

УДК 578.6.086.83

Ю.І. Сидоров, В.П. Новіков, Р.Й. Влязло

Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології**РОЗРАХУНКОВИЙ МЕТОД СКЛАДАННЯ
МАТЕРІАЛЬНИХ БАЛАНСІВ ПРОЦЕСІВ ФЕРМЕНТАЦІЇ**

© Сидоров Ю.І., Новіков В.П., Влязло Р.Й., 2002

Подані теоретичні основи і приклади складання матеріальних балансів процесів ферментації.**The theoretical bases and examples of drawing up of material balances of processes of fermentation are represented.**

Процеси ферментації – найважливіші процеси промислової мікробіології. Інженерні розрахунки цих процесів лежать в основі всіх інших технологічних розрахунків загального виробництва.

Послідовності анаболітичних та катаболітичних процесів енергетичного та конструктивного метаболізму, в одній ланці яких може бути до 20 реакцій, тісно пов'язані між собою в живому організмі. Врахувати їх в матеріальному балансі немає можливості навіть із застосуванням сучасної обчислювальної техніки. Але приблизні, орієнтовні, достатньо точні з інженерного погляду дані, можна отримати складанням і розв'язанням інтегральних стехіометричних рівнянь процесів ферментації. Можливість їх використання у спрощеному вигляді пропонувалась раніше у [1, 2], але у практичній діяльності нема жодного прикладу їх застосування.

Інтегральне стехіометричне рівняння будь-якого процесу ферментації можна записати у вигляді:

$$a^C[C] + a^N[N] + a^P[P] + a^K[K] + a^{Mg}[Mg] + a^S[S] + \dots + a^i[i] + a^O[O_2] + a^{ПМ}[ПМ] = \\ = a^{ПМ}[ПМ] + a^b[АСБ] + a^{CO_2}[CO_2] + a^{H_2O}[H_2O] + a^{met}[Met]$$

У цьому рівнянні a – стехіометричні коефіцієнти, у квадратних дужках – брутто-формули речовин, що беруть участь у метаболітичних процесах (C – вуглецьвмісний субстрат; N, P, K, Mg, S, i – неорганічні джерела азоту, фосфору, калію, магнію, сірки, i -го елемента; O – кисень для аерації; $ПМ$ – абсолютно суха біомаса посівного матеріалу; $АСБ$ – емпірична формула новосинтезованої абсолютно сухої біомаси; Met – емпірична формула продукту метаболізму (ферменту, антибіотику тощо).

Емпіричні брутто-формули бактеріальної або грибової біомас приблизно однакові для усіх видів мікроорганізмів. Якщо нема спеціальних вказівок, то її можна прийняти як



Оскільки посівний матеріал в процесі біосинтезу не змінюється, то умовно, тимчасово, тільки для проведення розрахунків посівний матеріал з обох частин інтегрального стехіометричного рівняння можна вилучити.

Для знаходження стехіометричного коефіцієнта a^b в аеробних процесах використовують таке правило:

Один кг АСБ синтезується з 2–2,5 кг низькомолекулярних сильноокислених речовин (спиртів, кислот, кетонів тощо) або з 2 кг вуглеводів, або з 1,3–1,5 білків, або з 1 кг жирів, жирних кислот, парафінових вуглеводнів.

Для синтезу біомас, який супроводжується значною кількістю продуктів метаболізму, наприклад, при культивуванні актиноміцетів з метою одержання антибіотичних продуктів, матеріальні нормовитрати збільшені порівняно з “нормальними” в 1,5–2 рази. Вказане правило не розповсюджується на анаеробні процеси бродіння, в яких конструктивний метаболізм, порівняно з енергетичним, є незначним. Ріст біомаси підкоряється іншим закономірностям, які визначають, в основному, експериментальним шляхом, хоча загалом можна сказати, що в енергетичному метаболізмі асимілюється 95–98 % субстрату, решта – конструктивному.

Джерелами азоту для синтезу білків, нуклеїнових кислот та інших азотвмісних продуктів метаболізму служать як органічні, так і неорганічні сполуки. До органічних джерел належать у першу чергу продукти, багаті на білки та амінокислоти (соеве борошно, м’ясний та кукурудзяний екстракти, індивідуальні амінокислоти, пуринові та піримідинові основи тощо). Одночасно ці продукти треба розглядати і як джерела вуглецю.

Елементарний склад білка приблизно завжди однаковий: вміст вуглецю 50–52 %, водню – 6,8–7,7 %, азоту – 15–18 %, кисню – близько 24 %, сірки 0,5–2 %, тому брутто-формулу білка можна записати як $C_{4,25}H_{7,5}N_{1,18}O_{1,5}S_{0,03}$.

У складах живильних середовищ використовують також неорганічні азотвмісні сполуки: нітрати, амонійні солі, аміачну воду, сечовину тощо. Якщо живильне середовище містить багато органічного азоту, то додавання неорганічного азоту, якщо це не зумовлюється властивостями культури, в багатьох випадках є зайвим. Якщо після асиміляції вуглецю азот органічних сполук буде зайвим, то він виділяється у довкілля, як правило, у вигляді аміаку.

Джерелами P, K, S, Mg, і-го елементу цих елементів служать різноманітні органічні сполуки та мінеральні підживлення, наприклад, фосфати, сульфати, хлориди, карбонати магнію, натрію, калію, амонію, тіосечовина тощо. Ці солі можуть служити джерелами як одного, так і декількох елементів. Після вилучення елементів в культуральній рідині із залишків цих сполук можуть утворитись неорганічні кислоти або луги, які потрібно нейтралізувати, щоб біосинтез продовжувався у заданому інтервалі рН. Можна відразу записувати в рівняння речовини для нейтралізації цих сполук: соляну кислоту, карбонати калію або кальцію, гідроксид амонію тощо. Як правило, в рецептуру мінеральних підживлень мікроелементи (марганець, ванадій, мідь, кобальт, нікель тощо) не уводять. Біомаса, що синтезується, вилучає ці елементи з води, яка йде на розбавлення живильного середовища. Зайва сірка органічних сполук виділяється, як правило, у вигляді сірководню.

Для деяких солей, які мають велике значення як мінеральне підживлення, знайдені оптимальні концентрації, кг/м³: KH_2PO_4 – 0,05–0,1; NH_4Cl – 0,59–0,7; $MgSO_4$ – 0,001–0,003. Такі концентрації, якщо це можливо, бажано підтримувати протягом усієї ферментації.

Під час дихання частина органічного субстрату окислюється з утворенням вуглекислого газу та ендогенної води. Ці речовини разом з АСБ утворюють трійку головних продуктів аеробного біосинтезу. В анаеробних процесах ці речовини можуть і не утворюватись. Наприклад, під час метанового бродіння в енергетичному метаболізмі утворюється метан та вуглекислий газ, під час гліколізу – молочна кислота, під час спиртового бродіння – етанол та вуглекислий газ. Ці особливості повинні бути відображені в стехіометричному рівнянні.

У невеликих кількостях при біосинтезі утворюються різноманітні продукти метаболізму: ферменти, антибіотики, вітаміни тощо. Якщо ці продукти не є цільовими, то ними в стехіометричному рівнянні можна знехтувати, що не приведе до великих помилок в інженерних розрахунках (наприклад, при розрахунках процесу одержання кормової біомаси з парафінових вуглеводнів). Але ці продукти треба обов’язково враховувати, якщо роз-

раховують процеси одержання ферментних препаратів, бензилпеніциліну, олеандоміцину, стрептоміцину та інших антибіотиків, а також вітамінів, гормонів тощо.

Після складання і розв'язання стехіометричного рівняння звичайними розрахунковими методами складають так званий *ідеальний баланс*. Ідеальний баланс не враховує кінетики процесу, а тільки його статику. Вважається, що процес перебігає зі 100 %-ю конверсією, усі субстратні речовини перетворюються одночасно і рівномірно відповідно до кінетики процесу. Ідеальний баланс є основою для подальших перетворень балансу, які враховують і ступінь конверсії, і реальні речовини, які беруть участь в процесі, і посівний матеріал, і потрібну потужність.

Приклад 1

Для виробництва препарату БКВ (біоміцинового концентрату вітамінізованого) використовують живильне середовище такого складу, мас. %: крохмаль – 2,0; кукурудзяний екстракт – 0,5; амонійна селітра – 0,7; хлорид натрію – 0,2; крейда – 0,4; хлорид кобальту – 0,00005; бензил роданистий – 1 г/м³; рослинна олія (піногасник) – 0,25.

Скласти ідеальний матеріальний баланс процесу аеробної ферментації.

Виконання

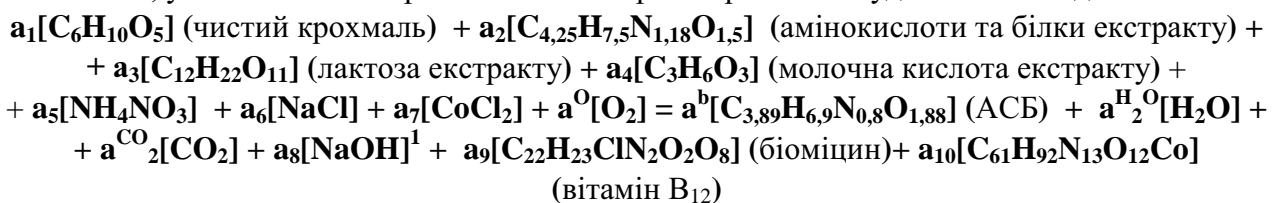
За ГОСТом 7699-95 відомо, що технічний крохмаль містить 80 % вуглеводів брутто-формули C₆H₁₀O₅, решта – вода. Склад кукурудзяного екстракту за МРТУ 18-241-68, мас. %: амінокислоти та білки брутто-формули C_{4,25}H_{7,5}N_{1,18}O_{1,5} – 22; лактоза C₁₂H₂₂O₁₁ – 7,5; молочна кислота C₃H₆O₃ – 10; умовно неспоживні – 8,5; вода – 52.

Складом живильних середовища підживлюючі компоненти, що містять фосфор, калій, магній, сірку та інші елементи, крім азоту, не передбачені (вважається, що ці елементи містяться в достатній кількості у сировинних продуктах). Тому в брутто-формулах білка та АСБ ці елементи потрібно виключити. Отже, брутто-формула АСБ набирає вигляд C_{3,89}H_{6,9}N_{0,8}O_{1,88} (мол. маса 94,86).

Даний процес призначений для одержання кормового преміксу, що містить біоміцин (хлортетрациклін), який має брутто-формулу C₂₂H₂₃ClN₂O₈ (мол. маса 478,5) та вітаміну В₁₂ (брутто-формула C₆₁H₉₂N₁₃O₁₂Co, мол. маса 1321). Отже, в стехіометричному рівнянні ці продукти метаболізму треба врахувати. Додаткові умови, що знайдені в науковій літературі: на 100 кг синтезованої біомаси утворюється 7 кг біоміцину та 0,02 кг вітаміну В₁₂. Оскільки в емпіричну формулу антибіотика входить хлор, а у формулу вітаміну кобальт, то в рівняння потрібно записати хлоровмісні та кобальтовмісні сировинні інгредієнти.

Крейда, роданистий бензил, солі кукурудзяного екстракту, рослинна олія, умовно, участі в процесі не беруть, тому ці інгредієнти в рівняння не записуємо.

Отже, узагальнене інтегральне стехіометричне рівняння буде мати вигляд:



¹ На етапі складання і вирішення ідеального балансу можна не враховувати, що їдкий натр при взаємодії з вуглекислим газом і водою культуральної рідини при температурі 30 °C утворює кислий вуглекислий натр.

Для проведення розрахунку з одержанням певних чисельних значень стехіометричних коефіцієнтів потрібно довільно обрати числове значення будь-якого зі стехіометричних коефіцієнтів вуглецьвмісного субстратного компонента. Прийmemo, наприклад, коефіцієнт при крохмалі $a_1 = 1$.

Тоді, використовуючи рецептурні співвідношення між компонентами, знаходимо, що $a_2 = 0,112$, $a_3 = 0,011$, $a_4 = 0,056$.

Далі знаходимо стехіометричний коефіцієнт біомаси, що утворюється з крохмалю:

$$\frac{a_1 * 162}{a_1^{\delta} * 94,86} = \frac{2}{1}. \quad \text{Звідси } a_1^{\delta} = 0,854$$

Врахуємо, що з 1,3 кг амінокислот та білків, з 2 кг мальтози, з 2 кг молочної кислоти утворюється по 1 кг біомаси. Аналогічно з попереднім розрахунком знаходимо, що $a_2^{\delta} = 0,09$, $a_3^{\delta} = 0,02$, $a_4^{\delta} = 0,027$. Сума всіх коефіцієнтів $a^{\delta} = \sum a_i^{\delta} = 0,854 + 0,09 + 0,02 + 0,027 = 0,991$.

Враховуючи, що синтез 100 кг АСБ супроводжується синтезом 7 кг біоміцину, можна записати:

$$\frac{a^{\delta} * 94,86}{a_9 * 478,5} = \frac{0,991 * 94,86}{a_9 * 478,5} = \frac{100}{7}. \quad \text{Звідси } a_9 = 1,38 \cdot 10^{-2}$$

Використовуючи попередній принцип, знаходимо, що $a_{10} = 1,42 \cdot 10^{-5}$.

Підрахуємо кількість “атомів” азоту в лівій і правій частині стехіометричного рівняння і складемо рівняння:

$$0,112 \cdot 1,18 + a_5 \cdot 2 = 0,991 \cdot 0,8 + 1,38 \cdot 10^{-2} \cdot 2 + 1,42 \cdot 10^{-5} \cdot 13. \quad \text{Звідси } a_5 = 0,334.$$

Аналогічно складаємо рівняння по кобальту, хлору вуглецю, водню або кисню і знаходимо, що $a_7 = 1,42 \cdot 10^{-2}$, $a_6 = 1,38 \cdot 10^{-2}$ (при цьому $a_6 = a_8$), $a_2^{CO_2} = 2,616$, $a_2^{H_2O} = 2,812$, $a^O = 1,771$.

Результати розрахунків внесимо в балансову таблицю:

Взято, мас. одиниць		Одержано, мас. одиниць	
Крохмаль чистий	162,00	Абсолютно суха біомаса	94,00
Амінокислоти та білки екстракту	11,09	Біоміцин	6,60
Лактоза екстракту	3,76	Вітамін В ₁₂	0,02
Молочна кислота екстракту	5,04	Натр їдкий	0,55
Селітра амонійна	27,52	Ендогенна вода	50,62
Натрію хлорид	0,81	Вуглекислий газ	115,10
Кобальту хлорид	0,002		
Аераційний кисень	56,67		
Разом	266,892	Разом	266,89

Приклад 2

Молочну кислоту одержують при бродінні глюкози, використовуючи штам *Bacterium delbrückii* в процесі гліколізу: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2 CH_3CH(OH)COOH$.

Експериментально встановлено, що зі 100 г глюкози утворюється 90 г молочної кислоти, вуглець 5 г глюкози йде на конструктивний метаболізм біомаси, 5 г глюкози залишається вільною. Як сировину частково використовують гідрол – побічний продукт виробництва крохмалю такого складу, мас. %: глюкоза – 50; крохмаль – 14; молочна кисло-

та – 6; солі, в тому числі азотовмісні – 7; вода – 23. Емпірична брунто-формула АСБ $C_{3,9}H_7N_{0,8}O_{1,9}$. Вміст води в клітинній біомасі – 70 %.

До гідролу додають таку кількість води, щоб утворився розчин вуглеводів з концентрацією 4 %. Далі додають 15% від маси завантажених вуглеводів солодових паростків, які сприяють ферментативному гідролізу крохмалю до цукру. Кількісно паростки не беруть участі в реакціях. Цукор, що утворився, і такий, який додають окремо як основну сировину, гідролізується усередині бактерій за участю ендофермента β -фруктофуранозідази до глюкози. До розчину додають посівний матеріал (ПМ) в кількості 20 % від завантаженої маси. ПМ містить АСБ в кількості 2 %, решта (умовно) – вода. Періодично до маси, що бродить, додають 50 %-й розчин цукру-сирцю в такій кількості, щоб в кінці процесу утворився 15%-й розчин лактату кальцію, який, в свою чергу, утворюється при взаємодії молочної кислоти з крейдою. Крейду додають у вигляді 25 %-ї суспензії. Загалом крейди додають стільки, щоб лише 90 % молочної кислоти перетворилось на лактат, а решта залишилось би вільною для підтримки певного значення рН.

Скласти матеріальний баланс одержання 1 м^3 культуральної рідини.

Виконання

В даному прикладі для розв'язання поставленої задачі потрібно врахувати всі речовини, навіть воду, оскільки умови містять багато концентраційних співвідношень. На початку можна не враховувати маси солодових ростків. Те ж саме стосується і солей гідролу, оскільки якісний і кількісний склад солей є невідомим. В той же час необхідно врахувати вилучення з цих солей азоту, оскільки передбачається ріст нової біомаси, а підживлюючі азотвмісні солі у рецептурі відсутні.

Після розв'язання інтегрального стехіометричного рівняння відразу одержують матеріальний баланс, який враховує ступінь конверсії та всі інші технологічні аспекти.

Інтегральне стехіометричного рівняння:

$a_1[C_6H_{12}O_6]$ (глюкоза гідролу) + $a_2[C_6H_{10}O_5]$ (крохмаль гідролу) + $a_3[C_3H_6O_3]$ (молочна кислота гідролу) + $a_4[H_2O]$ (вода гідролу) + $a_5[N]$ (азот солей гідролу) + $a_6[H_2O]$ (вода на розбавлення) + $a_7[C_{12}H_{22}O_{11}]$ (цукор) + $a_8[H_2O]$ (вода з розчином цукру) + $a_9[АСБ]$ (АСБ ПМ) + $a_{10}[H_2O]$ (вода з ПМ) + $a_{11}[CaCO_3]$ (крейда) + $a_{12}[H_2O]$ (вода з суспензією крейди) = $a_{13}[C_{3,9}H_7N_{0,8}O_{1,9}]$ (новосинтезована біомаса) + $a_9[АСБ]$ (АСБ ПМ) + $a_{14}[(C_3H_5O_3)_2Ca]$ (лактат кальцію) + $a_{15}[C_3H_6O_3]$ (вільна молочна кислота) + $a_{16}[CO_2]$ (CO_2 , що виділяється при взаємодії крейди з молочною кислотою) + $a_{17}[H_2O]$ (вільна вода) + $a_{18}[C_6H_{12}O_6]$ (вільна глюкоза) + $a_{19}[H_2O]$ (ендогенна вода від синтезу лактату кальцію) + $a_{20}[H_2O]$ (ендогенна вода від синтезу біомаси) + $a_{21}[O]$ (залишковий кисень)².

1. Прийmemo $a_1 = 1$. Тоді $a_1 \cdot 180 / a_2 \cdot 162 = 50 / 14$. Звідси $a_2 = 0,311$. Аналогічно знаходимо $a_3 = 0,24$, $a_4 = 4,6$.

2. Вміст вуглеводів у вихідному розчині повинен бути 4 %, отже, $(180 + 0,311 \cdot 162) / (180 \cdot 0,5 + x) = 0,04$, де 0,5 – частка глюкози в гідролі, x – маса води, потрібна для розбавлення. Звідси $x = 5399,5$ кг, а $a_6 = 5399,5 / 18 = 299,97$ кг.

3. Знаходимо кількість посівного матеріалу. Маса глюкози в гідролі 180 кг, отже, маса гідролу $180 / 0,5 = 360$ кг. Маса розбавленого розчину $360 + 5399,5 = 5759,5$ кг. Маса

² Залишковий кисень під час біосинтезу окислює органічні речовини з утворенням різноманітних сполук, які не можна врахувати в рівнянні.

посівного матеріалу $5759,5 \cdot 0,2 = 1151,9$ кг. ПМ містить $1151,9 \cdot 0,02 = 23,038$ кг АСБ, а води – $1151,9 - 23,038 = 1128,86$ кг. Таким чином, $a_9 = 23,038:95,4 = 0,241$, $a_{10} = 62,71$.

4. Позначимо a_7 як невідому величину ($a_7 = X$).

5. Гідрол містить 180 кг (1 кмоль) глюкози. Крохмаль перетворюється в глюкозу з мольним співвідношенням 1:1, отже, з крохмалю утвориться 0,311 кмоль глюкози. З 1 кмоллю цукру утворюється 2 кмолі глюкози, отже, з цукру утвориться $2X$ кмолів глюкози. Всього в процесі бере участь $1,311 + 2X$ кмолів глюкози.

6. У молочну кислоту перетвориться 90 % глюкози, тобто $0,9(1,311 + 2X) = 1,18 + 1,8X$ кмолів.

7. Скільки кмолів глюкози залишаться вільними? $a_{18} = 0,05(1,311 + 2X) = 0,06555 + 0,1X$ кмолів. Стільки ж молів глюкози піде на синтез нової біомаси.

8. Скільки кмолів молочної кислоти утвориться в процесі? З 1 кмолля глюкози утворюється 2 кмолі молочної кислоти, отже, молочної кислоти утвориться $2(1,18 + 1,8X) = 2,36 + 3,6X$ кмолів. Всього в системі разом з молочною кислотою гідролу буде знаходитись $0,24 + (2,36 + 3,6X)$ кмолів молочної кислоти.

9. Вільної молочної кислоти в кінці процесу залишиться $a_{15} = 0,1(2,6 + 3,6X) = 0,26 + 0,36X$ кмолів.

10. Скільки утвориться лактату кальція? Лише 90 % кислоти буде реагувати з крейдою, тобто $0,9(2,6 + 3,6X) = 2,34 + 3,24X$ кмолів. З 2 кмолів кислоти утвориться 1 кмоль лактату. Отже, лактату кальцію утвориться $a_{14} = 0,5(2,34 + 3,24X) = 1,17 + 1,62X$ кмолів. Стільки ж потрібно буде крейди (a_{11}), стільки ж утвориться води (a_{19}) та вуглекислого газу (a_{16}).

11. Маса крейди, що надійде в процес $100 \cdot (1,17 + 1,62X) = 117 + 162X$ кг. Води з суспензією крейди надійде втричі більше ніж крейди, тобто $351 + 486X$ кг. Отже, $a_{12} = (351 + 486X):18 = 19,5 + 27X$ кмолів.

12. Вуглець 5 % глюкози асимілюється в конструктивному метаболізмі у новій біомасі. Оскільки на конструктивний метаболізм йде $0,06555 + 0,1X$ кмолів глюкози, а брутто-формула глюкози містить 6 атомів вуглецю, то в конструктивному метаболізмі візьме участь $6 \cdot (0,06555 + 0,1X) = 0,3933 + 0,6X$ “атомів” вуглецю. Брутто-формула АСБ містить 3,9 “атомів” вуглецю. Отже, всього синтезується $a_{13} = (0,3933 + 0,6X):3,9 = 0,101 + 0,154X$ кмолів біомаси.

13. Кількість “атомів” водню в глюкозі, що бере участь у конструктивному метаболізмі $12 \cdot (0,06555 + 0,1X) = 0,787 + 1,2X$. Кількість “атомів” водню в новосинтезованій біомасі $7 \cdot (0,101 + 0,154X) = 0,707 + 1,078X$. Різниця становить $0,08 + 0,122X$ “атомів” водню, який піде на утворення $(0,08 + 0,122X):2 = 0,04 + 0,061X = a_{20}$ кмолів води.

14. Знайдемо кількість залишкового кисню, що утворюється при синтезі нової біомаси. Глюкоза, що йде на конструктивний метаболізм, містить $6 \cdot (0,06555 + 0,1X)$ “атомів” кисню. Біомаса, що синтезувалась, містить $1,9 \cdot (0,101 + 0,154X)$ “атомів” кисню. Вода, що утворилась при синтезі ендогенної води, містить $1 \cdot (0,04 + 0,061X)$ “атомів” кисню. Залишковий кисень становить $0,1614 + 0,2464X$ “атомів”.

15. Будемо вважати, що з солей гідролу вилучено потрібну кількість атомів азоту. Оскільки кількість “атомів” азоту нової АСБ становить $0,8 \cdot (0,101 + 0,154X)$, то $a_5 = 0,081 + 0,123X$ кмолів азоту.

16. Для визначення стехіометричного коефіцієнта a_{17} складемо таблицю мас продуктів, які визначають множенням стехіометричних коефіцієнтів на молекулярні маси брутто-формул компонентів:

До реакції		Після реакції	
компонент	маса, кг	компонент	маса, кг
Глюкоза гідролу	180	Вільна вода	$9,635 + 14,692X$
Крохмаль гідролу	50,382	Новосинтезована АСБ	22,991
Молочна кислота гідролу	21,6	АСБ посівного матеріалу	$255,06 + 353,16X$
Вода гідролу	82,8	Лактат кальцію	$23,4 + 32,4X$
Азот солей гідролу	$1,134 + 1,722X$	Вільна молочна кислота	$51,48 + 71,28X$
Вода на розбавлення	5399,5	Вуглекислий газ	$18a_{17}$
Цукор	342X	Вільна глюкоза	$11,799 + 18X$
Вода з розчином цукру	342X	Ендогенна вода від синтезу лактату	$21,06 + 29,16X$
АСБ посівного матеріалу	22,991	Ендогенна вода від синтезу нової АСБ	$0,72 + 1,098X$
Вода з посівним матеріалом	1128,78	Залишковий кисень	$2,582 + 3,942X$
Крейда	$117 + 162X$		
Вода з суспензією крейди	$351 + 486X$		
Разом	$7355,187 + 1333,722X$	Разом	$398,727 + 523,732X + 18a_{17}$

$$\text{Звідси } a_{17} = 386,47 + 45X$$

17. Кількість культуральної рідини можна визначити за різницею маси продуктів після реакції за виключенням CO_2 :

$$\text{Маса культуральної рідини} = (398,727 + 523,732X) + [18 \cdot (386,47 + 45X)] - (51,48 + 71,28X) = 7303,707 + 1262,442X.$$

18. Знаходимо X ($a_7 = X$). Використаємо умову про співвідношення лактату кальцію і усього кінцевого продукту (культуральної рідини). При цьому кисень, що утворюється, не треба розуміти як газ, оскільки він утворює з органікою різноманітні сполуки.

$$(256,06 + 353,16X) / (7303,707 + 1262,442X) = 0,15, \text{ звідси } X = a_7 = 5,131.$$

Матеріальний баланс інтегрального стехіометричного рівняння

Взято, кг	Одержано, кг		
Глюкоза гідролу	180,00	Новосинтезована АСБ	85,02
Крохмаль гідролу	50,38	АСБ посівного матеріалу	23,04
Молочна кислота гідролу	21,60	Лактат кальцію	2067,12
Вода гідролу	82,80	Молочна кислота	189,64
Азот солей гідролу	9,97	Вуглекислий газ	417,22
Вода на розбавлення гідролу	5399,50	Вода	11112,57
Цукор	1754,80	Глюкоза	104,16
Вода з розчином цукру	1754,80	Вода від синтезу лактату кальцію	170,68
АСБ посівного матеріалу	23,04	Вода від синтезу АСБ	6,35
Вода посівного матеріалу	1128,86	Кисень	22,81
Крейда	948,22		
Вода з розчином крейди	2844,67		
Разом	14198,64	Разом	14198,61

Треба вважати, що в процесі беруть участь реальні сировинні продукти – гідрол, наприклад, а не глюкоза гідролу. Треба врахувати, що додають солодові паростки (15 % від маси вуглеводів гідролу): $0,15(180 + 50,38) = 34,56$ кг. Треба врахувати, що біомаса існує не

у вигляді АСБ, а у вигляді клітинної бактеріальної біомаси, якої в культуральній рідині буде $(85,02 + 23,04)/(1-0,7) = 360,2$ кг. Всього солей з гідролом надходить $0,07 \cdot 360 = 25,2$ кг. Залишилось перетворених солей (перетворення солей врахувати неможливо) – $25,2 - 9,97 = 15,23$ кг. Отже, враховуючи ці дані, баланс набирає вигляд:

Взято, кг		Одержано, кг	
Гідрол	360,00	Клітинна біомаса	360,2
Вода на розбавлення гідролу	5399,50	Лактат кальцію	2067,12
Солодові паростки	34,56	Молочна кислота	189,64
50 %-й розчин цукру-сирця	3509,60	Глюкоза	104,16
Посівний матеріал	1151,90	Залишки солодових паростків	34,56
25 %-ва суспензія крейди	3792,89	Залишковий кисень у сполуках	22,81
		Неорганічні сполуки	15,23
		Вода	11037,51
		Всього культуральної рідини	13831,23
		Вуглекислий газ-викид	417,22
Разом	14248,45	Разом	14248,45

Густина культуральної рідини внаслідок високої концентрації лактату кальцію, який в сухому вигляді має густину 1600 кг/м^3 , буде значно вищою за звичайно прийняту при підрахунках густини цієї рідини ($1000 \div 1050 \text{ кг/м}^3$). Вважаючи решту компонентів як суму речовин з густиною 1000 кг/м^3 , нехтуючи міжмолекулярною взаємодією, а також вважаючи, що густина є середньозваженою величиною, можна записати, що

$$\frac{11764,11 \cdot 1000 + 2067,12 \cdot 1600}{13831,23} = 1089,61 \text{ кг/м}^3$$

Отже, об'єм культуральної рідини становить $13831,23 : 1089,61 = 12,694 \text{ м}^3$. Для складання балансу на 1 м^3 кожену цифру попереднього балансу ділимо на коефіцієнт 12,6434. Остаточна балансова таблиця набирає вигляд:

Взято, кг		Одержано, кг	
Гідрол	28,36	Клітинна біомаса	28,38
Вода на розбавлення гідролу	425,36	Лактат кальцію	162,84
Солодові паростки	2,72	Молочна кислота	14,94
50 %-й розчин цукру-сирця	276,48	Глюкоза	8,21
Посівний матеріал	90,74	Залишки солодових паростків	2,72
25 %-ва суспензія крейди	298,79	Залишковий кисень у сполуках	1,80
		Неорганічні сполуки	1,20
		Вода	869,51
		Всього культуральної рідини	1089,60
		Вуглекислий газ-викид	32,87
Разом	1122,45	Разом	1122,47

Приклад 3

В прикладі наведений розрахунок матеріального балансу комплексного процесу, який складається з культивування біомаси і біоконверсії субстрату в продукт метаболізму без подальшого росту біомаси (глибинний метод одержання харчової оцтової кислоти).

У реактор-змішувач завантажують 40 об. % етанолу та 9 мас. % оцтової кислоти, додають воду, нітрат амонію без надлишку на 100 %-ву конверсію, водопровідну воду в такій кількості, щоб сумарна концентрація етанолу та оцтової кислоти становила в розчині 6,5 мас. %. Маса оцтової кислоти при цьому така, щоб створити в живильному середовищі (ЖС) рН 3. У ферментер завантажують посівний матеріал (ПМ) з ацетатора, кількість якого становить 5 мас. % від маси ЖС. (В процесі використовують штам *Bacterium Schützenbachium* роду *Acetobacter*, АСБ якого в ПМ міститься в концентрації близько 2 мас. %). Далі подають аераційне повітря (кратність аерації 0,35–0,4), а потім протягом 14–16 годин при температурі 28 °С постійно подають приготовлене ЖС до ступеня конверсії етанолу 90%. Прийняти емпіричну формулу АСБ $C_{3,9}H_{7}N_{0,8}O_2$. Із 2,5 кг етанолу одержують 1 кг АСБ. Клітинна біомаса на 70 % складається з води. В енергетичному метаболічному процесі етанол окислюється до оцтової кислоти.

Отриману культуральну рідину перевантажують у другий ферментер, в якому продовжують процес постійним додаванням 40 об.% розчину етанолу. При цьому ріст біомаси вже не спостерігається внаслідок репресуючої дії на культуру оцтової кислоти. Фактично відбувається тільки біоконверсія етанолу в оцтову кислоту. Концентрація кислоти може досягнути 9–9,3 мас. %. При цій концентрації припиняються не тільки репродукуючі механізми культури, але й енергетичний метаболізм. Близько 1 мас. % етанолу залишається неконвертованим.

Скласти матеріальний баланс одержання культуральної рідини на стадії ферментації в об'ємі 1 м³ і матеріальний баланс процесу біоконверсії етанолу за участю культуральної рідини з попередньої стадії.

Виконання

1. Розрахунок матеріального балансу вирощування культури

Інтегральне стехіометричне рівняння вирощування культури має вигляд:



Співвідношення $a_4 \cdot (\text{М.м. АСБ})/a_1 \cdot (\text{М.м. етанолу}) = 1:2,5$. Звідси $a_4 = 0,1897$.

Складаємо рівняння за “атомами” азоту, вуглецю, водню та кисню і знаходимо, що $a_2 = 0,07588$, $a_5 = 0,630085$, $a_6 = 1,22764$, $a_3 = 0,819785$.

Ідеальний матеріальний баланс процесу вирощування культури:

Взято, кг		Одержано, кг	
Етанол	46,0000	АСБ	18,4009
Нітрат амонію	6,0704	Оцтова кислота	37,8051
Аераційний кисень	26,2331	Вода	22,0975
Разом	78,3035	Разом	78,3035

Баланс з урахуванням ступеня конверсії етанолу 90 %:

Взято, кг		Одержано, кг	
Етанол	46,0000	АСБ	16,5608
Нітрат амонію	6,0704	Оцтова кислота	34,0246
Аераційний кисень	23,6098	Вода	19,8878
		Етанол	4,6000
		Нітрат амонію	0,6070
Разом	75,6802	Разом	75,6802

Перерахування балансу на дійсні сировинні матеріали:

1. Знаходимо масовий вміст оцтової кислоти в живильному середовищі.

Оскільки рН ЖС повинен становити 3, а $\text{pH} = -\lg[\text{H}^+]$, концентрація $[\text{H}^+] = 10^{-3}$ моль/л.

Константу іонізації розраховуємо за формулою

$$\frac{[\text{H}^+][\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]} = K_a$$

Оскільки K_a для оцтової кислоти відома ($1,74 \cdot 10^{-5}$ моль/л), $[\text{H}^+] = [\text{CH}_3\text{COO}^-] = 10^{-3}$ моль/л, то концентрація оцтової кислоти в розчині повинна бути $10^{-6}/1,74 \cdot 10^{-5} = 0,05747$ моль/л = 3,4482 г/л. Якщо прийняти густину ЖС 1000 кг/м^3 , то концентрація кислоти повинна бути 0,345 мас. %.

2. Масовий вміст етанолу в ЖС повинен бути $6,5 - 0,345 = 6,155$ мас. %. Якщо згідно з ідеальним балансом беруть 46 кг етанолу, то всього ЖС повинно бути $46/0,06155 = 747,36$ кг. Оцтової кислоти в ЖС повинно бути $747,36 \cdot 0,065 - 46 = 2,578$ кг. Враховуючи, що кислоту подають у вигляді 9 % розчину, то розчину оцтової кислоти для приготування ЖС потрібно $2,578/0,09 = 28,65$ кг.

3. Масова концентрація етанолу, що подається для приготування ЖС (40 об. %), становить 32 мас. %. Отже, цього розчину потрібно $46/0,32 = 143,75$ кг.

4. Посівний матеріал з ацетатора подають в кількості 5% від маси ЖС. Отже, посівного матеріалу потрібно $747,36 \cdot 0,05 = 37,37$ кг. Для спрощення розрахунків, без великої похибки, можна вважати, що ПМ складається тільки з АСБ та води. Тоді ПМ містить $37,37 \cdot 0,02 = 0,747$ кг АСБ та $37,37 - 0,747 = 36,623$ кг води.

5. Враховуючи, що клітинна біомаса на 70 % складається з води, то кількість клітинної біомаси в культуральній рідині буде становити $(16,5608 + 0,747)/0,3 = 17,31/0,3 = 57,694$ кг.

6. Матеріальний баланс процесу вирощування культури в перерахунку на одержання 1 м^3 КР (густина КР $\approx 1000 \text{ кг/м}^3$):

Взято, кг/(м ³ ·КР)		Одержано, кг/(м ³ ·КР)	
40 об. %-й розчин етанолу,	177,83	Клітинна біомаса	71,37
9 мас. %-й розчин оцтової кислоти,	35,44	Оцтова кислота	45,28
Нітрат амонію	7,51	Етанол	5,69
Вода	703,78	Нітрат амонію	0,75
Посівний матеріал	46,23	Вода	876,91
Аераційне повітря	29,21		
Разом	1000,00	Разом	1000,00

2. Розрахунок балансу біоконверсії

Біоконверсія етанолу: $C_2H_5OH + O_2 = CH_3COOH + H_2O$.

1. Позначимо кількість чистого спирту, що йде на процес – X, кількість спирту, що йде на біоконверсію – A, кількість спирту, що залишається в розчині – B. Тоді $X = A + B$.

2. Згідно з рівнянням під час біоконверсії утвориться $(60/46)A$ кг оцтової кислоти та $(18/46)A$ кг води.

3. Разом з розчином спирту в реакційну масу надійде вода. Оскільки концентрація спирту в розчині 32 мас. %, то цю кількість води можна позначити як $(68/32)(A + B)$.

4. Прийmemo, що кінцева концентрація оцтової кислоти 9,2 мас. %, а спирту – 1 мас. %. Тоді можна скласти 2 рівняння:

$$\frac{(60/46)A + 45,28}{1000 + (68/32)(A + B) + (60/46)A + (18/46)A} = 0,092;$$

$$\frac{B + 5,69}{1000 + (68/32)(A + B) + (60/46)A + (18/46)A} = 0,01.$$

Розв'язуючи цю систему, знаходимо, що $A = 50,96$ кг, $B = 6,44$ кг. Отже, $X = 50,96 + 6,44 = 57,4$ кг.

5. Маса 32 мас. %-го (40 об. %-го) розчину спирту, що витрачається на процес, $57,4/0,32 = 179,375$ кг.

6. Кількість оцтової кислоти, що утвориться при біоконверсії, $(60/46) \cdot 50,96 = 66,47$ кг. Разом з кислотою, що утворилась під час вирощування культури, загальна маса кислоти становить $66,47 + 45,28 = 111,75$ кг.

7. Сумарна кількість спирту в кінцевому розчині $6,44 + 5,69 = 12,13$ кг.

Матеріальний баланс біоконверсії

Взято, кг		Одержано, кг	
Культуральна рідина зі стадії ферментації	1000	Клітинна біомаса	71,37
		Оцтова кислота	111,75
40 об. %-й розчин етанолу	179,375	Етанол	12,13
		Нітрат натрію	0,75
		Вода	983,375
	1179,375		1179,375

1. Гапонов К.П. *Процессы и аппараты микробиологических производств.* – М., 1981. – 240 с. 2 Кантере В.М., Мосичев М.С., Дорошенко М.И. и др. *Основы проектирования предприятий микробиологической промышленности.* – М., 1990. – 304 с.