

Přestup kyslíku při jednorázové kultivaci

579

Ing. FRANTIŠEK POTUČEK, CSc., katedra procesů a zařízení chemické technologie, Vysoká škola chemickotechnologická, 532 10 Pardubice

Klíčová slova: kultivace, mamutkový fermentor, *Torulopsis ethanolitolerans*, přenos kyslíku

Vzhledem k nízké rozpustnosti kyslíku v živných půdách ovlivňuje způsob vzdušnění a míchání průběh submersních aerobních kultivací. Vedle velmi rozšířených fermentorů s míchadly se používá i fermentorů probubláváných (např. mamutkový fermentor typu airlift), u nichž je kapalná vsádka promíchávána pneumaticky. U soustav, kde plynná fáze tvoří disperzi, je však obtížné určit velikost mezifázové plochy. Proto se u fermentačních procesů charakterizuje intenzita přestupu kyslíku objemovým součinitelem přestupu (aerační kapacitou). V systémech s respirujícími mikroorganismy lze aerační kapacitu stanovit např. bilanční metodou, která je založena na sledování změn koncentrace kyslíku v plynné fázi.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Kultivační zařízení

Jednorázové kultivace byly uskutečněny v uzavřeném mamutkovém fermentoru. Plášť fermentoru tvořil skleněný válec o průměru 105 mm a o výšce 800 mm. Uvnitř pláště byly nad rozdělovačem plynu umístěny symetricky kolem osy pláště tři nerezové trubky o světlosti 33,5 mm a o délce 400 mm. Rozdělovač plynu představovalo perforované patro s 12 otvory, každý o průměru 1 mm. Detailní popis aparatury včetně schematického náčrtu byl uveden v pracích [1, 2].

Živné médium

Zásobní roztok živin obsahoval v 1 litru 35 ml H_3PO_4 85 hm. %, 30 g KOH, 32 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 12,2 g NaCl, 0,02 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a 0,05 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Roztok dalších prvků (Ca, Fe) byl připraven odděleně a obsahoval v 1 litru 165 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a 10,6 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Do fermentoru se zásobní roztoky dávaly podle očekávané produkce, a to na 1 g přírůstku biomasy 1 ml koncentrovaného roztoku živin a 0,1 ml roztoku vápníku a železa [3]. Dále se na 1 litr vsádky přidával 1 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Během kultivace byla do fermentoru dávána lihoamoniaková směs tvořená ethanollem (96 obj. %) a amoniakovou vodou (20 hm. %) v objemovém poměru 3,5:1. K odpěňování byla použita kyselina olejová, která byla přidávána v množství 1 ml na 100 ml lihoamoniakové směsi.

Mikroorganismus

K experimentům byly použity kvasinky kmene č. 235 *Torulopsis ethanolitolerans*, které byly dodávány Výzkumným ústavem potravinářského průmyslu v Praze. Kvasničná pasta byla dávkována v množství 5 g na 1 l živného roztoku.

Rozsah měření

Pokusy byly uskutečněny při šesti různých hodnotách vzdušnění v rozmezí od 5 do 30 l za minutu, tzn. rozsah fiktivních lineárních rychlostí vzduchu, definovaných jako podíl objemového průtoku a průřezu fermentoru, byl od 0,96 do 5,77 $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$. Objem vsádky činil u všech pokusů 5 l. Teplota byla udržována na 30 °C a hodnota pH 4 byla regulována přívodem lihoamoniakové směsi. Doba každé kultivace činila 5,5 hodiny. Každý pokus byl za daných podmínek nejméně jedenkrát zopakován.

Koncentrace rozpuštěného kyslíku

K měření aktuální koncentrace kyslíku rozpuštěného v kapalně vsádce byl použit elektrodový článek Pt-Ag-AgCl pokrytý polypropylenovou membránou, jehož výstup byl napojen na lineární zapisovač.

Analýza plynných vzorků

Koncentrace kyslíku, dusíku a oxidu uhličitého byla měřena metodou plynové chromatografie na přístroji Chrom 5. Vzorky plynu vstupujícího do fermentoru byly odebírány na začátku a na konci kultivace, zatímco vzorky plynu na výstupu z fermentoru byly odebírány v půlhodinových intervalech. Stanovení kyslíku a dusíku bylo uskutečněno ve skleněné koloně o vnitřním průměru 3 mm a o délce 1,2 m, jejíž náplň byla tvořena molekulovými síty typu 5A. Ke stanovení oxidu uhličitého byla použita skleněná kolona téhož průměru a délky 3,6 m s náplní Synachrom E5 50/50 [zrnění 60–80 mesh]. Jako nosný plyn bylo použito helium o průtoku 30 $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Detekce byla provedena katarometrem. Analýzy byly uskutečněny při teplotě 20 °C. Do kolony byl dávkován vždy 1 ml vzorku odebraného plynu.

Zpracování kapalných vzorků

Odebrané vzorky suspenze kvasinek byly po sedimentaci a odstředování vysušeny při teplotě 105 °C do konstantní hmotnosti. Hmotnost kvasničné sušiny byla stanovena gravimetricky.

Výkon plynu

V případě použití statického dispergátoru je energie dodávaná plynem do fermentoru dána jednak kompresní prací k překonání tlakové ztráty a jednak kinetickou energií proudu plynu [4]. Výkon plynu vztažený na jednotku objemu kapalně vsádky byl počítán ze vztahu

$$P_G = \frac{m_G}{V_L} \left(R T_G \ln \frac{p_1}{p_2} + \frac{u_{GO}^2}{2} \right) \quad (1)$$

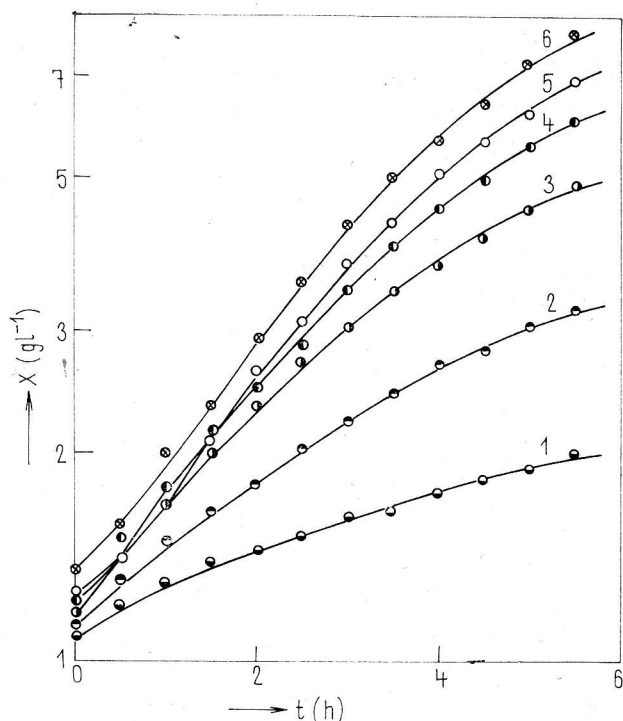
VÝSLEDKY A DISKUSE

Růstové křivky

Tvar růstových křivek (obr. 1) byl ovlivněn dosažením kyslíkové limitace. Při nejnižším průtoku vzduchu (5 $\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$) bylo dosahováno kyslíkového limitu do 15 minut od zahájení pokusu. S rostoucím průtokem vzduchu se však oblast kyslíkové limitace zmenšovala, což bylo potvrzeno sledováním koncentrace kyslíku rozpuštěného v kapalně vsádce během experimentu. Při největším vzdušnění (30 $\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$) nastávala limitace až po dvou hodinách od zahájení pokusu. Během kultivace, tj. 5,5 h, se zvýšila koncentrace kvasinek při průtoku vzduchu 5 $\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$ téměř dvakrát, zatímco při průtoku 30 $\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$ přibližně šestkrát. Maximální hodnoty měrných růstových rychlostí od 0,15 do 0,42 h^{-1} , kterých bylo dosahováno při daných průtocích vzduchu v exponenciální fázi růstu, souhlasí s hodnotami publikovanými pro kvasinky při aerobních kultivacích [5]. S rostoucím vzdušněním stoupala produktivita biomasy v oblasti kyslíkové limitace od 0,16 do 1,53 $\text{g} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Rovněž byly vypočteny hodnoty poměru P_G/p , který představuje spotřebu energie na jednotku hmotnosti produkované biomasy. Hodnoty P_G/p se zvětšují s rostoucím průtokem vzduchu v mezích od 0,53 do 0,94 $\text{W} \cdot \text{h} \cdot \text{g}^{-1}$. Zahradník et al. [6] uvádějí pro kultivace kvasinek kmene *Candida utilis* ve fermentoru s ejektorovým distributorem plynu energetickou spotřebu 1,64 $\text{W} \cdot \text{h} \cdot \text{g}^{-1}$.

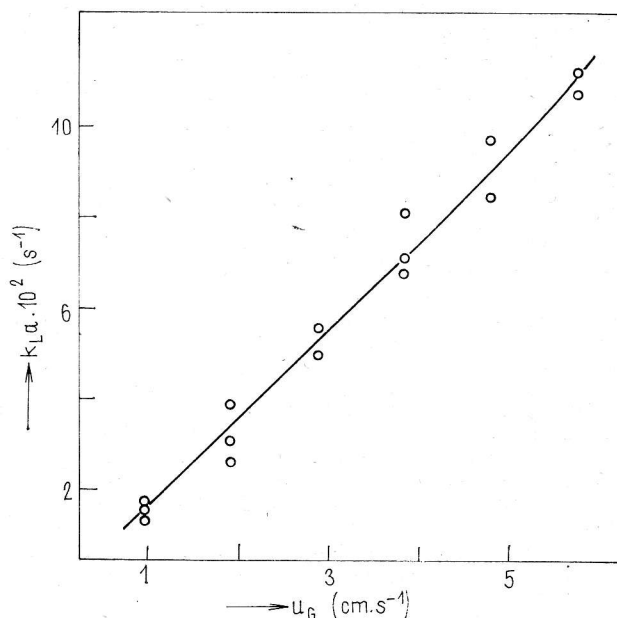
Přestup kyslíku

Objemový součinitel přestupu $k_L a$ byl určen z bilance kyslíku v plynné fázi [1, 2]. Je však třeba poznamenat, že změna koncentrace kyslíku v plynu po průchodu fermentorem byla většinou menší než 1 obj. %. Největší



Obr. 1. Růstové křivky.
Vzdušnění ($l \cdot min^{-1}$): 1 — 5, 2 — 10, 3 — 15,
4 — 20, 5 — 25, 6 — 30

snížení koncentrace kyslíku bylo ze 20,95 obj. % na 19,2 obj. %. Poněvadž se neprojevil jednoznačně vliv doby kultivace na hodnotu koncentrace kyslíku ve výstupním plynu při jednotlivých vzdušnících, byly vsádkové kultivace charakterizovány průměrnou hodnotou k_{La} , která byla získána na základě výsledků analýzy vzorků plynu. Jak vyplývá z obr. 2, rostla hodnota obje-



Obr. 2. Závislost objemového součinitele přestupu kyslíku na lineární rychlosti vzduchu

mového součinitele přestupu kyslíku s rostoucím vzdušnícím a pohybovala se v mezích od 0,014 do 0,11 s^{-1} . Hodnoty k_{La} znázorněné na obr. 2 byly dosaženy při alespoň jedenkrát opakovaných kultivacích a jejich kolísání při daném vzdušnícím je zřejmě způsobeno přesností metody použité ke stanovení koncentrace plyných

složek. Pro srovnání lze uvést údaje publikované pro kultivace kvasinek kmene *Candida utilis*. V mamutkovém fermentoru s jednou vnitřní trubkou bylo v rozsahu objemových průtoků vzduchu od 5 do 20 $l \cdot min^{-1}$ [1, 2] dosaženo přibližně stejných hodnot k_{La} jako v této práci. Při použití fermentoru s míchadlem uvádějí Páca et al. [7] k_{La} přibližně od 0,025 do 0,05 s^{-1} pro kultivace v kalcium-bisulfitových a natrium-bisulfitových výluzích, zatímco pro fermentory o různých pracovních objemech jsou Votrubou et al. [8] uváděny k_{La} od 0,181 do 0,321 s^{-1} . Při použití ejektorového distributoru plynu [6] bylo dosahováno hodnot k_{La} od 0,127 do 0,212 s^{-1} .

Objemový součinitel přestupu kyslíku bývá vyjadřován v závislosti na rychlosti plynu [4] nebo na výkonu plynu [9]. Metodou nejmenších čtverců byly vypočteny regresní koeficienty pro závislosti k_{La} (s^{-1}) jednak na lineární rychlosti vzduchu u_G ($m \cdot s^{-1}$)

$$k_{La} = 2,31 u_G^{1,07} \quad (2)$$

(koeficient korelace 0,973), jednak na výkonu plynu P_G ($W \cdot m^{-3}$)

$$k_{La} = 5,21 \cdot 10^{-4} P_G^{0,77} \quad (3)$$

(koeficient korelace 0,970). Rovněž byla vypočtena kritériální závislost, v níž naměřené hodnoty objemového součinitele přestupu kyslíku byly zahrnuty do Sherwoodova čísla a vyjádřeny v závislosti na charakteru toku kapalně vsádky (Re_L) a na zadržích plynu (ε_G) ve tvaru

$$Sh = 1,23 \cdot 10^4 Re_L^{0,50} \varepsilon_G^{0,82} \quad (4)$$

(koeficient korelace 0,977). Korelace [4] byla odvozena pro rozmezí Re_L od $2,1 \cdot 10^4$ do $4,7 \cdot 10^4$ a ε_G od 0,02 do 0,11. Poněvadž změny látkových vlastností kapalně vsádky (viskozita, hustota) nebyly během kultivací výrazné, byly dosazovány do Reynoldsova čísla jejich průměrné hodnoty.

Dosažené výsledky byly porovnány i z hlediska energetických požadavků. Pro jednotlivé průtoky vzduchu byly vypočteny hodnoty objemového součinitele přestupu kyslíku vztaheného na jednotku výkonu plynu, tj. k_{La}/P_G . Hodnoty k_{La}/P_G klesaly s rostoucím průtokem vzduchu v rozmezí od 0,164 do 0,091 $m^3 \cdot kW^{-1} \cdot s^{-1}$ a byly větší než hodnoty k_{La}/P_G (0,021 a 0,034 $m^3 \cdot kW^{-1} \cdot s^{-1}$) uváděné v práci [6].

Při porovnání dosažených výsledků s publikovanými údaji je třeba uvážit vliv typu aparatury, jejich konstrukčních parametrů, ale i pracovních podmínek na hodnotu objemového součinitele přestupu kyslíku, která je však i závislá na zvolené metodě jeho stanovení. Proto bude třeba získané výsledky prověřit pro větší soubor experimentálních dat.

Seznam symbolů

D	difuzivita kyslíku ve vodě ($m^2 \cdot s^{-1}$)
d	vnitřní průměr fermentoru (m)
k_{La}	objemový součinitel přestupu kyslíku (s^{-1})
m_G	průtok plynu ($kg \cdot s^{-1}$)
P_G	výkon plynu vztahený na jednotkový objem kapalně vsádky ($W \cdot m^{-3}$)
p	celková produktivita biomasy ($g \cdot l^{-1} \cdot h^{-1}$)
p_1, p_2	tlak plynu na vstupu, resp. na výstupu (Pa)
R	plynová konstanta ($J \cdot kg^{-1} \cdot K^{-1}$)
Re_L	($= d u_L \rho_L / \eta_L$) Reynoldsovo číslo
Sh	($= k_{La} d^2 / D$) Sherwoodovo číslo
T_G	střední teplota plynu (K)
t	čas (h)
u_G	lineární rychlost plynu ($m \cdot s^{-1}, cm \cdot s^{-1}$)
u_{GO}	rychlost plynu v otvorech rozdělovače ($m \cdot s^{-1}$)
u_L	střední rychlost kapaliny ($m \cdot s^{-1}$)
V_L	objem kapaliny (m^3)
X	koncentrace biomasy ($g \cdot l^{-1}$)
ε_G	celková relativní zadrž plynu
ρ_L	hustota kapaliny ($kg \cdot m^{-3}$)
η_L	dynamická viskozita kapaliny (Pa · s)

Literatura

- [1] POTUČEK F., STEJSKAL J.: Kvas. prům. 27, 1981, s. 161,

- [2] POTUČEK F., STEJSKAL J.: Sborník věd. prací VŠCHT Pardubice 44, 1981, s. 187.
 [3] ŠTROS F., RYBÁŘOVÁ J.: Kvas. prům. 28, 1982, s. 64.
 [4] DECKWER W. D.: Bubble Column Reactors, in Biotechnology, 2, VCH Verlagsgesellschaft mbH Weinheim 1985, s. 457.
 [5] SIKYTA B.: Biotechnologie pro farmaceuty (skriptum). KU Praha 1984.
 [6] ZAHRADNÍK J. et al.: Collect. Czech. Chem. Commun. 48, 1983, s. 1984.
 [7] PÁCA J., KUJAN P., MATĚJŮ V.: Kvas. prům. 26, 1980, s. 222.
 [8] VOTRUBA J., SOBOTKA M., PROKOP A.: Biotechnol. Bioeng. 19, 1977, s. 1553.
 [9] GBWONYO K., WANG D. I. C.: Biotechnol. Bioeng. 25, 1983, s. 2873.

Lektorovala Ing. J. Rybářová, CSc.
a Ing. J. Páca, CSc.

Potuček, F.: Přestup kyslíku při jednorázové kultivaci. Kvas. prům., 36, 1990, č. 4, s. 106—108.

Práce se zabývá studiem přestupu kyslíku při vsádkových kultivacích v mamutkovém fermentoru. Intenzita přestupu kyslíku byla charakterizována jeho objemovým součinitelem přestupu, který byl stanoven bilanční metodou pro plynnou fázi. Dosažené hodnoty $K_L a$ byly popsány korelačními vztahy a diskutovány i z hlediska energetické spotřeby. Rovněž byly vyhodnoceny růstové charakteristiky kultivovaných kvasinek kmene *Torulopsis ethanolitolerans*.

Потучек, Ф.: Передача кислорода при однократном культивировании. Квас. прум., 36, 1990, № 4, стр. 106—108.

Работа занимается исследованием передачи кислорода при насадочном культивировании в эрлифтном ферменторе. Интенсивность передачи кислорода была характеризована его объемным коэффициентом передачи,

который был установлен методом баланса для газообразной фазы. Достигнутые величины $K_L a$ были описаны корреляционными отношениями и они обсуждались с точки зрения энергетического потребления. Также была проведена оценка характеристик роста культивируемых дрожжей штамма *Torulopsis ethanolitolerans*.

Potuček, F.: Oxygen Transfer During Batch Culture. Kvas. prům., 36, 1990, No. 4, pp. 106—108.

The oxygen transfer during batch cultivations in airlift fermenter was studied. The oxygen transfer rate in the fermenter was studied. The oxygen transfer rate was characterized with the volumetric coefficient ($K_L a$) that has been determined by the balance method of the gas phase. The $K_L a$ values were described by correlation equations and discussed even from the standpoint of an energy consumption. Further, the growth characteristics of yeasts *Torulopsis ethanolitolerans* were evaluated as well.

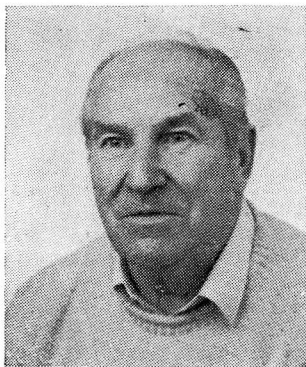
Potuček, F.: Der Sauerstoffübergang bei einschlägigen Kultivationen. Kvas. prům., 36, 1990, Nr. 4, S. 106—108.

Der Artikel befaßt sich mit dem Studium des Sauerstoff-Übergangs bei Einsatz-Kultivationen in Mammutpumpe-Fermentoren. Die Intensität des Sauerstoffübergangs wird durch seinen Volumen-Übergangskoeffizienten charakterisiert, der mittels Bilanzmethode für die Gasphase ermittelt wurde. Die erzielten Werte $K_L a$ wurden durch Korrelationsbeziehungen beschrieben und auch vom Standpunkt des Energieverbrauchs diskutiert. Weiter werden auch die Wachstumsspezifika der kultivierten Hefen des Stammes *Torulopsis ethanolitolerans* ausgewertet.

Náš rozhovor

Rozhovory s těmi, o nichž se nemluvilo

Interview se Zdeňkem Šauerem, někdejším pracovníkem VÚPS



Pane Šauere, Zdeňku, člověče, co tomu všemu říkáš?

Slyšel jsem, že jste tady v rozhodujících chvílích skandovali: Už je to tady! Už je to tady! To nejlépe vystihuje i mé současné rozpoložení. Chodím po Praze, přeždu Karlův most, zajdu na Kampu, štípu se do ruky, abych zjistil, jestli je to sen nebo skutečnost. Jsem z toho všeho úplně naměkko; vždyť já to neviděl 21 let

Jak tě uvítala Praha?

Směje se na mě, ale jednou, včera, se také zamračila. Měl jsem zadní sklo Mercedesu kaput a v autě cihlu. Vidiš, na téhle situaci ti budu moci ukázat, jak jsme se všichni změnili k lepšímu. Před třemi měsíci by ti tu příhodu s cihlou upřímně nepřáli ti čtenáři, kteří sami mají Mercedes, Audi, Volvo nebo něco podobného. Ale všichni jsme se změnili a dneska ti to nepřeji dokonce ani majitelé nejstarších typů škodovek anebo trabantů. Však to všechno nakonec dobře dopadlo. Našli si mě nějací chlapci a nabídli mi uvést to do pořádku za dva-

cet marek. Shodou okolností jsou to ti samí chlapci, kteří se už od mého příjezdu marně snaží mi vyměnit nějaké peníze.

Je vidět, že tu dlouho nebyl, takže nevíš, že máje není jen v Palermu, Neapoli, Bostonu. K jedné odrůdě tak zvané malé máje patří ti směnárnicko-cihláři-opraváři, na které jsi narazil. Ale abychom se vrátili k našemu rozhovoru — kdy jsi vlastně odešel a kam?

Odešel jsem už 22. srpna 1968. Můj syn byl v té době na stáži v SRN a právě mi zatelefonoval, že se nehodlá vrátit. Chtěli jsme udržet rodinu pohromadě, to bylo rozhodující mezi více důvody. Věděli jsme, že musíme jednat rychle. Neměli jsme nic připraveno, nic dohodováno, začínal jsem znovu od začátku, se třemi kufry a paděsáti markami. Prošli jsme stanicí Červeného kříže, kde se nás ujali, bylo to všechno narychlo z improvizované. Tehdy, v těch dnech byl na hranicích často vidět takovýchle obrázek: přijel taxík s pražským číslem, vystoupila rodina s několika zavazadly, zaplatili taxikáři a přepochodovali přes hranice.

Jak jsi našel první místo?

V té stanici Červeného kříže jsem úporně rozmýšlel, kam se vrátit. Slibovali nám zprostředkování pracovních příležitostí, ale já jsem toužil uchytit se v pivovarském nebo sladařském oboru. Vzpomněl jsem si, že firma Hopfix dělala u nás před nějakou dobou pokusy s novými chmelovými preparáty, také jsem u toho asistoval, takže jsem si kromě jména firmy pamatoval i jedno jméno. Podařilo se mi tam dovolat. Byli překvapení, když jsem se optal na možnost jakéhokoli umístění. Dostal jsem příslib, že mi do druhého dne sdělí závažnou odpověď. Ale už mě poněkud uklidnili, protože mi hned napoprvé řekli: Nějak vás využijeme. Druhý den