

# Μάθημα Βιοχημικές Διεργασίες (ENE.2070)

## Αποστείρωση & Ανάδευση

---

Δρ. ΑΝΕΣΤΗΣ ΒΛΥΣΙΔΗΣ

Τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος

Πανεπιστήμιο Πατρών

## Τι μάθαμε στην προηγούμενη διάλεξη (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

# Περιγραφή Σημερινής Διάλεξης (Διάλεξη 7)

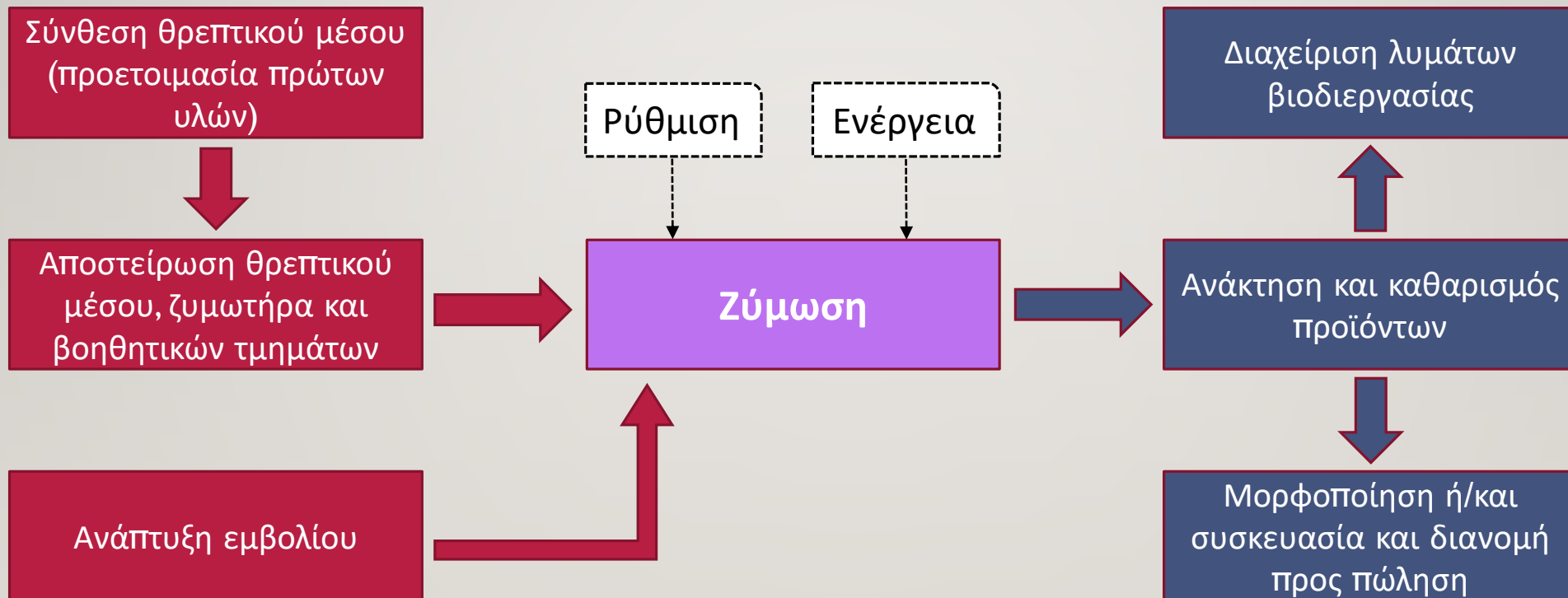
---

- Αποστείρωση του Θρεπτικού Μέσου
  - Γιατί χρειάζεται
  - Τα στάδια
  - Κινητικές μίας αποστείρωσης
  - Υπολογισμό του χρόνου μίας αποστείρωσης
- Κατανάλωση ισχύς σε διεργασίες ζύμωσης
- Σχηματισμοί Βιοαντιδραστήρων

---

# Αποστείρωση του Θρεπτικού Μέσου

# Απαραίτητα Βήματα Εφαρμογής μιας Διεργασίας Ζύμωσης





# Αποστείρωση ή Παστερίωση του θρεπτικού μέσου ζύμωσης

---

- Η αποστείρωση είναι η εξάλειψη (απενεργοποίηση, καταστροφή ή αποκλεισμός) **όλων** των μικροοργανισμών από το θρεπτικό μέσο.
- Η παστερίωση δεν είναι μέθοδος αποστείρωσης. Εδώ η θέρμανση εφαρμόζεται σε χαμηλές θερμοκρασίες για τη **μείωση** του μικροβιακού πληθυσμού.
- Η αποστείρωση με φίλτρο εφαρμόζεται για τον αποκλεισμό μικροοργανισμών (π.χ. χρήση κλίνης ινών, όπως υαλοβάμβακας)
- Η **θερμική αποστείρωση** χρησιμοποιεί κορεσμένο ατμό υπό πίεση και επιτρέπει την εφαρμογή υψηλότερων θερμοκρασιών (π.χ. πίεση 15 psig παρέχει ατμό στους 121°C).
- Αυτή είναι η **κύρια** διαδικασία που χρησιμοποιείται για την αποστείρωση του εξοπλισμού και των θρεπτικών μέσων σε διαδικασίες ζύμωσης.

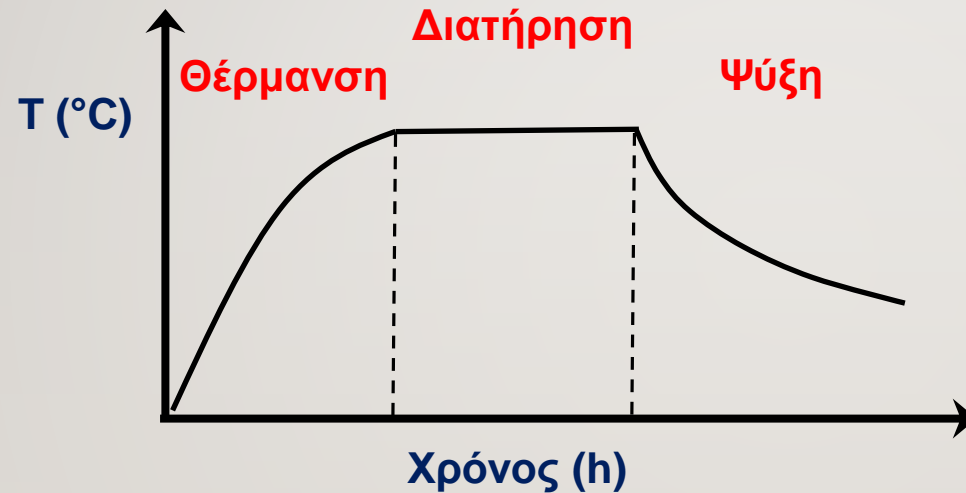
# Αποφυγή Μόλυνσης

---

1. Αποτελεσματικός σχεδιασμός και κατασκευή της μονάδας ζύμωσης.
2. Χρησιμοποιώντας ένα καθαρό εμβόλιο για την έναρξη της ζύμωσης.
3. Αποστείρωση του θρεπτικού μέσου.
4. Αποστείρωση του δοχείου ζύμωσης (αντιδραστήρα).
5. Αποστείρωση όλων των υλικών που θα προστεθούν κατά τη διάρκεια της ζύμωσης (π.χ. αέρας, θρεπτικές ουσίες, αντιαφριστικές ουσίες και τα ρυθμιστικά διαλύματα για σταθερό pH).
6. Διατήρηση ασηπτικών συνθηκών κατά τη ζύμωση.
7. Θέσπιση λεπτομερών λειτουργικών διαδικασιών αποστείρωσης, ασηπτικών μέτρων διατήρησης και εκπαίδευσης προσωπικού.

# Κινητικές Αποστείρωσης

---



Ο κυτταρικός θάνατος προκαλείται λόγω θερμικής μετουσίωσης των ενζύμων



# Κινητικές Αποστείρωσης

---

Η εξίσωση του ρυθμού θανάτου είναι:

$$-\frac{dN}{dt} = kN \Rightarrow \ln \frac{N}{N_0} = -kt \Rightarrow \frac{N_t}{N_0} = e^{-kt}$$

$N$  : ο αριθμός των ζωντανών μικροοργανισμών

$t$  : ο χρόνος αποστείρωσης

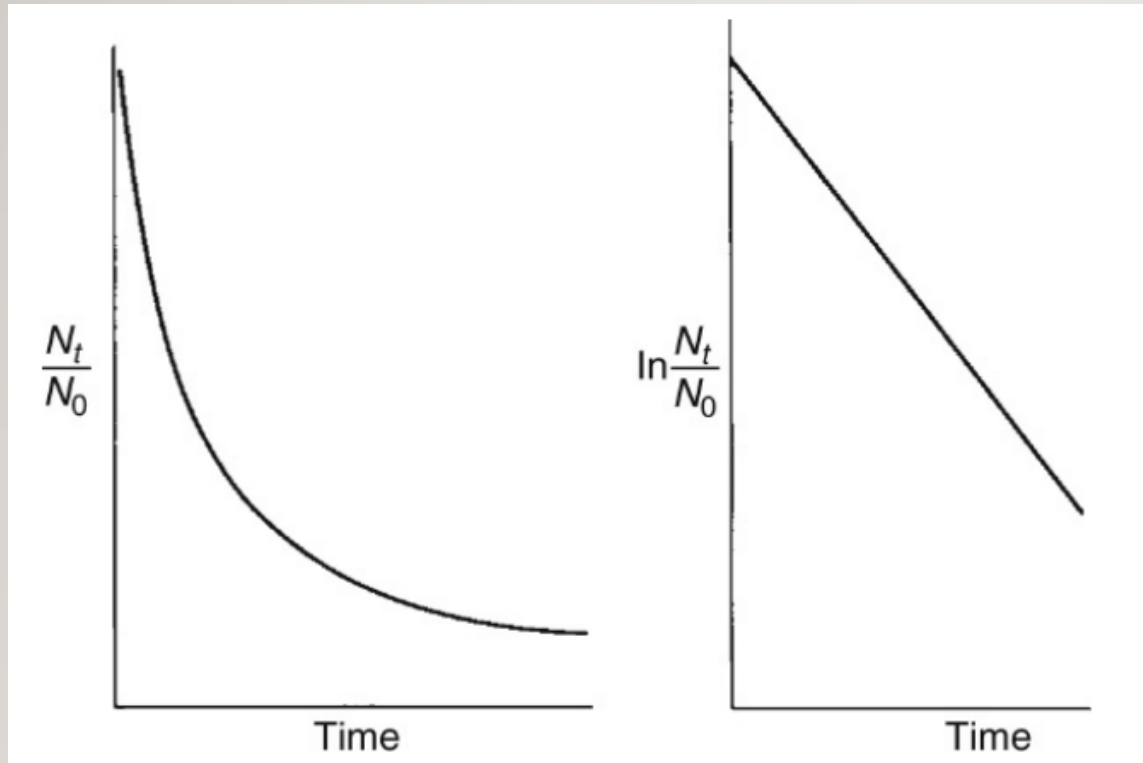
$k$  : είναι η σταθερά του ειδικού ρυθμού θανάτου ( $\text{min}^{-1}$  ή  $\text{h}^{-1}$ ) (ή η σταθερά ρυθμού της αντίδρασης)

Εδώ μας ενδιαφέρει να εξετάσουμε τον συνολικό αριθμό των μικροοργανισμών και όχι την συγκέντρωσή τους. Καθώς ο ελάχιστος αριθμός των μικροοργανισμών που μπορεί να προκαλέσει μόλυνση είναι η μονάδα! Ανεξαρτήτως του όγκου του αντιδραστήρα.

Παράδειγμα: Για  $k = 1 \text{ min}^{-1}$ ,  $t = 15 \text{ min}$ ,  $N_0 = 10^4$  μικροοργανισμοί

# Ιδανικές και μη ιδανικές καμπύλες θανάτου

## Ιδανικές



Γραφικές παραστάσεις που δείχνουν την αναλογία επιζώντων κυττάρων με τα αρχικά που υπόκεινται σε θερμοκρασία αποστείρωσης πάνω από ένα χρονικό διάστημα.

$$\frac{N_t}{N_0} = e^{-kt}$$

$$\ln \frac{N}{N_0} = -kt$$

# Ιδανικές και μη ιδανικές καμπύλες θανάτου

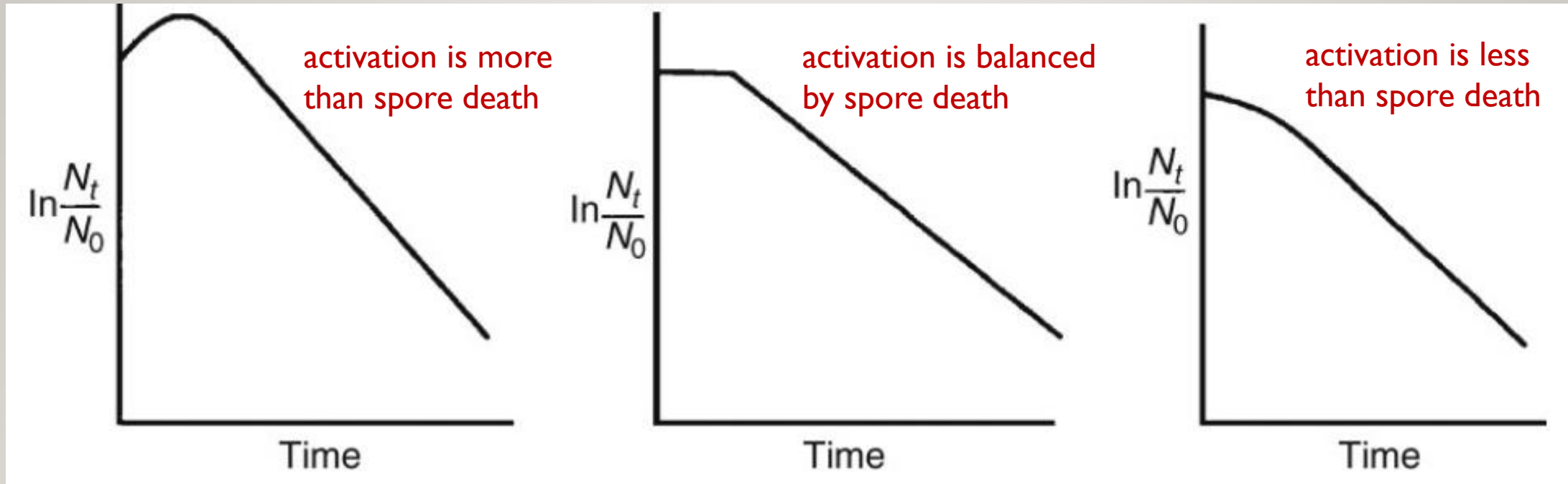
## Μη - ιδανικές

---

- Η σχέση που είδαμε στο προηγούμενο σχήμα παρατηρείται μόνο με την αποστείρωση μιας καθαρής καλλιέργειας σε μία φυσιολογική μορφή, υπό ιδανικές συνθήκες αποστείρωσης.
- Η τιμή του  $k$  δεν εξαρτάται μόνο από τα είδη μικροοργανισμών, αλλά εξαρτάται και από τη φυσιολογική μορφή του κυττάρου.
- Πολλοί οργανισμοί δεν εξουδετερώνονται άμεσα, αλλά μετατρέπονται πρώτα σε σπόρια, τα οποία εξουδετερώνονται στη συνέχεια με άλλη κινητική.
- Για παράδειγμα, τα ενδοσπόρια του γένους *Bacillus* είναι πολύ πιο ανθεκτικά στη θερμότητα από τα φυτικά κύτταρα.
- Η απόκλιση από μια άμεση εκθετική μείωση του βιώσιμου αριθμού σπορίων οφείλεται στη θερμική ενεργοποίηση των σπορίων, δηλαδή στην επαγωγή της βλάστησης των σπορίων από τη θερμότητα και την υγρασία της αρχικής περιόδου της διαδικασίας αποστείρωσης.

# Ιδανικές και μη ιδανικές καμπύλες θανάτου

## Μη-ιδανικές



Η αρχική αύξηση του πληθυσμού προκύπτει από τη θερμική ενεργοποίηση των σπορίων στα αρχικά στάδια μιας διαδικασίας αποστείρωσης.

Στην αρχή της διαδικασίας ο θάνατος των σπορίων αντισταθμίζεται από την ενεργοποίηση των σπορίων λόγω της θερμότητας και υγρασίας.

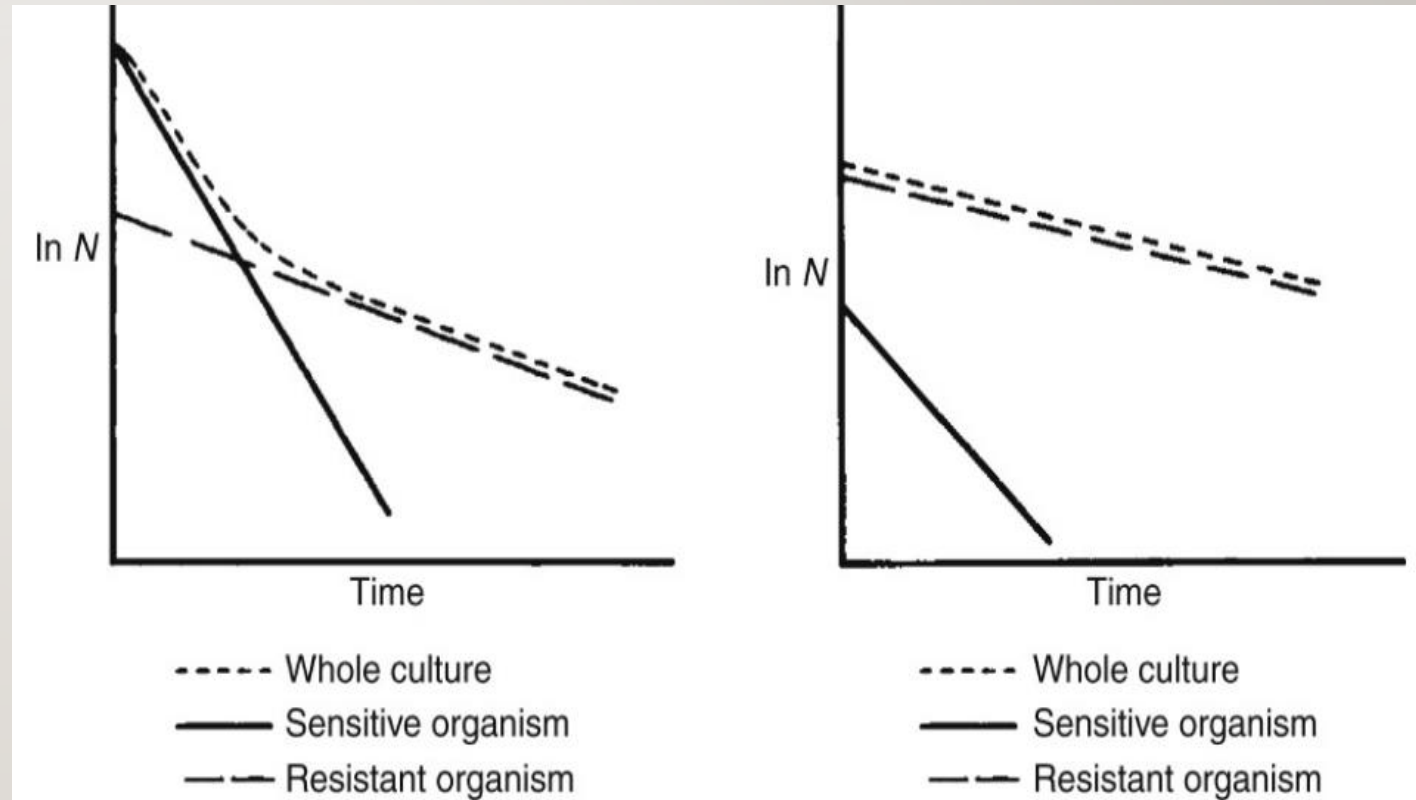
Μικρότερο ρυθμό θανάτου από το μέγιστο στην αρχή της διαδικασίας λόγω της αντιστάθμισης του θανάτου των σπορίων από την ενεργοποίηση θερμότητας των σπορίων.



# Ιδανικές και μη ιδανικές καμπύλες θανάτου

## Αποστείρωση Μικτών Καλλιιεργειών

- Τυπικά αποτελέσματα της αποστείρωσης μικτών καλλιιεργειών που περιέχουν δύο είδη με διαφορετικές ευαισθησίες στη θερμότητα.
- Σχήμα 1: ο πληθυσμός αποτελείται κυρίως από τον λιγότερο ανθεκτικό τύπο όπου η αρχική μείωση οφείλεται κυρίως στο θάνατο του λιγότερο ανθεκτικού κυτταρικού πληθυσμού και η μεταγενέστερη, λιγότερο γρήγορη μείωση, οφείλεται κυρίως στο θάνατο του πιο ανθεκτικού κυτταρικού πληθυσμού.
- Σχήμα 2: αντιπροσωπεύει την αντίστροφη κατάσταση όπου κυριαρχεί ο πιο ανθεκτικός τύπος και η παρουσία του συγκαλύπτει τη μείωση του αριθμού του λιγότερο ανθεκτικού τύπου.



# Επίδραση της Θερμοκρασίας στην σταθερά του ειδικού ρυθμού θανάτου

- Το  $k$  είναι σταθερά μόνο υπό σταθερές θερμοκρασίες.
- Σε υψηλότερες  $T$ , ο μικροβιακός πληθυσμός μειώνεται ταχύτερα. Έτσι, το διάγραμμα του  $N/N_0$  δίνει πιο απότομες κλίσεις αφού το  $k$  είναι μεγαλύτερο.
- Η σχέση μεταξύ θερμοκρασίας και  $k$  ακολουθεί την εξίσωση Arrhenius:

$$k = A_r e^{-\frac{\Delta E}{RT}}$$

$A_r$  είναι μία εμπειρική σταθερά που περιγράφεται από το μέγεθος του  $k$  ( $\text{min}^{-1}$ ),

$\Delta E$  είναι η ενέργεια ενεργοποίησης θερμικής καταστροφής ( $\text{cal mol}^{-1}$ ),

$R$  είναι η παγκόσμια σταθερά των αερίων ( $1.98 \text{ cal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ )

$T$  είναι η θερμοκρασία (K)

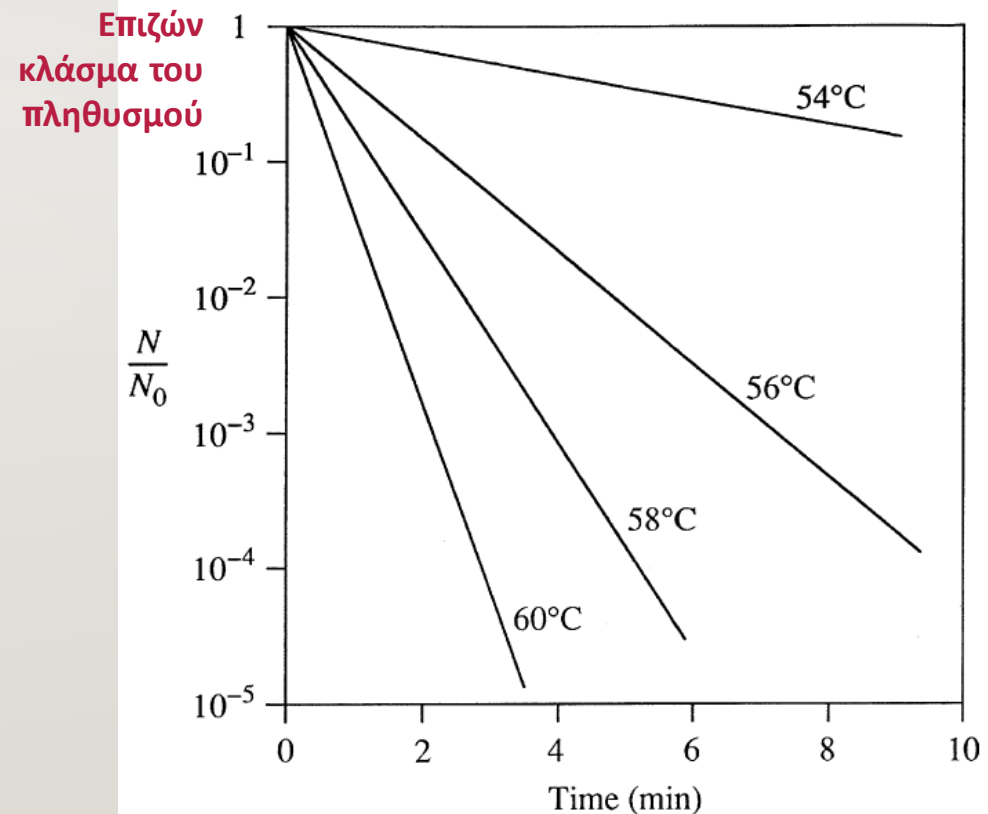
- Η εξίσωση ρυθμού θανάτου γίνεται:

$$\ln \frac{N}{N_0} = -A_r e^{-\frac{\Delta E}{RT}} t$$

Για τον *B. stearothermophilus*:  $A_r = 1 \times 10^{36.2} \text{ sec}^{-1}$ ,  $\Delta E = 2.8346 \times 10^5 \text{ J/mol}$   
και  $R = 8.314 \text{ J/(mol.K)}$

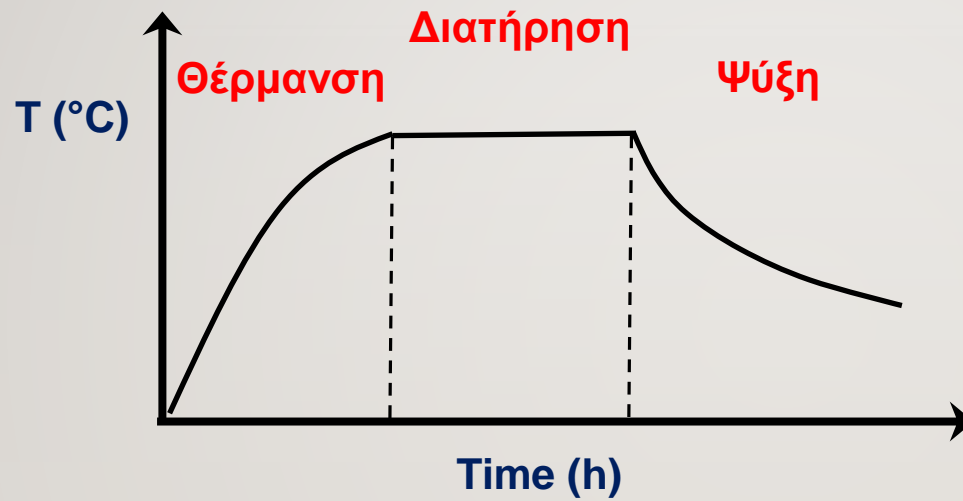
# Κινητικές Θανάτου σε σχέση με τη Θερμοκρασία

- Αποτελέσματα για το θερμικό θάνατο του *Escherichia coli* σε διάφορες θερμοκρασίες.
- Η κινητική θανάτου πρώτης τάξης δεν ισχύει πάντα (όπως σε αυτό το παράδειγμα), ειδικά για βακτηριακά σπόρια αμέσως μετά την έκθεση σε υψηλές θερμοκρασίες.
- Μικρές αυξήσεις της θερμοκρασίας επηρεάζουν σημαντικά το  $k_d$  και το ρυθμό κυτταρικού θανάτου.





# Σχεδιασμός Αποστείρωσης Διαλείποντος έργου



Ο συνολικός αριθμός κυττάρων που καταστράφηκαν καθ' όλη τη διάρκεια της «φουρνιάς» είναι αθροιστικός κατά τη διάρκεια των σταδίων θέρμανσης, διατήρησης και ψύξης.

Ο συνολικός βαθμός αποστείρωσης δίνεται από:

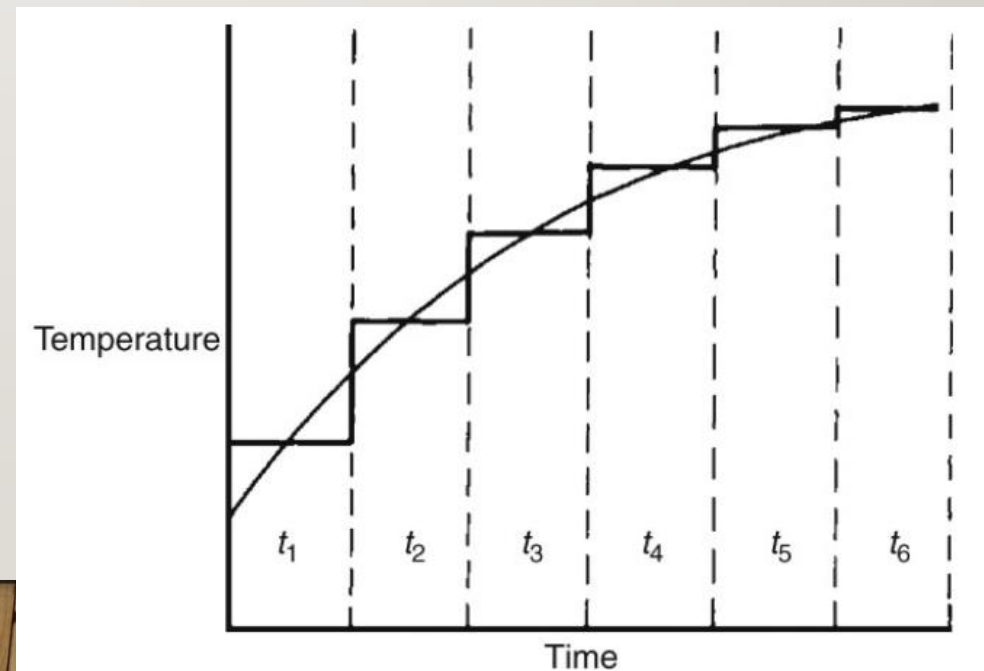
$$\ln\left(\frac{N}{N_0}\right)_{overall} = \ln\left(\frac{N}{N_0}\right)_{heating} + \ln\left(\frac{N}{N_0}\right)_{holding} + \ln\left(\frac{N}{N_0}\right)_{cooling}$$



# Υπολογισμός του ρυθμού θανάτου κατά τη διάρκεια της Θέρμανσης και Ψύξης

- Ωστόσο, κατά τη διάρκεια των περιόδων θέρμανσης και ψύξης η θερμοκρασία δεν είναι σταθερή
- Ο υπολογισμός του  $\ln(N/N_0)$  γίνεται με ολοκλήρωση της εξίσωσης

$$\ln \frac{N}{N_0} = -A_r e^{-\frac{\Delta E}{RT}} t$$



# Παράδειγμα Ρυθμού Θανάτου

$$\ln\left(\frac{N}{N_0}\right)_{overall} = \ln\left(\frac{N}{N_0}\right)_{heating} + \ln\left(\frac{N}{N_0}\right)_{holding} + \ln\left(\frac{N}{N_0}\right)_{cooling}$$

$$\ln\left(\frac{N}{N_0}\right)_{overall} = 32.2 \quad \ln\left(\frac{N}{N_0}\right)_{heating} = 9.8 \quad \ln\left(\frac{N}{N_0}\right)_{cooling} = 10.1$$

$$\ln\left(\frac{N}{N_0}\right)_{holding} = 32.2 - 9.8 - 10.1 = 12.3$$

- Ξέροντας ότι  $\ln\frac{N}{N_0} = -kt$  και για τον *B. stearotherophilus*  $k=2.54^{min^{-1}}$  για τους  $121^{\circ}C$
- $t = 12.3 / 2.54 = 4.84 \text{ min}$
- Εάν δεν λαμβάναμε υπόψιν τους ρυθμούς θανάτου κατά τη διάρκεια της θέρμανσης και της ψύξης τότε:
- $t = 32.2 / 2.54 = 12.68 \text{ min}$

Έτσι, λαμβάνοντας υπόψη τη συμβολή στη διαδικασία αποστείρωσης από τη θέρμανση και ψύξη του κύκλου επιτυγχάνεται σημαντική μείωση του χρόνου έκθεσης.

## Θερμοκρασία Vs $k$

- Τιμές  $\ln(N/N_0)$  των σπορίων του *B. stearothermophilus* κατά την διαδικασία της θέρμανσης για  $T = 100 - 130^\circ\text{C}$
- Υποθέτοντας ένα ρυθμό αλλαγής της θερμοκρασίας ίσο με  $1^\circ\text{C min}^{-1}$  και
- Αμελητέα καταστροφή σπορίων σε θερμοκρασίες κάτω των  $100^\circ\text{C}$

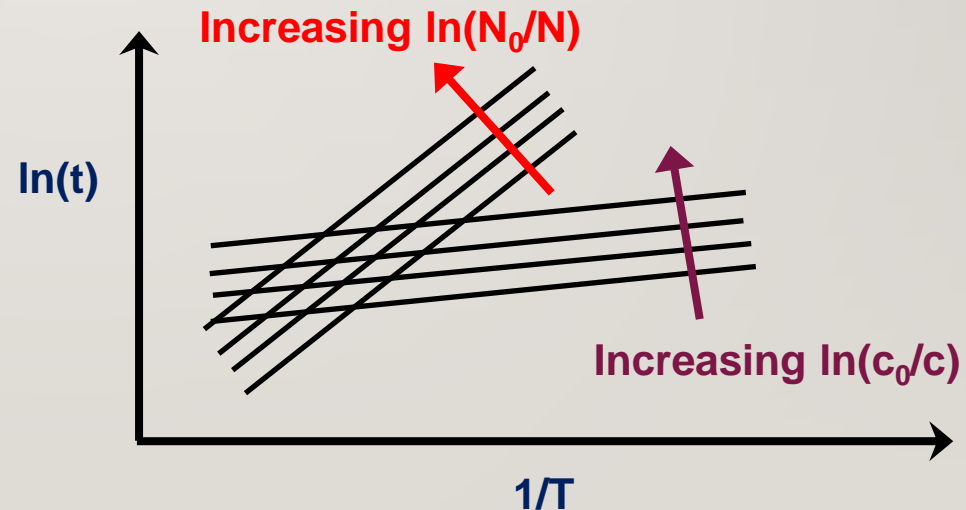
$T(^{\circ}\text{C})$	$k (\text{min}^{-1})$	$\ln(N/N_0)$
100	0.019	–
101	0.025	0.044
102	0.032	0.076
103	0.040	0.116
104	0.051	0.168
105	0.065	0.233
106	0.083	0.316
107	0.105	0.420
108	0.133	0.553
109	0.168	0.720
110	0.212	0.932
111	0.267	1.199
112	0.336	1.535
113	0.423	1.957
114	0.531	2.488
115	0.666	3.154
116	0.835	3.989
117	1.045	5.034
118	1.307	6.341
119	1.633	7.973
120	2.037	10.010
121	2.538	12.549
122	3.160	15.708
123	3.929	19.638
124	4.881	24.518
125	6.056	30.574
126	7.506	38.080
127	9.293	47.373
128	11.494	58.867
129	14.200	73.067
130	17.524	90.591

# Καταστροφή θρεπτικών ουσιών κατά την αποστείρωση με θερμότητα

- Η θερμική αποστείρωση μπορεί επίσης να καταστρέψει θρεπτικά συστατικά, εκτός από τη μείωση του μικροβιακού πληθυσμού.
- Η καταστροφή των θρεπτικών ουσιών εκφράζεται επίσης μέσω της εξίσωσης Arrhenius, αλλά η ενέργεια ενεργοποίησης είναι χαμηλότερη από αυτήν των μικροβιακών σπορίων.
- Για καταστροφή κυττάρων και θρεπτικών συστατικών υπάρχουν οι ακόλουθες εξισώσεις:

$$\ln t = \frac{\Delta E}{RT} + \ln \left( \frac{\ln \left( \frac{N_0}{N} \right)}{A_r} \right)$$

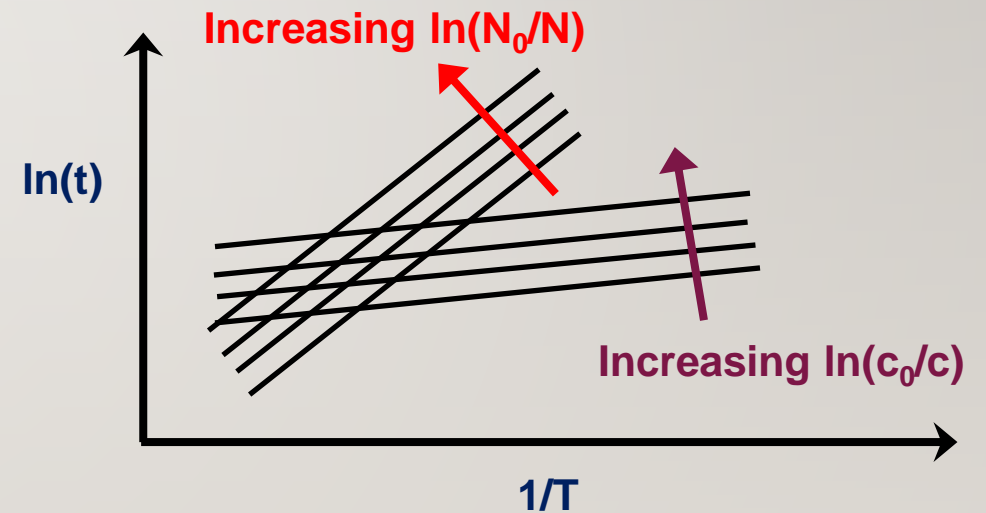
$$\ln t = \frac{\Delta E_c}{RT} + \ln \left( \frac{\ln \left( \frac{c_0}{c} \right)}{A_c} \right)$$





# Καταστροφή θρεπτικών ουσιών κατά την αποστείρωση με θερμότητα

- Κάθε γραμμή σταθερού  $\ln(N/N_0)$  καθορίζει το σύστημα θερμοκρασίας-χρόνο που δίνει την ίδια κλασματική μείωση του αριθμού σπορίων
- Και κάθε γραμμή του  $\ln(C_0/C_t)$  καθορίζει το σύστημα θερμοκρασίας-χρόνο που δίνει την ίδια καταστροφή των θρεπτικών συστατικών.
- Η εξέταση του σχήματος δείχνει ότι ο μόνος τρόπος με τον οποίο ο ρυθμός θανάτου μπορεί να αυξηθεί χωρίς καμία (ή με μικρή) αλλαγή στο κριτήριο ποιότητας θρεπτικών συστατικών είναι
  - Αύξηση της θερμοκρασίας και μείωση του χρόνου διατήρησης



# Πλεονεκτήματα της συνεχούς αποστείρωσης έναντι της αποστείρωσης κατά Παρτίδες:

---

1. Καλύτερη διατήρηση του θρεπτικού ζύμωσης.
2. Ικανότητα να αποστειρώνονται ξεχωριστά τα συστατικά του θρεπτικού μέσου.
3. Ανώτερη ενεργειακή απόδοση, καταναλώνοντας 60-80% λιγότερο ατμό και νερό ψύξης.
4. Ευκολία κλιμάκωσης
5. Ευκολότερη αυτοματοποίηση
6. Μείωση του χρόνου κύκλου αποστείρωσης και συνεπώς μείωση του συνολικού χρόνου μίας φουρνιας, αυξάνοντας έτσι την παραγωγικότητα.
7. Υπό ορισμένες συνθήκες, μείωση της διάβρωσης του ζυμωτήρα.

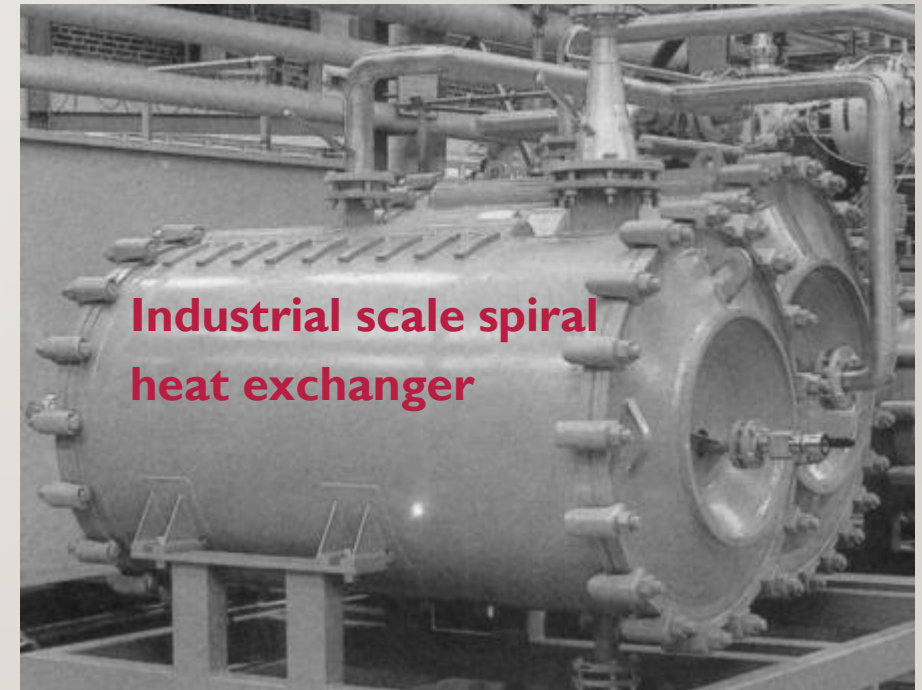
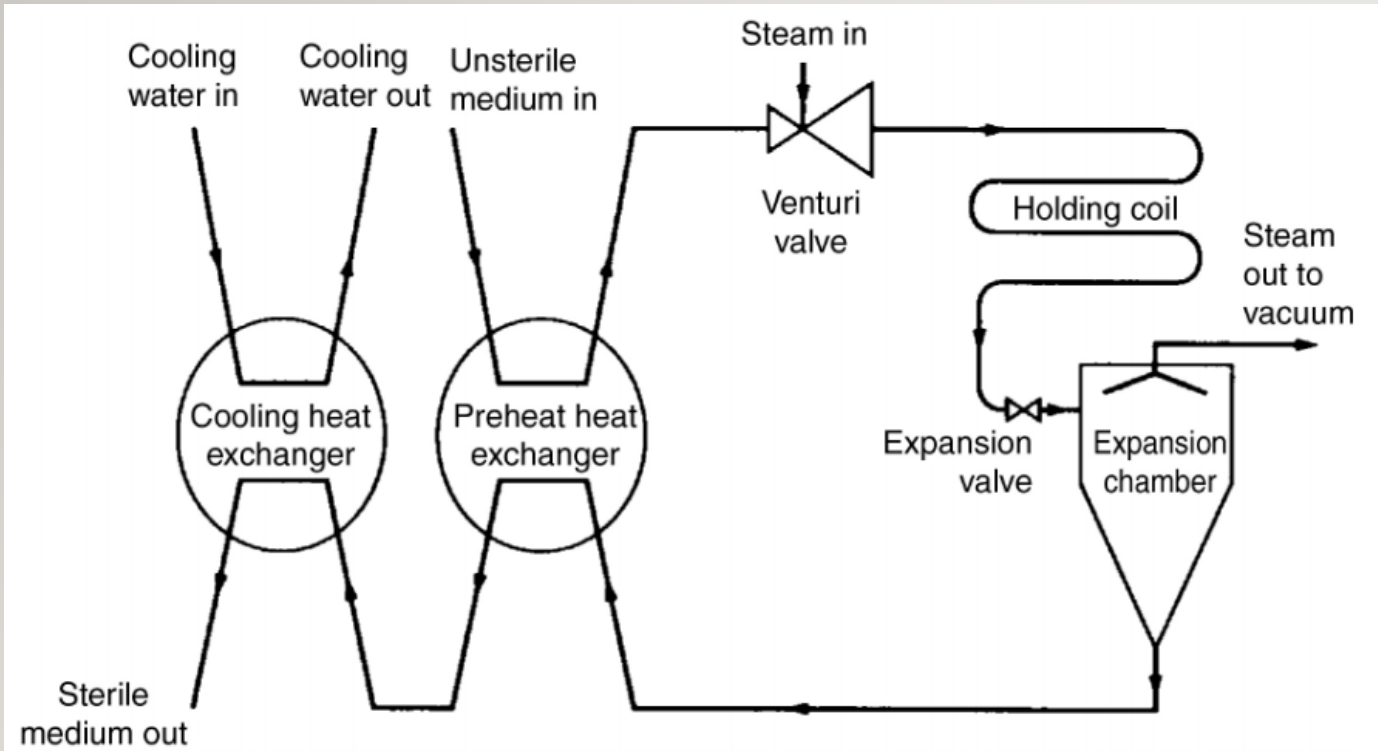
# Πλεονεκτήματα της αποστείρωσης κατά παρτίδες έναντι της συνεχούς αποστείρωσης

---

1. Χαμηλότερο κόστος εξοπλισμού κεφαλαίου.
2. Χαμηλότερος κίνδυνος μόλυνσης - οι συνεχείς διεργασίες απαιτούν την ασηπτική μεταφορά του αποστειρωμένου υγρού στο αποστειρωμένο δοχείο.
3. Ευκολότερος χειροκίνητος έλεγχος.
4. Ευκολότερο στη χρήση όταν έχουμε θρεπτικά μέσα που περιέχουν υψηλή αναλογία στερεάς ύλης

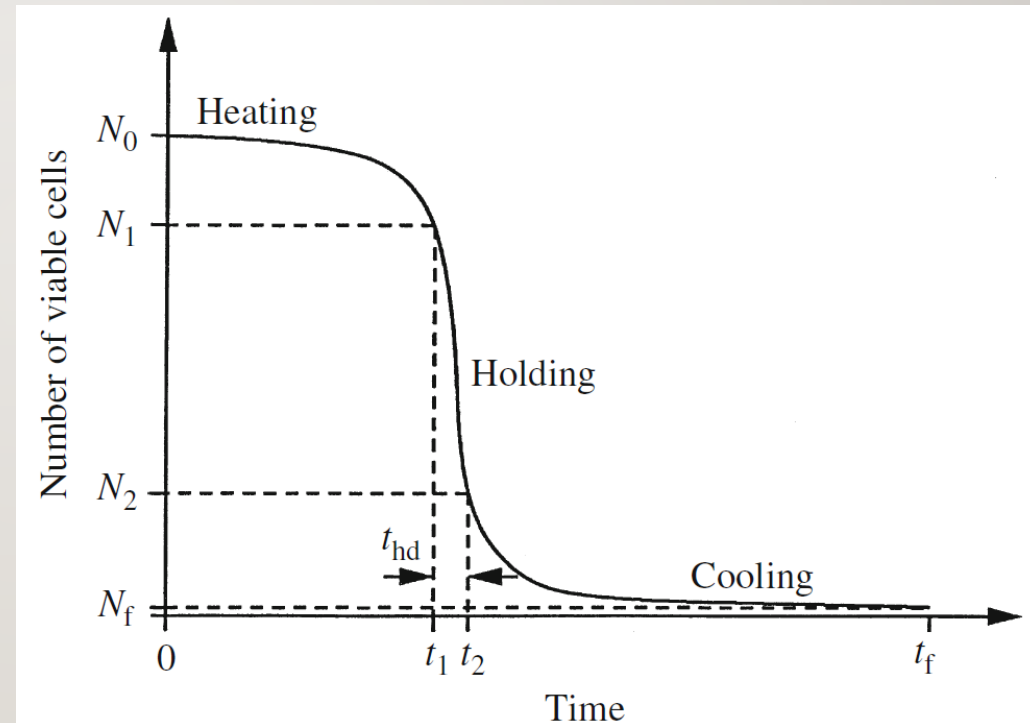
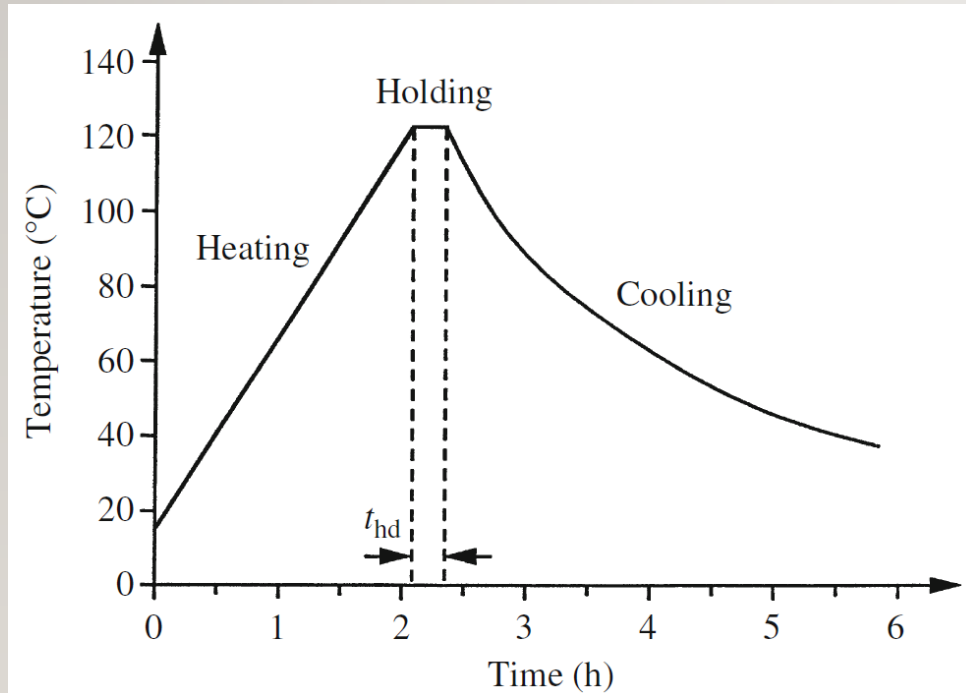


# Διάγραμμα ροής ενός τυπικού συστήματος συνεχούς αποστείρωσης που χρησιμοποιεί σπιδράλ Εναλλάκτες θερμότητας





# Ζωντανά κύτταρα και θερμοκρασία σε σχέση με το χρόνο



# ΠΡΟΒΛΗΜΑ Ι

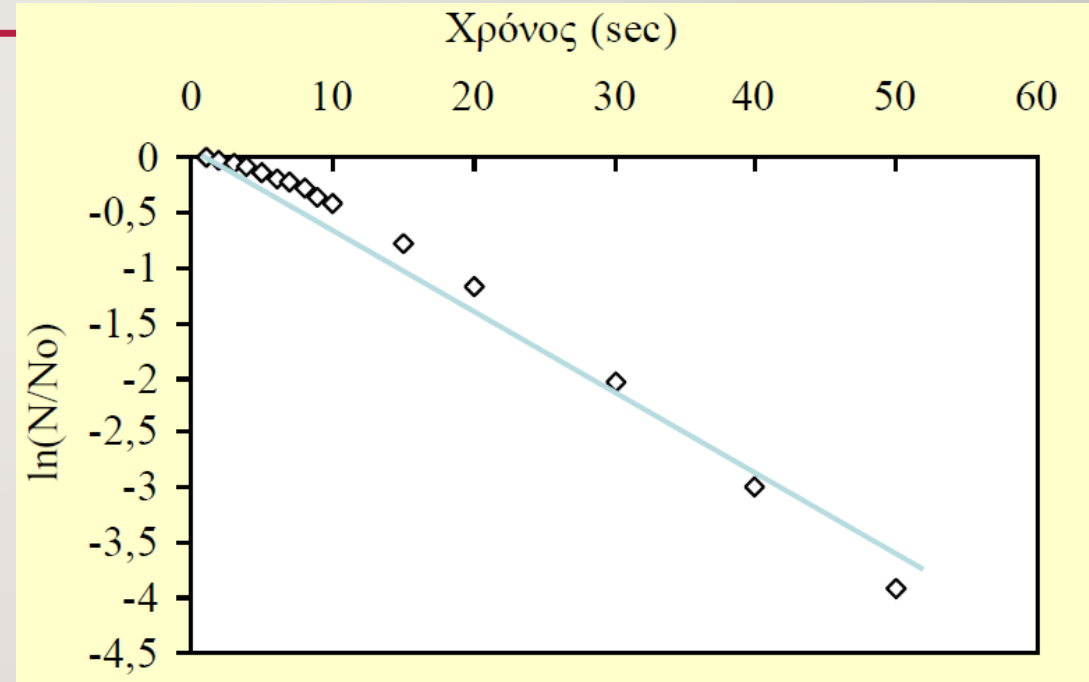
- Κατά τη θερμική απενεργοποίηση σπορίων βακτηρίου στους 121°C προέκυψαν τα δεδομένα του Πίνακα που παρατίθεται.
- Ποιο πρότυπο ακολουθεί η θερμική καταστροφή του μικροοργανισμού;
- Εκτιμήστε την προσαρμογή των δεδομένων στο προτεινόμενο μοντέλο και υπολογίστε τις σχετικές σταθερές.

Χρόνος (sec)	Αριθμός ζωντανών σπορίων (N)
0	100
1	99
2	98
3	95
4	91
5	88
6	83
7	79

Χρόνος (sec)	Αριθμός ζωντανών σπορίων (N)
8	75
9	70
10	66
15	46
20	31
30	13
40	5
50	2

# Λύση προβλήματος I

Χρόνος (sec)	N/No	ln(N/No)
0	1,000	0,000
1	0,990	-0,010
2	0,980	-0,020
3	0,950	-0,051
4	0,910	-0,094
5	0,880	-0,128
6	0,830	-0,186
7	0,790	-0,236
8	0,750	-0,288
9	0,700	-0,357
10	0,660	-0,416
15	0,460	-0,777
20	0,310	-1,171
30	0,130	-2,040
40	0,050	-2,996
50	0,020	-3,912



- Η προσαρμογή ευθείας στα σημεία του γραφήματος δίνει συντελεστή συσχέτισης  $R^2=0.9875$
- Ενώ από την κλίση της ευθείας υπολογίζεται ο ειδικός ρυθμός θερμικής καταστροφής  $k=0.080 \text{ sec}^{-1}$ .

## ΠΡΟΒΛΗΜΑ 2

- Ο αριθμός των βιώσιμων σπορίων ενός νέου στελέχους του *Bacillus subtilis* μετριέται ως συνάρτηση του χρόνου σε διάφορες θερμοκρασίες.

Time (min)	Number of Spores at:			
	$T = 85^\circ\text{C}$	$T = 90^\circ\text{C}$	$T = 110^\circ\text{C}$	$T = 120^\circ\text{C}$
0.0	$2.40 \times 10^9$	$2.40 \times 10^9$	$2.40 \times 10^9$	$2.40 \times 10^9$
0.5	$2.39 \times 10^9$	$2.38 \times 10^9$	$1.08 \times 10^9$	$2.05 \times 10^7$
1.0	$2.37 \times 10^9$	$2.30 \times 10^9$	$4.80 \times 10^8$	$1.75 \times 10^5$
1.5	–	$2.29 \times 10^9$	$2.20 \times 10^8$	$1.30 \times 10^3$
2.0	$2.33 \times 10^9$	$2.21 \times 10^9$	$9.85 \times 10^7$	–
3.0	$2.32 \times 10^9$	$2.17 \times 10^9$	$2.01 \times 10^7$	–
4.0	$2.28 \times 10^9$	$2.12 \times 10^9$	$4.41 \times 10^6$	–
6.0	$2.20 \times 10^9$	$1.95 \times 10^9$	$1.62 \times 10^5$	–
8.0	$2.19 \times 10^9$	$1.87 \times 10^9$	$6.88 \times 10^3$	–
9.0	$2.16 \times 10^9$	$1.79 \times 10^9$	–	–

(α) Προσδιορίστε την ενέργεια ενεργοποίησης για θερμικό θάνατο των σπορίων *B. subtilis*.

(β) Ποια είναι η ειδική σταθερά θανάτου στους  $100^\circ\text{C}$ ;

(γ) Υπολογίστε το χρόνο που απαιτείται για να σκοτώσετε το 99% των σπόρων σε ένα δείγμα στους  $100^\circ\text{C}$ .

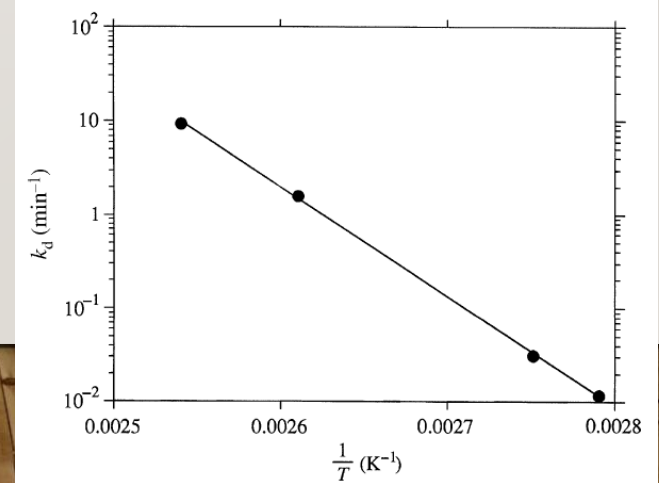
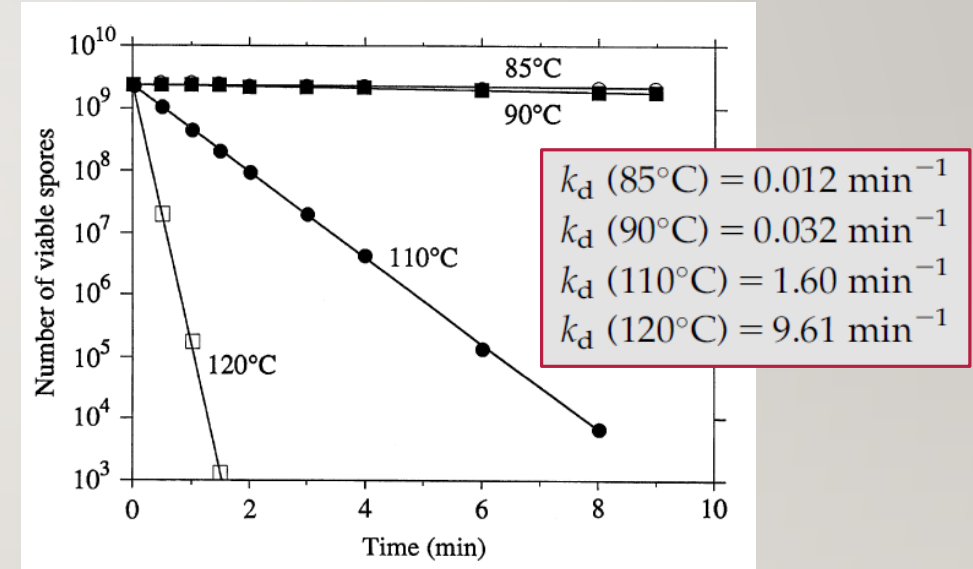
$$k = A_r e^{-\frac{\Delta E}{RT}}$$



# Λύση προβλήματος 2

(α) Προσδιορίστε την ενέργεια ενεργοποίησης για θερμικό θάνατο των σπορίων *B. subtilis*.

- Φτιάχνουμε ένα ημι-λογαριθμικό διάγραμμα του αριθμού των βιώσιμων σπορίων έναντι του χρόνου για κάθε μία από τις τέσσερις θερμοκρασίες.
- Οι κλίσεις των γραμμών στο σχήμα είναι ίσες με  $-k_d$  στις διάφορες θερμοκρασίες.
- Στη συνέχεια από την εξίσωση:  $k = A_r e^{-\frac{\Delta E}{RT}}$
- Ένα ημι-λογαριθμικό διάγραμμα του  $k_d$  με το αντίστροφο της θερμοκρασία θα μας δώσει μία ευθεία γραμμή με κλίση  $-\Delta E/R$
- Η κλίση είναι  $-27.030 \text{ K}$ . Ξέρουμε ότι  $R=8.3144 \text{ J K}^{-1} \text{ gmol}^{-1}$ .



$$E_d = 27,030 \text{ K} (8.3144 \text{ J K}^{-1} \text{ gmol}^{-1}) = 2.25 \times 10^5 \text{ J gmol}^{-1}$$

$$E_d = 225 \text{ kJ gmol}^{-1}$$

## Λύση προβλήματος 2

(β) Ποια είναι η ειδική σταθερά θανάτου στους 100°C;

(γ) Υπολογίστε το χρόνο που απαιτείται για να σκοτώσετε το 99% των σπόρων σε ένα δείγμα στους 100°C.

- Η εξίσωση της γραμμής του σχήματος είναι:

$$k_d = 6.52 \times 10^{30} e^{-27,030/T}$$

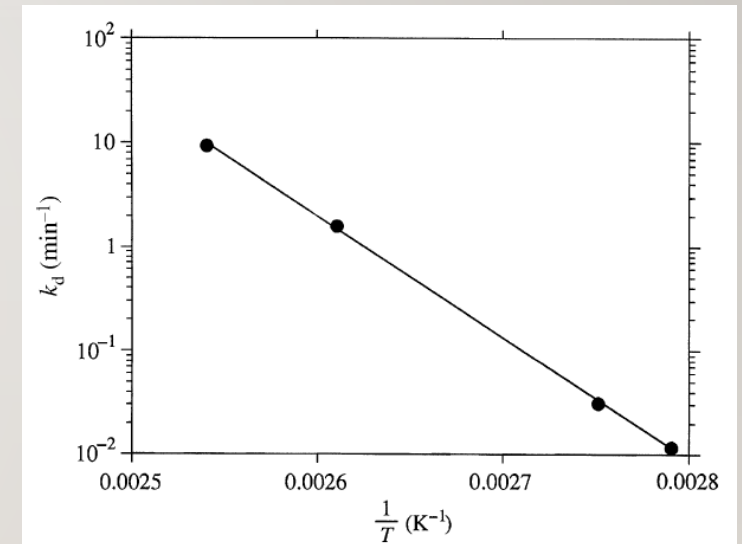
- Όπου το  $k_d$  έχει μονάδες  $\text{min}^{-1}$  και το  $T$  έχει μονάδες Κ. Οπότε, για  $T=100^\circ\text{C}=373.15 \text{ K}$ ,
- $k_d=0.23 \text{ min}^{-1}$

$$\frac{N_t}{N_0} = e^{-kt}$$

$$t = \frac{-(\ln N - \ln N_0)}{k_d}$$

- Για  $N$  ίσο με 1% of  $N_0$ ,  $N/N_0 = 0.01$ . Στους 100°C,  $k_d=0.23 \text{ min}^{-1}$ :

$$t = \frac{-\ln(0.01)}{0.23 \text{ min}^{-1}} = 20 \text{ min}$$



---

# Κατανάλωση ισχύς σε διεργασίες ζύμωσης

# Σκοπός της Ανάδευσης

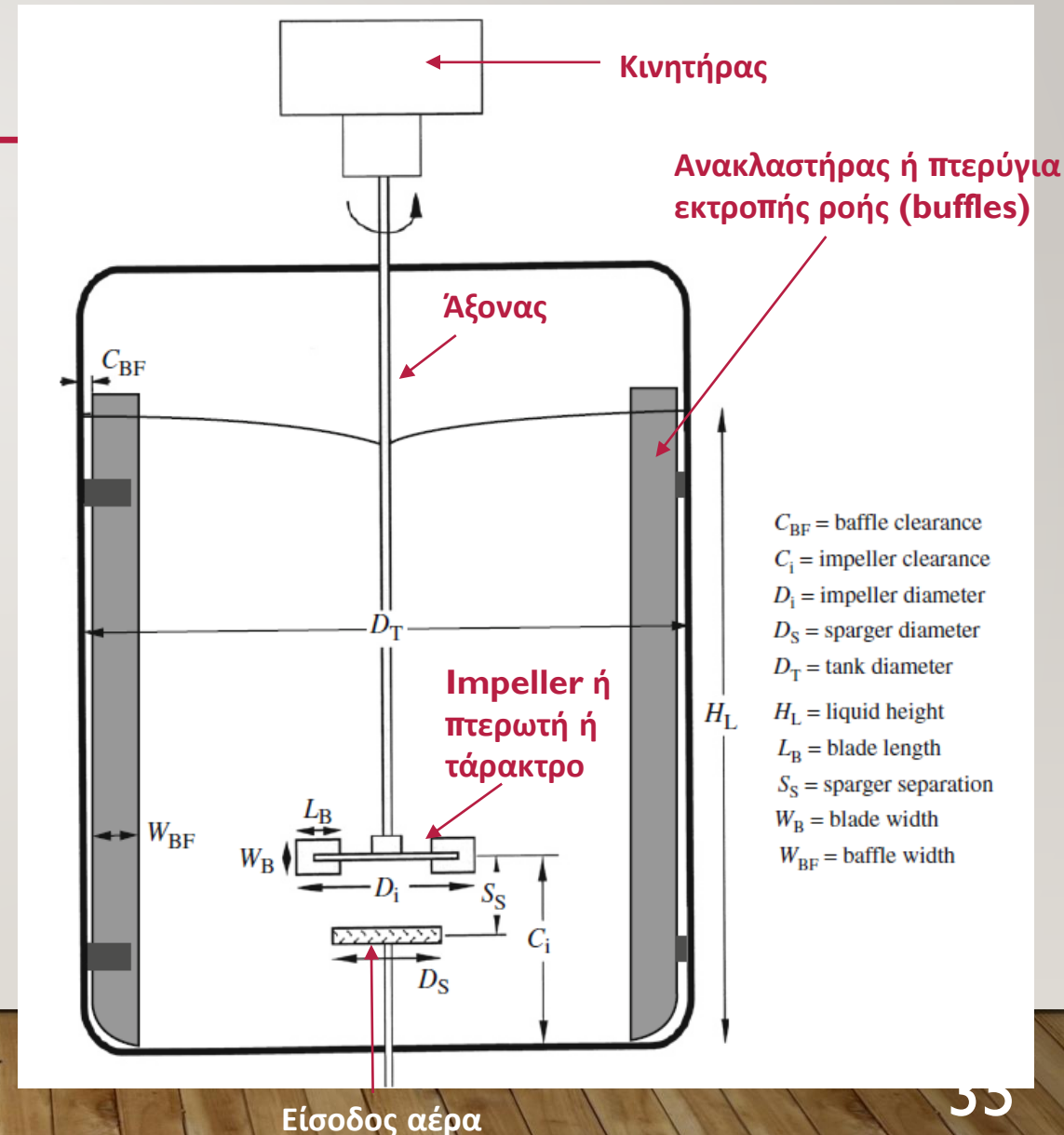
---

- Ανακάτεμα διαλυτών συστατικών του θρεπτικού μέσου
- Διασπορά αερίων (π.χ. αέρας) μέσα σε υγρό με τη μορφή μικρών φυσαλίδων
- Διατήρηση στερεών σωματιδίων (π.χ. κυττάρων) σε αιώρηση
- Διασπορά μη αναμείξιμων υγρών με σχηματισμό γαλακτώματος ή αιωρήματος σταγονιδίων
- Ενίσχυση της μεταφοράς θερμότητας από και προς το υγρό μέσο

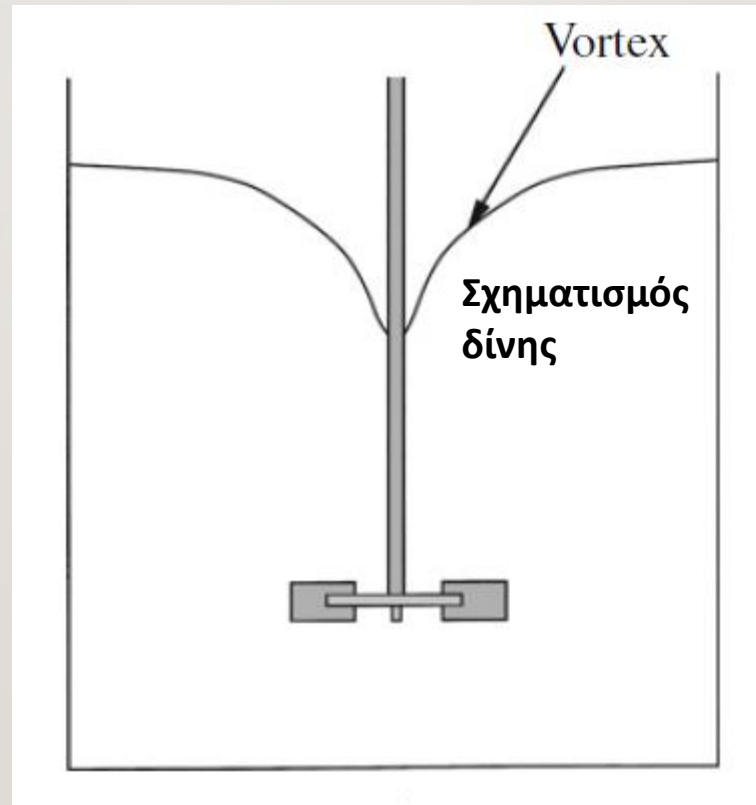
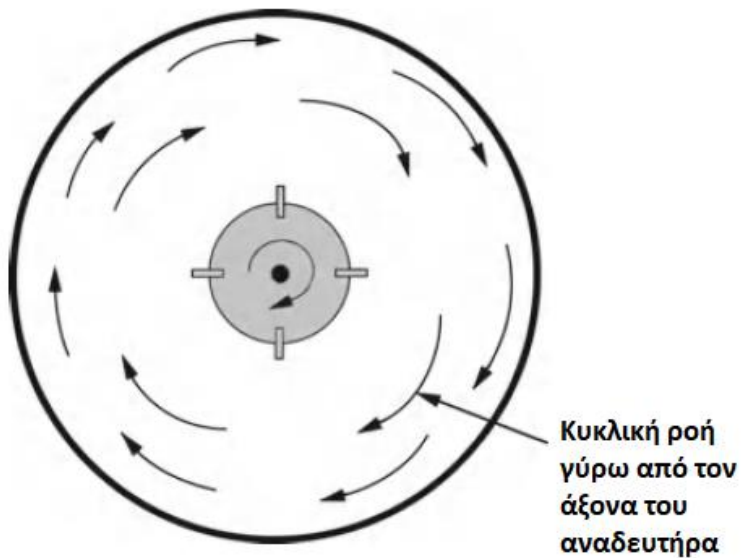


# Ανάδευση Τάρακτρα & Εκτροπείς

- I. Για νευτωνικά ρευστά ο λόγος της διαμέτρου της δεξαμενής με την διάμετρο του τάρακτρου είναι συνήθως ~ 3:1
- II. Για ικανοποιητική ανάδευση με ένα τάρακτρο, το βάθος του υγρού στη δεξαμενή δεν πρέπει να ξεπερνάει 1.0-1.25 φορές την διάμετρο της δεξαμενής.
- III. Οι εκτροπείς (που είναι μεταλλικές λωρίδες παράλληλες με το τοίχος του αντιδραστήρα) χρησιμεύουν για αποφυγή σχηματισμού δίνης.
- IV. Το βέλτιστο πλάτος εκτροπέα εξαρτάται από τον σχεδιασμό του τάρακτρου και το ιξώδες του ρευστού αλλά συνήθως είναι 1/10 - 1/12 της διαμέτρου της δεξαμενής.

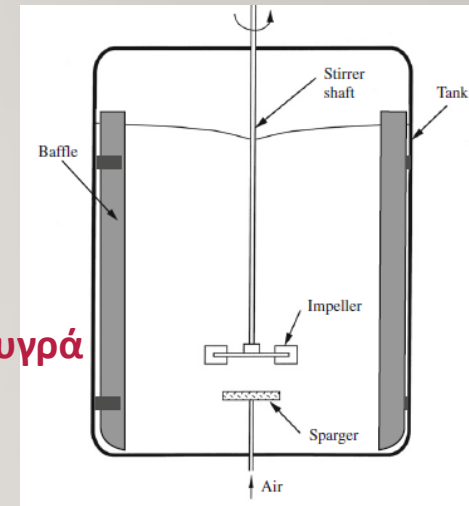
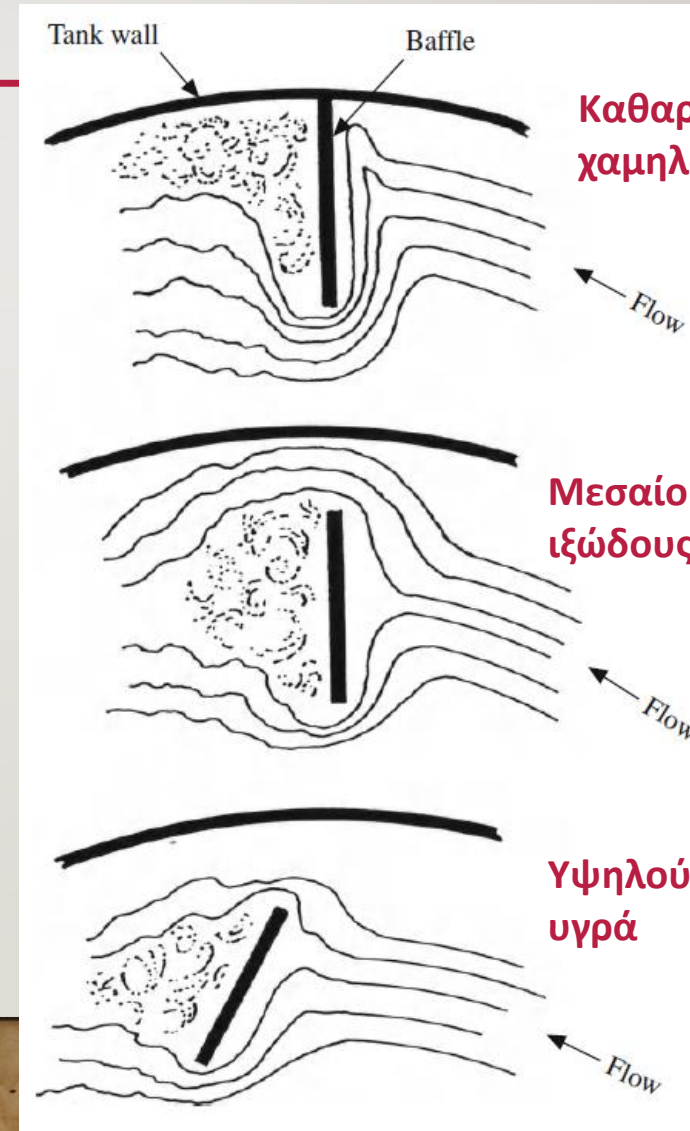


# Κυκλική ροή σε Αναδευόμενο Αντιδραστήρα χωρίς ανακλαστήρες (Unbaffled)



# Η θέση των Ανακλαστήρων (Baffles) εξαρτάται από το ιξώδες του υγρού ζύμωσης

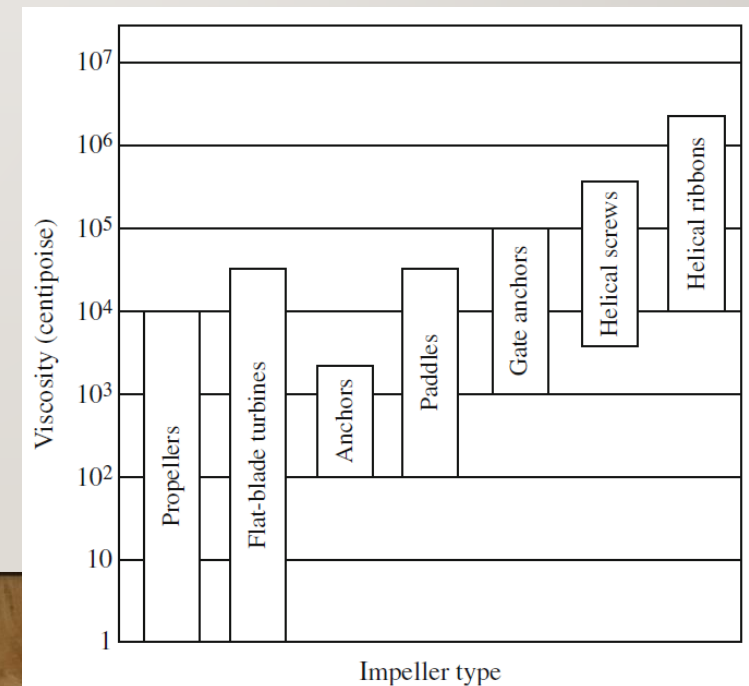
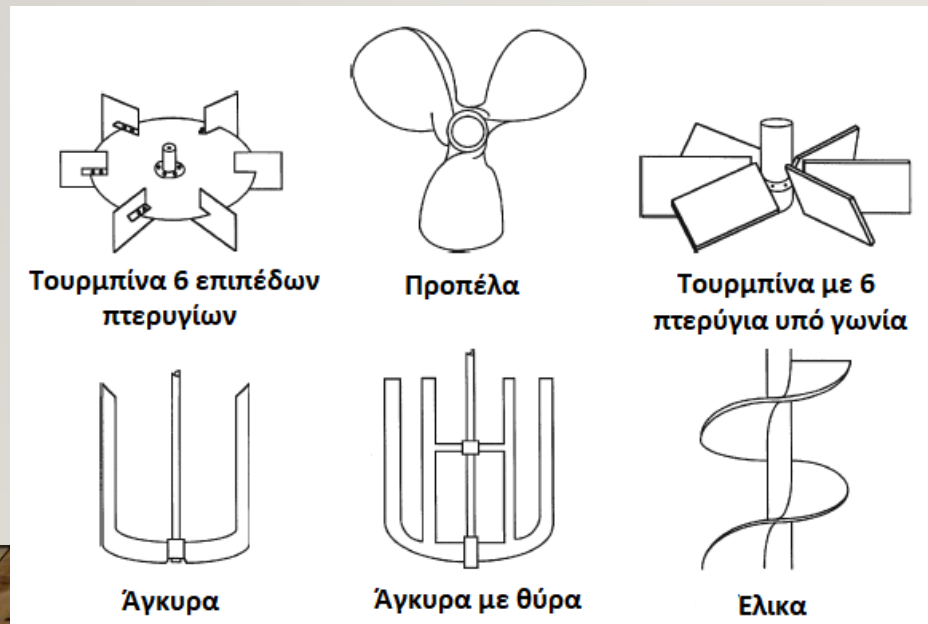
- Οι ανακλαστήρες είναι βασικός εξοπλισμός σε αναδευόμενες δεξαμενές.
- Βοηθούν στην ανάμιξη και δημιουργούν αναταράξεις στο ρευστό διασπώντας την κυκλική ροή που δημιουργείται από την περιστροφή της πτερωτής.
- Τέσσερις εξίσου διαχωρισμένοι ανακλαστήρες είναι συνήθως επαρκή για την αποτροπή στροβιλισμού υγρού και σχηματισμού δίνης.
- Το βέλτιστο πλάτος διαφράγματος εξαρτάται από το σχεδιασμό της πτερωτής και το ιξώδες ρευστού, αλλά είναι της τάξης 1/10 έως 1/12 της διαμέτρου της δεξαμενής.
- Το διάκενο (~1/50 της διαμέτρου της δεξαμενής) με ή χωρίς γωνία ανακλαστήρα μπορεί να εμποδίσει την ανάπτυξη στάσιμων ζωνών και την καθίζηση αιωρούμενων κυττάρων ή σωματιδίων.





# Ανάδευση – Σχεδιασμός Ταράκτρου

- Η επιλογή του ταράκτρου εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως το ιξώδες του υγρού προς ανάμιξη και η ευαισθησία του συστήματος σε μηχανική διάτμηση
- Για υγρά χαμηλού έως μέσου ιξώδους, συνιστώνται προπέλες και τουρμπίνες επίπεδης λεπίδας





# Rushton turbine

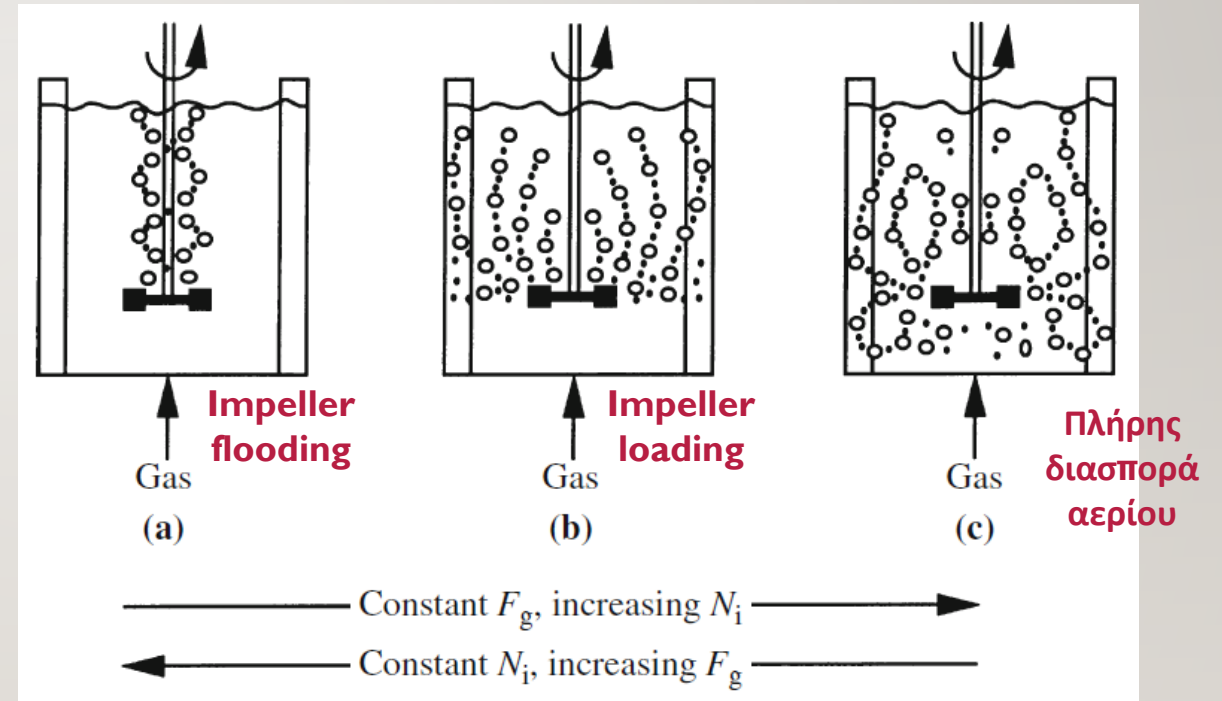
---

- Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη πτερωτή στη βιομηχανία ζύμωσης είναι η τουρμπίνα 6 πτερυγίων σε δίσκο (Rushton turbine).
- Πολύ αποτελεσματική για τη διασπορά αερίων.



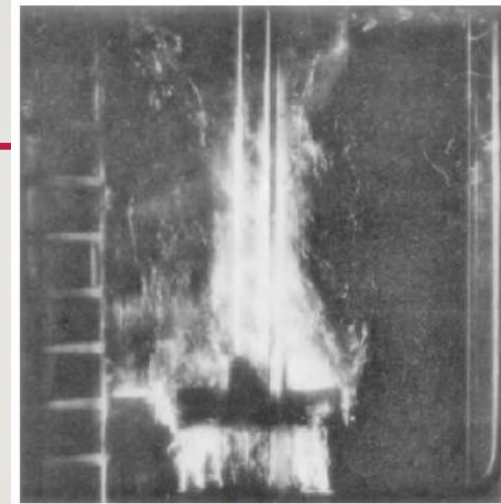
# Rushton turbine με παροχή αέρα

- Σχηματισμοί διασποράς αερίου σε αεριζόμενη δεξαμενή ανάδευσης ως συνάρτηση
  - της ταχύτητας της πτερωτής  $N_i$  και
  - τον ρυθμός ροής αερίου  $F_g$ .

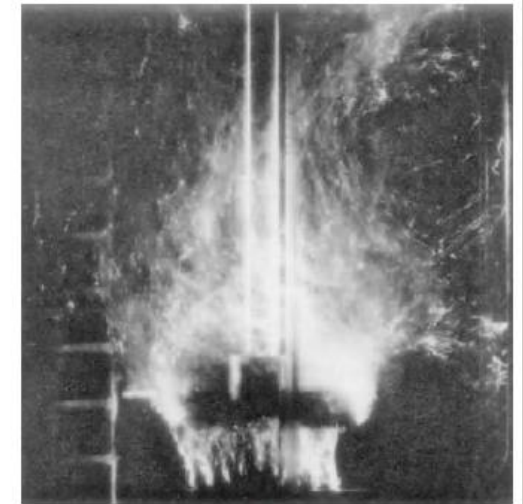


# Διασπορά αερίου σε σχέση με την ταχύτητα ανάδευσης

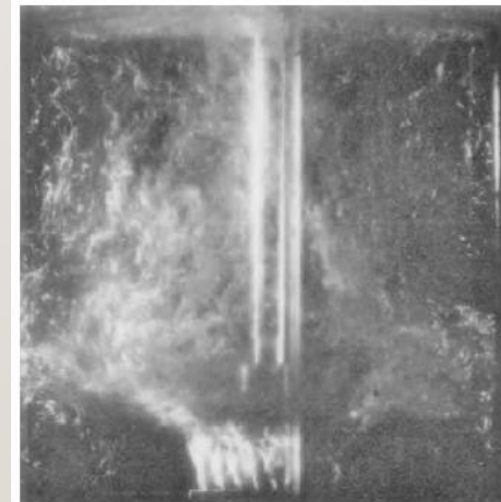
- Ο ογκομετρικός ρυθμός ροής αερίου διατηρήθηκε σταθερός και η ταχύτητα του αναδευτήρα αυξήθηκε από 100 rpm σε 400 rpm.
- **Impeller flooding:** ο αναδευτήρας περιβάλλεται από αέριο και υπάρχει πολύ μικρή εξωτερική διασπορά φυσαλίδων προς το τοίχωμα του δοχείου.
- **Impeller loading:** σε υψηλότερες ταχύτητες ανάδευσης η πτερωτή φορτώνεται και το αέριο κατανέμεται σε όλο το πάνω μέρος του δοχείου.
- **Πλήρης διασπορά αερίου:** Περαιτέρω αυξήσεις στην ταχύτητα του αναδευτήρα επιτρέπουν την ολοκληρωμένη διασπορά των φυσαλίδων τόσο κάτω όσο και πάνω από την πτερωτή



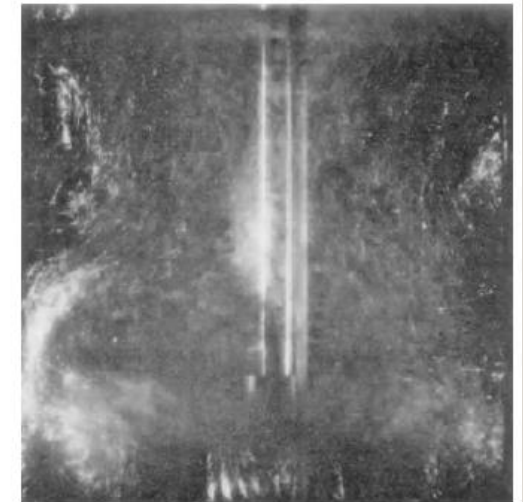
(a) 100 rpm



(b) 200 rpm



(c) 300 rpm



(d) 400 rpm



# Απαιτήσεις ισχύος για ανάμιξη σε μη αεριζόμενα ρευστά

---

- Η μέση κατανάλωση ισχύος ανά μονάδα όγκου για βιομηχανικούς βιοαντιδραστήρες κυμαίνεται από  $10 \text{ kW m}^{-3}$  για μικρά δοχεία ( $\sim 0.1 \text{ m}^3$ ), έως  $1-2 \text{ kW m}^{-3}$  για μεγάλα δοχεία ( $\sim 100 \text{ m}^3$ ).
- Το ενεργειακό κόστος για τη λειτουργία των αναδευτήρων στους βιοαντιδραστήρες αποτελεί σημαντικό παράγοντα στο κόστος λειτουργίας μίας βιοδιεργασίας.
- Η ισχύς ανάμιξης για μη αεριζόμενα ρευστά εξαρτάται από την ταχύτητα του αναδευτήρα, τη διάμετρο και τη γεωμετρία (δλδ τον τύπο του τaráκτρου) και τις ιδιότητες του ρευστού όπως η πυκνότητα και το ιξώδες.



# Απαιτήσεις ισχύος για ανάμιξη σε μη αεριζόμενα ρευστά

---

- Η μαθηματική σχέση μεταξύ αυτών των μεταβλητών εκφράζεται συνήθως σε όρους αδιάστατων αριθμών, όπως ο αριθμός τάρακτρου Reynolds  $Re_i$  και ο αριθμός ισχύος  $N_p$

$$Re_i = \frac{N_i D_i^2 \rho}{\mu}$$

$$N_p = \frac{P}{\rho N_i^3 D_i^5}$$

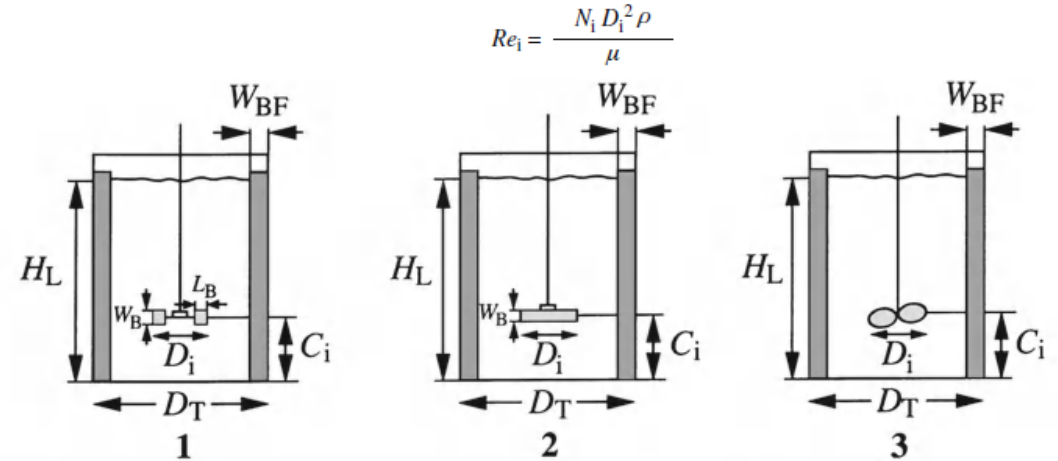
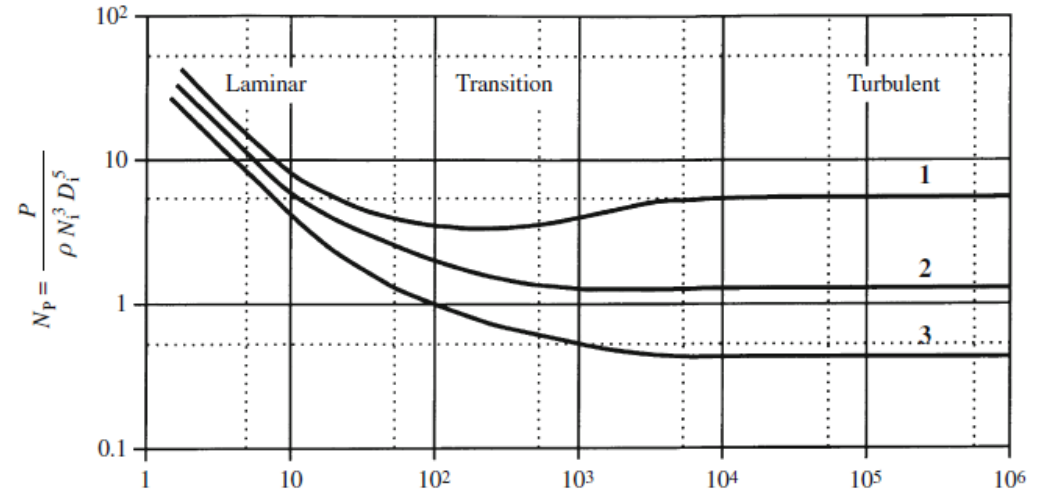
Το  $N_i$  είναι η ταχύτητα του αναδευτήρα, το  $D_i$  είναι η διάμετρος του Impeller, το  $\rho$  είναι πυκνότητα του ρευστού, το  $\mu$  είναι το ιξώδες του ρευστού και το  $P$  είναι η ισχύς που βάζουμε για ανάδευση.

# Συσχέτιση μεταξύ του αριθμού Reynolds και του αριθμού ισχύος $N_p$

- Η σχέση μεταξύ  $Re_i$  και  $N_p$  έχει βρεθεί πειραματικά για ένα εύρος πτερωτών και σχηματισμούς δεξαμενών.
- Μόλις γίνει γνωστή η τιμή του  $N_p$  η ισχύς υπολογίζεται από την Εξίσωση:

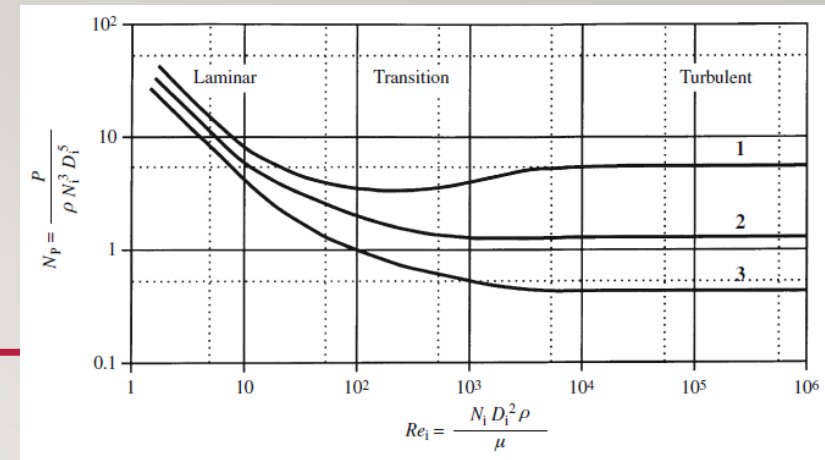
$$P = N_p \rho N_i^3 D_i^5$$

- Για μια δεδομένη πτερωτή, η σχέση μεταξύ του αριθμού ισχύος και του αριθμού Reynolds εξαρτάται από το καθεστώς ροής στη δεξαμενή.



Impeller	$D_i/D_T$	$H_L/D_T$	$C_i/D_T$	Baffles	
				$W_{BF}/D_T$	Number
1. Rushton turbine $w_B/D_i = 0.2, L_B/D_i = 0.25$	0.33	1	0.33	0.1	4
2. Pitched-blade turbine $w_B/D_i = 0.125, 6 \text{ blades, } 45^\circ, \text{ downward pumping}$	0.33	1	0.33	0.1	4
3. Marine propeller 3 blades, pitch = $D_i$	0.33	1	0.33	0.1	4

# Στρωτή ροή



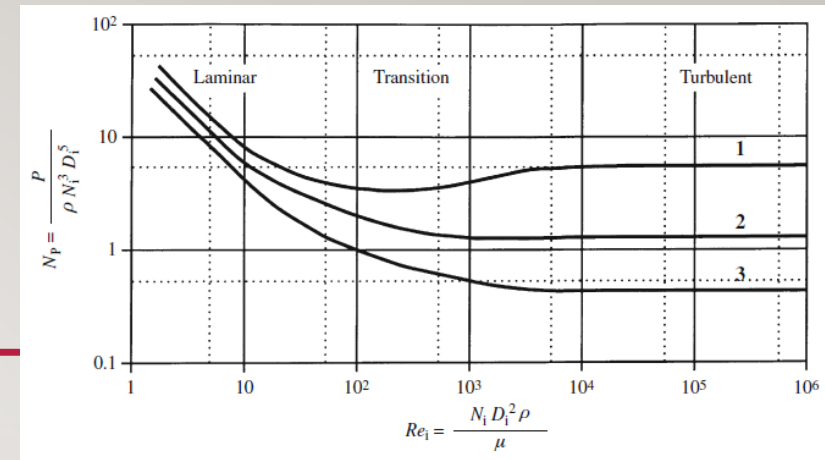
- Το καθεστώς της στρωτής ροής (laminar flow) αντιστοιχεί για  $Re_i < 10$  για πολλούς τύπους τουρμπινών και προπελών.
- Για αναδευτήρες με πολύ μικρό διάκενο όπως αυτό της άγκυρας ή του έλικα, η στρωτή ροή παραμένει μέχρι  $Re_i = 100$  ή μεγαλύτερη.

$$P = k_1 \mu N_i^2 D_i^3$$

όπου το  $k_1$  είναι μία σταθερά αναλογικότητας και εξαρτάται από την τουρμπίνα/προπέλα που χρησιμοποιείται.

- Η ισχύς που απαιτείται για τη στρωτή ροή είναι ανεξάρτητη από την πυκνότητα του υγρού αλλά είναι ανάλογη με το ιξώδες του ρευστού.

# Τυρβώδης ροή



- Ο αριθμός ισχύος είναι ανεξάρτητος από τον αριθμό Reynolds σε τυρβώδη ροή.
- Το καθεστώς της τυρβώδους ροής έχει πλήρως αναπτυχθεί για  $Re_i > 10^3$  ή  $10^4$  για τους περισσότερες μικρές πτερωτές σε δοχεία με ανακλαστήρες.

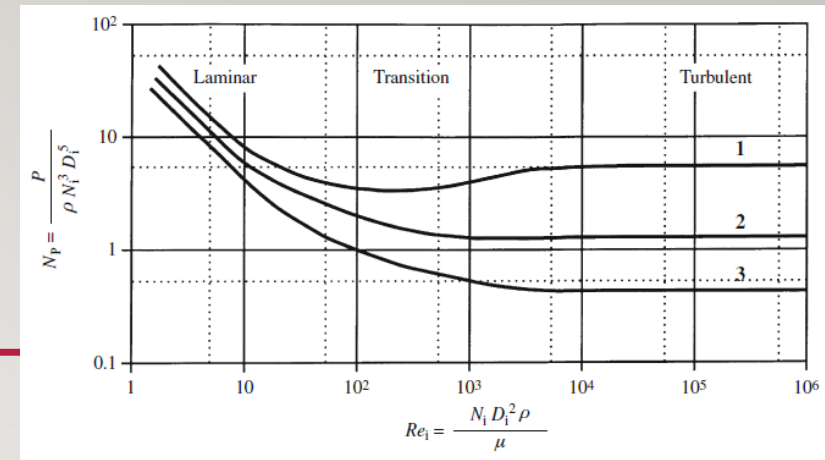
$$P = N'_P \rho N_i^3 D_i^5$$

όπου  $N'_P$  είναι η σταθερή τιμή του αριθμού ισχύος σε τυρβώδη ροή και εξαρτάται από τον τύπο του Impeller (0.35 – 5)

- Χωρίς ανακλαστήρες, η τυρβώδη ροή μπορεί να αναπτυχθεί πλήρως για  $Re_i > 10^5$



# Κατάσταση μετάβασης



- Μεταξύ στρωτής και τυρβώδους ροής βρισκόμαστε σε ένα καθεστώς μετάβασης (transition).
- Τόσο η πυκνότητα όσο και το ιξώδες επηρεάζουν τις απαιτήσεις ισχύος σε αυτό το καθεστώς.
- Συνήθως υπάρχει σταδιακή μετάβαση από στρωτή σε πλήρως αναπτυγμένη τυρβώδη ροή σε αναδευόμενες δεξαμενές.
- Το εύρος αριθμών Reynolds για μετάβαση εξαρτώνται από τη γεωμετρία του συστήματος.

Για μια δεδομένη πτερωτή, η σχέση μεταξύ του αριθμού ισχύος και του αριθμού Reynolds εξαρτάται από το καθεστώς ροής στη δεξαμενή

Impeller type	$k_1 (Re_i = 1)$	$N'_p (Re_i = 10^5)$
Rushton turbine	70	5.0
Pitched-blade turbine	50	1.3
Marine propeller	40	0.35
Anchor	420	0.35
Helical ribbon	1000	0.35

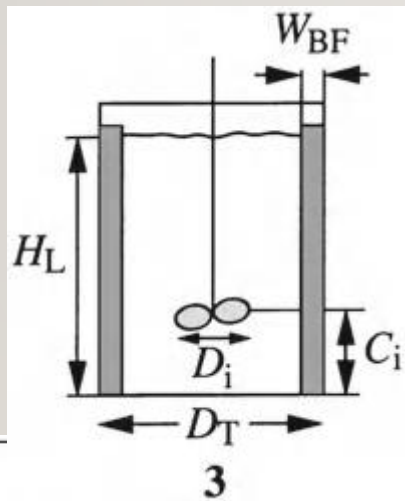
$$P = k_1 \mu N_i^2 D_i^3$$

$$P = N'_p \rho N_i^3 D_i^5$$

- Η κατανάλωση ισχύος εξαρτάται περισσότερο από τη διάμετρο του αναδευτήρα παρά από την ταχύτητα του αναδευτήρα.
- Μικρές αλλαγές στο μέγεθος της πτερωτής έχουν μεγάλη επίδραση στις απαιτήσεις ισχύος, όπως θα αναμενόταν από την εξάρτηση από τη διάμετρο της πτερωτής που αυξάνεται εις την τρίτη ή την πέμπτη δύναμη.
- Η τριβή, και συνεπώς η ισχύς που απαιτείται για την ανάδευση, εξαρτώνται από τη γεωμετρία της πτερωτής και τον σχηματισμό της δεξαμενής.

# Παράδειγμα I: Συγκέντρωση κυττάρων σε αερόβια καλλιέργεια

- Ένα υγρό ζύμωσης με ιξώδες  $10^{-2}$  Pa s και πυκνότητα  $1000 \text{ kg m}^{-3}$  αναδεύεται σε μια δεξαμενή  $50 \text{ m}^3$  με ανακλαστές χρησιμοποιώντας μια έλικα θαλάσσης διαμέτρου  $1.3 \text{ m}$ . Η γεωμετρία της δεξαμενής είναι όπως καθορίζεται στο παρακάτω σχήμα. Υπολογίστε την ισχύ που απαιτείται για την ταχύτητα του αναδευτήρα  $4 \text{ s}^{-1}$ .



$$Re_i = \frac{N_i D_i^2 \rho}{\mu}$$

Το  $N_i$  είναι η ταχύτητα του αναδευτήρα, το  $D_i$  είναι η διάμετρος του Impeller, το  $\rho$  είναι πυκνότητα του ρευστού, το  $\mu$  είναι το ιξώδες του ρευστού και το  $P$  είναι η ισχύς που βάζουμε για ανάδευση.

Impeller	$D_i/D_T$	$H_L/D_T$	$C_i/D_T$	Baffles	
				$W_{BF}/D_T$	Number
3. Marine propeller 3 blades, pitch = $D_i$	0.33	1	0.33	0.1	4

# Λύση Παραδείγματος I

Impeller type	$k_1 (Re_i = 1)$	$N'_p (Re_i = 10^5)$
Rushton turbine	70	5.0
Pitched-blade turbine	50	1.3
Marine propeller	40	0.35
Anchor	420	0.35
Helical ribbon	1000	0.35

$$Re_i = \frac{N_i D_i^2 \rho}{\mu}$$

το  $N_i = 4 \text{ s}^{-1}$

το  $D_i = 1.3 \text{ m}$

το  $\rho = 1000 \text{ kg m}^{-3}$

το  $\mu = 10^{-2} \text{ Pa s} = 10^{-2} \text{ kg m}^{-1} \text{ s}^{-1}$

το  $P$  είναι η ισχύς της ανάδευσης

$$Re_i = \frac{4 \text{ s}^{-1} (1.3 \text{ m})^2 1000 \text{ kg m}^{-3}}{10^{-2} \text{ kg m}^{-1} \text{ s}^{-1}} = 6.76 \times 10^5$$

$$P = N'_p \rho N_i^3 D_i^5$$

$$P = (0.35) 1000 \text{ kg m}^{-3} (4 \text{ s}^{-1})^3 (1.3 \text{ m})^5 = 8.3 \times 10^4 \text{ kg m}^2 \text{ s}^{-3}$$

$$1 \text{ kg m}^2 \text{ s}^{-3} = 1 \text{ W}$$

$$\text{άρα } P = 83 \text{ kW}$$



# Παραγόμενη ισχύ από αερισμό

---

- Εκτός από τη μηχανική ανάδευση, το αέριο που διοχετεύεται συμβάλλει στη συνολική είσοδο ισχύος στους βιοαντιδραστήρες που ισούται με

$$P_v = F_g \rho g H_L$$

- $F_g$  είναι ο ογκομετρικός ρυθμός ροής αερίου στη θερμοκρασία και τη μέση πίεση του υγρού στη δεξαμενή,
- $\rho$  είναι η πυκνότητα του υγρού,  $g$  είναι η επιτάχυνση της βαρύτητας, και  $H_L$  είναι το ύψος του υγρού.
- Για αεριζόμενα δοχεία που αναδεύονται με πτερωτή, το  $P_v$  είναι συνήθως μόνο ένα μικρό κλάσμα της συνολικής εισόδου ισχύος και συχνά παραλείπεται.
- Ωστόσο, εάν έχουμε υψηλούς ρυθμούς ροής αερίου και χαμηλές ταχύτητες αναδευτήρα τότε το  $P_v$  μπορεί να είναι σημαντικό στη συνολική ισχύ που εισάγεται στο σύστημα.

# Κατανάλωση Ισχύος σε Αεριζόμενη Δεξαμενή

- Τα υγρά στα οποία διοχετεύεται αέριο έχουν μειωμένες απαιτήσεις σε ισχύ.
- Οι φυσαλίδες του αερίου μειώνουν την πυκνότητα του υγρού και η παρουσία τους επηρεάζει επίσης την υδροδυναμική συμπεριφορά του υγρού γύρω από τα τάρακτρα.
- Μεγάλες κοιλότητες γεμάτες με αέριο αναπτύσσονται πίσω από τις λεπίδες του αναδευτήρα όταν έχουμε παροχή αερίου.
- Η αναλογία ισχύς με αέριο προς ισχύς χωρίς αέριο δίνεται από την εμπειρική σχέση:

$$\frac{P_g}{P_0} = 0.10 \left( \frac{F_g}{N_i V} \right)^{-0.25} \left( \frac{N_i^2 D_i^4}{g W_i V^{2/3}} \right)^{-0.20}$$

$P_g$  είναι η κατανάλωση ισχύος με διοχέτευση αερίου,  
 $P_0$  είναι η κατανάλωση ισχύος χωρίς παροχή αερίου,  
 $F_g$  είναι η ογκομετρική ταχύτητα ροής αερίου,  
 $N_i$  είναι η ταχύτητα αναδευτήρα,  
 $V$  είναι ο όγκος του υγρού,  
 $D_i$  είναι η διάμετρος του τάρακτρου,  
 το  $g$  είναι η επιτάχυνση της βαρύτητας και  
 το  $W_i$  είναι το πλάτος της λεπίδας του τάρακτρου

# Αποτελεσματικότητα ανάμειξης

---

- Περιοριστικό βήμα η μακροανάμειξη
- Χρόνος ανάμειξης  $t_m$ : ο χρόνος για επίτευξη ομοιογένειας
- Έγχυση μικρής ποσότητας ιχνηθέτη και παρακολούθηση της συγκέντρωσης με το χρόνο σε συγκεκριμένο σημείο δειγματοληψίας
- Χρόνος μέχρι η διακύμανση να είναι κάτω από 10%
- Εξαρτάται από το
  - μέγεθος βιοαντιδραστήρα ( $D_T$ )
  - μέγεθος τaráκτρου ( $D_i$ )
  - ταχύτητα περιστροφής τaráκτρου ( $N_i$ )
  - ιδιότητες υγρού (π.χ ιξώδες)

$$t_m = 5.9 D_T^{2/3} \left( \frac{\rho V_L}{P} \right)^{1/3} \left( \frac{D_T}{D_i} \right)^{1/3}$$



# Κλιμάκωση του Συστήματος Ανάδευσης

- Στην ιδανική περίπτωση, θα πρέπει να πραγματοποιηθεί κλιμάκωση έτσι ώστε οι συνθήκες στο μεγάλο αντιδραστήρα να είναι όσο το δυνατόν πιο κοντά σε εκείνες που παράγουν καλά αποτελέσματα στη μικρότερη κλίμακα.
- Δεδομένου ότι η ανάμιξη είναι ζωτικής σημασίας για τους βιοαντιδραστήρες, θα ήταν επιθυμητό να διατηρηθεί ο ίδιος χρόνος ανάμιξης στην κλιμάκωση.
- Δυστυχώς, η σχέση μεταξύ της ανάμιξης του χρόνου και της κατανάλωσης ενέργειας καθιστά αδύνατη στην πράξη τη διατήρηση του χρόνου ανάμιξης.

$$P_2 = P_1 \left( \frac{V_{L2}}{V_{L1}} \right)^{5/3}$$

Παράδειγμα: Από 1 m<sup>3</sup> σε 100 m<sup>3</sup>,  $V_{L2} = 100 V_{L1}$ .

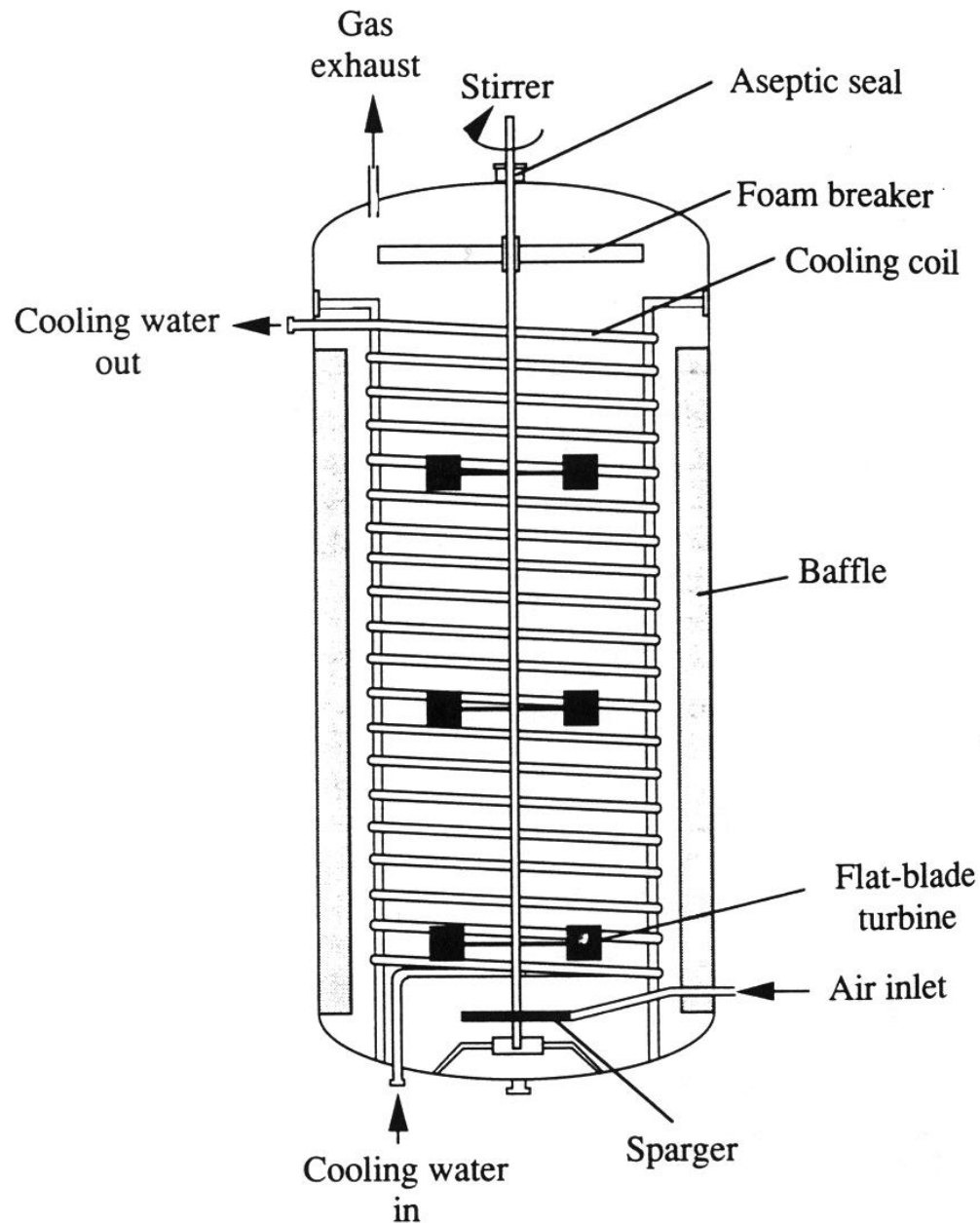
$P_2 = \sim 2000 P_1$ ; δηλαδή, **η ισχύς** που απαιτείται για την επίτευξη ίσου χρόνου ανάμιξης στη δεξαμενή 100-m<sup>3</sup> είναι  $\sim 2000$  φορές μεγαλύτερος από ότι στο δοχείο 1-m<sup>3</sup>.

Αυτό αντιπροσωπεύει μία εξαιρετικά μεγάλη αύξηση ισχύος, πολύ μεγαλύτερη από ό,τι είναι εφικτή από οικονομικής ή τεχνικής απόψεως.



---

# Σχηματισμοί Βιοαντιδραστήρων



## Τυπικός Βιοαντιδραστήρας για αερόβιες ζυμώσεις με ανάδευση

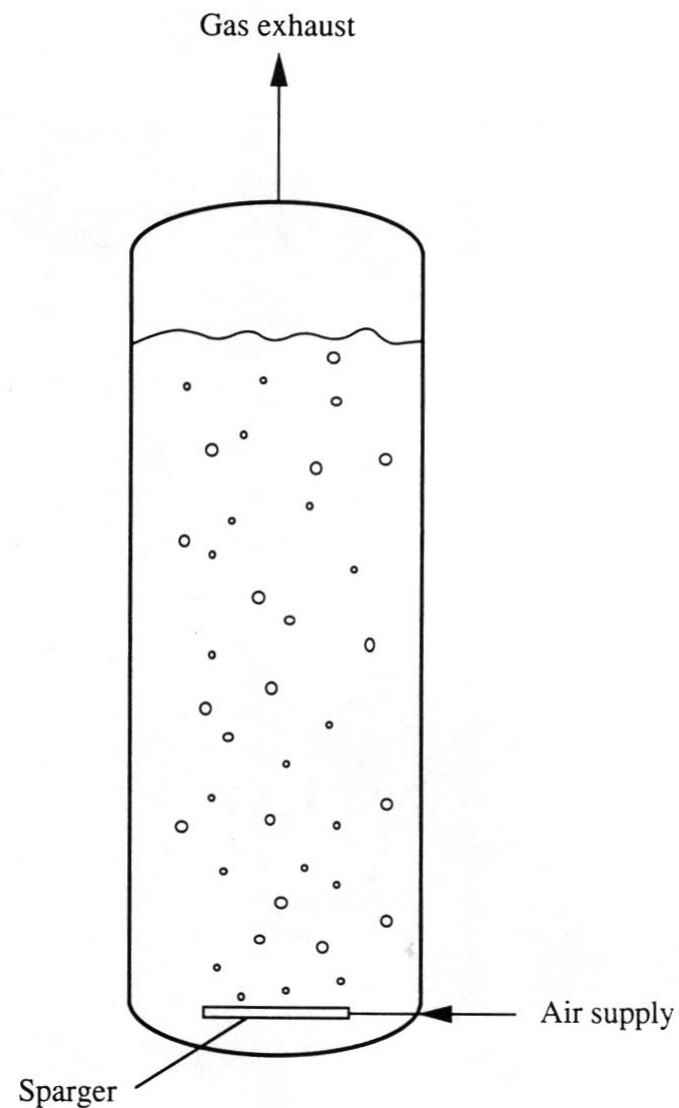
Καλός έλεγχος και ρύθμιση μεταβλητών

Αντιβιοτικά  
Βιοχημικά  
Ένζυμα

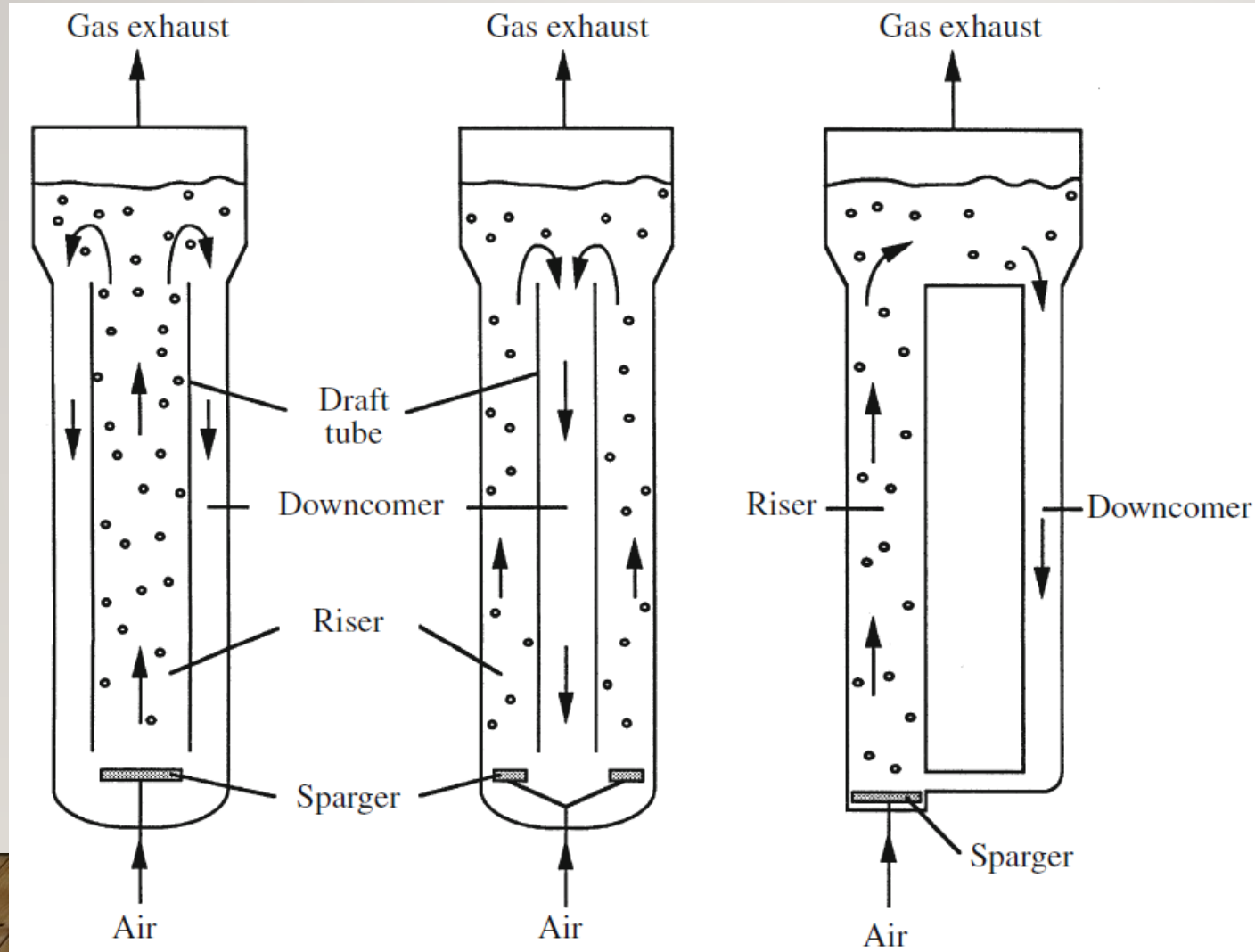
# Βιοαντιδραστήρες στήλης φυσαλίδων

Χαμηλό κόστος κατασκευής και λειτουργίας  
Ικανοποιητική μεταφορά μάζας & θερμότητας

Ζύμη αρτοποιίας  
Κιτρικό οξύ



# Βιοαντιδραστήρες ανοδικού ρεύματος αέρα Airlift bioreactors



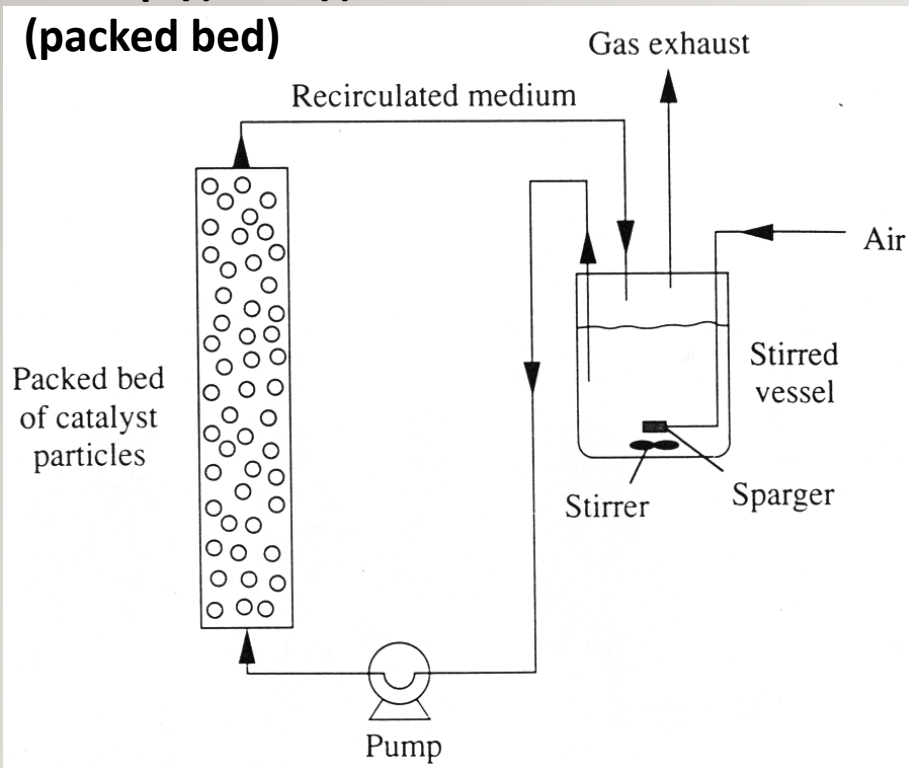
Ικανοποιητική ανάδευση  
Καλή μεταφορά μάζας  
Προστασία ευαίσθητων κυττάρων

Ζωικά κύτταρα  
Επεξεργασία αποβλήτων

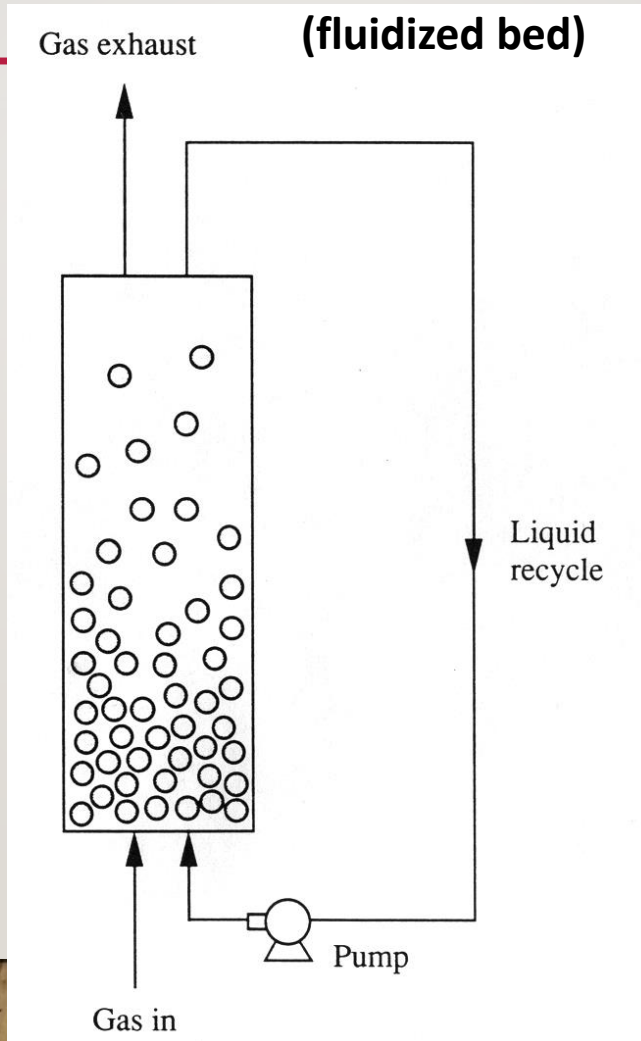


# Bed bioreactors – Βιοαντιδραστήρες κλίνης

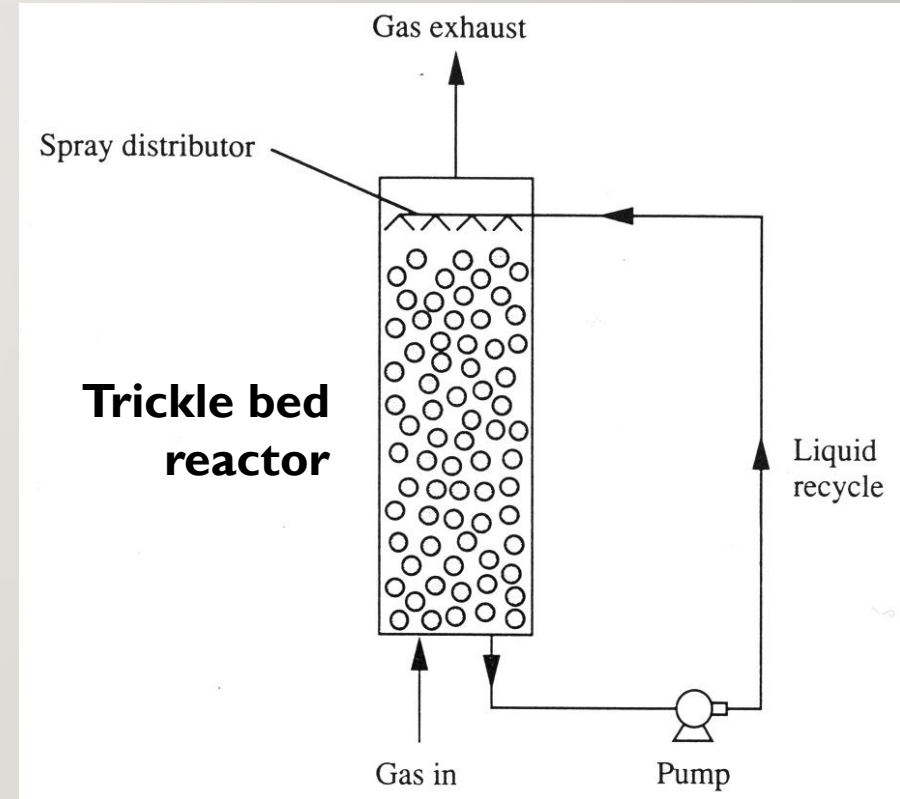
Σταθερής κλίνης  
(packed bed)



Ρευστοποιημένης κλίνης  
(fluidized bed)



Trickle bed  
reactor



# Δομή Μαθήματος

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

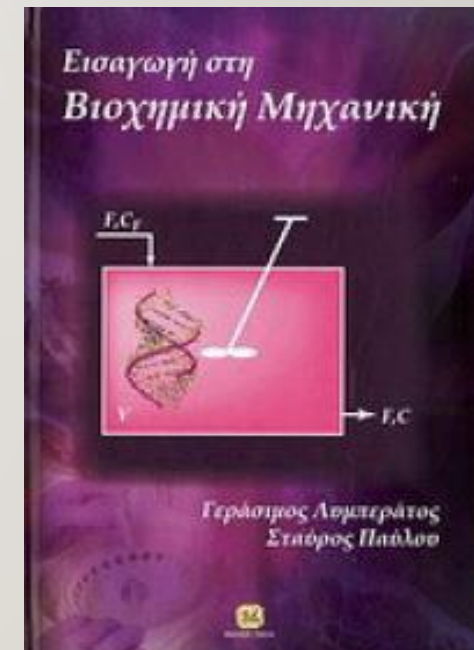
# Βιβλιογραφία

---



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

---

- Αποστείρωση του Θρεπτικού Μέσου
  - Γιατί χρειάζεται
  - Τα στάδια
  - Κινητικές μίας αποστείρωσης
  - Υπολογισμό του χρόνου μίας αποστείρωσης
- Κατανάλωση ισχύς σε διεργασίες ζύμωσης
- Σχηματισμοί Βιοαντιδραστήρων