

# 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

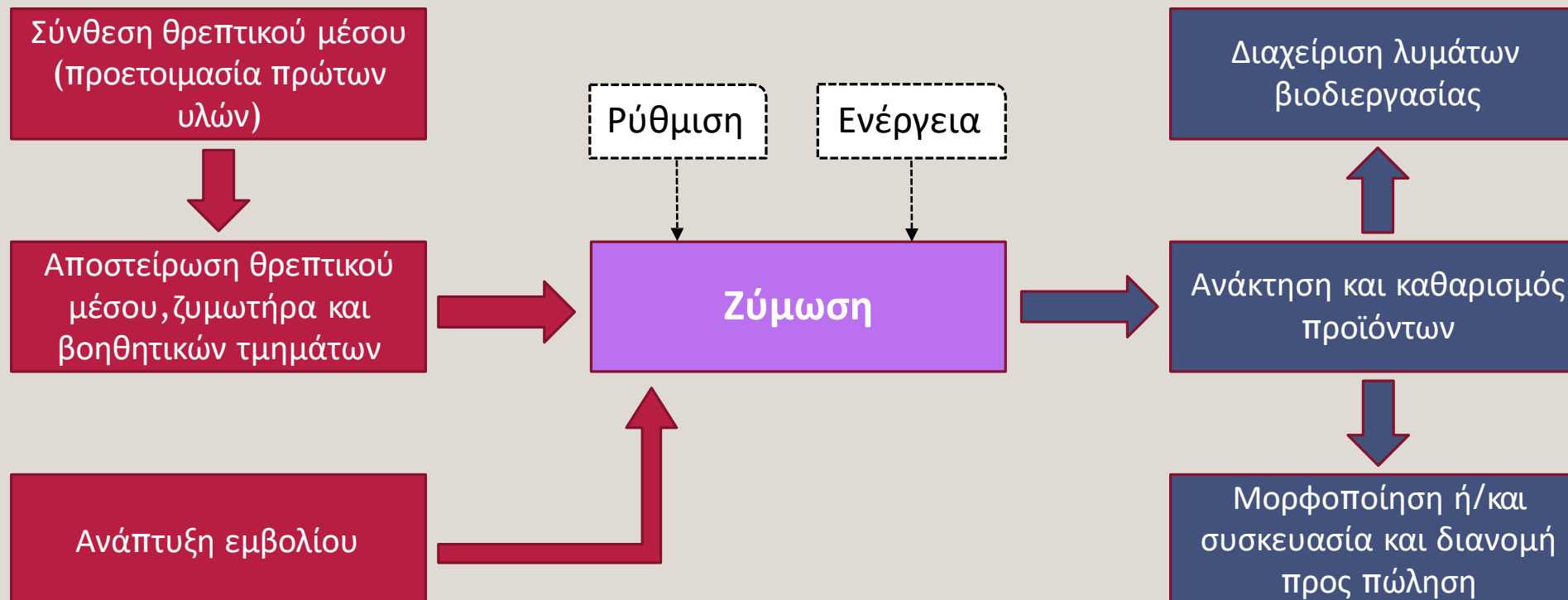
# Βήματα μίας Διεργασίας Ζύμωσης

# Απαραίτητα Βήματα Εφαρμογής μιας Διεργασίας Ζύμωσης

---

- Σύνθεση θρεπτικού μέσου (προετοιμασία πρώτων υλών)
- Αποστείρωση θρεπτικού μέσου, ζυμωτήρα και βοηθητικών τμημάτων
- Ανάπτυξη εμβολίου (Εισαγωγή επιθυμητού/κατάλληλου μικροοργανισμού)
- 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, τη διαμόρφωση & λειτουργία του βιοαντιδραστήρα

- Μικροβιολογία / Βιοχημεία
- Υδροδυναμική
- Μεταφορά θερμότητας και μάζας
- Κινητική αντίδρασης
- Γενετική σταθερότητα
- Ασηπτική λειτουργία
- Έλεγχος ζύμωσης
- 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

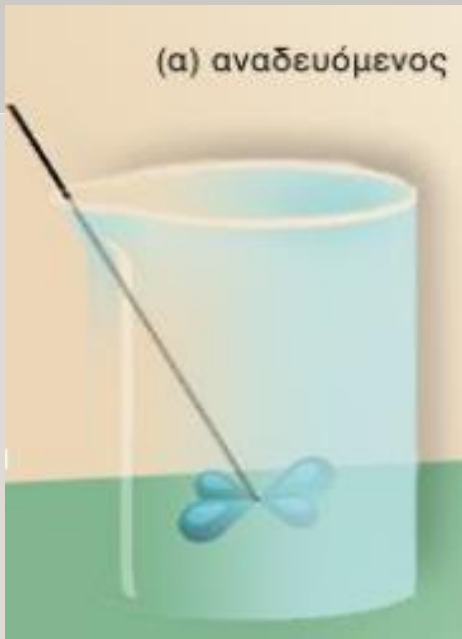


# Διαδικασία Σχεδιασμού

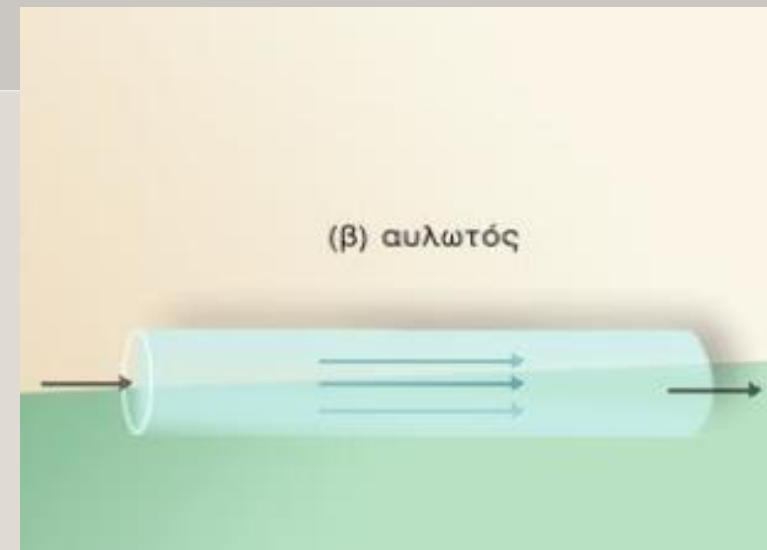
---

- 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 δίνεται με τη 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 τη βιοδιεργασία.

# Τύποι βιοαντιδραστήρων



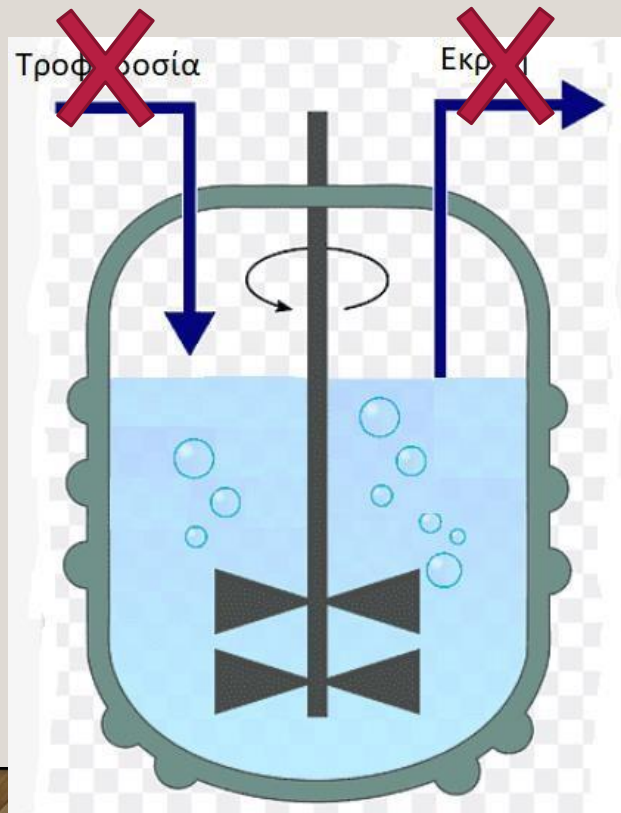
**Ιδανικός:** Αποτελεσματική ανάδευση ώστε το αντιδρών δ/μα να είναι ομοιογενές ως προς τη σύσταση και τη θερμοκρασία



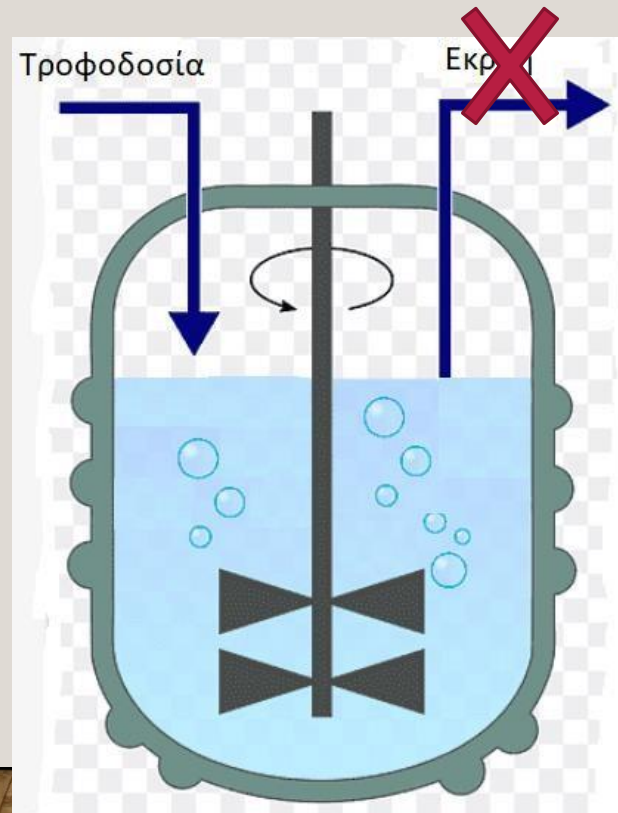
**Ιδανικός:** Το υγρό κινείται σταθερά προς μία κατεύθυνση χωρίς διάχυση κατά μήκος του άξονα

# Τρόποι Λειτουργίας Αναδευόμενων Βιοαντιδραστήρων

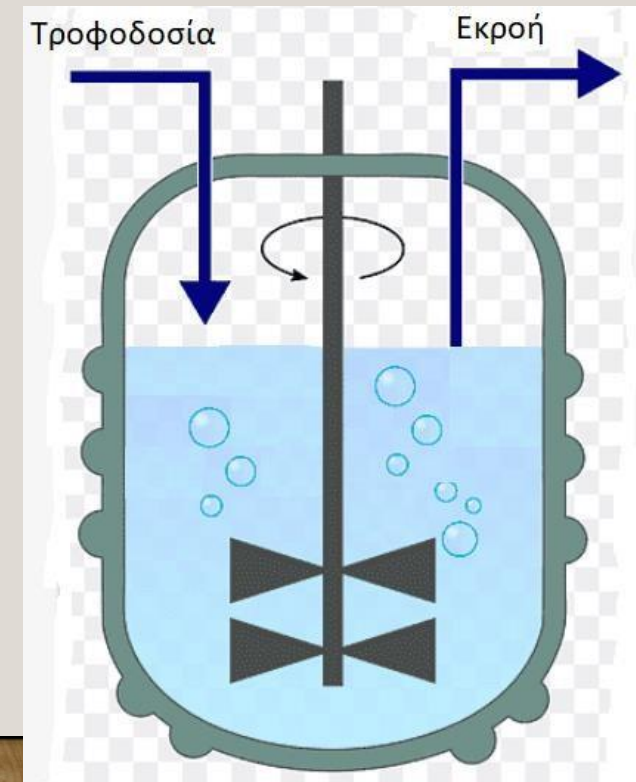
Διαλείποντος Έργου



Ημιδιαλείποντος Έργου



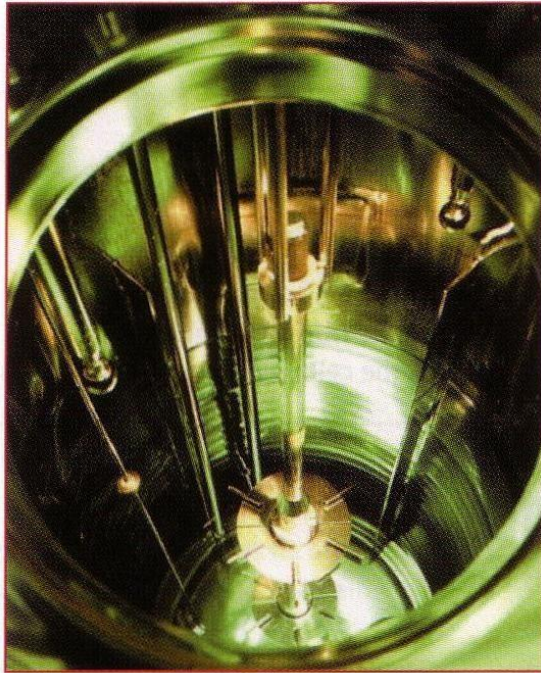
Συνεχούς Λειτουργίας



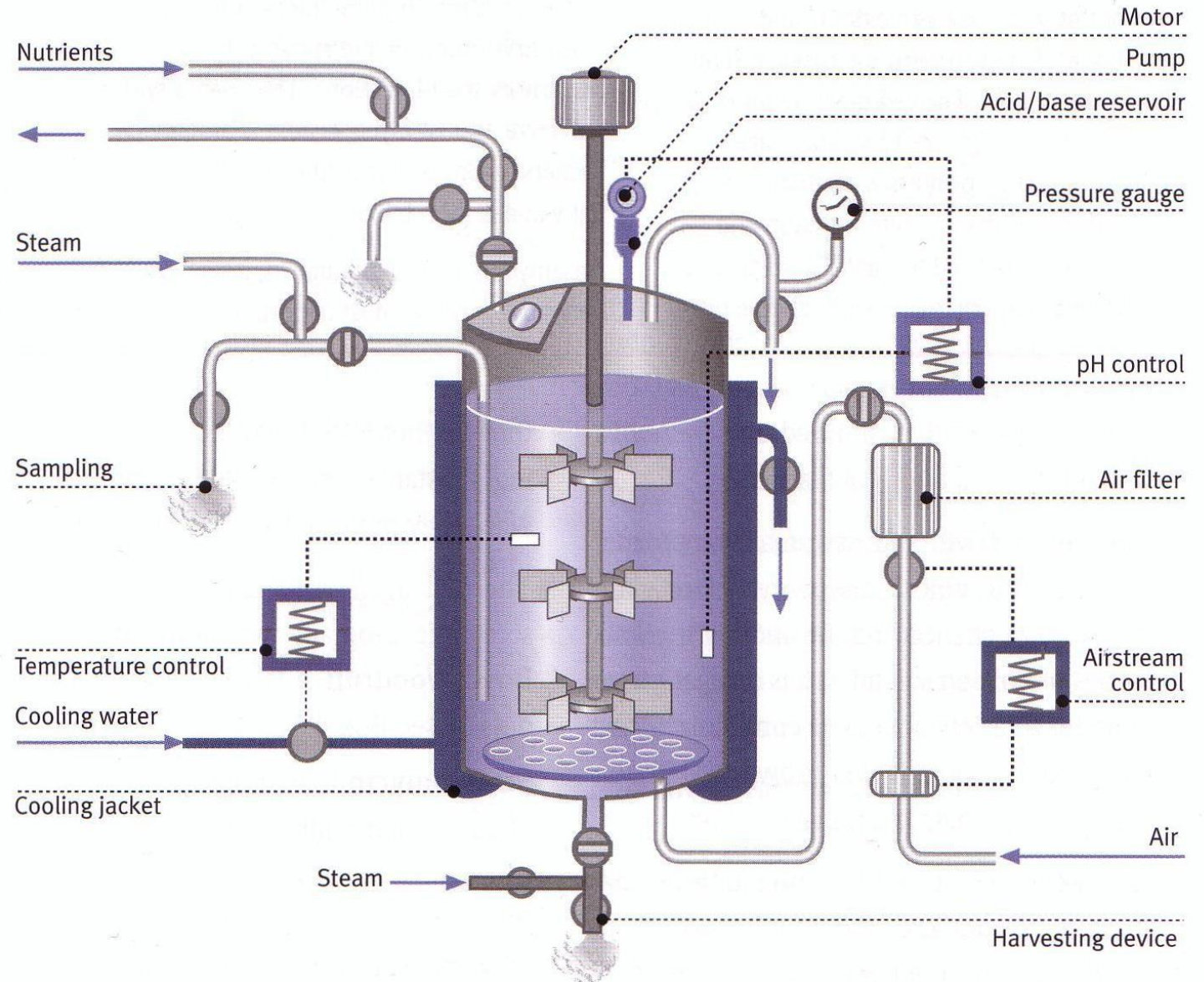
# Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα βιοαντιδραστήρων με διαφορετικό τρόπο ζύμωσης

| 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 διεργασίες πρέπει να προσαρμοστούν στη ροή του βιοαντιδραστήρα</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

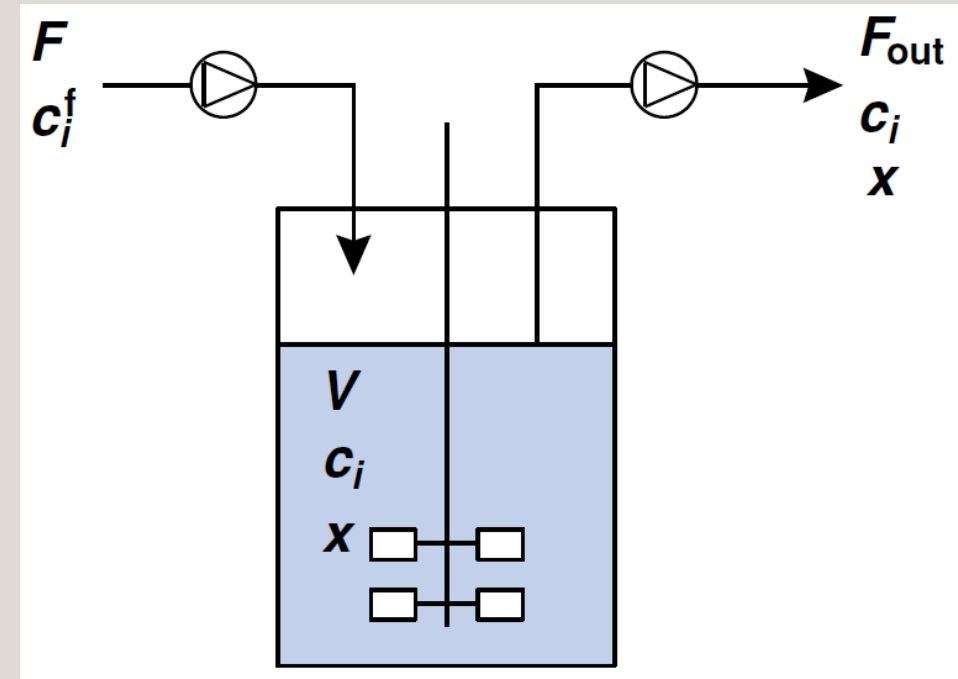
# Ισοζύγια μάζας για Ιδανικούς αντιδραστήρες

---

- 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 διακύμανση της συγκέντρωσης των διαφόρων ουσιών.

# Γενική περιγραφή ενός βιοαντιδραστήρα

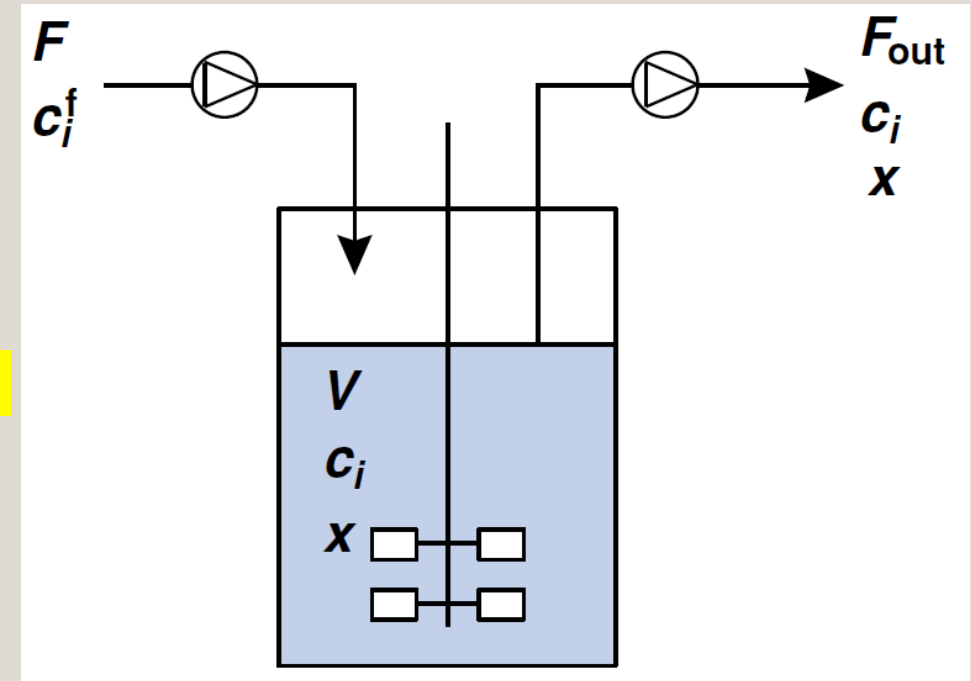
- Προσθήκη φρέσκου, αποστειρωμένου μέσου με ρυθμό ροής  $F$  (L/h)
- Απομάκρυνση του χρησιμοποιημένου μέσου με ρυθμό ροής του  $F_{out}$  (L/h)
- $c_i^f$  είναι η συγκέντρωση της ένωσης  $i$  (συνήθως ένα υπόστρωμα) στην τροφοδοσία
- $c_i$  είναι η συγκέντρωση της ένωσης  $i$  στον βιοαντιδραστήρα.
- 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:

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

- $r_{s,i}$  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 (moles ή g /L),
- $c_{s,i}^f$ , είναι η συγκέντρωση του υποστρώματος  $i$  στην τροφοδοσία (moles ή g /L) και
- $\chi$  είναι η συγκέντρωση βιομάζας στον βιοαντιδραστήρα (g DW / L)
- Ο πρώτος όρος της Εξίσωσης (δεξιά) 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:

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

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

---

# Ισοζύγια Μάζας για Βιοαντιδραστήρες Διαλείποντος Έργου

## Για Βιοδιεργασίες Διαλείποντος Έργου (batch)

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

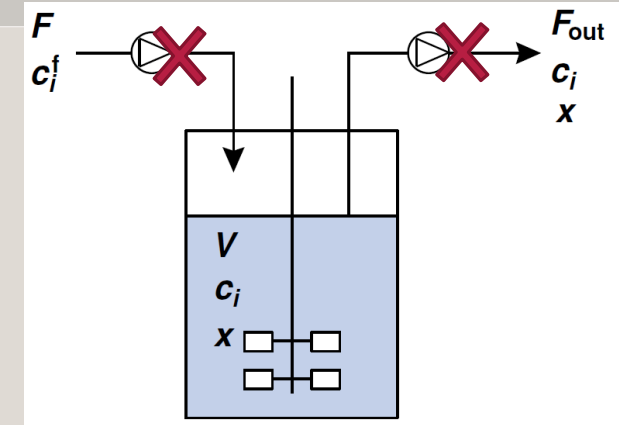
$$\frac{dc_{s,i}}{dt} = -r_{s,i}X + \frac{F}{V}c_{s,i}^f - \left( \frac{F_{out}}{V} + \frac{1}{V} \frac{dV}{dt} \right) c_{s,i}$$

- 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:
- $$\frac{V c_i^f}{t_b} = Z_i \quad \boxed{V = \frac{Z_i t_b}{c_i^f}}$$
- Η σχέση δίνει τον **απαιτούμενο όγκο αντιδραστήρα** διαλείποντος έργου συναρτήσει του χρόνου που απαιτείται για να επιτευχθεί η τελική συγκέντρωση  $c_i^f$ .

---

# 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

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

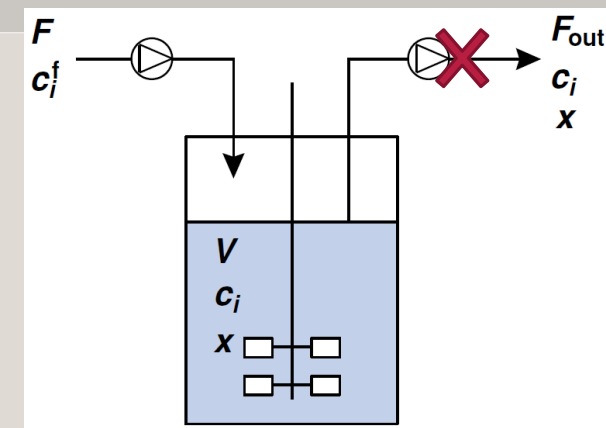
- Και για  $D = F/V$ ,  $F=dV/dt$ ,  $F_{out} = 0$  έχουμε:

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

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

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 ισούται με μηδέν.



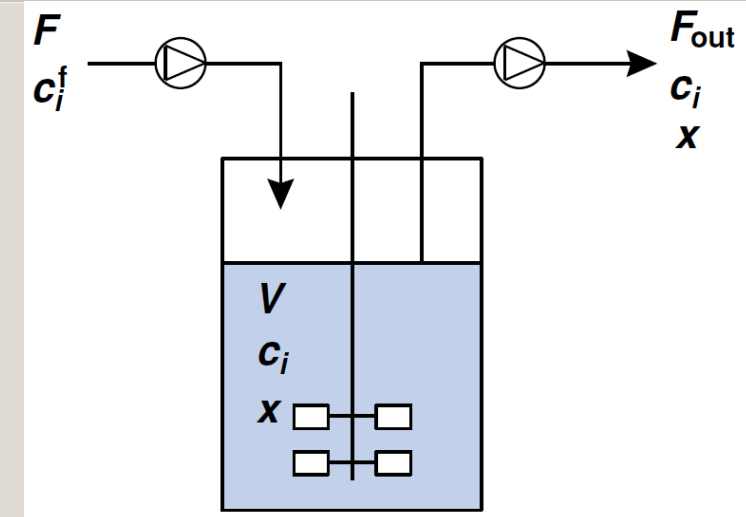
$c_{p,i}^f$

---

# 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).

Ισοζύγια μάζας  
& Στοιχειομετρία

Κινητική Ενζυμικών  
αντιδράσεων

Κινητική ανάπτυξης  
μικροβίων & παραγωγή  
Μεταβολικών προϊόντων

Εισαγωγικό  
Μάθημα



Σχεδιασμός &  
Μηχανική  
Βιοαντιδραστήρων

Ανάντι και κατάντι  
διεργασίες σε  
συστήματα  
βιοδιεργασιών

Κλιμάκωση βιοδιεργασιών,  
μικτές καλλιέργειες,  
αντιδραστήρες ετερογενούς  
ανάπτυξης

Φαινόμενα μεταφοράς  
μάζας και ενέργειας σε  
έναν αντιδραστήρα

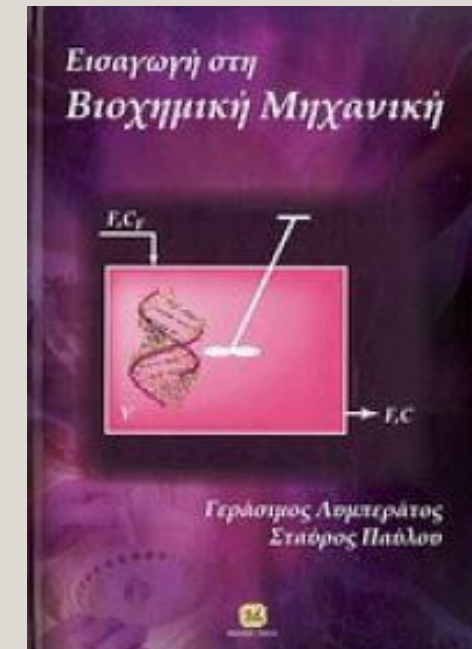
# Βιβλιογραφία

---



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