



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

261 454

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 26.05.86
(21) PV 3801-86.Z

(51) Int. Cl.⁴
G 01 N 7/10

(40) Zveřejněno 15.07.88
(45) Vydáno 2.1.1990

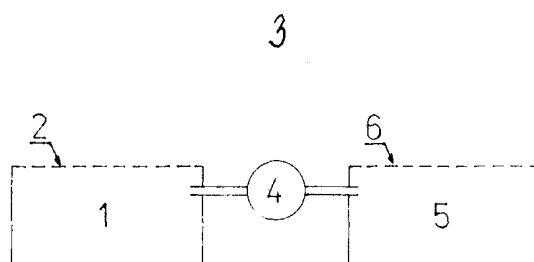
(75)
Autor vynálezu

SIMMER JAN dr. CSc., TŘEBONĚ

(54)

Způsob kontinuálního manometrického měření
rychlosti výměny plynů

Způsob je určen pro kontinuální měření aktuální rychlosti výměny plynů především v biologii a v biochemii. Jeho podstata spočívá v tom, že reakční prostor není uzavřený, nýbrž je od okolí oddělen membránou permeabilní pro plynné složky dané reakce, přičemž plyny vstupující do reakce difundují z okolí přes membránu do reakčního prostoru, zatímco plynné produkty reakce difundují opačným směrem do okolí. Vlivem nestejné permeability membrány pro různé plyny vznikne mezi reakčním prostorem a okolím tlaková difference, která je za konstantní teploty přímo úměrná rychlosti výměny plynů a nezávisí ani na složení, ani na tlaku plynné směsi v okolí.



Vynález se týká způsobu kontinuálního manometrického měření rychlosti výměny plynů.

Existuje řada biochemických či chemických reakcí (fotosyntéza, dýchání, oxidace, dekarboxylace), při nichž se produkuje plyn (plyny) za současné spotřeby jiného plynu (jiných plynů). Např. při fotosyntéze se spotřebovává oxid uhličitý a produkuje kyslík.

Dosavadní způsob manometrického stanovení rychlosti výměny plynů je založen na měření změny tlaku, k níž došlo v průběhu reakce za stálé teploty v uzavřeném prostoru konstantního objemu. Tento způsob má následující nevýhody:

- a) Plyn vstupující do reakce nelze průběžně doplňovat, takže je možné jen jednorázové, relativně krátkodobé měření.
- b) Sledovaná reakce probíhá za neustále se měnící koncentrace plynných reakčních složek.
- c) Jestliže se objem vyprodukovaného plynu rovná objemu plynu spotřebovaného (což je velmi častý případ), je třeba vytvořit tlakový efekt uplatněním dalších fyziálních nebo chemických procesů. To jednak komplikuje měření, jednak může nepříznivě ovlivnit jeho přesnost.

Uvedené nevýhody odstraňuje způsob kontinuálního manometrického stanovení rychlosti výměny plynů podle vynálezu, jehož podstatou je, že reakční prostor není uzavřený, nýbrž je od okolí oddělen membránou permeabilní pro plynné složky dané reakce, přičemž plyny vstupující do reakce jsou přítomny v okolí a odtud difundují přes membránu do reakčního prostoru, zatímco plynné produkty reakce difundují opačným směrem do

okolí. Vlivem nestejné permeability membrány pro plyny účastnící se reakce vznikne tlaková difference mezi reakčním prostorem a okolím, která je za konstantní teploty přímo úměrná rychlosti výměny plynů a nezávisí ani na složení, ani na tlaku plyné směsi v okolí.

Popsaný způsob stanovení rychlosti výměny plynů má tyto výhody:

- a) Umožňuje déletrvající kontinuální měření.
- b) Koncentrace plynů v reakčním prostoru se po dosažení ustáleného stavu dále nemění, takže reakce probíhá za konstantních podmínek.
- c) Tlaková difference na membráně, která je indikátorem rychlosti reakce, vzniká i tehdy, když objem vyprodukovaného plynu se rovná objemu plynu spotřebovaného.

Konkrétní realizace způsobu měření podle vynálezu vyžaduje, aby membrána byla pro plyné složky reakce dostatečně permeabilní a aby její permeabilita pro různé plyny byla dostatečně odlišná. Pojem dostatečnosti pro daný účel objasní následující matematický popis principu vynálezu.

Je-li A (cm^2) plocha permeabilní membrány, V (cm^3) objem reakčního prostoru, T (K) termodynamická teplota, R ($\text{Pa} \cdot \text{cm}^3 \cdot \mu\text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$) plynová konstanta, P_i ($\text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$) permeabilita membrány pro i -tý plyn, p_{Ai} (Pa) tlak i -tého plynu v okolí, p_{Bi} (Pa) tlak i -tého plynu v reakčním prostoru, r_i ($\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$) rychlost spotřeby (-) resp. produkce (+) i -tého plynu, Δp (Pa) tlaková difference mezi reakčním prostorem a okolím, t (h) čas, pak časovou změnu tlaku i -tého plynu v reakčním prostoru popisuje diferenciální rovnice

$$\frac{dp_{Bi}}{dt} = - \frac{P_i A}{V} (p_{Bi} - p_{Ai}) + \frac{RTr_i}{V}.$$

Po určité době, úměrné hodnotě výrazu $V/(P_i A)$, nastane pro i -tý plyn dynamická tlaková rovnováha, při níž bude platit rovnost

$$p_{Bi} - p_{Ai} = \frac{RTr_i}{AP_i},$$

vystihující skutečnost, že difference parciálního tlaku i -tého

plynu na membráně závisí pouze na rychlosti r_i , protože R a A jsou konstanty a T a P_i za stálé teploty rovněž. Je-li n počet plyných složek dané reakce, pak celková tlaková difference mezi reakčním prostorem a okolím je dána rovností

$$\Delta p = \frac{RT}{A} \sum_{i=1}^n \frac{r_i}{P_i},$$

kde Δp má buď kladnou hodnotu (přetlak v reakčním prostoru), nebo zápornou hodnotu (podtlak v reakčním prostoru). Jen zcela výjimečně by Δp mohlo být rovno nule. V takovém případě by bylo nutno zvolit membránu z jiného materiálu. Materiál membrány není předmětem tohoto vynálezu, avšak v současné době mají žádoucí vlastnosti membrány ze silikonového kaučuku (silicone rubber), protože jsou pro plyny a páry vysoce permeabilní a jejich permeabilita pro různé plyny je natolik odlišná, že vzniká snadno měřitelný rozdíl tlaků Δp .

V celém průběhu sledování rychlosti výměny plynů je třeba zajistit, aby reakce nebyla limitována nedostatečným přívodem vstupních reakčních složek do reakčního prostoru. Tento požadavek bude splněn, jestliže parciální tlak každé vstupní plyné reakční složky v okolí bude vyhovovat nerovnosti

$$p_{Ai} > - \frac{R \cdot T \cdot \hat{r}_i}{A \cdot P_i},$$

kde $\hat{r}_i$ ($\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$) je maximální možná rychlost spotřeby i -tého plynu během měření ($\hat{r}_i$ má zápornou hodnotu).

Rychlost produkce resp. spotřeby k -té reakční složky vypočteme z hodnoty tlakové difference Δp pomocí vztahu

$$r_k = \frac{\Delta p \cdot A \cdot q_k}{R \cdot T} \bigg/ \sum_{i=1}^n \frac{q_i}{P_i} \quad (1 \leq k \leq n),$$

kde q_i, q_k (mol) je stechiometrický koeficient i -té resp. k -té plyné složky dané reakce. Pro plyn, který do reakce vstupuje, má q zápornou hodnotu. Plynová konstanta $R = 8,31441 \text{ Pa} \cdot \text{cm}^3 \cdot \mu\text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$.

Jestliže rychlost spotřeby (-) resp. produkce (+) i -tého plynu r_i ($\mu\text{mol}\cdot\text{h}^{-1}$) je funkcí času, např.

$$r_i = s_i(1 + k \sin \omega t) \quad k \leq 1,$$

kde s_i ($\mu\text{mol}\cdot\text{h}^{-1}$), k (1) a ω (h^{-1}) jsou parametry charakterizující časový průběh dané reakce, pak časový průběh tlakové difference Δp (Pa) je popsán vztahem

$$\Delta p = \frac{RT}{A} \sum_{i=1}^n \frac{s_i}{P_i} \left\{ 1 + k \left[1 + (\omega V / AP_i)^2 \right]^{-1/2} \sin(\omega t - \varphi_i) \right\},$$

kde $\varphi_i = \arctan \frac{\omega V}{AP_i}$. Ostatní symboly vždy mají význam uvedený dříve.

Tato rovnost definuje odezvu měřicího systému na harmonický průběh měřené reakce, takže dovoluje předem zjistit, zda popsaná metoda kontinuálního měření je vhodná pro sledování změn rychlosti konkrétní reakce. Obecně platí, že metoda je pro daný případ tím vhodnější, čím menší je hodnota výrazů $\omega V / AP_i$.

Dále jsou uvedeny příklady způsobu kontinuálního manometrického měření rychlosti výměny plynů podle vynálezu.

Příklad 1

Byla kontinuálně měřena rychlost fotosyntetické výměny plynů synchronní populace jednoho druhu mikroskopických řas během jejich životního cyklu při teplotě $T = 309,15 \text{ K}$ (36°C). Jelikož řasové buňky mají značný obsah vody a byly suspendovány v živném roztoku, bylo nutno eliminovat vliv tlaku vodní páry na tlakovou diferenci Δp . Uspořádání experimentu schematicky znázorňuje obrázek. Řasová suspenze je v reakčním prostoru 1, odděleném od okolí 3 permeabilní membránou 2. Diferenční manometr 4 ústí do prostoru 2 s živným roztokem bez suspendovaných buněk. Jelikož membrána 6 je shodná s membránou 2, je také tlak vodní páry v prostoru 2 stejný jako v prostoru 1, zatímco parciální tlaky plynů v prostoru 2 se rovnají parciálním tlakům těchto plynů v okolí 3. Manometr 4 měří tedy pouze tlakovou diferenci reakčních složek. Stechiometrie plyných složek reakce, tj. CO_2 a O_2 ($n = 2$), odpovídala koeficientům $q(\text{CO}_2) = -1,00 \text{ mol}$ a $q(\text{O}_2) = 1,22 \text{ mol}$. Pro měření byla použita membrána ze silikonového kaučuku tloušťky $80 \mu\text{m}$, zpevněná síť-

kou. Permeabilita membrány pro plynné reakční složky činila $P(\text{CO}_2) = 4,68 \text{ cm.h}^{-1}$ a $P(\text{O}_2) = 0,90 \text{ cm.h}^{-1}$, plocha membrány byla $A = 120 \text{ cm}^2$. V okolí reakčního prostoru byl vzduch při místním atmosférickém tlaku, obohacený CO_2 na 2 obj. %. Po odeznění přechodných počátečních jevů ukázal diferenční manometr přetlak v reakčním prostoru $\Delta p = 1325 \text{ Pa}$. Z těchto údajů bylo vypočteno, že na začátku životního cyklu buněk byla rychlost spotřeby CO_2 $r(\text{CO}_2) = -54,2 \text{ } \mu\text{mol.h}^{-1}$ a rychlost produkce O_2 $r(\text{O}_2) = 66,1 \text{ } \mu\text{mol.h}^{-1}$. Na konci životního cyklu, ve fázi dělení buněk, klesl přetlak Δp až na 409 Pa , což odpovídá rychlostem $r(\text{CO}_2) = -16,7 \text{ } \mu\text{mol.h}^{-1}$ a $r(\text{O}_2) = 20,4 \text{ } \mu\text{mol.h}^{-1}$. Průběžná registrace přetlaku Δp umožnila stanovit okamžitou rychlost fotosyntézy v kterékoliv fázi vývoje dané populace. Jelikož chyba měření přetlaku byla cca $\pm 5 \text{ Pa}$, můžeme chybu stanovení $r(\text{CO}_2)$ odhadnout na $\pm 0,20 \text{ } \mu\text{mol.h}^{-1}$ a $r(\text{O}_2)$ na $\pm 0,25 \text{ } \mu\text{mol.h}^{-1}$.

Příklad 2

Příklad se shoduje ve všem s příkladem 1, pouze stechiometrické koeficienty jsou jiné, tj. $q(\text{CO}_2) = -1 \text{ mol}$ a $q(\text{O}_2) = 1 \text{ mol}$. Vypočtené počáteční rychlosti výměny plyných reakčních složek jsou v tomto případě $r(\text{CO}_2) = -68,9 \text{ } \mu\text{mol.h}^{-1}$ a $r(\text{O}_2) = 68,9 \text{ } \mu\text{mol.h}^{-1}$. Tento příklad ukazuje, že tlaková difference vzniká i tehdy, když součet rychlostí výměny všech plynů se rovná nule.

Vynález má možnost uplatnění při stanovení rychlosti výměny plynů především v biologii a v biochemii.

P ř e d m ě t v y n á l e z u

Způsob kontinuálního manometrického měření rychlosti výměny plynů, vyznačený tím, že reakční prostor se od okolí oddělí membránou permeabilní pro plynné složky reakce, přičemž plyny vstupující do reakce jsou přítomny v okolí, načež vlivem nestejně permeability membrány pro různé plyny vznikne mezi reakčním prostorem a okolím tlaková difference, indikovaná diferenčním manometrem, z níž se okamžitá rychlost výměny plyných reakčních složek stanoví výpočtem.

