✓ پژوهش و سازندگی، شماره ۵۳، زمستان ۱۳۸۰

شبیه‌سازی و افزایش مقیاس تولید پروتئین تک‌یاخته در بیوراکتور پیوسته

● **سیده زینب میرنظامی**، عضو هیأت علمی دانشگاه گیلان

تاریخ دریافت: دیماه ۱۳۷۹ تاریخ پذیرش: بهمن ماه ۱۳۸۰

چکیده

کمبود مواد غذایی خصوصاً پروتئین در دنیا سبب شده است که از سال ۱۹۶۰ استفاده از پروتئین تک‌یاخته مورد توجه قرار گیرد. در این تحقیق ابتدا شبیه‌سازی سیستم مداوم بیوراکتور همزن‌دار با استفاده از نتایج تجربی انجام شد و سپس بیوراکتور همزن‌دار به حجم ۴۰ مترمکعب، برای تولید ۴۰ کیلوگرم پروتئین تک‌یاخته در روز طراحی گردید. برای شبیه‌سازی بیوراکتور در دما و فشار ثابت، مدل ریاضی موازنه جرم بیومس، متانول، اکسیژن و دی‌اکسید کربن نوشته می‌شود. بعضی از پارامترهای این معادلات براساس شرایط آزمایش‌های انجام شده و نتایج به‌دست آمده تعیین و محاسبه شده‌اند. بعد از حل معادلات با روش Fourth order runge kutta و به‌دست آوردن نتایج، اثر پارامترهای مختلف سینتیک و انتقال بر مقادیر غلظت اکسیژن محلول، بیومس و متانول بررسی شد. با مقایسه مقادیر به‌دست آمده از مدل و مقادیر تجربی، پارامترهای بهینه تعیین گردید. برای طراحی بیوراکتور در مقیاس تولیدی، با استفاده از پارامترهای بهینه و روابط تئوری، اندازه تجهیزات مختلف بیوراکتور محاسبه شد و سپس با در نظر گرفتن معیارهای مختلف برای افزایش مقیاس بیوراکتور، پارامترهای مختلف به‌دست آمد که در جداول ارائه شده است.

کلمات کلیدی: شبیه‌سازی، افزایش مقیاس، پروتئین تک یاخته، بیوراکتور پیوسته

✓ **Pajouhesh & Sazandegi, No 53 PP:72-78**

Modelling and scalling up for single - cell protein production in continuous bioreactor

By: Sayede Zeinab Mirnezami, Scientific member of Gilan university. Iran.

Interest in searching for new sources of food has increased exponentially during the last 40 years. In this study, modelling of continuous strred tank bioreactor is carried out from experimental results and then a bioreactor in pilot scale is designed for production of 40 kg S.C.P. per day. For modelling of bioreactor in constant temperature and pressure, balance equation of cell mass, methanol, oxygen and carbon dioxide are developed. Atfer disoliving of equations by fourth order runge , the influence of both kinetic and transport parameters on dissolved oxygen, biomass. and methanol concentration were studied. From comparing of experimental and theoric results optimum parameters were obtained. For designing bioreactor in pilot scale from optimum parameters, size. of bioreactor and other epuipents were obtained. Then other parameters from different bases for scaling up were obtained.

Keywords: Modelling, Scalling up. Continuous bioreactor, Single cell protein.

مقدمه

نظر به عدم کفایت فرآورده‌های غذایی در دنیا و امکان تهیه پروتئین سلولهای میکروبی با استفاده از رشد توده سلولی در بیوراکتور، تولید پروتئین تک‌یاخته مورد بررسی قرار گرفته است. محصول‌دهی بیومس میکروارگانیسم‌ها نسبت به گیاهان بیشتر است. برای افزایش محصول‌دهی و بازدهی پروتئین میکروارگانیسم‌ها در سال‌های اخیر باکتری‌های مصرف کننده متانول شناسایی شده‌اند. در حال حاضر متانول مهمترین سوبسترا برای تولید پروتئین تک‌یاخته محسوب می‌شود و مزایای آن به عنوان منبع کربن و انرژی شناخته شده است (۶، ۱۱).

براساس مطالعات انجام شده درباره مکانیزم رشد سلولی در بیوراکتور نتیجه گرفته شده است که رابطه مونود یک رابطه قابل قبول برای توضیح سینتیک رشد بسیاری از میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. اما محققین با بررسی مکانیزم رشد میکروارگانیسم‌ها در شرایط بازدارندگی سوبسترا، معادلات سینتیکی بسیاری را پیشنهاد کرده‌اند (۳، ۴، ۱۴، ۱۶).

در فرآیند رشد میکروارگانیسم‌های هوازی، غلظت اکسیژن محلول نیز می‌تواند سرعت رشد بیومس میکروبی را محدود نماید. اما اگر غلظت اکسیژن محلول از میزان غلظت بحرانی اکسیژن (C_{cr}) بیشتر باشد، سرعت رشد سلولی با فاکتورهای دیگر مانند غلظت سوبسترای دیگر کنترل و محدود می‌شود. برای تولید مطلوب بیومس شرایط بهینه هوادهی را باید فراهم کرد.

در بیوراکتورهای تولید بیومس علاوه بر مکانیزم رشد سلولی، نوع همزن، دور همزن، محیط کشت و رفتار رئولوژیک[1] دوفازی سیستم نیز بر روابط انتقال جرم و محاسبه مقدار ضریب کلی انتقال جرم اکسیژن از فاز گاز به مایع نقش زیادی دارد. با استفاده از روش‌های نیمه تئوری سیالات دوفازی و باتوجه به شکل و ابعاد همزن در راکتور، ضریب انتقال جرم اکسیژن، توان و سرعت همزن و سایر پارامترها محاسبه می‌گردد. در صنایع تخمیری از این پارامترهاو همچنین پارامتر $\frac{P}{V}$ در افزایش مقیاس بیوراکتورها استفاده می‌شود (۱۰).

مواد و روش‌ها

میکروارگانیسم مورد نظر از بین مجموعه میکروارگانیسم‌هایی که از خاک مناطق نفت‌خیز جنوب

جدول شماره ۱- محیط کشت برای رشد میکروارگانیسم و تولید SCP

ترکیب	غلظت (g/L)
Na_2HPO_4	۲/۲
KH_2PO_4	۱/۴
$MgSO_4.7H_2O$	۰/۶
$(NH_4)_2SO_4$	۳/۰
NaCl	۰/۰۵
$CaCl_2.2H_2O$	۰/۰۲
$FeSO_4.7H_2O$	۰/۰۱
$COCl_2.6H_2O$	۴/۰
$MnSO_4.4H_2O$	۱۲/۱
$NaMOO_4.2H_2O$	۱/۵۳
$ZnSO_4.7H_2O$	۳/۲
H_3BO_3	۰/۰۵

جدول شماره ۲- پارامترهای کشت مداوم در مرحله اول

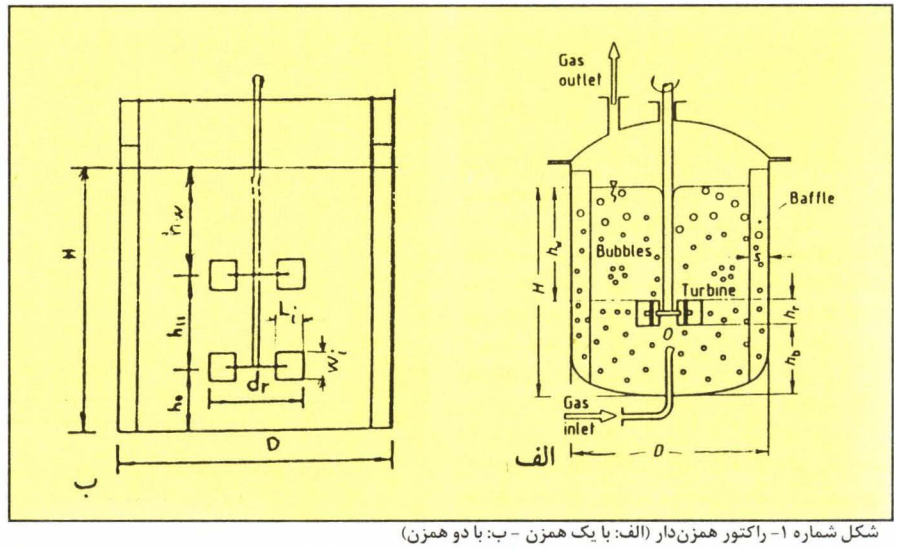
پارامتر	مقدار پارامتر	پارامتر	مقدار پارامتر
$(h^{-1})\mu_{max}$	۰/۱۷۶	ε_f	۰/۹
$(gL^{-1})K_s$	۱/۰۳۴	$(m^3)V_R$	$۱/۰\times۱۰^{-۳}$
$(gL^{-1})K_o$	$۲/۸۳\times۱۰^{-۲}$	$(mole/L)N_{oi}$	$۸/۳\times۱۰^{-۳}$
$(h^{-1})\mu_D$	۰/۰	$(mole/L)N_{ci}$	۰/۰
$(gx/gs)y_{x/s}$	۰/۴۵۸	$(g/mole)M_o$	۳۲
$(gs/gx-hr)m$	۰/۰۲۵	$(g/mole)M_c$	۴۴
$(gx/go)y_{x/o}$	۰/۵۰۰۴	$(Nm/mole)R$	۸۳۱۴
$(gL^{-1})O_L^*$	$۷/۲۳\times۱۰^{-۳}$	$(N/m^2)P$	۱۰۱۳۲۵
$(gx/gc)y_{x/c}$	۰/۸۳۸۶	$(K)T$	۳۰۸
$(gL^{-1})C_L^*$	$۱/۳۹\times۱۰^{-۳}$	$(h^{-1})D_R$	۰/۰
$(h^{-1})(K_La)_o$	۱۲۰/۵	$(h^{-1})D_A$	۰/۰
$(h^{-1})(K_La)_c$	۱۲۰/۵	$(gL^{-1})X_R$	۰/۰
$(m^3/hr)V_{gi}$	$۱/۶۷\times۱۰^{-۵}$	$(gL^{-1})S_R$	۰/۰
$(m^3/hr)V_{go}$	$۱/۶۷\times۱۰^{-۵}$	$(gL^{-1})O_R$	۰/۰
ε_g	۰/۱	$(gL^{-1})C_R$	۰/۰

جدول شماره ۳- مقادیر پارامترهای تغییر یافته سیستم مداوم در مرحله دوم (۳/۱۵gr/l)×

پارامتر	مقدار پارامتر
$(h^{-1})D_R$	۰/۱
$(h^{-1})D_A$	۰/۱
$(gL^{-1})X_R$	۰/۰
$(gL^{-1})S_R$	۱۰/۰
$(gL^{-1})O_R$	$۷/۳۲\times۱۰^{-۳}$
$(gL^{-1})C_R$	$۱/۳۹\times۱۰^{-۳}$

جدول شماره ۴- مقادیر پارامترهای شبیه‌سازی مستقیم مداوم

پارامتر	مقدار
$(h^{-1})\mu_{max}$	۰/۲۳۰
$(gx/gs)y_{x/s}$	۰/۵۰۳۸
$(gL^{-1})K_s$	۰/۸۲۷۲
$(h^{-1})\mu_d$	۰/۰۰۵
$(h^{-1})K_La$	۲۴۰
$(gs/gx-hr)m$	۰/۰۱



شکل شماره ۱- راکتور همزن‌دار (الف: با یک همزن - ب: با دو همزن)

کشور جدا شده‌اند، پس از بررسی میزان رشد انتخاب شد. برای کشت باکتری به صورت سیستم مداوم، ابتدا یک لوپ از باکتری به ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت جدول-۱ تلقیح شد. باکتری‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد بر روی مخلوط کننده به مدت ۲۰ ساعت رشد کرده و سپس از آن در شرایط استریل به بیوراکتور منتقل شد. بیوراکتور که حاوی ۹۵۰ ml محیط کشت و متانول با غلظت ۱۰ g/L بود بعد از تلقیح در شرایط ۳۵ درجه سانتیگراد و pH=۷ و دور همزن ۳۰۰ rpm و با هوادهی ۱ VVm شروع به کار نموده و هر ۴ ساعت یک بار نمونه‌برداری شد. در هر بار نمونه‌برداری جذب نوری در طول موج ۶۲۰ nm اندازه‌گیری شد. بعد از افزایش دانسیته نوری نمونه تا مقدار ۱/۲ سیستم مداوم با شدت رقیق‌سازی $۰/۱h^{-۱}$ راه‌اندازی شد. در این شرایط با حجم یک لیتری بیوراکتور میزان ورودی سوبسترا برابر با ۰/۱ لیتر در ساعت بود که با شیر تنظیم کننده کنترل می‌شد. در این حالت از بیوراکتور هر ۴ ساعت یک بار نمونه‌برداری و جذب نوری اندازه‌گیری شد.

بیوراکتور مورد استفاده در سیستم مداوم بیوراکتور ۲ لیتری شیشه‌ای New brunswick مدل Multigent M می‌باشد که مشخصات آن در جدول ۵ آورده شده است.

مدل فرآیند

معادله استوکیومتری رشد توده سلول میکروارگانیسم در مدت رشد تعادلی به صورت زیر است(۱).

$$1.66CH_3OH + 0.29NH_3 + 1.25O_2 \rightarrow CH_{1.88}O_{0.57}N_{0.29} + 0.66CO2 + 2.82H2O \quad (۱)$$

برای مدل‌سازی سیستم مداوم، فازگاز و مایع در دو قسمت جدا مانند شکل -۳ در نظر گرفته می‌شود. حجم گاز با محاسبه مقدار ماندگی (Hold up) هوا در راکتور به‌دست می‌آید. برای مدل‌سازی بیوراکتور همزن‌دار به صورت مداوم، در دما و فشار ثابت معادلات موازنه جرم اجزاء در دو فاز مایع و گاز نوشته می‌شود. بعضی از پارامترهای این معادلات براساس شرایط آزمایش‌های انجام شده و نتایج به‌دست آمده تعیین و محاسبه شده‌اند. این معادلات، معادلات دیفرانسیل درجه اول بوده که با روش Fourth order runge kutta حل می‌شوند. از حل دستگاه معادلات موازنه جرم اجزاء و با توجه به ضریب انتقال جرم و سطح تماس بین دو فاز مایع و گاز، روند تغییرات اجزای سیستم بر حسب زمان به‌دست می‌آید.

مدل ریاضی فرآیند در فاز مایع توسط معادلات زیر عنوان می‌گردد (۱۲):

$$\frac{dX}{dt} = D_RX_R - D_AX + (\mu G-\mu_D).X \quad (۲)$$

$$\frac{dS}{dt} = D_RS_R - D_AS - \left(\frac{\mu G}{Y_{x/s}}+m\right).X \quad (۳)$$

$$\frac{dO_L}{dt} = D_RO_R-D_AO_L + (K_La)_o(O_L^*-O_L) \frac{\mu_G.X}{Y_{x/o}} \quad (۴)$$

جدول شماره ۵- مشخصات و اندازهٔ تجهیزات بیوراکتور آزمایشگاهی

N	S_0 (m)	W_i (m)	d_r (m)	H_L (m)	D (m)	V_L (L)
۱	۰/۰۱۳	۰/۰۹	۰/۰۵	۰/۱۱	۰/۱۱	۱

جدول شماره ۶- شرایط عملیات در بیوراکتور آزمایشگاهی

$\frac{n}{d_r}$ (rpm/m)	Re	nd_r (rpm−m)	$\frac{P}{V}$ (N/m^2-sec)	P (N−m/sec)	n(rpm)	d_r(m)	D(m)	V_L(L)
۶×۱۰^{۳}	$۱/۷\times۱۰^{۴}$	۱۵	۲۴۱	۰/۲۱۷	۲۰۰	۰/۰۵	۰/۱۱	۱

جدول شماره ۷- نتایج به دست آمده از محاسبات تعیین اندازه تجهیزات بیوراکتور برای تولید ۴۰کیلوگرم بیومس در روز

N	L_i (m)	W_i (m)	S_o (m)	H (m)	h_b (m)	h_w (m)	h_i (m)	d_r (m)	D (m)	V_L (m^3)
۲	۰/۱۲۷	۰/۱۰	۰/۱۲	۲/۱	۰/۸۲	۰/۶۴	۰/۶۴	۰/۵۱	۱/۵۹	۴/۲

جدول شماره ۸- نسبت متغیره‌های عملیات بیوراکتور تولیدی به بیوراکتور آزمایشگاهی در افزایش مقیاس بیوراکتور

مبنای افزایش مقیاس	$\frac{(P)_p}{(P)_m}$	$\frac{(\frac{P}{V})_p}{(\frac{P}{V})_m}$	$\frac{n_d}{n_m}$	$\frac{(nd_r)_p}{(nd_r)_m}$	$\frac{(Re)_p}{(Re)_m}$	$\frac{(\frac{n}{d_r})_p}{(\frac{n}{d_r})_m}$
$\frac{P}{V}$ مساوی	$۴/۶\times۱۰^{-۳}$	۱	۰/۳۵	۳/۵۵	۳۶/۲	۰/۰۳۴
n مساوی	$۱/۱\times۱۰^{۵}$	۲۳/۶	۱	۱۰/۲	۱۰۴	۰/۰۹۸
سرعت نوک پره مساوی	۱۰۴	۰/۰۲۲	۰/۰۹۸	۱	۱۰/۲	$۹/۶\times۱۰^{-۳}$
عدد رینولدز مساوی	۰/۱	$۲/۱\times۱۰^{-۵}$	۰/۰۱	۰/۱	۱	$۹/۶\times۱۰^{-۴}$
نسبت تنش بر جریان مساوی	$۱/۱۷\times۱۰^{۸}$	$۲/۵\times۱۰^{۴}$	۱۰/۲	۱۰۴	۱۰۶۱/۲	۱

جدول شماره ۹- اثر انتخاب مبنای معین بر شدت جریان هوا در افزایش مقیاس بیوراکتور

مبنای انتخابی	$\frac{(u_{gs})_p}{(u_{gs})_m}$	$\frac{(V_g)_p}{(V_g)_m}$
$\frac{V_g}{nd_r}$ ثابت	۲/۴۴	۵۰۹
u_{gs}	۱۰	۲۰۹
VV_m ثابت	۱۴/۵	۳۰۲۰

$$\frac{dC_L}{dt}=D_RC_R-D_AC_L-(K_La)_C(C_L-C_L^*)+\frac{\mu_G.X}{Y_{X/C}} \quad (۵)$$

معادلات اجزاء در فازگاز به‌صورت زیر است:

$$\frac{dN_O}{dt}=\frac{1}{\varepsilon_g.V_R}(V_{gi}N_{oi}-V_{go}N_O)-(K_La)_O(O_L^*-O_L)\times\frac{1-\varepsilon_g}{\varepsilon_g.M_O} \quad (۶)$$

$$\frac{dN_C}{dt}=\frac{1}{\varepsilon_g.V_R}(V_{gi}N_{oi}-V_{go}N_C)+(K_La)_C(C_L-C_L^*)\times\frac{1-\varepsilon_g}{\varepsilon_g.M_C} \quad (۷)$$

در معادلات فوق D_R و D_A شدت رقیق سازی ورودی و خروجی است که به‌صورت $D_R=\frac{F_R}{V}$ و $D_A=\frac{F_A}{V}$ تعریف می‌شوند. F_R، F_A شدت جریان محیط کشت ورودی و خروجی و V حجم بیوراکتور می‌باشد. در اکثر فرآیندهای تخمیری شدت جریان‌های ورودی و خروجی برابر است و در نتیجه $D_R = D_A = D$ است. (در فرآیند تولید S.C.P. فرض می‌شود که شدت جریان ورودی و خروجی برابر است. بنابراین در معادلات $D_R = D_A = D$ است).

برای مدل سازی بیوراکتور مخلوط شده با همزن در سیستم غیرمداوم، جملات مربوط به ورودی و خروجی معادلات موازنه جرم در فاز مایع حذف می‌شود. اما معادلات در فاز گاز مانند سیستم مداوم می‌باشد.

در شرایطی که کشت غیر مداوم در بالن و روی دستگاه مخلوط کننده (Shaker) انجام شود، اکسیژن مورد نیاز از هوا وارد محیط کشت شده در نتیجه معادلات موازنه جزم اجزاء در فاز گاز حذف خواهد شد.

برای تعیین سرعت رشد ویژه رشد ویژه از معادله مونود ساده استفاده می‌شود (۵):

$$\mu G=\frac{\mu_{max}.S}{Ks+S}$$

پارامترهای μmax و Ks از مرتب کردن معادله فوق به صورت $\frac{1}{\mu G}=\frac{1}{S}.\frac{Ks}{\mu_{max}}+\frac{1}{\mu_{max}}$ و رسم $\frac{1}{\mu G}$ نسبت به $\frac{1}{S}$ به‌دست می‌آیند.

در فرآیندهای هوازی در شرایطی که تغییرات غلظت بیومس نسبت به تغییرات اکسیژن محلول قابل ملاحظه باشد، سرعت رشد ویژه علاوه بر غلظت سوبسترا تابع غلظت اکسیژن خواهد بود. در این هنگام از معادله سینتیکی چند سوبسترای محدود کننده در معادلات استفاده می‌شود (۲).

$$\mu G=\mu max\ \frac{S}{Ks+S}.\frac{O_L}{Ko+O_L}$$

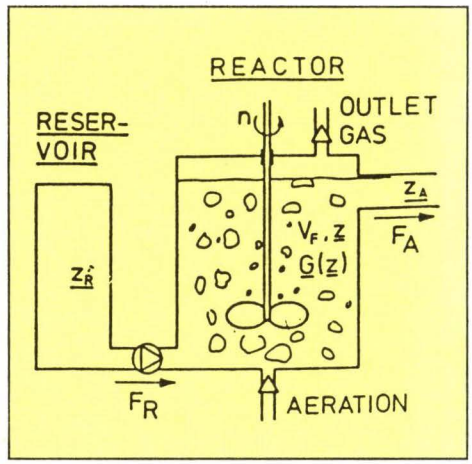
Ko ثابت اشباع اکسیژن است که مقدار آن برابر است با غلظت اکسیژن محلول در حالتی که سرعت رشد ویژه برابر با نصف سرعت μmax می‌باشد.

برای بررسی اثر بازدارندگی متانول از معادله مونود توسعه یافته به صورت زیر استفاده شده است (۸):

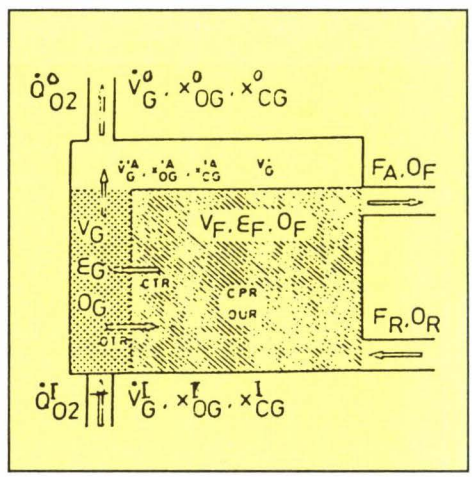
$$\mu G=\frac{\mu_{max}\ (1-S/S^*)^n.S}{S+K_S(1-S/S^*)^m}$$

که S غلظت سوبسترای بازدارنده، S^* غلظت بحرانی سوبسترای بازدارنده که بالاتر از آن واکنش متوقف می‌شود، n و m اعداد ثابت هستند. مقادیر S^*، n، m، μmax و Ks از نتایج تجربی به‌دست می‌آیند.

پارامترهای مربوط به بازدهی اجزاء نسبت به یکدیگر از معادله استوکیومتری واکنش تولید S.C.P. به‌دست می‌آید.



شکل شماره ۲- مدل ریاضی سیستم مداوم راکتور همزن‌دار



شکل شماره ۳- حجم راکتور تقسیم شده به فاز گاز و فاز مایع

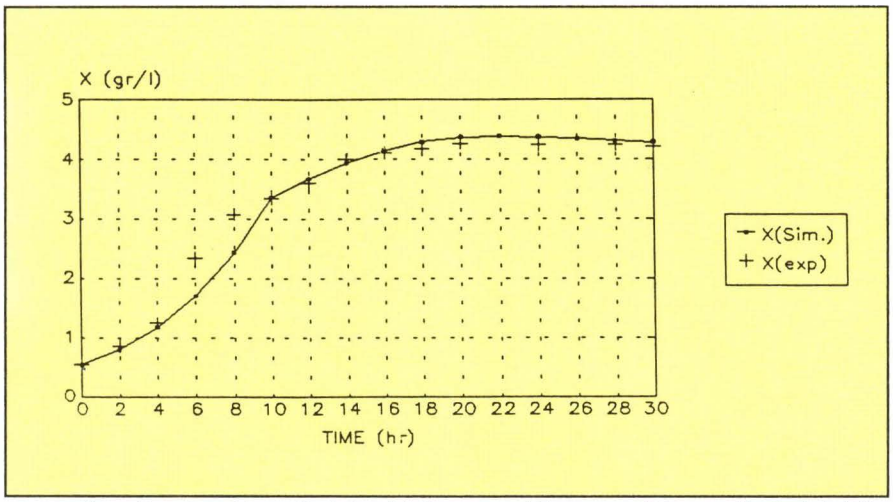
پارامتر ضریب نگهداری از نتایج تجربی کشت مداوم و با استفاده از معادله زیر به‌دشت می‌آید (۱، ۹).

$$\frac{1}{Y_{x/s(m)}}=\frac{1}{Y_{x/s(G)}}+\frac{m}{\mu_G}$$

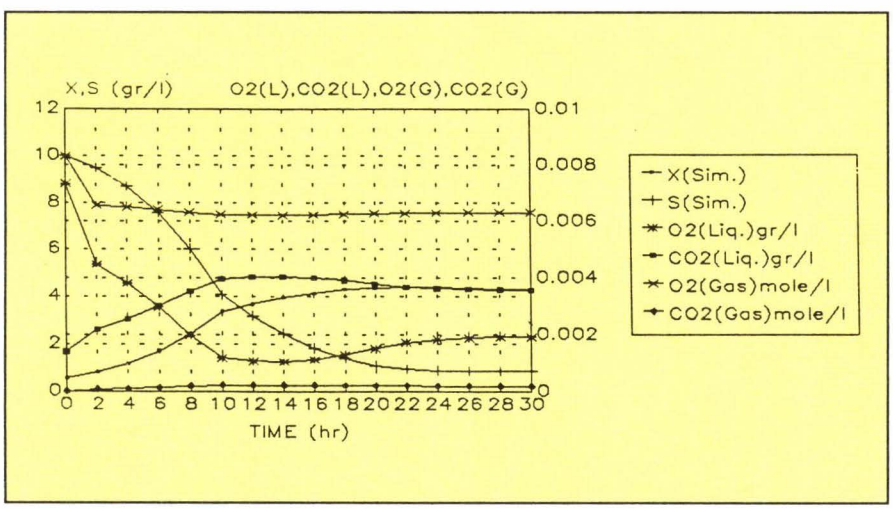
از رسم نمودار $\frac{1}{Y_{x/s(m)}}$ نسبت به D (در شرایط پایدار سیستم مداوم $\mu_G=D$ است) ضریب نگهداری (m) و $Y_{x/s}$ (G) به‌دست می‌آیند. در این رابطه $Y_{x/s(m)}=\frac{\Delta X}{\Delta S_G+\Delta S_m}$ است که ΔS_G سوبسترای واقعی مصرف شده و ΔS_m سوبسترای مصرف شده برای نگهداری است. بازدهی رشد $Y_{x/s(m)}$ مقدار ماکزیمم بازدهی است وقتی که μ_G به سمت بی‌نهایت میل می‌کند و m=0 می‌باشد.

افزایش مقیاس بیوراکتور

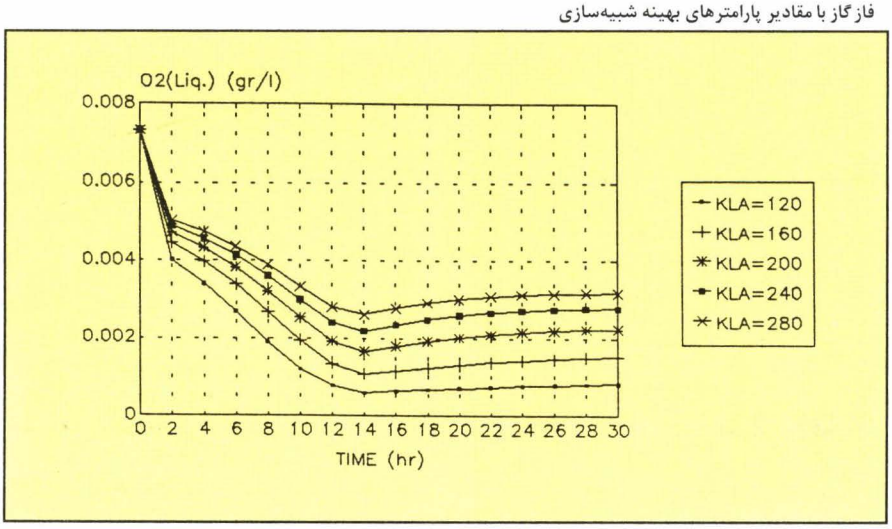
یکی از روش‌های افزایش مقیاس بیوراکتورها روش آنالیز ابعادی است که در آن گروه‌های بدون بعد پارامترها ثابت نگه داشته می‌شوند. ثابت نگه داشتن گروههای بدون بعد به این معنی است که مکانیزم‌های مهم در فرآیند افزایش مقیاس تغییر نمی‌کند. این روش گرچه برای سیستم‌های ساده و یکنواخت روش مفیدی است، اما در شرایطی که مسائل انتقال حرارت و جرم جدی بوده و همچنین برای سیستم چند فازی مشکلاتی



شکل شماره ۴- مقایسه بین غلظت بیومس و غلظت، بیومس حاصل از مدل با مقادیر پارامترهای پارامترهای بهینه شبیه‌سازی



شکل شماره ۵- غلظت‌های بیومس، متانول، اکسیژن و دی‌اکسید کربن در فاز مایع و غلظت‌های اکسیژن، دی اکسید کربن در فاز گاز با مقادیر پارامترهای بهینه شبیه‌سازی



شکل شماره ۶- اثر K_La_o برغلظت اکسیژن محلول در بیوراکتور

وجود دارد (۷، ۱۰، ۱۳).

شباهت هندسی ذرات پراکنده در سیستم چند فازی مهم است. معمولاً اندازه قطرات و کریستال‌ها و حباب‌های هوا نباید به تناسب مقیاس رشد کند، بلکه باید در تغییر مقیاس ثابت بماند. اندازه ذرات فاز پراکنده به خصوصیات جریان و خصوصیات سطحی بستگی دارد. اگر خصوصیات سطحی در افزایش مقیاس تغییر نکند، خصوصیات جریان اندازه ذرات را تعیین می‌کند. میزان جریان گردابی به انرژی ورودی بر واحد حجم ($\frac{P}{V}$) بستگی دارد. بنابراین اگر مقدار ($\frac{P}{V}$) در افزایش مقیاس بیوراکتور ثابت باشد، حالت جریان تغییر نخواهد کرد. به این دلیل مقدار ($\frac{P}{V}$) را با وجود این که یک گروه بدون بعد نیست، به عنوان پارامتر در آنالیز ابعادی به کار می‌برند. اما اگر عدد رینولدز (Re) ثابت نگه‌داشته شود اندازه گرداب متناسب با مقیاس تغییر می‌کند.

افزایش تنش می‌تواند اثر منفی (تخریب میکروارگانیسم‌ها) و همچنین اثر مثبت (کاهش اندازه توده میکروارگانیسم‌ها) داشته باشد. در جریان آرام تنش با μn و در جریان درهم تنش با $(nd_r)^2$ متناسب است. بنابراین ثابت بودن مقدار nd_r می‌تواند به عنوان مبنای افزایش مقیاس انتخاب شود. علاوه بر این نسبت تنش همزن بر جریان همزن ($\frac{n}{dr} = nd_r^2/nd_r^3$) نیز می‌تواند در شرایط رشد مایسلیا به‌عنوان مبنا در نظر گرفته شود. در صورت انتخاب یک مبنای مناسب، متغیرهای دیگر فرآیند از روابط تئوری محاسبه می‌شوند. امروزه در صنایع تخمیری از معیارهای ($\frac{P}{V}$) ثابت، (K_La) ثابت، (nd_r) ثابت برای افزایش مقیاس بیوراکتور استفاده می‌شود (۷، ۱۰).

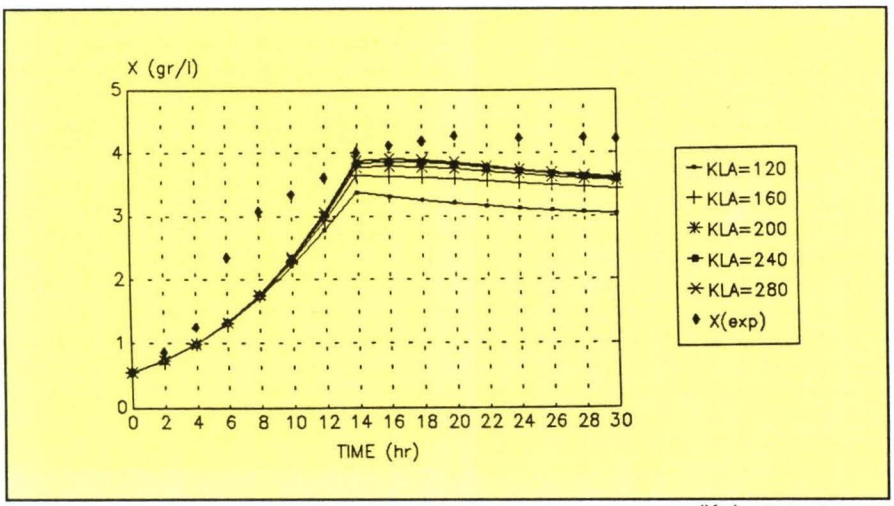
درباره میزان شدت هوادهی، یکی از معیارها ثابت بودن مقدار نسبت حجم هوا بر حجم هوا بر حجم بیوراکتور بر دقیقه (VVm) است. علاوه بر این ثابت بودن مقدار نسبت شدت جریان هوا بر ظرفیت پمپ $\frac{V_g}{ndr^3}$ و ثابت بودن سرعت ظاهری گاز u_{gs} به عنوان معیار در نظر گرفته می‌شوند.

در این تحقیق بعد از حل معادلات و به‌دست آوردن پارامترهای بهینه سیستم مداوم، بیوراکتور همزن‌دار در مقیاس تولیدی برای تولید ۴۰ کیلوگرم بیومس در روز طراحی گردید. در این مطالعه، ابتدا حجم بیوراکتور، اندازه تجهیزات مختلف مورد استفاده در آن (همزن، بافل و...) بنابر نتایج تجربی به‌دست آمده در بیوراکتور آزمایشگاهی با حجم کارکرد یک لیتر تعیین می‌شود و سپس براساس انتخاب یک مبنای خاص برای افزایش مقیاس، سایر متغیرهای عملیات ($\frac{P}{V}$، Re، d_r، n و...) محاسبه می‌شود.

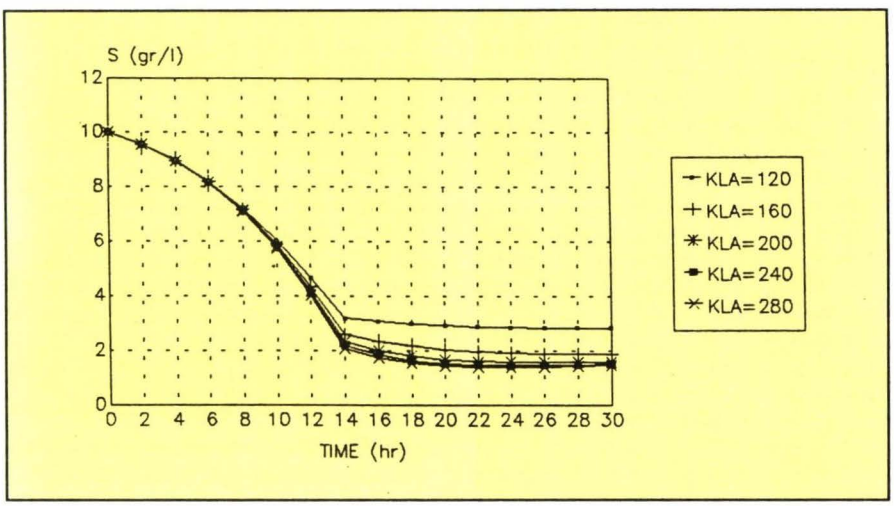
نتایج

در شکل -۴ غلظت بیومس تجربی با غلظت به‌دست آمده از مدل با مقادیر پارامترهای بهینه شبیه سازی جدول -۴، مقایسه شده است. همانگون که در نمودار ملاحظه می‌شود، غلظت بیومس تجربی به غلظت بیومس به‌دست آمده از مدل نزدیک بوده و مقدار نهایی آنها با تقویت خوبی یکسان است.

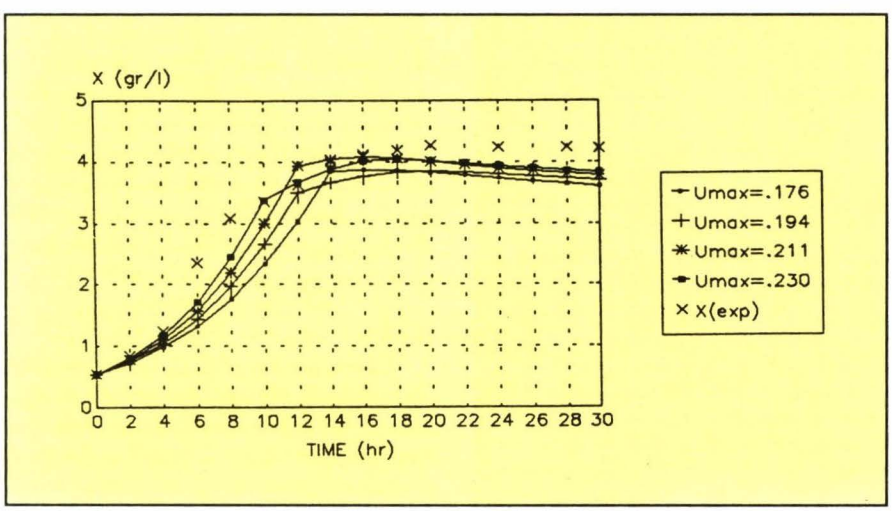
تغییرات غلظت بیومس، متانول، اکسیژن و دی‌اکسیدکربن به‌دست آمده از مدل در شکل -۵ مشاهده می‌شود. با توجه به نمودار غلظت اکسیژن محلول تا زمان ۲ ساعت به علت رشد سلولی، سریعاً



شکل شماره ۷- اثر K_La بر غلظت بیومس



شکل شماره ۸- اثر K_La در غلظت متانول



شکل شماره ۹- اثر μmax بر غلظت بیومس

کاهش یافته و سپس به آرامی کم شده و بعد از ۱۴ ساعت به میزان حداقل می‌رسد. غلظت بیومس نیز تا t=۲hr سریعاً افزایش یافته و سپس با سرعت رشد ویژه ثابت زیاد شده و بعد از ۱۴ ساعت به میزان حداکثر می‌رسد. غلظت دی‌اکسید کربن در فاز مایع نسبت به زمان افزایش یافته اما تغییرات غلظت آن در فاز گاز ناچیز می‌باشد. غلظت اکسیژن در فاز گاز نسبت به زمان تا زمان ۲ ساعت سریعاً کاهش یافته و پس از آن تقریباً ثابت است. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که بعد از ۱۴ ساعت، تغییرات غلظت ناچیز بوده و در زمان ۲۰ ساعت تغییرات غلظت متوقف شده و غلظت‌های خروجی از بیوراکتور نسبت به زمان ثابت باقی می‌ماند.

در شکل‌های -۶ الی -۸ اثر پارامتر o(KLa) بر روی غلظت‌های اکسیژن محلول، بیومس و متانول مورد بررسی قرار گرفته است. همان گونه که مشاهده می‌شود، افزایش مقدار o(KLa) موجب افزایش غلظت اکسیژن محلول شده که در نتیجه غلظت بیومس نیز در سیستم افزایش یافته است. از نمودارهای ۷ و ۸ می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش o(KLa)، غلظت بیومس افزایش و غلظت متانول کاهش می‌یابد. اما در o(KLa) بیشتر از $۲۴۰h^{-1}$ تغییرات قابل ملاحظه‌ای در غلظت‌های بیومس و متانول مشاهده نمی‌شود. بنابراین مقدار بهینه o(KLa) $۲۴۰h^{-1}$ در نظر گرفته می‌شود. در این مقدار o(KLa) غلظت محلول بین ۲۰ الی ۳۰٪ غلظت اشباع اکسیژن است.

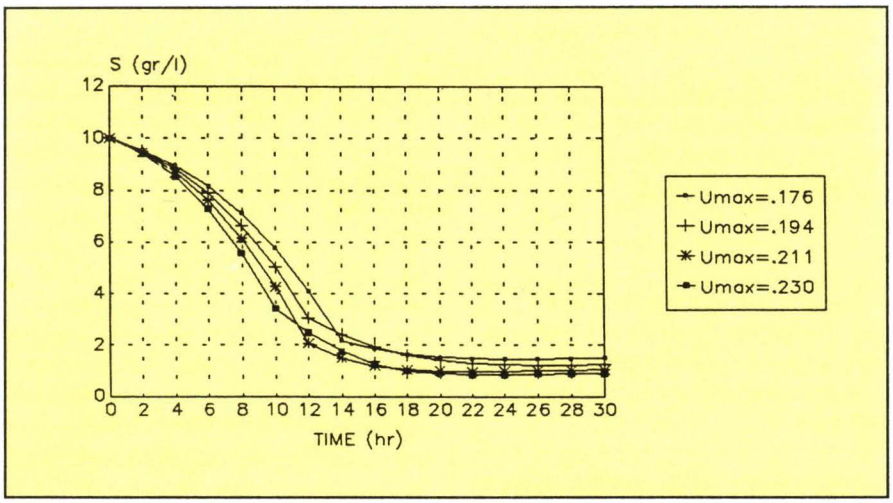
اثر μmax بر غلظت‌های بیومس و متانول در شکل‌های -۹ الی ۱۰ مشاهده می‌شود با افزایش μmax غلظت متانول کاهش و غلظت بیومس افزایش می‌یابد، اما در غلظت نهایی متانول و بیومس تأثیر قابل ملاحظه‌ای مشاهده نمی‌شود.

اثر بازدهی ($Y_{x/s}$) بر غلظت‌های بیومس و متانول در شکل‌های ۱۱ و ۱۲ مشاهده می‌شود. افزایش بازدهی سبب افزایش غلظت بیومس و کاهش غلظت متانول می‌شود. افزایش بازدهی بر غلظت نهایی متانول تأثیر چندانی نداشته اما بر غلظت نهایی بیومس اثر قابل توجه‌ای دارد.

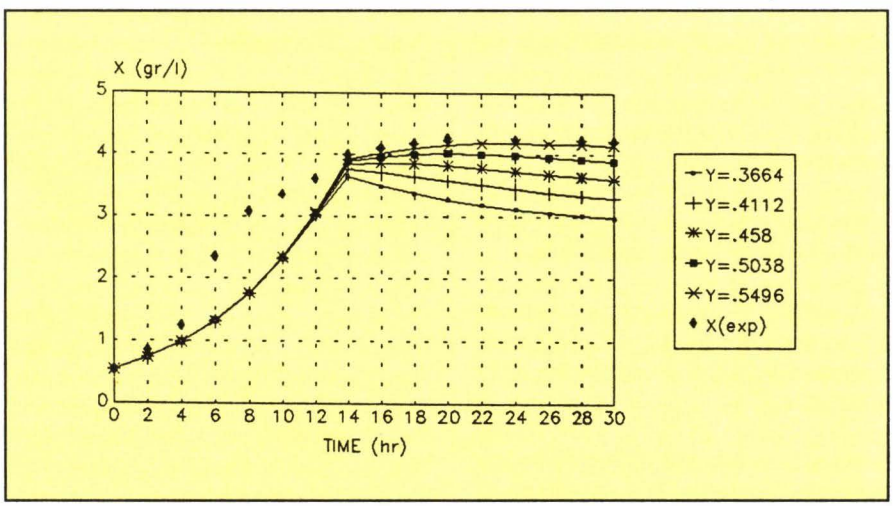
در جدول -۷ اندازه بیوراکتور و تجهیزات مختلف آن (همزن، بافل و...) که بنابر شرایط آزمایشگاهی و بیوراکتور مورد استفاده محاسبه شده‌اند، برای تولید ۴۰ کیلوگرم بیومس در روز دیده می‌شود.

در جدول -۸ نسبت متغیرهای عملیات بیوراکتور تولیدی به بیوراکتور آزمایشگاهی بر اساس انتخاب معیارهای مختلف در افزایش مقیاس آورده شده است. همان گونه که در جدول مشاهده می‌شود، یکی از معیارها مساوی بودن عدد رینولدز (Re) است. مساوی بودن عدد Re برای دو سیستم سبب می‌شود که مقدار $(\frac{P}{V})$ شدیداً کاهش یابد و این امر اثر نامطلوب بر رفتار بیوراکتور درمقیاس تولیدی خواهد داشت. برای تولید پروتئین تک‌یاخته برای آن که غلظت اکسیژن محلول در بیوراکتور در حد مطلوب (۲۰ الی ۳۰٪ غلظت اشباع) باشد، مناسب‌ترین معیار مساوی بودن مقادیر $(\frac{P}{V})$ دو سیستم مدل و تولیدی است.

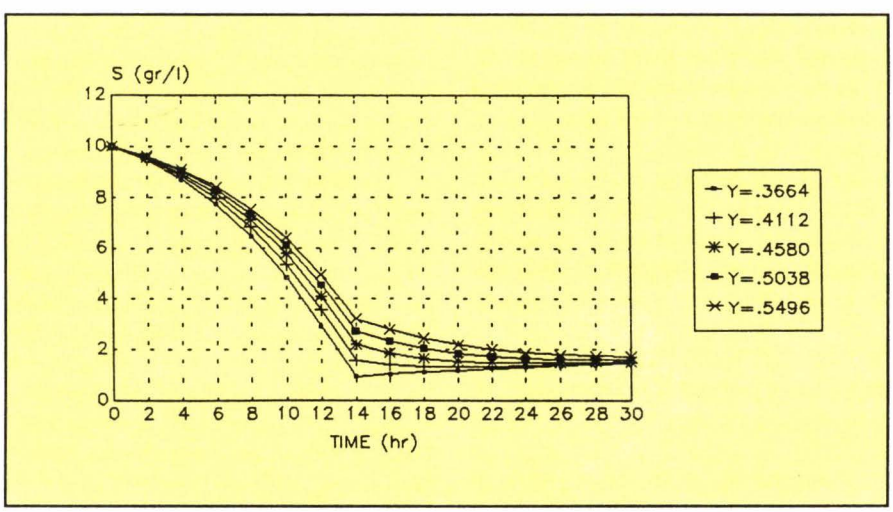
در جدول ۹ اثر انتخاب چند مبنا بر شدت جریان هوا مشاهده می‌شود. در صنایع تخمیری اغلب از نسبت VVm ثابت برای تعیین شدت جریان هوا در مقیاس تولیدی استفاده می‌شود.



شکل شماره ۱۰- اثر μmax بر غلظت متانول



شکل شماره ۱۱- اثر Yxis بر غلظت بیومس



شکل شماره ۱۲- اثر Yxis بر غلظت متانول

علائم

غلظت بیومس در بیوراکتور (gL^{-1})	X
غلظت بیومس در محیط کشت ورودی (gL^{-1})	X_R
غلظت سوبسترا در بیوراکتور (gL^{-1})	S
غلظت سوبسترا در محیط کشت ورودی (gL^{-1})	S_R
شدت رقیق سازی ورودی (h^{-1})	D_R
شدت رقیق سازی خروجی (h^{-1})	D_A
سرعت رشد ویژه (h^{-1})	μG
سرعت مرگ ویژه (h^{-1})	μD
ضریب بازدهی بیومس (گرم وزن خشک تولید شده بر گرم سوبسترا مصرف شده (gx/gs)	$Y_{x/s}$
گرم وزن سلول خشک تولید شده بر گرم اکسیژن مصرف شده (gx/go)	$Y_{x/o}$
ضریب نگهداری (maintenance) گرم سوبسترای مصرف شده بر گرم وزن خشک سلول بر ساعت (gs/gx-h)	m
ضریب انتقال جرم در سطح فصل مشترک دوفاز (h^{-1})	K_La
ضریب انتقال جرم اکسیژن (h^{-1})	$(K_La)o$
ضریب انتقال جرم دی اکسید کربن (h^{-1})	$(K_La)c$
غلظت اشباع اکسیژن (gL^{-1})	O^*_L
غلظت دی اکسید کربن محلول (gL^{-1})	G_L
غلظت دی اکسید کربن در فاز مایع در تعادل با غلظت در فازگاز (gL^{-1})	O^*_L
گرم وزن سلول خشک تولید شده بر گرم دی اکسید کربن تولید شده (gx/gc)	$Y_{x/c}$
غلظت دی‌اکسید کربن در محیط کشت ورودی (gL^{-1})	C_R
ماندگی گاز در بیوراکتور	εg
حجم بیوراکتور (m^3)	V_R
شدت جریان ورودی هوا(m^3/hr)	V_{gi}
شدت جریان خروجی هوا (m^3/hr)	V_{go}
غلظت اکسیژن در هوای ورودی (mole/L)	N_{oi}
غلظت اکسیژن در بیوراکتور (mole/L	N_O
غلظت دی‌اکسیدکربن در هوای ورودی (mole/L)	N_{ci}
غلظت دی‌اکسید کربن در بیوراکتور (mole/L)	N_C
جرم مولکولی اکسیژن (g/mole)	M_O
جرم مولکولی دی اکسید کربن (g/mole)	M_C
سرعت رشد ویژه ماکزیمم (h^{-1})	μ_{max}
ثابت موئود (gL^{-1})	K_S
ثابت اشباع اکسیژن (gL^{-1})	K_O
انرژی انتقال یافته از همزن به سیال (N-m/sec)	P
انرژی ورودی بر حجم بیوراکتور (N/m²-sec)	$\frac{P}{V}$
حجم هوا بر حجم بیوراکتور بر دقیقه (m^3/m^3-min)	VVm
قطر بیوراکتور (m)	D
قطر پره همزن (m)	d_r
عرض پره همزن (m)	W_i
عرض بافل (m)	S_O
ارتفاع مایع در بیوراکتور (m)	H_L
فاصله دو پره همزن (m)	h_i
فاصله همزن تا سطح مایع در بیوراکتور (m)	h_w
فاصله همزن تا مقطع بیوراکتور (m)	h_b
طول پره همزن (m)	L_i
تعداد پره همزن	N
دوره همزن (rpm)	n
سرعت ظاهری‌گاز (m/s)	u_{gs}

پاورقی

۱- مکانیک خطوط جریان سیال، چگونگی فرآیند تشکیل و پراکندگی حباب گاز در بیوراکتور و چگونگی انتقال انرژی از همزن به سیال

منابع مورد استفاده

1- Agrawal pramod and Lim heenry. C. 1984. The growth dynamics of a methanol - utilizing bacterium L3 in a batch bioreactor. Biotechnology and bioengineering; XXVT: 1352-1363.

2- Anton Moser. 1985. Kinetics of batch fermentations In: Rehm. H.J. U. Reed G. Biotechnology, Vol. 2 VCH.

3- Andrews J.F., 1968. Biotechnology and Bioengineering; 10: 707.

4- Aiba S. 1968. Biotechnology and bioengineering; 10: 845.

5- Bailey James E., Ollis David. F. 1986. Biochemical engineering fundamental.

6- Chen Bill J, Henry C. Lim* 1976. A model for bacterial growth on methanol; Biotechnology amd bioengineering; XVIII: 1629:1633.

7- Heinz Brauer. 1985. Stirred vessel Reactors In: Rehm. H.J., U. Reed G. Biotechnology, Vol.2 VCH.

8- Han Keehyun and Leuenspiel octave; Extended monod kinetics for substrate, product, and cell inhibition; Biotechnology and bioengineering; 32: 430-437.

9- Lee. H.Y, Erickson L.E. and yang S.S. 1984. Estimation of true growth yield and maintenance parameters for methanol Utilizing organism; J.Ferment. Technology. 62: 4: 6341-351.

10- Oesterhuis N.M.G. 1985. Modeling and scaling up of bioreactors In: Rehm. H,J., U. Reed G: Biotechnology Vol.2 VCH. 1985.

11- Papoutsakis elec. 1978. Role of formaldehyde in the utilization of cl compounds via the ribulose monophosphate cycle; Biotechnology and bioengineering; XX: 421-442.

12- Scragg A, H; 1991. bioreators in Biotechnology.

13- Stanbury P.F.; 1985. Whitaker A.I. Principles of fermentation technology.

14- Tseng M.C. and Wayman M.: Can. J. 1975. Microbiol. 21: 994.

15- Wang Daniel I.C. 2+ al. 1979. Fermentation and enzyme technology.

16- Webb J.L. 1963. Enzyme and metabolic inhibitors; Vol. 1: Academic press, 1963.