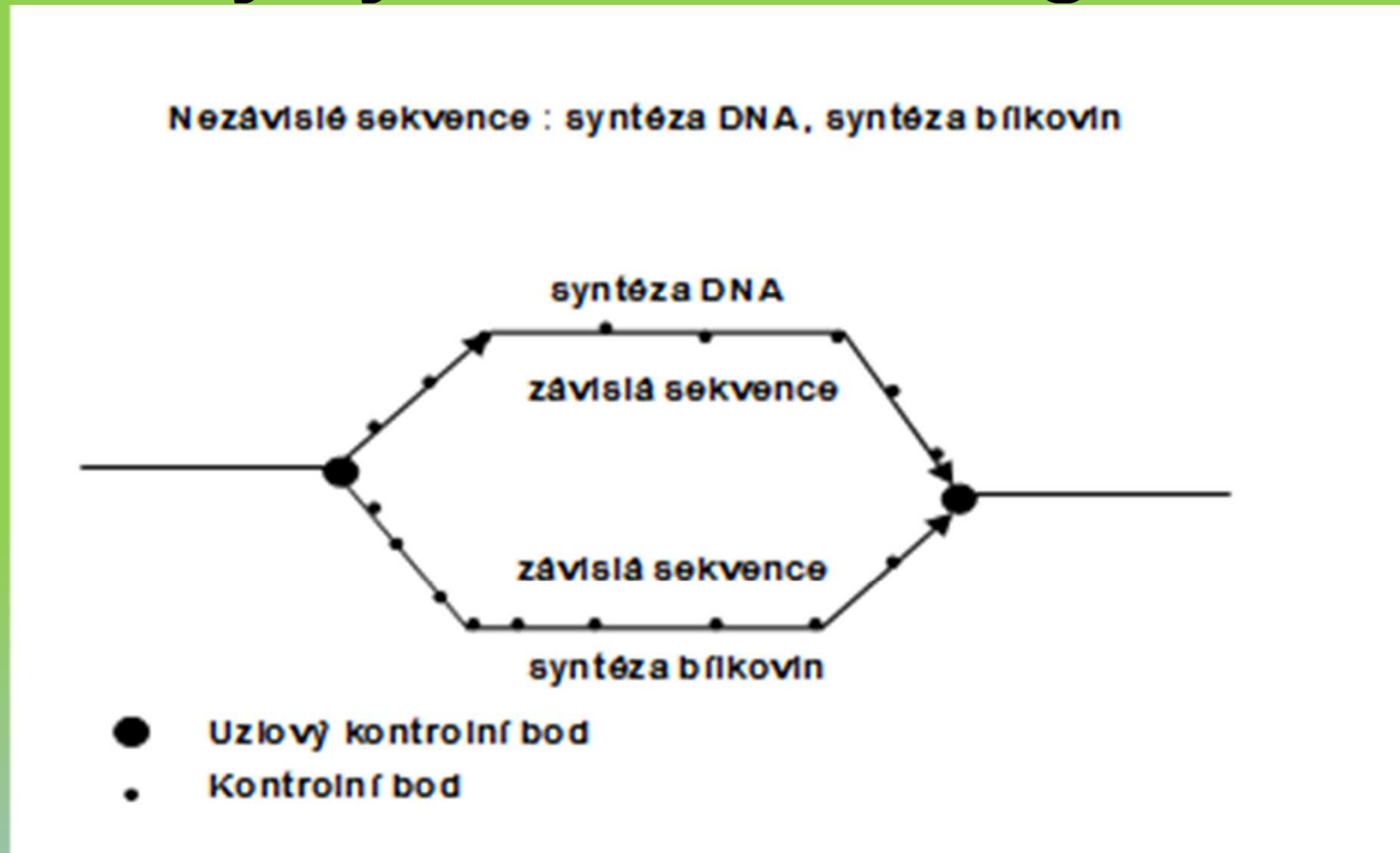
# Buněčný cyklus u mikroorganismů

- Jestliže má dojít ke zdvojení buňky, musí tomu předcházet
- **zdvojnásobení** všech nutných buněčných struktur
- **nahromadění** potřebného množství energie
- **vytvoření** dvou kopií genetické informace
- **aktivizaci** mechanismů, které vedou k rozdělení buňky

# Buněčný cyklus u mikroorganismů

- Celý cyklus představuje řadu procesů, **fází**, které následují za sebou
- Jednotlivé kroky musí následovat v určitém pořadí, neboť jeden podmiňuje druhý - **závislé posloupnosti** (závislé sekvence)
- Vztahy mezi jinými procesy nemusí mít přesnou časovou vazbu a pak jde o **nezávislé posloupnosti** (nezávislé sekvence - syntéza DNA a syntéza bílkovin)

# Buněčný cyklus u mikroorganismů

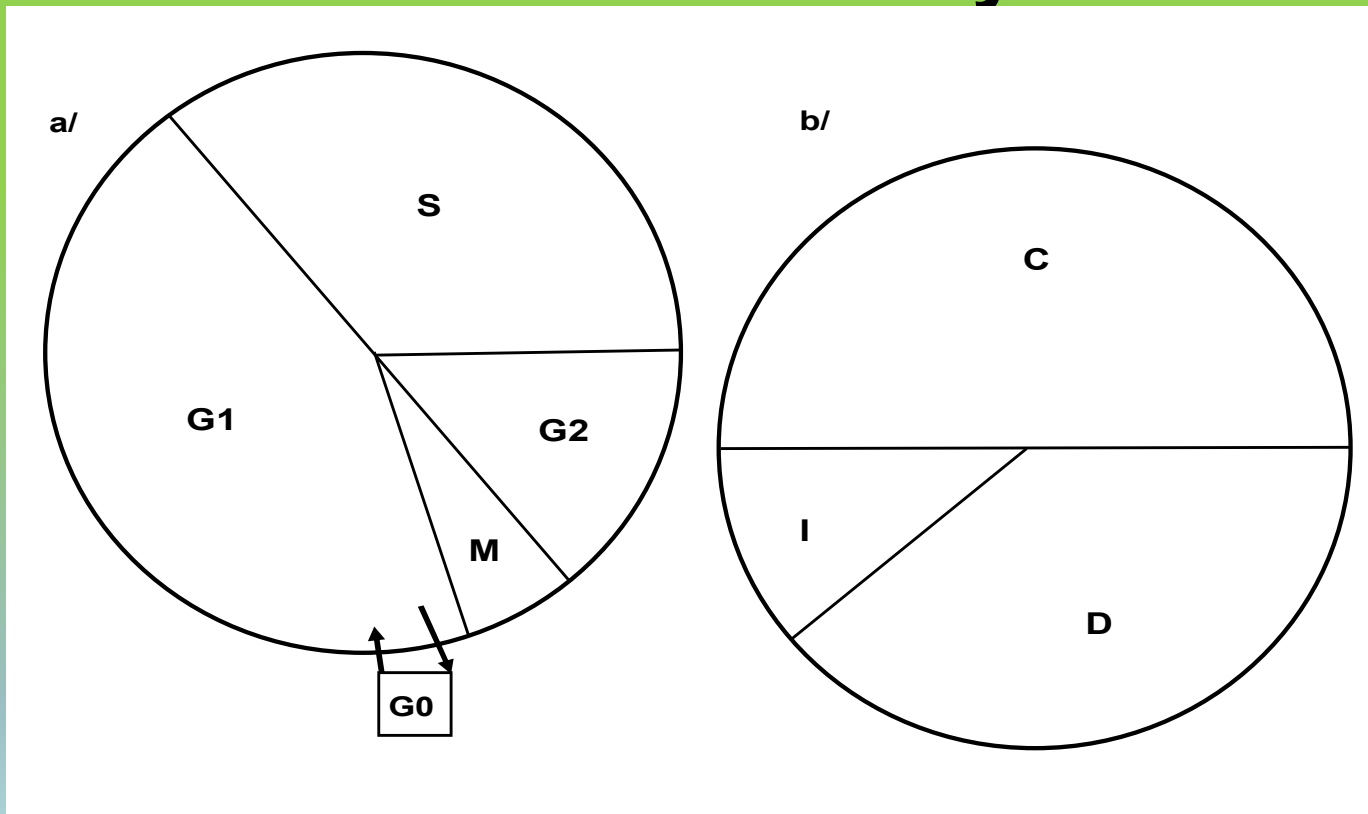


Pokud má dojít k rozdělení buňky , musí být realizovány všechny dílčí procesy - ukončení buněčného cyklu



# Buněčný cyklus u mikroorganismů

- Některé dílčí procesy buněčného cyklu vedou k nápadným změnám buňky. Na základě toho byl buněčný cyklus rozdělen na **fáze buněčného cyklu**



# Buněčný cyklus u mikroorganismů

- Ve fázích buněčného cyklu je řada procesů regulujících jeho průběh - **kontrolní uzly**
- Zde se ověřuje, zda byly dokončeny všechny reakce v závislých sekvencích a zda je buňka připravena na přechod do další fáze
- Kontrolní uzel v **G1**-fázi startuje buněčný cyklus
- Za určitých okolností může uvést buňku do tzv. **G0**-fáze
- K ukončení buněčného cyklu a oddělení dvou dceřiných buněk slouží uzlový kontrolní bod na konci **M**-fáze.

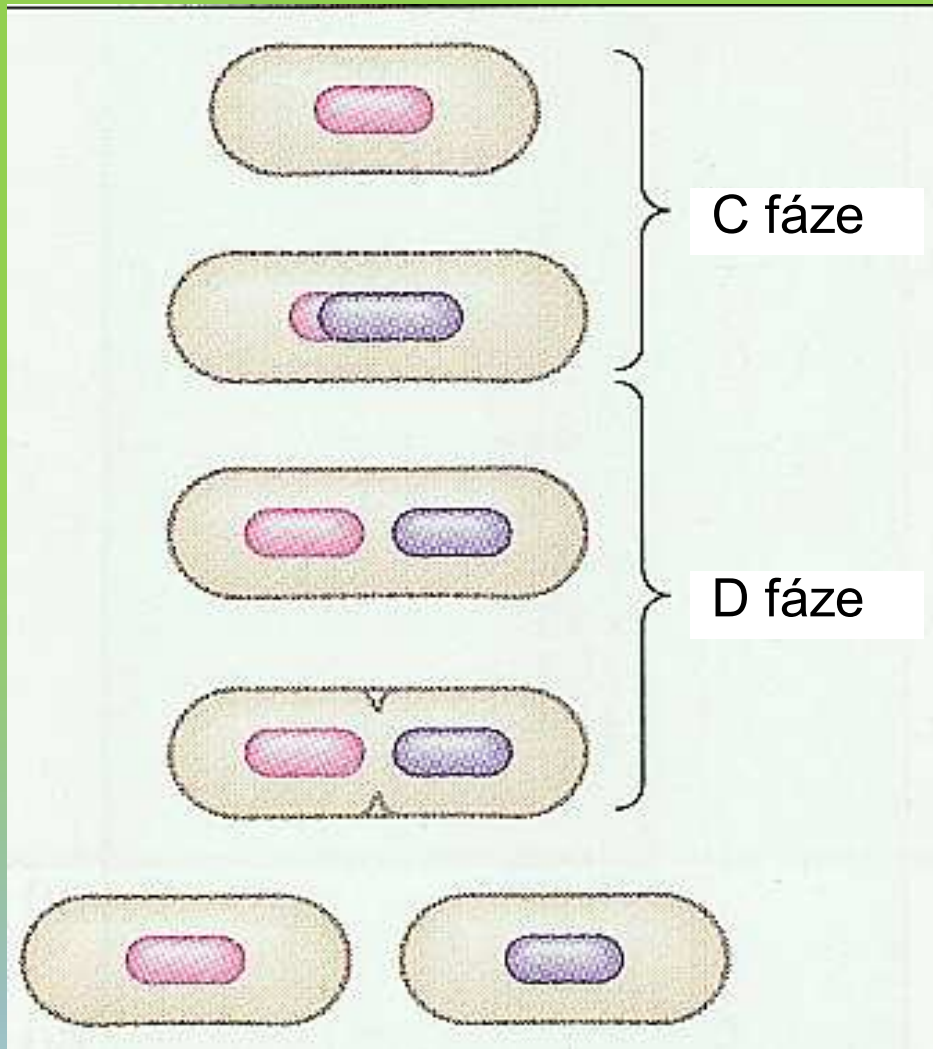
# Buněčný cyklus u mikroorganismů

- **fáze G1** - počátek je vymezen skončením předchozí cytokineze a končí započítáním replikace chromozomální DNA (vysoká fyziologická aktivita, velká frekvence transkripce, syntéza proteinů (strukturálních i s enzymatickou aktivitou). Během této fáze také dochází k případným opravám DNA. Přibližně **50 %** celkové doby trvání buněčného cyklu.

# Buněčný cyklus u mikroorganismů

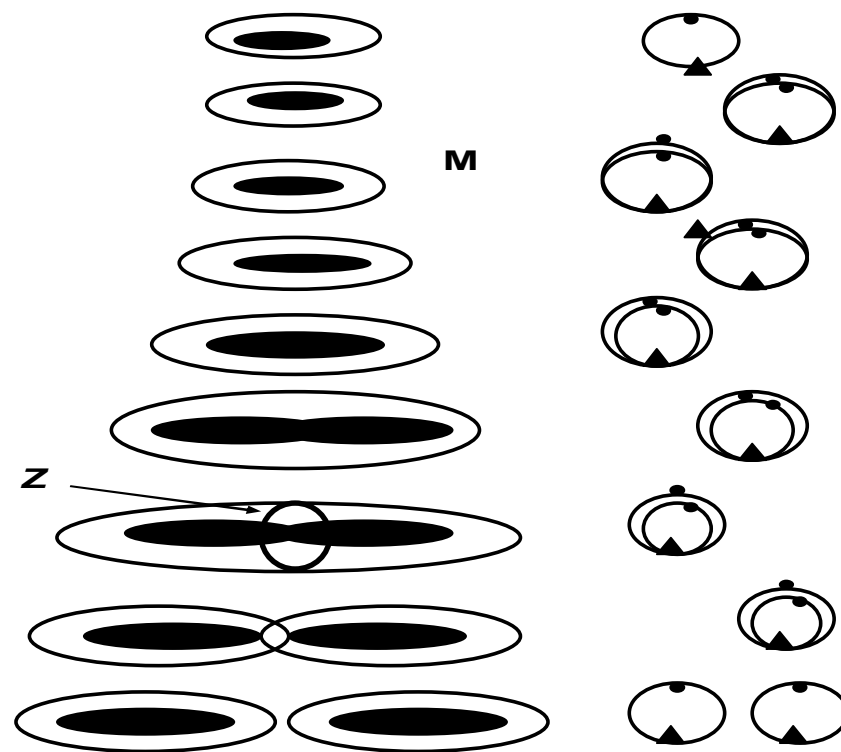
- **fáze S** (syntetická fáze) je dána dobou nutnou pro replikaci jaderné DNA. DNA se replikuje na dvojnásobné množství. Doba trvání asi 30 % doby cyklu
- **fáze G2** je zahájena skončením replikace DNA. Časová hranice mezi fázemi G2 a M je určována prvními morfologickými znaky dělení jádra. Představuje asi 15 % cyklu
- **fáze M** - dělení jádra (mitóza, meióza) a cytokinezi. Tím **končí buněčný cyklus vedoucí k rozdělení buňky**. Počátek cytokineze nemusí být morfologicky zřetelný, konec je dán jednoznačně momentem, kdy obě dceřiné buňky jsou schopny **samostatné** existence (třebaže mohou zůstat spolu spojeny). Proto časové vymezení počátku fáze je dáno skončením dělení jádra a zaujímá cca 5 % doby cyklu.

# Buněčný cyklus u bakterií



- **C fáze** – zvětšování objemu buňky (Syntéza materiálu buňky včetně syntézy buněčné stěny –vkládáním stavebních jednotek na specifická místa). Začátek replikace bakteriálního chromozomu (na iniciaci se podílí produkt dnaA genu)
- **D fáze** – dokončení replikace DNA, vytváření septa (přepážka tvořená cytoplazmatickou membránou a buněčnou stěnou). Dokončení rozdělení buňky ve dvě buňky dceřinné
- Buněčný cyklus trvá od 20 do 60 minut
- Doba trvání jednotlivých fází je téměř konstantní asi 41 min. – C, 20 min. – D
- Takže v populaci s dobou zdvojení 20 min., musí se zdvojit všechny parametry (včetně DNA), tzn. že replikace DNA začne po 20 min. bez ohledu na to, zda předtím zahájené replikace skončily či nikoliv

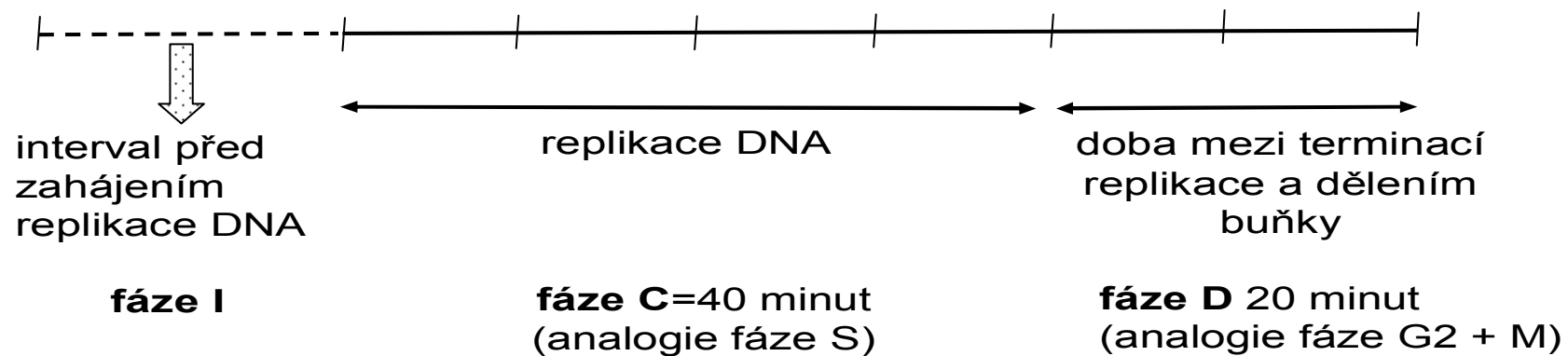
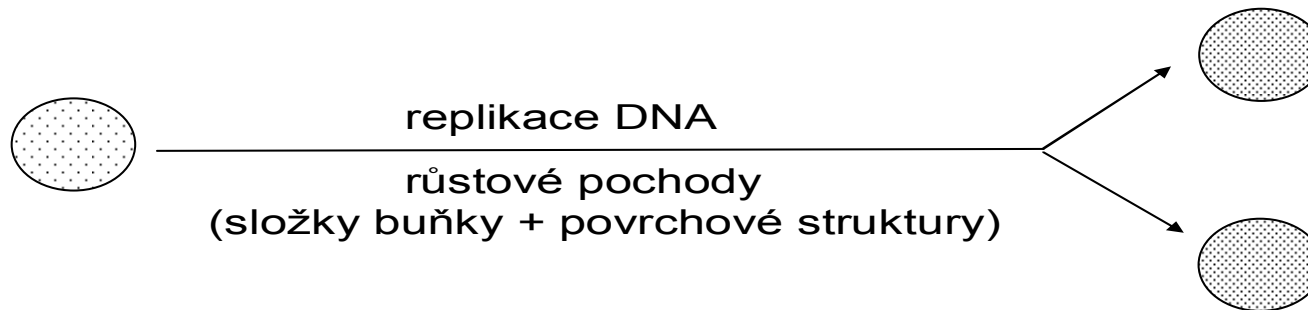
# Buněčný cyklus u bakterií



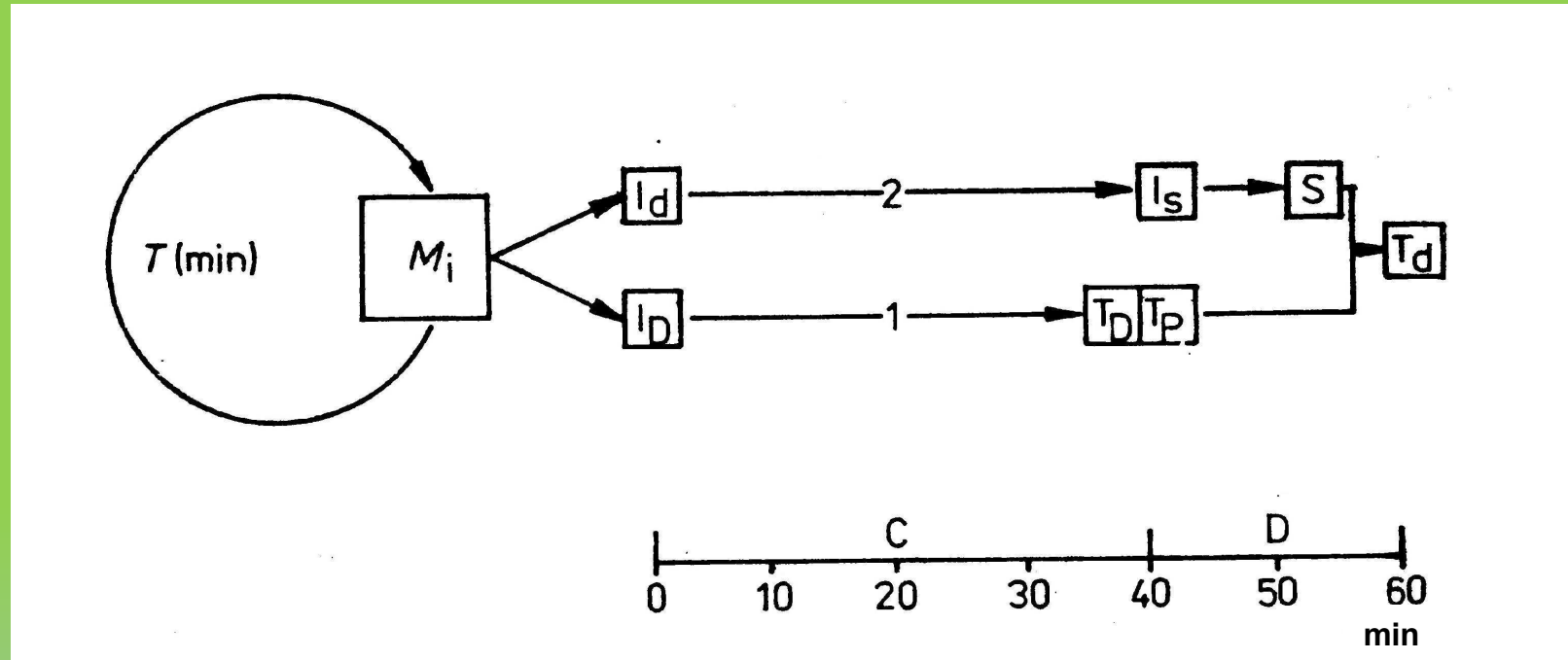
- M - “kritická hmotnost buňky “ a kritické množství proteinu DnaA
- Z - Z kruh (počátek septa)
- • origin
- ▲ terminus
- Geny kódující regulační proteiny:
  - začátek replikace DNA - *dnaA*
  - oddělení chromozomu - *mukB*
  - dělení buňky - *ftsI* – PBP3 , *ftsW*, *ftsQ*, *ftsA*, *ftsZ*, *ftsY*, *ftsE*, *ftsX*, *envA*, *minC*, *minE*, *sula* –
  - tvar buňky - *pbpA* (PBP2), *rodA*

- Celý proces probíhá za přítomnosti řady enzymů a faktorů, které jsou lokalizovány do **dvou replikačních uzlů**. Replikace postupuje v obou směrech od počátečního místa (**origin**) k místu koncovému – **terminus**
- Před skončením replikace DNA se začíná vytvářet **Z kruh** (počátek septa) za účasti FtsZ proteinu cytokinezinů a GTP
- Terminace replikačního cyklu a rozchod chromozomů je nezbytným předpokladem pro vytvoření **transverzálního septa** (příčné přepážky). Tvorba přepážky (počátek cytokineze) je odlišná u G<sup>+</sup> a G<sup>-</sup> bakterií

# Buněčný cyklus prokaryotické buňky



# Buněčný cyklus *E. coli*



$M_i$  - počáteční hmotnost buňky

$I_D$  - iniciace replikace DNA

TP - syntéza terminačního proteinu

$I_d$  - iniciace sekvencí vedoucích k dělení buňky

$I_s$  - iniciace sekvencí vedoucích k tvorbě septa

$T_d$  - dělení buňky (rozdělení buňky)

1 - replikace DNA

2 - syntéza proteinů pro dělení buňky

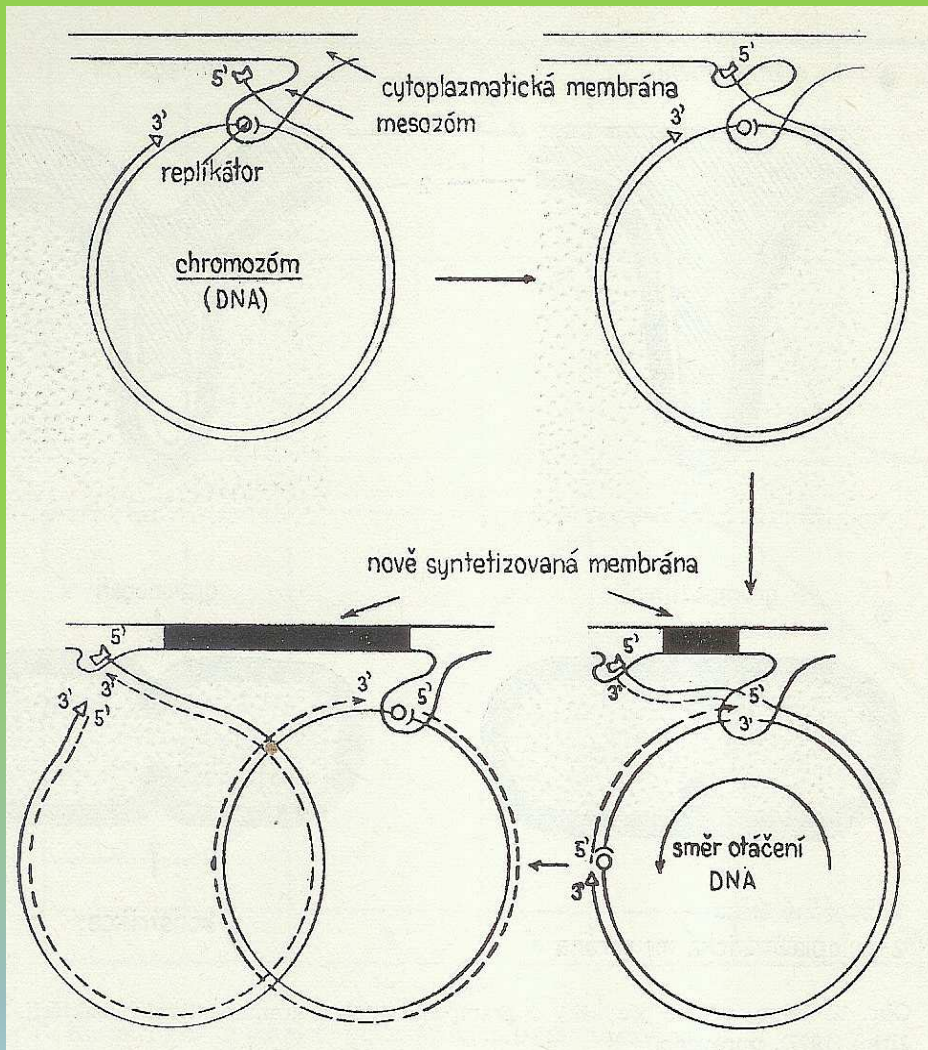
T - doba zvojnásobení hmotnosti buňky

$T_D$  - terminace replikace DNA

S - zahájení tvorby septa

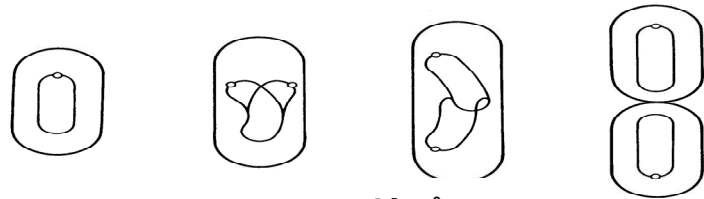


# Replikace bakteriálního chromozomu

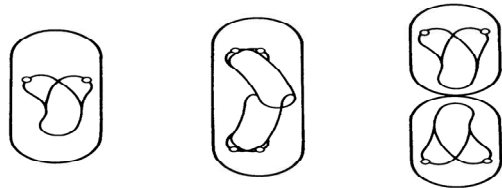


- Připojení chromozomu na specifické místo – **replikátor** – na cytoplazmatické membráně (na mezozómu)
- Začátek syntézy chromozomové DNA je oddělen od vlastní replikace. Iniciační komplex je vytvořen spojením proteinů DnaA se váží specifickou sekvencí DNA - počátek replikace (u *E.coli* *oriC*)
- Vlastní replikace chromozomu od místa **origin** postupuje obousměrně. Rychlost inserce je 1700 nukleotidů za sekundu v replikační vidlici
- **Ukončení replikace je nutné pro vytvoření transverzálního septa**

# Replikace bakteriálního chromozomu



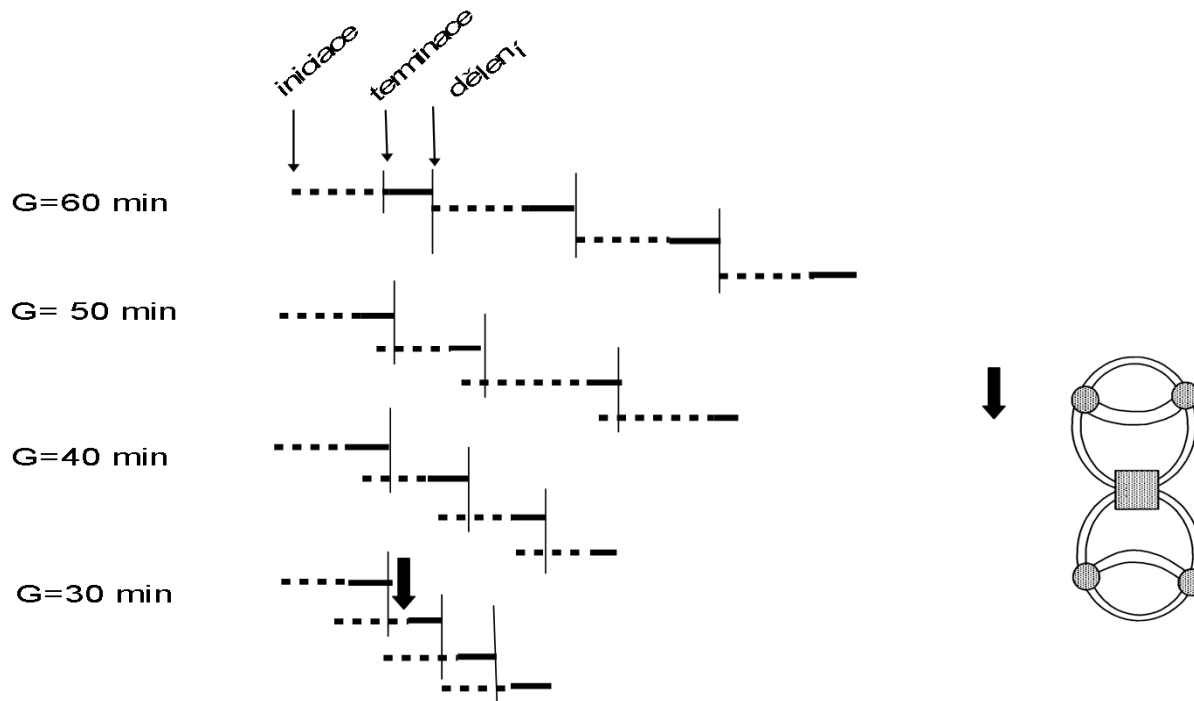
pomalý růst



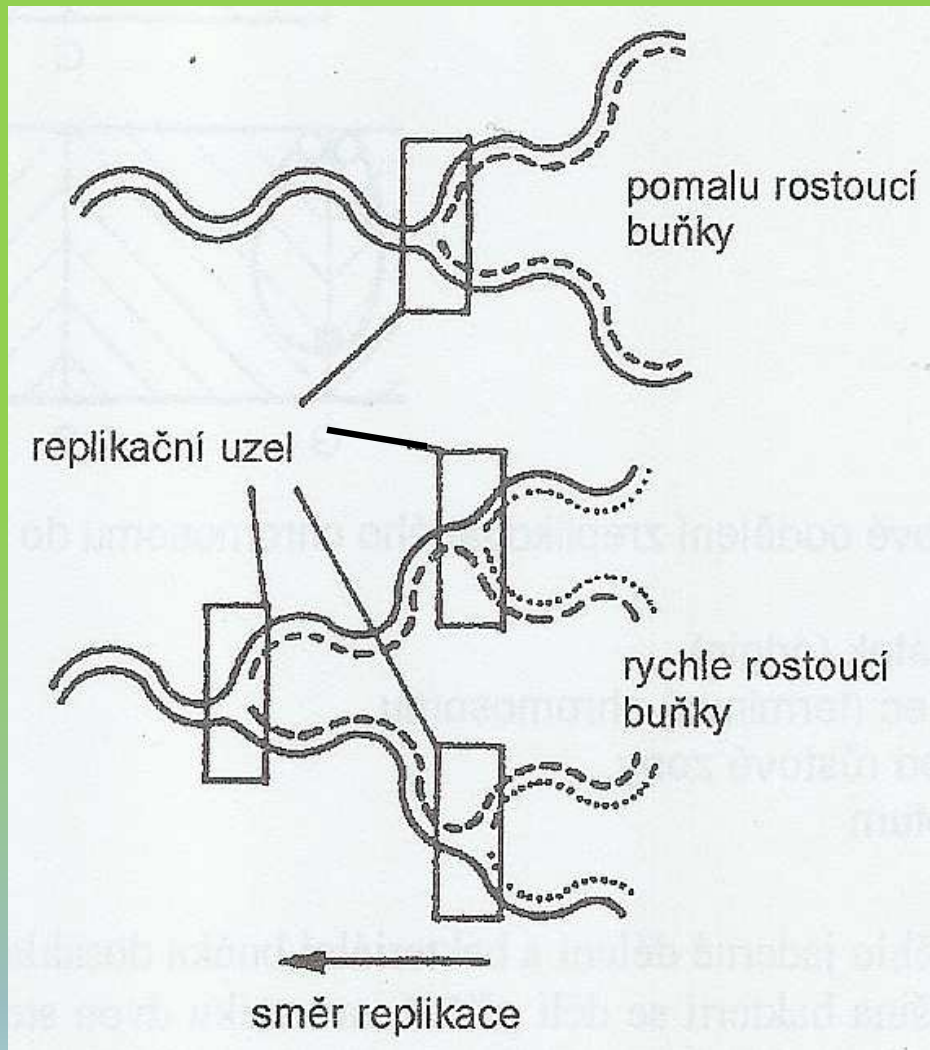
rychlý růst

Buněčný cyklus je možné rozdělit do tří lineárních period

- I – období mezi jednotlivými začátky replikace chromozomální DNA; považuje se také za dobu zdvojení
- C - období replikace chromozomu
- D – tvorba septa, dokončení rozdělení buňky

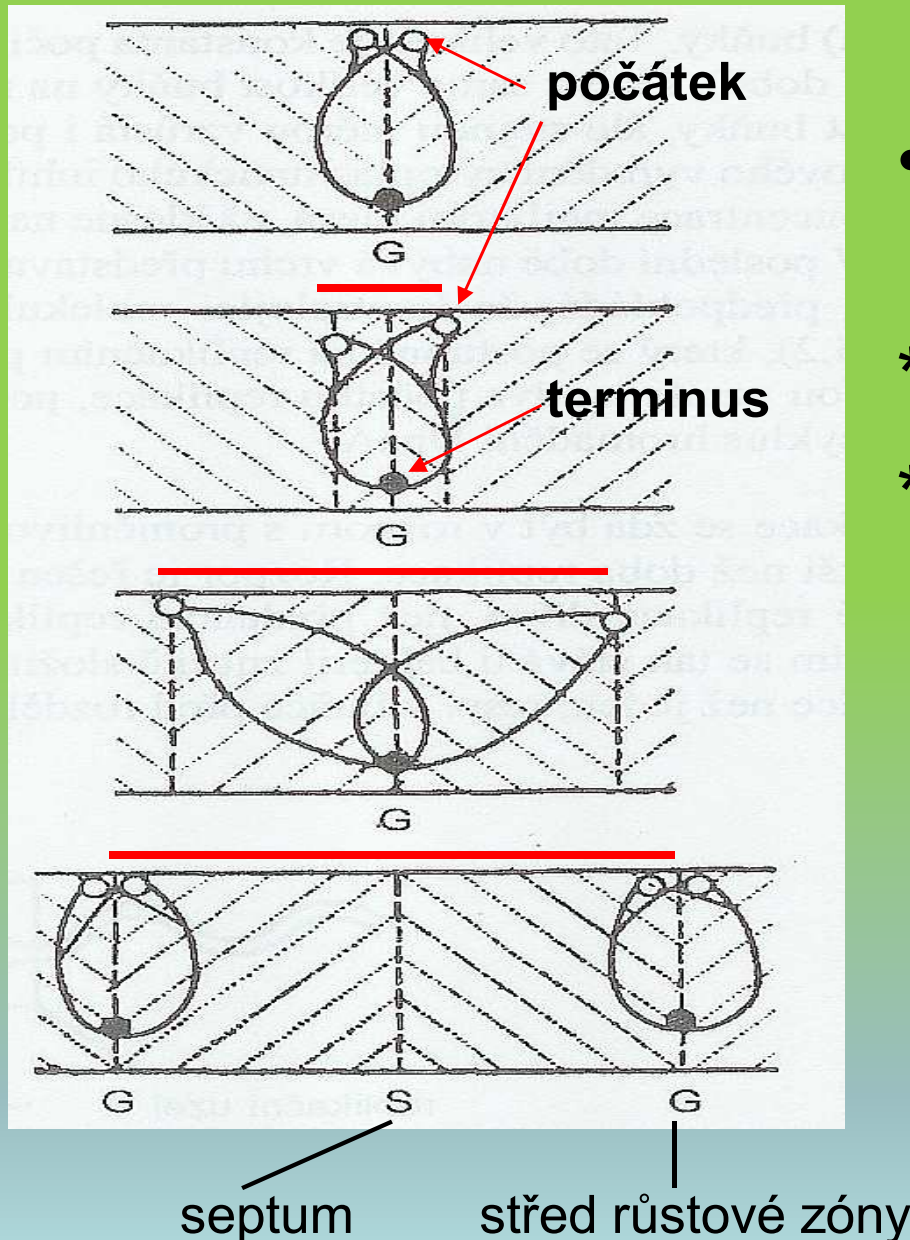


# Replikace bakteriálního chromozomu



- Pokud buňky rostou za “normálních” podmínek počátek replikace chromozomu je dán parametry buňky (velikost, hmotnost,...)
- Při růstu v suboptimálních podmínkách může docházet k **překryvné replikaci**, takže mateřská buňka může obsahovat chromozom prappravnučky

# Replikace bakteriálního chromozomu



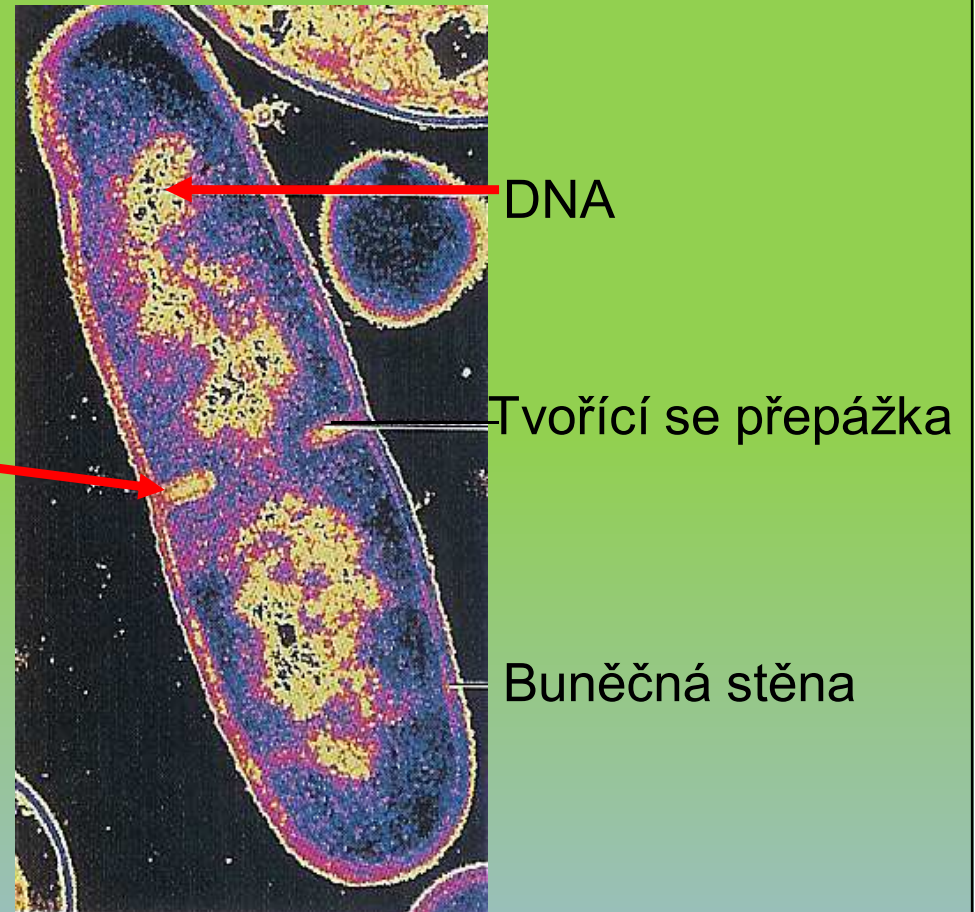
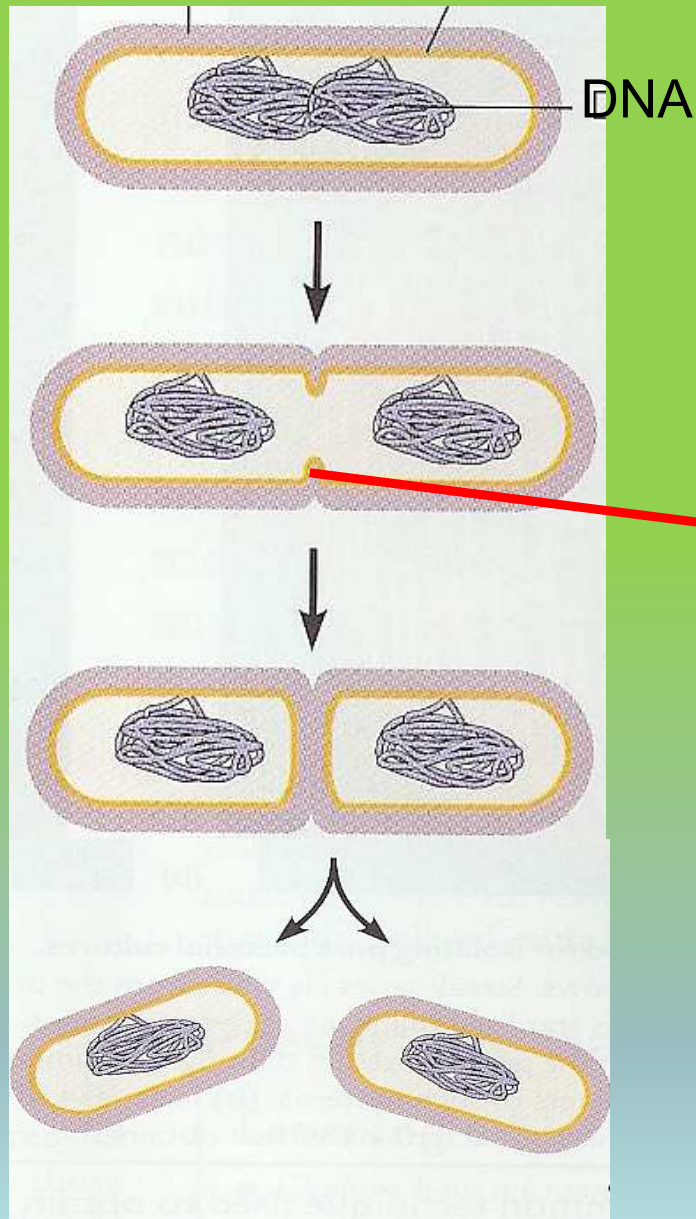
- Prostorové oddělení chromozomů
- \*u eukaryot – vřeténkem
- \*u prokaryot intenzivním lokálním růstem mezi místy připojení chromozomů k cytoplazmatické membráně

# Replikace bakteriálního chromozomu

**Jestliže je blokována replikace DNA,  
je ovlivněn celý buněčný cyklus  
dojde k jeho přerušení**

# Dělení buňky

Buněčná stěna    Cytoplazmatická membrána



# Dělení buňky

## syntéza peptidoglykanu

- peptidoglykan se nesyntetizuje kontinuálně stejnou rychlostí v průběhu celého buněčného cyklu
- do stávající peptidoglykanové vrstvy se nevkládají jednotlivé komponenty (NAM, DAP, peptidické řetězce) samostatně
- Vkládání je v „blocích“ tzv.

**„three-for-one růstový model“**

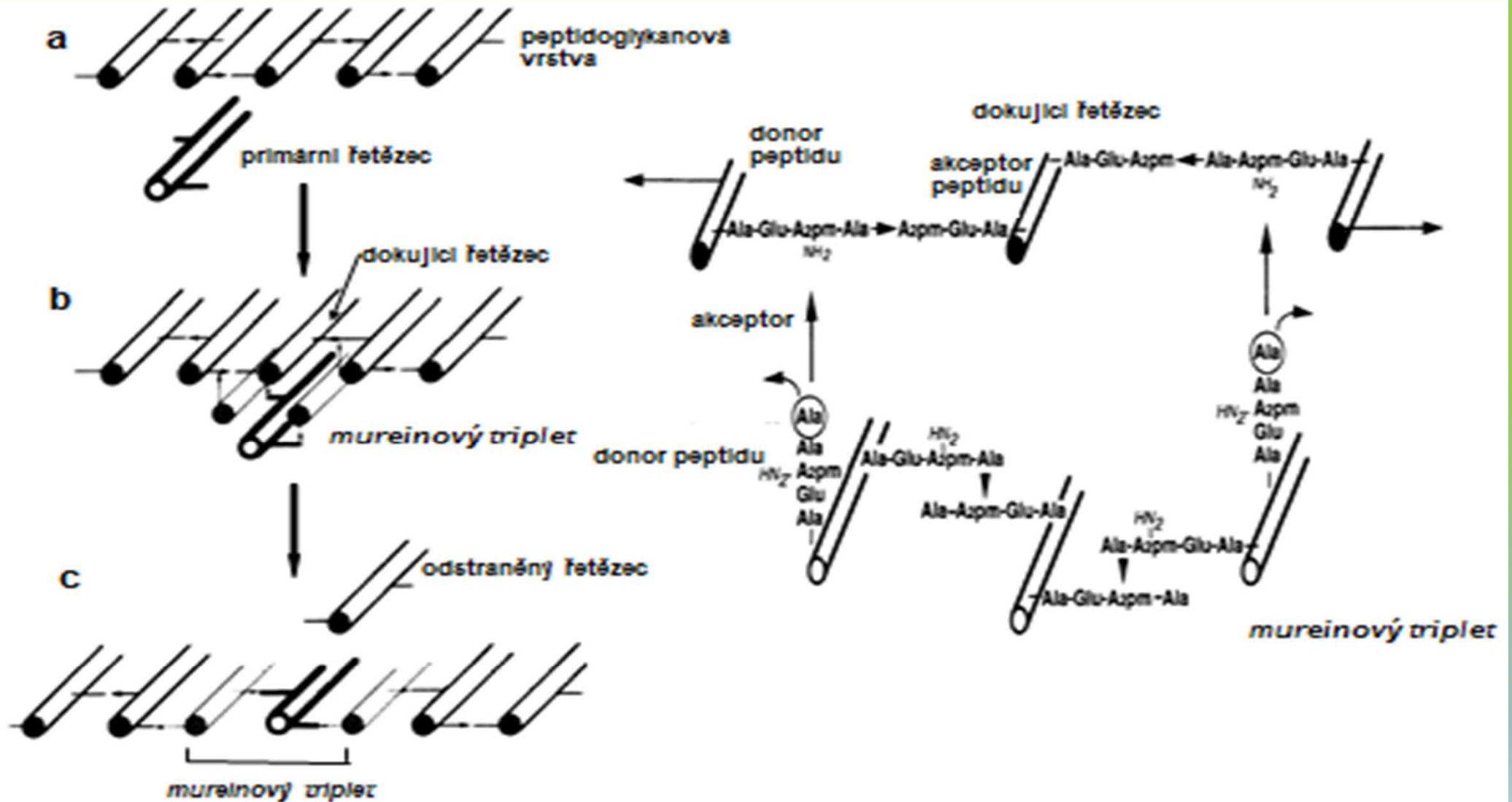
# Dělení buňky

## syntéza peptidoglykanu

- V první fázi syntézy se vytváří „mureinový triplet - podle jednoho řetězce, **primer**, se po jeho obou stranách syntetizují nové řetězce
- Mureinový triplet je potom kovalentně připojen k docking strand **ze spodní strany** k peptidoglykanové vrstvě
- následuje vyjmutí dockovaný řetězec a vložení tripletu do stávající vrstvy
- Výsledek - **zvětšení peptidoglykanové vrstvy o dva glykozidické řetězce**



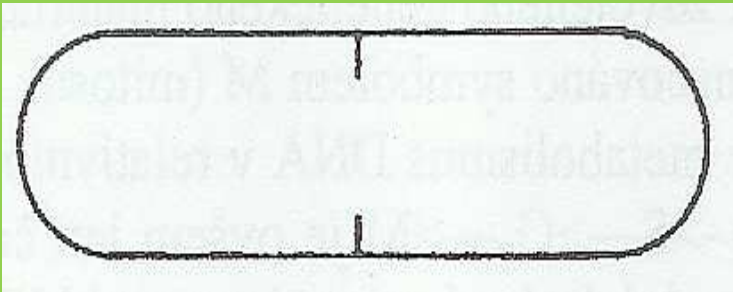
# Dělení buňky syntéza peptidoglykanu



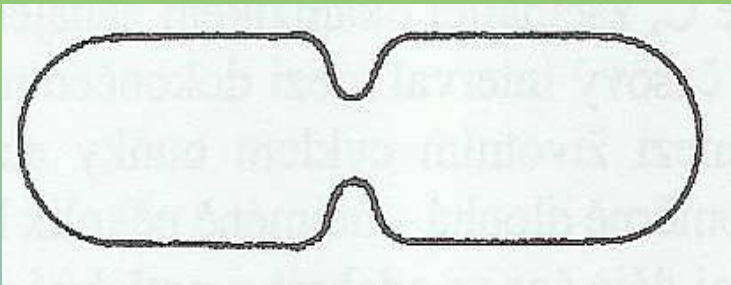
A<sub>2</sub>pm – diaminopimelová kyselina

# Dělení buňky - tvorba septa

Bez konstriktce u většiny G+

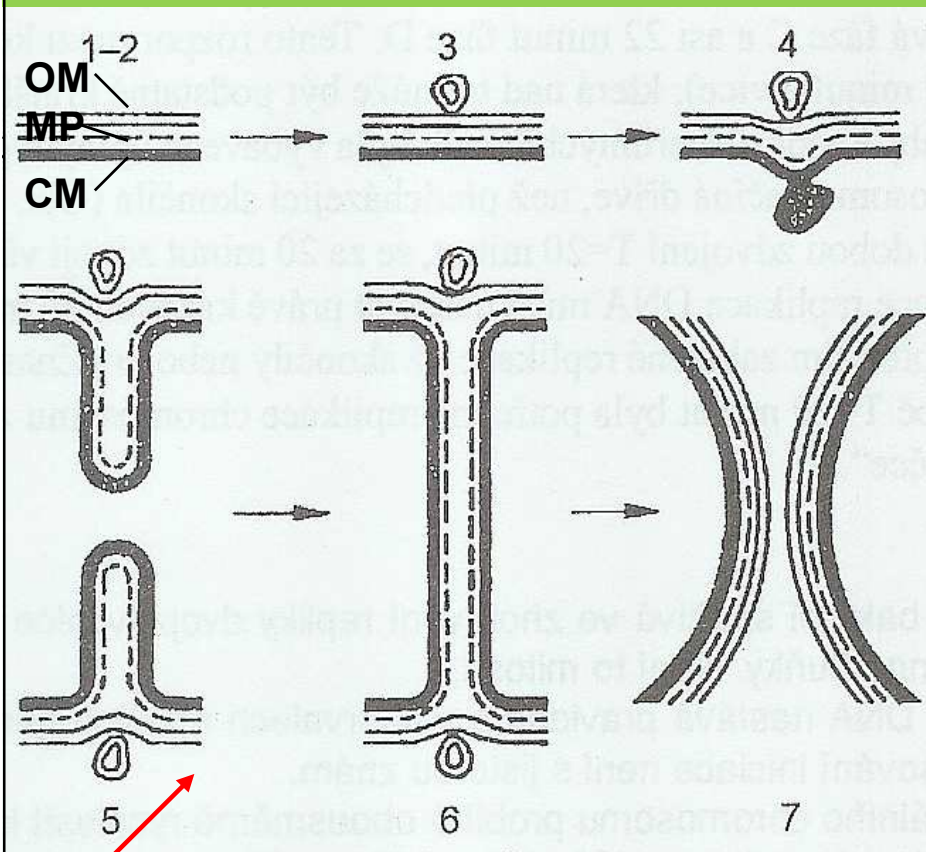


S konstrikcí u většiny G-



- Proces tvorby septa je zahájen invaginací cytoplazmatické membrány - začíná se vytvářet **Z kruh** (počátek septa)
- Růst stěny, tvorba přepážky je umožněna působením enzymů hydrolyzujících vazby peptidoglykanu – **autolyzinů**
- Tak vznikne prostor pro vložení nových stavebních částí do peptidoglykanu.
- Peptidoglykan roste do délky s buňkou (G+) nebo dostředným růstem (G-)

# Tvorba septa u *Escherichia coli*



Mimobuněčné měchýřky

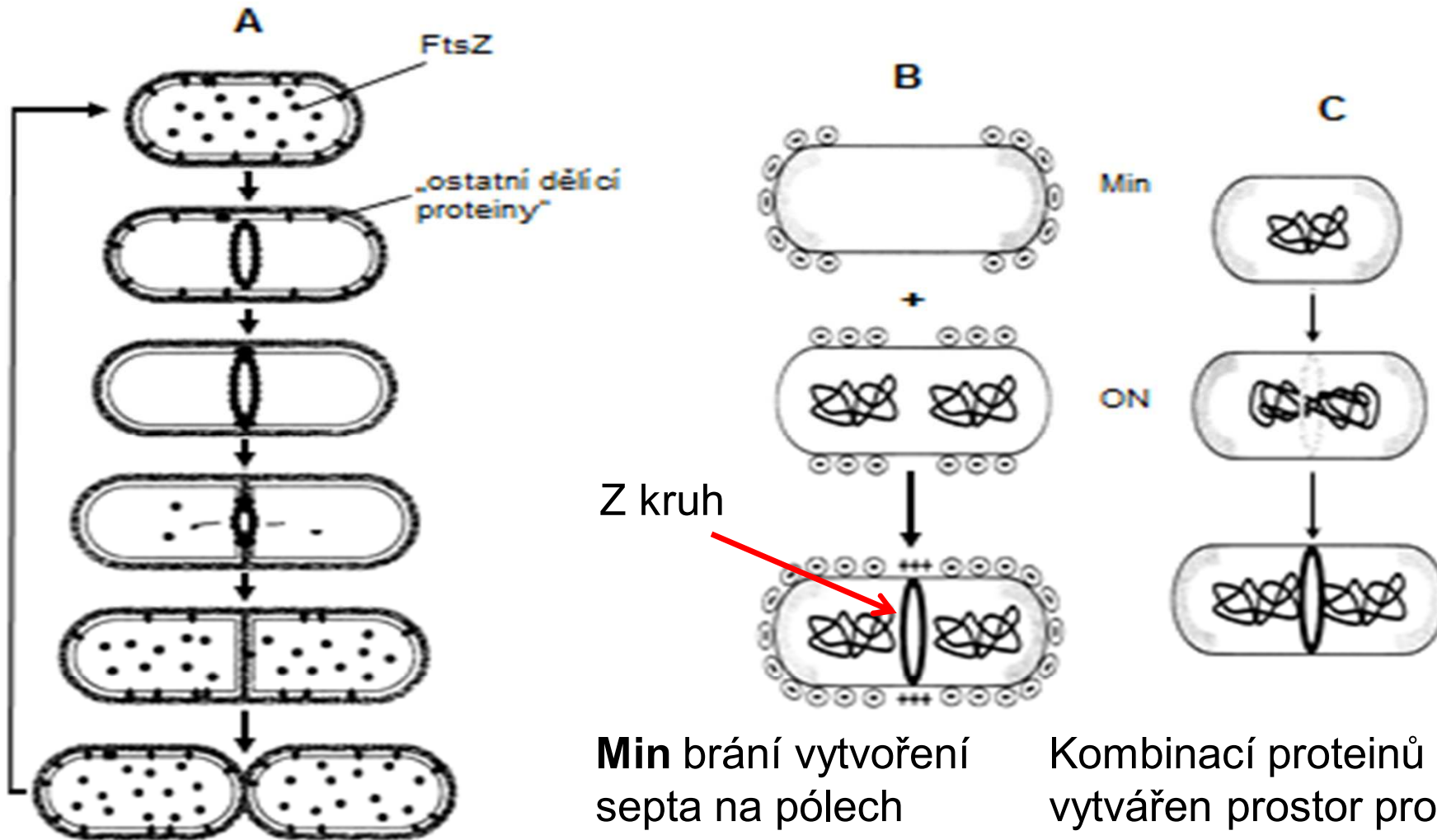
OM – vnější membrána

MP - peptidoglykan

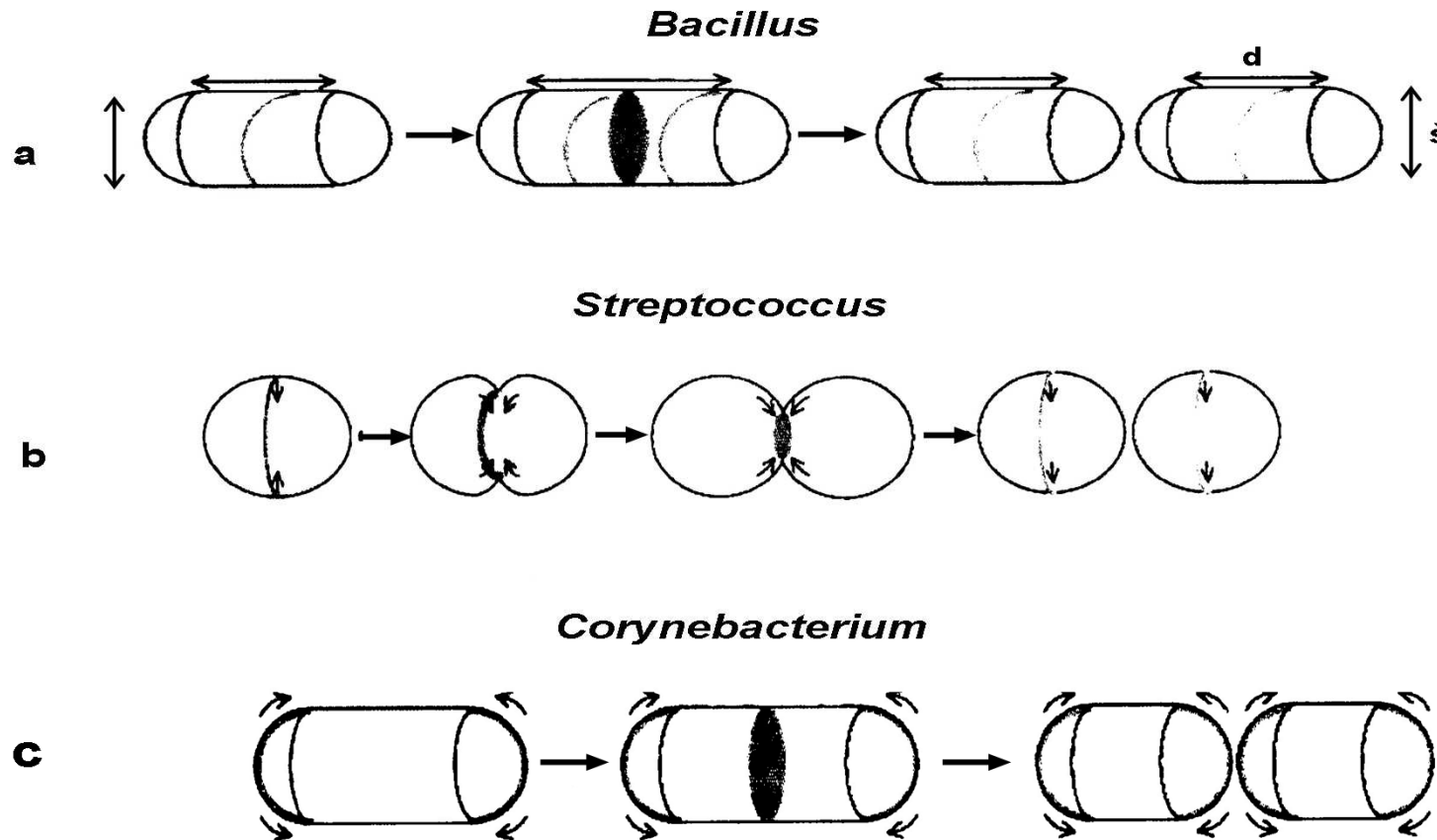
CM – cytoplazmatická membrána

- U G- se tvorby přepážky nezúčastňuje vnější membrána, takže materiál je v nadbytku a vytvářejí se **mimobuněčné měchýřky**
- **Poměr enzymů syntetizujících a hydrolyzujících peptidoglykan je striktně regulován.** Vychýlení poměru by znamenalo zastavení růstu nebo autolýzu
- Fyzické oddělení dceřinných buněk je uskutečňováno aktivitou autolyzinů
- Po rozdělení mohou být některé buňky u některých druhů pasivně spojeny **extracelulárním tmelem** nebo **společnou pochvou** (streptokoky, stafylokoky, neiserie, bakterie vytvářející společnou pochvu, ...)

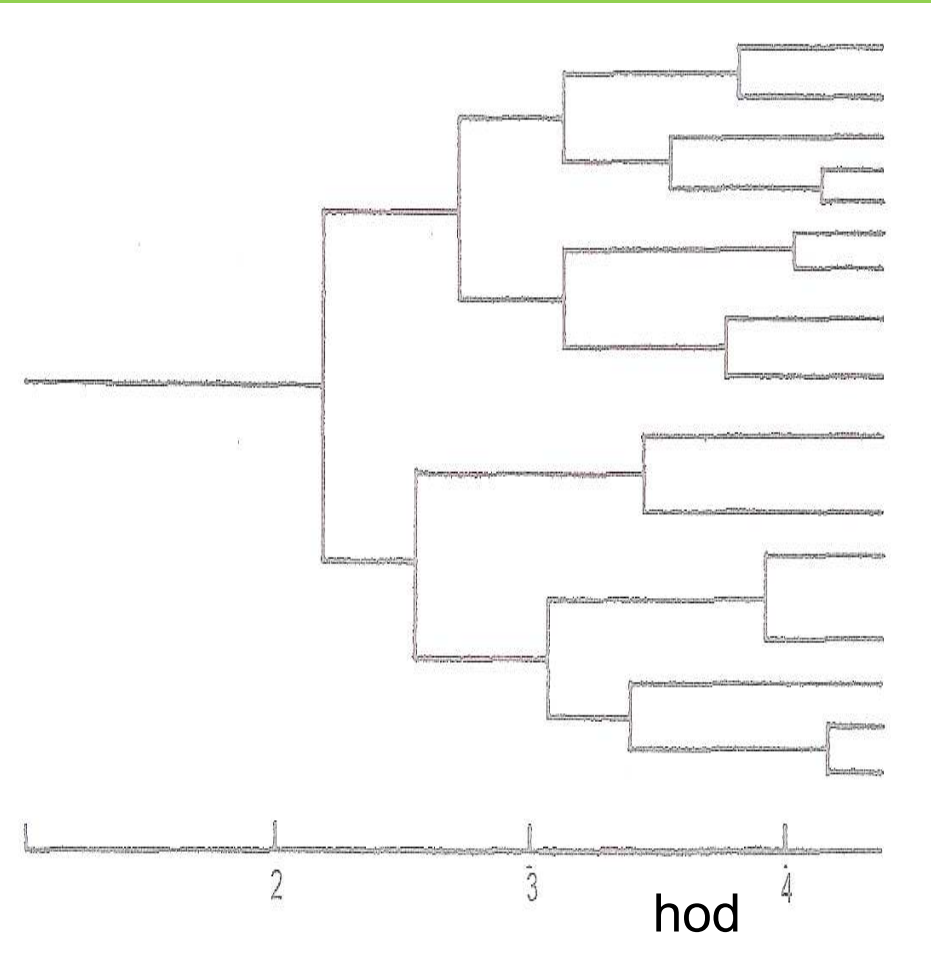
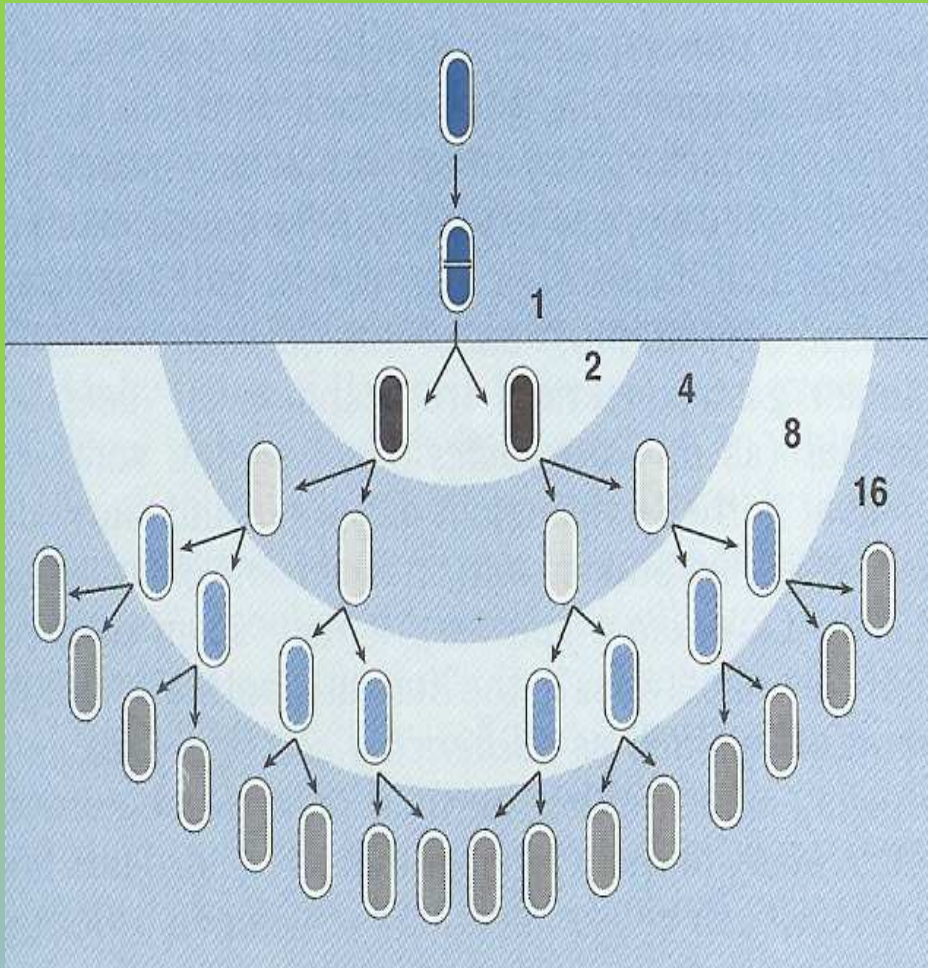
# Tvorba septa u *B. subtilis*



# Růst $G^+$ buňky



# Dělení buněk



Vznik heterogenní populace

# Dělení buněk

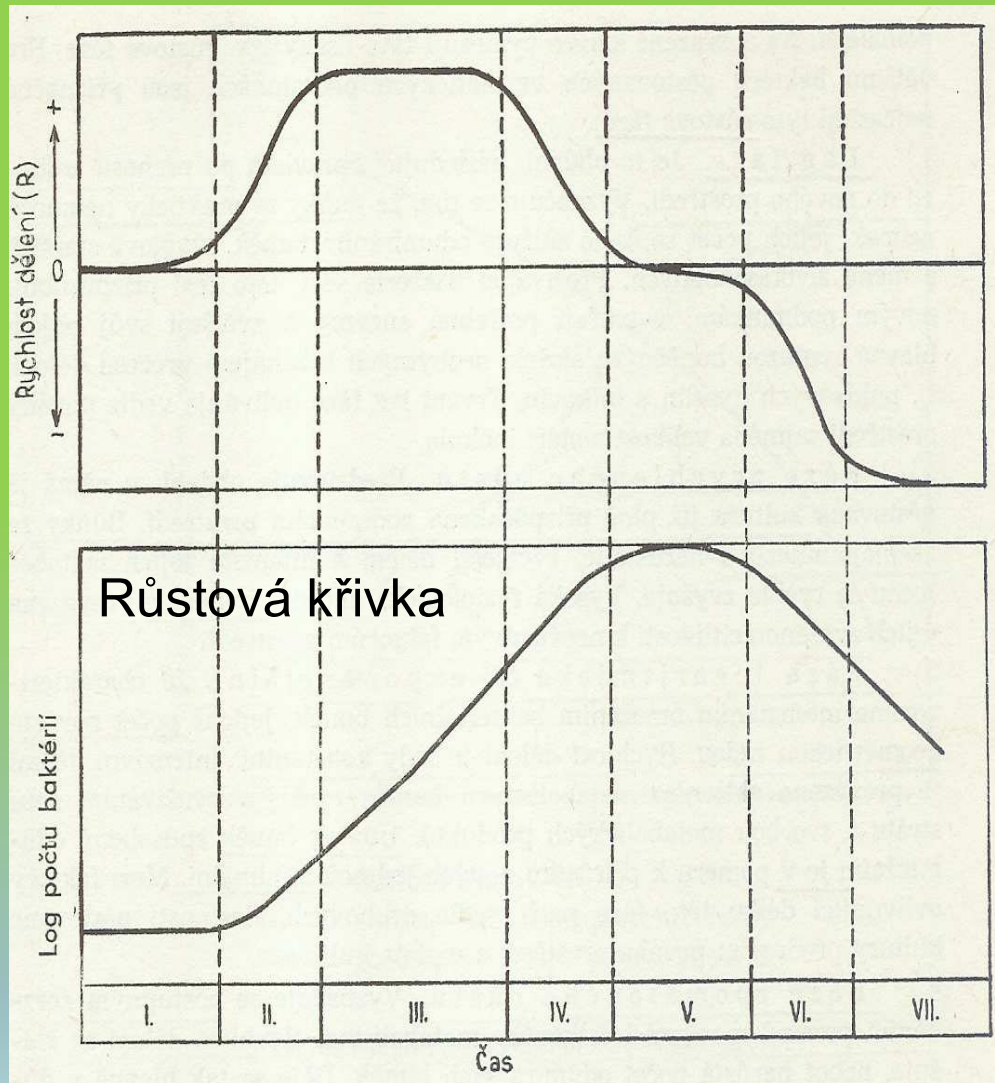
- Buňky vzniklé dělením buňky rostoucí vyváženě, **nejsou** fyziologicky přesně identické a rovnocenné
- V populaci se nacházejí buňky v odlišných fázích životního cyklu (od buněk nejmenších - těsně po rozdělení až po největší - těsně před rozdělením)
- Jednotlivá buňka mezi děleními roste “rovnoměrně“ a její velikost je funkcí času

# Růst populace v podmínkách *in vitro*

- **Statická kultivace** – uzavřený systém – vysoká koncentrace živin na počátku, nízká na konci a vysoká koncentrace metabolitů na konci kultivace
- **Kontinuální** – otevřený systém – koncentrace živin i metabolitů je udržována na stanovené hladině
- **Submerzní** – většinou uzavřený systém, změny jsou obdobné jako u statické kultivace. Třepáním, provzdušňováním či mícháním se zvětšuje pravděpodobnost kolize živiny s povrchem buňky. Populace roste rychleji než “statická“



# Množení mikroorganismů v podmínkách statické kultivace - růstová křivka



- I. Lag fáze
- II. Fáze zrychleného růstu
- III. Fáze logaritmická  
(exponenciální)
- IV. Fáze zpomaleného růstu
- V. Fáze stacionární
- VI. Fáze poklesu
- VII. Fáze zrychleného  
odumírání

# Růstová křivka

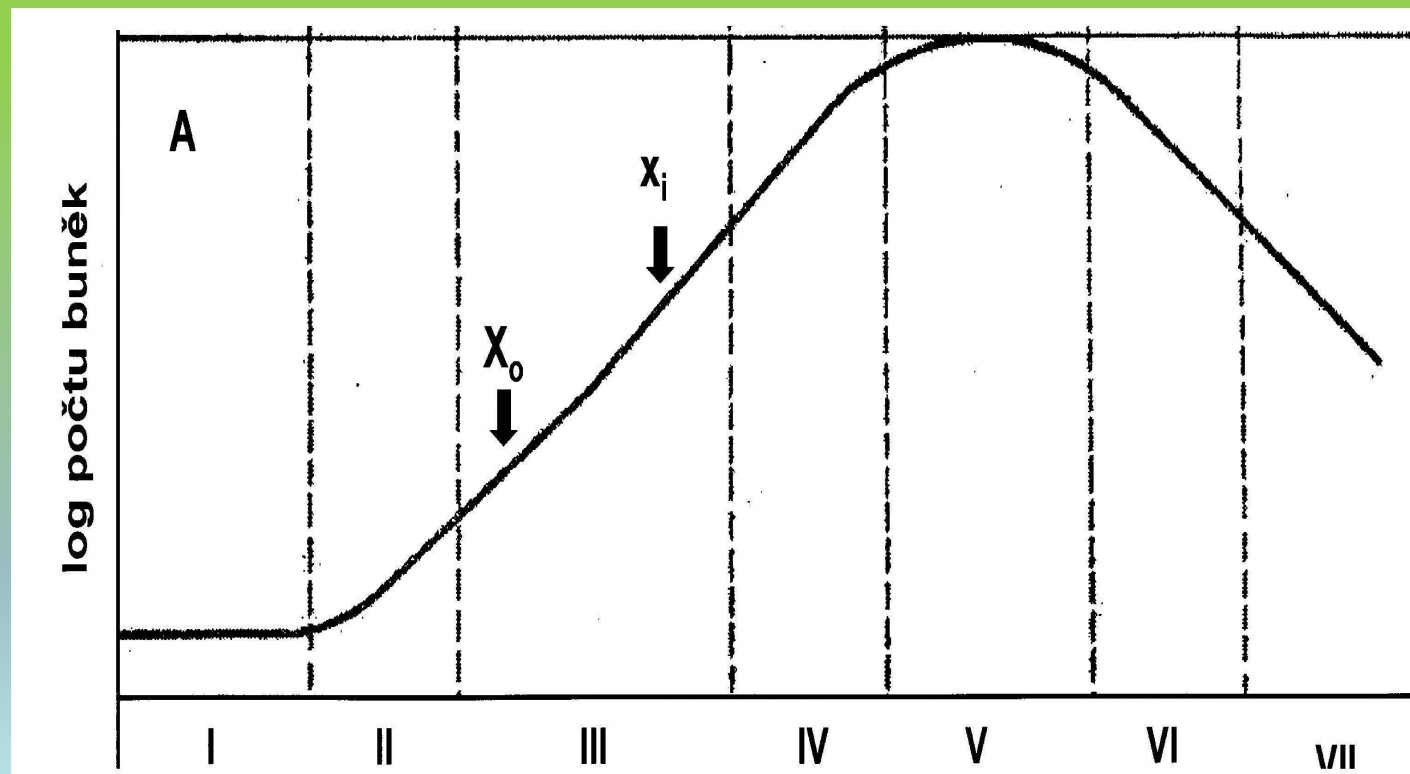
- **Lag fáze** – buňky se většinou nemnoží, snižuje se počet životaschopných buněk. Buňky se přizpůsobují prostředí a syntetizují potřebné enzymy. Vytvářejí se látky potřebné pro rozdělení buňky.
- **Fáze zrychleného růstu** (fáze fyziologického mládí) – buňky jsou přizpůsobeny prostředí, ke konci rychle metabolizují a dělí se. V této fázi jsou velmi citlivé k nepříznivým faktorům.
- **Fáze logaritmická** (exponenciální) – intenzivní růst, počet buněk narůstá geometrickou řadou, malý počet odumírajících buněk. Rychlé využívání substrátů a velká tvorba metabolitů

# Růstová křivka

- **Fáze zpomaleného růstu** – postupné zpomalování růstu a metabolismu. Zvyšuje se počet odumírajících buněk v důsledku snížení koncentrace živin a zvyšování koncentrace metabolitů (většinou toxické povahy).
- **Fáze stacionární** – počet odumírajících a vznikajících buněk se vyrovnává (nulová růstová rychlost). Počet buněk dosahuje maxima (M-koncentrace). Zvýšená produkce látek sekundárního metabolismu.
- **Fáze poklesu a fáze zrychleného odumírání** – narůstající úbytek buněk, rychlost dělení nabývá negativních hodnot. Snížení koncentrace živin pod limitní hodnotu. Postupné odbourávání zásobních látek.

# Růstové konstanty

- Stanoví se na základě hodnot získaných **v exponenciální fázi růstové křivky**
- Základním zákonem růstu a množení prokaryotické populace je geometrická řada s kvocientem 2



# Růstové konstanty

- Počet buněk v původní populaci je

$$x_0$$

- Počet buněk po prvním dělení (1. generace)

$$x_1 = 2x_0$$

- Počet buněk po druhém dělení (2. generace)

$$x_2 = 2 \cdot 2 \cdot x_0$$

- Počet buněk po třetím dělení (3. generace)

$$x_3 = 2 \cdot 2^2 \cdot x_0$$

- Počet buněk po n-tém dělení (n generace)

$$x_n = 2^n \cdot x_0$$

- V čase t potom

$$t = nT, \quad \text{kde}$$

n – počet zdvojení za dobu t-t<sub>0</sub>, T doba potřebná k rozdělení buňky

# Růstové konstanty

- Dosadíme-li za  $n = t/T$  do rovnice

$$x_n = 2^n \cdot x_0$$

- Bude se **počet buněk** v závislosti na čase rovnat  $x = x_0 2^{t/T}$

- **Počet generací**  $\underline{n}$  v čase lze vypočítat i použitím dekadických logaritmů

$$\log x = \log x_0 + n \log 2$$

# Růstové konstanty

- Jestliže se vztáhne  $\underline{n}$  na dobu, po kterou populace rostla - **průměrná rychlost dělení** ( $R$ )

$$R = \frac{n}{t} = \frac{1}{\log 2} \cdot \frac{\log x - \log x_0}{t - t_0}$$

- Z tohoto vztahu se odvodí **střední generační doba** ( $\tau$ )

$$\tau = \frac{1}{R} = \log 2 \cdot \frac{t - t_0}{\log x - \log x_0}$$

# Růstové konstanty

- V exponenciální fázi platí, že rychlost růstu mikrobiální populace je v kterémkoliv okamžiku této fáze úměrná počtu buněk

$$\frac{dx}{dt} = \mu x$$

- Kde  $\mu$  je konstanta, tzn. růstová rychlost přepočtená na jednu buňku nebo biomasu a označuje se jako **specifická růstová rychlost**

$$\mu = \frac{dx}{dt} \cdot \frac{1}{x} = \frac{\ln x - \ln x_0}{t} = 2,3 \cdot \frac{\log x - \log x_0}{t - t_0}$$



# Růstové konstanty

- Hodnota  $\mu$  je v exponenciální fázi závislá na koncentraci substrátu (esenciální živiny)

$$\mu = \mu_m \cdot \frac{S}{K_s + S}$$

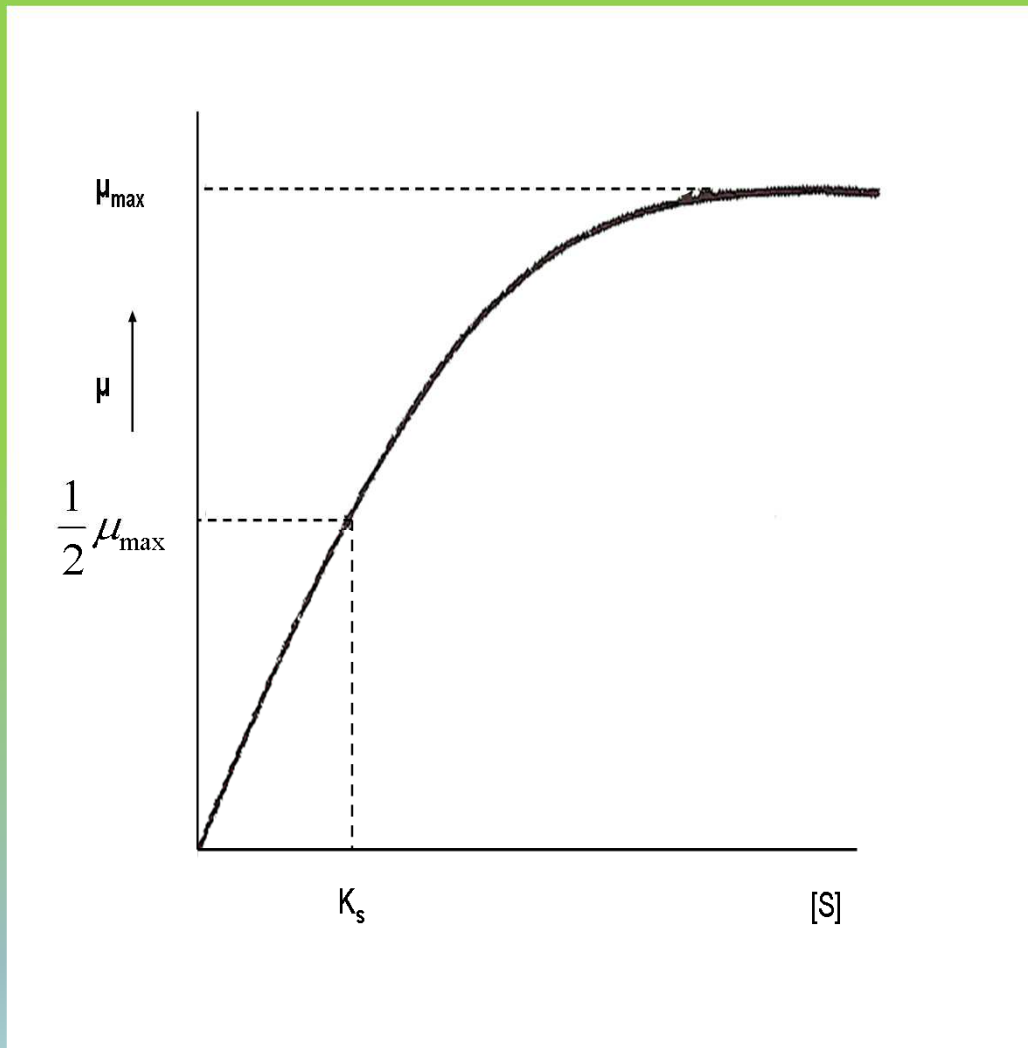
kde

$\mu_m$  = **maximální růstová rychlost**

$S$  = koncentrace substrátu

$K_s$  = saturační konstanta (zde je číselně rovna koncentraci substrátu, při níž  $\mu$  odpovídá poloviční hodnotě  $\mu_m$ ). Skutečné hodnoty jsou velmi nízké a většiny substrátů se pohybují v rozmezí jednotek mg/l.

# Závislost $\mu$ na koncentraci živiny

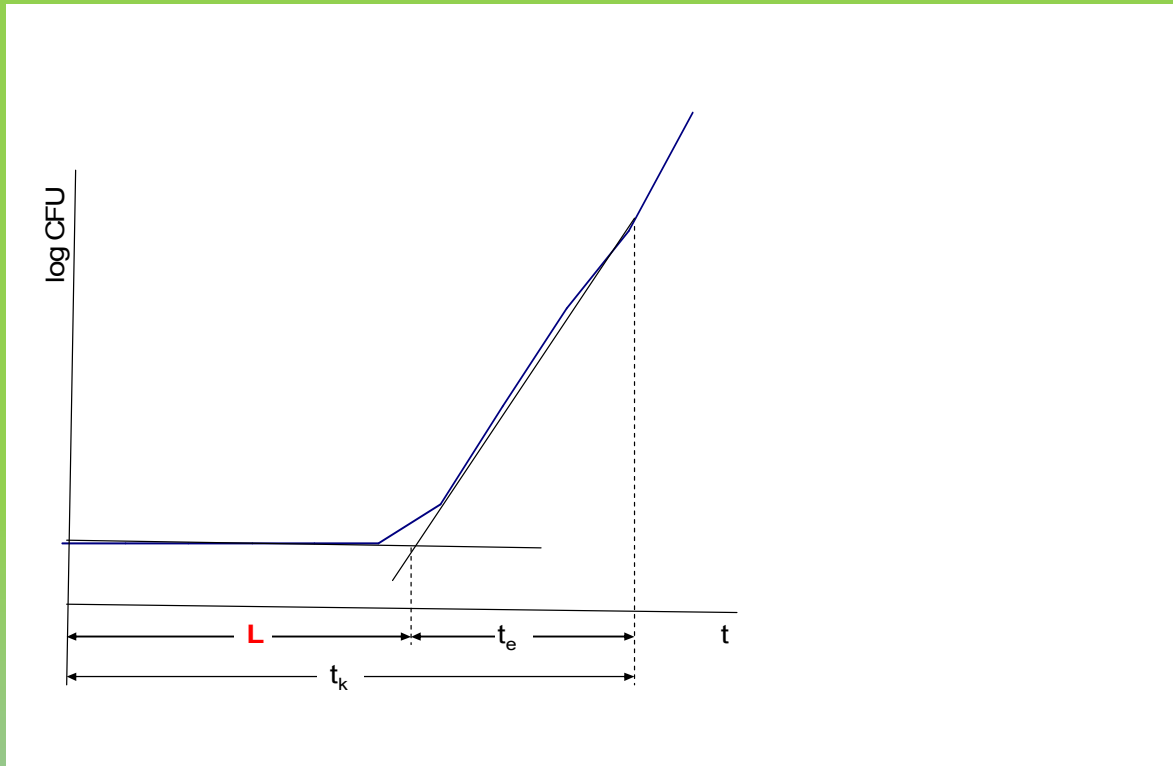


$K_s$  je velmi malá (asi o dva řády menší než běžně používané koncentrace v mediích), takže hodnota  $\mu$  je při běžné kultivaci prakticky stejná

**Rychlost růstu**  
v exponenciální fázi bude konstantní v širokém spektru koncentrací **dané živiny**. A měnit se bude teprve po **významném** poklesu její koncentrace

# Růstové konstanty

## stanovení doby „lagu“

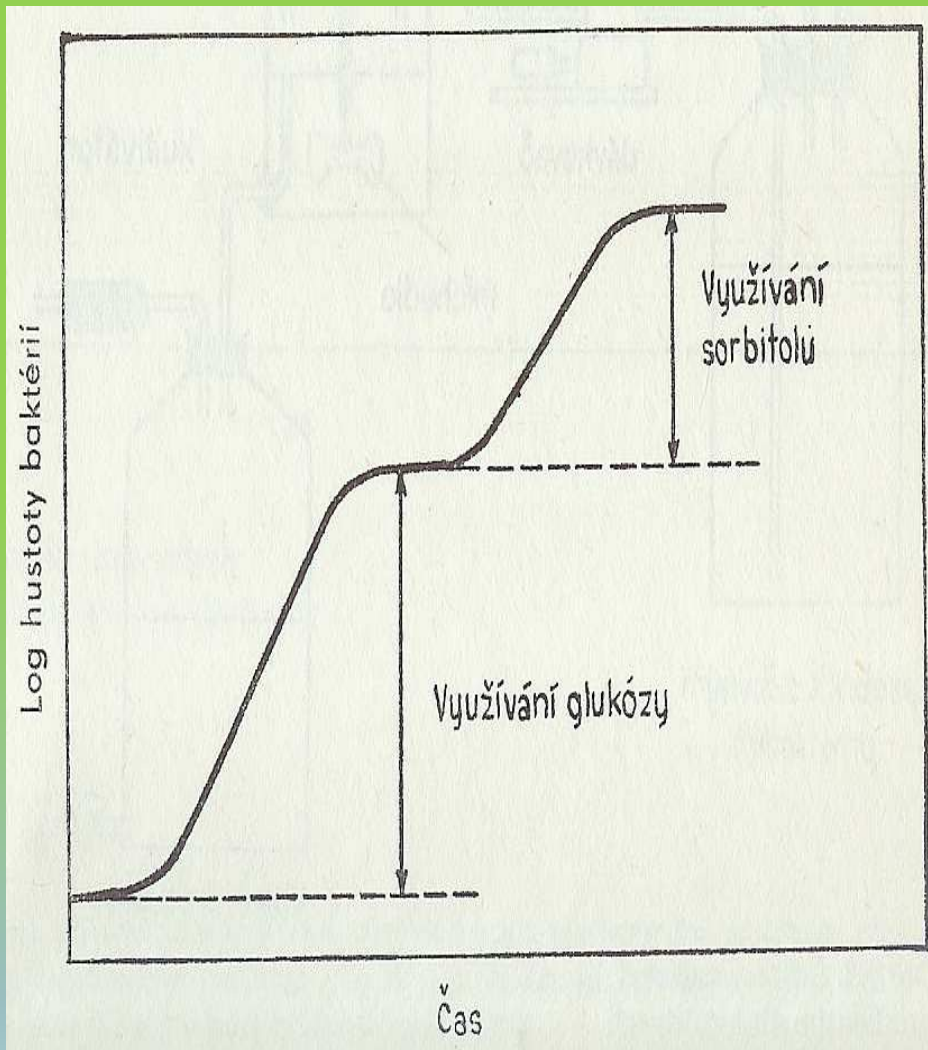


$$L = t_k - t_e$$

$$t_e = \frac{1}{\log 2} \frac{(\log N - \log N_0)}{R} = \frac{1}{\log 2} \tau (\log N - \log N_0)$$

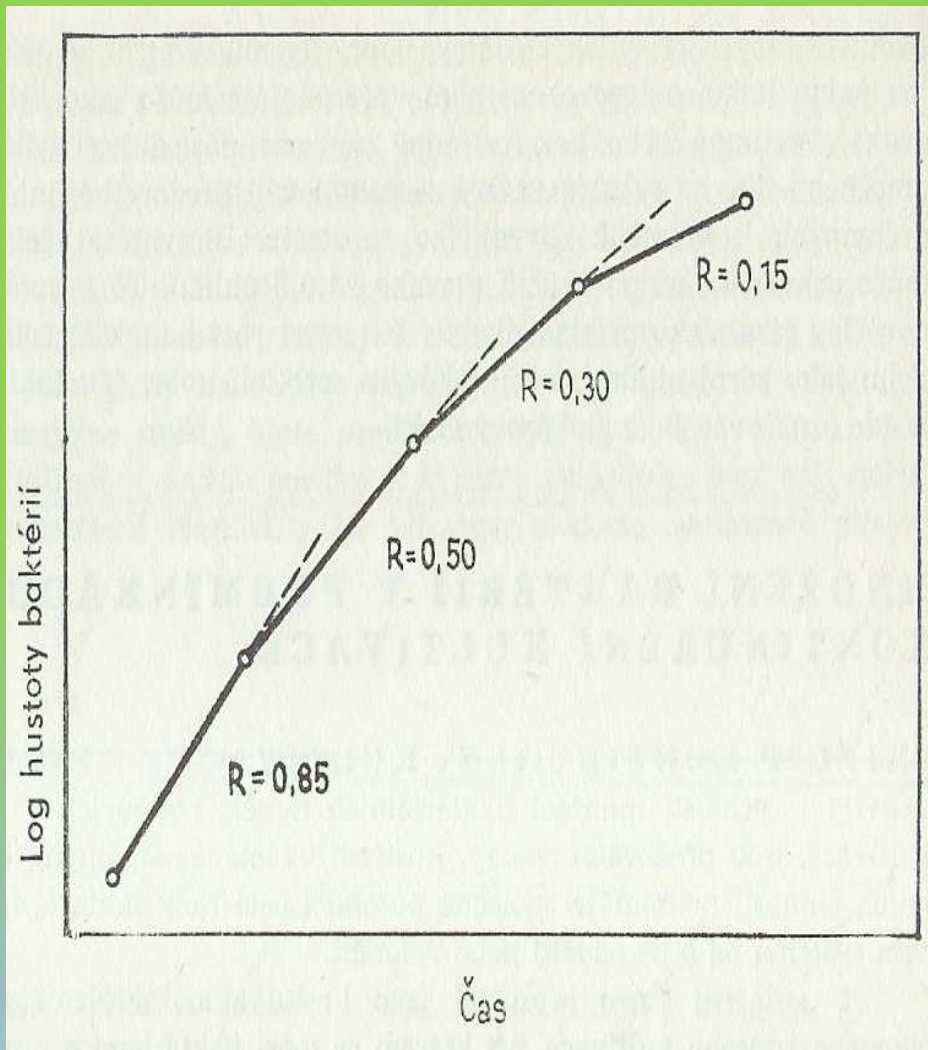
$t_k$  - doba trvání experimentu (experimentálně zjištěná)

# Diauxie



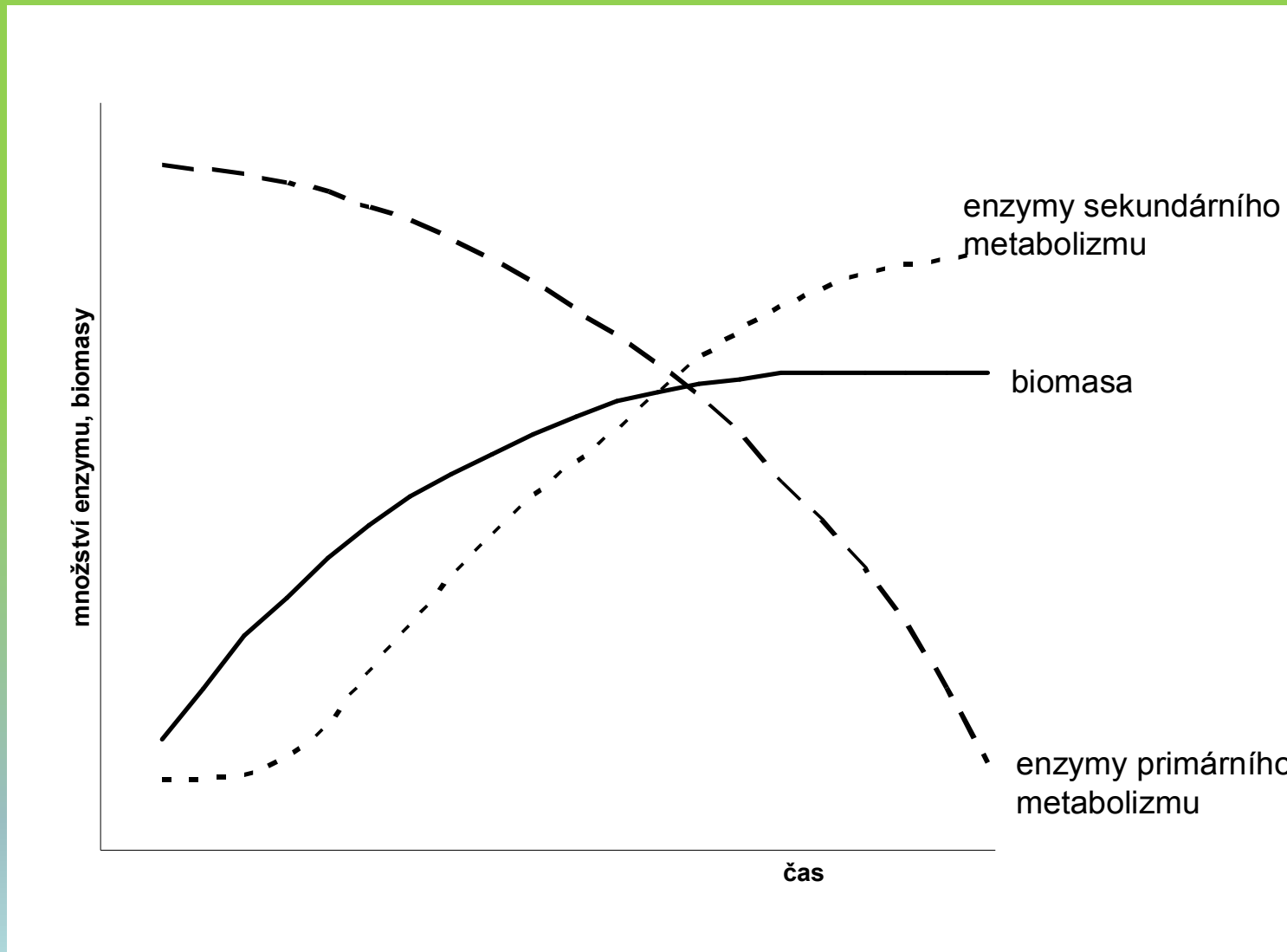
- Tento způsob růstu je typický pro prostředí se dvěma odlišnými zdroji uhlíku a energie v tekutém prostředí
- Nejprve je využíván jeden, přičemž enzymy pro využívání druhého jsou blokovány
- Po vyčerpání 1. substrátu nastupuje využívání druhého
- Růst populace je charakterizován **dvěma lag fázemi a dvěma log fázemi**
- Pořadí využívání substrátů je regulováno

# Mnohonásobná logaritmická fáze



- Způsob růstu populace, při němž na sebe navazuje několik log fází
- Tyto fáze se od sebe liší rozdílnou růstovou rychlostí
- Je to odraz změn prostředí, ke kterým dochází v průběhu kultivace (např. vyčerpáním jedné živiny a využíváním jiné). Možné je také hromadění metabolitů, které později vystupují jako sekundární substrát
- Jako regulační faktor může vystupovat i  $\text{CO}_2$ . Při suboptimální koncentraci jsou syntetizovány zásobní látky, které jsou následně využívány po vyčerpání základního media

# Syntéza enzymů v průběhu růstu

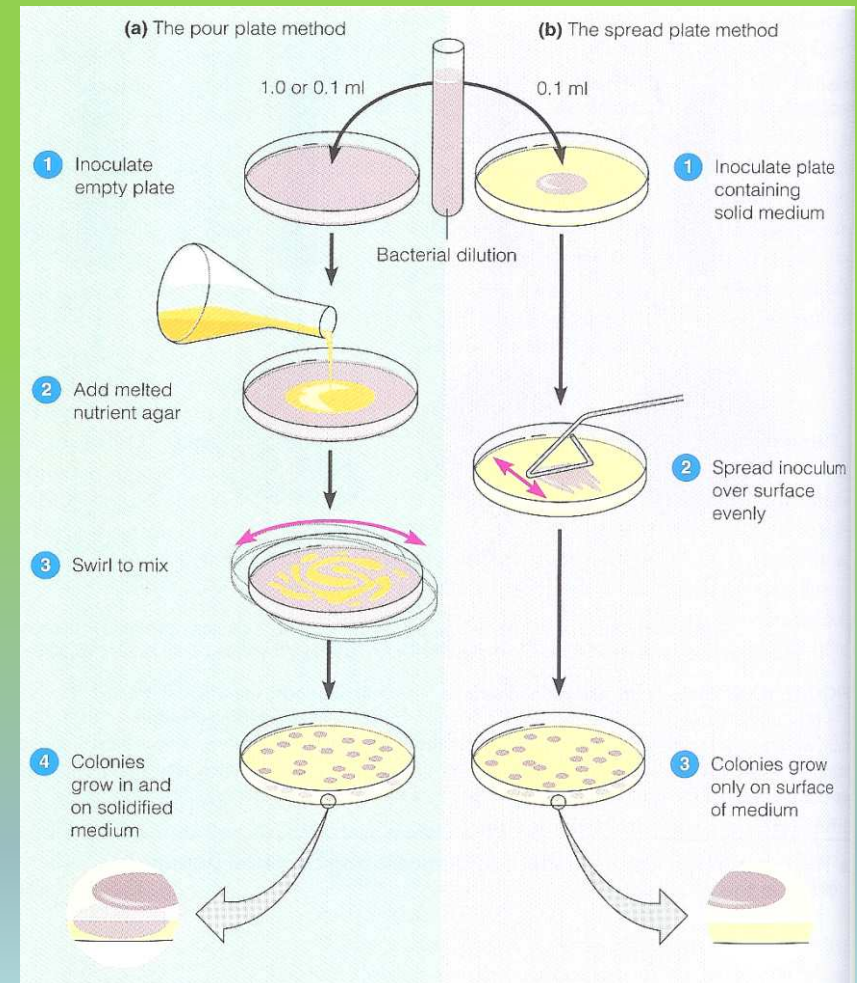


# Metody pro stanovení růstové křivky

- Počítáním živých buněk (plotnová metoda, počítačí komůrka)
- Stanovením optické denzity suspenze
- Stanovením biomasy

# Metody pro stanovení růstové křivky

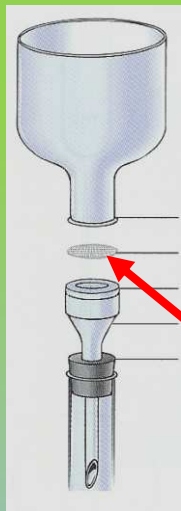
- Počítáním živých buněk - plotnová metoda



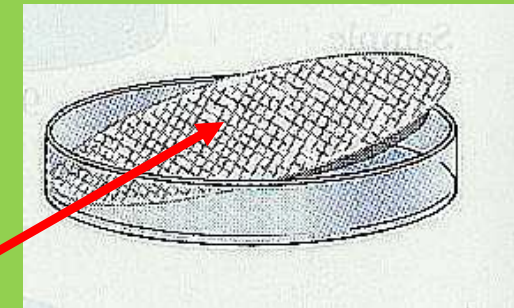
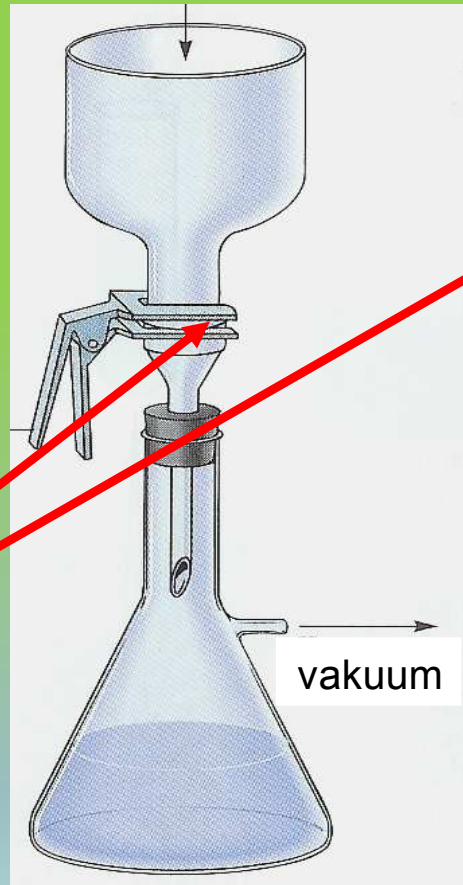
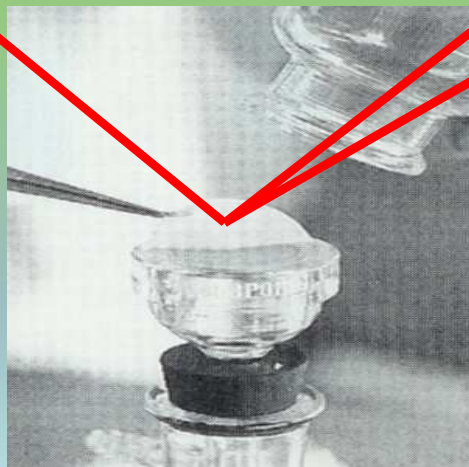


# Metody pro stanovení růstové křivky

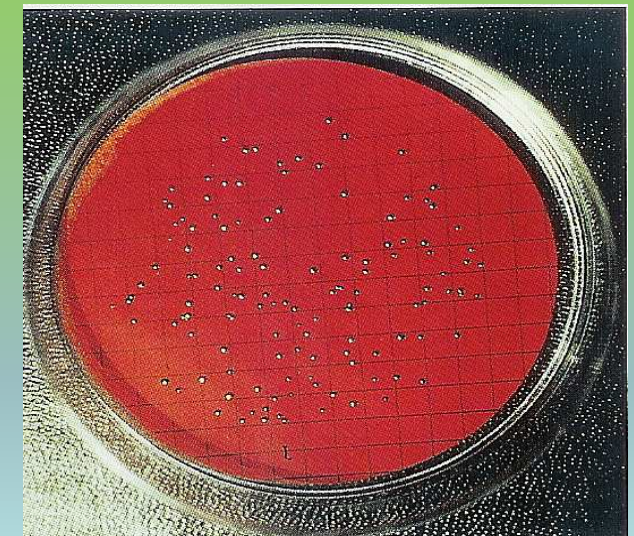
- Počítáním živých buněk – metoda membránových filtrů



nálevka  
membránový filtr  
základní deska

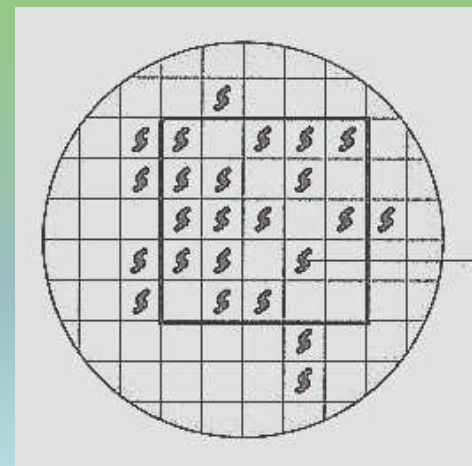
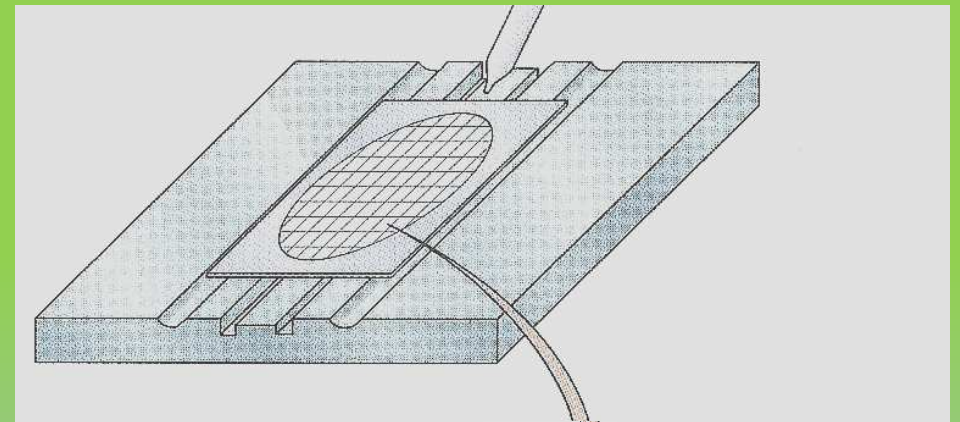


Miska s agarem



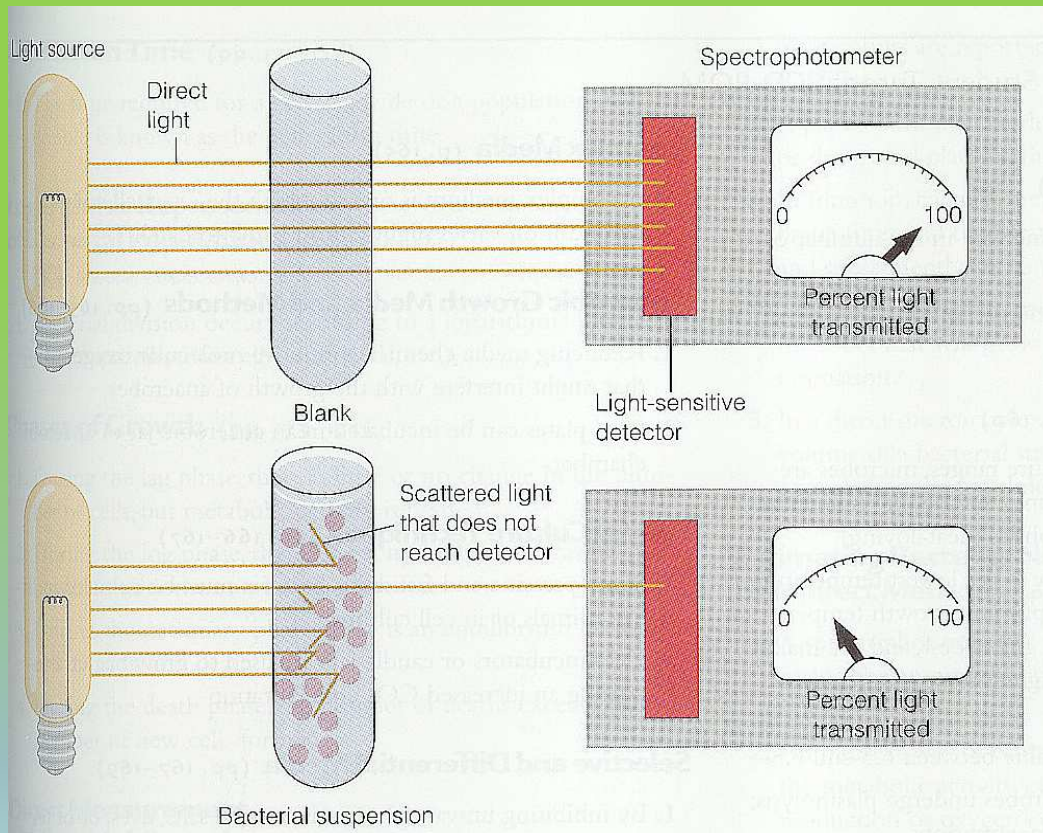
# Metody pro stanovení růstové křivky

- Počítáním živých buněk – počítací komůrka

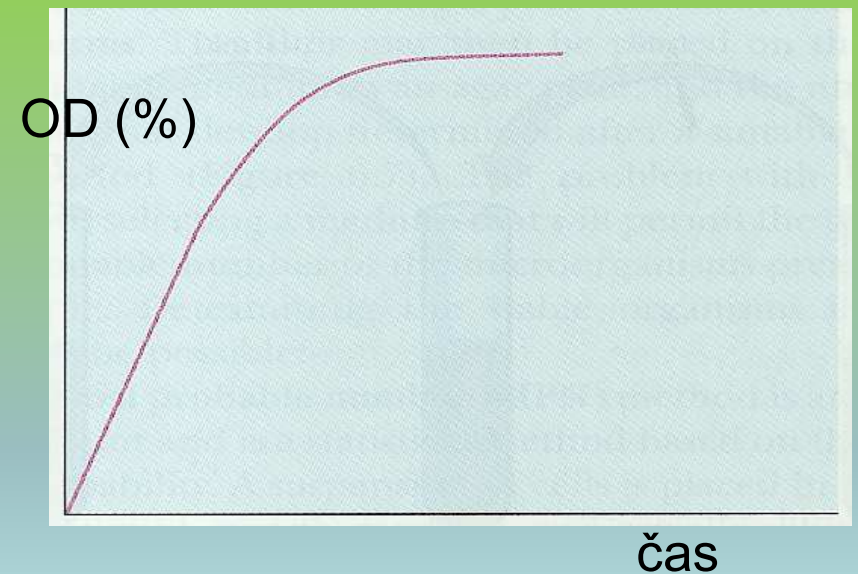


# Metody pro stanovení růstové křivky

- Stanovením optické denzity suspenze



Růstová křivka stanovená turbidimetrem



# Metody pro stanovení růstové křivky

- Stanovením biomasy
  - \*stanovení sušiny
  - \*rozpuštěných bílkovin
  - \*mokrých biomasy
  - \*DNA

# Synchronizace dělení

- Při kultivaci za “normálních” podmínek je mikrobiální populace fyziologicky heterogenní. Důsledkem je, že v populaci se nacházejí buňky v různém stádiu životního cyklu.
- Proto hodnota generační doby vypočtená podle vztahu

$$\tau = \frac{1}{R} = \log 2 \cdot \frac{t - t_0}{\log x - \log x_0}$$

je **průměrnou hodnotou pro populaci**

- K získání fyziologicky homogenní populace se používá metody synchronizace, navozující stav, kdy populace se chová “jako” individuální buňka

# Synchronizace dělení

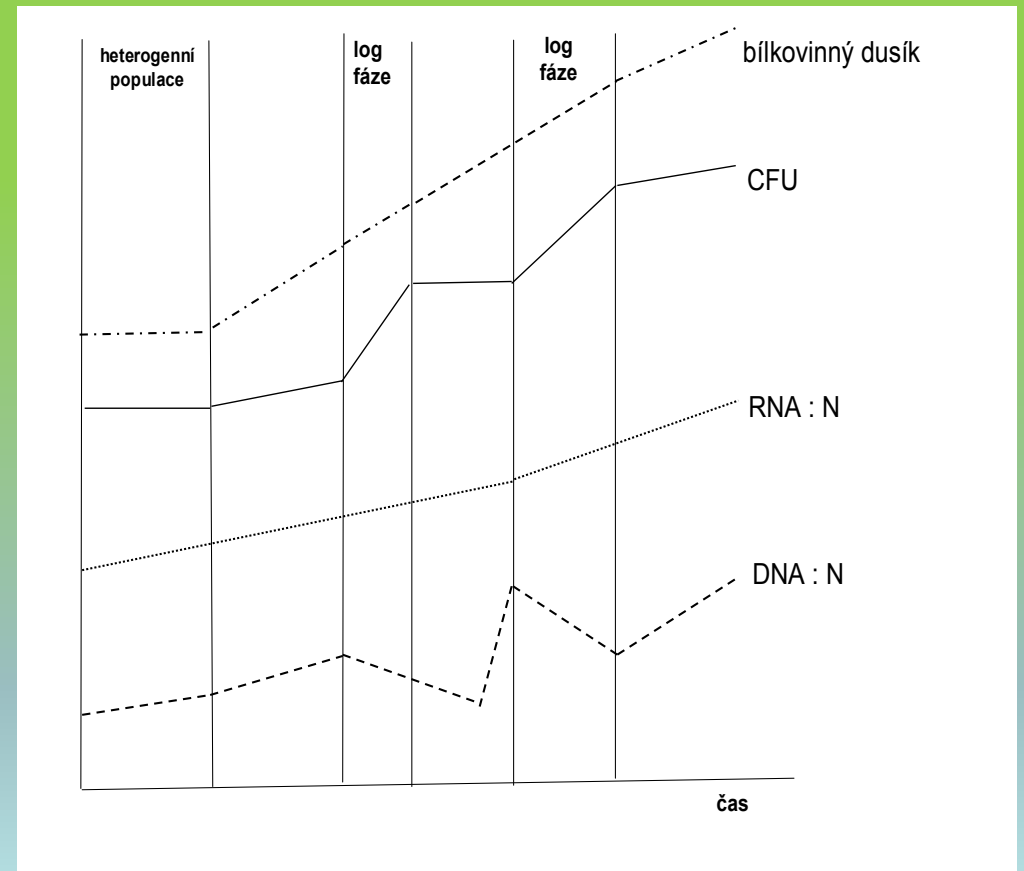
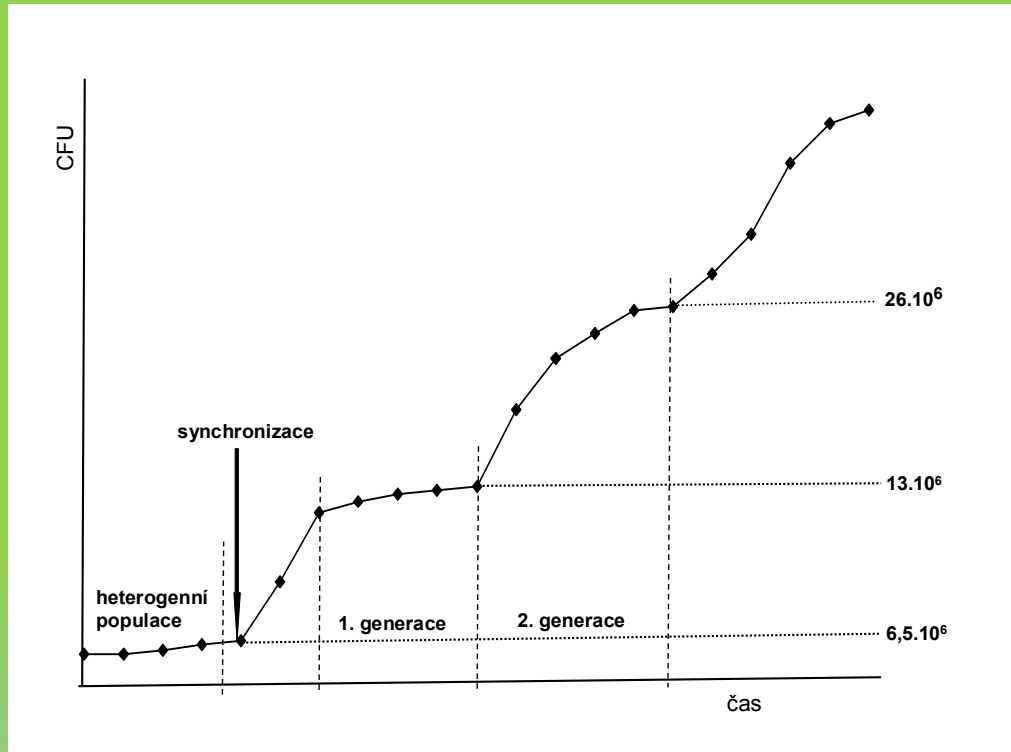
- **Metody navození synchronního množení**

- \*chladový šok – zastavení buněčného cyklu ve fázi G1- blokována syntéza DNA

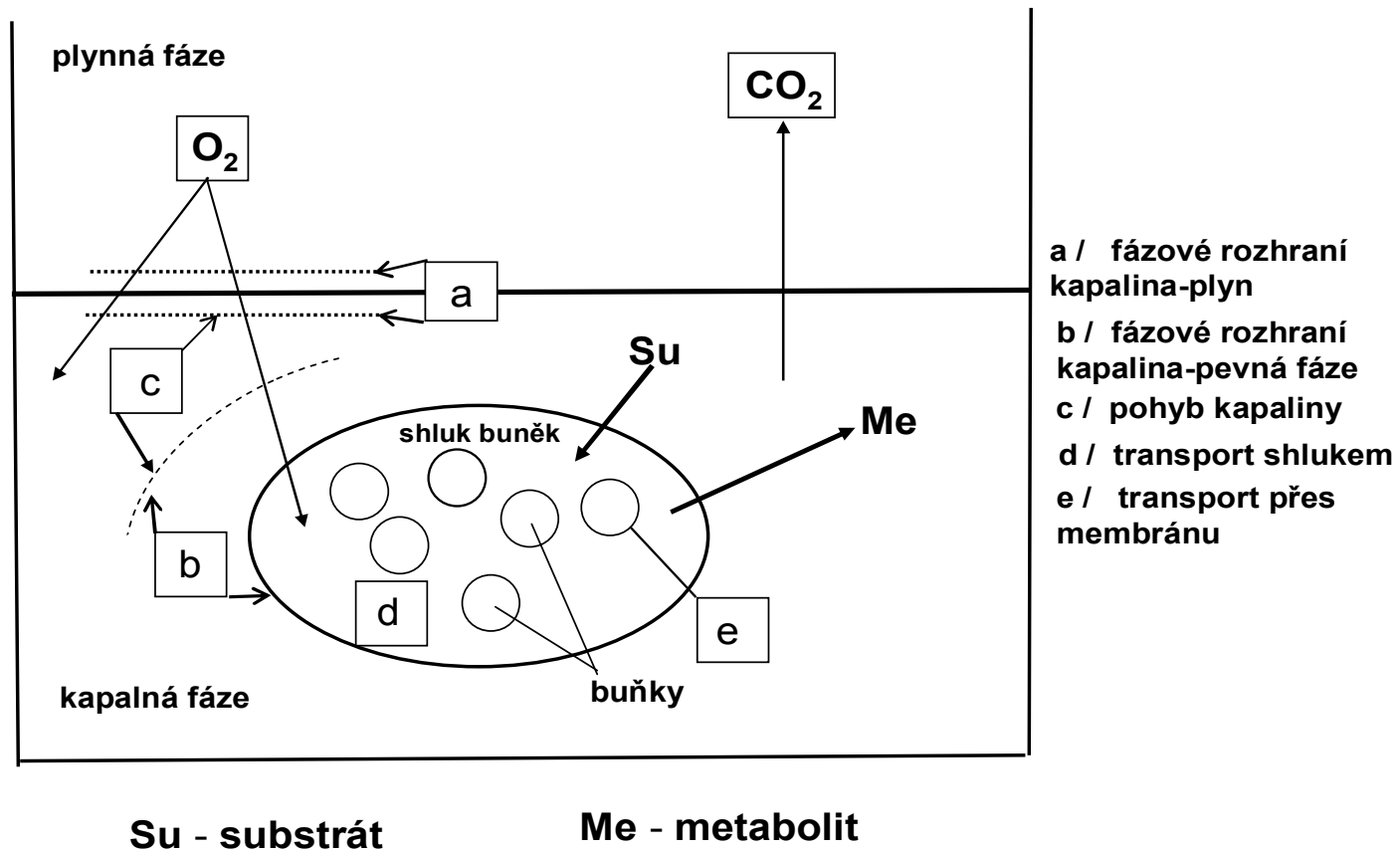
- \*zfázování hladověním – využití výživového signálu (ve fázi G1)

- \*filtrace membránovými filtry (zachycení buněk o přibližně stejné velikosti)

# Synchronizace dělení



# Podmínky pro submerzní kultivaci





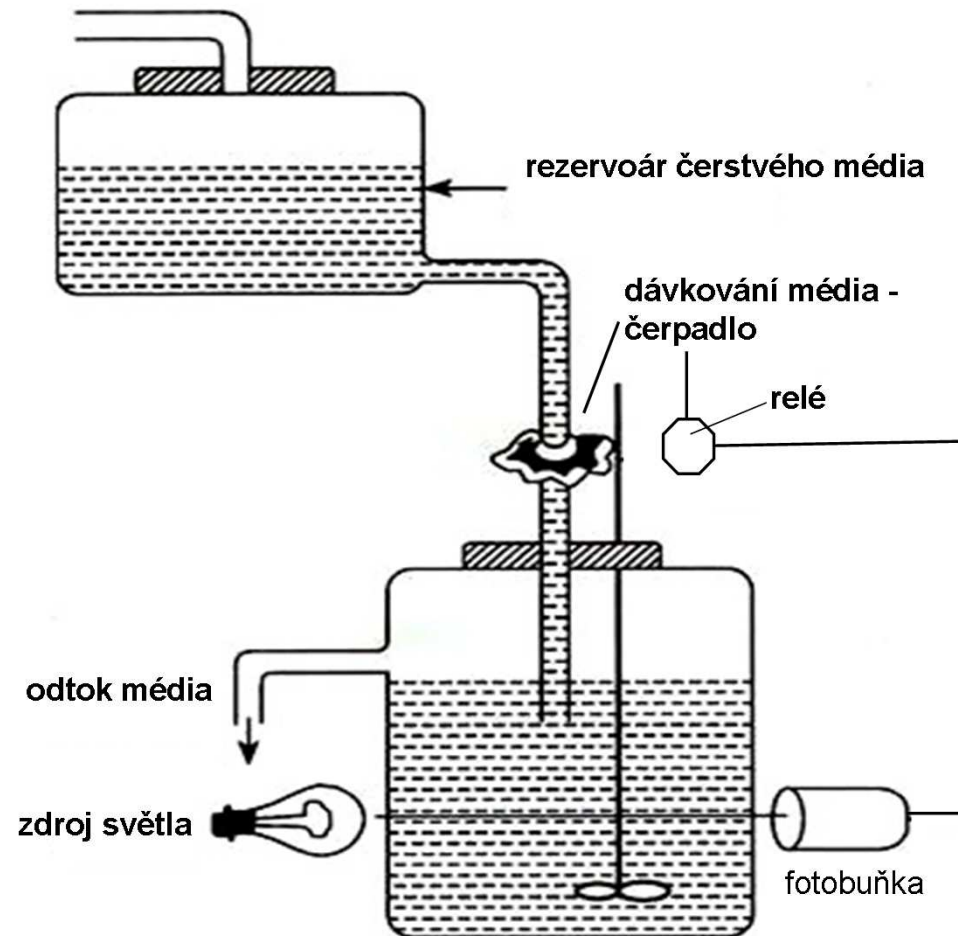
# Růst a množení v podmínkách kontinuální kultivace

- Základem kontinuální kultivace je eliminace vlivu limitujícího faktoru na růst populace
- Do kultivační nádoby je neustále přiváděno čerstvé médium a odváděno přebytečné včetně buněk
- Tím se vytvoří stav dynamické rovnováhy a buňky jsou v ustáleném fyziologickém stavu. V tomto stavu by bylo možné udržovat rostoucí populaci téměř neomezenou dobu
- **Kontinuální kultivace je systém otevřený**

# Růst a množení v podmínkách kontinuální kultivace

- **Turbidostat** – všechny živiny jsou v nadbytku. Růst je regulován rychlostí přítoku živného média
- **Chemostat** – živné médium přitéká konstantní rychlostí. Růst je regulován koncentrací esenciální živiny

# Zařízení pro kontinuální kultivaci turbidostat



# Růst a množení v podmínkách kontinuální kultivace - turbidostat

- Při kontinuální kultivaci buněk přibývá podle rovnice

$$\frac{dx}{dt} = \mu x \quad (\text{g.l}^{-1}.\text{h}^{-1})$$

- Buněk ubývá podle vztahu

$$\frac{-dx}{dt} = \frac{w}{V} x = Dx \quad (\text{g.l}^{-1}.\text{h}^{-1})$$

Kde  $x$  – koncentrace buněk,  $V$  – objem kultury (l),  $w$  – rychlost přítoku media (l/h)

# Růst a množení v podmínkách kontinuální kultivace - turbidostat

- Zředovací rychlost ( $D$ ) je dána vztahem

$$\frac{w}{V} = D$$

- Doba zdržení – je reciproká hodnota  $D$

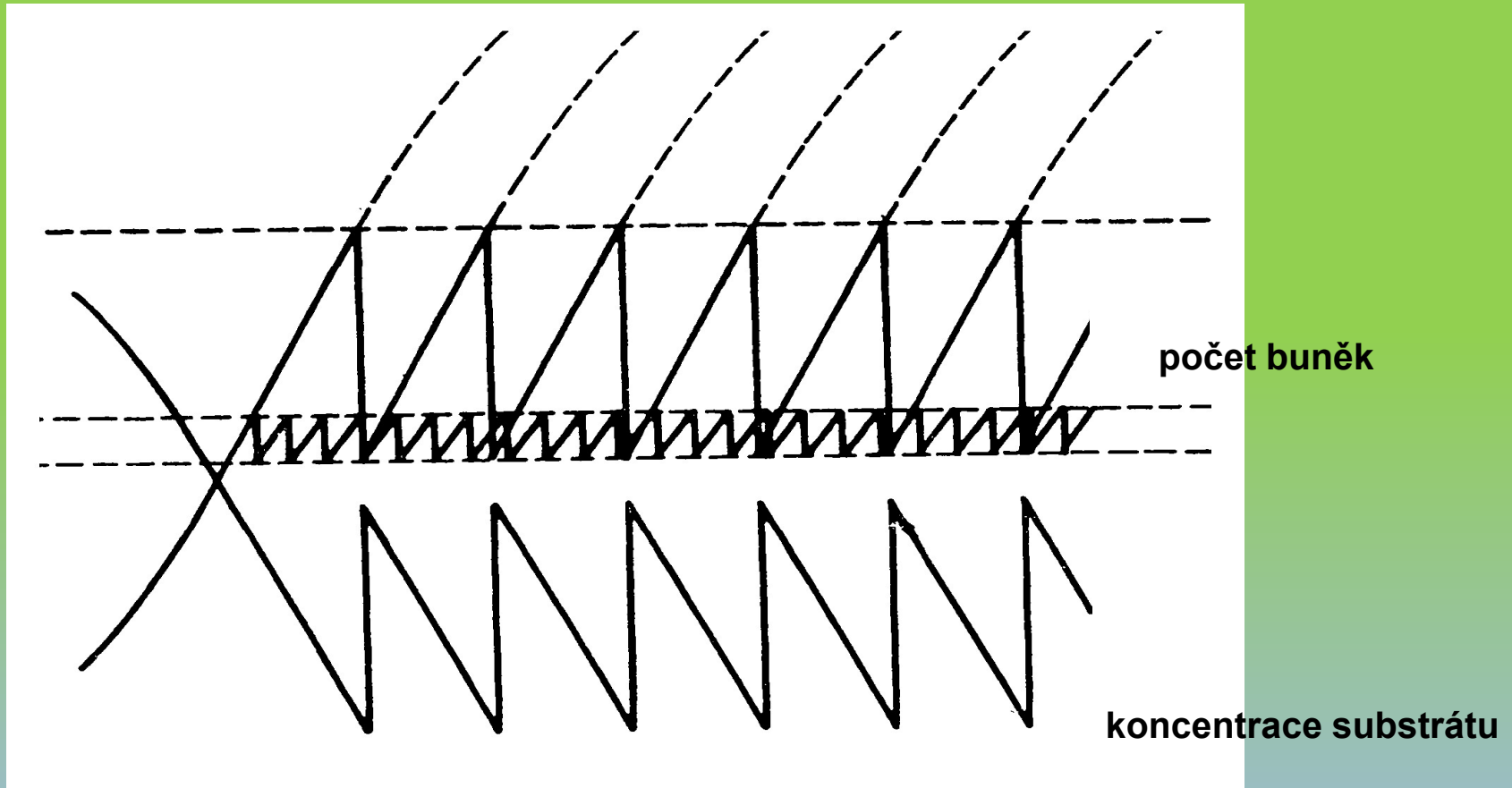
$$\frac{1}{D} = \frac{V}{w}(h)$$

a udává průměrnou dobu, po kterou se partikule v systému udrží

- Jestliže  $\mu > D$  buněk bude přibývat  
 $\mu < D$  buněk bude ubývat  
 $\mu = D$  počet buněk bude téměř konstantní

# Růst a množení v podmínkách kontinuální kultivace - turbidostat

Vztah počtu buněk a koncentrace substrátu v průběhu růstu



# Růst a množení v podmínkách kontinuální kultivace - turbidostat

- Kultivační nádoba je vybavena čidlem na měření hustoty populace
- Zředovací rychlost je nutná k udržení rovnovážného stavu –  $D = \mu_{max}$
- Specifická růstová rychlost je maximální a nezávislá na změně koncentrace živiny
- V turbidostatu roste kultura v nadbytku živin a maximální  $\mu$

# Růst a množení v podmínkách kontinuální kultivace - turbidostat

- Mezi růstem a spotřebou substrátu existuje vztah deklarující, že rychlost růstu je konstantním podílem rychlosti spotřeby substrátu

$$\frac{dx}{dt} = -Y \frac{ds}{dt}$$

kde  $x$  je koncentrace bakterií (sušina buněk na jednotku objemu) a  $Y$  je výtěžek. Pro jakékoliv období růstu platí

$$Y = \frac{\text{váha vzniklých bakterií}}{\text{váha použitého substrátu}} = - \frac{dx}{ds}$$



# Růst a množení v podmínkách kontinuální kultivace - **chemostat**

- Specifická růstová rychlost ( $\mu$ ) není při kultivaci v chemostatu konstantou, ale proměnlivou veličinou, která je závislá na koncentraci limitující živiny

$$\mu = \mu_{\max} \frac{s}{K_s + s}$$

- Rychlost růstu je dána vztahem

$$\frac{dx}{dt} = \left( \mu_{\max} \frac{s}{K_s + s} - D \right) x$$

# Růst a množení v podmínkách kontinuální kultivace - **chemostat**

- **Podmínka** - zředovací rychlost  $D$  musí být  $0 < D < \mu_{\max}$
- Jedna z živin musí být limitující
- Pro koncentraci biomasy a koncentraci limitující živina platí bilanční rovnice
- Koncentraci biomasy ( $x$ ) a koncentraci limitující živiny je možné stanovit jen pro případ ustáleného stavu