

# Využití automatických analyzátorů plynů ve fermentačním průmyslu a výzkumu

Ing. MILOSLAV RUT, Výzkumný ústav krmivářského průmyslu a služeb, odd. mikrobiálních výrob, Praha

Ing. FRANTIŠEK MADRON, CHEMOPETROL, koncernová účelová organizace, Výzkumný ústav anorganické chemie, Ústí nad Labem

663.1:543.27

Do redakce došlo 8. ledna 1976

Měření spotřeby kyslíku a vývinu kysličníku uhličitého se v poslední době stalo nezbytným požadavkem moderního přístupu k řízení fermentačních procesů. Spotřeba kyslíku a tvorba kysličníku uhličitého, nebo jejich vzájemný poměr, jsou měřítkem růstu mikroorganismů, způsobu využití uhlíkatého substrátu, měřítkem tvorby produktu a vedlejších produktů a ve svých důsledcích měřítkem výtěžnosti. Za jistých okolností lze v průmyslovém uspořádání ze záznamu kyslíku a kysličníku uhličitého přímo usuzovat na výtěžnost probíhajícího procesu. V laboratorním měřítku nahrazují ve většině případů automatické analyzátorů plynů klasické manometrické metody, které lze jen těžko převést na automatický záznam. Cílem této práce je upozornit pracovníky fermentačního průmyslu a výzkumu na možnost aplikace automatických analyzátorů plynů při sledování fermentačních pochodů.

K měření koncentrace kysličníku uhličitého se vyrábějí přístroje, které pracují na základě změny tepelné vodivosti (katharometry) nebo na základě absorpce infračerveného záření.

Hlavní součástí přístrojů využívajících rozdílné tepelné vodivosti plynů jsou tepelně stabilizované komůrky, kterými procházejí platinové drátky. Komůrky jsou obvykle čtyři a drátky tvoří ramena Wheastoneova můstku. Dvěma komůrkami protéká analyzovaný plyn, druhými dvěma komůrkami protéká plyn srovnávací (vzduch, nebo analyzovaný plyn zbavený kysličníku uhličitého). Rozdílná tepelná vodivost obou plynů vyvolává změnu elektrické vodivosti, která se projeví výchylkou na registračním přístroji. Pro správnou funkci přístrojů je nezbytné odstranit z plynů vlhkost, která by měnila podstatně tepelnou vodivost plynů. Komůrky jsou umístěny v termostatizovaném bloku, jehož stabilizace trvá obvykle několik hodin, takže příprava přístroje k měření je zdlouhavá. Při přesných měřeních je nutno alespoň jednou týdně přezkoušet nejméně jeden bod stupnice kalibračním plynem. Nevýhodou přístrojů měřících na tomto principu je, že měření  $\text{CO}_2$  ovlivňuje vodík, takže tyto přístroje nejsou vhodné pro měření u anaerobních procesů. Dále jsou platinové spirály citlivé na znečištění. Tím se značně mění základní charakteristiky přístroje, takže je nutné velmi často nastavování nulové hodnoty přístroje a kalibrování.

Druhá skupina přístrojů je založena na měření absorpce infračerveného záření proudem měřeného plynu. Paprsek infračerveného záření je rozdělen optickým systémem na dvě stejné pulzující části. Jedna část prochází kyvetou, ve které je uzavřena srovnávací směs plynů. Ve speciálním detektoru se porovnává teplo, které se vyvine ze zářivé energie obou paprsků. Rozdíl teplot vyvolá změny v geometrii membránového kondenzátoru a tyto změny převedeny na elektrický signál se přenášejí na registrační přístroj. Absorpce infračerveného záření je úměrná hmotnosti molekul, které byly postaveny do cesty záření, a proto závisí na tlaku plynu a na teplotě. Proto musí být jak kyvety, tak detektor přesně temperovány a zaručen stejný tlak plynu. Analyzovaný plyn musí být zbaven vlhkosti, a to tím dokonaleji, čím větší citlivosti se při stanovení používá. Měření vadí všechny plyny, které mají v molekule dva různé atomy a mají tudíž podobnou oblast absorpce v infračervené části spektra jako  $\text{CO}_2$ . Dvouatomové plyny se stejnými atomy ( $\text{O}_2$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{Cl}_2$ ) měření neovlivňují.

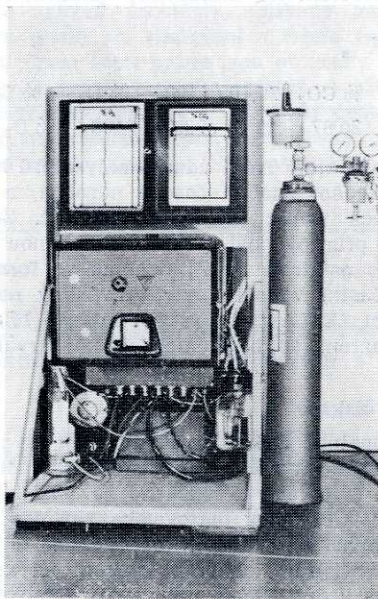
Přístroje pro měření koncentrace kyslíku využívají paramagnetických vlastností tohoto plynu. V měřicí komůrce bývá zavěšeno v magnetickém poli speciální tělíčko, které se vychýlí, jestliže se magnetické pole změní při průtoku plynu s paramagnetickými vlastnostmi. Výchylka tělíčka se měří fotoelektricky a je úměrná koncentraci kyslíku. Na stanovení nemá vodní pára principiální vliv, takže plyny není třeba úplně vysušovat jako  $\text{CO}_2$ . Magnetická susceptibilita je závislá na teplotě a proto je měřicí komůrka temperována, ale přesná teplota měřeného plynu není nutná. Stejně jako u  $\text{CO}_2$  se měří parciální tlak kyslíku, a proto je důležité udržovat v přístroji stejný tlak jako při kalibraci přístroje. Kalibrace se provádí nejlépe kalibračním plynem z tlakové láhve. Při přesných měřeních se doporučuje kalibrovat alespoň 1× týdně.

Přístroje pro měření koncentrace  $\text{O}_2$  a  $\text{CO}_2$  se dodávají s různými měřicími rozsahy. Některé mají přepínatelné rozsahy, jiné jsou dodávány s jedním zvoleným neměnitelným rozsahem. Při aplikaci těchto přístrojů ve fermentačním průmyslu je pro aerobní fermentace vhodný rozsah 16–21 % obj.  $\text{O}_2$  a 0–6 % obj.  $\text{CO}_2$ . Rozsahy je však vždy nutno volit podle druhu zpracovávaného uhlíkatého substrátu a využití kyslíku ve fermentoru.



Čím je substrát více oxidován, tím menší specifickou spotřebu kyslíku lze očekávat a tím užší rozsah budeme volit. Podobné úvahy lze odvodit při volbě rozsahu měření koncentrace  $\text{CO}_2$ . Pro výzkumné účely budeme raději volit přístroje s přepínatelnými rozsahy, i když na druhé straně musíme počítat s větší náročností na kalibraci a udržování přístroje v požadované přesnosti měření.

V ČSSR se přístroje pro měření koncentrace  $\text{O}_2$  a  $\text{CO}_2$  nevyrábějí. Pro státy RVHP vyrábí přístroje NDR v podniku Junkalor Dessau a většina těchto přístrojů se k nám dováží pro analýzu kouřových plynů při kontrole a řízení hospodárnosti kotlů. Dovozy, montáž a servis obstarává ZPA, dodavatelský závod Nusle [1]. Pro měření koncentrace  $\text{CO}_2$  se dovážejí přístroje řady Infralyt pracující na principu absorpce infračerveného záření. Infralyt III je vhodný pro měření ve fermentačním průmyslu, Infralyt IV je tranzistorovaný s integrovaným obvodem, jinak v principu a použití shodný s předcházejícím typem. Pro výzkumné účely je vhodnější Infralyt Medizyn, který má přepínatelné rozsahy. Obdobu Infralytu III a IV pro výbušné prostředí je Infralyt Ex. Mescalyt a Mescalyt Ex jsou přístroje pro stanovení  $\text{CO}_2$  na principu měření změn tepelné vodivosti. Pro měření koncentrace  $\text{O}_2$  se dovážejí přístroje řady Permolyt. Permolyt II je vybaven tranzistory, Permolyt Ex je pro výbušné prostředí. Pro výzkumné účely pro laboratorní pokusy je vhodný Spirolyt, což je přístroj vyrobený pro lékařské účely s přepínatelnými rozsahy pro kyslík i kysličník uhličitý. Nevýhoda tohoto přístroje pro průmyslové použití je v tom, že stanovení  $\text{CO}_2$  je na principu katharometru a tento způsob je citlivý na čistotu plynů.



V naší laboratoři používáme upravené přístroje Infralyt II a Permolyt (starší typy osazené elektronikami) pro výzkumné účely jak v laboratorním, tak i provozním měřítku. Pro tyto účely jsme zvolili rozsah 10–21 % kyslíku a 0–6 % kysličníku uhličitého. Uvedené rozsahy vyhovují pro fermentace na etanolu pro laboratorní fermentory s přestupem kyslíku do 400 mmol/l.h a větrání od 0,5 l/l.min. Při fermentaci sacharidů jsou uvedené rozsahy na hranici použitelnosti. Oba přístroje jsou vyrobeny pro montáž do panelu, pro naše účely jsme oba přístroje namontovali na pojízdný skelet (obr. 1), takže lze přístroje snadno přiblížit k fermentoru. V takové jednotce, kde se současně měří  $\text{O}_2$  a  $\text{CO}_2$

se ušetří některá zařízení, kterými se jinak vybavuje každý přístroj samostatně (čerpadlo, filtr, škrticí ventil, sušicí věž, přetlakový ventil). Aby se náplň sušicí kolony rychle nevyčerpávala, je do proudu vzduchu před čerpadlem zařazen vodní chladič, ve kterém se odstraní většina vlhkosti z plynů vystupujících z fermentoru. Přístroje se kalibrují směsí plynů  $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{N}_2$  v tlakové láhvi z výrobního závodu. Pro přesná měření (např. při látkové bilanci) je nutno provádět kalibraci jednou denně.

Jedním z rysů měření koncentrace  $\text{O}_2$  a  $\text{CO}_2$  na výstupu plynů z fermentoru je značná citlivost na rychlosti průtoku vzduchu (popř. kyslíku) fermentačním zařízením. V tomto ohledu je použití analyzátorů silně ovlivněné, protože každý výkyv v průtoku vzduchu se projeví v záznamu koncentrace plynů. Požadavek konstantního průtoku plynů lze často jen s obtížemi zajistit v laboratorním uspořádání. V jiném případě je nutno současně nepřetržitě registrovat také průtok větracího média a při výpočtech uvažovat okamžité průtoky. Tyto obtíže většinou odpadají v průmyslovém uspořádání, pokud je běžným pravidlem regulace průtoku a jeho automatický záznam.

#### Použití automatických analyzátorů plynů při látkové bilanci kontinuální fermentace [2, 3]

Cílem látkového bilancování je zjištění spotřeby, popřípadě tvorby látek účastnících se fermentace. Měření průtoku látek v plynné fázi je většinou experimentálně náročnější než u látek kapalných a také chyba s tímto spojená bývá větší. Tak tomu bylo i u látkové bilance vzniku biomasy z etanolu, kdy bilance plynů (kyslíku a kysličníku uhličitého) představovala ve srovnání s ostatními látkami (spotřeba etanolu, tvorba biomasy) nejslabší článek řetězu. Vzhledem k tomu, že tato měření se konala s cílem získat podklady pro projekci výroby krmných kvasnic z etanolu, byla zde požadována co nejvyšší přesnost. Proto byla značná pozornost věnována matematickému zpracování údajů analyzátorů. Dále uvedená metodika látkového bilancování plynů při fermentaci pak může ilustrovat horní hranici přesnosti změřených látkové bilance plynů za použití výše uvedených analyzátorů.

#### Materiály a metody

V naší laboratoři používáme automatických analyzátorů plynů v tomto experimentálním uspořádání: průtok vzduchu na vstupu do fermentoru je měřen integrálním průtokoměrem PL-025 (Východočeské plynárny Skuteč) 1krát za bilanční období, současně se měří tlak, teplota a vlhkost vzduchu v místě měření průtoku. Dále jsou k dispozici záznamy analyzátorů (Infralyt II, Permolyt - Junkalor Dessau) o časovém průběhu koncentrací  $\text{O}_2$  a  $\text{CO}_2$  na výstupu z fermentoru, spolu s měřením kalibračního plynu. Neměří se průtok plynu na výstupu z fermentoru. Při výpočtech je třeba uvažovat změny množství plynů způsobené fermentací (pro případ RQ různého od jedné). Problém zjištění spotřeby kyslíku a tvorby kysličníku uhličitého z těchto údajů lze rozdělit na tři části:

1. zjištění okamžitých koncentrací plynů na výstupu z fermentoru ze zápisu analyzátorů,
2. zjištění střední koncentrace plynů ve zvoleném bilančním období,
3. výpočet spotřeby  $\text{O}_2$  a tvorby  $\text{CO}_2$  v bilančním období.

Zabýváme se nyní těmito problémy postupně.

**Zjištění okamžité koncentrace plynů.** Použité analyzátorů jsou opatřeny zapisovací vybavenými jednak stupnicí, na níž ručička přístroje ukazuje přímo koncentraci,



jednak vlastním zapisovacím zařízením, které přenáší postavení ručičky na registrační papír. Nejjednodušším způsobem zjištění koncentrace plynu je přímé odečtení údaje na stupnici. Tím se však získávají pouze orientační údaje. Kromě toho, že tato metoda je vzhledem ke kolísání ručičky subjektivní, existují dva důvody znemožňující získat tímto způsobem při látkovém bilancování dostatečně přesné výsledky. Jednak je to posun nuly přístroje s časem (zvláště při dlouhodobých měřeních), dále pak skutečné změny koncentrace plynů s časem, vyplývající z charakteru fermentace. Při řešení tohoto problému se nám osvědčila metoda založená na grafickém a výpočetním zpracování záznamu registračního přístroje. Prvním krokem při zpracování záznamu zapisovače byl přepočítání údaje na registračním papíru na úhlové vychýlení ( $\varphi$ ) ručičky přístroje podle vztahu:

$$\varphi = \frac{\pi}{2} - \arctan \left[ \frac{\frac{\xi}{2} - x}{a} \right]; \quad (1)$$

kde  $x$  je vzdálenost záznamu od levé strany registračního papíru,

$\xi$  — šířka registračního papíru,

$a$  — kolmá vzdálenost roviny záznamu od osy měřicího přístroje.

Dále bylo třeba přepočítat úhlové vychýlení na koncentraci plynů. Stupnice přístrojů jsou nelineární a po úvodním statistickém rozboru jsme se rozhodli tyto závislosti aproximovat polynomy

$$\% O_2 = a_0 + a_1 \varphi + a_2 \varphi^2 \quad (2)$$

$$\% CO_2 = b_0 + b_1 \varphi + b_2 \varphi^2 + b_3 \varphi^3, \quad (3)$$

kde  $\% O_2$  a  $\% CO_2$  jsou objemová procenta  $O_2$  a  $CO_2$ ,  $a_i$  a  $b_i$  jsou empirické konstanty. Hodnoty konstant byly získány metodou nejmenších čtverců z údajů na stupnicích přístrojů a jim odpovídajících výchylek ručiček. Jednou z nežádoucích vlastností použitých analyzátorů je jejich nestabilita, obecně označovaná jako „posun nuly s časem“, v menší míře lze pozorovat i jistou lineární deformaci údajů přístrojů s časem. S tímto problémem jsme se vypořádali takto: Vždy na začátku a na konci měření, nejméně jednou za 24 hodiny byly analyzátory změřeny kalibrační plyn a atmosférický vzduch. Lineární interpolací v uvedeném časovém intervalu pak byly získány kalibrační údaje pro každou hodinu. Z těchto dvou kalibračních údajů byly z rovnic [2, 3] vypočteny konstanty  $a_0, a_1, b_0, b_1$ . O ostatních konstantách ( $a_2, b_2, b_3$ ), které představují nelinearitu přístrojů bylo předpokládáno, že se s časem nemění a jsou konstantní. Tímto způsobem byly pro každou hodinu vypočteny nové kalibrační rovnice přístrojů [2, 3].

**Zjištění střední koncentrace plynů v bilančním období.** Jelikož množství proteklého vzduchu bylo měřeno vždy pro celý bilanční interval, bylo třeba vypočítat střední integrální koncentraci v tomto časovém intervalu. Vlastní křivka záznamu byla rozdělena na přibližně lineární úseky a na těchto úsecích byla nahrazena přímkou. K výpočtům koncentrací a k integraci byla použita tato náhradní závislost. Integrace byla provedena numericky lichoběžníkovou metodou [4], integrační krok byl 0,01 hodiny.

**Výpočet spotřeby  $O_2$  a tvorby  $CO_2$  v bilančním období.** Množství vzduchu prošlého fermentorem (měřeno na vstupu) a střední koncentrace plynů (měřeno na výstupu) sloužily za základ pro výpočet množství kyslíku ve fermentoru pohlceného a  $CO_2$  vytvořeného. Při odvození výpočetních vztahů jsme vycházeli z těchto předpokladů:

1. plyny se řídí stavovou rovnicí ideálního plynu,
2. dusík a vzácné plyny procházejí fermentorem beze změny,

3. plyny rozpuštěné ve fermentační kapalině lze z hlediska látkové bilance zanedbat (tj. při výpočtech stačí bilancovat pouze plynné proudy),

4. složení suchého vzduchu je: 20,87 % obj.  $O_2$ , 79,10 %  $N_2$  a vzácné plyny a 0,03 %  $CO_2$  [podle Elswortha [5]],

5. analyzátory analyzují vzduch suchý (plyny procházejí před vstupem do analyzátorů sušicí kolonou).

Za těchto předpokladů lze pro počet molů  $O_2$  ve fermentoru pohlcených ( $MO_2$ ) a počet molů  $CO_2$  uvolněných ( $MCO_2$ ) odvodit vztahy:

$$MO_2 = \frac{(P - p_1 \varphi) V}{100 RT} \left[ 20,87 - \% O_2 \frac{79,10}{100 - \% O_2 - \% CO_2} \right] \quad (4)$$

$$MCO_2 = \frac{(P - p_1 \varphi) V}{100 RT} \left[ \% CO_2 \frac{79,10}{100 - \% O_2 - \% CO_2} - 0,03 \right] \quad (5)$$

kde  $P$  je tlak vzduchu na vstupu do fermentoru,

$T$  — absolutní teplota vzduchu na vstupu do fermentoru,

$p_1$  — tenze páry vody při teplotě  $T$ ,

$\varphi$  — relativní vlhkost vzduchu na vstupu do fermentoru,

$V$  — objem vzduchu měřený na vstupu do fermentoru,

$R$  — univerzální plynová konstanta.

Z měřených údajů o koncentraci byl také počítán respirační kvocient  $RQ$  definovaný vztahem [6]:

$$RQ = \frac{MCO_2}{MO_2} = \frac{\% CO_2 \cdot 79,10 / (100 - \% O_2 - \% CO_2) - 0,03}{20,87 - \% O_2 \cdot 79,10 / (100 - \% O_2 - \% CO_2)} \quad (6)$$

Tato metoda zpracování údajů analyzátorů by byla při ručním provádění značně časově náročná, a proto byl při výpočtech využit samočinný počítač. Záznam registračního přístroje byl nahrazen lomenou čarou, ta byla spolu s ostatními údaji načtena ve formě dat do počítače. Vlastní výpočty byly prováděny na samočinném počítači TESLA 200. Výpočet látkové bilance 24hodinového měření (6 bilančních úseků) trval přibližně 30 s.

### Výsledky a diskuse

Uvedená metoda látkového bilancování plynů je vhodná pro dlouhodobá měření, při nichž se mění koncentrace plynů s časem a současně se požaduje co největší přesnost. Přesnost takto získaných údajů o látkové bilanci závisí na řadě faktorů, z nichž nejdůležitější jsou: chyba přístrojů, chyba v koncentraci kalibračních plynů, chyba v aproximaci nelinearity přístrojů rovnicemi [2, 3], chyba v kalibraci přístrojů, chyba způsobená měřením a kolísáním průtoku vzduchu. Aby byly tyto chyby minimální, je třeba, aby změny koncentrací plynů po průchodu fermentorem byly co největší.

Celkovou přesnost metody lze ilustrovat na těchto údajích. U 11 kontinuálních kultivací byly měřeny spotřeby etanolu a kyslíku a tvorba biomasy, kyseliny octové a  $CO_2$ . Z těchto hodnot byly vypočteny veličiny charakterizující přesnost uzavření látkové bilance. Byly to:

1. shoda bilance uhlíku — součet množství uhlíku biomasy, kyseliny octové a  $CO_2$  vztažený na uhlík utilizovaného etanolu v %,
2. shoda bilance kyslíku — množství kyslíku teoretic-



ky potřebné na vznik naměřených množství biomasy, kyseliny octové a  $\text{CO}_2$  z etanolu vztažené na spotřebu  $\text{O}_2$  naměřenou v %.

Pro 11 kultivací byla zjištěna průměrná shoda bilance uhlíku 99,2 %, se směrodatnou odchylkou 4,3 %, shoda bilance kyslíku 102,9 % se směrodatnou odchylkou 8 %. Přitom odchylky těchto hodnot od 100 % nebyly způsobeny pouze bilancí plynů. Při dostatečně velkých změnách koncentrací plynů po průchodu fermentorem (3 %  $\text{CO}_2$  a 6 %  $\text{O}_2$ ) lze při měření spotřeby kyslíku a tvorby kysličníku uhličitého dosáhnout při použití výše uvedeného experimentálního uspořádání přesnost lepší než 5 % z měřené hodnoty.

#### Literatura

- [1] JUNKALOR DESSAU, GR ZPA Praha - firemní literatura
- [2] RUT, M. et al.: Výzkum výroby kvasnic ze syntetického etanolu. Výzkumná zpráva VÚKPS, Praha 1975
- [3] MADRON, F.: Matematické modelování a optimalizace výroby krmných kvasnic z etanolu. Kandidátská disertační práce. VÚAnCH Ústí n. L. 1975
- [4] KUBÍČEK, M. - HLAVÁČEK, V.: Numerické metody a optimalizace v chemickém inženýrství I., SNTL Praha 1973, s. 52.
- [5] ELSWORTH, R.: Methods in Microbiology. Academic Press, London, N. Y., 1970, Vol 2, s. 213.

**Rut, M. - Madron, F.: Využití automatických analyzátorů plynů ve fermentačním průmyslu a výzkumu.** Kvas. prům. 22, 1976, č. 4, s. 84—87.

Práce se zabývá problémy aplikace automatických analyzátorů plynů při sledování a řízení fermentačních pochodů. V první části práce jsou probírány metody měření a typy vyráběných analyzátorů použitelných při analýze fermentačních plynů. V další části je uveden příklad využití automatických analyzátorů při látkovém bilancování výroby kvasinek ze syntetického etanolu.

**Рут, М. — Мадрон, Ф.: Применение автоматических анализаторов газов на заводах броидильной промышленности и в исследовательских институтах Квас. прум. 22, 1976, № 4, стр. 84—87.**

В статье рассматривается проблематика применения автоматических анализаторов газов для контроля хода брожения и управления им. Авторы объясняют принципы анализа состава газов и описывают разные типы анализаторов, применимых для определения состава газов, выделяемых в ходе процесса ферментации. В качестве примера показано применение автоматических анализаторов для контроля правильного соотношения разных составляющих при производстве одноклетчатых белковых веществ из синтетического этанола.

**Rut, M. — Madron, F.: Application of Automatic Gas Analyzers in Fermentation Industry and Research Institutes.** Kvas. prům. 22, 1976, No. 4, pp. 84—87.

The article deals with the application of automatic gas analyzers in fermentation industry and research institutes for controlling fermentation processes. The authors outline the measuring principles and describe several available types which can be used to control gases escaping during fermentation processes. An example shows, how an analyzer can help to control the mass balance in plants producing single cell proteins from synthetic ethanol.

**Rut, M. — Madron, F.: Anwendung der automatischen Gasanalysatoren in der Gärungsindustrie und Forschung.** Kvas. prům. 22, 1976, No. 4, S. 84—87.

Die Arbeit befaßt sich mit den Problemen der Applikation der automatischen Gasanalysatoren bei der Verfolgung und Regulation der Fermentationsprozesse. In dem ersten Teil werden die Meßverfahren und die Typen der erzeugten Analysatoren beschrieben, die bei der Analyse der Fermentationsgase anwendbar sind. In dem zweiten Abschnitt der Arbeit wird ein Beispiel der Applikation der automatischen Analysatoren bei der Stoffbilanz der Produktion von Einzellen-Eiweißstoffen aus synthetischem Äthanol angeführt.