

# Μάθημα Βιοχημικές Διεργασίες (ENE.2070)

## Ισοζύγια Μάζας και Σχεδιασμός Βιοαντιδραστήρων

---

Δρ. ΑΝΕΣΤΗΣ ΒΛΥΣΙΔΗΣ

Τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος

Πανεπιστήμιο Πατρών

## Τι μάθαμε στην προηγούμενη διάλεξη (Διάλεξη 5)

---

- Πως μπορούμε να εκφράσουμε το ρυθμό μιας αντίδρασης στις βιοδιεργασίες
- Υπολογισμός του ρυθμού της αντίδρασης από πειραματικά δεδομένων χρησιμοποιώντας την μέθοδο κλίσης μεσαίου σημείου
- Κινητική Μικροβιακής Ανάπτυξης σε Διαδικασίες Διαλείποντος έργου (Batch Growth)
- Πως μετράμε την συγκέντρωση της κυτταρικής μάζας
- Εξέταση Μη Δομημένων και Μη Κατανεμημένων μοντέλων
- Ανάπτυξη μοντέλων για την περιγραφή της βιομάζας
- Ανάπτυξη μοντέλων για την περιγραφή της κατανάλωσης του υποστρώματος και της παραγωγής Προϊόντος

## Περιγραφή Σημερινής Διάλεξης (Διάλεξη 6)

---

- Βήματα μιας Διεργασίας Ζύμωσης
- Διαδικασία και ερωτήματα σχεδιασμού μίας ζύμωσης
- Τύποι βιοαντιδραστήρων και τρόποι λειτουργίας τους
- Ισοζύγια Μάζας για Ιδανικούς Βιοαντιδραστήρες
  - Διαλείποντος έργου
  - Ημι-διαλείποντος έργου
  - Συνεχούς λειτουργίας

---

# Βήματα μίας Διεργασίας Ζύμωσης

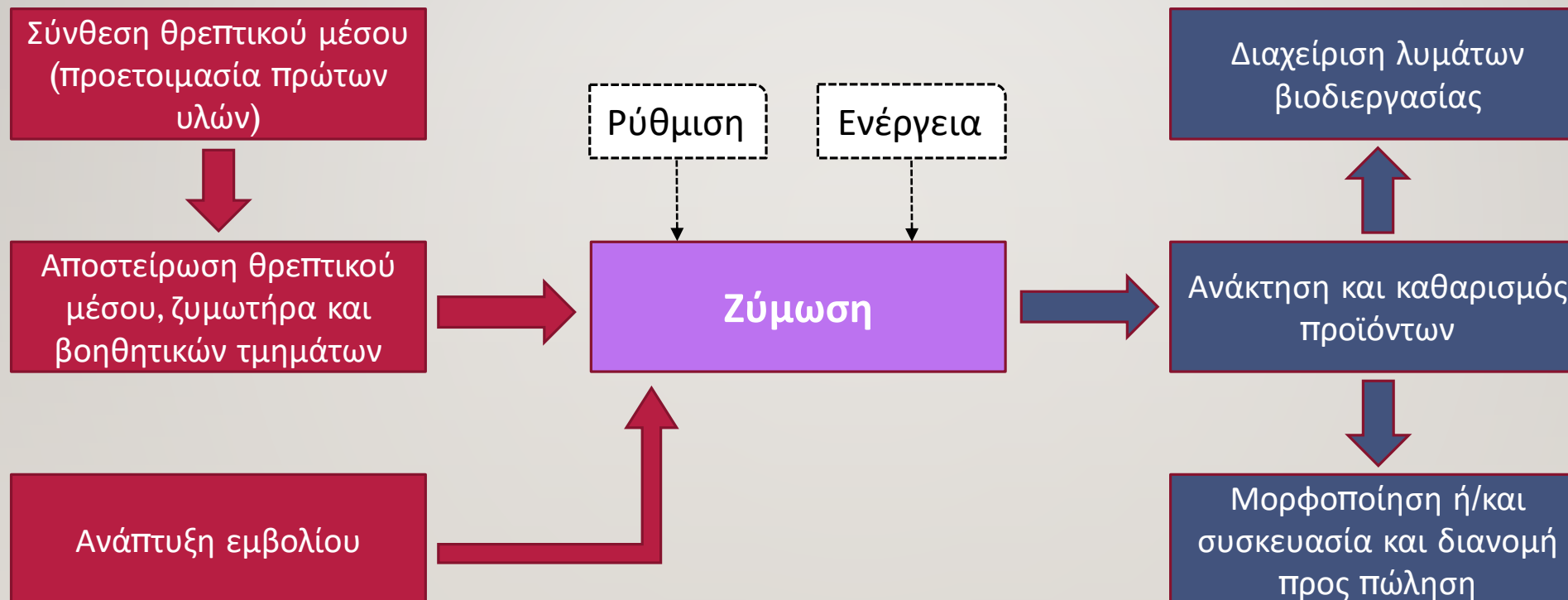


# Απαραίτητα Βήματα Εφαρμογής μιας Διεργασίας Ζύμωσης

---

- Σύνθεση θρεπτικού μέσου (προετοιμασία πρώτων υλών)
- Αποστείρωση θρεπτικού μέσου, ζυμωτήρα και βοηθητικών τμημάτων
- Ανάπτυξη εμβολίου
- Ζύμωση
- Ανάκτηση και καθαρισμός προϊόντων
- Διαχείριση λυμάτων βιοδιεργασίας
- Συσκευασία και διανομή προς πώληση

# Απαραίτητα Βήματα Εφαρμογής μιας Διεργασίας Ζύμωσης



# Σχεδιασμός Βιοαντιδραστήρα

---

- Σχηματισμός βιοαντιδραστήρα
- Μέγεθος Βιοαντιδραστήρα
- Συνθήκες λειτουργίας (θερμοκρασία, pH, διαλυμένο οξυγόνο, ανάδευση)
- Σύστημα ελέγχου
- Τρόπος λειτουργίας
  - Διαλείπωντος ή ημιδιαλείπωντος έργου (batch or fed-batch)
  - Συνεχής λειτουργία
  - Πολλαπλοί αντιδραστήρες
  - Στρατηγική τροφοδοσίας

Ο βιοχημικός μηχανικός καλείται να επιλέξει:  
– **τον τύπο βιοαντιδραστήρα**  
– **τον τρόπο λειτουργίας** που μεγιστοποιεί το κέρδος

# Παράγοντες που επηρεάζουν το σχεδιασμό και την επιλογή της διαμόρφωσης του βιοαντιδραστήρα

---

- Μικροβιολογία / Βιοχημεία
- Υδροδυναμική
- Μεταφορά θερμότητας και μάζας
- Κινητική αντίδρασης
- Γενετική σταθερότητα
- Ασηπτική λειτουργία
- Έλεγχος ζύμωσης
- Κατάντι Διεργασίες
- Κόστος ζύμωσης / «περιβαλλοντικό» κόστος
- Κλιμάκωση Βιοδιεργασίας
- Ασφάλεια

## Δεδομένα:

- Κόστους των πρώτων υλών
- Κόστους των προϊόντων
- Κόστους του κεφαλαίου
- Κόστους της ενέργειας
- Απαιτήσεις για ασφάλεια
- Απαιτήσεις για έλεγχο της ρύπανσης



## Ερωτήματα:

---

- 1. Ποια η σύσταση του θρεπτικού μέσου; Υπάρχει δυνατότητα επιλογής της ή καθορίζεται από την παραγωγή κάποιας άλλης διεργασίας;
- 2. Τι ποσότητα παραγωγής απαιτείται;
- 3. Ποιος τύπος βιοαντιδραστήρα είναι ο πιο κατάλληλος;
- 4. Ποιος ο καλύτερος τρόπος λειτουργίας;
- 5. Τι σχήμα και μέγεθος αντιδραστήρα απαιτείται;
- 6. Τι λειτουργικές συνθήκες (θερμοκρασία, pH, πίεση, ανάδευση, αερισμός) απαιτούνται;
- 7. Ποιες οι ενεργειακές απαιτήσεις;
- 8. Μήπως είναι επιθυμητό να έχουμε ανακυκλοφορία;

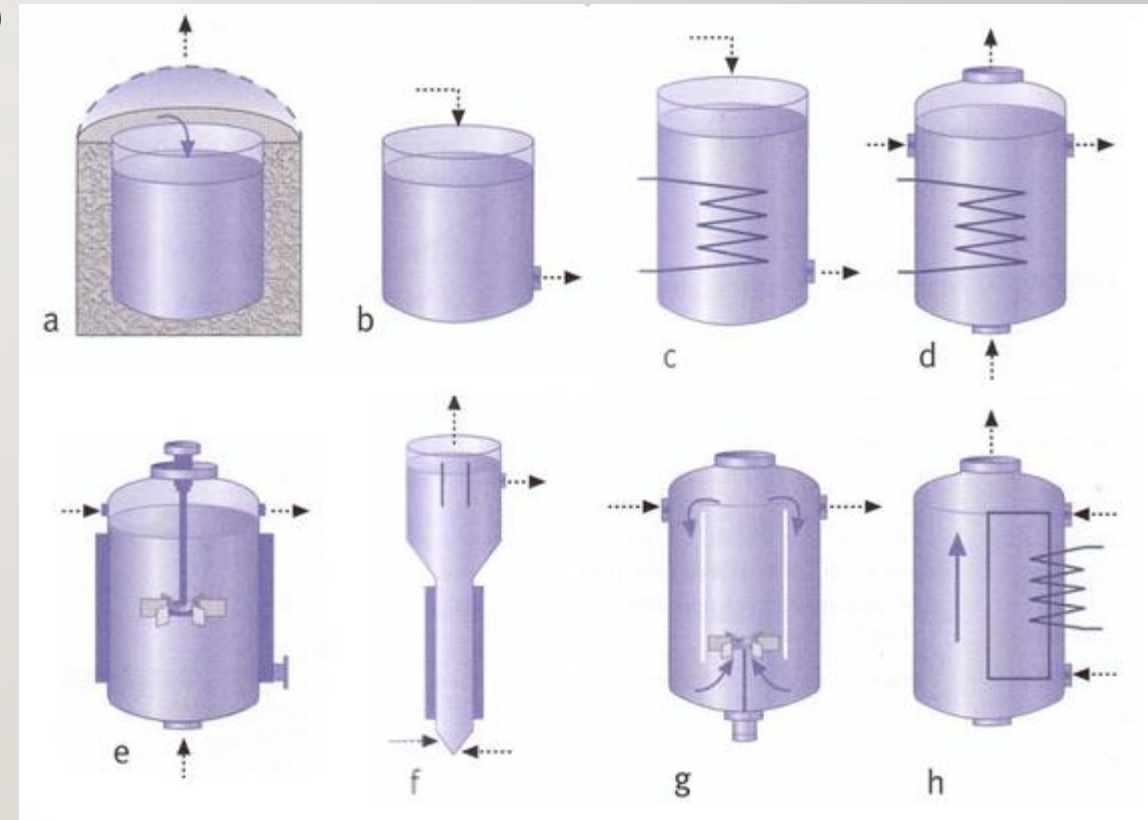
# Διαδικασία Σχεδιασμού

---

- Συνήθως επιλέγεται αναδευόμενος αντιδραστήρας, σε θερμοκρασία και pH που συνήθως είναι οι βέλτιστες για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, οπότε απομένει να επιλεγεί ο **τρόπος λειτουργίας**.
- Στη συνέχεια το βασικότερο ερώτημα είναι η απαίτηση σε **όγκο (διαστασιολόγηση)**. Η απάντηση με την χρήση των ισοζυγίων μάζας που περιλαμβάνουν την κινητική της βιοαντίδρασης.
- Μετά μπορούμε να υπολογίσουμε :
  - Τις **ενεργειακές ανάγκες** (με ισοζύγιο ενέργειας)
  - Τις **ανάγκες αερισμού και ανάδευσης**
  - Το **συνολικό κόστος** του βιοαντιδραστήρα.
- Τέλος εξετάζουμε με ποιες μεταβολές θα μπορούσαμε να βελτιώσουμε την βιοδιεργασία.

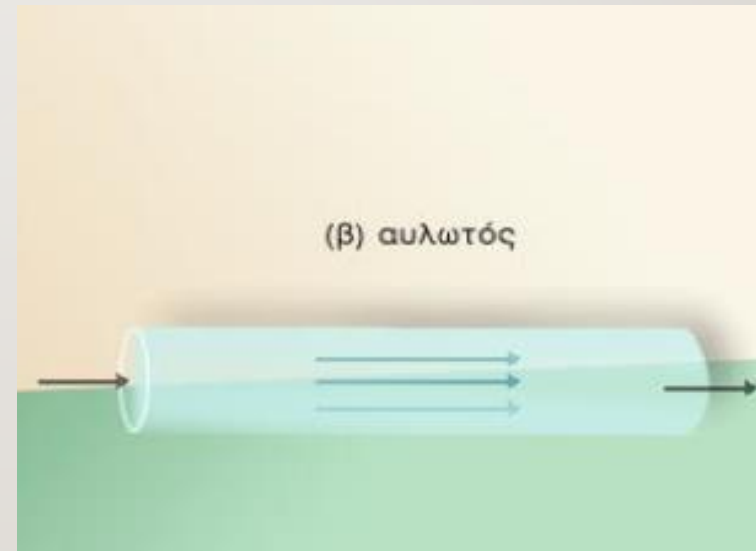
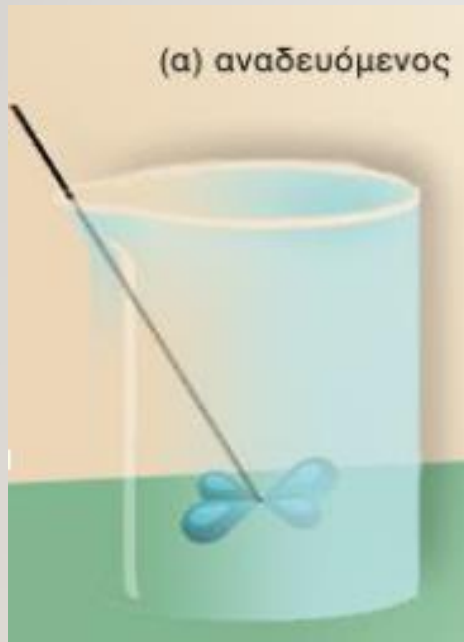
# Ιστορική Ανάπτυξη Βιοαντιδραστήρων

- α) Καλυμμένη τρύπα στο έδαφος (αστικά απόβλητα, βιοαέριο)
- β) Απλό δοχείο από ξύλο, δέρμα, μέταλλο ή πλαστικό (κρασί, μπίρα, αλκοόλ, ξύδι, ξινό γάλα).
- γ) Ανοιχτός αντιδραστήρα (ζυθοποιείο) με έλεγχο θερμοκρασίας
- δ) Αποστειρωμένος αντιδραστήρας για ελεγχόμενη ζύμωση (μαγιά, συγκεκριμένες χημικές ουσίες)
- ε) Αναδευόμενος αντιδραστήρας (αντιβιοτικά)
- στ) Αντιδραστήρας σωληνοειδούς πύργου (μπύρα, κρασί, ξύδι)
- ζ) Αντιδραστήρας Airlift με εσωτερική ανακυκλοφορία
- η) Αντιδραστήρας Airlift με εξωτερική ανακυκλοφορία



# Τύποι ιδανικών βιοαντιδραστήρων

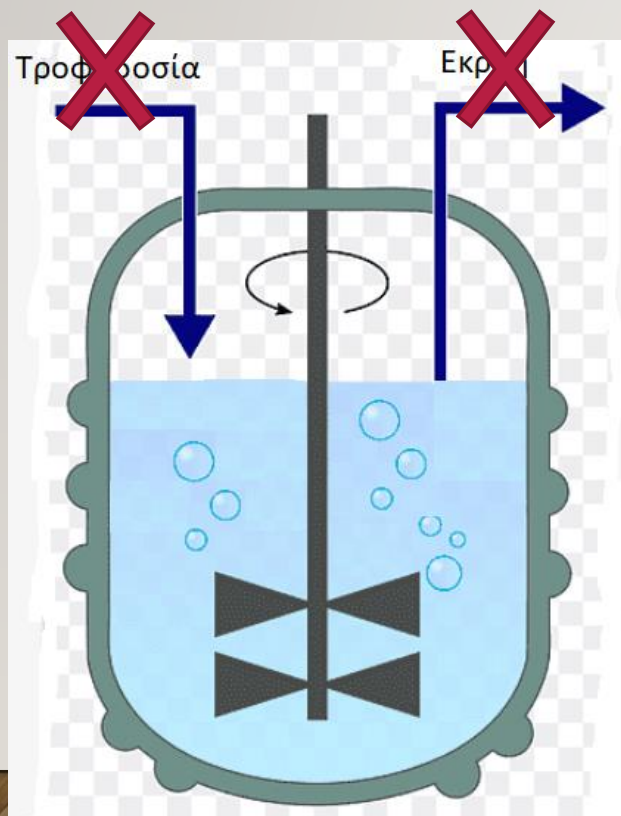
---



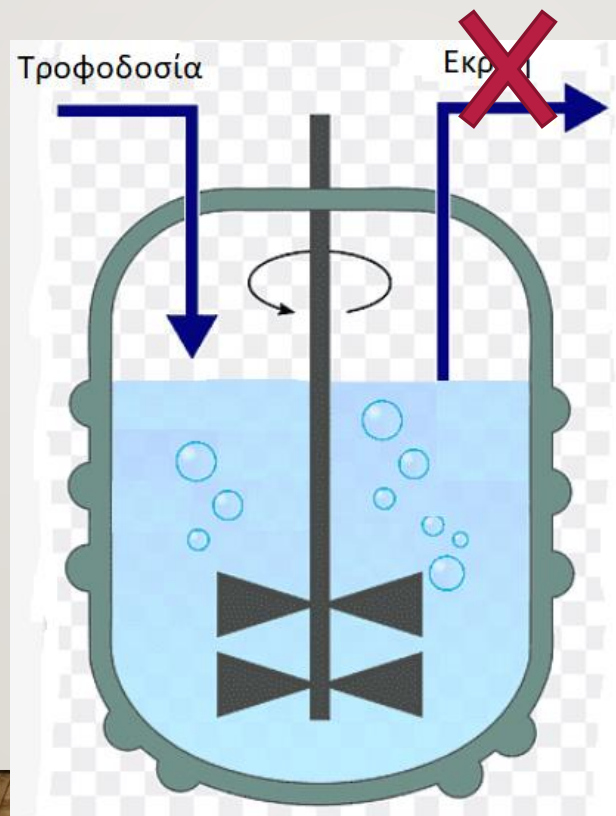


# Τρόποι Λειτουργίας Αναδευόμενων Βιοαντιδραστήρων

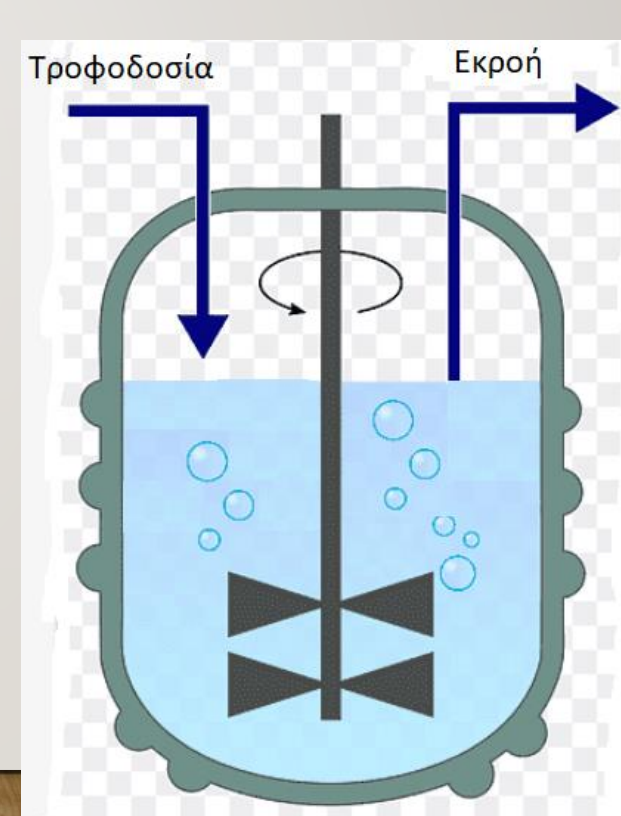
Διαλείποντος Έργου



Ημιδιαλείποντος Έργου



Συνεχούς Λειτουργίας

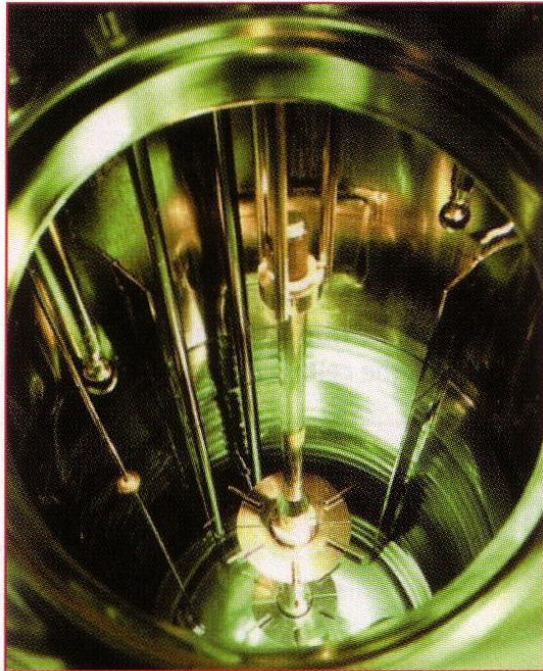


# Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα βιοαντιδραστήρων με διαφορετικό τρόπο ζύμωσης

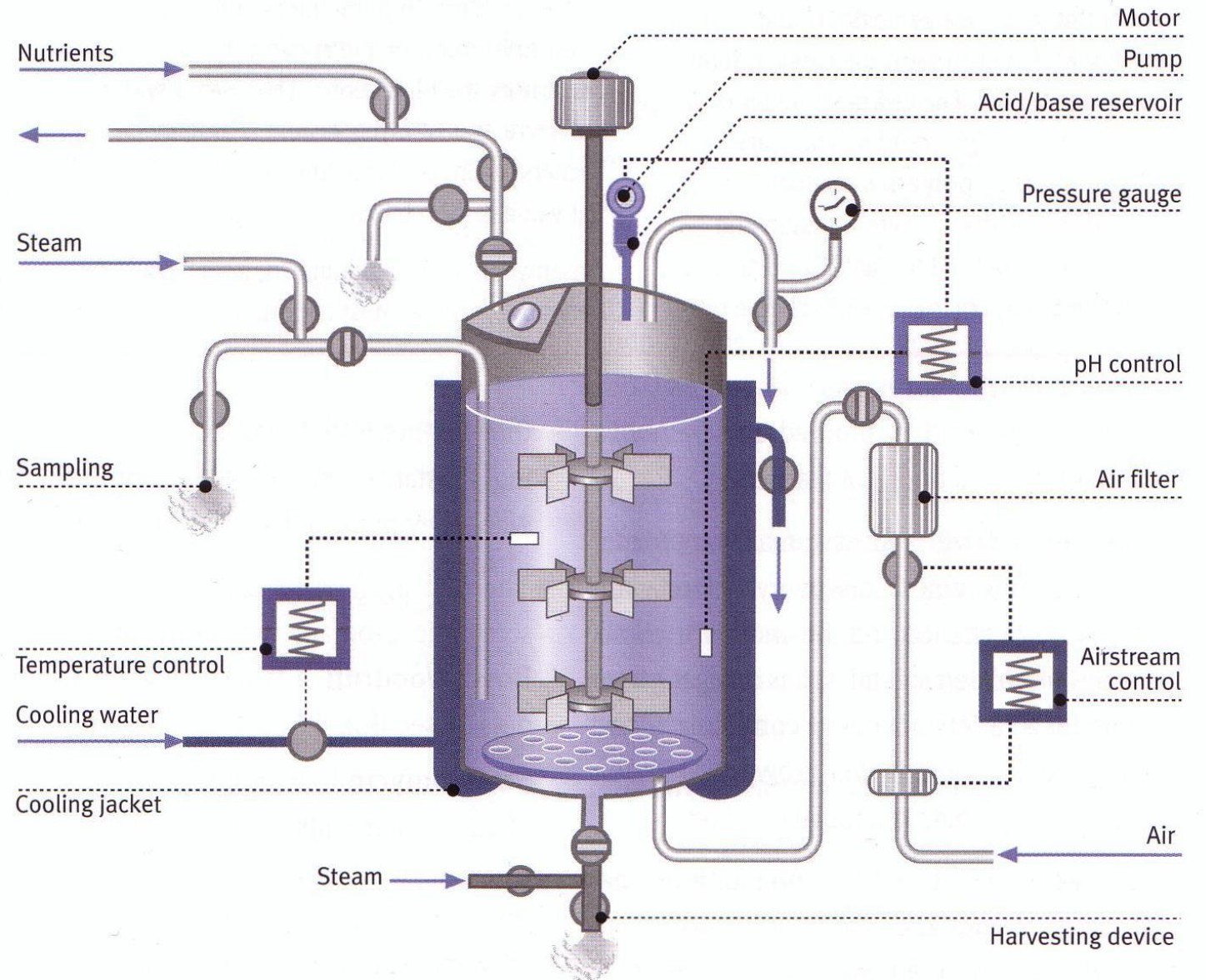
Τρόπος Ζύμωσης	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
Διαλείποντος Έργου	<ul style="list-style-type: none"><li>- Εύκολα προσαρμόσιμος</li><li>- Χαμηλός κίνδυνος μόλυνσης</li><li>- Μπορεί να έχουμε πλήρη μετατροπή υποστρώματος</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Υψηλό κόστος εργασίας</li><li>- Μεγάλος χρόνος αδράνειας, λόγω καθαρισμού και αποστείρωσης μετά από κάθε ζύμωση</li></ul>
Συνεχούς Λειτουργίας	<ul style="list-style-type: none"><li>- Υψηλή παραγωγικότητα μπορεί να διατηρηθεί για μεγάλες χρονικές περιόδους</li><li>- Υψηλή απόδοση της χωρητικότητας του αντιδραστήρα</li><li>- Ο αυτοματισμός είναι απλός</li><li>- Σταθερή ποιότητα προϊόντος</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Προβλήματα με μόλυνση</li><li>- Δυνατότητα εμφάνισης χαμηλής παραγωγής λόγω μετάλλαξης</li><li>- Οι κατάντι διεργασίες πρέπει να προσαρμοστούν στη ροή του βιοαντιδραστήρα (ή απαιτούνται δεξαμενές συγκράτησης)</li></ul>
Ημι-Διαλείποντος Έργου	<ul style="list-style-type: none"><li>- Επιτρέπει τη λειτουργία σε καλά ελεγχόμενες συνθήκες ελέγχοντας τη ροή τροφοδοσίας</li><li>- Επιτρέπει πολύ υψηλή πυκνότητα κυττάρων και άρα υψηλές τελικές συγκεντρώσεις προϊόντος</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Μερικά από τα ίδια προβλήματα με τη διεργασία Δ.Ε. και Σ.Λ.</li><li>- Αλλά γενικά τα μειονεκτήματα είναι λιγότερα με αυτόν τον τρόπο λειτουργίας.</li></ul>



# Αναδευόμενος Βιοαντιδραστήρας



Stirred Tank Reactor (STR)



---

# Ισοζύγια Μάζας για Ιδανικούς Βιοαντιδραστήρες



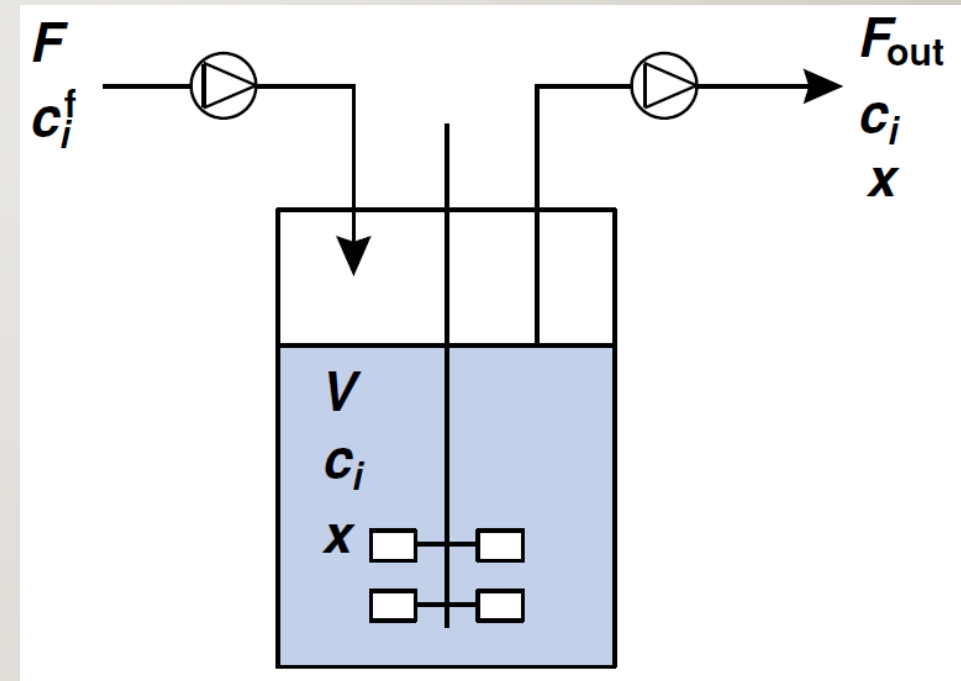
# Ισοζύγια μάζας για Ιδανικούς αντιδραστήρες

---

- Το τελευταίο βήμα στη μοντελοποίηση μίας διεργασίας ζύμωσης είναι να συνδυάσουμε το κινητικό μοντέλο με ένα μοντέλο για τον βιοαντιδραστήρα.
- Ένα μοντέλο βιοαντιδραστήρα αντιπροσωπεύεται συνήθως από ένα σύνολο δυναμικών ισοζυγίων μάζας για το υποστρώματα, τα μεταβολικά προϊόντα και τη βιομάζα, που περιγράφει η αλλαγή του χρόνου συγκέντρωσης αυτών των μεταβλητών.
- Ο βιοαντιδραστήρας μπορεί να είναι οποιοσδήποτε τύπος συσκευής που κυμαίνεται από δοκιμαστικό σωλήνα ή shake flask ή έναν αντιδραστήρα.
- Τις περισσότερες φορές ο βιοαντιδραστήρας θεωρείται ότι αναμιγνύεται πλήρως (ή ιδανικά), δηλαδή δεν υπάρχει χωρική διακύμανση της συγκέντρωσης των διαφόρων ουσιών.

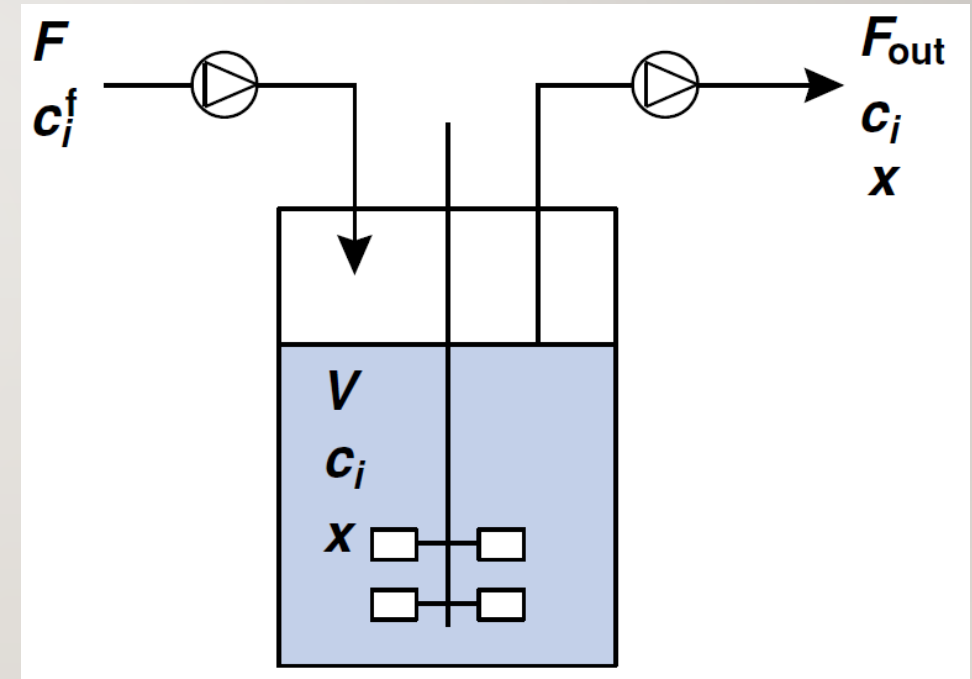
# Γενική Περιγραφή ενός βιοαντιδραστήρα

- Προσθήκη φρέσκου, αποστειρωμένου μέσου με ρυθμό ροής  $F$  (L/h)
- Απομάκρυνση του χρησιμοποιημένου μέσου με ρυθμό ροής του  $F_{out}$  (L/h)
- $c_i^f$  είναι η συγκέντρωση της ένωσης  $i$  (συνήθως ένα υπόστρωμα) στην τροφοδοσία
- $c_i$  είναι η συγκέντρωση της ένωσης  $i$  στον βιοαντιδραστήρα.
- Ο αντιδραστήρας έχει ενεργό όγκο  $V$  (L) και θεωρείται ότι είναι καλά αναμεμιγμένος (ή ιδανικός).
- $X$  είναι η συγκέντρωση βιομάζας στον βιοαντιδραστήρα.



# Γενική περιγραφή ενός βιοαντιδραστήρα

- Ο βιοαντιδραστήρας μπορεί να λειτουργεί με τρεις διαφορετικούς τρόπους:
- Διαλείποντος έργου (ή batch), όπου  $F = F_{out} = 0$ , δηλαδή ο όγκος είναι σταθερός.
- Συνεχής λειτουργία, όπου  $F = F_{out} > 0$ , δηλαδή ο όγκος είναι σταθερός και
- Ημιδιαλείποντος έργου ή (Fed-batch), όπου  $F > 0$  και  $F_{out} = 0$ , δηλ. ο όγκος αυξάνεται.



Τα ισοζύγια μάζας και για τις τρεις διαφορετικές λειτουργίες βιοαντιδραστήρα μπορούν να προέλθουν από ένα σύνολο γενικών ισοζυγίων μάζας.

# Γενική Περιγραφή ενός βιοαντιδραστήρα

---

- Η βάση για την παραγωγή των γενικών ισοζυγίων μάζας είναι η εξίσωση:
  - $\text{Συσσώρευση} = \text{Καθαρός ρυθμός σχηματισμού} + \text{Εισροή} - \text{Εκροή}$
- Ο όρος συσσώρευση καθορίζει το ρυθμό μεταβολής της ένωσης στον βιοαντιδραστήρα, π.χ. ο ρυθμός αύξησης της συγκέντρωσης βιομάζας κατά τη διάρκεια μιας ζύμωσης διαλείποντος έργου.
- Ο όρος Καθαρός ρυθμός σχηματισμού δίνεται
  - Από τον ρυθμό σχηματισμού για μεταβολικά προϊόντα και βιομάζα (θετικοί ρυθμοί) ή
  - Από τον ρυθμό κατανάλωσης για ένα υπόστρωμα (αρνητικός ρυθμός).
- Ο όρος Εισροή είναι η ροή των ενώσεων που μπαίνουν στον βιοαντιδραστήρα και
- Ο όρος Εκροή είναι η ροή ενώσεων που βγαίνουν από τον βιοαντιδραστήρα



## Το γενικό ισοζύγιο μάζας

- Για το υπόστρωμα  $i$ , το οποίο προστίθεται στον βιοαντιδραστήρα μέσω της τροφοδοσίας και καταναλώνεται από τα κύτταρα που υπάρχουν στον βιοαντιδραστήρα το ισοζύγιο μάζας είναι:

$$\frac{d(c_{s,i} V)}{dt} = -r_{s,i} x V + F c_{s,i}^f - F_{out} c_{s,i}$$

- $r_{s,i}$  είναι ο ειδικός ρυθμός κατανάλωσης υποστρώματος [ $\text{moles S (g DW h)}^{-1}$ ],
- $c_{s,i}$  είναι η συγκέντρωση στον βιοαντιδραστήρα, που θεωρείται ότι είναι η ίδια με τη συγκέντρωση στην έξοδο ( $\text{moles ή g /L}$ ),
- $c_{s,i}^f$ , είναι η συγκέντρωση του υποστρώματος  $i$  στην τροφοδοσία ( $\text{moles ή g / L}$ ) και
- $x$  είναι η συγκέντρωση βιομάζας στον βιοαντιδραστήρα ( $\text{g DW / L}$ ).
- Ο πρώτος όρος της Εξίσωσης είναι η **συσσώρευση**, ο δεύτερος όρος αντιστοιχεί στην **κατανάλωση υποστρώματος** (ή καθαρός σχηματισμός), ο τρίτος όρος αντιπροσωπεύει την **εισροή** και ο τελευταίος όρος αντιπροσωπεύει την **εκροή** του υποστρώματος  $i$ .

## Το γενικό ισοζύγιο μάζας

$$\frac{d(c_{s,i}V)}{dt} = -r_{s,i}xV + Fc_{s,i}^f - F_{out}c_{s,i}$$

$$V \frac{dc_{s,i}}{dt} + c_{s,i} \frac{dV}{dt} = -r_{s,i}xV + Fc_{s,i}^f - F_{out}c_{s,i}$$

- Διαιρώντας με τον ενεργό όγκο του αντιδραστήρα (V) έχουμε:

$$\frac{dc_{s,i}}{dt} = -r_{s,i}x + \frac{F}{V}c_{s,i}^f - \left( \frac{F_{out}}{V} + \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} \right) c_{s,i}$$

$$D = \frac{F}{V} \quad \text{Dilution rate ή ρυθμός αραιώσης}$$

---

# Ισοζύγια Μάζας για Βιοαντιδραστήρες Διαλείποντος Έργου

## Για Βιοδιεργασίες Διαλείποντος Έργου (batch)

- Ο ενεργός όγκος του βιοαντιδραστήρα είναι σταθερός,
  - δηλ  $dV/dt = 0$  και
  - $F = F_{out} = 0$  ,  $D = F/V = 0$

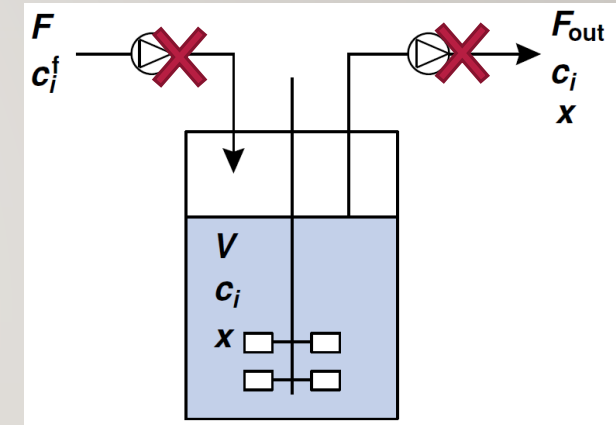
$$\frac{dc_{s,i}}{dt} = -r_{s,i}X + \frac{F}{V}c_{s,i}^f - \left( \frac{F_{out}}{V} + \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} \right) c_{s,i}$$

- Τα ισοζύγια μάζας για την βιομάζα (X) και το περιοριστικό υπόστρωμα (S) είναι:

$$\frac{dx}{dt} = \mu x; \quad x(t = 0) = x_0$$

$$\frac{dc_s}{dt} = -r_s x; \quad c_s(t = 0) = c_{s,0}$$

- όπου  $x_0$  είναι η αρχική συγκέντρωση βιομάζας (δηλ η βιομάζα που έχουμε αμέσως μετά τον εμβολιασμό).
- $c_{s,0}$  είναι η αρχική συγκέντρωση του περιοριστικού υποστρώματος.
- Σύμφωνα με αυτά τα ισοζύγια μάζας το X θα αυξηθεί και το [S] θα μειωθεί έως ότου φτάσει στο μηδέν και σταματήσει η ανάπτυξη.





## Για Βιοδιεργασίες Διαλείποντος Έργου (batch) Απαιτούμενος όγκος αντιδραστήρα

---

- Αν  $Z_i$  η επιθυμητή παραγωγή (ή η κατανάλωση) του συστατικού  $i$  σε moles (ή grams) ανά χρόνο
  - Αν  $c_i^f$  η τελική συγκέντρωση του συστατικού  $i$  και
  - Αν  $t_b$  ο απαιτούμενος χρόνος για μία "φουρνιά (=batch)", τότε:
- $$\frac{Vc_i^f}{t_b} = Z_i \Rightarrow V = \frac{Z_i t_b}{c_i^f}$$
- Η σχέση δίνει τον **απαιτούμενο όγκο αντιδραστήρα** διαλείποντος έργου συναρτήσει του χρόνου που απαιτείται για να επιτευχθεί η τελική συγκέντρωση  $c_i^f$ .

## Για Βιοδιεργασίες Διαλείποντος Έργου (batch) Εξίσωση Σχεδιασμού

---

- Ο χρόνος μιας «φουρνιάς» δεν είναι απαραίτητα ίσος με τον χρόνο ζύμωσης (αντίδρασης)
- $t_b = t_d + t_h$
- $t_d$  (downtime): ο χρόνος που απαιτείται για συλλογή των προϊόντων και γέμισμα του αντιδρώντος μείγματος (χρόνος μη λειτουργίας του αντιδραστήρα)
- $t_h$  ο χρόνος αντίδρασης, ο οποίος στην περίπτωση που ο ρυθμός  $r_i$  είναι συνάρτηση μόνο της συγκέντρωσης  $c_i$  υπολογίζεται από ολοκλήρωση της εξίσωσης:
- $$t_h = \int_{c_{i,0}}^{c_{i,f}} \frac{dc_i}{r_i(c_i, T, pH, \dots)}$$

# Παράδειγμα I

- Να βρεθεί ο όγκος που απαιτείται για ενζυματική αντίδραση που διέπεται από κινητική τύπου Michaelis-Menten για να ελαττωθεί το υπόστρωμα από  $S_0$  σε  $S_f$ :

$$t_h = \int_{c_{i,0}}^{c_{i,f}} \frac{dc_i}{r_i(c_i, T, pH, \dots)} \Rightarrow t_h = - \int_{S_0}^{S_f} \frac{K_m + [S]}{v_{\max}[S]} d[S] = \frac{S_0 - S_f}{v_{\max}} + \frac{K_m}{v_{\max}} \ln \frac{S_0}{S_f}$$

$$V = \frac{Z_i t_b}{c_i^f} \Rightarrow V = \frac{Z_i (t_d + t_h)}{S_f}$$

## Παράδειγμα 2

- Να βρεθεί ο όγκος βιοαντιδραστήρα για να αυξηθεί η συγκέντρωση της βιομάζας από  $x_0$  σε  $x_f$  με κινητική Malthus (ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης  $\mu$  είναι σταθερός)
- Ολοκληρώνοντας την εξίσωση με αρχική συνθήκη  $x(0) = x_0$ :
- Λύση παραδείγματος:

$$\frac{dx}{dt} = \mu x$$

$$x(t) = x_0 e^{\mu t}$$

$$t_h = \int_{c_{i,0}}^{c_{i,f}} \frac{dc_i}{r_i(c_i, T, pH, \dots)} \Rightarrow$$

$$t_h = \int_{x_0}^{x_f} \frac{dx}{\mu x} = \frac{1}{\mu} \ln \frac{x_f}{x_0}$$

$$V = \frac{Z_i t_b}{c_i^f} \Rightarrow$$

$$V = \frac{Z_i (t_d + t_h)}{x_f}$$



# Άσκηση I

---

- Σε βιοαντιδραστήρα διαλείποντος έργου καλλιεργείται μικροοργανισμός που αναπτύσσεται στο περιοριστικό υπόστρωμα  $S$  ακολουθώντας κινητική τύπου Monod, με κινητικές παραμέτρους  $\mu_{\max}=0.5\text{h}^{-1}$  και  $K_S=0.1\text{g/L}$ . Στον αντιδραστήρα παράγεται από τη μικροβιακή δράση προϊόν  $P$  που σχετίζεται με την ανάπτυξη. Ο κινητικός συντελεστής  $\alpha$  είναι  $0.2\text{g-P/g-X}$  και οι στοιχειομετρικοί συντελεστές απόδοσης είναι  $Y_{P/S}=0.6\text{g/g}$  και  $Y_{X/S}=0.3\text{g/g}$ . Η αρχική συγκέντρωση βιομάζας είναι  $X_0=0.1\text{g/L}$  και του περιοριστικού υποστρώματος  $S_0=10\text{g/L}$
- (α) Να βρεθούν οι τελικές συγκεντρώσεις βιομάζας και προϊόντος όταν καταναλωθεί όλο το υπόστρωμα.
- (β) Να βρεθεί ο χρόνος που απαιτείται ώστε το παραγόμενο προϊόν ( $P$ ) να φτάσει σε συγκέντρωση  $0.2\text{g/L}$  καθώς και οι τιμές της βιομάζας ( $X$ ) και του υποστρώματος ( $S$ ) αυτή τη χρονική στιγμή.

# Λύση Άσκησης I

- (α) Από τους στοιχειομετρικούς συντελεστές απόδοσης μπορούμε να υπολογίσουμε πόσο βιομάζα και πόσο προϊόν παράγεται όταν καταναλωθεί όλο το υπόστρωμα.

$$Y_{P/S} = \frac{\text{Προϊόν που παραχθηκε (g)}}{\text{Υπόστρωμα που καταναλώθηκε (g)}} = \frac{P_f - P_0}{S_0 - S_f} \Leftrightarrow 0.6 = \frac{P_f}{10} \Leftrightarrow P_f = 6 \text{ g/L}$$

$$Y_{X/S} = \frac{\text{Βιομάζα που παραχθηκε (g)}}{\text{Υπόστρωμα που καταναλώθηκε (g)}} = \frac{X_f - X_0}{S_0 - S_f} \Leftrightarrow 0.3 = \frac{X_f - 0.1}{10} \Leftrightarrow X_f = 3.1 \text{ g/L}$$

## Δεδομένα

$$\mu_{\max} = 0.5 \text{ h}^{-1} \text{ και } K_S = 0.1 \text{ g/L.}$$

$$\alpha = 0.2 \text{ g-P/ g-X}$$

$$Y_{P/S} = 0.6 \text{ g/g και } Y_{X/S} = 0.3 \text{ g/g.}$$

$$X_0 = 0.1 \text{ g/L και } S_0 = 10 \text{ g/L}$$

- Το ζητούμενο είναι πόσο γρήγορα συμβαίνει αυτό;;;

## Λύση Άσκησης I (συνέχεια)

- (β) Εδώ θα χρησιμοποιήσουμε την εξίσωση:

$$t_h = \int_{c_{i,0}}^{c_{i,f}} \frac{dc_i}{r_i(c_i, T, pH, \dots)} \xrightarrow{c_i=X} \int_{X_0}^{X_f} \frac{dX}{r_X} = \int_{X_0}^{X_f} \frac{dX}{\mu X} = \int_{X_0}^{X_f} \frac{K_S + S}{\mu_{max} S X} dX$$

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s + S}$$

- Για να μπορέσω να ολοκληρώσω πρέπει να βρω τη σχέση που συνδέει το S με το X και να την αντικαταστήσω στο ολοκλήρωμα

$$Y_{X/S} = \frac{\text{Βιομάζα που παραχθηκε (g)}}{\text{Υπόστρωμα που καταναλώθηκε (g)}} = \frac{X-X_0}{S_0-S_f} \Leftrightarrow S = S_0 - \frac{(X-X_0)}{Y_{X/S}}$$

- Ολοκληρώνω για  $X_f$  εκεί που το  $P=0.2$  g/L και υπολογίζω το  $t_h$

$$t_h = \int_{X_0}^{X_f} \frac{K_S + (S_0 - \frac{(X-X_0)}{Y_{X/S}})}{\mu_{max} (S_0 - \frac{(X-X_0)}{Y_{X/S}}) X} dX \Rightarrow$$

$$t_h = \frac{x_o + Y(S_o + K_S) \ln \frac{x_f}{x_o} - K_S Y \ln(1 + \frac{x_o - x_f}{Y S_o})}{\mu_{max} (x_o + Y S_o)}$$

---

# Ισοζύγια Μάζας για Βιοαντιδραστήρες Ημι-Διαλείποντος Έργου



# Βιοαντιδραστήρες Ημι-Διαλείποντος Έργου

---

- Να προσθέσουμε κάποια συστατικά (π.χ. διεγέρτες) αφού έχει επιτευχθεί κάποια σημαντική συγκέντρωση βιομάζας
- Να διατηρήσουμε χαμηλές συγκεντρώσεις υποστρώματος προκειμένου να αποφύγουμε παρεμπόδιση υποστρώματος ή καταστολή καταβολιτών
- Παρατεταμένη λειτουργία στην στάσιμη φάση που είναι βέλτιστη για την παραγωγή ορισμένων μεταβολικών προϊόντων όπως αντιβιοτικών κ.λ.π.

# Βιοαντιδραστήρες Ημι-Διαλείποντος Έργου

- Από την γενική εξίσωση Ισοζυγίου Μαζας για το υπόστρωμα

$$\frac{dc_{s,i}}{dt} = -r_{s,i}X + \frac{F}{V}c_{s,i}^f - \left( \frac{F_{out}}{V} + \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} \right) c_{s,i}$$

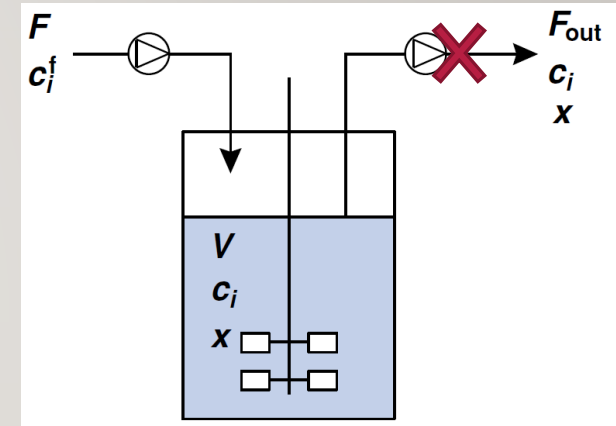
- Και για  $D = F/V$  ,  $F=dV/dt$  ,  $F_{out} = 0$  έχουμε:

$$\frac{dc_{s,i}}{dt} = -r_{s,i}X + D \left( c_{s,i}^f - c_{s,i} \right)$$

$$\frac{dc_{p,i}}{dt} = r_{p,i}X + D \left( c_{p,i}^f - c_{p,i} \right)$$

όπου ο πρώτος όρος στη δεξιά πλευρά είναι ο ογκομετρικός ρυθμός παραγωγής του μεταβολικού προϊόντος  $i$ .

Τις περισσότερες φορές δεν υπάρχουν προϊόντα στην αποστειρωμένη τροφοδοσία του βιοαντιδραστήρα και άρα το  $c_{p,i}^f$  ισούται με μηδέν.



# Βιοαντιδραστήρες Ημι-Διαλείποντος Έργου

---

- Για δεδομένο  $F$ , οι παρακάτω σχέσεις πρέπει να επιλυθούν για να βρεθεί η συγκέντρωση του  $i$  και η μάζα του  $i$  ( $= V c_i$ ) συναρτήσει του χρόνου.

$$\frac{dV_R}{dt} = F$$

$$\frac{dc_i}{dt} = \frac{F}{V_R} (c_{io} - c_i) + r_{fi}$$

# Βιοαντιδραστήρες Ημι-Διαλείποντος Έργου

$$\frac{dc_{s,i}}{dt} = -r_{s,i}X + D(c_{s,i}^f - c_{s,i})$$

- Σε περίπτωση που έχουμε κυτταρική ανάπτυξη που μπορεί να την περιγράψουμε από την κινητική Monod τότε:
- Για το  $X$  έχουμε:  $\frac{dX}{dt} = -\frac{F}{V}X + \frac{\mu_{max}[S]}{K_S+[S]}X$
- Για το  $S$  έχουμε:  $\frac{dS}{dt} = \frac{F}{V}([S_0] - [S]) - \frac{1}{Y} \frac{\mu_{max}[S]}{K_S+[S]}X$
- Για την ροή τροφοδοσίας έχουμε:  $\frac{dV}{dt} = F$
- Οι τρεις αυτές διαφορικές εξισώσεις πρέπει να επιλυθούν με αρχικές συνθήκες:
  - $V(0)=V_0$
  - $X(0)=X_0$
  - $[S](0)=S_0$



# Βιοαντιδραστήρες Ημι-Διαλείποντος Έργου

## Στρατηγική τροφοδοσίας

- Το βασικό ερώτημα που τίθεται είναι ποια είναι η πιο κατάλληλη στρατηγική τροφοδοσίας
- Συχνά είναι επιθυμητή η λειτουργία με σταθερό ειδικό ρυθμό ανάπτυξης.
- Όμως αυτό σημαίνει σταθερή συγκέντρωση υποστρώματος, δηλ  $dS/dt = 0$

$$\frac{dS}{dt} = \frac{F}{V} ([S_0] - [S]) - \frac{1}{Y} \frac{\mu_{max} [S]}{K_S + [S]} X = 0$$

- Λύνοντας την παραπάνω εξίσωση ως προς F έχουμε:

$$F = \frac{1}{Y} \frac{\mu_{max} [S] x V_R}{(K_S + [S])(S_o - [S])} = \alpha V_R x$$

$$\alpha = \frac{\mu^*}{Y(S_o - S^*)}$$

- $\mu^*$  ο επιθυμητός ειδικός ρυθμός ανάπτυξης και
- $S^*$  η συγκέντρωση υποστρώματος που αντιστοιχεί στον ρυθμό  $\mu^*$

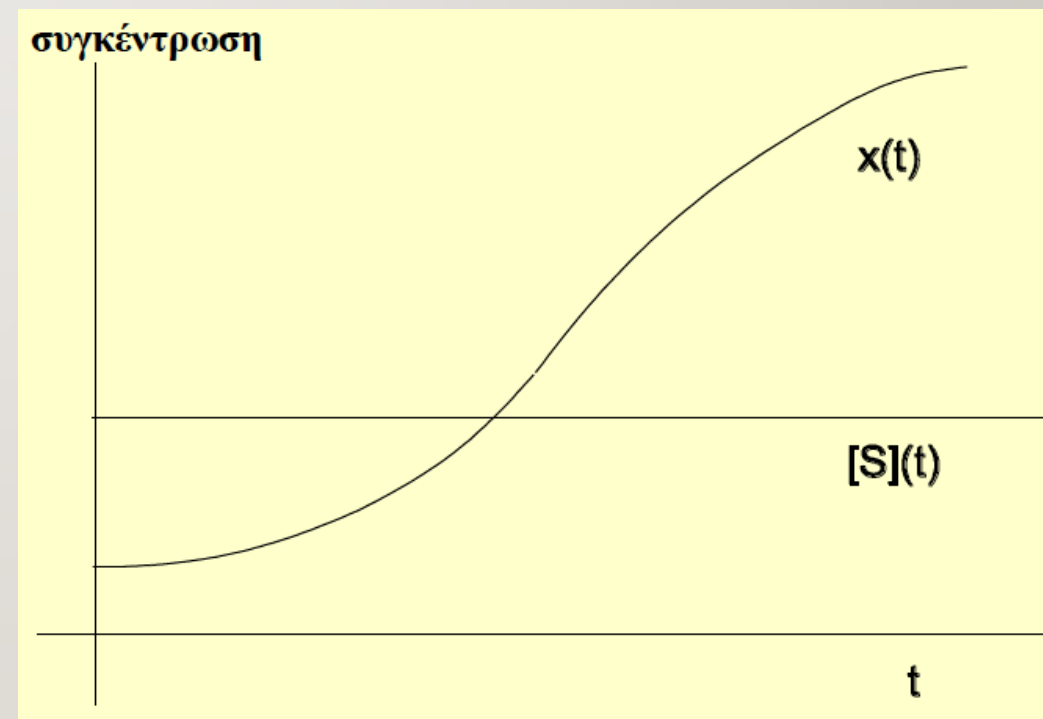
# Βιοαντιδραστήρες Ημι-Διαλείποντος Έργου

- Χρησιμοποιώντας τις Διαφορικές εξισώσεις για το X και το V καθώς και την προηγούμενη σχέση για το F μπορούμε να έχουμε τις αναλυτικές σχέσεις του X, V, F με το χρόνο.

$$x = \frac{x_o e^{\mu^* t}}{1 - \frac{\alpha}{\mu^*} x_o (1 - e^{\mu^* t})}$$

$$V_R(t) = V_o \left[ 1 - \frac{x_o}{Y(s_o - s^*)} (1 - e^{\mu^* t}) \right]$$

$$F = \frac{\mu^* V_o x_o}{Y(s_o - s^*)} e^{\mu^* t}$$

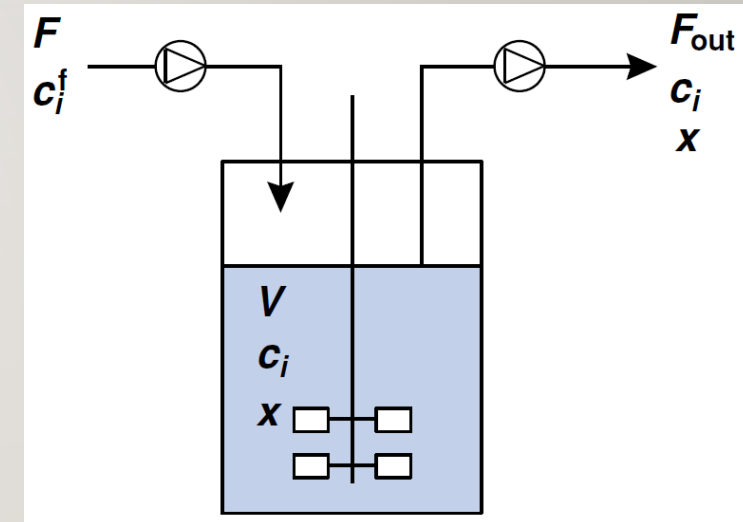


---

# Ισοζύγια Μάζας για Βιοαντιδραστήρες Συνεχούς λειτουργίας

# Βιοαντιδραστήρας Συνεχούς Λειτουργίας Πλήρους Ανάδευσης (CSTR – Continuous Stirred Tank Reactor)

- Σε καλλιέργεια συνεχούς λειτουργίας εισάγεται συνεχώς νέο θρεπτικό υλικό και ταυτόχρονα απομακρύνονται τα προϊόντα και τα κύτταρα.
- Αποτελεί σημαντικό εργαλείο στον προσδιορισμό
  - Της απόκρισης μικροοργανισμών στο περιβάλλον τους και
  - Της παραγωγής επιθυμητών προϊόντων στις βέλτιστες συνθήκες
- Αναφέρεται και ως χημειοστάτης και σκοπός είναι να βρίσκεται σε μόνιμη κατάσταση, δηλ το  $X$ , το  $S$  και το  $P$  είναι σταθερά με το χρόνο όπως και ο όγκος ( $V$ ).





# Βιοαντιδραστήρας Συνεχούς Λειτουργίας Πλήρους Ανάδευσης (CSTR – Continuous Stirred Tank Reactor)

$$\frac{d(V_R c_i)}{dt} = F(c_{i0} - c_i) + V_R r_{fi}$$

- Όταν η ογκομετρική παροχή  $F$  είναι σταθερή, συνήθως ο αντιδραστήρας φθάνει σε μόνιμη κατάσταση, οπότε ούτε ο όγκος αλλά ούτε η συγκέντρωση του  $i$  αλλάζει με το χρόνο. Οπότε η εξίσωση γίνεται:

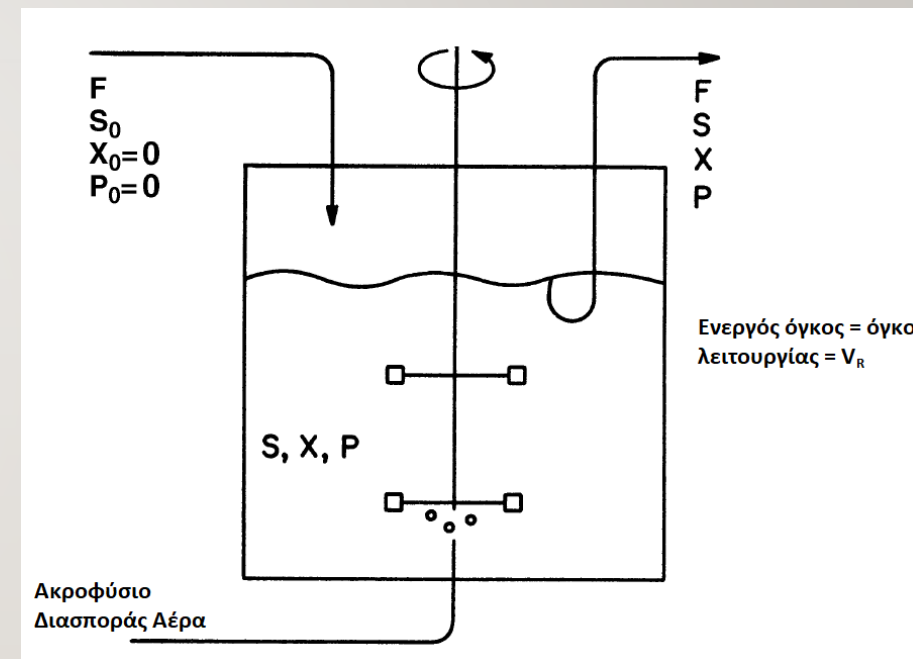
$$V_R = \frac{F(c_{i0} - c_i)}{-r_{fi}}$$

- **ΕΞΙΣΩΣΗ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ** Και δίνει τον απαιτούμενο όγκο για να επιτευχθεί παραγωγή  $Z_i = F c_i$  (moles  $i$  ανά μονάδα χρόνου).

# Βιοαντιδραστήρας Συνεχούς Λειτουργίας

## Ισοζύγια Μάζας για το X

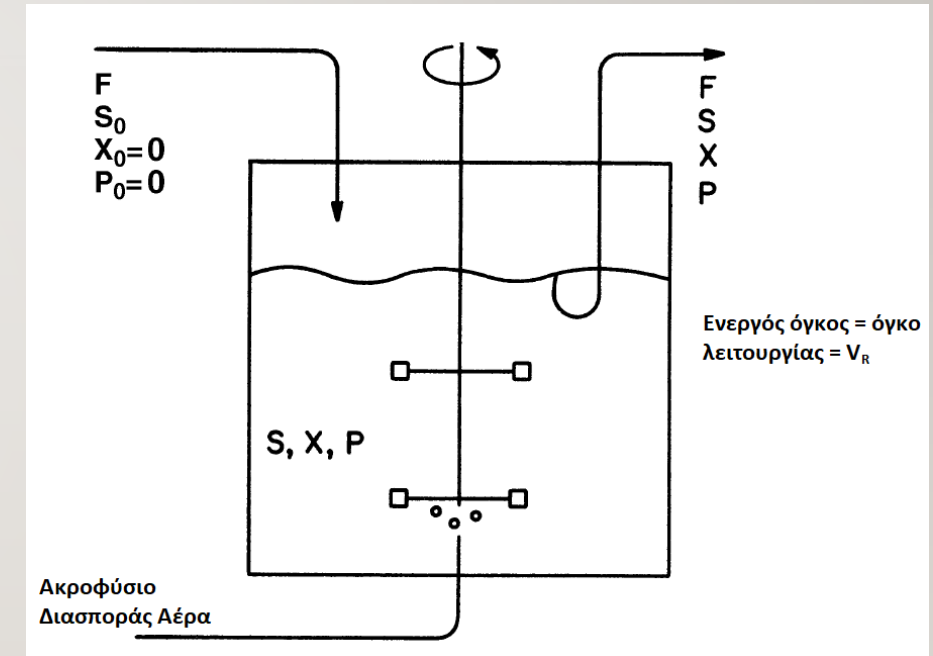
- $FX_0 - FX + V_R\mu_g X - V_R k_d X = V_R \frac{dX}{dt}$
- $\mu_g$  και  $k_d$  οι ειδικοί ρυθμοί ανάπτυξης και θανάτου αντίστοιχα ( $h^{-1}$ )
- Η διαφοροποίηση του κυτταρικού θανάτου από τον ενδογενή μεταβολισμό είναι δύσκολη.
- $\frac{dX}{dt} = DX_0 + (\mu_g - k_d - D)X$
- $D$ : ρυθμός αραίωσης (αναπλήρωσης χώρου βιοαντιδραστήρα) και είναι το αντίστροφο του χρόνου παραμονής.
- $X_0 = 0$
- $\mu_g \gg k_d$  Αμελητέος σε σχέση με το ρυθμό ανάπτυξης
- Μόνιμη κατάσταση (steady state):  $\frac{dX}{dt} = 0$



# Βιοαντιδραστήρας Συνεχούς Λειτουργίας

## Ισοζύγια Μάζας για το X

- $\frac{dX}{dt} = DX_0 + (\mu_g - k_d - D)X$
- Λαμβάνοντας υπόψιν τις προηγούμενες παραδοχές έχουμε:
  - $\mu_g = D$
- Δηλ σε έναν χημειοστάτη τα κύτταρα απομακρύνονται με ρυθμό ίσο με το ρυθμό ανάπτυξής τους και
- Ο ρυθμός ανάπτυξης των κυττάρων είναι ίσος με τον ρυθμό (ταχύτητα) αραίωσης του βιοαντιδραστήρα



# Βιοαντιδραστήρας Συνεχούς Λειτουργίας

## Εξίσωση Monod

---

- Αν η ανάπτυξη της βιομάζας μπορεί να περιγραφεί με κινητική τύπου Monod έχουμε:

$$\mu_g = D = \frac{\mu_m S}{K_s + S}$$

- Όπου  $S$  η συγκέντρωση του περιοριστικού υποστρώματος σε μόνιμη κατάσταση (g/L)
- Εάν το  $D$  έχει τιμή μεγαλύτερη από  $\mu_{\max}$  ( $D > \mu_{\max}$ ), η καλλιέργεια δεν μπορεί να αναπαραχθεί αρκετά γρήγορα για να διατηρηθεί και ξεπλένεται. Έχουμε δηλ το φαινόμενο της έκπλυσης
- Όταν  $D < \mu_{\max}$  χρησιμοποιώντας την παραπάνω εξίσωση προκύπτει το  $S$  ως συνάρτηση του  $D$ .

$$S = \frac{K_s D}{\mu_m - D}$$

Η γραφική παράσταση του  $1/\mu_g$  ως προς το  $1/S$  οδηγεί στον υπολογισμό των τιμών  $\mu_{\max}$  και  $K_s$

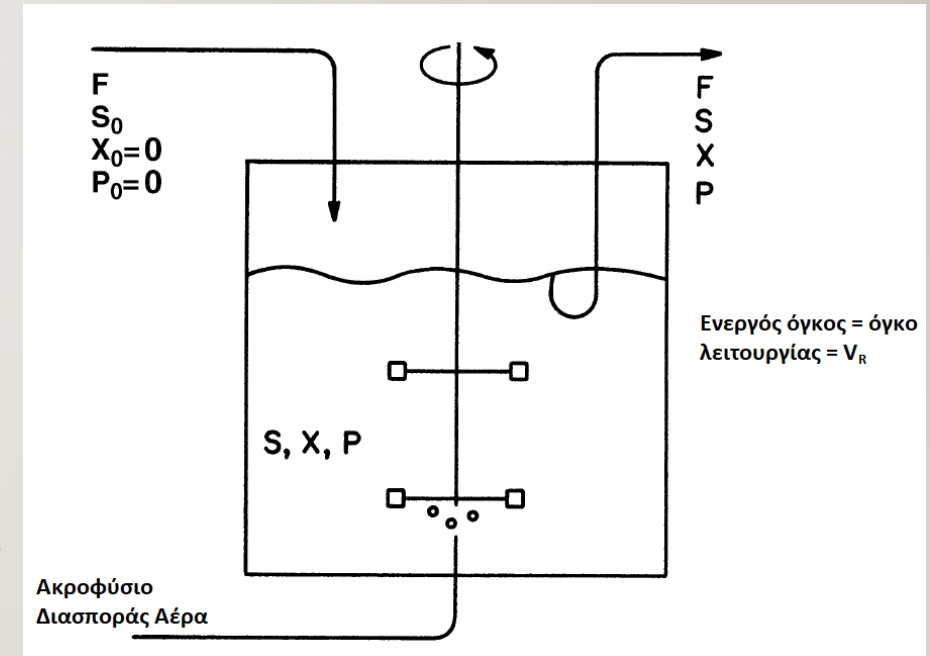


# Βιοαντιδραστήρας Συνεχούς Λειτουργίας

## Ισοζύγια Μάζας για το S

- $FS_0 - FS - V_R\mu_g X \frac{1}{Y_{X/S}} - V_R q_p X \frac{1}{Y_{P/S}} = V_R \frac{dS}{dt}$
- $q_p$  ο ειδικός ρυθμός παραγωγής εξωκ. Προϊόντος (g-P/L h X)
- $Y_{X/S}, Y_{P/S}$  οι συντελεστές απόδοσης
- Όταν η παραγωγή εξωκ. Προϊόντος είναι αμελήτέα και το σύστημα βρίσκεται σε μόνιμες συνθήκες ( $dS/dt=0$ )

$$D(S_0 - S) = \frac{\mu_g X}{Y_{Y/S}}$$



# Βιοαντιδραστήρας Συνεχούς Λειτουργίας

## Ισοζύγια Μάζας για το S

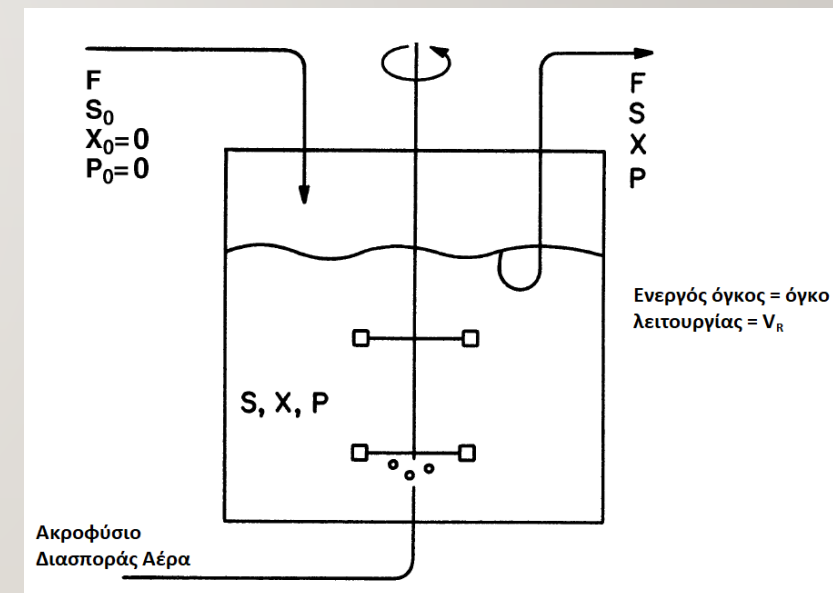
- Και εφόσον σε Μόνιμες Συνθήκες  $\mu_g = D$  έχουμε:

$$X = Y_{X/S}(S_0 - S)$$

$$S = \frac{K_s D}{\mu_m - D}$$

- Χρησιμοποιώντας τις 2 αυτές σχέσεις προκύπτει:

$$X = Y_{Y/S} \left( S_0 - \frac{K_s D}{\mu_m - D} \right)$$



# Βιοαντιδραστήρας Συνεχούς Λειτουργίας

## Ισοζύγια Μάζας για το S

---

- Λαμβάνοντας υπόψιν την επίδραση του ενδογενούς μεταβολισμού
- $D = \mu_g - k_d = \mu_{\text{net}}$
- $\mu_g = D + k_d$

$$S = \frac{K_s D}{\mu_m - D} \xrightarrow{\mu_g = D + k_d} S = \frac{K_s (D + k_d)}{\mu_m - D - k_d}$$

$$X = Y_{X/S} [S_0 - S] \cdot \frac{D}{D + k_d}$$

## Βιοαντιδραστήρας Συνεχούς Λειτουργίας Ισοζύγια Μάζας για το S και το X

- Όταν λαμβάνεται υπόψιν η παραγωγή εξωκ. προϊόντος και ο ενδογενής μεταβολισμός ( $\mu_g = D + k_d$ ) τότε:

$$FS_0 - FS - V_R \mu_g X \frac{1}{Y_{X/S}} - V_R q_p X \frac{1}{Y_{P/S}} = V_R \frac{dS}{dt} \quad \xrightarrow{D=F/V} \quad D(S_0 - S) = \frac{1}{Y_{X/S}} (D + k_d) X + \frac{1}{Y_{P/S}} q_p X$$

- Λύνοντας ως προς X έχουμε:

$$X = Y_{X/S} (S_0 - S) \left( \frac{D}{D + k_d + q_p \frac{Y_{X/S}}{Y_{P/S}}} \right)$$



## Βιοαντιδραστήρας Συνεχούς Λειτουργίας Βέλτιστος ρυθμός αραίωσης

---

- Η παραγωγικότητα προϊόντος και κυτταρικής μάζας ( $Pr_x$ ) ενός χημειοστάτη υπολογίζεται από τα DP και DX, αντίστοιχα.
- Η τιμή της ταχύτητας της αραίωσης του αντιδραστήρα που μεγιστοποιεί την παραγωγικότητα προκύπτει όταν η παράγωγος του DP ή DX ως προς D τεθεί ίση με το 0.
- $D_{opt}$  για παραγωγή βιομάζας (DX) είναι:

$$D_{opt} = \mu_m \left( 1 - \sqrt{\frac{K_s}{K_s + S_0}} \right)$$

- Η  $D_{opt}$  για παραγωγή βιομάζας (DX) δεν είναι και η βέλτιστη τιμή για την παραγωγή προϊόντος

## ΆΣΚΗΣΗ

- Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης ακολουθεί ανάπτυξη παρεμπόδισης σε χημειοστάτη και δίνεται από την ακόλουθη εξίσωση:

$$\mu_g = \frac{\mu_m S}{K_s + S + IK_s/K_I}$$

Όπου:

$S_0 = 10 \text{ g/l}$	$K_s = 1 \text{ g/l}$	$I = 0.05 \text{ g/l}$	$Y_{X/S} = 0.1 \frac{\text{g cells}}{\text{g subs}}$
$X_0 = 0$	$K_I = 0.01 \text{ g/l}$	$\mu_m = 0.5 \text{ h}^{-1}$	$k_d = 0$

- (α) Να προσδιοριστούν τα  $X, S$  ως συνάρτηση του  $D$  όταν  $I=0$
- (β) Να προσδιοριστούν τα  $X, S$  ως συνάρτηση του  $D$  με παρεμπόδιση
- (γ) Να προσδιοριστεί η παραγωγικότητα κυττάρων  $DX$  ως συνάρτηση του  $D$

## Λύση Άσκησης

$$\begin{array}{llll}
 S_0 = 10 \text{ g/l} & K_s = 1 \text{ g/l} & I = 0.05 \text{ g/l} & Y_{X/S} = 0.1 \frac{\text{g cells}}{\text{g subs}} \\
 X_0 = 0 & K_I = 0.01 \text{ g/l} & \mu_m = 0.5 \text{ h}^{-1} & k_d = 0
 \end{array}$$

- (α) Να προσδιοριστούν τα  $X, S$  ως συνάρτηση του  $D$  όταν  $I=0$

$$S = \frac{K_s D}{\mu_m - D}$$

$$X = Y_{X/S} (S_0 - S)$$

- (β) Να προσδιοριστούν τα  $X, S$  ως συνάρτηση του  $D$  με παρεμπόδιση

• Έχουμε:

• Λύνω ως προς  $S$

• Και αντικαθιστώ το  $S$  στην εξίσωση του  $X$ .

$$\mu_g = \frac{\mu_m S}{K_s \left(1 + \frac{I}{K_I}\right) + S} = D$$

- (γ) Να προσδιοριστεί η παραγωγικότητα κυττάρων  $DX$  ως συνάρτηση του  $D$

$$Pr_x = DX = DY_{X/S} (S_0 - S)$$

# Δομή Μαθήματος

Δρ. Ανέστης Βλυσίδης

Ισοζύγια μάζας  
& Στοιχειομετρία

Κινητική Ενζυμικών  
αντιδράσεων

Κινητική ανάπτυξης  
μικροβίων & παραγωγή  
Μεταβολικών προϊόντων

Εισαγωγικό  
Μάθημα

Ανάντι και κατάντι  
διεργασίες σε  
συστήματα  
βιοδιεργασιών



Σχεδιασμός &  
Μηχανική  
Βιοαντιδραστήρων

Κλιμάκωση βιοδιεργασιών,  
μικτές καλλιέργειες,  
αντιδραστήρες ετερογενούς  
ανάπτυξης

Φαινόμενα μεταφοράς  
μάζας και ενέργειας σε  
έναν αντιδραστήρα



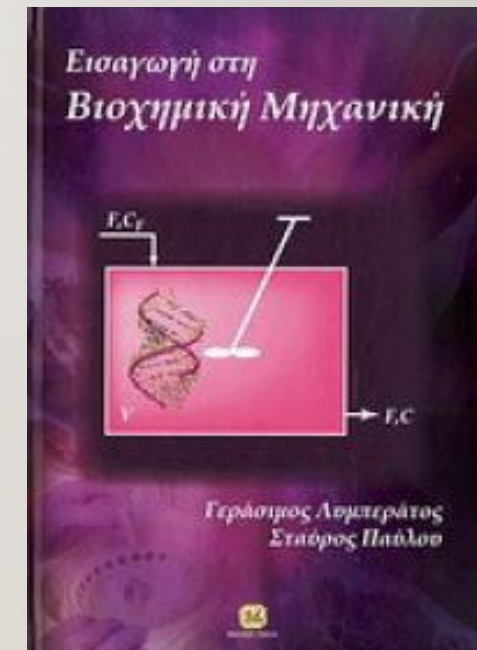
# Βιβλιογραφία

---



Michael L. Shuler, Fikret Kargi, ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΒΙΟΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ Βασικές Έννοιες, 2005, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις ΕΜΠ.

Λυμπεράτος Γ., Παύλου Στ., Εισαγωγή στη ΒΙΟΧΗΜΙΚΗ ΜΗΧΑΝΙΚΗ, Εκδόσεις Τζιόλα, 2011



# Τι μάθαμε σήμερα

---

- Βήματα μιας Διεργασίας Ζύμωσης
- Διαδικασία και ερωτήματα σχεδιασμού μίας ζύμωσης
- Τύποι βιοαντιδραστήρων και τρόποι λειτουργίας τους
- Ισοζύγια Μάζας για Ιδανικούς Βιοαντιδραστήρες
  - Διαλείποντος έργου
  - Ημι-διαλείποντος έργου
  - Συνεχούς λειτουργίας