

# NAČINI VODENJA BIOPROCESOV

Šaržni proces

Šaržni proces z dohranjevanjem

Kontinuirni proces

Kontinuirni proces z reciklom

# Šaržni proces

- Rast celic

$$r_X = \frac{dX}{dt} = \mu X = \frac{\mu_{\max} S}{K_S + S} X$$

- Poraba substrata

$$r_S = \frac{dS}{dt} = -\frac{\mu X}{Y_{X/S}} = -\frac{\mu_{\max} S}{K_S + S} \frac{X}{Y_{X/S}}$$

- Produkt

$$q_p = \frac{1}{X} \frac{dP}{dt} = Y_{P/X} \mu_g = \alpha \mu_g + \beta$$
$$q_p = \frac{1}{X} \frac{dP}{dt} = \alpha \frac{\mu_{\max} S}{K_S + S} + \beta$$

# Nestrukturni, nesegregirani modeli

## ○ Slabosti:

- Ne upoštevajo in ne prepoznavajo poznavanja celičnega metabolizma in regulacije
- Ne vključujejo lag faze
- Ne dajej vpogleda v variable, ki vplivajo na rast
- Predpostavljajo „črno skrinjo“ oz angl. „black box“
- Predpostavljajo, da so za dinamičen odziv celic ključni notranji procesi, ki imajo časovni zamik v redu velikosti odzivnega časa
- Za večino procesov se predpostavlja, da so prehitri (psevdo stacionarno stanje) ali prepočasni, da bi vplivali na opazovan odziv

# Nestrukturni nesegregirani modeli rasti biomase

- Model z inhibitorji rasti
  - Inhibicija s substratom – nekompetitivna

$$\mu_g = \frac{\mu_{\max}}{\left(1 + \frac{K_s}{S}\right) \left(1 + \frac{S}{K_i}\right)}$$

Če je  $K_i \gg K_s$ :

$$\mu_g = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_i}}$$

- Inhibicija s substratom - kompetitivna

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s \left(1 + \frac{S}{K_i}\right) + S}$$

# Modeli z inhibicijo rasti

- Inhibicija s produktom

Nekompetitivna inhibicija s produktom

$$\mu = \frac{\mu_{\max}}{\left(1 + \frac{K_S}{S}\right) \left(1 + \frac{P}{K_P}\right)}$$

Kompetitivna inhibicija s produktom

$$\mu = \frac{\mu_{\max}}{K_S \left(1 + \frac{P}{K_P}\right) + S}$$

# Modeli z inhibicijo rasti

- Inhibicija s strupenimi (toksičnimi) snovmi – kinetika kot pri encimih

Nekompetitivna

$$\mu = \frac{\mu_{\max}}{\left(1 + \frac{K_s}{S}\right) \left(1 + \frac{I}{K_I}\right)}$$

Kompetitivna

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s \left(1 + \frac{I}{K_I}\right) + S}$$

Akompetitivna z upoštevanjem celične smrti

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{\left(\frac{K_s}{(1 + I/K_I)} + S\right) \left(1 + \frac{I}{K_I}\right)}$$

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S} - k'_d$$

# Rast nitastih organizmov

- Model – ni omejitev s prenosom snovi

$$\frac{dR}{dt} = k_p \text{ konst.}$$

R - radij flokule celic, peleta ali kolonije

Hitrost rasti biomase ( $M$ ) lahko zapišemo kot:

ali

$$\frac{dM}{dt} = \gamma M^{2/3}$$



Kjer je:

$$\gamma = k_p (36\pi\rho)^{1/3}$$

$$M = (M_0^{1/3} + \frac{\gamma \cdot t}{3})^3 \approx (\frac{\gamma \cdot t}{3})^3$$

# Filamentozni organizmi

- Po integraciji dobimo:

$$M = \left( M_0^{1/3} + \frac{\mu}{3} t \right)^3 \approx \left( \frac{\mu}{3} t \right)^3$$

- $M_0$  je ponavadi zelo majhen, zato:

$$M \propto t^3$$

- Model potrjujejo eksperimentalni podatki.



# Šaržni proces z dohranjevanjem

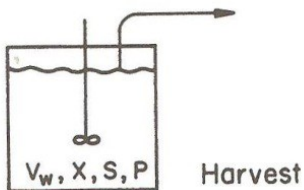
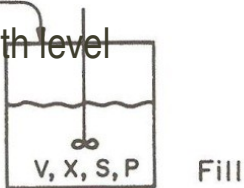
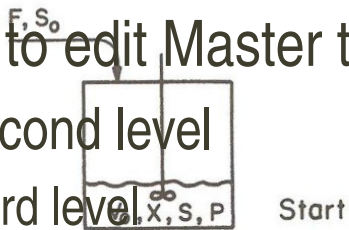
Click to edit Master text styles

Second level

Third level

Fourth level

Fifth level



$$\frac{d(CV)}{dt} = V \frac{dC}{dt} + C \frac{dV}{dt} = V \frac{dC}{dt} + CF_{in}(t)$$

$$\frac{F_{in}(t)}{V} = D$$

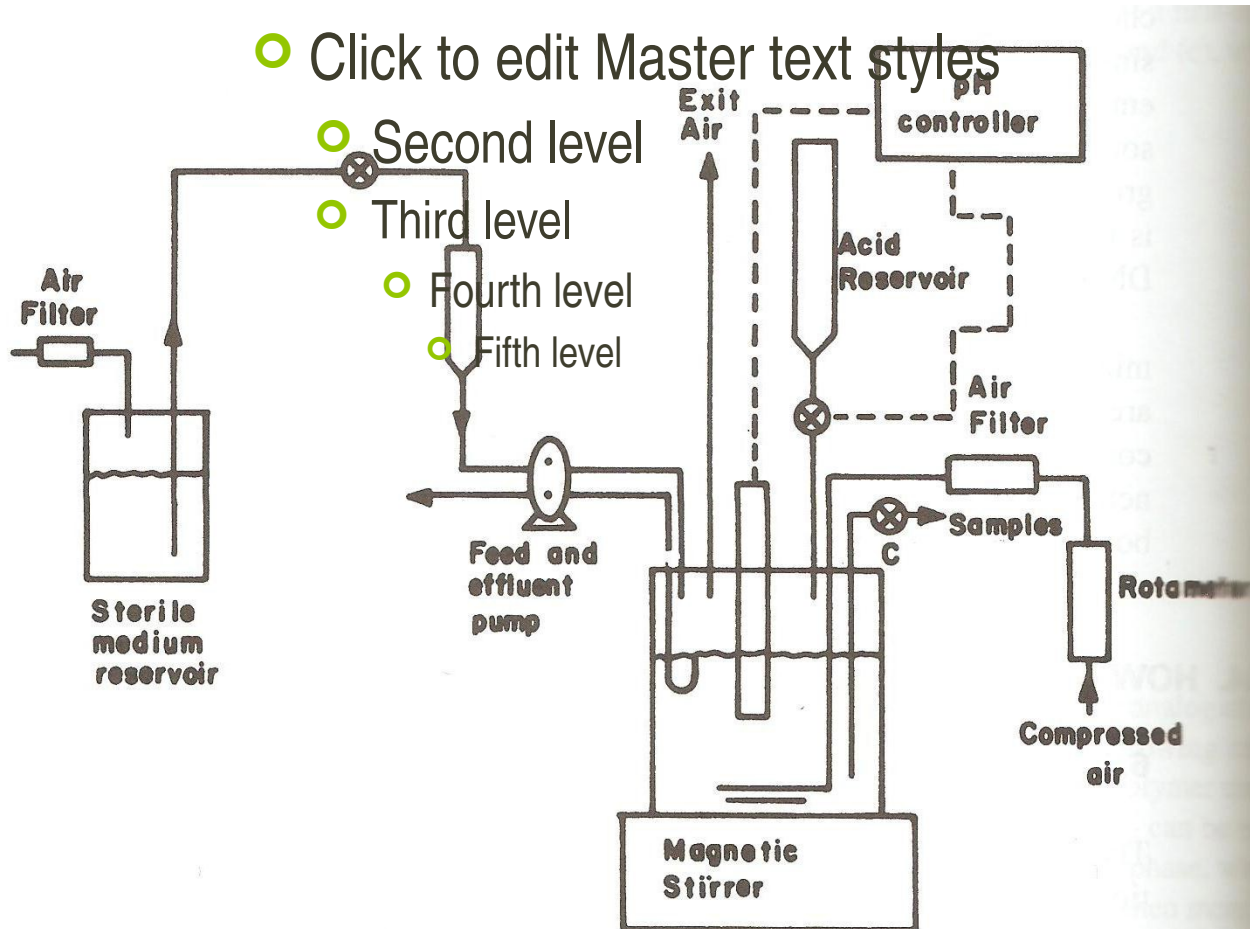
$$\frac{d(XV)}{dt} = \mu X V$$

$$\frac{d(SV)}{dt} = F S V + r_s V$$

$$\frac{d(PV)}{dt} = r_p V$$

# Kontinuirni bioproces

Click to edit Master text styles



# Tipi kontinuirnih obratovanj

Glede na metodo nadzora:

- ● **Kemostat** - reguliran na osnovi nadzora koncentracije limitnega hranila
- ● **Turbidostat** - reguliran na osnovi nadzora biomase z uporabo optične gostote (fotoelektrična celica)
- ● **Biostat** - reguliran na osnovi sistema za nadzor biomase, ki ne temelji na optični gostoti (npr. proizvodnja CO<sub>2</sub>)

# Uporaba kontinuirnih procesov

- **Industrija**
- Biološke čistilne naprave
- Proizvodnja „single-cell“ proteinov
- Kontinuirna proizvodnja piva
- Kontinuirna proizvodnja amino kislin
- Kontinuirna proizvodnja organskih kislin
- Kontinuirna proizvodnja etanola

# Uporaba kontinuirnih procesov

## ○ Raziskave

### ○ Fiziološke in biokemijske študije za nadzor hitrosti rasti

#### ○ Vpliv dejavnikov okolja/ procesnih parametrov na rast in tvorbo produkta

Indukcija, represija, hitrost rasti, vpliv temperature, pH itd.

### ○ Mikrobna ekologija

- Izbor populacij, ki rastejo počasi
- Interakcije žrtev-plenilec
- Kompetitivnost (npr. plasmidi +/-)

### ○ Kinetične študije

Izračun rastnih konstant, podatki o fermentacijah

# Snovne bilance – kontinuirni proces

- za biomaso (X):

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - \frac{FX}{V} = \mu X - D X$$

- za substrat (S):

$$\frac{dS}{dt} = \frac{F S_v}{V} + r_s - \frac{FS}{V} = D(S_v - S) + r_s$$

- za produkt (P):

$$\frac{dP}{dt} = r_p - \frac{FP}{V} = r_p - D P$$

# Kemostat

- Stacionarno stanje

- Biomasa:

$$0 = \mu X - D X$$

$$\mu = D$$

- Substrat:

$$0 = D(S_v - S) + r_s$$

$$X = Y_{x/s} (S_v - S)$$

$$S = \frac{\mu K_s}{\mu_{\max} - \mu}$$

$$S = \frac{DK_s}{\mu_{\max} - D}$$

# Kemostat – tvorba produkta

$$D(P_F - P) + Y_{P/X} \cdot \mu \cdot X = 0$$

Če je PF = 0

$$P = \frac{Y_{P/X} \mu X}{D}$$



# Uporaba kontinuirnih procesov

$$V_R \cdot \frac{dS}{dt} = F \cdot S_F - F \cdot S - V_R \cdot \mu_g \cdot X \cdot \frac{1}{Y_{X/S}^M} - V_R \cdot q_P \cdot X \cdot \frac{1}{Y_{P/S}}$$

$$\frac{\mu_g}{Y_{X/S}^M}$$

...maksimalni izkoristek X/S

Če ni tvorbe produkta + stacionarno stanje:

$$D \cdot (S_F - S) = \mu_g \cdot X \cdot \frac{1}{Y_{X/S}^M}$$

$$D = \mu_g - k_d = \mu$$

$$D \cdot (S_F - S) - (D + k_d) \cdot X \cdot \frac{1}{Y_{X/S}^M} = 0 \quad / : X$$

$$D \left( \frac{S_F - S}{X} \right) - \frac{D}{Y_{X/S}^M} - \frac{k_d}{Y_{X/S}^M} = 0 \quad / : D$$

$$\frac{1}{Y_{X/S}^{AP}} = \frac{1}{Y_{X/S}^M} + \frac{k_d}{Y_{X/S}^M \cdot D} = \frac{1}{Y_{X/S}^M} + \frac{m_S}{D}$$

$$m_S = \frac{k_d}{Y_{X/S}^M}$$

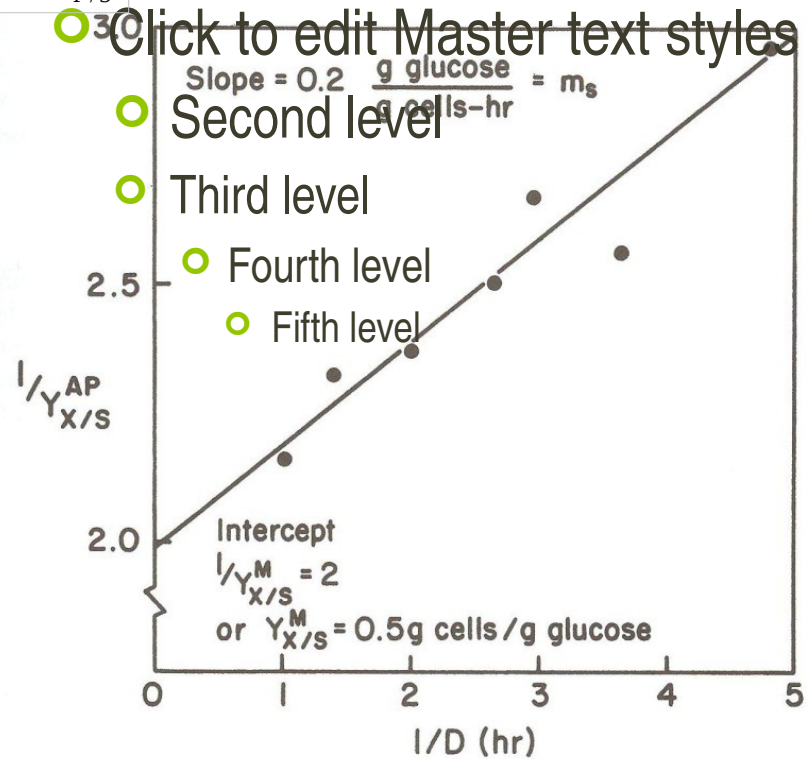
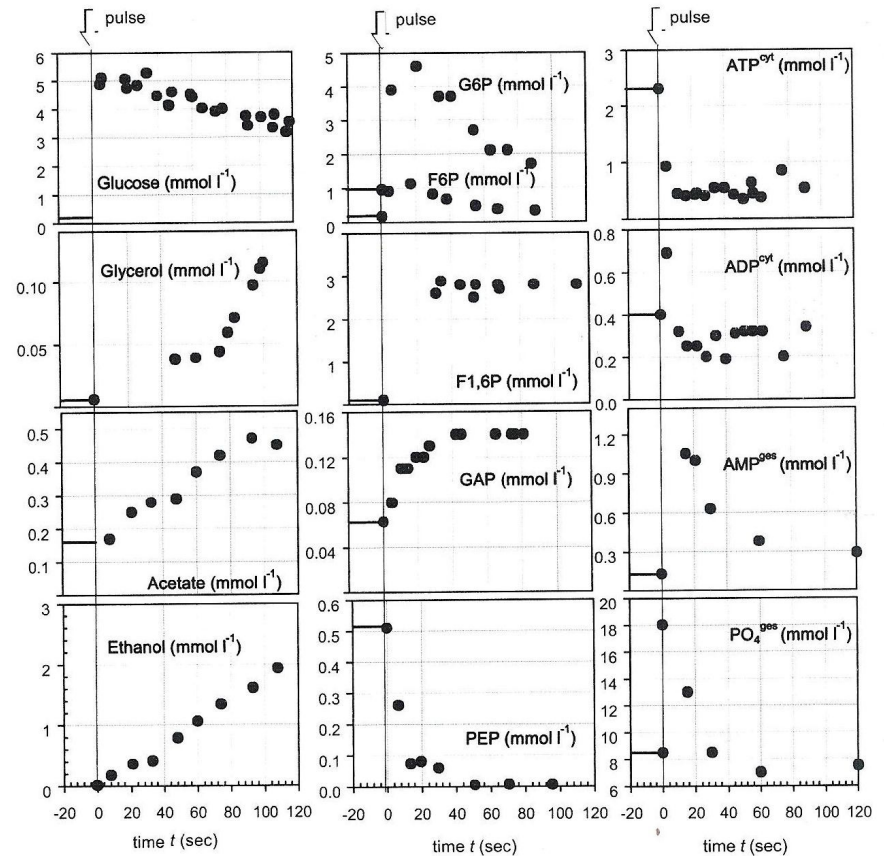
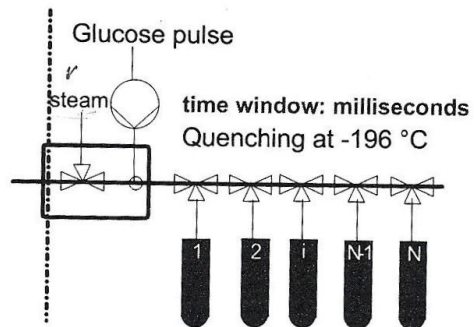
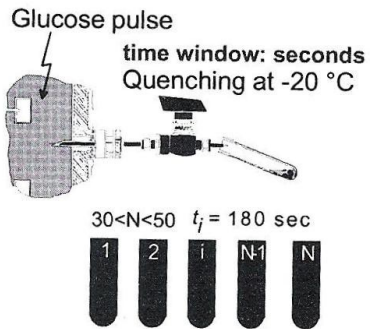


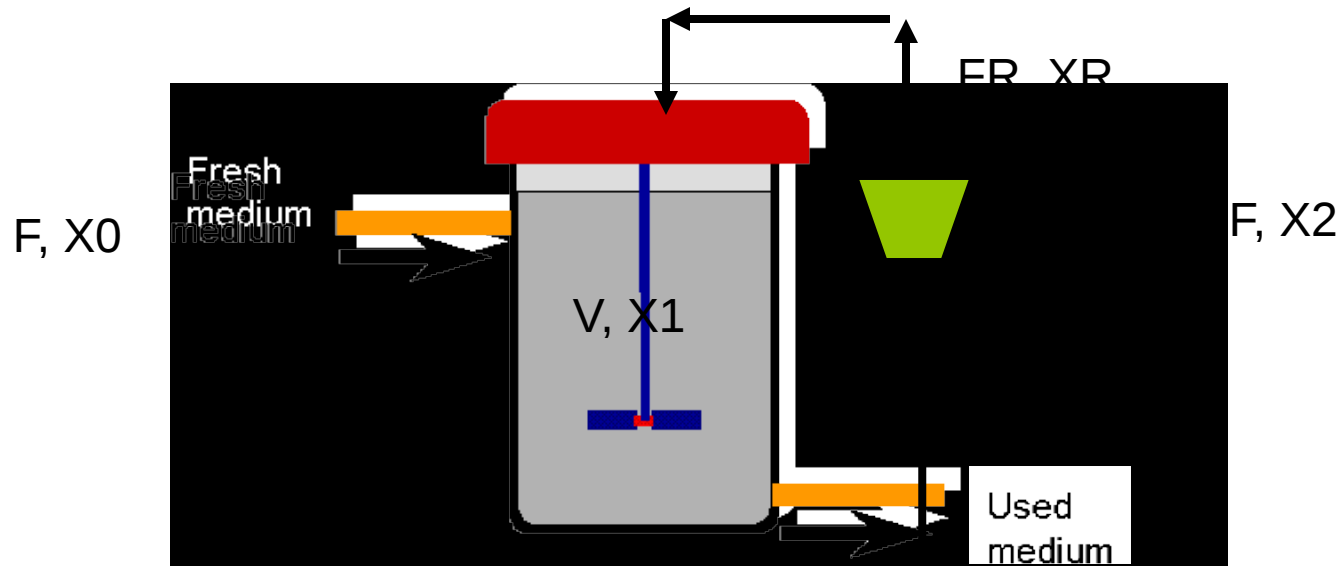
Figure 6.19. Graphical approach to estimating  $Y_{X/S}^M$  and  $m_S$  for chemostat data for *E. coli* growing on glucose as the limiting nutrient.

# Uporaba kontinuirnih procesov



**Figure 4.** Changes in the concentration of extracellular products and substrates (left side), intracellular metabolites (middle) and intracellular co-metabolites (right hand side) a glucose pulse at  $t=0$  sec.

# Kemostat z reciklom celic



F – pretok napajalne raztopine

V – volumen reaktorja

X1 – koncentracija biomase v reaktorju

X2 - koncentracija biomase v iztoku

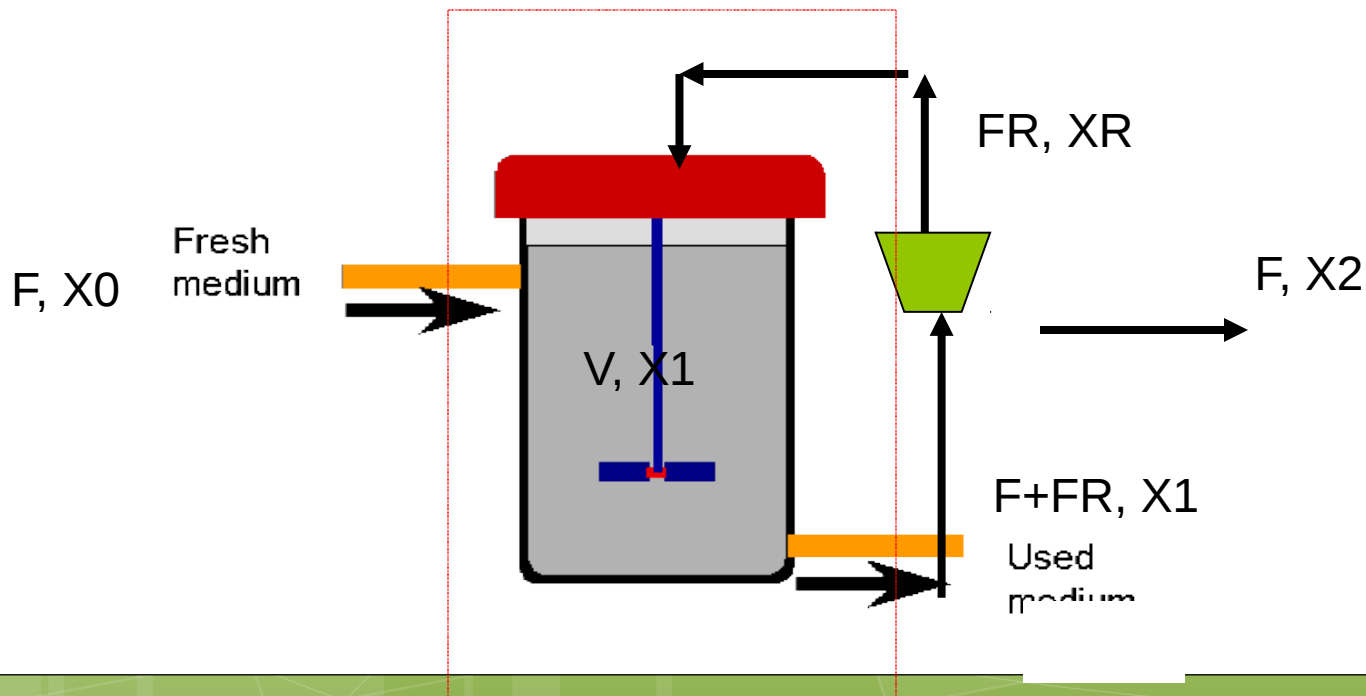
XR - koncentracija biomase v reciklu

FR – pretok recikla

# Kemostat z reciklom celic

Snovna bilanca za biomaso:

$$F X_0 + F_R X_R - (F + F_R) X_1 + V \mu X_1 = \frac{dX}{dt} V$$



# Kemostat z reciklom celic

Definicije

$$\alpha = FR/F$$

$$C = XR / X1$$

Izpeljava

- $F + FR = (1 + \alpha)F$

- $FRXR = \alpha C F X1$

$$FR = F\alpha$$

$$XR = CX1$$

$$FRXR = \alpha C F X1$$

$$F X0 + FR XR - (F + FR) X1 + V\mu X1 = \frac{dX1}{dt} V$$

$$F X0 + \alpha C F X1 - (1 + \alpha)F X1 + V\mu X1 = \frac{dX1}{dt} V$$

# Kemostat z reciklom celic

- Predpostavke

- Stacionarno stanje:

$$= 0 \frac{dX_1}{dt}$$

- Sterilni vtok:  $X_0 = 0$

$$(\alpha C - 1 - \alpha)F + V\mu = 0$$

e je  $D = F/V$ , velja za recikel:

$$\mu = D(1 + \alpha(1 - C))$$

e je  $C > 1$  (konc. celic), potem je  $\alpha(1 - C) < 0$

in je  $\mu < D$

Kemostat z  
reciklom  
lahko  
deluje pri  
 $D > \mu_{\max}$

## Bilanca za substrat- Recikel

$$FS_0 + \alpha FS - V \frac{\mu X_1}{Y_{X/S}} - (1 + \alpha) FS = V \frac{dS}{dt}$$

- V stacionarnem stanju in menjavi D za  $\mu$ :

$$X_1 = \frac{D}{\mu} Y_{X/S} (S_0 - S) = \frac{Y_{X/S} (S_0 - S)}{(1 + \alpha - \alpha C)}$$

# Bilanca za substrat- Recikel

- Upoštevamo kinetiko Monoda

$$S = \frac{K_s D(1 + \alpha - \alpha C)}{\mu_{\max} - D(1 + \alpha - \alpha C)}$$

$$X_1 = \frac{Y_{X/S}}{(1 + \alpha - \alpha C)} \left[ S_0 - \frac{K_s D(1 + \alpha - \alpha C)}{\mu_{\max} - D(1 + \alpha - \alpha C)} \right]$$