Vliv viskozity a povrchově aktivních látek na přenos kyslíku v poloprovozním fermentoru

663.131

Ing. JAN PÁCA, CSc., VŠCHT — katedra kvasné chemie a technologie, Praha,
Ing. PETR ETTLER, VÚAB, Roztoky u Prahy,
Prof. Ing. Dr. VRATISLAV GRÉGR, DrSc., VŠCHT — katedra kvasné chemie a technologie, Praha

Úvod

V předcházející práci [1] byl uveden stručný přehled problematiky pěnění a odpěňování včetně výsledků získaných v laboratorním zařízení. Vzhledem k ceně a dostupnosti surovin se v provozních podmínkách používají jako zdroje uhlíku, dusíku a ostatních živin co nejlevnější suroviny jako např. sojová mouka, škrob, sádlo, vyšší alkoholy atd., které ovlivňují jak rheologické vlastnosti, tak i povrchové napětí živného média. Proto byla tato studie zaměřena na sledování vlivu viskozity a obsahu povrchově aktivních látek na rychlost absorpce kyslíku z plynné do kapalné fáze nejen v simulačních, ale i ve skutečných kultivačních půdách.

Materiály a metody

Pokusy se konaly v poloprovozním fermentoru Chemap 300 l, v pracovním objemu 170 l. Pro míchání se použilo tří otevřených turbínových míchadel. Geometrické uspořádání míchacího a aeračního systému včetně umístění měřicích čidel bylo již publikováno [2].

Rychlost přenosu kyslíku se měřila statickou metodou [3]. Změny koncentrace rozpuštěného kyslíku se snímaly kyslíkovou elektrodou Pt-Ag/AgO, krytou membránou Silastic (Sensorlabs, Div. Instr. Lab. Inc., Laxington, Mass.). Elektroda byla připojena na zapisovač MAW typ BT 1N.

Objemový koeficient přenosu kyslíku se určoval z integrovaného tvaru bilanční rovnice ve tvaru

$$\ln \frac{C^*}{C^* - C_L} = K_L a \,.\, t$$

Postup měření je popsán v předchozí práci [2]. Touto metodou byl zajišťován koeficient $K_L a$ jak v simulačních médiích, tak i v inokulační a produkční půdě.

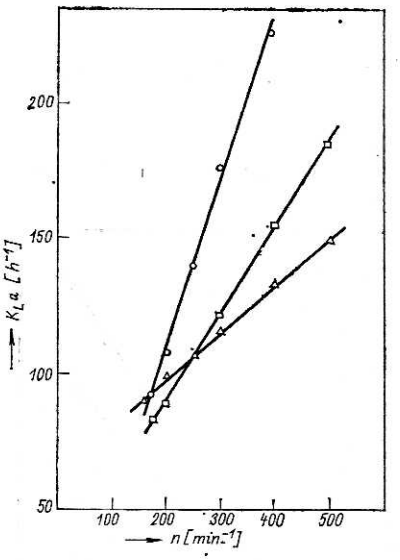
Pokusy se prováděly ve vodě a v koloidních roztocích škrobu s přídavky kašelotového oleje a ve skutečné inokulační a produkční půdě používané pro výrobu erythromycinu. Simulační média byla zpracována stejným technologickým postupem jako živné médium pro výrobu erythromycinu. Zdánlivé viskozity simulačních médií a množství přidávaného kašelotového oleje odpovídaly podmínkám kultivace po inokulaci a na začátku produkční fáze. Rheologické charakteristiky použitých médií byly zjištěny z reogramů získaných měřením na rotačním viskozimetru Rheomat 30 (Contraves, Švýcarsko) v systému válec—válec v objemu 100 ml.

Povrchové napětí bylo měřeno metodou podle *Du Noüy* [4, 5].

Obsah tuků v médiu byl stanoven zjednodušenou trojnásobnou extrakcí etherem s následným odpařením do konstantní váhy.

Výsledky a diskuse

Simulační média. V této části práce byl sledován vliv množství povrchově aktivní látky (kašelotového oleje) na změny hodnoty rychlosti přenosu kyslíku v systému voda—vzduch *(obr. 1)*. Rychlost přenosu kyslíku charakterizovaná objemovým koeficientem přenosu kyslíku $K_L a$ byla sledována v závislosti na frekvenci otáčení míchadel při aeraci $Vg = 0{,}88$ VVM. Z výsledků je zřejmé, že s růstem obsahu kašelotového oleje zřetelně klesá hodnota $K_L a$. Naopak bylo zjištěno, že použité koncentrace kašelotového oleje neovlivňují hodnotu saturační koncentrace rozpuštěného kyslíku.

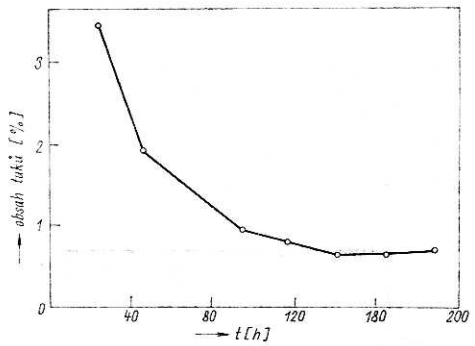


Obr. 1. Vliv přídavků kašelotového oleje na rychlost přenosu kyslíku v systému voda—vzduch.
○ ... bez oleje, □ ... 1 % oleje, △ ... 4 % oleje

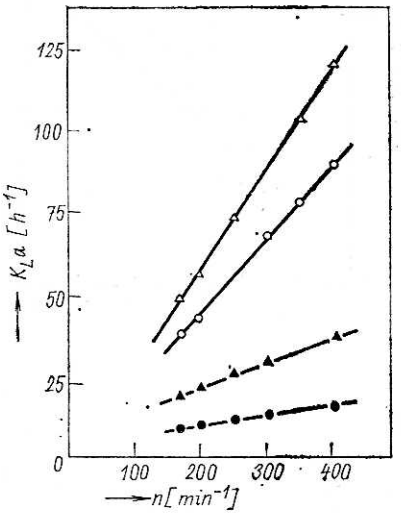
Za podmínek malé intenzity míchání ($n < 200\ min^{-1}$), kdy se zřejmě kašelotový olej dostatečně neemulguje, jeho obsah se na rychlosti přenosu kyslíku příliš neprojevuje. Teprve při intenzívním míchání se hodnoty $K_L a$ značně liší. Ze strmosti průběhů lze usuzovat, že vliv přídavku povrchově aktivní látky na pokles koeficientu $K_L a$ je mnohem výraznější v oblasti malých přídavků. S dalším přidáváním kašelotového oleje sice klesá $K_L a$, avšak již pomaleji. Tyto výsledky souhlasí s uvedeným působením protipěnidla Struktol OSH [1]. Na růst koeficientu $K_L a$ má podstatně větší vliv frekvence otáčení míchadel než intenzita aerace.

Druhá série pokusů probíhala v médiích odpovídajících zdánlivou viskozitou a obsahem kašelotového oleje vlastnostem živné půdy pro biosyntézu erythromycinu na počátku kultivace a v období maximálního nárůstu mycelu. Volba uvedených podmínek souvisí s tím, že znalost dostatečné dodávky kyslíku při nárůstu inokula může zkracovat doby nutné pro pomnožení mikroorganismů. V období maximálního nárůstu mycelu lze předpokládat dosažení limitace kyslíkem, která se pravděpodobně projeví v produkci antibiotika. Z uvedeného vyplývá, že provedená studie měla ověřit působení parametrů, které mohou v procesu výroby do značné míry ovlivnit zvýšení produkce a popř. zkrátit dobu procesu, tzn. parametry ovlivňující efektivnost výroby.

Zdánlivá viskozita byla simulována koloidními roztoky škrobu, zpracovaného stejným technologickým postupem jako ve skutečném živném médiu. Z hlediska rheologických vlastností vykazovala použitá simulační média pseudoplastické chování (2). Obsah kašelotového oleje byl volen podle průběhu úbytku při výrobě erythromycinu *(obr. 2)*, při níž plní nejen funkci odpěňovadla, ale částečného zdroje uhlíku.

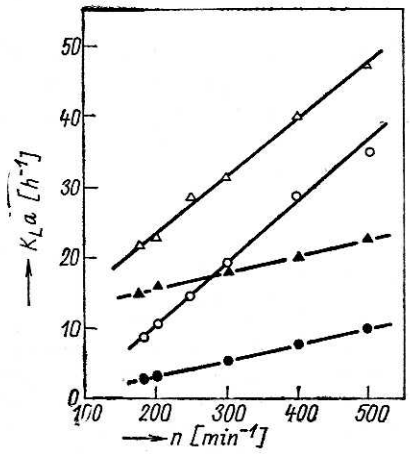


Obr. 2. Průběh úbytků kašelotového oleje disimilovaného kulturou Streptomyces erythreus.



Obr. 3. Vliv přídavku kašelotového oleje na rychlost přenosu kyslíku v simulačním médiu s μ_a = 0,02 Pa . s.
○... V_g = 0,44 VVM bez oleje, ● ... V_g = 0,44 VVM se 4% oleje, △ ... V_g = 0,88 VVM bez oleje, ▲... V_g = 0,88 VVM se 4 % oleje.

Na *obr. 3* jsou uvedeny výsledky vlivu přítomnosti povrchově aktivní látky (kašelotového oleje) na rychlost přenosu kyslíku při zdánlivé viskozitě odpovídající podmínkám média po inokulaci. Rychlost přenosu kyslíku byla sledována v závislosti na frekvenci otáčení míchadel při dvou různých intenzitách aerace. Z výsledků je patrné, že přídavek povrchově aktivní látky způsobuje pokles koeficientu K_La o 50 až 70 %. Povrchové napětí v médiu bez oleje bylo 48,4 N/m², kdežto po přídavku 4 % kašelotového oleje pokleslo na hodnotu 29,5 N/m². Z toho plyne, že uvedený přídavek kašelotového oleje snížil povrchové napětí prakticky na polovinu. Z porovnání průběhů K_L a stanovených bez přídavku a s přídavkem povrchově aktivní látky lze říci, že v médiu bez přídavku kašelotového oleje má na vzrůst hodnoty koeficientu K_La větší vliv frekvence otáčení míchadel než zvýšení aerace. V přítomnosti kašelotového oleje je tomu naopak.



Obr. 4. Vliv přídavku kašelotového oleje na rychlost přenosu kyslíku v simulačním médiu s μ_a = 0,05 Pa . s.
○... V_g = 0,44 VVM bez oleje, ● ... V_g = 0,44 VVM s 1,5 % oleje, △ ... V_g = 0,88 VVM bez oleje, ▲... V_g = 0,88 VVM s 1,5 % oleje.

S růstem viskozity kapalné fáze, přestože obsah povrchově aktivní látky v médiu byl nižší, koeficient K_La celkově poklesl *(obr. 4)*. Hodnota viskozity a obsah kašelotového oleje odpovídal u této série pokusů podmínkám v období maximálního nárůstu mycelu. Značný pokles rychlosti přenosu kyslíku byl za těchto podmínek ovlivněn hlavně viskozitou, která výrazně snižuje turbulenci s rostoucí vzdáleností od míchadla, takže lze předpokládat vytváření výrazně odlišných zón míchání. I za těchto podmínek vyšší viskozity však přítomnost povrchově aktivní látky způsobovala pokles koeficientu K_La asi o 50 %. Změna K_L a vlivem povrchově aktivní látky je totiž ovlivněna nejen vzrůstem odporu přídavnou vrstvou na mezifázovém rozhraní kapalina—plyn při přenosu hmoty, ale také změnami hydrodynamických podmínek souvisejících s rychlostí proudění v okolí bublin a tvorbou vírů v blízkosti mezifázového rozhraní. Lze předpokládat, že za přítomnosti kašelotového oleje v médiu se tato rychlost snižuje a tvorba vírů tlumí. Přídavky většího množství kašelotového oleje ovlivňují i hodnotu K_La tím, že veškerý olej není emulgován, nýbrž vytvoří izolační vrstvu na hladině kapalné fáze, která snižuje intenzitu aerace z hladiny, ke které dochází nad určitou hodnotou frekvence otáčení míchadel pro dané umístění míchadel [6].

Porovnávání vlivu viskozity a přídavku povrchově aktivní látky na hodnotu koeficientu K_La v simulačních médiích.

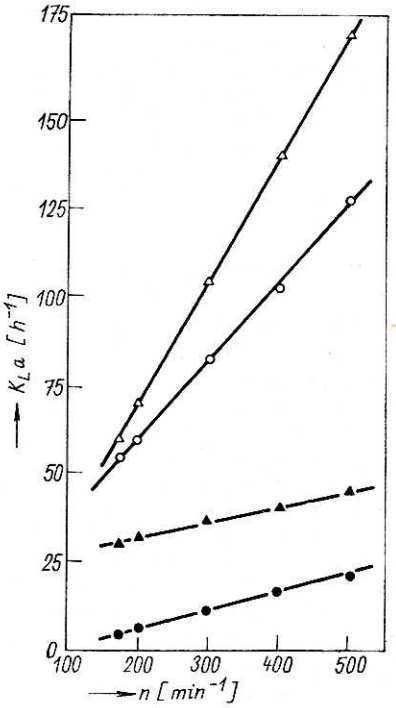
Na *obr. 5* je uvedeno porovnání výsledků zjištěných v systému voda—vzduch a v systému s maximální viskozitou s přídavkem 1,5 % kašelotového oleje.

1. Vliv přídavku povrchově aktivní látky v systému voda—vzduch

V rozsahu nízké intenzity míchání ($n < 200\ min^{-1}$) bylo zjištěno, že přídavek kašelotového oleje do koncentrace 4 % prakticky neovlivňuje rychlost přenosu kyslíku. Při vysoké intenzitě míchání ($n > 400\ min^{-1}$) způsobil přídavek 1,5 % kašelotového oleje pokles hodnoty K_La o 44 % a přídavek 4 % kašelotového oleje pokles o 48 %. Z uvedeného je zřejmé, že v systému voda—vzduch mají výrazný vliv na pokles hodnoty K_La již

malé přídavky povrchově aktivní látky. Jejich další přidávání již nezpůsobuje výrazný pokles koeficientu K_La.

2. Vliv přídavku povrchově aktivní látky na hodnoty K_La v nenewtonském systému



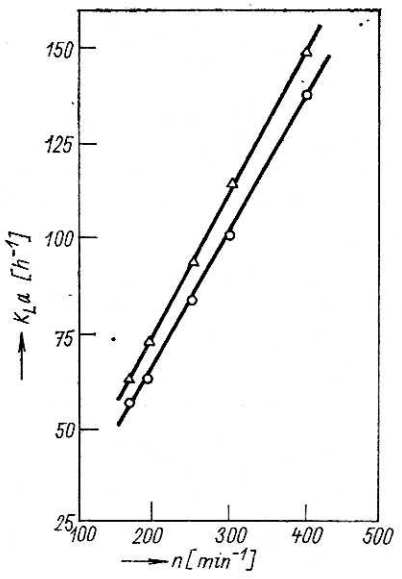
Obr. 5. Vliv viskozity na rychlost přenosu kyslíku v simulačním médiu obsahujícím 1,5 % kašelotového oleje. μ_a = 0,008 Pa . s.
○ ... V_g = 0,44 VVM, △ ... V_g = 0,88 VVM; μ_a = = 0,05 Pa . s, ● ... V_g = 0,44 VVM, ▲ ... V_g = = 0,88 VVM.

Z výsledků uvedených v *obr. 5* vyplývá, že v celém ověřovaném rozsahu frekvence otáčení míchadel snižuje přídavek 1,5 % kašelotového oleje rychlost přenosu kyslíku o 45 až 50 % a přídavek 4 % kašelotového oleje asi o 50 %. Z průběhu závislostí uvedených na *obr. 5* plyne, že v newtonském systému s nízkou viskozitou ovlivňuje hodnotu koeficientu K_La podstatně výrazněji změna frekvence otáčení míchadel než intenzita aerace. Naopak v nenewtonském systému (pseudoplastickém) má větší vliv na změnu K_La intenzita aerace.

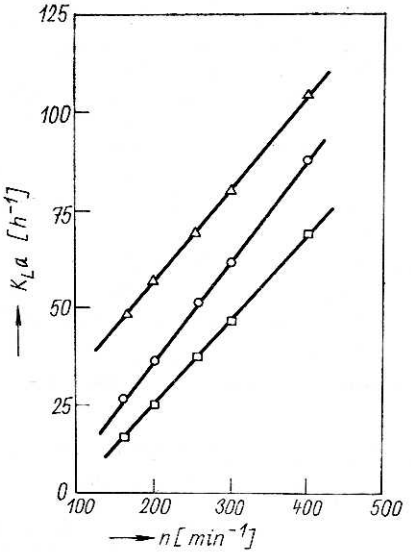
Inokulační a produkční půda

V této části pokusů byly sledovány změny hodnoty K_La přímo ve fermentačních médiích. *Obrázek 6* ukazuje změny koeficientu K_La v závislosti na frekvenci otáčení míchadel při různých intenzitách aerace v inokulační půdě používané pro výrobu erythromycinu. Je zřejmé, že zvyšovat hodnoty K_La je účelnější než zajišťovat větší aeraci zvýšením otáčení míchadel.

V porovnání se simulačním médiem *(obr. 3)* je patrné, že ve skutečné půdě jsou hodnoty K_La vyšší než v simulačním médiu obsahujícím 4 % kašelotového oleje. Také měření v produkční půdě pro fermentaci erythromycinu *(obr. 7)* prokázala, že rychlost přenosu kyslíku je zde vyšší než v simulovaných podmínkách. Skutečnost, že ve fermentačních půdách jsou hodnoty koeficientu K_La vyšší, je zřejmě způsobena přítomností ostatních složek živného média. Např. povrchové napětí u obou kultivačních médií bylo 56 N/m², což souhlasí s literárními údaji [7], tzn. prakticky dvojnásobné v porovnání se simulačním roztokem (29,5 N/m²). Vyšší hodnota K_La ve fermentační půdě však souvisí nejen s odlišnou hodnotou povrchového napětí, ale i s ostatními fyzikálně chemickými hodnotami. Kapalné parametry ovlivňují totiž velikost středního průměru bublin, plynové zádrže a koalescenci bublin, tedy veličiny bezprostředně ovlivňující hodnotu koeficientu K_La.



Obr. 6. Vliv intenzity míchání a intenzity aerace na rychlost přenosu kyslíku v inokulační půdě (σ = 26,9 N/m², 1,2 % kašelotového oleje).
△ ... V_g = 0,88 VVM, ○ ... V_g = 0,44 VVM, □ ... V_g = 0,23 VVM.



Obr. 7. Vliv intenzity míchání a intenzity aerace na rychlost přenosu kyslíku v produkční půdě.
△ ... V_g = 0,88 VVM, ○ ... V_g = 0,41 VVM.

Přestože se v poslední době studuje vliv fyzikálně chemických vlastností kapalné fáze na rychlost přenosu kyslíku [8—10] je k dispozici doposud málo výsledků nutných pro stanovení obecné korelace vlivu jednotlivých faktorů, protože se jedná o složité interakce většího počtu faktorů, které lze v komplexu živ-

ného roztoku jednotlivě obtížně kvantitativně specifikovat.

Použité symboly

K_L ..... úhrnný koeficient přenosu hmoty v kapalném filmu (m . h^{-1})

K_La ..... objemový koeficient přenosu kyslíku (h^{-1})

K_LaC^* ... sířičitanové číslo (mmol . l^{-1} . h^{-1})

n ..... frekvence otáčení míchadla (min^{-1})

Vg ..... aerace — objem protékajícího plynu na objem kapalné náplně za minutu (VVM)

t ..... čas (h)

μ_a ..... zdánlivá viskozita (Pa . s)

σ ..... povrchové napětí (N . m^{-2})

C^* ..... saturační koncentrace rozpuštěného kyslíku (mg . l^{-1})

C_L ..... aktuální koncentrace rozpuštěného kyslíku (mg . l^{-1})

Literatura

[1] PÁCA, J., Kvasný průmysl **24**, č. 4, 1978, s. 87

[2] PÁCA, J., ETTLER, P., GRÉGR, V., appl. Chem. Biotechnol. *26*, 1976, s. 309

[3] LINEK, V., SOBOTKA, M., PROKOP, A.: Biotechnol. Bioeng. Symp. 1973, č. 4, s. 429

[4] HARROLD, S. P.: J. Colloid. Sci. **15**, 1960, s. 280

[5] NUTTING, G. C., LONG, F. A., HARKINS, W. D.: J. Amer. Chem. Soc. **62**, 1340, s. 1496

[6] CALDERBANK, P. H.: Mixing. Theory and Practice. (Eds. Uhl. V. W., Gray, J. B.), Vol. **2**, 1967, Academic Press, s. 27

[7] SOIFER, R. D., GROSKAYA, S. V., IVANKOVA, T. A.: Adv. Microbial. Eng. (Eds. SIKYTA, B., PROKOP, A., NOVÁK. M.) Part 2, Interscience Publ. 1974, s. 755

[8] BULL, D. N., KEMPE, L. L.: Biotechnol. Bioeng. **13**, 1971, s. 529

[9] ROBINSON, C. W., WILKE, C. R., Biotechnol. Bioeng. **15**, 1973, s. 755

[10] YAGI, H., YOSHIDA, F., J. Ferment. Technol, **52**, 1974, s. 905

Páca, J. - Ettler, P. - Grégr, V.: Vliv viskozity a povrchově aktivních látek na přenos kyslíku v poloprovozním fermentoru. Kvas. prům. **24**, 1978, č. 8, s. 181—184.

Výsledky pokusů při různé intenzitě míchání a aeraci ukázaly, že přítomnost kašelotového oleje, používaného při fermentační výrobě erythromycinu nejen jako odpěňovadla, ale i jako částečného zdroje uhlíku, snižuje hodnotu koeficientu přenosu kyslíku o 50 až 60 %. Měřením v inokulační a produkční půdě bylo zjištěno, že značný vliv na hodnotu K_La mají i ostatní přítomné povrchově aktivní látky, které ovlivňují velikost průměru bublin, jejich koalescenci a zádrž plynu, což naopak zvyšuje hodnotu K_La ve srovnání se simulovanými podmínkami kultivace.

Паца, Я. — Эттлер, П. — Грегр, В.: Влияние вязкости и поверхностно активных веществ на передачу кислорода в полупроизводственном ферементере. Квас. прум. 24, 1978, № 8, стр. 181—184.

Результаты опытов, проведенных при разной интенсивности перемешивания и при сепарации показали, что наличие жира кашалота, применяемого при ферментативном производстве эритромицина не только в качестве пеногасителя, но и в качестве частичного источника углерода, понижает величину коэффициента переноса кислорода на 50—60%. При проведении измерений в посевной и продуцирующей почве было найдено, что значительное влияние на величину K_La оказывают и остальные присутствующие поверхностно активные вещества, которые действуют на величину диаметра пузырьков, на их коалесценцию и задержание газа, что наоборот повышает величину K_La по сравнению с моделируемыми условиями культивирования.

Páca, J. - Ettler, P. - Grégr, V.: Effect of Surfactant and Viscosity on Oxygen Transfer Rate in a Pilot Plant Fermenter. Kvas. prům. **24**, 1978, No. 8, pp. 181—184.

The changes of oxygen transfer rates into simulated and actual inoculation and production media used for erythromycin biosynthesis were measured. In the fermentative production of erythromycin sperm whale oil is used both as an antifoam agent and a partial carbon source. The results showed that the presence of sperm whale oil causes a drop in the oxygen transfer rate about 50 to 60 %. From comparison of the results obtained in simulated and actual media it was found that the value of K_La is significantly influenced also by the other physico-chemical parameters which affect diameter of bubbles, their coalescence and gas holdup. Therefore, the values of K_La obtained in actual media are higher than those in simulated media.

Páca J., Ettler P., Grégr V.: Einfluß der Viskosität und der oberflächenaltiven Substanzen auf die Sauerstoffübertragung im Halbbetriebsfermentor. Kvas. prům. **24**, 1978, No. 8, S. 181—184.

Die Ergebnisse der bei verschiedener Intensität des Rührens und der Aeration durchgeführten Versuche zeigten, daß die Anwesenheit des Kaschelotöls, das bei der fermentativen Erythromysin-Produktion nicht nur als Entschäumungsmittel, sondern auch als teilweise Kohlenstoffquelle angewendet wird, den Wert des Koeffizienten der Sauerstoffübertragung um 50 — 60 % herabsetzt. Durch Messung im Inokulations- und Produktionsboden wurde festgestellt, daß einen wesentlichen Einfluß auf den Wert des K_La auch die übrigen oberflächenaktiven Stoffe aufweisen, welche die Größe des Blasendurchmessers, die Koaleszenz der Blasen und das Zurückhalten des Gases beeinflussen, was im Gegenteil den K_La-Wert im Vergleich mit den simulierten Kultivationsbedingungen erhöht.

Sladovnícka hodnota novozavedených odrôd sladovníckych jačmeňov v Bulharsku

Výroba a spotreba piva v Bulharsku rastie naobyčajne rýchle. To si vyžaduje rozšírenie pestovateľských ploch pre sladovnícky jačmeň, ako aj zavedenie nových odrôd, dávajúcich vysoké výnosy a vykazujúcich dobré sladovnícke hodnoty.

V súčasnosti sa študujú rôzne odrody, ktoré by po vyšľachtení mohli slúžiť ako východzí materiál.

Na základe vykonaných skúšok možno konštatovať:

— v zbierke Ústavu genetiky a šľachtenia rastlín sa nachádzajú mnohé jesenné a jarné jačmene, ktoré vynikajú vysokou hospodárnosťou pestovania, dobrými biologickými a sladovníckymi vlastnosťami,

— novozavedené odrody Malta, 234, Maris Otter, Noël a Alpha prevyšujú v produktivite v Bulharsku rozšírenú odrodu Beta-dvojradá vo fyzikálne-chemických a sladovníckych hodnotách,

— československé odrody Demar, Dvoran, Sladár a Diamant sú zaujímavé z aspektu ich rozšírenia vo vyšších polohách juhozápadného Bulharska,

— odrody KM-168 a H-220 dávajú vysoké výnosy a majú dobré sladovnícke hodnoty; bude potrebné je študovať v rámci odrodových štúdií.

PLATIKANOV J., PÉTER P.: Az új bevezetett sorápargajták sörtechnikai minösége a Bolgar Népkoztársaságban., Söripar, **24**, 1977, s. 89—93.

Hudec