

# Specifická spotřeba kyslíku a respirační kvocient při výrobě kvasničných bílkovin z etanolu

## I. Teoretická část

663.14:547.262  
546.21

Ing. FRANTIŠEK MADRON, Chemopetrol, Výzkumný ústav anorganické chemie, Ústí n. L. - Ing. MIROSLAV RUT - Ing. FRANTIŠEK ŠTROS, CSc., Výzkumný ústav krmivářského průmyslu a služeb, oddělení mikrobiálních výrob, Praha

Do redakce došlo 23. dubna 1976

### Úvod

Důležitými veličinami charakterizujícími proces aerobní syntézy biomasy jsou specifická spotřeba kyslíku (1 g kyslíku spotřebovaný na vznik 1 g biomasy) a respirační kvocient (moly kyslíčnicku uhličitého / vzniklé moly kyslíku spotřebované).

Specifická spotřeba kyslíku (dále  $Y_{O/X}$ ) je jedním z nejdůležitějších faktorů ovlivňujících ekonomii výroby jednobuněčných bílkovin [1]. Při zadané kapacitě výroby určuje požadavky na rychlost přestupu kyslíku a aeraci fermentační části výroby. Kromě toho je jí přímo úměrné fermentační teplo [2], které se musí odvést chlazením. Při výrobě krmných kvasnic z etanolu představují náklady přímo úměrné  $Y_{O/X}$  (fermentace, aerace a chlazení) přibližně 45 % z investičních nákladů a stejnou část nákladů na energie [3]. Informace o specifické spotřebě kyslíku mají za těchto okolností klíčový význam při projekci výroby jednobuněčných bílkovin.

Respirační kvocient (dále RQ) je cenným ukazatelem účinnosti přeměny substrátu na produkty fermentace. Vzhledem k tomu, že tuto veličinu lze snadno automaticky zjišťovat (analýzátory plynů opouštějících fermentor) [4], předpokládá se, že bude mít významný vliv při nepřetržité kontrole fermentačních pochodů.

Cílem této práce je uvést naše zkušenosti z teoretického i praktického studia tohoto okruhu problémů při syntéze kvasničné biomasy z etanolu.

### I. Teoretická část

Specifická spotřeba kyslíku a respirační kvocient závisí na složení substrátu a biomasy, výtěžnosti a tvorbě případných vedlejších produktů fermentace. Pro odvození teoretických vztahů mezi  $Y_{O/X}$  a RQ na jedné straně a ostatních veličin na straně druhé, je třeba formulovat pokud možno nejpřesněji výchozí látky a produkty fermentace. Úvodem je třeba poznamenat, že termín „látky“ bude dále používán v poněkud širším významu, než je v chemii běžné. Nepůjde zde o hmotu skládající se z molekul stejného druhu. Pro naše účely definujeme látku poněkud širěji jako hmotu, jejíž elementární složení lze za jistých, předem stanovených okolností považovat za konstantní. Proces, při kterém v mikroorganismech vzniká z jednoduchých látek složi-

tá organická hmota, je neobyčejně složitý a naději na úspěch má pouze takový přístup, kterému se podaří podstatně snížit počet v problému se vyskytujícími proměnnými i za cenu jistých nepřesností a nedůsledností.

*Výchozí látky.* Uvažovaný proces vychází z jediného zdroje uhlíku — etanolu. Dále jsou k růstu mikroorganismů nezbytné anorganické živiny — kyslík, dusík (ve formě  $NH_3$ ) a živné soli. Živné soli představují souhrn anorganických solí nezbytných k růstu mikroorganismů. Počet chemických prvků nezbytných k růstu jde včetně stopových prvků do desítek a zabývat se složkami živných solí jednotlivě by zřejmě pro naše potřeby nebylo účelné.

*Produkty fermentace* jsou anorganické a organické. Z anorganických jde o produkty oxidativního metabolismu — kysličník uhličitý a vodu. Organické produkty jsou hlavní, tj. biomasa, a vedlejší produkty fermentace. Zabývejme se nejdříve biomasou. V tomto případě jde o látku s proměnným elementárním složením. Elementární složení biomasy závisí na řadě faktorů (druh mikroorganismu, substrát a podmínky kultivace jsou nejdůležitější). Pokud pracujeme s kontinuální kultivací na médiu konstantního složení, je nejdůležitější proměnnou ovlivňující složení biomasy zředovací rychlost (resp. jí odpovídající specifická růstová rychlost). Z publikovaných výsledků závislosti složení biomasy na zředovací rychlosti jsou pro nás nejcennější výsledky práce Mora a Fiechterova [5], kteří kontinuálně kultivovali *S. cerevisiae* na etanolu. Z podrobného statistického rozboru jejich výsledků, který jsme provedli v předchozí práci [6], vyplynuly tyto závěry:

1. mezi obsahem dusíku a zředovací rychlostí existuje výrazná lineární závislost,
2. u obsahu C, H a P v kvasinkách nebyla prokázána závislost na zředovací rychlosti,
3. změny obsahu dusíku v kvasinkách jsou kompenzovány ponejvíce změnami v obsahu kyslíku.

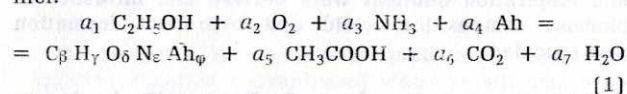
Ještě je třeba se zmínit o vyjádření elementárního složení biomasy. Předpokládejme biomasu o složení C % uhlíku, H % vodíku, O % kyslíku, N % dusíku a Ash % minerálních látek stanovených jako popel. Vydělením těchto veličin atomovými hmotnostmi jednotlivých prvků (u popela počítejme s atomovou hmotností 1) získáme



postupně veličiny  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\varepsilon$ ,  $\varphi$ . Složení biomasy lze potom vyjádřit sumárním vzorcem  $C_\beta H_\gamma O_\delta N_\varepsilon Ah_\varphi$ , kde Ah je fiktivní prvek o jednotkové atomové hmotě představující anorganickou část biomasy (ash). Lze se přesvědčit, že takto zapsaná biomasa má „molekulovou hmotnost“ 100.

Kromě vlastní aktivní biomasy se v problému vyskytuje další složitá organická hmota — části mrtvých buněk, aminokyseliny, nukleotidy apod. O této složce, která z valné části vzniká rozpadem buněk, lze přijmout předpoklad, že má stejné elementární složení jako biomasa. Proti tomuto předpokladu je sice možno vznést námitky, tyto látky však vznikají v našem případě pouze v malém množství a tímto předpokladem vnesená chyba do celkové bilance je malá. V ostatních vedlejších produktech fermentace, bylo zjištěno, že v podstatném množství vzniká pouze kyselina octová [10].

**Teoretické stechiometrické vztahy.** Mezi výše uvedeními látkami lze napsat úhrnnou stechiometrickou rovnici:



Mezi stechiometrickými koeficienty  $a_1 - a_7$  lze napsat pět bilancí prvků [C, H, O, N, Ah], takže lze volit pouze dva stechiometrické koeficienty, popřípadě jejich kombinace. Jestliže budeme považovat za nezávisle proměnné výtěžnost  $Y$  [100/g etanolu spotřebované na 1 g biomasy] a specifickou tvorbu kyseliny octové  $STAc$  [g kyseliny octové vzniklé na g vzniklé biomasy], lze v závislosti na těchto veličinách vyjádřit  $Y_{O/X}$  a  $RQ$  vztahy

$$Y_{O/X} = 0,32 / \omega - 1,5 \beta - 3,33 STAc + \frac{652}{Y} \quad (2)$$

$$RQ = \frac{435}{Y} - \beta - 0,33 STAc$$

$$\omega - 1,5 \beta - 3,33 STAc + \frac{652}{Y} \quad (3)$$

$$\text{kde } \omega = \frac{2\beta - \gamma + 2\delta + 3\varepsilon}{4}$$

Tabulka 1. Vliv výtěžnosti na specifickou spotřebu kyslíku při různé tvorbě kyseliny octové

Výtěžnost [%]	Specifická tvorba kys. octové [g/g biomasy]					
	0,00	0,01	0,05	0,10	0,50	1,00
40	3,90	3,88	3,84	3,79	3,36	2,83
45	3,32	3,31	3,26	3,21	2,78	2,25
50	2,85	2,84	2,80	2,75	2,32	1,75
55	2,47	2,46	2,42	2,37	1,94	1,41
60	2,16	2,15	2,10	2,05	1,62	1,09
65	1,89	1,88	1,84	1,78	1,36	0,82
70	1,66	1,65	1,61	1,55	1,13	0,59
75	1,46	1,45	1,41	1,35	0,93	0,39
80	1,29	1,2	1,23	1,18	0,75	0,22
85	1,13	1,12	1,08	1,03	0,60	0,07
90	1,00	0,99	0,94	0,89	0,46	

Odvození těchto vztahů je možno nalézt v předchozí práci [3]. Hodnoty  $Y_{O/X}$  a  $RQ$  jsou pro oblast  $Y$  a  $STAc$ , která přichází v úvahu, tabelovány v tabulkách 1 a 2. Složení biomasy bylo uvažováno stejné, jako v práci [6], tj. 46 % C, 7 % H, 31 % O, 9 % N, 7 % Ah. Teoretické vztahy obdobné rovnicím 2 a 3 byly předmětem zájmu v řadě prací [7–9], v praxi se však dosud posuzují s rezervou. Zabýváme se nyní otázkou, jaké jsou hranice platnosti těchto vztahů.

O platnosti základního principu, z něhož odvození těchto vztahů vychází, tj. zákona o zachování chemické

Tabulka 2. Vliv výtěžnosti na respirační kvocient při různé tvorbě kyseliny octové

Výtěžnost [%]	Specifická tvorba kys. octové [g/g biomasy]					
	0,00	0,01	0,05	0,10	0,50	1,00
40	0,58	0,58	0,57	0,57	0,51	0,42
45	0,56	0,56	0,56	0,55	0,48	0,36
50	0,55	0,54	0,54	0,53	0,44	0,27
55	0,53	0,53	0,53	0,51	0,40	0,17
60	0,51	0,50	0,49	0,48	0,34	0,02
65	0,48	0,48	0,47	0,45	0,28	
70	0,46	0,46	0,44	0,42	0,20	
75	0,43	0,43	0,41	0,39	0,10	
80	0,40	0,39	0,37	0,34		
85	0,36	0,36	0,33	0,30		
90	0,32	0,31	0,28	0,24		

Tabulka 3. Závislost specifické spotřeby kyslíku a výtěžnosti na složení biomasy

Složení biomasy [%]					$Y_{O/X}$ g/g při $Y = 70\%$	Odech.	Odech. rel.
C	H	O	N	Ah			
46	7	31	9	7	1,66	—	—
48	7	29	9	7	1,59	— 0,07	— 3,7
44	7	33	9	7	1,73	+ 0,07	+ 3,7
46	7	33	7	7	1,74	— 0,02	— 1,1
46	7	29	11	7	1,67	+ 0,01	+ 0,5
46	8	30	9	7	1,57	— 0,09	— 4,7
46	6	32	9	7	1,75	+ 0,09	+ 4,7

kých prvků během reakce, by v tomto případě zřejmě nebylo účelné pochybovat. Hledíme tedy možné zdroje chyb v předpokladech, ze kterých odvození vychází. Nejdříve sledujeme vliv možné chyby v elementárním složení biomasy. V tab. 3 jsou uvedeny závislosti  $Y_{O/X}$  na výtěžnosti ( $STAc = 0$ ) vypočítané jednak pro biomasu „průměrného složení“ [6] (první řádek v tabulce), jednak pro biomasu se složením odlišným — je měněn obsah C a N vždy o  $\pm 2\%$  a H o  $\pm 1\%$ , obsah kyslíku je přitom vždy upraven do 100 % [měněné hodnoty jsou označeny podtržením]. Ve sloupci „odch.“ je absolutní hodnota odchylky  $Y_{O/X}$  vypočítaná pro biomasu středního složení a biomasu se složením změněným. Ve sloupci „odch. rel.“ je uvedena tato odchylka v % z  $Y_{O/X}$  pro výtěžnost 70 % a biomasu středního složení. Z tabulky je vidět, že vliv elementárního složení není v intervalu pravděpodobných změn ve složení příliš výrazný a takto vzniklá chyba je srovnatelná s chybou spojenou s přímým měřením spotřebovaného kyslíku [4]. Zvláště významné je zjištění, že teoretická  $Y_{O/X}$  je málo citlivá na změny obsahu dusíku, které bývají nejvýznamnější. Tento fakt má příčinu v podobném postavení, jaké oba prvky (dusík a kyslík) v biomase mají (prvky s nejvyšší elektronegativitou).

Dalším zdrojem chyb je nepřesné stanovení výtěžnosti. Závislost  $Y_{O/X}$  na výtěžnosti je značná, strmá. Z tabulky 1 například vyplývá, že snížení výtěžnosti o 5 % ze 70 % na 65 % znamená zvýšení spotřeby kyslíku o 0,27 g/g, tj. o 14 %.

Naposledy zkoumejme chybu, které se dopustíme, jestliže neuvažujeme všechny stechiometricky významné látky a produkty. Tento příklad lze ovšem těžko posuzovat obecně, možná chyba závisí jednak na množství nebilancované látky, jednak na jejím složení. Pouze pro ilustraci: při  $Y = 70\%$  je pro tvorbu čisté biomasy  $Y_{O/X} = 1,66$  g/g. Pokud by se současně hromadila kyselina octová v množství 0,1 g/g biomasy, skutečná specifická spotřeba kyslíku bude 1,55 g/g. Jako jedinou spolehlivou metodu k objevení tohoto druhu chyb je možno doporučit sestavení úplné bilance uhlíku. Případný uhlíkový deficit může být známkou ignorování některého stechiometricky významného produktu fermentace. Totéž platí i pro případ chybného určení výtěžnosti.



K podobným závěrům by bylo možno dospět i u respiračního kvocientu. V praxi působí ovšem všechny tyto vlivy současně a je obtížné předem posoudit věrohodnost hodnot získaných za použití teoretických vztahů. V další práci budou uvedeny výsledky konfrontace teoretických stechiometrických vztahů s hodnotami zjištěnými experimentálně.

#### Literatura

- [1] MATELES, R. I.; TANNENBAUM, S. R.: *Econ. Botany*, 22, 1968 s. 42
- [2] COONEY, C. L. aj.: *Biotechnol. Bioeng.*, 11, 1969 s. 269
- [3] MADRON, F.: *Kand. dis. práce, VÚAnCH Ústí n. L.* 1975
- [4] RUT, M.; MADRON, F.: *Kvasný průmysl* 22, 1976, č. s.
- [5] MOR, J. R.; Fiechter, A.: *Biotechnol. Bioeng.*, 10, 159 (1968)
- [6] RUT, M. aj.: *Výzk. zpráva VÚKPS Praha V. Ú. C-11-329-011*, 1975
- [7] GUENTHER, K. R.: *Biotechnol. Bioeng.*, 7, 1965 s. 445
- [8] MATELES, R. I.: *Biotechnol. Bioeng.*, 13, 1971 s. 581
- [9] MINKEVIČ, I. G.; Erošin, V. K.: *Fol. Microbiol.*, 18, 1973 s. 376
- [10] RUT, M. aj.: *Kvasný průmysl* 22, 1976 č. s.

**Madron, F. - Rut, M. - Štros, F.: Specifická spotřeba kyslíku a respirační kvocient při výrobě kvasničných bílkovin z etanolu. I. teoretická část.** *Kvas. prům.* 22, 1976, č. 9, s. 202—204.

Diskuse významu specifické spotřeby kyslíku a respiračního kvocientu při aerobní syntéze kvasničné hmoty z etanolu. Na základě látkové bilance vzniku biomasy jsou odvozeny teoretické vztahy pro specifickou spotřebu kyslíku a respirační kvocient. Je zkoumán vliv složení biomasy, výtěžnosti a vedlejšího produktu fermentace na odvozené teoretické vztahy.

**Мадрон, Ф. — Рут, М. — Штрос, Ф.: Удельное потребление кислорода и дыхательный коэффициент, характеризующие производство дрожжевых белковых веществ из этанола. I-ая часть. Теория.** *Квас. прум.*, 22, 1976, № 9, стр. 202—204.

В статье рассматривается значение удельного потребления кислорода и дыхательного коэффициента, какое они имеют в процессе аэробного синтеза дрожжевой массы из этанола. Из вещественного баланса образования биологической массы выведены теоретические формулы для расчета удельного потребления кислорода и дыхательного коэффициента. Рассматривается влияние состава биологической массы, выхода главного и побочных продуктов ферментации на теоретическое величины.

**Madron, F. - Rut, M. - Štros, F.: Specific Oxygen Consumption and Respiration Quotient in Manufacturing Processes of Yeast Proteins Made from Ethanol. Part I. Theory.** *Kvas. prům.* 22, 1976, No. 9, pp. 202—204.

Importance of specific consumption of oxygen and respiration quotient for synthesis of yeast biomass from ethanol is discussed. On basis of mass balance theoretical formulas for specific consumption of oxygen and respiration quotient were derived and influence of biomass composition, yield and byproduct formation was studied.

**Madron, F. - Rut, M. - Štros, F.: Der spezifische Sauerstoffverbrauch und Respirationsquotient bei der Produktion von Hefeiweiß aus Äthanol. I. Theoretischer Teil.** *Kvas. prům.* 22, 1976, No. 9, S. 202—204.

In dem Artikel wird die Bedeutung des spezifischen Sauerstoffverbrauchs und des Respirationsquotienten bei der aeroben Synthese der Hefemassee aus Äthanol diskutiert. Aus der Stoffbilanz der Biomassebildung wurden die theoretischen Beziehungen für den spezifischen Sauerstoffverbrauch und den Respirationsquotienten deduziert. Es wurde der Einfluß der Zusammensetzung der Biomasse, der Ausbeute und des Nebenproduktes der Fermentation auf die formulierten theoretischen Beziehungen studiert.