

Kinetika rastu biomasy

LADISLAV CHRIAŠTEĽ

Súhrn. Autor článku sumarizuje, dopĺňa a kriticky rozoberá prístup k riešeniu kinetiky rastu mikrobiálnej masy vo fermentore, vychádzajúci z princípov používaných v heterogénnej chemickej katalýze. Deje, ktoré prebiehajú vo fermentore, sú značne zložité a výsledky uvedenej teórie boli verifikované iba v laboratórnych podmienkach.

Procesy prebiehajúce vo fermentoroch sú značne zložité. Prostredie je tu heterogénne (s výnimkou voľne rozpustných enzýmov), obsahuje kvázituhú (biomasa, viazané enzýmy), kvapalnú (substrát) a plynnú fázu (zvyčajne vzduch). Ďalej sa sústredíme na biomasu, ktorá môže mať tvar vločiek voľne sa vznášajúcich v kvapalnej fáze alebo tvar filmov priliehajúcich k podporným povrchom (pevné časti fermentora, inertné častice) [1]. V oboch prípadoch bunky mikroorganizmov tvoria zhľuky spojené biochemicky inertným gélom, v ktorom sú voľne rozptýlené. Reaktanty musia v tomto géle predifundovať cez spojovacie kanáliky, aby dosiahli aktívny povrch mikroorganizmov. Difúziu substrátu medzibunkovým gélom a jeho spotrebu mikroorganizmami matematicky opisuje Atkinson [1—3] tzv. „biologickou kinetickou rovnicou“.

Pri riešení tohto problému možno vychádzať z rovnice kontinuity pre substrát [4]

$$\frac{\partial s}{\partial t} + \vec{v} \cdot (\nabla s) - D \nabla^2 s - r = 0 \quad (1)$$

a postaviť si tieto zjednodušujúce predpoklady [1]:

a) bunka je jednotka, ktorej funkcie sú nezávislé od času, pričom jej vlastnosti sú funkciami daného prostredia,

Ing. Ladislav Chriaštel, CSc., Katedra chemických strojov a zariadení, Strojnícka fakulta SVŠT, Gottwaldovo nám. 17, 812 31 Bratislava.

b) časove variabilné sú ďalej životaschopnosť biomasy, mutácia, selektívnosť, adaptabilnosť, súťaživosť a rozdelenie populácie podľa veku,

c) difúzny koeficient D je konštantný.

Za týchto predpokladov možno hovoriť o ustálenej molekulovej, a ak je pohyb substrátu kolmo na film biomasy, i o jednorozmernej difúzii spojenej s biologickou reakciou. Z rovnice (1) ostane potom za predpokladu kartézskeho súradnicového systému

$$D \frac{d^2s}{dz^2} + r_s = 0, \quad (2)$$

kde r_s je rýchlosť spotreby substrátu biomasou. Táto rýchlosť sa zvyčajne vyjadruje v tvare

$$r_s = \frac{ds}{dt} = -Rx,$$

kde R je špecifická rýchlosť spotreby substrátu, ktorá sa v literatúre označuje i ako metabolický koeficient (pozri napr. [5]). Keďže rýchlosť rastu biomasy $r_x = dx/dt = \mu \cdot x$, bude

$$R = \frac{\mu}{Y}$$

(Y — výťažkový koeficient).

Ak prijmeme predpoklad o platnosti Monodovej kinetiky, potom sa špecifická rastová rýchlosť μ rovná

$$\mu = \frac{\mu_{\max}s}{K_s + s} \quad ; \quad)$$

a špecifická rýchlosť spotreby substrátu

$$R = \frac{\mu_{\max}s}{Y(K_s + s)}. \quad (4)$$

Podľa toho by sme mali do rovnice (1) dosadiť za zdrojový (úbytkový) člen

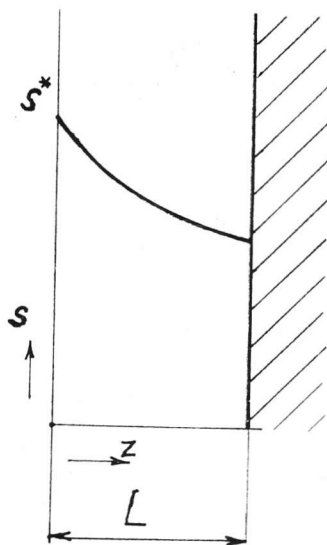
$$r_s = -\mu_{\max}r_s \frac{\mu_{\max}s}{Y(\mu_s + s)} x$$

pričom x je koncentrácia biomasy vo fermentore meraná ako množstvo suchej biomasy pripadajúce na jednotku objemu náplne fermentora. Tak to je v prípade, ak ide o homogénny alebo pseudohomogénny systém. V prípade heterogénneho systému (uvažovaný prípad) sa rozhodujúca hustota biomasy meria ako množstvo suchej biomasy filmu (vločiek) pripadajúce na jednotku mokrého objemu filmu, teda

$$r_s = -RQ.$$

Potom možno rovnicu (2) prepísať do tvaru

$$D \frac{d^2 s}{dz^2} - \frac{\mu_{\max} s}{Y(K_s + s)} Q = 0. \quad (5)$$



Vzťah (5) platí pre rast biomasy, ktorá je v tvare filmu na rovnej stene (obr. 1). Pritom sa predpokladajú okrajové podmienky:

$$\begin{aligned} \text{pre } z = 0 & \quad s = s^*, \\ \text{pre } z = L & \quad ds/dz = 0, \end{aligned}$$

kde s^* je koncentrácia substrátu na fázovom rozhraní filmu biomasy a tekutého substrátu a za predpokladu dokonalého miešania sa rovná i koncentrácii substrátu v hlavnom objeme kvapaliny. Druhá okrajová podmienka vyjadruje, že na stene je tok substrátu nulový.

Rovnicu (5) možno výhodne prepísať do bezrozmerného tvaru zavedením nových premenných \bar{s} a \bar{Z}

$$\bar{s} = \frac{s}{s^*}, \quad \bar{Z} = \frac{L-z}{z}.$$

Potom

$$\frac{d^2\bar{s}}{d\bar{Z}^2} = \frac{L^2 \varrho \mu_{\max} s}{DYK_s[1+(s^*/K_s)\bar{s}]} = \Phi^2 \frac{\bar{s}}{1 + \varepsilon \bar{s}} \quad (6)$$

V rovnici (5) bolo s funkciou 6 parametrov, kým v rovnici (6) je \bar{s} závislé iba od troch parametrov.

Upravené okrajové podmienky budú

$$\text{pre } \bar{Z} = 1 \quad \bar{s} = 1,$$

$$\text{pre } \bar{Z} = 0 \quad ds/d\bar{Z} = 0.$$

Rovnica (6) je „biologická kinetická rovnica“ [1]. Bezrozmerný parameter sa nazýva Thieleho modul a je daný v tvare

$$\Phi = L \sqrt{\frac{\mu_{\max} \varrho}{YK_s D}}. \quad (7)$$

Ďalší bezrozmerný parameter

$$\varepsilon = \frac{s^*}{K_s} \quad (7')$$

je saturačný parameter.

Rovnica (6) je nelineárna diferenciálna rovnica druhého rádu, ktorú možno riešiť iba numericky — Rungeho—Kuttovou metódou. Jej riešením sa získa priebeh koncentrácie substrátu po hrúbke filmu biomasy. Pre bilancovanie nárastu biomasy, spotreby substrátu i tvorby produktu vo fermentore je však dôležité poznať priemernú rýchlosť spotreby substrátu filmom alebo vložkami mikroorganizmov. Špecifická rýchlosť spotreby substrátu by bola maximálna, ak by po celej hrúbke filmu bola koncentrácia substrátu $s = s^*$. Potom

$$R_{\max} = \frac{\mu_{\max} s^*}{K_s + s^*}.$$

R môže mať takú hodnotu iba vtedy, ak je hrúbka filmu veľmi malá alebo D veľmi veľké (riadiacim dejom je biologická reakcia). Skutočná rýchlosť reakcie je závislá od rozloženia koncentrácie substrátu pozdĺž filmu. Na vyjadrenie strednej rýchlosti zaviedol autor [1] na základe analógie s heterogénnou katalýzou faktor efektívnosti η , definovaný ako pomer množstva substrátu, ktoré prejde rozhraním do filmu k maximálnemu toku substrátu

$$\eta = \frac{N(s)_{/z=0}}{N(s^*)} = \frac{D \left(\frac{ds}{dz} \right)_{/z=0}}{\frac{k_1 L s^*}{1 + k_3 s^*}}, \quad (8)$$

z čoho po zavedení bezrozmerných premenných

$$\eta = \left[\frac{1 + k_3 s^*}{(k_2 L)^2} \right] \frac{ds}{d\bar{Z}} \bigg|_{\bar{Z} = 1}. \quad (9)$$

Atkinson [1] nazýva koeficienty k_1 , k_2 , k_3 biologické kinetické koeficienty, ktoré sú dané v tvare

$$k_1 = \frac{\mu_{\max} \varrho}{Y K_s}, \quad k_2 = \sqrt{\frac{\mu_{\max} \varrho}{Y D K_s}}, \quad k_3 = \frac{1}{K_s},$$

pričom k_2 a k_3 sú analogické už zavedenému Φ a ε .

Vzťah (9) však možno prepísať i do tvaru

$$\eta = \left(\frac{1 + \varepsilon}{\Phi^2} \right) \frac{d\bar{s}}{d\bar{Z}} \bigg|_{\bar{Z} = 1}. \quad (10)$$

Atkinson [1] dostal po numerickom vyriešení rovnice (5) hodnoty závislosti (10) a znázornil ich v grafe $\eta = f(\varepsilon, \Phi)$, pričom Φ je parameter. Výhoda tohto spôsobu vyjadrenia spočíva v tom, že pri ňom je η závislé iba od dvoch premenných, Φ a ε (lebo v ňom vystupuje koncentrácia a jej gradient na rozhraní).

Atkinson [1] používa pre biomasu v tvare vložiek špecifickú rýchlosť spotreby substrátu vyjadrenú pomocou toku substrátu

$$R = \frac{N}{\varrho} \frac{A_p}{V_p} = \frac{N}{\varrho L} = \frac{k_1 s}{\varrho(1 + k_3 s)}, \quad (11)$$

pričom A_p/V_p reprezentuje charakteristický rozmer častice mikroorganizmov (vložiek). Rozoberme si bližšie toto vyjadrenie. Z rovnice (2) (pri konštantnom D) vyplýva, že $r_s = dN/dx$, kým v rovnici (11) je tento gradient nahradený dĺžkou (správne by malo byť $\Delta N/L$ — zmena toku substrátu), to znamená, že sa predpokladá konštantná zmena toku substrátu v smere koordináty. Potom je však konštantné i r_s a koncentrácia s je úmerná kvadrátu koordináty z .

Bailey a Ollis [6] definujú faktor efektívnosti ako pomer skutočnej k maximálnej rýchlosti spotreby substrátu

$$\eta = \frac{R(s)}{R(s^*)}. \quad (12)$$

Pritom R určujú zo vzťahu

$$R = \frac{A_p}{V_p} \left(D \frac{ds}{dr} \Big|_{r=r_0} \right) = \frac{3}{r_0} \left(D \frac{ds}{dr} \Big|_{r=r_0} \right),$$

teda podobne ako Atkinson [1] nahrádzajú gradient d/dz pomerom $A_p/V_p = 3/r_0$. Uvažujú prestup substrátu do častice guľového tvaru (peletka) vonkajšieho polomeru r_0 . Výraz v zátvorke predstavuje tok substrátu molekulovým mechanizmom na rozhraní častice a tekutého substrátu. Gradient ds/dr určujú z rovnice (5), pričom zanedbávajú člen $(2/r) \cdot (ds/dr)$ reprezentujúci zakrivenie povrchu. V snahe vyhnúť sa numerickému riešeniu používajú rozklad

$$D \frac{d^2s}{dr^2} = D \frac{1}{2} \frac{d}{ds} \left(\frac{ds}{dr} \right)^2 = r_s.$$

Potom

$$\int_0^{\frac{ds}{dr} \Big|_{r=r_0}} d \left(\frac{ds}{dr} \right) = \sqrt{\frac{2}{D} \int_{s_0}^{s^*} r_s ds},$$

kde s_0 je koncentrácia substrátu v strede častice. V prípade, že limitujúcim dejom je difúzia substrátu, bude $s_0 = 0$

$$\left| \frac{ds}{dr} \right|_{r=r_0} = \frac{3\Phi}{r_0} K_s \sqrt{2[\varepsilon - \ln(1 + \varepsilon)]}$$

a

$$\eta = \frac{1 + \varepsilon}{\Phi_\varepsilon} \sqrt{2[\varepsilon - \ln(1 + \varepsilon)]}.$$

Tento postup neumožňuje určiť rozloženie koncentrácie substrátu, a preto možno gradient určiť iba za predpokladu nulovej koncentrácie v strede častice.

Kvôli presnému určeniu η by bolo potrebné postupovať takto: z definície pre η vyplýva, že výraz v čitateli nie je konštantný — vzťah (11). Správne by

preto bolo numerickým riešením rovnice (6) nájsť rozloženie koncentrácie (určiť závislosť $\bar{s} = f(\bar{Z})$) pre dané okrajové podmienky a dosadiť ho do vzťahu pre η , pretože toto podľa definície je rovné

$$\eta = \frac{R(s)}{R(s)^*} = \frac{\frac{\mu_{\max} s}{K_s + s}}{\frac{\mu_{\max} s^*}{K_s + s^*}} = \frac{\bar{s}(1 + \varepsilon)}{1 + \varepsilon \bar{s}} = \frac{1 + \varepsilon}{\frac{1}{\bar{s}} + \varepsilon}. \quad (13)$$

Na základe lokálneho faktora efektívnosti η sa získa priemerná hodnota zo vzťahu

$$\bar{\eta} = \frac{1}{r_0^3} \int_0^{r_0} [(r + dr)^3 - r^3] \eta.$$

Keďže $\eta = f(r, \Phi, \varepsilon)$, treba pre každý prípad riešiť rovnice osobitne, čo je značne prácne. Preto postup a výsledky autorov [1] a [3] možno pokladať za dobré priblíženie v rámci použitého spôsobu opisu dejov vo fermentore. V monografii [1] sú zhrnuté vzťahy pre výpočet faktoru efektívnosti η .

Diskusia

Práca je pokusom matematicky opísať kinetiku fermentačných procesov a dať inžiniersky prístup pre návrh fermentora. Atkinson vo svojej publikácii [1] dôsledne používa takto zavedené biologické kinetické koeficienty i pri bilancovaní biomasy, substrátu a produktu vo fermentore. Overenie teoretických predpokladov experimentom uvádza napr. v [3]. Aj keď existujú iné prístupy k riešeniu kinetiky v bioreaktoroch, podľa Mosera [8] Atkinsonov prístup predstavuje najkomplexnejšie vyjadrenie (pozri časť Formalkinetik von Bioprozessen, uvedenej monografie).

Deje vo fermentore sú však veľmi zložité. Pre ich kompletnejší opis by bolo potrebné vziať do úvahy i úlohu aktívneho transportu a ďalších prejavov biomasy. Otázne je tiež, nakoľko možno prestup látky medzibunkovým gélom medzi zhlukmi mikroorganizmov pokladať za molekulový, a ako ho ovplyvňuje prísun kyslíka v prípade aeróbnych fermentácií. Vo veľkých fermentoroch sú dôležité otázky dobrého premiešavania i účinného rozdelenia vzduchu.

Aj tak si však zasluhuje tento inžiniersky prístup k opisu kinetiky vo fermentore pozornosť. Azda sa v blízkej budúcnosti nájdú kompletnejšie matema-

tické vyjadrenia, ktoré vezmú do úvahy viaceré z uvedených skutočností. Dá sa predpokladať, že základným vzťahom zostane i naďalej rovnica kontinuity, ktorá bude mať príslušne upravený zdrojový člen (v rovniciach (1) a (2) reprezentovaný rýchlosťou spotreby substrátu r_s). Je však možné, že pre komplikovanosť pri riešení takéhoto diferenciálneho pohľadu na procesy prevládne integrálna analýza, prípadne i v spojení s teóriou podobnosti. Táto otázka nadobúda na význame a dôležitosti najmä pri veľkých fermentoroch, pretože úlohy modelovania sú značne zložité a overenie teórie Atkinson [1] uskutočnil iba v laboratórnych podmienkach.

Zoznam použitých symbolov

| | | |
|---------------|--|---|
| A_p | povrch častice | [L] |
| s | koncentrácia substrátu | [M. L ⁻³] |
| \bar{s} | bezrozmerná koncentrácia substrátu | |
| D | difuzivita | [L ² . T ⁻¹] |
| k_1 | biologický kinetický koeficient | [T ⁻¹] |
| k_2 | biologický kinetický koeficient | [L ⁻¹] |
| k_3 | biologický kinetický koeficient | [L ³ . M ⁻¹] |
| K_s | konštanta nasýtenia | [M. L ⁻³] |
| L | hrúbka filmu | [L] |
| N | tok substrátu | [M. L ⁻² . T ⁻¹] |
| r | polomer | [L] |
| \bar{r} | bezrozmerný polomer | |
| r_s | rýchlosť spotreby substrátu | [M. L ⁻³ . T ⁻¹] |
| R | špecifická rýchlosť spotreby substrátu | [T ⁻¹] |
| v | rýchlosť | [L. T ⁻¹] |
| V_p | objem častice | [L ³] |
| Y | výťažkový koeficient | |
| x | koncentrácia biomasy | [M. L ⁻³] |
| z | súradnica | [L] |
| \bar{z} | bezrozmerná súradnica | |
| ε | staturačný parameter | |
| Φ | Thieleho modul | |
| μ | špecifická rastová rýchlosť | [T ⁻¹] |
| η | faktor efektívnosti | |
| ϱ | hustota | [M. L ⁻³] |

Literatúra

1. ATKINSON, B.: Biochemical Reactors. London, PION 1974.
2. ATKINSON, B.: In: Coulson, J. M. — RICHARDSON, J. F.: Chemical Engineering. Vol. III, Ch. 5. Oxford, Pergamon Press 1972.
3. ATKINSON, B. — DAVIES, I. J.: Trans. Inst. Chem. Eng., 52, 1974, s. 248.
4. BIRD, R. B. — STEWART, W. E. — LIGHTFOOT, L. N.: Transport Phenomena. New York, J. Wiley 1965.
5. PIRT, S. J.: Osnovy kultivirovaniya mikroorganizmov i kletok. Moskva, Mir 1978.
6. BAILEY, J. E. — OLLIS, D. F.: Biochemical Engineering Fundamentals. New York, McGraw-Hill 1977.
7. AIBA, S. — HUMPHREY, A. E. — MILLIS, N. F.: Biochemical Engineering. 2nd ed. New York, Academic Press 1973.
8. MOSER, A.: Bioprozesstechnik — Berechnungsgrundlagen der Reaktionstechnik biokatalytischer Prozesse, Springer—Verlag, Wien New York, 1981

Кинетика роста микробной массы

Резюме

Автор статьи суммирует, дополняет и критически разбирает подход к разработке кинетики роста микробной массы в ферментаторе, исходящий из принципов, применяемых в неоднородном химическом катализе. Процессы, протекающие в ферментаторе, довольно сложные, и результаты упомянутой теории были верифицированы лишь в лабораторном масштабе.

Kinetics of the growth of microbial mass

Summary

The author of the article summarizes, completes and analyses the approach to the solution of kinetics concerned with the growth of microbial mass in the fermenter, which is based on the principles used in heterogeneous chemical catalysis. The processes taking place in a fermenter are quite complicated and the results of the above theory have been verified only in laboratory conditions.