

Βιοαντιδραστήρες

Τύποι βιοαντιδραστήρων

- Ως **βιοαντιδραστήρας** θεωρείται κάθε διάταξη στην οποία διαμορφώνεται τεχνητά το κατάλληλο περιβάλλον, ώστε να πραγματοποιούνται και να ελέγχονται ενζυμικές και μικροβιακές αντιδράσεις.
- Στους βιοαντιδραστήρες, συνήθως, υπάρχουν συστήματα αναδεύσεως, δειγματοληψίας, ελέγχου και ρυθμίσεως διάφορων παραγόντων.
- Βασικές διαφορές ενός βιοαντιδραστήρα και ενός χημικού αντιδραστήρα είναι:
 1. Ο βιοαντιδραστήρας λειτουργεί σε χαμηλότερη θερμοκρασία και πίεση, και
 2. Κατά τη λειτουργία του βιοαντιδραστήρα καταναλώνεται και παράγεται μικρότερο ποσό ενέργειας.
- Επισημαίνεται, επίσης, ότι ο ενζυμικός βιοαντιδραστήρας διαφέρει από τον μικροβιακό αντιδραστήρα στο ότι το βιοσύστημα δεν αναπαράγεται.

- Υπάρχουν βιοαντιδραστήρες διάφορων τύπων, ανάλογα με το κατά περίπτωση θεωρούμενο κριτήριο.
- **Ομοιογενής βιοαντιδραστήρας** είναι αυτός στον οποίο το περιεχόμενο βρίσκεται σε μία μόνο φάση, σε αντίθεση με τον **ετερογενή βιοαντιδραστήρα**.
- Περίπτωση ετερογενή βιοαντιδραστήρα είναι ο βιοαντιδραστήρας ακινητοποιημένων ενζύμων/κυττάρων.
- Μια διάκριση μεταξύ διαφορετικών τύπων βιοαντιδραστήρων μπορεί να γίνει βάσει του τρόπου αναμίξεως. Έτσι έχουμε:
 1. Τον **βιοαντιδραστήρα πλήρους αναμίξεως**, όπου έχουμε την ίδια συγκέντρωση σε όλο τον υγρό όγκο του βιοαντιδραστήρα, και
 2. Τον **βιοαντιδραστήρα στήλης**, όπου τα αντιδρώντα και προϊόντα κινούνται κατά την φορά ροής και δεν επιτυγχάνεται πλήρης ανάμιξη, εμφανίζοντας, συνεπώς, διαφορετικές συγκεντρώσεις σε διαφορετικά σημεία του υγρού όγκου.

- Άλλη διάκριση μπορεί να γίνει με βάση τον συνεχή ή ασυνεχή τρόπο λειτουργίας.

- Έτσι, έχουμε:

1. Τον **βιοαντιδραστήρα διαλείποντος έργου ή ασυνεχούς λειτουργίας** (batch bioreactor), και

2. Τον **βιοαντιδραστήρα συνεχούς λειτουργίας** (continuous bioreactor).

- Τέλος, μπορεί να γίνει διάκριση ανάλογα με το αν το ένζυμο ή ο μικροοργανισμός διοχετεύεται στο προϊόν της αντίδρασης, οπότε έχουμε:

1. Τον **ανοιχτό βιοαντιδραστήρα**, και

2. Τον **κλειστό βιοαντιδραστήρα**.

- Γενικά ισχύουν:

A. Στον βιοαντιδραστήρα διαλείποντος έργου πλήρους αναμίξεως, η συγκέντρωση των αντιδρώντων και των προϊόντων μεταβάλλεται με την πάροδο του χρόνου.

- Όμως, σε κάθε χρονική στιγμή η συγκέντρωση είναι η ίδια σε οποιαδήποτε σημείο του βιοαντιδραστήρα.

B. Στον συνεχούς λειτουργίας πλήρους αναμίξεως βιοαντιδραστήρα, ο οποίος βρίσκεται σε κατάσταση δυναμικής ισορροπίας, η συγκέντρωση των αντιδρώντων και προϊόντων παραμένει ομοιόμορφη και αμετάβλητη ως προς τον χρόνο (θεωρείται ότι δεν έχουμε μείωση της ενζυμικής ή μικροβιακής δραστηριότητας).

Γ. Στον βιοαντιδραστήρα στήλης, η συγκέντρωση των αντιδρώντων παραμένει σταθερή σε κάθε σημείο, μεταβάλλεται, όμως, κατά τη διεύθυνση ροής.

Δ. Η αναστολή από υπόστρωμα και προϊόν δεν αποτελεί συνήθως πρόβλημα στον συνεχή βιοαντιδραστήρα πλήρους αναμίξεως, γιατί καθώς το προϊόν απομακρύνεται συνεχώς, ουδέποτε φθάνει σε συγκέντρωση ικανή να προκαλέσει αναστολή της αντίδρασης.

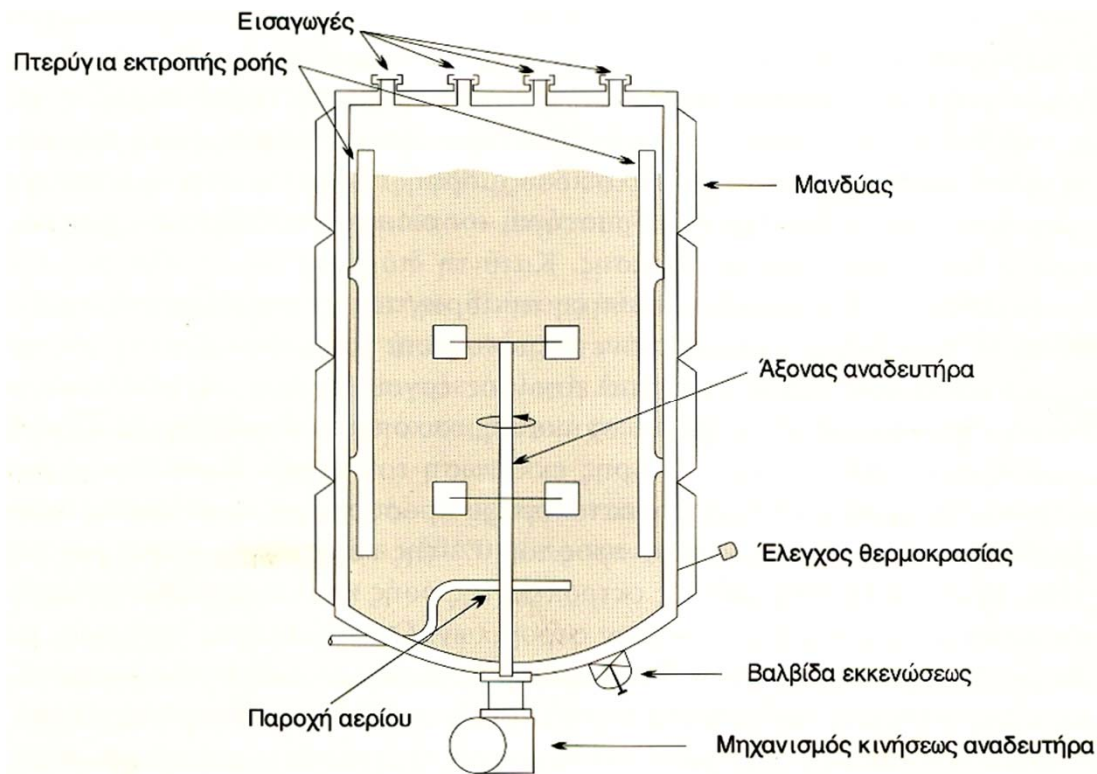
Ε. Ο βιοαντιδραστήρας στήλης ακινητοποιημένων κυττάρων παρουσιάζει μέγιστο % μετατροπής στην είσοδο και ελάχιστο στην έξοδο, λαμβάνοντας ενδιάμεσες τιμές κατά μήκος της στήλης, γιατί η συγκέντρωση του υποστρώματος ελαττώνεται κατά μήκος του βιοαντιδραστήρα.

- Η παρουσία στερεάς φάσης είναι η αιτία περιορισμού διάχυσης, φαινόμενο το οποίο είναι πιο έντονο στην έξοδο του βιοαντιδραστήρα, επειδή στην περιοχή αυτή η συγκέντρωση του υποστρώματος είναι μικρότερη.

- Αντίθετα, στον βιοαντιδραστήρα διαλείποντος έργου, το % ποσοστό μετατροπής παραμένει σταθερό σε όλο τον υγρό όγκο.

Βιοαντιδραστήρας διαλείποντος έργου πλήρους αναμίξεως

- Είναι ο «παραδοσιακός» τύπος βιοαντιδραστήρα και αποτελεί τη συνήθη επιλογή φθηνών ελεύθερων (διαλυτοποιημένων) ενζύμων και υποστρωμάτων στερεάς ή κολλοειδούς μορφής.
- Το μίγμα των αντιδρώντων και ενζύμων/μικροοργανισμών προστίθεται στον βιοαντιδραστήρα και ακολουθεί η μετατροπή σε προϊόντα.
- Κατά τη διάρκεια της αντίδρασης δεν πραγματοποιείται εξωτερική προσθήκη αντιδρώντων ή απομάκρυνση προϊόντων.
- Το περιεχόμενο απομακρύνεται μόνο μετά το τέλος της διεργασίας.
- Ένας τυπικός βιοαντιδραστήρας διαλείποντος έργου αποτελείται από ανοξείδωτο δοχείο κυλινδρικού σχήματος, με κοίλο πυθμένα, έτσι ώστε να διευκολύνεται η πλήρης εκκένωση του υγρού.



Σχ. 62. Βιοαντιδραστήρας διαλείποντος έργου πλήρους αναμείξεως.

- Κατά μήκος των εσωτερικών τοιχωμάτων υπάρχουν κατακόρυφα προσαρμοσμένα ακίνητα πτερύγια, πλάτους περίπου ίσου προς το 10% της εσωτερικής διαμέτρου, τα οποία λειτουργούν ως εκτροπείς της ροής και υποβοηθούν την ανάδευση, λόγω σχηματισμού πρόσθετων στροβίλων.

- Ο αναδευτήρας εισέρχεται από τον πυθμένα και όχι από το επάνω μέρος, για να επιτευχθεί μείωση της ενέργειας κατά την ανάδευση.

- Σημαντικός παράγοντας της διεργασίας που πρέπει να ρυθμίζεται και να ελέγχεται είναι η θερμοκρασία.

- Η ρύθμιση της θερμοκρασίας επιτυγχάνεται με μεταλλικό μανδύα-ψυκτήρα που περιβάλλει το δοχείο εξωτερικά.
- Σημαντικό ρόλο έχει και η ρύθμιση του pH στα επιθυμητά επίπεδα.
- Πρέπει να σημειωθεί το μεγάλο κόστος λειτουργίας μεγάλων όγκων βιοαντιδραστήρων, λόγω κινητήρων μεγάλης ισχύος που απαιτούνται για την ανάδευση, καθώς και η σπατάλη χρόνου μεταξύ διαδοχικών παρτίδων ζύμωσης (χρόνος απαραίτητος για την απομάκρυνση των προϊόντων, καθαρισμό, επαναφόρτιση βιοαντιδραστήρα).

Συνεχής βιοαντιδραστήρας πλήρους αναμίξεως

- Χαρακτηριστικό του γνώρισμα είναι ότι ο λειτουργικός όγκος του παραμένει σταθερός.
- Δηλαδή, ο ρυθμός εισερχόμενης ισούται με τον ρυθμό εξερχόμενης υγρής φάσης.
- Η σύσταση του εξερχόμενου υγρού είναι ίδια με αυτή του περιεχομένου του βιοαντιδραστήρα σε κάθε χρονική στιγμή, με εξαίρεση τον βιοκαταλύτη, που εάν είναι ακινητοποιημένος, παραμένει στον βιοαντιδραστήρα.
- Η αναστολή από υπόστρωμα περιορίζεται λόγω ελεγχόμενης παροχής υποστρώματος και αραίωσης.
- Είναι επισφαλής για τους ακινητοποιημένους βιοκαταλύτες, αφού ενδέχεται να παρατηρηθεί σταδιακή μηχανική καταστροφή, ως αποτέλεσμα έντονης ανάδευσης.

Βιοαντιδραστήρας στήλης

- Χρησιμοποιείται με ακινητοποιημένους βιοκαταλύτες και αποτελείται από κατακόρυφη στήλη, μέσα στην οποία βρίσκονται οι ακινητοποιημένοι βιοκαταλύτες.
- Η υγρή φάση αντιδρώντων εισάγεται από το κάτω άκρο, ενώ τα προϊόντα παραλαμβάνονται από την έξοδο της στήλης στο άνω άκρο.
- Είναι απλός και εύκολος και χαρακτηρίζεται από χαμηλό κόστος λειτουργίας, χαμηλή κατανάλωση ενέργειας και περιορισμένης έκτασης αναστολής από το προϊόν.
- Αρνητικά σημεία είναι οι δυσκολίες στην μεταφορά μάζας, πιθανή αναστολή από το υπόστρωμα λόγω ανεπαρκούς αναμίξεως, η συμπίεση των σωματιδίων του φορέα ακινητοποίησης ιδιαίτερα στα χαμηλά στρώματα και η παρεμπόδιση της διεύλεσης της υγρής φάσης μέσω της στήλης από τα σωματίδια.

- Η χρήση μικρής διαμέτρου σωματιδίων του φορέα ακινητοποίησης, ελαττώνει μεν το φαινόμενο περιορισμού διάχυσης, αυξάνει όμως την ασκούμενη πίεση, λόγω μεγαλύτερης συνολικής επιφάνειας.
- Η κατιούσα ροή μειώνει το ενεργειακό κόστος, αυξάνει όμως την πίεση επί των σωματιδίων.

Βιοαντιδραστήρας ρευστοποιημένης κλίνης (fluidized bed bioreactor)

- Τα σωματίδια με τον ακινητοποιημένο βιοκαταλύτη βρίσκονται σε συνεχή κίνηση σε ρεύμα υγρής φάσης.
- Αυτό εξασφαλίζεται χρησιμοποιώντας βιοαντιδραστήρες μεγάλου όγκου συγκρινόμενους με τον όγκο των σωματιδίων του φορέα ακινητοποίησης και διοχετεύοντας από τη βάση του βιοαντιδραστήρα ρεύμα αντιδρώντων υπό έντονη πίεση, σχηματίζοντας τυρβώδη ροή.
- Ο βιοαντιδραστήρας ρευστοποιημένης κλίνης έχει μεγάλο νεκρό (μη λειτουργικό) όγκο.
- Η παραγωγικότητα όμως αυξάνεται χρησιμοποιώντας σωματίδια με μεγαλύτερο φορτίο ενζύμων/κυττάρων.
- Διευκολύνονται ο έλεγχος και η ρύθμιση διάφορων παραγόντων, όπως το pH, η θερμοκρασία, η παροχή αέρα, κλπ.
- Η υψηλή κατανάλωση ενέργειας και η ασταθής συμπεριφορά σε μεγάλη κλίμακα δρουν ανασταλτικά στην ευρεία χρήση του βιοαντιδραστήρα ρευστοποιημένης κλίνης σε βιομηχανικές εφαρμογές.

Κινητική βιοαντιδραστήρων

Βιοαντιδραστήρας διαλείποντος έργου πλήρους αναμίξεως

- Ως γνωστόν η ταχύτητα της αντίδρασης ορίζεται ως:

$$u = \frac{-d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt}$$

- Οπότε η (8) γίνεται:

$$-\frac{d[S]}{dt} = \frac{k_3[E_o]}{1 + \frac{K_m}{[S]}} = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{K_m}{[S]}} \quad (29) \quad \text{ή}$$

$$-\left(1 + \frac{K_m}{[S]}\right) d[S] = V_{\max} dt \quad (30) \text{ και ολοκληρώνοντας} \\ \text{για } t=0 \text{ έως } t=t$$

$$-\int_{[S_o]}^{[S]} \left(1 + \frac{K_m}{[S]}\right) d[S] = \int_0^t V_{\max} dt \quad (31) \quad \text{ή}$$

$$([S_o] + K_m \ln[S_o]) - ([S] + K_m \ln[S]) = V_{\max} t \quad (32) \text{ και αν } X = ([S_o] - [S]) / [S_o],$$

$$V_{\max} t = X[S_o] - K_m \ln(1-X) \quad (33)$$

- Από την (33) υπολογίζεται ο χρόνος t για συγκεκριμένο κλάσμα μετατροπής X υποστρώματος και για συγκεκριμένη ποσότητα ενζύμου.
- Υπολογίζεται, επίσης, η ποσότητα ενζύμου E_o που απαιτείται για να επιτευχθεί συγκεκριμένο κλάσμα μετατροπής X υποστρώματος σε χρόνο t .
- Βασικές προϋποθέσεις για τους παραπάνω υπολογισμούς είναι:
 1. Διατήρηση σταθερής ενζυμικής δραστηριότητας,
 2. Η μη εμφάνιση αναστολής από υπόστρωμα ή προϊόν, και
 3. Η μη αντιστροφή της αντίδρασης.

Βιοαντιδραστήρας συνεχούς λειτουργίας πλήρους αναμίξεως

- Ο βιοαντιδραστήρας βρίσκεται υπό συνεχή και πλήρη ανάμιξη και η σύσταση του περιεχομένου του βιοαντιδραστήρα είναι η ίδια με αυτή του εξερχόμενου ρεύματος σε συνθήκες ισορροπίας (σταθερής κατάστασης).

- Ισχύει το ισοζύγιο μάζας:

$$\text{Συσσωρευόμενα} = \text{Εισερχόμενα} - \text{Εξερχόμενα} - \text{Μετατραπόμενα} \quad (34)$$

- Η μαθηματική έκφραση της (34) είναι:

$$\frac{VdS}{dt} = Q[S_0] - Q[S] - uV \quad (35)$$

- Όπου V : λειτουργικός όγκος βιοαντιδραστήρα (L),

Q : παροχή (L/min)

$[S_0]$: συγκέντρωση υποστρώματος στο ρεύμα εισόδου (mol/L),

$[S]$: συγκέντρωση υποστρώματος στον βιοαντιδραστήρα (mol/L), και

u : ταχύτητα ενζυμικής αντιδράσεως [mol/(L min)].

- Αν ορίσουμε τον ρυθμό αραίωσης (dilution rate) ως $D=Q/V$, τότε η (35) μετατρέπεται στην:

$$\frac{d[S]}{dt} = D([S_0] - [S]) - u \quad (36)$$

- Σε σταθερή κατάσταση (κατάσταση δυναμικής ισορροπίας) η συσσώρευση αντιδρώντων ή προϊόντων είναι μηδενική, δηλαδή $d[S]/dt=0$, επομένως από την (36) προκύπτει:

$$u = D([S_0] - [S]) \quad (37)$$

- Εάν υποτεθεί ότι ισχύει το ενζυμικό πρότυπο που περιγράφεται από την (8), τότε έχουμε:

$$\frac{V_{\max}}{D} = \frac{(K_m + [S]) ([S_0] - [S])}{[S]} \quad (38)$$

- Λαμβάνοντας υπόψη ότι $X = ([S_0] - [S]) / [S_0]$, έχουμε:

$$\frac{V_{\max}}{D} = X[S_0] + K_m \left(\frac{X}{1 - X} \right) \quad (39)$$

- Επειδή $V_{\max} = k_3[E_0] = k_3(E_0/V)$ και $D = Q/V$, τελικά έχουμε:

$$\frac{V_{\max}}{D} = k_3 \frac{E_0}{Q} = X[S_0] + K_m \left(\frac{X}{1 - X} \right) \quad (40)$$

- Για δεδομένα ποσότητα ενζύμου E_0 και αρχική συγκέντρωση υποστρώματος $[S_0]$, είναι δυνατόν να υπολογιστεί ο απαιτούμενος ρυθμός αραίωσης D , ώστε να επιτευχθεί συγκεκριμένο κλάσμα μετατροπής X .
- Εάν έχουμε ακινητοποιημένο ένζυμο, τότε για να υπολογιστούν οι φαινομενικές τιμές K'_m και V'_{\max} η (40) μετατρέπεται στην μορφή:

$$[S_0]X = -K'_m \left(\frac{X}{1-X} \right) + \frac{V'_{\max}}{D} \quad (41)$$

- Πειραματικά μετρούνται οι τιμές X για διάφορες τιμές $[S_0]$ και σχηματίζεται γραφική παράσταση $[S_0]X$ vs $X/(1-X)$.
- Η ευθεία έχει κλίση $-K'_m$ και τέμνει τον άξονα των τεταγμένων στο σημείο V'_{\max}/D .

Βιοαντιδραστήρας στήλης

- Στον βιοαντιδραστήρα στήλης (π.χ. βιοαντιδραστήρας ακινητοποιημένων ενζύμων ή κυττάρων) δεν έχουμε πλήρη ανάμιξη των αντιδρώντων.
- Η κινητική του συστήματος περιγράφεται από την (32).
- Αν ο χρόνος t αντικατασταθεί από τον όρο $t_R = V/Q$ (χρόνος παραμονής των αντιδρώντων στον βιοαντιδραστήρα) η (32) γίνεται:

$$V'_{\max} \frac{V}{Q} = ([S_o] - [S]) + K'_m \ln \frac{[S_o]}{S} \quad (42)$$

- Λαμβάνοντας υπόψη ότι $X = ([S_0] - [S]) / [S_0]$, έχουμε:

$$V'_{\max} \frac{V}{Q} = \frac{V'_{\max}}{D} = X[S_0] - K'_m \ln(1 - X) \quad (43)$$

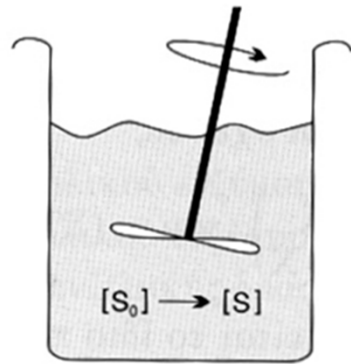
- Στον βιοαντιδραστήρα στήλης σημαντικός όγκος καταλαμβάνεται από τη στερεά φάση του φορέα ακινητοποίησης.
- Συνεπώς στην (43) ως λειτουργικός όγκος (V) πρέπει να θεωρηθεί ο υγρός όγκος V_l του βιοαντιδραστήρα και όχι ο συνολικός όγκος του, καθώς ο χρόνος παραμονής κάθε ουσίας εξαρτάται από τον χρόνο παραμονής της υγρής φάσης στον βιοαντιδραστήρα.
- Αν ορίσουμε ως $\varepsilon_v = V_l / V_t$, τότε η (43) γίνεται:

$$V'_{\max} \frac{\varepsilon_v V_t}{Q} = X[S_0] - K'_m \ln(1 - X) \quad (44) \quad \text{ή}$$

$$k_3 \frac{E_o}{Q} = k_3 \frac{E_o t_R}{V_l} = X[S_o] - K'_m \ln(1 - X) \quad (45)$$

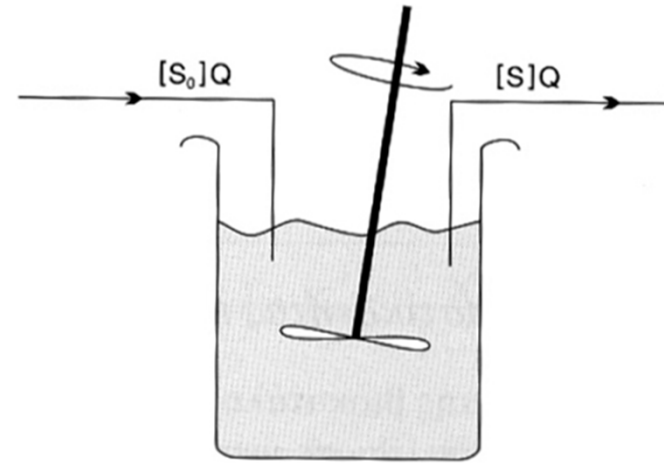
- Από την (44) μπορεί να υπολογιστεί η παροχή Q που απαιτείται για συγκεκριμένο κλάσμα μετατροπής X.
- Οι φαινομενικές τιμές K'_m και V'_{max} υπολογίζονται πειραματικά με μέτρηση του X για διάφορες τιμές $[S_o]$.
- Η γραφική παράσταση $[S_o]X$ vs $\ln(1-X)$ [σχέση (46)] είναι ευθεία με κλίση K'_m , η οποία τέμνει τον άξονα των τεταγμένων στο σημείο $V'_{max} V_l/Q$.

$$[S_o]X = K'_m \ln(1 - X) + V'_{max} \frac{V_l}{Q} \quad (46)$$



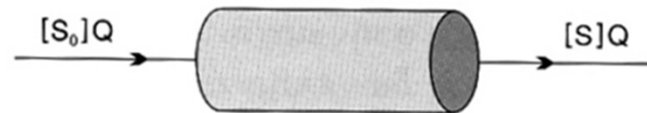
$$k_3 \frac{E_0}{V} t = V_{\max} t = X[S_0] - K_m \ln(1 - X)$$

(α)



$$k_3 \frac{E_0}{Q} = \frac{V_{\max}}{D} = X[S_0] + K_m \cdot \frac{X}{1 - X}$$

(β)



$$k_3 \frac{E_0}{Q} = \frac{V_{\max}}{D} = X[S_0] - K_m \ln(1 - X)$$

(γ)

Σχ. 63. Κύριοι τύποι βιοαντιδραστήρων και κινητικές εξισώσεις: (α) διαλείποντος έργου, (β) συνεχούς λειτουργίας πλήρης ανάμιξης, και (γ) στήλης.

Απαίτηση βιοαντιδραστήρων σε συγκέντρωση ενζύμου

- Υπενθυμίζεται η σχέση (8) που περιγράφει την ταχύτητα της ενζυμικής αντιδράσεως:

$$u_o = \frac{V_{\max} [S]}{[S] + K_m} \quad (8)$$

- Έχουμε τις παρακάτω 2 ακραίες περιπτώσεις:

A. $[S_o] \gg K'_m$. Έχουμε ενζυμική αντίδραση μηδενικής τάξεως.

- Στην περίπτωση αυτή, οι απαιτήσεις σε ακινητοποιημένο ένζυμο του συνεχούς λειτουργίας βιοαντιδραστήρα πλήρους αναμίξεως (Σ) και του βιοαντιδραστήρα στήλης (ΣΤ) είναι παρόμοιες, γιατί και για τους δύο ισχύει η σχέση:

$$V'_{\max}/D = [S_o]X \quad (47) \text{ (Στις (40) και (43))}$$

μηδενίζονται οι K_m και K'_m αντίστοιχα).

- B. $[S_o] \ll K'_m$. Έχουμε ενζυμική αντίδραση πρώτης τάξεως.

- Στις (40) και (43) μηδενίζεται ο $X[S_o]$, οπότε αυτές μετατρέπονται στις:

$$(\Sigma): \frac{k_3 E_o^{(\Sigma)}}{Q} = K'_m \left(\frac{X}{1 - X} \right) \quad (48) \quad \text{και}$$

$$(\Sigma T): \frac{k_3 E_o^{(\Sigma T)}}{Q} = - K'_m \ln(1 - X) \quad (49)$$

• Υποθέτοντας ότι χρησιμοποιείται το ίδιο ενζυμικό παρασκεύασμα και έχουμε τον ίδιο ρυθμό παροχής Q, τότε διαιρώντας τις (48) και (49) κατά μέλη έχουμε:

$$\frac{E_o^{(\Sigma)}}{E_o^{(\Sigma T)}} = \frac{-X}{(1 - X) \ln(1 - X)} \quad (50)$$

• Από την (50) εκτιμάται η μεταξύ των δύο βιοαντιδραστήρων αναλογία απαιτούμενου ενζύμου για συγκεκριμένο κλάσμα μετατροπής.

Αναστολή ενζυμικής δραστηριότητας και ενζυμική σταθερότητα

- Κατά τη βιομηχανική εφαρμογή χρησιμοποιείται συχνά υψηλή $[S_0]$ και επιδιώκεται υψηλό ποσοστό μετατροπής.
- Συνεπώς, φαινόμενα ενζυμικής αναστολής από υπόστρωμα, προϊόν ή άλλες προσμίξεις ενδεχομένως να επηρεάσουν την απόδοση του συστήματος.
- Ο βιοαντιδραστήρας συνεχούς λειτουργίας πλήρους αναμίξεως δεν επηρεάζεται ιδιαίτερα λόγω ενζυμικής αναστολής από υπόστρωμα, αφού αυτό αραιώνεται αμέσως με την είσοδό του, αντίθετα με τον βιοαντιδραστήρα στήλης.
- Η ενζυμική αναστολή από προϊόν έχει ισχυρότερη επίδραση στον συνεχή βιοαντιδραστήρα πλήρους αναμίξεως, καθώς παρουσιάζει ομοιόμορφη κατανομή προϊόντος σε όλο τον όγκο του.
- Η ενζυμική αναστολή από προϊόν έχει αρνητικά αποτελέσματα και στον βιοαντιδραστήρα στήλης, παρόλο που η συγκέντρωση του προϊόντος στην είσοδο είναι σχετικά μικρή.

- Στην πράξη συχνά απαιτείται σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης του ενζύμου, ώστε να περιορισθούν φαινόμενα ενζυμικής αναστολής και να παραμείνει σταθερό το κλάσμα μετατροπής για δεδομένο ρυθμό παροχής.
- Μέχρι τώρα, θεωρούσαμε ότι η καταλυτική δραστηριότητα του ενζύμου (ελεύθερου ή ακινητοποιημένου) παραμένει σταθερή.
- Στην πράξη κάτι τέτοιο δεν ισχύει για μεγάλο χρονικό διάστημα. Η φθορά της ενζυμικής δραστηριότητας περιγράφεται από τη σχέση:

$$\ln \frac{E^{(t)}}{E^{(0)}} = -k_d t \quad (51)$$

- όπου: $E^{(0)}$: συγκέντρωση συνολικού ενζύμου σε χρόνο μηδέν (t_0),
 $E^{(t)}$: συγκέντρωση συνολικού ενζύμου σε χρόνο t ,
 k_d : σταθερά φθοράς ενζυμικής δραστηριότητας.

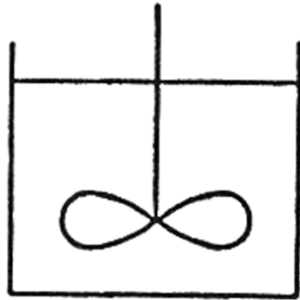
- Ο υπολογισμός της k_d επιτυγχάνεται από τον λόγο των σχέσεων που περιγράφουν τον βιοαντιδραστήρα.
- Για παράδειγμα, με k_3 και D σταθερά, και για διαφορετικούς χρόνους λειτουργίας t_0 και t , για τον βιοαντιδραστήρα συνεχούς λειτουργίας πλήρους αναμίξεως έχουμε:

$$\ln \frac{E^{(t)}}{E^{(0)}} = \ln \frac{X^{(t)} [S_o] + K_m \frac{X^{(t)}}{1 - X^{(t)}}}{X^{(0)} [S_o] + K_m \frac{X^{(0)}}{1 - X^{(0)}}} = -k_d t \quad (52)$$

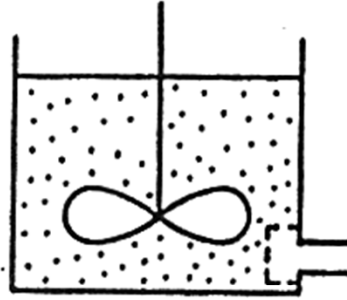
- Εφόσον γνωρίζουμε την k_d , η $V_{\max}^{(t)}$ της αντίδρασης σε κάθε χρονική στιγμή t υπολογίζεται από την:

$$\frac{V_{\max}^{(t)}}{D} = \frac{V_{\max}^{(0)}}{D} \exp(-k_d t) \quad (53)$$

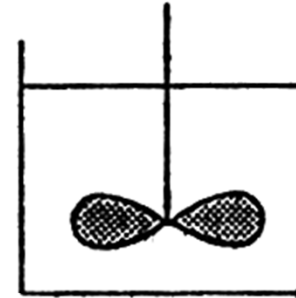
- Η αιτία φθοράς του ενζύμου δεν είναι μόνο ο χρόνος, αλλά και άλλοι παράγοντες, όπως π.χ. η ποσότητα αντιδρώντων που πέρασαν από τον βιοαντιδραστήρα.



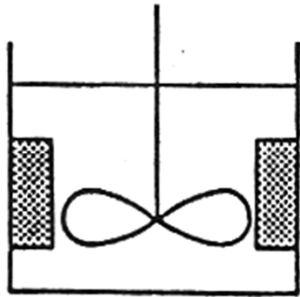
Αναδευόμενος διαλυτών ενζύμων



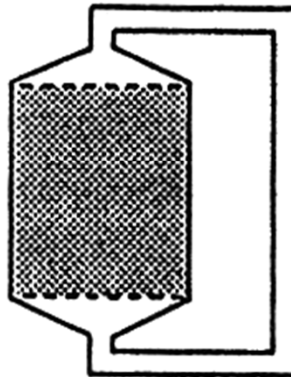
Αναδευόμενος ακινητοποιημένων ενζύμων υπο μορφή αφηρήματος



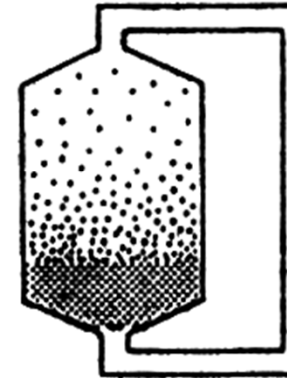
Αναδευόμενος ακινητοποιημένων ενζύμων στην έλικα ανάδευσης



Αναδευόμενος ακινητοποιημένων ενζύμων σε ειδικές θέσεις

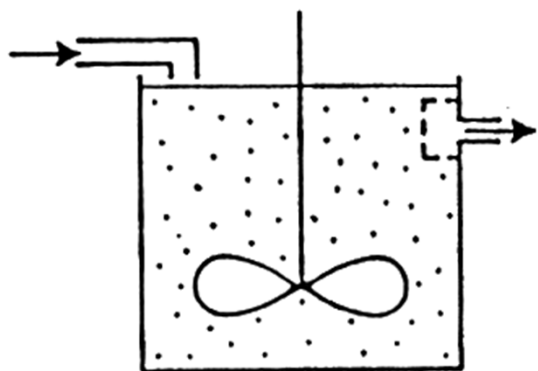


Στερεάς κλίνης ολικής ανακύκλωσης

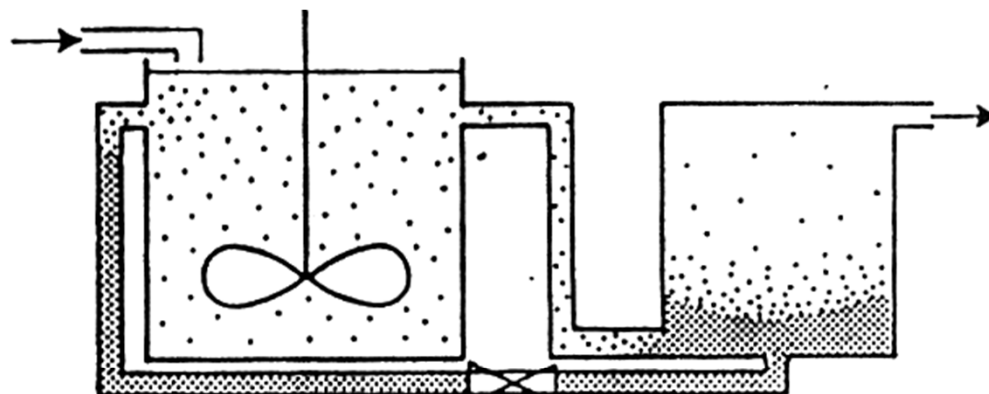


Ρευστοστερεάς κλίνης ολικής ανακύκλωσης

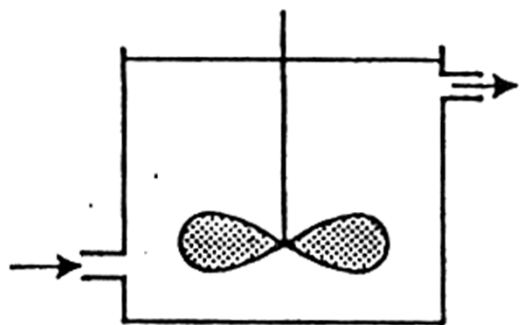
Σχ. 64. Τύποι βιοαντιδραστήρων διαλλείποντος έργου.



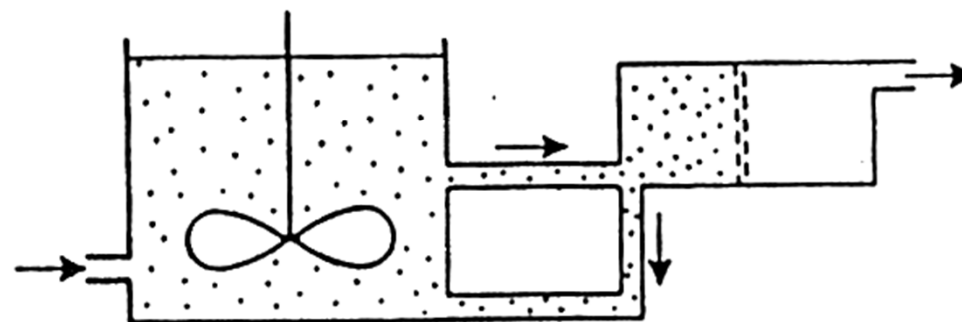
Αναδευόμενος με ανάκτηση προϊόντος μέσω διήθησης



Αναδευόμενος με ανάκτηση προϊόντος μέσω καθίζησης

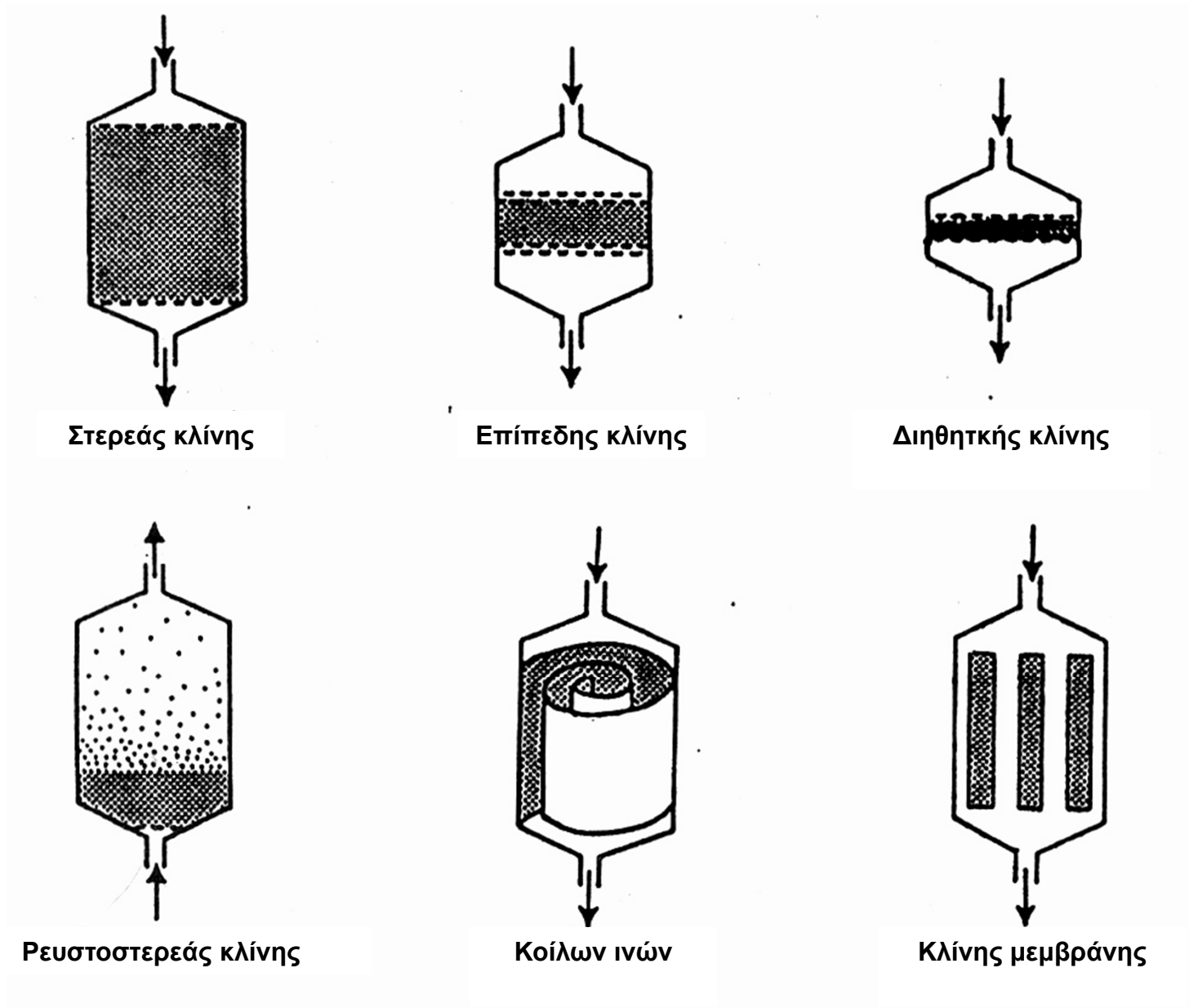


Αναδευόμενος ακινητοποιημένων ενζύμων στην έλικα ανάδευσης



Αναδευόμενος με ανάκτηση προϊόντος μέσω διήθησης

Σχ. 65. Τύποι βιοαντιδραστήρων συνεχούς λειτουργίας.



Σχ. 66. Τύποι βιοαντιδραστήρων στήλης (εμβολικής ροής).

Γενικά, γιατί προτιμούνται τα συστήματα συνεχούς λειτουργίας?

Πλεονεκτήματα

- Αυξημένη παραγωγικότητα.
- Βελτιωμένος έλεγχος της παραγωγικής διαδικασίας.
- Μειωμένο κόστος λειτουργίας.
- Εύκολος χειρισμός συστήματος.

Μειονεκτήματα

- Αυξημένο κόστος επένδυσης.
- Προβλήματα συντήρησης βιοκαταλυτών σε περιόδους που δεν υπάρχει παραγωγή.

Αερισμός σε βιοαντιδραστήρες μικροοργανισμών

- Η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου στο θρεπτικό υλικό του βιοαντιδραστήρα επιδρά αποφασιστικά τόσο στον μεταβολισμό, όσο και στον ρυθμό ανάπτυξης και παραγωγής προϊόντων από τα κύτταρα.
- Ο αερισμός του συστήματος πραγματοποιείται με παροχή αέρα μέσω αποστειρωμένου φίλτρου και ειδικού διανομέα, για τη δημιουργία μικρών φυσαλλίδων στη μάζα του θρεπτικού υλικού.
- Το φαινόμενο της μεταφοράς οξυγόνου στο σύστημα εξαρτάται από τον ρυθμό παροχής αέρα και από την ανάδευση.
- Κατά τον σχεδιασμό βιοαντιδραστήρων, η ανάδευση υπολογίζεται με βάση τις ανάγκες μεταφοράς οξυγόνου και όχι με βάση τις ανάγκες ανάμιξης του υποστρώματος, γιατί οι ανάγκες του κυττάρου σε θρεπτικά υλικά καλύπτονται ακόμα και από χαμηλούς ρυθμούς ανάδευσης, σε αντίθεση με τις ανάγκες για οξυγόνο.

Το πρόβλημα του αφρισμού

- Ο αφρισμός του θρεπτικού μέσου συνοδεύει όλες τις αερόβιες ζυμώσεις και οφείλεται κυρίως στην παραγωγή πεπτιδίων και πρωτεϊνών.
- Για την αντιμετώπιση του προβλήματος, προστίθενται αντιαφριστικές ουσίες που μειώνουν την επιφανειακή τάση.
- Τέτοιες ουσίες είναι φυσικά έλαια, ενώσεις σιλικόνης και αλκοόλες μεγάλου μοριακού βάρους.
- Η προσθήκη των αντιαφριστικών ουσιών γίνεται σε διάφορα χρονικά διαστήματα, είτε με προκαθορισμένο πρόγραμμα προσθήκης, ή με αυτόματη ενεργοποίηση αντλίας προσθήκης αντιαφριστικού από ηλεκτρόδιο που είναι τοποθετημένο στον βιοαντιδραστήρα, όταν ο αφρός ξεπεράσει ένα προκαθορισμένο ύψος.
- Καθώς τα περισσότερα αντιαφριστικά μέσα επηρεάζουν τη ζύμωση, κυρίως μέσω μεταβολής του ρυθμού διάλυσης του οξυγόνου στο θρεπτικό υλικό, χρησιμοποιούνται, εναλλακτικά, ειδικές διατάξεις μηχανικής διάσπασης του αφρού.

Μέθοδοι αποστείρωσης

1. Θέρμανση.

- Είναι ο πιο συνηθισμένος τρόπος αποστείρωσης, κατάλληλος για υγρά και στερεά μέσα.
- Μπορεί να γίνει είτε με ξηρή θέρμανση, είτε με υδρατμούς.
- Η αποστείρωση με υδρατμούς είναι πιο αποτελεσματική, καθώς η ανθεκτικότητα πολλών επιβλαβών βακτηρίων αυξάνει κάτω από συνθήκες ξηρασίας, με αποτέλεσμα ο ρυθμός θανάτωσης να είναι μικρότερος.
- Οι εργαστηριακοί κλίβανοι λειτουργούν σε πίεση 2atm και θερμοκρασία 121°C. Σε αυτές τις συνθήκες, αποστείρωση για 15min θεωρείται ικανή να θανατώσει ακόμα και σπόρια βακτηρίων που θεωρούνται ανθεκτικά.

2. Χημικά αντιδραστήρια.

- Η θανάτωση των μικροοργανισμών βασίζεται στην οξειδωτική και αλκυλιωτική δράση τους.
- Δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην αποστείρωση θρεπτικών υλικών.
- Αντίθετα, χρησιμοποιούνται ευρέως για απολύμανση επιφανειών με σκοπό την απομάκρυνση ή μείωση του κινδύνου μόλυνσης από παθογόνους μικροοργανισμούς.
- Παραδείγματα χημικών αντιδραστηρίων είναι οι αλκοόλες (αιθανόλη, μεθανόλη), οξέα, διάφορα απορρυπαντικά, κλπ.

3. Ακτινοβολία.

- Ακτινοβολία μήκους κύματος 260-270nm παρουσιάζει υψηλή βακτηριογόνο δράση, λόγω καταστροφής του DNA των κυττάρων.
- Όμως, η υπεριώδης ακτινοβολία παρουσιάζει πολύ μικρή διεισδυτική ικανότητα και συνεπώς η δράση της περιορίζεται σε αποστείρωση επιφανειών.

- Αντίθετα, οι ακτίνες X αν και έχουν μεγάλη διαπεραστική ικανότητα, δεν χρησιμοποιούνται βιομηχανικά, λόγω του υψηλού κόστους.

4. Μηχανικά μέσα.

- Ηχητικά και υπερηχητικά κύματα είναι δυνατόν να προκαλέσουν λύση κυττάρων.

5. Φιλτράρισμα, υπερφυγοκέντρωση.

- Τα βακτηριοστατικά φίλτρα χρησιμοποιούνται για αποστείρωση υγρών ή αερίων, ενώ η υπερφυγοκέντρωση για αποστείρωση υγρών.
- Το μέγεθος των οπών των βακτηριοστατικών φίλτρων πρέπει να είναι $\leq 0.22\mu\text{m}$.