

## Vplyv vnútornej a vonkajšej difúzie na konverziu substrátu v reaktore s imobilizovanými enzýmami

VLADIMÍR BÁLEŠ

Súhrn. V práci sa poukazuje na to, ako veľkosť koeficienta prestupu látky vonkajšou difúziou a efektívny difúzny koeficient v častici imobilizovaného enzýmu ovplyvňujú konverziu substrátu v náplňovom bioreaktore.

Medzi najprogressívnejšie biotechnologické procesy sa zaraďujú procesy na báze imobilizovaných biokatalyzátorov. Vo svete, ale aj u nás je realizovaných viacero heterogénnych bioreaktorov [1–3]. Ako sa však konštatovalo aj na Európskom biotechnologickom kongrese v Amsterdame (1987), chýbajú bioinžinierske podklady na vypracovanie seriózneho návrhu heterogénnych bioreaktorov.

Vonkajšie a vnútorné difúzie patria k procesom rozhodujúcim o rýchlosti konverzie substrátu na produkt v reaktore s imobilizovaným biokatalyzátorom (4, 5, 6). Analýzou vplyvu prestupu látky v heterogénnom membránovom reaktore s imobilizovanými enzýmami (IME) sa zaoberal Shyam a kol. [5]. V prehľadnom článku Buchholza [7] je uvedený postup na modelovanie vonkajšej a vnútornej difúzie v systéme s IME. Ďalšie publikácie sú venované štúdiu jednak vnútornej difúzie v časticiach s IME [8–12], jednak vonkajšej difúzie [13–15].

*Fyzikálny a matematický model reaktora s imobilizovanými enzýmami v nehybnej vrstve.* Matematický model vychádza z týchto predpokladov:

1. Spracúva sa iba jeden substrát z prúdu tekutiny pôsobením jedného typu enzýmu.
2. Prietok tekutiny v reaktore sa nemení.
3. Častice pórovitého nosiča majú guľovitý tvar, sú pseudohomogénne, efektívny difúzny koeficient je konštantný.
4. Nenastáva dezaktivácia enzýmu.

Doc Ing. Vladimír Bálež, CSc., Katedra procesov a zariadení, Chemickotechnologická fakulta SVŠT, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

5. Prierez reaktora a medzerovitost vrstvy sú konštantné, radiálna disperzia je zanedbateľná.

6. Teplota je v celom reaktore rovnaká a s časom sa nemení.

Prvý predpoklad býva často splnený, a to aj v priemyselných podmienkach. Konverzia substrátu na produkt nespôsobuje zmenu prietoku, a teda druhý predpoklad je reálny. Nosič enzýmu nemá vždy guľovitý tvar, ale mnohé nosiče sa tomuto predpokladu približujú, resp. dajú sa charakterizovať ekvivalentným priemerom. Štvrtý predpoklad nebýva splnený často, ale v krátkych časoch reakcie je reálny.

Materiálová bilancia substrátu v toku tekutiny vyjadrená v bezrozmernom tvare [16] je

$$\frac{\partial Y}{\partial Z} + \frac{\partial Y}{\partial \tau} + Q(Y - y^x) = \frac{1}{Bo} \frac{\partial^2 Y}{\partial Z^2}, \quad (1)$$

materiálová bilancia substrátu v častici vyjadrujúca rýchlosť reakcie rovnicou Michaelisa–Mentenovej

$$\frac{\partial y}{\partial \tau} = \alpha \left( \frac{\partial^2 Y}{\partial x^2} + \frac{2}{x} \frac{\partial y}{\partial x} - \frac{\beta y}{\gamma + y} \right). \quad (2)$$

Začiatkové a okrajové podmienky v bezrozmernom tvare sú:

$$\begin{aligned} \tau > 0, \quad Z = 0, \quad \frac{1}{Bo} \frac{\partial Y}{\partial Z} &= X - 1, \\ Z = 1, \quad \frac{\partial Y}{\partial Z} &= 0, \\ 0 \leq Z \leq x = 1, \quad \frac{\partial y}{\partial x} &= Bi_M (Y - y^x), \\ x = 1, \quad \frac{\partial y}{\partial x} &= 0, \\ \tau \leq 0, \quad 0 \leq Z = 1, \quad Y &= 0 \\ 0 \leq Z = 1, \quad 0 \leq x \leq 1, \quad y &= 0. \end{aligned} \quad (3)$$

*Numerické riešenie.* Rovnice (1), (2) so začiatkovými a okrajovými podmienkami (3) sa riešili numericky metódou ortogonálnej kolokácie [16].

Pomocou tejto metódy sa parciálne diferenciálne rovnice transformujú na systém obyčajných diferenciálnych rovníc prvého rádu, ktoré sa riešia semiimplicitnou metódou Rungeho-Kutta 3. poriadku. Hodnoty bezrozmerných parametrov použitých v matematickej simulácii priebehu koncentrácie substrátu na výstupe z reaktora sú v tab. 1. Hodnoty substanciálnych veličín sa vyberali tak, aby zodpovedali reálnym hodnotám.

T a b u l k a 1. Hodnoty bezrozmerných veličín  
T a b l e 1. The values of dimensionless variables

$Q$	$Bi_M$	$Bo$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$
3,76	2,90	15,82	0,75	7,94	1,91

*Vplyv vonkajšej difúzie na konverziu substrátu.* Aby sme zistili vplyv vonkajšej difúzie na konverziu substrátu, menili sme hodnotu koeficienta prestupu látky v tekutej fáze v intervale hodnôt  $2 \cdot 10^{-8} \text{ m} \cdot \text{s}^{-1} < k_m < 2 \cdot 10^{-3} \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ , ktoré sa vyskytujú v reálnych laboratórnych a priemyslových podmienkach. Koeficient  $k_m$  je zahrnutý v bezrozmernej veličine  $Q$  v Biotovom čísle  $Bi_M$

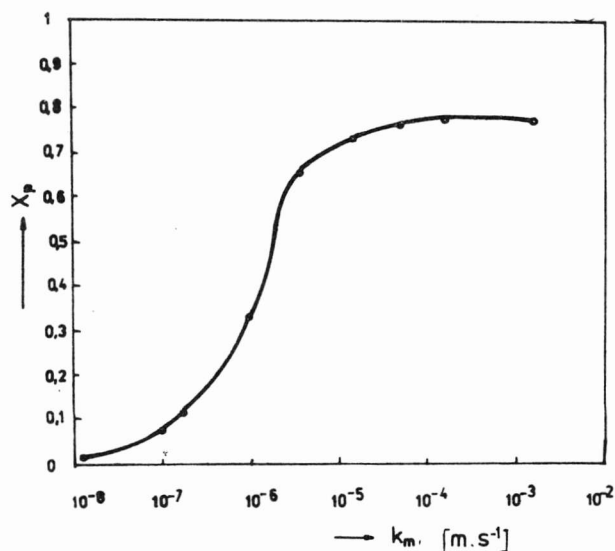
$$Q = \frac{a_m k_m L}{v \cdot \varepsilon}, \quad Bi_M = \frac{k_m R_p}{D_e}. \quad (4)$$

Vypočítali sme závislosť konverzie substrátu  $X_p$  od hodnoty koeficienta prestupu látky  $k_m$ , pri inak nezmenených hodnotách iných veličín. Táto závislosť je na obr. 1, z ktorého je zrejmé, že konverzia substrátu nezávisí od hodnoty  $k_m$  pre väčšie hodnoty ako  $2 \cdot 10^{-4} \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ . Tejto hodnote zodpovedá malá hrúbka difúzneho filmu okolo častice, ako to vidieť z tab. 2, v ktorej sú uvedené vypočítané rozdiely koncentrácie substrátu v hlavnom prúde kvapaliny  $c_s$  a na povrchu častice nosiča  $c_{sp}$  delené vstupnou koncentráciou substrátu do reaktora versus  $k_m$ . Koncentrácie sú vypočítané pre prvý kolokačný bod ( $L/5$ ) v ustálenom stave.

Keďže uvedený rozdiel je úmerný hrúbke difúzneho filmu, názorne vidieť, že hodnote koeficienta prestupu látky  $k_m \sim 2 \cdot 10^{-4}$  zodpovedá veľmi malá hrúbka difúzneho filmu a vonkajšiu difúziu za týchto podmienok možno zanedbať.

Obrázok 2 uvádza priebeh bezrozmernej koncentrácie  $c_s/c_{so}$  na výstupe z reaktora ako funkciu času pre rôzne hodnoty koeficienta  $k_m$  až po dosiahnutie ustáleného stavu. Pre reaktor dlhý 10 cm sa ustálený stav dosiahol približne po 450 s.

Zmeny koncentrácie substrátu po dĺžke reaktora znázorňuje obr. 3.



Obr. 1. Závislosť konverzie  $X_p$  od veľkosti koeficienta vonkajšej difúzie  $k_m$ .  
 Fig. 1. The dependence of the conversion  $X_p$  on the value of the external diffusion coefficient  $k_m$ .

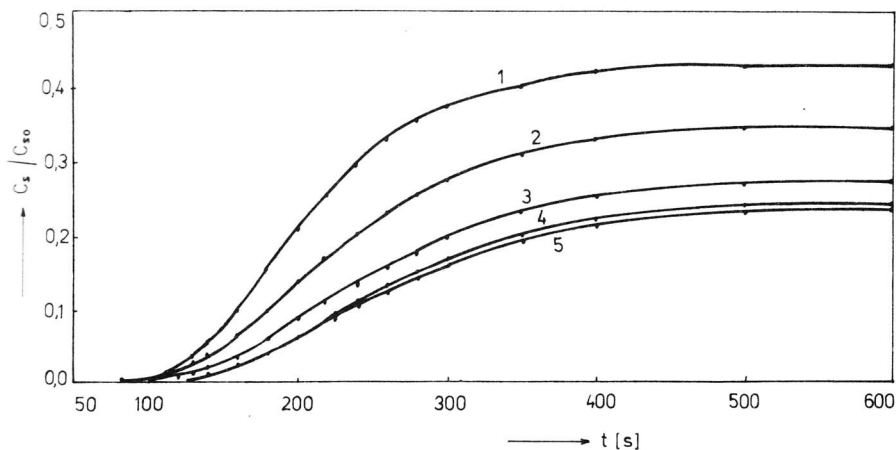
Tabuľka 2.  
 Table 2.

$\frac{c_s - c_{sp}^*}{c_{so}}$	0,992	0,958	0,920	0,624	0,255	0,087	0,009	0,001
$k_m$ [m . s <sup>-1</sup> ]	$2 \cdot 10^{-8}$	$2 \cdot 10^{-7}$	$2 \cdot 10^{-7}$	$2 \cdot 10^{-6}$	$5,9 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-3}$

*Vplyv vnútornej difúzie na konverziu substrátu.* Vplyv vnútornej difúzie na konverziu substrátu sme testovali zmenou hodnoty efektívneho difúzneho koeficienta  $D_e$ . Zmenou  $D_e$  sa menia bezrozmerné parametre  $Bi_M$  a  $\alpha$ . Predpokladali sme, že častica nosiča v matematickom modeli má guľovitý tvar, je pórovitá a difúziu substrátu v častici možno opísať Fickovým zákonom, v ktorom difúzny koeficient nahradíme efektívnym difúznym koeficientom  $D_e$ . Ten závisí od vlastností substrátu a textúry nosiča enzýmu

$$D_e = \frac{DP}{\Theta},$$

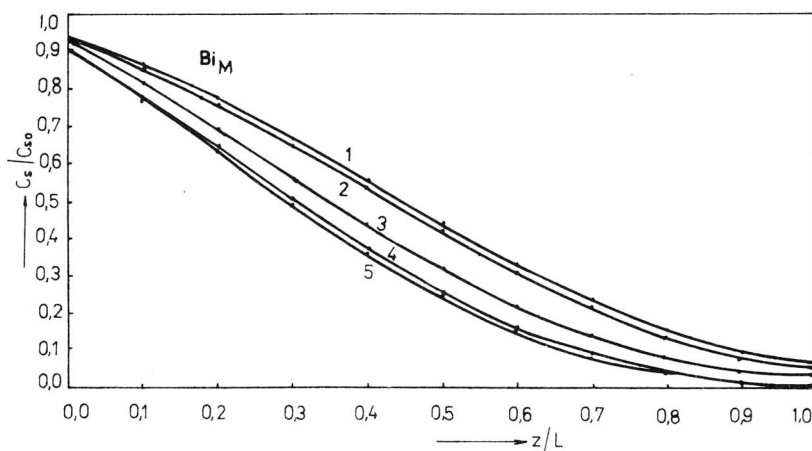
kde  $D$  je difúzny koeficient substrátu v reakčnej zmesi,  $P$  je pórovitosť nosiča a  $\Theta$  je toruozita (pomer skutočnej difúznej dráhy k priamočiarej difúznej dráhe).



Obr. 2. Závislosť bezrozmernej koncentrácie substrátu od výstupu z bioreaktora pre rôzne hodnoty  $k_m$ . 1- $k_m = 2 \cdot 10^{-6} \text{ m.s}^{-1}$ , 2- $k_m = 5,8 \cdot 10^{-6} \text{ m.s}^{-1}$ , 3- $k_m = 2 \cdot 10^{-5} \text{ m.s}^{-1}$ , 4- $k_m = 2 \cdot 10^{-4} \text{ m.s}^{-1}$ , 5- $k_m = 2 \cdot 10^{-3} \text{ m.s}^{-1}$ .

Fig. 2. The dependence of the dimensionless substrate concentration leaving the bioreactor for different  $k_m$  values.

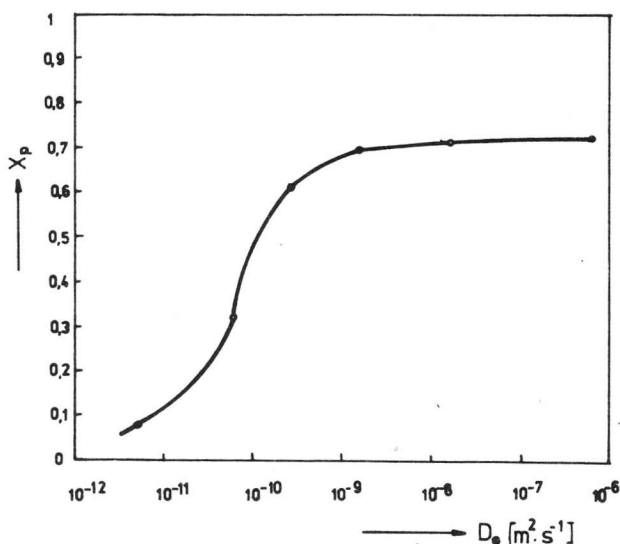
$$k_m \cdot 1 - k_m = 2 \cdot 10^{-6} \text{ m.s}^{-1}, 2 - k_m = 5,8 \cdot 10^{-6} \text{ m.s}^{-1}, \\ 3 - k_m = 2 \cdot 10^{-5} \text{ m.s}^{-1}, 4 - k_m = 2 \cdot 10^{-4} \text{ m.s}^{-1}, 5 - k_m = 2 \cdot 10^{-3} \text{ m.s}^{-1}.$$



Obr. 3. Zmena bezrozmernej koncentrácie substrátu po dĺžke bioreaktora pre rôzne hodnoty  $Bi_M$  v čase 140 s. 1- $Bi_M = 1,0$ ; 2- $Bi_M = 1,45$ ; 3- $Bi_M = 4,35$ ; 4- $Bi_M = 100$ ; 5- $Bi_M = 10^3$ .

Fig. 3. The change of the dimensionless substrate concentration along the bioreactor for different  $Bi_M$  values at the time 140 s. 1- $Bi_M = 1,0$ ; 2- $Bi_M = 1,45$ ; 3- $Bi_M = 4,35$ ; 4- $Bi_M = 100$ ; 5- $Bi_M = 10^3$ .

Hodnotu efektívneho difúzneho koeficienta sme menili v intervale  $8,7 \cdot 10^{-7} - 8,7 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ . Závislosť konverzie substrátu od efektívneho difúzneho koeficienta je na obr. 4. Približne od hodnoty  $D_e > 1 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  zostávala konverzia substrátu na konštantnej hodnote, možno teda predpokladať, že vplyv vnútornej difúzie nie je rozhodujúci.

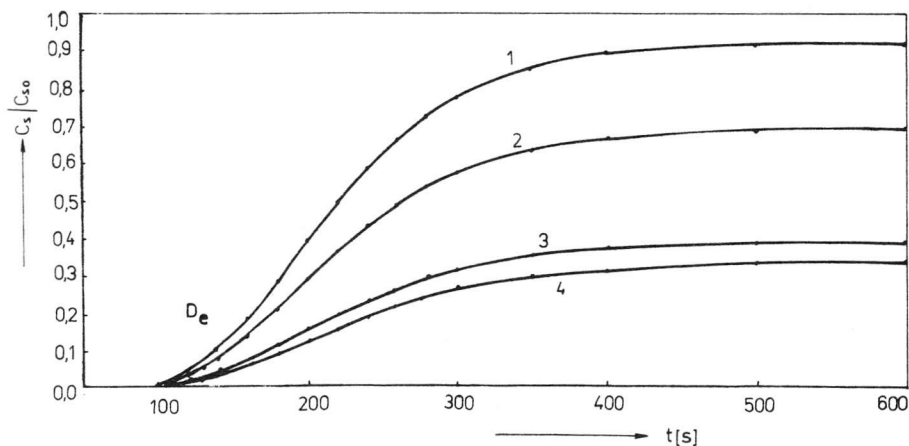


Obr. 4. Závislosť konverzie substrátu od veľkosti efektívneho difúzneho koeficienta  $D_e$ .  
Fig. 4. The dependence of the substrate conversion on the value of the effective diffusion coefficient  $D_e$ .

Priebeh bezrozmernej koncentrácie substrátu na výstupe z reaktora dlhého 10 cm v neustálenom stave pre niektoré hodnoty  $D_e$  znázorňuje obr. 5. Ustálený stav sa dosiahol po 400 s. Rádové zmeny  $D_e$  podstatne ovplyvňujú aj koncentračný profil po dĺžke reaktora, ako vidieť na obr. 6.

## Záver

Matematickou simuláciou sme testovali vplyv vonkajšej a vnútornej difúzie na konverziu substrátu v reaktore s nehybnou vrstvou imobilizovaných enzýmov. Zistili sme, že ak je koeficient prestupu látky v tekutej fáze  $k_m > 2 \cdot 10^{-4} \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ , neovplyvňuje konverziu substrátu, rovnako ak je efektívny difúzny koeficient  $D_e > 1 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ; samozrejme za predpokladu, že platia podmienky, za ktorých bol odvodený matematický model. Ukázalo sa, že systém je „citlivejší“ na zmenu efektívneho difúzneho koeficienta.



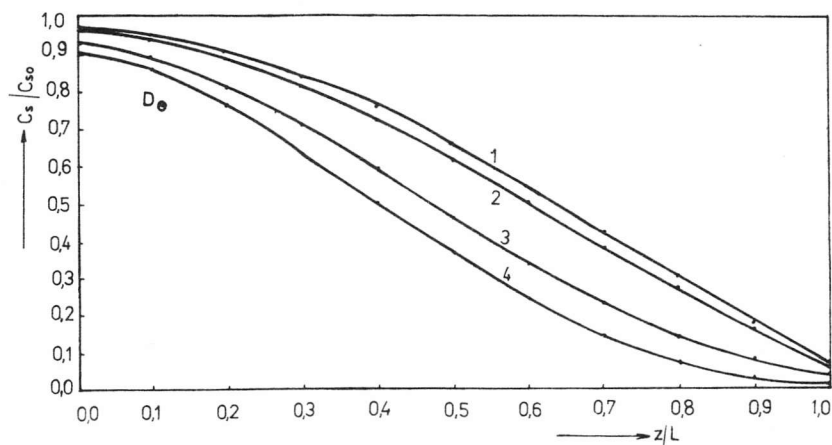
Obr. 5. Bezrozmerná koncentrácia substrátu na výstupe z bioreaktora pre rôzne hodnoty

$$D_e. 1-D_e = 8,7 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}, 2-D_e = 8,7 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1},$$

$$3-D_e = 1,5 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}, 4-D_e = 4,5 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}.$$

Fig. 5. Dimensionless concentration of the substrate leaving the bioreactor for different  $D_e$  values. 1- $D_e = 8,7 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ , 2- $D_e = 8,7 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ,

$$3-D_e = 1,5 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}, 4-D_e = 4,5 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}.$$



Obr. 6. Zmena koncentrácie substrátu po dĺžke bioreaktora so zmenou efektívneho difúzneho koeficienta  $D_e$  (1-4 ako na obr. 5).

Fig. 6. The change of substrate concentration along the bioreactor in dependence on the change of the effective diffusion coefficient  $D_e$  (for 1-4 see Fig. 5).

## Použité symboly

$a_m$	– špecifický povrch
$Bi_M$	– Biotovo číslo
$Bo$	– Bodensteinovo číslo $\left( Bo = \frac{\varepsilon \cdot vL}{D_L} \right)$
$c_s$	– koncentrácia substrátu v kvapalnej fáze
$c_{sp}$	– koncentrácia substrátu v častici
$c_{sp}^*$	– koncentrácia substrátu na povrchu častice
$c_{so}$	– koncentrácia substrátu na vstupe do reaktora
$X$	– bezrozmerná koncentrácia substrátu v kvapalnej fáze $c_s/c_{so}$
$y$	– bezrozmerná koncentrácia substrátu v častici
$y^*$	– bezrozmerná koncentrácia substrátu na povrchu častice
$Z$	– bezrozmerná axiálna súradnica
$X$	– bezrozmerná radiálna súradnica
$\alpha, \beta, \gamma$	– bezrozmerné parametre

## Literatúra

1. BÁLEŠ, V., Chem. Prům., 37, 1987, č. 6, s. 320.
2. BÁLEŠ, V. – GEMEINER, P. – KUNIAK, L. a ďalší: Enzýmové inžinierstvo. Bratislava, Alfa 1987.
3. VOJTÍŠEK, V.: Immobilized Cells. In: Research and Production in Czechoslovakia, 3rd Symposium of Socialist Countries on Biotechnology, Bratislava, apríl 1983, s. 109.
4. CHIBATA, I., Kemiya Kemi, Devel. Enzyme Eng., 12, 1979, s. 705.
5. SHYAM, R. – DAVIDSON, B. – WIETH, W. R., Chem. Eng. Sci., 30, 1975, s. 669.
6. SETZERMANN, U. – VODRAN, J. – MOHR, K. H., Acta Biotechnol., 4, 1984, s. 17.
7. BUCHHOLZ, K.: Reaction Engineering. Ed. A. Fiechter, Berlín AK Verlag 1983.
8. LEE, G. K. – REILLY, P. J., Chem. Eng. Sci., 36, 1981, č. 12, s. 1967.
9. CHANG, H. N., AIChE, J., 28, 1982, s. 1030.
10. LEE, G. K. – LESCH, R. A. – REILLY, P. J., Biotechnol. Bioeng., 23, 1981, s. 487.
11. TANAKA, H. – MATSUMURA, M. – VELIKÝ, I. A., Biotechnol. Bioeng., 26, 1984, s. 53.
12. YAMANÉ, Ts., J. Ferment. Technol., 59, 1981, s. 375.
13. KARANTH, N. G. – PATWARDAN, V. S., Biotechnol. Bioeng., 24, 1982, s. 2275.
14. MARANI, A. – BENDORICHIO, G. – BARTOLI, F. – MORISI, F., Ing. Chim. Ital., 14, 1978, s. 96.
15. TODA, K., Biotechnol. Bioeng., 17, 1975, s. 1729.
16. BÁLEŠ, V. – RAJNIAK, P., Chem. Zvesti, 40, 1986, č. 3, s. 329.

Do redakcie došlo 13. 7. 1989



## **Влияние внутренней и внешней диффузии на конверсию субстрата в реакторе с иммобилизованными ферментами**

### **Резюме**

Работа показывает влияние величины коэффициента перехода вещества внешней диффузией и эффективного коэффициента диффузии в частицы иммобилизованного фермента на конверсию субстрата в насадковом биореакторе.

## **The influence of internal and external diffusions on the conversion of substrate in a reactor with immobilized enzymes**

### **Summary**

The paper shows the influence of the coefficient of mass transport by external diffusion and the effective diffusion coefficient within the immobilized enzyme particle on the substrate conversion in a packed bioreactor.