

**Riassunto.** — 1) E' stato sviluppato un metodo amperometrico per misure continue della concentrazione dell'ossigeno disciolto in soluzioni acquose agitate, contenenti gli ingredienti usuali per la cultura di microorganismi. Sono stati usati palloni agitati di varie forme e dimensioni e fermentatori della capacità di 10, 50, 150, 3.000 e 12.000 litri provvisti di differenti sistemi di agitazione meccanica. Sono state fatte misure in presenza e in assenza di vari microorganismi, morti e vivi.

2) Le velocità di respirazione di vari microorganismi determinate amperometricamente sono in soddisfacente concordanza con quelle determinate con i comuni metodi manometrici.

3) Le velocità di diffusione dell'ossigeno in palloni aperti, su un agitatore alternativo, dipendono dalla forma dei recipienti e dalla quantità della soluzione. La più elevata aerazione (circa 130 ml  $O_2$ /100 ml liq./ora) è stata osservata in Erlenmeyer da 1 litro, contenenti 100 ml di liquido. In palloni aperti su agitatore rotatorio le velocità di diffusione dell'ossigeno sono quasi indipendenti dalla forma del recipiente e inversamente proporzionali alla quantità della soluzione. Le aerazioni più elevate sono un po' inferiori a quelle ottenibili con un agitatore alternativo particolarmente con volumi di soluzione superiori a 100 ml. Velocità di aerazione circa 10 volte maggiori possono essere ottenute impiegando palloni provvisti di una piastra antivortice, agitati su un agitatore rotatorio. In palloni chiusi con tappi di cotone o con capsule di metallo la velocità di diffusione dell'ossigeno è molto bassa (circa 0.5 ml  $O_2$ /100 ml liq./ora) e quindi con microorganismi a intensa respirazione si stabiliscono rapidamente condizioni di quasi-anaerobiosi indipendentemente dal metodo di agitazione impiegato.

4) Determinazioni di velocità di diffusione dell'ossigeno fatte in fermentatori agitati di 10 litri confermano precedenti risultati ottenuti mediante misure col metodo del solfito. Nel sistema di aerazione a vortice esiste una relazione lineare fra il numero di giri dell'elica e la velocità della diffusione dell'ossigeno, mentre nel sistema ad antivortici la velocità di diffusione dell'ossigeno è funzione di una potenza del numero di giri al minuto dell'elica.

5) Sono state compiute misure di potenza assorbita e di velocità di

---

Un'esposizione preliminare del materiale pubblicato in questo articolo è stata fatta al II Congresso Internazionale di Biochimica tenuto a Parigi dal 24 al 27 luglio 1952. Il primo articolo di questa serie è pubblicato nel Bollettino dell'Organizzazione Mondiale di Sanità: 6. 73-97 (1952).

diffusione dell'ossigeno in fermentatori di 50, 130 e 200 litri agitati sia con il sistema libero che con quello ad antivortici.

6) Sono state compiute misure di aerazione e di assorbimento di potenza in un fermentatore di 3.000 litri. Si è osservato che con diffusori ad anello le dimensioni relative dei diametri del diffusore e delle pale dell'elica sono un fattore importante nel determinare la velocità di diffusione dell'ossigeno. Le velocità di diffusione dell'ossigeno risultarono inferiori quando il diametro del diffusore era alquanto maggiore del diametro dell'elica. Più efficiente aerazione si è ottenuta sostituendo al diffusore ad anello un tubo, ad un solo foro, situato al centro del fermentatore sotto le pale dell'elica. È stato determinato il rapporto di efficienza (definito come  $E_r = l O_2$  diffusi/watt-ora consumati) per vari sistemi di agitazione, a vortice, ad antivortice e a libera agitazione con diffusore d'aria. L' $E_r$  è compreso nella maggioranza dei casi fra 0,25 e 0,50. Nei vari metodi di aerazione che utilizzano un diffusore d'aria il rapporto d'efficienza non differisce più di due volte fra un sistema e l'altro. In nessun caso il rapporto d'efficienza variava più di 5 volte da un sistema all'altro.

7) Sono stati determinati alcuni valori della velocità di diffusione dell'ossigeno in un fermentatore di 12.000 litri con diverse condizioni di agitazione. Anche in questo caso è stato osservato un  $E_r$  compreso fra 0,30 e 0,45.

8) L'introduzione d'aria nei liquidi agitati diminuisce la potenza richiesta per l'agitazione, in varia misura a seconda del flusso d'aria e della velocità dell'elica.

9) L'assorbimento di potenza aumenta di circa il 30% in presenza del 2% di micelio di *Penicillium chrysogenum*.

10) Le velocità di diffusione dell'ossigeno diminuiscono in varia misura in presenza di diverse quantità di micelio di *Penicillium chrysogenum*.

11) Sono stati messi a confronto fra loro i rapporti di efficienza per vari sistemi di aerazione in fermentatori di diverse grandezze. Mentre l'efficienza di aerazione  $E_2$  è in larga misura indipendente dalla grandezza del fermentatore (dalla capacità di 10 litri fino a quella di 12.000 litri), il rapporto fra la potenza assorbita per l'agitazione e quella assorbita per la compressione d'aria diminuisce notevolmente al crescere delle dimensioni dei fermentatori. Pertanto nel passare di scala dalle dimensioni di laboratorio a quelle industriali può essere mantenuta, con lo stesso totale consumo di potenza, la stessa aerazione, ma l'intensità dell'agitazione meccanica viene ridotta. Questo fatto, con certi microorganismi, può avere importanti effetti fisiologici.

**Résumé.** — 1) Les Auteurs ont mis au point une méthode ampérométrique du contrôle continu de la concentration en oxygène dans les solutions aqueuses en conditions agitées et contenant les ingrédients usuels pour la culture des micro-organismes. On s'est servi de ballons agités, de diverses formes et de dimensions variables ainsi que de cuves de fermentation de 10, 15, 150, 3.000 et 12.000 litres de capacité soumises à divers systèmes d'agitation mécanique. Les mesures ont été faites en présence et en absence d'espèces diverses de micro-organismes, morts et vivants.

2) Le taux respiratoire des différents micro-organismes, déterminé par la méthode ampérométrique, concorde d'une façon satisfaisante avec la détermination obtenue par les méthodes manométriques ordinaires.

3) La diffusion de l'oxygène dans les ballons ouverts sur agitateurs à mouvement réciproque dépend de la forme des récipients et de la quantité de la solution. L'optimum d'aération (environ 130 ml. O<sub>2</sub>/100 ml. liq./heure) s'avère dans des Erlenmeyers de 1 litre, contenant 100 ml. de liquide. En ce qui concerne les ballons ouverts sur agitateur rotatoire, la diffusion de l'oxygène est quasi indépendante de la forme du récipient et inversement proportionnelle à la quantité de la solution. Le plus haut degré d'aération est quelque peu inférieur à celui obtenu avec un agitateur réciproque particulièrement si les volumes de solution sont supérieurs à 100 ml. Le taux d'aération peut être dix fois plus élevé si les ballons, placés sur l'agitateur rotatoire, sont munis d'un panneau anti-turbulent.

Dans les ballons fermés par des bouchons de coton ou des capsules de métal, le taux de diffusion de l'oxygène est très lent (env. 0,5 ml. O<sub>2</sub>/100 ml. liq./heure) et, avec des micro-organismes à respiration intense, il s'établit rapidement des conditions quasi anaérobiques, quel que soit le système d'agitation.

4) Les déterminations de la vitesse de diffusion de l'oxygène faites dans des cuves de fermentation de 10 litres, en conditions d'agitation, ont confirmé les résultats précédemment obtenus par la méthode du sulfite. Dans le système d'aération à vortex, on constate un rapport linéaire entre le nombre de révolutions de l'hélice et la vitesse de diffusion de l'oxygène tandis que dans le système employant un dispositif d'aération antivortex la vitesse de diffusion de l'oxygène est fonction d'une puissance du nombre des r.p.m.

5) On a mesuré les vitesses de diffusion de l'oxygène et la puissance absorbée dans des cuves de fermentation de 50, 130 et 200 litres soumises

aussi bien à l'agitation libre qu'au système complètement turbulent en se servant de la méthode au sulfite, afin de fournir les valeurs nécessaires à l'établissement d'une échelle pour la mesure de l'efficacité de l'aération.

6) On a mesuré l'aération et la puissance absorbée dans un tank de 3.000 litres. On a observé, avec les disperseurs à anneau, que les dimensions relatives des pales de l'hélice et des diamètres du disperseur sont un facteur important dans la détermination du taux de diffusion de l'oxygène. Les vitesses de diffusion de l'oxygène sont inférieures quand le diamètre du disperseur est de beaucoup plus grand que celui des pales de l'hélice. On a obtenu une aération plus efficace en remplaçant le disperseur à anneau par un tube ouvert placé au centre sous les pales de l'hélice. Le coefficient d'efficacité (défini comme  $E_r = 1 \text{ O}_2 \text{ diffusé/watt-heure consommé}$ ) a été déterminé pour différents systèmes d'agitation, à vortex, turbulent et à agitation libre avec un disperseur d'air. Dans la plupart des cas l' $E_r$  se situe entre 0,25 et 0,50. Pour les différents systèmes d'aération utilisant un disperseur d'air, le rapport d'efficacité ne varie pas au delà d'un facteur de 2. Dans aucun des systèmes étudiés, le facteur d'efficacité n'a varié jusqu'à un facteur de 5.

7) On a déterminé certaines valeurs de diffusion de l'oxygène dans un tank de fermentation de 12.000 litres, dans différentes conditions d'agitation. Ici encore les valeurs de  $E_r$  sont comprises entre 0,30 et 0,45.

8) L'introduction d'air dans les liquides agités diminue plus ou moins la puissance nécessaire pour l'agitation et ceci selon l'importance de la quantité du flux d'air et de la vitesse de rotation de l'hélice.

9) La puissance absorbée augmente d'environ 30% en présence de 2% de mycélium de *Penicillium chrysogenum*.

10) La vitesse de diffusion de l'oxygène diminue plus ou moins en présence de concentrations différentes de mycélium de *Penicillium chrysogenum*.

11) On a comparé entre eux les coefficients d'efficacité de différents systèmes d'aération dans des cuves de fermentation de grandeurs différentes. Tandis que l'efficacité d'aération  $E_r$  est presque indépendante de la grandeur de la cuve de fermentation (de 10 à 12.000 litres), le rapport: puissance absorbée pour l'agitation/puissance absorbée pour la compression de l'air, diminue considérablement avec l'augmentation des dimensions des cuves; ainsi, en passant de l'échelle du laboratoire à l'échelle industrielle, si le degré d'aération peut être maintenu pour la même dépense de puissance totale, l'intensité réelle d'agitation est diminuée. Les conséquences physiologiques de cette constatation peuvent être importantes selon les micro-organismes employés.

**Summary.** — 1) An amperometric method for continuous measurements of oxygen concentration in aqueous agitated solutions containing the usual ingredients for cultivation of microorganisms was developed. Agitated flasks of various shapes and dimensions and stirred 10, 50, 150, 3,000 and 12,000-litre fermenters with different mechanical conditions of agitation were used. Measurements were made in presence and absence of various microorganisms, dead and living.

2) Respiration rates determined amperometrically for various microorganisms are in satisfactory agreement with the conventional manometric methods.

3) Oxygen diffusion rates in open flasks, on a reciprocating shaker, depend on their shape and the amount of solution. Optimal aeration (about 130 ml  $O_2$ /ml liq./hour) was found in 1-litre Erlenmeyer flasks. On a rotary shaken the oxygen diffusion rates are almost independent of their shape and inversely proportional to the amount of solution. Optimal aerations are somewhat lower than those obtainable with the reciprocating shaker, particularly with volumes of solution exceeding 100 ml. About 10 times higher aeration rates can be obtained employing shake flasks fitted with a baffle plate and agitated on a rotary shaker. In flasks closed with the usual cotton-wool plugs or metal caps, oxygen diffusion rate is very low (about 0.5 ml  $O_2$ /100 ml liq./hour) and, with intensively respiring microorganisms quasi-anaerobic conditions are rapidly established, whatever the method of agitation employed.

4) Oxygen diffusion rate determinations in 10-litre stirred fermenters, confirm previous results obtained by sulphite measurements. In the vortex system of aeration, a linear relationship exists between the number of revolutions of the propeller and the rate of oxygen diffusion, while in the fully baffled system the rate of oxygen diffusion is a function of a power of the r.p.m.

5) Oxygen diffusion rates and power absorption measurements in 50, 130 and 200-litre fermenters stirred with both free and fully baffled systems of agitation have been carried out with the sulphite method, to provide values for the scaling up of the data for aeration efficiency.

6) Aeration and power absorption measurements were made in a 3,000-litre tank. With ring spargers the relative diameter dimensions of sparger and propeller blades were shown to be an important factor in determining the rate of oxygen diffusion. Oxygen diffusion rates were higher when the ring sparger was replaced by an open tube placed centrally under the propeller blades. The efficiency ratio (defined as  $E_r = 1 O_2$  diffused/watt hour consumed) was determined for various

systems of agitation such as the vortex system, the fully baffled system, and the system of free agitation in the presence of an air sparger. The  $E_r$  lies in most cases between 0.25 and 0.50. For different aeration systems utilizing an air sparger, the efficiency ratio does not vary more than a factor of 2. With none of the systems investigated did the efficiency factor differ by as much as a factor of 5.

7) A few values of oxygen diffusion rates were determined in a 12,000 litre fermenter under different conditions of agitation. There again  $E_r$  was found to be between 0.30 and 0.45.

8) The introduction of air into the stirred liquids decreases to a varying degree the power required for agitation depending on the rate of air flow and the propeller speed.

9) Power absorption increases by about 30% in the presence of 2% mycelium of *Penicillium chrysogenum*.

10) Oxygen diffusion rates decrease to a varying degree in the presence of different amounts of mycelium of *Penicillium chrysogenum*.

11) The aeration efficiencies of various systems of aeration in reactors of different sizes are compared. While the aeration efficiency  $E_r$  is largely independent on the fermenter size (from 10 litre to 12,000 litre capacity) the ratio power absorbed for agitation/power absorbed for air compression decreases markedly with increasing fermenter size. Therefore in scaling up from laboratory to industrial dimensions the aeration rate may be maintained for the same total power expenditure, but the agitation intensity proper is reduced. With certain micro-organisms this may have important physiological effects.

**Zusammenfassung.** — 1) Eine amperometrische Methode für kontinuierliche Messungen der Sauerstoffkonzentration in gerührten wässrigen Lösungen mit den üblichen Bestandteilen für die Kultur von Mikroorganismen wurde entwickelt. Hierbei gelangten Schüttelkolben verschiedener Formen und Grössen sowie Fermenter von 10, 50, 150, 3000 und 12000 Litern Inhalt mit Rührvorrichtungen verschiedener Typen zur Verwendung. Die Messungen wurden in Gegenwart sowie in Abwesenheit verschiedener toter und lebender Mikroorganismen durchgeführt.

2) Der amperometrisch festgestellte Sauerstoffverbrauch verschiedener Mikroorganismen stimmte mit den üblichen manometrischen Messungen zufriedenstellend überein.

3) Die Sauerstoffdiffusionsgeschwindigkeit in offenen Gefässen auf einer Schüttelmaschine mit reziproker Bewegung hängt von der Form

der Gefässe sowie von der Menge der vorhandenen Lösung ab. Optimale Sauerstoffdiffusionsgeschwindigkeiten (rund 130 ml O<sub>2</sub>/100 ml Flüssigkeit pro Stunde) wurden bei Verwendung von Erlenmeyer-Kolben von 1 Liter Inhalt mit 100 ml Flüssigkeit erreicht. Bei offenen Gefässen auf einer Schüttelmaschine mit Rotationsbewegung ist die Sauerstoffdiffusionsgeschwindigkeit ziemlich unabhängig von der Form der Schüttelgefässe und umgekehrt proportional zu der Menge der vorhandenen Lösung. In diesem Fall ist die optimale Durchlüftung etwas niedriger als die optimalen Sauerstoffdiffusionsgeschwindigkeiten, die mit einer Schüttelmaschine mit reciproker Bewegung erhalten werden können, besonders wenn Lösungsmengen von mehr als 100 ml verwendet werden. Zehmal höhere Durchlüftungswerte können durch Verwendung von mit Prallplatten versehenen Gefässen auf einer Schüttelmaschine mit Rotationsbewegung erzielt werden. Bei mit dem üblichen Wattebausch oder mit Metallkappen geschlossenen Gefässen ist die Sauerstoffdiffusion sehr gering (etwa 0,5 ml O<sub>2</sub>/100 ml Flüssigkeit/Stunde), so dass bei intensiv atmenden Mikroorganismen sehr schnell praktisch anaerobe Bedingungen eintreten, gleichgültig welche Schüttelbewegung zur Anwendung gelangt.

4) Die Bestimmung der Sauerstoffdiffusionsgeschwindigkeit in mit mechanischer Rührung versehenen Fermentern von 10 Litern Inhalt bestätigt die früheren, mit Sulfit-Messungen erhaltenen, Ergebnisse. Bei Durchlüftung mittels des « Vortex » systems besteht eine geradlinige Beziehung zwischen der Tourenzahl des Rührers und der Sauerstoffdiffusionsgeschwindigkeit, während bei Rührung in Gegenwart von Prallplatten die Sauerstoffdiffusionsgeschwindigkeit eine Funktion einer Potenz der Tourenzahl des Rührers ist.

5) Messungen der Sauerstoffdiffusionsgeschwindigkeit als Funktion des Kraftverbrauches wurden in mit mechanischer Rührung versehenen Fermentern von 50, 130 und 200 l Inhalt unter Verwendung verschiedener Belüftungssysteme (Vortexsystem und Rührung in Gegenwart von Prallplatten) mit der Sulfit-Methode durchgeführt, um Vergleichswerte für Belüftungsleistungen bei Aufwertung von Laboratoriums- zu Semiindustrieskala zu erhalten.

6) Messungen der Sauerstoffdiffusionsgeschwindigkeit wurden in einem Fermenter von 3000 l Inhalt durchgeführt. Es wurde gezeigt, dass bei Verwendung von ringförmigen Luftverteilern die Sauerstoffdiffusionsgeschwindigkeit weitgehend von dem Verhältnis Durchmesser des Luftverteilers/Durchmesser der Rührflügel abhängig ist. Wenn der Durchmesser des Luftverteilers erheblich grösser als der Durchmesser des Rührflügels ist, sinkt die Sauerstoffdiffusionsgeschwindigkeit erheblich ab. Der

Belüftung-Leistungskoeffizient  $E_r$  (Diffundierter  $O_2$  (in l)/Wattstunde) wurde für verschiedene Belüftungsverfahren bestimmt und zwar für das Vortexsystem, und Verfahren, die auf Luftverteilung eines durch die Lösung geblasenen Luftstromes in Gegenwart und Abwesenheit von Prallplatten beruhen. In den meisten Fällen liegt der  $E_r$ -Wert zwischen 0,25 und 0,50. In Belüftungssystemen in denen ein durch die Lösung geblasener Luftstrom verteilt wird, ändert sich der Belüftungskoeffizient um höchstens einen Faktor von 2. Bei keinem der untersuchten Belüftungssysteme ändert sich der Leistungskoeffizient mehr als zu einem Faktor von 5.

7) Einige Messungen der Sauerstoffdiffusionsgeschwindigkeit wurden in einem Fermenter von 12000 l Inhalt unter verschiedenenen Rührbedingungen durchgeführt. Auch hier wurden  $E_r$ -Werte zwischen 0,30 und 0,45 gefunden.

8) Die Einführung von Luft in Flüssigkeiten während des Rührens vermindert in verschiedenem Ausmass den für das Rühren erforderlichen Kraftverbrauch je nach der Stärke des Luftstroms und der Tourenzahl der Rührers.

9) Der Kraftverbrauch erhöht sich um etwa 30% in Gegenwart von 2% Mycelium.

10) Die Sauerstoffdiffusionsgeschwindigkeit vermindert sich in verschiedenem Ausmass in Gegenwart verschiedener Mengen von Mycelium.

11) Die Leistungsfähigkeit von Belüftungssystemen in Reaktionsgefässen verschiedener Grösse wurde verglichen. Während der Leistungskoeffizient  $E_r$  weitgehend von der Grösse des Fermenters (von 10 l bis zu 12000 l Fassungsvermögen) unabhängig ist, vermindert sich das Verhältnis Kraftverbrauch für Rührung zu Kraftverbrauch für Luftkompression sehr stark mit der Zunahme der Grösse des Fermenters. Daher bleibt der Gesamtkraftverbrauch (Rührung plus Luftkompression) für eine bestimmte Sauerstoffdiffusion beim Aufwerten von Laboratoriums- zu Industrieskala konstant, jedoch sinkt der Kraftverbrauch für die Rührung. Dieser Faktor kann für einige Mikroorganismen wichtige Änderungen im Stoffwechsel hervorrufen.

---

## INTRODUZIONE

Uno dei fattori che determinano l'andamento del metabolismo dei microorganismi aerobi è la quantità di ossigeno posto a loro disposizione. La richiesta di ossigeno dei microorganismi varia con la loro età perchè la velocità di respirazione è più alta quando sono giovani e si moltiplicano attivamente. Se la quantità di ossigeno necessaria a mantenere la loro respirazione al più alto livello è maggiore di quella fornita, i microorganismi si adatteranno alle condizioni di carenza di ossigeno con più o meno profonde variazioni nel loro metabolismo, a seconda del grado di carenza stesso. La quantità di ossigeno che i microorganismi possono utilizzare dipende dalla velocità con la quale il gas viene disciolto (diffuso) nel liquido culturale. Solo l'ossigeno disciolto nei terreni culturali può essere utilizzato; non vi è, infatti, nessuna prova che i microorganismi possano assorbire l'ossigeno direttamente dalla fase gassosa.

Per mantenere i microorganismi aerobi nelle condizioni metaboliche desiderate è necessario mantenere un'adatta velocità di soluzione dell'ossigeno. E' quindi di fondamentale importanza poter determinare la velocità di diffusione dell'ossigeno nei mezzi culturali. La velocità di diffusione nell'acqua può essere determinata agevolmente col metodo al solfito di COOPER, FERNSTROM e MILLER <sup>(1)</sup> nel quale viene seguita iodometricamente l'ossidazione catalitica da parte dell'aria dello ione solfito a solfato in presenza di ioni rameici. In questo metodo la velocità di ossidazione del solfito a solfato è eguale alla velocità di diffusione dell'ossigeno in una soluzione di solfito a concentrazioni di ossigeno uguale a zero.

Un vasto impiego di questo metodo è stato fatto nella prima parte di questo lavoro (CHAIN, PALADINO, CALLOW, UGOLINI e VAN DER SLUIS <sup>(2)</sup>), nella quale si era intrapreso uno studio sistematico dei fattori meccanici da cui dipende l'efficienza dell'aerazione, cioè a dire, agitazione con e senza antivortici, flusso d'aria, tipi di sparger, ecc. Il metodo al solfito, mentre è un mezzo eccellente di gran semplicità per confrontare fra loro l'efficienza dei vari sistemi di agitazione in differenti tipi di fermentatori, non è, ovviamente applicabile a sistemi biologici.

Un altro metodo che può essere applicato per misurare la velocità di diffusione dell'ossigeno è quello di determinare polarograficamente l'ossigeno disciolto <sup>(3)</sup>. Questo metodo che è già stato applicato con suc-

<sup>(1)</sup> COOPER C. M., FERNSTROM G. A. e MILLER S. A. - *Ind. Eng. Chem.*, 36, 304 (1944).

<sup>(2)</sup> CHAIN E. B., PALADINO S., CALLOW D. S., UGOLINI F. e VAN DER SLUIS J. - *Bull. World Hlth Org.*, 6, 73 (1952).

<sup>(3)</sup> KALTHOFF J. M. e LINGANE J. J. - « *Polarography* », 2<sup>a</sup> Ed., Vol. II (1952). Interscience Publishers, New York.

cesso a sistemi biologici nella misura della velocità di respirazione di diversi microorganismi, può essere impiegato anche nella determinazione della velocità di aerazione in presenza di microorganismi (4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17).

L'efficienza di un sistema di aerazione può essere misurata quantitativamente, determinando la velocità con la quale l'ossigeno si scioglie in soluzioni acquose, che siano state precedentemente private di ossigeno dal passaggio di una corrente di azoto. La concentrazione dell'ossigeno disciolto nelle soluzioni acquose può essere determinata polarograficamente a diversi intervalli di tempo fino al raggiungimento della saturazione. Si ottiene così una curva logaritmica, tipica del fenomeno della diffusione. Da questa è possibile determinare la velocità di soluzione dell'ossigeno per ogni concentrazione di ossigeno desiderata. Di metodi polarografici per la determinazione della velocità di soluzione dell'ossigeno ne sono stati pubblicati parecchi. In tutti questi viene usato l'elettrodo a goccia di mercurio. Una delle principali difficoltà tecniche incontrate in questo tipo di lavoro deriva dal fatto che tutte le soluzioni da aerare sono agitate. L'efficienza dell'aerazione dipende, infatti, dal grado di turbolenza della miscela acqua-aria, turbolenza che viene creata da differenti sistemi di agitazione e di diffusione (2).

La turbolenza influisce sulle dimensioni delle gocce e sul periodo di gocciolamento del mercurio e quindi compromette la precisione e la riproducibilità delle misure polarografiche. È quindi di fondamentale importanza prendere tutte quelle precauzioni che possano garantire che la determinazione della velocità di diffusione dell'ossigeno avvenga in condizioni tali che l'influenza della turbolenza sulla formazione delle gocce di mercurio sia ridotta al minimo. Sono stati pubblicati tre metodi di determinazione della velocità di diffusione in soluzioni aerate ed agitate nei quali si tenta in diversi modi di ovviare alla difficoltà suesposta. Due di questi metodi sono discontinui (11, 17). Essi consi-

- 
- (4) BAKER E. G. S., BAUMBERGER J. P. - *J. Cell. & Comp. Physiol.*, 17, 283 (1940).  
(5) BAUMBERGER J. P. - Abstr. from Kongress Bericht II, XVI Int. Physiol Congress, Zürich (1938).  
(6) BAUMBERGER J. P. - *Am. J. Physiol.*, 123, 10 (1938).  
(7) BAUMBERGER J. P. - *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, 7, 195 (1939).  
(8) BAUMBERGER J. P., LEONG G. F. e BARDWELL K. - *Federation Proc.*, 7, 6 (1948).  
(9) DIRSCHLER W. e BERGMAYER H. U. - *Biochem. Z.*, 321, 68 (1930).  
(10) DU BOY H. G. e OLSON R. A. - *Am. J. of Botany*, 27, 401 (1940).  
(11) HIXSON A. W. e GADEN E. L. - *Ind. Eng. Chem.*, 42, 1792 (1930).  
(12) OLSON R. A., BRACKETT F. S. e CHRICKARD R. G. - *J. Gen. Physiol.*, 32, 681 (1949).  
(13) PETERING H. G., DUGGAR B. M. e DANIELS F. J. - *J. Am. Chem. Soc.*, 61, 3525 (1939).  
(14) SKERMAN V. B. D. e MILLIS E. B. - *Australian J. Expl. Biol. Med. Sci.*, 27, 183 (1949).  
(15) WINZLER R. J. - *J. Cell. and Comp. Physiol.*, 17, 263 (1940).  
(16) ZIMMERMANN J. F. e BERRY L. J. - *Biochim. et Biophys. Act.*, 3, 615 (1949).  
(17) WISE W. S. - *J. gen. Microbiol.*, 1, 167 (1951).

stono nel prelevare campioni della soluzione agitata e di portarli in una usuale cella con elettrodo a goccia di mercurio. Questi metodi hanno parecchi inconvenienti. 1) E' impossibile misurare con precisione elevate velocità di aerazione a motivo della difficoltà di prelevare i campioni con sufficiente rapidità. 2) In presenza di microorganismi viventi è necessario ucciderli quasi istantaneamente durante il prelievo del campione, per evitare che essi possano continuare ad assorbire ossigeno dalla soluzione. 3) Non è facile impedire l'entrata di piccole quantità d'aria durante il trasferimento del campione dal recipiente agitato alla cella polarografica.

L'altro metodo per la determinazione della velocità di diffusione è continuo<sup>(18)</sup>. L'elettrodo a goccia di mercurio è sì posto nel liquido culturale aerato ed agitato, ma è protetto dagli effetti della turbolenza da una reticella di fili metallici. Le misure della concentrazione dell'ossigeno disciolto vengono fatte sia in presenza che in assenza di microorganismi. L'inconveniente di questo metodo è che è difficile trovare una reticella con maglie di dimensioni adatte: abbastanza fitte da assicurare una efficace protezione contro la turbolenza del liquido, ma non tanto da influire sulla libera diffusione del liquido stesso. Questo fattore assume una particolare importanza quando si è in presenza di microorganismi, come ad esempio funghi filamentosi, che possono otturare le maglie della rete in modo sconosciuto e non riproducibile.

Un secondo metodo utilizzabile per misure di concentrazione di ossigeno disciolto utilizza un elettrodo a mercurio « scosso » meccanicamente<sup>(19)</sup>. Questo metodo, apparso durante il corso del lavoro esposto in questo articolo, è stato applicato alla determinazione della velocità di respirazione di microorganismi in liquidi agitati da correnti di gas e sarebbe possibile adottarlo per misurare la velocità di diffusione dell'ossigeno in recipienti aerati ed agitati. Esso è, tuttavia, piuttosto complesso dal punto di vista meccanico e non può essere impiegato per alcuni dei sistemi di agitazione presi in esame in questo lavoro, come ad esempio, per l'aerazione in shake-flasks.

L'ossigeno disciolto può essere determinato polarograficamente per mezzo di un elettrodo rotante di platino<sup>(20, 21, 22, 23, 24)</sup>. In questo lavo-

---

(18) BARTHOLOMEW W. H., HAROW E. O., SFAT M. R. e WILHELM R. H. - *Ind. Eng. Chem.*, 42, 1801 (1950).

(19) BERMAN D. A., SAUNDERS P. R. e WINZLER R. J. - *Anal. Chem.*, 23, 1040 (1951).

(20) BRONK A. J. - *American Scientist*, 34, 53 (1946).

(21) GIGUERE P. A. e LAUZIER L. - *Can. J. Research*, 23B, 76 (1943).

(22) KOLTHOFF J. M. e LAITINEN H. A. - *Science*, 92, 152 (1950).

(23) LAITINEN H. A. e KOLTHOFF J. M. - *J. Phys. Chem.*, 45, 1079 (1941).

(24) MADER W. J. e FREDIANT H. A. - *J. Am. Pharm. Ass.*, 49, 24 (1951).

MARSH G. A. - *Anal. Chem.*, 23, 1427 (1951).

ro è stato scelto l'elettrodo di platino rotante per la determinazione continua della velocità di diffusione dell'ossigeno nei recipienti comunemente impiegati per le fermentazioni aerobiche, come shake-flasks di differenti forme e dimensioni e fermentatori di 10 litri variamente agitati ed aerati.

Sono state anche determinate le velocità di diffusione in fermentatori più grandi di 3.000 e 12.000 litri. Per queste misure è stato impiegato un elettrodo di platino vibrante <sup>(25, 26)</sup>.

#### METODI E MATERIALI

*Disposizione dell'apparecchiatura per misure amperometriche, con l'elettrodo di Pt rotante, della velocità di diffusione dell'ossigeno in soluzioni acquose contenute in shake-flasks e in fermentatori agitati di 10 - 3.000 - e 12.000 litri.*

##### *Recipienti.*

La velocità di aerazione è stata misurata: a) in Erlenmeyer e palloni pyrex a fondo rotondo di dimensioni diverse agitati sia su di un agitatore a moto alternativo che su di uno a moto rotatorio. b) in un recipiente cilindrico di perspex della capacità totale di 10 litri contenente 5 litri di soluzione, che poteva essere agitata meccanicamente con diverse intensità. c) in fermentatori di acciaio inossidabile, forniti di sistemi di agitazione meccanica, di 3.000 e 12.000 litri contenenti rispettivamente 2.250 e 10.000 litri di soluzione. Misure di aerazione sono state fatte anche in fermentatori di acciaio inossidabile di 50, 130 e 200 litri, ma col metodo del solfito.

##### *Agitatori.*

Le misure di aerazione in shake flask, sono state fatte usando agitatori sia del tipo a moto alternativo che a moto rotatorio.

##### *a) Agitatore alternativo.*

Per gli esperimenti riferiti in questo articolo si è usato lo stesso « shaker » alternativo di speciale costruzione impiegato anche negli studi riferiti nella nota precedente <sup>(2)</sup>. L'agitatore aveva un'elongazione di 6 cm ed una frequenza di 95 oscillazioni al minuto. Lo scuotimento era accresciuto dall'azione di un sistema di molle che conferivano al liquido contenuto negli « shake flasks » un'accelerazione supplementare alla fine di ogni oscillazione. Particolari sulla costruzione di questo agitatore sono riportati da PALADINO <sup>(27)</sup>. L'azione delle molle provoca un incremento

<sup>(25)</sup> HARRIS E. D. e LINDSEY A. J. - Nature, 162, 413 (1948).

<sup>(26)</sup> HARRIS E. D. - Analyst, 76, 647 (1951).

<sup>(27)</sup> PALADINO S. - Rend. Ist. Sup. Sanità, 17, 1260 (1954).

della turbolenza e, conseguentemente, della velocità di aerazione; ha però lo svantaggio di rendere il movimento di agitazione fortemente influenzabile dal peso totale caricato sullo « shaker » e dalla posizione del recipiente e questo porta ad una maggiore riproducibilità della velocità di aerazione.

b) *Agitatore rotatorio.*

Il progetto dell'agitatore rotatorio usato nel presente lavoro è stato fatto da Paladino (27). Esso è caratterizzato dalla semplicità della costruzione e consiste essenzialmente di una tavola obbligatoria a ruotare eccentricamente su quattro sfere metalliche. Questo agitatore è stato continuamente impiegato per parecchi mesi ed ha dato eccellenti risultati sia rispetto alla stabilità meccanica che alla riproducibilità dei risultati.

*Elettrodo di platino rotante.*

L'elettrodo è costituito da un tubetto di vetro lungo 8 cm e del diametro di 4 mm (dimensioni non critiche) con una estremità chiusa e tirata a formare una robusta punta. Un filo di platino viene introdotto in un foro a circa metà della sua lunghezza e ne è fatto uscire dalla cima. La punta del filo, scaldata nella fiamma ad ossigeno fino ad ottenere una piccola sfera di circa 1,5 mm di diametro, è saldata nel vetro in modo che sporga solo la parte sferica. L'elettrodo viene introdotto, a tenuta, al centro di un tappo di gomma del tipo usato per i flaconi della penicillina e viene tenuto fermo per mezzo di un anellino metallico che gli impedisce di scorrere lungo il foro del tappo (fig. 1).

Gli shake-flasks usati per le misure

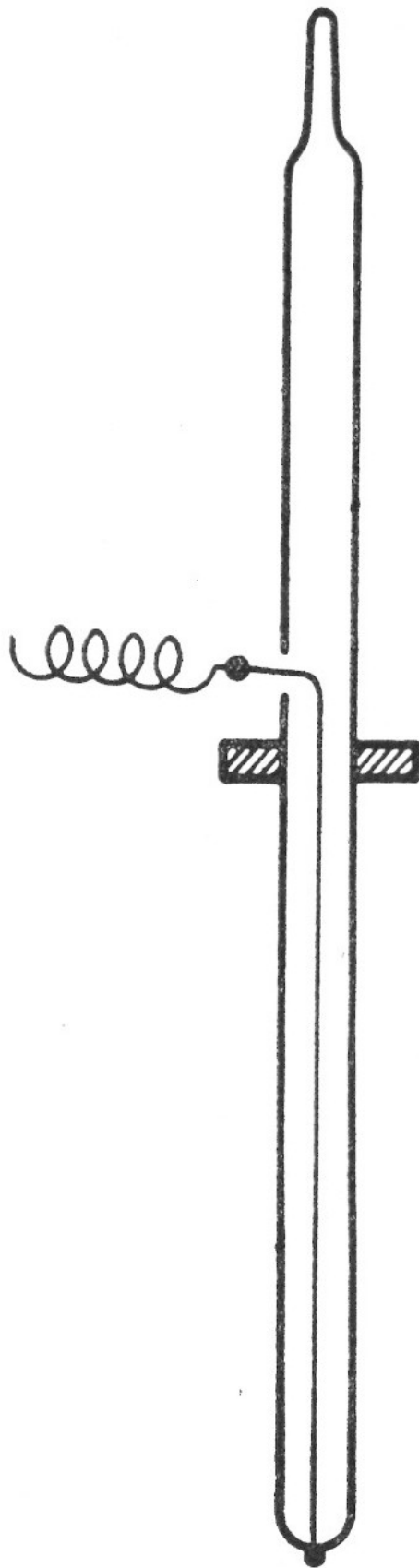


Fig. 1. - Microelettrodo rotante di platino.

di aerazione hanno saldato sul fondo un certo tubo al quale viene applicato il tappo di gomma che regge l'elettrodo. Nel recipiente di perspex l'elettrodo viene inserito lateralmente attraverso un foro ricavato nel perspex stesso. La complessiva disposizione sperimentale è illustrata in fig. 2.

Dopo esser stato inserito nel recipiente attraverso le opportune aperture l'elettrodo viene mosso da una dinamo da bicicletta che viene

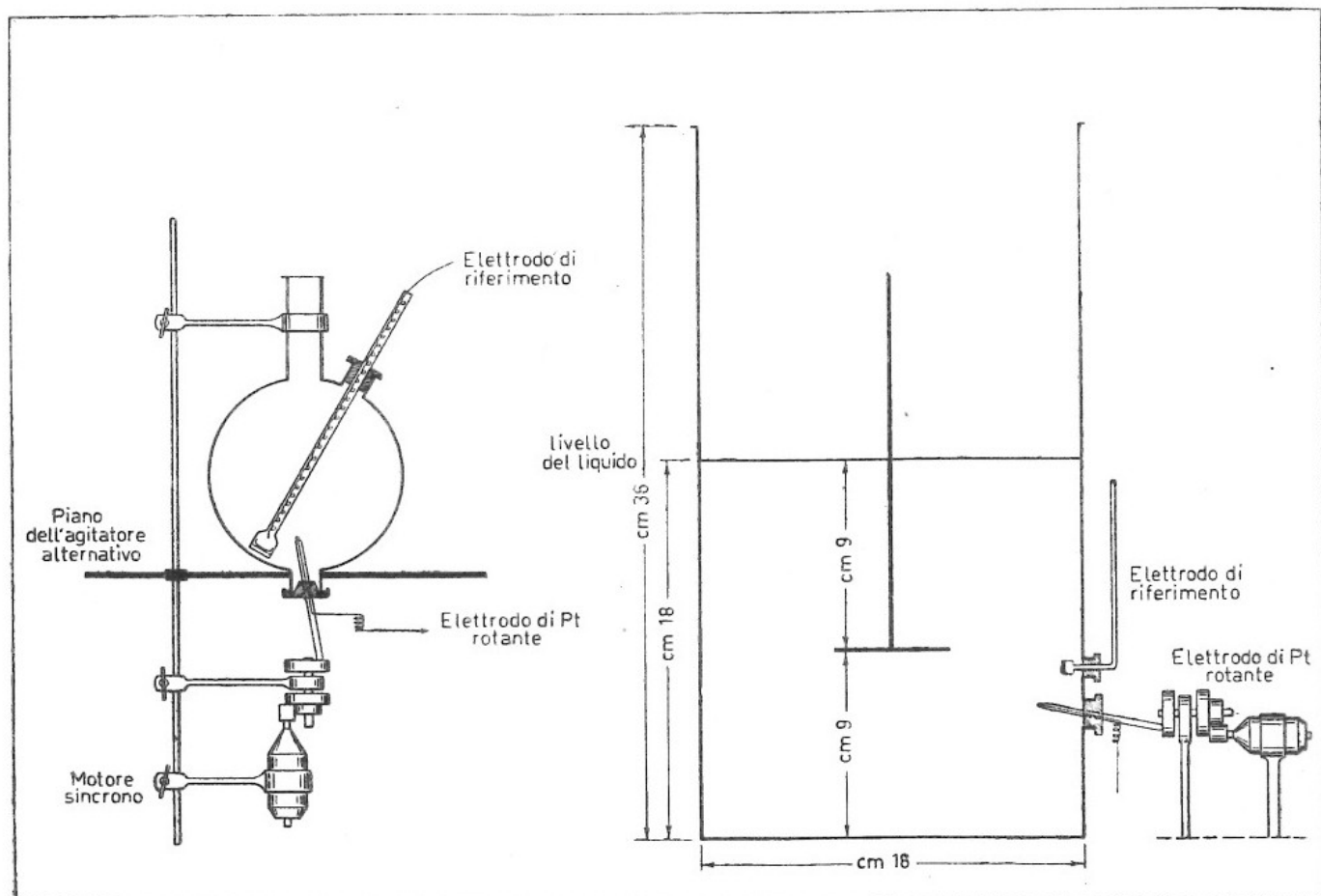


Fig. 2. - Disposizione dell'elettrodo di platino rotante per la misura continua della velocità di diffusione dell'ossigeno.

fatta funzionare come un motore sincrono (0.18 Amp. 6 volt 1500 giri al minuto). Il movimento viene trasmesso per mezzo di una puleggia a scalini con la quale si possono ottenere diverse velocità comprese fra i 600 e 1.500 giri al minuto, a seconda del grado di sensibilità desiderato. L'elettrodo, la cui parte terminale in vetro appuntita è inserita eccentricamente nella parte superiore della puleggia, è obbligato a fare un movimento doppio conico ed in tal modo la punta di platino compie un movimento circolare nell'interno del recipiente di reazione.

Dato che l'elettrodo è introdotto attraverso un tappo flessibile di gomma e non vi sono assi rotanti, esso può muoversi nel recipiente senza che siano necessari premistoppa, sigilli a liquido o altri dispositivi analoghi

*Elettrodo di platino vibrante.*

Per misurare la velocità di diffusione dell'ossigeno nelle soluzioni contenute in fermentatori da 3.000 e 12.000 litri si è impiegato un elettrodo di platino vibrante, data la sua maggior maneggevolezza in queste

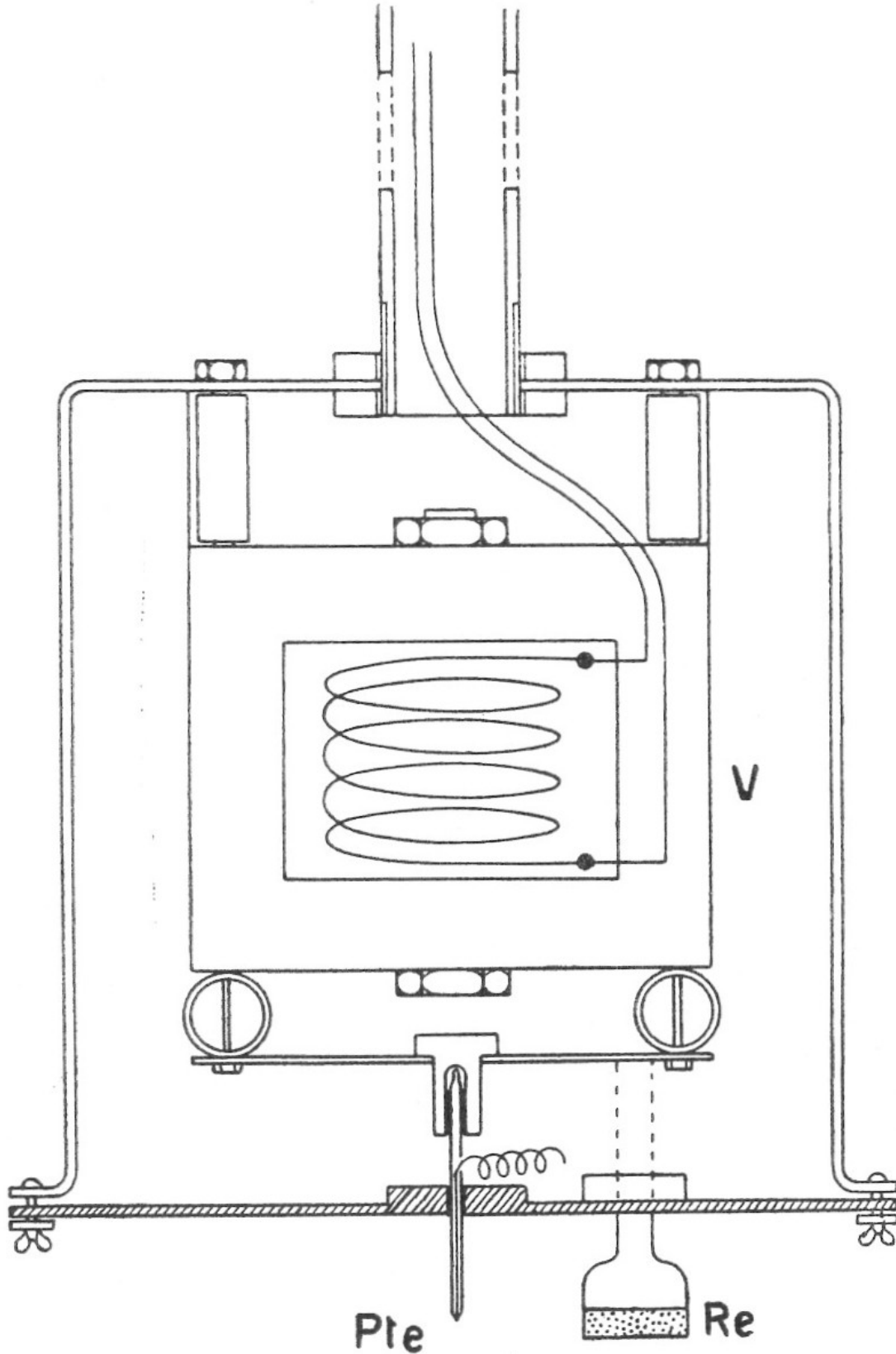


Fig. 3. - Microelettrodo vibrante di platino. - Pte = elettrodo di platino;

condizioni. L'elettrodo di platino usato con il vibratore e l'elettrodo di riferimento è lo stesso prima descritto. Il vibratore elettromagnetico è stato costruito appositamente; assorbe 20 watt, l'ampiezza della vibrazione può variare da 0.1 a 1.5 mm e la frequenza è di 50 cicli al secondo. La disposizione complessiva è mostrata nella fig. 3.

L'elettrodo vibrante e quello di riferimento sono contenuti in un cilindro d'ottone, il fondo del quale è costituito da una membrana di gomma attraverso la quale sporge l'elettrodo. Nel punto di uscita del-

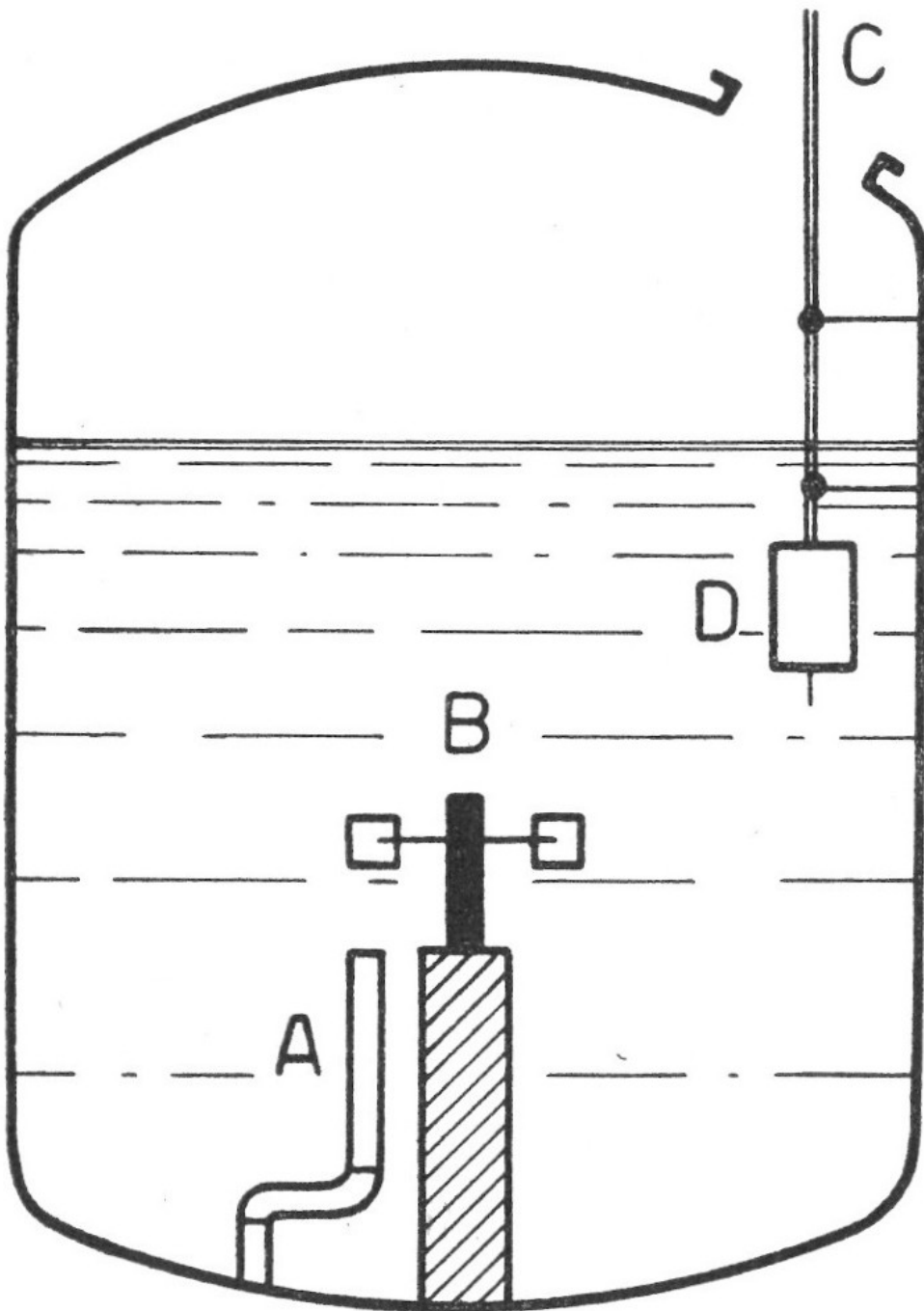


Fig. 4. - Disposizione dell'elettrodo vibrante di platino per misure di diffusione di ossigeno in fermentatori industriali.

A = diffusore d'aria; B = elica; c = oblò di ispezione;  
D = elettrodo vibrante.

l'elettrodo la membrana è rinforzata da uno strato di gomma più spessa. L'involucro in cui è rinchiuso il vibratore è unito ad un lungo tubo metallico che serve a tenerlo completamente immerso nel liquido attraverso l'oblò di ispezione (fig. 4). Nell'interno del tubo vi sono i fili di connessione con gli strumenti di misura.

#### *Elettrodo di riferimento.*

Si è usato un elettrodo di riferimento ad Ag/AgCl/KCl sat. La sua costruzione è simile a quella indicata da BROWN<sup>(28)</sup> ma contiene KCl saturo in luogo di HCl. Questo elettrodo ha una superficie anodica abbastanza grande da evitare polarizzazione e non è sensibile agli scuotimenti e alla vibrazione come un comune elettrodo a calomelano.

#### *Polarografi.*

Per il lavoro riferito in questa comunicazione si sono usati due polarografi Sargent: il modello XII e il modello XXI a registrazione automatica. Tutte le misure amperometriche sono state eseguite ad un potenziale costante di -0,9 volt applicato all'elettrodo di platino ed alla temperatura di 24°C.

#### *Misura della velocità di diffusione dell'ossigeno.*

a) *In liquidi contenuti in « shake flasks ».* — Gli « shake flasks » contenenti la quantità di liquido desiderata (soluzione 0.1 N di KCl) erano posti sull'agitatore, che quindi veniva messo in moto. L'ossigeno disciolto veniva eliminato spostandolo con una corrente d'azoto commerciale introdotta attraverso un diffusore di vetro poroso. Quando la concentrazione di ossigeno aveva raggiunto il suo valore minimo, come poteva venir seguito sul polarografo, l'agitatore veniva fermato, il diffusore veniva tolto e si aspirava lentamente aria sulla superficie del liquido per spostare l'azoto. Questo accorgimento è importante e si hanno notevoli errori nella determinazione della velocità di diffusione se si tralascia questa precauzione. Rimesso in moto l'agitatore la concentrazione dell'ossigeno veniva misurata amperometricamente e registrata continuamente fino al raggiungimento della saturazione.

b) *In liquidi agitati contenuti in un recipiente di perspex di 10 litri* — Il volume di liquido usato in tutti gli esperimenti era di 5 litri di una soluzione 0.1 N di KCl. Tutte le misure sono state compiute nel

(<sup>28</sup>) BROWN A. S. - J. Am. Chem. Soc., 56, 646 (1934).

recipiente di perspex di 10 litri più sopra ricordato e si sono determinate le velocità di aerazione ottenute con l'impiego di due metodi di agitazione meccanica: 1) il sistema vortice nel quale l'aria è aspirata dall'atmosfera nel liquido dal vortice formato dalla rapida rotazione dell'elica, ed è dispersa dalle pale dell'elica stessa all'apice del vortice (2), 2) il sistema con antivortici, nel quale l'aria entra nel liquido attraverso un tubo diffusore ed è dispersa dall'azione combinata delle pale dell'elica e degli antivortici. Per l'agitazione sono state impiegate eliche di acciaio inossidabile del tipo a turbina radiale con otto pale (dell'altezza di 15 mm) e di tre diversi diametri (55 mm, 65 mm e 75 mm) (vedi fig. 17). Le eliche ruotavano a metà altezza nel liquido. Come antivortici sono state usate quattro lamine di metallo di larghezza uguale a  $1/10$  del diametro del fermentatore, poste simmetricamente nel liquido, come descritto nel precedente articolo di CHAIN *et al.* (2).

Il « gassing out » nelle misure di aerazione con il sistema vortice, veniva compiuto gorgogliando azoto attraverso uno « sparger » di vetro poroso posto al fondo del recipiente il più vicino possibile all'elica, mentre sia l'elettrodo che l'elica erano in funzione. Durante questa operazione il fermentatore era parzialmente chiuso con un adatto coperchio di perspex per evitare un'aspirazione troppo forte dell'aria atmosferica nel liquido. Quando la concentrazione di ossigeno nel liquido aveva raggiunto il suo valore minimo, come si poteva seguire dalla registrazione amperometrica, l'agitazione veniva fermata, lo « sparger » il coperchio di perspex rimossi e si mandava una corrente d'aria sulla superficie del liquido. Poi, rimessa in moto l'elica, si seguiva la diffusione dell'ossigeno fino al raggiungimento della saturazione. Nelle misure di aerazione con il sistema di antivortici l'azoto era introdotto attraverso uno « sparger » ad un solo foro come descritto nel precedente lavoro di CHAIN *et al.* (2), mentre sia l'elica che l'elettrodo erano in funzione. Quando l'ossigeno era stato completamente rimosso veniva passata aria invece che azoto attraverso il medesimo « sparger » senza interrompere l'agitazione. La velocità di diffusione dell'ossigeno era poi misurata e registrata come sopra indicato.

c) *In fermentatori da 3.000 e 12.000 litri con agitazione meccanica.* — Si sono studiate le velocità di diffusione sotto differenti condizioni di agitazione a sistema vortice ed antivortice, La tecnica del « gassing out » era simile a quella impiegata nei fermentatori di 5 litri. I volumi di liquido erano 2.250 e 10.000 litri rispettivamente. Tutte le misure sono state fatte alla temperatura di 20°C. Come eliche sono state impiegate turbine radiali d'acciaio inossidabile ad otto pale dei diametri più oltre indicati.

*Determinazione amperometrica della velocità di respirazione dei microorganismi.*

Per determinare amperometricamente con l'elettrodo di Pt rotante la velocità di respirazione dei microorganismi si è usata una cella di misura disegnata originalmente per questo scopo (fig. 5).

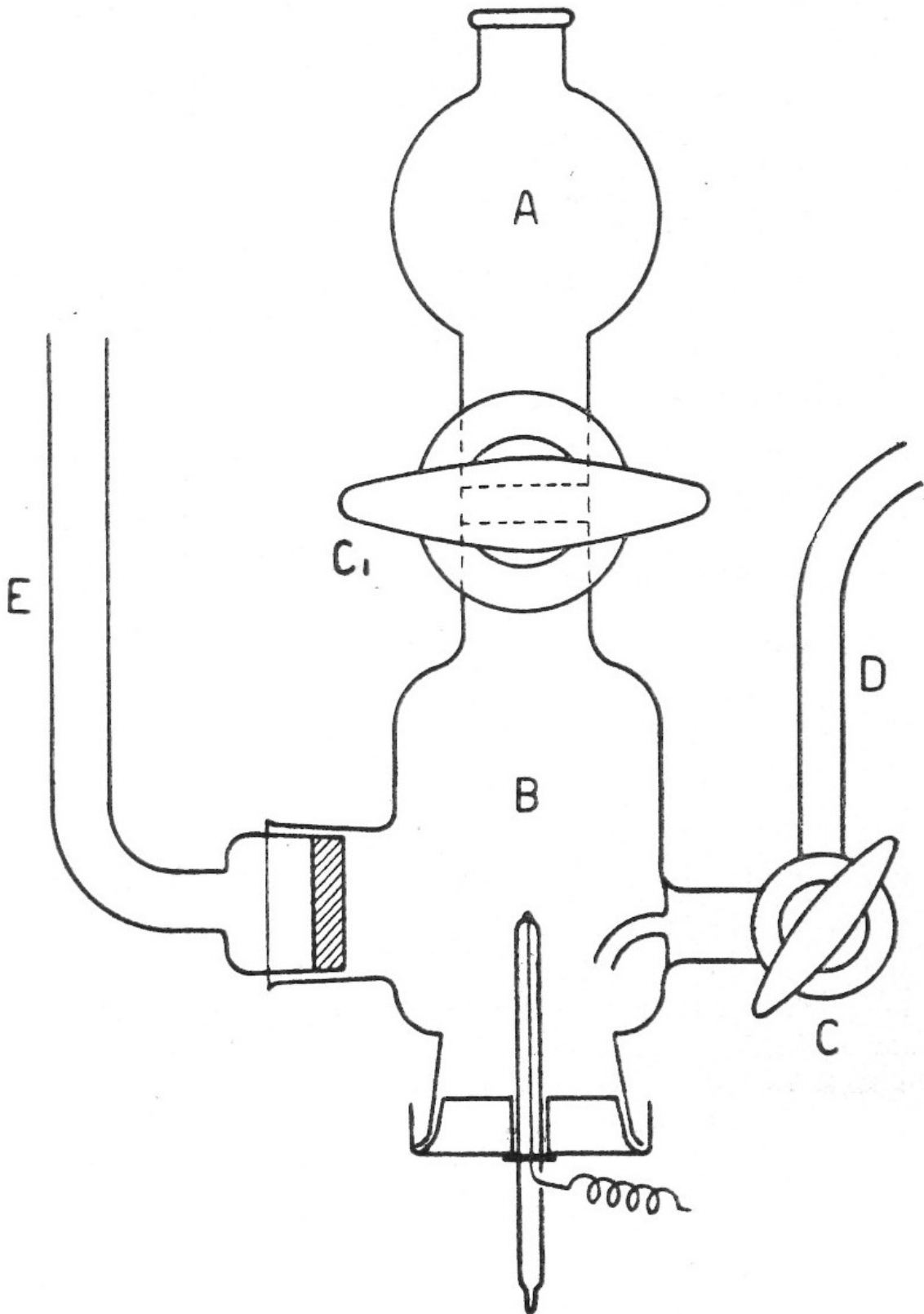


Fig. 5. - Cella per la misura del consumo di ossigeno di sistemi biologici. - A = gorgogliatore; B = camera di reazione; C<sub>1</sub> = rubinetti; D = ingresso del gas; E = elettrodo di riferimento;

La cella consiste in una camera di reazione B della capacità di 25 ml. fornita di un tubo laterale D, attraverso il quale può esser fatto passare ossigeno o aria, e di un'apertura per l'inserzione dell'elettrodo di rife-

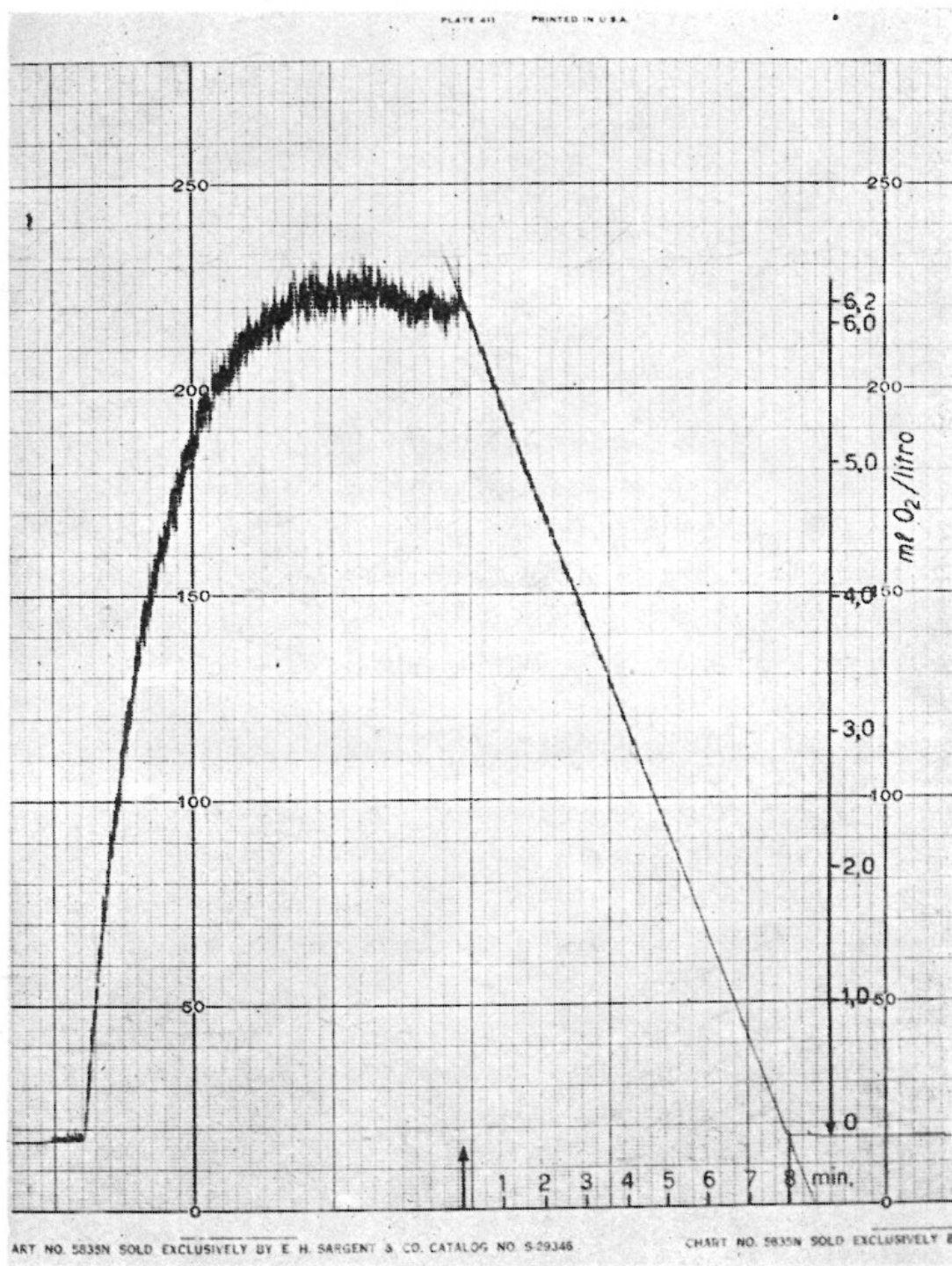


Fig. 6. - Tipica curva di assorbimento dell'ossigeno seguita amperometricamente.

rimento. Il bulbo A della capacità di 10 ml. agisce da gorgogliatore. L'elettrodo Pt. rotante viene introdotto dal fondo attraverso un tappo flessibile di gomma e mosso come precedentemente descritto. La camera di reazione è riempita con un liquido di cultura fino a che il bulbo A

sia pieno per metà e una piccola quantità (da 0.1 a 1 ml.) di una sospensione del microorganismo viene introdotta nella camera B per mezzo di una pipetta Pasteur. Attraverso il tubo D si fa gorgogliare in B e in A una corrente d'aria o di ossigeno fino al raggiungimento della saturazione. L'elettrodo di platino che viene tenuto in moto, funziona come un ottimo agitatore. Quando la misura amperometrica mostra che la soluzione è satura di ossigeno, si ferma la corrente di gas, si chiudono i rubinetti C e C<sub>1</sub>, e viene misurata e registrata continuamente la diminuzione della concentrazione di ossigeno dovuta alla respirazione del microorganismo. La quantità di microorganismi introdotti nella camera di reazione deve essere così piccola che la reazione proceda ad una velocità abbastanza bassa per ottenere misure sufficientemente accurate. La pendenza della curva dell'assorbimento dell'ossigeno indica la velocità di respirazione. La fig. 6 mostra una caratteristica curva di assorbimento da parte di una sospensione di *Penicillium chrysogenum*.

#### *Materiale biologico.*

Per confrontare il metodo amperometrico con quello manometrico di determinazione della velocità di assorbimento dell'ossigeno sono stati impiegati i seguenti sistemi che assorbono ossigeno:

a) lievito di birra lavato, sospeso in tampone fosfatico M/15 contenente 20 mg/ml di glucosio; b) *Penicillium chrysogenum* ceppo Q176, lavato, sospeso nel terreno culturale sintetico di JARVIS e JOHNSON<sup>(29)</sup>; c) una soluzione di d-amino-acido-ossidasi, contenente dl-alanina 1,0 M, preparata come indicato da KREBS<sup>(30)</sup>.

Il *Penicillium chrysogenum* usato in tutti gli esperimenti era stato fatto crescere nei fermentatori agitati di acciaio inossidabile della capacità di 10 litri, precedentemente descritti. Per studiare quantitativamente l'effetto del micelio sulla velocità di aerazione, le misure di diffusione dell'ossigeno sono state compiute anche in presenza di diverse quantità di micelio morto. Il micelio veniva ucciso riscaldandolo per 15-30 minuti a 60°C oppure aggiungendo 1% di fenolo. Quindi veniva filtrato ed aggiunto al liquido di cultura.

#### *Calcoli*

La velocità di diffusione dell'ossigeno è definita come ml O<sub>2</sub> diffusi, per ora, per 100 ml di soluzione, con una concentrazione dell'ossigeno

<sup>(29)</sup> JARVIS G. e JOHNSON M. J. - J. Am. Chem. Soc., 69, 3010 (1947).

<sup>(30)</sup> KREBS H. A. - Biochem. J., 29, 1620 (1933).

gassoso di 0,21 atm. (corrispondente alla pressione parziale dello ossigeno nell'aria secca nelle condizioni normali).

La velocità di diffusione dell'ossigeno in un liquido è descritta nell'equazione di una reazione del primo ordine cioè:

$$(1) \quad \frac{dc}{dt} = \phi (c_{\text{sat}} - c_i)$$

dove

$\frac{dc}{dt}$  = velocità di variazione della concentrazione di ossigeno (ml/100 ml/ora).

$c_{\text{sat}}$  = concentrazione di ossigeno alla saturazione di una soluzione 0.1 N di KCl = 0,56 ml/100 ml in una soluzione di KCl 0.1 N a 25°C e con una pressione parziale di ossigeno nella fase gassosa di 0.21 atm. <sup>(31)</sup>

$c_i$  = concentrazione in ossigeno (ml/100 ml di soluzione) a un dato tempo  $t_i$ .

$\phi$  = costante cinetica di reazione (ore<sup>-1</sup>).

La velocità di diffusione dell'ossigeno è, per definizione,

$$\phi \times c_{\text{sat}} \text{ ml } O_2/100 \text{ ml di soluzione/ora}$$

Dall'equazione (1) integrata, si ottiene, con semplici passaggi:

$$(2) \quad 2.303 \log c_{\text{sat}} - 2.303 \log (c_{\text{sat}} - c_i) = \phi \Delta t$$

Se  $R_{\text{sat}}$  e  $R_i$  sono gli spostamenti del galvanometro o del registratore scrivente corrispondenti alle concentrazioni  $c_{\text{sat}}$  e  $c_i$ , l'equazione (2) può essere scritta

$$(3) \quad 2.303 \log R_{\text{sat}} - 2.303 \log (R_{\text{sat}} - R_i) = \phi \Delta t$$

Un diagramma che abbia come ascisse i tempi e come ordinate i corrispondenti valori di  $\log (R_{\text{sat}} - R_i)$  risulta evidentemente una retta. La pendenza di questa retta è uguale a  $- 2.303/\phi$  e quindi

$$(4) \quad \phi = - \frac{2.303}{\text{pendenza}}$$

<sup>(31)</sup> SEIDELL A. - « Solubilities of Inorganic and Metal-Organic Compounds », 3<sup>a</sup> Ed., Vol. I (1940) D. Van Nostrand Co. Inc., New York.

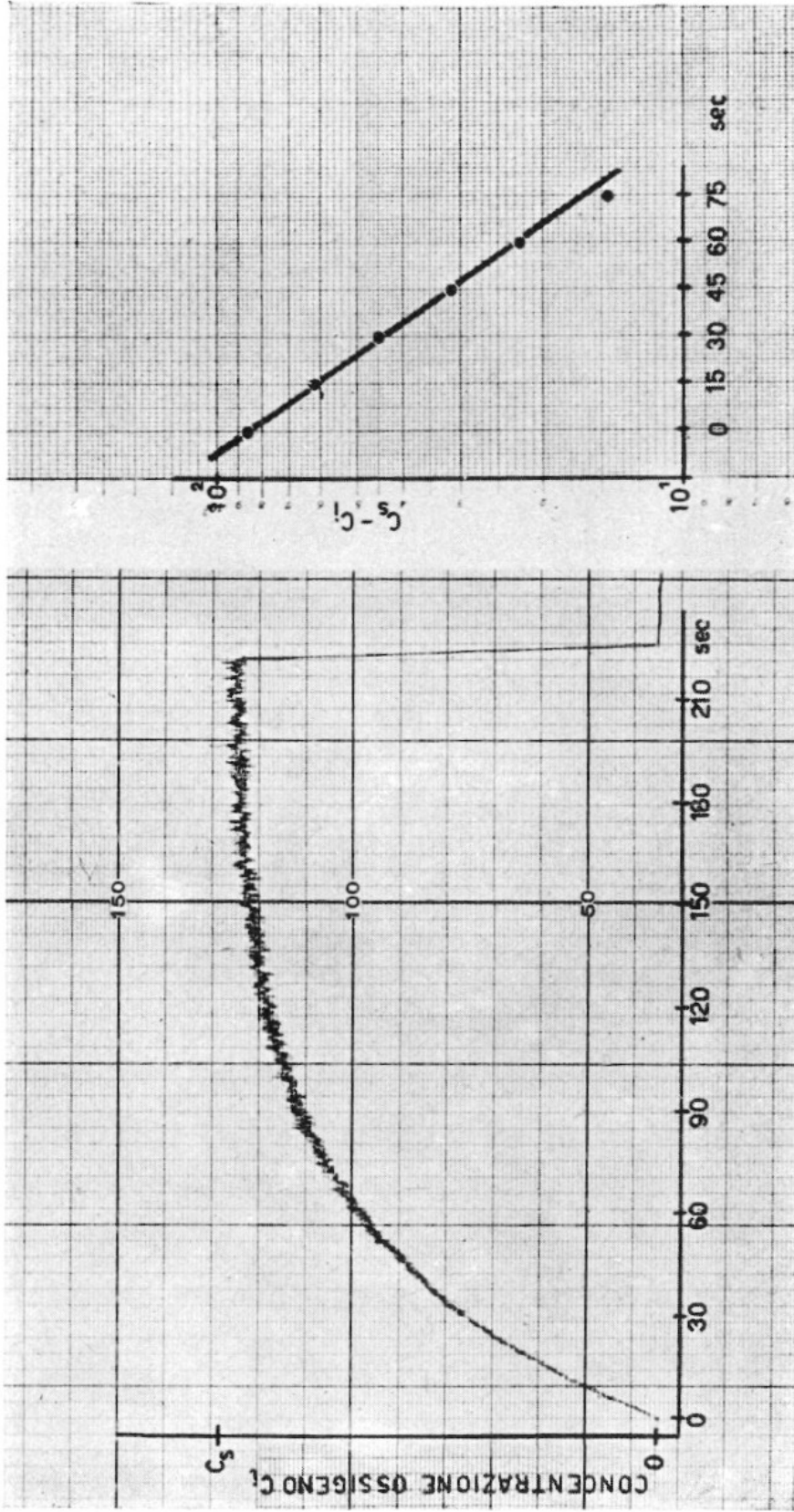


Fig. 7. - Tipica curva di saturazione con ossigeno seguita amperometricamente.

Noto  $\phi$  si può facilmente calcolare la velocità di diffusione dell'ossigeno più sopra definita. La figura 7a mostra una curva tipica del processo di diffusione dell'ossigeno.

Nel diagramma 7b sono riportati in ascisse i tempi e in ordinate i corrispondenti valori di  $\log (c_{\text{sat}} - c_i)$  calcolati dalla curva 7a.

### *Misure di potenza.*

La misura della potenza richiesta dai vari sistemi di agitazione è stata compiuta con un contatore trifase inserito sul circuito d'alimentazione del motore. Quando necessario sono stati impiegati opportuni riduttori. La misura veniva fatta contando il numero di secondi necessari al disco dello strumento a compiere un certo numero di giri (normalmente 10).

La potenza necessaria per la compressione dell'aria è stata stimata dall'assorbimento di potenza medio di vari compressori, sia del tipo alternativo che di quello a turbina. Tale potenza è stata computata in 3 watt/litro con un flusso d'aria di 1.0 volumi di aria/volumi di liquido/minuto. Il flusso d'aria era misurato all'uscita dal fermentatore cioè alla pressione di 1.0 atm. Nel compressore invece l'aria veniva compressa a 2.0 atm. per vincere le perdite di carico dei filtri, dei tubi e delle valvole.

## RISULTATI

### *Relazione fra l'altezza dell'onda polarografica e la concentrazione dell'ossigeno disciolto.*

La curva A in fig. 8 è un polarogramma di una soluzione di KCl 0.1 N saturata con aria; La curva B mostra il processo di spostamento dell'ossigeno con azoto commerciale, seguito amperometricamente a -0,9 volt; la curva C è il polarogramma della stessa soluzione 0.1 N di KCl saturata con azoto commerciale.

Si può vedere dalla curva C che l'azoto impiegato conteneva una piccola quantità di ossigeno, cui corrisponde una piccola onda residua. Questo va tenuto presente nel caso del calcolo della concentrazione assoluta di ossigeno, ma non ha evidentemente importanza nella determinazione della velocità di diffusione dell'ossigeno stesso.

Queste misure sono state compiute nel recipiente di perspex di 10 litri con 5 litri di soluzione di 0.1 N KCl agitata da un'elica di 65 mm di diametro rotante a 1.000 giri al minuto.

Per determinare la relazione tra la concentrazione dell'ossigeno e l'altezza dell'onda polarografica si sono fatti polarogrammi di soluzione di KCl 0.1 N saturati con miscele di azoto e di ossigeno con diversi

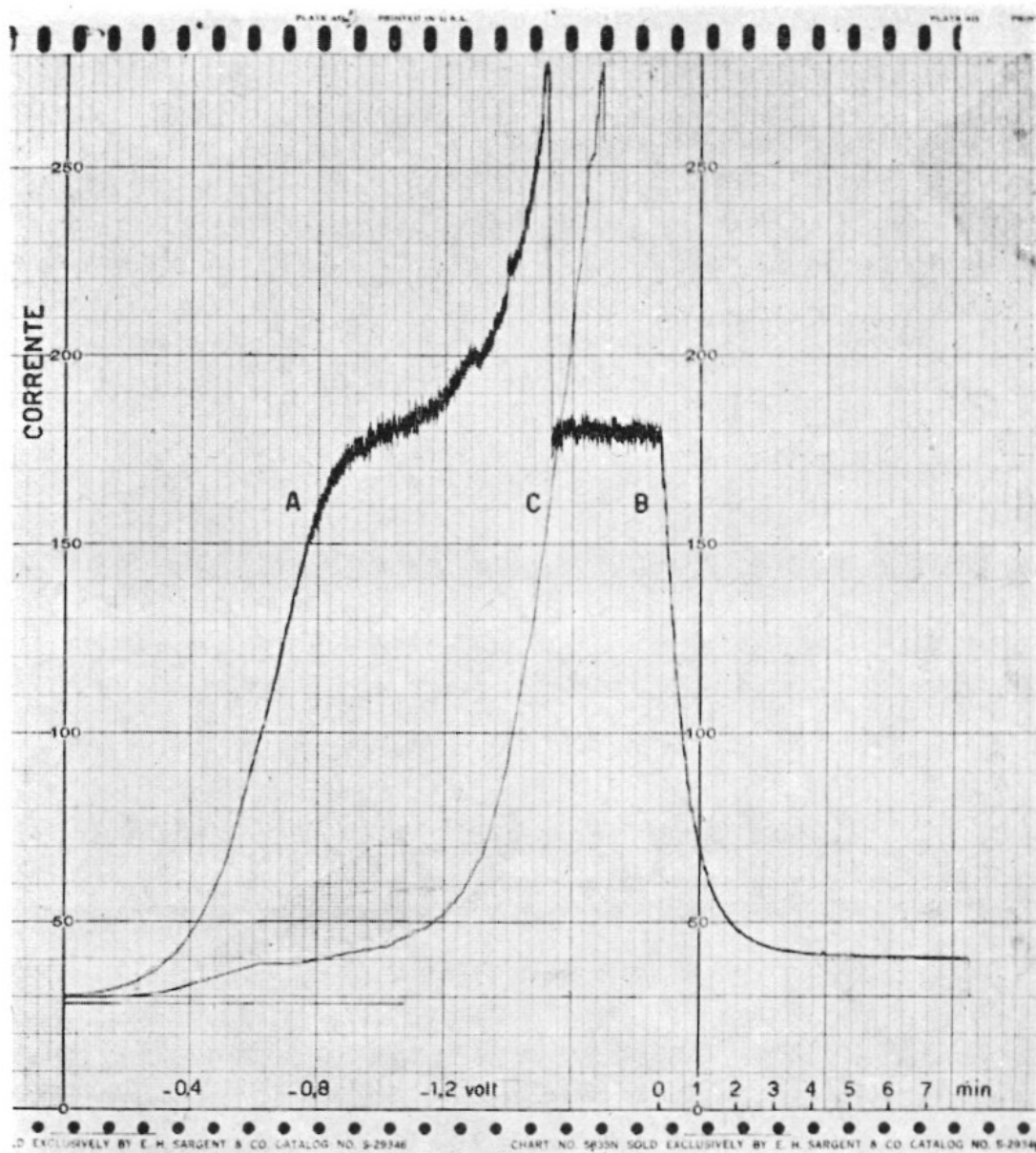


Fig. 8. - Tipico polarogramma ottenuto con un elettrodo di platino rotante in una soluzione agitata. - A e C = curve polarografiche; B = curva amperometrica.

tenori di ossigeno (misurati manometricamente). Per questi esperimenti si è usata la cella impiegata nelle misure di respirazione più sopra descritta.

Il diagramma 9 mostra che vi è una relazione lineare fra la concentrazione dell'ossigeno disciolto e l'altezza dell'onda polarografica. Risultati corrispondenti si ottengono usando anzichè una soluzione di

KCl 0.1 N, comuni mezzi di cultura come il peptone-glucosio o il corn steep-lattosio. Il livello della saturazione nei terreni di cultura è pressochè lo stesso che nella soluzione di KCl.

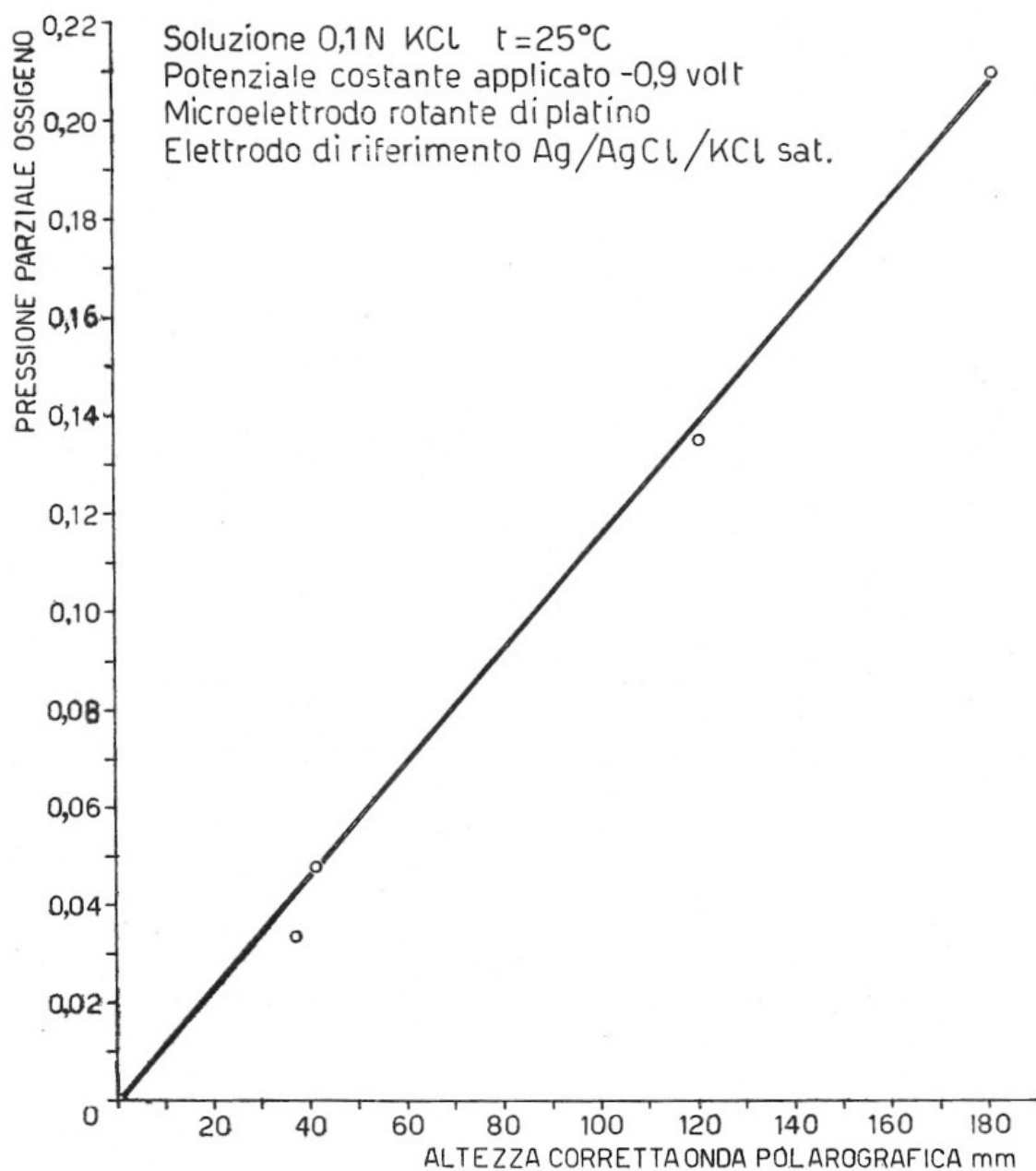


Fig. 9. - Relazione fra la pressione parziale dell'ossigeno e l'altezza dell'onda polarografica.

#### CONFRONTO FRA LA DETERMINAZIONE AMPEROMETRICA E QUELLA MANOMETRICA DELLA VELOCITÀ DI ASSORBIMENTO DELL'OSSIGENO

La tabella 1 dà risultati di un confronto fra il metodo amperometrico e quello manometrico applicati a diversi sistemi che consumano ossigeno. Le misure manometriche sono state fatte in celle di Warburg, quelle amperometriche nella cella speciale precedentemente descritta.

Si trova un ragionevole accordo fra i due metodi. La figura 6 mostra una tipica curva di consumo dell'ossigeno da parte di una sospensione di *Penicillium chrysogenum*. Appare chiaro che la velocità di assorbimento

Sistema che consuma ossigeno	Assorbimento di ossigeno $\mu\text{l/ml}$ di soluzione/ora	
	metodo manometrico	metodo amperometrico
sospensione di lievito n. 1	88.9	94.4
» » n. 2	80.7	95.5
» » n. 3	63.8	71,5
» » n. 4	93.1	90,6
» » n. 5	71.7	72
» » n. 6	68.1	68.8
» » n. 7	50.6	59
sospensione di <i>Penicillium Chrysogenum</i> n. 1	102	115
» » n. 2	45	49
soluzione di D-aminoacido-ossidasi	94.9	92

Tab. 1. - Confronto tra le determinazioni manometrica e amperometrica dell'assorbimento di ossigeno

dalla concentrazione d'ossigeno si rileva pure con sospensioni di lievito e di *B. coli*. Questo conferma precedenti osservazioni di vari autori (<sup>32</sup>, <sup>11</sup>, <sup>17</sup>) che la respirazione di molti microorganismi è indipendente dalla pressione parziale dell'ossigeno fino a concentrazioni d'ossigeno molto piccole.

#### AERAZIONE IN « SHAKE FLASKS »

a) *su un agitatore a moto alternativo.*

Nella tabella 2 sono riportati i valori della velocità di diffusione dell'ossigeno in « shake flasks » aperti di forma e dimensioni diverse

(<sup>32</sup>) WARBURG O. e KUBOWITZ F. - *Biochem. Z.*, 214, 5 (1929).

e contenenti differenti volumi di liquido. Le misure polarografiche sono state confrontate con misure di ossidazione del solfito e si è trovato un buon accordo fra i due metodi. Si vede che l'efficacia dell'aerazione dipende sia dalla forma che dal rapporto volume del liquido / volume totale del recipiente. I palloni rotondi nei quali il moto del liquido è meno turbolento hanno un'aerazione più bassa delle beute di Erlenmeyer. In un Erlenmeyer di un litro contenente 100 ml di liquido si raggiunge una velocità di diffusione piuttosto alta (circa 130 ml  $O_2$ /100 ml di soluzione/ora).

b) *su un agitatore a moto rotatorio.*








Misure della velocità di aerazione in « shake flasks » sono state compiute anche su agitatore a moto rotatorio. Per tali misure si è usato il metodo al solfito data la sua semplicità ed il buon accordo con il sistema polarografico. Nella tabella 2 sono riportati i valori delle velocità di diffusione in « shake flasks » della stessa forma e volume di quelli impiegati sull'agitatore alternativo. Nello « shaker » rotatorio i liquidi compiono un moto circolare-centrifugo il quale fa sì che essi si distribuiscano lungo le pareti in modo che forza centrifuga e forza di gravità si equilibrino.

La velocità di aerazione negli « shake flasks » su agitatore rotatorio dipende solo dalla grandezza della superficie liquida esposta all'aria, in quanto che non vi è un mescolamento di fase gassosa e fase liquida come nell'agitatore alternativo.

La superficie libera può essere aumentata aumentando la velocità di rotazione o l'eccentricità. L'incremento dell'eccentricità produce risultati meno rilevanti di quello della velocità. Nella fig. 10 è descritto l'andamento della diffusione dell'ossigeno in Erlenmeyer di 500 ml in funzione dell'eccentricità, della velocità di rotazione e del volume di liquido contenuto nel pallone.

Esiste una relazione praticamente lineare fra velocità di rotazione e diffusione e, come era da attendersi, una relazione di proporzionalità inversa fra la stessa diffusione e il volume del liquido. Inoltre la diffusione è quasi indipendente dalla forma dei palloni, contrariamente a quanto accade nell'agitatore alternativo nel quale l'influenza del fattore forma sulla diffusione è assai rilevante, (vedi tabella 2).

Nella costruzione dello « shaker » rotatorio è più conveniente avere una velocità di rotazione più elevata ed una minore eccentricità sia dal punto di vista della resistenza meccanica che da quello della semplicità.

tipo e volume del recipiente ml	volume del liquido ml	Velocità di diffusione dell'ossigeno ml O <sub>2</sub> /100 ml liq./ora		
		agitatore alternativo *		** agitatore rotatorio
		metodo amperom.	metodo al solfito	
 250	50	—	—	56
 500	50	18 -	24,5	99
	100	11,5	18 -	59
	200	14 -	21 -	—
 1000	100	40,5	44,5	108
	200	38,5	33,5	62
	300	28 -	28,5	—
 1500	200	32,5	28,6	—
	300	38 -	34 -	—
	400	34,5	32 -	—
 250	50	—	—	59
 500	50	92 -	102,5	101
	100	52,5	57,5	64
	200	36 -	35,5	—
 1000	100	129	112 -	103
	200	96	80 -	56
	300	48	44,5	—

Tab. 2. - Aerazione in palloni agitati su agitatore alternativo e rotatorio.

\* Ampiezza 60 mm — oscillazioni al minuto: 95.

\*\* Eccentricità 50 mm — giri al minuto: 285.

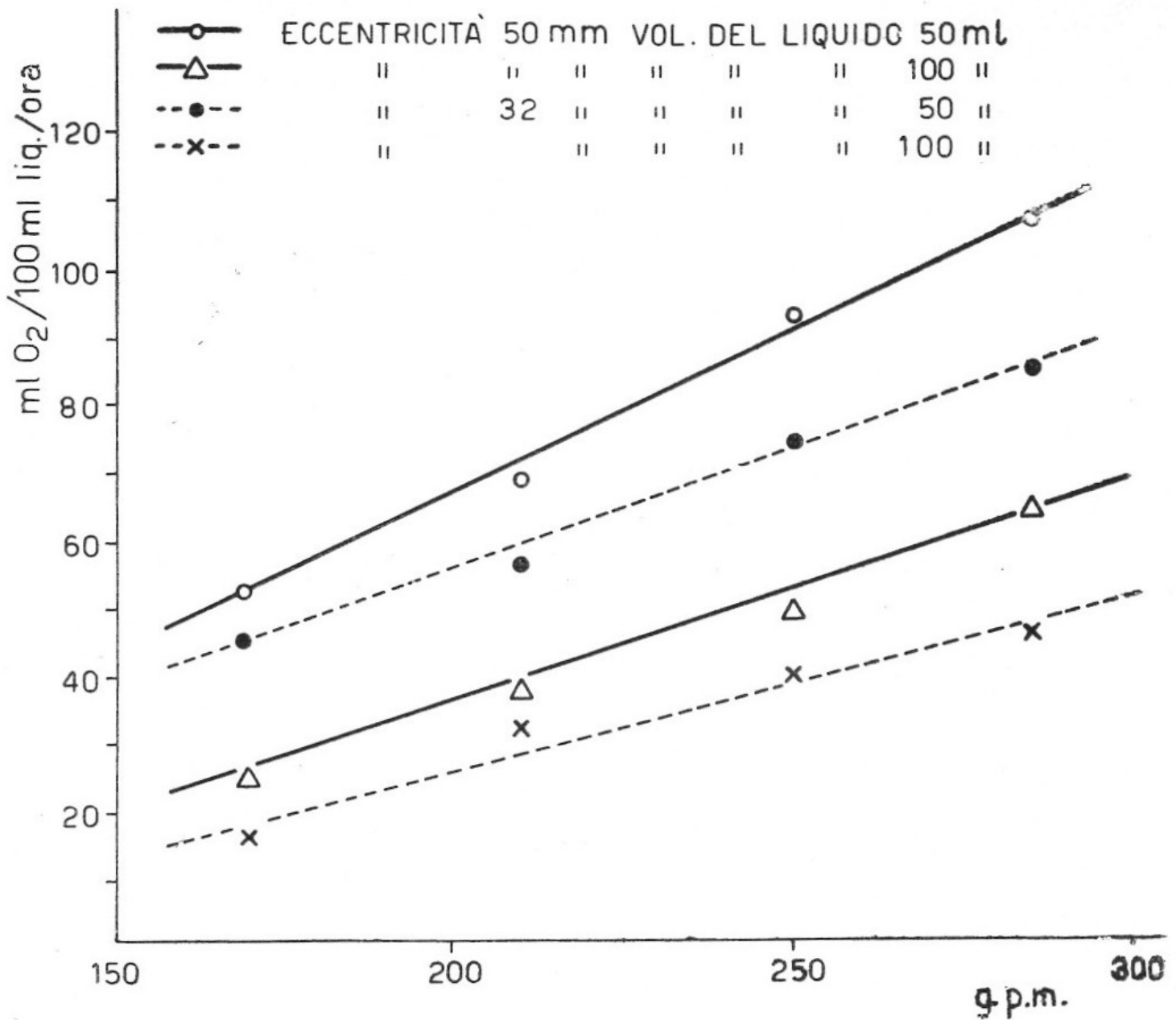


Fig. 10. - Velocità di aerazione in Erlenmeyer di 500 ml con differenti volumi di liquido, eccentricità e velocità, agitati su agitatore rotatorio.

di costruzione. Alcuni esperimenti con diversi eccentrici hanno dimostrato che con un'eccentricità di 50 mm si potevano avere dei soddisfacenti valori della velocità di diffusione mentre un ulteriore aumento dell'eccentricità aumentava notevolmente le sollecitazioni dell'apparecchio senza portare un miglioramento apprezzabile all'efficienza dell'aerazione. Per questo, l'agitatore da noi impiegato è stato costruito con un'eccentricità di 50 mm ed una velocità di rotazione normale di 285 giri al minuto.



Nella tabella 2 vi è un confronto fra le velocità di aerazione ottenute su agitatori alternativo e rotatorio.

I valori più alti di aerazione conseguibili con un agitatore alternativo sono, in vari casi, maggiori di quelli che si possono avere su di

uno rotatorio. Questo succede specialmente quando il volume di liquido supera i 100 ml. Con volumi di liquido di 50 e 100 ml, che sono quelli che più di frequente vengono impiegati negli esperimenti con « shake flasks », la differenza dell'aerazione su agitatore alternativo o rotatorio è piccola per gli Erlenmeyer; nei palloni rotondi invece l'aerazione è minore su un agitatore alternativo che su uno rotatorio.

Il pregio principale dell'agitatore rotatorio rispetto a quello alternativo consiste nell'elevata riproducibilità delle condizioni di agitazione e questo è un fattore di particolare importanza nello studio del metabolismo dei microorganismi. Negli « shake flasks » su agitatore rotatorio vi è minor deposito di spore e di micelio sulle pareti e quindi minor crescita superficiale che su uno « shake flasks » su agitatore alternativo.

In presenza di micelio di *Penicillium chrysogenum* nella forma filamentosa, le velocità di aerazione vengono notevolmente ridotte, in proporzione alla quantità di micelio come mostrato nella tabella 3.

Tipo e volume del recipiente ml	Volume di sospensione ml	VELOCITA' DI DIFFUSIONE DELL'OSSIGENO ml O <sub>2</sub> /100 ml liq./ora			
		senza micelio	0,5 % mic. morto	1,0 % mic. morto	2,0 % mic. morto
 1000	200	38,5	31	20	—
 1000	200	96	80	48	11

Tab. 3. - Riduzione della velocità di aerazione in palloni agitati, in presenza di diverse quantità di micelio morto di *Penicillium Chrysogenum*.

Sia la turbolenza che l'aerazione possono essere notevolmente aumentate inserendo un antivortice nello « shake flasks » (44). Ciò vien fatto

(44) DALE R. F., AMSZ J. JR., PING SHU, PEPLER H. J. e RUDERT F. J. - J. Appl. Microbiol., 1, 68 (1953).

saldando una lastra di pyrex in un beuta d'Erlenmeyer o in un pallone a fondo rotondo. Le dimensioni della lastrina antivortice sono: lunghezza 60 mm, larghezza 22,5 mm, spessore mm 2. « Shake flasks » di questo tipo sono schematizzati in fig. 11. Essi se ben temprati, sono perfettamente resistenti agli urti e a ripetute sterilizzazioni. Misure di aerazione in « shake flasks » con antivortici, eseguite col metodo del solfito, sono riportate nella tabella (4).

Si vede che l'aggiunta di un antivortice fa aumentare la velocità di

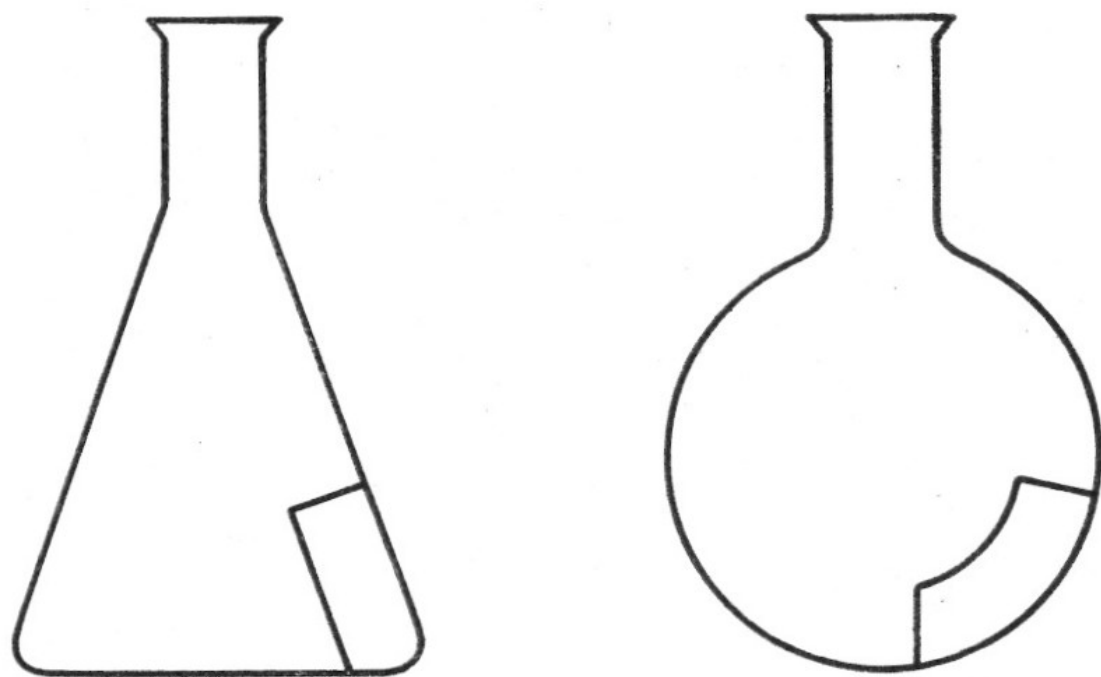




Fig. 11. - Tipi di recipienti con antivortice.

aerazione fino a venti volte. Un secondo antivortice non ha un grande effetto sulla velocità d'aerazione. Questa osservazione è analoga a quella riportata da CHAIN et al. (2) nel precedente lavoro, che le velocità di aerazione non vengono apprezzabilmente accresciute col porre sull'asse dell'agitatore di un fermentatore agitato, una seconda o una terza elica. Evidentemente la massima parte della diffusione dell'aria ha luogo quando la corrente d'aria incontra il primo ostacolo.



Tutte le misure di aerazione sopra riportate sono state eseguite in « shake flasks » aperti. La diffusione dell'aria attraverso i tappi in palloni chiusi contenenti azoto è molto lenta sia nel caso dei tappi di cotone che dei coperchi di alluminio. I tappi di cotone peraltro permettono una diffusione leggermente più alta, (tabella 5).

TIPO E VOLUME DEL RECIPIENTE ml	VOLUME DI LIQUIDO ml	NUMERO DI ANTIVORTICI	GIRI PER MINUTO		
			145	180	220
VELOCITA' DI DIFFUSIONE DELL'OSSIGENO ml·O <sub>2</sub> /100 ml liq./ora					
 1000	100	0	—	—	61
		1	395	515	640
	200	0	—	—	34
		1	251	414	595
	400	0	10	12	18
		1	141	274	470
 500	50	0	47	58	69
		1	324	509	873
		2	453	682	875
	100	0	18	28	37
		1	234	425	716
		2	341	515	795
	200	0	9	10	13
		1	118	234	369
		2	151	290	428

Tab. 4. - Velocità di aerazione in recipienti con antivortice su agitatore rotatorio.

Nelle fermentazioni aerobiche compiute in recipienti chiusi con tappi di cotone o di alluminio, la concentrazione dell'ossigeno nella atmosfera sovrastante il liquido diminuisce continuamente poichè l'ossigeno consumato viene rimpiazzato da un ugual volume di aria (con un contenuto di ossigeno 5 volte minore) e l'equilibrarsi della concentrazione dell'ossigeno tra l'atmosfera interna e l'aria esterna attraverso i tappi è molto lenta. Quindi presto o tardi, a seconda della velocità di di respirazione del microorganismo, si vengono a stabilire condizioni quasi anaerobiche. L'efficienza del sistema di agitazione ha un'influenza molto limitata sulla velocità di diffusione attraverso i tappi. Quindi quando l'ossigeno presente inizialmente nel recipiente è stato usato quasi del tutto per la respirazione dell'organismo, la velocità di soluzione nel liquido è fondamentalmente determinata dalla velocità di diffusione dell'ossigeno attraverso il tappo dato che il tipo di agitatore usato, alternativo o rotativo che sia, ha soltanto un trascurabile effetto sulla velocità d'aerazione.

E' evidente che le condizioni di rifornimento d'aria negli « shake flasks » tappati sono completamente differenti da quelle che si hanno nei fermentatori agitati. In questi ultimi l'aria viene continuamente

TIPO DEL RECIPIENTE volume totale 1000 ml volume di soluzione 200 ml	VELOCITA' DI DIFFUSIONE DELL'OSSIGENO ml O <sub>2</sub> /100 ml liq./ora		
	aperto	chiuso con tappo di cotone	chiuso con capsula di alluminio
	38,5	0,25	0,15
	96,0	0,6	0,21

Tab. 5. - Velocità di diffusione dell'ossigeno in recipienti agitati chiusi con tappi vari.

rinnovata e quindi la concentrazione dell'ossigeno rimane più o meno costante durante tutto l'esperimento. Ne viene come conseguenza che l'utilità di studi metabolici in « shake flasks » viene ristretto a quei soli casi nei quali non è richiesta continuamente un'alta velocità d'aerazione e che è difficile trarre conclusioni intorno al comportamento metabolico dei microorganismi da risultati ottenuti in « shake flasks » tappati. E', naturalmente, possibile mantenere costante l'atmosfera interna del liquido ed in questo modo ci si avvicina alle condizioni di un fermentatore agitato, ma la disposizione per mantenere il flusso d'aria fa perdere la principale attrattiva ed il maggior vantaggio degli ordinari « shake flasks »: cioè, la loro semplicità.

#### AERAZIONI DI SOLUZIONI ACQUOSE IN FERMENTATORI AGITATI DI 10 LITRI

##### 1. Aerazione a vortice.

A conferma dei risultati ottenuti con il metodo del solfito <sup>(2)</sup> si è trovato che nel sistema di aerazione a vortice la velocità di diffusione dell'ossigeno è funzione del diametro delle eliche e

direttamente proporzionale alla velocità di rotazione delle eliche stesse. La fig. 12 riporta delle misure fatte con eliche in tre diversi diametri. Dai valori della velocità di diffusione dell'ossigeno ottenuti amperometricamente è stato possibile calcolare con soddisfacente approssimazione la velocità di respirazione del *Penicillium chrysogenum*. L'esperienza,

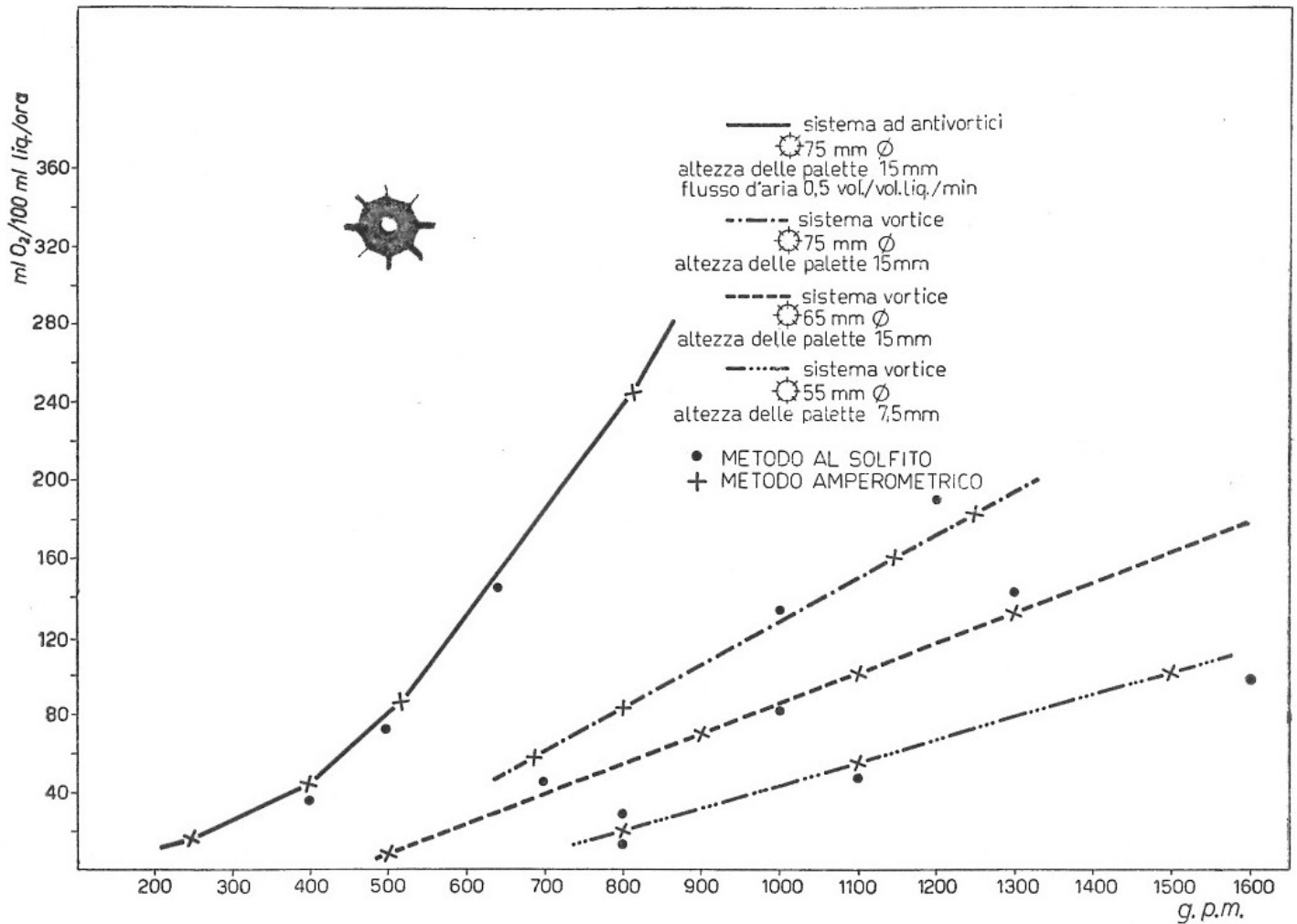


Fig. 12. - Velocità di diffusione dell'ossigeno in KCl 0,1N, in fermentatori con diversi tipi di agitazione.

eseguita per saggiare la precisione del metodo amperometrico, è stata compiuta agitando una sospensione di 5 litri di *Penicillium chrysogenum*, di peso secco noto. La velocità di rotazione dell'elica era portata ad un valore tale che il rifornimento di ossigeno fosse esattamente uguale al consumo e non vi fosse, cioè, nè eccesso nè deficienza d'aria rispetto alla quantità necessaria per la respirazione. Dato che si conosce la velocità di diffusione dell'ossigeno a questa velocità di rotazione in presenza della stessa quantità di micelio morto, si può calcolare il  $Q_{O_2}$  della muffa.

Età del micelio ore	Peso secco %	g. p. m.	Velocità di diffusione dell'ossigeno m' O <sub>2</sub> /100 liq. ora	Q <sub>O<sub>2</sub></sub>	
				calcolato dalla velocità di diffusione dell'ossigeno	determinato direttamente
36	0.60	630	27.5	45	40
60	0.67	560	17.5	27	25
84	0.85	575	19.0	22	23

Tab. 6. - Determinazione del Q<sub>O<sub>2</sub></sub> dalle velocità di diffusione dell'ossigeno.

La tabella 6 riporta un confronto fra i valori del Q<sub>O<sub>2</sub></sub> determinati dalle misure amperometriche dirette in celle di Warburg. Il soddisfacente accordo fra i due metodi prova che la precisione delle misure amperometriche di diffusione dell'ossigeno è assai buona.

*Effetto della presenza del micelio sulla velocità di aerazione.*

In presenza di micelio morto di *Penicillium chrysogenum* le velocità di diffusione vengono ridotte. L'entità della diminuzione è indicata in fig. 13.

*Effetto della schiuma sulla velocità di aerazione.*

Il principale vantaggio del sistema vortice su quelli che richiedono l'uso di distributori d'aria è che la formazione di schiuma non presenta problemi di natura meccanica. Tuttavia, sebbene la schiuma non esca incontenibilmente dal liquido, quando si usa il sistema vortice, cionondimeno essa è ugualmente prodotta dall'agitazione veloce e manifesta la sua presenza con un aumento del volume apparente. Quando si è in presenza di microorganismi viventi la schiuma viene nuovamente ripresa nel movimento vorticoso del liquido. Ne risulta, dopo qualche tempo, una emulsione di azoto, liquido culturale e microorganismi tanto stabile da ostaco-

lare il processo di soluzione dell'ossigeno e da influenzare, in tal modo, l'efficienza dell'aerazione.

Nella fig. 14 è illustrato l'effetto della formazione di schiuma e dell'aggiunta di un agente antischiumogeno sulla velocità di diffusione dell'ossigeno in un terreno culturale. L'esperimento cui tale figura si riferisce, è stato eseguito agitando, per 15 minuti, 5 litri di un mezzo culturale contenente il 3% di corn-steep solido ed il 3% di lattosio con un'elica

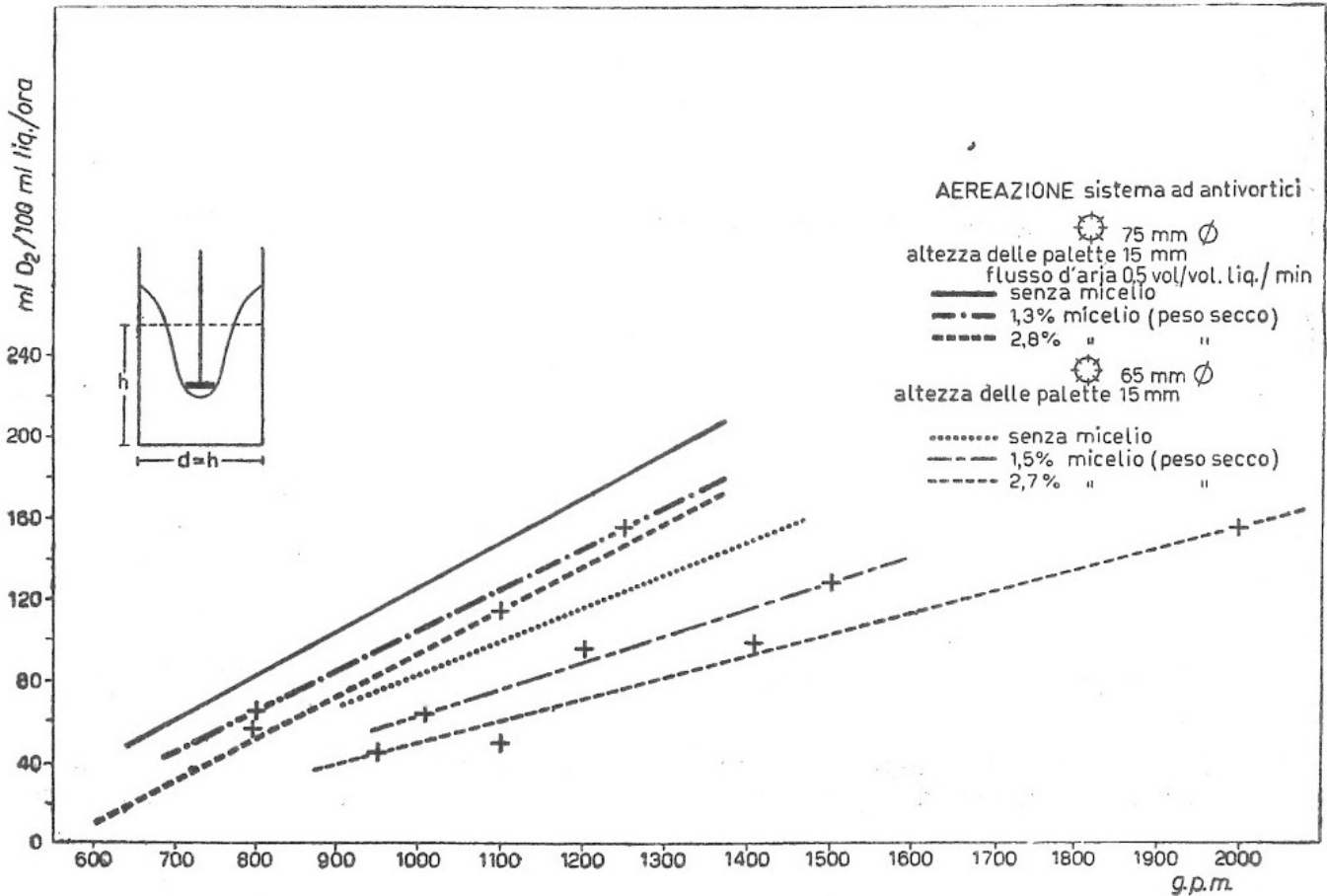


Fig. 13. - Velocità di diffusione dell'ossigeno in fermentatori agitati in presenza dell'ossigeno in un terreno di cultura di corn-steep-lattosio. Sist. vortice aerazione.

del diametro di 65 mm ruotante a 1200 giri al minuto. In tali condizioni si forma un vortice e la formazione di schiuma appare evidente dall'aumento del volume di circa il 20%.

Dalla soluzione contenente schiuma veniva rimosso l'ossigeno con una corrente di azoto con la solita procedura e veniva notato che il processo di spostamento era molto più lento di quanto avveniva normalmente. La determinazione della velocità di diffusione confermava che tale velocità era molto più bassa di quella normale (curva segnata  $\Delta-\Delta$ ). Se si aggiungeva alla soluzione 1 ml di un agente antischiumogeno (3% di ottodecanolo in olio di vinaccioli) si aveva una distruzione della schiuma

come si poteva osservare dalla caduta quasi immediata del livello del liquido. La successiva determinazione dell'aerazione mostrava che la velocità di diffusione era aumentata di circa 10 volte (curva segnata ●---●). Questo fenomeno è probabilmente da ritenersi dovuto alla formazione della emulsione stabile azoto-liquido di cultura nella quale l'ossigeno diffonde molto più lentamente che in soluzioni acquose omogenee.

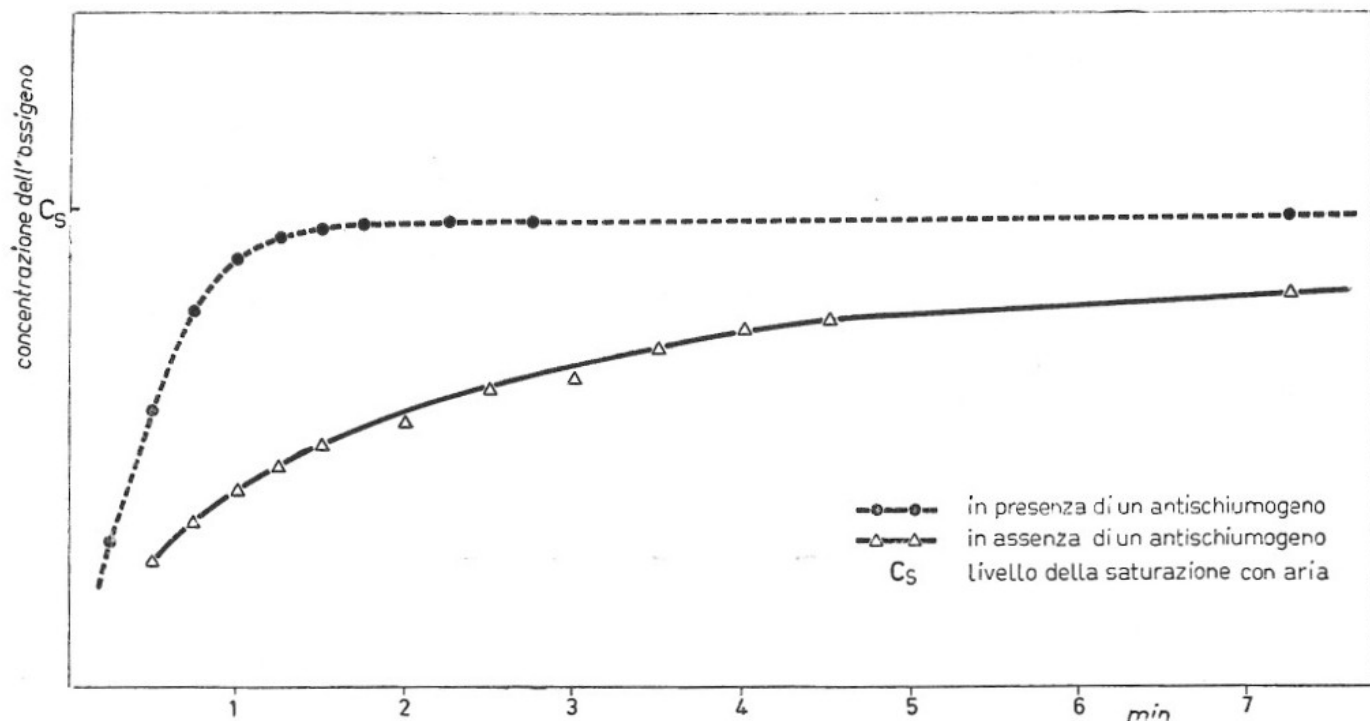


Fig. 14. - Effetto dell'aggiunta di un antischiumogeno sulla velocità di diffusione dell'ossigeno in un terreno di cultura di corn-steep-lattosio. Sist. vortice di aerazione.

#### b) Aerazione con diffusore d'aria in presenza di antivortici.

In fig. 15 sono riportati i valori della velocità di diffusione dell'ossigeno in soluzioni di KCl 0.1 N anche con il sistema ad antivortici. Come già precedentemente notato si può osservare che la diffusione è funzione di una potenza del numero di giri dell'elica. Per confermare l'attendibilità delle misure amperometriche, la velocità di diffusione è stata determinata nelle medesime condizioni meccaniche anche con il metodo del solfito. Come si può vedere dalla fig. 12, si è ottenuto un accordo molto buono fra i valori ottenuti con le due diverse tecniche.

L'aggiunta di micelio al liquido diminuisce la velocità di aerazione, più o meno a seconda delle quantità di micelio aggiunto e questo abbassamento è più pronunciato di quello che si osserva nel sistema vortice in

presenza delle stesse percentuali di micelio. E', infine, interessante notare che, aumentando la velocità di rotazione dell'elica oltre un certo valore, diverso a seconda della quantità di micelio presente, non si ottiene un corrispondente incremento nella velocità di aerazione. La potenza spesa

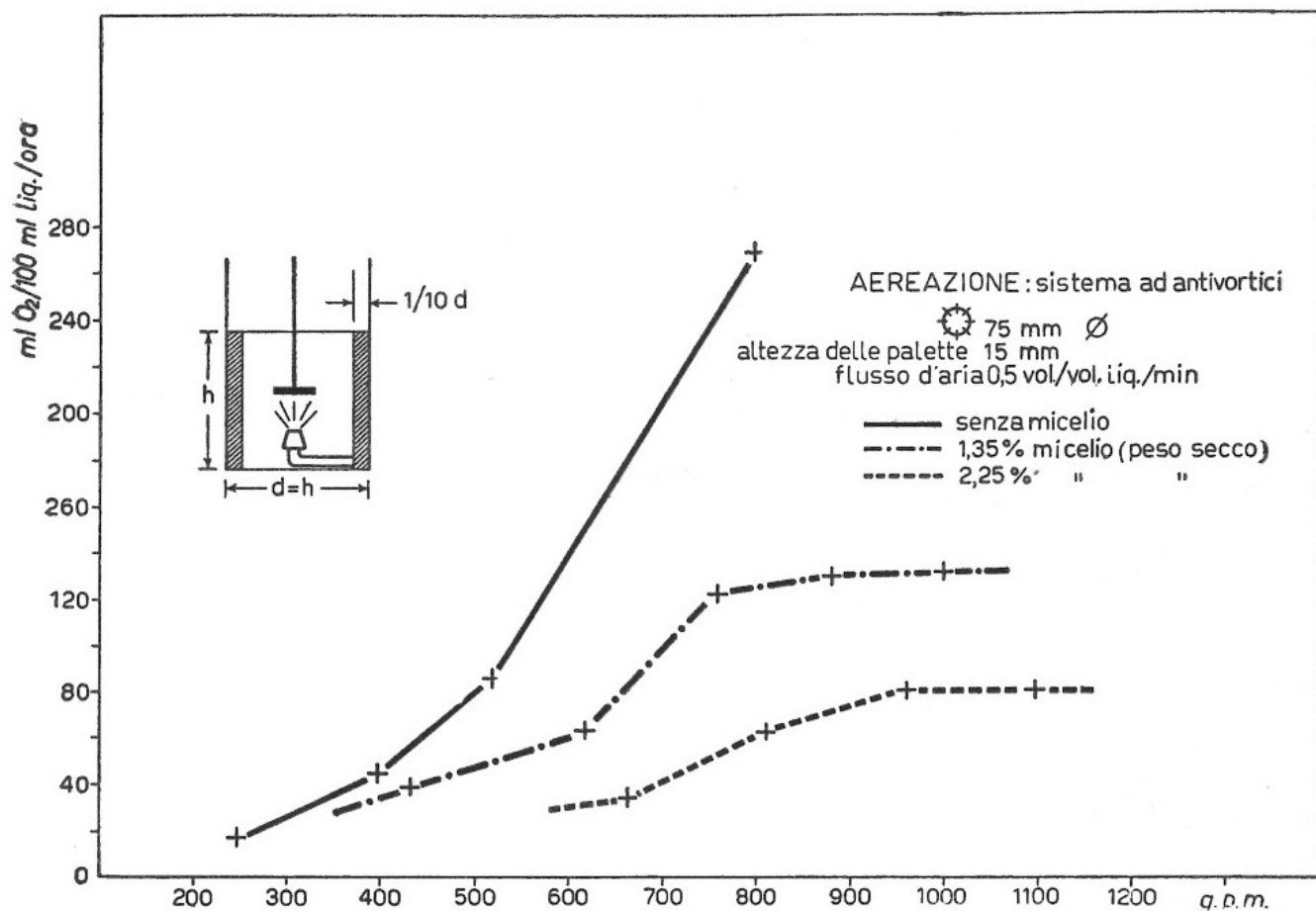


Fig. 15. - Velocità di diffusione dell'ossigeno in fermentatori agitati in presenza o meno di micelio morto di *Penicillium Chrysogenum*. Sistema di aerazione ad antivortici.

per l'agitazione, oltre questo valore critico della velocità non è utilizzata nell'aumentare l'efficienza dell'agitazione e dell'aerazione, ma viene inutilmente dispersa.

#### MISURE DI AERAZIONE IN FERMENTATORI DI 50, 150 E 200 LITRI.

Sono state compiute alcune misure in fermentatori di un impianto pilota del tipo descritto in una precedente comunicazione <sup>(33)</sup>, impiegando

<sup>(33)</sup> PALADINO S., UGOLINI F. e CHAIN E. B. - Rend. Ist. Sup. Sanità, 17, 1195 (1954).

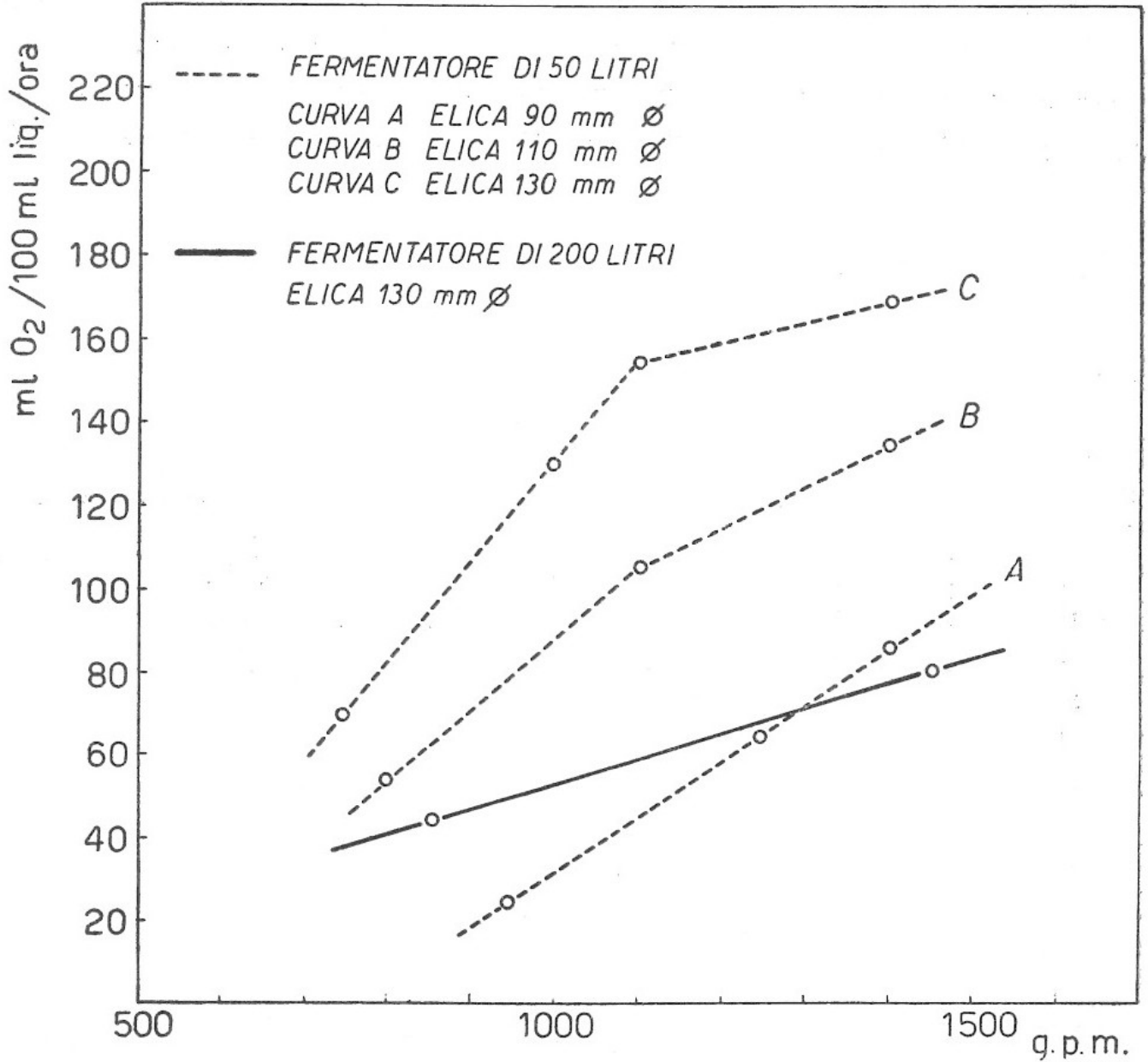


Fig. 16. - Velocità di diffusione dell'ossigeno in fermentatori di 50 e 200 litri. Sistema vortice di aerazione.

do sia l'agitazione a vortice che quella ad antivortici con distributore d'aria.

I risultati ottenuti con il metodo del solfito sono riportati nelle figure 16 e 17.

#### AERAZIONE IN SOLUZIONI ACQUOSE AGITATE IN UN FERMENTATORE DA 3000 LITRI.

Sono state determinate le velocità di diffusione dell'ossigeno in soluzioni acquose di NaCl all'1%, aerate con tre diversi sistemi: 1) sistema vortice; 2) sistema di agitazione libera con diffusore di aria; 3) sistema ad

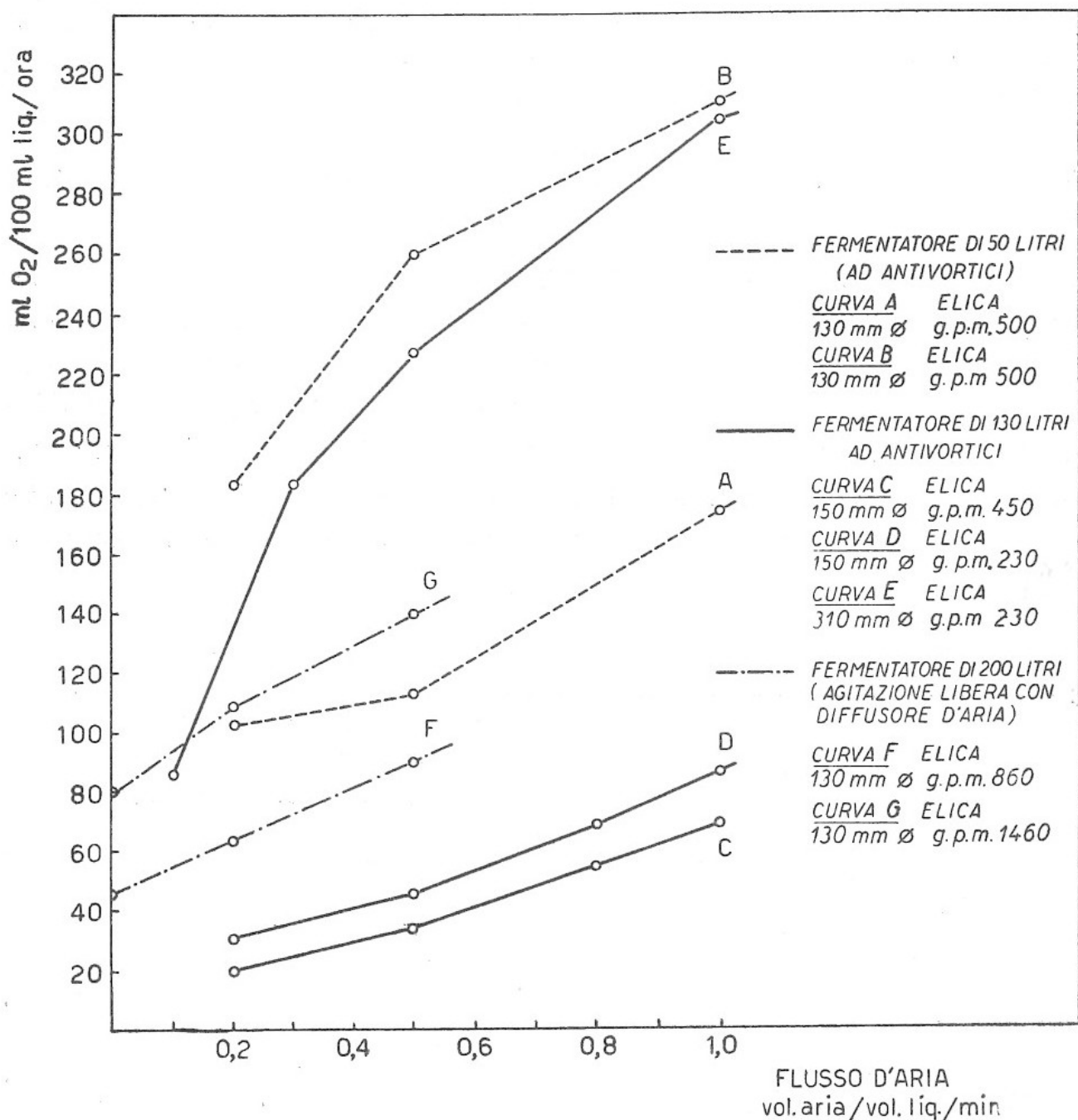


Fig. 17. - Velocità di diffusione dell'ossigeno in fermentatori di 50, 130 e 200 litri. Agitazione libera con diffusore d'aria e agitazione ad antivortici.

antivortici. Nel sistema vortice l'aria viene aspirata dal vortice creato dall'organo rotante e dispersa dalle pale dell'elica. Negli altri due sistemi l'aria viene fornita attraverso un diffusore posto al fondo del fermentatore al disotto dell'elica. Le eliche d'acciaio inossidabile usate erano del tipo a turbina radiale con otto pale con due diversi diametri (300 e 360 mm) (vedi fig. 18) e venivano fatte ruotare a circa metà altezza del liquido. Come antivortici si sono usate quattro strisce di lamiera d'acciaio inossidabile larghe 1/10 del diametro del fermentatore, poste simmetricamente nel liquido. L'aria veniva introdotta nello spazio sovra-

stante il liquido quando si usava il sistema vortice e attraverso un diffusore negli altri casi.

*Effetto della posizione del distributore d'aria rispetto alle pale dell'elica.*

Sono stati usati due tipi di diffusori, entrambi posti sul fondo del fermentatore: a) un diffusore a tubo con un solo foro di 40 mm di diametro sistemato al centro al disotto dell'elica; b) un diffusore ad anello con 90 fori ciascuno di 3 mm e del diametro approssimativamente uguale a quello del fermentatore, cioè collocato lungo il perimetro del fermentatore, il più lontano possibile dall'elica. Si è visto che il diffusore centrale ad un solo foro è molto più efficiente di quello ad anello specialmente con le più alte velocità di aerazione (tabella 7).

Tipo del diffusore (*)	Flusso d'aria: vol. d'aria/vol. liq. min.			
	0.1	0.3	0.5	1.0
	velocità di diffusione dell'ossigeno ml O <sub>2</sub> /100 ml/ora			
Diffusore ad anello con 90 fori (3 mm Ø) di diametro circa quattro volte quello dell'elica.	42	54	80	—
Diffusore ad un solo foro (40 mm Ø) posto al centro sotto l'elica.	60	95	112	163

Tab. 7. - Effetto della posizione del diffusore d'aria sull'efficienza dell'aerazione.

(\*) Diametro dell'elica 360 mm; velocità 380 g.p.m.; volume di liquido (soluzione di NaCl 1%) 2.250 litri.

Questo fatto conferma osservazioni analoghe fatte in un fermentatore di 10 litri (2). Il motivo della minor efficienza del diffusore ad anello è che la maggior parte dell'aria che esce dai fori sfugge lungo le pareti del fermentatore senza venir in contatto con l'azione disperdente delle pale dell'elica.

*Relazione fra la potenza totale richiesta e l'efficienza dell'aerazione.*

Il diagramma 18 mostra la relazione fra la potenza totale richiesta (cioè la potenza per l'agitazione più quella per la compressione dell'aria) e la velocità di diffusione dell'ossigeno in vari sistemi di agitazione. Si è trovato utile, per confrontare l'efficacia dei valori sistemi di agitazione, introdurre un numero che chiamiamo « rapporto di efficienza », così definito:

$$E_r = \frac{\text{litri O}_2 \text{ diffusi litro di liquido/ora}}{\text{watt litro richiesti}} = \frac{\text{litri O}_2 \text{ diffusi}}{\text{watt-ora consumati}}$$

Nella tabella 11 sono riportati i valori di  $E_r$  di vari sistemi di aerazione:

a) *Sistema vortice.*

La curva segnata —.—.— si riferisce al sistema di agitazione a vortice. Si sono usate due eliche del diametro di 360 e 300 mm ed è stata mandata una corrente d'aria corrispondente a 0,1 vol./vol.liq./min. nello spazio sovrastante il liquido. Le velocità di diffusione dell'ossigeno sono basse, specialmente alle velocità di agitazione inferiori. In questo sistema il rapporto di efficienza varia da 0,060 (con l'elica di 360 mm di diametro rotante a 350 giri al minuto) a 0,150 con la velocità più elevata (720 g.p.m.) e l'elica di 300 mm di diametro.

b) *Agitazione libera con diffusore d'aria.*

Le curve segnate ————— D, E, ed F si riferiscono al sistema di agitazione libera con diffusore d'aria senza antivortici. Si sono usate due eliche (del diametro di 300 e 360 mm) e vari flussi d'aria (da 0,1 a 1,0 vol.aria/vol.liq./min) introdotti attraverso lo sparger ad un solo foro, prima descritto. Con un'elica del diametro di 360 mm (corrispondente a circa 1/4 del diametro del fermentatore) rotante a 380 g.p.m. si ottengono buoni coefficienti di efficienza, di circa 0,450 con i flussi d'aria fra 0,3 e 1,0 vol./vol.liq./min. (curva F nel diagramma 18). In queste condizioni non è possibile aumentare la diffusione dell'ossigeno aumentando la quantità dell'aria oltre 1,0 vol./vol.liq./min. La maggior parte della potenza richiesta è assorbita dal compressore d'aria e solo 0,75 watt/litro sono assorbiti dall'agitazione (vedi tabella 8). Questo significa che, se si aumenta la quantità dell'aria introdotta oltre 1,0 vol./vol.liq./min l'elica gira quasi unicamente nell'aria, così che la sua capacità di dispersione diviene trascurabile.

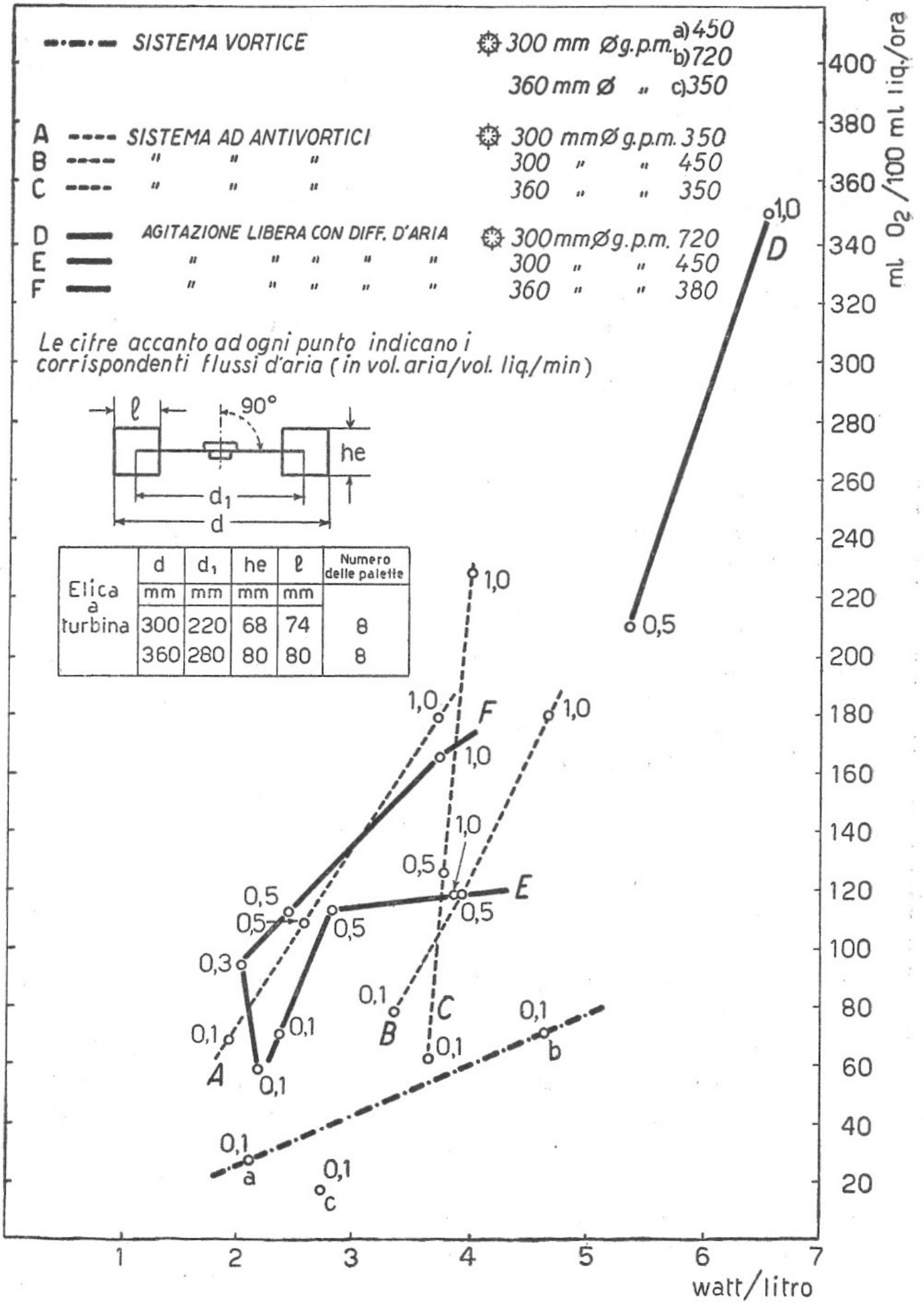


Fig. 18. - Velocità di diffusione dell'ossigeno e potenza richiesta in un fermentatore di 3.000 litri.

Coefficienti assai buoni si sono avuti con un'elica di 300 mm ( $1/5$  del diametro del tank) ruotante a 720 g.p.m. L' $E_r$  è di 0,500 con 1,0 vol.aria/vol.liq./min e scende a 0,400 quando il flusso di aria è ridotto alla metà (curva D). Con la stessa elica alla velocità di 450 g.p.m. si ha il migliore  $E_r$  (0,400) con 0,5 vol.aria/vol.liq./min. Con 1,0 vol.aria/vol.liq./min, la curva (E del diagramma 18) si flette ed il coefficiente di efficienza scende a 3,300. Questo fenomeno è dovuto al fatto che la quantità d'aria introdotta è in eccesso rispetto alla capacità diffusiva dell'elica.

c) *Sistema ad antivortici.*

Le curve segnate ————— nel diagramma 18 si riferiscono al sistema di agitazione ad antivortici. Con un'elica di 300 mm (circa  $1/5$  del diametro del fermentatore) rotante a 450 g.p.m. il coefficiente di efficienza varia da 0,230 a 0,380 con i vari volumi d'aria compresi fra 0,1 e 1,0 vol.aria/vol.liq./min (curva C). Con la stessa elica e con la minore velocità di 350 g.p.m. il coefficiente di efficienza è di circa il 25% maggiore del caso precedente a parità di volumi d'aria introdotti. ( $E_r$  compreso fra 0,360 e 0,470) (curva B).

Con la più grande elica impiegata (diametro 360 mm corrispondente ad  $1/4$  del diametro del fermentatore) rotante a 350 g.p.m. il coefficiente d'efficienza è molto basso (0,360) per bassi flussi d'aria (0,1 vol.aria/vol.liq./min), ma cresce al crescere della quantità d'aria introdotta, a 0,320 per 0,5 vol.aria/vol.liq./min e a 0,450 per 1,0 vol.aria/vol.liq./min. (curva A). In questo caso la quantità d'aria è il fattore limitante la velocità di diffusione dell'ossigeno, poichè il volume d'aria introdotto è assai minore della quantità che potrebbe essere diffusa dall'elica. Questo fenomeno può essere considerato il caso inverso di quello illustrato precedentemente dalla curva E del diagramma 18. Dal grafico appare chiaro che, dentro i limiti di buona efficienza di ogni singolo sistema, le velocità di diffusione sono in tutti i metodi di agitazione pressochè le stesse, a parità di volume d'aria introdotto. Questo vuol dire che, quando l'assorbimento di potenza non costituisce argomento di decisione, si possono ottenere le aerazioni desiderate con l'introduzione di quantità di aria adeguate.

Si può inoltre osservare che in nessuno dei sistemi saggiati il coefficiente d'efficienza differisce dagli altri per un fattore superiore a 5.

Nei sistemi di agitazione che impiegano un distributore d'aria tutte le curve « diffusione/potenza » giacciono entro una striscia piuttosto sottile del diagramma; per una data diffusione il coefficiente d'efficienza non varia passando da un sistema all'altro, più di due volte. Quindi la questione della potenza necessaria all'agitazione non è necessariamente il

fattore principale per determinare la scelta di un certo particolare sistema di aerazione, ma debbono essere presi in considerazione anche altri criteri quali sarebbero gli effetti biologici e la semplicità meccanica di costruzione e di funzionamento.

*Effetto dell'introduzione dell'aria sulla potenza richiesta.*

L'introduzione di aria in liquidi sottoposti ad agitazione diminuisce la loro densità e la loro viscosità e quindi la potenza necessaria per l'agitazione stessa. Questo fatto è già stato osservato da vari autori (<sup>1, 34</sup>).

Nella tabella 8 sono elencati i valori della potenza richiesta (in

Tipo di agitazione	Diametro dell'elica mm	g. p. m.	Potenza netta richiesta per l'agitazione: watt/l (*)			
			senza aria	0.1 vol. aria/ vol. liq./min.	1.0 vol. aria/ vol. liq./min.	0.5 vol. aria/ vol. liq./min.
Libera	360	380	2.53	1.91	0.95	0.75
	300	450	1.78	1.51	1.32	0.98
	300	720	4.34	—	3.95	3.60
Ad antivortici	360	350	4.07	3.39	2.30	1.14
	300	350	2.05	1.63	1.12	0.77
	300	450	4.38	3.14	2.53	1.67

Tab. 8. - Effetto dell'introduzione di aria sulla potenza richiesta per l'agitazione in un fermentatore di 3.000 litri.

(\*) Esclusa la potenza richiesta dal compressore d'aria.

watt/litro) per la sola agitazione (sottratta la potenza assorbita dalle trasmissioni e dai premistoppa) nel fermentatore di 3000 litri contenente 2250 litri di acqua, agitata con i tre sistemi sopra elencati: a) vortice; b) libero con diffusore d'aria; c) con antivortici e diffusore d'aria.

In tutti i casi la potenza assorbita diminuisce, aumentando il flusso dell'aria. La riduzione della potenza richiesta è particolarmente rilevante nel caso del sistema con antivortici in tutte le condizioni saggiate ed è

(<sup>34</sup>) FOUST M. C., MACK D. E. e RUSHTON J. H. - Ind. Eng. Chem., 36, 517 (1944).

dell'ordine del 60-70%. In assenza di antivortici la diminuzione nella potenza assorbita è più pronunciata con le più basse velocità di agitazione e diviene più piccola aumentando la velocità dell'elica.

Alcune misure sono state compiute in un fermentatore della capacità di 50.000 litri agitato con il sistema ad antivortici.

Sull'asse dell'agitatore erano montate 3 eliche ad otto pale del tipo a pale ricurve. Ad una velocità di 90 g.p.m. l'assorbimento di potenza era di 1,1 watt/litro senza flusso d'aria; si riduceva a 0,9 watt/litro con un flusso d'aria di 0,5 vol./vol.liq./min., e a 0,7 watt/litro con un flusso di 1,0 vol./vol.liq./min. La corrispondente riduzione era del 20% e 28% rispettivamente. Questa riduzione è meno rilevante di quella osservata nel fermentatore di 3.000 litri, e questo è probabilmente causato dal fatto che nell'ultimo caso era presente una sola elica mentre nel fermentatore più grande ve ne erano tre. La corrente d'aria che esce dal diffusore ad un solo foro posto sul fondo del fermentatore influisce in modo significativo soltanto sull'assorbimento di potenza dell'elica con la quale l'aria viene per prima in contatto, cioè con la più bassa delle tre.

#### *Effetto della presenza del micelio sull'assorbimento di potenza.*

La presenza di micelio nella concentrazione corrispondente al 2% in peso secco aumenta l'assorbimento di potenza di circa il 30%.

#### *Effetto del micelio del *Penicillium chrysogenum* sulla velocità di aerazione.*

In presenza di micelio morto di *Penicillium chrysogenum* la velocità di diffusione dell'ossigeno diminuisce in relazione alla quantità di micelio. In presenza di circa il 2% di micelio questa diminuzione è del 50-70% (tabella 9).

#### MISURE DI AERAZIONE IN FERMENTATORI DI 12.000 LITRI.

Sono state fatte alcune misure in fermentatori di 12.000 litri contenenti 10.000 litri di soluzione all'1% di NaCl, agitati sia con il sistema ad antivortici che con il sistema libero a sparger d'aria. In queste determinazioni si è fatto uso sia del metodo al solfito che di quello amperometrico (elettrodo di platino vibrante). I risultati fra i due metodi mostrati nella tabella 10 sono di soddisfacente accordo, come già si era

g. p. m.	Volume aria/ vol. liq./min. (*)	Velocità di diffusione dell'ossigeno ml O <sub>2</sub> /100 ml liq. ora		
		senza micelio	1,2 <sup>3</sup> / <sub>0</sub> micelio morto	2,1 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> micelio morto
450	0.5	112	67	45
	1.0	117	67	50
720	0.5	209	85	70
	1.0	~ 350	140	110

Tab. 9. - Riduzione della velocità di diffusione dell'ossigeno in un fermentatore di 3.000 litri in presenza di diverse quantità di micelio morto di *Penicillium chrysogenum*.

(\*) Agitazione libera con diffusione d'aria. Diametro dell'elica 300 mm.

Sistema di agitazione	Flusso d'aria vol. aria vol. liq. min.	Velocità di diffusione dell'ossigeno ml O <sub>2</sub> /100 ml liq. ore	
		metodo amperometrico	metodo al solfito
Ad antivortici *	0.5	125	100
	1.0	200	225
Libera **	0.25	88	—
	0.5	116	—
	1.0	165	—

Tab. 10. - Velocità di diffusione dell'ossigeno in fermentatori di 12.000 litri. Diametro del fermentatore 2.600 mm. Velocità dell'elica 160 g.p.m.

\* Due eliche del diametro di 600 mm rispettivamente a  $\frac{1}{3}$  e  $\frac{2}{3}$  dell'altezza del liquido.

\*\* Un'elica a metà altezza del liquido; diametro 800 mm.

trovato in fermentatori di dimensioni minori. I valori della potenza assorbita per l'agitazione e la compressione dell'aria sono riportati nella tabella 11.

CONFRONTO DELL'EFFICIENZA DI DIFFERENTI SISTEMI DI AERAZIONE  
IN FERMENTATORI DI DIVERSE DIMENSIONI

La tabella 11 contiene i valori delle velocità di diffusione dell'ossigeno e gli  $E_r$  per vari sistemi di aerazione in fermentatori di diverse dimensioni.

Come era da attendersi, nel sistema vortice l'efficienza dell'aerazione diminuisce aumentando il volume del fermentatore. L'elica impiegata era del tipo a turbina ad 8 pale e la velocità periferica delle pale era conservata approssimativamente costante nei fermentatori di diversa grandezza. Il rapporto d'efficienza  $E_r$  diminuisce da 0,6 a 0,06 quando il volume del fermentatore passa da 5 a 3.000 litri. Il sistema vortice è quindi più conveniente in fermentatori di piccola capacità. Infatti la sua semplicità meccanica e i vantaggi che ha riguardo al controllo della schiuma, ne fanno il più adatto dei fermentatori da laboratorio o da impianto pilota.

Nel sistema ad antivortici, quando il flusso d'aria e le dimensioni dell'elica sono combinate in modo tale che la capacità disperdente dell'elica sia completamente utilizzata, l'efficienza dell'aerazione non varia molto al crescere del volume del recipiente da 5 litri a 12.000 litri. L' $E_r$  è compreso nella maggior parte dei casi fra 0,35 e 0,55. Per fermentatori fino a 12.000 litri, eliche di diametro corrispondente a  $1/5$  fino ad  $1/2$  diametro del fermentatore sono adatte per una buona dispersione di flussi d'aria da 0,2 a 1,0 vol./vol.liq./min.

La formula proposta da RUSHTON per calcolare la potenza assorbita  $P$  (in kilowatt) di un'elica rotante in un liquido con antivortici e con una turbolenza corrispondente ad un numero di REYNOLD  $> 3.10^3$  è:

$$P = \Phi \rho N^3 D^5 \times 10^{-10} (*)$$

(\*) Spiegazione dei simboli:

$\Phi$  = una costante caratteristica del sistema usato dipendente dal numero di Reynold  $R_n$ .

$\rho$  = densità, gr/cm<sup>3</sup>.

$N$  — numero di giri dell'elica al secondo.

$D$  = diametro dell'elica, cm.

$\mu$  = viscosità, poise.

Sistema d'agitazione	Vol. del liquido litri	Diametro dell'elica mm	g. p. m.	Flusso d'aria vol. vol. liq./min.	Velocità di diffusione dell'ossigeno ml/100 ml/ora	Potenza assorbita watt/litro			Er
						per l'agitazione	per la compressione dell'aria	totale	
Vortice	5	90	725	0.1*	115	1.56	0.3	1.86	0.62
	50	90	1320	0.1*	75	2.34	0.3	2.64	0.28
	200	150	1470	0.1*	80	1.34	0.3	1.64	0.49
	2250	200	1470	0.1*	81	9.05	0.3	9.35	0.09
		300	720	0.1*	70	4.34	0.3	4.64	0.15
		300	450	0.1*	27	1.80	0.3	2.10	0.13
		360	350	0.1*	17	2.52	0.3	2.82	0.06
Ad anti-vortici	5	75	650	0.5	175	3.30	1.5	4.80	0.39
	50	130	720	0.2	185	4.90	0.6	5.50	0.34
	130	300	230	0.5	260	4.30	1.5	5.80	0.45
				1.0	310	3.40	3.0	6.40	0.49
				0.3	184	4.20	0.9	5.10	0.36
				0.5	223	4.00	1.5	5.50	0.40
				1.0	307	3.32	3.0	6.30	0.49
				0.3	23	1.07	0.9	1.97	0.11
				0.5	36	1.05	1.5	2.54	0.14
				1.0	70	1.00	3.0	4.00	0.17
				0.3	35	2.75	0.9	3.65	0.10
				0.5	47	2.70	1.5	4.20	0.11
	2250	300	350	1.0	85	2.40	3.0	5.40	0.16
				0.1	69	1.63	0.3	1.93	0.35
				0.5	108	1.12	1.5	2.62	0.41
				1.0	178	0.77	3.0	3.77	0.47
				0.1	77	3.15	0.3	3.34	0.23
				0.5	117	2.53	1.5	4.03	0.29
				1.0	178	1.67	3.0	4.67	0.38
				0.1	60	3.39	0.3	3.69	0.16
10000	600	160	0.5	124	2.30	1.5	3.80	0.32	
			1.0	225	1.14	3.0	4.14	0.54	
			0.5	125	2.10	1.5	3.60	0.33	
			1.0	200	1.50	3.0	4.50	0.44	
			0.3	70	1.50	0.9	2.40	0.29	
			0.5	112	1.32	1.5	2.82	0.39	
Libero condif fusore d'aria	2250	300	1.0	117	0.97	3.0	3.97	0.29	
			0.5	209	3.90	1.5	5.40	0.38	
			1.0	350	3.60	3.0	6.60	0.53	
			0.1	58	1.88	0.3	2.28	0.26	
			0.3	95	1.15	0.9	2.05	0.46	
			0.5	110	1.00	1.5	2.50	0.44	
	11000	800	160	1.0	163	0.75	3.0	3.75	0.43
				0.25	88	1.55	0.75	2.30	0.38
				0.5	115	1.30	1.5	2.80	0.41
				1.0	165	1.00	3.0	4.00	0.41
				0.3	70	1.50	0.9	2.40	0.29
				0.5	112	1.32	1.5	2.82	0.39

Tab. 11. - Confronto dell'efficienza di vari sistemi di aerazione in fermentatori di diverse dimensioni.

\* Aria soffiata sulla superficie del liquido.

Gli autori hanno saggiato l'applicabilità di questa formula in una delle condizioni nelle quali viene usato il fermentatore di 3000 litri.

Tali condizioni erano le seguenti

capacità totale del fermentatore = 3000 l

volume di liquido agitato = 2250 litri di acqua

$D = 30$  cm

$\rho = 1$  g/cm<sup>3</sup>

$N = 6$  giri al secondo

$\mu = 0,01$  poise.

Il numero di REYNOLD,  $R_n$  per tale sistema, determinato con la formula:

$$R_n = \frac{D^2 N \rho}{\mu}$$

era di  $5,4 \cdot 10^5$  e quindi la formula di RUSHTON era applicabile. Il valore di  $\Phi$  è stato preso dai dati di RUSHTON, 1950 (<sup>35</sup>, <sup>36</sup>, <sup>37</sup>, <sup>38</sup>) uguale a 6,9. Da questi dati si è calcolato l'assorbimento di potenza di un'elica a sei pale, che risultò uguale a 3,54 Kw e quindi per un'elica ad otto pale  $3,54 \times 5/4 = 4,45$  Kw. Il valore trovato sperimentalmente era 4,62 Kw, in ottimo accordo con quello calcolato.

Per il calcolo della velocità di diffusione dell'ossigeno dai valori dell'assorbimento di potenza, si deve ricordare che la potenza richiesta per l'agitazione diminuisce quando una corrente d'aria passa attraverso il liquido. Con un flusso di 0,5 vol./vol.liq./min. la diminuzione è di circa il 40% e per uno di 1,0 vol./vol.liq./min di circa il 60% con i tipi di eliche usati. L'assorbimento di potenza per la sola agitazione in assenza d'aria è di  $\frac{4620}{2250} = 2,05$  watt/l. Con un flusso d'aria di 0,5 vol./vol.liq./min viene ridotta a 1,12 watt/l e con 1,0 vol./vol.liq./min a 0,8 watt/l.

A questi valori bisogna aggiungere la potenza richiesta dal compressore d'aria, corrispondente a circa 1,5 watt/l e 3,0 watt/l con un flusso rispettivamente di 0,5 e 1,0 vol./vol.liq./min.

L'assorbimento totale di potenza è quindi  $1,12 + 1,5 = 2,62$  watt/l e  $0,77 + 3,0 = 3,77$  watt/l rispettivamente per i due flussi d'aria. Supponen-

(<sup>35</sup>) RUSHTON J. H. - Chem. Eng. Prog., 47, 485 (1954).

(<sup>36</sup>) RUSHTON J. H. - Chem. Eng. Prog., 48, 33 e 95 (1952).

(<sup>37</sup>) RUSHTON J. H., COSTIC E. W. e EVERETT H. J. - Chem. Eng. Prog., 46, 395 (1950).

(<sup>38</sup>) RUSHTON J. H. e OLDSHUE J. Y. - Chem. Eng. Prog., 49, 161 (1953).

do un  $E_r$  di 0,4-0,5, le velocità di diffusione dell'ossigeno corrispondenti ai surriportati valori della potenza sono fra 100 e 130 ml  $O_2$ /100 ml liq./ora per un flusso d'aria di 0,5 vol./vol.liq./min e fra 150 e 190 ml  $O_2$ /100 ml liq./ora per un flusso d'aria di 1,0 vol./vol.liq./min.

I valori trovati erano rispettivamente 108 e 178.

Per quanto riguarda gli effetti della variazione di scala sull'assorbimento di potenza per l'agitazione e l'aerazione in fermentatori di diversa grandezza impiegati nella produzione di penicillina si possono consultare i lavori di WEGRICH e SHURTER e CHAIN, PALADINO, CALLOW, TONOLO, KAUSHAL e CARILLI <sup>(39, 40)</sup>.

Alcuni dati riguardanti l'assorbimento di potenza, flusso d'aria e velocità di diffusione dell'ossigeno sono riportati da KAROW, BARTHOLOMEW e SFAT <sup>(41)</sup> da questi è possibile calcolare il valore degli  $E_r$ .

Nella seguente tabella 12 sono riportati i dati di KAROW *et al.* rical-

Capacità del fermentatore litri	Flusso d'aria vol./vol. liq./min.	Velocità di diffusione dell'ossigeno ml $O_2$ /100 ml liq. ora	Potenza per la agitazione watt l	Potenza per la compressione dell'aria watt l	Potenza totale assorbita watt l	$E_r$
5	1.5	27	0.18	4.50	4.68	0.06
	0.22	45	0.71	0.66	1.37	0.33
	0.7	63	0.56	2.10	2.66	0.23
	1.5	54	0.38	4.50	4.88	0.11
	0.22	153	2.25	0.66	2.91	0.52
	0.7	220	1.87	2.10	3.98	0.56
	1.5	170	1.22	4.50	5.72	0.30
750	0.06	45	0.71	0.18	0.89	0.50
	0.12	63	0.70	0.36	1.06	0.59
	0.36	108	0.50	1.10	1.60	0.67
	0.60	117	0.42	1.80	2.22	0.53
	37 500	0.17	162	0.45	0.51	0.96
56 500	0.09	117	0.50	0.27	0.77	1.52
	0.18	153	0.38	0.54	0.92	1.66
	0.09	227	1.00	0.27	1.27	1.79
	0.18	300	0.82	0.54	1.36	2.20

Tab. 12. - Valori della velocità di diffusione dell'ossigeno e della potenza assorbita ricalcolati in base ai dati di Karow *et al.*

<sup>(39)</sup> WEGRICH O. G. e SHURTER R. A. Jr. - Ind. Eng. Chem., 45, 1153 (1953).

<sup>(40)</sup> CHAIN E. B., PALADINO S., UGOLINI F., CALLOW D. S., TONOLO A., KAUSHAL R. con una nota di CARILLI A. (1954). In corso di stampa.

<sup>(41)</sup> KAROW E. O., BARTHOLOMEW W. H. e SFAT M. R. - J. Agric. & Food. Chem., 1, 302 (1953)

colati nelle unità usate dagli autori di questo lavoro. KAROW *et al.* misuravano le velocità di diffusione dell'ossigeno col metodo del solfito nel caso dei fermentatori della capacità di 5 e 750 litri, mentre per i fermentatori più grandi essi estrapolavano i dati di COOPER *et al.* (<sup>1</sup>) dati ottenuti col metodo, del solfito in recipienti da 3 fino a 8500 litri di capacità.

Gli  $E_T$  calcolati dai dati di KAROW *et al.* sono dello stesso ordine di grandezza di quelli trovati dagli autori, nei casi in cui le velocità di diffusione dell'ossigeno erano state determinate sperimentalmente. Al contrario, i valori di  $E_T$  ricavati dall'estrapolazione dei dati di COOPER *et al.* sono molto più alti di quelli trovati sperimentalmente dagli autori. Il motivo di questo, nell'opinione degli autori, è che i valori di COOPER *et al.* sono suscettibili di estrapolazione. Infatti nei loro esperimenti era mantenuta costante la velocità superficiale dell'aria (m/ora) ma non quella volumetrica (m<sup>3</sup>/ora); così facendo il flusso d'aria per volume di liquido cresce proporzionalmente al quadrato dell'aumento delle dimensioni del fermentatore, mentre la capacità cresce proporzionalmente al cubo; ne segue che la quantità di aria che passa per volume di liquido, diminuisce al crescere delle dimensioni del fermentatore e può divenire insufficiente per una efficace dispersione da parte delle pale dell'elica.

Inoltre i valori di diffusione dell'ossigeno di COOPER *et al.*, usati da KAROW *et al.* per l'estrapolazione erano stati ottenuti con un'elica a disco alettato, mentre i fermentatori impiegati da KAROW *et al.* erano muniti di eliche del tipo a turbina radiale.

#### EFFETTO DELLA VARIAZIONE DI SCALA SUL RAPPORTO: POTENZA ASSORBITA PER L'AGITAZIONE/POTENZA ASSORBITA PER LA COMPRESSIONE DELL'ARIA

Mentre l'efficienza dell'aerazione nei fermentatori muniti di antivortici è, entro larghi limiti, indipendente dalle dimensioni del fermentatore stesso da 5 a 12.000 litri, il rapporto potenza assorbita per l'agitazione/potenza assorbita per la compressione dell'aria diminuisce notevolmente al crescere delle dimensioni del fermentatore (tabella 13). Cioè al crescere delle dimensioni del fermentatore, la dispersione meccanica dell'aria da parte dell'elica diviene più efficiente, mentre divengono minori le forze esercitate dall'elica per creare il moto turbolento. Certi effetti osservati nel passaggio di fermentazioni dalla scala di laboratorio a quella industriale, possono avere la loro spiegazione in questo fatto,

nei casi in cui i microorganismi in questione sono sensibili ad offese meccaniche (vedi DION, CARILLI, SERMONTI e CHAIN <sup>(42)</sup>).

E' stato dimostrato <sup>(36, 37, 38, 43)</sup> che, contrariamente a quello che accade per i sistemi ad antivortici, in quelli ad agitazione libera, cioè in presenza di un vortice, è difficile, se non impossibile, l'estensione dei calcoli per l'assorbimento di potenza degli agitatori dalla scala di laboratorio a quella industriale. In tali sistemi infatti, le dimensioni geome-

Volume del liquido litri	Diametro dell'elica mm	g. p. m. (*)	Flusso d'aria vol. aria/ /vol. liq./ /min	Potenza richiesta watt litro			Er	Potenza per l'agitazione/ Potenza per la compressione dell'aria
				per la compressione	per la agitazione	Totale		
5	75	650	0.5	1.5	3.3	4.8	0.39	2.20
50	130	720	0.5	1.5	4.3	5.8	0.45	2.85
			1.0	3.0	3.4	6.4	0.49	1.14
130	300	230	0.5	1.5	4.0	5.5	0.40	2.65
			1.0	3.0	3.3	6.3	0.49	1.10
2 500	360	350	0.5	1.5	2.3	3.8	0.33	1.55
			1.0	3.0	1.1	4.1	0.54	0.40
10 000	600	160	0.5	1.5	2.1	3.6	0.33	1.40
			1.0	3.0	1.5	4.5	0.44	0.50

Tab. 13. - Effetto del cambiamento di scala sul rapporto potenza assorbita per l'agitazione. Potenza assorbita per la compressione dell'aria.

(\*) Sistema di agitazione ad antivortici.

triche e le proprietà idrodinamiche dei fluidi agitati non conservano la similitudine al crescere del volume del recipiente.

Comunque, nell'opinione degli autori, il sistema di agitazione libera in fermentatori di dimensioni industriali non presenta vantaggi significativi sul sistema ad antivortici, nè rispetto all'assorbimento totale di potenza, nè riguardo al rapporto potenza assorbita per l'agitazione/potenza assorbita per la compressione dell'aria.

<sup>(42)</sup> DION W., CARILLI A., SERMONTI G. e CHAIN E. B. - Rend. Ist. Sup. Sanità, 17, 1304 (1954).

<sup>(43)</sup> HIXSON A. W. e BAUM S. J. - Ind. Eng. Chem., 34, 120 (1942).

RINGRAZIAMENTI

Gli autori desiderano esprimere il loro ringraziamento all'Ing. Prof. S. PALADINO e all'Ing. F. UGOLINI per il loro valido aiuto nella costruzione delle eliche e dei premistoppa del fermentatore della capacità di 3000 litri e per numerose discussioni di carattere generale; ai dottori O. E. VIRTANEN, G. MILLER, e A. VIRGILIO per le numerose misure compiute col metodo del solfito e al Sig. D. S. CALLOW per alcune misure manometriche di respirazione.

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Centro internazionale di chimica microbiologica.

---