

Příspěvek k bioinženýrské analýze provozních dat z výroby pekařského droždí

663.14.03

Ing. MIROSLAV SOBOTKA, CSc., Ing. JAROSLAV VOTRUBA, CSc., Prof. Ing. VLADIMÍR KRUMPHANZL, DrSc., Mikrobiologický ústav ČSAV, Praha, Ing. VLADIMÍR HRADEC, Konzervárny a lihovary, GR, Praha

ÚVOD

Matematické modely postavené na bilanci hmoty a jejich užití v mikrobiálním inženýrství je jednou z možností ke studiu jak metabolismu buňky, tak jeho řízení. Reálná cesta, jak racionalizovat fermentační proces, je v syntéze znalostí o inženýrské a biologické podstatě pozorovaných jevů, tj. ve spojení prostředků systémové analýzy vlivů prostředí a odpovědí mikroorganismů na tyto změny.

Ověřování matematických modelů v praxi může být úspěšně realizováno na základě snímání růstových a inženýrských dat, charakterizujících klíčové či řídící pochody jak ve vlastním biologickém procesu, tak ve vnějším prostředí. Z tohoto hlediska bylo také navrženo off-line řízení průmyslové výroby pekařského droždí při fed-batch kultivaci kvasinky *S. cerevisiae* rostoucí na melase právě se zřetelem na kinetiku metabolismu a dynamické chování fermentoru.

Je známo, že nadbytek cukru způsobuje tzv. Crabtree efekt, projevující se v nadbytečné tvorbě etanolu, jehož inhibiční účinek se projeví zpomalením růstu a tím snížením produktivity zařízení. Limitace procesu kyslíkem způsobuje rovněž anaerobní kvašení — Pasteurův efekt, který se projevuje také zvýšenou tvorbou etanolu. Se zvýšením intenzity aerace se výrazně mění aktivita enzymů v glykolytické dráze. Výrazně klesá aktivita alkohol-dehydrogenázy, pyruvátdekarboxylázy [1], což jen dokazuje význam aerační účinnosti v energetickém metabolismu buňky. Proto je žádoucí vést proces tak, aby byla zabezpečena dostatečná dodávka kyslíku a dávkovat C-zdroj tak, aby nevznikla příliš velká zbytková kon-

centrace cukru. Pro efektivní řízení výroby je nutné znát maximální aerační kapacitu ($k_L a$), vedle toho změřit rychlosť tvorby etanolu a kyslíkovou bilanci, z níž určíme specifickou spotřebu kyslíku (Q_{O_2}) spolu se specifickou růstovou rychlosť μ . Řídící funkce musí zůstat vysoká objemová produkce s vysokým výtěžnostním koeficientem na vnesený cukr $Y_{X/C}$. Nedostatek senzorů v průmyslu poněkud omezuje sběr takových dat a v současné době je výroba schopna sledovat tyto proměnné veličiny procesu (tab. 1) a z nich vypočítat následující bioinženýrské parametry, které však postačí na vybalancování výrobní jednotky a návrh řízení výroby.

Tabulka 1

Veličina	Parametr
koncentraci rozpustěného kyslíku	$k_L a, T_{mix}$
koncentraci kyslíku ve výstupu	N_a, Q_{O_2}
koncentraci CO_2 ve výstupu	R_Q
koncentraci biomasy	μ
koncentraci C-zdroje (zbytkový)	$Y_{X/C}$
koncentraci zbytkového dusíku	$Y_{X/N}$
koncentraci etanolu ve výstupu	R_{ETOH}
pH, T, otáčky míchadla	

Pro řízení výroby byl navržen způsob dávkování C-zdroje podle koncentrace etanolu ve výstupním plynu v rozmezí 0,5–1,0 %, nebo lze využít údajů o koncentraci CO_2 ve výstupu a řídit dávkování C-zdroje, resp. tvorbu etanolu podle hodnoty R_Q , která v rozmezí 1,0 až 1,1 odpovídá technologicky nejvhodnější oblasti za-

ručující maximální objemovou produkci s vysokým výtěžnostním koeficientem [2—4].

MATERIÁL A METODY

Při výrobě byl užit komerční kmen *S. cerevisiae*, cukernatost melasy C_M byla 32° Bg.

Koncentrace rozpuštěného kyslíku byla měřena polarografickou kyslíkovou elektrodou Pt-Ag s membránou PPP o tloušťce 15 μm a $T_{90} = 7$ s. Koncentrace zbytkového etanolu ve fermentační půdě byla měřena nepřímou metodou přes analyzátor METREX [5] ve výstupním plynu. Redukující cukry byly stanoveny metodou podle Schoorla [6]. Koncentrace biomasy byla měřena gravimetricky. Pracovní objem fermentoru CHEPOS (100 m³) byl využíván na 60 %.

VÝSLEDKY A DISKUSE

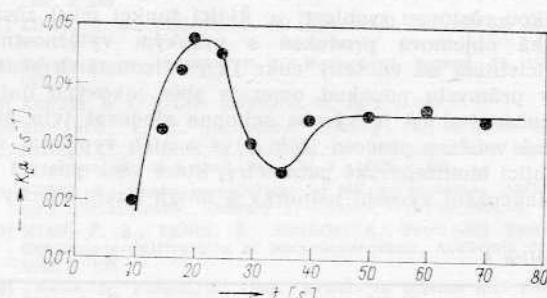
Bilance hmoty ve fed-batch kultivaci

1. Měření aerační kapacity

Stanovení aerační kapacity $k_L a$ je nutné pro výpočet maximálně možného nárůstu biomasy se zřetelem na limitaci kultivace kyslíkem. Výpočet byl proveden ze záznamu rychle reagující elektrody po dobu přechodu vsádky fermentoru z režimu nulové do režimu plné aerace metodou adaptivní identifikace [7]. Zjištěná hodnota $k_L a$ byla 120 h⁻¹ (obr. 1). Z průběhu závislosti $k_L a$ na čase lze odhadnout i dobu cirkulace média ve fermentoru. Změny koncentrace rozpuštěného kyslíku v kapalině mají obdobný průběh jako závislost distribuce traceru, který může být užit pro zjištění doby homogenizace [8]. Za předpokladu limitace kultivace v oblasti 15 % zbytkové koncentrace rozpuštěného kyslíku a hodnoty specifické růstové rychlosti $Q_O_2 = 0,025$ kg O₂/kg.h byl vypočten maximální nárůst biomasy 29 kg/m³ za kyslíkem nelimitovaného růstu podle vztahu:

$$k_L a (C^* - C) = Q_O_2 \cdot X_{\max} \quad (1)$$

kde: $k_L a$ je aerační kapacita, C^* — rovnovážná koncentrace kyslíku, C — okamžitá koncentrace kyslíku, Q_O_2 — specifická spotřeba kyslíku, X_{\max} — maximální nárůst biomasy.



Obr. 1. Průběh závislosti $k_L a$ na čase pro provozní fermentor

Z vypočtené hodnoty vyplývá, že při stávající technologii, konstrukci zařízení a použitém mikroorganismu není ekonomické z hlediska výtěžnostního koeficientu pokračovat v kultivaci nad koncentrací 3 % hmotové sušiny. Nad touto koncentrací se zvyšuje tvorba etanolu. Experimentálně odměřená hodnota koncentrace biomasy, odpovídající zlomu závislosti růstu na čase, byla 31 kg/m³. Rychlosť absorpcie kyslíku N_a byla vypočtena z bilance plynu podle zjednodušeného tvaru rovnice:

$$N_a = \frac{P \cdot M \cdot V_G'}{R \cdot T \cdot V_L} (y_1 - y_2) \quad (2)$$

kde: P je tlak plynu na vstupu, M — molekulová hmota, V_G' — objemový průtok vzduchu, R — plynová konstanta, T — teplota, V_L — objem vsádky, $(y_1 - y_2)$ — koncentrační rozdíl kyslíku mezi vstupním a výstupním plymem měřený kyslíkovou elektrodou.

2. Specifická spotřeba kyslíku Q_O_2

byla definována vztahem:

$$Q_O_2 = \frac{Na}{X} \quad (3)$$

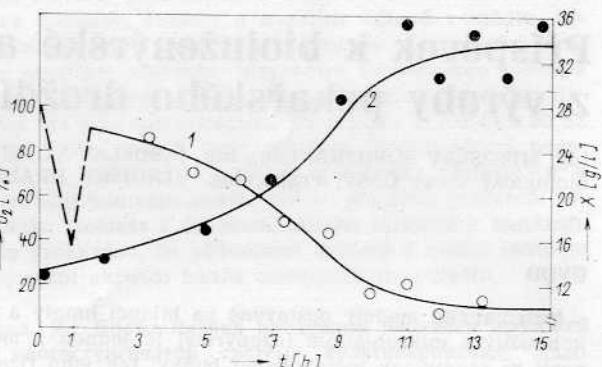
kde: X je koncentrace biomasy. Používaná hodnota Q_O_2 byla 0,025 kg/kg.h.

3. Bilance biomasy

Jelikož se v průběhu kultivace mění objem média, je nutné korigovat obvykle používané metody na tyto změny. Specifická růstová rychlosť byla vypočtena z provozních dat podle vztahu:

$$\mu = \frac{\ln (V_2 X_2 / V_1 X_1)}{t_2 - t_1} \quad (4)$$

kde: V_1 a V_2 jsou objemy při koncentraci biomasy X_1 a X_2 v čase t_1 a t_2 . Specifická růstová rychlosť μ byla mimo oblast limitace kyslíkem 0,175 h⁻¹ při dávkování melasy v rozmezí 0,1—0,3 % etanolu na výstupu. Koncentrace zbytkového cukru se pohybovala při uvedených podmínkách v rozmezí 0,1—2,0 g/l. Experimentálně odměřený průběh koncentrace biomasy spolu s průběhem koncentrace rozpuštěného kyslíku je znázorněn na obr. 2.



Obr. 2. Průběh koncentrace rozpuštěného kyslíku (1) a koncentrace biomasy (2) v čase (experimentální data)

4. Výpočet optimální násady

Optimální násadu pro expediční fermentor, změřenou růstovou rychlosť a zvolený 16hodinový výrobní cyklus lze vypočítat podle vztahu:

$$X_{\max} / X_{\text{opt}} = \exp (\mu \cdot t) \quad (5)$$

Pro $\mu = 125$ h, $t = 14$ h, $X = 29$ kg/m³ byla optimální násada 5,1 kg/m³. Pro výpočet byl použit čas 14 h, neboť poslední 2 h je kultivace limitována C-zdrojem pro zvýšení kvality droždi.

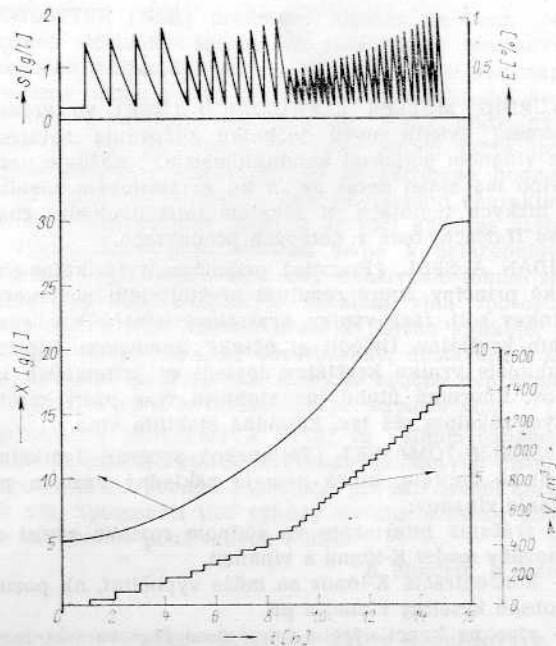
5. Výtěžnostní koeficient

Pro podmínky fed-batch kultivace byl globální výtěžnostní koeficient vypočten z bilance cukru a biomasy za celé období fermentace:

$$Y_{X/S} = \frac{V_2 X_2 - V_1 X_1}{V_1 S_1 - V_2 S_2 + [V_2 - V_1] C_M} \quad (6)$$

V je objem vsádky, X — koncentrace biomasy, S — koncentrace substrátu při daném objemu a koncentraci biomasy, C_M — cukernatost melasy. Výtěžnostní koeficient vztázený na cukr z celkové bilance byl 0,45 kg/kg cukru, tj. 95 % teoretické hodnoty. Průběh dávkova-

vání melasy pro předpověděný průběh růstu je znázorňen na obr. 3 spolu s průběhem koncentrace etanolu ve výstupním plynu s maximální koncentrací do 1% a maximální zbytkovou koncentrací cukru 2 g/l.



Obr. 3. Simulovaná závislost koncentrace biomasy v čase s vypočteným dávkovaním C-zdroje (m^3) při povolené koncentraci ETOH na výstupu a odpovídající koncentraci zbytkového cukru

Zpracováním provozních dat lze tímto způsobem navrhnout řízení průmyslové výroby pekařského droždí přes řídící počítač v kombinaci s regulátorem METREX a regulačním ventilem na přítoku melasy tak, aby bylo dosaženo vysoké objemové produkce s maximálním výtežnostním koeficientem.

Literatura

- [1] OURA, F.: Biotechnol. Bioeng. **18**, 1976, s. 415
- [2] WANG, H. Y., COONEY, C. L., WANG, D. I. C. Biotechnol. Bioeng. **21**, 1979, s. 975
- [3] DIETRICH, R. K.: Albaufluerwertung Abwasserreinigung. Springer, Heidelberg, 1975
- [4] AIBA, S., NAGAI, S., NISHIZAWA, Y. Biotechnol. Bioeng. **18**, 1001 (1976)
- [5] KADLEC, M., SLÁDEČEK, J. Čs. patent č. 142889

- [6] JANÍČEK, C., ŠANDERA, K., HAMPL, B.: Rukověť potravinářské technologie, SNTL, Praha 1962
- [7] SOBOTKA, M., VOTRUBA, J. Coll. Czech. Chem. Comm. **45**, 1980, s. 2286
- [8] KHANG, S. J., LEVENSPIEL, O. Chem. Eng. **11**, 1976, s. 141

Sobotka, M. - Votruba, J. - Krumphanzl, V. - Hradec, V.:
Příspěvek k bioinženýrské analýze provozních dat z výroby pekařského droždí. Kvas. prům., **28**, 1982, č. 4, s. 87—89.

Na základě bilance hmoty byl sestaven matematický model, jehož platnost byla ověřena návrhem off-line řízení průmyslové výroby pekařského droždí. Řídící funkci byla vysoká objemová produkce a vysoký výtežnostní koeficient.

Соботка, М., Воторба, Я., Крумфланzl, В., Храдец, В.:
К биоинженерному анализу эксплуатационных данных по производству хлебопекарных дрожжей. Квас. прум., 28, 1982, № 4, стр. 87—89.

На основе баланса биомассы была составлена математическая модель, действительность которой была проверена проектом off-line регулирования промышленного производства хлебопекарных дрожжей. Регулирующей функцией было высокое объемное призводство и высокий коэффициент выхода.

Sobotka, M. - Votruba, J. - Krumphanzl, V. - Hradec, V.:
Contribution to Bioengineering Analysis of Data from Commercial Bakers Yeast Production. Kvas. prům. **28**, 1982, No. 4, pp. 87—89.

A mathematical model has been worked out on the basis of biomass balance. Its applicability has been controlled by an off-line design of the regulation of bakers' yeasts industrial production. A high capacity production and a high yield coefficient were given by function of regulation.

Sobotka, M. - Votruba, J. - Krumphanzl, V. - Hradec, V.:
Beitrag zur biochemischen Analyse der Betriebsdaten aus der Backhefeproduktion. Kvas. prům. **28**, 1982, No. 4, S. 87—89.

Aufgrund der Substanzbilanz ist ein matematisches Modell aufgestellt worden, dessen Gültigkeit durch den Vorschlag einer off-line-Führung der Industrie-Produktion von Bäckerhefen bewiesen wurde. Die Regulierfunktion war hierin durch den großen Gesamtumfang der Produktion sowie den hohen Ausbeutekoefizient gegeben.