

Vliv některých organických látek na rozptýlení kyslíku v kapalném prostředí

VLADIMÍR KRUMPHANZL, JOSEF DYR, MARIE ŠIMONOVÁ, VŠCHT, katedra kvasné chemie, Praha 543.844

Aerobní mikroorganismy vyžadují pro svůj růst dostatečný přístup kyslíku. Tato otázka, tj. vzdušnění fermentované kapaliny, se stala v posledních letech předmětem četných výzkumných prací.

Hlavní směr výzkumu v uvedené oblasti je zaměřen na konstrukci nových větracích systémů, a to převážně turbinových. Poměrně málo pozornosti bylo věnováno otázkám úpravy fermentované kapaliny z hlediska lepšího využití vzduchu. Proto autoři věnovali tuto práci uvedenému problému.

Přestup kyslíku do kapaliny můžeme rozdělit na dvě etapy:

1. difuze kyslíku ze vzduchu do kapaliny a
2. přechod kyslíku kapalnou fází k buňce.

Nejpomalejší děj je dějem řídicím, protože ovlivňuje zásobení fermentované kapaliny kyslíkem. Rozborem se získá závěr, že tímto dějem je difuze kyslíku ze vzduchu do kapaliny.

Provzdušňuje-li se fermentovaná kapalina, spotřebuje se kyslík jednak přítomným kultivovaným mikroorganismem, jednak oxydaci některých složek substrátu. Spotřeba na oxydaci substrátu je však ve většině případů zanedbatelná a proto se s ní v této práci nepočítá [1].

Označí-li se rychlost spotřeby kyslíku na váhovou jednotku buněčné suspenze jako k_r , sušina buněčné suspenze (g/lit.) jako C_m , celková rychlost spotřeby O_2 je

$$r_r = k_r \cdot C_m.$$

Na jedné straně je kyslík spotřebováván mikroorganismem rychlostí r_r , na druhé straně se do substrátu dodává rychlostí r_d . Tato rychlost charakterizuje rychlost přestupu kyslíku přes styčný povrch plynné a kapalné fáze. Množství látky, které prochází difuzním filmem z plynné fáze, musí se v rovnovážném stavu rovnat množství látky přecházející filmem do kapalné fáze.

Platí rovnice:

$$r_d = k_g \cdot A \cdot (p_g - p_i) = k_1 \cdot A \cdot (c_i - c_1)$$

kde k_g a k_1 jsou parciální koeficienty přestupu látky (kyslíku v plynné a kapalné fázi);

A — je styčný povrch fází (fázové rozhraní);
 $(p_g - p_i)$ a $(c_i - c_1)$ odpovídají hnacím silám absorbce v plynné a kapalné fázi;

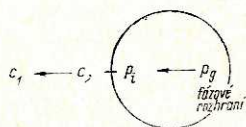
p_g — je parciální tlak kyslíku v plynné fázi;

p_i — je parciální tlak kyslíku na fázovém rozhraní;

c_1 — je koncentrace kyslíku v kapalné fázi;

c_i — je koncentrace kyslíku ve fázovém rozhraní.

Poměry vyjádřené difuzní rovnicí lze objasnit jednoduchým schématem



Fázové rozhraní je v našem případě stěna vzduchové bubliny v kapalině.

Rozpustnost kyslíku v kapalině je za normálních podmínek dosti nízká. Pro zvýšení rozpustnosti kyslíku by se mohlo použít též změn fyzikálních podmínek, např.

a) zvýšení tlaku — bylo by zapotřebí použít kvasných nádob tlakových, a to by bylo mnohdy neproveditelné;

b) snížení teploty systému — z hlediska nutnosti dodržení optimálních podmínek růstu produkčního organismu nerealizovatelné.

V difuzní rovnici je uvedena jako jedna z veličin také plocha fázového rozhraní — A. Velikost fázového rozhraní je závislá na velikosti bublinek plynu v kapalině. Kölbél a spol. [2] dokázali, že specifický povrch vzduchových bublinek klesá se zvýšením průtoku plynu, viskozitou kapaliny a tlakem plynu, s průměrem otvoru větracího systému a se zmenšením průměru měrné nádoby. Protože se však jmenovaní autoři podrobně nezabývají vlivem povrchově aktivních látek, přítomných v zápaře, na změnu fázového rozhraní, úvodní část této studie částečně osvětluje tento zajímavý problém.

Povrchově aktivní látka má tu vlastnost, že se absorbují na povrch kapaliny, do níž byla přidána a snižuje povrchovou energii, neboli povrchové napětí objemové fáze. Závislost povrchového napětí vodných roztoků povrchově aktivních látek na jejich koncentraci c (mol^{-1}) často uspokojivě vystihuje empirická rovnice Szyszkovského:

$$\gamma_0 - \gamma = k_1 \cdot \log(1 + k_2 \cdot c)$$

kde

γ_0 — je povrchové napětí vody;

k_1 a k_2 — jsou konstanty;

k_1 — je společná pro celou homologickou řadu;

k_2 — vzrůstá s délkou uhlovodíkového řetězce povrchově aktivní látky geometrickou řadou.

Povrchová aktivita v homologické řadě povrchově aktivních látek, např. mastných kyselin nebo alkoholů, stoupá u každého homologa zhruba třikrát. Např. ke snížení povrchového napětí je třeba třikrát více kyseliny propionové než máselné [3].

Povrchově aktivní látky dělíme na:

I. ionogenní:

a) *anionaktivní* — obsahující skupiny COOH , $-\text{OSO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$ a další;

b) *kationaktivní* — např. se skupinami $-\text{NH}_2$, $-\text{NR}_3^+$;

c) *amfoterní* — které mají současně přítomné obě dvě skupiny.

Jejich molekula se skládá z hydrofobního řetězce a hydrofilní části, schopné ve vodě disociovat.

II. neionogenní:

tyto látky neobsahují jednu silnou hydrofilní skupinu, ale větší množství skupin slabě hydrofilních. Tyto skupiny nejsou schopny takové disociace v běžném slova smyslu, která by se dala zjistit titračně nebo vodivostně.

Molekuly povrchově aktivních látek tedy obsahují obecně dvě skupiny:

1. polární, např. -COOH , -OH , $\text{-SO}_3\text{H}$;
2. nepolární, což je uhlovodíkový řetězec.

Na povrchu vodných roztoků jsou molekuly orientovány tak, že polární skupina je pro svou značnou afinitu k vodě obrácená směrem do roztoku a nepolární hydrofobní řetězec do vzduchu. Tím se mění struktura mezifázového rozhraní a ovlivňuje se i koeficient přestupu plynu do kapaliny. Vysloveně povrchově aktivní látky, s hydrofobním řetězcem, jako jsou např. saponáty, mohou negativně ovlivňovat přestup mezi dvěma kapalnými fázemi, nebo kapalnou a plynnou fází, jak prokázal Vignes [4]. To je způsobeno zaplněním povrchu málo pohyblivými velkými molekulami. Dá se očekávat, že tento negativní vliv se nebude projevovat u sloučenin s malou molekulovou hmotností, tj. sloučenin, používaných jako pěniče.

Proto byly na zvýšení rozptylu kyslíku ve fermentované kapalině vybrány látky s malou molekulou, s minimálním hydrofobním řetězcem.

Z alkoholů to byl etylalkohol, n-propylalkohol, n-butylalkohol a amylalkohol, z kyselin — kyselina octová, propionová, mléčná a α -alanin.

Tímto výběrem bylo umožněno stanovit vliv délky řetězce a substituce řetězce — OH nebo -NH_2 skupinami na pěnivost kapaliny a na změnu velikosti bublin vzduchu v kapalině. Současně byla sledována toxicita uvedených látek na kvasinky.

Experimentální část

Analytické metody:

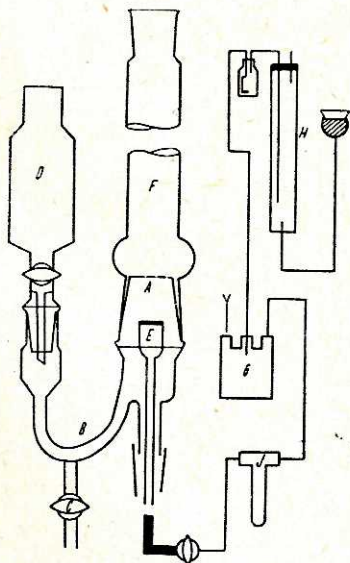
Redukující cukry byly stanoveny metodou Luff-Schoorlovou.

Kvasničná sušina byla stanovena nefelometricky.

Popis přístroje:

V literatuře je popsána řada metod vyhodnocování vlastností povrchově aktivních látek jako pěničů [5 až 12]; autoři zvolili metodu měření za kinetických podmínek, tj. měření objemu pěny při probublávání roztoku plynem [13].

Přístroj (obr. 1) se skládá z měrné trubice *F* a ze zařízení pro dávkování plynu — *H, G, J*. Límecová



Obr. 1. Schéma přístroje

banška *A*, uzavírající měrnou trubici *F*, je na dně opatřena otvorem pro nasazení frity *E*. Přívod kapaliny do měrné trubice *F* je připouštěcí nálevkou *D* a spojovacím ramenem *B*, které je rovněž opatřeno vypouštěcím kohoutem *C*.

V této práci bylo použito frity *S2* průměru 30 mm a měrné trubice délky 1000 mm, průměru 40 mm. Plyn se přivádí běžným způsobem z tlakové láhve. Tlak v tříhrdlé láhvi *G*, a tím i průtok, je regulován výškou hladiny ve vyrovnávací tlaku *H*. Průtoková rychlost plynu je měřena kapilárním průtokoměrem *J*. Před vlastním měřením byla okalibrována jak měrná trubice, tak i trysky průtokoměru.

Pracovní postup:

Před vlastním měřením vlivu povrchově aktivní látky na pění a na změnu velikosti bublin, byl přístroj vyčištěn destilovanou vodou a sušen metylalkoholem. Měřený roztok — destilovaná voda doplněná povrchově aktivní látkou na požadovanou koncentraci — byl napuštěn do měrné trubice dělicí nálevkou *D* a jeho hladina vyrovnána na nulu. Současně byl otevřen přívod plynu do frity *A* a nastaven na požadovanou hodnotu. Při volbě průtoku se vycházelo ze zkušeností v droždárnách, kde používaný větrací poměr bývá v průměru až 100 objemů vzduchu na 1 objem záparů za hodinu. Při tomto měření byl objem kapaliny 250 ml, co znamená průtok vzduchu 6,95 ml/s. Z důvodů experimentálních možností bylo však nutné tuto vypočtenou hodnotu poněkud zvýšit, a to na 7,5 ml/s.

Měření intenzity pění:

Okamžitě po nastavení přívodu vzduchu na požadovanou hodnotu, byla odečtena výška vytvořené pěny milimetrovým měřítkem, umístěným na měrné trubici. Měření trvalo celkem 60 min, prvních 15 min bylo odečítáno vždy po 3 min, potom do konce intervalu po 10 min (H_1 — spodní hladina pěny, H_0 — vrchní hladina pěny).

Měření velikosti bublin:

Při měření pěny byla fotografována provzdušňovaná kapalina pod pěnou vždycky za stejných podmínek. Současně s fotografováním vzduchových bublinek bylo nafotografováno i měřítko, takže průměrnou velikost bublinek bylo možné snadno vyhodnotit z vyvolaného filmu pomocí diaprojektoru.

Stanovení toxicity použitých povrchově aktivních látek:

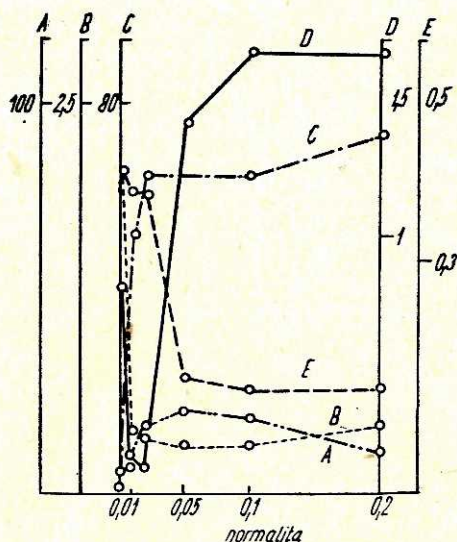
Měření intenzity pění a velikosti bublin bylo doplněno stanovením toxicity použitých povrchově aktivních látek, a to v měřeném rozsahu, tj. 0,01 N až 0,2 N.

Půda složení

20 g glukózy/l
10 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ /l
2,5 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ /l
pH 5,0

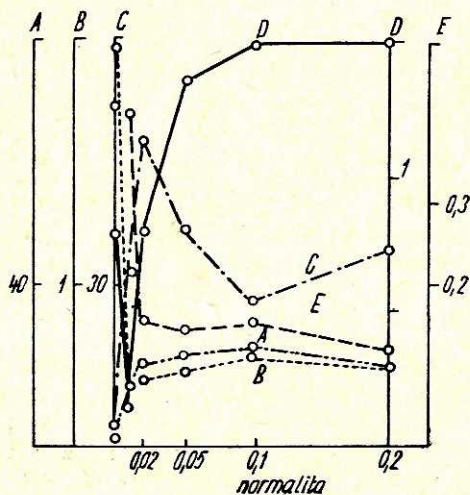
byla po 100 ml rozlita do 0,5 l baněk a po vystерilování doplněna sledovanými, povrchově aktivními látkami tak, aby jejich výsledná koncentrace byla 0,2 N; 0,1 N; 0,05 N; 0,02 N a 0,01 N. Jak patrné, nejde o kultivační půdu, proto lze předpokládat, že podmínky pro narůstání jsou především závislé na asimilovatelnosti substrátu a proto je nutné počítat i s možností asimilace některých použitých povrchově aktivních látek. Po zaočkování suspenzí kvasinek, připravenou z líberkovaného droždí, byla 24 h třepána na třepačce za teploty 28 °C. Po této době byla stanovena sušina a úbytek cukru v půdě.

Výsledky měření jsou uvedeny na obr. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.



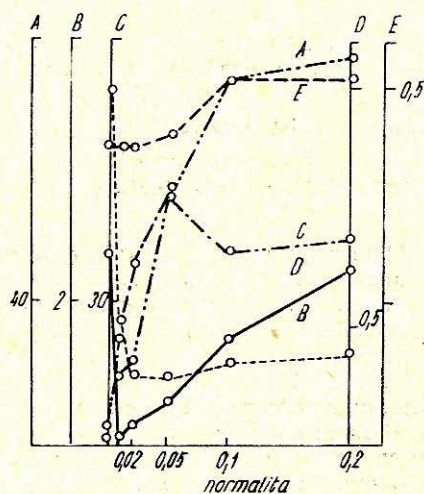
Obr. 2. Vliv kyseliny octové na pění, velikost bublin a růst kvasinek

A — výška pěny v mm; B — velikost bublin v mm; C — počet bublin; D — zbytkový cukr g/100 ml; E — sušina g/100 ml



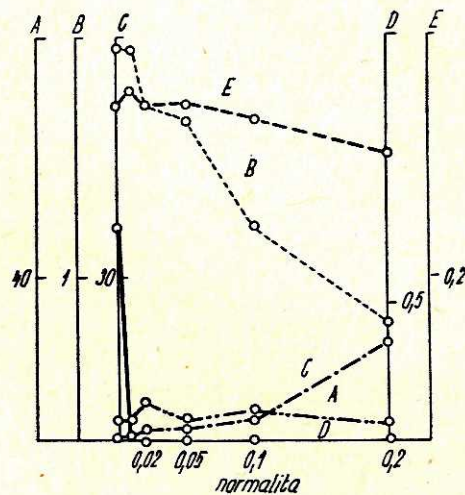
Obr. 3. Vliv kyseliny propionové na pění, velikost bublin a růst kvasinek

A — výška pěny v mm; B — velikost bublin v mm; C — počet bublin; D — zbytkový cukr g/100 ml; E — sušina g/100 ml



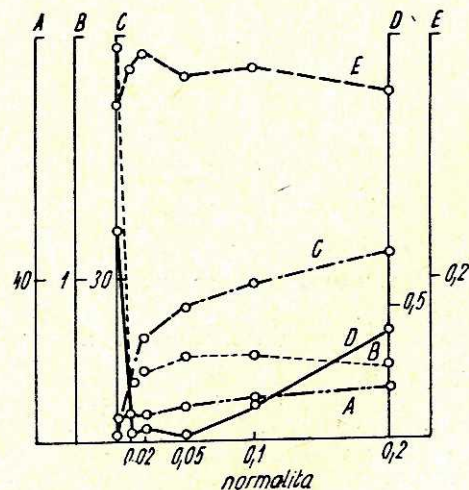
Obr. 4. Vliv kyseliny mléčné na pění, velikost bublin a růst kvasinek

A — výška pěny v mm; B — velikost bublin v mm; C — počet bublin; D — zbytkový cukr g/100 ml; E — sušina g/100 ml



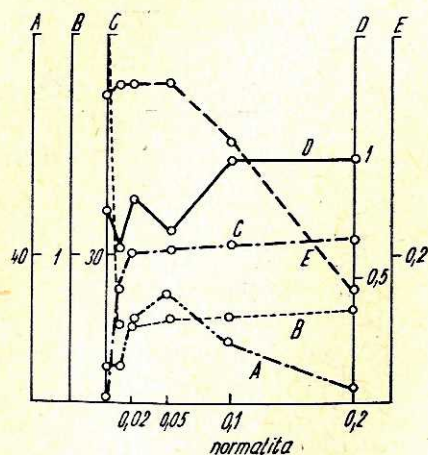
Obr. 5. Vliv α-alaninu na pění, velikost bublin a růst kvasinek

A — výška pěny v mm; B — velikost bublin v mm; C — počet bublin; D — zbytkový cukr g/100 ml; E — sušina g/100 ml



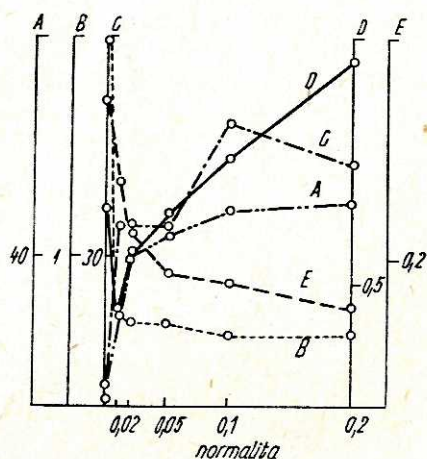
Obr. 6. Vliv etylalkoholu na pění, velikost bublin a růst kvasinek

A — výška pěny v mm; B — velikost bublin v mm; C — počet bublin; D — zbytkový cukr g/100 ml; E — sušina g/100 ml



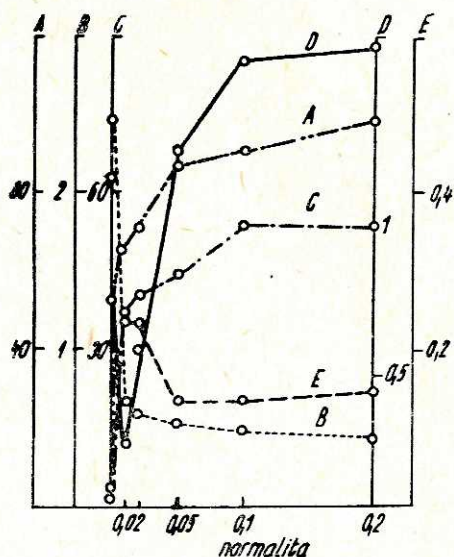
Obr. 7. Vliv propylalkoholu na pění, velikost bublin a růst kvasinek

A — výška pěny v mm; B — velikost bublin v mm; C — počet bublin; D — zbytkový cukr g/100 ml; E — sušina g/100 ml



Obr. 8. Vliv n-butylalkoholu na pění, velikost bublin a růst kvasinek

A — výška pěny v mm; B — velikost bublin v mm; C — počet bublin; D — zbytkový cukr g/100 ml; E — sušina g/100 ml



Obr. 9. Vliv amylalkoholu na pění, velikost bublin a růst kvasinek

A — výška pěny v mm; B — velikost bublin v mm; C — počet bublin; D — zbytkový cukr g/100 ml; E — sušina g/100 ml

Souhrn pokusů

Z měření uvedených v příslušných obrázcích vyplývají tyto závěry:

a) Z hlediska zvýšení pěny ve vodném roztoku je nejúčinnější látkou kyselina mléčná, nejméně účinnou látkou je α -alanin.

Pořadí účinnosti všech zkoumaných látek je zachyceno v tabulce.

Tabulka 1

Pořadí	Látka	Koncentrace látky	Výška pěny v mm
1	kys. mléčná	0,2 N	108
2	amylalkohol	0,2 N	98
3	n-butylalkohol	0,2 N	54
4	propylalkohol	0,05 N	32
5	kys. propionová	0,1 N	25
6	kys. octová	0,05 N	25
7	etylalkohol	0,2 N	13
8	alfa-alanin	0,1 N	9

V tabulce 1 jsou zachyceny koncentrace látek, při kterých bylo dosaženo v měřeném rozsahu nejvyšší tvorby pěny. Z průběhu křivek, zachycených na obrázcích vyplynulo, že při použití kys. mléčné, amylalkoholu, n-butylalkoholu a etylalkoholu se vzrůstající koncentrací vzrůstá tvorba pěny. U všech ostatních zkoumaných látek bylo zachyceno maximum tvorby pěny při nižší koncentraci, než je maximální, tj. 0,2 N. Pokud jde o stabilitu a hustotu vytvořených pěn i zde je vidět rozdíl mezi sledovanými látkami. Nestabilní a řídké pěny se tvoří za přidavku kyseliny octové, kys. propionové, α -alaninu, etylalkoholu, propylalkoholu, proti tomu při použití kys. mléčné, butylalkoholu a amylalkoholu jsou pěny značně stabilnější a dosti husté, i když z daleka nedosahují pěn, např. při použití saponátů.

b) Z hlediska rozptylování vzduchu, tj. vlivu na velikost a počet bublinek, je nejúčinnější kys. octová a prakticky bez účinku je α -alanin. V tabulce 2 jsou zachyceny koncentrace látek, při kterých bylo dosaženo nejmenšího průměru bublinky.

Tabulka 2

Pořadí	Látka	Koncentrace látky	Průměr bublin v mm
1	α -alanin	0,2 N	0,73
2	n-butylalkohol	0,1 N	0,47
3	kys. mléčná	0,05 N	0,45
4	propylalkohol	0,01 N	0,43
5	amylalkohol	0,2 N	0,43
6	etylalkohol	0,01 N	0,41
7	kys. propionová	0,01 N	0,34
8	kys. octová	0,05 N	0,30

Podobně jako v předešlém případě i zde bylo prokázáno, že zmenšování velikosti bublin není ve všech případech lineární s rostoucí koncentrací použité povrchové aktivní látky. Tak v měřeném roztoku při použití kys. octové, propionové, mléčné, etylalkoholu, propylalkoholu a n-butylalkoholu bylo dosaženo nejmenších bublinek při nižší koncentraci, než byla maximální, tj. 0,2 N. Pouze při použití α -alaninu a amylalkoholu s jejich vzrůstající koncentrací se snižuje velikost bublin.

Celkově však lze říci, že až na α -alanin všechny použité látky již v nejnižších měřených koncentracích způsobovaly podstatné zmenšení velikosti bublin a při vyšších koncentracích rozdíl jejich působení nebyl již tak velký.

c) Měření pěnivosti a rozptýlení vzduchu byla doplněna orientačním stanovením inhibice růstu jednotlivými látkami. Jak bylo uvedeno v metodické části práce, na zaočkování živné půdy s odstupňovanou koncentrací povrchové aktivních látek bylo použito liberkovaného droždí. Výsledky získané po 24 h kultivace na třepačce při 28 °C jsou uvedeny v tabulce 3 (počáteční koncentrace sušiny 0,13 g na 100 ml; počáteční koncentrace cukru 1,75 g/100 ml; koncentrace povrchové aktivní látky 0,2 N).

Na základě zjištěných skutečností lze eliminovat z hlediska:

dostupnosti α -alanin, kys. propionovou a propylalkohol;

malé účinnosti na rozptýl vzduchu v kapalině α -alanin;

inhibice růstu

— kyselinu octovou od koncentrace 0,05 N výše

— kyselinu propionovou od koncentrace 0,02 N výše

— amylalkohol od koncentrace 0,05 N výše

Tabulka 3

Látka	Zbytkový cukr g/100 ml po 24 h	Sušina g/100 ml po 24 h
srovnávací vzorek	0,078	0,413
kys. octová	1,69	0,140
kys. propionová	1,49	0,120
kys. mléčná	0,74	0,520
α -alanin	0,00	0,350
etylalkohol	0,41	0,420
propylalkohol	0,98	0,150
n butylalkohol	1,39	0,130
amylalkohol	1,75	0,150

P o z n á m k a : Při použití kyselin byla respektována změna pH.

— n-butylalkohol od koncentrace 0,1 N výše
— propylalkohol od koncentrace 0,1 N výše
za daných experimentálních podmínek a za použití předpokládané směsi kvasinek.

Po zhodnocení jednotlivých faktorů se zdá, že pro daný účel by nejlépe vyhovovala ze zkoumaných látek kys. mléčná nebo etylalkohol.

Závěr

V práci byla zkoušena řada jednoduchých nízkomolekulárních látek z hlediska zlepšení rozptýlení kyslíku ve fermentované kapalině. Byl sledován:

- a) Vliv alkoholu a kyselin v závislosti na délce řetězce — etylalkohol, propylalkohol, n-butylalkohol, amylalkohol, kyselina octová a propionová;
b) vliv kyselin v závislosti na substituci řetězce — kyselina propionová, kyselina mléčná a α -alanin.

U všech látek byl sledován vliv na pění, velikost bublinek a inhibici použitých mikroorganismů.

Po vyhodnocení uvedených kritérií bylo zjištěno, že pro zvýšení účinnosti rozptýlení vzduchu v kvasných procesech by mohlo být použito etylalkoholu a kyseliny mléčné. Získané závěry platí pouze pro použitou suspenzi mikrobů. Lze však předpokládat možnost uplatnění některých zkoumaných látek i pro jiné kmeny. Je samozřejmé, že používanými látkami, nejsou vyčerpány další možnosti. Kritériem jejich vhodnosti však zůstává dostatečná účinnost při rozptylování vzduchu, inaktivita vůči použitému mikroorganismu, nízká pěnivost a nízké provozní náklady. Je možné, že vhodné látky pro tento účel se najdou v přirozených makromolekulárních látkách, jako jsou např. bílkoviny, peptidy, popř. terpenické sloučeniny. Ze syntetických makromolekulárních látek by přicházely v úvahu neinogenní pěniče typu polyoxyetylenových sloučenin. Tato práce byla pouze úvodem pro další výzkum v tomto směru.

L i t e r a t u r a

- [1] Hunčíková S.: Diplomová práce SVŠT Bratislava 1957.
- [2] Köbel H., Borchers E., Langemann H.: Chem. Ing. Techn. 33, 688 (1951).
- [3] Vavruš I.: Koloidní chemie, Praha 1959.
- [4] Vignes A. I. chim. phys. 57, 980—90 (1960), 991—93 (1960), 995—1005 (1960), CA 55—12 955 (1961).
- [5] Ross J., Miles G. D.: Oil and Soap 1899 (1941).
- [6] ASTM Standards on Soap and Other Detergents, Philadelphia 1958.
- [7] Lederer E. L.: Seifensieder Ztg. 63, 331 (1936).
- [8] Bickerman J.: Trans Faraday Soc. 34, 634 (1938).
- [9] Foulk C. W., Miller J. N.: Ind. Eng. Chem. 32, 1594 (1941).
- [10] Hoffman K., Peter H.: Kolloid Z. 97, 161 (1941).
- [11] Ruysen R., Lauwers A.: Pharm. Acta Helv. 35, 4—5, 187 (1960).
- [12] Viktorin O.: Chem. listy 34, 265 (1940).
- [13] Kondelík P., Kloubek J.: Chem. listy 56, 382—398 (1962).

Došlo do redakce 9. 12. 1963.

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА ДИСПЕРЗИЮ КИСЛОРОДА В ЖИДКОЙ СРЕДЕ

В статье описывается аппаратура, с помощью которой изучалась пенообразующая способность некоторых органических кислот и спиртов. Одновременно изучалось также влияние приведенных химикатов на процесс брожения при взбалтывании субстрата. Благоприятные результаты по критерию содержания сухого вещества дает добавка молочной кислоты или этилового спирта. Эти добавки повышают дисперсию воздуха при процессе брожения.

EINFLUSS EINIGER ORGANISCHEN STOFFE AUF DIE SAUERSTOFFDISPERSION IN FLÜSSIGER MEDIEN

Die Schaumbildungsfähigkeit einiger organischen Säuren und Alkohole wurde bei Benützung einer Apparatur, die in dem Artikel beschrieben wird, studiert. Es wurde auch der Einfluß dieser Stoffe auf die Gärung bei gleichzeitigem Schütteln des Substrats verfolgt. Günstige Werte des Trockengehalts wurden bei Zugabe von Milchsäure oder Äthylalkohol erzielt. Diese beiden Stoffe fördern die Sauerstoff-Dispersion im Gärungsprozeß.

EFFECT OF SOME ORGANIC MATTERS UPON THE DISPERSION OF OXYGEN IN LIQUIDS

The article deals with special instruments and apparatus which have been developed to ascertain the foam generating capacity of some organic acids and alcohols. Effects the mentioned substances have upon the fermentation process with substrate stirred by shaking was studied, too. It has been found that addition of lactic acid or ethylalcohol improve the proportion of dry matter and is therefore desirable. These chemicals contribute to better dispersion of air during fermentation processes.