

Vliv doprovodných nečistot syntetického ethanolu na průběh jeho asimilace kvasinkou *Candida utilis*

661.722.663.15

Ing. JANA PELECHOVÁ, CSc., Ing. JIŘÍ UHER, CSc., Vysoká škola chemicko-technologická, Ing. JOSEF ROSÁK, Chemoprojekt, Praha, Prof. Ing. VLADIMÍR KRUMPHANZL, DrSc., Mikrobiologický ústav ČSAV, Praha

I. ÚVOD

Surový syntetický ethanol obsahuje řadu nečistot, které vznikají jednak během výroby hydratačními podmínkami, jednak vlivem znečištění výchozí suroviny, tj. ethyleny. Jde o uhlovodíky, ethery, estery a aldehydy, ketony, vyšší alkoholy a soli organických kyselin.

Z ekonomického hlediska by bylo nejvýhodnější používat i pro kvasné účely lihovodný kondenzát o koncentraci asi 10 až 14 % hm. ethanolu (prozatím nejsou uvažovány dopravní náklady) nebo surový syntetický ethanol získaný pouhým zesílením lihovodného kondenzátu. Protože se však po stránce kvalitativní, ale i kvantitativní zastoupení nečistot může měnit, a jak v pozitivním či negativním smyslu ovlivňovat fermentaci, pro její stabilizaci a i z jiných důvodů se často uvažuje ve velkokapacitních výrobcích surový ethanol rafinovat.

Je pochopitelné, že každá rafinace zatěžuje výrobek a zvyšuje jeho cenu. Protože většina rafinačních metod je založena na destilaci, zaměřili jsme se při zjišťování vlivu doprovodných nečistot během fermentace na tyto látky, které jsou destilací nejhůře odstranitelné a které mají tedy i rozhodující vliv na ekonomiku rafinačního postupu.

Uvažujeme-li destilační systém, který by se skládal z extraktivní kolony, rektifikační kolony a finální kolony, pohyb jednotlivých nečistot by mohl být tento:

Uhlovodíky — pentan, hexan se při extraktivní destilaci zcela odstraní.

Estery — octan ethylnatý se při extraktivní destilaci zcela odstraní.

Ethery — diethylether, ethylpropylether mohou projít extraktivní kolonou, oddělí se však na finální koloně.

Aldehydy — acetaldehyd, propionaldehyd procházející extraktivní kolonou, oddělí se však na finální koloně; krotionaldehyd — převážně se oddělí extraktivní destilací a v rektifikační koloně. Přesto však je nebezpečí jeho přechodu až do výrobku přes finální kolonu.

Ketony — aceton, methylethylketon, ethylisobutylketon jsou hůře dělitelné; jestliže však projdou, dostávají se až do hotového výrobku. Nejhůře odstranitelný je methylethylketon, jehož relativní těkavost je prakticky rovna ethylalkoholu.

Terciární alkoholy — terciární butylalkohol je z přítomných nečistot v surovém syntetickém ethylalkoholu nejhůře odstranitelný.

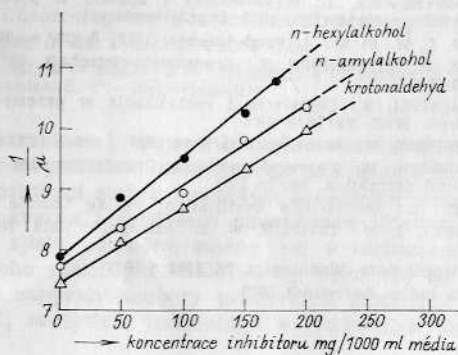
Sekundární alkoholy — isopropylalkohol, sekundární butylalkohol, dělí se částečně v extraktivní koloně, hlavně však v koloně rafinační. Mohou přijít do hotového výrobku.

Rozvětvené primární alkoholy — isobutylalkohol, isoamylalkohol, dělí se částečně v koloně rektifikační, kde se mají úplně oddělit.

Normální alkoholy — n-butylalkohol, n-pentylalkohol, n-hexylalkohol, mohou někdy projít až do finálního výrobku.

Organické kyseliny — v destilačním systému ve formě solí, proto jsou nezajímavé.

Z uvedeného rozboru vyplývá, že k látkám, které mohou přejít až do finálního výrobku, patří: krotionaldehyd, aceton, methylethylketon, ethylisobutylketon, terciární butylalkohol, isopropylalkohol, n-butylalkohol, n-pentylalkohol a n-hexylalkohol. Z nich byly pro další měření, tj. sledování vlivu na růst kvasinek vybrány ty, které se v syntetickém ethylalkoholu nalézají ve významnější koncentraci. Navíc byl sledován vliv látek, které dehydrogenací mohou poskytnout nízké mastné kyseliny propionaldehydu, isobutylalkoholu a isoamylalkoholu — toxické pro růst mikroorganismu.



Obr. 1. Závislost reciproké hodnoty specifické růstové rychlosti na koncentraci krotionaldehydu, n-amylalkoholu a n-hexylalkoholu jako inhibitoru

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Mikroorganismus

Kvasinka *Candida utilis* č. 49 ze sbírky VÚKPS.

4.2 Provoz s chlazením

1. Otevřít přívod technologické vody 101, přívod vody na ucpávky Č 1, DČ, Č 2 a přívod vody do cirkulační nádoby.
2. Otevřít přívod vzduchu, zapnout hlavní vypínač, zapnout ovládač „chlazení“, nastavit žádanou hodnotu teploty chlazení.
3. Totéž jako 4.1.3.
4. Totéž jako 4.1.4.
5. Odvzdušnit čerpadlo Č 2 (povolit odvzdušňovací ventil 150 na vstupní koteče čerpadla Č 1, po zaplavení Č 1 vodou ventil opět uzavřít). Čerpadlo Č 2 se zapne samočinně po zaplavení elektrody E 2 vodou. Postup je dále stejný jako podle bodů 4.1.6 až 4.1.12.
6. Po najetí otevřít výstupní a vstupní ventily ledové vody a pustit vzduch pro automatickou regulaci.

Poznámka: Pro provoz vřetenového čerpadla, dávkovacího čerpadla, vývěvy a odsávacího čerpadla platí zásady uvedené v návodu pro obsluhu jednotlivých čerpadel.

5. Čištění

Při čištění Sodamixu přeplavením kotlů platí tyto zásady:

- musí být zapnut ovládač „čištění“ a musí být uzavřeny ventily 115 až 117, 127, 130, 134, 136, 137,
- je uzavřen přívod CO₂ 145, přívod vzduchu 146 je otevřen,
- přívod vody pro ucpávky čerpadel musí být otevřen. Jinak platí při čištění zásady uvedené v TP a v tomto návodu. Postup při čištění je tento:
 - zapnutí ovládače „čištění“. Stisknutí tlačítka „vstup vody“.
 - Čistící roztok proudí do odvzdušňovacího kotle. Otevřít ventil 129 na přepadovém potrubí 41. Po naplnění kotle roztokem začne tímto ventilem vytékat roztok. Ventil se uzavře.

— Odvzdušnit čerpadlo Č 1, popřípadě i Č 2, otevře se ventil 131 na přepadové trubce 42 kotle 2. Stiskne se tlačítko „čerpadlo vody“. Jakmile začne z přepadové trubky vytékat roztok, tlačítko se uvolní. Uzavřít ventil 131.

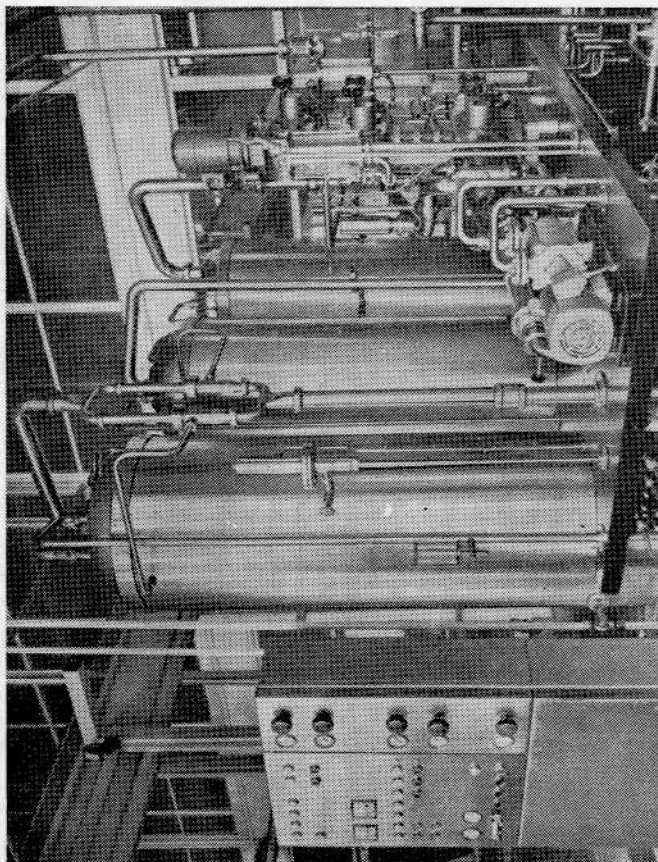
— Místo sirupy se přivede čistící roztok (propojením potrubím 75), odvzdušnit hlavy (klapka 106 otevřena), stisknutím tlačítka „dávkovací čerpadlo“ naplnit kotel 3 po elektrody E 6. Ventil 135 na přepadové trubce 65 kotle 3 je otevřen.

Stisknutím tlačítka „čerpadlo vody“ přeplnit kotel 3. Když z přepadové trubky začne vytékat roztok, uvolnit ihned tlačítko. Zavřít ventil 135. Tím jsou naplněny všechny kotle.

Jestliže otevřeme výstupní potrubí Sodamixu — klapka 110 a propojíme ho do vratné větve čistícího okruhu, může roztok cirkulovat vlastním tlakem, popř. čerpadlem Č 1 — tlačítko — strojem a chladičem.

Při čištění je nutno proplachovat roztokem vypouštěcí ventily.

Po čištění se roztok vypustí, popř. se čerpadlem nebo tlakem CO₂ vytlačí



Obr. 2. Pohled na zadní část SODAMIXU Sx 120 s ovládacím panelem umístěným příčně

- vlastní regulační zařízení na regulaci tlaku CO₂ v impregnačním kotli,
- nezakrytované funkční části stroje, snadná údržba a kontrola.

2. Popis a funkce stroje

2.1 Technický popis

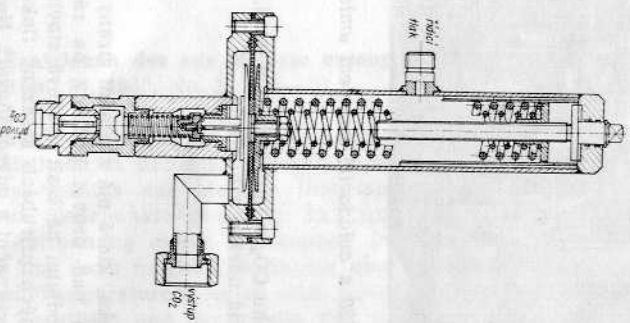
Základnu stroje tvoří ocelová vyztužená deska, která má z přední strany tři půlkruhové výřezy. Je umístěna asi 750 mm nad úrovní podlahy na rámu z ocelových U-profilů. Rám je postaven na podlahu na šesti výškově stavitelných nohách. Do výřezů desky jsou na nosných přírubách zasazeny tlakové kotle, na obr. 1 zleva je to kotel zásobní, impregnační a odvzdušňovací. Nosné příruby jsou k desce přišroubovány. Vpředu jsou kotle spojeny s rámem stojinami ve tvaru širokého U, které vedou od podlahy po celé délce kotlů až k horní přírubě a vyztužují tak nosnou konstrukci. Od krytů kotlů jsou barevně odlišeny a tvoří jeden ze základních prvků výrobního řešení stroje. V dutinách stojin jsou umístěny stavoznaky s elektrodami.

Za tlakovými kotli je na základové desce umístěno čerpadlo odvzdušňné vody, vodokružná vývěva a dávkovací čerpadlo (obr. 2). Přívodní potrubí pitné

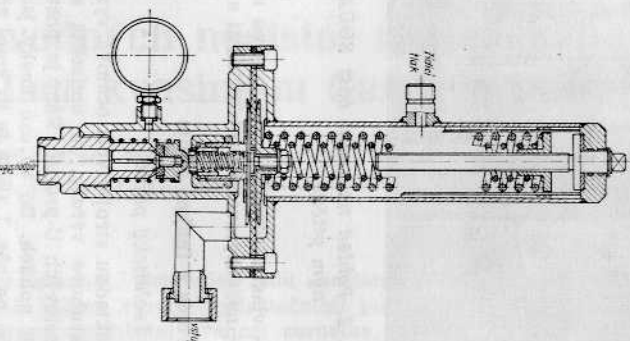
technologické vody a sirupu jsou umístěna pod základovou deskou v zadní části stroje. Do potrubí vody je zařazen uzavírací ventil, síťový filtr s lucernou a pneumatický uzavírací ventil. Pro snížení tlakových rázů vznikajících před pneumatickým ventilem se dodává se strojem redukční stanice a vzdušník.

Sirupové potrubí ústí do vyrovnávací a kontrolní skleněné nádržky, vybavené blokovací elektrodou a odvzdušňovacím ventilem, která je propojena přímo se sacím hrdlem sirupové hlavy dávkovacího čerpadla. Před nádržkou je do potrubí zařazena uzavírací klapka.

Tlakové kotle jsou válcové nádoby s vysokotlakovým dnem a víklem, dělené v horní části přírubami a tepelně izolované. Jsou vybaveny armaturami podle předpisů pro tlakové nádoby a závitovými hrdly pro přívodní a výstupní potrubí nápoje. V plášti kotlů jsou přípojky pro stavoznak, u impregnačního a zásobního kotle jsou přípojky pro regulační ventily tlaku CO_2 — vypouštěcí (obr. 3) a odpouštěcí (obr. 4), ve víku kotlů jsou přípojky přepadových trubek.



Obr. 3



Obr. 4

Uvnitř odvzdušňovacího a impregnačního kotle je ve válcových koších s děrovanými dny náplň Raschigových kroužků. Uvnitř zásobního kotle je pouze vysřikovací zařízení a potrubí pro přívod nápoje pod hladinu v kotli.

Čerpadlo odvzdušněné vody je rotační objemové jednovětevné čerpadlo,

technologické vody. Před uvedením do provozu je nutno zapojit potrubí Sodamixu podle toho, je-li nebo není-li požadováno chlazení vody.

A. Při provozu bez chlazení vody je výstupní potrubí 11 z odvzdušňovacího kotle napojeno přímo na sací hrdlo vřetenového čerpadla Č 1 Sodamixu. Ovládací „chlazení“ na ovládacím panelu je v nulové poloze.

B. Při provozu s chlazením technologické vody je výstupní hrdlo odvzdušňovacího kotle propojeno potrubím 65 na sání čerpadla chlazení Č 2 (65-NPB-160) a výstupní potrubí 68 z chladiče je napojeno na sací potrubí 12 vřetenového čerpadla Č 1. V potrubí 65 je blokovací elektroda EB 5. Na panelu je zapnut ovládací „chlazení“.

4.1 Provoz bez chlazení

1. Otevřít přívod technologické vody — ventil 101. Otevřít přívod vody na napařovací čerpadla Č 1 a DC. Otevřít přívod vody do cirkulační nádoby.

2. Otevřít přívod vzduchu, zapnout hlavní vypínač.

3. Zapnout vývěvu podle návodu pro provoz vývěvy — tzn. uzavřít ventily 127, zapnout vývěvu, pomalu otevřít ventil 127.

4. Po dosažení podtlaku v kotli 1 hodnoty 0,07 MPa — viz vakuumetr 61 — zapnout „vstup vody“.

5. Po dosažení hladiny vody v kotli 1 elektrody E 2 odvzdušnit vřetenové čerpadlo Č 1.

6. Otevřít přívod CO_2 do impregnačního a zásobního kotle.

7. Po dosažení požadovaných tlaků v kotli 2, 3 otevřít odpouštěcí ventil 118 (skleněnou lucernu ventilu naplnit do 1/3 vodou) a zapnout vřetenové čerpadlo Č 1.

Pozn.: Čerpadlo Č 1 nejde zapnout dříve, dokud hladina v kotli 1 nezaplaví elektrodu E 2.

8. Po dosažení hladiny impregnované vody v kotli 2 elektrody E 4 překontrolovat, je-li otevřena klapka 106 na sání DC. Zaplavit odvzdušňovacím ventilem hlavy DC na sodovou vodu.

Pozor: Dávkovací čerpadlo se nesmí zapnout, není-li otevřena klapka 106 na sání DC.

9. Otevřít přívod sirupu do zásobníku 33 (klapka 113) a zásobník naplnit odvzdušňovacím ventilem 152 do 2/3 sirupem.

Odvzdušnit sirupovou hlavu DC odvzdušňovacím ventilem.

10. Nastavit zdvih plunžru sirupové a vodní hlavy DC.

11. Zapnout DC.

12. Po dosažení hladiny nápoje elektrody E 6 a po vyrovnání tlaku v kotli 3 na požadovanou hodnotu (např. odpouštěcím ventilem 60 na panelu) naplnout kotel plnicí na tlak 0,02 až 0,03 MPa nižší než tlak v zásobním kotli 3 Sodamixu a teprve potom pozvolna otevřít klapku 110 ve výstupním potrubí.

Pozn.: Pro správný provoz je nutné, aby byla zavřena klapka 104, 105, 108, 111, ventil 102. Ventil vypouštěcí 112 v potrubí 29 otevřít.

sobním kotli regulují regulační ventily RV 2, RVO. Hotový nápoj je vytlačován přeliskem CO₂ ze zásobního kotle do plniče.

Při výrobě sodové vody je nasycená voda z impregnačního kotle vedena obtokem 29 přímo do výstupního potrubí Sodamixu. Je-li zapotřebí vodu před impregnační chladit, propojí se odvzdušňovací kotel potrubím 65 se sáním odstředivého čerpadla Č 2 a výstup z chladiče se sáním vřetenového čerpadla Č 1. Pro čištění a sanitaci je propojení a ovládání Sodamixu řešeno tak, že lze čistit a proplachovat buď pouze tu část stroje, která přichází do styku se sirupem a nápojem, nebo lze čistit proplachováním nebo přeplavením kotlů celý stroj včetně chladiče. Po uvedení stroje do provozu je chod plně automatický, případné poruchy a nedostatky jsou signalizovány na ovládacím panelu.

3. Technické parametry

Efektivní výkon při směšovací poměru 1 : 5	l/h	12 600
Efektivní výkon — sodová voda	l/h	12 600
Celkový výkon — bez chlazení	kW	21
— s chlazením	kW	26,5
Půdorysná plocha d × š	mm	3200 × 2600
Výška stroje	mm	3100
Nastavitelný objemový směšovací poměr sirupu a vody	1 : 4 až 1 : 20	
Provozní přetlak impregnační — max.	MPa	0,6
Přetlak v zásobním kotli — max.	MPa	0,7
Podtlak v odvzdušňovacím kotli — max.	MPa	0,08
Přenosnost směšování (objemová) při maximálním zdvihu	%	± 0,5
plunžru a trvalém provozu	%	± 1
Přenosnost směšování (objemová) při max. zdvihu plunžru,		
při rozběhu a zastavení		
Maximální tlaková difference mezi kotlem impregnačním		
a zásobním	MPa	0,12
Spotřeba tlakového vzduchu	N m ³ /h	7,2
Spotřeba vody pro vývěvu a chlazení ucpávek čerpadel	l/min	10
— vývěva napojena na vodovodní síť	l/min	2
— vývěva napojena na cirkulační nádobu		
Obsah kotlů: odvzdušňovací, impregnační, zásobní	l	710
Účinnost nasycení impregnované vody při teplotě vody	%	80—85
< 15 °C a tvrdosti Tk < 5 °n, Tc < 7 °n		
Hmotnost stroje	kg	3 800
Maximální teplota čistících prostředků	°C	90
Maximální dovolený ráz při čištění	°C	25
Požadovaný přetlak na vstupu do stroje	MPa	0,3
technologické vody	MPa	0,15
sirupu	MPa	1,2—1,5
kyslíčnou uhlíkatého	MPa	0,4—0,6
tlakového vzduchu		

4. Návod pro obsluhu

Zapojení Sodamixu umožňuje provoz bez chlazení i provoz s chlazením

spojené spojkou přímo s elektromotorem. Stator je ocelová trubka s navulka-nizovanou vložkou z potravinářské pryže, dutina vložky má tvar dvouchodé-ho oblého závitů. Rotor — vřeten — má tvar jednochodého oblého závitů a je z nerežavějící oceli.

Dávkováč čerpadlo, plunžrové, je stavebnicové, skládající se ze dvou hna-cích jednotek s přestavovacím zařízením zdvihu plunžru za klidu i chodu a ukazatelem zdvihu. Hnací jednotka má po obou stranách dávkovací hlavy. Obě jednotky pohání společný elektromotor. Tři dávkovací hlavy, s plunžrem o prů-měru 125 mm a max. výkonem jedné hlavy 3700 l/h, dávkují sodovou vodu, čtvrtá hlava, s plunžrem o průměru 100 mm a max. výkonem 2370 l/h, dávkuje ovocný sirup. Dávky všech hlav jsou plynule regulovatelné od nuly do maxi-málního množství.

Vodokružná vývěva řady RV je dvoustupňová, dvě paprskovitá oběžná kola, excentricky uložená ve statoru, vytvářejí z přiváděné vody po obvodu statoru prstenec, čímž vznikají komůrky proměnlivé velikosti, které nasávají z od-vzdušňovacího kotle vzduch a vytlačují jej s vodou do výtláčného hrdla a dále do cirkulační nádoby. Na sacím hrdle vývěvy je umístěn zpětný ventil a regulační ventil podtlaku v odvzdušňovacím kotli.

Přepouštěcí regulační ventil RV 1, RV 2 (obr. 3) vyrovnává tlak CO₂ v kotli na konstantní (nastavenou) hodnotu. Snížením tlaku v kotli pod nastavenou hodnotu je porušena rovnováha sil působících na membránu, membrána se prohne směrem dolů a stlačí uzavírací kuželku. Kyslíčnick uhlíčitý proudí z pří-vodu do výstupu CO₂ a dále do kotle. Požadovaný tlak v kotli se nastavuje re-gulačním šroubem (změnou předpětí pružiny) a řídicím tlakem vzduchu z ovládacího panelu. Řídicí tlak je společný pro regulační ventil přepouštěcí i odpouštěcí.

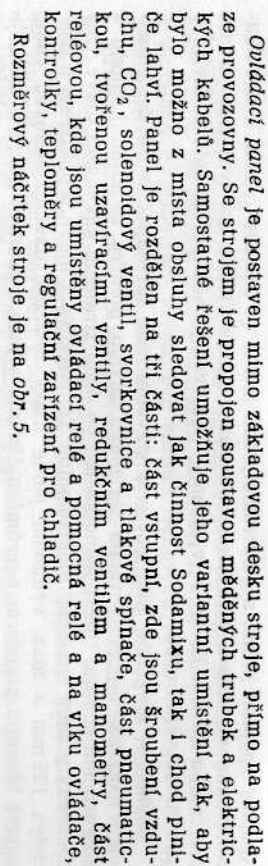
Odpouštěcí regulační ventil RVO (obr. 4) přepouští CO₂ při zvýšení tlaku v zásobním kotli do kotle impregnačního. Šroubením na vstupu je propojen se zásobním kotlem. Při zvýšení tlaku v zásobním kotli nad nastavenou hod-notu se poruší rovnováha sil působících na membránu. Membrána se prohne směrem nahoru a uvolní uzavírací kuželku. Pružina nadzvedne kuželku ze sedla a CO₂ proudí z kotle regulačním ventilem do odpouštěcího potrubí.

Chladič vody. Pro chlazení technologické vody je určen deskový výměník VSx 120.

Propojovací potrubí kotlů, čerpadel a přívodní potrubí vody a sirupu je umístěno částečně nad a z části pod základovou deskou a je řešeno tak, že umožňuje:

- snadnou a rychlou změnu vyráběného nápoje,
- stáčení sodové vody, aniž by bylo nutno vyprázdnit a čistit zásobní kotel,
- snadné a rychlé čištění všech částí stroje, přicházejících do styku se si-rupem a nápojem.

Do výtláčného potrubí čerpadla odvzdušněné vody jsou umístěny dva vodo-proudě injektory, ve výtláčném potrubí dávkovacího čerpadla je směšovač so-dové vody a sirupu. Přívod CO₂ a ovládacího vzduchu je přímo do panelu.



Obr. 5 a ob. 6

1 — odvažňovací kotev, 2 — impregnační kotev, 3 — zásobní kotev, 4 — vzdušník, 5 — filtr,
10, 18 — rozprašovač tryska, 14 — zpětný ventil, 16 — vodopropustný injektor, 24, 25 — nápin-
Röschingových kroužků, 33 — výrovňovací sloupce nadložek, 38 — směšovač, 46 — vstříčko-
vací zařízení, 49 až 45 — přepedové trubky, 43 — odpouštěcí ventily, 51 — ovládací panel,
V1, V2 — pneumatické uzavírací ventily, R3 — redukční ventily, VV — vyvěvač, ZV — zpětný
ventil, PV — podtlakový regulační ventil, SV1, SV2 — solenoidový ventily, C1 — vřeténové
čerpadlo, Č 2 — odstředivé čerpadlo, DČ — regulátor, AVO, AV1, AV2 — pojistkové ventily,
PZV — plovákový zpětný ventil, R — regulátor, RVO, RY1, RY2 — regulátory ventilů, TS-CO₂-
VZD, VAK — tlakové spínače, E1 až E6 — snímači elektrody, E81 až E89 — blokovací
elektrody

Technologická voda je odvzdušňena vakuovým způsobem v odvzdušňovacím

Technologická voda je odvodušněna vakuumovým způsobem v odvodušňovacím kotli 1. Potřebný podtlak vytváří vodorovná vývěva VV, výšku podtlaku reguluje podtlakový regulační ventil PV. Z odvodušňovacího kotle je voda čerpána čerpadlem Č1 přes vodoproudě injectory I6, ve kterých dochází k předávacímu syčení odvodušněné vody a vytěsnění vzduchu kyslíčikem uhlíkatým, do impregnačního kotle 2. V impregnačním kotli se voda dosycuje CO_2 a vytěsněný vzduch se odpouští do atmosféry odpouštěcím ventilem I8. Tlak CO_2 v impregnačním kotli reguluje regulační ventil RV1. Nasycenou vodu z impregnačního kotle a sirup z vyrovnávací sirupové nádržky 33 čerpá v určitém poměru dávkovací čerpadlo DC, ze směšovače 38 se oba komponenty smísí a homogenní nápoj se ukládá v zásobním kotli 3. Tlak kyslíčiků uhlíkatého v zá-



Tabulka 1. Vliv některých vybraných nečistot surového syntetického etylalkoholu na růst kvasinky *Candida utilis* č. 49

Látka	Koncentrace mg/1 000 ml média	Sušina biomasy g/l	Látka	Koncentrace mg/1 000 ml média	Sušina biomasy g/l
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{O}$ propionaldehyd	slepý pokus	1,9	$\text{CH}_3-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}$ krotonaldehyd	slepý pokus	1,6
	0	8,3		0	5,75
	50	8,3		50	5,75
	100	8,0		100	5,50
	200	7,5		200	1,88
	300	7,45		300	1,65
	400	7,45		400	1,65
	500	7,45		500	1,60
	750	7,45		750	1,60
	1 000	7,45		1 000	1,40
$\text{CH}_3-\text{CO}-\text{CH}_3$ aceton	slepý pokus	1,65	$\text{C}_2\text{H}_5-\text{CO}-\text{CH}_3$ methyletylketon	slepý pokus	1,9
	0	5,75		0	9,1
	50	5,75		50	7,6
	100	5,75		100	7,6
	200	5,70		200	7,48
	300	5,75		300	7,48
	400	5,70		400	7,48
	500	5,65		500	7,20
	750	5,65		750	7,20
	1 000	5,65		1 000	7,20
$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{OH}$ n-butylalkohol	slepý pokus	2,35	$(\text{CH}_3)_2\text{CH}-\text{OH}$ isopropylalkohol	slepý pokus	2,30
	0	5,75		0	8,30
	50	5,60		50	8,10
	100	5,65		100	8,10
	200	4,65		200	8,10
	300	4,40		300	8,10
	400	3,08		400	8,05
	500	2,80		500	8,05
	750	2,80		750	8,05
	1 000	2,80		1 000	8,05
$(\text{CH}_3)_3\text{C}-\text{OH}$ terc. butylalkohol	slepý pokus	1,9	$(\text{CH}_3)_2\text{CH}-\text{CH}_2\text{OH}$ isobutylalkohol	slepý pokus	2,35
	0	8,3		0	8,3
	50	6,6		50	8,3
	100	6,6		100	8,3
	200	6,6		200	8,05
	300	6,6		300	7,45
	400	6,10		400	6,90
	500	6,10		500	6,90
	750	6,10		750	6,75
	1 000	6,10		1 000	6,75
$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}_2\text{OH}$ n-amylalkohol	slepý pokus	2,35	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$ sec. butylalkohol	slepý pokus	1,90
	0	5,76		0	8,70
	50	4,30		50	8,30
	100	3,85		100	8,30
	200	3,35		200	8,30
	300	3,25		300	8,30
	400	2,83		400	8,30
	500	2,70		500	8,30
	750	2,70		750	8,30
	1 000	2,15		1 000	8,30
$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_6-\text{CH}_2\text{OH}$ n-hexylalkohol	slepý pokus	2,35	$(\text{CH}_3)_2\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{OH}$ isoamylalkohol	slepý pokus	2,35
	0	8,30		0	8,30
	50	4,55		50	7,45
	100	4,20		100	7,45
	200	2,95		200	7,30
	300	2,85		300	7,30
	400	2,60		400	7,30
	500	2,40		500	7,30
	750	2,40		750	6,75
	1 000	2,40		1 000	6,40

Kultivace

Kultivační pokusy byly prováděny v 500 ml baňkách na reciproké třepačce (91 kvv/min, délky kyvu — 9 cm), 24 h při 30 °C. Baňky obsahovaly 50 ml média, které bylo zakvašeno takovým množstvím inokula, aby počáteční kvasničná sušina byla asi 0,2 % hm. Složení média: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 5 % hm., K_2HPO_4 0,25 % hm., $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,075 % hm., $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,003 % hm., vodovodní voda; pH média 4,5 až 5,0. K tomuto médiu bylo přidáno 2 % hm. velejemného kvasného lihu doplněného odstupňovaným množstvím jednotlivých sledovaných nečistot.

Analytické metody

Růst dané populace byl stanovován turbidometricky [4].

Materiál

Velejemný kvasný ethanol tohoto složení:

hustota $\frac{20^\circ}{20^\circ}$ C 806,4 kg m⁻³, ethanol $\frac{20^\circ}{20^\circ}$ C 96,61 % hm.

kyseliny celkové 0,0006 % hm., acetaldehyd 0,0006 % hm., aceton 0,0001 % hm., methylethylketon 0,0002 % hm., octan ethylnatý 0,0011 % hm., methylalkohol stopy.

Z tabelárních údajů vyplývá:

Z aldehydů, tj. krotonaldehydu a propionaldehydu působí výrazně pouze krotonaldehyd. Ketony, aceton i methylethylketon ve sledovaném koncentračním rozmezí na průběh kultivace vliv nemají. Působení alkoholů je značně rozdílné. Isopropylalkohol, terciární butylalkohol a sekundární butylalkohol jsou v daném koncentračním rozmezí prakticky bez účinku. Inhibiční účinek stoupá v řadě isobutylalkohol, n-butylalkohol, isoamylalkohol, n-amylalkohol, n-hexylalkohol.

Toxicita uvedených látek souvisí totiž s jejich oxidaovatelností na příslušné mastné kyseliny. Inhibiční účinek potom stoupá řadou: kyseliny propionová, kyselina isomáslenná, kyselina máslenná, kyselina isovalerová, kyselina valerová, kyselina krotonová a kyselina kapronová. Je vidět, že toxicita isokyselin je nižší než normálních kyselin, ačkoliv jde o čtyřuhlíkaté sloučeniny, jako u kyselin krotonové, kyselin máslenné a isomáslenné. Toxicita kyselin krotonové je podstatně vyšší, což pravděpodobně souvisí s reaktivní dvojnou vazbou v její molekule.

Na základě dosažených výsledků se přistoupilo k detailnějšímu prostudování působení krotonaldehydu, n-amylalkoholu a n-hexylalkoholu, látek s maximálním inhibičním účinkem.

Měření byla provedena obdobně jako v předešlém případě s tím rozdílem, že doba fermentace byla 12 hodin a vzorky média byly odebrány v jednohodinových intervalech. Byl sledován přírůstek buněčné sušiny a z naměřených hodnot vypočítána specifická růstová rychlost. Dosažené výsledky viz tab. 2.

3. Diskuse a závěr

Z hlediska technologického je inhibiční účinek na-
prsto nežádoucí, protože se snižuje produktivita vzta-
žená na objemovou jednotku kvasného prostoru. K to-
mu ještě přistupuje možnost případného ovlivňování
tvorby subcelulárních komponent, např. bílkovin, což
by ještě navíc snižovalo kvalitu vyprodukované bioma-
sy. Z provedených měření nelze zatím posoudit, o jaký
typ inhibice jde a zda ve všech sledovaných případech
jde o stejný. Podle Uhra [1973], který sledoval působení
krotonaldehydu na růst *Escherichia coli*, krotonalde-
hyd ovlivňoval buněčnou inkorporaci leucinu, sloužící-
ho jako jediný prekursor proteosyntézy.

Tabulka 2. Vliv krotionaldehydu, n-amylalkoholu a n-hexylalkoholu na specifickou růstovou rychlost kvasinky *Candida utilis* č. 49 při kultivaci na ethylalkoholu

krotionaldehyd mg/1 000 ml média μ (spec. růstová rychlost) inhibiční koeficient	0 0,1344 100	50 0,1230 91,7	100 0,1150 85,6	150 0,1070 79,7	200 0,100 74,5
n-amylalkohol mg/1 000 ml média μ (spec. růstová rychlost) inhibiční koeficient	0 0,1285 100	50 0,1185 92,4	100 0,1115 87,0	150 0,1030 80,3	200 0,0960 74,6
n-hexylalkohol mg/1 000 ml média μ (spec. růstová rychlost) inhibiční koeficient	0 0,1270 100	50 0,1112 87,8	100 0,1050 82,6	150 0,0980 77,0	200 0,0920 72,0

Ačkoliv výsledky plně potvrzují správnost předpokladu o negativním působení některých nečistot na řešení fermentačního procesu, nelze předpokládat, že by při jednorázové nebo kontinuální kultivaci za využití surového syntetického ethylalkoholu bez vrácení odseparovaného média se dosáhlo takové jejich koncentrace, že by byl fermentační proces zpomalen nebo v limitním případě až zastaven.

Jiná situace však může nastat v případě, kdy se z důvodů snížení množství odpadních vod musí počítat s recirkulací odseparovaného média a jeho využitím pro přípravu nové kultivační půdy. V tomto případě je nutné uvažovat jejich určitou akumulaci, která bude závislá na konkrétních kultivačních a separačních podmínkách.

Literatura

- [1] PELECHOVÁ, J., KRUMPHANZL, VL., UHER, J., DÝR, J.: *Folia Microbiol.* 16, 1971, s. 103
- [2] HUŇKOVÁ, Z.: Kandidátská disertační práce, Praha 1972
- [3] UHER, J.: Kandidátská disertační práce, Praha VŠCHT 1973
- [4] GRÉGR, V.: Analytické metody ke cvičení z kvasné chemie a technologie SNTL, Praha 1968
- [5] KRUMPHANZL, VL.: Doktorská disertační práce, Praha VŠCHT, 1973

Pelechová J., Rosák J., Uher J., Krumphanzl V.: Vliv doprovodných nečistot syntetického ethanolu na průběh jeho asimilace kvasinkou *Candida utilis*. Kvas. prům. 26, 1980, č. 1, s. 10–16.

Surový syntetický ethanol obsahuje některé doprovodné látky, které jsou z hlediska jeho dalšího využití jako uhlíkatého zdroje pro růst mikroorganismů nežádoucí. Byl studován zvláště vliv nečistot, které se vyskytují v syntetickém ethanolu ve významnější koncentraci. Ačkoliv výsledky fermentačních pokusů plně potvrdily negativní vliv těchto nečistot na výtěžek kvasničné biomasy, nelze předpokládat, že by při jednorázové nebo kontinuální kultivaci za využití surového syntetického ethanolu bez vrácení odseparovaného média, dosáhly takové koncentrace, že by byl fermentační proces zpomalen nebo v limitním případě až zastaven.

Пелехова, Я. — Росак, И. — Угер, Ю. — Крумphanzl, В.: Влияние присутствия загрязняющих в синтетическом этаноле на ход его ассимиляции дрожжами. Кvas. прум. 26, 1980, № 1, стр. 10–16.

Неочищенный синтетический этанол содержит некоторые загрязняющие вещества, присутствие которых является нежелательным в том случае, когда этанол должен служить в качестве источника углерода, необходимого

для размножения микроорганизмов. Авторы изучали в первую очередь влияние веществ, которые могут в синтетическом этаноле появиться в довольно высоких концентрациях. Хотя результаты бродильных проб подтвердили отрицательное влияние загрязняющих веществ на выход дрожжевой массы, едва ли можно предполагать, что концентрация достигнет уровня, способного замедлить процесс ферментации или даже его остановить. Это заключение распространяется как на периодическое, так и непрерывное разведение культур в среде синтетического этанола без возвращения в процесс субстрата после сепарации.

Pelechová, J. - Rosák, J. - Uher, J. - Krumphanzl, V.: Effects of Polluting Foreign Matters Present in Synthetic Ethanol Upon its Assimilation by *Candida utilis* Yeast. Kvas. prům. 26, 1980, No. 1, pp. 10–16.

Crude synthetic ethanol contains some foreign matters which are harmful in applications, where ethanol is to be used as a source of carbon necessary for the growth of microorganisms. The authors have studied in the first line effects of contaminants which are frequently present in high concentrations. Though the results of fermentation tests fully confirm negative effects contaminants have upon the yields of yeast mass, it is extremely improbable that the concentration may be as high as to retard fermentation process or in an extreme case to stop it. This holds true both to batch and continuous cultivation in crude synthetic ethanol without returning separated medium into the process.

Pelechová, J. - Rosák, J. - Uher, J. - Krumphanzl, V.: Einfluß der Begleitverunreinigungen des synthetischen Äthanols auf den Verlauf seiner Assimilation durch die Hefe *Candida utilis*. Kvas. prům. 26, 1980, No. 1, S. 10–16.

Das rohe synthetische Äthanol enthält einige Begleitstoffe, die vom Standpunkt seiner weiteren Verwertung als Kohlenstoffquelle für das Wachstum der Mikroorganismen unerwünscht sind. Es wurde vor allem der Einfluß der Verunreinigungen studiert, die in dem synthetischen Äthanol in einer bedeutenderen Konzentration vorkommen. Obgleich die Ergebnisse der Fermentationsversuche den negativen Einfluß dieser Verunreinigungen auf die Ausbeute der Hefebiomasse überzeugend bestätigten, kann nicht vorausgesetzt werden, daß bei stationärer oder kontinuierlicher Kultivierung und Verwertung des rohen synthetischen Äthanols ohne Zurückgabe des abseparierten Mediums die Konzentration der Verunreinigungen so noch ansteigen könnte, daß die Gefahr der Verlangsamung oder im Grenzfall der Stockung des Fermentationsprozesses bestünde.