



FAKULTETA ZA KEMIJO IN
KEMIJSKO TEHNOLOGIJO



Andreja GORŠEK



BIOREAKCIJSKA TEHNIKA

(Zbrano gradivo)

Maribor, junij 2006

BIOREAKCIJSKA TEHNIKA

BIOREACTION ENGINEERING



KAZALO

1.	UVOD	4
2.	OSNOVNI POJMI BIOKEMIJE	7
3.	BIOREAKCIJSKA KINETIKA	52
	3.1 Encimska kinetika	87
	3.2 Mikrobiološka kinetika	101
4.	VRSTE BIOREAKTORJEV	118
5.	TEHNOLOŠKE ZAHTEVE PRI NAČRTOVANJU REAKTORJEV	141
	5.1 Mešanje	141
	5.2 Prenos snovi	158
	5.3 Prenos toplote	184
6.	MODELIRANJE BIOREAKTORJEV	200
	6.1 Encimska fermentacija	220
	6.2 Mikrobiološka fermentacija (kinetika)	254
	6.3 Pomanjkanje substrata	265
	6.4 Inhibicija s produktom	291
	6.5 Primeri	306
7.	AEROBNO IN ANAEROBNO ČIŠČENJE ODPADNIH VOD	321



BIOREAKCIJSKA TEHNIKA BIOREACTION ENGINEERING

Andreja Goršek

Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo

Univerza v Mariboru

Smetanova 17

2000 Maribor

E-mail: andreja.gorsek@uni-mb.si



MARIBOR, junij 2006

Literatura:



1. W. Blanch, D.S. Clark, *Biochemical Engineering*, Marcel Dekker, New York, 1996.
2. J.E. Bailey, D.F. Ollis, *Biochemical Engineering Fundamentals*, McGraw-Hill, 1986.
3. K.van't Riet, J. Tramper, *Basic Bioreactor Design*, M. Dekker, New York, 1991.
4. P.M. Doran, *Bioprocess Engineering Principles*, Elsevier Ltd., 2004.
5. O. Levenspiel, *Chemical Reaction Engineering*, John Wiley & Sons, 1999.
6. M.L. Shuler, F. Kargi; *Bioprocess Engineering, Basic Concepts*, Prentice Hall PTR, 2002.
7. R. Boyer, *Temelji biokemije*, Študentska založba, 2005 (prevod).

Vsebina predavanj



1. *Uvod*
2. *Osnovni pojmi biokemije*
3. **Bioreakcijska kinetika**
 - 3.1. Encimska kinetika
 - 3.2. Mikrobiološka kinetika
4. **Bioreaktorji-vrste**
5. **Tehnološke zahteve pri načrtovanju bioreaktorjev**
 - 5.1. Mešanje
 - 5.2. Prenos snovi
 - 5.3. Prenos toplote
6. **Modeliranje bioreaktorjev-splošno**
 - 6.1. Encimska fermentacija
 - 6.2. Mikrobiološka fermentacija
 - 6.3. Pomanjkanje substrata
 - 6.4. Inhibicija s produktom
 - 6.5. Primeri
7. **Aerobno in anaerobno čiščenje odpadnih vod**

1. Uvod

Biotehnologija

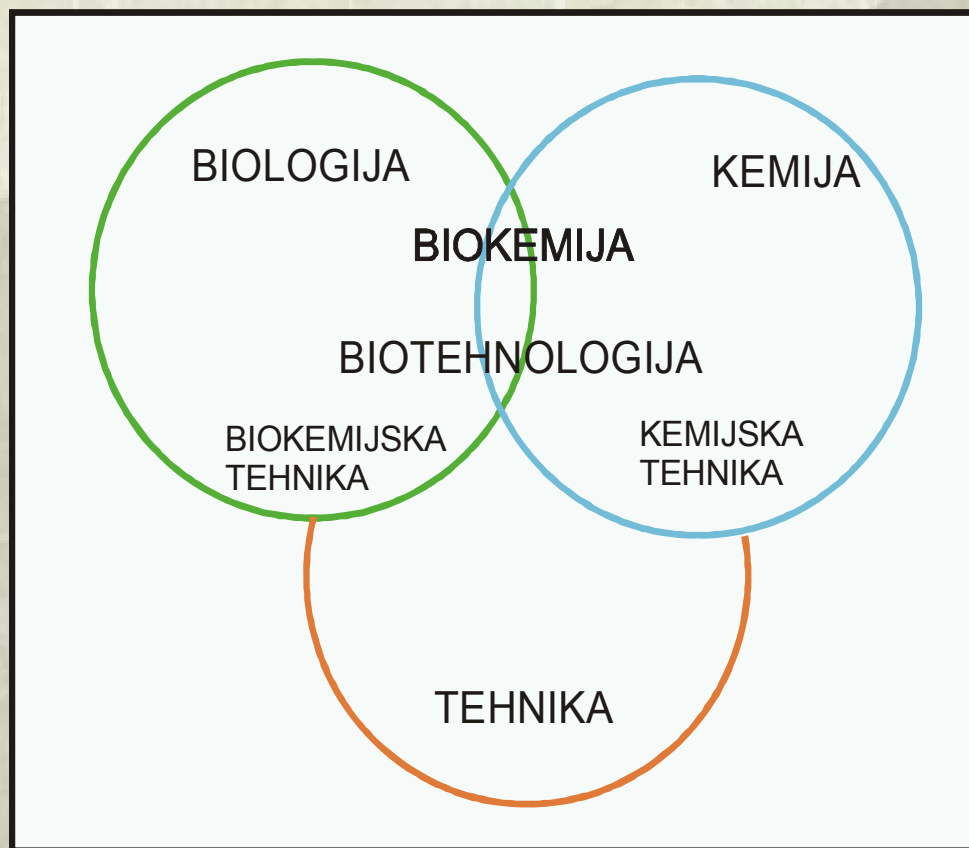
Evropska zveza za biotehnologijo (1981):


Biotehnologija je uporaba bioloških materialov (mikroorganizmov, živalskih in rastlinskih celic ter njihovih delov) v bioindustriji (prehrambeni, farmacevtski, kemijski in kmetijski) in za zaščito okolja, pri čemer je potrebna hkratna uporaba naravoslovnih (biologija in kemija) in tehničnih (kemijska tehnika, elektrotehnika in strojništvo) znanosti.

Biotehnologija ni znanost, temveč multidisciplinarno področje dela.



Bioreakcijska tehnika





From its very beginning some 50 years ago, modern biotechnology was an interdisciplinary endeavour requiring knowledge, methods and expertise from fields such as biochemistry, genetics, chemistry, computer science and chemical engineering. With the advent of recombinant DNA technology exciting new tools and opportunities became available. The biochemical engineering community has responded well to this revolution. A new breed of biochemical engineering working with colleagues from other disciplines has successfully implemented many new discoveries into manufacturing processes.

VIR:

W.S. Hu, J.R. Swartz, Biochemical Engineering Fundamentals: The Foundation of Our Profession. Editorial, Biotechnol.Prog., 14 (1998).



2. Osnovni pojmi biokemije

ŽIVE CELICE

Kje se nahajajo? ↓

Skoraj povsod, tudi v ekstremnih okoliščinah

Kako jih delimo? ↙ ↘

Prokariontske celice

Eukariontske celice

↓
Virusi



ŽIVE CELICE

Kako so sestavljene?

BIOPOLIMERI: proteini, nukleinske kisline, polisaharidi, lipidi, maščobe...

METABOLITI V OBLIKI ANORG. SNOVI: K^+ , Ca^+ , Na^+ , SO_4^{2-} , NH_4^+ , PO_4^{2-}

METABOLIČNI INTERMEDIATI (acetati, piruvati) in VITAMINI

ŽIVE CELICE

Kako delujejo?



Celične makromolekule delujejo le ob primerni 3D konfiguraciji. Vsaka makromolekula je del celične organele (jedra, ribosoma, plazme...) in deluje le v specifičnem mikrookolju. Vse celične reakcije so zelo kompleksne in usmerjeno delujoče. Kljub tej kompleksnosti lahko razumevanje bioloških sistemov poenostavimo z analiziranjem sistema na več nivojih:

- **MOLEKULARNEM** (molekularna biologija, biokemija)
- **CELIČNEM** (celična biologija, mikrobiologija)
- **POPULACIJSKEM** (mikrobiologija, ekologija)
- **PROIZVODNEM** (bioprocena tehnika)

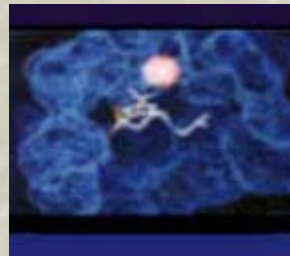


Značilnosti bioloških snovi:

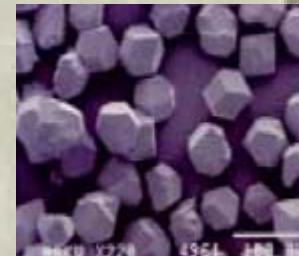
- zelo občutljive
- fizikalni pogoji: pH okoli 7
temperatura, $T = 20-50\text{ }^{\circ}\text{C}$
normalni tlak
razredčene, največkrat vodne raztopine



Esherichia coli



Protein



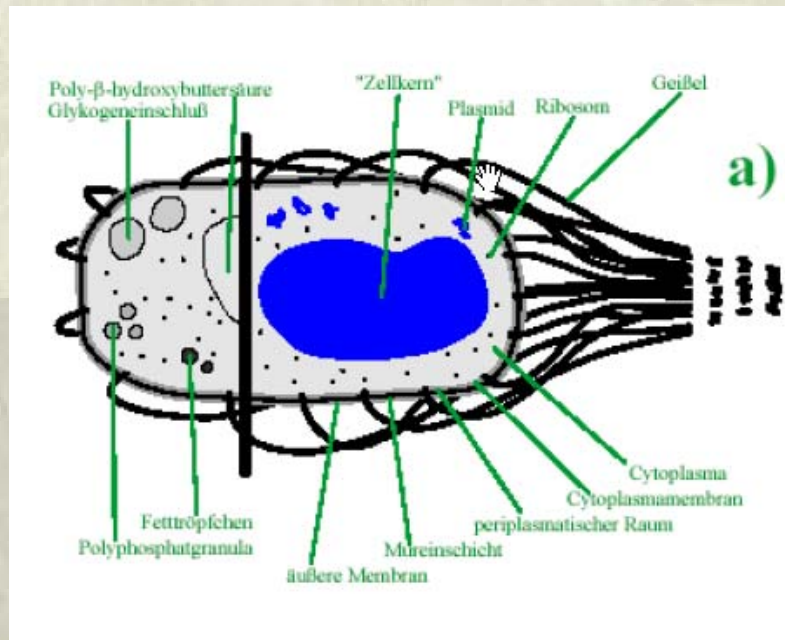
Biokatalizator-
glukoza izomeraza

Primer: Bakterija *Acetogenium kivui* (5000 X povečava)



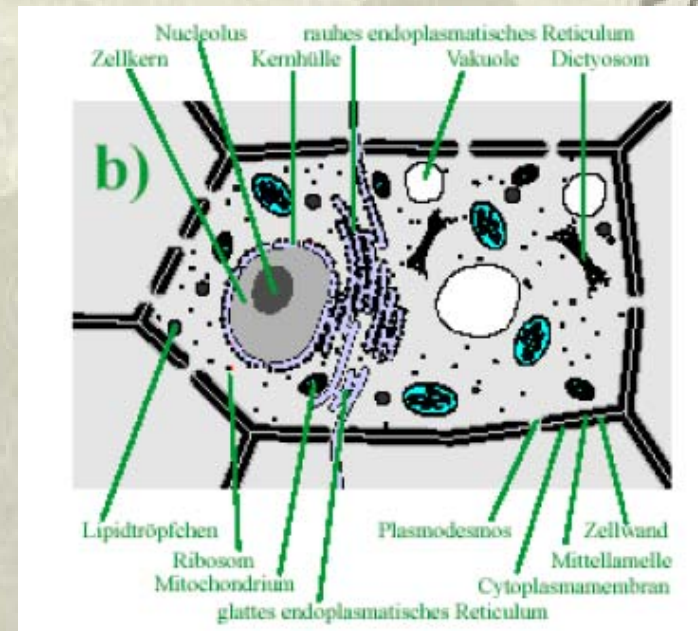


Bioproces



a) Prokariontska celica

bakterijska celica, enostavna (nima oblikovanega jedra, majhna (0,5-3 μ m))

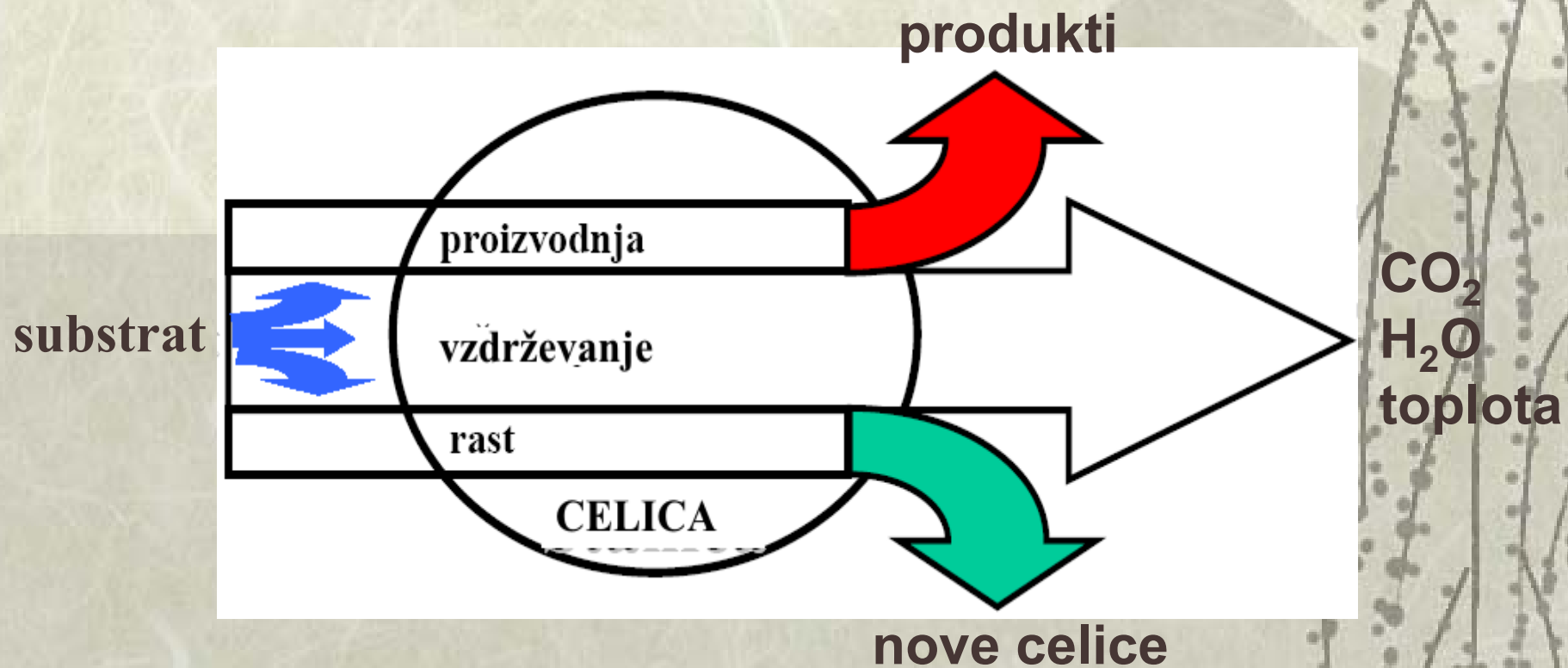


b) Eukariontska celica

celice gljiv, rastlinske in živalske celice, kompleksna sestava, 5-10 X večje.

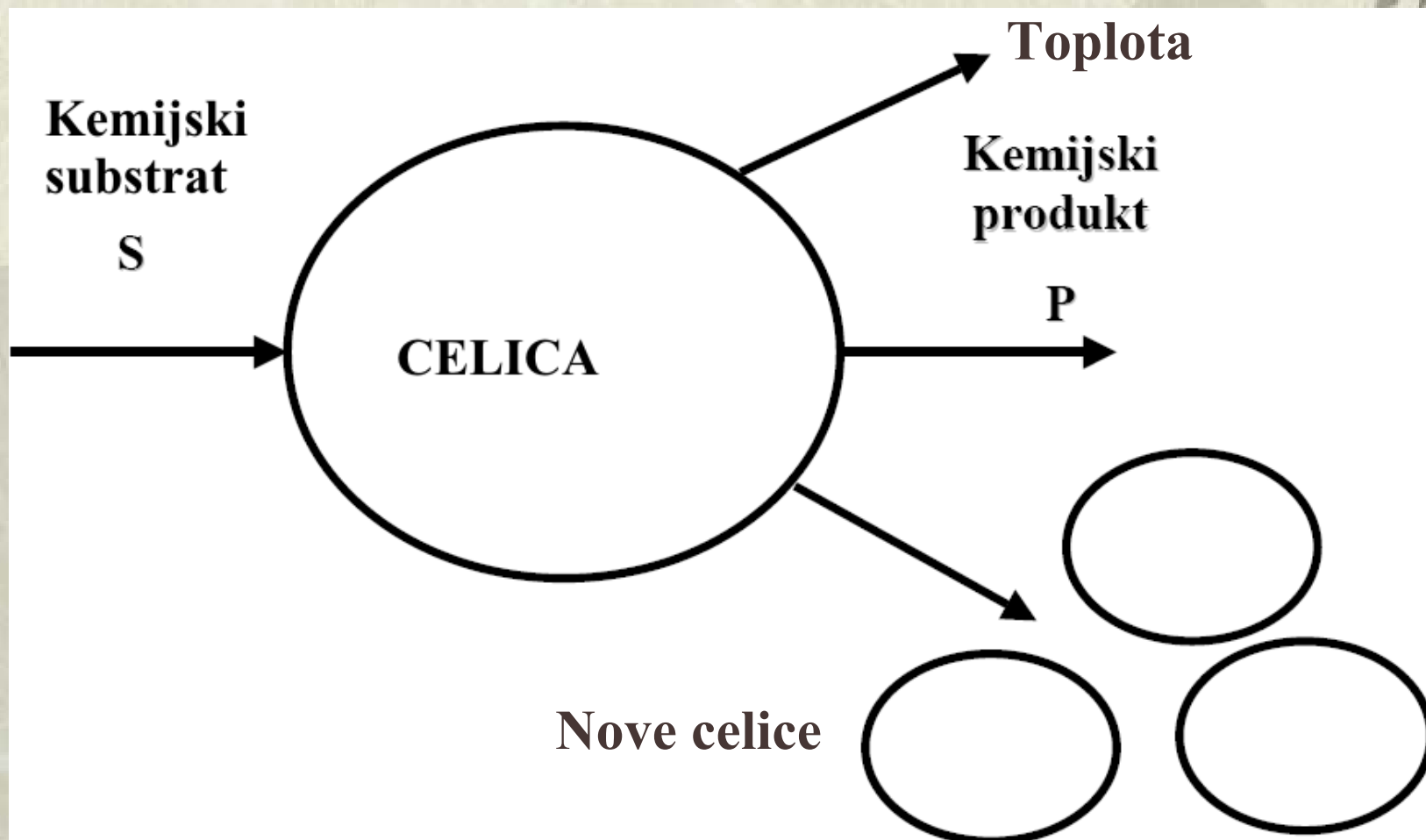


Pretok substrata skozi celico



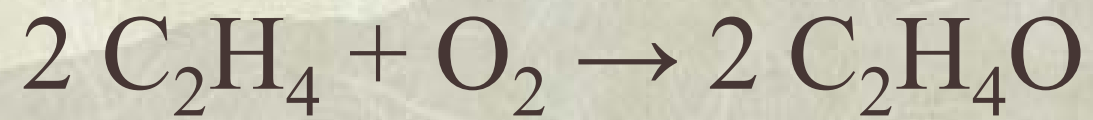


Bioproces





KEMIJSKA REAKCIJA

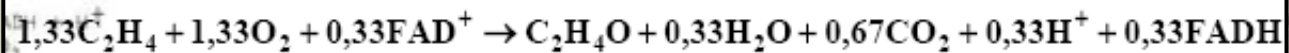
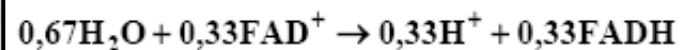
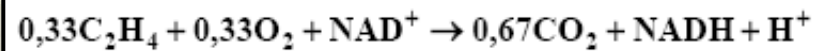
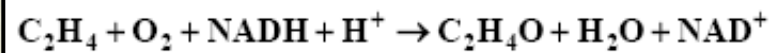


$$Y_{P/S} = 1 \text{ mol mol}^{-1} = 1,57 \text{ kg kg}^{-1}$$

BIOPROCES



eten

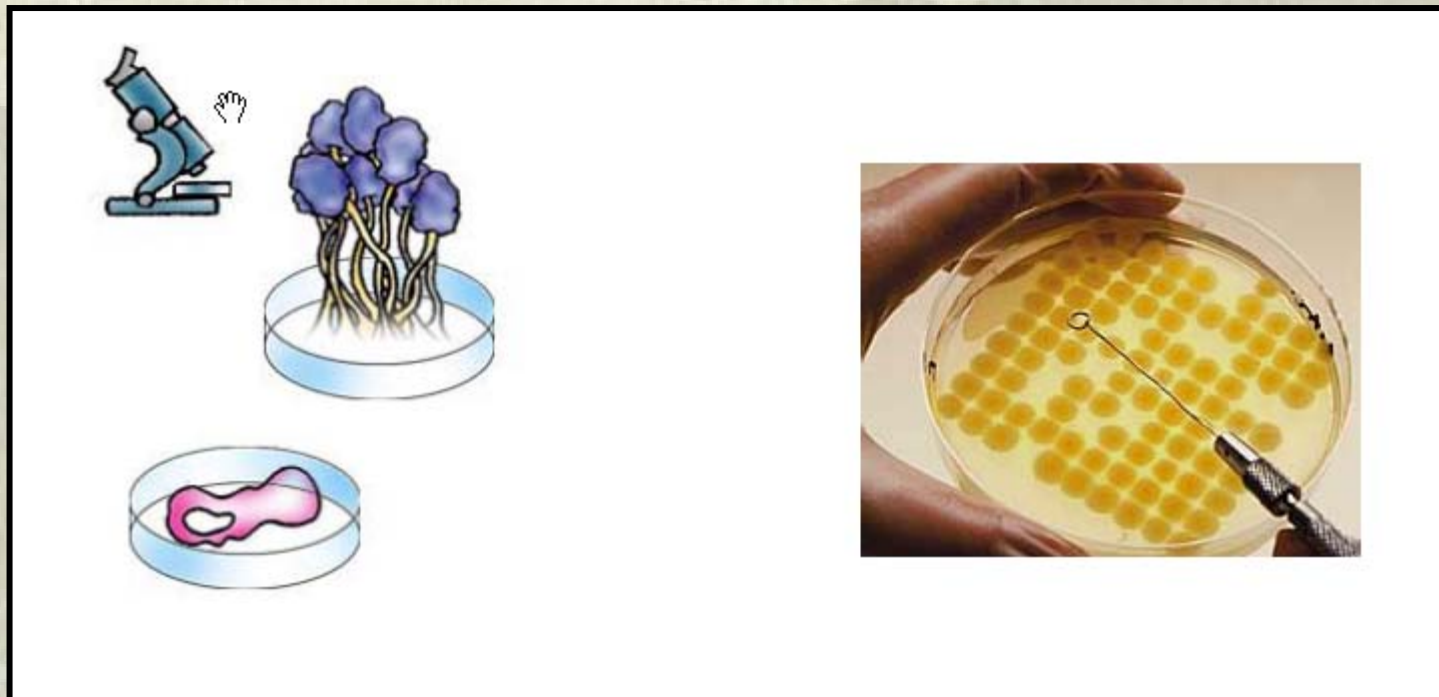


epoksid

$$Y_{P/S} = 0,75 \text{ mol mol}^{-1} = 1,18 \text{ kg kg}^{-1}$$



Bioproces je vsak proces, pri katerem biološki material nastaja oziroma se ta material uporabi za nastanek neke druge snovi.

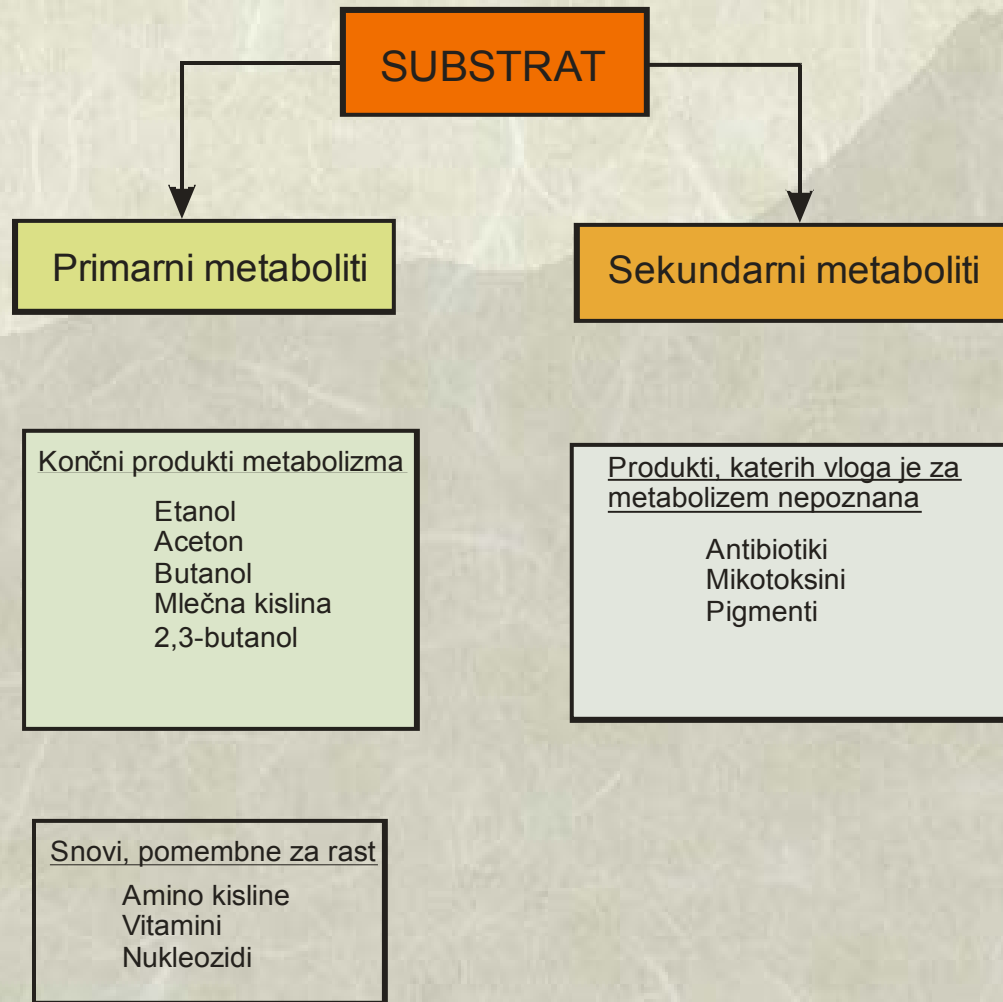




Celični metabolizem:

je vrsta reakcij v celici, pri katerih celica porablja hrano (substrat) za reprodukcijo (rast in razmnoževanje), pri čemer prihaja do nastanka določenih produktov (primarni in sekundarni metaboliti)

Celični metabolizem





Biotransformacije-Biokatalitični procesi

Substrat (R) $\xrightarrow{\text{prečiščeni encim}}$ Produkt (P)

Substrat (R) $\xrightarrow{\text{encim v celici}}$ Produkt (P)



Fermentacije-Mikrobiološki procesi-Biosinteze

Substrat (R) $\xrightarrow{\text{biomasa}}$ Biomasa + Produkt (P)

Substrat (R) $\xrightarrow{\text{biomasa}}$ Biomasa + Produkti razgradnje
(CO₂, H₂O, CH₄)

Pomembne gonilne sile kemijske biotehnologije





Posebne značilnosti bioprocessov

REAKCIJSKA ZMES

- reologija
- fenomen rasti biološkega materiala
- majhna mehanska stabilnost
- temperaturna občutljivost

POGOJI DELA

- sterilnost
- dovod kisika

MERJENJE IN REGULACIJA

- posebni senzorji

OBDELAVA BIOPRODUKTA

- ločevanje biomase
- odpiranje celice



Posebnosti bioloških sestavin so privedle do velikih razlik med kemijsko in biokemijsko tehniko.

Razlike med kemijsko in biokemijsko tehniko



KEMIJSKA TEHNIKA

Prenos snovi in toplote

Kemijska reakcijska kinetika

Mehanični in toplotni separacijski procesi

Teorija modelov-teorija podobnosti

BIOKEMIJSKA TEHNIKA

Sterilizacija

Biokemijska reakcijska kinetika

Posebni separacijski procesi (membranski procesi, ekstrakcija v dveh vodnih fazah, afinitetna kromatografija)

Imobilizacija bioloških snovi

Specialni senzorji



Biokemijska tehnika je uporaba tehnoloških principov pri bioloških in kemijskih procesih in v tem kontekstu jo lahko podobno kot biokemijo ali mikrobiologijo smatramo za posebno znanstveno disciplino.



Področja biokemijske tehnike

Priprava substrata
(UPSTREAM PROCESSING)

Biopresnova
(BIOREAKCIJSKA TEHNIKA)

Obdelava produkta
(DOWNSTREAM PROCESSING)



Priprava substrata

OPTIMIRANJE SESTAVE MEDIJA

(energetski izvori, izvor ogljika, anorganski dušik, soli, amino kisline, vitamini...)

STERILIZACIJA MEDIJA

(kontinuirna sterilizacija)

Bioreakcijska tehnika



BIOREAKCIJSKA KINETIKA

Hitrost reakcije

Vpliv substrata in produkta

Reakcijska termodinamika

Biokataliza

BIOREAKTORJI

Razvoj bioreaktorjev

Sterilnost

Način izvajanja reakcije

Prenos snovi (kisik) in toplote

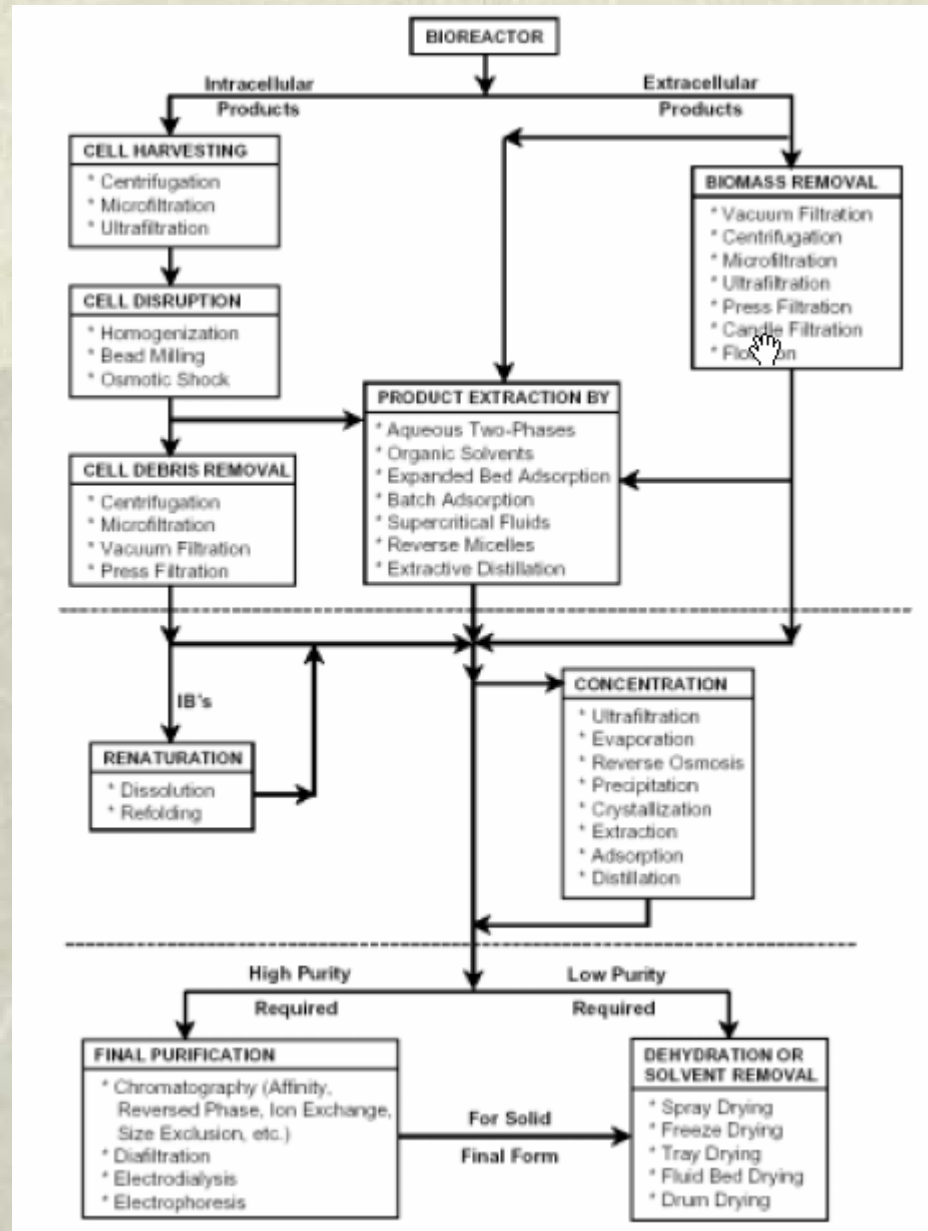
Reologija in mehanska odpornost

MERJENJE, REGULACIJA IN VODENJE

Razvoj senzorjev

Matematično modeliranje

Obdelava produkta - podrobno





Kemijska reakcijska tehnika

je znanstvena disciplina, ki preučuje kemijske procese v kemijskih reaktorjih s ciljem industrijske proizvodnje proizvodov, ki so nastali izključno na osnovi kemijskih (kataliziranih) reakcij.



Bioreakcijska tehnika

je znanstvena disciplina, ki preučuje bioprocese v bioreaktorjih s ciljem industrijske proizvodnje proizvodov, ki so bioproducti in se deli na:

ENCIMSKO REAKCIJSKO TEHNIKO

Znanstvena disciplina, ki preučuje biokemijske procese v encimskih reaktorjih s ciljem industrijske proizvodnje proizvodov, ki so produkti biokataliziranih reakcij.

MIKROBIOLOŠKO REAKCIJSKO TEHNIKO

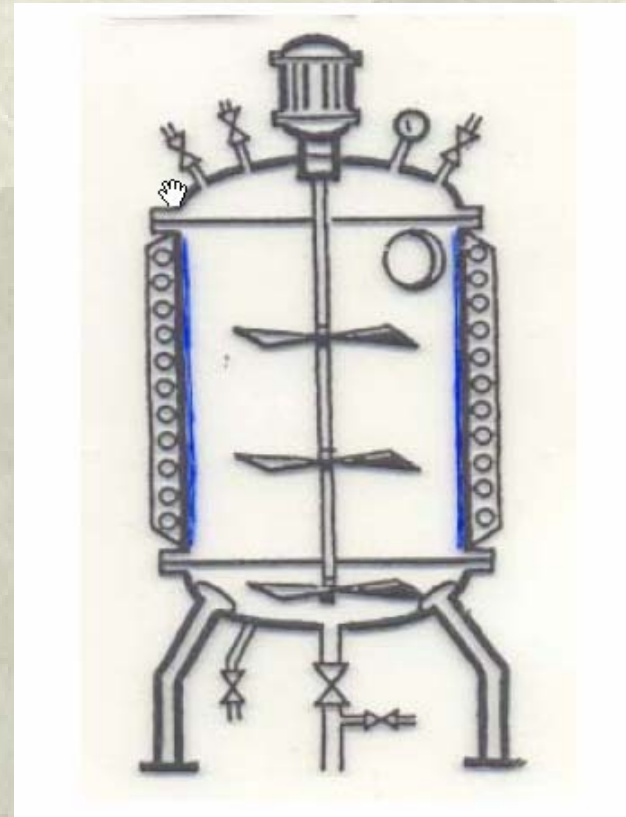
Znanstvena disciplina, ki preučuje biološke procese v bioreaktorjih (fermentorjih) s ciljem industrijske proizvodnje proizvodov, ki so primarni ali sekundarni metaboliti bioloških procesov.



Bioreaktor



0,12 kg/d proteinov



360 kg/d proteinov



Razdelitev biokemijske tehnike

FERMENTACIJSKI PROCESI	BIOKATALITIČNI PROCESI	PROCESI ZA ZAŠČITO OKOLJA
PROCESNI POGOJI: sterilni	PROCESNI POGOJI: sterilni	PROCESNI POGOJI: nesterilni
CELICA: produkt ali reaktor	IZOLIRAN ENCIM ALI ENCIM V CELICI: biokatalizator	CELICA: reaktor
PROCESNA NAPRAVA: fermentor	PROCESNA NAPRAVA: encimski bioreaktor	PROCESNA NAPRAVA: bioreaktor



Bioreaktor



Reaktor-bioreaktor





Reaktor



CSTR/šaržni reaktor

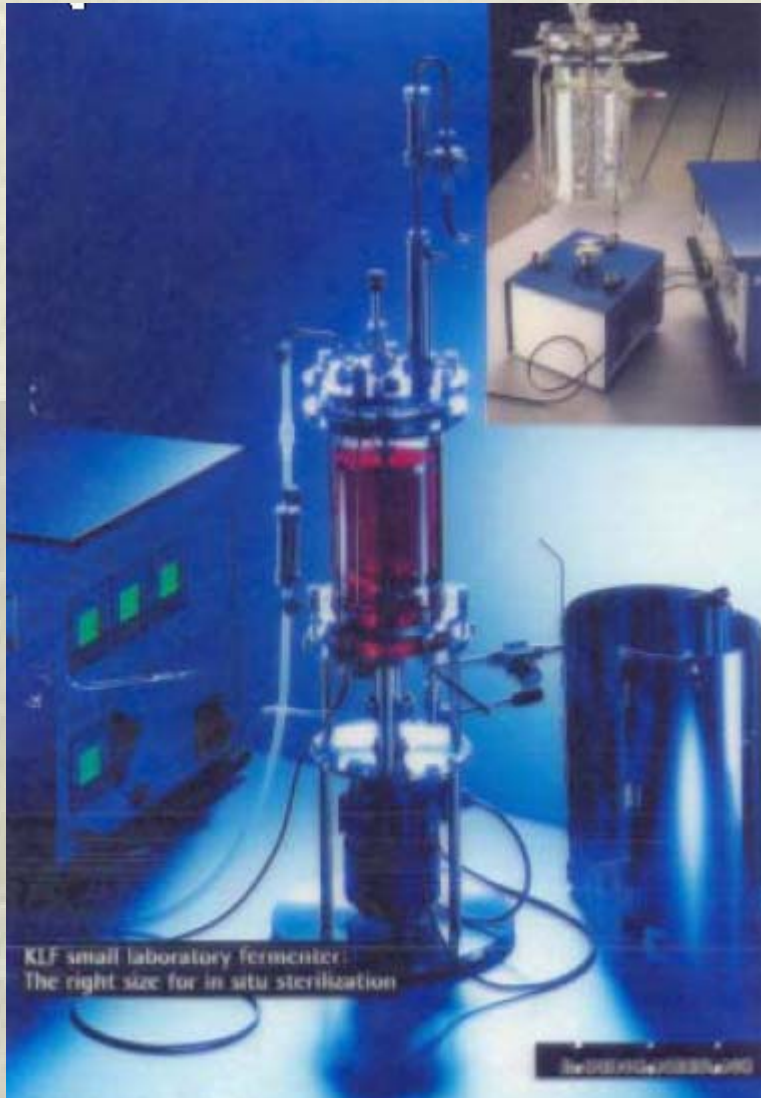


Cevni reaktor

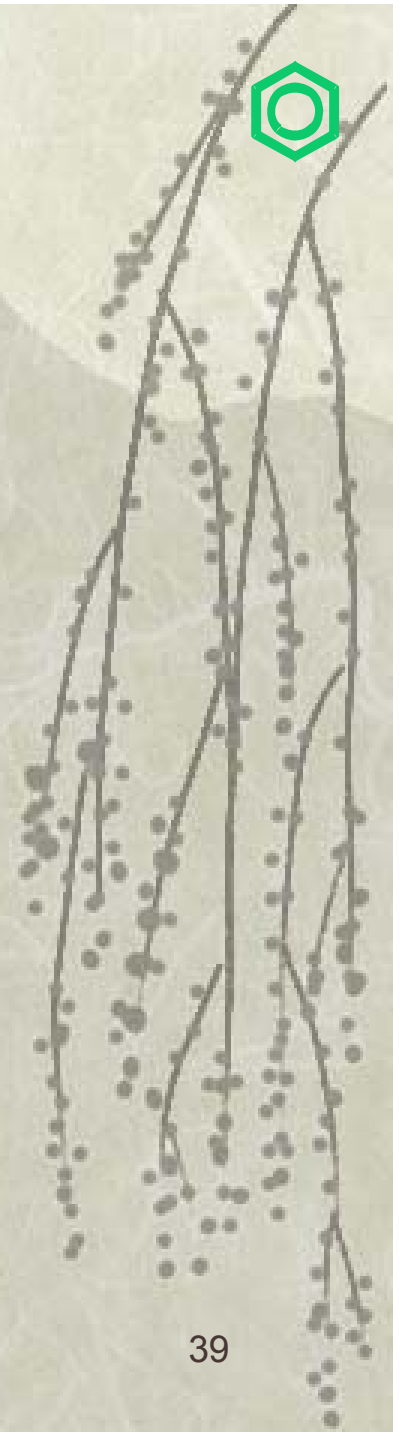
Bioreaktor



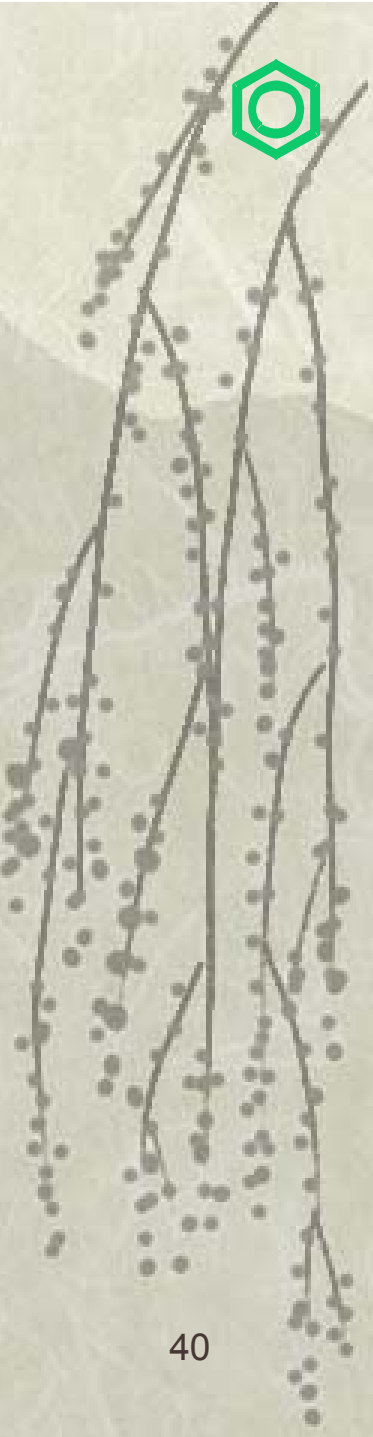
Science needs standards



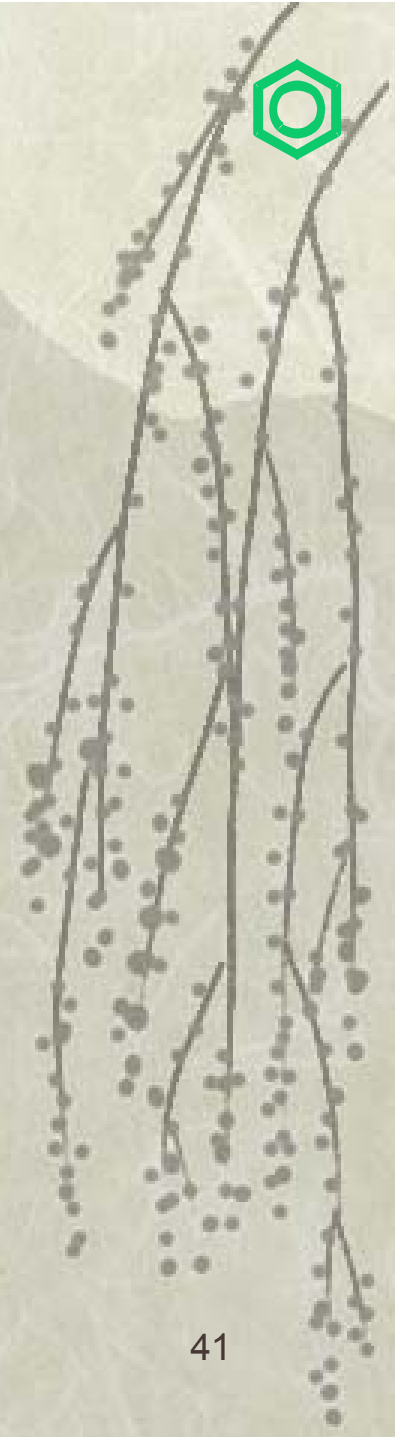
Bioreaktor



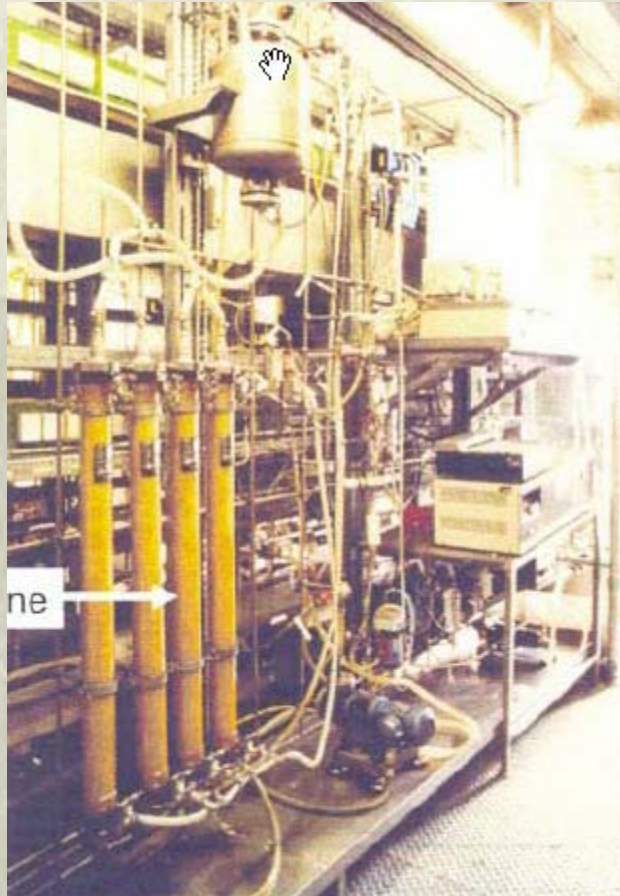
Bioreaktor



Bioreaktor



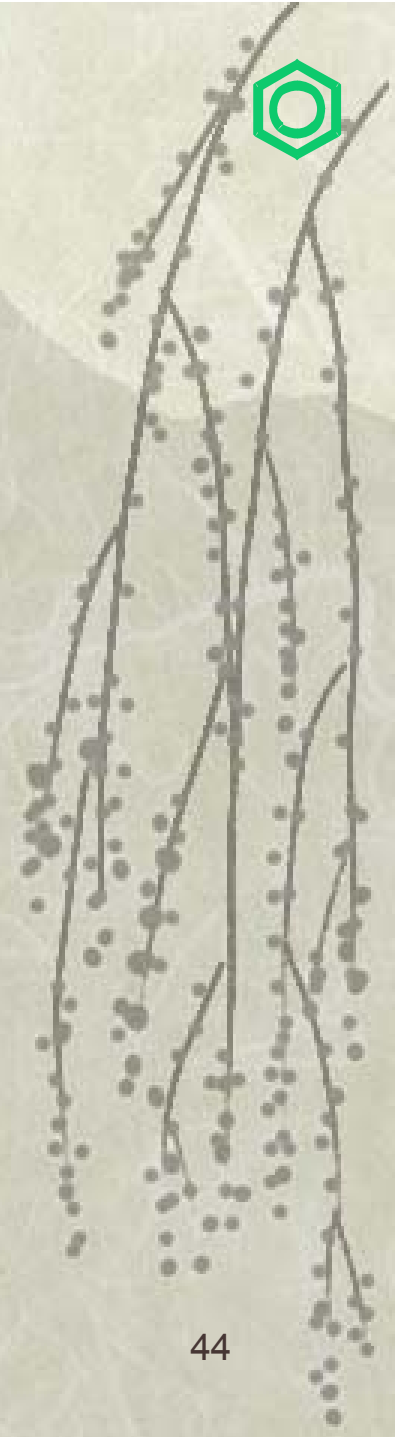
Bioreaktor



Bioreaktor



Bioreaktor



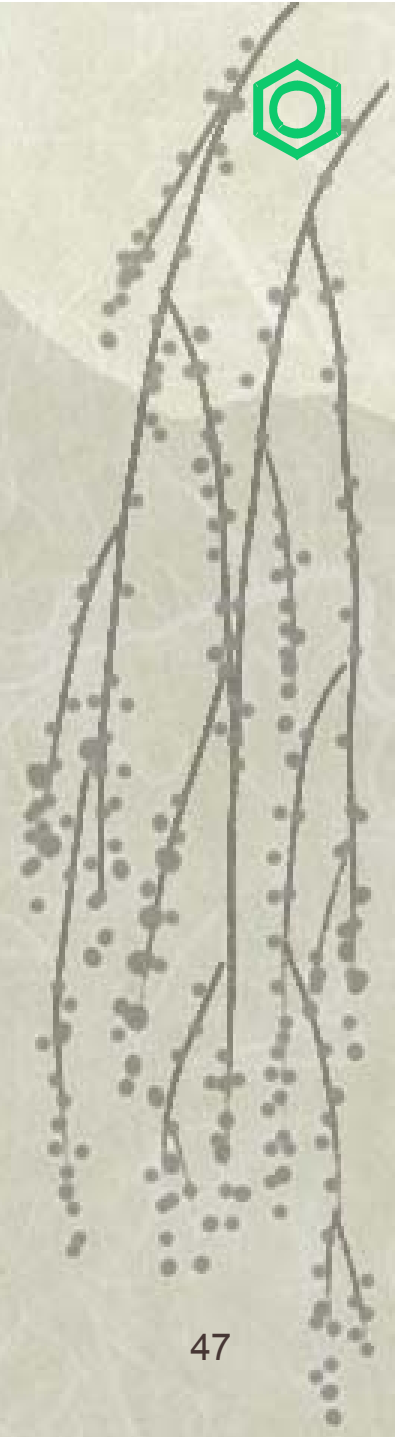
Bioreaktor



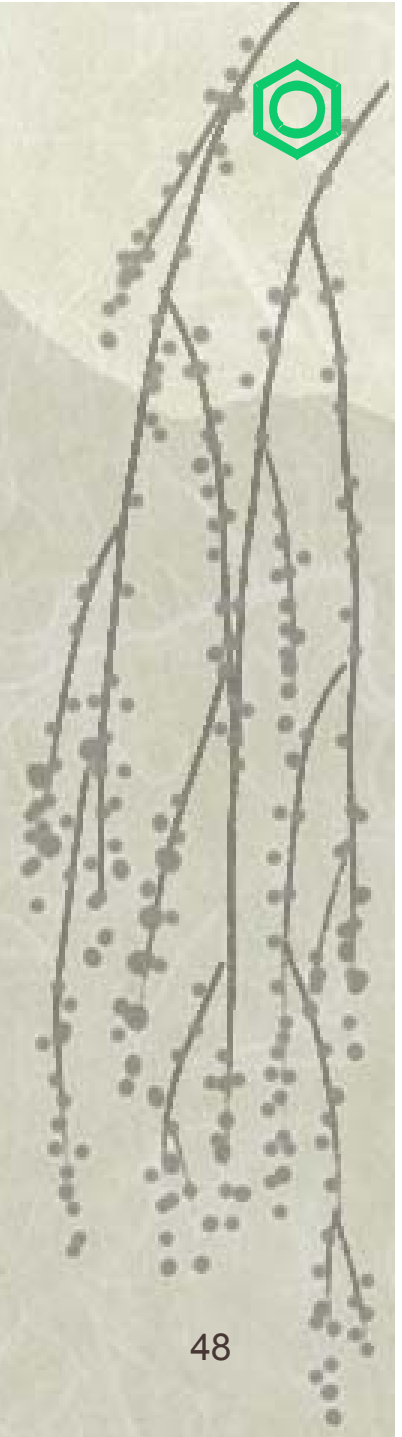
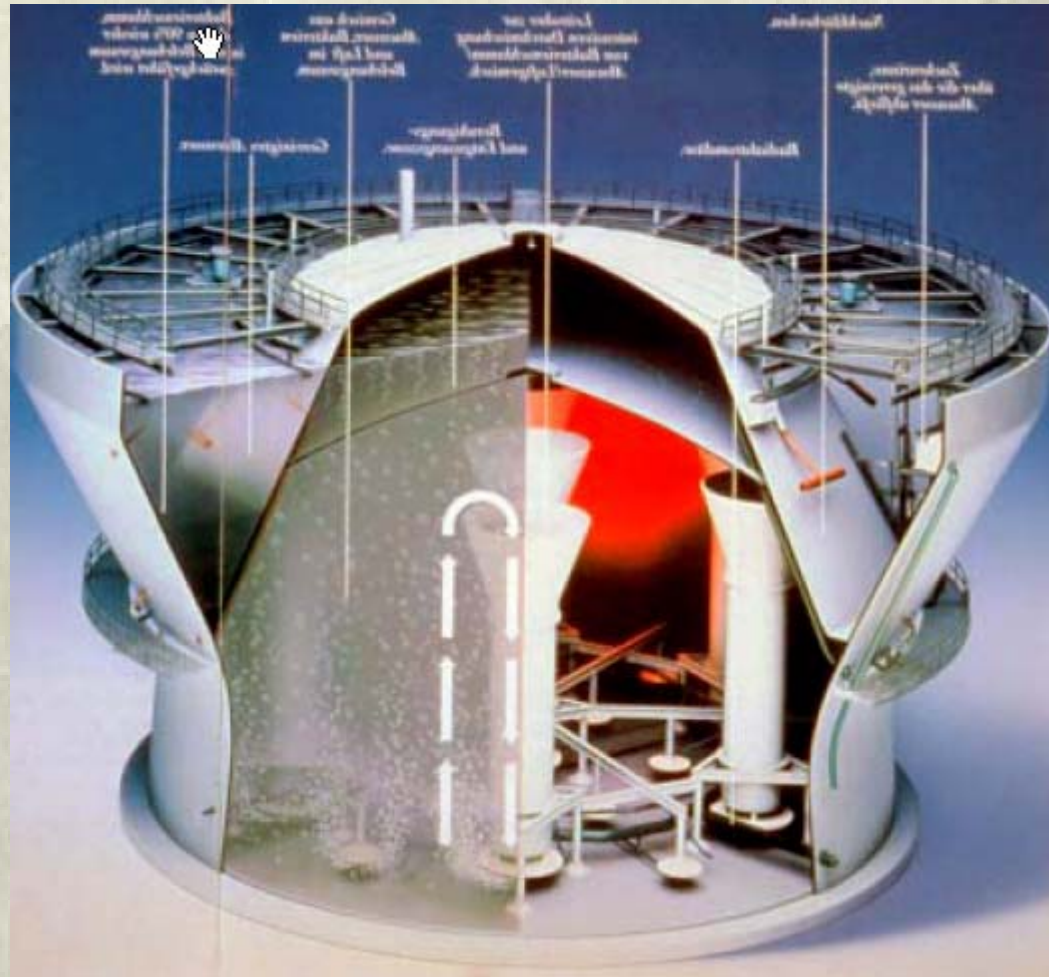
Bioreaktor



Bioreaktor

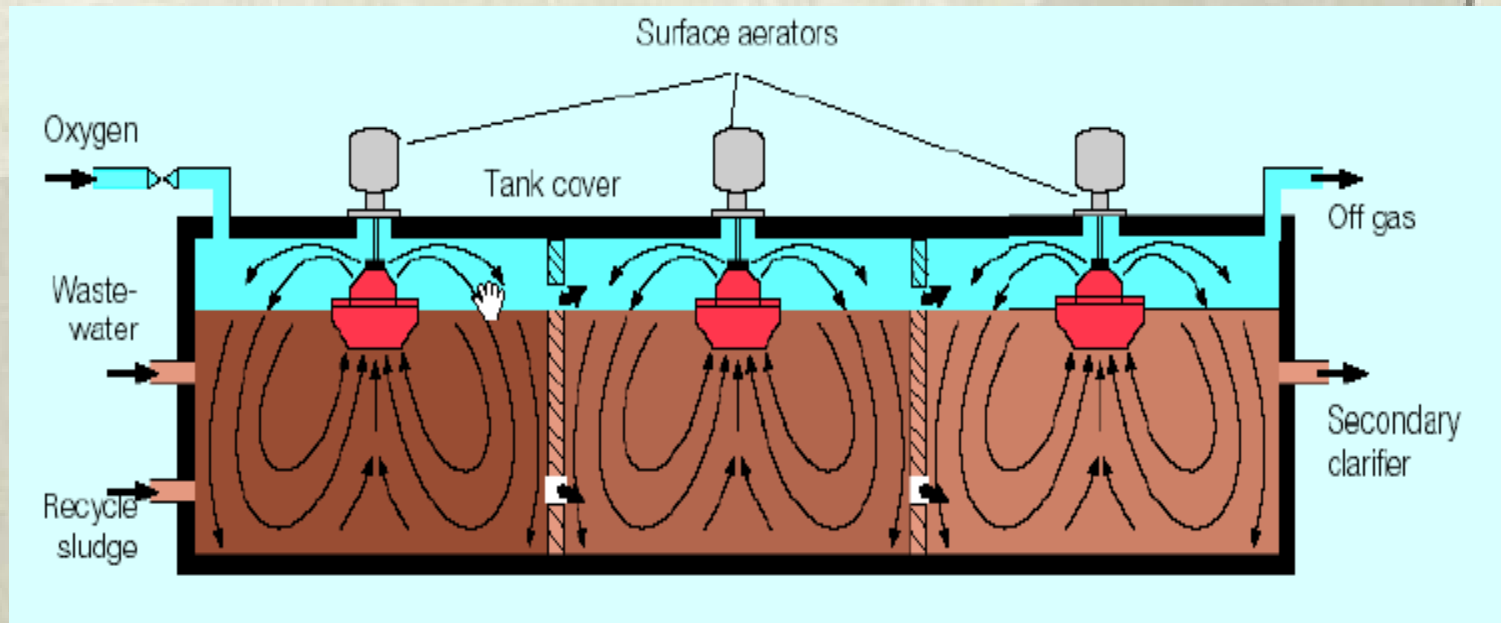


Bioreaktor





Bioreaktor



Bioreaktor



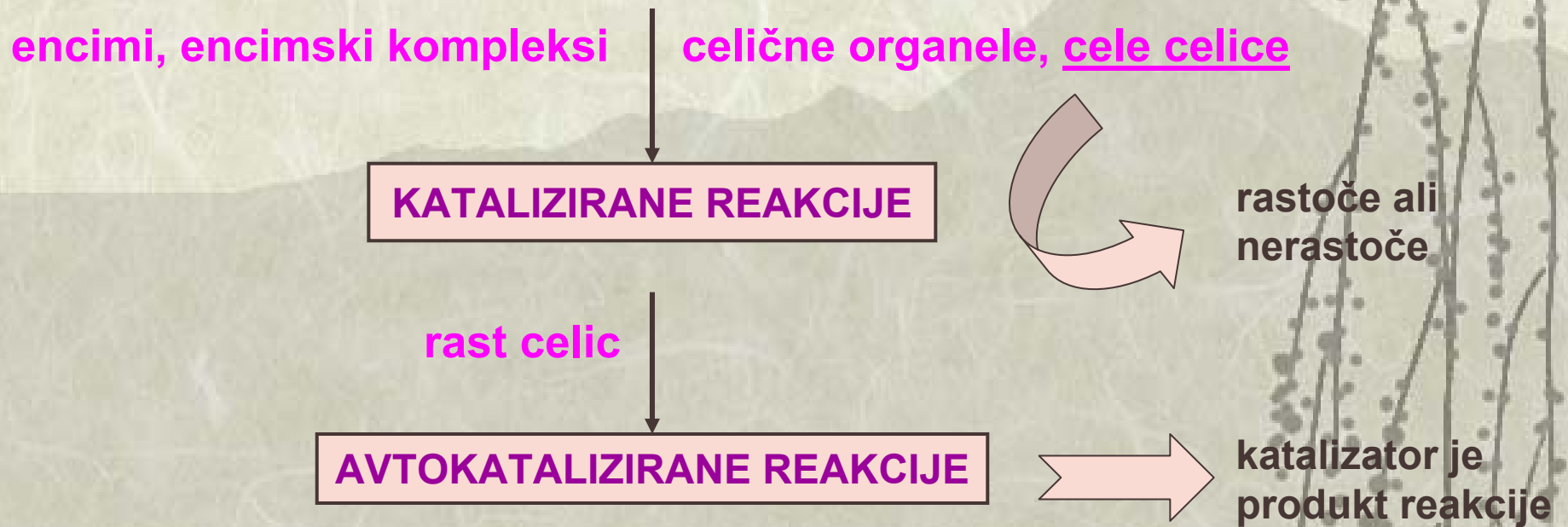
Vsebina predavanj



1. Uvod
2. Osnovni pojmi biokemije
3. *Bioreakcijska kinetika*
 - 3.1. *Encimska kinetika*
 - 3.2. *Mikrobiološka kinetika*
4. Bioreaktorji-vrste
5. Tehnološke zahteve pri načrtovanju bioreaktorjev
 - 5.1. Mešanje
 - 5.2. Prenos snovi
 - 5.3. Prenos toplote
6. Modeliranje bioreaktorjev-splošno
 - 6.1. Encimska fermentacija
 - 6.2. Mikrobiološka fermentacija
 - 6.3. Pomanjkanje substrata
 - 6.4. Inhibicija s produktom
 - 6.5. Primeri
7. Aerobno in anaerobno čiščenje odpadnih vod



3. Bioreakcijska kinetika



Potek katalizirane reakcije opišemo s produktivnostjo in izkoristkom.



Osnovna reakcijska teorija

Dva osnovna dela:

Reakcijska termodinamika

Reakcijska kinetika

Do kod?

Kako hitro?



Reakcijska termodinamika

Reverzibilna reakcija: $A + bB \rightleftharpoons yY + zZ$



ravnotežje

$$K = \frac{c_{Yr}^y c_{Zr}^z}{c_{Ar} c_{Br}^b}$$

$$\Delta G_r^0 = yG_Y^0 + zG_Z^0 - G_A^0 - bG_B^0$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

$$\ln K = \frac{-\Delta G_r^0}{RT}$$

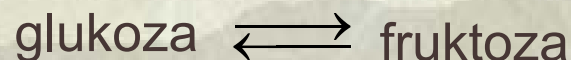
$$\ln K = \frac{-\Delta H_r^0}{RT} + \frac{\Delta S_r^0}{R}$$



Primer 1

VPLIV TEMPERATURE NA IZOMERIZACIJO GLUKOZE

Glukozo izomerazo uporabljamo za proizvodnjo fruktoznega sirupa. Reakcija je:



$$\Delta H_r^0 = 5,73 \text{ kJ/mol}$$

$$\Delta S_r^0 = 0,0176 \text{ kJ/(mol K)}$$

- Izračunajte ravnotežni konstanti za reakcijo pri $T = 50 \text{ }^\circ\text{C}$ in $T = 75 \text{ }^\circ\text{C}$.
- Proizvajalec želi razviti bolj sladko mešanico sladkorjev, torej z višjo koncentracijo fruktoze. Glede na ravnotežje, ali bi bilo ugodneje izvesti reakcijo pri $50 \text{ }^\circ\text{C}$ ali pri $75 \text{ }^\circ\text{C}$?



Rešitev:

$$\text{a) } T = 323,15 \text{ K} \quad R = 8,3144 \cdot 10^{-3} \\ T = 348,15 \text{ K}$$

$$\ln K (50 \text{ }^\circ\text{C}) = \frac{-5,73 \text{ kJ mol}^{-1}}{(8,3144 \cdot 10^{-3}) \text{ kJ mol}^{-1} (323,15 \text{ K})} + \frac{0,0176 \text{ kJ mol}^{-1}}{8,3144 \cdot 10^{-3} \text{ kJ mol}^{-1} \text{K}^{-1}}$$

$$K (50 \text{ }^\circ\text{C}) = 0,98$$

Podobno izračunamo za 75 °C:

$$\ln K (75^\circ\text{C}) = \frac{-5,73 \text{ kJ mol}^{-1}}{(8,3144 \cdot 10^{-3}) \text{ kJ mol}^{-1} (348,15 \text{ K})} + \frac{0,0176 \text{ kJ mol}^{-1}}{8,3144 \cdot 10^{-3} \text{ kJ mol}^{-1} \text{K}^{-1}}$$

$$K (75 \text{ }^\circ\text{C}) = 1,15$$

b) Vidimo, da z naraščanjem K , raste delež fruktoze v ravnotežni zmesi, zato je smiselno obratovati pri višji temperaturi (gledano z vidika ravnotežja). Sicer pa lahko pri višji temperaturi pride do deaktivacije encima.

Izkoristek reakcije



Sicer več definicij; splošno: **količina nastalega produkta glede na količino porabljenega reaktanta**

Teoretični izkoristek:

Encimska reakcija, katalizirana z encimom histidazo:



Praktični izkoristek:

Vzporedno: encim histidin dekarboksilaza:



Nastane:

1 mol kisline in 1 mol histamina iz 2 molov 1-histidina



$$Y = 0,5 \text{ mol/mol}$$



Bruto izkoristek:

glukoza \rightleftharpoons **fruktoza**

V ravnotežju: 55 % glukoze in 45 % fruktoze

$Y = 0,45 \text{ mol/mol}$



Primer 2

RAVNOTEŽNA ENCIMSKA REAKCIJA

Encim katalizira reakcijo: $A \rightleftharpoons B$

V ravnotežju reakcijska mešanica vsebuje 63 % (množ.) A.

- Določite ravnotežno konstanto.
- Kakšen je bruto izkoristek B glede na A, če reakcija začne samo z reaktantom A?

Rešitev:

$$\text{a) } K = \frac{c_{\text{Br}}}{c_{\text{Ar}}}$$

Če vzamemo za osnovo 1 mol/L, sta c_{Ar} in c_{Br} 0,63 mol/L in 0,37 mol/L in $K = 0,59$.

b) Iz stehiometrije sledi, da je teoretični izkoristek B glede na A 1 mol/mol. Bruto izkoristek je $0,37/1 = 0,37$ mol/mol.

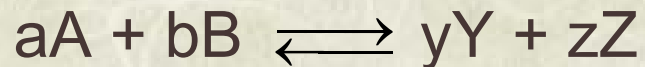




Hitrost reakcije (proizvodnost)

Kako merimo hitrost reakcije?

Hitrost presnove npr.
reaktanta A



Izhajamo iz splošne snovne bilance za sistem v nestacionarnem stanju:

$$\frac{dm}{dt} = q_{mv} - q_{mi} + r_{mn} - r_{mp}$$

$$\frac{dm_A}{dt} = q_{Av} - q_{Ai} - r_{Ap}$$



Za zaprti sistem velja: $q_{Av} = q_{Ai} = 0$, torej:

$$r_A = \frac{-dm_A}{dt}$$

oziroma analogno za komponente B, Y in Z!

Trije različni načini izražanja hitrosti reakcije v bioproceni tehniki:

1. Celokupna hitrost (masa ali množina na enoto časa)

$$r_A = -\frac{dm_A}{dt}$$

1. Volumska hitrost (hitrost na enoto volumna)

$$r_A = -\frac{1}{V} \frac{dm_A}{dt}$$

kg/(m³ s) oz. če je $V = \text{konst.}$

$$r_A = -\frac{dc_A}{dt}$$

3. Specifična hitrost (hitrost na količino encima)

$$r_A = -\left(\frac{1}{m_E} \text{ ali } \frac{1}{m_X}\right) \frac{dm_A}{dt}$$

kg/(kg celic s)

Reakcijska kinetika



zveza med hitrostjo reakcije in pogoji, ki jo določajo (koncentracija, temperatura, tlak...)



Zvezo opišemo s kinetičnimi enačbami (določimo model)

Za splošno ireverzibilno reakcijo: $aA + bB \rightleftharpoons yY + zZ$
običajno (a ne vedno) velja:

$$r_A = kc_A^a c_B^b$$

Kinetični model določamo na osnovi eksperimentalnih meritev!





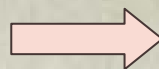
Vpliv temperature na hitrost reakcije

Arrheniusov zakon:

$$k = k_0 e^{-E/RT}$$



$$\ln k = \ln k_0 - \frac{E}{RT}$$



Premica z naklonom $-E/R$

Določanje hitrosti reakcije iz eksperimentalnih podatkov

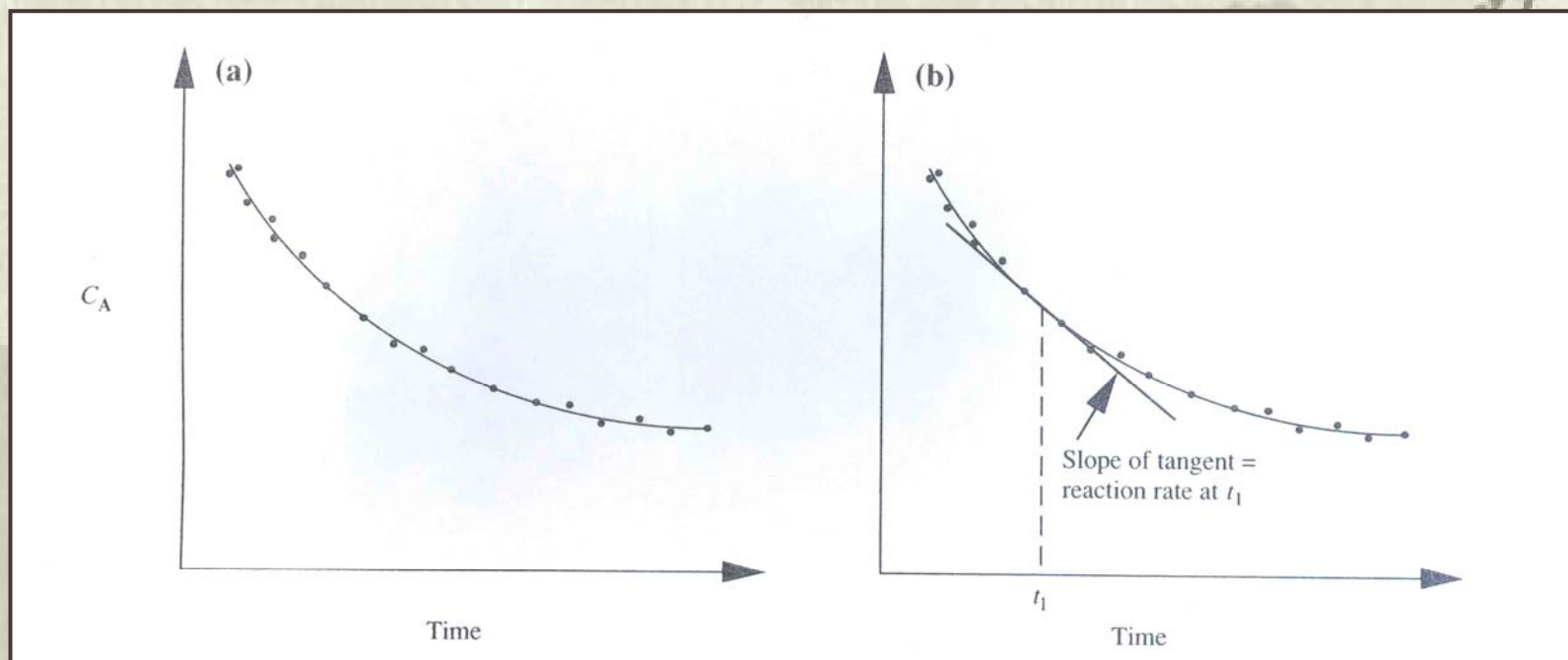
Večina bioloških reakcij poteka v zaprtih sistemih.

Volumska hitrost reakcije:

$$r_A = -\frac{dc_A}{dt}$$

Rišemo:

1. graf $c_A = f(t)$  padajoča funkcija
2. tangente na krivuljo



Slika 2.1: a) Časovno spreminjanje koncentracije reaktanta.
b) Grafično odvajanje koncentracijskih podatkov z risanjem tangent.



Metoda enakih površin

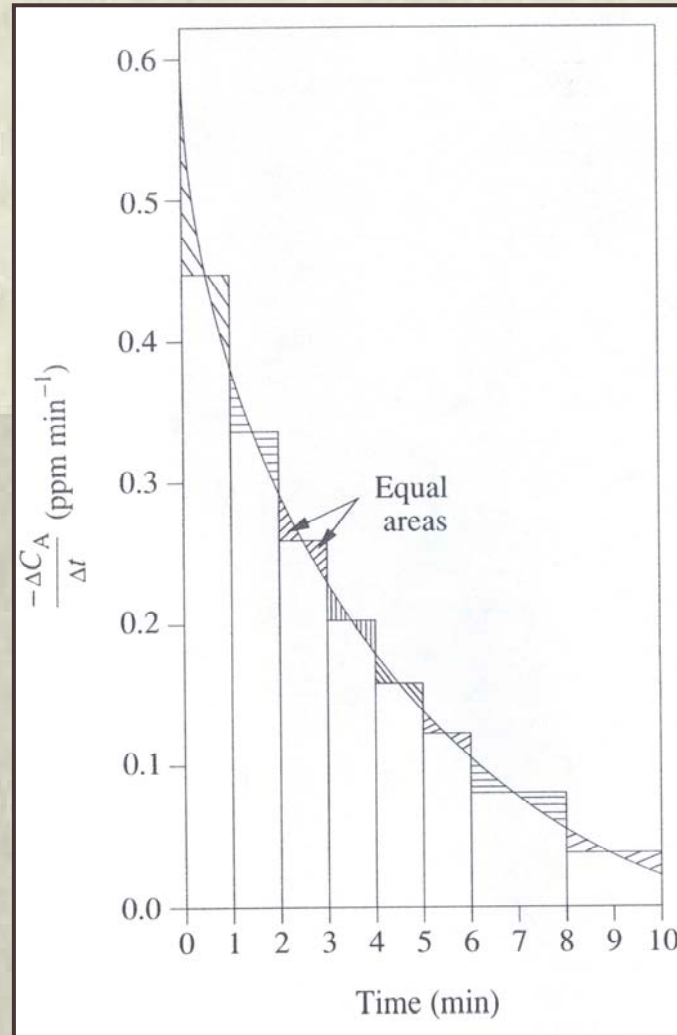
Primer uporabe metode: **Poraba kisika pri reakciji z imobiliziranimi celicami**

t/min	c_A/ppm	Δc_A	Δt	$\Delta c_A / \Delta t$	$d c_A / dt$
0,0	8,00				-0,59
1,0	7,55	-0,45	1,0	-0,45	-0,38
2,0	7,22	-0,33	1,0	-0,33	-0,29
3,0	6,96	-0,26	1,0	-0,26	-0,23
4,0	6,76	-0,20	1,0	-0,20	-0,18
5,0	6,61	-0,15	1,0	-0,15	-0,14
6,0	6,49	-0,12	1,0	-0,12	-0,11
8,0	6,33	-0,16	2,0	-0,08	-0,06
10,0	6,25	-0,08	2,0	-0,04	-0,02

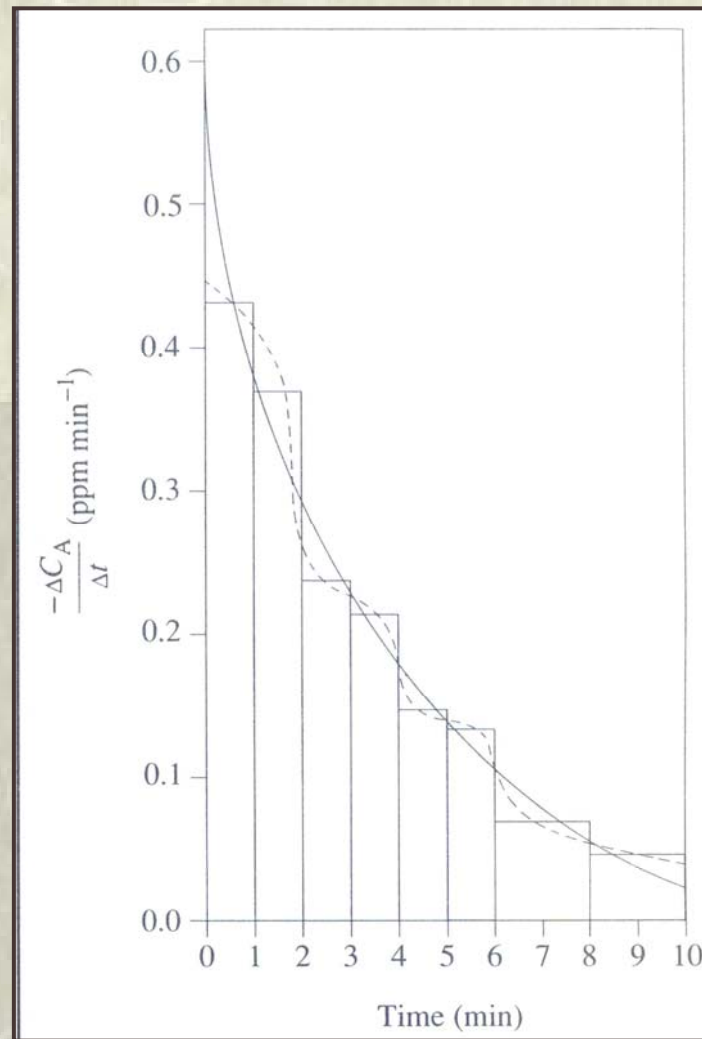


Postopek:

1. Izpišemo vrednosti za Δc_A in Δt za vsak časovni interval.
2. Izračunamo povprečno porabo kisika, $\Delta c_A / \Delta t$ za vsak časovni interval.
3. Narišemo $\Delta c_A / \Delta t$ na linearno skalo. Za vsak časovni interval narišemo vodoravno črto, ki ponazarja $\Delta c_A / \Delta t$ za ta interval.
4. Narišemo zvezno krivuljo, ki seka vodoravne črte tako, da so označene površine nad in pod krivuljo enake za vsak časovni interval. Tako dobljena krivulja daje vrednosti dc_A / dt za vse točke. Rezultate za dc_A / dt za vsak čas vzorčenja lahko odčitamo iz krivulje.



Slika 2.2: Grafično odvajanje z metodo enakih površin.



Slika 2.3: Metoda enakih površin v primeru eksperimentalne napake.



Hitrost (produkcija) bioreakcije:

- je neodvisna od količine snovi
- je definirana kot sprememba množine/mase v časovni enoti.
- je opisana s **KINETIČNIM MODELOM.**

Kinetični model



Čemu so kinetični modeli potrebni?

Za oceno presnove v reaktorju

Za posplošitev obnašanja procesa

Za oceno volumna reaktorja

Za simulacijo procesa

Za oceno procesnih spremenljivk in parametrov

Za optimiranje procesnih pogojev

Razvoj kinetičnega modela

1. Izbira modela

2. Preverjanje veljavnosti modela

3. Posploševanje modela

4. Potrditev modela (ocena parametrov)



Izbira najboljšega modela

Analiza napake:

$$SD = \frac{1}{N} \sqrt{\sum_1^N (Y_{\text{eksp.}} - Y_{\text{mod.}})^2}$$

$$SD^2 = \frac{1}{N-k} \sum_{i=1}^N (Y_{\text{eksp.}} - Y_{\text{mod.}})^2$$

N = število eksperimentalnih točk

k = število parametrov, ki jih ocenjujemo



Izbira najboljšega modela

Kriteriji za izbiro:

Najenostavnejši model
z dopustno napako

Model z najmanjšim
kvadratnim odstopanjem

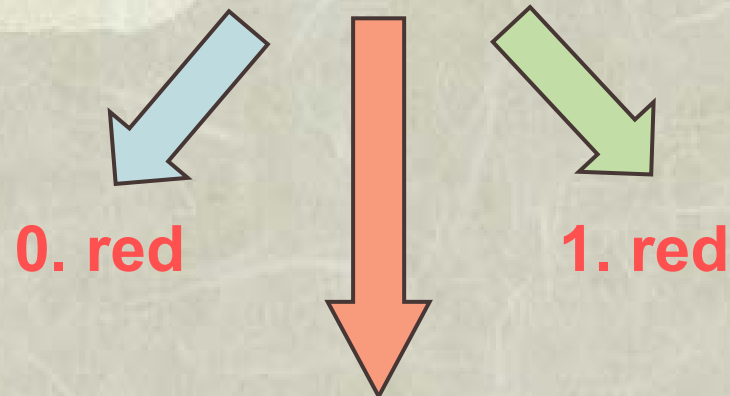
Najmanjše število parametrov

Model, razvit na osnovi
mehanizma reakcije



Splošna reakcijska kinetika za biološke sisteme

Kinetika bioloških reakcij:



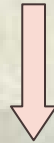
kombinacija obeh:

Michaelis-Mentenova kinetika
Monodova kinetika



Kinetika 0. reda

Hitrost reakcije je neodvisna od koncentracije reaktanta



$$r_A = k_0$$

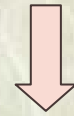
Za encimske ali celične reakcije



$$k_0 = k_0' c_E \text{ ali } k_0 = k_0'' c_X$$



Če poteka reakcija v zaprtem sistemu s konstantnim volumnom



Grafična metoda določanja hitrosti reakcije

Zaradi enostavnosti namesto odvajanja – integracija:



$$c_A = \int -r_A dt = c_{A0} - k_0 t$$

Rišemo graf $c_A = f(t)$



Premica z naklonom $(-k_0)$



Primer 3

KINETIKA PORABE KISIKA

Bakterijo *Serratia marcescens* vzgajamo v minimalnem mediju v majhnem fermentorju. Spremljamo porabo kisika pri koncentraciji celic, $c_X = 22,7$ g/L (glede na suho snov).

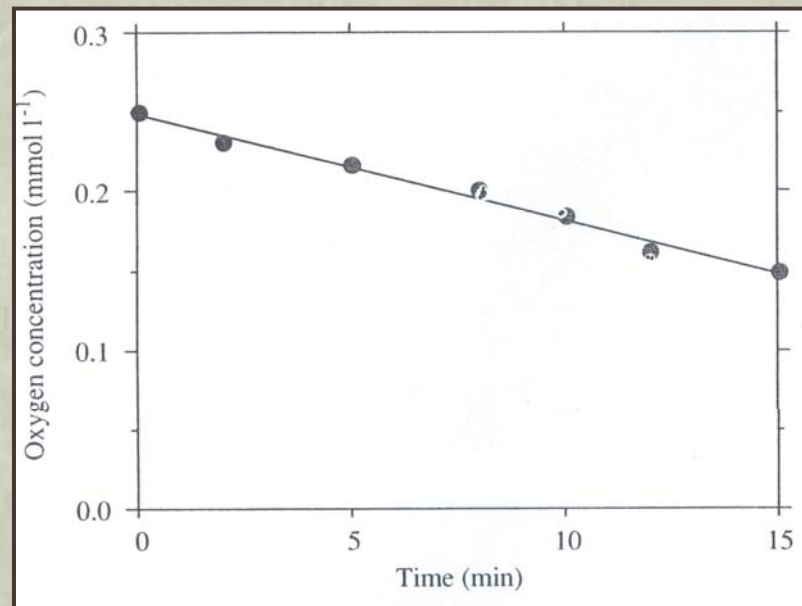
$t/$ min	0	2	5	8	10	12	15
$c_A/$ (mmol/L)	0,25	0,23	0,21	0,2	0,18	0,16	0,15

- Določite konstanto proizvodnosti za porabo kisika.
- Kakšna je konstanta proizvodnosti, če koncentracijo celic znižamo na $c_X = 12$ g/L?



Rešitev:

- a) Znano je, da je mikrobiološka poraba kisika po celotnem koncentracijskem območju nad c_{O_2krit} 0. reda. Za testiranje izmerjenih podatkov z modelom, narišemo odvisnost koncentracije kisika od časa.



Slika 2.4: Kinetična analiza porabe kisika.



Model 0. reda dobro ustreza podatkom. Naklon premice je $-6,7 \cdot 10^{-3} \text{ mmol}/(\text{L min})$, torej je $k_0 = 6,7 \cdot 10^{-3} \text{ mmol}/(\text{L min})$.

b) Za celice iste starosti, ki jih vzgajamo pod istimi pogoji, sledi iz enačbe $k_0 = k_0'' c_X$, da je k_0 direktno sorazmeren številu celic. Torej, pri koncentraciji celic, $c_X = 12 \text{ g/L}$ je:

$$k_0 = \frac{12 \text{ g/L}}{22,7 \text{ g/L}} (6,7 \times 10^{-3} \text{ mmol L}^{-1} \text{ min}^{-1}) = 3,5 \times 10^{-3} \text{ mmol L}^{-1} \text{ min}^{-1}$$



Kinetika 1. reda

$$r_A = k_1 c_A$$

Kako preverimo, ali je reakcija 1. reda?

1. Meritve $c_A = f(t)$ v sistemu s konstantnim volumnom

2. Integracija zgornje enačbe pri robnih pogojih: $c_A = c_{A0}$ pri $t = 0$,

$$c_A = c_{A0} e^{-k_1 t}$$

3. Logaritmiranje obeh strani: $\ln c_A = \ln c_{A0} - k_1 t$

4. Risanje grafa $\ln c_A = f(t)$: **premica z naklonom $-k_1$**



Primer 4

KINETIKA PROIZVODNJE GLUKONSKE KISLINE

Za proizvodnjo glukonske kisline uporabljamo glivo *Aspergillus niger*. Koncentracijo glukonske kisline v fermentorju merimo prvih 39 ur sinteze.

t/ h	0	16	24	28	32	39
$c_{\text{kisline}}/(\text{g/L})$	3,6	22	51	66	97	167

- Določite konstanto proizvodnosti.
- Ocenite koncentracijo produkta po 20 h.



Rešitev:

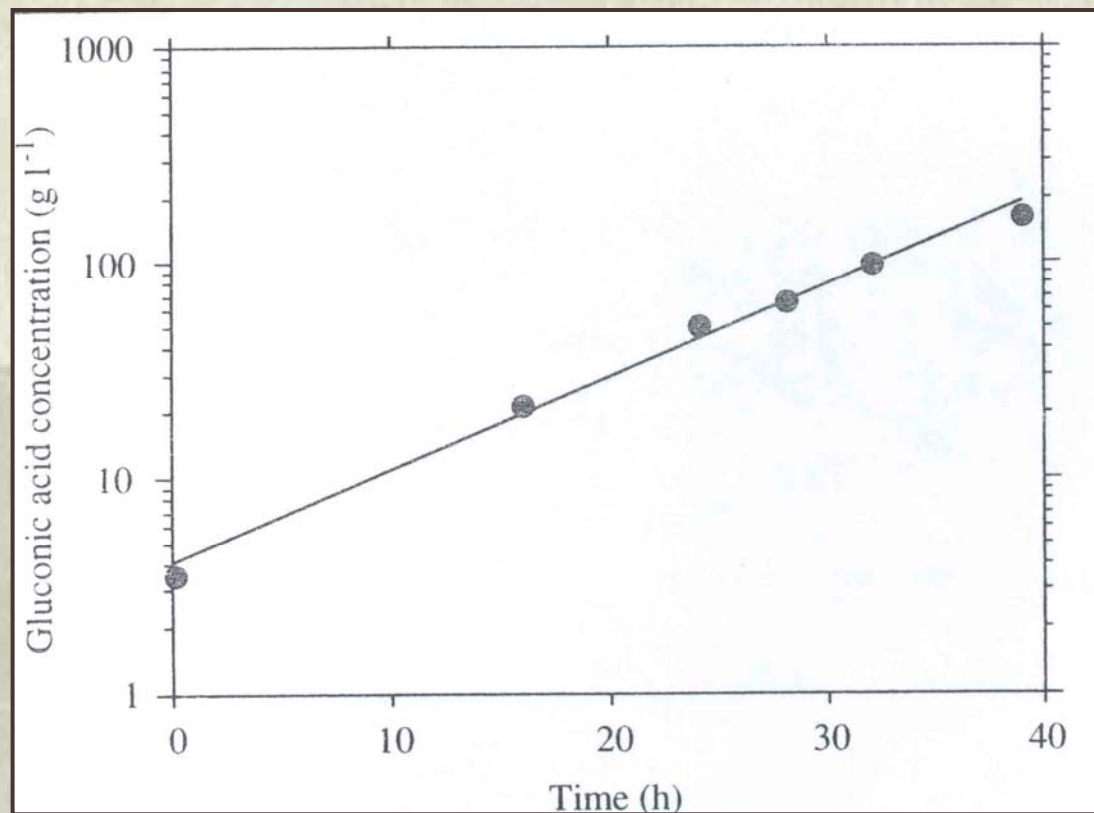
Najprej preverimo ali reakcija ustreza modelu 1. reda. Če v zaprtem sistemu merimo koncentracijo produkta namesto koncentracije reaktanta, lahko uporabimo enačbo:

$$r_A = \frac{dc_A}{dt} = k_1 c_A$$

kjer A označuje glukonsko kislino. Z integracijo te enačbe in logaritmiranjem dobimo:

$$\ln c_A = \ln c_{A0} - k_1 t$$

Z risanjem $\ln c_A$ proti t dobimo premico z naklonom k_1 . Slika kaže dobro ujemanje podatkov z modelom 1. reda.



Slika 2.5: Kinetična analiza proizvodnje glukonske kisline.



Naklon premice je, $k_1 = 0,1 \text{ h}^{-1}$ in odsek na y-osi je, $c_{A0} = 4,1 \text{ g/L}$.

b) Kinetična enačba je:

$$c_A = 4,1 e^{0,1t}$$

kjer ima c_A enote g/L in t enote h^{-1} .

Torej, po 20 urah je $c_A = 30 \text{ g/L}$.

Encimska kinetika



Michaelis-Mentenova kinetika



Velja za encime

Povečajo hitrost reakcije tako, da znižajo energijsko bariero.

Med reakcijo se ne porabijo in se trajno ne spremenijo.

Ne vplivajo na ravnotežje reakcije, ampak le na hitrost, s katero ravnotežje dosežemo.

Z reaktanti tvorijo začasni kompleks in tako stabilizirajo prehodno stanje.

Kakor pri kemijskih reakcijah

Preučujemo odvisnost hitrosti encimsko kataliziranih reakcij od koncentracije substrata

1913



Mehanizem, po katerem se molekule encima E in substrata S hitro in reverzibilno povežejo v **kompleks encim-substrat (ES)**:

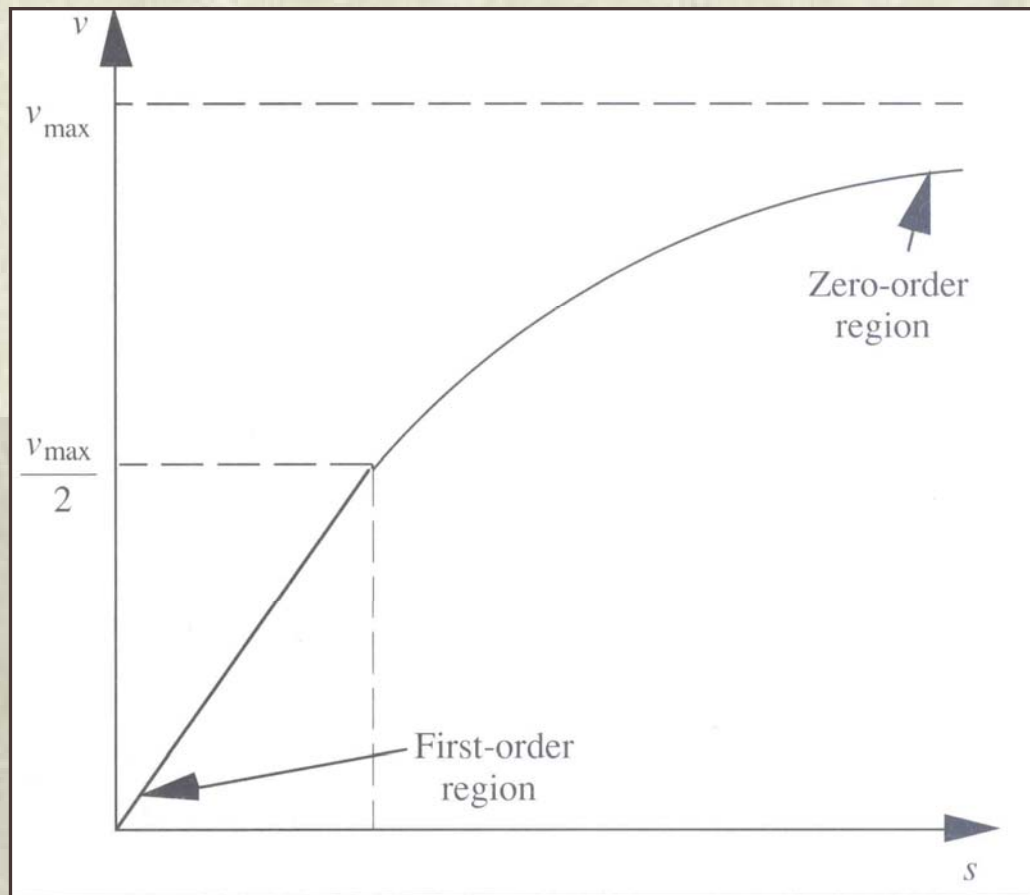


Osnovna Michaelis-Mentenova enačba:

$$r_0 = \frac{r_{\max} c_S}{K_M + c_S}$$

Dve predpostavki za izpeljavo Michaelis-Mentenove enačbe:

1. Povratna reakcija v kompleks ES ni upoštevana.
2. Koncentracija kompleksa ES je stacionarna.



Slika 2.6: Michaelis-Mentenova kinetika.

Though many biologists recognize Menten as the co-discoverer of one of the fundamental equations in Biochemistry, the Michaelis/Menten equation, they know little more. Maud Menten became one of the first women doctors in Canada in 1911. Two years later she and Leonor Michaelis published a paper describing the relationship between the rate of an enzyme-catalysed reaction and the concentration of the enzyme's substrate. Dr. Menten went on in 1944 to publish on what may be the first use of electrophoresis to separate proteins. She then went on to help develop an important technique in enzyme histochemistry. During her 50 year career she was involved in the publication of some 70 scholarly articles. Though under-appreciated, Maud Menten certainly stands as an important contributor to the fields of enzyme kinetics and histochemistry.



**Maud Menten
(1879-1960)**



Born in Berlin (Germany), he studied medicine in Freiburg, where he graduated in 1897. He then moved to Berlin, where he received his doctorate the same year. Michaelis worked as assistant to Paul Ehrlich (1898–1899), Moritz Litten (1899–1902) and Ernst Victor von Leyden (1902–1906). In 1906 he started as director of the bacteriology lab in Berlin's Charité hospital, becoming Professor extraordinary at Berlin University in 1908. In 1922 he moved to the Medical School of the University of Nagoya (Japan) as Professor of biochemistry, 1926 to Johns Hopkins University in Baltimore, Maryland as resident lecturer in medical research and 1929 to the Rockefeller Institute of Medical Research in New York City, where he retired 1941.

Besides his role in the formulation of the Henri-Michaelis-Menten law (1913) he discovered Janus green as a supravital stain for mitochondria and the Michaelis-Gutman body in urinary tract infections (1902) and found that thioglycolic acid could dissolve keratin, making him the father of the permanent wave.

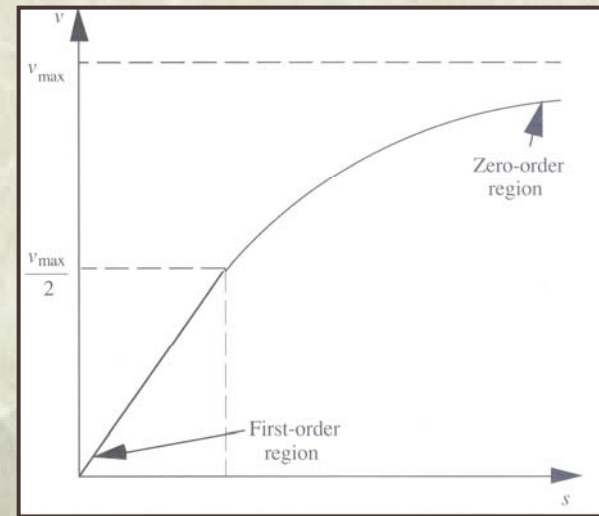


**Leonor Michaelis
(1875-1947)**



Pomen konstante K_M :

$$K_M = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$$



Če sta K_M in c_S enaki

$$r_0 = \frac{r_{\max}}{2}$$

Če je $k_2 \gg k_3$

$$K_M = \frac{k_2}{k_1}$$

Visoka vrednost K_M

**Ni afinitete med encimom
in substratom**



Michaelis-Mentenova enačba zadovoljivo opisuje kinetiko večine industrijskih encimskih reakcij.

Kompleksnejši kinetični izrazi se morajo uporabiti, kadar delamo z več substrati in kadar imamo pojave inhibicije.

Vpliv temperature na hitrost encimske reakcije



Arrheniusova odvisnost → Za večino encimskih reakcij
(k zamenjamo z r_{\max})

Značilne aktivacijske energije za encimske reakcije:

(40 – 80) kJ/mol

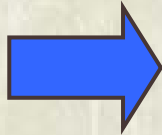
Grobo pravilo:

**Dvig temperature za 10 °C med 20 °C in 30 °C
povzroči povečanje hitrosti reakcije za faktor 2-3**

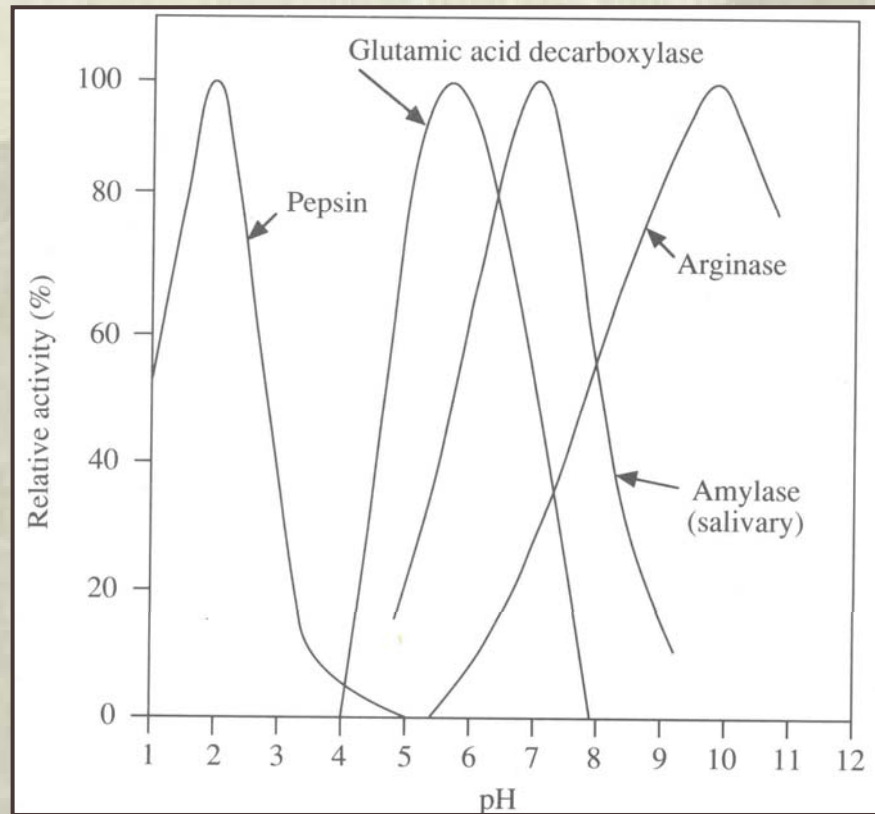
Vpliv pH na hitrost encimske reakcije



pH



Izrazit vpliv na encimsko kinetiko



Slika 2.7: Vpliv pH na aktivnost encima.

Določanje konstant encimske kinetike iz šaržnih poskusov

- Michaelis-Mentenov diagram → ni dovolj natančen
- Lineweaver-Burkov diagram → nerealne napake

$$\frac{1}{r} = \frac{K_M}{r_{\max} c_S} + \frac{1}{r_{\max}}$$

- Eadie-Hofstee diagram → nerealne napake

$$\frac{r}{c_S} = \frac{r_{\max}}{K_m} - \frac{r}{K_m}$$

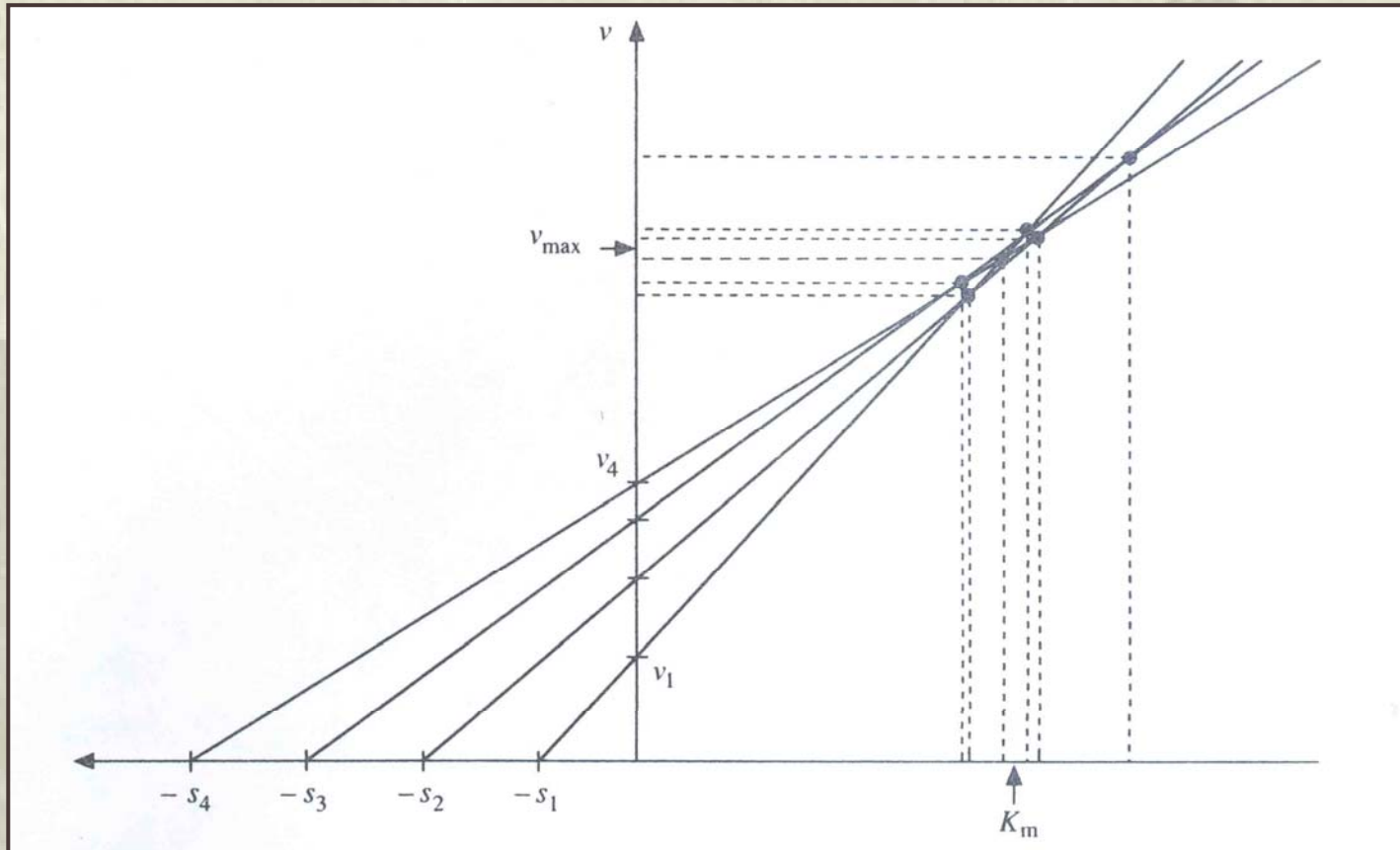
- Langimurjev diagram → priporočljiv

$$\frac{c_S}{r} = \frac{K_M}{r_{\max}} + \frac{c_S}{r_{\max}}$$

• **Direktni linearni diagram**



potrebna previdnost



Slika 2.8: Direktni linearni graf za določanje encimskih kinetičnih parametrov

Kinetika encimske deaktivacije



Encimi: **proteinske molekule kompleksne konfiguracije**

Uničenje z relativno šibkimi silami

Encimska deaktivacija

Se pojavi pri hitrosti reakcije, ki je odvisna od:

- **strukture encima**
- **reakcijskih pogojev**

Najenostavnejši model deaktivacije:





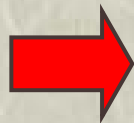
Hitrost deaktivacije: običajno **1.reda** glede na koncentracijo aktivnega encima

$$r_d = k_d c_{\text{Ea}}$$

V zaprtem sistemu:

$$\frac{-dc_{\text{Ea}}}{dt} = r_d = k_d c_{\text{Ea}}$$

Po integraciji



Izraz za koncentracijo aktivnega encima kot funkcijo časa:

$$c_{\text{Ea}} = c_{\text{Ea},0} e^{-k_d t}$$



Maksimalna hitrost encimske reakcije:

$$r_{\max} = r_{\max,0} e^{-k_d t}$$

Razpolovna doba encima:

$$t_r = \frac{\ln 2}{k_d}$$

Temperaturna odvisnost encimske deaktivacije:

$$k_d = A e^{-E_d / RT}$$

3.2. Mikrobiološka kinetika



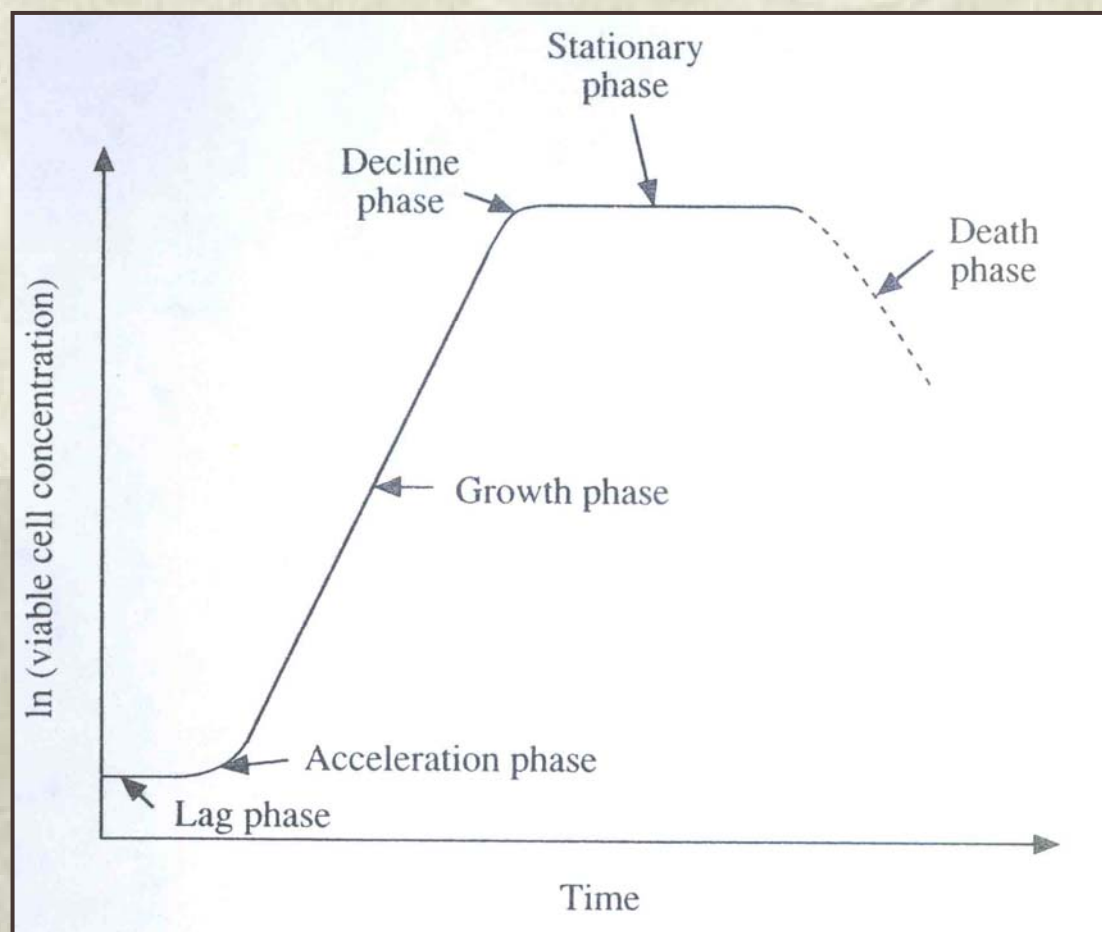
Podobnost z encimsko kinetiko

encimi usmerjajo
rast celic

Substrat + **celice** → produkti + **več celic (biomasa)**

FAZE RASTI:

1. Mirovanje
2. Pospešena rast
3. Rast
4. Zaostajanje
5. Stacionarna faza
6. Umiranje



Slika 2. 9: Tipična krivulja šaržne rasti mikroorganizmov.



Hitrost rasti celic (mikroorganizmov):

$$r_X = \mu c_X$$

V fazi rasti

Za zaprti sistem, $r_X = dc_X/dt$, robni pogoji: $c_X = c_{X0}$, $t = 0$, integracija zgornje enačbe daje:

$$c_X = c_{X0} e^{\mu t}$$

Po logaritmiranju:

$$\ln c_X = \ln c_{X0} + \mu t$$



Vpliv koncentracije substrata

Za mikroorganizme v fazi rasti velja **Monodova kinetika**.

Običajno samo eden **rast-omejujoč substrat**

C ali N spojina

$$\mu = \frac{\mu_{\max} c_S}{K_S + c_S}$$

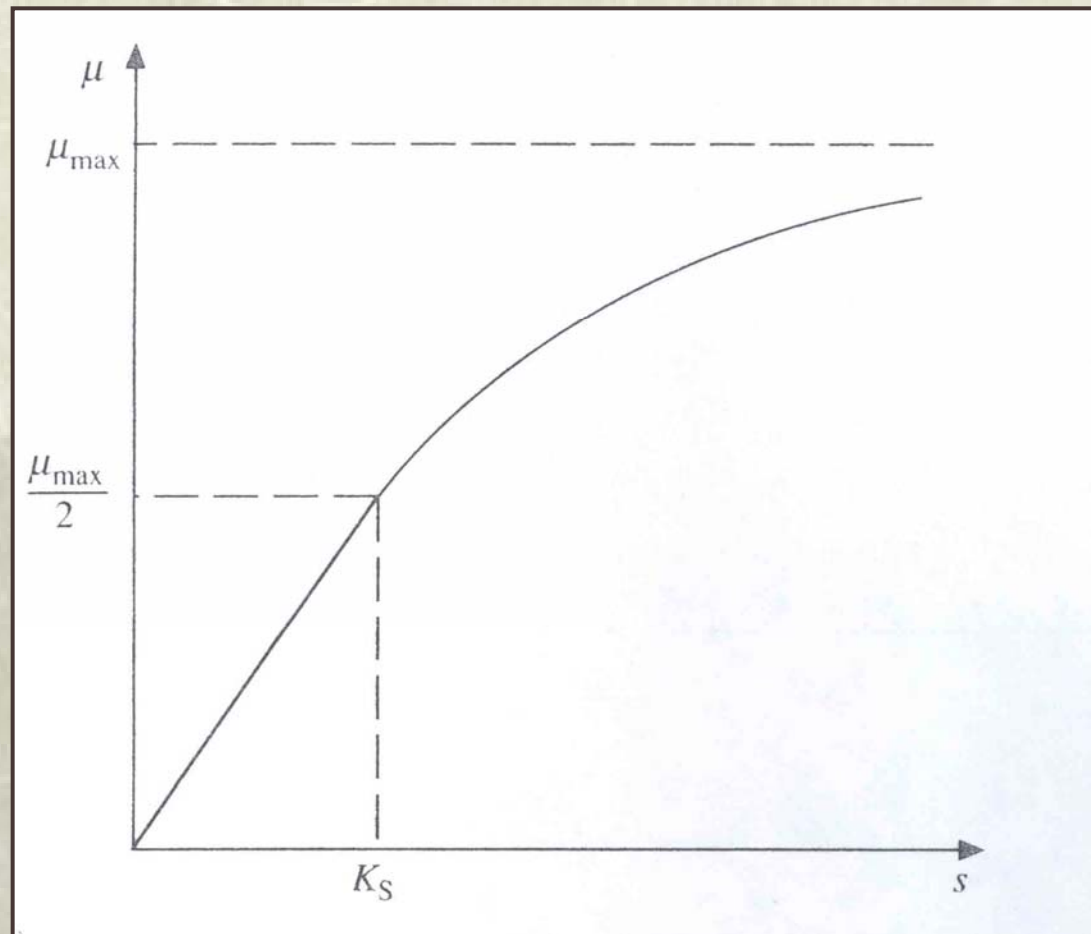
Preverite razliko
glede na MM enačbo



JACQUES LUCIEN MONOD, French biochemist who, with François Jacob, did much to elucidate the way in which genes regulate cell metabolism by directing the biosynthesis of enzymes. The pair shared, along with André Lwoff, the Nobel Prize for Physiology or Medicine in 1965.

JACQUES MONOD
(1910-1976)





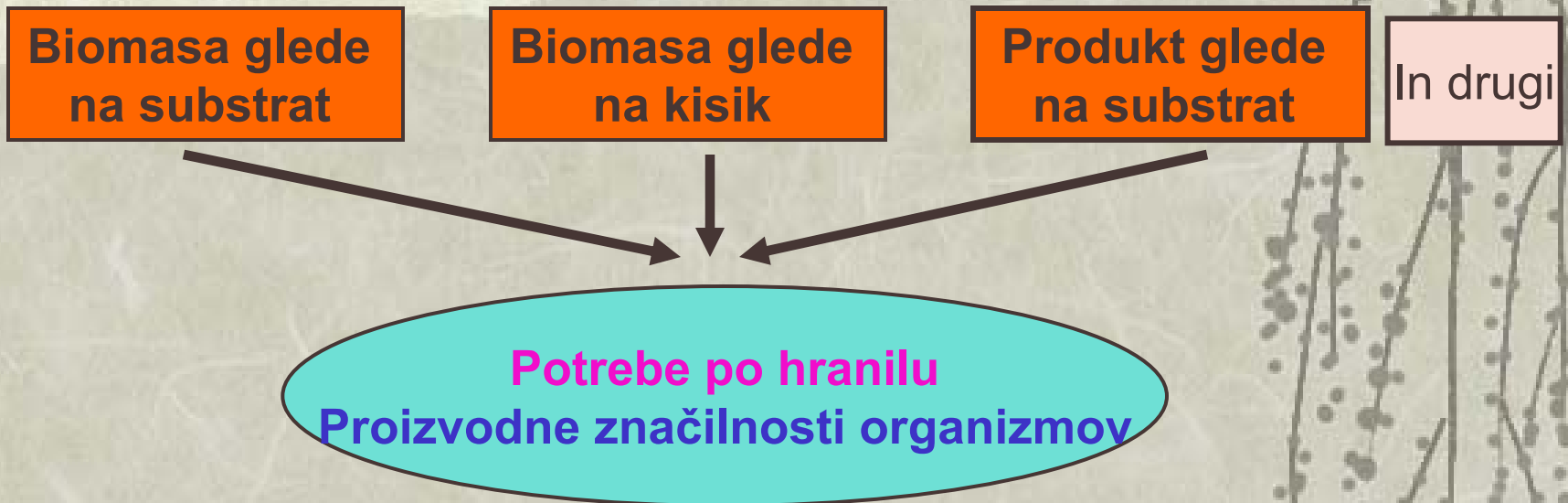
Slika 2.10: Zveza med specifično hitrostjo rasti in koncentracijo omejujočega substrata.


Izkoristki pri mikroorganizmih



Koeficient izkoristka  **zveza med substratom in produktom oz. biomaso**

Različni načini podajanja koeficienta izkoristka:



Splošni zapis koeficienta 

$$Y_{FG} = -\Delta m_F / \Delta m_G$$

Tabela 2.1: Definicije koeficientov izkoristka



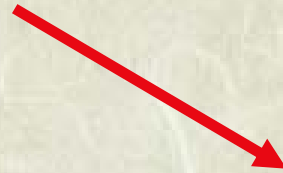
<i>Symbol</i>	<i>Definition</i>
Y_{XS}	Mass or moles of biomass produced per unit mass or mole of substrate consumed. (Moles of biomass can be calculated from the 'molecular formula' for biomass; see Section 4.6.1)
Y_{PS}	Mass or moles of product formed per unit mass or mole of substrate consumed
Y_{PX}	Mass or moles of product formed per unit mass or mole of biomass formed
Y_{XO}	Mass or moles of biomass formed per unit mass or mole of oxygen consumed
Y_{CS}	Mass or moles of carbon dioxide formed per unit mass or mole of substrate consumed
RQ	Moles of carbon dioxide formed per mole of oxygen consumed. This yield is called the <i>respiratory quotient</i> .
Y_{ATP}	Mass or moles of biomass formed per mole of ATP formed
Y_{kcal}	Mass or moles of biomass formed per kilocalorie of heat evolved during fermentation



Celokupni in trenutni izkoristek



šaržna rast



Razlika v količini komponent na začetku in koncu reakcije

Razlika v količini komponent v časovnem intervalu



$$Y_{FG} = \lim_{\Delta m_G \rightarrow 0} \frac{\Delta m_F}{\Delta m_G} = \frac{-dm_F}{dm_G} = \frac{-dm_F / dt}{dm_G / dt} = \frac{r_F}{r_G}$$

$\Delta m_G \rightarrow 0$

Primer: $Y_{XS} = r_X/r_S =$ hitrost rasti biomase/hitrost porabe substrata

Pri fermentaciji obvezno navesti obravnavani časovni interval!

Teoretični in praktični izkoristek



Primer izkoristka biomase glede na substrat:

$$Y'_{XS} = \frac{\Delta m_X}{\Delta m_{S_T}} = \frac{-\Delta m_X}{\Delta m_{S_R} + \Delta m_{S_P}}$$

Teoretični izkoristek za ta primer:

$$Y_{XS} = \frac{-\Delta m_X}{\Delta m_{S_R}}$$

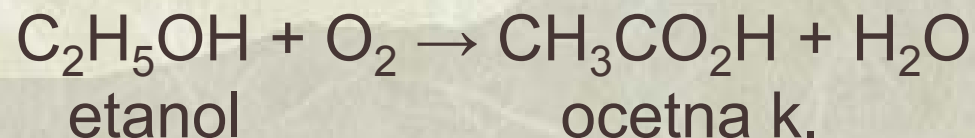




Primer 5

IZKORISTEK PRI PROIZVODNJI OCETNE KISLINE

Enačba aerobne proizvodnje očetne kisline iz etanola je:



V medij z 10 g/L etanola dodamo bakterijo *Acetobacter aceti*. Po določenem času je koncentracija etanola $c = 2$ g/L in očetne kisline $c = 7,5$ g/L. Primerjajte teoretični s praktičnim izkoristkom.



Rešitev:

Za osnovo vzamemo 1 L medija. Praktični izkoristek izračunamo tako, da upoštevamo maso nastalega produkta in maso porabljenega reaktanta.

$$Y'_{PS} = \frac{7,5 \text{ g}}{(10 - 2) \text{ g}} = 0,94 \text{ g/g}$$

Teoretični izkoristek je osnovan na masi etanola, ki bi bil dejansko porabljen za sintezo očetne kisline. Iz stehiometrije sledi:

$$Y'_{PS} = \frac{1 \text{ mol očetne kisline}}{1 \text{ mol etanola}} = \frac{60 \text{ g}}{46 \text{ g}} = 1,3 \text{ g/g}$$

Praktični izkoristek je 72 % teoretičnega.

Vsebina predavanj



1. Uvod
2. Osnovni pojmi biokemije
3. Bioreakcijska kinetika
 - 3.1. Encimska kinetika
 - 3.2. Mikrobiološka kinetika
4. *Bioreaktorji-vrste*
5. *Tehnološke zahteve pri načrtovanju bioreaktorjev*
 - 5.1. *Mešanje*
 - 5.2. Prenos snovi
 - 5.3. Prenos toplote
6. Modeliranje bioreaktorjev-splošno
 - 6.1. Encimska fermentacija
 - 6.2. Mikrobiološka fermentacija
 - 6.3. Pomanjkanje substrata
 - 6.4. Inhibicija s produktom
 - 6.5. Primeri
7. Aerobno in anaerobno čiščenje odpadnih vod

Vpliv bio/reakcijske tehnike na celoten proces



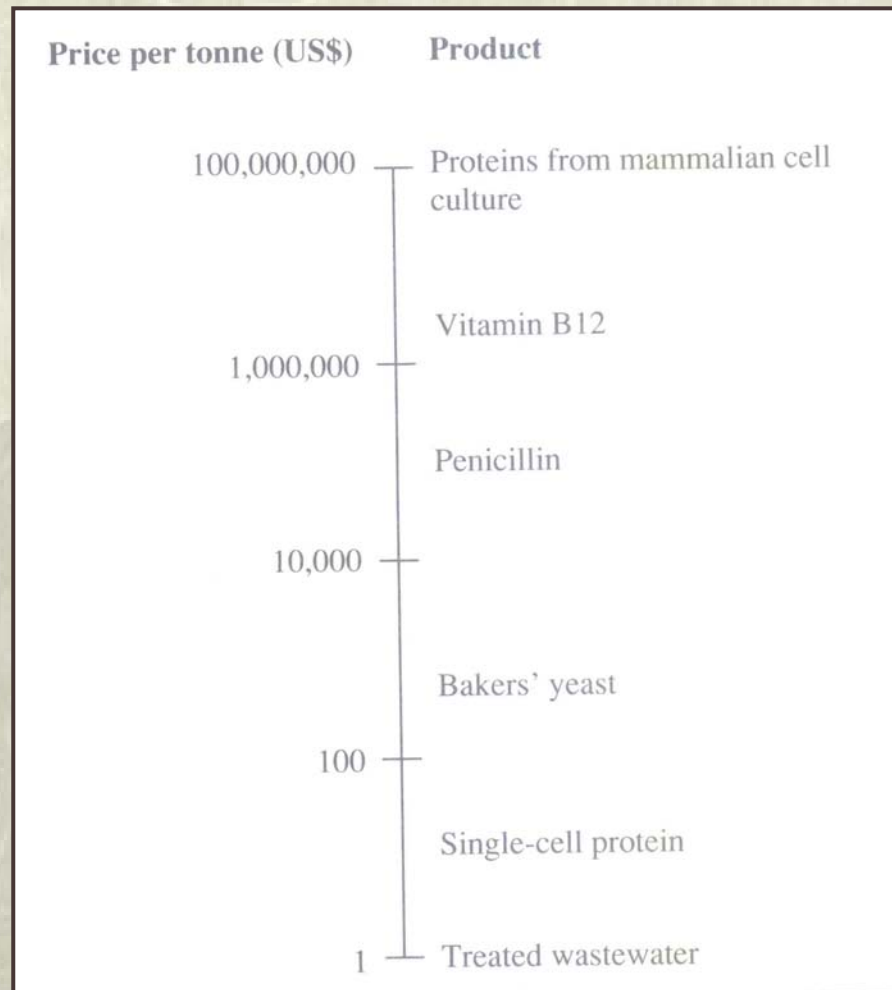
Bistvene odločitve glede reaktorja:

Vrsta reaktorja

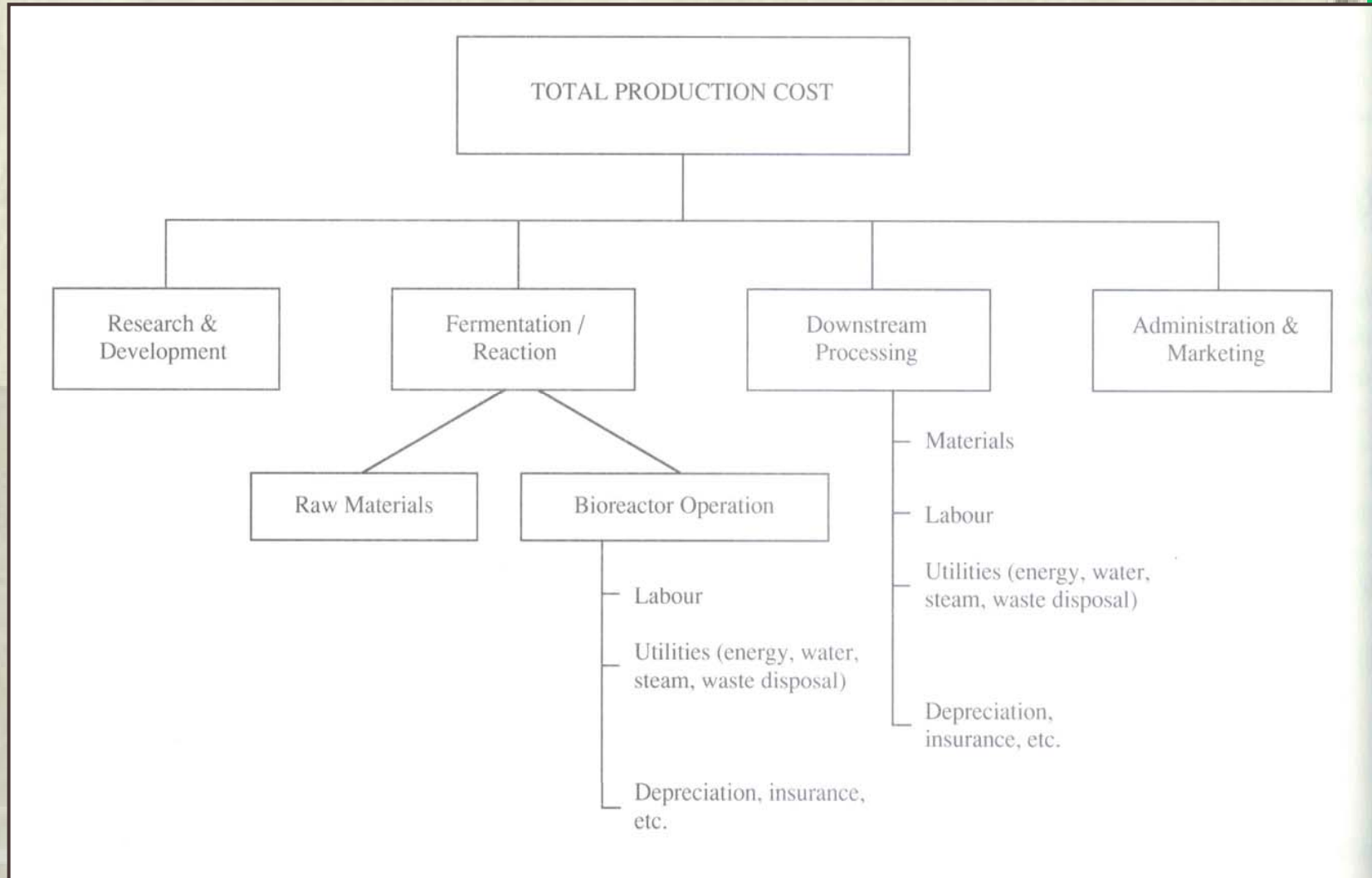
Velikost reaktorja

Obratovalni pogoji

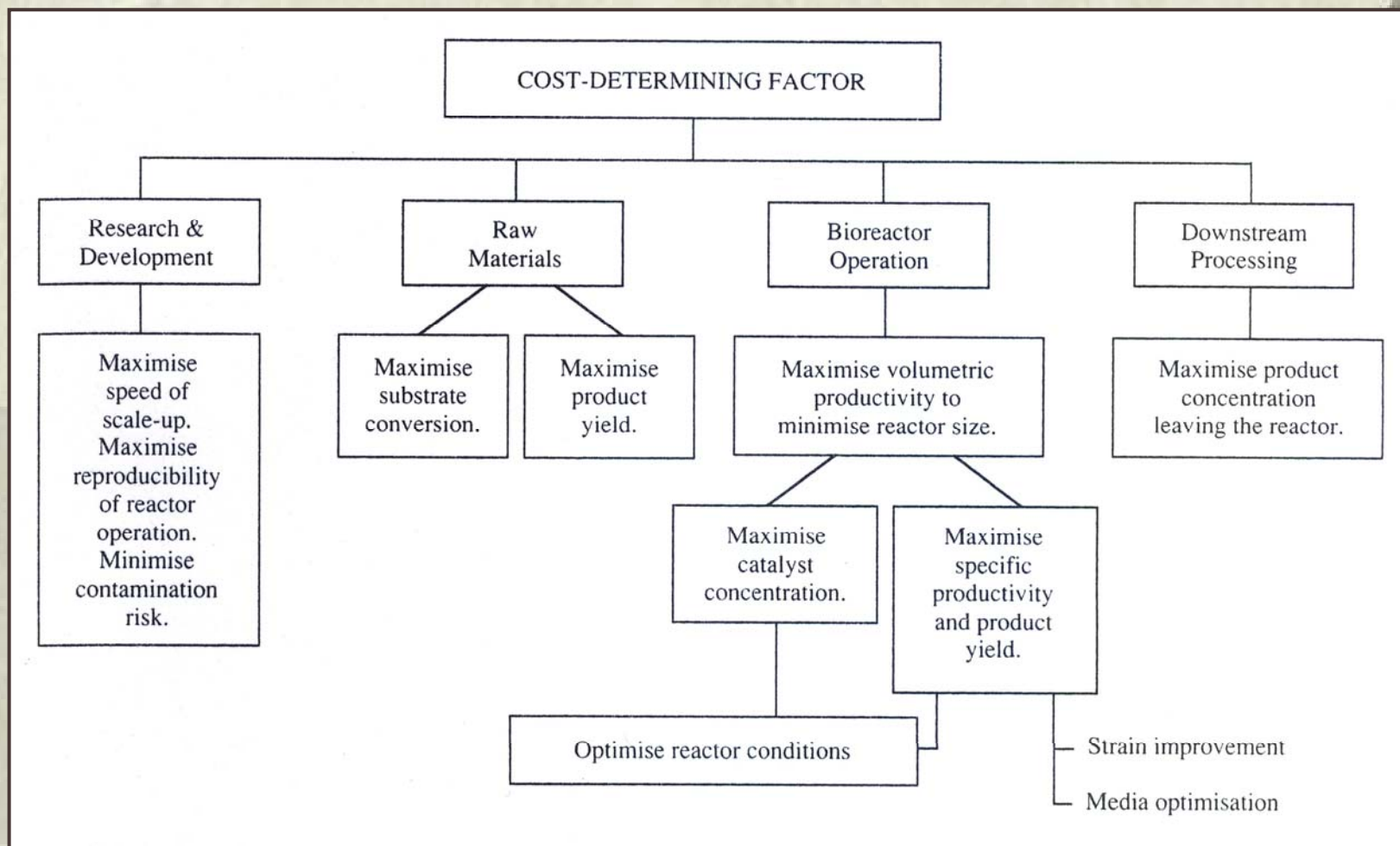
Način obratovanja



Slika 3.1: Različne vrednosti produktov fermentacije.



Slika 3.2: Skupni stroški bioprocasa.



Slika 3.3: Strategije načrtovanja bioreaktorja glede na stroškovno odločujoče faktorje.

4. Vrste bioreaktorjev



Najpogostejša oblika: **cilindrična**

Z mešanjem

Brez mešanja

Sicer vrsta drugih oblik **za posebne namene**

Najpomembnejše zahteve pri načrtovanju:



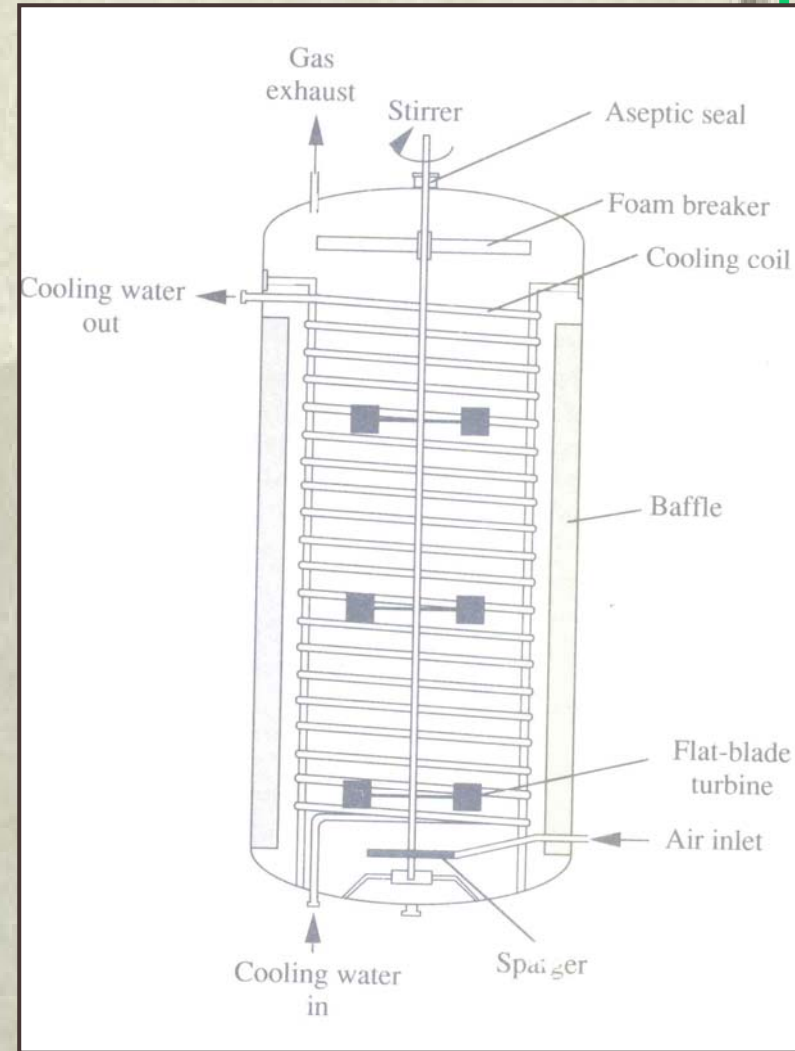
Mešanje



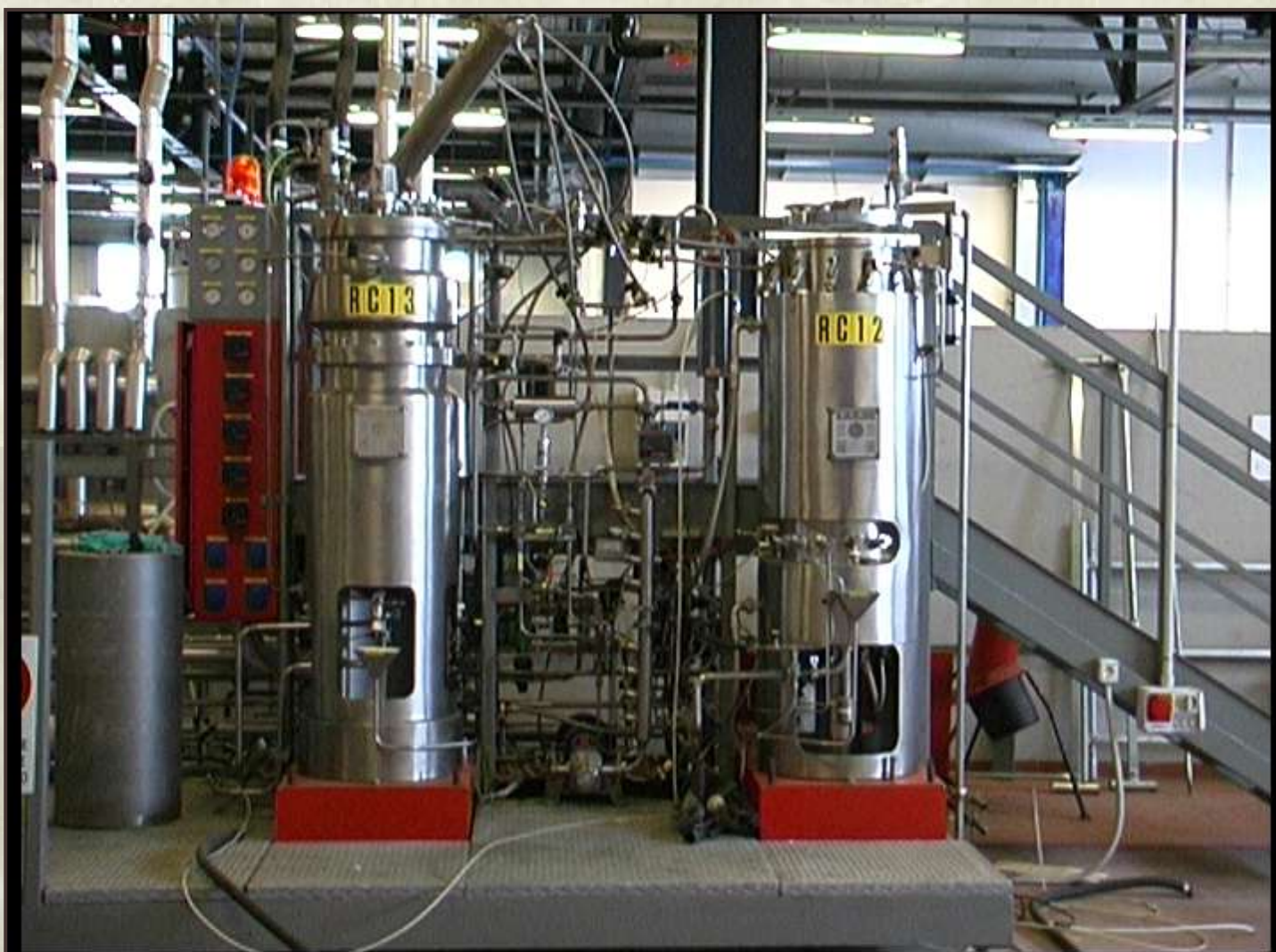
Prepihovanje s kisikom

Mešalni bioreaktor (stirred tank)

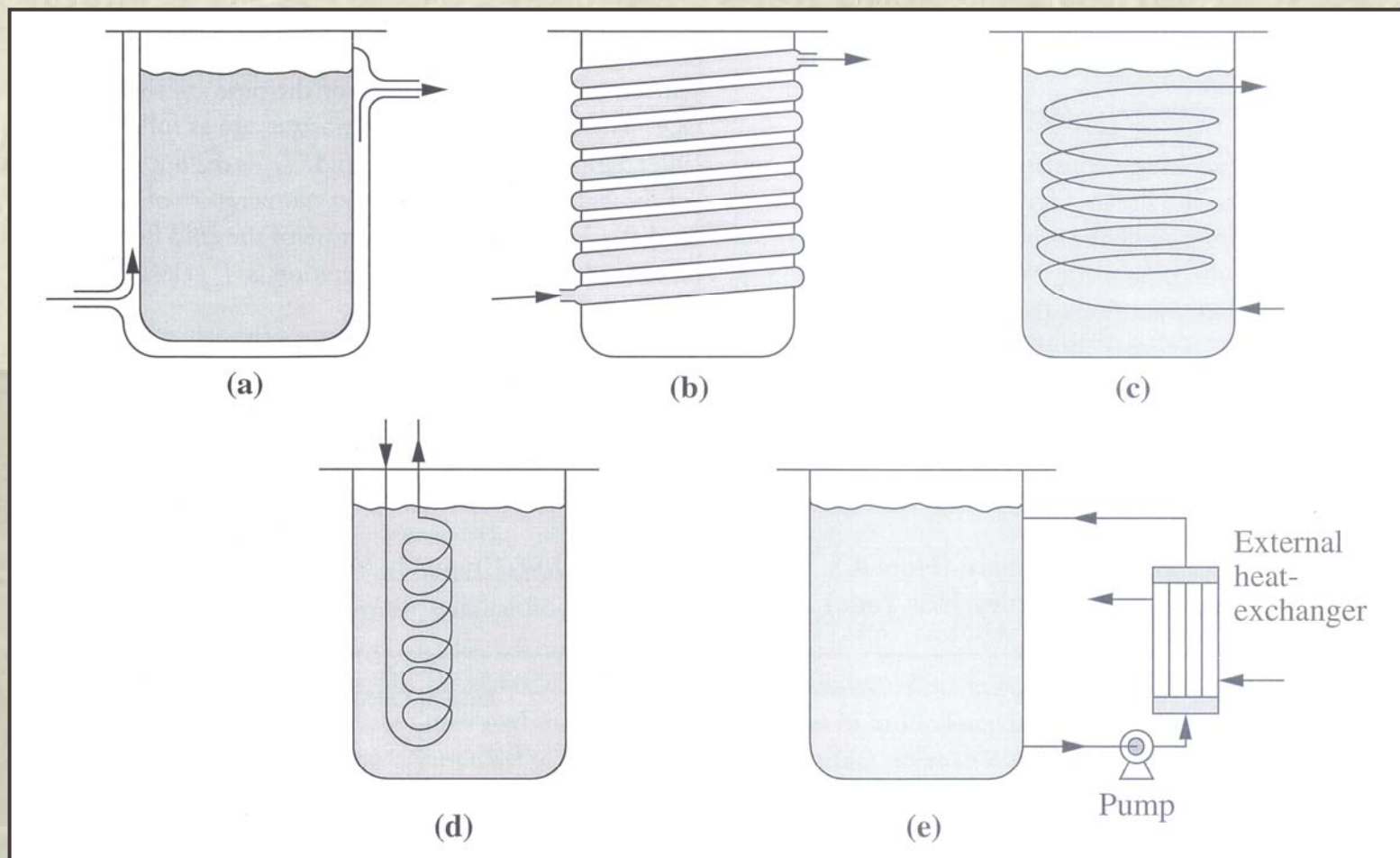
- prepihavanje z zrakom
- mehansko mešanje in razprševanje mehurčkov
- visoka poraba energije
- pregrade
- lomilci pene
- polnimo 70-80 % volumna
- temperaturna regulacija
- uporaba za encimske in mikrobiološke reakcije



Slika 3. 4: Tipični mešalni bioreaktor za aerobne kulture



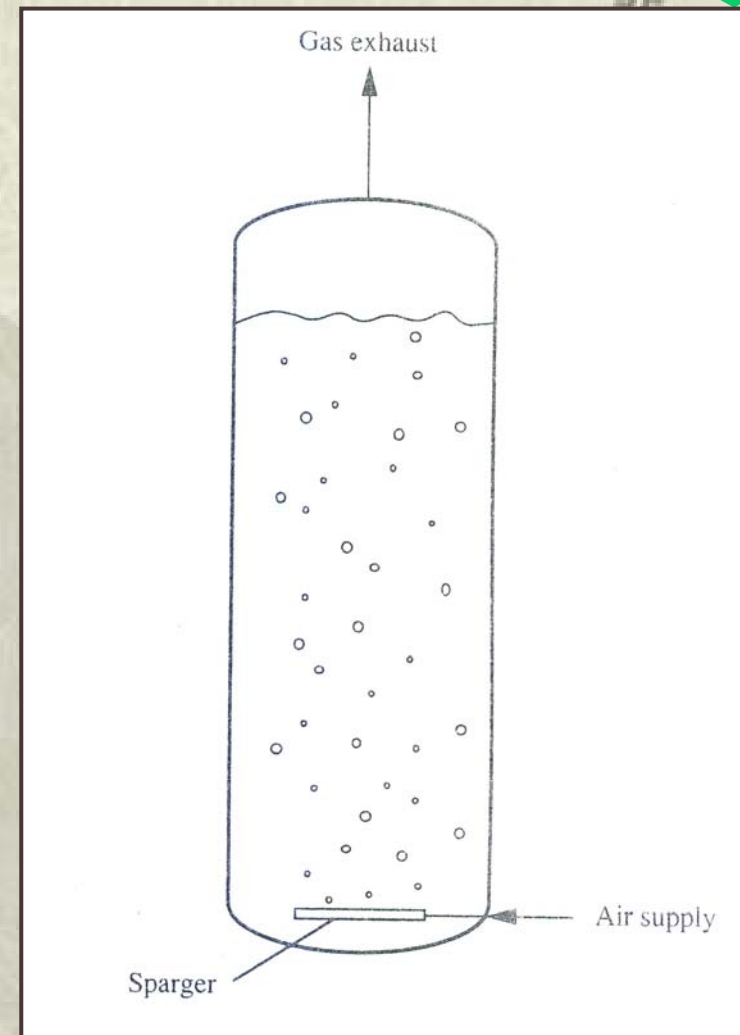
Slika 3.5: Mešalni bioreaktor v praksi.



Slika 3.6: Različne možnosti prenosa toplote v bioreaktorjih.

Kolonski bioreaktor (bubble column)

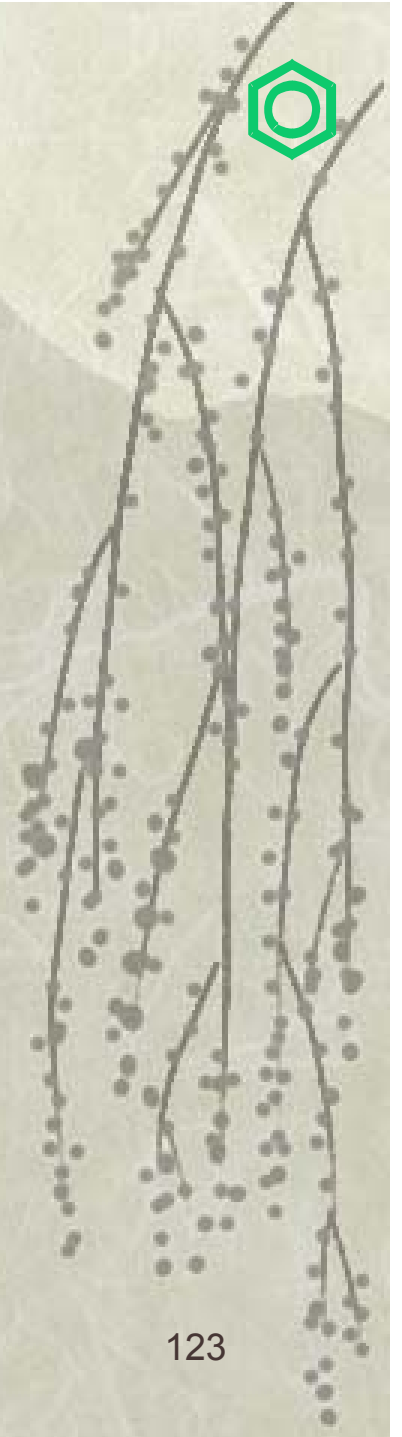
- alternativa mešalnemu
- brez mešanja
- razprševanje mehurčkov
- različni režimi gibanja toka
- majhna poraba energije
- dober snovno/toplotni prenos
- nizka investicija
- uporaba za proizvodnjo kvasa, piva, vina, za čiščenje odpadne vode

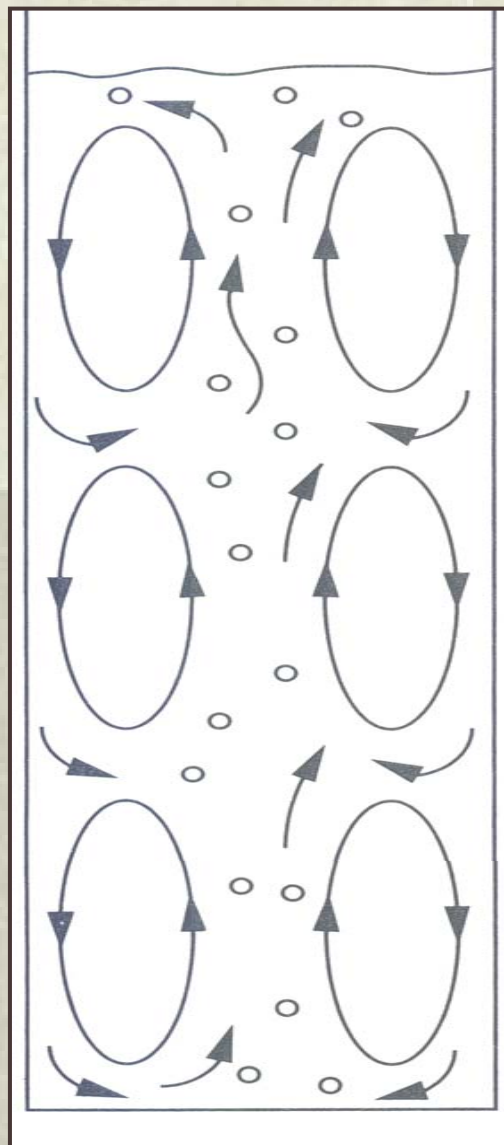


Slika 3.7: Kolonski bioreaktor.



Slika 3.8: Eksperimentalni kolonski bioreaktor.





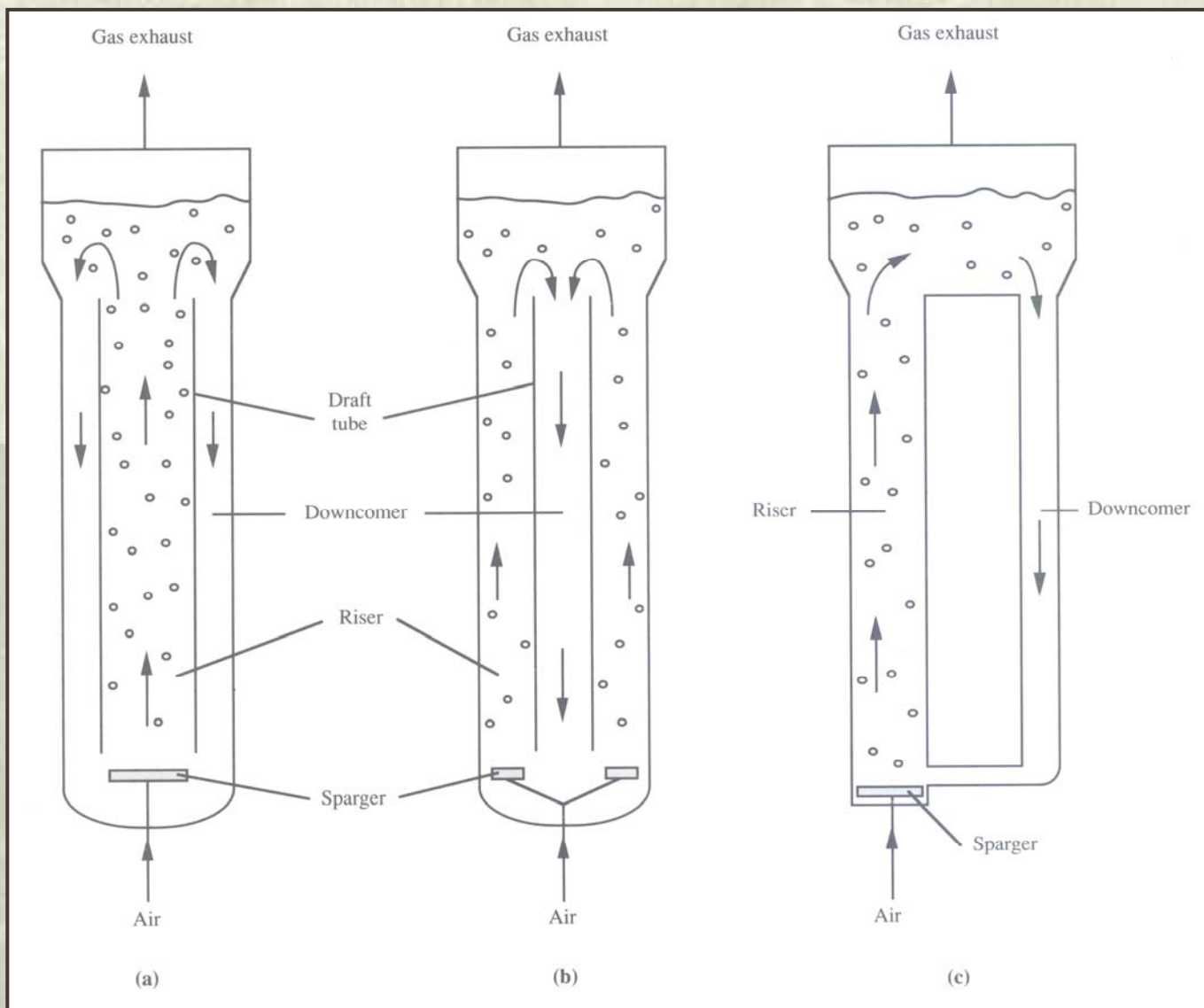
Slika 3.9: Heterogeni tok v koloni z mehurčki.





Bioreaktor z dvigovanjem zraka (Airlift bioreactor)

- ni mešanja
- uporaba za proizvodnjo enoceličnih proteinov iz metanola za vzgojo živalskih in rastlinskih celic in za čiščenje odpadnih vod)
- boljše definirani načini toka tekočine in mešanje kot pri kolonskem bioreaktorju.
- $h = 10 d$



Slika 3.10: Različne oblike reaktorja z dvigovanjem zraka.

This Air Lift Bioreactor Vessel is specifically designed for animal and mammalian cell production. Some cell lines are so fragile in culture that any type of mechanical impeller will shear them. A serious alternative to an impeller driven bioreactor system is one which uses forced air to circulate the cells and growth media.

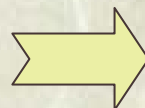


Slika 3.11: Serijski bioreaktor z dvigovanjem zraka

Primerjava treh tipov reaktorjev



Tekočine z nizko viskoznostjo



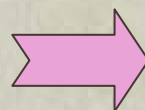
Mešalni bioreaktor
Kolonski bioreaktor
Bioreaktor z dvigovanjem zraaka

Veliki fermentorji



Kolonski bioreaktor

Tekočine z visoko viskoznostjo



Mešalni bioreaktor

Močno eksotermne reakcije



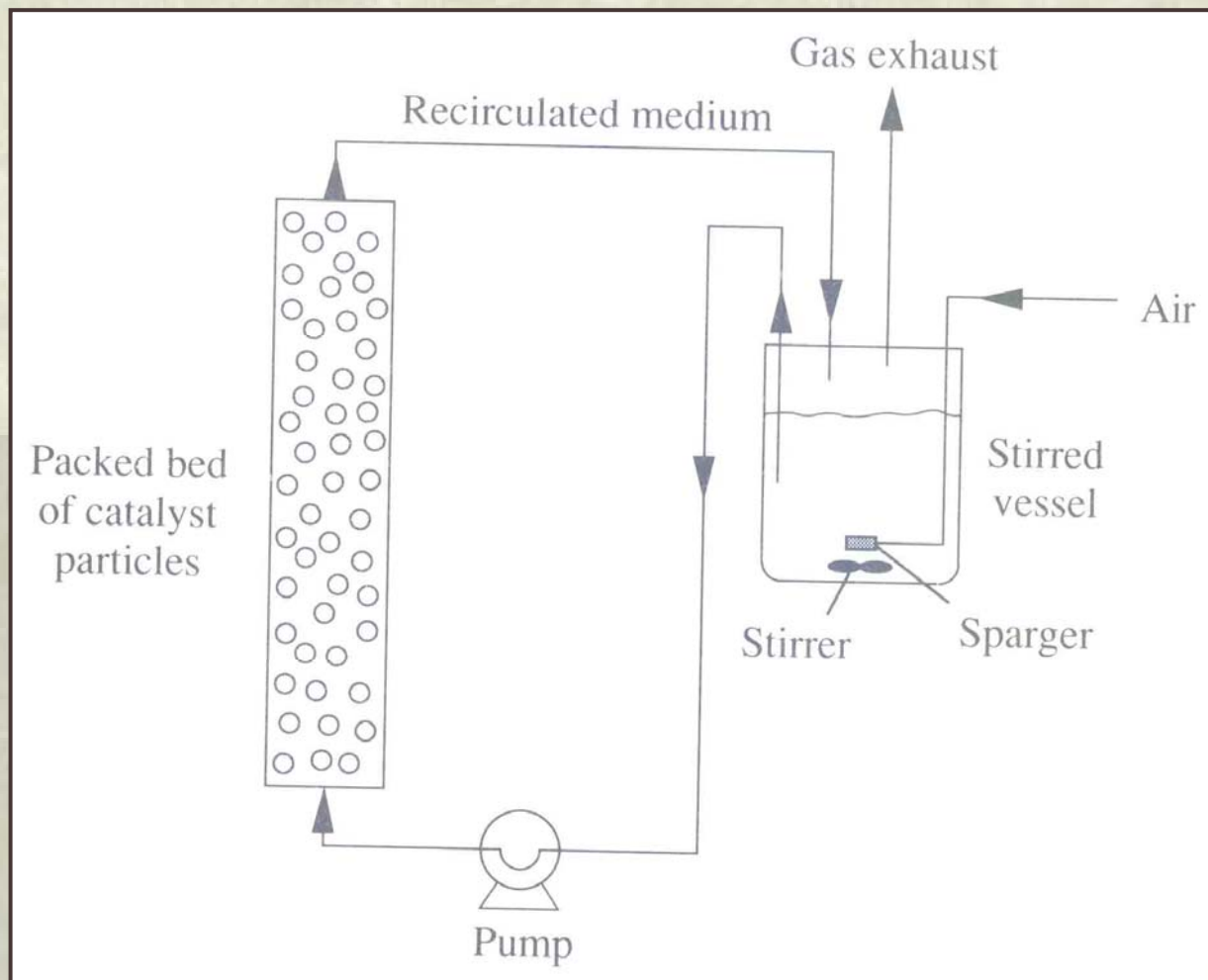
Bioreaktor z dvigovanjem zraaka

Posebni tipi bioreaktorjev



Bioreaktor z nasutjem (Packed bed)

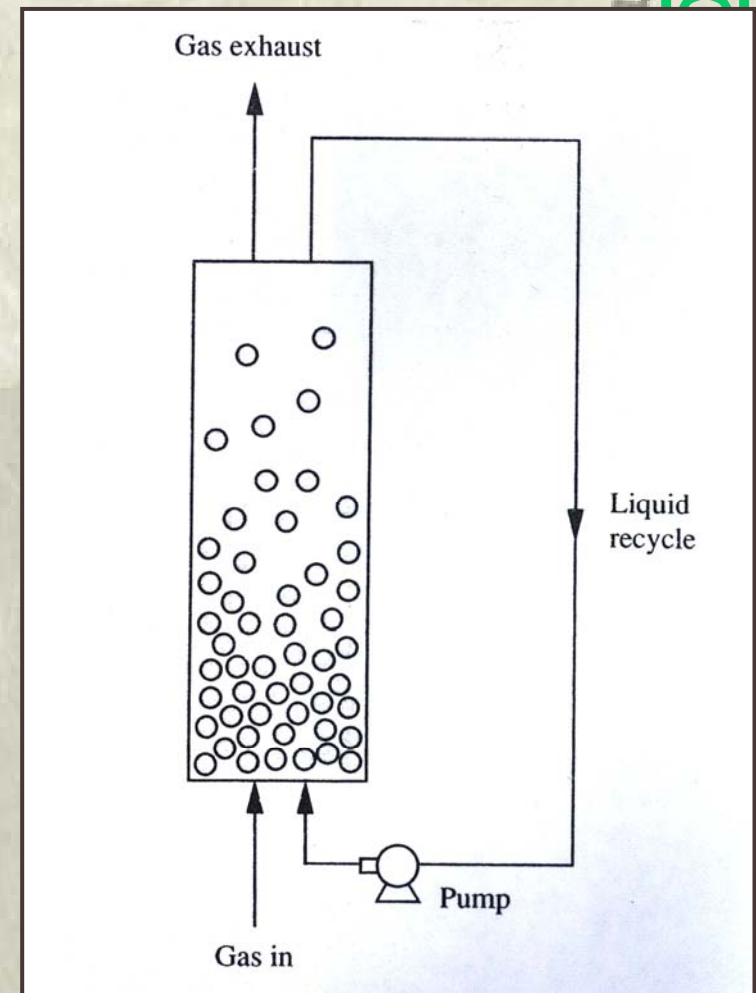
- z imobiliziranimi ali specifičnimi biokatalizatorji
- minimalne poškodbe delcev biokatalizatorja
- uporaba za proizvodnjo fumarata, aspartata, presnovo penicilina v 6-aminopenicilansko kislino
- obratovanje z obtokom
- aeracija v ločeni posodi
- neprimeren za procese z velikimi količinami plinov



Slika 3.12: Bioreaktor z nasutjem in obtokom medija.

Bioreaktor s fluidizirano plastjo

- varianta bioreaktorja z nasuto plastjo
- tekočina vstopa na dnu, nasutje se razširi
- ni segregiranja delcev katalizatorja
- ne ustvarjajo se kanali
- uporaba za čiščenje odpadne vode s peskom, pri proizvodnji piva in vina

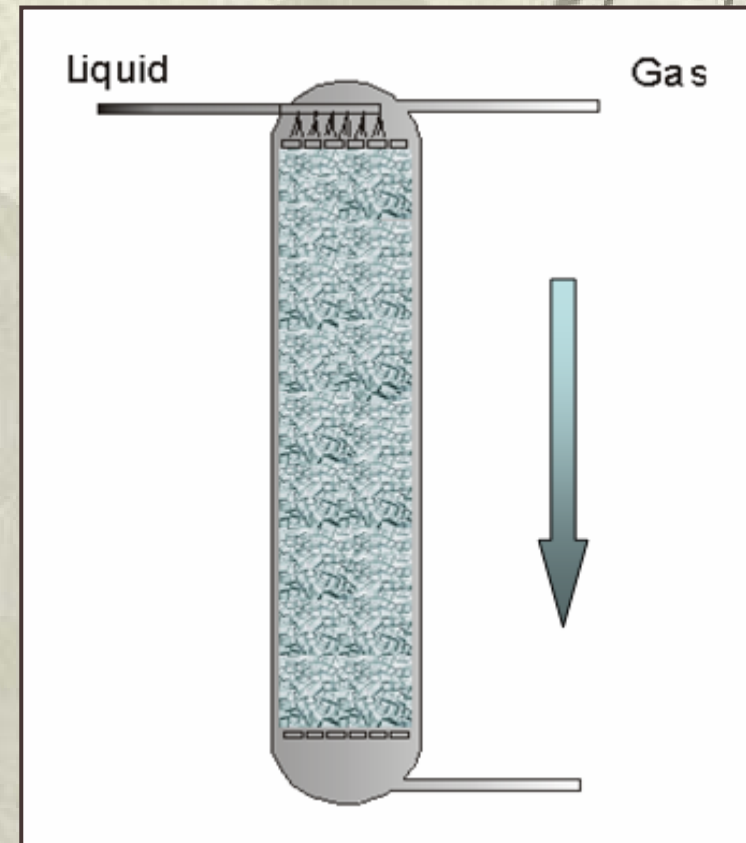


Slika 3.13: Bioreaktor s fluidizirano plastjo



Kapljalni bioreaktor (Trickle bed)

- varianta bioreaktorja z nasuto plastjo
- razprševanje tekočine na vrhu
- zrak uvajamo na dnu ali na vrhu



Slika 3.14: Kapljalni bioreaktor



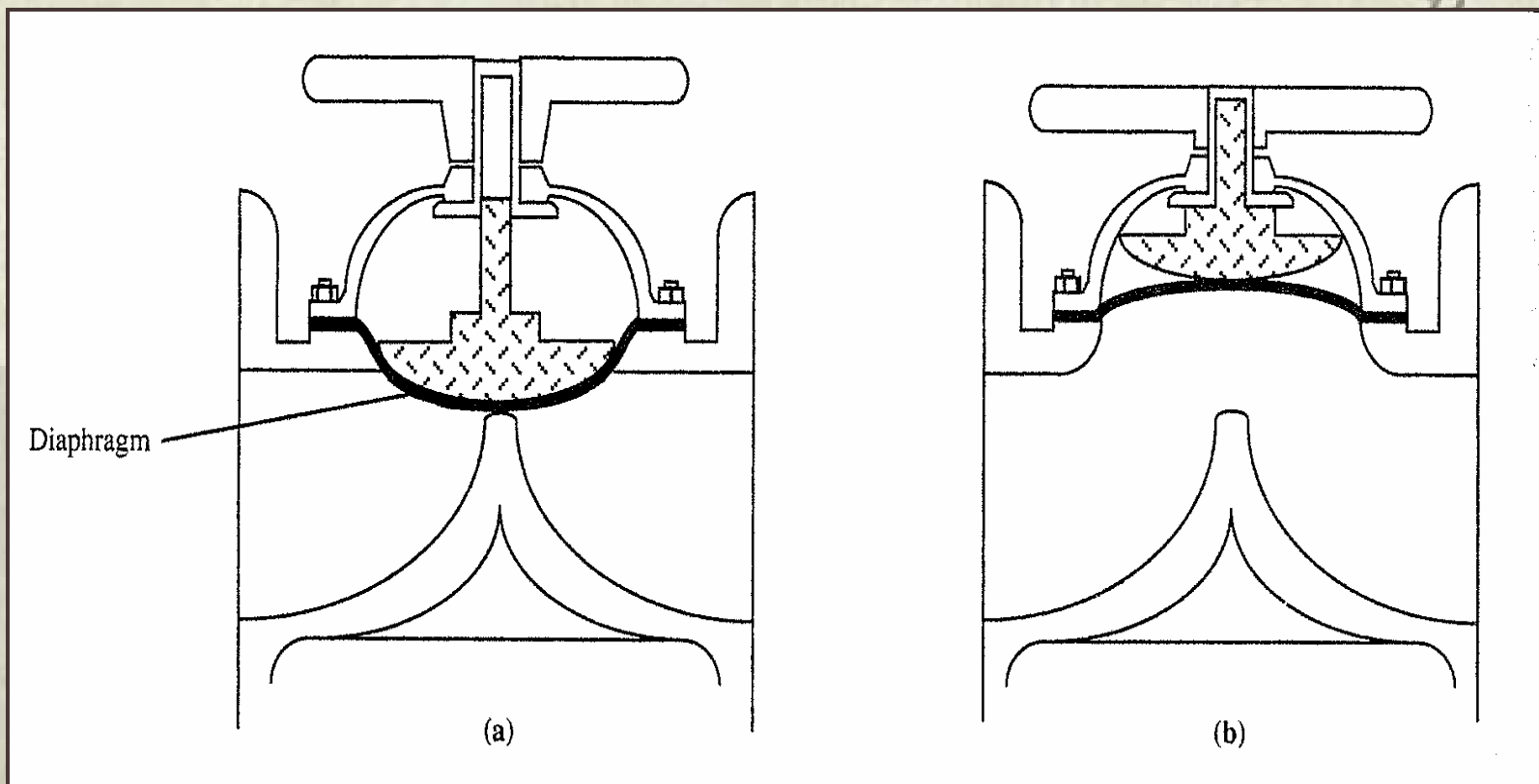
Posebnosti pri konstruiranju bioreaktorjev

- nerjavno jeklo
- do $p = 3$ bar in $T = 150\text{--}180$ °C
- odprtina za vzdrževanje
- ogledalo za opazovanje notranjosti
- nastavki za doziranje na glavi reaktorja
- nastavki za senzorje s strani
- mešalo na vrhu ali spodaj



Sterilno obratovanje

- *in situ* sterilizacija pod tlakom
- brez potencialnih zastojnih predelov
- po sterilizaciji dotok sterilnega zraka
- varovalni filtri
- posebna pozornost namenjena odprtini za mešalo
- posebni ventili z diafragmami

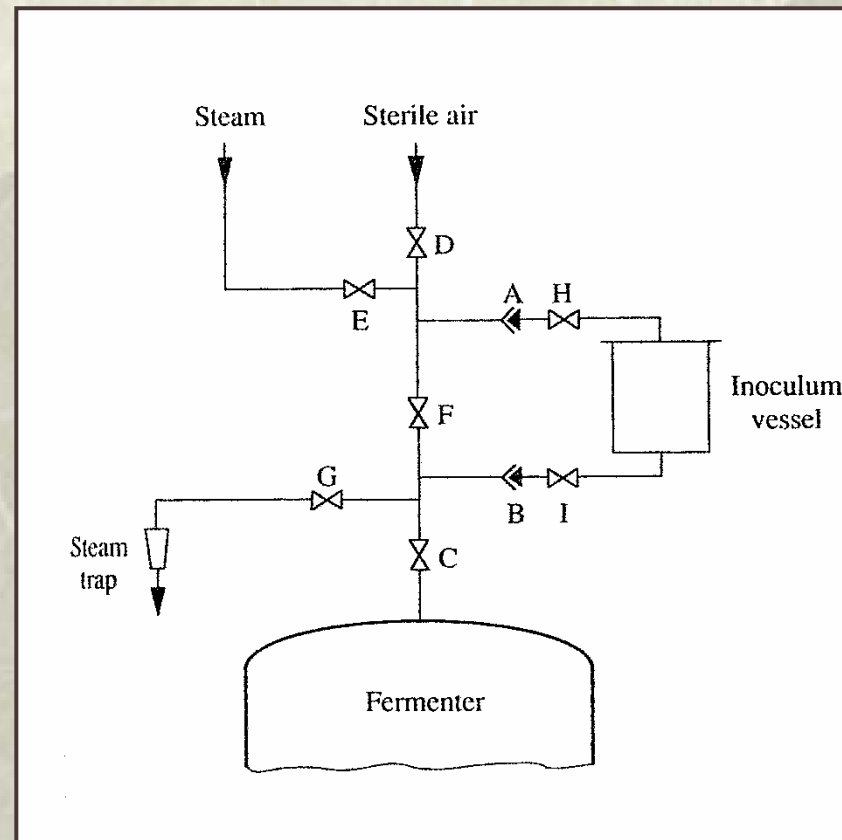


Slika 3.15: Ventil z diafragmo (zaprta in odprta lega).



Inokulacija in vzorčenje v fermentorju

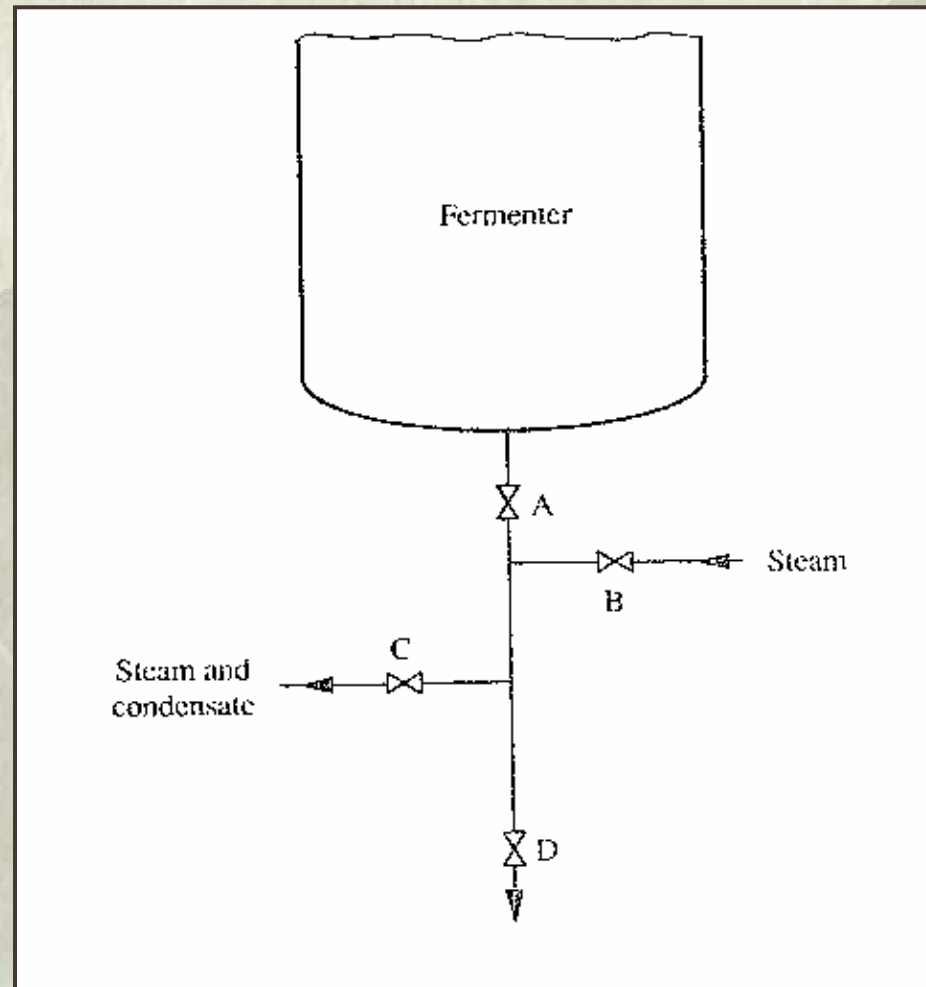
- inokulum se v velike fermentorje prenaša iz majhnih reaktorjev



Slika 3.16: Ventili in povezave za aseptični prenos inokuluma v fermentor.



- nastavki za vzorčenje so na fermentorju



Slika 3.17: Ocevje in ventili za preprosto vzorčenje.



Konstrukcijski materiali

- vzdržati morajo ponavljajoče sterilizacije in čiščenja
- ne smejo biti reaktivni
- steklo za fermentorje do $V = 30$ L, glava iz nerjavnega jekla
- večina velikih fermentorjev je iz korozijsko odpornega jekla
- manj odporno jeklo za površine, ki niso v stiku z ferm.medijem
- Cu materialov ne uporabljamo
- notranjost fermentorjev je spolirana
- zvarjeni deli so predhodno prevlečeni z osnovnim premazom
- zaželeno elekropoliranje



Načrtovanje razprševalcev zraka

- razprševalci, mešala in ovire določajo učinkovitost mešanja in prenosa kisika v mešalnih bioreaktorjih
- trije osnovni **tipi razprševalcev**:





Monitoring fermentacije

Stanje fermentacijskega procesa zasledujemo z merjenjem kritičnih spremenljivk procesa:

Tabela 3.1: Kritični parametri bioprocasa.

<i>Physical</i>	<i>Chemical</i>	<i>Biological</i>
Temperature	pH	Biomass concentration
Pressure	Dissolved O ₂	Enzyme concentration
Reactor weight	Dissolved CO ₂	Biomass composition
Liquid level	Redox potential	(such as DNA, RNA, protein, ATP/ADP/AMP, NAD/NADH levels)
Foam level	Exit gas composition	Viability
Agitator speed	Conductivity	Morphology
Power consumption	Broth composition	
Gas flow rate	(substrate, product, ion concentrations, etc.)	
Medium flow rate		
Culture viscosity		
Gas hold-up		

5. Tehnološke zahteve pri načrtovanju bioreaktorjev



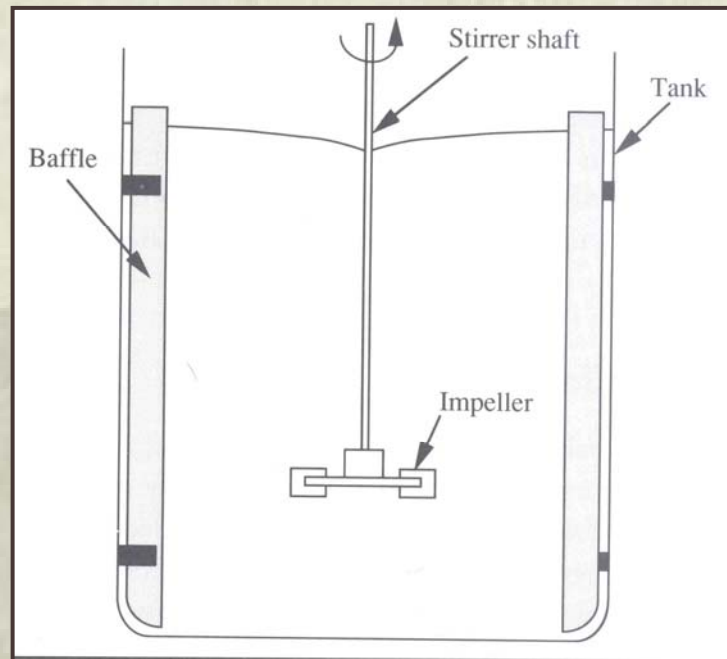
5.1. Mešanje

Je fizikalna operacija, ki zmanjšuje neenakomernosti fluida z odpravljanjem koncentracijskih, temperaturnih in drugih gradiendov.

Mešanje vsebuje:

- mešanje topnih komponent medija (sladkorjev)
- dispergiranje plinov po tekočini v obliki mehurčkov
- dispergiranje nemešljivih tekočin
- zagotavlja toplotni prenos v ali iz tekočine

Oprema za mešanje



Slika 3.18: Tipična oblika mešalnega bioreaktorja

- Običajno cilindrična posoda
- Dno z zaobljenimi robovi
- Razmerje premer posode: premer mešala je 3:1
- Motorni pogon mešala.

Učinek vrtečega mešala



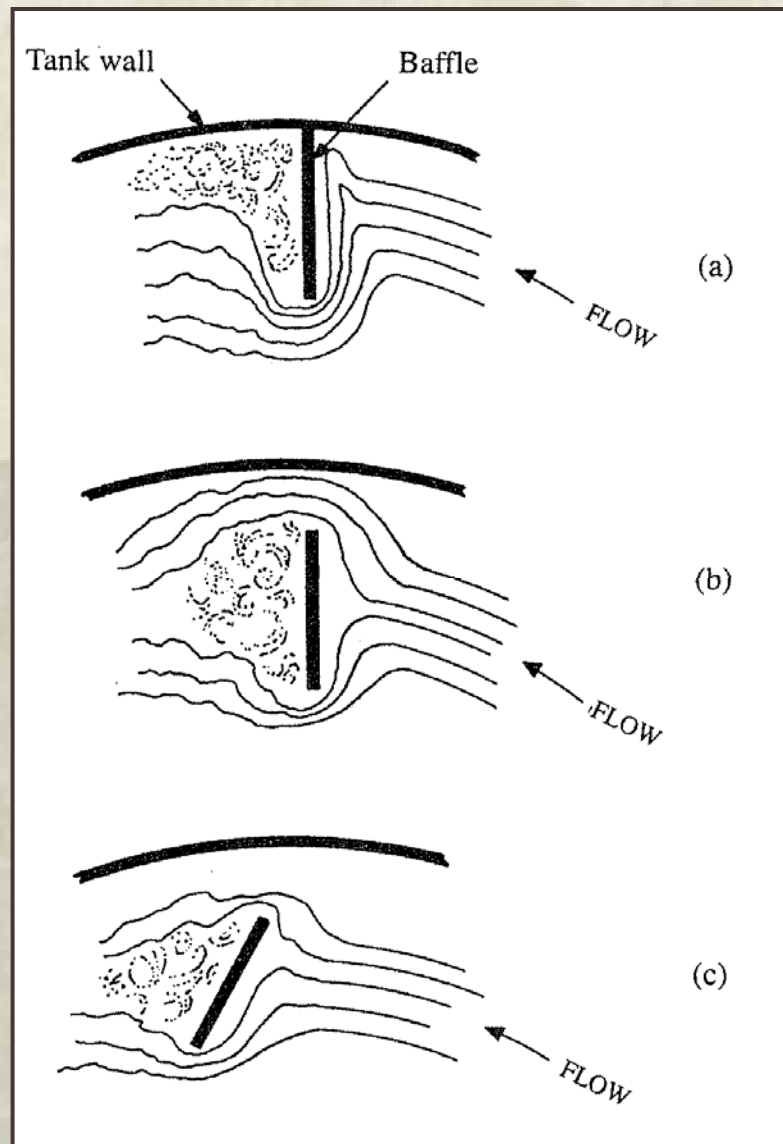
Črpanje tekočine in ustvarjanje enakomernega tokovnega režima

Učinek pregrad



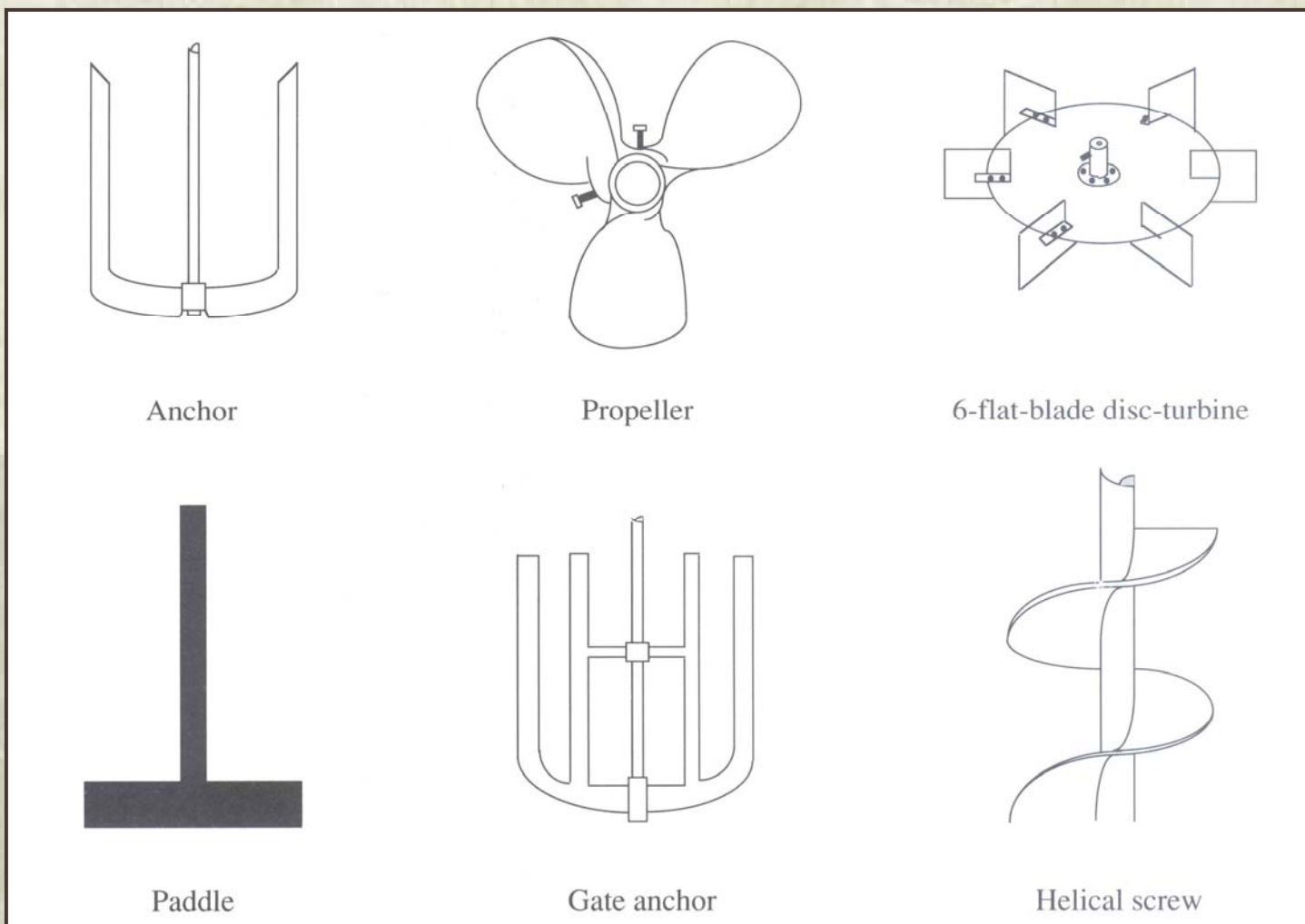
Preprečevanje ustvarjanja trombe in vrtinčenja tekočine





Slika 3.19: Različni načini pritrditve pregrad





Slika 3.20: Vrste mešal.

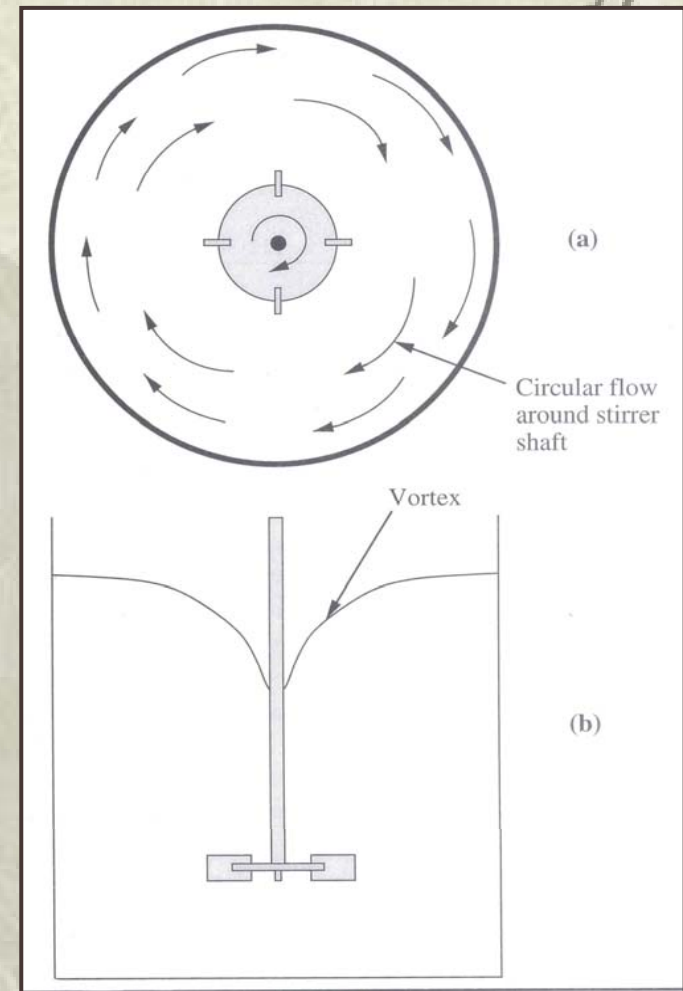


Tokovni režimi v mešalnih bioreaktorjih

So odvisni od:

- vrste mešala
- lastnosti tekočine
- velikosti in geometrijskih dimenzij posode
- pregrad

Izogibamo se krožnega toka



Slika 3.21: Krožni tok v mešalnem reaktorju brez pregrad



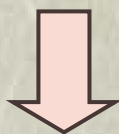
Poleg krožnega toka se pojavlja še gibanje tekočine v

Radialni smeri

Aksialni smeri

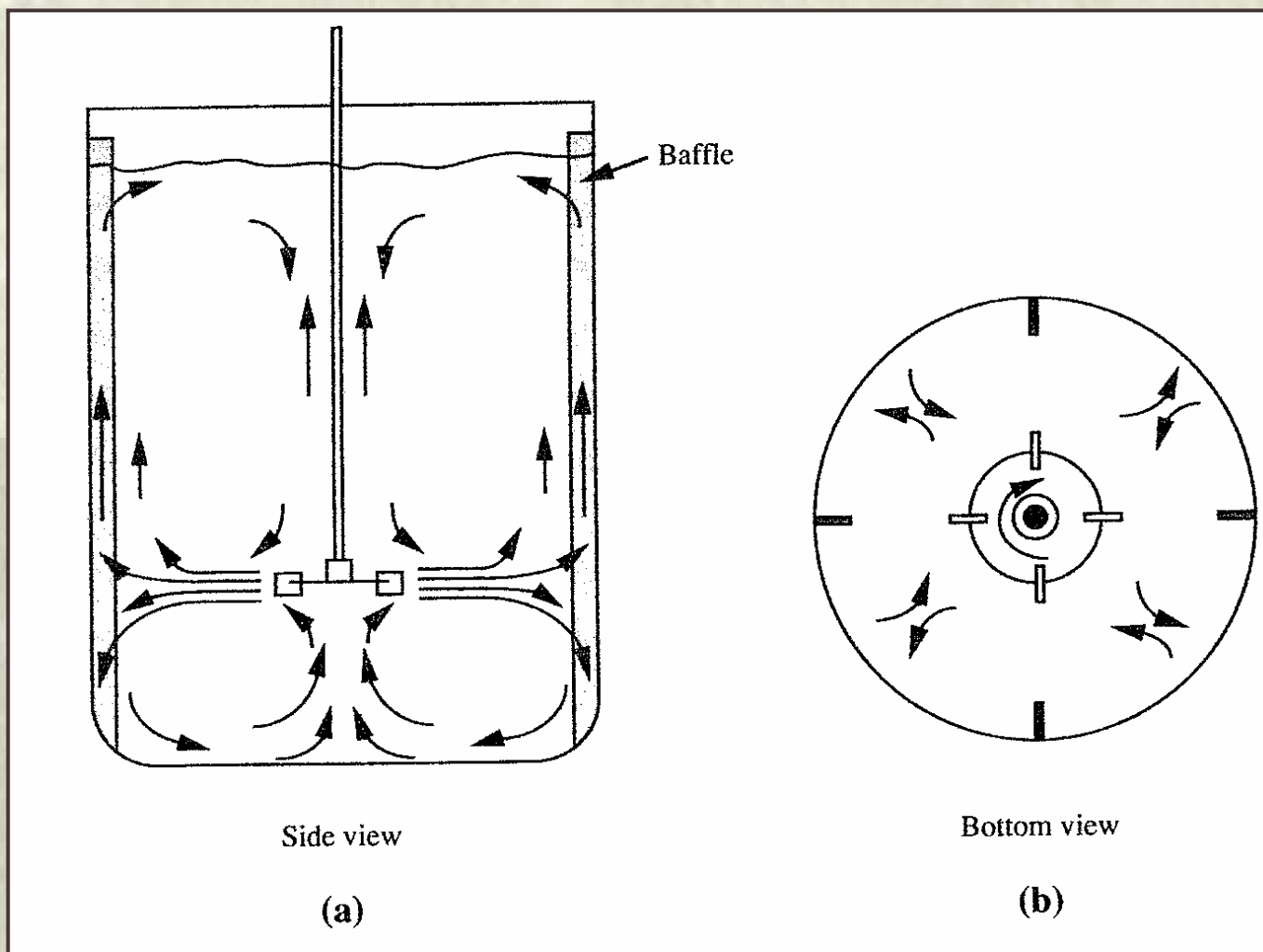
(od mešala k steni)

(gor in dol po posodi)

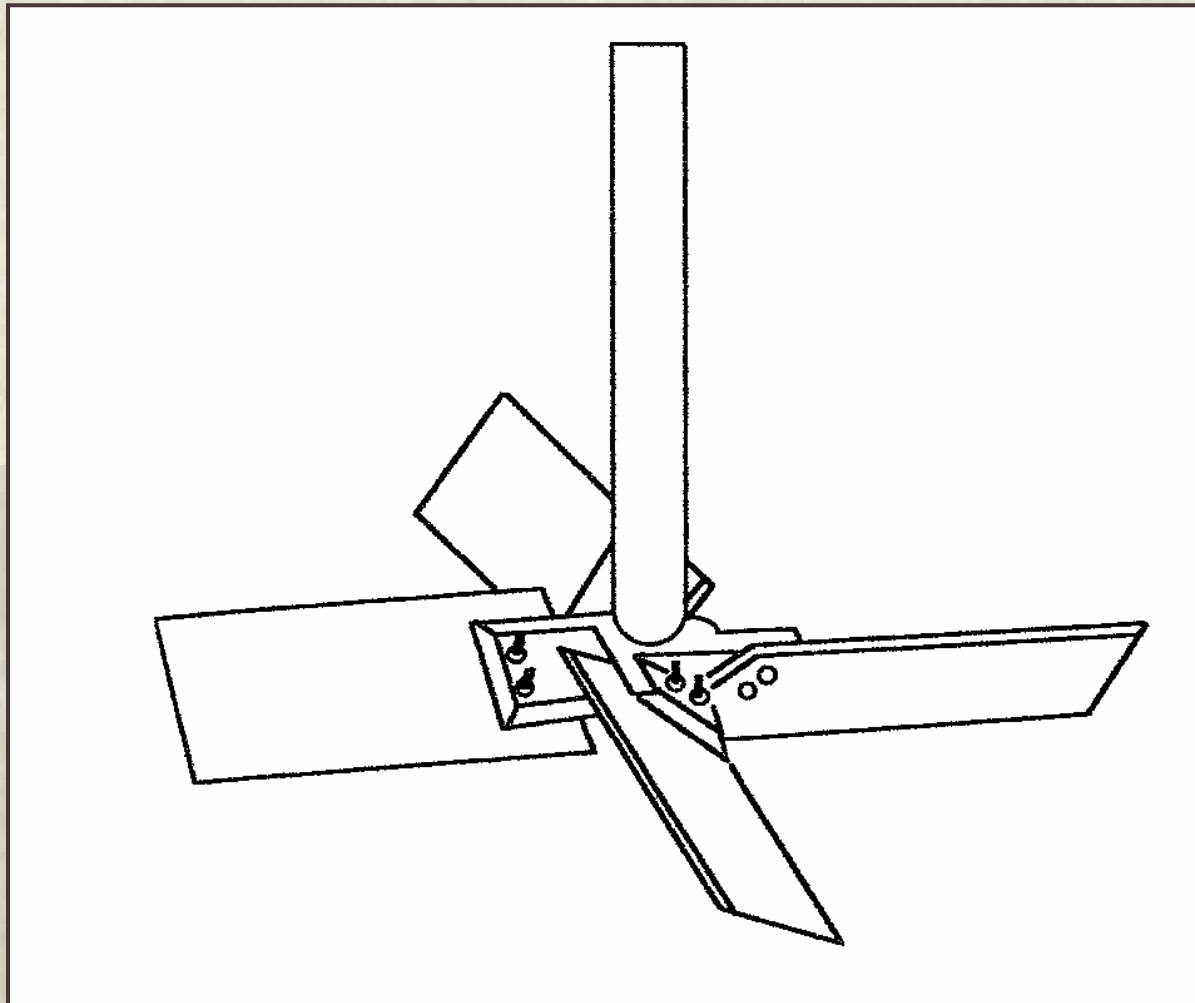


Lopatice vzporedno z osjo mešala

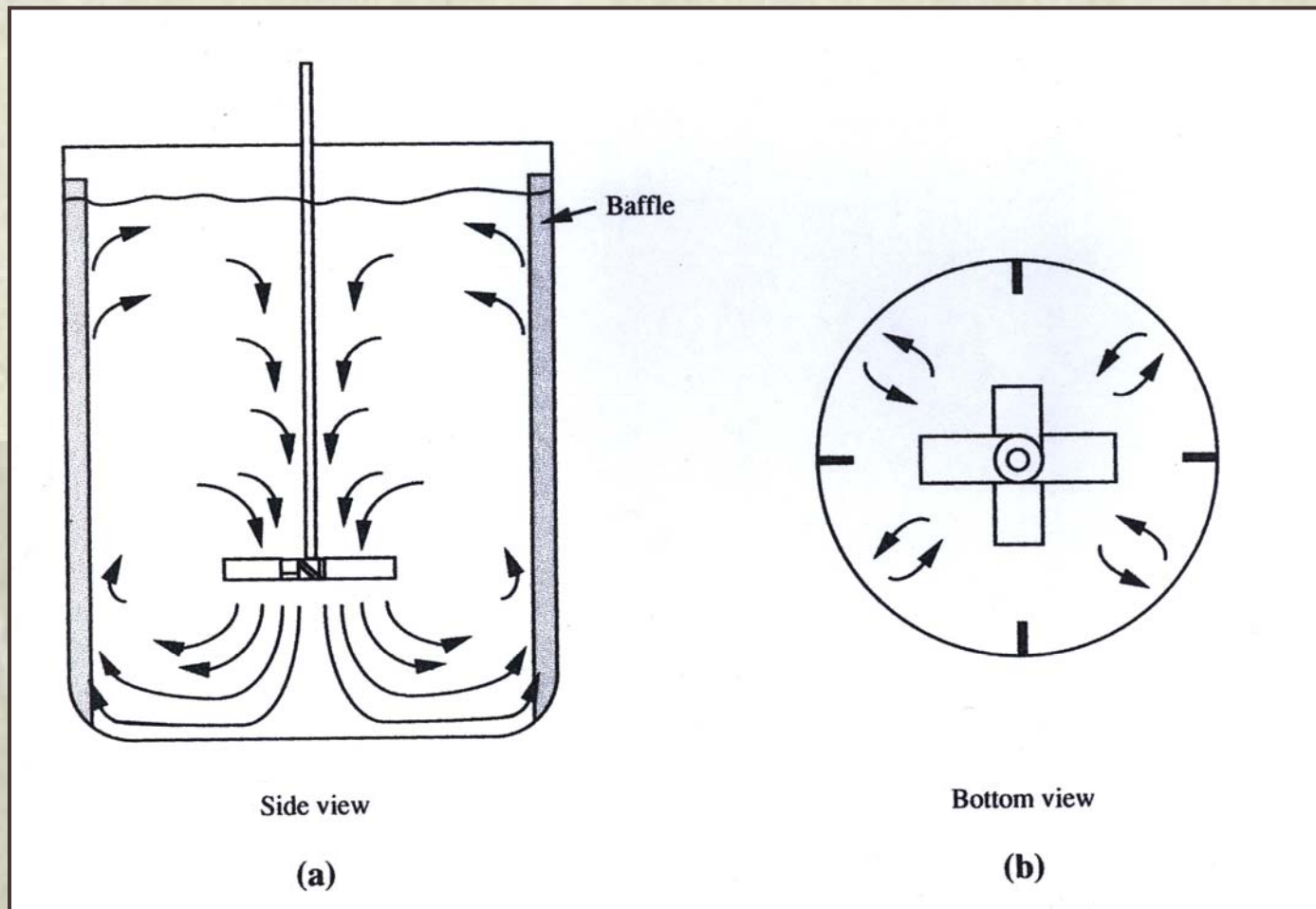
Lopatice pod kotom



Slika 3.22: Radialni tok



Slika 3.23: Turbinsko mešalo s poševno nameščenimi lopaticami



Slika 3.23: Aksialni tok



Mehanizmi mešanja

Učinkovito mešanje

Tekočina mora zajeti vse
točke posode v določenem
času

Dovolj velika hitrost gibanja tekočine

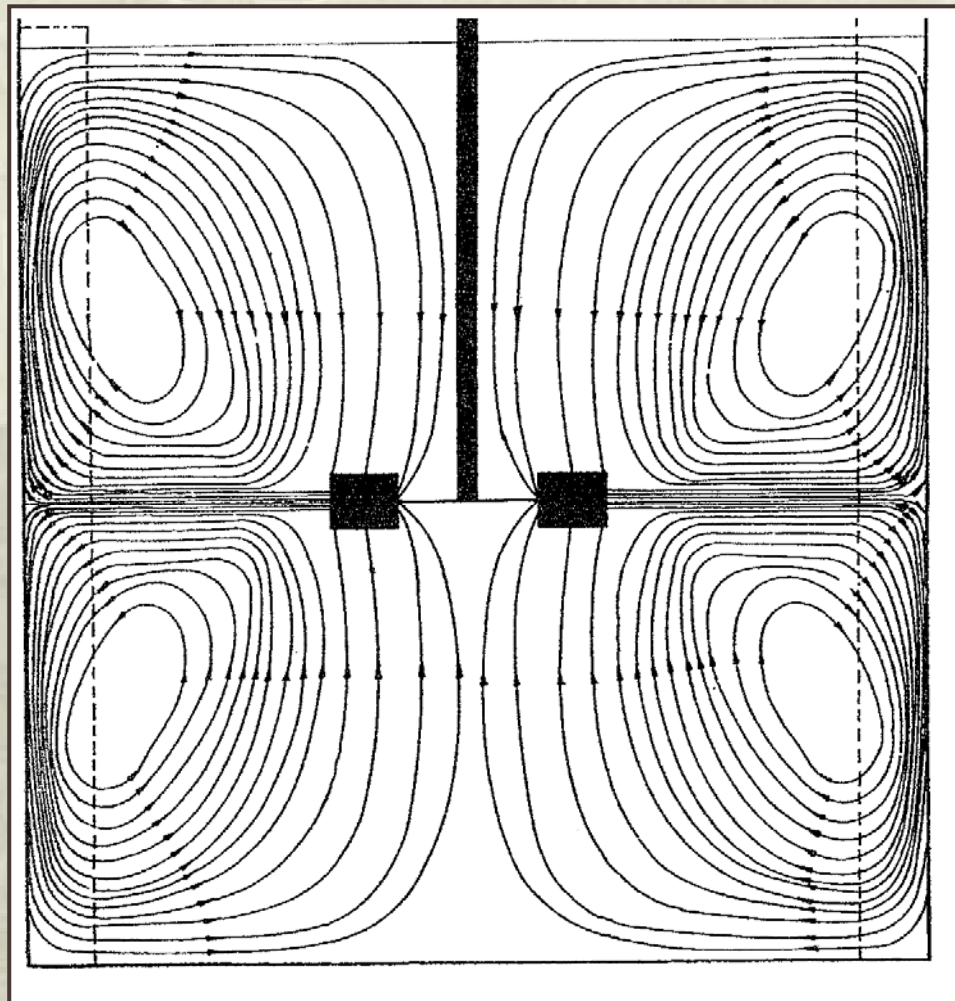
Obvezna turbolenca

Mešanje opišemo s kombinacijo treh fizikalnih lastnosti:

porazdelitev

disperzija

difuzija

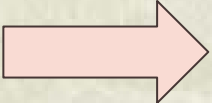


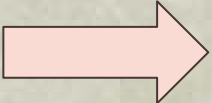
Slika 3.24: Tokovni režim radialnega mešala





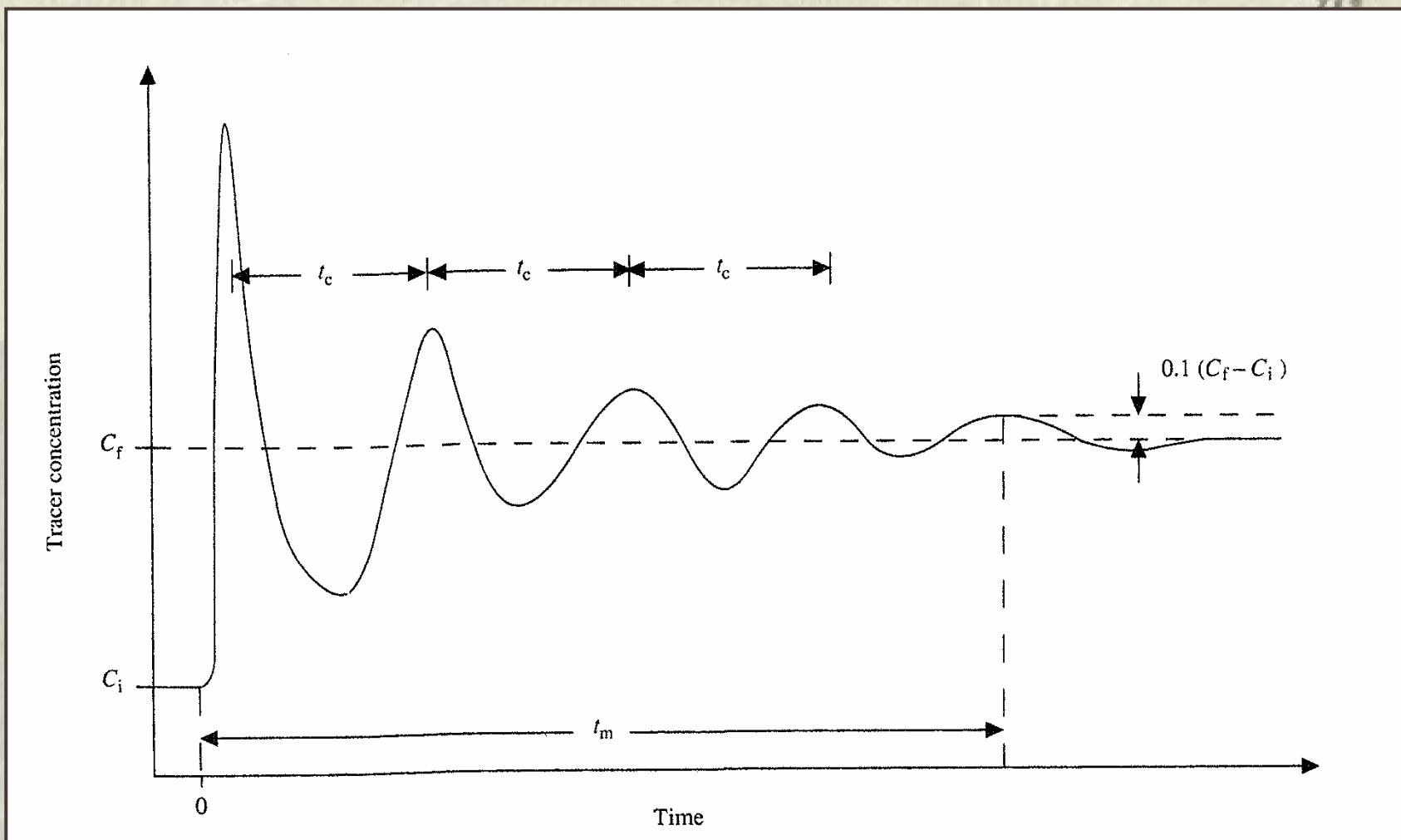
Določanje učinkovitosti mešanja

Hitro mešanje  Učinkovito kroženje medija na makro in mikro nivoju

Čas mešanja
(t_m)  Uporaben parameter za določanje učinkovitosti mešanja v fermentorjih

Čas mešanja je čas, ki je potreben za dosego zahtevane stopnje homogenosti

Eksperimentalno določanje: **impulzno markiranje**



Slika 3.25: Impulzno markiranje v mešalnem reaktorju



Velja približna zveza med časom mešanja in časom enega obtoka tekočine:

$$t_m = 4 t_c$$

Industrijski mešalni bioreaktorji ($V = 1-100 \text{ m}^3$) imajo mešalni čas 30 – 120 s

Čas mešanja je odvisen od:

- velikosti bioreaktorja in mešala
- lastnosti tekočine
- vrtilne frekvence mešala



Matematične zveze

Izboljšanje mešanja v fermentorjih



Slika 3.26: Stopensko mešalo v fermentorju.

Vsebina predavanj



1. Uvod
2. Osnovni pojmi biokemije
3. Bioreakcijska kinetika
 - 3.1. Encimska kinetika
 - 3.2. Mikrobiološka kinetika
4. Bioreaktorji-vrste
5. Tehnološke zahteve pri načrtovanju bioreaktorjev
 - 5.1. Mešanje
 - 5.2. *Prenos snovi*
 - 5.3. *Prenos toplote*
6. Modeliranje bioreaktorjev-splošno
 - 6.1. Encimska fermentacija
 - 6.2. Mikrobiološka fermentacija
 - 6.3. Pomanjkanje substrata
 - 6.4. Inhibicija s produktom
 - 6.5. Primeri
7. Aerobno in anaerobno čiščenje odpadnih vod



5.2. Prenos snovi

Pomemben pri bioprocesih

Poznamo:

- **snovni prenos trdno-tekoče**
- **snovni prenos tekoče-tekoče**
- **snovni prenos plin-tekoče**

Kisik je kritična komponenta aerobnih fermentacij



Največjo pozornost namenjamo snovnemu prenosu plin-tekoče!

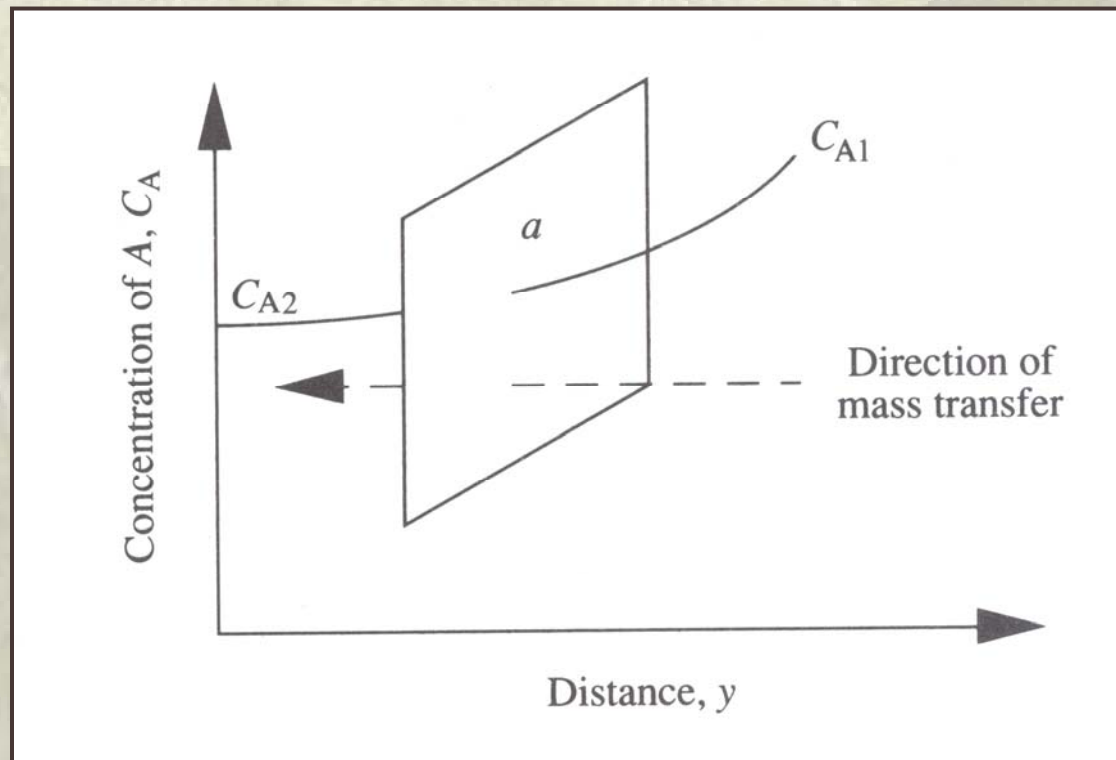
Prenos snovi v bioloških materialih



Težko topni plin (običajno kisik) se iz izvora (zračnega mehurčka) prenese v tekočo fazo, v kateri se nahajajo celice. Kisik mora pri tem prehodu premagati vrsto uporov, katerih velikost je odvisna od hidrodinamike mehurčka, temperature, aktivnosti in gostote celic, sestave raztopine, fenomenov na fazni meji in drugih faktorjev.

Teorija difuzije

- Koncentracija c_A se spreminja in je funkcija razdalje.
- Koncentracijski gradient povzroči **DIFUZIJO**



Slika 4.1: Koncentracijski gradient komponente A in snovni prenos skozi površino a .



Fickov zakon



$$J_A = \frac{N_A}{a} = D_{AB} \frac{dc_A}{dy}$$

Vloga difuzije pri bioprocēsih

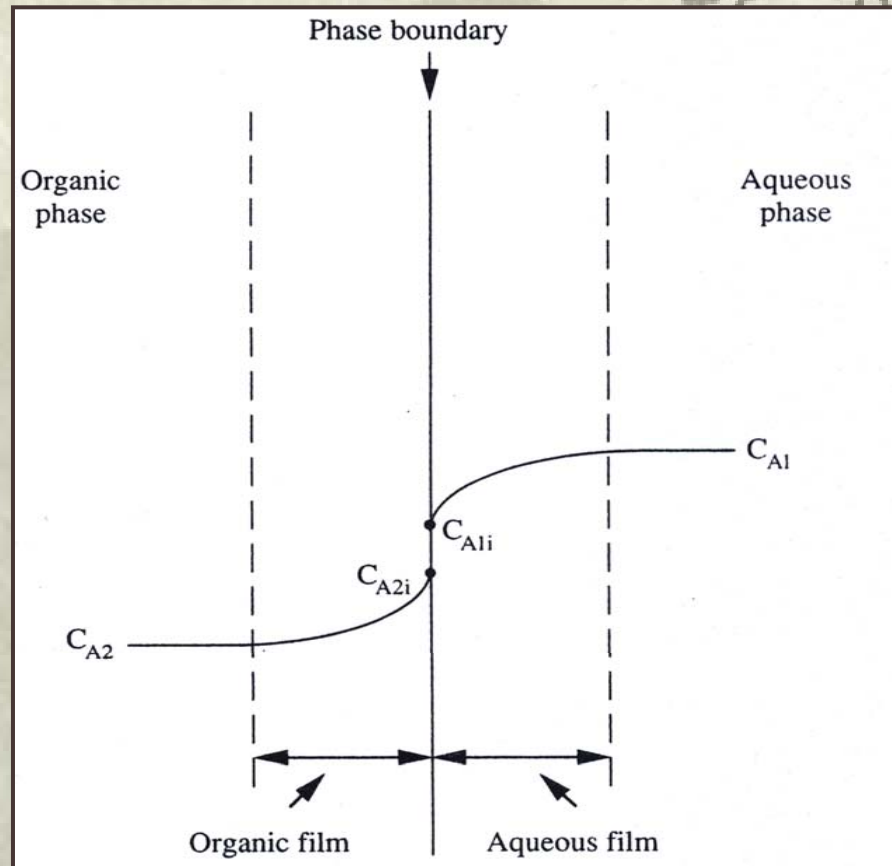
1. *Mešanje na najnižjem nivoju*
2. *Reakcije v trdni fazi*
3. *Snovni prenos na fazni meji*



Teorija dveh filmov

Uporaben model snovnega prenosa med dvema fazama

Teorija je osnovana na ideji, da se meja snovnega prenosa ustvari tam, kjer je kontakt dveh faz



Slika 4.2: Upor filma proti snovnemu prenosu pri dveh nemešljivih tekočinah.

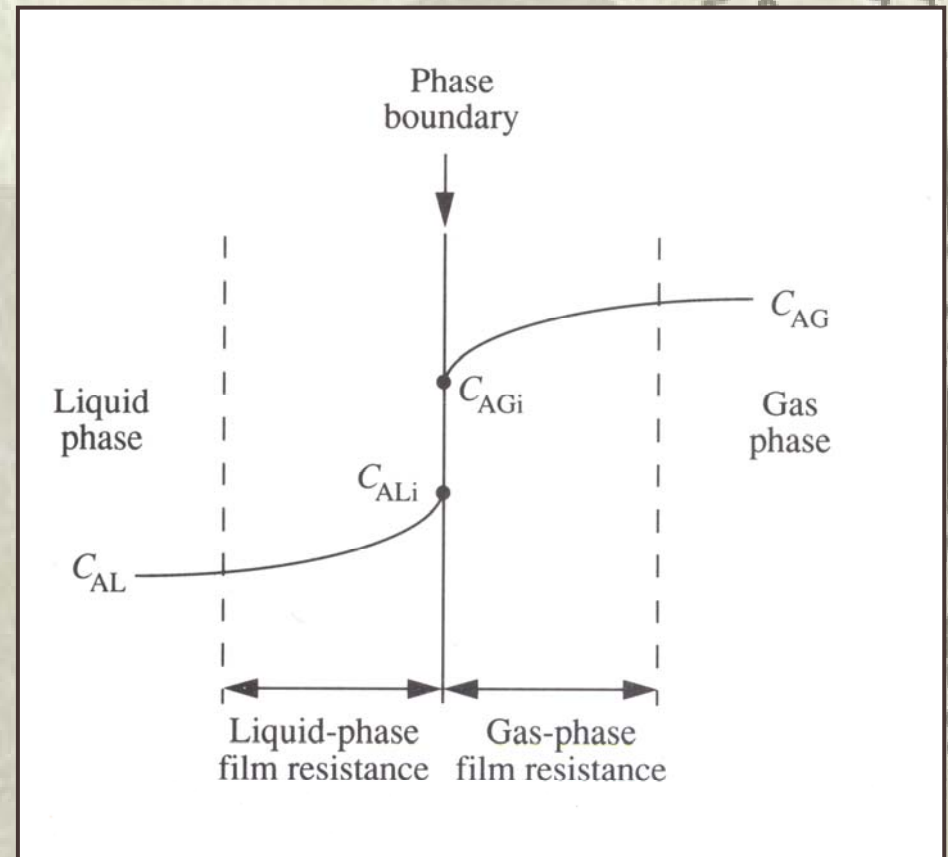


Snovni prenos plin – tekoče

Pomemben v biotehnologiji



Potreba po kisiku pri
aerobnih fermentacijah



Slika 4.3: Koncentracijski gradiendi pri snovnem prenosu plin-tekoče.



Hitrost snovnega prenosa skozi plinski film:

$$N_{AG} = k_G a (c_{AG} - c_{AGi})$$

Hitrost snovnega prenosa skozi tekočinski film:

$$N_{AL} = k_L a (c_{ALi} - c_{AL})$$

V ravnotežju:

$$c_{AGi} = f c_{ALi}$$



Hitrost snovnega prenosa izražena z ravnotežnimi koncentracijami:

$$N_A = K_G a (c_{AG} - c_{AG}^*)$$

ali

$$N_A = K_L a (c_{AL}^* - c_{AL})$$

V realnih sistemih c_{AL} , c_{AG} in f določimo direktno.

Površine snovnega prenosa, a , praktično ne moremo določiti.



Poraba kisika pri mikroorganizmih

$$r_A = k_L a (c_{AL}^* - c_{AL})$$

r_A = hitrost snovnega prenosa kisika na enoto volumna fluida ($\text{mol/m}^3 \text{ s}$)

k_L = koeficient snovnega prenosa v tekoči fazi, m/s

a = površina snovnega prenosa plin-tekočina na enoto volumna, m^2/m^3

c_{AL} = koncentracija kisika v mediju, mol/m^3

c_{AL}^* = koncentracija kisika v mediju, ki je v ravnotežju s plinsko fazo, mol/m^3



Potreba mikroorganizmov po kisiku

Je odvisna od:

- vrste mikroorganizma
- faze rasti mikroorganizma
- narave izvora ogljika v mediju

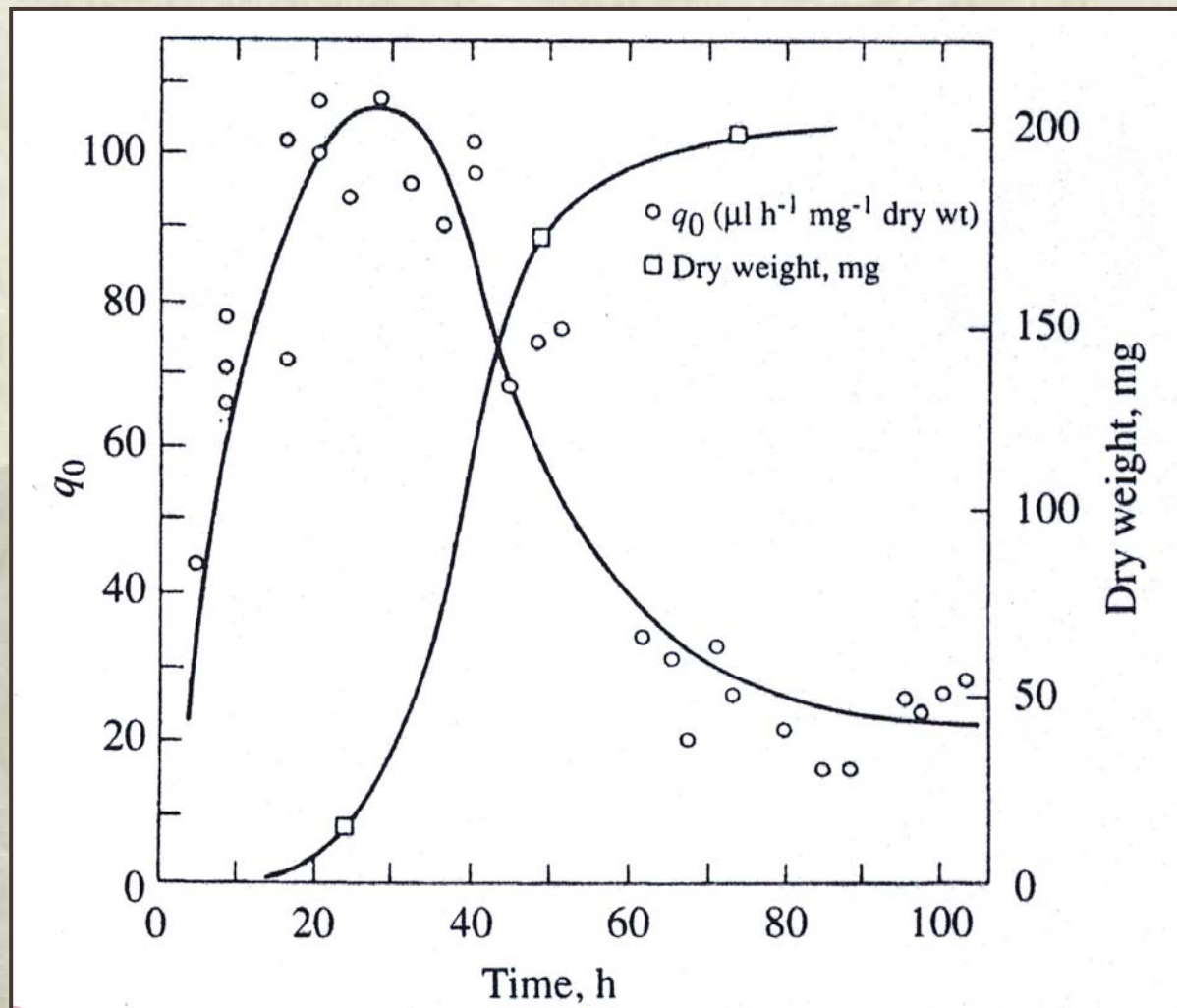
V šaržnih sistemih se hitrost porabe kisika spreminja s časom.

Koncentracija celic se veča in z njo poraba kisika

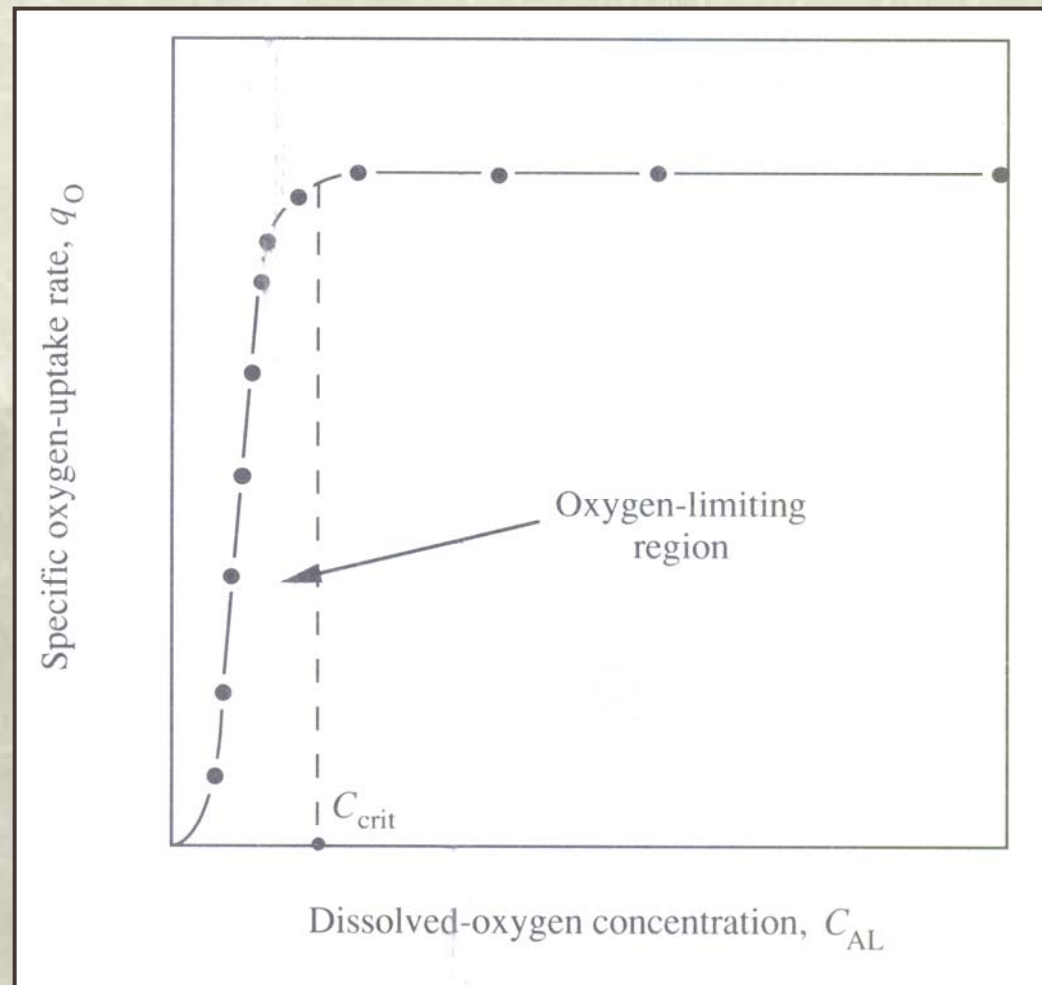
Hitrost porabe kisika posamezne celice se veča

Specifična hitrost porabe kisika

$$Q_{O_2} = q_{O_2} c_X$$



Slika 4.4: Časovno spreminjanje specifične porabe kisika in koncentracije biomase.

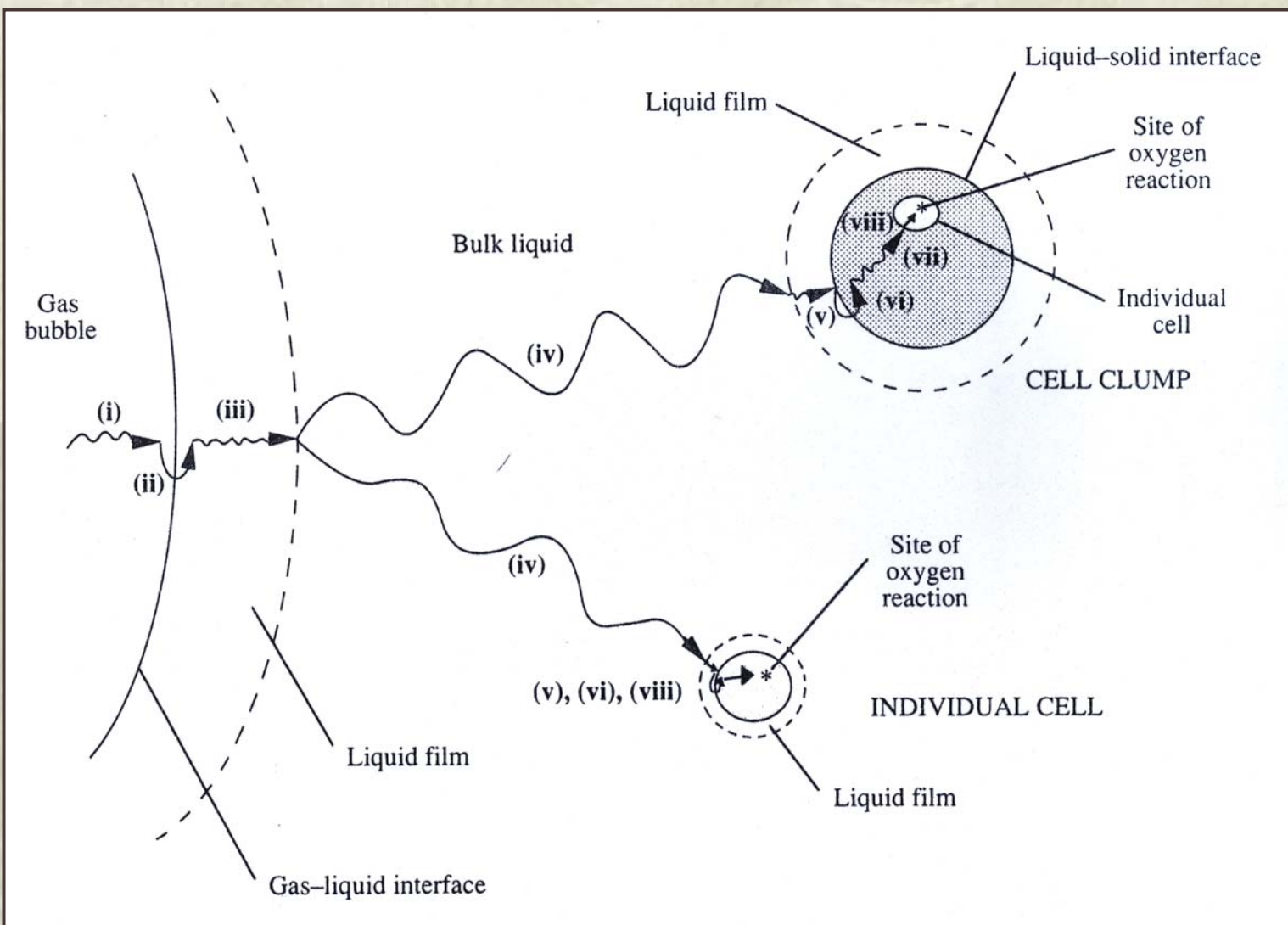


Slika 4.5: Zveza med porabo kisika in koncentracijo raztopljenega kisika.



Prenos kisika iz plinskega mehurčka v celico

- 1. Prenos od notranjosti mehurčka do fazne meje plin-tekoče**
- 2. Gibanje skozi fazno mejo plin-tekoče**
- 3. Difuzija skozi tekočinski film okoli mehurčka**
- 4. Prenos skozi glavno maso tekočine**
- 5. Difuzija skozi tekočinski film okoli celice**
- 6. Gibanje skozi fazno mejo tekoče-celica**
- 7. Difuzija skozi trdni ovoj celice, če le-ta obstaja**
- 8. Prenos skozi citoplazmo do mesta reakcije**



Slika 4.6: Stopnje prenosa kisika iz mehurčka do celice.



Za večino bioreaktorjev velja:

1. Prenos iz glavne mase plinskega mehurčka je hiter.
2. Površina plin-tekoče predstavlja zanemarljiv upor.
3. Tekočinski film okoli mehurčka predstavlja največji upor pri prenosu kisika.
4. V fermentorjih z dobrim mešanjem so koncentracijski gradiendi v tekočini minimalni in upor je majhen.
5. Upor tekočinskega filma okoli celice lahko zanemarimo.
6. Upor na fazni meji tekočina-celica zanemarimo.
7. Upor pri skupku celic je odvisen od njegove velikosti.
8. Upor znotraj celice je zanemarljiv.

Glavni upor proti prenosu kisika predstavlja tekočinski film okoli plinskih mehurčkov!



V stacionarnem stanju velja:

$$k_L a (c_{AL}^* - c_{AL}) = q_{O_2} c_X$$



Enačba omogoča določanje sposobnosti fermentorjev za snovni prenos.

$$c_X = \frac{k_L a c_{AL}^*}{q_{O_2}}$$

Maksimalna koncentracija celic

$$(k_L a)_{\text{krit}} = \frac{q_{O_2} c_X}{(c_{AL}^* - c_{\text{krit}})}$$

Minimalni $k_L a$



Prenos kisika v fermentorjih

Hitrost prenosa kisika je odvisna od mnogih fizikalnih in kemijskih dejavnikov, ki vplivajo na:

- koeficient snovnega prenosa, k_L
- površino snovnega prenosa, a
- gonilne sile snovnega prenosa, $(c_{AL}^* - c_{AL})$



Splošno pravilo: $k_L = (3 - 4) 10^{-4}$ m/s za mehurčke z $d > 2-3$ mm

$$k_L a = (0,02 - 0,25) \text{ s}^{-1}$$



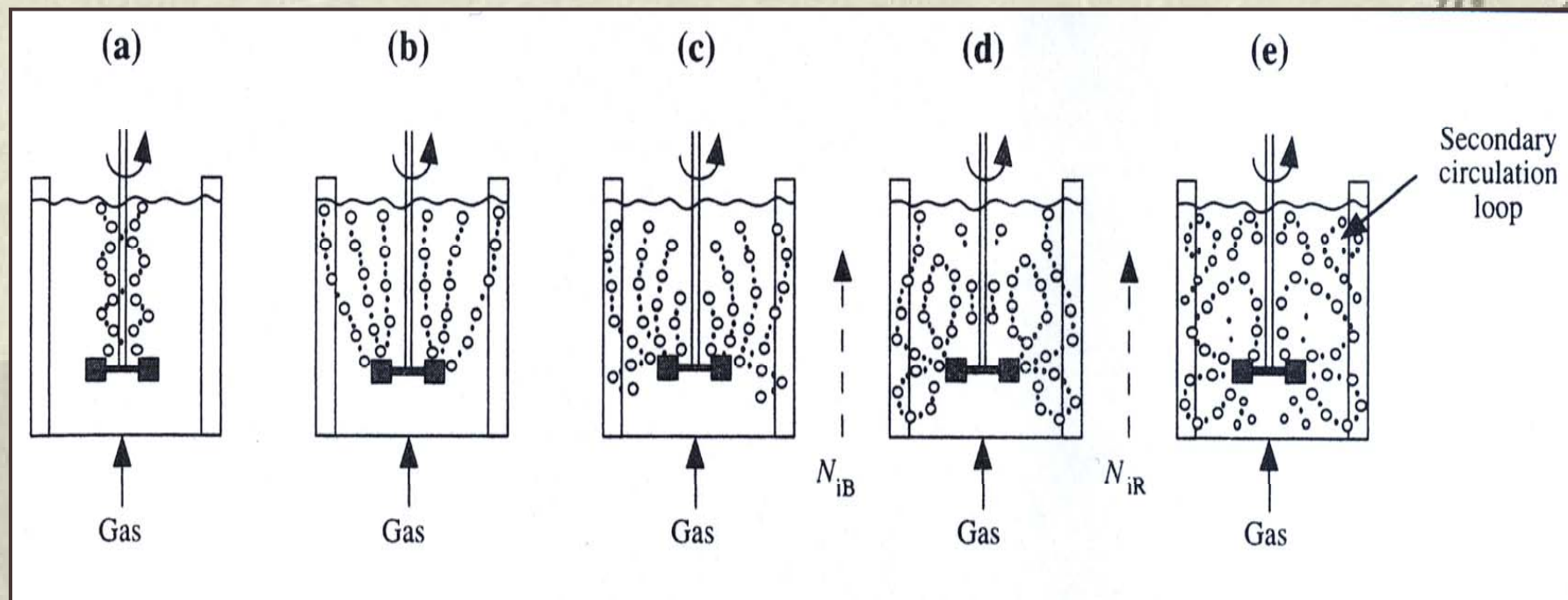
Vpliv mehurčkov na prenos snovi

Najpomembnejša lastnost zračnih mehurčkov je njihova velikost. Cilj načrtovanja bioreaktorja: **Visok nivo dispergiranosti**

Manjši mehurčki  večja površina za snovni prenos
 počasno dvigovanje po fermentorju

Na velikost mehurčkov vplivajo:

- način formiranja mehurčkov
- disperzija plina
- koalescenca



Slika 4.7: Tokovni režimi v mešalnem bioreaktorju kot funkcija vrtilne frekvence mešala in pretoka plina.

Vpliv protipenilnih sredstev na prenos snovi



Pene mašijo odtočne cevi za pline, omogočajo vstop nezaželenim mikroorganizmom, povzročajo izgube volumna bioreaktorja in nižajo metabolično aktivnost celic.



Dodatek protipenil

Protipenila so substance, ki znižajo površinsko napetost mehurčkov in težnjo po koalesciranju. Hkrati znižajo vrednost k_L .

Mehanske metode bolj zaželene od kemijskih



Vpliv temperature na prenos snovi

Topnost kisika

Koeficient snovnega prenosa

Vpliv prisotnosti celic na prenos snovi

- vrsta organizma
- morfologija organizma
- koncentracija organizmov

Merjenje koncentracije raztopljenega kisika

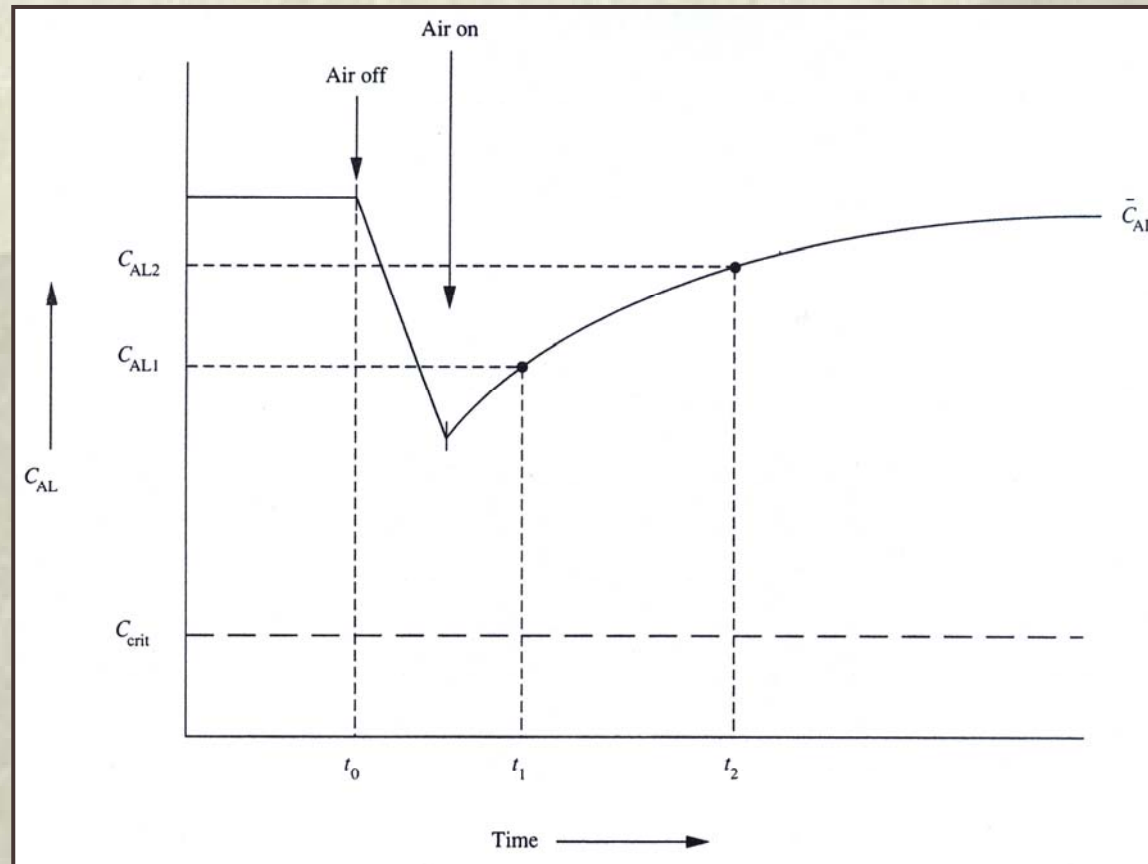
Galvanska elektroda

Polarografska elektroda



Eksperimentalno določanje $k_L a$

Osnova: **snovna bilanca kisika v nestacionarnem stanju**



Slika 4.8: Spreminjanje koncentracije kisika pri dinamičnem določanju $k_L a$



Sprememba koncentracije raztopljenega kisika:

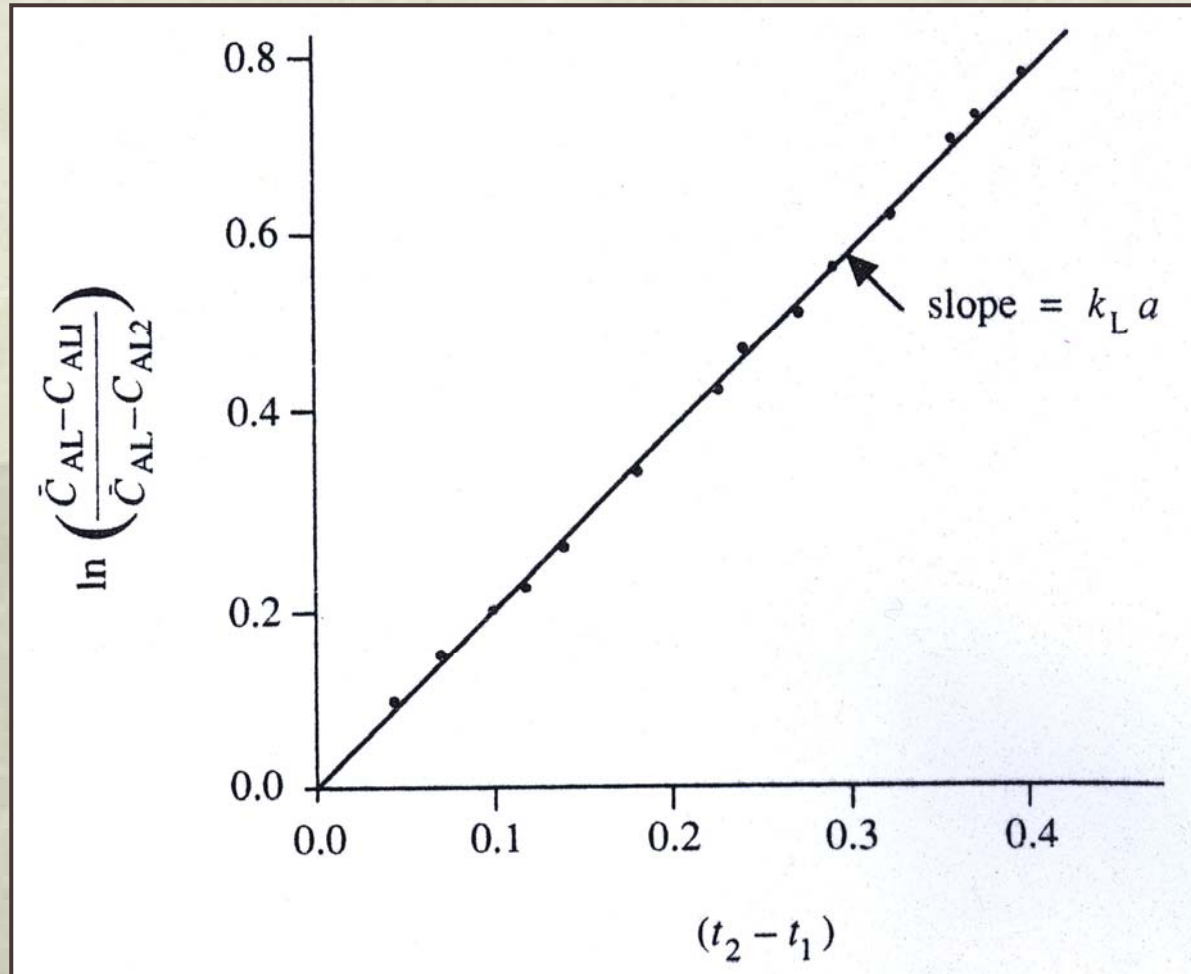
$$\frac{dc_{AL}}{dt} = k_L a (c_{AL}^* - c_{AL}) - q_{O_2} c_X$$

V stacionarnem stanju:

$$q_{O_2} c_X = k_L a (c_{AL}^* - \bar{c}_{AL})$$

Po preureditvi in integraciji:

$$k_L a = \frac{\ln \left(\frac{\bar{c}_{AL} - c_{AL1}}{\bar{c}_{AL} - c_{AL2}} \right)}{t_2 - t_1}$$



Slika 4.9: Določanje $k_L a$ z dinamično metodo

Primer 6

OCENJEVANJE $k_L a$ Z DINAMIČNO METODO



20 L mešalni fermentor z bakterijo *Bacillus thuringiensis* uporabimo za proizvodnjo insekticida. $k_L a$ določimo z dinamično metodo. Pretok zraka za nekaj časa ustavimo in nivo raztopljenega kisika pade. Nato ponovno odpremo dotok zraka. Ko dosežemo stacionarno stanje, je koncentracija kisika 78 % nasičenja. Dobimo naslednje meritve:

Čas/ s	5	15
Konc. kisika/ (%nasičenja)	50	66

- Ocenite $k_L a$.
- Pri določanju nivoja kisika v stacionarnem stanju je bila narejena napaka (namesto 78 % smo določili 70 %). Kakšen je % napake za $k_L a$, če smo naredili 10 % napako pri \bar{c}_{AL} ?



Rešitev:

a) $\bar{c}_{AL} = 78\%$ nasičenja

$$t_1 = 5 \text{ s}, c_{AL1} = 50\%$$

$$t_2 = 15 \text{ s}, c_{AL2} = 66\%$$

$$\text{Iz enačbe sledi: } k_L a = \frac{\ln\left(\frac{78-50}{78-66}\right)}{(15-5)\text{s}} = 0,085 \text{ s}^{-1}$$

$$\text{b) Če je } \bar{c}_{AL} \text{ upoštevan pri } 70\% \text{ nasičenju: } k_L a = \frac{\ln\left(\frac{70-50}{70-66}\right)}{(15-5)\text{s}} = 0,16 \text{ s}^{-1}$$

Napaka pri $k_L a$ je skoraj 100 %. Primer kaže pomembnost natančnosti podatkov za določanje $k_L a$.

5.3. Prenos toplote



Direktno odvisen od:

Temperaturne razlike

Površine toplotnega prenosa

Ostali vplivni faktorji:

Geometrija in fizikalne lastnosti sistema

Pretočni pogoji
(v primeru tekočine)



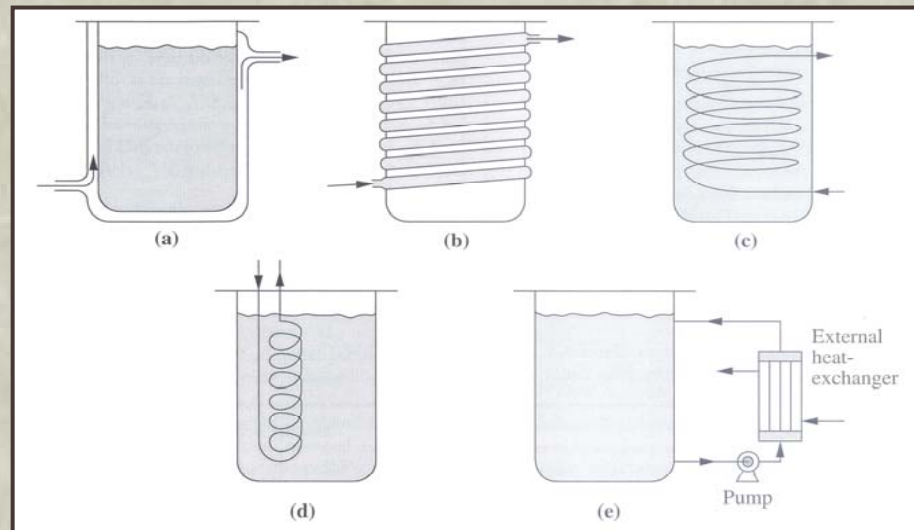
Oprema za toplotni prenos

a) Bioreaktorji

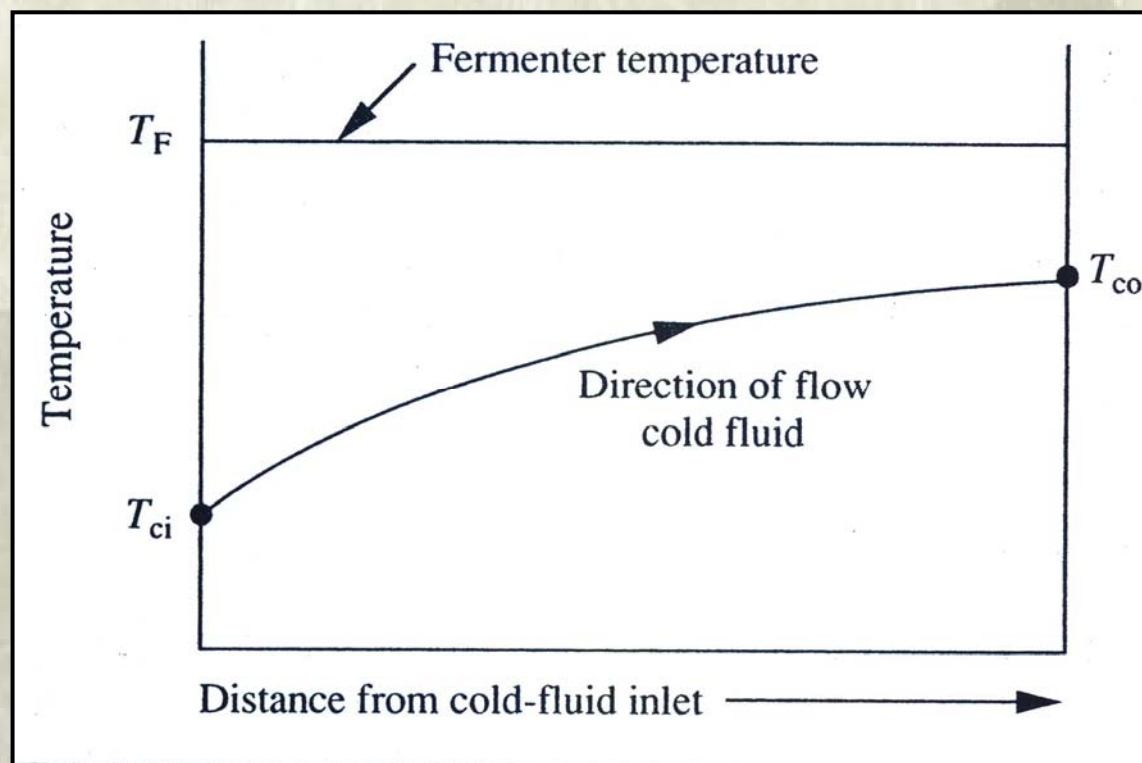
dva možna načina toplotnega prenosa:

Direktna šaržna
sterilizacija

Temperaturna regulacija
med obratovanjem



Slika 4.10: Različne možnosti prenosa toplote v bioreaktorjih.

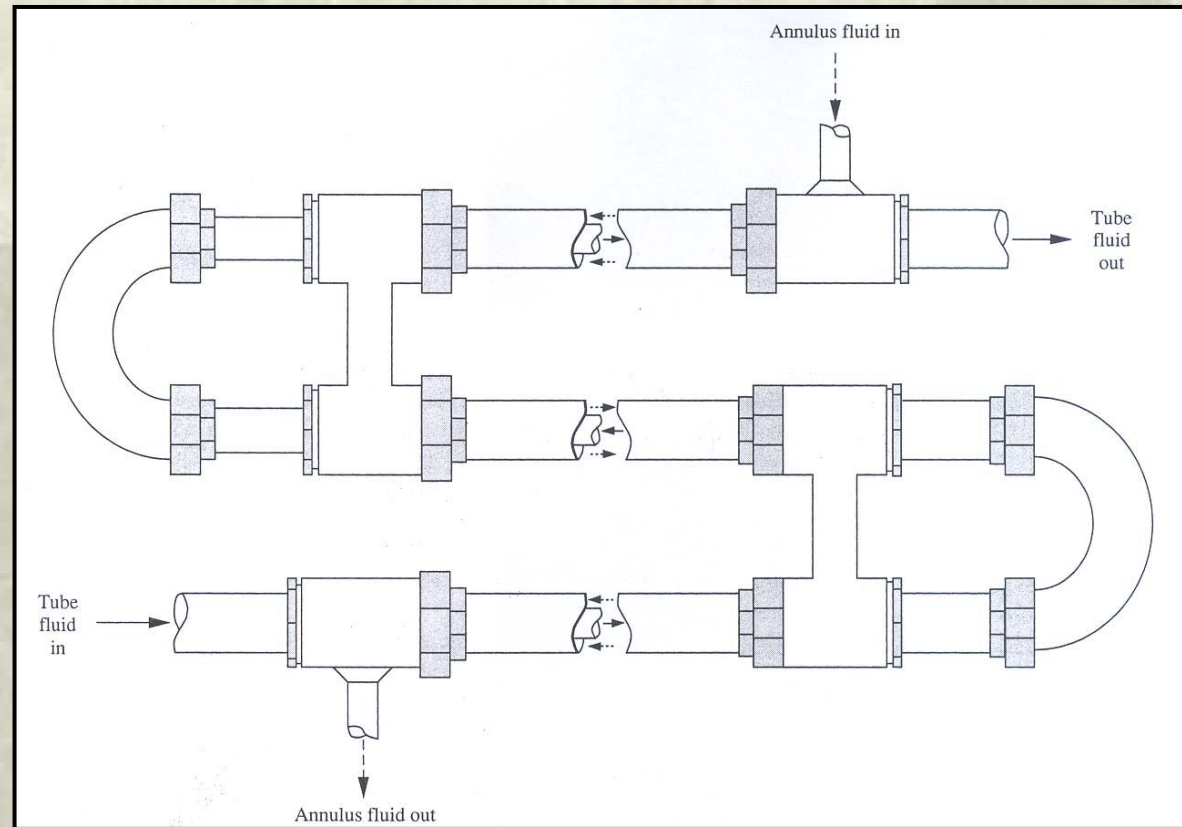


Slika 4.11: Temperaturna regulacija fermentacije.



b) Splošna oprema za toplotni prenos

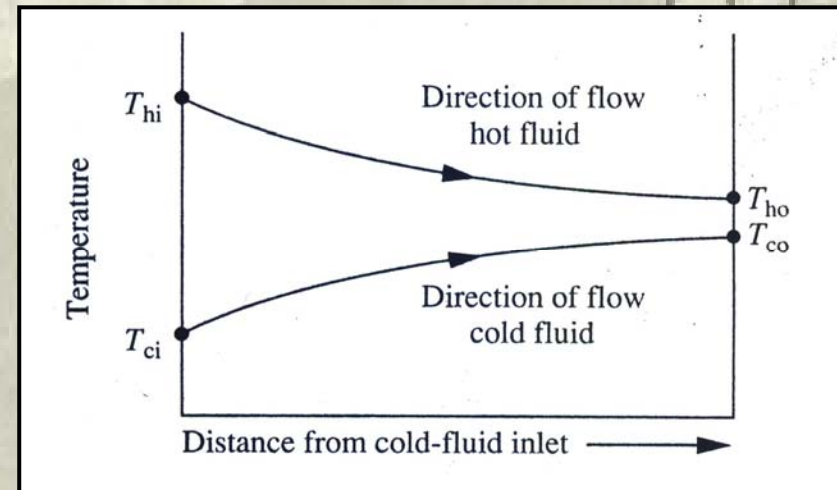
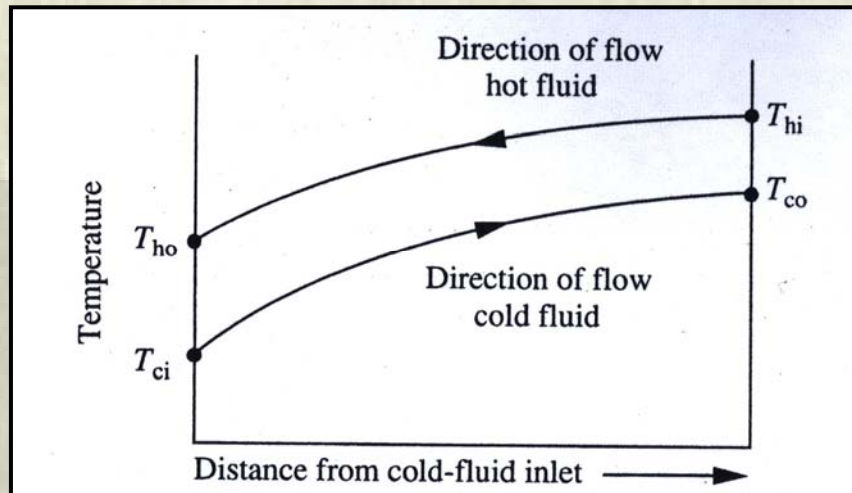
Dvocevni toplotni prenosnik (double-pipe)



Slika 4.12: Dvocevni toplotni prenosnik.



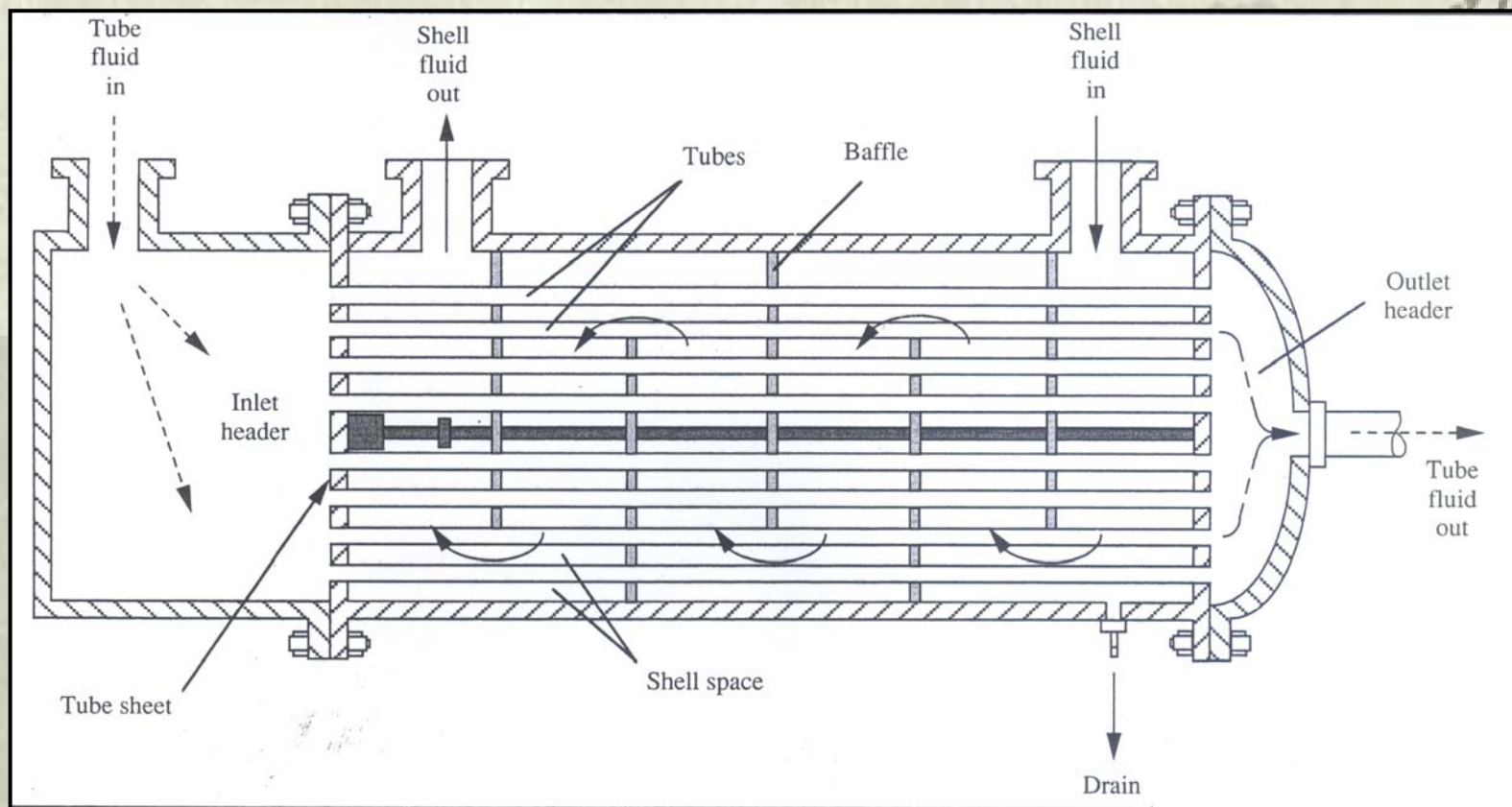
Možno protitočno in sotočno obratovanje



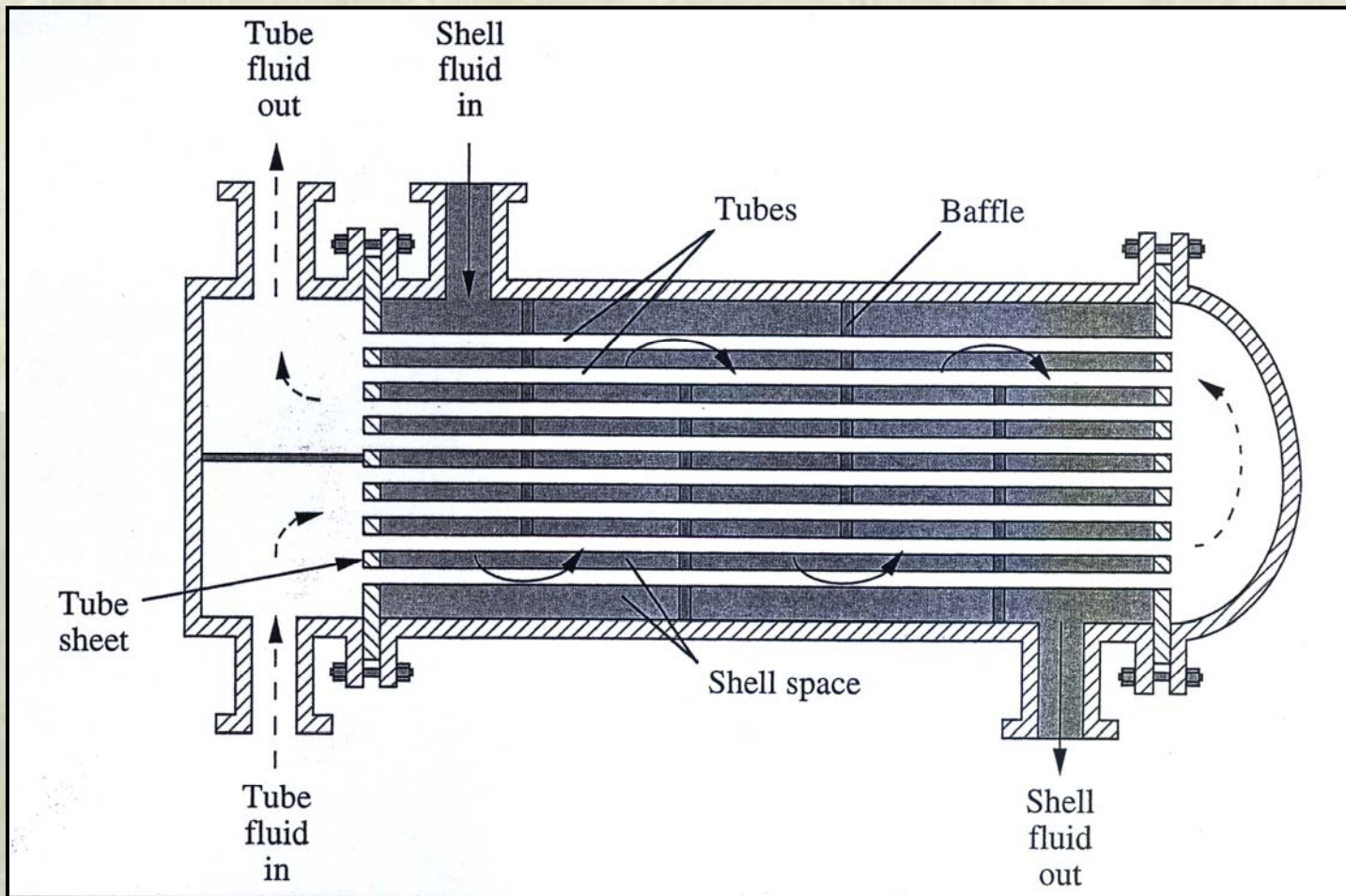
Slika 4.13: Temperaturne spremembe pri protitočnem in sotočnem obratovanju.



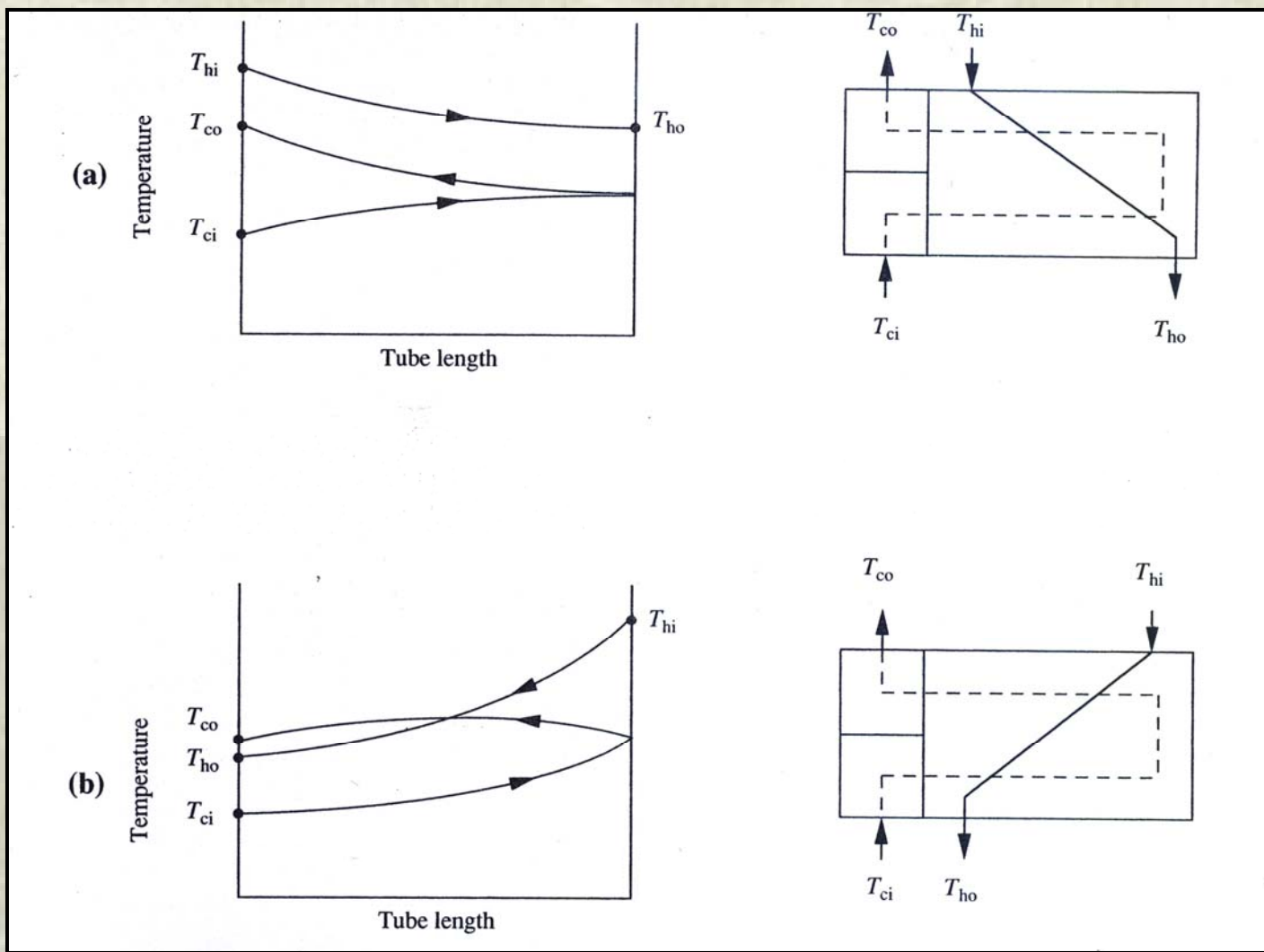
Cevni toplotni prenosnik (shell and tube)



Slika 4.14: Cevni toplotni prenosnik z enojnim prehodom skozi cevi.



Slika 4.15: Cevni toplotni prenosnik z dvojnim prehodom skozi cevi.



Slika 4.16: Temperaturne spremembe v cevnem toplotnem prenosniku z dvojnimi prehodom skozi cevi.



Mehanizmi toplotnega prenosa

- **kondukcija**

prenos vibracijske energije med molekulami oz. prenos elektronov

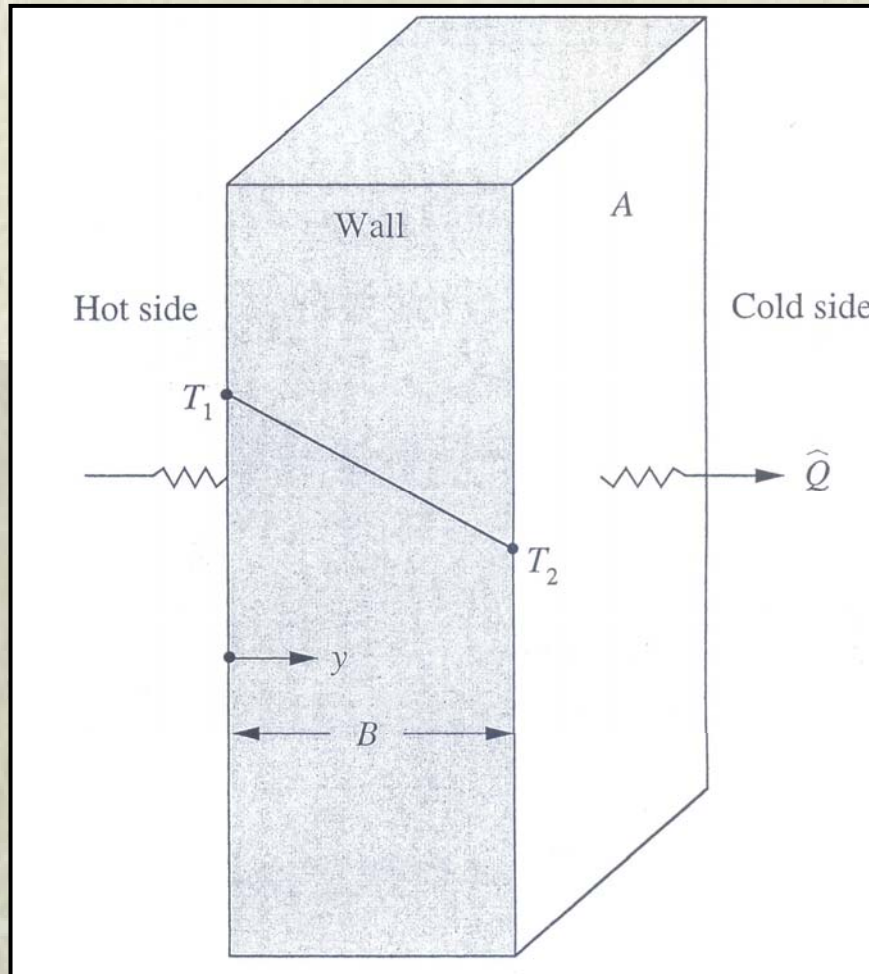
- **konvekcija**

gibanje na makroskopskem nivoju (plini in tekočine)

- **radiacija**

sevanje energije iz snovi

Kondukcija



Fourier-jev zakon

$$I = -\lambda A \frac{dT}{dy}$$

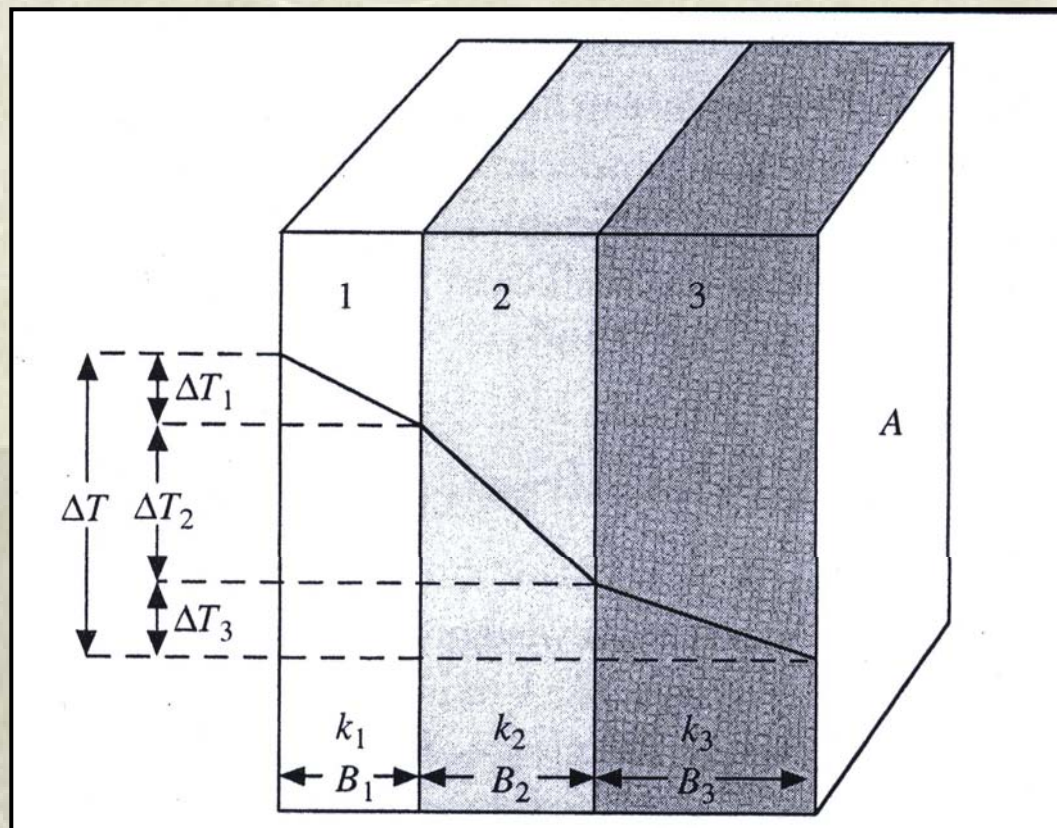
λ = toplotna prevodnost
 I = hitrost toplotnega prenosa, toplotni tok

Slika 4.17: Toplotna kondukcija skozi ravno steno.



Tabela 4.1: Toplotne prevodnosti

<i>Material</i>	<i>Temperature</i> (K)	<i>k</i>	
		(W m ⁻¹ K ⁻¹)	(Btu h ⁻¹ ft ⁻¹ °F ⁻¹)
Solids: Metals			
Aluminium	573	230	133
Bronze	–	189	109
Copper	373	377	218
Iron (wrought)	291	61	35
Iron (cast)	326	48	27.6
Lead	373	33	19
Stainless steel	293	16	9.2
Steel (1% C)	291	45	26
Solids: Non-metals			
Asbestos	273	0.16	0.09
Bricks (building)	293	0.69	0.4
Cotton wool	303	0.050	0.029
Glass	303	1.09	0.63
Rubber (hard)	273	0.15	0.087
Cork	303	0.043	0.025
Glass wool	–	0.041	0.024
Liquids			
Acetic acid (50%)	293	0.35	0.20
Ethanol (80%)	293	0.24	0.137
Glycerol (40%)	293	0.45	0.26
Water	303	0.62	0.356
Water	333	0.66	0.381
Gases			
Air	273	0.024	0.014
Air	373	0.031	0.018
Carbon dioxide	273	0.015	0.0085
Oxygen	273	0.024	0.0141
Water vapour	373	0.025	0.0145

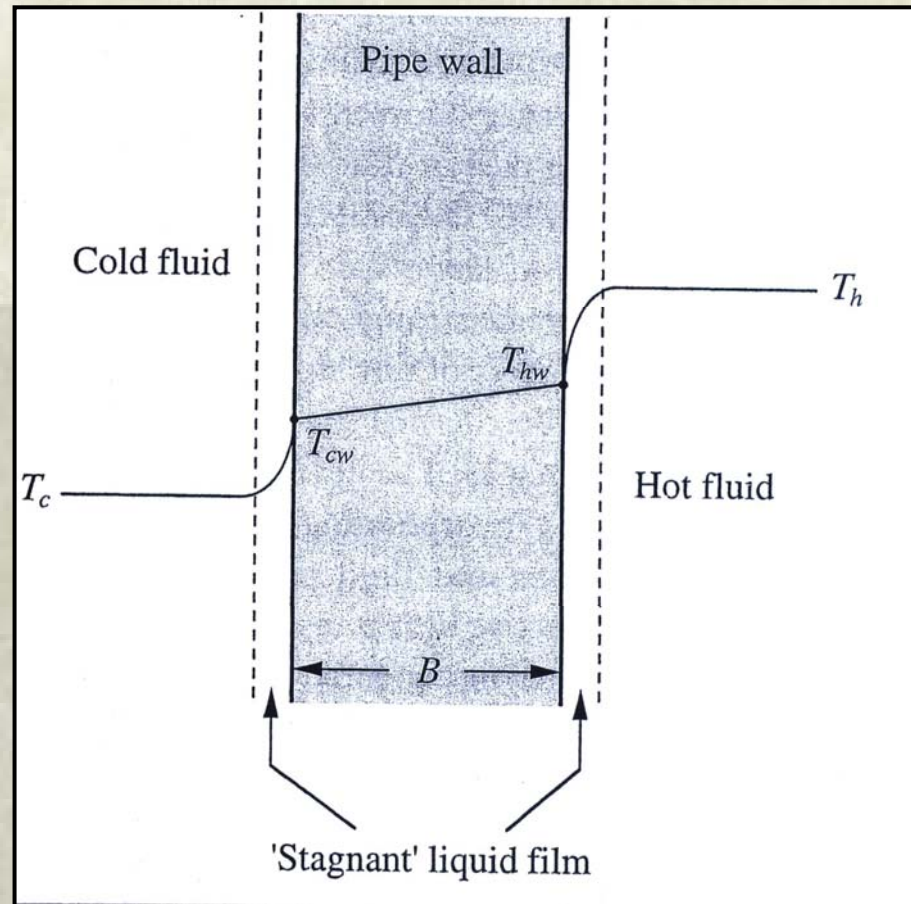


Slika 4.18: Toplotna prevodnost skozi tri zaporedne upore.

$$\Delta T = \Delta T_1 + \Delta T_2 + \Delta T_3$$



Konvekcija - Toplotni prenos med tekočinami



Slika 4.19: Toplotni prenos med dvema tekočinama.



Toplotni prenos vsebuje tri zaporedne upore:

- **upor filma toplega toka ob steni cevi**
- **upor zaradi same stene**
- **upor filma hladnega toka ob steni cevi**

Hitrost toplotnega prenosa



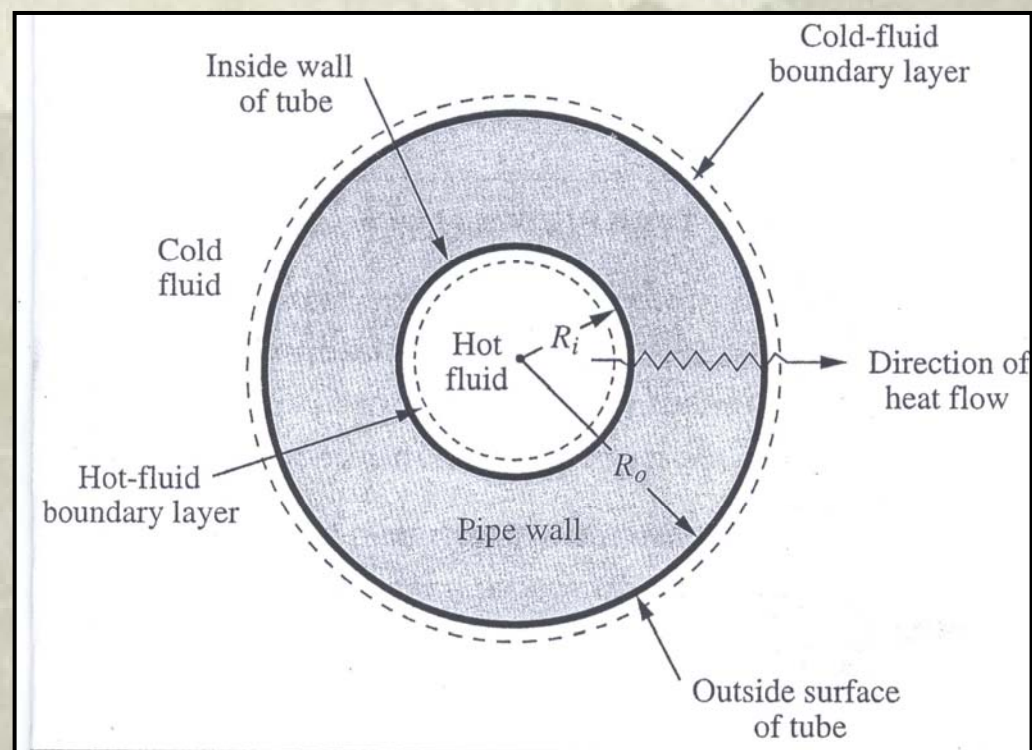
$$I = kA\Delta T$$

Tabela 4.2: Individualni koeficienti toplotnega prenosa.

<i>Process</i>	<i>Range of values of h</i>	
	$(\text{W m}^{-2} \text{K}^{-1})$	$(\text{Btu ft}^{-2} \text{h}^{-1} \text{°F}^{-1})$
Condensing steam	6000–115 000	1000–20 000
Boiling water	1700–50 000	300–9000
Condensing organic vapour	1100–2200	200–400
Heating or cooling water	300–17 000	50–3000
Heating or cooling oil	60–1700	10–300
Superheating steam	30–110	5–20
Heating or cooling air	1–60	0.2–10

Skupni koeficient toplotnega prenosa

$$I = UA\Delta T = UA(T_t - T_h)$$



Slika 4.20: Vpliv debeline stene cevi na toplotni prenos.

Vsebina predavanj



1. Uvod
2. Osnovni pojmi biokemije
3. Bioreakcijska kinetika
 - 3.1. Encimska kinetika
 - 3.2. Mikrobiološka kinetika
4. Bioreaktorji-vrste
5. Tehnološke zahteve pri načrtovanju bioreaktorjev
 - 5.1. Mešanje
 - 5.2. Prenos snovi
 - 5.3. Prenos toplote
6. *Modeliranje bioreaktorjev-splošno*
 - 6.1. Encimska fermentacija
 - 6.2. Mikrobiološka fermentacija
 - 6.3. Pomanjkanje substrata
 - 6.4. Inhibicija s produktom
 - 6.5. Primeri
7. Aerobno in anaerobno čiščenje odpadnih vod

6. Modeliranje bioreaktorjev-splošno

Vodenje procesov fermentacije zahteva **natančne matematične modele za reakcijo in reakcijsko okolje.**

Matematični model

Teoretične zveze

Eksperimentalne meritve

Snovna bilanca v bioreaktorjih



NESTACIONARNI PROCES

Biomasa:

$$\begin{array}{ccccccc} \text{Vtok} & + & \text{Nastajanje} & - & \text{Iztok} & = & \text{Akumulacija} \\ \text{biomase} & & \text{biomase} & & \text{biomase} & & \text{biomase} \end{array}$$

Substrat:

$$\begin{array}{ccccccc} \text{Vtok} & - & \text{Poraba} & - & \text{Iztok} & = & \text{Akumulacija} \\ \text{substrata} & & \text{substrata} & & \text{substrata} & & \text{substrata} \end{array}$$

Produkt:

$$\begin{array}{ccccccc} \text{Vtok} & + & \text{Nastajanje} & - & \text{Iztok} & = & \text{Akumulacija} \\ \text{produkta} & & \text{produkta} & & \text{produkta} & & \text{produkta} \end{array}$$

Snovna bilanca v bioreaktorjih



STACIONARNI PROCES

Biomasa:

$$\begin{array}{ccccccc} \text{Vtok} & + & \text{Nastajanje} & - & \text{Iztok} & = & 0 \\ \text{biomase} & & \text{biomase} & & \text{biomase} & & \end{array}$$

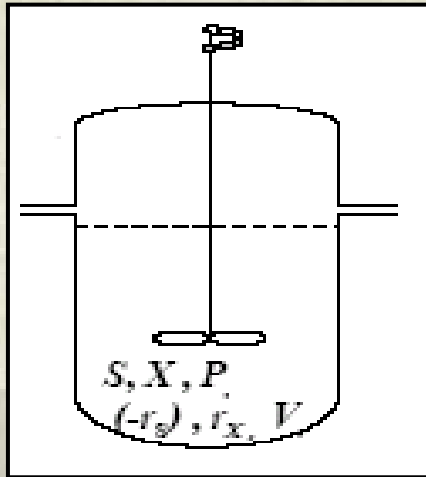
Substrat:

$$\begin{array}{ccccccc} \text{Vtok} & - & \text{Poraba} & - & \text{Iztok} & = & 0 \\ \text{substrata} & & \text{substrata} & & \text{substrata} & & \end{array}$$

Produkt:

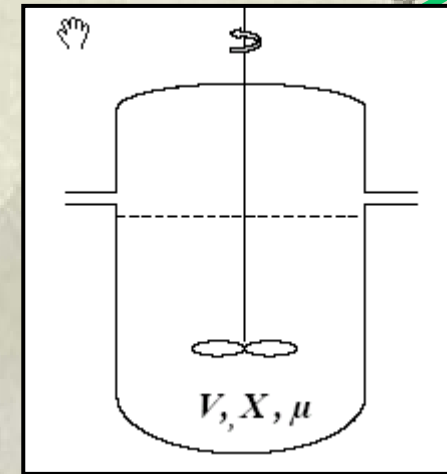
$$\begin{array}{ccccccc} \text{Vtok} & + & \text{Nastajanje} & - & \text{Iztok} & = & 0 \\ \text{produkta} & & \text{produkta} & & \text{produkta} & & \end{array}$$

Šaržni bioreaktor



Enotna sestava povsod po reaktorju, spreminja se s časom.

$$V = 3/4 V_R$$



Bilanca substrata

Vtok – Iztok – Poraba = Akumulacija

$$0 - 0 + (-r_s)V = \frac{dc_s}{dt}V$$

$$(r_s) = \frac{dc_s}{dt} = -\frac{1}{Y_{X/S}} \frac{dc_x}{dt}$$

Bilanca biomase

Vtok – Iztok + Nastajanje = Akumulacija

$$(r_x) = \frac{dc_x}{dt}$$

$$\mu c_x V = \frac{d(c_x V)}{dt} / :V$$

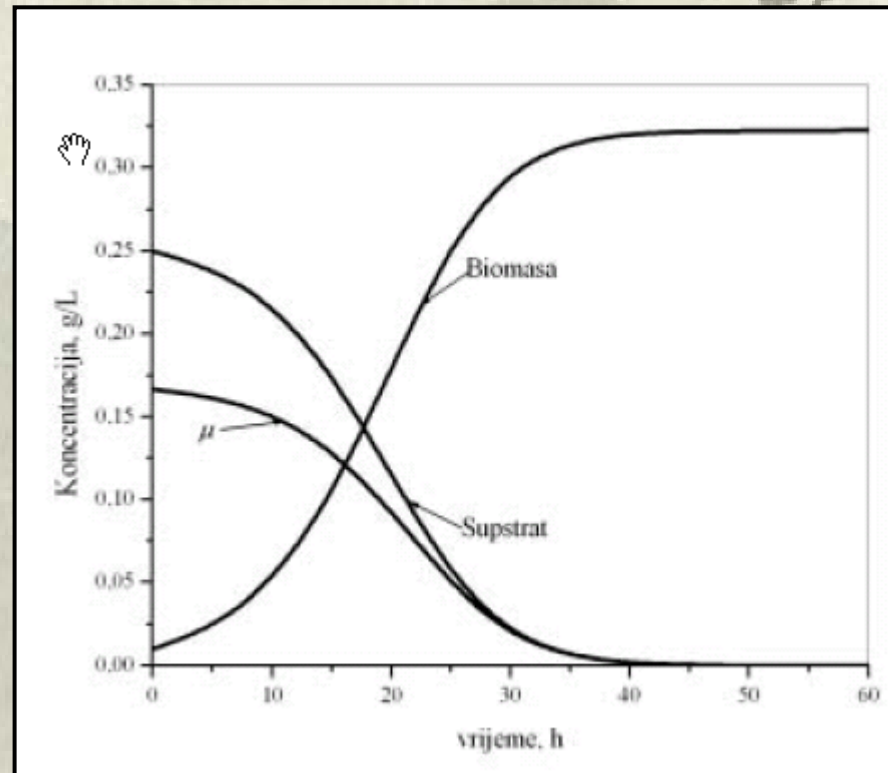
$$\mu c_x = \frac{dc_x}{dt}$$

$$\mu = \mu_{\max} \frac{c_s}{K_S + c_s}$$



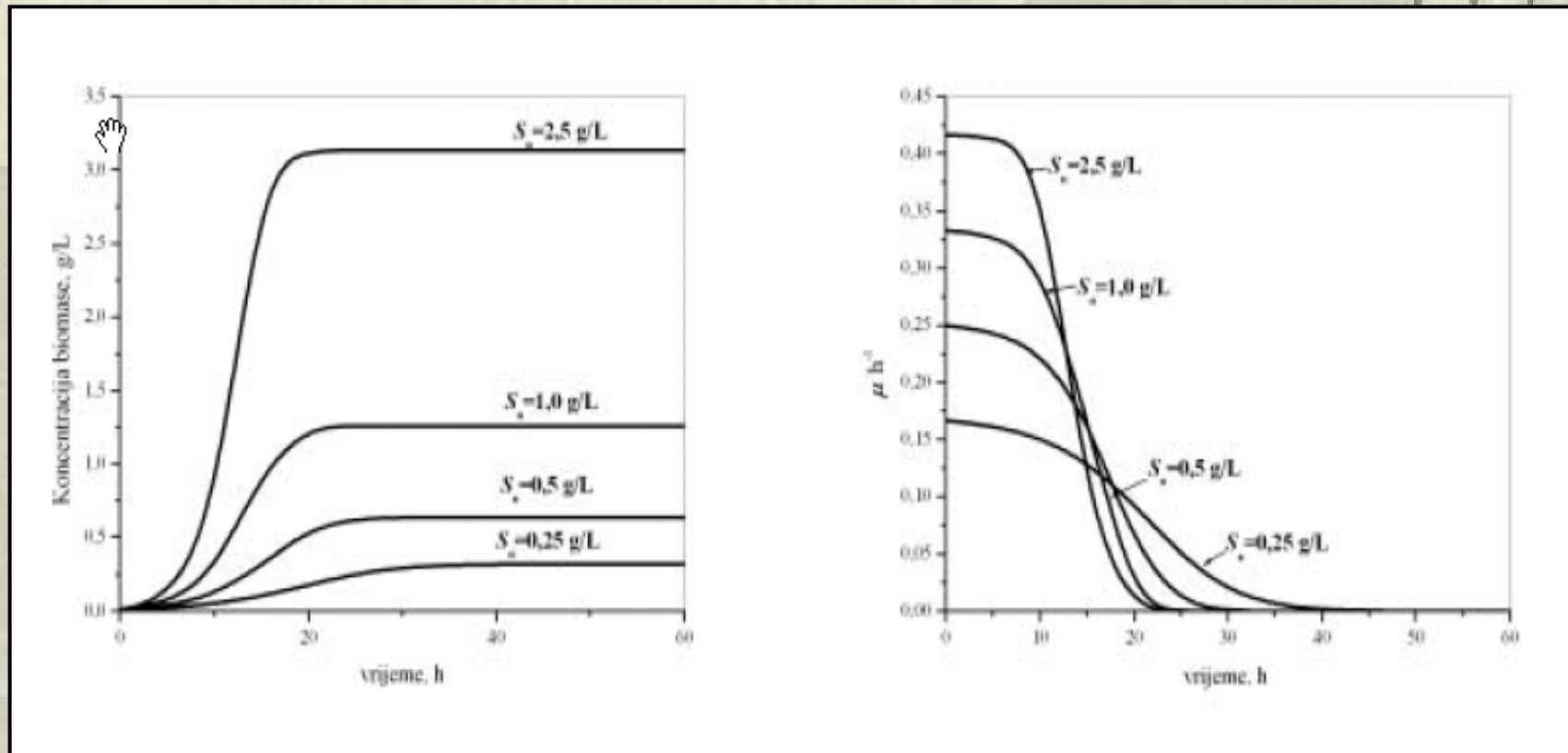
$$\mu = \mu_{\max} \frac{c_S}{K_S + c_S}$$

Parameter	Vrednost
μ_{\max}/h^{-1}	0,5
$K_S/(g/L)$	0,5
$Y_{X/S}$	0,8
$c_{S0}/(g/L)$	1,0



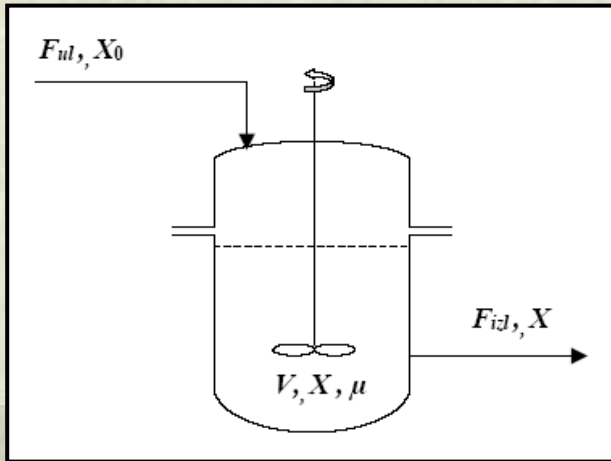


$$\mu = \mu_{\max} \frac{c_S}{K_S + c_S}$$





Pretočni bioreaktor (Chemostat)



Enakomerno mešanje,
enaka sestava v
reaktorju in na iztoku.

Bilanca biomase

Vtok – Izток + Nastajanje = Akumulacija

Stacionarni proces: Hitrost akumulacije = 0

$$q_v c_{X0} - q_i c_X + \mu c_X = \frac{d(c_X V)}{dt}$$

$$q_v c_{X0} - q_i c_X + \mu c_X = \frac{dc_X}{dt} V + \frac{dV}{dt} c_X$$

$$\frac{dV}{dt} = q_v - q_i = 0 \quad q_v = q_i = q$$

$$\frac{q}{V} (c_{X0} - c_X) + \mu c_X = \frac{dc_X}{dt}$$

$$\frac{q}{V} = D$$

Hitrost
razredčevanja

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

Stacionarni
proces

$$D(c_{X0} - c_X) = \mu c_X, \quad c_{X0} = 0$$

$$D = \mu$$

Bilanca substrata

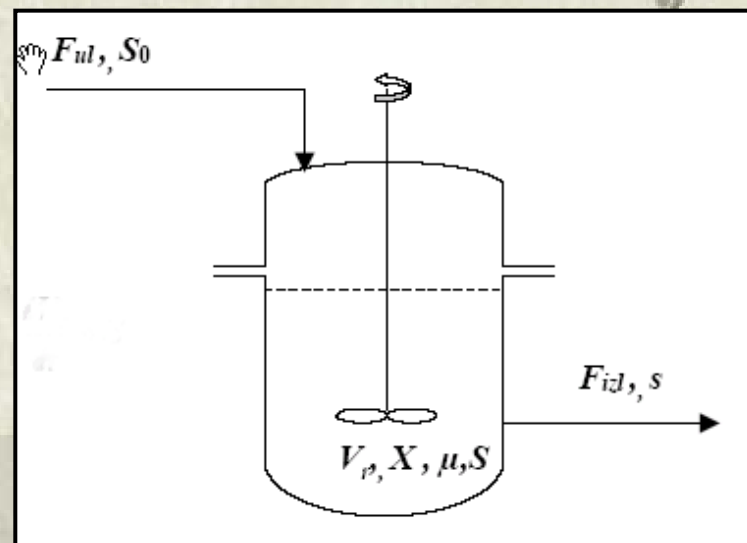
Vtok – Izток - Nastajanje = Akumulacija

Stacionarni proces: Hitrost akumulacije = 0

$$q_v c_{S0} - q_i c_S - \frac{1}{Y_{X/S}} \mu c_X V = \frac{d(c_S V)}{dt}$$

$$q_v c_{S0} - q_i c_S - \frac{1}{Y_{X/S}} \mu c_X V = \frac{dc_S}{dt} V + \frac{dV}{dt} c_S$$

$$\frac{dV}{dt} = q_v - q_i = 0 \quad q_v = q_i = q$$



$$\frac{q}{V} (c_{S0} - c_S) - \frac{1}{Y_{X/S}} \mu c_X = \frac{dc_S}{dt}$$

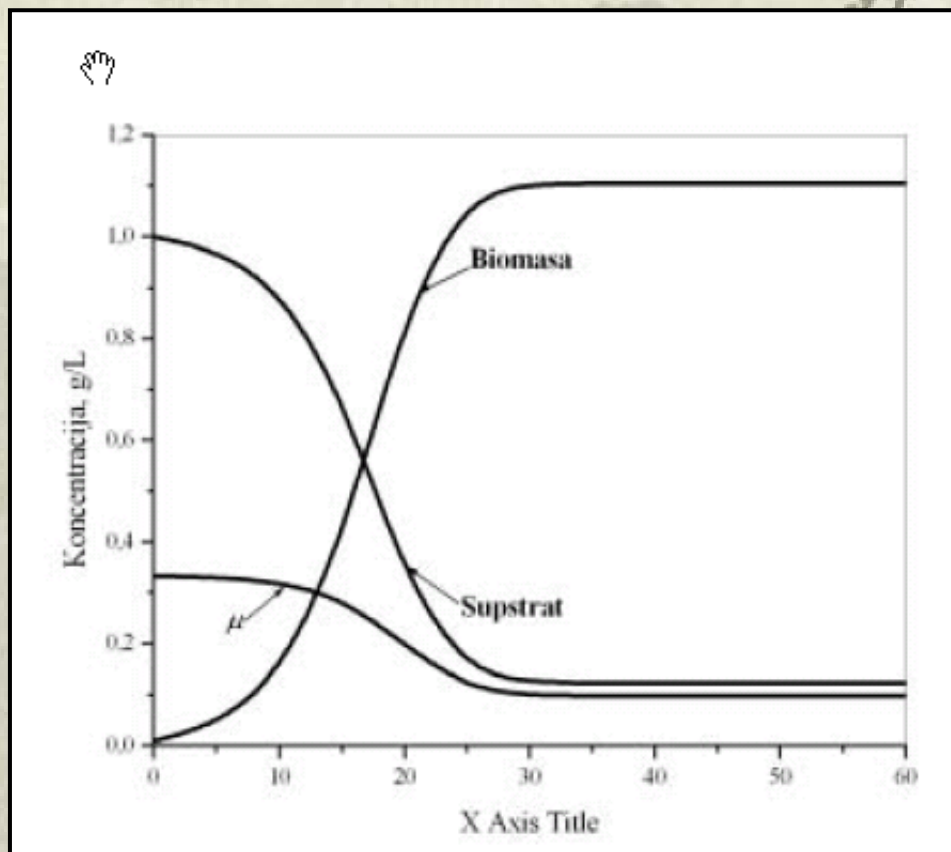
$$\frac{q}{V} = D \quad \leftarrow \text{Hitrost razredčevanja}$$

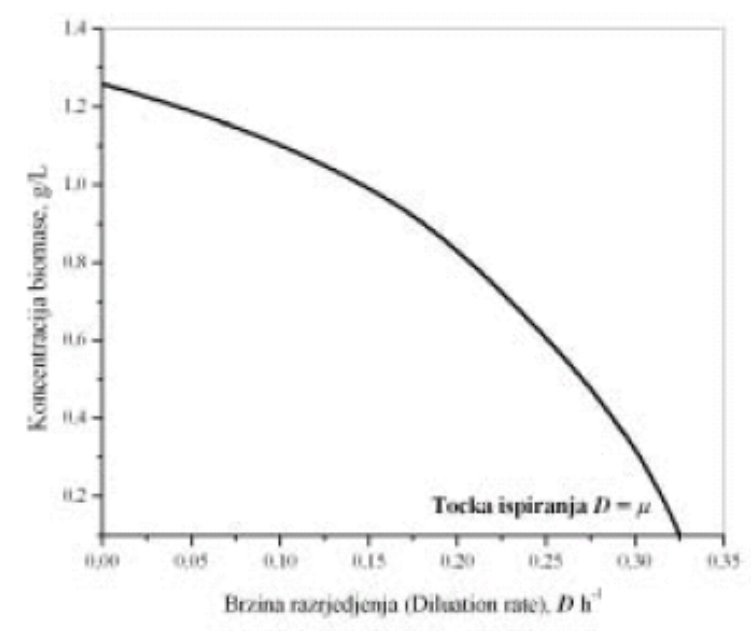
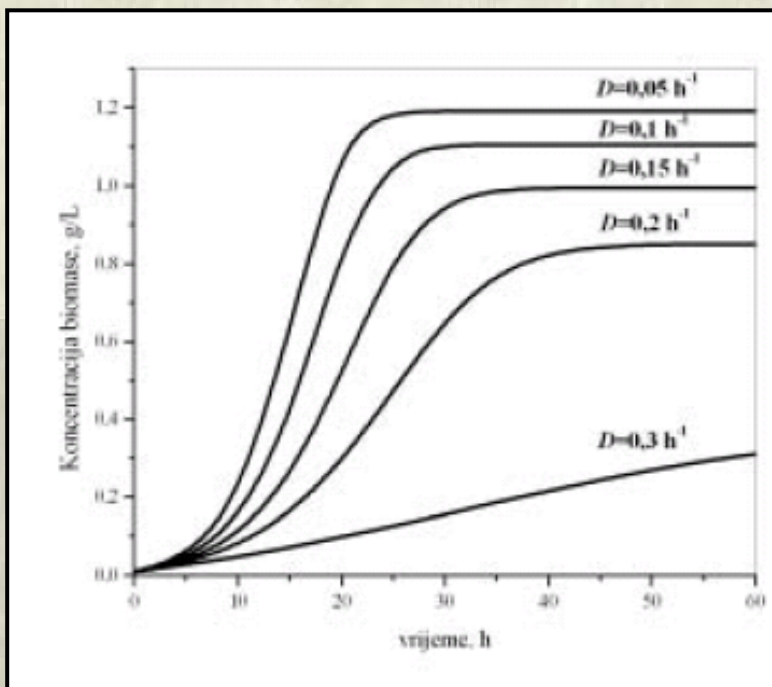
$$\frac{dc_S}{dt} = 0 \quad \leftarrow \text{Stacionarni proces}$$

$$D(c_{S0} - c_S) = \frac{1}{Y_{X/S}} \mu c_X$$



Parameter	Vrednost
D/h^{-1}	0,1
μ_{max}/h^{-1}	0,5
$K_S/g/L$	0,5
$Y_{X/S}/$	0,8
$c_S/g/L$	1,0





Kaskada pretočnih bioreaktorjev



Bilanca biomase

Vtok – Izток + Nastajanje = Akumulacija

Stacionarni proces: Hitrost akumulacije = 0

Bilanca biomase v 1. bioreaktorju:

$$q_1 c_{X1} = \mu_1 c_{X1} V_1 \quad / : c_{X1}, V_1$$

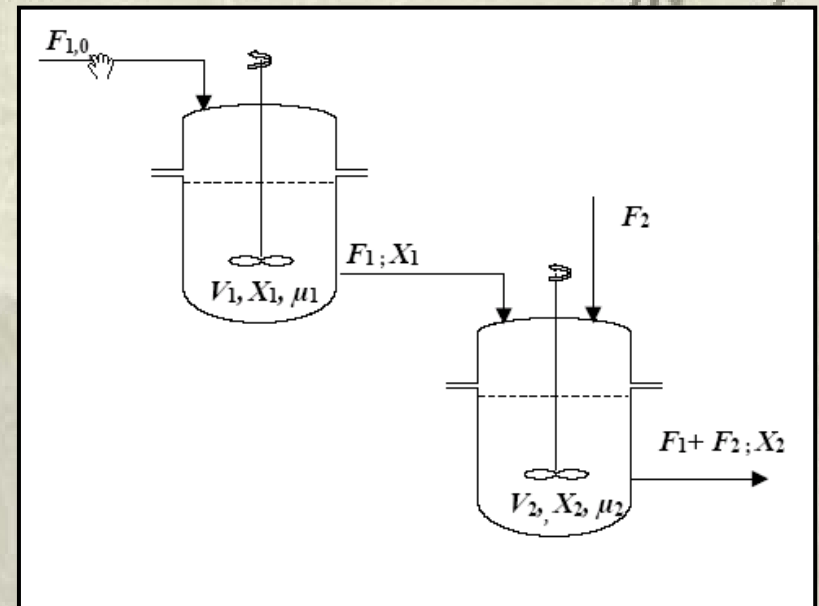
$$\mu_1 = D_1$$

Bilanca biomase v 2. reaktorju:

$$q_1 c_{X1} - (q_1 + q_2) c_{X2} + \mu_2 c_{X2} V_2 = 0 \quad / : c_{X2}, V_2$$

$$\frac{q_1 c_{X1}}{V_2 c_{X2}} - \frac{(q_1 + q_2)}{V_2} + \mu_2 = 0 \quad / \cdot \frac{V_2}{V_1}$$

$$\mu_2 = D_2 - D_1 \frac{c_{X1}}{c_{X2}} \frac{V_1}{V_2}$$





Bilanca substrata:

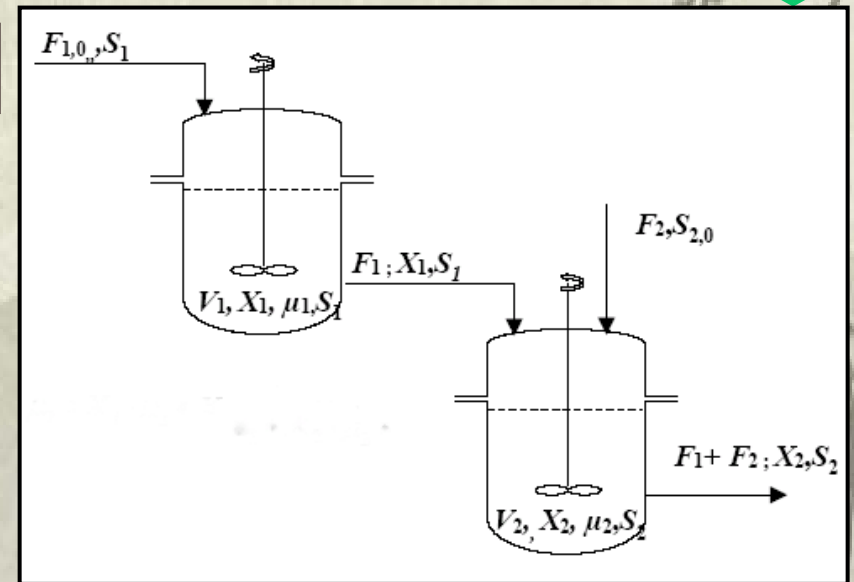
Vtok – Iztok - Nastajanje = Akumulacija

Stacionarni proces: Hitrost akumulacije = 0

Bilanca substrata v 1. bioreaktorju:

$$q_{10}c_{S0} - q_1c_{S1} = \frac{1}{Y_{X/S}} \mu_1 c_{X1} V_1 /: V_1$$

$$c_{X1} = \frac{Y_{X/S}}{\mu_1} (c_{S0} - c_{S1}) D_1$$



Bilanca substrata v 2. reaktorju:

$$q_1c_{S1} + q_2c_{S20} - (q_1 + q_2)c_{S2} = \left(\frac{1}{Y_{X/S}} \right)_2 \mu_2 c_{X2} V_2 /: V_2$$

$$D_2 = \frac{(q_1 + q_2)}{V_2}$$

$$c_{X2} = \frac{Y_{X/S}}{\mu_2} \left(\frac{q_1}{V_2} c_{S1} + \frac{q_2}{V_2} c_{S20} - D_2 c_{S2} \right)$$

Pretočni bioreaktor s povratnim tokom biomase



Bilanca biomase

Vtok – Izток + Nastajanje = Akumulacija

Stacionarni proces: Hitrost akumulacije = 0

$$q_0 c_{X0} + q_R c_{X0} - (q_0 + q_R) c_{X1} + \mu c_{X1} V = 0 /: V$$

$$q_0 c_{X0} = 0$$

$$\frac{q_R}{V} c_{X0} - \frac{(q_0 + q_R)}{V} c_{X1} + \mu c_{X1} = 0$$

$$\frac{q_R}{V} c_{X0} - \frac{q_0}{V} c_{X1} - \frac{q_R}{V} c_{X1} + \mu c_{X1} = 0$$

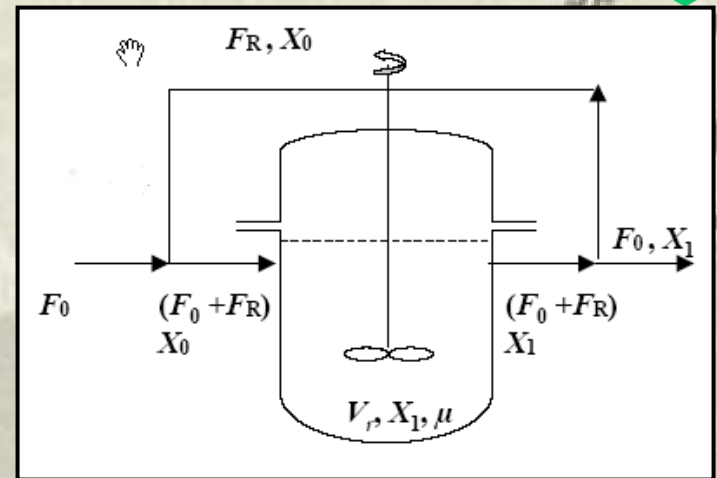
$$\frac{q_0}{V} = D$$

$$\frac{q_R}{V} c_{X0} - \left(D + \frac{q_R}{V} \right) c_{X1} + \mu c_{X1} = 0 / c_{X1}$$

$$\mu = \left(D + \frac{q_R}{V} \right) - \frac{q_R}{V} \frac{c_{X0}}{c_{X1}}$$

$$\mu = D - \frac{q_R}{V} \left(1 - \frac{c_{X0}}{c_{X1}} \right); a = \frac{q_R}{V}; b = \frac{c_{X0}}{c_{X1}}$$

$$D = \mu + (a - b)$$





Bilanca substrata:

Vtok – Iztok - Nastajanje = Akumulacija

Stacionarni proces: Hitrost akumulacije = 0

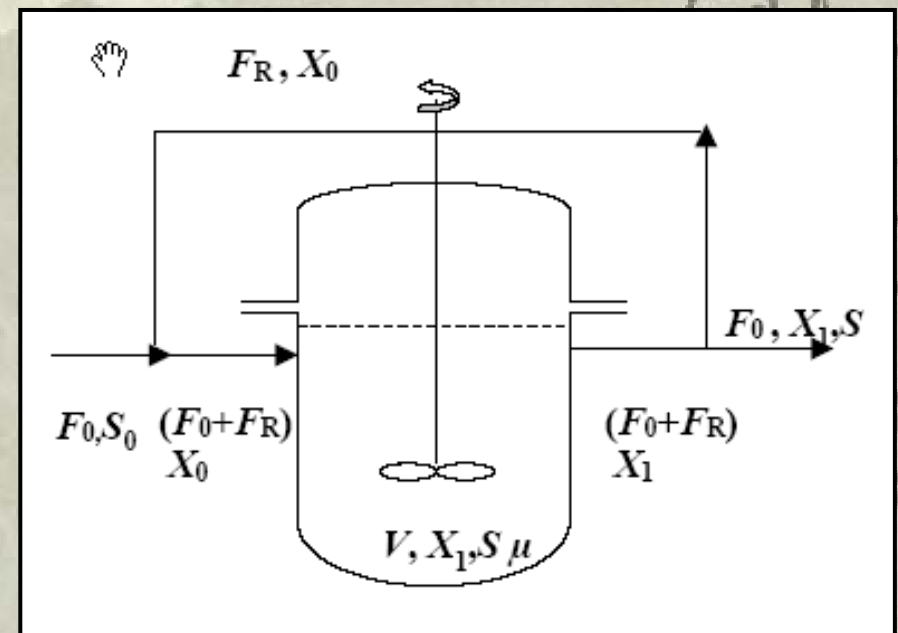
$$q_0 c_{S0} - q_0 c_S - \frac{1}{Y_{X/S}} \mu c_{X1} V = 0 \quad /: V$$

$$\frac{q_0}{V} c_{S0} - \frac{q_0}{V} c_S - \frac{1}{Y_{X/S}} \mu c_{X1} = 0$$

$$\frac{q_0}{V} = D$$

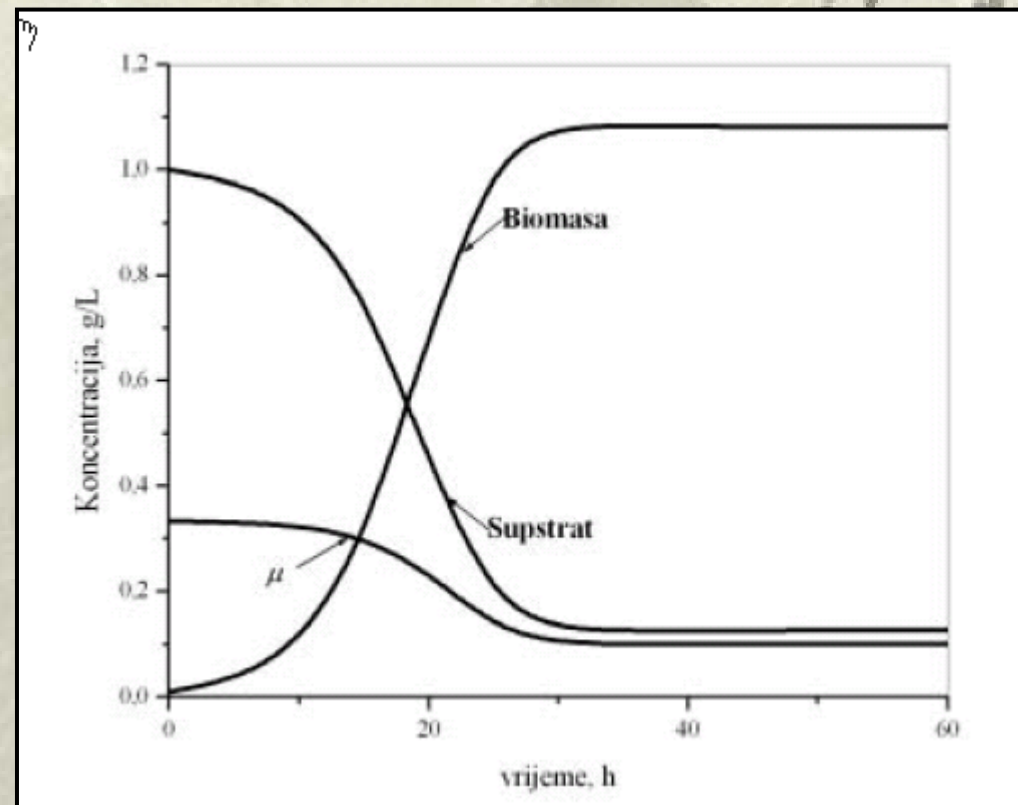
$$D(c_{S0} - c_S) = \frac{1}{Y_{X/S}} \mu c_{X1}$$

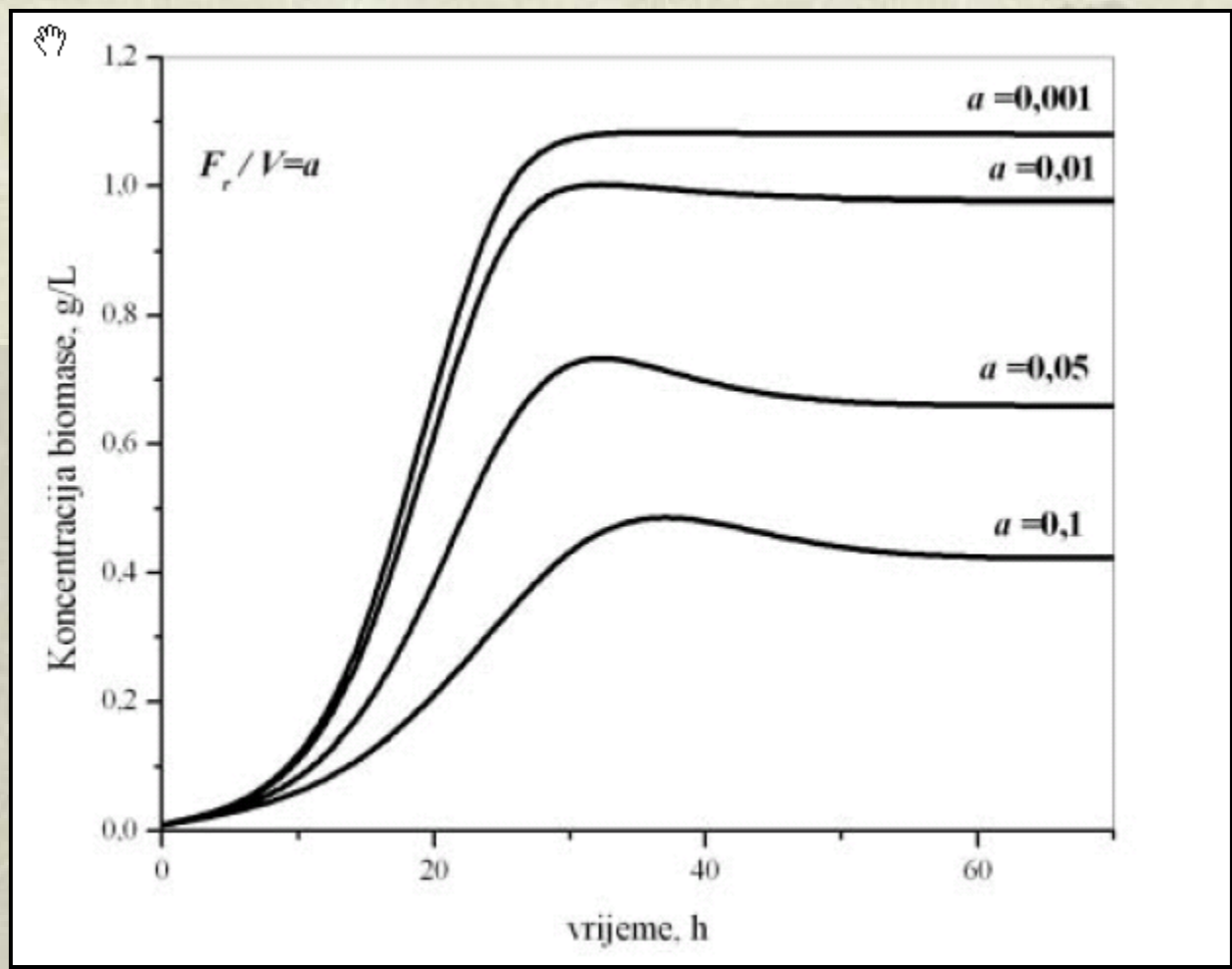
$$\mu = \frac{Y_{X/S} D (c_{S0} - c_S)}{c_{X1}}$$





Parameter	Vrednost
D/h^{-1}	0,1
μ_{\max}/h^{-1}	0,5
$K_S/g/L$	0,5
$Y_{X/S}/$	0,8
$c_S/g/L$	1,0
a/h^{-1}	0,001





Šaržni bioreaktor z dotokom substrata (fed-batch)



Bilanca substrata:

Vtok – Iztok - Nastajanje = Akumulacija

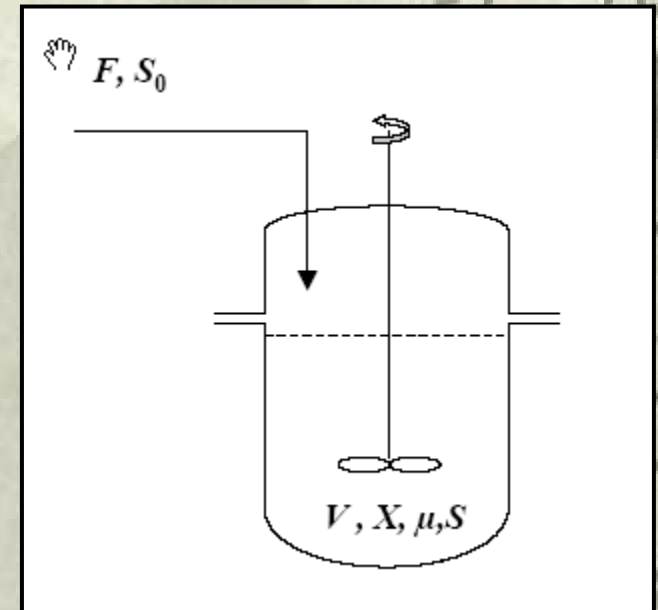
Nestacionarni proces: Hitrost akumulacije $\neq 0$

$$qc_{s0} - \frac{1}{Y_{X/S}} \mu c_X V = \frac{d(c_S V)}{dt}$$

$$qc_{s0} - \frac{1}{Y_{X/S}} \mu c_X V = \frac{dc_S}{dt} V + \frac{dV}{dt} c_S \quad /: V$$

$$\frac{dV}{dt} = q$$

$$\frac{q}{V} c_{s0} - \frac{1}{Y_{X/S}} \mu c_X = \frac{dc_S}{dt} + \frac{q}{V} c_S$$



$$\frac{q}{V} = D$$

$$\frac{dc_S}{dt} = D(c_{s0} - c_S) - \frac{1}{Y_{X/S}} \mu c_X$$



Bilanca biomase:

Vtok – Iztok + Nastajanje = Akumulacija

Nestacionarni proces: Hitrost akumulacije $\neq 0$

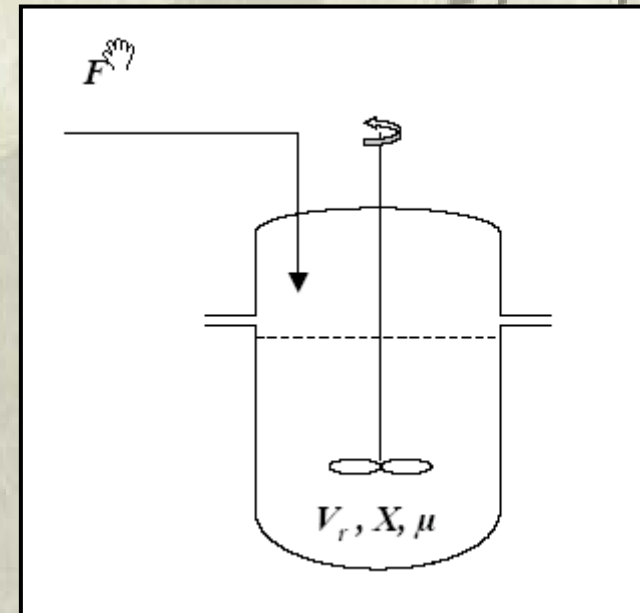
$$\mu c_X V = \frac{d(c_X V)}{dt}$$

$$\mu c_X V = \frac{dc_X}{dt} V + \frac{dV}{dt} c_X \quad /: V$$

$$\frac{dV}{dt} = q$$

$$\mu c_X = \frac{dc_X}{dt} + \frac{q}{V} c_X$$

$$\mu = \frac{1}{c_X} \frac{dc_X}{dt} + \frac{q}{V}$$

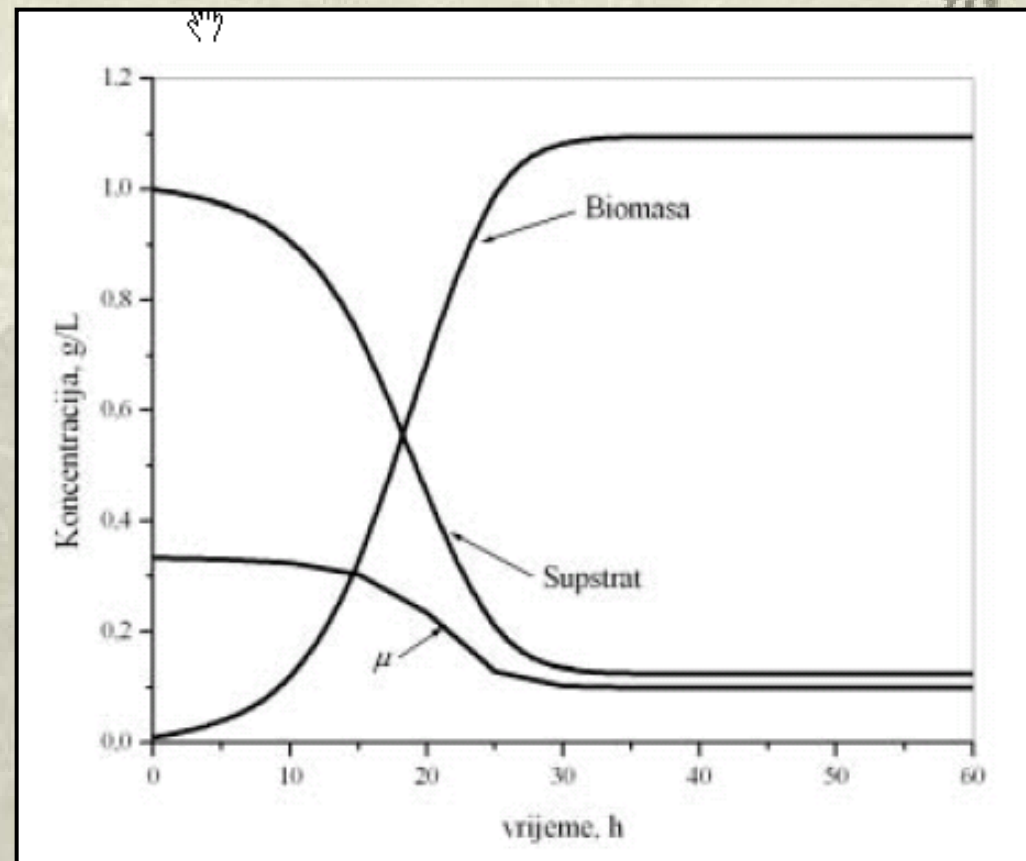


$$\frac{q}{V} = D$$

$$D = \mu - \frac{1}{c_X} \frac{dc_X}{dt}$$



Parameter	Vrednost
D/h^{-1}	0,1
μ_{max}/h^{-1}	0,5
$K_S/g/L$	0,5
$Y_{X/S}/$	0,8
$c_{S0}/g/L$	1,0



Vsebina predavanj



1. Uvod
2. Osnovni pojmi biokemije
3. Bioreakcijska kinetika
 - 3.1. Encimska kinetika
 - 3.2. Mikrobiološka kinetika
4. Bioreaktorji-vrste
5. Tehnološke zahteve pri načrtovanju bioreaktorjev
 - 5.1. Mešanje
 - 5.2. Prenos snovi
 - 5.3. Prenos toplote
6. Modeliranje bioreaktorjev-splošno
 - 6.1. *Encimska fermentacija*
 - 6.2. *Mikrobiološka fermentacija*
 - 6.3. Pomanjkanje substrata
 - 6.4. Inhibicija s produktom
 - 6.5. Primeri
7. Aerobno in anaerobno čiščenje odpadnih vod

6.1 Encimska fermentacija



Izraz fermentacija lahko uporabimo v njenem pravem pomenu besede (to je proizvodnja alkohola iz sladkorja) ali pa splošno.

Moderna definicija fermentacije:

Biološke procese (od najpreprostejših do najkompleksnejših) definiramo kot elementarne fiziološke procese z delovanjem živih organizmov. Nadalje jih delimo na tiste, ki so katalizirani z mikroorganizmi (kvas, bakterije, alge, plesni, protozoa) in tiste, ki so katalizirani z encimi (ki so produkt mikroorganizmov).

Glavna razlika med obema tipoma fermentacij:

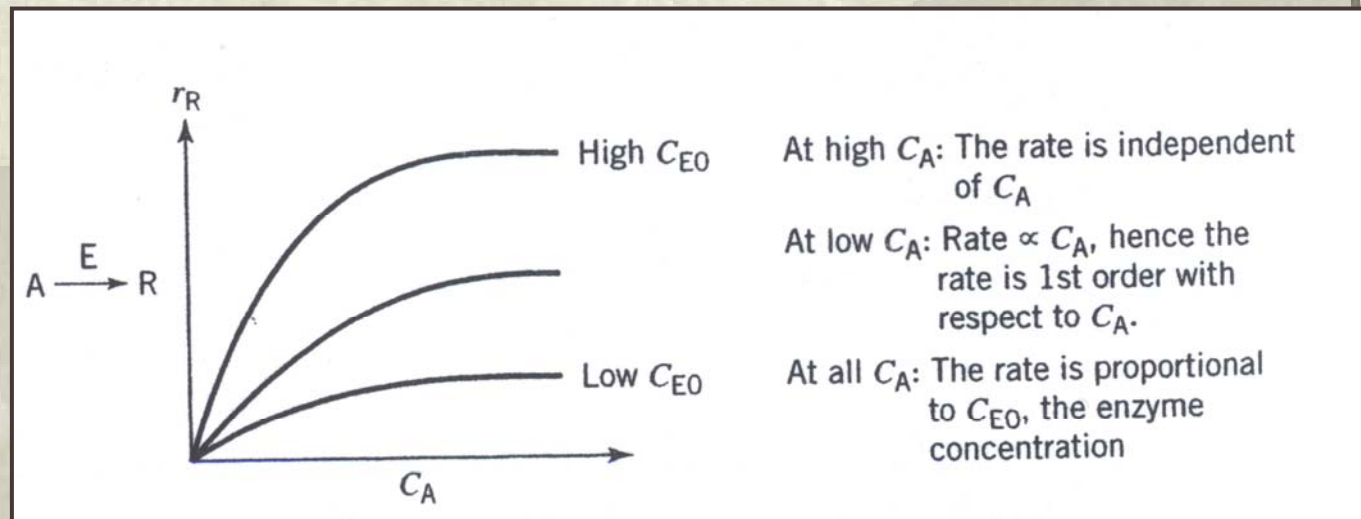
Encim se ne reproducira

Mikroorganizem se reproducira

I. Michaelis Mentenova kinetika



V primernem okolju in ob pravem encimu, bo reaktant A reagiral do produkta R.

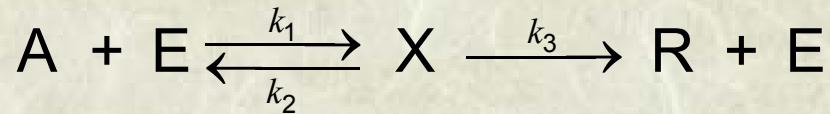


Slika 6.1: Tipična $r = f(c_A)$ krivulja za encimske reakcije

$$-r_A = r_R = \frac{kc_{E0}c_A}{K_M + c_A}$$



Michaelis-Mentenov dvostopenjski mehanizem:



$$c_{E0} = c_E + c_X$$

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

Stacionarno stanje

$$-r_A = r_R = \frac{kc_{E0}c_A}{K_M + c_A}$$

$$K_M = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$$

Pomen K_M

Iz $r_X = \frac{dc_X}{dt} = 0 = k_1c_Ac_E - (k_2 + k_3)c_X$ sledi

$$c_{E0} = c_E + c_X$$

$$\frac{c_X}{c_E} = \frac{c_A}{K_M} = \frac{\text{encim v kompleksu}}{\text{prosti encim}}$$

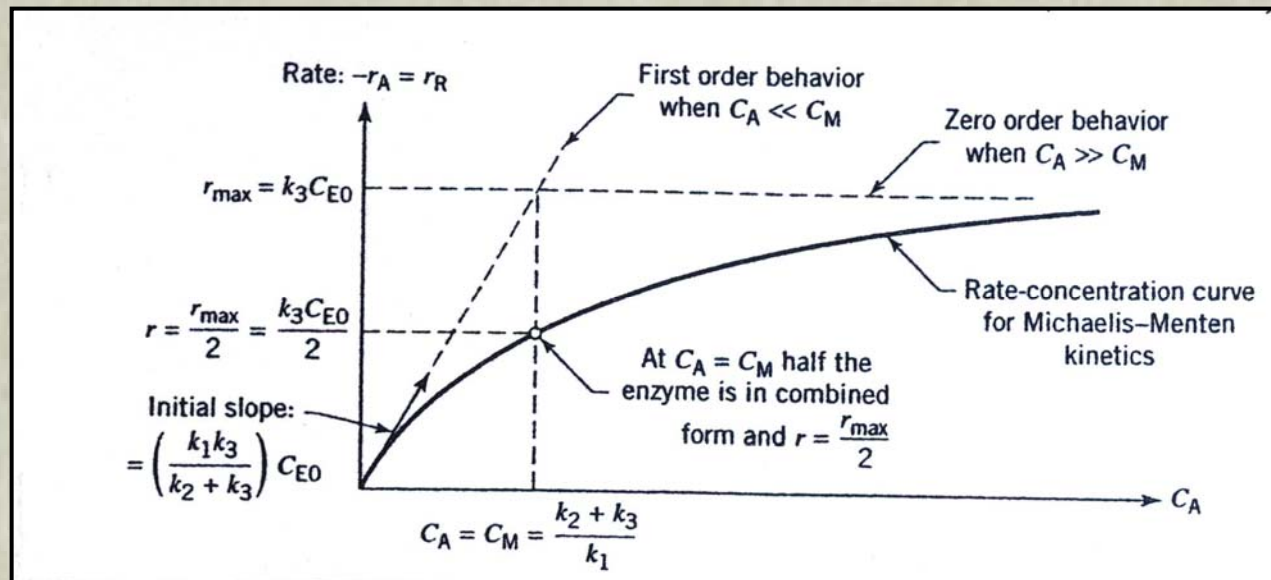


Posledično velja:

Ko je $c_A = K_M$ **→** je polovica encima v prosti obliki, druga polovica v kompleksu

Ko je $c_A \gg K_M$ **→** je večina encima v kompleksu

Ko je $c_A \ll K_M$ **→** je večina encima prostega



Slika 6.2: Posebne lastnosti M-M enačbe.



a) Šaržni ali cevni bioreaktor

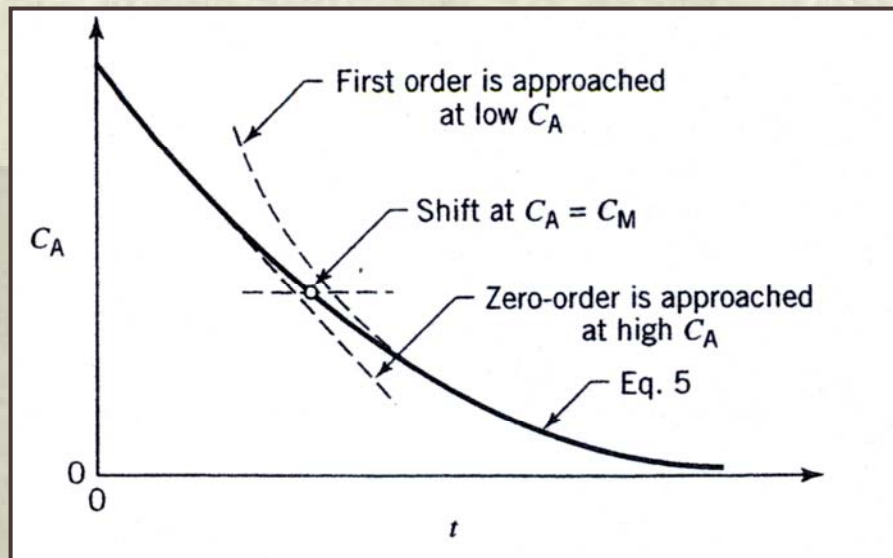
$$K_M \ln \frac{c_{A0}}{c_A} + (c_{A0} - c_A) = k_3 c_{E0} t$$

V času $t = 0$

$$\begin{aligned} c_{A0} \\ c_{E0} \\ c_{R0} = 0 \end{aligned}$$

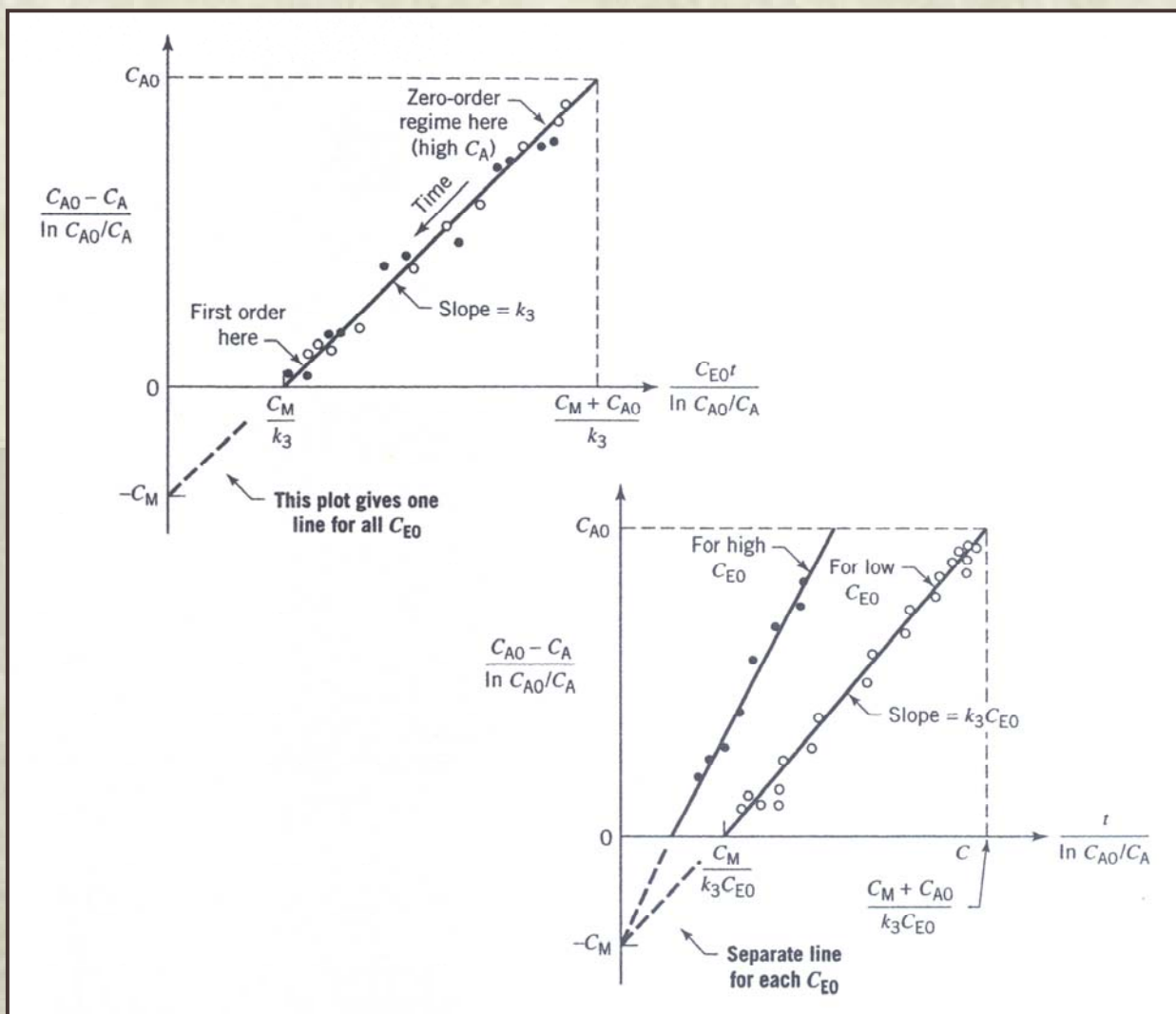
v času t

$$\begin{aligned} c_A \\ c_E = c_{E0} \\ c_R \end{aligned}$$



Slika 6.3: Koncentracijsko časovna odvisnost M-M enačbe.

$$\frac{c_{A0} - c_A}{\ln \frac{c_{A0}}{c_A}} = -K_M + k_3 c_{E0} \frac{t}{\ln \frac{c_{A0}}{c_A}}$$



Slika 6.4: Diagrama za testiranje M-M enačbe za šaržni reaktor.

b) Mešalni reaktor

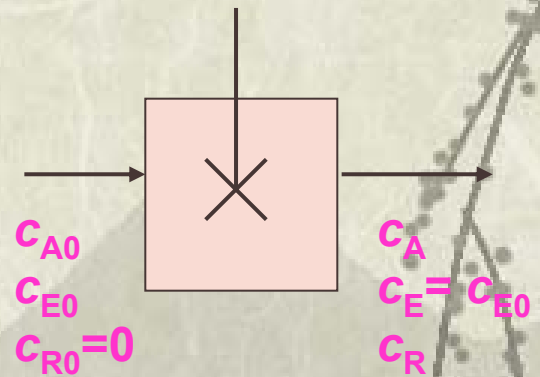
$$\tau = \frac{c_{A0} - c_A}{-r_A} = \frac{(c_{A0} - c_A)(K_M + c_A)}{k_3 c_{E0} c_A}$$

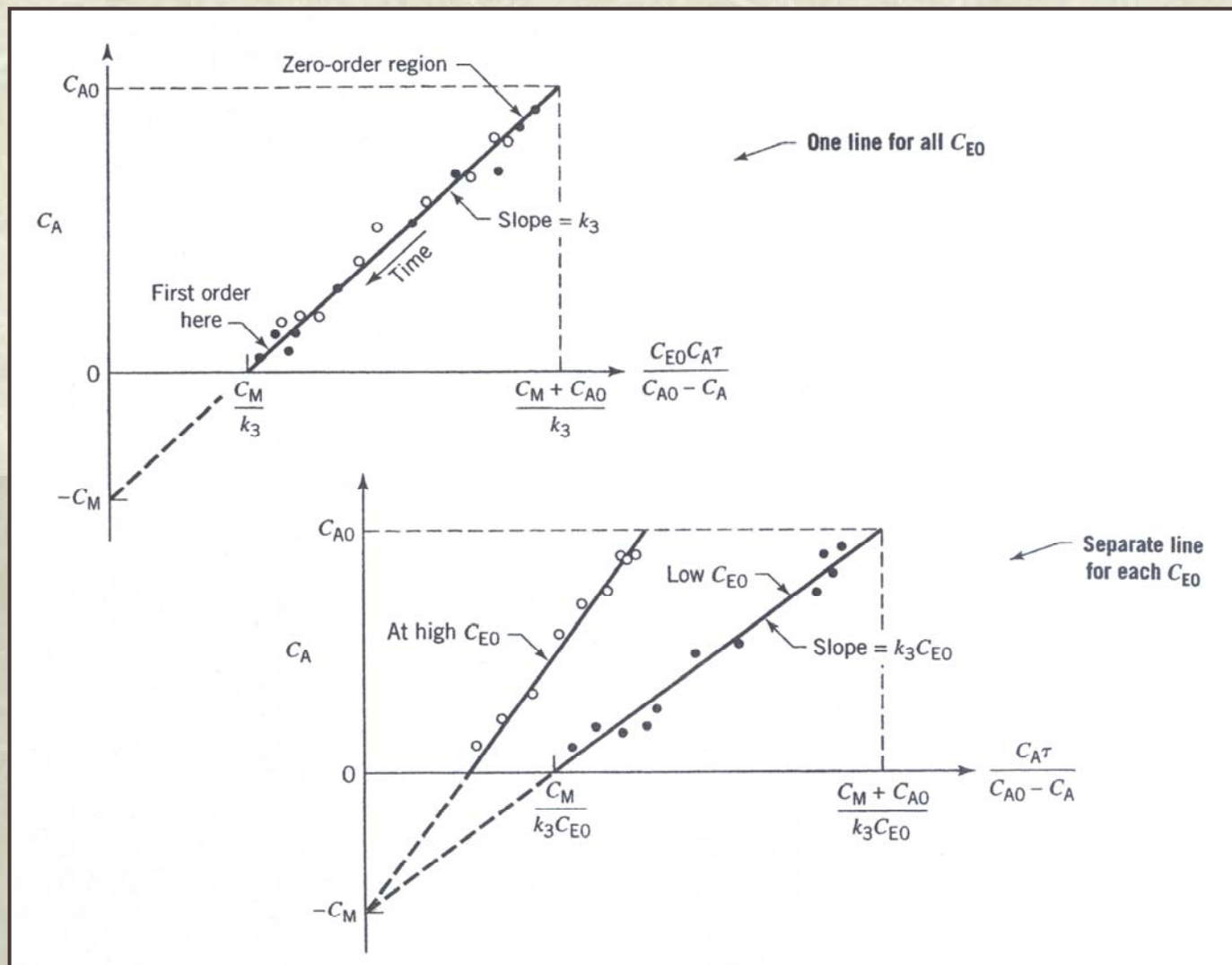
ali

$$k_3 c_{E0} \tau = \frac{(c_{A0} - c_A)(K_M + c_A)}{c_A}$$

Po preureditvi:

$$c_A = -K_M + k_3 \left(\frac{c_{E0} c_A \tau}{c_{A0} - c_A} \right)$$





Slika 6.5: Diagrama za testiranje M-M enačbe za mešalni pretočni reaktor.



c) Alternativne metode za določitev k in K_M

Postopek:

1. Merimo c_A (iztok) v odvisnosti od τ v kateremkoli od treh idealnih reaktorjev
2. Določimo $-r_A$ pri različnih c_A

za šaržni oz. cevni reaktor: $r_R = \frac{dc_A}{dt}$ ← Ovrednotimo naklone

za mešalni pretočni reaktor: $r_R = \frac{c_{A0} - c_A}{\tau}$ ← Iz vsakega poskusa dobimo eno vrednost za r

3. Rišemo r v odvisnosti od c in določimo obe konstanti na dva načina:

$$-r_A = f(c_A)$$

Eadie – Hofstee-jev diagram ali

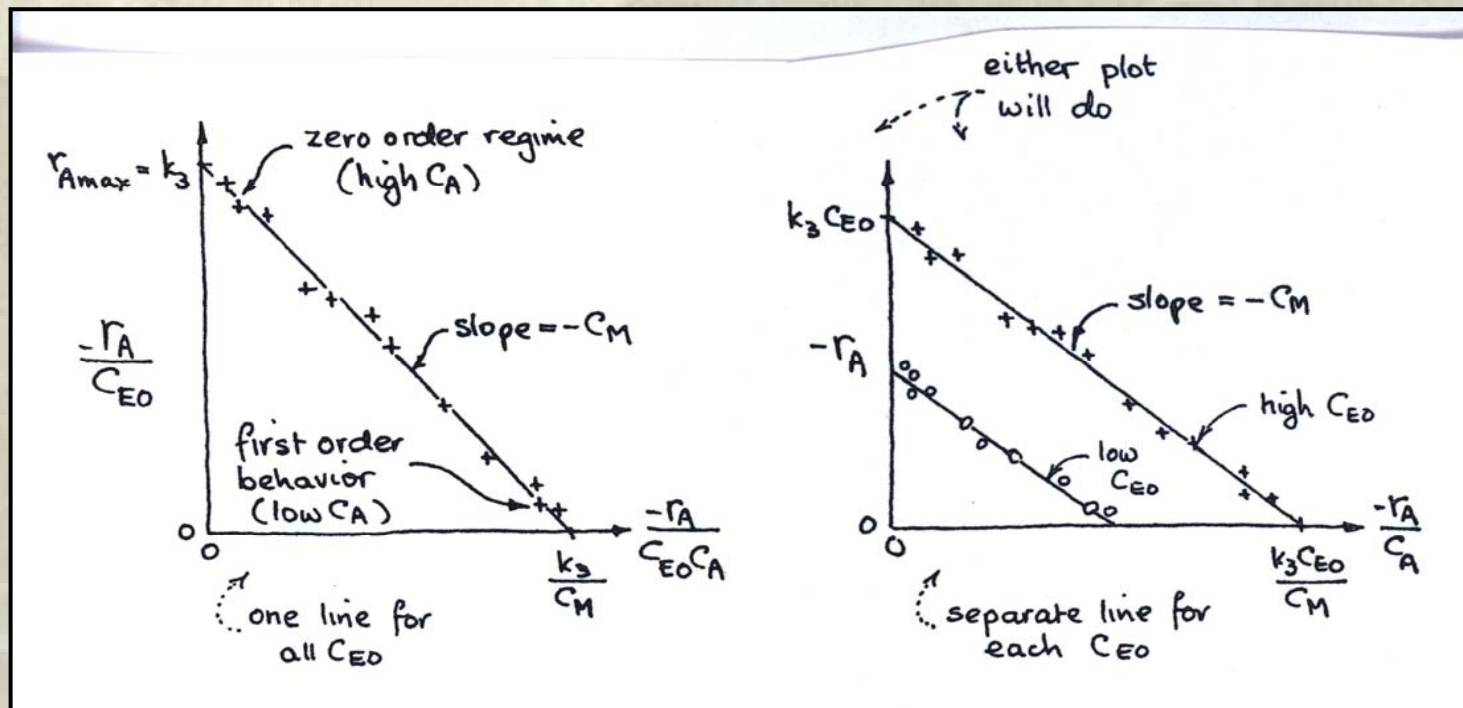
$$1/-r_A = f(1/c_A)$$

Lineweaver – Burk-ov diagram



Eadie-jev diagram

$$\frac{-r_A}{C_{E0}} = k_3 - K_M \left(\frac{-r_A}{C_{E0} C_A} \right)$$

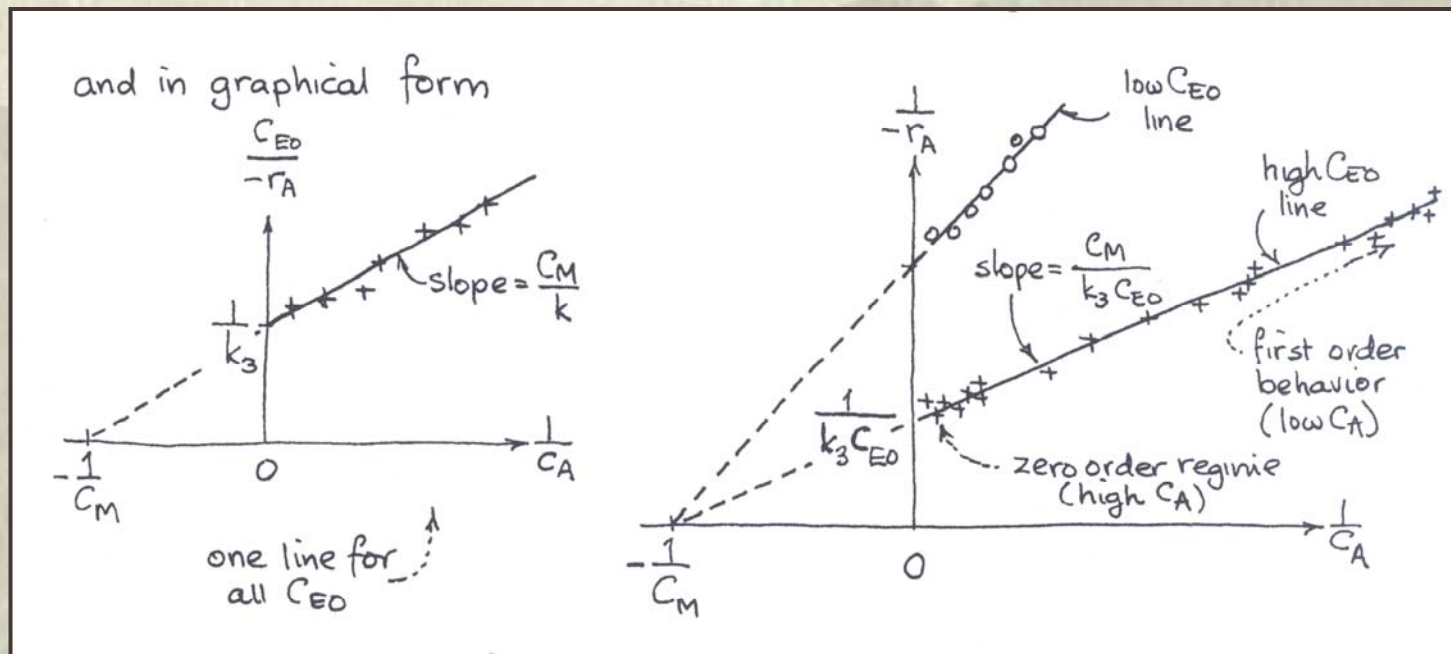


Slika 6.6: Določanje k_3 in K_M z Eadie-jevim diagramom.



Lineweaver-jev diagram

$$\frac{c_{E0}}{-r_A} = \frac{K_M}{k_3} \frac{1}{c_A} + \frac{1}{k_3} \quad \text{ali} \quad \frac{1}{-r_A} = \frac{K_M}{k_3 c_{E0}} \frac{1}{c_A} + \frac{1}{k_3 c_{E0}}$$

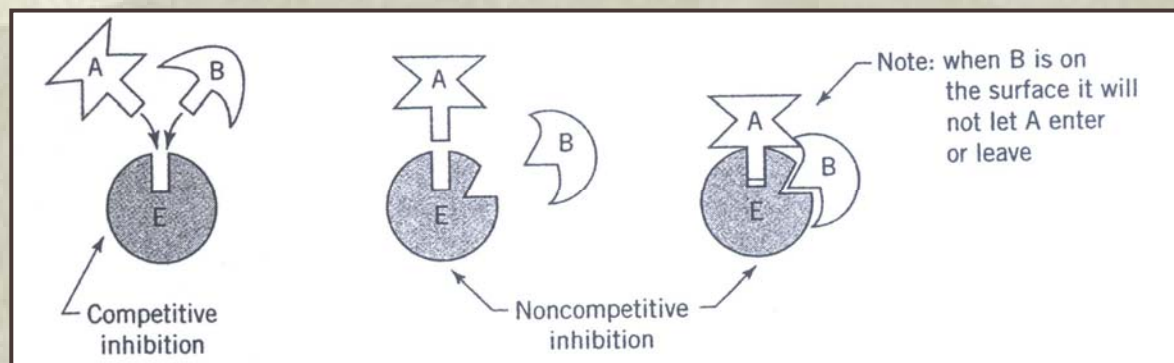


Slika 6.7: Določanje k_3 in K_M z Lineweaver-jevim diagramom.



II. Inhibicija s tujim substratom

Prisotnost substrata B upočasni encimsko reakcijo – B je **inhibitor**.



Slika 6.7: Preprost prikaz delovanja dveh tipov inhibitorjev.



Pomen inhibicije v farmakologiji:

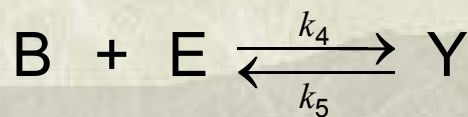
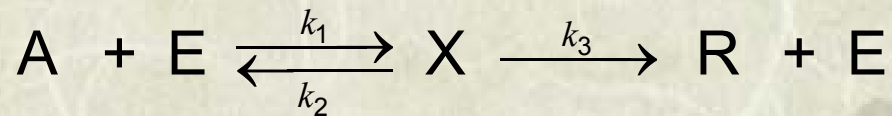
Študij encimov in inhibicije je najpomembnejši pri določanju delovanja obstoječih zdravil in pri razvijanju novih. Ta pristop je v celoti spremenil smer farmakoloških raziskav v zadnjih letih. Glavna usmeritev danes je:

- biokemijske raziskave bolezni in
- sinteza prepatov, ki bi kemijsko zablokirali delovanje odločilnega encima.



Kinetika kompetitivne inhibicije

Za A in B, ki tekmujeta za isto stran encima, velja mehanizem:



B tekmuje le za prosti encim

Hitrost reakcije je:

$$r_R = \frac{dc_R}{dt} = k_3 c_X$$

$$\frac{dc_X}{dt} = 0 = k_1 c_A c_E - (k_2 + k_3) c_X$$

$$\frac{dc_Y}{dt} = 0 = k_4 c_B c_E - k_5 c_Y$$

Koncentracija encima je:

$$c_{E0} = c_E + c_X + c_Y$$



In končno predpostavimo:

$$c_{B0} = c_B + c_Y, \text{ ali } c_{B0} \cong c_B, \text{ ali } c_{B0} \gg c_Y, \text{ ali } \frac{k_4}{k_5} \rightarrow 0$$

ali najboljše od vseh: $c_{B0} \gg c_{E0}$

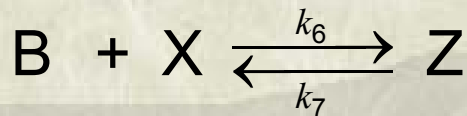
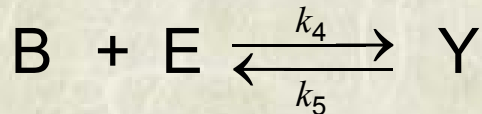
S kombinacijo vseh enačb eliminiramo c_E , c_X , in c_Y in dobimo:

$$r_R = \frac{k_3 c_{E0} c_A}{K_M + c_A + N c_{B0} K_M} = \frac{k_3 c_{E0} c_A}{K_M (1 + N c_{B0}) + c_A}$$

kjer je $N = \left(\frac{k_4}{k_5} \right)$



Kinetika nekompetitivne inhibicije



Hitrost reakcije je:

$$r_R = \frac{dc_R}{dt} = k_3 c_X \quad \text{in za intermediate velja:}$$

$$\frac{dc_X}{dt} = 0 = k_1 c_A c_E + k_7 c_Z - (k_2 + k_3) c_X - k_6 c_B c_X$$

$$\frac{dc_Y}{dt} = 0 = k_4 c_B c_E - k_5 c_Y \quad \frac{dc_Z}{dt} = 0 = k_6 c_B c_X - k_7 c_Z$$



Encim je lahko v različnih oblikah, torej:

$$c_{E0} = c_E + c_X + c_Y + c_Z$$

Zaradi poenostavitve matematičnega problema uvedemo predpostavki:

$$c_{B0} \gg c_{E0} \text{ in } c_{A0} \gg c_{E0}$$

S kombinacijo vseh enačb eliminiramo c_E, c_X, c_Y, c_Z in dobimo:

$$r_R = \frac{k_3 c_{E0} c_A}{K_M + c_A + N K_M c_{B0} + L c_A c_{B0}} = \frac{\frac{k_3}{(1 + L c_{B0})} c_{E0} c_A}{K_M \left(\frac{1 + N c_{B0}}{1 + L c_{B0}} \right) + c_A}$$

$$\text{kjer } N = \left(\frac{k_4}{k_5} \right) \text{ in } L = \left(\frac{k_6}{k_7} \right)$$



Razlika med osnovno enačbo hitrosti encimske reakcije in enačbo, ki upošteva nekompetitivno inhibicijo, je v konstantah k_3 in K_M :

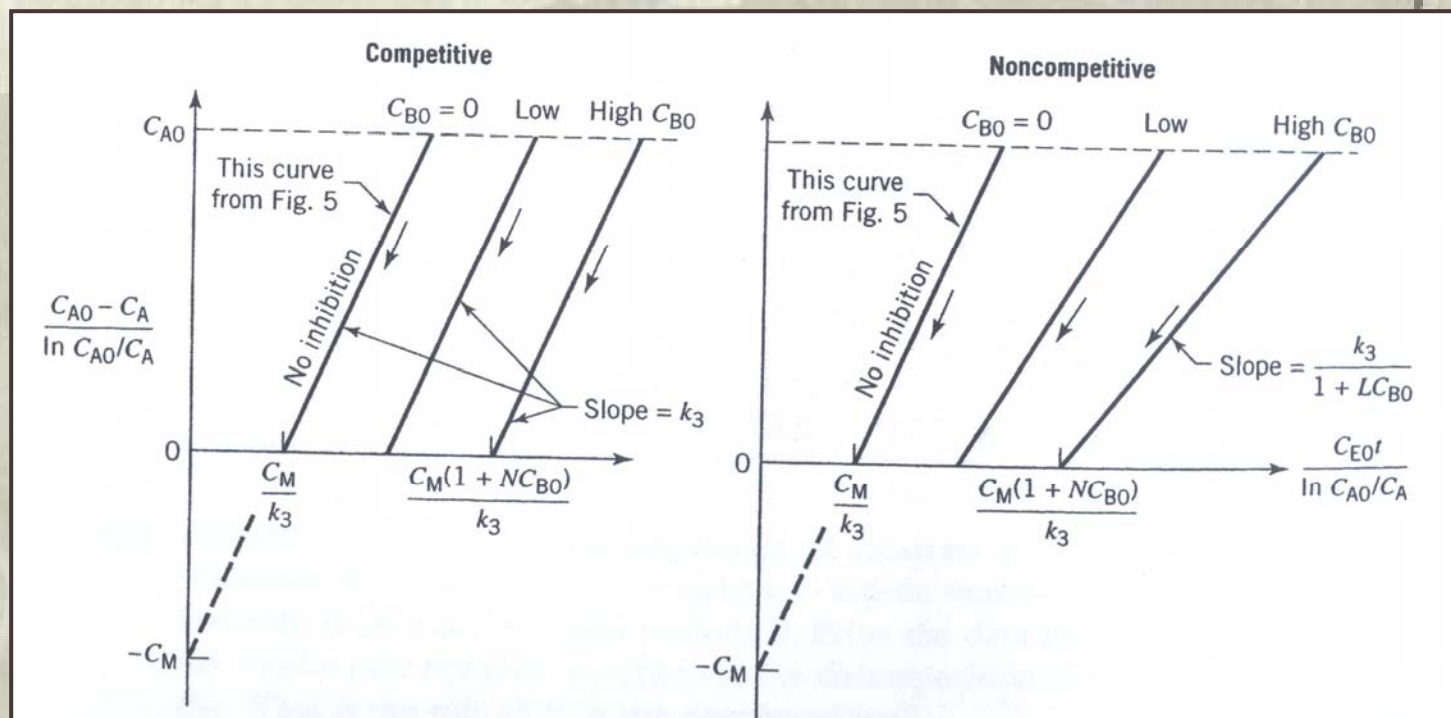
Zamenjamo k_3 z $\frac{k_3}{(1+Lc_{B0})}$

in K_M z $K_M \left(\frac{1+Nc_{B0}}{1+Lc_{B0}} \right)$

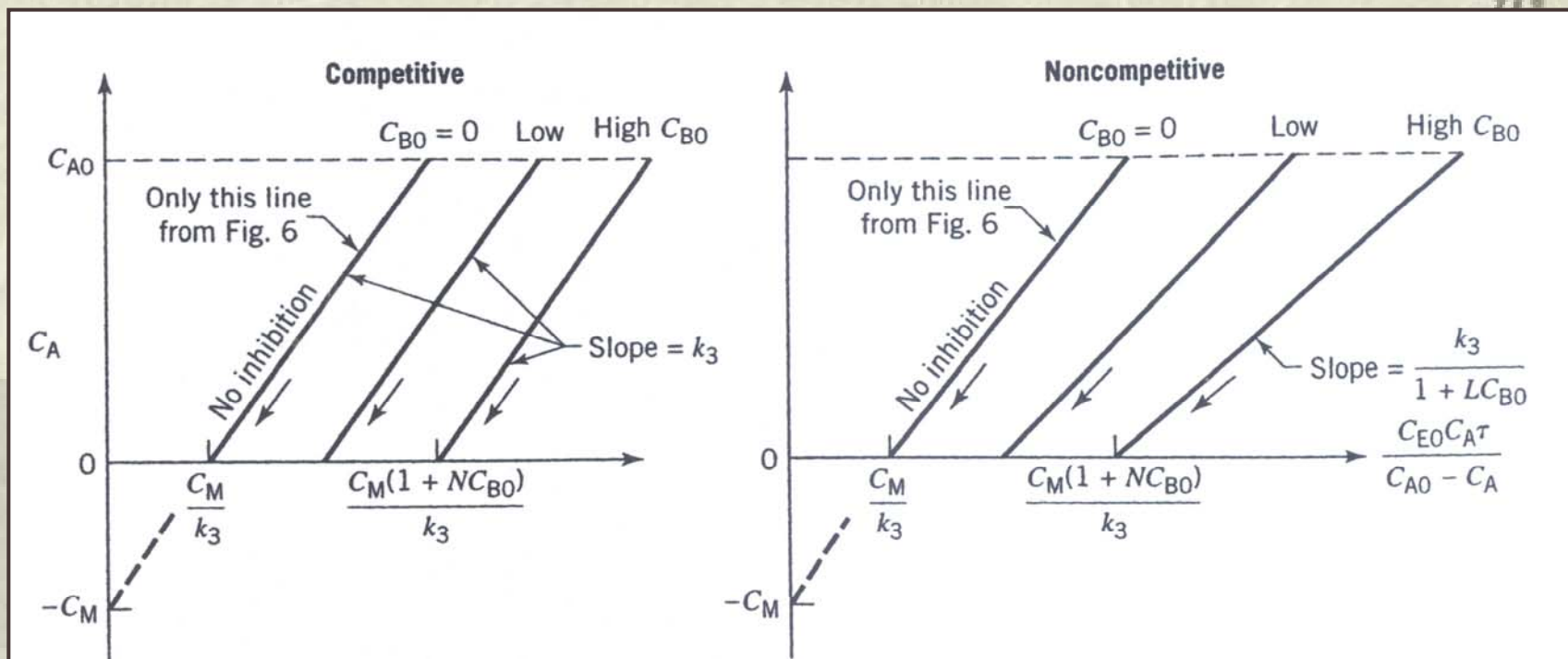


Razlika med kompetitivno in nekompetitivno inhibicijo na osnovi eksperimenta

- Uporabimo eksperimentalne podatke $c_A = f(t)$ ali $r_A = f(c_A)$
- Grafe ustrezno modificiramo

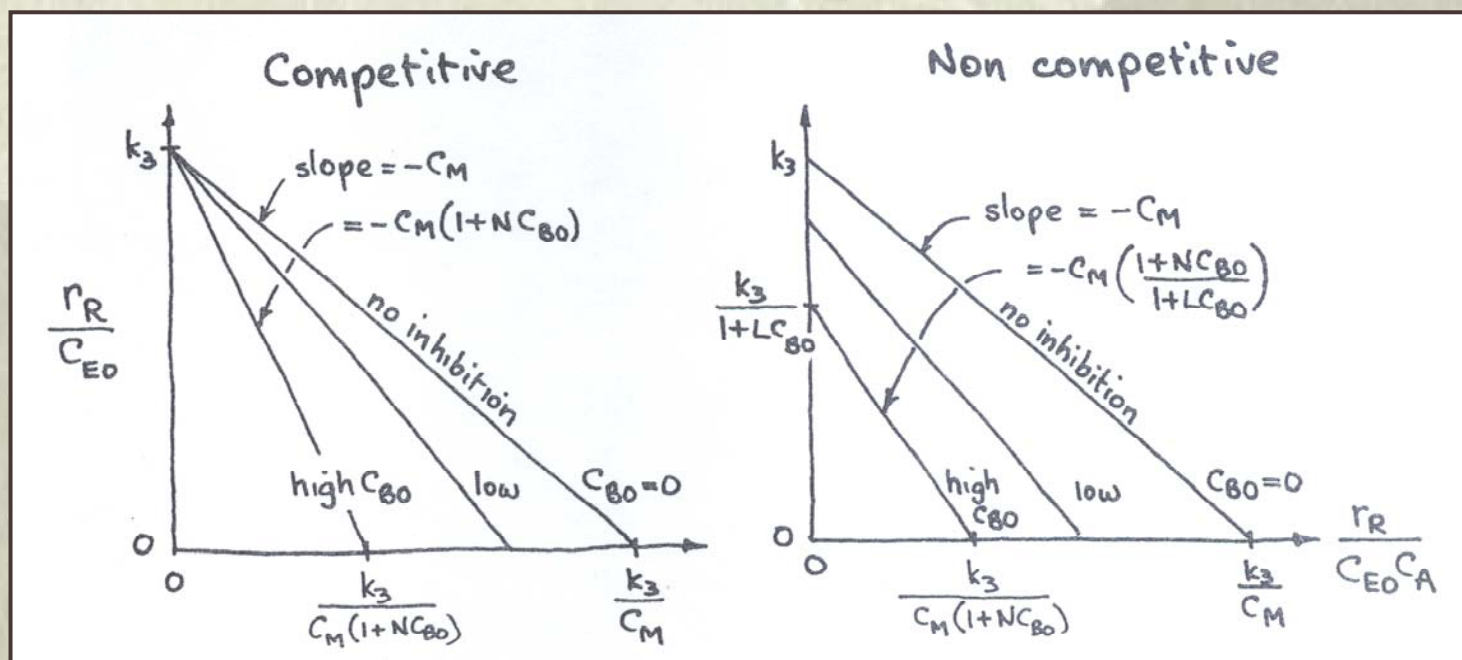


Slika 6.8: Vpliv inhibicije - šaržni ali cevni reaktor.



Slika 6.9: Vpliv inhibicije – mešalni pretočni reaktor.

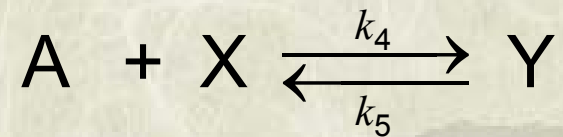
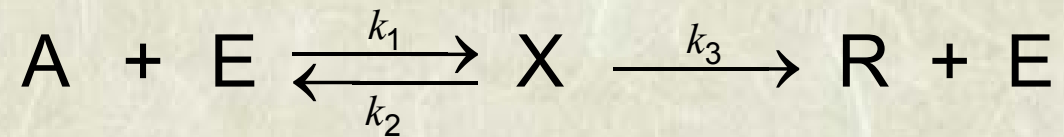
Določevanje parametrov na osnovi podatkov proizvodnost/koncentracija
(neodvisno od vrste reaktorja)



Slika 6.9a: Eadi-jev diagram za razlikovanje med kompetitivno in nekompetitivno inhibicijo.



III. Inhibicija s substratom



Hitrost reakcije je:

$$r_R = \frac{dc_R}{dt} = k_3 c_X$$

$$\frac{dc_X}{dt} = 0 = k_1 c_A c_E + k_5 c_Y - (k_2 + k_3) c_X - k_4 c_A c_X$$

$$\frac{dc_Y}{dt} = 0 = k_4 c_A c_E - k_5 c_Y$$



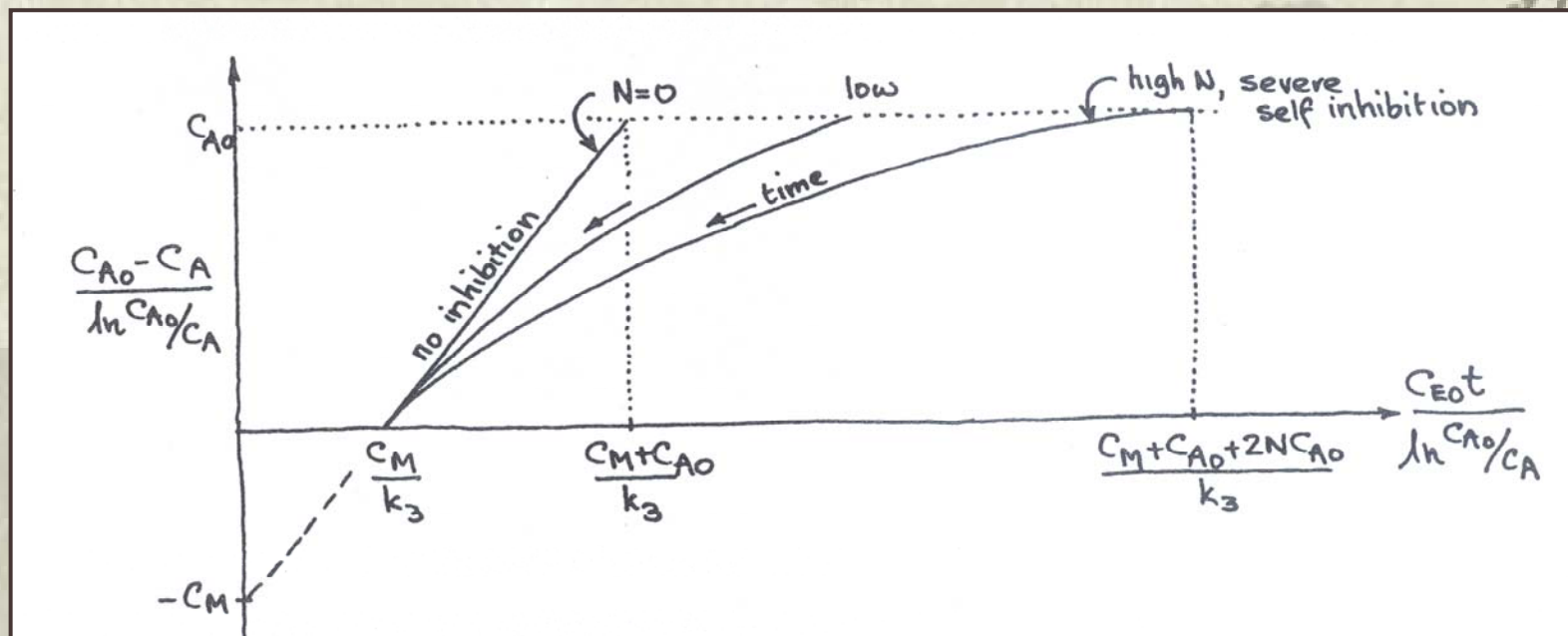
Encim je lahko v različnih oblikah, torej:

$$c_{E0} = c_E + c_X + c_Y$$

S kombinacijo vseh enačb eliminiramo c_E , c_X , c_Y in dobimo:

$$r_R = \frac{k_3 c_{E0} c_A}{K_M + c_A + N c_{A0}^2}$$

kjer je: $N = \left(\frac{k_4}{k_5} \right)$



Slika 6.10: Lastna inhibicija – šaržni in cevni reaktor.

OPOMBA: Sliko za mešalni pretočni reaktor konstruirajte sami.



Primer 7

ENCIMSKA REAKCIJA V MEŠALNEM PRETOČNEM REAKTORJU

Substrat in encim tečeta skozi mešalni pretočni reaktor ($V = 6$ L). Iz meritev vtočnih, iztočnih koncentracij in pretokov določite enačbo hitrosti reakcije, ki predstavlja delovanje encima na substrat.

$c_{E0}/(\text{mol/L})$	$c_{A0}/(\text{mol/L})$	$c_A/(\text{mol/L})$	$q/(\text{L/h})$
0,01	1,0	0,1	0,3
0,01	1,5	0,5	1,0
0,01	2,5	2,0	4,0



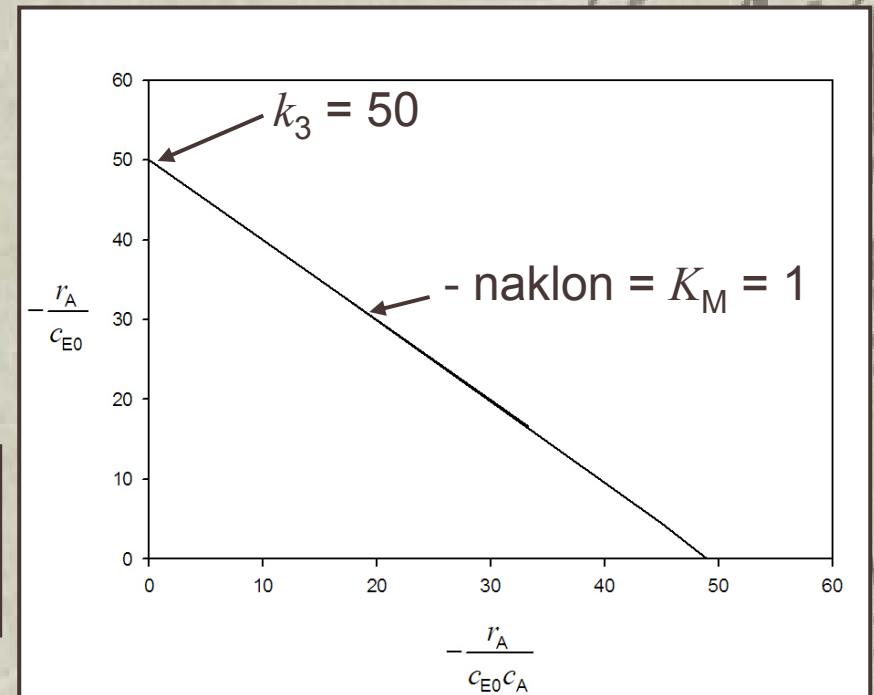
$\tau = \frac{V}{q}$	$-r_A = \frac{c_{A0} - c_A}{\tau}$	$\frac{-r_A}{c_{E0}}$	$\frac{-r_A}{c_{E0}c_A}$
20	0,045	4,5	45
6	0,1667	16,67	33,3
1,5	0,333	33,33	16,66

Eadie-jev graf:

$$\frac{-r_A}{c_{E0}} = k_3 - K_M \left(\frac{-r_A}{c_{E0}c_A} \right)$$

Iz slike: $k_3 = 50$, $K_M = 1$

$$-r_A = \frac{50 c_{E0}c_A}{1 + c_A} \frac{\text{mol}}{\text{L h}}$$



Primer 8

RAZPAD REAKTANTA V PRISOTNOSTI ENCI MA V ŠARŽNEM REAKTORJU

Reaktant A (substata) v prisotnosti encima E razpada. Za študij obnašanja encima, smo uvedli A in B v šaržni reaktor in merili koncentracijo A pri različnih časih. Poiščite enačbo hitrosti reakcije iz naslednjih podatkov:

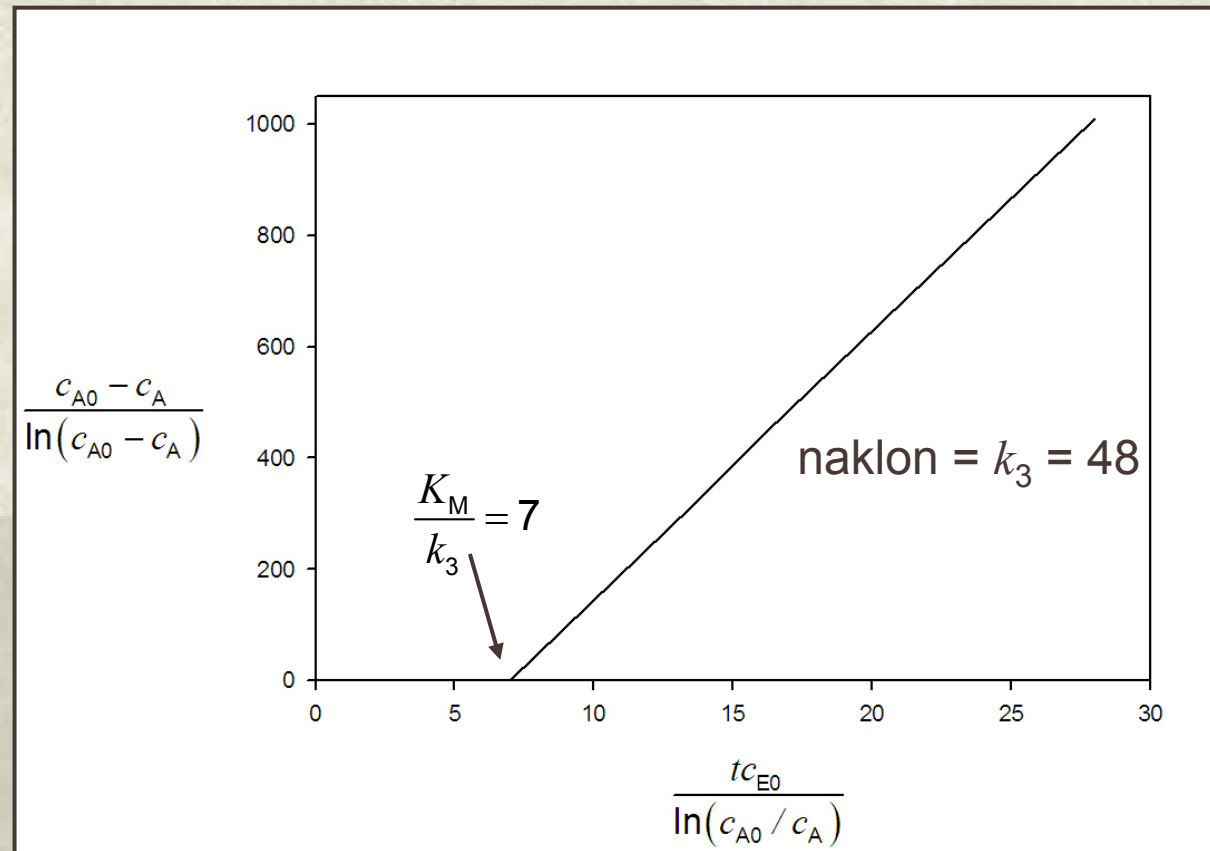
$c_A / (\text{mol/m}^3)$	1200	840	100	30
t / h	0	1	4	5

$$c_{E0} = 10 \text{ mol/m}^3$$



t	c_A	$\frac{c_{A0} - c_A}{\ln(c_{A0} / c_A)}$	$\frac{tc_{E0}}{\ln(c_{A0} / c_A)}$
0	1200	-	-
1	840	1009	28,0
4	100	443	16,1
5	30	317	13,6

$$\frac{c_{A0} - c_A}{\ln \frac{c_{A0}}{c_A}} = -K_M + k_3 \frac{c_{E0}t}{\ln \frac{c_{A0}}{c_A}}$$



$$K_M = 7k_3 = 7 \times 48 = 336$$

Enačba za hitrost reakcije:

$$-r_A = \frac{48 c_{E0} c_A}{336 + c_A} \frac{\text{mol}}{\text{m}^3 \text{ h}}$$



Primer 9

DOLOČANJE INHIBICIJE V MEŠALNEM PRETOČNEM REAKTORJU

Ogljikovodik A razpada v prisotnosti encima E. Hkrati sumimo, da ima ogljikovodik B vpliv na ta razpad. Da bi preučili ta fenomen, izvajamo poskuse v mešalnem pretočnem reaktorju ($V = 240 \text{ cm}^3$) pri različnih pretokih in z različnimi koncentracijami A, B in E.

- Iz podatkov določite enačbo, ki predstavlja hitrost razpada!
- Kaj lahko rečete o vlogi ogljikovodika B pri razpadu?
- Ali lahko predlagate mehanizem tega razpada?



$c_{A0}/(\text{mol}/\text{m}^3)$	$c_A/(\text{mol}/\text{m}^3)$	$c_{B0}/(\text{mol}/\text{m}^3)$	$c_{E0}/(\text{mol}/\text{m}^3)$	$q/(\text{cm}^3/\text{min})$
200	50	0	12,5	80
900	300	0	5	24
1200	800	0	5	48
700	33,3	33,3	33,3	24
200	80	33,3	10	80
900	500	33,3	20	120



a) Izračunamo podatke za Eadie-jev diagram:

$\tau = \frac{V}{q}$	$-r_A = \frac{C_{A0} - C_A}{\tau}$	$\frac{-r_A}{C_{E0}}$	$\frac{-r_A}{C_{E0} C_A}$
3	50	4	0,08
10	60	12	0,04
5	80	16	0,02
10	66,7	2	0,06
3	40	4	0,05
2	200	10	0,02

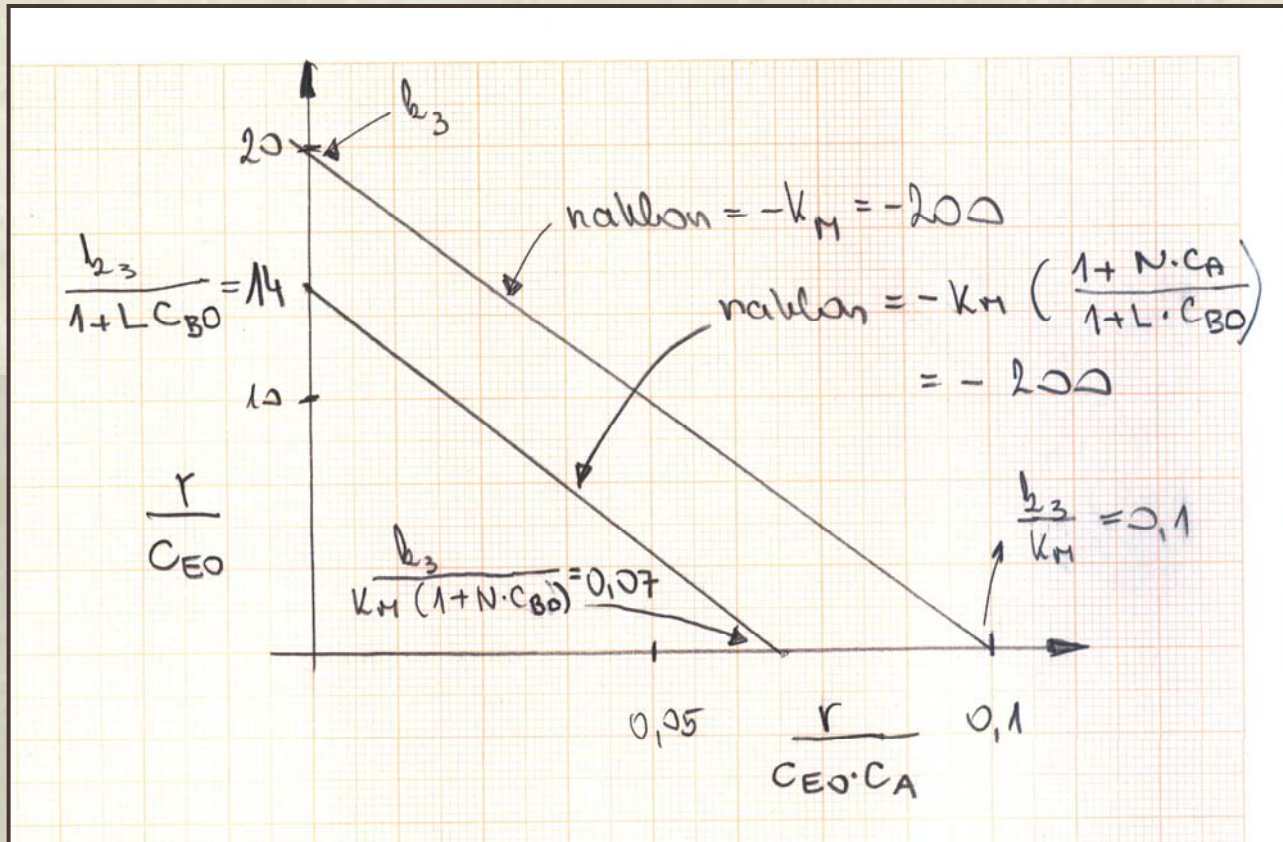
$$K_M = 200$$

$$N = L$$

$$k_3 = 0,1 \quad K_M = 20$$

$$\frac{k_3}{1 + L C_{B0}} = \frac{20}{1 + L 33,3} = 14 \longrightarrow L = 0,01287$$

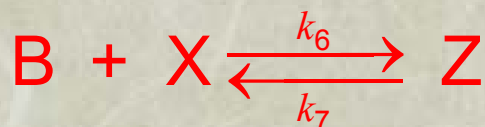
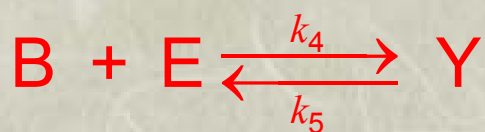
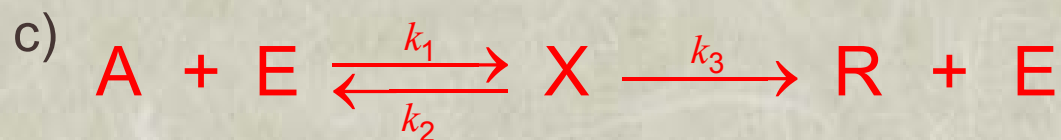
$$N = 0,01287$$





$$r = \frac{k_3 c_{E0} c_A}{K_M + c_A + N K_M c_{B0} + L c_A c_{B0}} = \frac{20 c_{E0} c_A}{K_M + c_A + 0,01287 (200 + c_A) c_{B0}}$$

b) **Nekompetitivna inhibicija**



Neodvisen napad

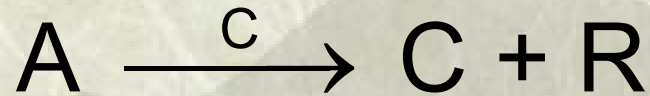
$$\frac{k_4}{k_5} = \frac{k_6}{k_7}$$



6.2 Mikrobiološka kinetika

Najpreprostejša situacija:

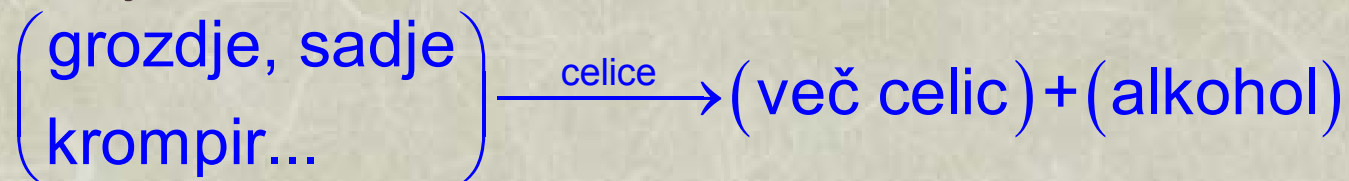
- mikroorganizem C
- en tip hrane A (substrat)



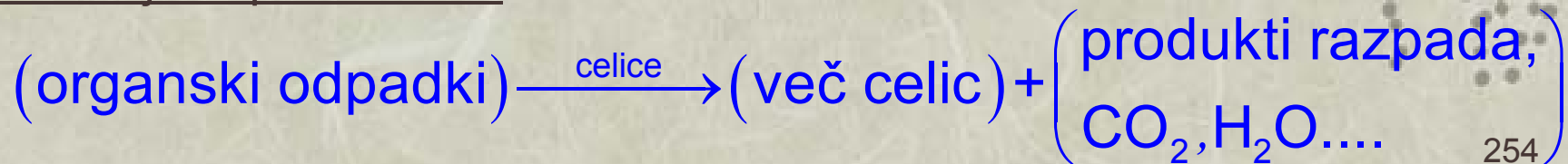
Zastrupljanje s produktom

Primer:

Proizvodnja vina

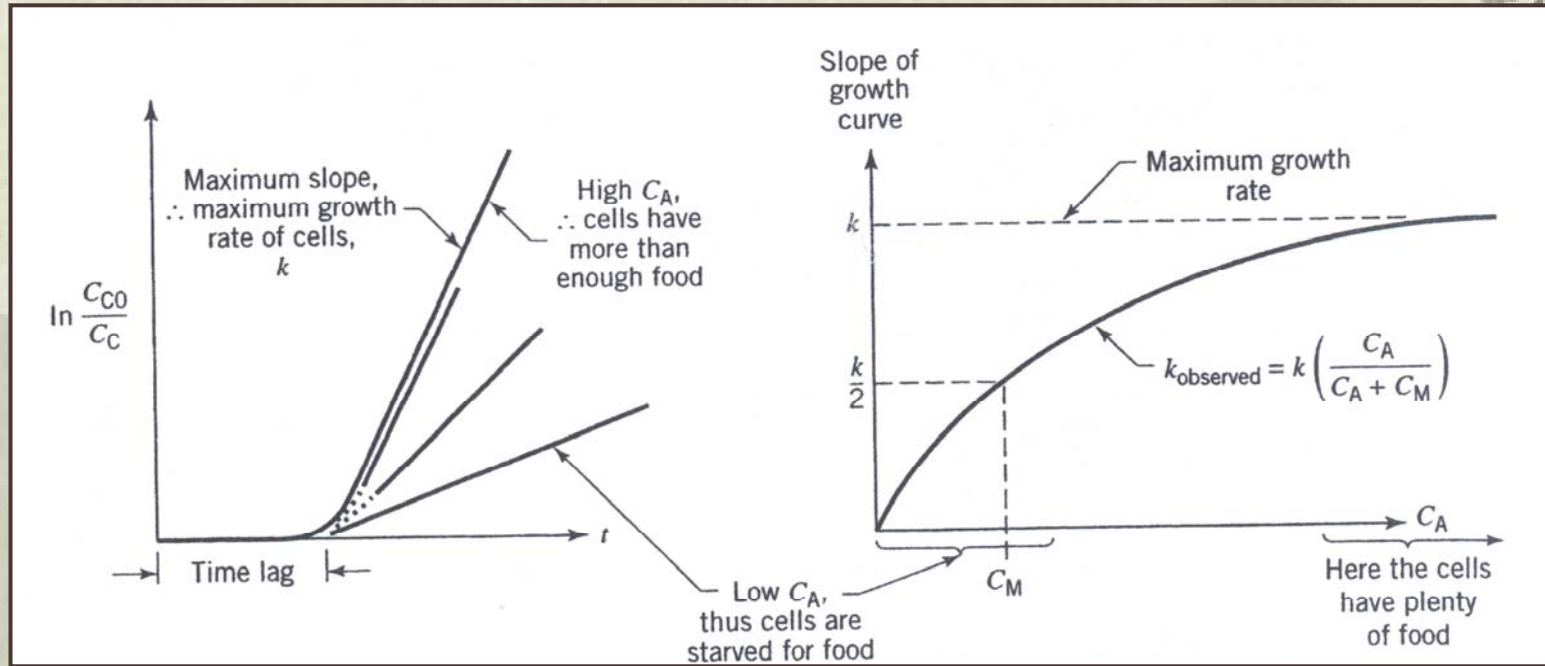


Čiščenje odpadne vode





a) Fermentacija v nespremenjenem okolju, kvalitativno



Slika 6.11: Rast celic v okolju s konstantno sestavo.

Rast celic je definirana z Monodovo kinetiko:

$$\mu = \mu_{\max} \frac{c_S}{K_S + c_S}$$

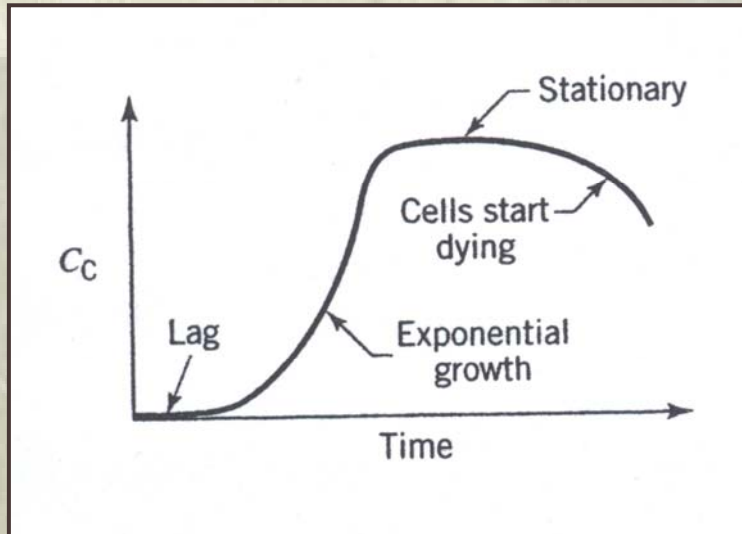
oziroma

$$r_C = \frac{k c_A c_C}{K_M + c_A}$$

b) Šaržni fermentor, kvalitativno



Celice se množijo, sestava substrata se spreminja in nastaja produkt, ki je lahko toksičen za celice.

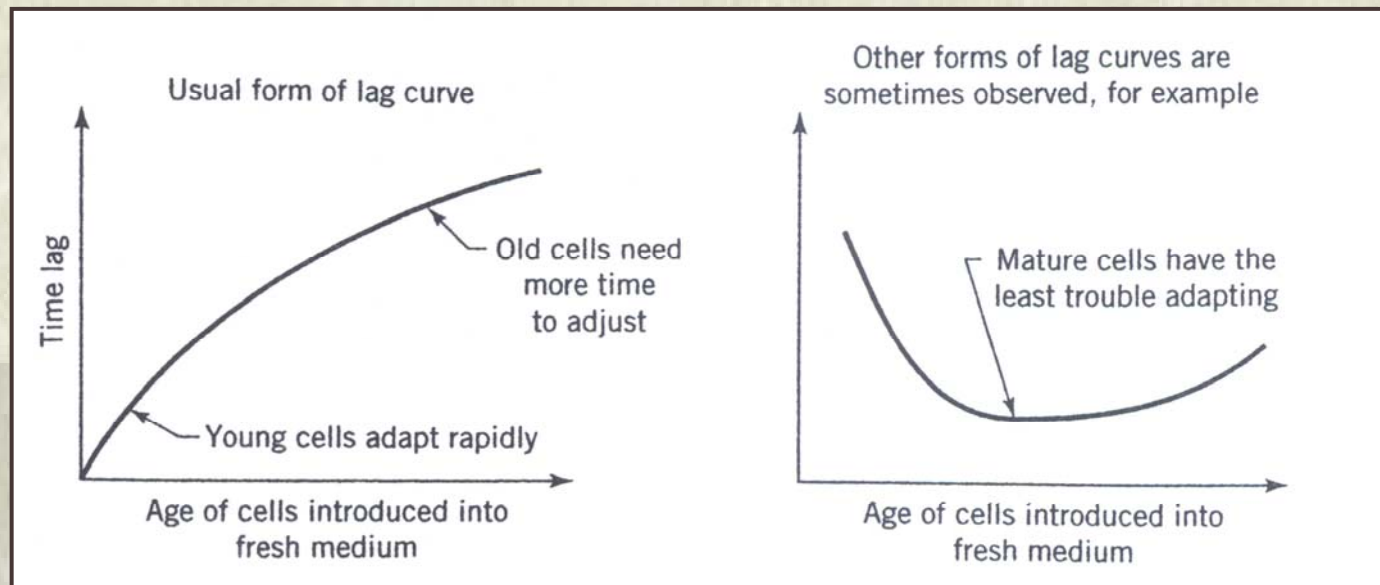


Enostavnejša razdelitev faz:

- prilagajanje
- rast
- stacionarno stanje
- umiranje celic



Prilagajanje

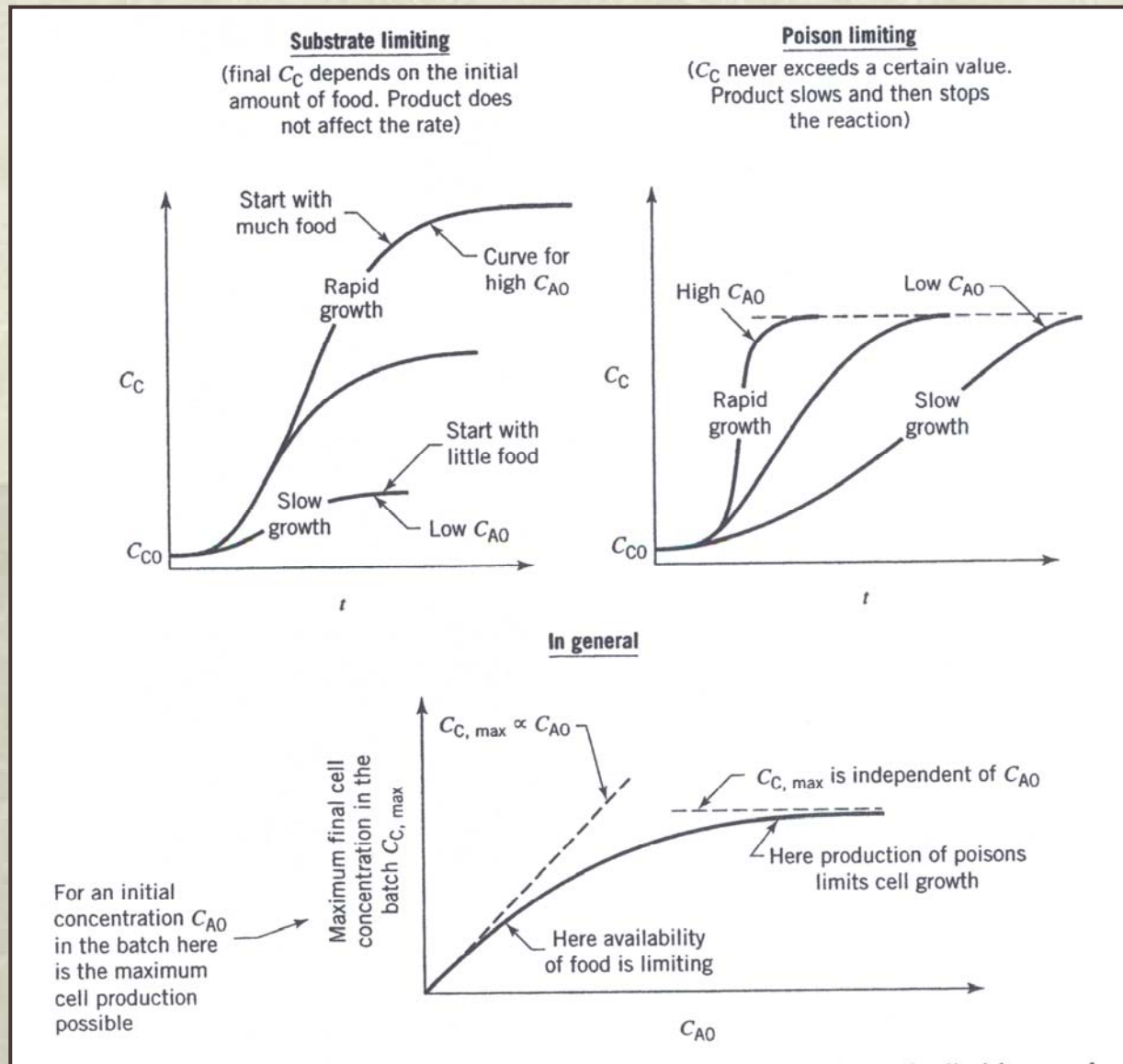


Slika 6.12: Čas prilagajanja celic na novo okolje.

Rast in stacionarna faza

Rast se lahko ustavi ali pade:

- pomanjkanje hrane
- akumulacija strupenih snovi (glede na celico)



Slika 6.13: Maksimalna hitrost rasti celic



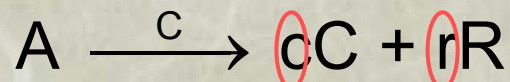
c) Mešalni pretočni fermentor

- Celice so v okolju enakomerne sestave
- Prilagajanje ni potrebno
- Celice se množijo s konstantno hitrostjo, ki jo določa sestava fluida (Monodova enačba)

$$r_C = \frac{k c_A c_C}{K_M + c_A}$$

- k je odvisna od temperature, prisotnosti elementov, vitaminov, toksičnih substanc, intenzitete svetlobe, ipd.

d) Porazdelitev produkta in izkoristki



se spreminjata ko reakcija napreduje



$$Y_{C/A} = \frac{d(C)}{d(A)}$$

$$Y_{R/A} = \frac{d(R)}{d(A)}$$

$$Y_{R/C} = \frac{d(R)}{d(C)}$$



$$Y_{R/A} = Y_{R/C} Y_{C/A}$$

$$Y_{A/C} = 1 / Y_{C/A}$$

$$r_C = (-r_A) Y_{C/A}$$

$$r_R = (-r_A) Y_{R/A}$$

$$r_R = (r_C) Y_{R/C}$$

Po uvedbi predpostavke, da so izkoristki konstantni pri vseh sestavah:

$$c_C - c_{C0} = Y_{C/A} (c_{A0} - c_A) \quad \text{ali} \quad c_C = c_{C0} + Y_{C/A} (c_{A0} - c_A)$$

$$c_R - c_{R0} = Y_{R/A} (c_{A0} - c_A) \quad \text{ali} \quad c_R = c_{R0} + Y_{R/A} (c_{A0} - c_A)$$

$$c_R - c_{R0} = Y_{R/C} (c_C - c_{C0}) \quad \text{ali} \quad c_R = c_{R0} + Y_{R/C} (c_C - c_{C0})$$



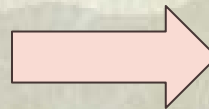
e) Kinetični izrazi

1. Razpoložljivost hrane

Za encime:



$$c_{E0} = c_E + c_X$$



pri visokih c_A

$$r_R = kc_{E0}$$

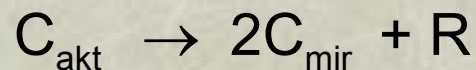
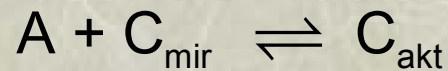
pri nizkih c_A

$$r_R = kc_{E0}c_A/K_M$$

pri vseh c_A

$$r_R = \frac{kc_{E0}c_A}{K_M + c_A}$$

Za mikroorganizme:



$$c_{C,\text{skupno}} = c_{C,\text{akt}} + c_{C,\text{mir}}$$



pri visokih c_A

$$r_R = kc_C$$

pri nizkih c_A

$$r_R = kc_Cc_A/K_M$$

pri vseh c_A

$$r_R = \frac{kc_Cc_A}{K_M + c_A}$$



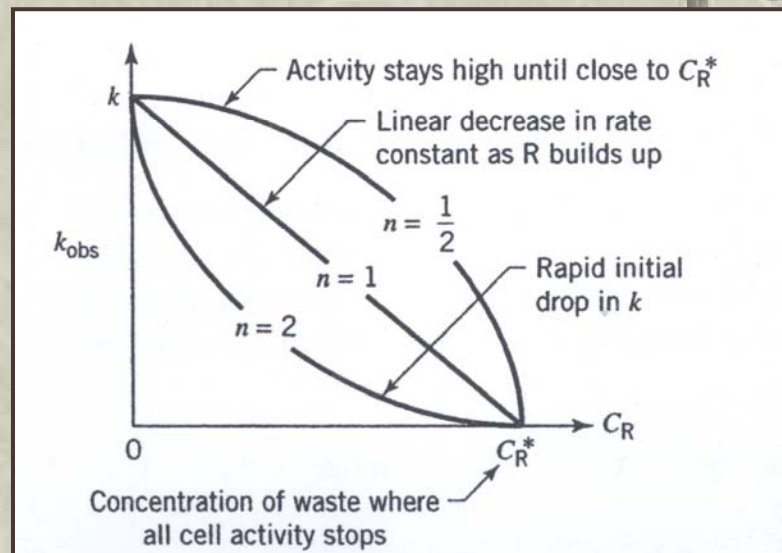
2. Vpliv škodljivih odpadnih snovi

Z naraščanjem koncentracije R, konstanta proizvodnosti za Monodovo kinetiko pada:

$$k' = k \left(1 - \frac{C_R}{C_R^*} \right)^n$$

Konstanta, ko ni škodljive snovi

Red zastrupljanja



Slika 6.15: Vpliv koncentracije R na hitrost rasti celic.



3. Splošni kinetični izraz

Najpreprostejši izraz za Monodovo kinetiko, ki upošteva pomanjkanje hrane in prisotnost škodljivih produktov pri mikrobiološki fermentaciji je:

$$-r_A Y_{C/A} = r_R Y_{C/R} = r_C = k' \frac{c_C c_A}{K_M + c_A}$$

↙
Posplošena Monodova enačba

Reakcija oz. razmnoževanje celic je lahko upočasnjeno zaradi

- pomanjkanja hrane (lakota) ali
- nastanka nezaželenih produktov

Vsebina predavanj



1. Uvod
2. Osnovni pojmi biokemije
3. Bioreakcijska kinetika
 - 3.1. Encimska kinetika
 - 3.2. Mikrobiološka kinetika
4. Bioreaktorji-vrste
5. Tehnološke zahteve pri načrtovanju bioreaktorjev
 - 5.1. Mešanje
 - 5.2. Prenos snovi
 - 5.3. Prenos toplote
6. Modeliranje bioreaktorjev-splošno
 - 6.1. Encimska fermentacija
 - 6.2. *Mikrobiološka fermentacija*
 - 6.3. *Pomanjkanje substrata*
 - 6.4. *Inhibicija s produktom*
 - 6.5. Primeri
7. Aerobno in anaerobno čiščenje odpadnih vod



Mikrobiološka fermentacija-pomanjkanje substrata

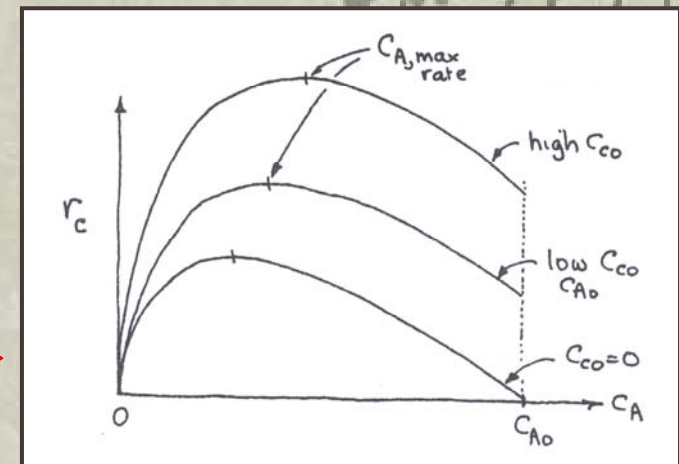
$$-r_A Y_{C/A} = r_R Y_{C/R} = r_C = k' \frac{c_C c_A}{K_M + c_A} \quad \text{se poenostavi}$$

$$r_C = -r_A Y_{C/A} = \frac{k c_C c_A}{K_M + c_A} \quad \text{kjer je } c_C - c_{C0} = Y_{C/A} (c_{A0} - c_A)$$

Maksimalno hitrost dobimo z odvajanjem:

$$c_{A,\max} = \sqrt{K_M^2 + K_M (c_{A0} + Y_{A/C} c_{A0})} - K_M$$

Grafični prikaz odvisnosti proizvodnosti od sestave





a) Šaržni (ali cevni) reaktor

Uporabimo osnovno enačbo obratovanja:

$$t_{\text{š}} = \tau_c = \int_{c_{C0}}^{c_C} \frac{dc_C}{r_C} = \frac{1}{k} \int_{c_{C0}}^{c_C} \frac{K_M + c_A}{c_C c_A} dc_C = \int_{c_{A0}}^{c_A} \frac{dc_A}{Y_{A/C} r_C} = \frac{1}{k} \int_{c_{A0}}^{c_A} \frac{K_M + c_A}{Y_{A/C} c_C c_A} dc_A$$

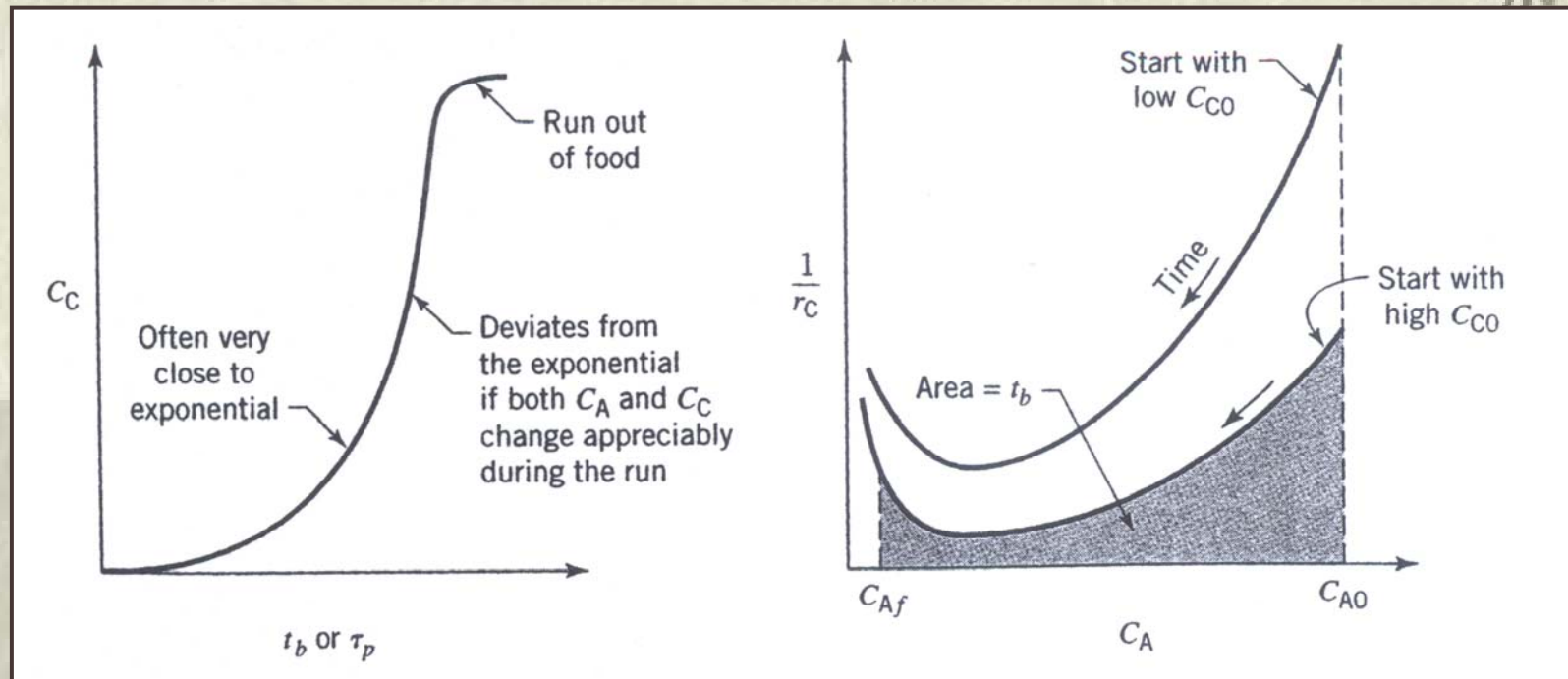
$c_{A0} - Y_{A/C} (c_C - c_{C0})$ $c_{C0} + Y_{C/A} (c_{A0} - c_A)$

Po integraciji:

$$kt_{\text{š}} = k\tau_c = \left(\frac{K_M}{c_{A0} + Y_{A/C} c_{C0}} + 1 \right) \ln \frac{c_C}{c_{C0}} - \left(\frac{K_M}{c_{A0} + Y_{A/C} c_{C0}} + 1 \right) \ln \frac{c_A}{c_{A0}}$$

Oziroma, če je enačba izražena glede na produkt, upoštevamo:

$$c_R = c_{R0} + Y_{R/C} (c_C - c_{C0}) = c_{R0} + Y_{R/A} (c_{A0} - c_A)$$



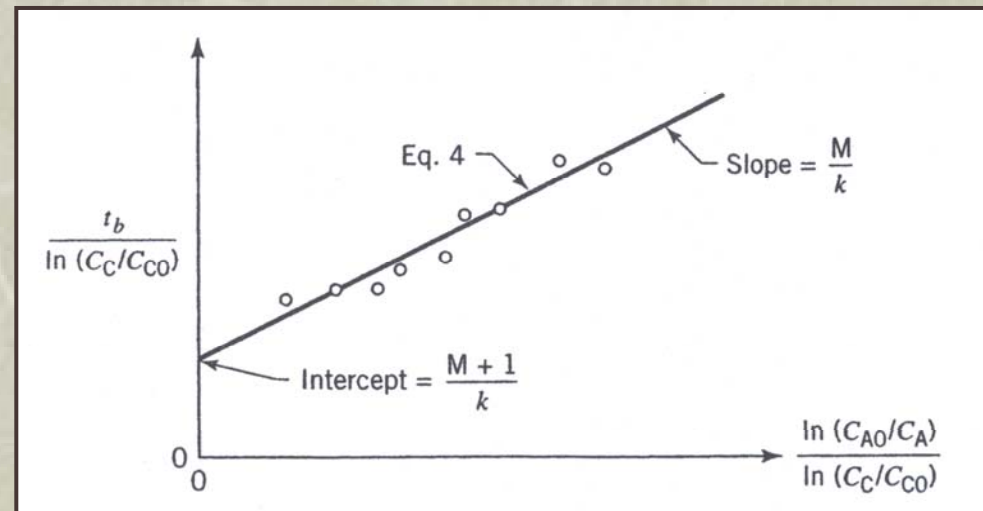
Slika 7.1: Monodov tip mikrobiološke fermentacije-šaržni/cevni reaktor.



Eksperimentalno določanje konstant Monodove enačbe

a) Preuredimo enačbo obratovanja:

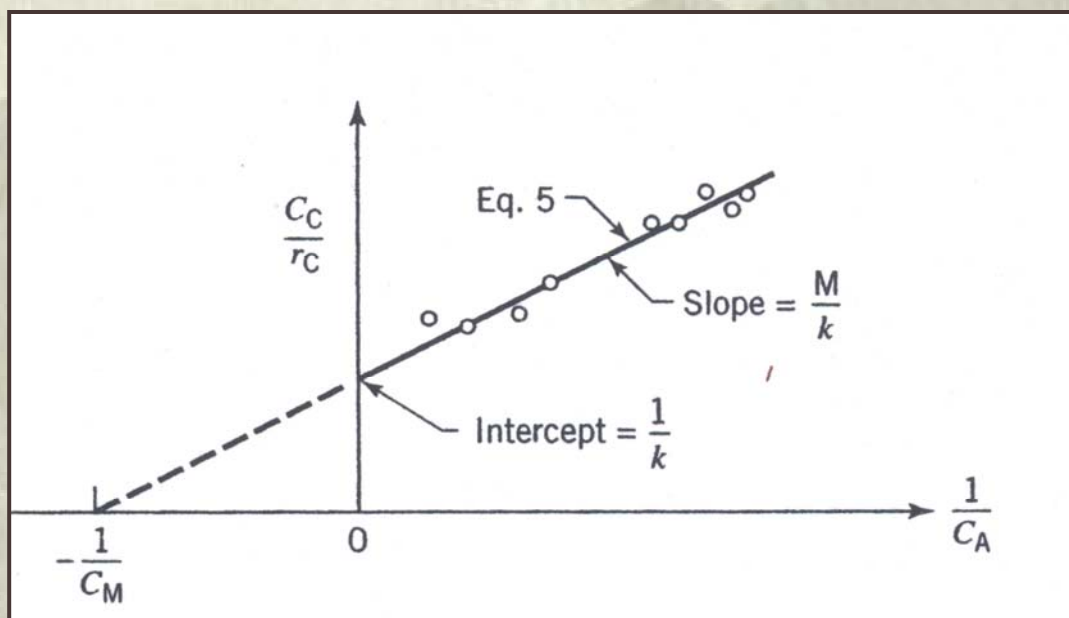
$$\frac{t_{\text{š}}}{\ln c_C / c_{C0}} = \frac{M+1}{k} + \frac{M}{k} \left(\frac{\ln c_{A0} / c_A}{\ln c_C / c_{C0}} \right) \quad \text{kjer je } M = \frac{K_M}{c_{A0} + Y_{A/C} c_{C0}}$$



Slika 7.2: Določanje konstant Monodove enačbe-šaržni reaktor, metoda a).

b) Iz dc_C/dt določimo r_C in preuredimo Monodovo enačbo:

$$\frac{c_C}{r_C} = \frac{1}{k} + \frac{K_M}{k} \frac{1}{c_A}$$



Slika 7.3: Določanje konstant Monodove enačbe-šaržni reaktor, metoda b)



Opombe:

- Metoda a) uporablja vse podatke direktno in je prikazana s premico. je zelo primerna.
- Metoda b) zahteva odvode oz. naklone iz eksperimentalnih podatkov, je bolj zahtevna in zato manj uporabljena.
- za visoke c_A , ko je $c_A \gg K_M$, dobimo iz Monodove enačbe: $r_C = kc_C$ in če to vstavimo v osnovno enačbo za šaržno obratovanje, se le-ta poenostavi:

$$k\tau_c = \ln \frac{c_C}{c_{C0}} \quad \text{krivulja eksponentne rasti}$$

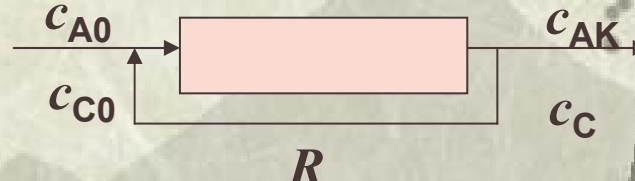
- za nizke c_A , ko je $c_A \ll K_M$, postane Monodova enačba preprosta autokatalitična in enačba obratovanja

$$kt_p = \frac{K_M}{c_{A0} + Y_{A/C}c_{C0}} \ln \frac{c_{A0}c_C}{c_A c_{C0}} \quad \text{značilna S oblika krivulje rasti}$$

- za zelo visoke c_C ne moremo uporabiti Monodove enačbe brez upoštevanja zastrupljanja s produktom.



- za čepasti tok z obtokom, s $c_{C0} \neq 0$, postane izraz za obratovanje:

$$\tau = (R+1) \int_{c_{AK}}^{\frac{c_{A0} + Rc_{AK}}{R+1}} \frac{c_A + K_M}{Y_{A/C} k c_A c_C} dc_A$$

$$c_{C0} + Y_{C/A} (c_{A0} - c_A)$$

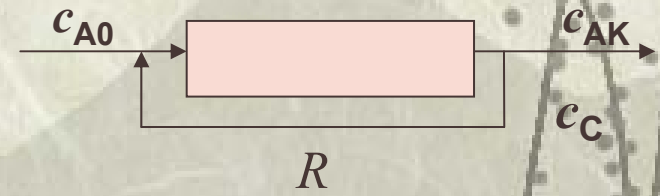
Po integraciji:

$$k\tau = (R+1) \left[\frac{K_M}{c_{A0} + Y_{A/C} c_{C0}} \ln \frac{c_C (c_{A0} + Rc_A)}{c_A (c_{C0} + Rc_C)} + \frac{c_{A0} + K_M + Y_{A/C} c_{C0}}{c_{A0} + K_M} \ln \frac{c_C (1+R)}{c_{C0} + Rc_C} \right]$$



- za čepasti tok z obtokom in $c_{C0} = 0$ se enačba poenostavi:

$$k\tau = (R+1) \left[\frac{K_M}{c_{A0}} \ln \frac{c_{A0} + R c_A}{c_A R} + \ln \frac{(1+R)}{R} \right]$$



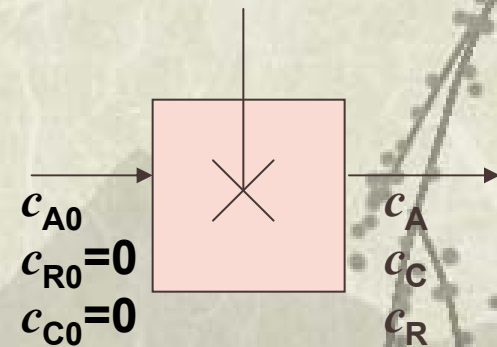
- določanje konstant Monodove enačbe na osnovi podatkov šaržnega oz. cevne reaktorja je zamudno, zato raje uporabljamo podatke mešalnega reaktorja.

b) Mešalni fermentor, $c_{C0} = 0$

Predpostavimo Monodovo kinetiko brez zastrupljanja produkta, s konstantnim izkoristkom in brez celic na vtoku.

Enačba obratovanja za mešalni reaktor:

$$\tau_m = \frac{\Delta c_i}{r_i} \text{ kjer je } i = A, C \text{ ali } R$$



$$k\tau_m = \frac{K_M + c_A}{c_A} \quad \text{ali} \quad c_A = \frac{K_M}{k\tau_m - 1}$$
$$k\tau_m = \frac{Y_{C/A} (K_M + c_{A0}) - c_C}{Y_{C/A} c_{A0} - c_A} \quad \text{ali} \quad c_C = Y_{C/A} \left(c_{A0} - \frac{K_M}{k\tau_m - 1} \right)$$
$$k\tau_m = \frac{(K_M + c_{A0}) Y_{R/A} - c_R}{Y_{R/A} c_{A0} - c_R} \quad \text{ali} \quad c_R = Y_{R/A} \left(c_{A0} - \frac{K_M}{k\tau_m - 1} \right)$$

velja za:

$$k\tau_m \geq 1 + \frac{K_M}{c_{A0}}$$

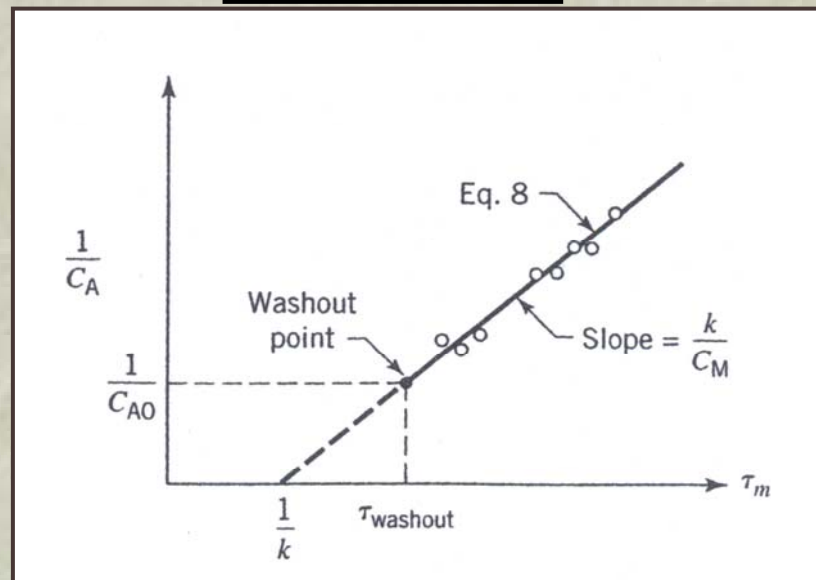


Za določitev konstant Monodove enačbe preuredimo enačbo:

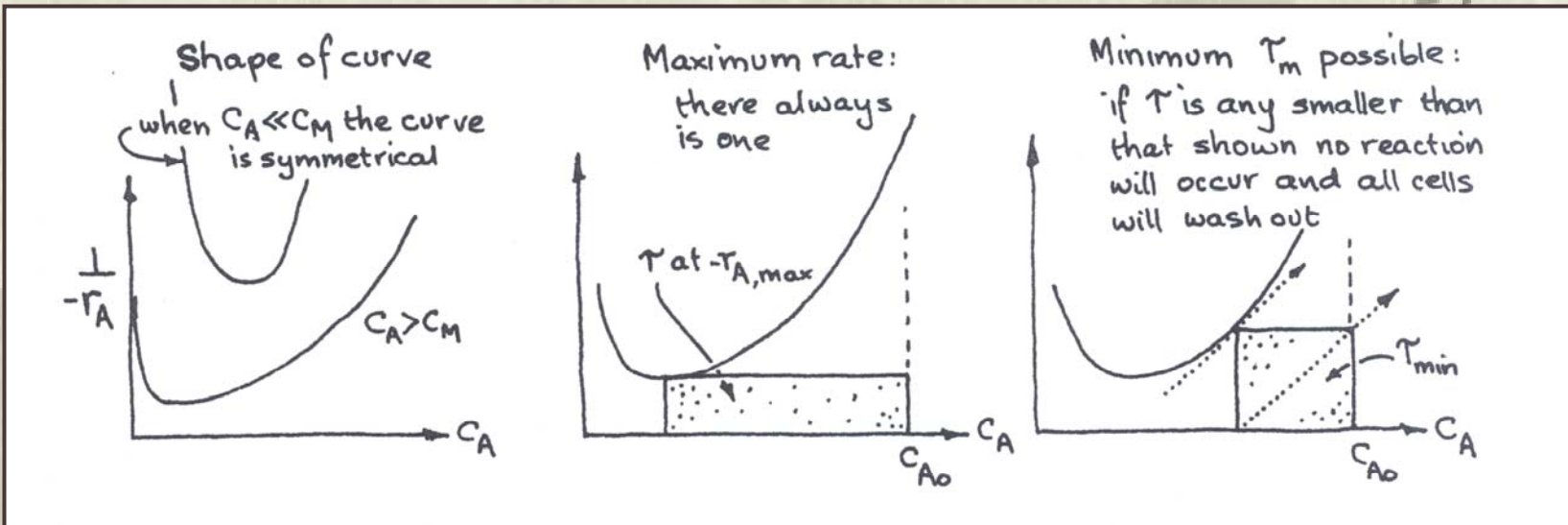
$$\frac{1}{c_A} = \frac{k}{K_M} \tau_m - \frac{1}{K_M}$$

Določimo parameter N :

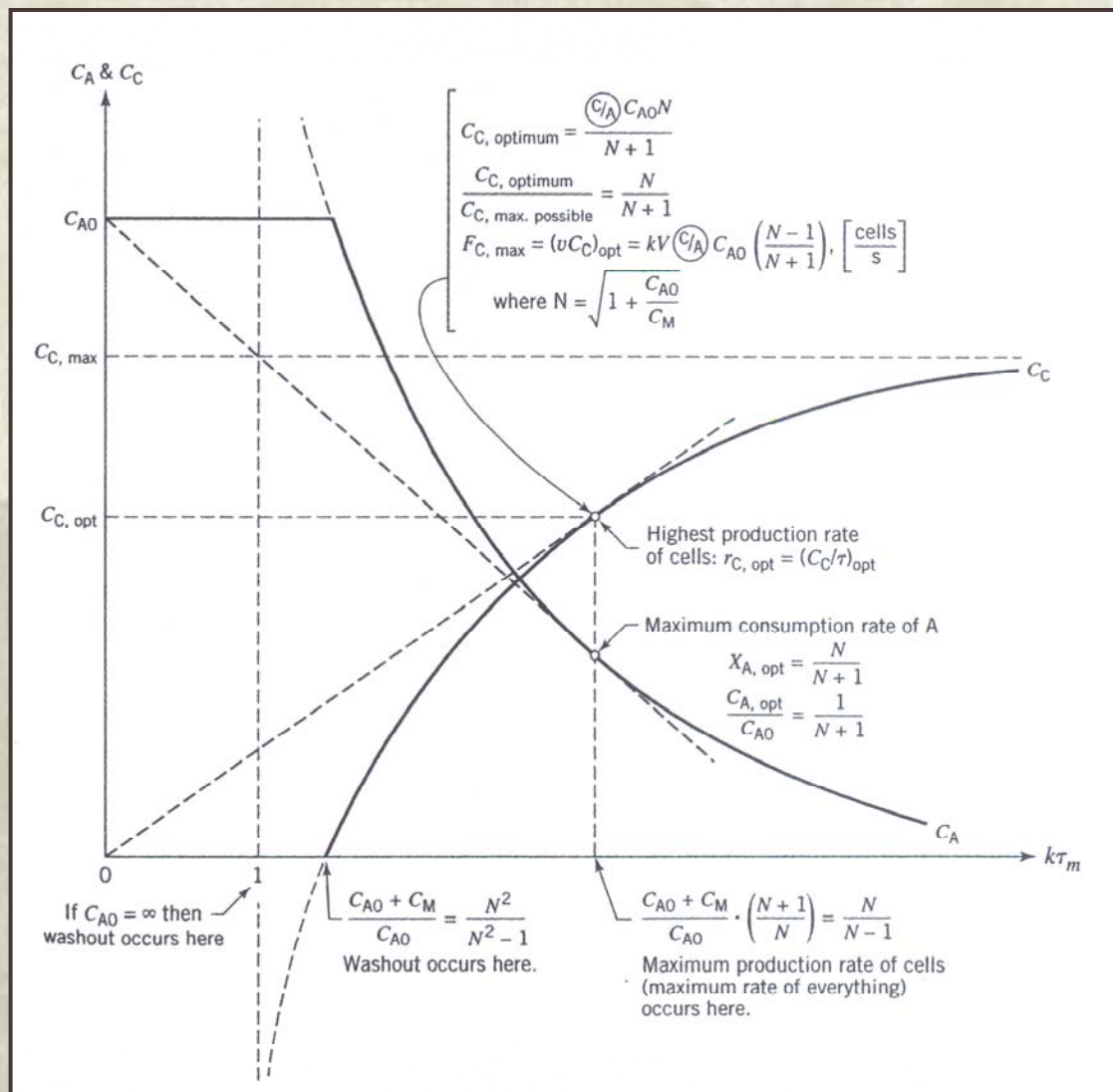
$$N = \sqrt{1 + \frac{c_{A0}}{K_M}}$$



Slika 7.4: Določitev Monodovih konstant iz podatkov mešalnega reaktorja.



Slika 7.5: Značilnosti enačbe obratovanja za mešalni reaktor.



Slika 7.5: Obnašanje reakcij, ki sledijo Monodovi kinetiki - mešalni fermentor.



Optimalno obratovanje mešalnega fermentorja se pojavi, ko je:

$$\frac{c_A}{c_{A0}} = \frac{1}{N+1}, \quad \frac{c_C}{c_{C,\max \text{ možna}}} = \frac{N}{N+1}, \quad k\tau_{\text{opt}} = \frac{N}{N-1}$$

Izpiranje se pojavi:

$$k\tau_{\text{izp}} = \frac{N^2}{N^2 - 1}$$

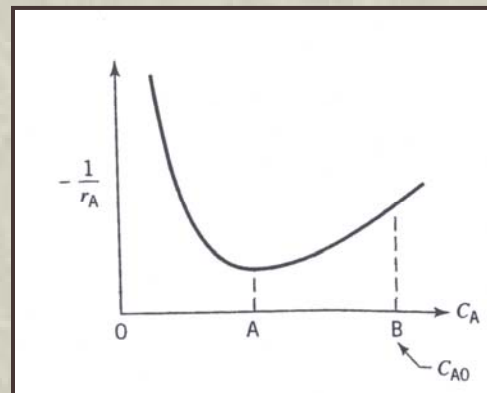


c) Mešalni pretočni fermentor, $c_{C_0} \neq 0$

$$k\tau_m = \frac{(c_{A0} - c_A)(c_A + K_M)}{Y_{A/C} c_{C0} c_A + c_A (c_{A0} - c_A)}$$

d) Optimalno obratovanje fermentorjev

Če nimamo zastrupljanja s produktom in za katerikoli vtok → U-krivulja



Slika 7.6: Hitrost reakcije v odvisnosti od koncentracije za Monodovo kinetiko.



Primer 10

MONODOVA KINETIKA V MEŠALNEM REAKTORJU

Na primeru bomo pojasnili pomembne optimizacijske principe, ki veljajo pri načrtovanju mešalnih reaktorjev, v katerih poteka fermentacija.

$$k = 2 \quad c_{A0} = 3 \quad K_M = 1 \quad Y_{C/A} = 1 \quad V_m = 1 \quad \text{za vsak reaktor}$$

Preučimo naslednje kombinacije mešalnih reaktorjev:

- Mešalni fermentor, $q = 3$
- Mešalni fermentor, $q = 1$
- Mešalni fermentor, $q = 1/3$
- Dva mešalna fermentorja, $q = 3$
- Dva mešalna fermentorja, $q = 1,5$
- Dva mešalna fermentorja, $q = 0,5$



Rešitev:

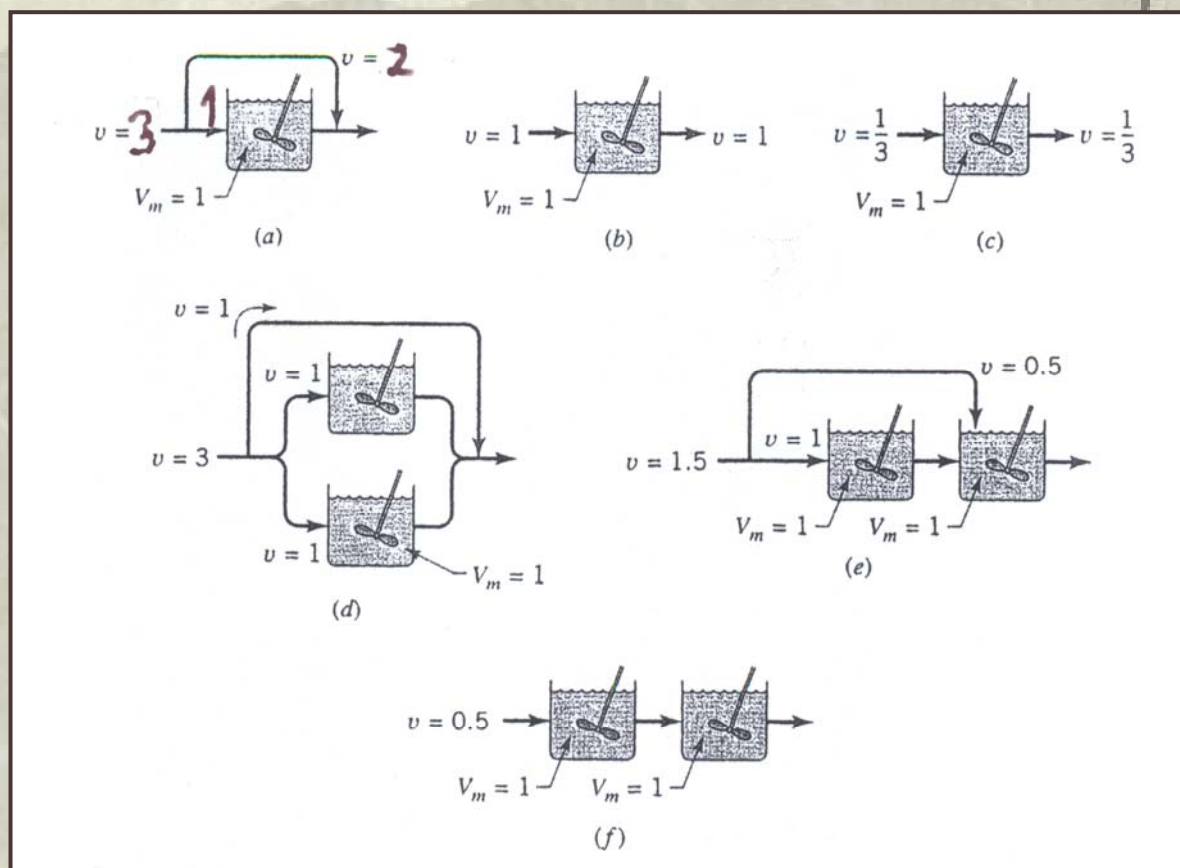
Iz optimizacijskih pravil za fermentacije v mešalnem reaktorju (slika 7.5) najprej izračunamo:

$$N = \sqrt{1 + \frac{c_{A0}}{K_M}} = 2 \quad \tau_{m,opt} = \frac{N}{(N-1)k} = 1 \quad \tau_{m,izp} = \frac{N^2}{(N^2-1)k} = \frac{2}{3}$$

- visok pretok, $q = 3$. Če ves vtok teče skozi mešalni reaktor, je bivalni čas $\tau = 1/3$, kar je premalo, da bi celice bile dovolj dolgo v reaktorju in jih izperemo. Zato uvedemo mimotok in omogočimo optimalno obratovanje.
- vmesni pretok, $q = 1$. Če ves tok teče skozi reaktor, imamo optimalni τ in s tem optimalno obratovanje.
- nizek pretok, $q = 1/3$. Bivalni čas je $\tau = 3$, kar je več od optimuma. Pustimo, da vse teče skozi reaktor.
- visok pretok, dva fermentorja, $q = 3$. Težimo k optimalnemu τ , ki je 1. Torej skozi oba uvajamo pretok 1. Preostanek uredimo z mimotokom.

e) vmesni pretok, dva fermentorja, $q = 1,5$. Najbolje, kar lahko storimo je, da deluje 1. fermentor pri optimalnih pogojih in mimotok speljemo v 2. fermentor.

f) nizek pretok, $q = 0,5$. Pretok je prenizek, da bi katerikoli od reaktorjev obratoval pri optimumu. Zato enostavna shema.





Primer 11 CEVNI FERMENTOR IN MONODOVA KINETIKA

Prejšnji primer razširimo na situacijo, ko namesto mešalnega uporabljamo cevni fermentor z ali brez obtoka. Poiščimo optimum za naslednje situacije.

a) $V_c = 3, q = 2$

b) $V_c = 2, q = 3$

Rešitev:

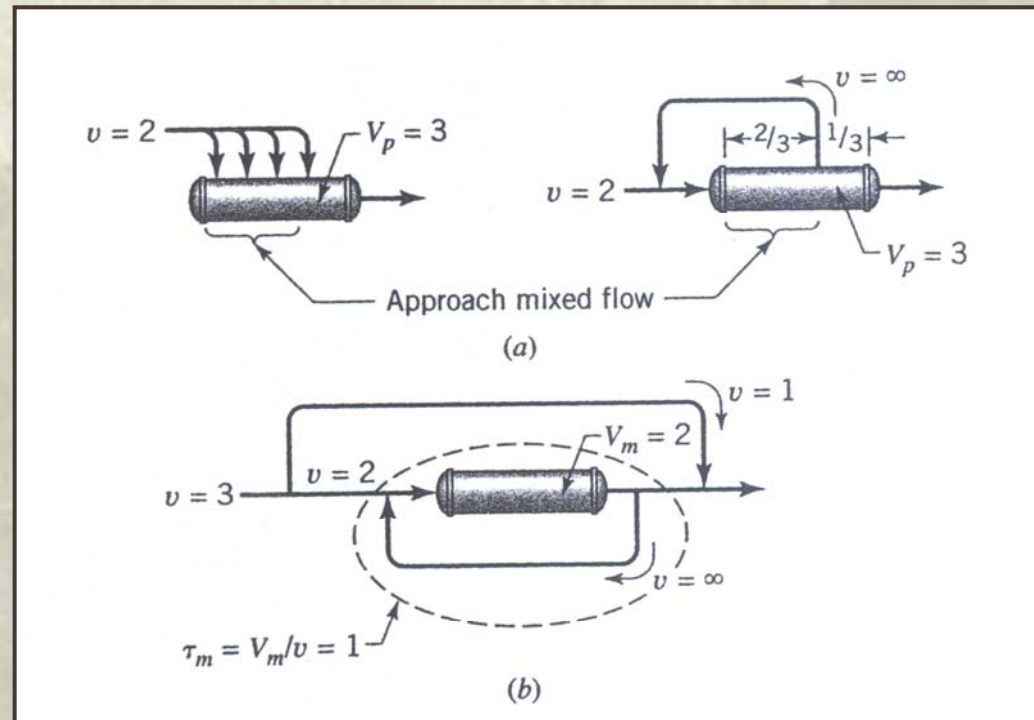
Uporabimo optimalne pogoje od prejšnjega primera:

$$N = 2 \quad \tau_{\text{opt}} = 1 \quad \tau_{\text{izp}} = 2/3$$

a) nizek pretok, $\tau = V_c/q = 3/2 = 1,5$. Možni sta dve optimalni postavitvi.



b) visok pretok, $\tau = V_c/q = 2/3$. Če bo ves vtok tekkel skozi fermentor, bomo imeli izpiranje. Zato uporabimo konstrukcijo na spodnji sliki.





Primer 12

GLUKOZA ZA BAKTERIJO *E. coli*

Mikroorganizni *E. coli* v raztopini glukoze rastejo po Monodovi kinetiki:

$$r_C = \frac{40 c_A c_C \text{ kg celic}}{c_A + 0,4 \text{ m}^3 \text{ h}} \quad \text{kjer je } Y_{C/A} = 0,1 \quad \text{in } c_A = \frac{\text{kg glukoze}}{\text{m}^3}$$

Pri katerem vtoku raztopine glukoze ($c_{A0} = 6 \text{ kg/m}^3$) v mešalni reaktor ($V = 1 \text{ m}^3$) bi dobili maksimalno hitrost porabe glukoze in maksimalno proizvodnost celic *E. coli*?



Rešitev:

Najprej določimo N in potem uporabimo informacije iz slike 7.5.

$$N = \sqrt{1 + \frac{c_{A0}}{K_M}} = 4 \quad \tau_{\text{opt}} = \frac{N}{(N-1)k} = 0,333 \text{ h} \quad q_{\text{opt}} = \frac{V_m}{\tau_{\text{opt}}} = 3$$

Snovni vtok glukoze:

$$q_{A0,m} = (qc_{A0})_{\text{opt}} = 3 \cdot 6 = 18 \frac{\text{kg}}{\text{h}}$$

Maksimalna hitrost porabe glukoze:

$$q_{A0,m} X_{A,\text{opt}} = 18 \left(\frac{N}{N+1} \right) = 18 \left(\frac{4}{5} \right) = 14,4 \frac{\text{kg}}{\text{h}}$$



Maksimalna proizvodnost celic *E. coli*:

$$q_{C,\max,m} = q_{\text{opt}} c_{C,\text{opt}} = 3 \left[Y_{C/A} c_{A0} \left(\frac{N}{N+1} \right) \right] = 3 \cdot 0,1 \cdot 6 \cdot \frac{4}{5} = 1,44 \frac{\text{kg}}{\text{h}}$$

Primer 13

RAST *E. coli* V RAZTOPINI MANITOLA



E. Coli živi in raste na manitolu po naslednji kinetiki:

$$r_C = \frac{1 \cdot 2 c_A c_C}{c_A + 2}, \quad c_A = \frac{\text{g manitola}}{\text{m}^3}, \quad Y_{C/A} = 0,1 \frac{\text{g celic}}{\text{g manitola}}$$

Določite iztočno koncentracijo celic, ki nastanejo, če vodimo 1 m³/h raztopine manitola ($c_{A0} = 6 \text{ g/m}^3$) direktno v mešalni reaktor z $V = 5 \text{ m}^3$.

Rešitev:

$$r_C = \frac{1 \cdot 2 c_A c_C}{c_A + 2} \quad Y_{C/A} = 0,1$$

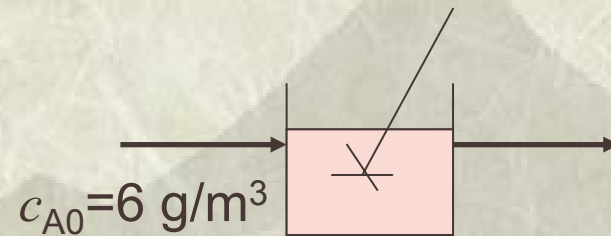
$$\tau = \frac{V}{q} = 5 \text{ h}$$

Iz enačb na strani 11:

$$c_A = \frac{K_M}{k\tau_m - 1} = \frac{2}{(1,2 \cdot 5) - 1} = 0,4$$

In dalje:

$$c_C = Y_{C/A} (c_{A0} - c_A) = 0,1(6 - 0,4) = 0,56 \text{ g/m}^3$$



Primer 14

IZBOLJŠANJE OBRATOVANJA FERMENTORJA

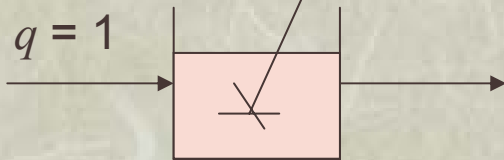


Ali lahko za problem iz prejšnje naloge najdete izboljšanje obratovanja (proizvodnja več celic), n.pr. z mimotokom? Volumen reaktorja naj bo $0,75 \text{ m}^3$.

Rešitev:

$$r_C = \frac{1 \cdot 2c_A c_C}{c_A + 2} \quad Y_{C/A} = 0,1 \quad c_{A0} = 6 \text{ g/m}^3$$

Trenutno, $V = 0,75 \text{ m}^3$



$$\tau = \frac{V}{q} = 0,75 \text{ h} \quad k\tau = 1,2 \times 0,75 = 0,9 \leq 1 \text{ izpiranje}$$

Optimalno:

$$k\tau_{\text{opt}} = \frac{N}{N-1}, \text{ kjer je } N = \sqrt{1 + \frac{c_{A0}}{K_M}} = \sqrt{1 + \frac{6}{2}} = 2$$



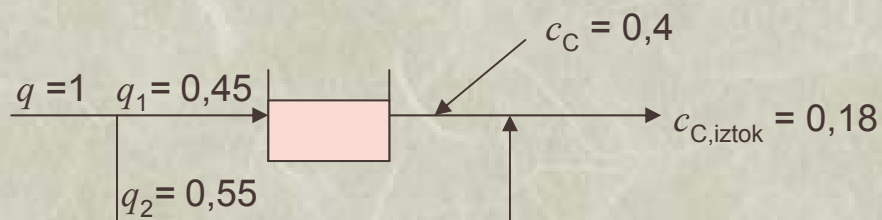
Torej,

$$k\tau_{\text{opt}} = 2 \quad \tau_{\text{opt}} = \frac{2}{1,2} = \frac{5}{3}$$

$$q_{\text{opt}} = \frac{V}{\tau} = \frac{0,75}{5/3} = 0,45$$

$$c_{C,\text{opt}} = Y_{C/A} \frac{c_{A0}N}{N+1} = 0,1 \frac{6 \cdot 2}{2+1} = 0,4 \frac{\text{g}}{\text{m}^3}$$

Z mimotokom:



Torej,

$$c_{C,\text{iztok}} = \left[(0,4 \cdot 0,45) + (0 \cdot 0,55) \right] / 1 = 0,18 \frac{\text{g}}{\text{m}^3}$$



Mikrobiološka fermentacija-inhibicija s produktom

Splošna enačba, ki upošteva inhibicijo s produktom:

$$r_C = r_R Y_{C/R} = k \left(1 - \frac{c_R}{c_R^*} \right)^n \frac{c_C c_A}{K_M + c_A}$$

konstanta, ko ni zastrupljanja

upada z nastajanjem produkta

red zastrupljanja

V posebnem primeru, ko je dovolj hrane in je $c_A \gg K_M$ in $n = 1$, se enačba poenostavi:

$$r_C = r_R Y_{C/R} = k \left(1 - \frac{c_R}{c_R^*} \right) c_C$$

Reakcija se ustavi



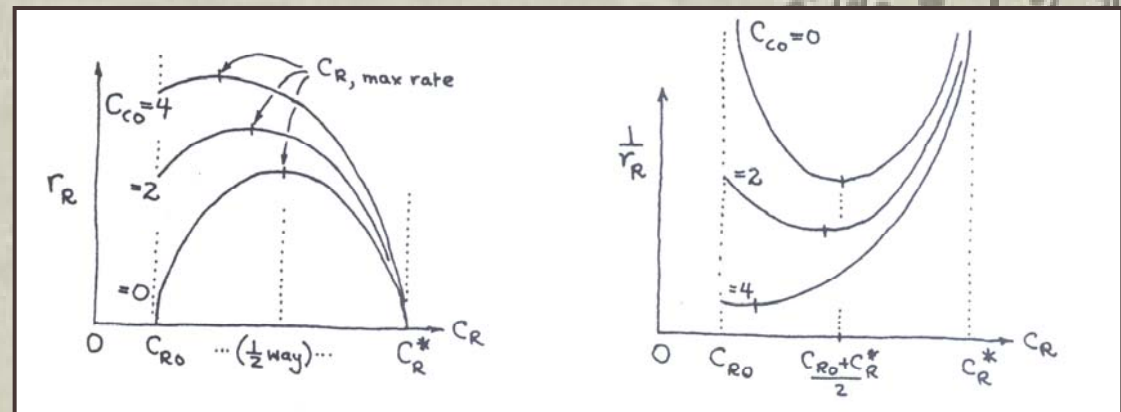
Enačbo razširimo na sisteme, ko je $n \neq 1$

$$r_R = r_C Y_{R/C} = Y_{R/C} k \left(1 - \frac{c_R}{c_R^*} \right) c_C = k \left(1 - \frac{c_R}{c_R^*} \right) (c_R - c_{R0} + Y_{R/C} c_{C0})$$

Maksimalna hitrost nastajanja produkta se pojavi, ko je $\frac{dr_{R,\max}}{dc_R} = 0$

$$c_{R,\max} = \frac{1}{2} (c_{R0} + c_R^* - Y_{R/C} c_{C0})$$

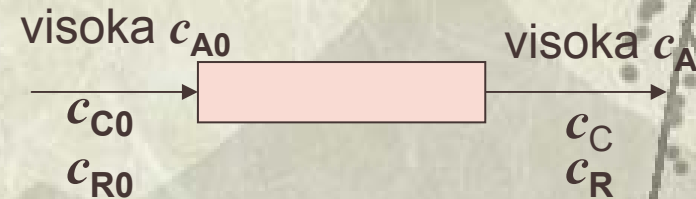
Grafični prikaz enačbe za r_C in r_R





a) Šaržni ali cevni fermentor za kinetiko zastrupljanja z $n = 1$

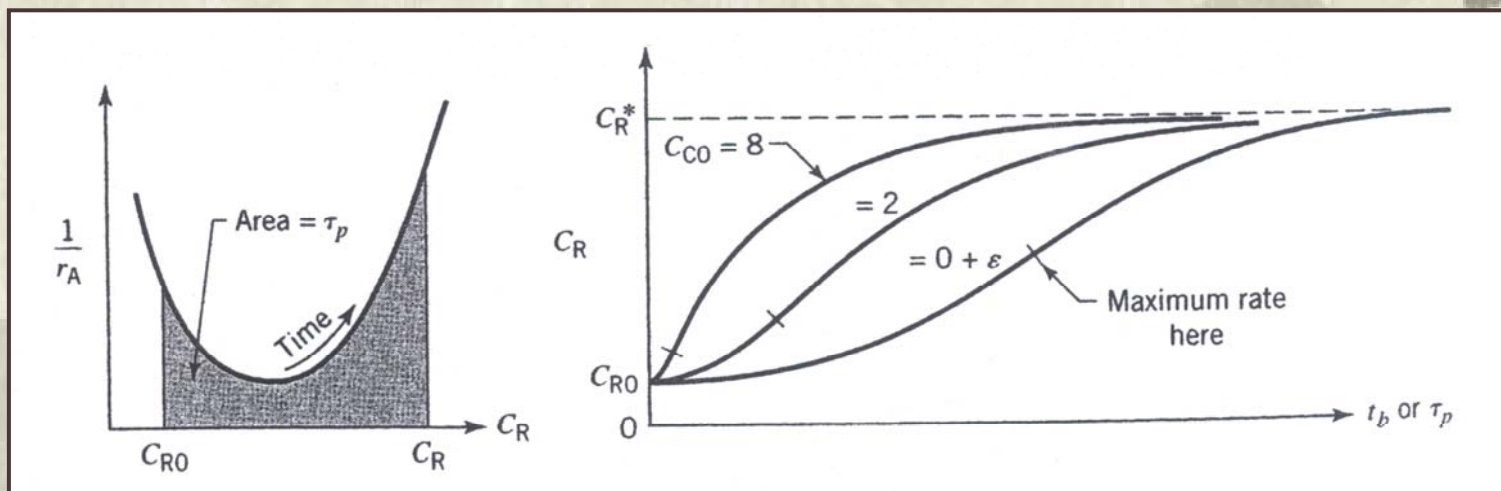
Potrebni čas za doseg dane c_R
dobimo z integracijo:



$$\tau_c = t_{\check{s}} = \int_{c_{R0}}^{c_R} \frac{dc_R}{r_R} \leftarrow k \left(1 - \frac{c_R}{c_R^*} \right) (c_R - c_{R0} + Y_{R/C} c_{C0})$$

Rezultat integracije je:

$$k\tau_c = kt_{\check{s}} = \frac{c_R^*}{c_R^* - c_{R0} + Y_{R/C} c_{C0}} \ln \frac{c_C (c_R^* - c_{R0})}{c_{C0} (c_R^* - c_R)}$$

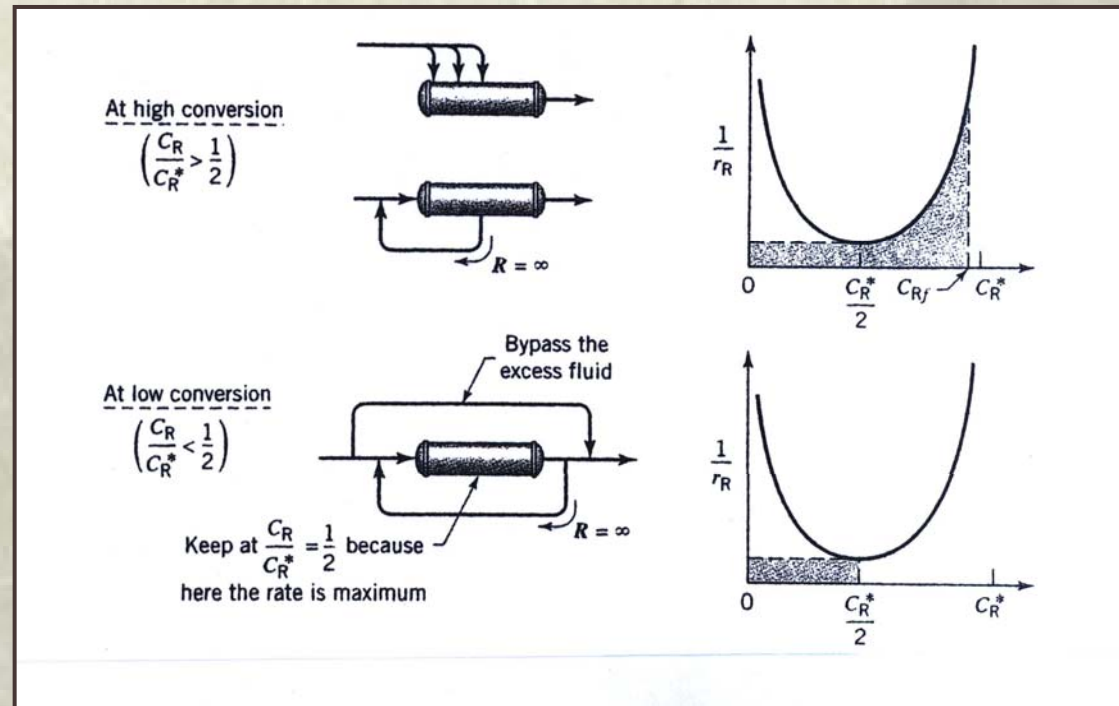


Slika 7.7: Grafični prikaz enačbe obratovanja za šaržni oz. cevni reaktor.



Najboljši način obratovanja cevnega reaktorja:

$$c_{C0}, c_{R0} = 0$$



Slika 7.8: Optimalno obratovanje cevnega fermentorja za kinetiko zastrupljanja.



b) Mešalni pretočni fermentor za kinetiko zastrupljanja z $n = 1$

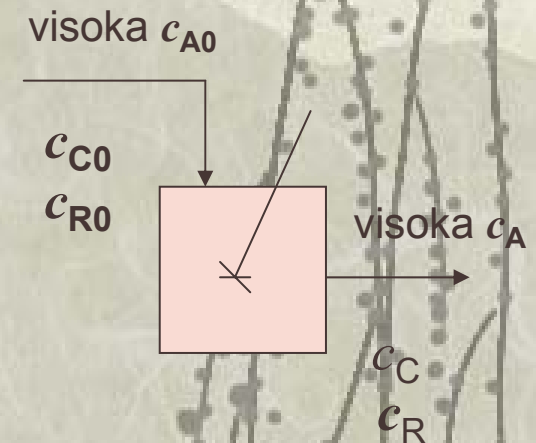
Za primer, ko zanemarimo fazo prilagajanja celic, ki vstopajo v fermentor:

$$\tau_m = \frac{c_R - c_{R0}}{r_R} = \frac{c_R - c_{R0}}{k \left(1 - \frac{c_R}{c_R^*} \right) (c_R - c_{R0} + Y_{R/C} c_{C0})}$$

Če sta $c_{C0}, c_{R0} = 0$, se enačba poenostavi:

$$k\tau_m = \frac{c_R^*}{c_R^* - c_R} = \frac{1}{\left(1 - \frac{c_R}{c_R^*} \right)} \quad \text{za } k\tau_m \geq 1$$

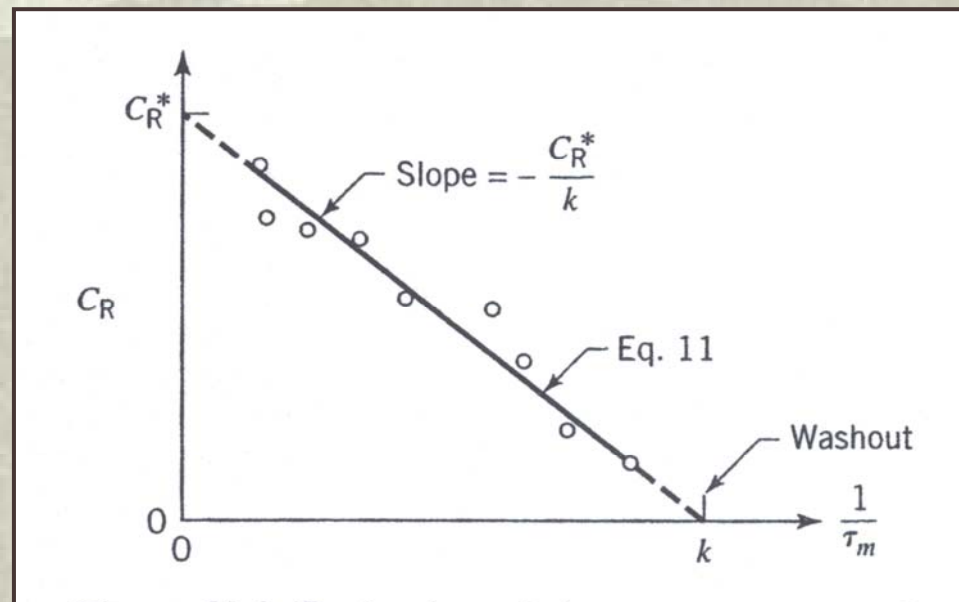
$$Y_{R/C} c_C = Y_{R/A} (c_{A0} - c_A)$$



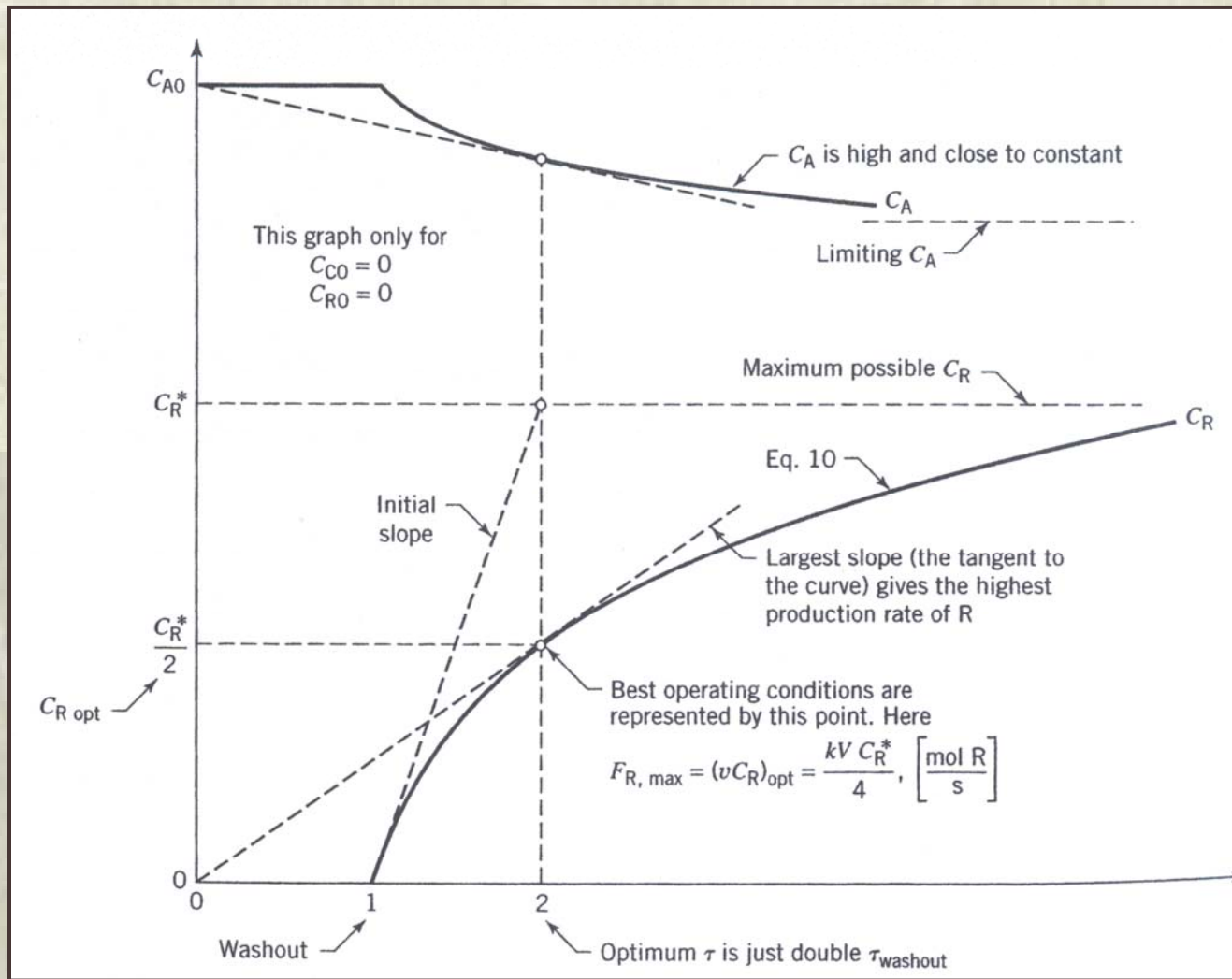


Za določitev kinetičnih konstant iz eksperimentov v mešalnem fermentorju, preuredimo enačbo na prejšnji strani in rišemo:

$$c_R = c_R^* - \frac{c_R^*}{k} \frac{1}{\tau_{\text{meš}}}$$



Slika 7.9: Določitev kinetičnih konstant iz meritev v mešalnem fermentorju (zastrupljanje s produktom).



Slika 7.10: Lastnosti enačbe obratovanja (c_{C0} in c_{R0} sta 0) za mešalni fermentor.

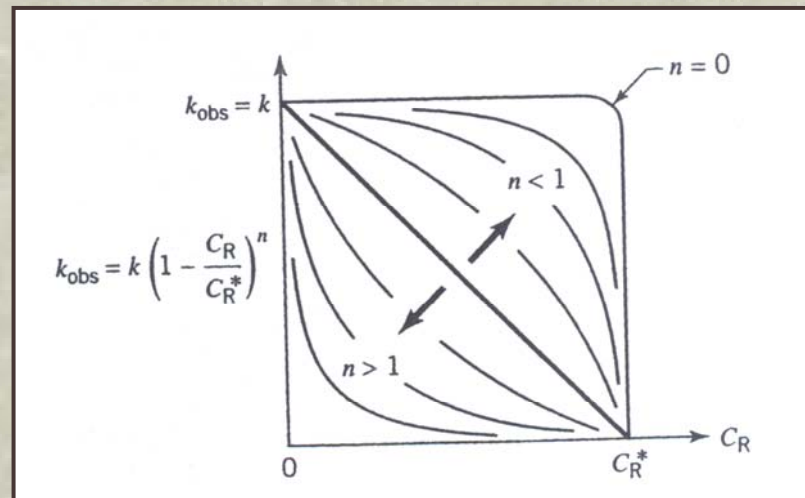


Optimalno obratovanje večstopenjskih sistemov dosežemo na isti način, kot pri sistemih brez zastrupljanja. Splošno pravilo je, da uporabimo mešani tok za dosego $c_{R0}/2$. Nadaljujemo s čepastim tokom.

Mešalni fermentor z kinetiko zastrupljanja in $n \neq 1$

Za kinetiko n-tega reda imamo:

$$r_R = k \left(1 - \frac{c_R}{c_R^*} \right)^n c_C$$



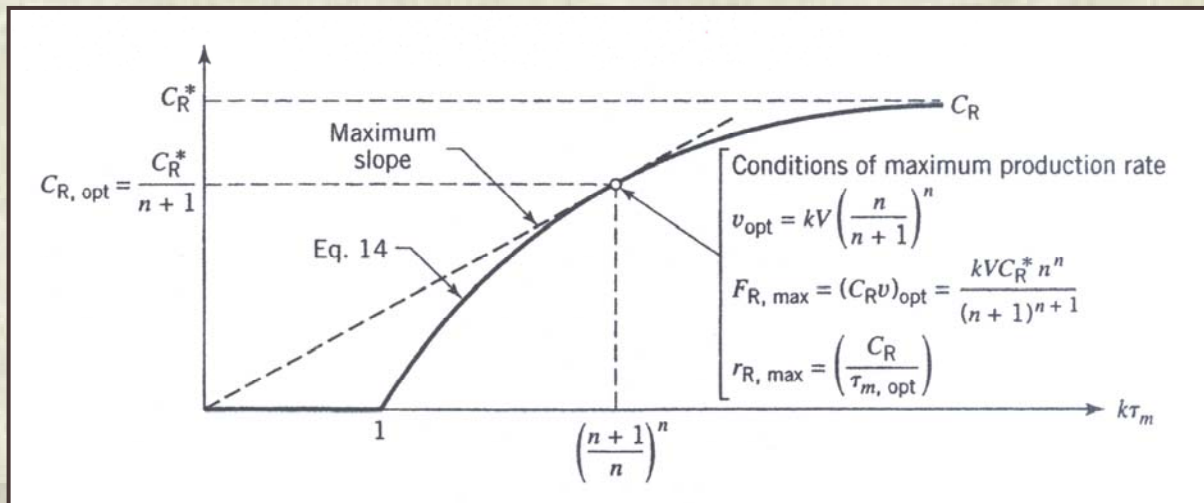
Slika 7.11: Upočasnitev reakcije v odvisnosti od reda zastrupljanja.



$$k\tau_m = \frac{c_R - c_{R0}}{(c_R - c_{R0} + Y_{R/C}c_{C0}) \left(1 - \frac{c_R}{c_R^*}\right)^n}$$

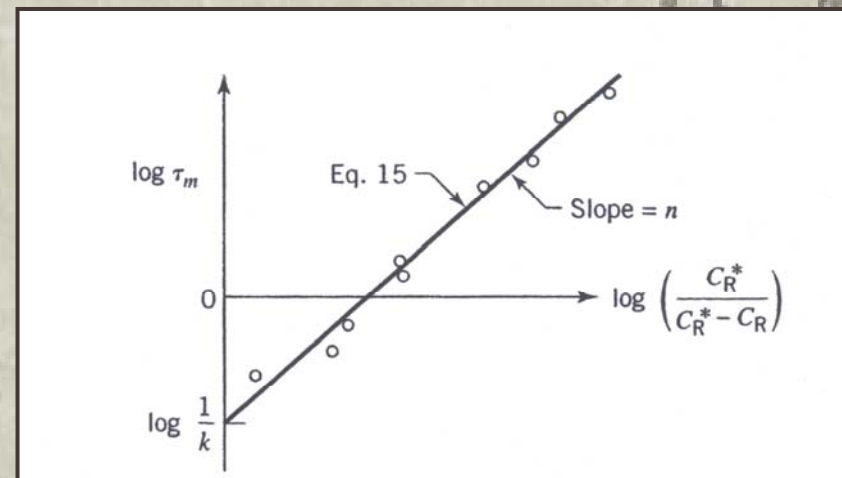
Poseben primer, ko sta c_{C0} in c_{R0} enaka 0:

$$k\tau_m = \frac{1}{\left(1 - \frac{c_R}{c_R^*}\right)^n} \quad \text{za } k\tau_m \geq 1$$



Slika 7.12: Obnašanje mešalnega fermentorja za kinetiko zastrupljanja.

$$\log \tau_m = -\log k + n \log \left(\frac{C_R^*}{C_R^* - C_R} \right)$$



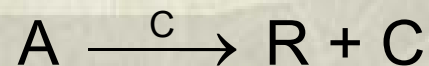
Slika 7.13: Določanje kinetičnih konstant za podatke mešalnega fermentorja.

Primer 15

PROIZVODNJA SADNEGA NAPITKA



Zdrobljeno sadje (A) fermentira in pri tem proizvaja alkoholno pijačo (R) s kinetiko zastrupljanja:



$$r_R = k \left(1 - \frac{c_R}{c_R^*} \right)^n c_R$$

$$k = \sqrt{3}, \text{ h}^{-1}$$

$$n = 1 \text{ v pomladnem času}$$

$$c_R^* = 0,12 \text{ kg alkohola/kg raztopine}$$

$$\rho = 1000 \text{ kg/m}^3$$

Kakšna je največja proizvodnja alkohola (kg/h) v komercialnem mešalnem pretočnem fermentorju ($V_m = 30 \text{ m}^3$)? Prav tako izračunajte koncentracijo alkohola v napitku in potrebni vtok zdrobljenega sadja.



Rešitev:

Iz podatkov in iz slike 7.10 določimo optimalne pogoje obratovanja.

$$c_R^* = \left(\frac{0,12 \text{ kg alk}}{\text{kg razt}} \right) \left(\frac{10^3 \text{ kg razt}}{\text{m}^3 \text{ razt}} \right) = 120 \text{ kg/m}^3$$

$$c_{R,\text{opt}} = \frac{c_R^*}{2} = \left(\frac{120 \text{ kg alk}}{\text{m}^3} \right) \frac{1}{2} = 60 \frac{\text{kg alk}}{\text{m}^3} = \mathbf{6 \% \text{ alkohola}}$$

Iz slike 7.10 določimo točko izpiranja:

$$k\tau_{\text{izp}} = 1 \quad \tau_{\text{izp}} = \frac{1}{\sqrt{3}} h$$

in

$$\tau_{\text{opt}} = 2\tau_{\text{izp}} = \frac{2}{\sqrt{3}} h$$

Ker je $\tau_{\text{opt}} = \frac{V}{q_{\text{opt}}}$ bo optimalni vtok v fermentor:

$$q_{\text{opt}} = \frac{V}{\tau_{\text{opt}}} = \frac{30\sqrt{3}}{2} = 25,98 \text{ m}^3 / \text{h}$$

Proizvodnja alkohola (ponovno slika 7.10) je.

$$q_{R,m} = (qc_R)_{\text{opt}} = 25,98 \cdot 60 = 1558 \frac{\text{kg alk}}{\text{h}}$$



Vsebina predavanj



1. Uvod
2. Osnovni pojmi biokemije
3. Bioreakcijska kinetika
 - 3.1. Encimska kinetika
 - 3.2. Mikrobiološka kinetika
4. Bioreaktorji-vrste
5. Tehnološke zahteve pri načrtovanju bioreaktorjev
 - 5.1. Mešanje
 - 5.2. Prenos snovi
 - 5.3. Prenos toplote
6. Modeliranje bioreaktorjev-splošno
 - 6.1. Encimska fermentacija
 - 6.2. Mikrobiološka fermentacija
 - 6.3. Pomanjkanje substrata
 - 6.4 Inhibicija s produktom
 - 6.5. Primeri**
7. Aerobno in anaerobno čiščenje odpadnih vod



6.5 Primeri

Primer 1

ŠARŽNI REAKTOR – ENCIMSKA REAKCIJA

Izvajali smo serijo poskusov z različnimi koncentracijami substrata in encima. Po določenem času smo reakcijo ustavili in analizirali vsebino.

Na osnovi podatkov določite enačbo hitrosti reakcije.

POSKUS	$c_{E0}/(\text{mol}/\text{m}^3)$	$c_{A0}/(\text{mol}/\text{m}^3)$	$c_A/(\text{mol}/\text{m}^3)$	t/h
1	3	400	10	1
2	2	200	5	1
3	1	20	1	1



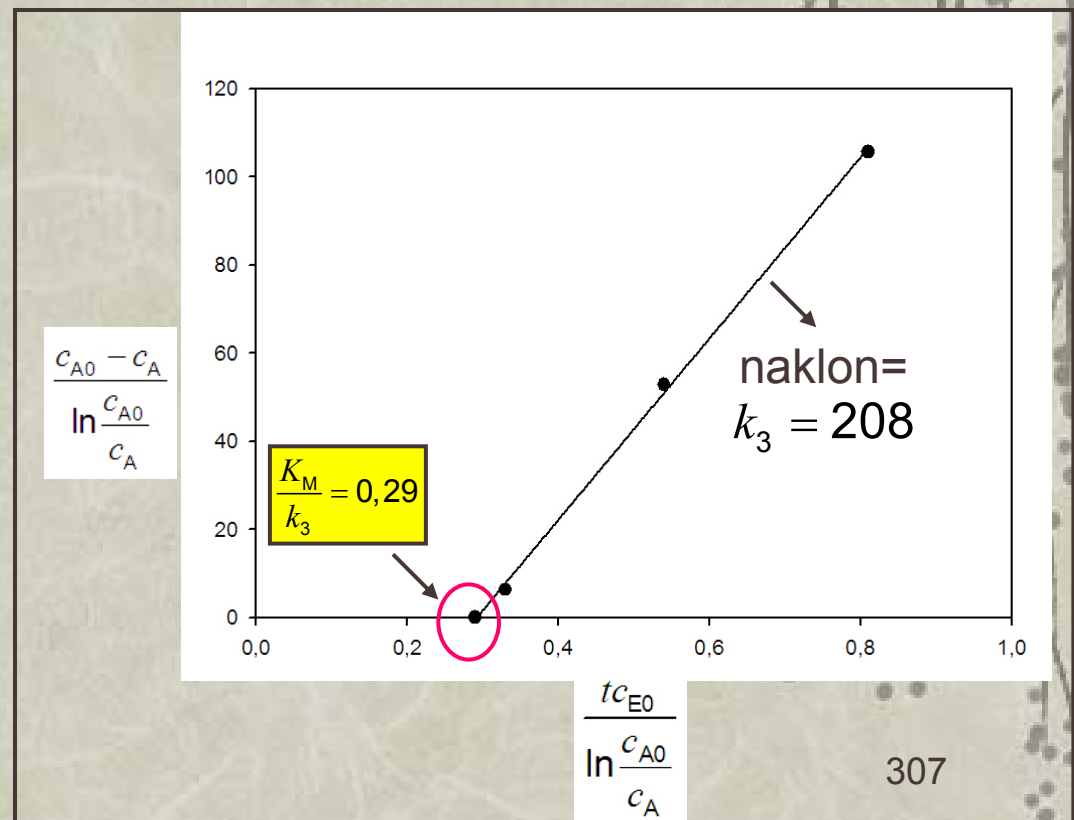
Rešitev: Začnemo z enostavno kinetiko v šaržnem reaktorju.

POSKUS	c_{E0}	c_{A0}	c_A	t	$\frac{c_{A0} - c_A}{\ln(c_{A0}/c_A)}$	$\frac{tc_{E0}}{\ln c_{A0}/c_A}$
1	3	400	10	1	105,7	0,81
2	2	200	5	1	52,9	0,54
3	1	20	1	1	6,34	0,33

$$\frac{c_{A0} - c_A}{\ln(c_{A0}/c_A)} = -K_M + k_3 \frac{tc_{E0}}{\ln(c_{A0}/c_A)}$$

$$K_M = k_3 \cdot 0,29 = 208 \cdot 0,29 = 60,3$$

$$-r_A = \frac{208c_Ac_{E0}}{60,3 + c_A} \frac{\text{mol}}{\text{m}^3 \text{ h}}$$



Primer 2

MEŠALNI REAKTOR – ENCIMSKA REAKCIJA Z INHIBICIJO



Celuloza se pretvori v sladkor po naslednjem mehanizmu:



Celubioza in glukoza inhibirata to pretvorbo. Za študij te reakcije je bilo izvedenih nekaj poskusov v mešalnem reaktorju pri 50 °C in pri vtoku celuloze s $c_{A0} = 25 \text{ kg/m}^3$. Spreminjali smo inhibitorje, koncentracija encima je bila pri vseh poskusih enaka.

POSKUS	$c_{A,\text{iztok}} / (\text{kg/m}^3)$	(ni inhibicije) τ / min	(s celubiozo) $c_{C0} = 5 \text{ kg/m}^3$ τ / min	(z glukozo) $c_{G0} = 10 \text{ kg/m}^3$ τ / min
1	1,5	587	691	810
2	4,5	279	306	363
3	9,0	171	182	224
4	21,0	36	38	45



Določite vlogo celubioze pri reakciji pretvorbe celuloze v sladkor (tip inhibicije in enačba hitrosti reakcije).

Rešitev: Preverjamo 1. in 2. serijo poskusov

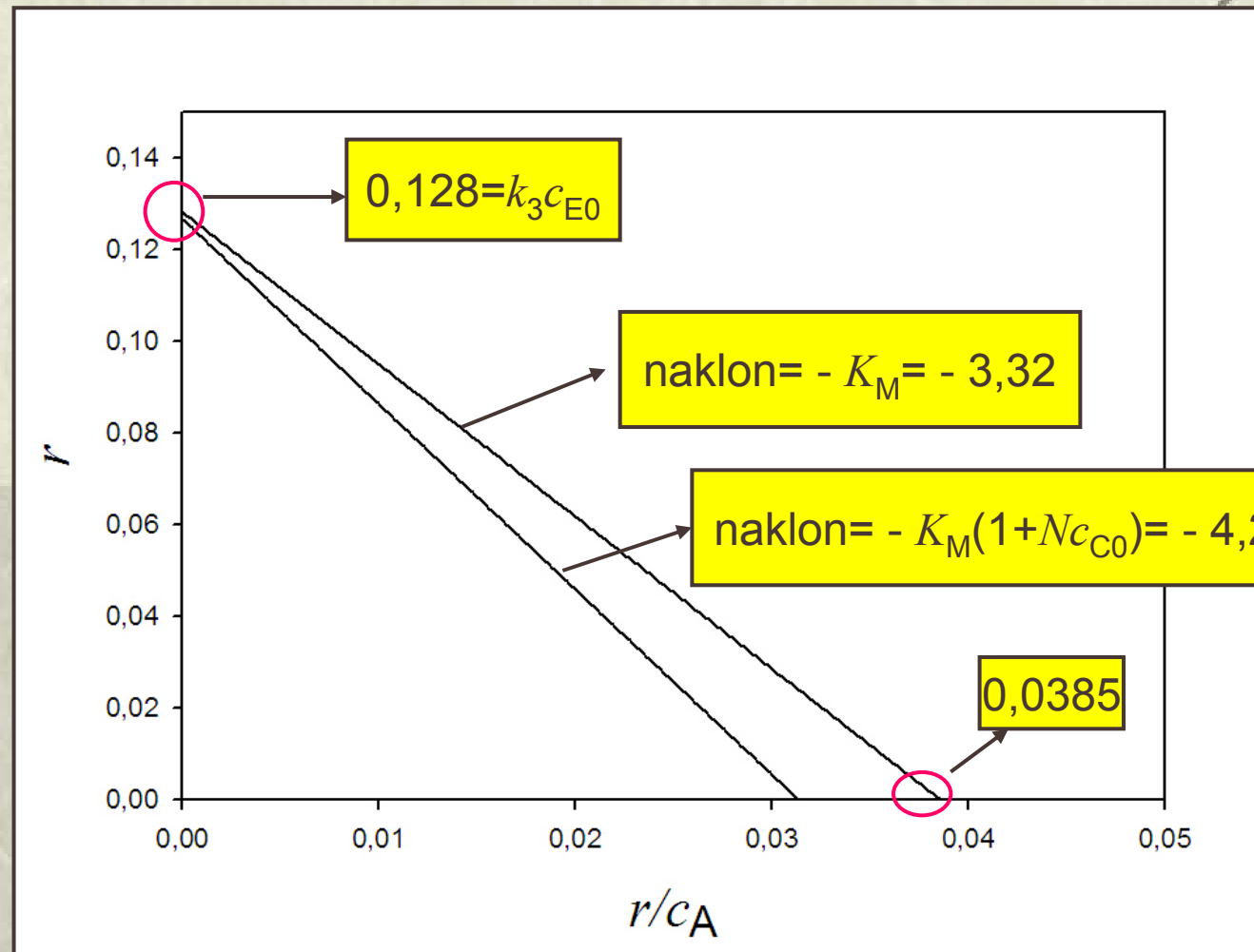
Zopet uporabimo Eadijev diagram.

POSKUS (1. serija)	c_A	c_{∞}	τ / min	$r = \frac{c_{A0} - c_A}{\tau}$	$\frac{r}{c_A}$
1	1,5	0	587	$40 \cdot 10^{-3}$	$26,7 \cdot 10^{-3}$
2	4,5	0	279	$73,5 \cdot 10^{-3}$	$16,3 \cdot 10^{-3}$
3	9,0	0	171	$93,6 \cdot 10^{-3}$	$10,4 \cdot 10^{-3}$
4	21,0	0	36	$111,1 \cdot 10^{-3}$	$5,29 \cdot 10^{-3}$

POSKUS (2. serija)	c_A	c_{∞}	τ / min	$r = \frac{c_{A0} - c_A}{\tau}$	$\frac{r}{c_A}$
1	1,5	5	691	$34 \cdot 10^{-3}$	$22,7 \cdot 10^{-3}$
2	4,5	5	306	$67 \cdot 10^{-3}$	$14,9 \cdot 10^{-3}$
3	9,0	5	182	$87 \cdot 10^{-3}$	$9,77 \cdot 10^{-3}$
4	21,0	5	38	$105 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-3}$

$$K_M = 3,32$$

$$k_3 c_{E0} = 0,128$$



$$K_M(1 + N c_{B0}) = 3,32(1 + N \cdot 5) = 4,2 \rightarrow N = 0,53$$

$$r = \frac{k_3 c_{E0} c_A}{K_M(1 + N c_{C0}) + c_A} = \frac{0,128 \cdot c_A}{3,32(1 + 0,53 \cdot c_{C0}) + c_A} \quad \frac{\text{kg}}{\text{m}^3 \text{ min}}$$

Primer 3

MIKROBIOLOŠKA FERMENTACIJA



Reaktant A ($c_{A0} = 3$, $c_{R0} = 0$, $c_{C0} = 0$) razpada po naslednjem mehanizmu:



$$r_C = \frac{kc_A c_C}{c_A + K_M} \left. \begin{array}{l} k = 2 \\ K_M = 1 \\ Y_{C/A} = 0,5 \end{array} \right\}$$

Skicirajte reaktorski sistem (obtoki, mimotoki, ...) in označite vse količine. Katera je najnižja koncentracija c_A , ki jo lahko dobimo v enojnem mešalnem reaktorju z $V = 1$ in pretokom, $q = 1$?



Rešitev: Za optimalno obratovanje mešalnega reaktorja velja:

$$N = \sqrt{1 + \frac{c_{A0}}{K_M}} = \sqrt{1 + \frac{3}{1}} = 2$$

$$k\tau_{\text{opt}} = \frac{N}{N-1} = \frac{2}{2-1} = 2 \Rightarrow \tau_{\text{opt}} = 1$$

$$c_{A, \text{opt}} = \frac{c_{A0}}{N+1} = \frac{3}{2+1} = 1 \quad c_{C, \text{opt}} = Y_{C/A} (c_{A0} - c_A) = 0,5 \cdot (3 - 1) = 1$$

$$k\tau_{\text{izp}} = \frac{N^2}{N^2 - 1} = \frac{4}{4-1} = \frac{4}{3} \Rightarrow \tau_{\text{izp}} = \frac{2}{3}$$

Torej, če je $q = 1$



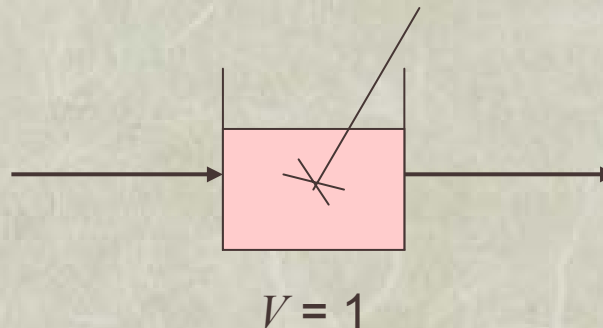
$$\tau = \frac{1}{1} = 1$$



OPTIMALNI POGOJI

Najnižja $c_A = 1$

$$\begin{aligned} c_{A0} &= 3 \\ c_C &= 0 \\ q &= 1 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned} c_A &= 1 \\ c_C &= 1 \end{aligned}$$



Primer 3a

MIKROBIOLOŠKA FERMENTACIJA

(glede na primer 3)

Kakšen je najmanjši volumen mešalnega reaktorja z $q = 3$, ki daje $c_A = 2$?

Rešitev:

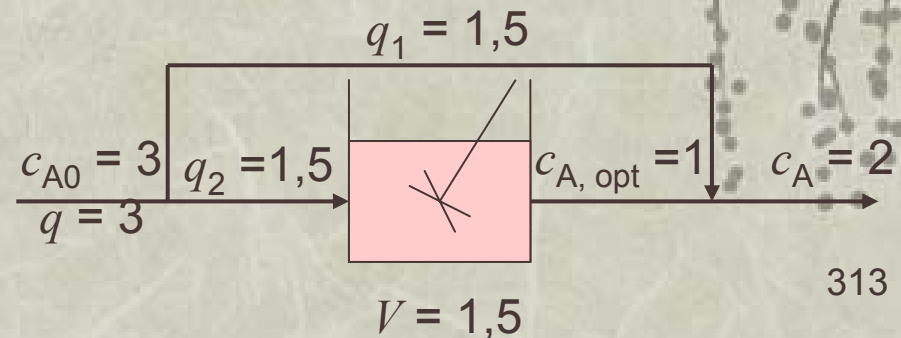
Iz primera 3 smo določili:

$$\tau_{\text{opt}} = 1, c_A = 1$$

Sedaj imamo $c_A = 2 > c_{A, \text{opt}}$  priporočamo **MIMOTOK**

$$\left. \begin{array}{l} q_1 + q_2 = 3 \\ q_1 c_{A, \text{opt}} + q_2 c_{A0} = q_1 \cdot 1 + q_2 \cdot 3 = 2 \cdot 3 \end{array} \right\} \begin{array}{l} q_1 = 1,5 \\ q_2 = 1,5 \end{array}$$

$$V = q_1 \tau_{\text{opt}} = 1,5 \cdot 1 = 1,5$$





Primer 3b

MIKROBIOLOŠKA FERMENTACIJA

(glede na primer 3)

Kakšna je najnižja c_A , ki jo lahko dobimo s tremi vzporednimi mešalnimi reaktorji, vsak ima $V = 1$, za pretok $q = 6$?

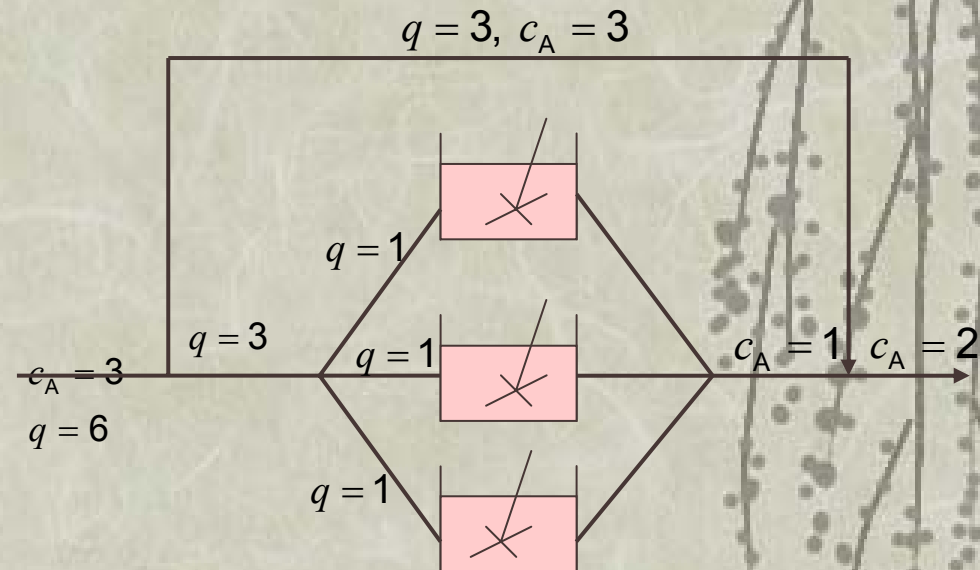
Rešitev:

$$\tau_{\text{opt}} = 1, c_{A,\text{opt}} = 1$$

Sedaj imamo $q = 6$

$$V_{\text{skupni}} = 3 \Rightarrow q > V$$

$$c_A = [(3 \cdot 3) + (3 \cdot 1)] / 6 = 2$$





Primer 4

MIKROBIOLOŠKA KINETIKA – INHIBICIJA S PRODUKTOM

Pri mikrobiološki fermentaciji nastaja snov R. Vtok ima $c_{A0} = 10^6$, $c_{R0} = 0$, $c_{C0} = 0$



$$r_C = k \left(1 - \frac{c_R}{c_R^*} \right) \frac{c_A \cdot c_C}{c_A + K_M}$$

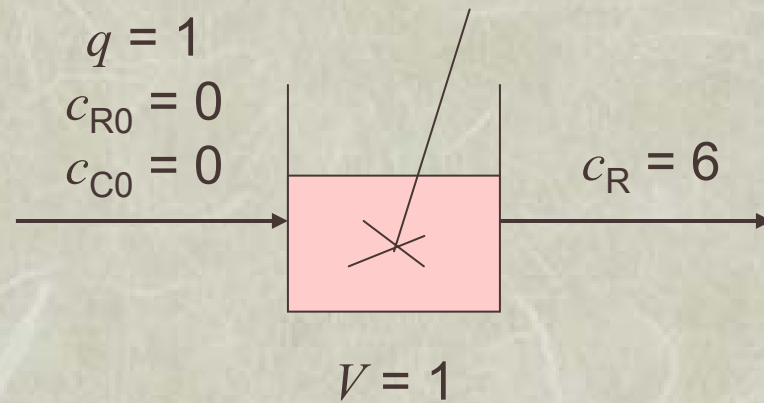
$$\begin{aligned} k &= 2 \\ K_M &= 50 \\ C_R^* &= 12 \\ Y_{R/A} &= 0,1 \\ Y_{C/A} &= 0,01 \end{aligned}$$

Skicirajte reaktorsko shemo z vsemi količinami. Kakšno c_R dobimo v mešalnem reaktorju volumna $V = 1$ za pretok $q = 1$?

Rešitev:

$$k\tau_m = \frac{c_R}{1 - \frac{c_R}{c_R^*}} = 2 \cdot \frac{1}{1}$$

$$\text{ali } \frac{c_R}{c_R^*} = \frac{1}{2} \Rightarrow c_R = \frac{1}{2} c_R^* = 12 \cdot \frac{1}{2} = 6$$





Primer 4a

MIKROBIOLOŠKA KINETIKA – INHIBICIJA S PRODUKATOM

Kakšna velikost mešalnega reaktorja je potrebna, da bi dobili pri $q = 3$, $c_R = 0,99c_R^*$?

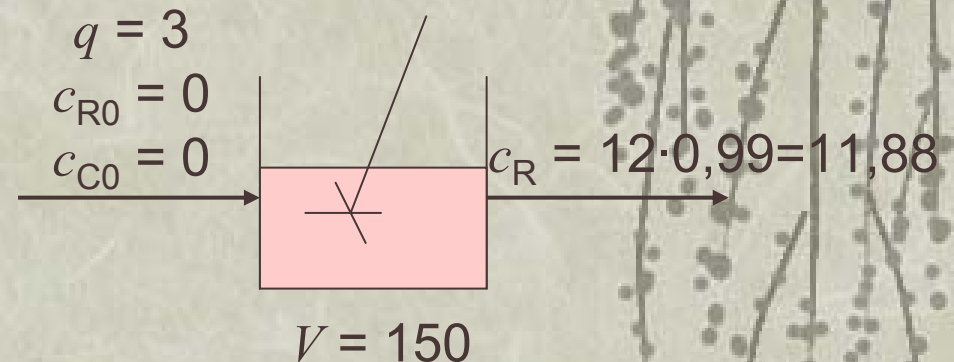
Rešitev:

$$k\tau_m = \frac{1}{1-0,99} = 100$$

torej

$$\tau_m = \frac{100}{k} = \frac{100}{2} = 50$$

$$V = 50 \cdot q = 50 \cdot 3 = 150$$





Primer 4b

MIKROBIOLOŠKA KINETIKA – INHIBICIJA S PRODUKTOM

Kakšno c_R bi dobili v dveh mešalnih reaktorjih. Vsak ima volumen $V = 1$, za pretok $q = 0,2$?

Rešitev:

Za optimum:

$$k\tau_{\text{opt}} = k \frac{V}{q} = 2 \cdot \frac{1}{0,2} = \frac{2}{0,2} = 10 \Rightarrow q_{\text{opt}} = 1$$

Ker je pretok nižji od optimalnega izberemo dva zaporedna reaktorja.

V 1. reaktorju: $k\tau = 2 \cdot \frac{1}{0,2} = \frac{1}{1 - \frac{c_R}{c_R^*}}$, če sta c_{R0} in $c_{C0} = 0$

$$10 = \frac{1}{1 - \frac{c_R}{c_R^*}} \Rightarrow \frac{c_R}{c_R^*} = 0,9 \Rightarrow c_R = 10,8 \quad c_C = 1,08$$

$$\frac{c_C}{c_R^*} = 0,9 \cdot \frac{Y_{C/A}}{Y_{R/A}} = 0,9 \frac{0,01}{0,1} = 0,09$$

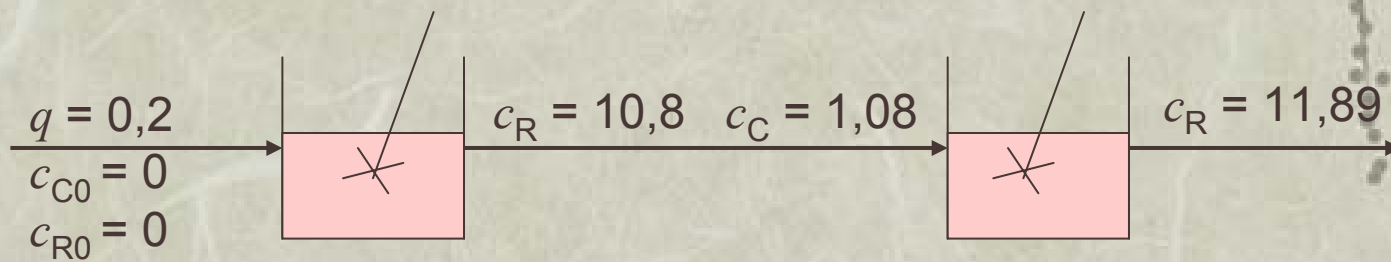


V 2. reaktorju, ko sta c_{C0} in $c_{R0} = 0$

$$k\tau = 10 = \frac{\frac{c_R}{c_R^*} - \frac{c_{R0}}{c_R^*}}{\left(1 - \frac{c_R}{c_R^*}\right) \left(\frac{c_R}{c_R^*} - \frac{c_{R0}}{c_R^*} + Y_{R/C} \frac{c_{C0}}{c_R^*}\right)}$$

$$= \frac{\frac{c_R}{c_R^*} - 0,9}{\left(1 - \frac{c_R}{c_R^*}\right) \left(\frac{c_R}{c_R^*} - 0,9 + \frac{0,1}{0,01} \cdot 0,09\right)}$$

$$\frac{c_R}{c_R^*} = 0,9908 \Rightarrow c_R = 0,9908 \cdot 12 = 11,89$$



Vsebina predavanj



1. Uvod
2. Osnovni pojmi biokemije
3. Bioreakcijska kinetika
 - 3.1. Encimska kinetika
 - 3.2. Mikrobiološka kinetika
4. Bioreaktorji-vrste
5. Tehnološke zahteve pri načrtovanju bioreaktorjev
 - 5.1. Mešanje
 - 5.2. Prenos snovi
 - 5.3. Prenos toplote
6. Modeliranje bioreaktorjev-splošno
 - 6.1. Encimska fermentacija
 - 6.2. Mikrobiološka fermentacija
 - 6.3. Pomanjkanje substrata
 - 6.4. Inhibicija s produktom
 - 6.5. Primeri
7. *Aerobno in anaerobno čiščenje odpadnih vod*

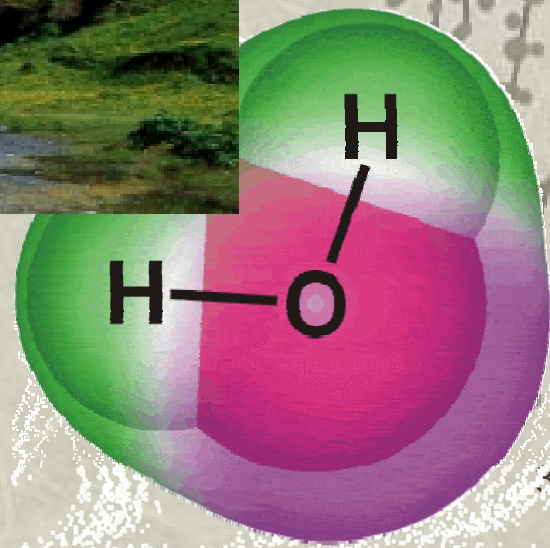


AEROBNO IN ANAEROBNO ČIŠČENJE ODPADNIH VOD

Aerobic and Anaerobic Wastewater Treatment



Andreja Goršek
Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo
Univerza v Mariboru
Smetanova 17
2000 Maribor
E-mail: andreja.gorsek@uni-mb.si



Vsebina

1. Uvod
2. Biološko čiščenje odpadnih vod
3. Opis obratovanja aerobne čistilne naprave
4. Modeliranje anaerobnega KMPR
5. Eksperimentalno določanje kinetike mikrobiološke rasti – anaerobni reaktor
6. Biodegradacija kostanjevih taninov v odpadni vodi – aerobni reaktor
7. Procesni parametri anaerobnega in aerobnega čiščenja odpadne vode
8. Nadzor, obratovanje in vzdrževanje čistilne naprave



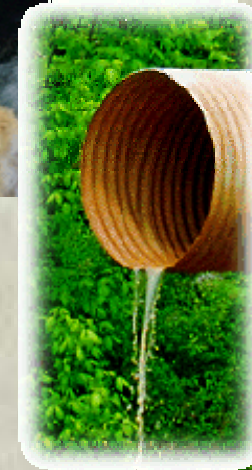
1. UVOD



- Naraščanje prebivalstva
- Klimatske spremembe
- Emisije nevarnih snovi
- Industrija
- ...



~~Velika svetovna kriza z vodo~~



Preprečevanje škodljivih učinkov nezadostno očiščenih odpadnih voda

Čiščenje odpadnih vod

Učinkovita in ekonomsko sprejemljiva alternativa fizikalno kemijskim metodam

Biološko čiščenje odpadnih vod

Fizikalno kemijske metode

2. BIOLOŠKO ČIŠČENJE ODPADNIH VOD



Biološko čiščenje odpadnih vod

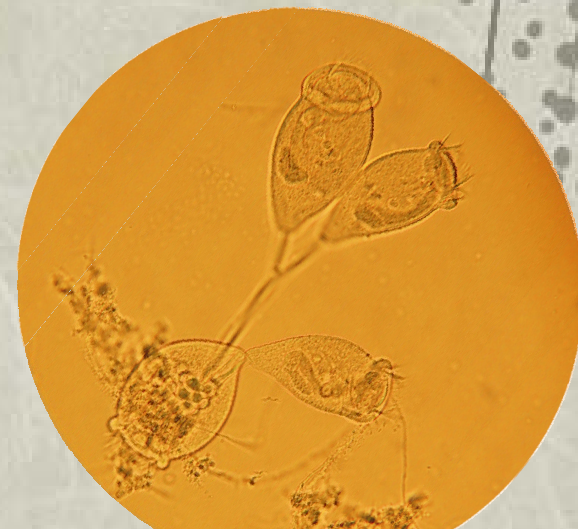
- Osnovni namen – zmanjšanje degradacije okolja in stabilizacija organskih snovi v odpadni vodi
- Princip – mikrobiološka razgradnja organskih snovi v raztopljenem in koloidnem stanju
- Dejstvo – izkoriščanje naravnega procesa samočiščenja, ki dejansko poteka v naravi
- Učinek – povečana koncentracija mikroorganizmov v bioloških čistilnih napravah - zato sta učinek in hitrost čiščenja v primerjavi z naravnim procesom samočiščenja velika večja
- Pogoji obratovanja:
 - aerobni procesi
 - anaerobni procesi
 - mešani (aerobno – anaerobni) procesi

Katerega izbrati?

2. BIOLOŠKO ČIŠČENJE ODPADNIH VOD

AEROBNI PROCES

- Proces deluje ob prisotnosti kisika – aeracija
- Prednosti aerobnih postopkov čiščenja:
 - možnost čiščenja različnih vrst odpadnih vod
 - učinkovito odstranjevanje organskih nečistoč (odpadkov)
 - kratek zagonski in bivalni čas
 - gibkost in raznolikost
- Slabosti aerobnih postopkov čiščenja:
 - velika poraba energije (aeracija)
 - velika količina proizvedenega odpadnega mulja
 - občutljivost mikroorganizmov na nenadne spremembe



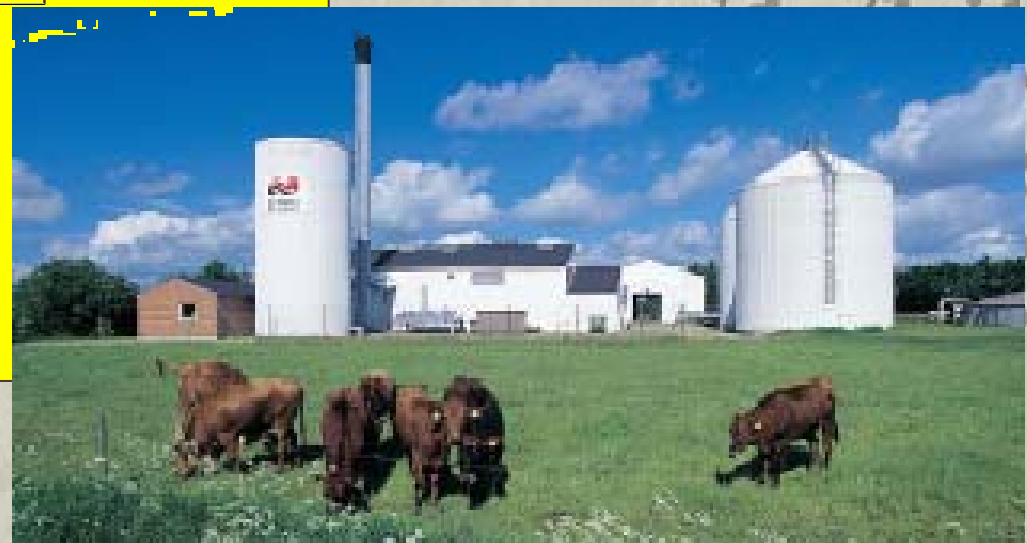
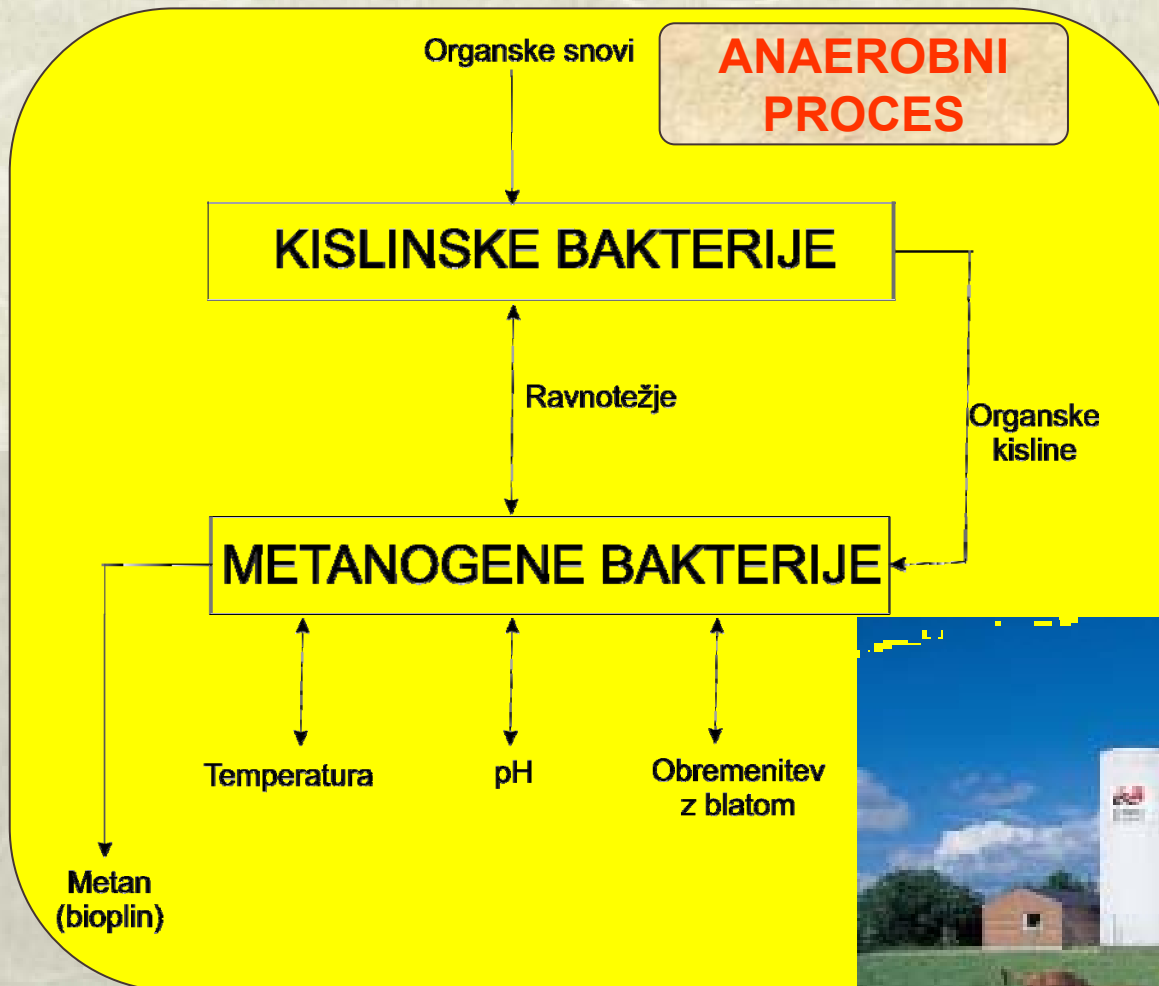
2. BIOLOŠKO ČIŠČENJE ODPADNIH VOD



ANAEROBNI PROCES

- Proces deluje brez prisotnosti kisika
- Prednosti anaerobnih postopkov čiščenja:
 - nizki obratovalni stroški
 - majhne potrebe po hranilih
 - majhne količine proizvedenega stabilnega biološkega mulja
 - možnost velikih obremenitev
 - proizvodnja energetske uporabnega metana
- Slabosti anaerobnih postopkov čiščenja:
 - občutljivost procesa na toksikante (CHCl_3 , CCl_4 , CN , itd)
 - zelo dolg zagonski čas
 - anaerobna obdelava je v osnovi predhodna, zato potrebujemo še končno obdelavo pred izpustom v vodotok
 - skromnejše izkušnje v primerjavi z aerobnimi tehnikami
- Uporaba anaerobnih postopkov čiščenja:
 - čiščenje močno onesnaženih odpadnih vod
 - nadaljna obdelava biološkega mulja iz klasičnih čistilnih naprav

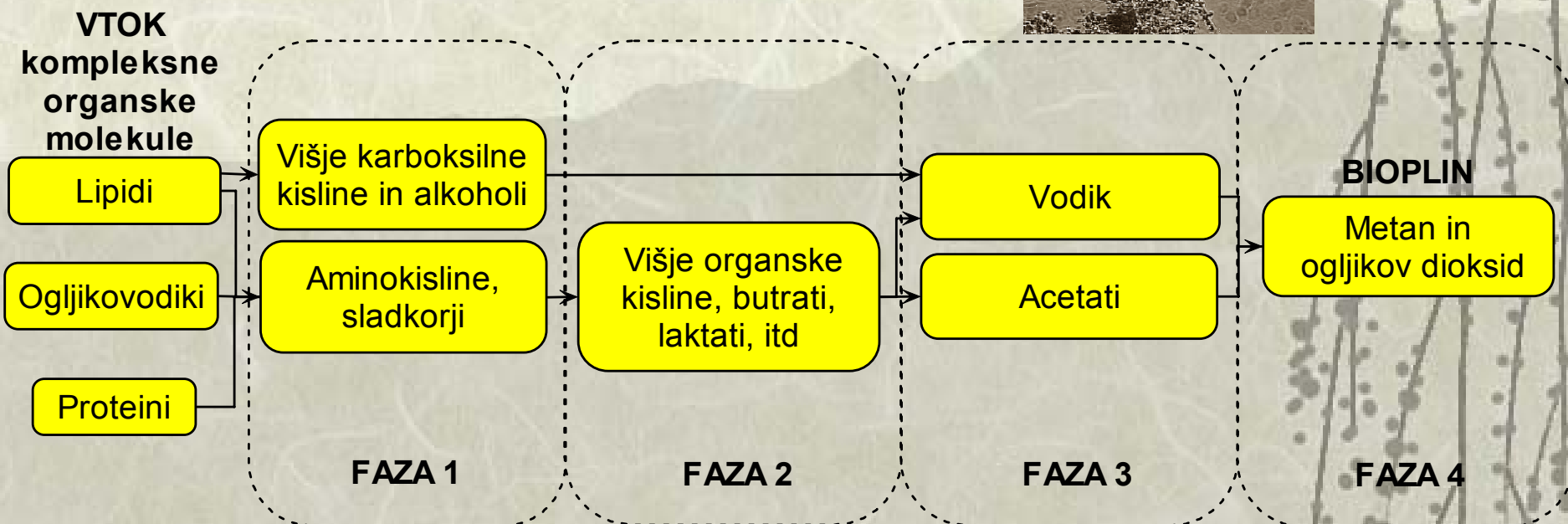
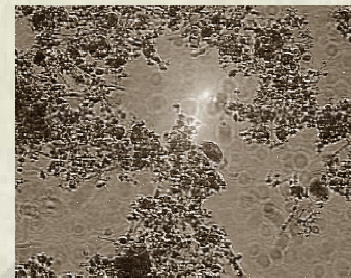
2. BIOLOŠKO ČIŠČENJE ODPADNIH VOD



2. BIOLOŠKO ČIŠČENJE ODPADNIH VOD

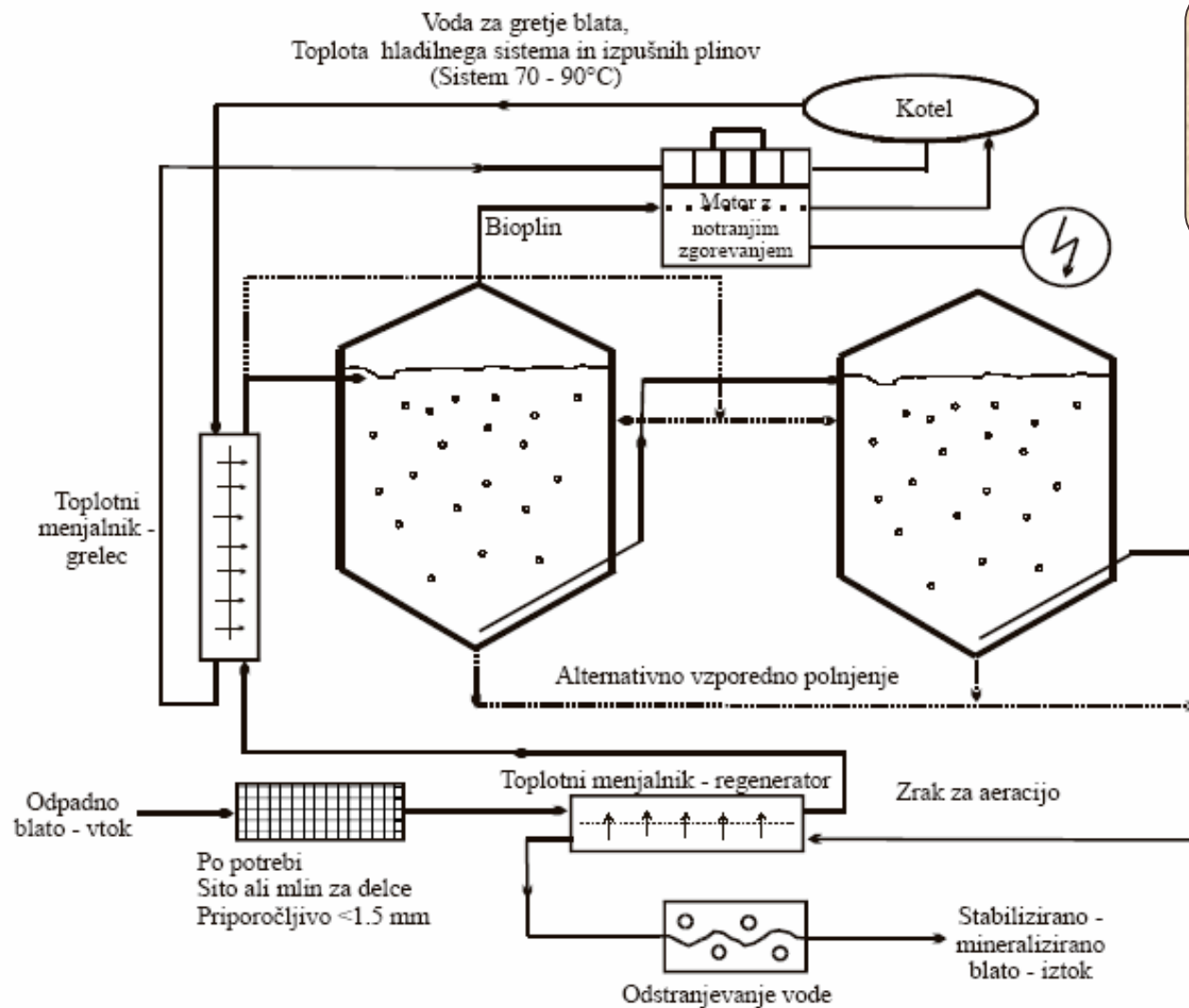


ANAEROBNI PROCES



Shematski prikaz anaerobnega procesa

2. BIOLOŠKO ČIŠČENJE ODPADNIH VOD

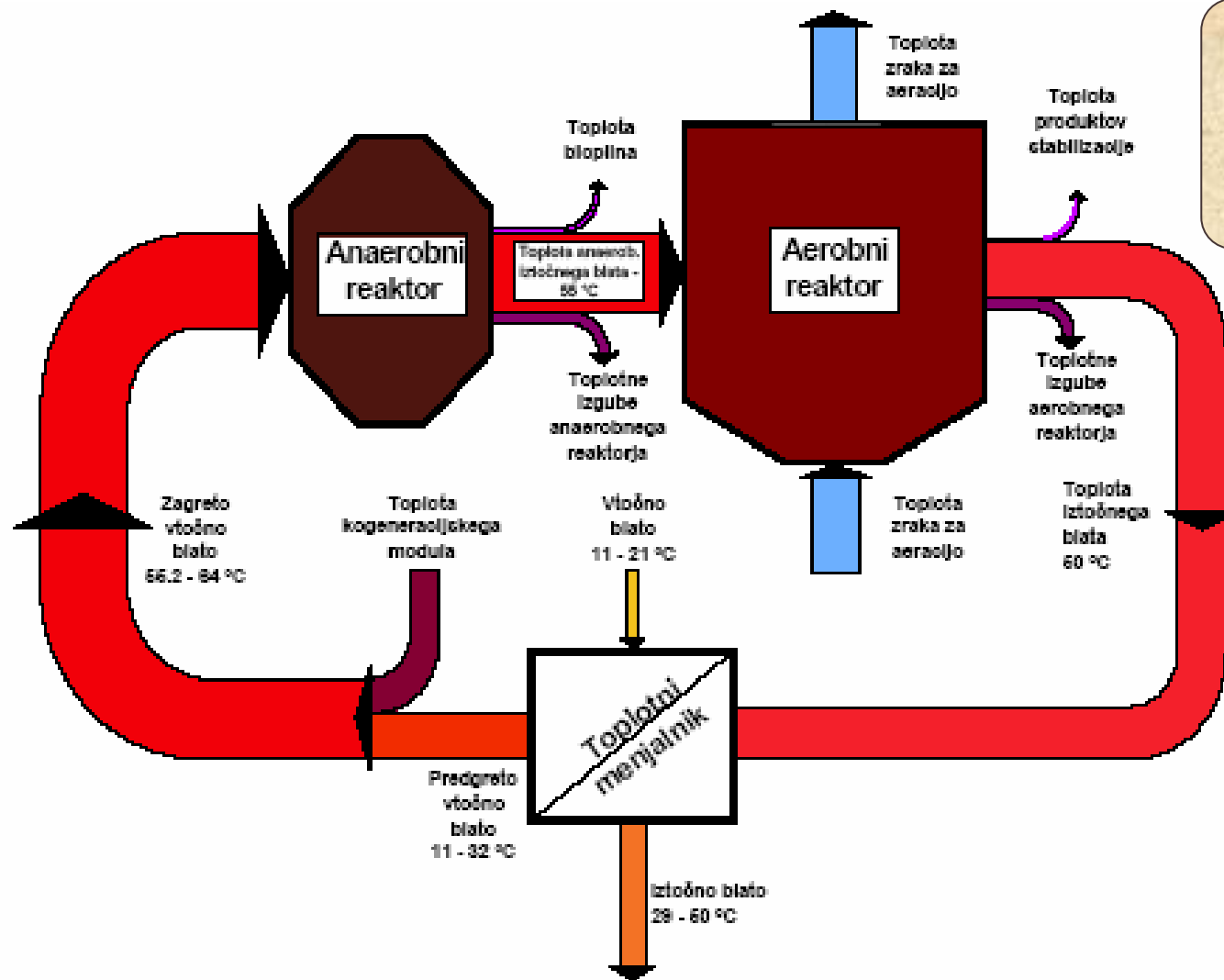


**ANAEROBNI-
AEROBNI
PROCES**

**EKONOMSKO SMISELNA REŠITEV
OBDELAVE BLATA ZA ČN 5000 PE**

Gregor D. Zupančič, Milenko Roš, Nataša Uranjek Ževart, Štefan Pražnikar

2. BIOLOŠKO ČIŠČENJE ODPADNIH VOD



**ANAEROBNI-
AEROBNI
PROCES**

**EKONOMSKO SMISELNA REŠITEV
OBDELAVE BLATA ZA ČN 5000 PE**

Gregor D. Zupančič, Milenko Roš, Nataša Uranjek Ževart, Štefan Pražnikar

2. BIOLOŠKO ČIŠČENJE ODPADNIH VOD



**ANAEROBNI-
AEROBNI
PROCES**



**EKONOMSKO SMISELNA REŠITEV
OBDELAVE BLATA ZA ČN 50000 PE**

Gregor D. Zupančič, Milenko Roš, Nataša Uranjek Ževart, Štefan Pražnikar

2. BIOLOŠKO ČIŠČENJE ODPADNIH VOD



**AEROBNI
PROCES**

**Učinek
čiščenja**

**ANAEROBNI
PROCES**

Učinek čiščenja odvisen od:

- učinkovitost metabolizma organskih snovi in amoniaka
- starosti mulja in organske obremenitve
- števila in vrste mikroorganizmov
- bivalnega časa in učinkovitosti bio-reaktorja
- faktorjev okolja (koncentracija raztopljenega kisika, hranila, pH, temperatura, itd)
- učinkovitosti mešanja povratnega mulja, črpanja aktivnega mulja in kapacitete prezračevanja
- primerne vzdrževanja čistilne naprave
- ustreznega šolanja skupine zaposlenih na čistilni napravi
- vzdrževanja, upravljanja in vodenja čistilne naprave

3. OBRATOVANJE AEROBNE ČIŠTILNE NAPRAVE



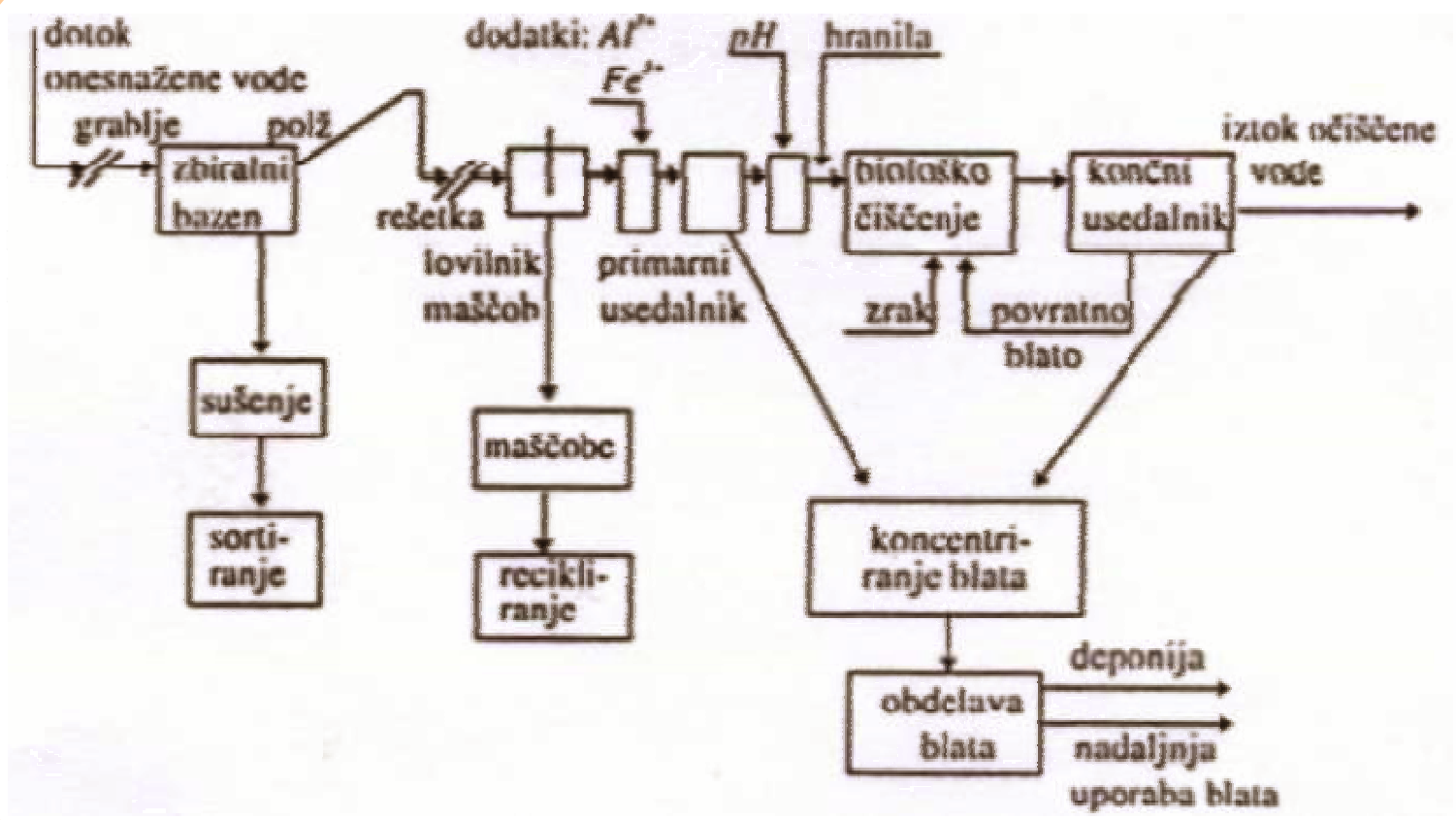
Biološko čiščenje je le ena faza obratovanja čistilne naprave

1. Mehansko predčiščenje odpadne vode
 - Odstranjevanje grobih delcev iz odpadne vode (uporaba grobih in finih grabelj, odstranjevanje peska in maščob).
 - Sprejem in mehansko čiščenje odpadnih vod iz greznic.
 - Črpanje surove in mehansko predčiščene vode.
2. Biološko čiščenje odpadne vode
 - Biološka razgradnja raztopljenih in suspendiranih organskih snovi v biološkem bazenu oz. aerobnem bio-reaktorju.
 - Ločevanje biološkega mulja v naknadnem usedalniku.
3. Stabilizacija in obdelava biološkega mulja
 - Flotacija z raztopljenim zrakom – vsebnost suhe snovi 3,5 %.
 - Centrifugiranje – vsebnost suhe snovi 20 %.
 - Stabilizacija mulja z dodatkom živega apna – vsebnost suhe snovi 25 %.
4. Čiščenje zraka
 - Pralni stolp 1 – dodatek H_2SO_4 – odstranjevanje amoniaka in aminov.
 - Pralni stolp 2 – dodatek Natrijevega hipoklorita – odstranjevanje H_2S .

3. OBRATOVANJE AEROBNE ČISTILNE NAPRAVE



Biološko čiščenje je le ena faza obratovanja čistilne naprave



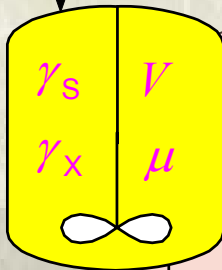


4. MODELIRANJE ANAEROBENGA KMPR



- Model in metodologija razvita iz masne bilance biomase in substrata v KMPR

$q_{V,v}, \gamma_{S0}, \gamma_{X0}$



Shema KMPR

$q_{V,l}, \gamma_S, \gamma_X$

Vtok - Iztok + Nastajanje = Akumulacija

$$q_{V,v}\gamma_{X0} - q_{V,l}\gamma_X + \mu\gamma_X = \frac{d(\gamma_X V)}{dt} = \frac{d\gamma_X}{dt}V + \frac{dV}{dt}\gamma_X$$

$$\frac{dV}{dt} = q_{V,v} - q_{V,l} = 0; \quad q_{V,v} = q_{V,l} = q; \quad D = \frac{q}{V}$$

$$D(\gamma_{X0} - \gamma_X) + \mu\gamma_X = \frac{d\gamma_X}{dt}; \quad \gamma_{X0} = 0$$

$$\frac{d\gamma_X}{dt} = 0 \text{ (stacionarno stanje)} \Rightarrow D = \mu = \frac{\mu_{\max}\gamma_S}{K_s + \gamma_S}$$

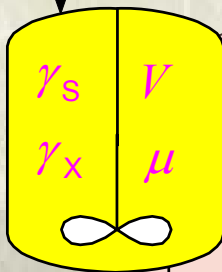
MASNA BILANCA BIOMASE

4. MODELIRANJE ANAEROBENGA KMPR



- Model in metodologija razvita iz masne bilance biomase in substrata v KMPR

$q_{V,v}, \gamma_{s0}, \gamma_{x0}$



Shema KMPR

MASNA BILANCA SUBSTRATA

$q_{V,l}, \gamma_s, \gamma_x$ Vtok - Iztok + Nastajanje = Akumulacija

$$q_{V,v}\gamma_{s0} - q_{v,l}\gamma_s - \frac{1}{Y_{x/s}}\mu\gamma_x V = \frac{d\gamma_s}{dt}V + \frac{dV}{dt}\gamma_s$$

$$\frac{dV}{dt} = q_{V,v} - q_{V,l} = 0; \quad q_{V,v} = q_{V,l} = q; \quad D = \frac{q}{V}$$

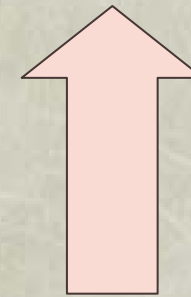
$$D(\gamma_{s0} - \gamma_s) - \frac{1}{Y_{x/s}}\mu\gamma_x = \frac{d\gamma_s}{dt}$$

$$\frac{d\gamma_s}{dt} = 0 \text{ (stacionarno stanje)} \Rightarrow D(\gamma_{s0} - \gamma_s) = \frac{1}{Y_{x/s}}\mu\gamma_x$$

4. MODELIRANJE ANAEROBENGA KMPR



**Dimenzioniranje
industrijskega
bio-reaktorja**



**Zakaj poznavanje kinetike mikrobiološke
rasti?**

5. EKSPERIMENTALNO DOLOČANJE KINETIKE MIKROBIOLOŠKE RASTI – anaerobni reaktor

Določanje kinetike anaerobnega čiščenja odpadne vode idealnega KMPR v laboratorijskem reaktorju

- Pretočnega tipa glede na substrat
- Neidealno pretočnega tipa glede na biomaso
- Neprekinjeno kontinuirno anaerobno obratovanje je v reaktorju nemogoče

Neidealni laboratorijski anaerobni reaktor



Predvidevanje modela

USTREZNA METODOLOGIJA

- Načrtovanje vrste in zaporedja eksperimentov
- Izvajanje eksperimentov

Razvoj dinamičnega modela anaerobnega obratovanja industrijske naprave (KMPR)

Koncentracija substrata in biomase v stacionarnem stanju je konstantna

5. EKSPERIMENTALNO DOLOČANJE KINETIKE MIKROBIOLOŠKE RASTI – anaerobni reaktor

- Začetna sprememba koncentracije biomase v laboratorijskem reaktorju zanemarljiva
- Približanje k obratovanju KMPR v stacionarnem stanju

Predpostavitev metodologije

Eksperimentalno določena masna bilanca za substrat v stacionarnem stanju

➤ **Izračun parametrov MONODOVE funkcije**

- ◆ maksimalna specifična hitrost rasti biomase
- ◆ konstanta nasičenja substrata

➤ **Izračun izkoristka celotne biomase glede na substrat**

NUMERIČNA INTERPOLACIJA

Spremljanje časovnega spreminjanja koncentracije substrata in biomase v idealnem KMPR

DINAMIČNA SIMULACIJA

$\epsilon_n^2 f''(\xi) \dots$

Scientist® for Windows

Določitev časa, potrebnega za vzpostavitev stacionarnega stanja

(v njem delovanje anaerobnih čistilnih naprav optimalno)

340

5. EKSPERIMENTALNO DOLOČANJE KINETIKE MIKROBIOLOŠKE RASTI – anaerobni reaktor



- Aktivni volumen reaktorja $V = 4,3 \text{ L}$
- Čiščenje sintetične odpadne vode (substrat glukoza)
- Bakterijska kultura iz obstoječe čistilne naprave
- Posredno merjenje koncentracije glukoze s KPK testom ISO 6060:1989(E)

Sestava sintetične odpadne vode

Kemikalija	$\gamma(\text{g/L})$	$\sigma(\text{ml/L})$
Glukoza	4,0	–
NH_4HCO_3	0,2	–
KH_2PO_4	0,2	–
NaHCO_3	0,2	–
Raztopina A	–	0,5
Raztopina B	–	0,5

Sestava raztopine A in B

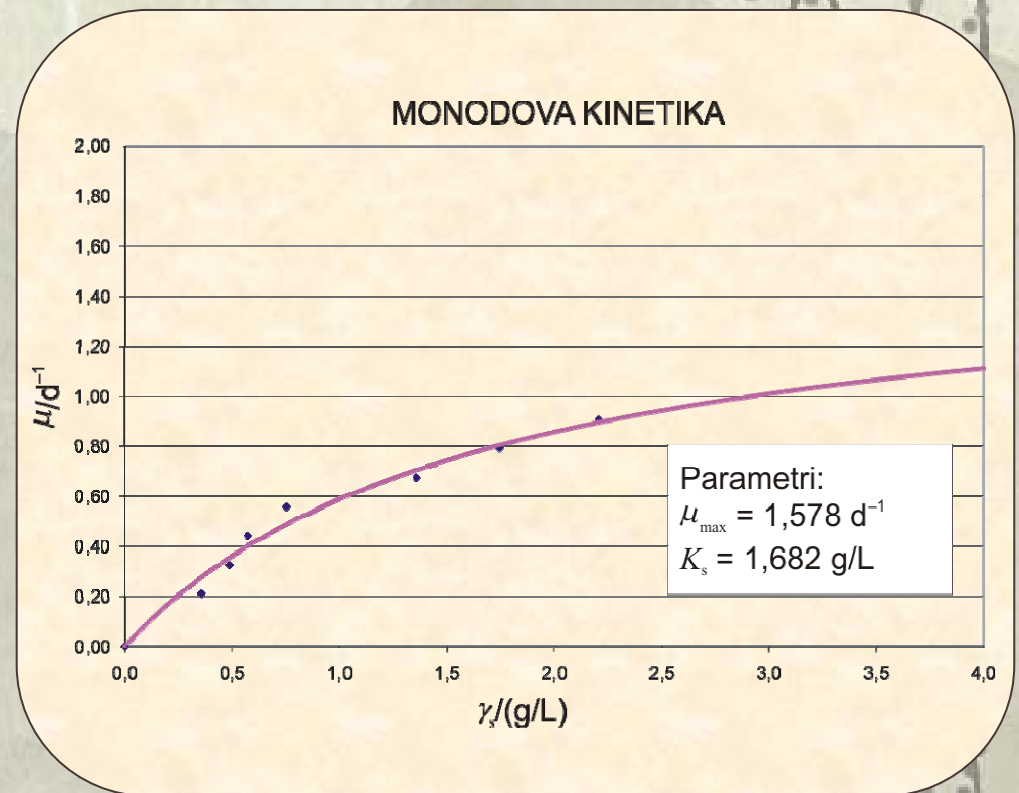
Kemikalija	$\gamma(\text{g/L})$	
	Raztopina A	Raztopina B
FeCl_3	5,0	–
CaCl_2	5,0	–
KCl	5,0	–
CoCl_2	1,0	–
NiCl_2	1,0	–
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	–	5,0

5. EKSPERIMENTALNO DOLOČANJE KINETIKE MIKROBIOLOŠKE RASTI – anaerobni reaktor

Eksperimentalno določena koncentracija substrata v odvisnosti od hitrosti razredčevanja.

D/d^{-1}	$\gamma_s/(g/L)$
0,0000	0,000
0,2093	0,357
0,3256	0,488
0,4419	0,573
0,5581	0,752
0,6744	1,359
0,7907	1,745
0,9070	2,209

→
Konstrukcija
krivulje
 $\mu = f(\gamma_s)$



Numerična interpolacija

$$D = \mu = \frac{\mu_{\max} \gamma_s}{K_s + \gamma_s}$$

5. EKSPERIMENTALNO DOLOČANJE KINETIKE MIKROBIOLOŠKE RASTI – anaerobni reaktor

Eksperimentalno določena koncentracija substrata v odvisnosti od hitrosti razredčevanja.

D/d^{-1}	$\gamma_s/(g/L)$
0,0000	0,000
0,2093	0,357
0,3256	0,488
0,4419	0,573
0,5581	0,752
0,6744	1,359
0,7907	1,745
0,9070	2,209

$\gamma_{s0} = 4 \text{ g/L}$
 $\mu_{\max} = 1,578 \text{ d}^{-1}$
 $K_s = 1,682 \text{ g/L}$
 $\gamma_X = 10 \text{ g/L}$
 $w_{X,a} = 0,05$

Numerična interpolacija

$$D(\gamma_{s0} - \gamma_s) = \frac{1}{Y_{X/S}} \frac{\mu_{\max} \gamma_s}{K_s + \gamma_s} w_{X,a} \gamma_X$$

Pri rasti biomase sodeluje samo aktivni delež biomase (po literaturi 5–10 %)

$Y_{X/S} = 0,227$

5. EKSPERIMENTALNO DOLOČANJE KINETIKE MIKROBIOLOŠKE RASTI – anaerobni reaktor

$$\frac{d\gamma_s}{dt} = D(\gamma_{s0} - \gamma_s) - \frac{1}{Y_{x/s}} \mu \gamma_x$$

$$\mu = \frac{\mu_{\max} \gamma_s}{K_s + \gamma_s}$$

$$\frac{d\gamma_x}{dt} = D(\gamma_{x0} - \gamma_x) + \left(\frac{\mu_{\max} \gamma_s}{K_s + \gamma_s} - k_d \right) \gamma_x$$

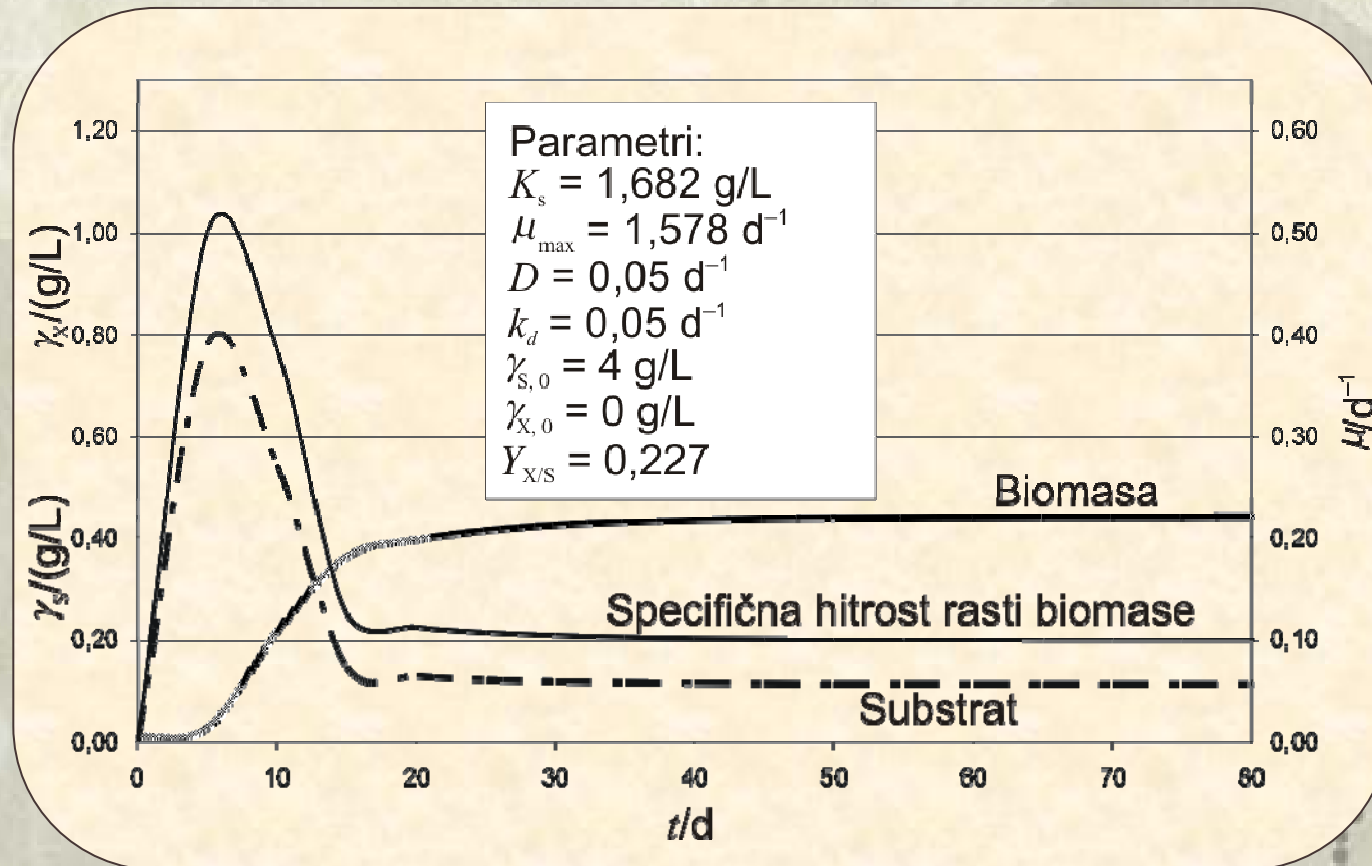
Dinamična simulacija

Ocenitev časa, potrebnega za vzpostavitev stacionarnega stanja

➤ Koncentracijski profil A; $\gamma_s = 0$ g/L pri $t = 0$

5. EKSPERIMENTALNO DOLOČANJE KINETIKE MIKROBIOLOŠKE RASTI – anaerobni reaktor

Koncentracijski profil A

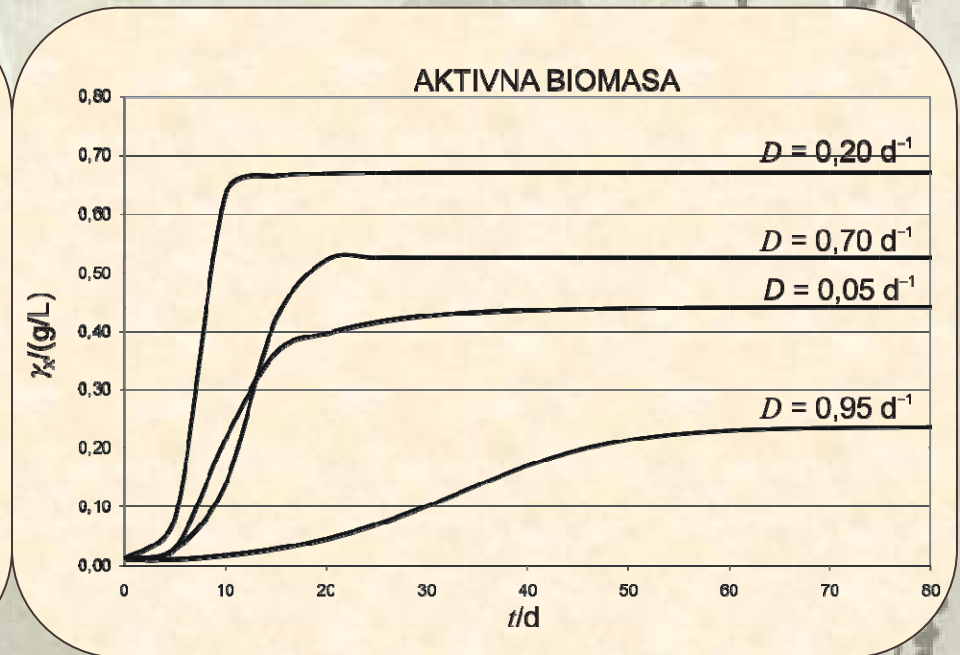
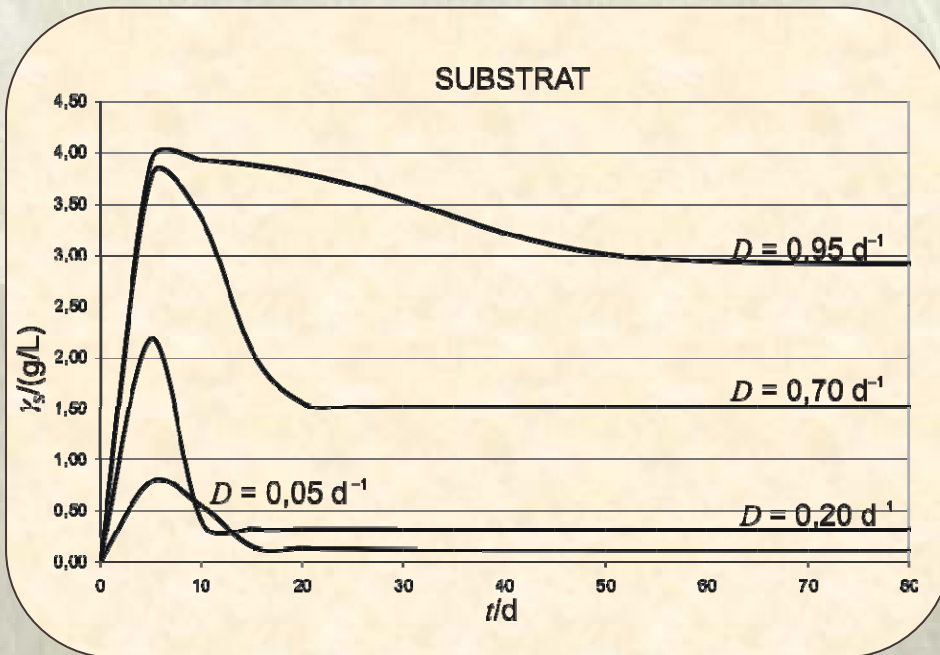


Stacionarno stanje po 60 d neprekinjenega obratovanja

$$\gamma_{s, \text{st}} = 0,114 \text{ g/L} \text{ oziroma } \gamma_{x, \text{st}} = 0,442 \text{ g/L}$$

5. EKSPERIMENTALNO DOLOČANJE KINETIKE MIKROBIOLOŠKE RASTI – anaerobni reaktor

Vpliv hitrosti razredčevanja D na koncentracijski profil A v KMPR



STACIONARNO STANJE

Koncentracija

Substrat

Biomasa

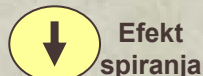
Specifična hitrost rasti aktivne biomase

Čas

Povečanje D

Visok D

Nizek D



5. EKSPERIMENTALNO DOLOČANJE KINETIKE MIKROBIOLOŠKE RASTI – anaerobni reaktor

UPORABNOST PRIKAZANIH KONCENTRACIJSKIH PROFILOV

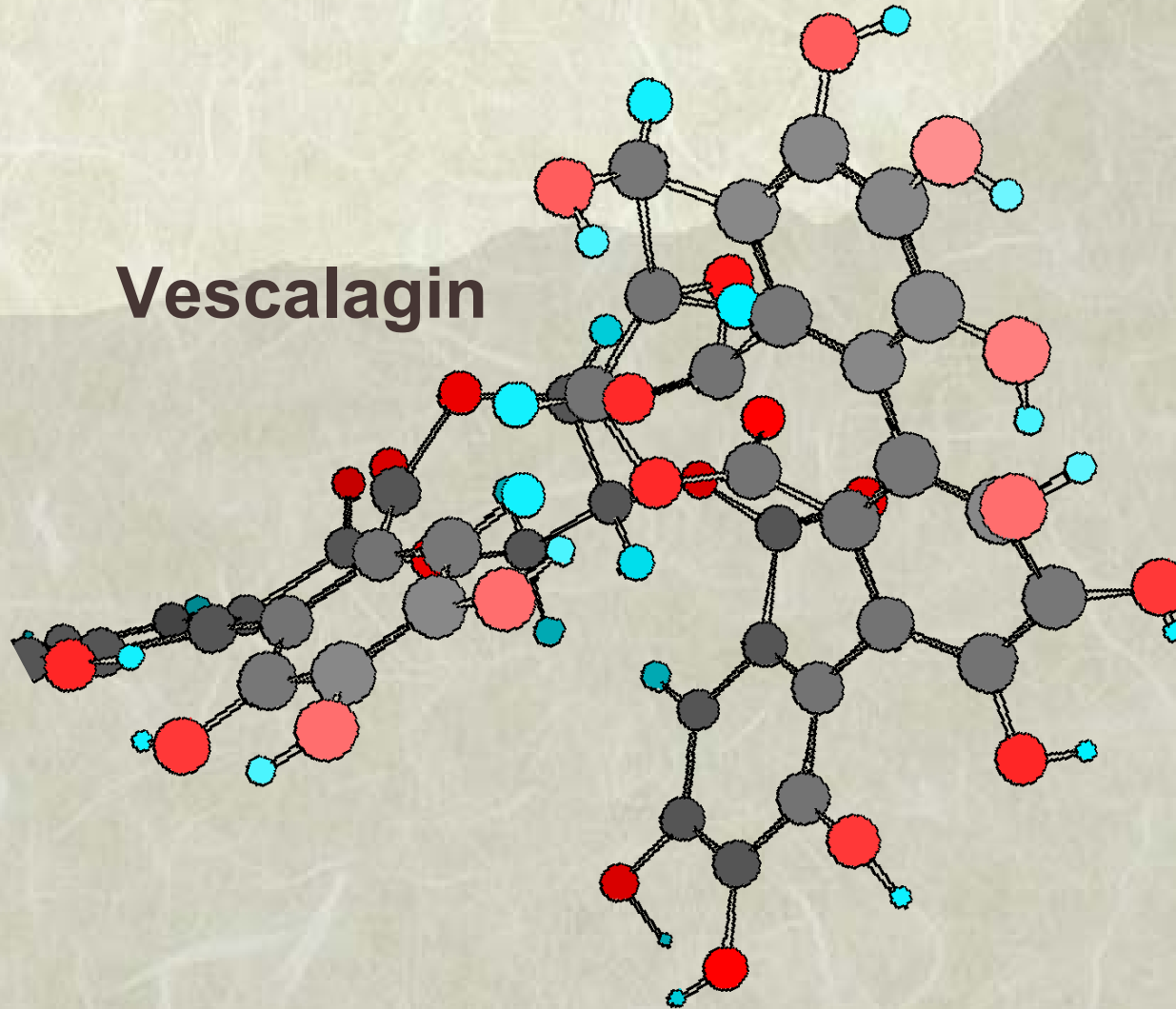
- Učinkovito sredstvo pri spremljanju in upravljanju delovanja čistilnih naprav ob njihovem zagonu
- Določanje optimalnih pogojev, ki zagotavljajo optimalno razmerje med učinkom čiščenja in dodatnimi stroški, ki so posledica nadaljne obdelave oziroma stabilizacije proizvedene biomase



6. BIODEGRADACIJA RASTLINSKIH TANINOV V ODPANI VODI – AEROBNI REAKTOR



Vescalagin



6. BIODEGRADACIJA RASTLINSKIH TANINOV V ODPANI VODI – AEROBNI REAKTOR

Masna bilanca rastlinskih taninov v KMPR v stacionarnem stanju

$$-r_s = \frac{1}{Y_{XS}} \mu \gamma_X = D(\gamma_{S0} - \gamma_S)$$

Brez inhibicije

MONODOVA ENAČBA

$$\mu = \frac{\mu_{\max} \gamma_S}{K_s + \gamma_S}$$

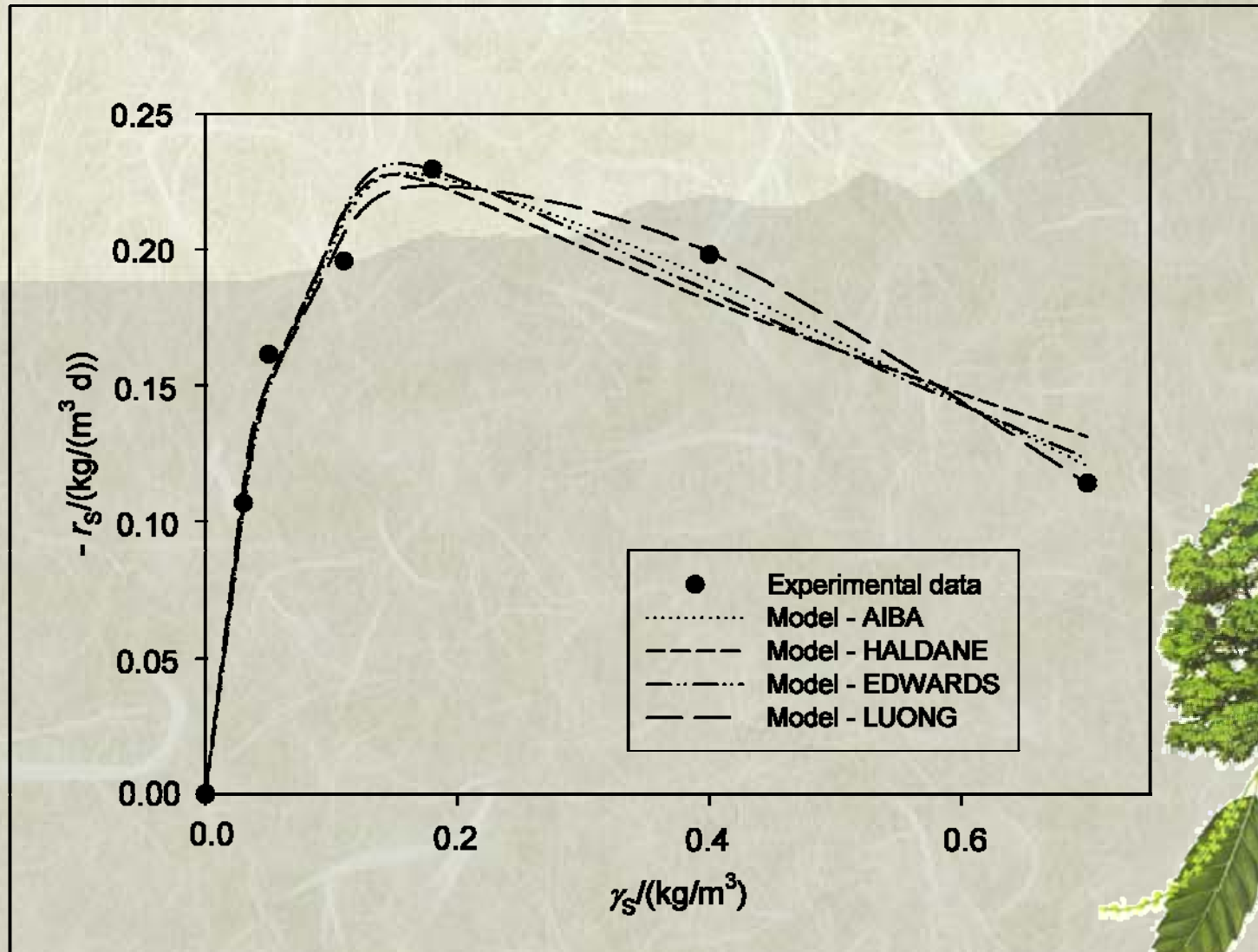


Z inhibicijo

AVTOR	IZRAZ
Haldane	$\mu = \frac{\mu_{\max} \gamma_S}{K_s + \gamma_S + \frac{\gamma_S^2}{K_{IH}}}$
Edwards	$\mu = \mu_{\max} \left(\exp\left(-\frac{\gamma_S}{K_{IE}}\right) - \exp\left(-\frac{\gamma_S}{K_s}\right) \right)$
Aiba	$\mu = \frac{\mu_{\max} \gamma_S}{K_s + \gamma_S} \exp\left(-\frac{\gamma_S}{K_{IA}}\right)$
Luong	$\mu = \frac{\mu_{\max} \gamma_S}{K_s + \gamma_S} \left(1 - \frac{\gamma_S}{\gamma_{S,m}} \right)^n$

*What is true for E.coli is true for the elephant.
Jacques Monod*

6. BIODEGRADACIJA RASTLINSKIH TANINOV V ODPANI VODI – AEROBNI REAKTOR



7. PROCESNI PARAMETRI AEROBNEGA IN ANAEROBNEGA ČIŠČENJA ODPADNE VODE



➤ Temperatura

- Biokemijske reakcije so encimsko katalizirane in tako odvisne od temperature.
- S povišanjem temperature se povečuje hitrost razgradnje substrata.
- Mejna temperatura – zaviranje biološke aktivnosti.
- Optimalna temperatura:
 - **Aerobno: 25 – 30 °C**
 - **Anaerobno: 35 °C in 55 °C**

➤ pH vrednost

- Najpomembnejši procesni parameter – neposreden vpliv na aktivnost encimov.
- Optimalno območje: 6,5 – 8,5.

➤ Kemijska potreba po kisiku

- Potrebna masna koncentracija kisika za popolno oksidacijo organskih snovi v odpadni vodi do CO₂ in H₂O.
- Je merilo za skupno količino organskih snovi v vzrcu (nerazgradljivih in razgradljivih).

- komunalna odpadna voda - vtok: $\gamma_{\text{KPK}} = 650 \text{ mg/L}$; iztok: $\gamma_{\text{KPK}} = 50 \text{ mg/L}$
- industrijska odpadna voda - vtok: $\gamma_{\text{KPK}} > 5000 \text{ mg/L}$

7. PROCESNI PARAMETRI AEROBNEGA IN ANAEROBNEGA ČIŠČENJA ODPADNE VODE



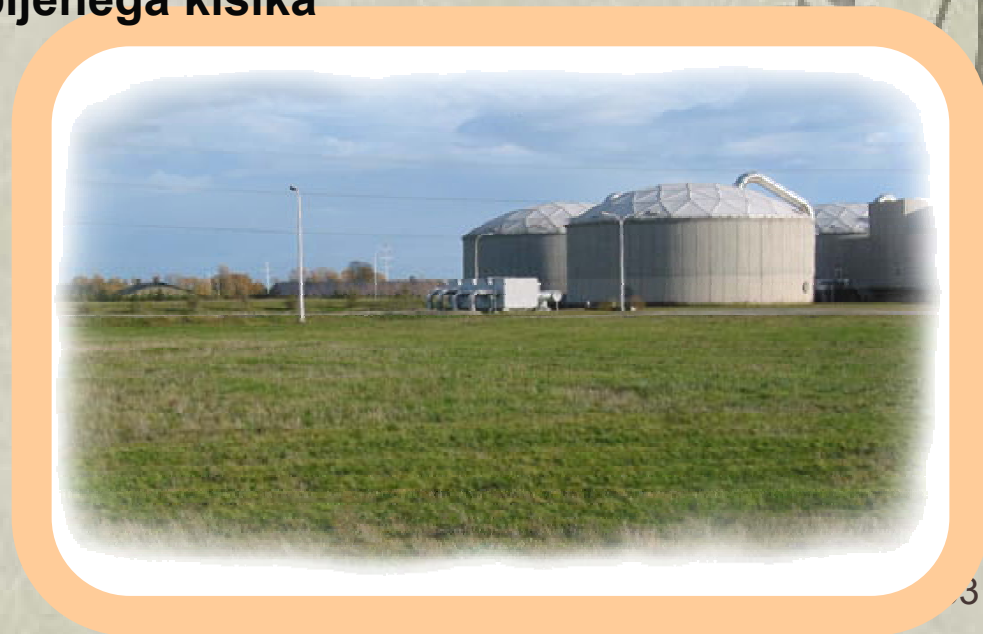
- **Biokemijska potreba po kisiku - BPK**
 - **Masna koncentracija kisika, ki ga mikroorganizmi porabijo za oksidacijsko razgradnjo organskih in anorganskih snovi v vzorcu.**
 - **Zaradi dolgotrajnosti biorazgradnje določamo BPK na vsakih pet dni (BPK_5) pri temperaturi 20 °C.**
 - **Poznani dve metodi določanja BPK_5 :**
 - **standardizirana razredčevalna**
 - **nestandardizirana manometrična.**
- **Masna koncentracija suhe snovi**
 - **Vsota nehlapnih raztopljenih in neraztopljenih snovi**
 - **Odstranjevanje odpadnega blata vpliva na:**
 - **kakovost iztoka**
 - **hitrost rasti mikroorganizmov in prisotnost različnih vrst mikroorganizmov**
 - **porabo raztopljenega kisika**
 - **usedljivost suspenzije aktivnega mulja**
 - **pojav penjenja in**
 - **možnost nitrifikacije**



7. PROCESNI PARAMETRI AEROBNEGA IN ANAEROBNEGA ČIŠČENJA ODPADNE VODE



- **Volumski pretok odpadne vode**
 - **Direkten vpliv na stabilnost in učinek procesa čiščenja**
 - **Bivalni čas v bio-reaktorju odvisen od kompleksnosti odpadne vode**
 - **Volumski pretok odpadne vode – ključen parameter pri načrtovanju tako aerobnih kot anaerobnih procesov.**
- **Masna koncentracija vtoka – stopnja onesnaženosti vtoka**
 - **Neposreden vpliv na učinek čiščenja in vrednost KPK na iztoku**
- **Pomanjkanje hranil**
- **Masna koncentracija raztopljenega kisika**
- **Vrsta mikroorganizmov**
- **Prisotnost toksičnih snovi**
- **...**



8. NADZOR, OBRATOVANJE IN VZDRŽEVANJE ČISTILNIH NARAV

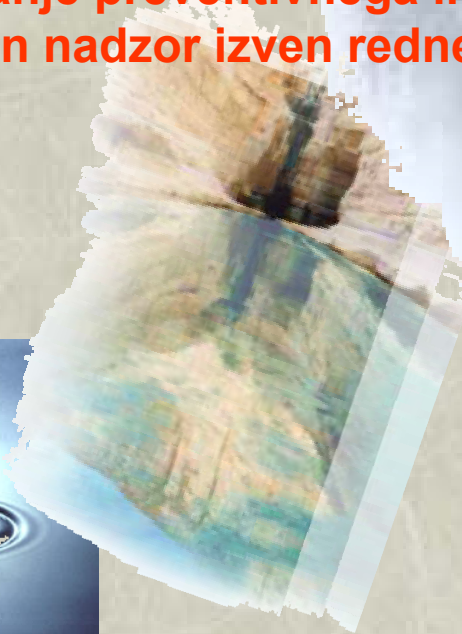


- Vzorčenje, meritve in analize odpadnih vod – dnevno oz. 5-dnevno
 - Koncentracija raztopljenega kisika
 - Temperatura
 - Električna prevodnost
 - Pretok
 - KPK
 - BPK₅
 - Koncentracija neraztopljenih snovi
 - Skupni dušik
 - Skupni fosfor
 - Vsebnost trne snovi v blatu
 - Učink čiščenja
 -



8. NADZOR, OBRATOVANJE IN VZDRŽEVANJE ČISTILNIH NARAV

- **Obratovanje in vzdrževanje čistilne naprave**
 - **Nadzor delovanja in vodenja procesa čiščenja odpadnih vod.**
 - **Obratovanje in nadzor procesa obdelave blata.**
 - **Izvajanje laboratorijskih meritev in analiz.**
 - **Ovrednotenje delovanja procesa čiščenja.**
 - **Priprava poročil delovanja čistilne naprave.**
 - **Načrtovanje in izvajanje preventivnega in korektivnega vzdrževanja.**
 - **Izvajanje dežurstva in nadzor izven rednega delovnega časa**





AEROBNO IN ANAEROBNO ČIŠČENJE ODPADNIH VOD

