

## Metodika stanovenia rozpusteného kyslíka v kvasných substrátoch

SOŇA HUNČIKOVÁ, Katedra technickej mikrobiológie a biochémie  
Slovenskej vysokej školy technickej v Bratislave.

554+545:663.14

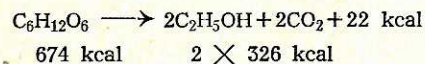
(Diplomovú prácu viedol inž. Ján Hronček, Práca sa previedla v n. p. Kvasný priemysel Trenčín)

Keď preberáme produkujúce mikroorganizmy jednotlivých priemyselných fermentácií, vidíme, že ide predovšetkým o aerobné mikroorganizmy, ktoré pre svoju životnú činnosť vyžadujú dostatok vzdušného kyslíka. Droždiarenská výroba je podmienená dostatočne účinným dodávaním vzduchu — vetraním — počas fermentácie. Spotreba vzduchu ovplyvňuje hospodársky efekt konečného výrobku. Aj u ostatných aerobných fermentácií (výroba antibiotík, submerzného octového kvasenie, výroba krmného droždia a submerznej kyseliny citrónovej) je spotreba vzduchu významnou položkou v kalkulácii výrobu a celej výroby.

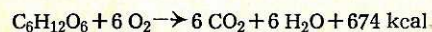
Preto sa hľadali spôsoby, ako obmedziť spotrebu energie vynaloženej na vetranie a ako nájsť čo najúčinnšie zariadenie na dokonalú absorpciu dodávaného kyslíka a ako vytvoriť podmienky biologickej reprodukcie hmoty mikroorganizmov.

Stanovenie okamžitej koncentrácie kyslíka vo vetraných záparách je základom ďalších biologických i ekonomických predpokladov štabilizácie optimálnej výroby, v ktorej sa dá ešte všeličo zlepšiť a z hospodárniť.

Pri odôvodnení potreby vetrania pri výrobe droždia môžeme vychádzať zo základnej rovnice kvasenia a dýchania. Štiepenie cukru na alkohol a  $\text{CO}_2$  vyjadruje Gay-Lussacova rovnica:



Skoro celá kalorická hodnota cukru sa využije na tvorbu alkoholu a len zbytok zostáva k dispozícii bunke na stavbu bunecnej hmoty. Pri anaerobnom spôsobe života má prevahu alkoholické kvasenie a tvorba biomasy je len vedľajším pochodom. Pri dýchaní sa uvoľňuje všetka energia:



Hoci dýchanie a kvasenie prebieha zároveň, úpravou životných podmienok získava prevahu jeden z týchto dvoch procesov. Ak kvasinky žijú v aerobných podmienkach, má prevahu dýchanie. Uvoľnená energia môže byť využitá na výstavbu bunecnej substancie.

To je podstatou vetrania droždiarenských zápar a vedenia kvasného procesu hlavne na tvorbu biomasy a len v malej miere na tvorbu alkoholu. Vetraním sa jednak dodáva do kvásiacej zápary kyslík potrebný pre život a rozmnožovanie kvasiniek, jednak vŕhaný vzduch mieša kvasiacu tekutinu.

Účinok miešania je jasný, ak si predstavíme, akým spôsobom sa kyslík dostáva do bunky a ako sa zúčastňuje na jej životných pochodoch. Kyslík sa musí dostať najprv zo vzduchu do kvásiacej tekutiny, odtiaľ difunduje cez bunecnú blanu dovnútra bunky a až potom sa zúčastňuje enzymatických pochodov v bunke a vstupuje do jej dýchacieho systému.

Miešanie usnadňuje prisun kyslíka k bunke a súčasne pomáha odstraňovať produkty látkového metabolizmu. Priaznivý vplyv vetrania a miešania na rozmnožovanie kvasiniek treba považovať za spoločný.

Správne vetranie vyžaduje účinný vetrací systém a musí zaisťovať dostatok kyslíka v zápare počas kvasenia. Rozhodujúcim činiteľom nie je množstvo vzduchu, ale účinnosť, s akou je dodávaný vzduch kvasinkami využitý. Dôležité je, aby bol vzduch rovnomerne a čo najjemnejšie rozptýľovaný v celom objeme zápary a aby sa čím dlhšie stýkal s kvapalnou fázou. Treba dodržať optimálnu dávku, lebo kvasinky v prevetrávaných záparách sú náchylné k degenerácii a dochádza aj ku stratám alkoholu vyfúkaním.

Zo spomenutých príčin sa musí vetranie riadiť tak, aby sa nesledovali len vysoké výťažky, ale aby bol zaručený aj optimálny fyziologický stav kvasiniek a dobrá kvalita vyrobeného droždia.

Skutočnosť, že kvasinky a iné aerobné mikroorganizmy môžu spotrebovať len kyslík rozpustený v kvapalnej fáze (popri nepatrnej spotrebe plyného kyslíka priamo zo vzdušnej bublinky), núti nás pozeráť sa na vetranie kvasných substrátov ako na absorpčný pochod. Ide o absorpciu kyslíka zo vzduchu v kvásiacej tekutine.

Vetranie pri submerzných fermentáciách je venovaná značná pozornosť v celosvetovom meradle. Je zameraná na štúdium vzťahov vyjadrujúcich prestup kyslíka pri fermentácii z hľadiska fyzikálne chemického, ktoré majú objasniť tento zložitý fyzikálny a súčasne biologický pochod.

Poznanie týchto vzťahov by bolo prínosom pri určovaní optimálnych rozmerov nových fermentačných zariadení, optimálnych podmienok vetrania a pri kontrole účinnosti daných vetracích zariadení.

Prestup kyslíka pri vetraní môžeme rozčleniť na tri dielce pochody:

najprv musí kyslík difundovať z plynnej fázy (zo vzduchu) do kvapalnej fázy, potom nasleduje prestup kyslíka kvapalnou fázou k bunke a tretím pochodom odlišného charakteru je účasť kyslíka na enzy-

matických pochodoch prebiehajúcich v živej bunke.

Rýchlosť prestupu kyslíka musí byť tak veľká, aby nebol brzdený metabolizmus mikroorganizmov. Bunkám treba v každom okamihu dodať toľko kyslíka, koľko ho stačia spotrebovať.

Optimálne podmienky nastanú vtedy, keď sa celková rýchlosť prestupu kyslíka riadi rýchlosťou posledného dielčeho pochodu, čiže rýchlosťou chemickou. Vtedy platí, že kyslík je na jednej strane dodávaný takou rýchlosťou, akou je na druhej strane spotrebúvaný. To znamená, že celková rýchlosť prestupu kyslíka sa rovná rýchlosti chemickej, alebo je vyššia. Tento vzťah môže byť vyjadrený rovnicou:

$$r_o = r_c,$$

kde:

$r_o$  = rýchlosť prestupu kyslíka z plynu do kvapaliny a z kvapaliny do bunky,

$r_c$  = rýchlosť tretieho dielčeho pochodu.

Experimentálne určenie týchto dvoch rýchlostí by bolo veľmi ťažké.

Keď si označíme rýchlosť spotreby kyslíka váhovou jednotkou bunecnej suspenzie  $k_r$ , sušinu bunecnej suspenzie vyjadrenú v g/l  $C_m$ , potom celková rýchlosť spotreby kyslíka je:

$$r_r = k_r \cdot C_m$$

Kyslík je na jednej strane spotrebúvaný rýchlosťou  $r_r$ , na druhej strane sa do substrátu dodáva rýchlosťou  $r_d$ , ktorá charakterizuje rýchlosť prestupu kyslíka cez styčný povrch plynnej a kvapalnej fázy.

Potom platí:

$$r_d = k_g \cdot A(p_g - p_i) = k_L \cdot A(c_i - c_L),$$

kde:

$k_g$  a  $k_L$  sú koeficienty prestupu látky v plynnej a kvapalnej fáze,

$A$  = styčný povrch fáz,

$p_g$  = parciálny tlak kyslíka v plynnej fáze,

$p_i$  = parciálny tlak kyslíka na fázovom rozhraní,

$c_i$  = koncentrácia kyslíka na fázovom rozhraní,

$c_L$  = koncentrácia kyslíka v kvapalnej fáze,

$p_g - p_i$  a  $c_i - c_L$  zodpovedajú hnacím silám absorpcie v plynnej a kvapalnej fáze.



Množstvo látky prevedené v časovej jednotke fázovým rozhraním za ustáleného stavu sa musí rovnať množstvu k fázovému rozhraniu v tom istom čase difúziou privedenému a množstvu v druhej fáze difúziou od fázového rozhrania odvedenému.

U zle rozpustných plynov, ku ktorým patrí kyslík, prevláda odpor kvapalnej fázy, takže odpor plynnej fázy môžeme zanedbať ( $p_i = p_g$ ) a pre rýchlosť prestupu kyslíka dostaneme zjednodušený tvar:

$$r_d = k_L \cdot A (c_i - c_L)$$

Pre kyslík platí Henryho zákon, čiže:

$$c_i = H(p_i) \text{ alebo } c_i = H \cdot p_g$$

Stýčnú plochu fáz A nemôžeme zmeniť, preto sa do rovníc pre prestup kyslíka zavádza nová veličina, a to úhrnný koeficient prestupu látky:  $k_d = k_L \cdot A$ , takže potom platí vzťah:

$$r_d = k_d (c_i - c_L)$$

Za podmienok rovnovážneho stavu, keď sa rýchlosť prestupu kyslíka zo vzduchu rovná rýchlosti spotreby kyslíka bunkami, platí:

$$r_c = r_r = r_d$$

alebo:

$$r_o = k_r \cdot C_m = k_d (c_i - c_L)$$

V nerovnovážnom stave, keď dochádza ku časovej zmene koncentrácie rozpusteného kyslíka, musíme počítať s touto zmenou a dostaneme pozmenený vzťah:

$$r_d = r_r - d c_L / d t$$

$$k_d (c_i - c_L) = k_r \cdot C_m - d c_L / d t$$

Absorpčný koeficient  $k_d$  závisí od veľkosti styčnej plochy, od doby trvania styku plynnej a kvapalnej fázy, od

intenzity miešania, od tvaru, rozmerov zariadenia a od fyzikálnych vlastností substrátu. Platí vždy pre dané fyzikálne veličiny substrátu. Tieto veličiny vplyvajú aj na priebeh fermentácie. Napr.: zmenou povrchového napätia sa zmenia rozmery bublín, a tým aj styčný povrch fáz atď. Podľa hodnoty  $k_d$  môžeme porovnať zmeny počas fermentácie, vyvolené zmenou spomenutých veličín.

Keď chceme posúdiť účinnosť vetracieho zariadenia a prestup kyslíka, môžeme vychádzať z hodnoty  $r_d$ . Absorpčnú účinnosť si definujeme ako pomer množstva absorbovaného kyslíka k množstvu dodaného kyslíka za jednotku času, čiže:

$$E = r_d / C \cdot 100 \text{ v } \%$$

kde:

$E$  = absorpčná účinnosť,

$r_d$  = vyjadruje váhové množstvo absorbovaného kyslíka,

$C$  = vyjadruje váhové množstvo dodaného kyslíka.

Ďalšou dôležitou veličinou je rýchlosť spotreby kyslíka váhovou jednotkou mikroorganizmov, ktorá vyjadruje, koľko rozpusteného kyslíka treba dodať v príslušnom okamihu kvaciacemu substrátu. Keď si graficky znázorníme závislosť poklesu koncentrácie rozpusteného kyslíka na čase v suspenzii kvasiniek, dostaneme krivku, ktorej smernica

$$d c_L / d t$$

zodpovedá respiračnej rýchlosti. Veličina  $c_L$ , vyjadrujúca koncentráciu rozpusteného kyslíka, sa často vyskytuje v rovniciach pre prestup kyslíka. Poznanie tejto veličiny umožňuje riešenie uvedených rovníc a objasnenie dôležitých poznatkov, vyjadrujúcich pomery vo fermentovanej tekutine počas fermentácie.

Hoci okrem kyslíka sú aj iné faktory

rozhodujúce pri droždiarenskej alebo inej aerobnej fermentácii (akosť a zloženie surovín, fyziologický stav kvasiniek a optimálne kultivačné podmienky), predsa vhodná a spoľahlivá metóda na stanovenie rozpusteného kyslíka počas fermentácie by bola krokom k lepšej kontrole tohoto biologického procesu.

V literatúre sú uvedené viaceré metódy na stanovenie rozpusteného kyslíka v rôznych materiáloch. Väčšina metód dáva reprodukovateľné a dostatočne presné výsledky pre vodu alebo vodné roztoky. V silne vetraných a miešaných substrátoch, obsahujúcich živý, dýchajúci organizmus a komplexné farebné zlúčeniny (melasa), nedávajú tieto metódy spoľahlivé výsledky a muselo sa prikrčiť k ich úprave.

Metódy na stanovenie rozpusteného kyslíka možno rozdeliť na:

1. *chemické*: založené na chemickej reakcii kyslíka s niektorými látkami. Vo väčšine prípadov ide o farebnú reakciu a množstvo rozpusteného kyslíka sa stanovuje titračne alebo kolorimetricky;

2. *elektrochemické*: hlavne metóda polarografická — založená na schopnosti kyslíka redukovať sa na kvapkovvej ortuťovej katóde — a rôzne modifikácie tejto metódy;

3. *fyzikálne-chemické*: založené na meraní zmien tlaku pri rozpúšťaní kyslíka v kvapalnej fáze;

4. *metódy nepriameho stanovenia rozpusteného kyslíka*, založené na plynovej analýze pred absorpciou kyslíka a po nej.

I keď niektoré metódy majú spoločný princíp, nie každá je vhodná na stanovenie rozpusteného kyslíka v kvasných substrátoch. Musí sa brať do úvahy druh vzorky a špecifické podmienky, za ktorých má byť analýza prevádzaná.

### Experimentálna časť

Vo svojej práci som sa zaoberala týmito metódami:

1. Metódou sulfitovej oxydácie — siričitanový test,
2. Kočergovou metódou,
3. Winklerovou metódou,
4. Polarografickou metódou.

#### Metóda sulfitovej oxydácie — siričitanový test

Podľa priebehu oxydácie iónu  $SO_3^{2-}$  na  $SO_4^{2-}$ , katalyzovanej soľami medi, sa posudzuje rýchlosť prestupu kyslíka do vetracej tekutiny a účinnosť vetrania (lit. 13, 15c). Laboratórny fermentačný aparát se naplní presne známym množstvom cca 1 N roztoku  $Na_2SO_3$  (na každý liter roztoku sa pridá 0,26 g  $Cu SO_4 \cdot 5 H_2O$ ). Množstvo absorbovaného kyslíka sa zistí jódometrickým stanovením nezoxidyovaného  $SO_3^{2-}$ , ktorý sa nachádza v roztoku na začiatku a na konci určitého času vetrania. Vypočíta sa úbytok normality roztoku a vyjadri sa v gramoch prijatého kyslíka na 1 liter roztoku. Mierou účinnosti

vetrania je váhové množstvo kyslíka, prijatého sulfitovým roztokom z každých 100 kg kyslíka vňahaného pri vetraní.

Absorpcia kyslíka bola porovnávaná v štyroch rôznych nádobách (obr. 1) s rôznym zariadením na rozptyľovanie vzduchu a účinnok mednatého a kobaltnatého katalyzátora.

Popis nádob:

premyvačka s fritovým dnom (Frit G<sub>3</sub>),

premyvačka s ponorným fritom (Frit G<sub>2</sub>),

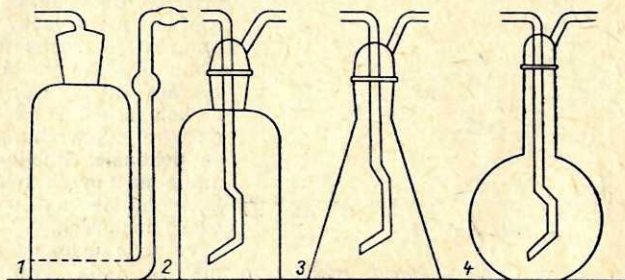
Erlenmayerová banka s ponorným fritom (Frit G<sub>2</sub>),

varná banka s ponorným fritom (Frit G<sub>2</sub>).

Pri všetkých pokusoch boli zachované tieto konštantné podmienky a postup: teplota 30°C — udržiavaná v termostate,

rýchlosť vzduchu 1 liter/min. — meraná rotametrom,

Obr. 1





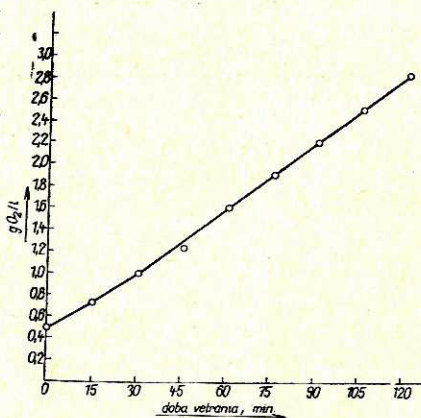
výška hladiny 9,5 cm (objem bol vždy upravený podľa tejto hodnoty, a to:

300 ml, 307,4 ml, 510 ml, 520 ml).

Roztok siričitanu sodného s mednatým alebo kobaltnatým katalyzátorom bol prevzdušňovaný 1 hodinu. Na začiatku a na konci vetrania bola odobraná vzorka na stanovenie normality roztoku. Na vyjadrenie časového priebehu oxydácie boli odoberané vzorky v 15-minutových intervaloch bez prerušenia vetrania. Časový priebeh oxydácie je znázornený na obr. 2 (tab. 1).

Ako mednatý katalyzátor bol použitý vaný  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

Výsledky pokusov, pri ktorých bol použitý mednatý katalyzátor, sú zostavené v tab. 2 a znázornené na obr. 3.



Obr. 2 — Časový priebeh oxydácie  $\text{SO}_3'' \rightarrow \text{SO}_4''$  prijatým kyslíkom.

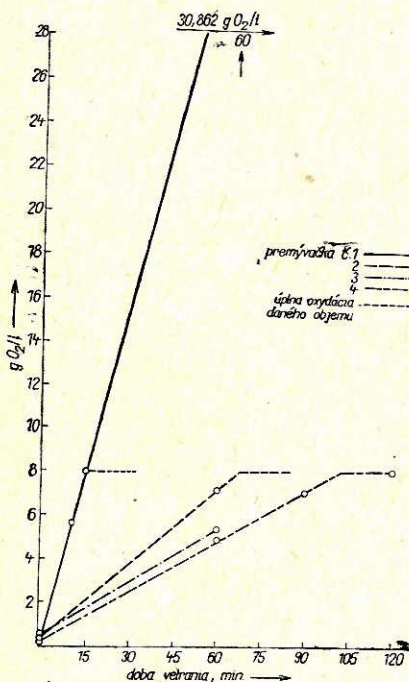
Číslo	Druh nádoby a vetracieho zariadenia	Užitočný obj. l	Privádzaný vzduch l/hod.	Privádzaný $\text{O}_2$ g/l/hod.	Prijatý $\text{O}_2$ g/l/hod.	Účinnosť vetrania v %
1a	Premývačka s frit. dnom	0,300	200	54,06	14,688	27,160
b		0,300	200	54,06	14,662	27,100
c		0,300	200	54,06	14,600	27,005
2	Premývačka s ponor. fritom	0,307	195,5	52,74	1,131	2,140
3	Erl. banka s ponor. fritom	0,510	117,5	31,80	0,520	1,685
4	Varná banka s ponor. fritom	0,520	115,5	31,19	0,444	1,425

Tabulka 2.

Pri sledovaní vplyvu kobaltnatého katalyzátora boli zachované tie isté podmienky a postup ako v predošlom prípade. Ako katalyzátor bol použitý  $\text{Co}/\text{NO}_3/2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  p. a., a to v pomere mol. váh, čiže 0,303 g/l liter roztoku. Výsledky pokusov s  $\text{Co}^{++}$  katalyzátorom sú v tab. 3 a na obr. 4.

Číslo	Druh nádoby a vetracieho zariadenia	Užitočný obj. l	Privádzaný vzduch l/hod.	Privádzaný $\text{O}_2$ g/l/hod.	Prijatý $\text{O}_2$ g/l/hod.	Účinnosť vetrania v %
1	premývačka s fritovým dnom	0,300	200	54,06	30,376	56,4
2	premývačka s ponor. fritom	0,307	195,5	52,74	6,771	12,82
3	Erl. s ponor. fritom	0,510	117,5	31,80	4,822	15,19
4	Varná banka s ponor. fritom	0,520	115,3	31,19	4,628	14,82
5	ako č. 1 bez katalyzátora				6,657	12,30

Tabulka 3.



Obr. 4 — Vplyv tvaru nádoby a vetracieho zariadenia. Katalyzátor  $\text{Co}^{++}$

Ako vidieť, najväčšia účinnosť vetrania bola dosiahnutá v nádobe 1. Vzduch tu bol rozptyľovaný fritom na veľmi jemné bublinky. Plocha fritu sa rovná ploche dna nádoby. Pomer vetracej plochy k výške nádoby je tu najväčší, čiže je najintenzívnejší a najdlhší styk plynnej a kvapalnej fázy. Celý obsah je počas vetrania dokonale premiešaný, nezostáva žiadny mŕtvy priestor. Oveľa nižšia je vetracia účinnosť u premývačky s ponorným fritom. Tu je plocha fritu oproti celkovému prierezu malá, okrem toho sa vytvára mŕtvy priestor pod fritom i okolo stien, bublinky vystupujú veľkorytne k povrchu. Premiešavanie nie je dokonalé. Bublinky sú väčšie, ich dráha na povrch tekutiny je kratšia. Ešte horšie sú pomery v druhých dvoch nádobách.

Vetracia účinnosť nejakého zariadenia je teda tým väčšia, čím sú bublinky menšie, lebo tým väčší je

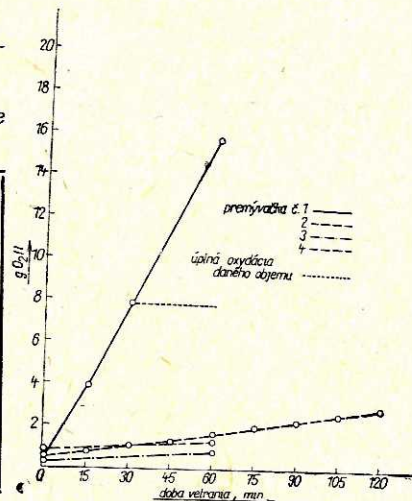
ich celkový povrch, čím je ich dráha dlhšia, lebo tým dlhšia je doba styku plynnej a kvapalnej fázy, a čím väčší je pomer vetracej plochy k celkovej ploche dna a menší priestor pod vetracím zariadením, lebo tým menší je mŕtvy priestor a celý objem je rovnomerne prevzdušňovaný.

Pre analýzy podľa ďalších troch metód boli zvolené nasledujúce podmienky a postup s ohľadom na podmienky, za ktorých prebieha drożdžiarske kvasenie. Boli použité látky, ktoré sa najviac nachádzajú v kvasných substrátoch (a to v primeraných koncentráciách) a majú vplyv na rozpustnosť kyslíka pri vetraní: destilovaná voda, studničná voda, 2 % roztok sacharózy, 2 % roztok alkoholu, 2 % roztok kyseliny octovej, melasa 40 Bg (uvarená a vyčerená) a kvasiaca zápara.

Vzorky boli prevzdušňované v premývačke s fritovým dnom.

Doba vetrania v min.	Spotreba 0,1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ml	g $\text{O}_2$ /l
0	3,2	0,509
15	4,6	0,732
30	6,4	1,018
45	8,0	1,272
60	10,3	1,639
75	12,3	1,958
90	14,3	2,277
105	16,3	2,596
120	18,4	2,930

Tabulka 1.



Obr. 3 — Vplyv tvaru nádoby o vetracieho zariadenia. Katalyzátor  $\text{Cu}$ .

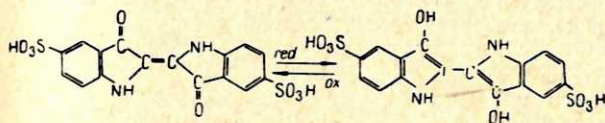


Množstvo vzorky: 320 ml  
výška hladiny: 11 cm  
rýchlosť vzduchu: 1 liter/min.  
teplota 30° C

Každou vzorkou bol prehánaný dusík 30 minút, aby sa zbavila kyslíka a aby nasycovanie vzoriek vzduchom začínalo od približne rovnakej hodnoty. Bola stanovená koncentrácia rozpusteného kyslíka, vzorka bola 15 minút prevzdušňovaná a znovu bol stanovený rozpustený kyslík.

#### Kočergova metóda [8]

Princípom tejto metódy je oxydácia redukovanej bezfarebnej leukoformy indigokarmínu kyslíkom vzorky, pričom prechádza na farebnú formu.



Obsah rozpustného kyslíka sa vypočíta podľa množstva zoxydovaného indigokarmínu.

Roztok indigokarmínu sa najprv zredukuje hydrosiričitanom sodným. Po pridaní vzorky sa ekvivalentná časť kyslíkom zoxyduje. Potom sa znovu titruje hydrosiričitanom do žltého zafarbenia a nakoniec sa robí slepý pokus. Množstvo rozpusteného kyslíka sa vypočíta podľa vzorca:

$$Ox = 16 \frac{a \cdot b}{c} \text{ mg/l}$$

kde:

- a = spotreba 0,1 N KMnO<sub>4</sub> na titráciu 50 ml indigokarmínu;
- b = spotreba hydrosiričitanu sodného na odfarbenie zoxydovaného indigokarmínu;
- c = spotreba hydrosiričitanu sodného na slepý pokus.

Schéma prístroja na stanovenie rozpusteného kyslíka podľa Kočergu je na obr. 5.

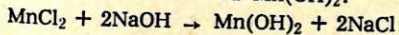
Celé stanovenie sa prevádza v inertej atmosfére. Použitý bol dusík. Namerané hodnoty sú uvedené v tab. 4.

#### Winklerova metóda

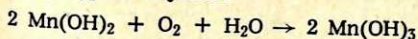
upravená pre kvasiace zápy [9]. Založená je na nasledujúcich chemických reakciách:

roztok NaOH s MnCl<sub>2</sub>

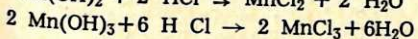
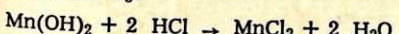
vytvára zrazeninu Mn(OH)<sub>2</sub>:



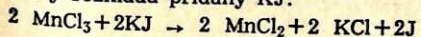
Ak kvapalina obsahuje kyslík, časť Mn(OH)<sub>2</sub> sa okysliči:



Pri rozpustení získanej zmesi hydratov manganu v HCl (alebo H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) vzniká MnCl<sub>3</sub>:



MnCl<sub>3</sub> prevedený do roztoku obsahujúceho kyslík ľahko uvoľňuje chlór, ktorý rozkladá pridaný KJ:



Vzorka	Doba vetrania min.	b	c	mg O <sub>2</sub> /l	mg O <sub>2</sub> /l 9—15 min.	a = 1,21
dest. voda	0	0,01	2,17	0,089		
	15	0,67	1,92	6,75	6,66	
obyč. voda	0	0,03	2,09	0,278		
	15	0,90	1,89	9,26	8,98	
2% sacharóza	0	2,02	2,44	0,15		
	15	0,74	2,34	6,40	6,25	
2% alkohol	0	0,02	1,98	0,196		
	15	0,62	2,56	4,68	4,48	
2% kys. octová	0	0,11	1,58	1,34		
	15	0,40	1,48	5,24	3,90	
melasa 4°Bg	0	0,10	2,15	0,89		
	15	0,66	1,92	6,65	5,76	
zápara (kvasný valec)		0,26	2,08	2,42	—	

Tabuľka 4

Uvoľnený jód sa titruje sirnatanom sodným na škrobový maz. Ak vzorka obsahuje veľké množstvo organických látok, môžu tieto látky viazať jód a dostávajú sa nesprávne výsledky. Preto sa robí slepý pokus. Vzorky sa berú do dvoch reagenčných fľašiek so šikmo zrezanou zátkou, presne kaibrovovaných (ako na stanovenie BSK<sub>5</sub>). Množstvo rozpusteného kyslíka sa vypočíta podľa vzorca:

$$\frac{0.8 \cdot n \cdot 1000}{V - V_1} \text{ mg O}_2/\text{l}$$

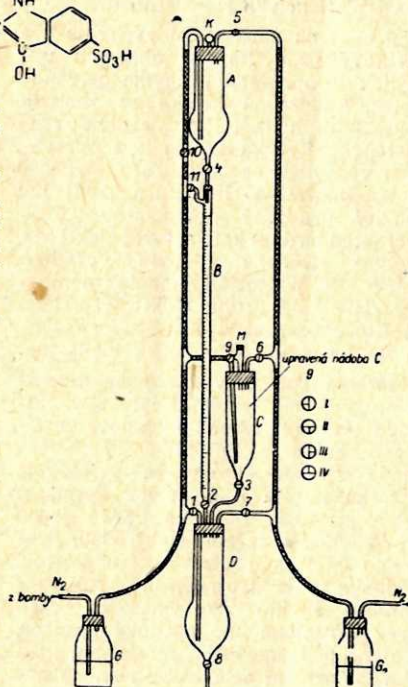
kde: n = n<sub>1</sub> - n<sub>2</sub>

n<sub>1</sub> = spotreba sirnatanu sodného na vlastný pokus,

n<sub>2</sub> = spotreba sirnatanu sodného na slepý pokus,

V = objem fľašky v ml,

V<sub>1</sub> = množstvo pridaných reagentov v ml.



Obr. 5 — Prístroj na stanovenie kyslíka.

Vzorka	Doba vetrania min.	n <sub>1</sub> ml	n <sub>2</sub> ml	mg O <sub>2</sub> /l	mg O <sub>2</sub> /l 0—15 min.
Dest. voda	0			0,089	
	15	17,4	14,0	7,56	7,46
Studn. voda	0			0,278	
	15	17,3	14,8	7,27	7,00
Sacharóza 2%	0			0,15	
	15	17,3	10,9	18,58	18,43
Alkohol 2%	0			0,196	
	15	18,1	14,5	10,48	10,28
Kys. octová 2%	0			1,34	
	15	15,1	15,3		
Melasa 4°Bg		7,9	5,5	0,89	
				7,26	6,40
Kvasiaca zápara (nie je totožná so vzorkou analyzovanou metódou Kočerg.)		8,5	7,5	2,909	

Tabuľka 5

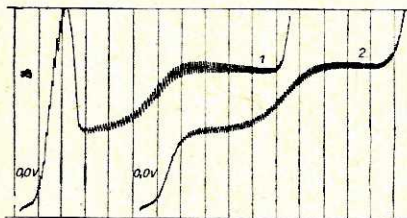


Výsledky pre začiatok vetrania sú posudzované podľa Kočergovej metódy. Titrácia je vhodná pre vodné a bezfarebné roztoky. U melasy a zápary sa ekvivalentný bod ťažko zastihne. Melasa nebola vetraná, lebo pení, posudzovala sa len možnosť titrácie. Veľký rozdiel je vo výsledkoch u sacharózy a alkoholu. Kyslík rozpustený v roztoku kyseliny octovej sa nedá touto metódou stanoviť. V silne kyslom prostredí sa uvoľňuje jód bez vzniku zrazeniny hydroxydov mangánu.

#### Polarografická metóda

Základom polarografického stanovenia kyslíka je jeho redukcia na kvapkovú ortuťovej katóde, ktorá prebieha v dvoch stupňoch.

Priebeh intenzity prúdu v závislosti od napätia charakterizuje kyslíková dvojitá vlna. Prvá vlna pri potenciáli 0 až -0,4 V, druhá pri potenciáli -0,8 až -1,4 V. Kyslík tvorí na polarografickej krivke zvláštny zjav — kyslíkové maximum. V prirodzených substrátoch, akým je aj kvasiaca zápara, je maximum potlačené. V oblasti medzi -0,4 až -0,8 V je plošina medzi prvou a druhou kyslíkovou vlnou (obr. 6).



Obr. 6

Napätie akumulátora  $E = 4$  V  
Doba trvania kvapky  $t = 3,2$  sek.  
Teplota  $T = 22,7^\circ\text{C}$   
Výška rezervuáru  $h = 30$  cm  
Citlivosť  $c = 1/20$   
Vzorka: 0,025 m roztok NaCl  
Krivka 1.: Vzorka 10 minút prebublávaná vzduchom  
Abscisa 1., od napätia 0,0 V  
Krivka 2.: Prídavok 3 kvapiek 0,5% na potlačenie maxima  
Abscisa 6, od napätia 0,0 V.

Táto sa vzala za základ pri vypracovaní polarografickej metódy na stanovenie rozpusteného kyslíka.

Podľa metódy jediného potenciálu [14a] je základom kvantitatívneho stanovenia kyslíka vzťah medzi výškou prvého kyslíkového stupňa a koncentráciou rozpusteného kyslíka. Nie je potrebné zaznamenať celú krivku intenzity — napätie. Obsah kyslíka sa stanoví podľa veľkosti prúdu pri určitom jedinom potenciáli. Znáznomením je bod na plošine prvej kyslíkovej vlny. Pri tomto konštantnom potenciáli sa prevádza celé meranie. Zaznamená sa výchylka galvanometra zodpovedajúca vzorke v polarografickej nádobke. Potom sa vzorka zbaví kyslíka prehánaním dusíka. Zaznamená sa druhá výchylka galvanometra, ktorá zodpovedá zbytkovému prúdu. V roztokoch jednoduchých elektrolytov je zbytkový prúd malý, ale v zložitom biologickom komplexe, akým je vetraná zápara, nemožno túto veličinu zanedbať.

Meranie zbytkového prúdu umožňuje opravu výsledkov za prítomnosti rôz-

nych polarograficky aktívnych látok v zápre, ktoré zapríčínujú vznik pozorovateľného prúdu pri jednom použitom potenciáli popri kyslíku. Ako hodnota prúdu, zodpovedajúceho koncentrácii kyslíka, sa berie rozdiel medzi prvou a druhou výchylkou galvanometra. Grafickým znázornením závislosti veľkosti prúdu pri jednom potenciáli na koncentrácii rozpusteného kyslíka vo vzorke dostaneme kalibračnú krivku, ktorá slúži na vyhodnotenia údajov ďalších meraní.

Kalibrácia kvapkového ortuťového elektródy sa prevádza pomocou roztokov so známym obsahom kyslíka. Stanoví sa rozpustnosť kyslíka v roztokoch solí stúpajúcej koncentrácie. Zostrojí sa krivka rozpustnosti kyslíka v týchto roztokoch. Potom sa zmeria maximálna výchylka galvanometra v jednotlivých roztokoch, nasýtených vzduchom pri tej istej teplote, pre ktorú platí krivka rozpustnosti.

Súčasne sa zaznamená výchylka pre zbytkový prúd. Rozdiel oboch výchyliek je opravená výchylka galvanometra. Kalibračná krivka sa zostrojí nanesením hodnôt koncentrácie rozpusteného kyslíka na os x a opravených výchyliek na os y. Táto závislosť je priamková. V literatúre [15a] bol použitý pracovný potenciál -0,5 V voči štandardnej kalomelovej elektróde. Pretože uvedená metóda vyžaduje prácu pri potenciáli konštantnom a nezávislom od druhu elektrolytu, bola použitá ako vzťažná elektróda — anóda — nasýtená kalomelová elektróda.

Merania boli prevádzané na mikropolarographe — systém Heyrovský. Sústavu elektród tvorila kvapková ortuťová katóda a nasýtená kalomelová anóda spojené agarovým mostíkom. Natoľko nebola k dispozícii špeciálna polarografická nádobka pre prácu s oddelenou vzťažnou elektródou, pracovalo sa s improvizovanou nádobkou. Nádobka bola trojramenná. Najširšie rameno slúžilo ako vzorková časť, stredné rameno ako anódový priestor, spojené boli agarovým mostíkom, ktorý vyplňoval aj celé tretie rameno nádoby.

Nádobka bola ponorená v lieviku s vodou, kvôli udržiavaniu stálej teploty vzorky. Vzorková časť nádoby bola uzavretá 3× vrtanou gumovou zátkou pre kapiláru, prívod a odvod vzduchu a pridávanie vzorky a vody na vymývanie. Meranie bolo prevádzané za nasledujúcich podmienok:

napätie odoberané zo 4 V akumulátora;

konštantné napätie odvinuté z potenciometrického drôtu -0,55 V voči štandardnej kalomelovej elektróde;

teplota  $30^\circ\text{C}$ ;

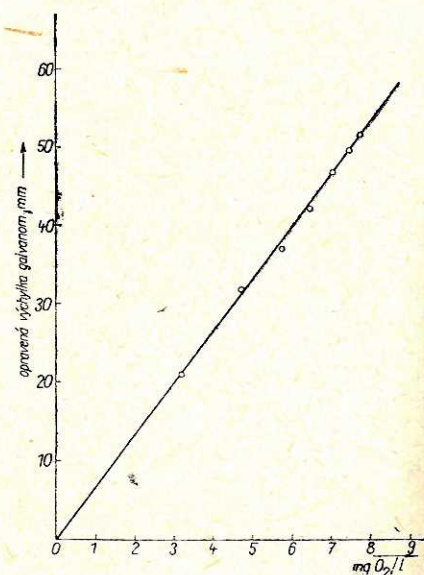
rýchlosť kvapkania ortuť 3—3,5 sek.;

výška ortuťového stĺpca 30 cm;

citlivosť 1/7.

U vzoriek, ktoré neobsahovali žiadon elektrolyt, bol používaný ako základný elektrolyt roztok KCl a na potlačenie kyslíkového maxima 0,5 % roztok želatiny.

Kalibrácia bola robená pomocou roztokov KCl stúpajúcej koncentrácie. Najprv bola stanovená maximálna rozpustnosť kyslíka v týchto roztokoch pri  $30^\circ\text{C}$  opísanou Winklerovou metódou (tab. 6). Vzorky boli nasýtené vzduchom v premývačke s fritovým dnom za 30—60 minút.



Obr. 7 — Závislosť výchylky galvanometra na koncentrácii rozpusteného kyslíka pri  $30^\circ\text{C}$ .

Objem vzorky bol 320 ml, rýchlosť vzduchu 1 liter/min.

Potom bola pre každú vzorku zaznamenaná výchylka galvanometra po nasýtení vzduchom a výchylka pre zbytkový prúd po odstránení kyslíka dusíkom. Údaje závislosti opravenej

Koncentrácia KCl	Spotreba 0,1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ na	Spotreba 0,1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ na	mg $\text{O}_2$ /l
	slepý pokus ml	vlastný pokus ml	
0,01 m 60 min.	14,8	17,2	7,0
30 min.	15,0	17,7	7,86
60 min.	15,1	17,9	8,15
0,2 m	15,1	17,65	7,40
0,5 m	15,1	17,50	6,98
1,0 m	15,1	17,30	6,40
2,0 m	15,1	16,7	4,67
3,0 m	15,1	16,2	3,20

Tabuľka 6



výchyly galvanometra na koncentracii rozpusteného kyslíka sú v tab. 7.

Grafickým znázornením opravenej výchyly galvanometra a koncentracie rozpusteného kyslíka stanovenej podľa Winklera je priamka (obr. 7). Z tohoto grafu bola zistená koncentrácia rozpusteného kyslíka pri ostatných meraniach. Výhodou tohto spôsobu kalibrácie je práca so vzorkami nasýtenými vzduchom.

Merania polarografickou metódou boli prevádzané v podmienkach zhodných s Kočergovou a Winklerovou metódou. Vzorky boli odobierané 10 ml injekčnou striekačkou. Na zastavenie činnosti mikroorganizmov bol použitý fenol. Výsledky meraní sú v tab. 8.

Polarografickou metódou bola stanovená koncentrácia rozpusteného kyslíka počas kvasenia v kvasnom váci (20 litrov) a v kvasnej kadi (v prevádzke). Vzorky boli odobierané každú hodinu injekčnou striekačkou 10 ml, v ktorej bol 1 ml fenolu. Z valca boli vzorky odobierané cez vypúšťací otvor, v kvasnej kadi zo vzorkovača. Polarografická nádobka bola vopred prečísľovaná dusíkom. Najprv bola stanovená okamžitá koncentrácia rozpusteného kyslíka  $c_L$ , potom bola vzorka nasýtená vzduchom a zmerala sa výchylyka pre maximálnu koncentráciu  $c_i$  a nakoniec výchylyka pre zbytkový prúd. Rozdiel maximálnej a okamžitej kon-

Koncentrácia KCl	Výchylyka galv. po nasýtení $O_2$ mm	Výchylyka pre zbytkový prúd mm	Opravená výchylyka mm	mg $O_2$ /l podľa Winklera
0,01 m	51—56 52—57	2,5	52,0	7,67
0,2 m	52—55 52—55	3,5	50,0	7,40
0,5 m	51—53 51—53	5,0	47,0	6,98
1,0 m	47—51 47—50	6,5	42,5	6,40
2,0 m	54—57 54—57	23,5	32,0	4,67
3,0 m	27—29 27—29	7,0	21,0	3,20

Tabuľka 7

Vzorka	Min.	Výchylyka galvanom. mm	Výchylyka pre zbytkový prúd mm	Opravená výchylyka mm	mg $O_2$ /l $c_i$
Destil. voda	0 15	3,0 48—50	2,5 2,5	0,5 46,5	0,10 6,92
Studn. voda	0 15	4,5 47—49	2,5 3,5	2,0 44,5	0,30 6,60
Sacharóza 2%	0 15	3,0 39—42	2,5 2,0	0,5 38,5	0,10 5,77
Alkohol 2%	0 15	3,0 20	2,0 2,0	1,0 18,0	0,15 2,70
Melasa 4% Bg	0 15	— 35,0	— 7,0	— 28,0	0,89 4,17
Kvasiaca zápara		47—52	15,0	34,5	5,12

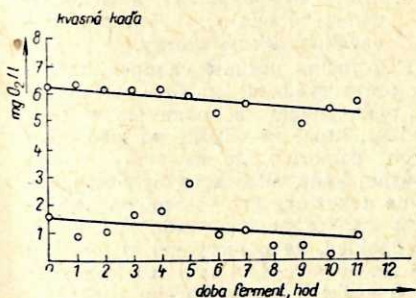
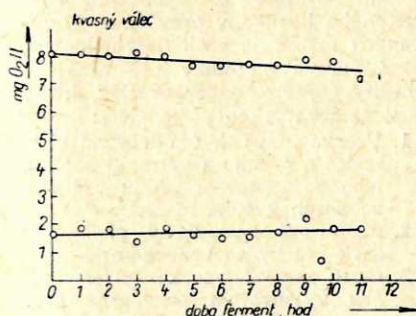
Tabuľka 8

Hod.	Sacharizácia * Bg	pH	Teplota °C	Očamžitá konc. $c_L$ mg $O_2$ /l	Rovnovážna konc. $c_i$ mg $O_2$ /l	$c_i - c_L$
1	1,5	4,30	30	1,85	8,10	6,25
2	1,4	4,39	30	1,80	8,00	6,20
3	1,4	4,21	29	1,35	8,10	6,75
4	1,6	4,27	29	1,85	8,00	6,15
5	1,9	4,57	30	1,60	7,70	6,10
6	1,8	4,77	30	1,50	7,65	6,15
7	1,8	4,93	29	1,50	7,70	6,20
8	2,0	4,94	30	1,65	7,70	6,05
9	1,8	5,25	30	2,15	7,85	5,70
10	1,8	5,48	30	1,85	7,80	5,95
11	1,9	5,42	30	1,72	7,12	5,40
12	1,8	5,40	30	—	—	—

Tabuľka 9

Hod.	Sacharizácia * Bg	Acidita ml N NaOH/100 ml	$c_L$ mg $O_2$ /l	$c_i$ mg $O_2$ /l	$c_i - c_L$
1	1,4	0,6	1,27	6,02	4,75
2	1,4	0,6	0,82	6,32	5,50
3	1,5	0,6	1,05	6,17	5,12
4	1,6	0,7	1,62	6,10	4,48
5	—	—	1,77	6,10	4,33
6	1,3	0,8	2,75	5,90	3,15
7	1,4	0,8	0,90	5,22	4,32
8	1,5	0,9	1,05	5,60	4,55
9	1,6	0,9	—	—	—
10	1,8	0,9	0,50	4,90	4,40
11	1,9	0,8	0,15	5,40	5,55
12	2,0	0,6	0,85	5,65	4,80

Tabuľka 10



Obr. 8 — Priebeh koncentrácie rozpusteného kyslíka počas fermentácie.

centrácie  $c_i - c_L$  zodpovedá hnacej sile absorpcie.

Výsledky meraní sú v tab. 9 a 10.

Pri meraní koncentrácie rozpusteného kyslíka v kvasnom váci nebola upravovaná nulová poloha galvanometra.

Pretože bol značný rozptyl bodov, bola prevedená korelácia hodnôt a boli zostrojené regresné priamky, znázorňujúce najpravdepodobnejší priebeh



okamžitej a maximálnej koncentrácie rozpusteného kyslíka počas kvasenia. Grafické znázornenie je na obr. 8.

Pomocou polarografickej metódy bol sledovaný časový priebeh spotreby rozpusteného kyslíka kvasinkami počas kvasenia v kvasnom valci a v kvasnej kadi. Vzorka kvasiacej zá-pary (zriadená melasou 1:10) sa v polarografickej nádobke nasýtila vzduchom. Potom sa prúd vzduchu zastavil a v 15sekundových intervaloch sa zaznamenávala klesajúca výchylka galvanometra (len vrcholky oscilácií); po ustálení na najnižšej hodnote sa zmerala výchylka pre zbytkový prúd.

Závislosť úbytku koncentrácie rozpusteného kyslíka na čase je znázor-nená na obr. 9 a 10.

### Súhrn

Metóda sulfitovej oxydácie sleduje prestup kyslíka na systéme bublinek vzduchu a roztoku siričitanu. Je vážnou otázkou, či možno výsledky tohoto postupu s plnou platnosťou aplikovať aj na prestup kyslíka v kvasiacej tekutine, kde ide o systém: vzdušné bublinky — substrát — živá bunka.

Metóda sulfitovej oxydácie je vhodná pre modelové pokusy, keď máme posúdiť tvar nádoby, rozmery nádoby, spôsob a intenzitu vetrania, veľičiny charakterizujúce hydrodynamické pomery vo fermentovanej tekutine (výška kvapalinového stĺpca, veľkosť, rýchlosť a dráha bublinek, viskozita, povrchové napätie), účinok miešenia a iné veličinami ktoré sa uplatňujú pri odvodení kritérií podobnosti vystupujúcich vo fyzikálne chemických vzťahoch platných aj pre vetranie kvasných substrátov, nakoľko ide o absorpčný pochod.

Kočergova metóda vyhovuje pre bezfarebné a číre roztoky. Pôvodne bola použitá pri vine. V prípade farebných a zakalených roztokov je takmer nemožné postihnúť ekvivalentný bod. To zaviňuje nepresnosť meraní a skresľuje výsledky. Bola by žiaduca taká úprava prístroja, aby sa mohla použiť potencio metrická titrácia.

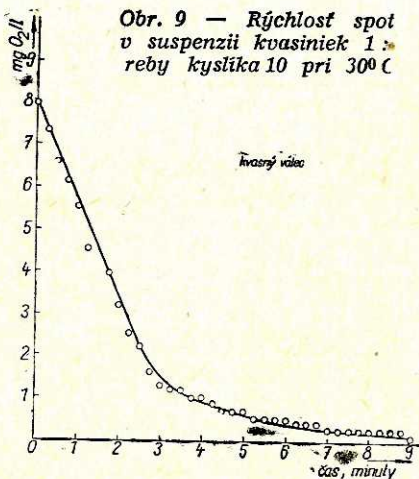
Výhodou Kočergovej metódy je jej veľká citlivosť oproti kyslíku. Farebná zmena roztoku indigokarmínu, vyvolaná aj stopami kyslíka, indikuje každú netesnosť aparatury alebo nečistý plyn. Ďalšou výhodou je práca v inertnej atmosfére a odvzdušňovanie použitých roztokov a aparatury.

Nevýhodou je krehká aparatura, nepohodlná obsluha a zdĺhavé stanovenie, ako aj veľká spotreba dusíka.

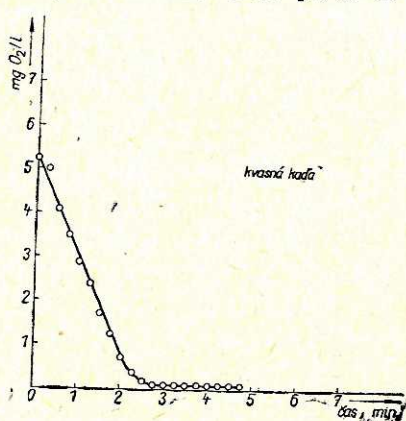
Oproti Winklerovej metóde je rýchlejšia, používané roztoky sú ovzdušňované. V porovnaní s polarografickou metódou je komplikovanejšia a zdĺhavšia.

Winklerova metóda je jednoduchá, nevyžaduje okrem kalibrovaných fľašiek žiadne zariadenie. Dáva spoľahlivé výsledky pre vodné a bezfarebné roztoky. Bola použitá pri všetkých spomenutých polarografických metódach ako štandardná metóda na kalibráciu. Titrácia melasy a zá-pary je obťažná a

Obr. 9 — Rýchlosť spotreby kyslíka 10 pri 300 C



Obr. 10 — Rýchlosť spotreby kyslíka v suspenzii kvasiniek 1:10 pri 300 C.



bola by presnejšia, keby sa Winklerova metóda kombinovala s ampérmetrickou titráciou [16]. Neuvádza sa usmrtenie buniek vo vzorke, aby sa zastavila ich dýchacia činnosť. Vysoké hodnoty sú pre roztok sacharózy a alkoholu. V roztoku kyseliny octovej sa kyslík nedá týmto spôsobom stanoviť.

Melasa pre silné penenie v obmedzenom objeme nebola vetraná.

Metóda je zdĺhavá, vyžaduje veľké množstvo vzorky. Plnenie fľašiek a pridávanie reagentov umožňuje dost dlhý styk vzorky so vzduchom.

Polarografickú metódu v porovnaní s ostatnými metódami treba hodnotiť ako najvhodnejšiu. Je to predovšetkým sám princíp tejto metódy, ktorý ju umožňuje použiť pre každú vzorku bez ohľadu na farbu alebo zákal. Pridávané látky nerušia reakciu. Je to metóda rýchla, spotreba ortuti a dusíka je malá. Je vhodná na sériové stanovenia. Vyžaduje len malé množstvo vzorky. Nevýhodou je nutnosť dodržiavania stálych podmienok. Pri zmenených podmienkach treba robiť znovu kalibráciu. Ďalej treba uvážiť vplyv prostredia na elektródové deje. Virenie vetranej a miešanej tekutiny pôsobí rušivo na polarografické záznamy. Nevýhodou je veľká citlivosť prístroja (nemožnosť použitia v prevádzke) a práca s ortutou.

Ako už bolo v úvode povedané, pre životnú činnosť kvasiniek je dôležitý kyslík. Kvasinky môžu spotrebovať len kyslík v kvapalnej fáze, čiže kyslík rozpustený vo fermentačnej tekutine. Preto musia platiť pre vetranie pri fermentácii základné zákony absorpcie. Ak je nedostatok kyslíka v zá-pare, kvasinky žijú v anaerobných podmienkach a vytvárajú prevážne alkohol.

V trenčianskej droždiarni je prítokový spôsob výroby droždia. Za týchto podmienok boli robené pokusy v kvasnom valci a v kvasnej kadi. Ako ukazujú tabuľky 9 a 10 a korelačné — regresné priamky (obr. 8), množstvo rozpusteného kyslíka zostávalo zväčša na rovnakej úrovni, alebo nepatrne klesalo. Aj maximálne množstvo rozpusteného kyslíka zostáva na tej istej úrovni. Vidieť ešte značný rozdiel medzi okamžitou a maximálnou koncentráciou rozpusteného kyslíka. Ako ukazujú grafy (obr. 9 a 10), kvasinky

skôr ako za 3 minúty spotrebovali rozpustený kyslík, ktorého obsah klesol až na spodnú hranicu. Je potrebné stanoviť súčasne s koncentráciou kyslíka aj sušinu kvasiniek.

Celkovú problematiku nemožno vysvetliť z dvoch-troch pokusov, čo ani nebolo úlohou témy. Dokazuje sa však, že stanovením rozpusteného kyslíka v substráte počas fermentácie príde sa na mnohé dôležité veci a ozrejmlia sa niektoré doteraz nejasné pochody spojené s vetraním v droždiarenstve.

Opísaná polarografická metóda sa nehodí na plynulé stanovenie rozpusteného kyslíka v prevádzke. Z vybraných metód je však najvhodnejšia.

Pri úprave metodiky pre praxi je dôležitý správny odber vzoriek, ktorý musí spĺňať tieto požiadavky:

1. Vzorka musí byť odobraná okamžite a priamo z vetranej zá-pary, lebo po zastavení prúdu vzduchu sa obsah kyslíka mení;
2. musí byť zamedzený akýkoľvek styk vzorky so vzduchom;
3. musí to byť vzorka priemerná, aby vyjadrovala priemerný stav vetrania v kadi;
4. musia byť okamžite a dokonale usmrtené bunky, aby nespotrebovali kyslík zo vzorky.

Keď máme posúdiť vhodnosť metódy pre prevádzku, musíme prihliadať k podmienkam a pomerom v prevádzke, ktoré sú odlišné od laboratórnych pomerov. Je to veľký objem kvasnej kade, silno spenený obsah, virenie tekutiny. Pri vetraní sa vytvárajú určité cesty vzduchu a je predpoklad, že pomery pri stenách sú iné ako v strede, a tak isto aj v rôznych výškach kvapalinového stĺpca.

Polarografická metóda je pre prevádzkové stanovenia pri väčšom počte kvasných kádí dosť ťažkopádna a vyžaduje zaškoleného pracovníka. Pre prax by sa zdala najvyhovujúcejšou metóda, ktorou by sa stanovoval kyslík hneď pri kadi a plynule v zá-pare, prúdiacej vzorkovou nádobkou, alebo diferenčná metóda, pri ktorej sa stanovuje obsah kyslíka v odchádzajúcich plynch pri známom množstve vháňaného vzduchu buď na základe využitia vysokej magnetickej susceptability kyslíka, alebo zmien parciálneho tlaku kyslíka v plynnej fáze.



### Z á v e r

Vyskúšaná a zhodnotená bola metóda sulfitovej oxydácie, Kočergova, Winklerova a polarografická metóda. Ukázalo sa, že najvhodnejšia je metóda polarografická. Boli prevedené fermentačné pokusy zamerané na sledovanie okamžitej a maximálnej koncentrácie rozpusteného kyslíka v priebehu kvasenia.

Bol sledovaný časový úbytok kyslíka v suspenzii kvasiniek.

### Literatúra.

- [1] KOSSACZKY E., SUROVÝ J.: Chemické inžinierstvo II. (Vysokoškolský skript).  
[2] RAMM V. M.: Absorpčné pochody v chemickom priemysle.  
[3] KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ A.: Praktikum technickej mikrobiológie.  
[4] Kolektív Katedry analytickej chémie: Fyzikálne a špeciálne metódy analytickej (Vysokoškolský skript).  
[5] HEYROVSKÝ-ZUMAN: Úvod do praktickej polarografie.  
[6] MAJER V.: Polarografické rozbor.  
[7] Nepublikovaná literatúra Kvasného priemyslu, n. p., Trenčín, pojednávajúca o vetrání droždíarenských zápar.  
[8] AGABALJANC G. G.: Chimiko-technologičeskij kontrol' proizvodstva sovjetskogo šampanskogo.  
[9] PLEVAKO E. A., BAKUŠINSKAJA O. A.: Mikrobiologičeskij i chimiko-technologičeskij kontrol' drožževogo proizvodstva.  
[10] Umbrei, Burris, Stauffer: Manometričeskije metody izučeniya tkanevogo obmena.  
[11] Kvasný průmysl r. 1955 č. 12, r. 1956 č. 6.  
[12] Chemické listy r. 1954, str. 276-279.  
[13] Die Brauwirtschaft r. 1955 (Účinnost vetrání v laboratorních kvasných přístrojích.)

### [14] Analytical chemistry:

- a) r. 1947, str. 643-646.
- b) r. 1951, str. 1427-1431.
- c) r. 1951, str. 868-871.
- d) r. 1953, str. 187-188.
- e) r. 1954, str. 1927-1931.
- f) r. 1954, str. 1811-1815.
- g) r. 1954, str. 402-404.

### [15] Industrial and engineering chemistry:

- a) r. 1950, str. 1792-1801.
- b) r. 1950, str. 1801-1809.
- c) r. 1944, str. 504-509.

### [16] Chemistry and industry: r. 1955, str. 191-195.

### Выводы

Исследовался и оценивался метод сульфитного окисления, Кочерга, Винклера и полярографический метод. Наиболее целесообразным оказался полярографический метод. Были сделаны ферментативные опыты с целью исследования имеющейся и максимальной концентрации растворенного кислорода в течение брожения. Исследовалось понижение содержания кислорода в суспензии дрожжей в зависимости от времени.

### Summary

Three methods of sulphite oxydation viz: Kočergov's, Winkler's and polarographic have been tested. The results underline the superiority of polarographic method. The tests with fermenting substances were aimed at determining the instantaneous and maximum concentration of dissolved oxygen during fermentation. Decrease of oxygen in the yeast suspension has been studied.