

מעבדה בהנדסה ביוטכנולוגית

פרמאנטיה

מתקנים

מני

וקטי

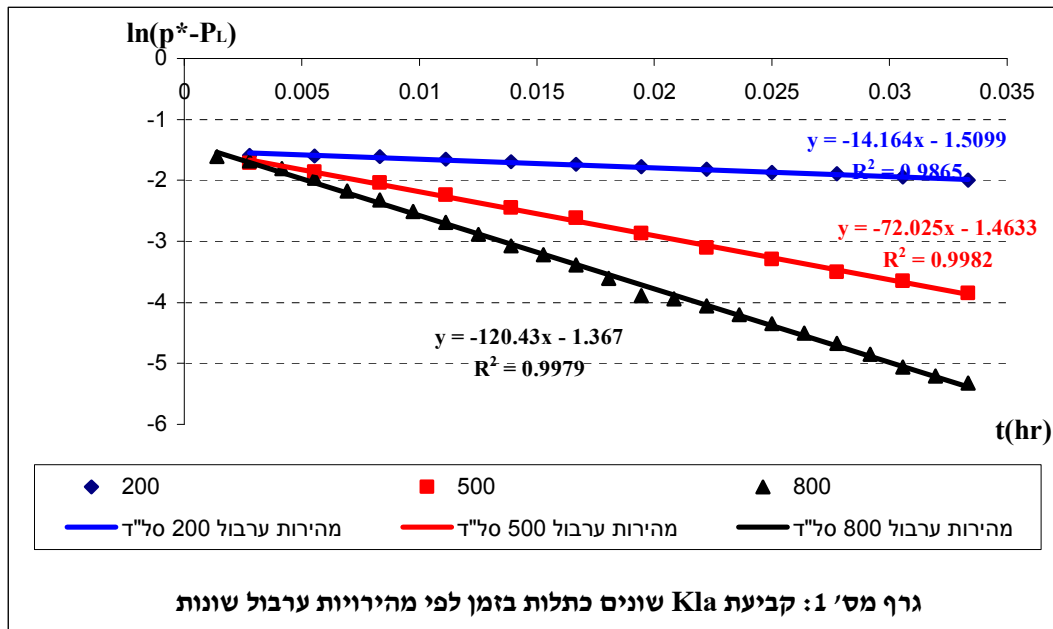
271040310/ 2	מס' קבוצה
ד"ר ניסים סמואלוב	שם המרצה
30-29/1/2007	תאריך המעבדה
4/2/2007	תאריך הגשה

**טבלה מס' 1: נתונים גולמיים**

X(g/l)	Glu (gr/l)	OD 660	Cl%	pH	זמן דקות	שעה	זמן שעות
0.0791	15.52	0.226	99.4	5.45	0 no yeast		
0.0931	14.04	0.266	93.6	5.05	0	8:50	0.00
0.11305	12.95	0.323	96.7	5.1	82	10:12	1.37
0.12565	12.85	0.359	96.3	5.08	120	10:50	2.00
0.2023	11.75	0.578	95.2	5.03	180	11:50	3.00
0.2828	11.25	0.808	93.5	4.92	244	12:50	4.07
0.5215	9.95	1.490	91.6	4.95	300	13:50	5.00
0.75075	6.25	2.145	87.2	5.02	400	14:50	6.67
1.176	0	3.360	83.8	5.05	430	16:00	7.17

**קביעת  $K_L a$  (מקדם מעבר החמצן)**

עבור כל RPM ערכנו ניסוי בו כל שאר הפרמטרים נותרו זהים. הניסוי התבצע על ידי Gasing Out של החמצן על ידי חנקן עד לירידת ריכוז החמצן המומס למינימום, ולאחר מכן כניסה מחדשת של אוויר תוך רישום מעקב אחר שינוי ריכוז החמצן המומס. קצב עלית ריכוז החמצן המומס הוא  $K_L a$ .



\* תוך שמירה על פרמטרים פיזיקאליים קבועים

$$\ln(P^* - P_L) = \ln(P^* - P_{L0}) - K_L a \cdot t \quad \Leftrightarrow \quad N_A = \frac{dP_L}{dt} = K_L a (P^* - P_L)$$

משיפוע הגרף ניתן למצוא את  $K_L a$ :

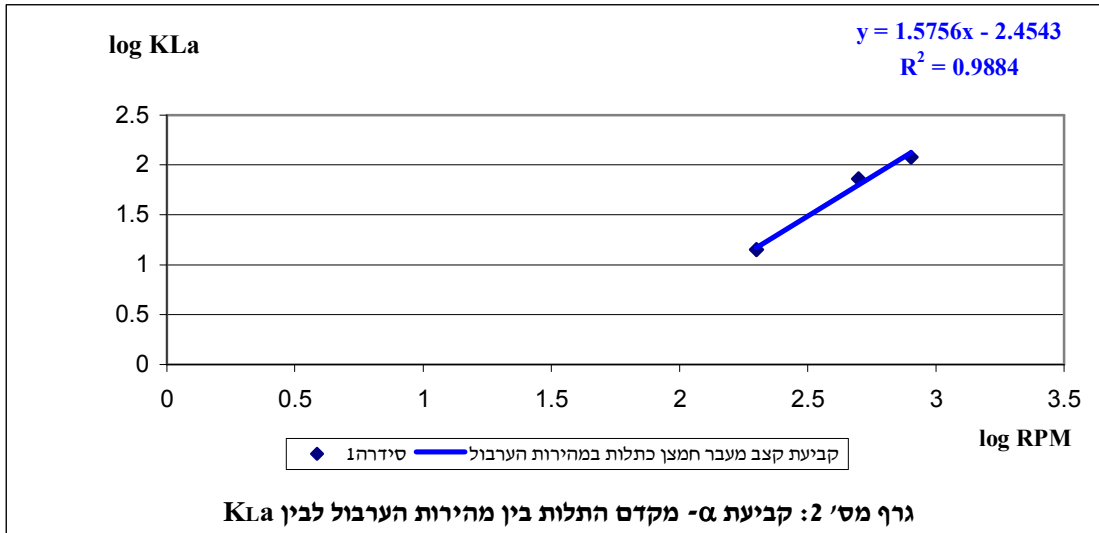
$$K_L a(\text{Rpm}=200) = 14.164_{\text{hr}^{-1}}$$

$$K_L a(\text{Rpm}=500) = 72.025_{\text{hr}^{-1}}$$

$$K_L a(\text{Rpm}=800) = 120.43_{\text{hr}^{-1}}$$

ניתן לראות כי ככל שמעלים את ה-Rpm (קצב הבחישה) ה- $K_L a$  גדל.

## חישוב ערך המעריך $\alpha$

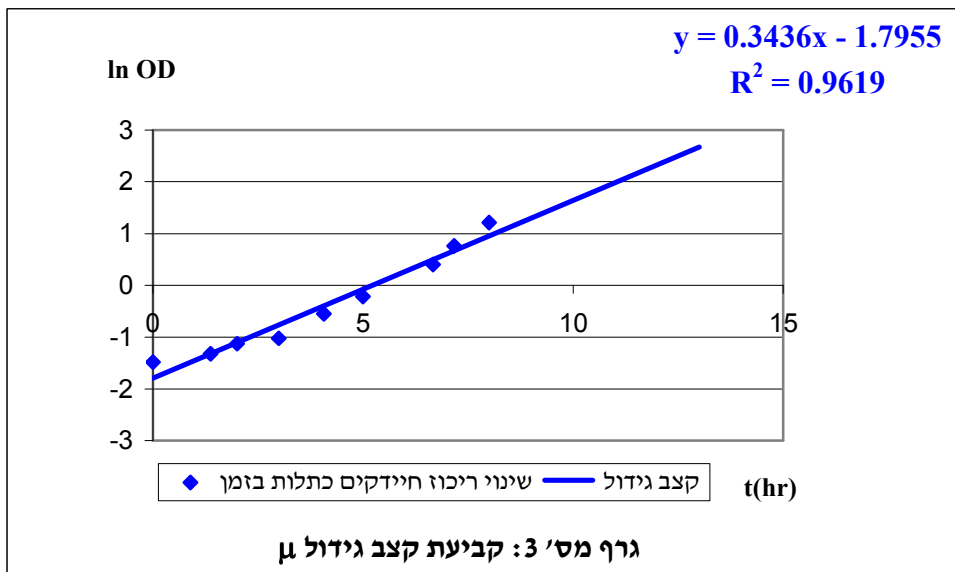


$$\log(K_L a) = \alpha \cdot \log(RPm) \Rightarrow K_L a = RPm^\alpha$$

משיפוע הגרף ניתן לראות כי  $\alpha=1.5756$  ולכן ניתן לומר מתקיימת פרופורציה בין הלוגריתמים של  $RPm$  ו- $K_{La}$ .

## חלק ב': מעקב אחר תהליך מנתי

קביעת קצב הגידול הסגולי  $\mu$



$$\ln(x) = \ln(x_0) + \mu \cdot t$$

\* ערך ה-O.D. מהווה מדד לריכוז השמרים  $10.D.=0.35grX(x)$  מכיוון שהם פרופורציונלים ניתן להשאיר את ציר ה-Y כ-O.D- ולכן:

$$\mu = 0.3436_{hr^{-1}}$$

## חישוב קצב הניצול הסגולי של הגלוקוז

מתוך ערכי ה-OD וריכוז גלוקוז במהלך הגידול המנתי, ניתן לחשב  $Y_{\frac{x}{s}}$  (ניצולת התאים על הסובסטרט):

$$Y_{\frac{x}{s}} = \frac{X_f - X_0}{S_0 - S_f} = \frac{(1.49 - 0.266) \cdot 0.35}{(14.04 - 9.95)} = 0.105 \frac{g_x}{g_s}$$

ולכן קצב הניצול הסגולי  $q_s$  הינו:

$$q_s = \frac{\mu}{Y_{\frac{x}{s}}} = \frac{0.3436}{0.105} = 3.28 \frac{g_s}{g_x \cdot hr}$$

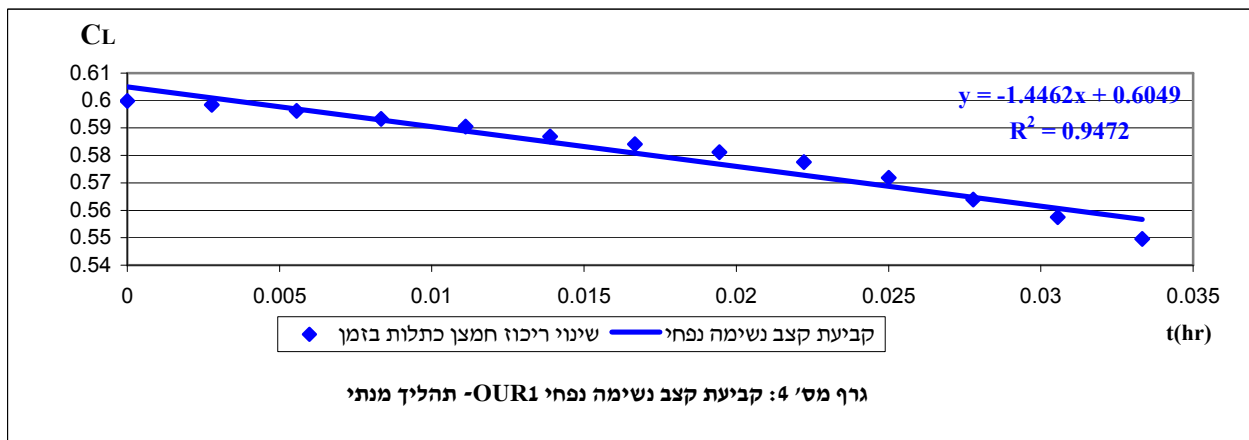
## מציאת קצב צריכת חמצן הנפחית O.U.R.

לאחר ניתוק אוורור וערבול אין מעבר חמצן לפרמנטור ולכן  $K_L a = 0$ , וקצב שינוי ריכוז החמצן תלוי אך ורק באורגניזמים בפרמנטור. ולכן שיפוע הגרף שנקבל הוא למעשה OUR.

### טבלה מס' 2: ריכוז נתונים לחישוב OUR – בדיקה מס' 1

OUR1			
Cl	t(hr)	t(sec)	CL*0.2.5*H
83.6	0	0	0.60
83.4	0.00278	10	0.60
83.1	0.00556	20	0.60
82.7	0.00833	30	0.59
82.3	0.01111	40	0.59
81.8	0.01389	50	0.59
81.4	0.01667	60	0.58
81	0.01944	70	0.58
80.5	0.02222	80	0.58
79.7	0.02500	90	0.57
78.6	0.02778	100	0.56
77.7	0.03056	110	0.56
76.6	0.03333	120	0.55

כאשר בתנאי הניסוי הנ"ל  $K_L a = 0$   $\frac{dC_L}{dt} = -Q_{O_2} X$  ולכן  $\frac{dC_L}{dt} = K_L a \cdot (C^* - C_L) - Q_{O_2} X$



$$Q_{O_2} X = O.U.R = 1.4462 \frac{g_{O_2}}{\text{liter} \cdot hr}$$

## חישוב קצב צריכה סגולית של חמצן:

משיפוע הגרף:

⇒ O.D.=3.36 נמדד ועמד על O.D.=3.36

$$X=3.36_{(O.D.)} \cdot 0.35_{(gr/O.D.)} = 1.176_{gr}$$

$$Y_{O/X} = \frac{O.U.R.}{\mu \cdot X} = 1.4462 / (0.3436 \cdot 1.176) = 3.57 \frac{g_{O_2}}{gX}$$

**\* הערה: בגלל הפסקת החשמל, הבדיקה בוצעה פעם אחת בלבד.**

## חישוב O.U.R. ע"י מאזן על האנלייזר

$$OUR = VVM \left( \frac{\text{liter}_{air}}{\text{liter} \cdot \text{min}} \right) \cdot (O_{2(INLET)} \% - O_{2(OUTLET)} \%) \cdot \frac{32 \frac{gr_{O_2}}{\text{mole}_{O_2}}}{25 \frac{\text{liter}_{O_2}}{\text{mole}_{O_2}}}$$

$$OUR = 0.5 \left( \frac{\text{liter}_{air}}{\text{liter} \cdot \text{min}} \right) \cdot (0.21 - 0.19) \left( \frac{\text{liter}_{O_2}}{\text{liter}_{air}} \right) \cdot \frac{32 \frac{gr_{O_2}}{\text{liter}_{O_2}}}{22.4 \frac{\text{liter}_{O_2}}{\text{mole}_{O_2}}} \cdot \frac{60 \text{min}}{1 \text{hr}} = 1.7 \frac{gr_{O_2}}{\text{liter} \cdot \text{hr}}$$

השוואה בין 2 השיטות תיתן שגיאה של :

$$\delta_{O.U.R} = \frac{|1.4462 - 1.7|}{1.7} \cdot 100\% \cong 14.9\%$$

## חלק ג': תוצאות פרמנטציה רציפה

### חישוב קצב המיהול:

כדי לחשב את קצב המיהול D, חישבנו את נפח הזרם היוצא במשך שעה. מדדנו 0.19 ליטר זרם.

כלומר:

$$F=0.19 \text{ liter/hr}, V=1 \text{ liter}$$

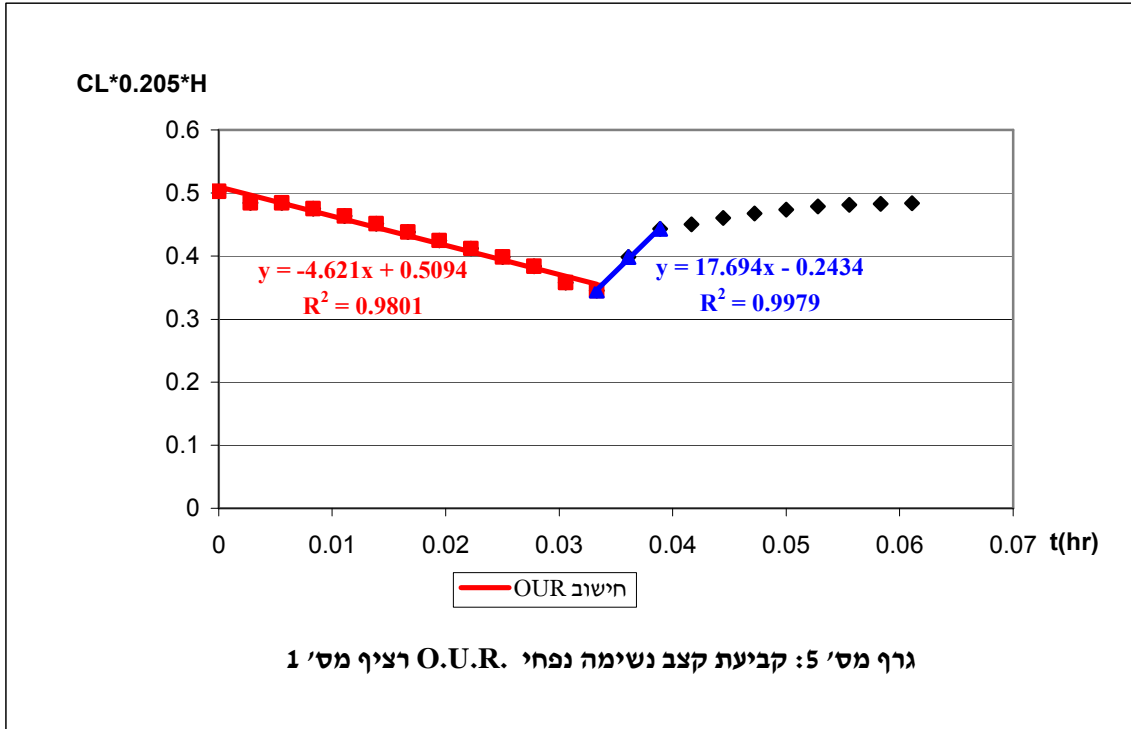
$$D=F/V= 0.19 \text{ hr}^{-1}$$

מכאן ניתן לומר שהחלפת מצע מתקבלת כל 5.26 שעות ועבור 5 החלפות מצע צריך לחכות 26.3 שעות. כלומר תיאורטית נהיה ממש במצב עמיד רק בסביבות 17:00 ביום ג'. בפועל אנחנו מתקרבים למצב עמיד. ניתן לבדוק

זאת על ידי חישוב OD בבוקר ולאחר מספר שעות ולראות שהוא לא השתנה, ריכוז הסוכר בפרמנטור היה

אפסי, כלומר כל הסוכר שנכנס נצרך מיידית. ריכוז החמצן המומס גם כן נשאר קבוע.

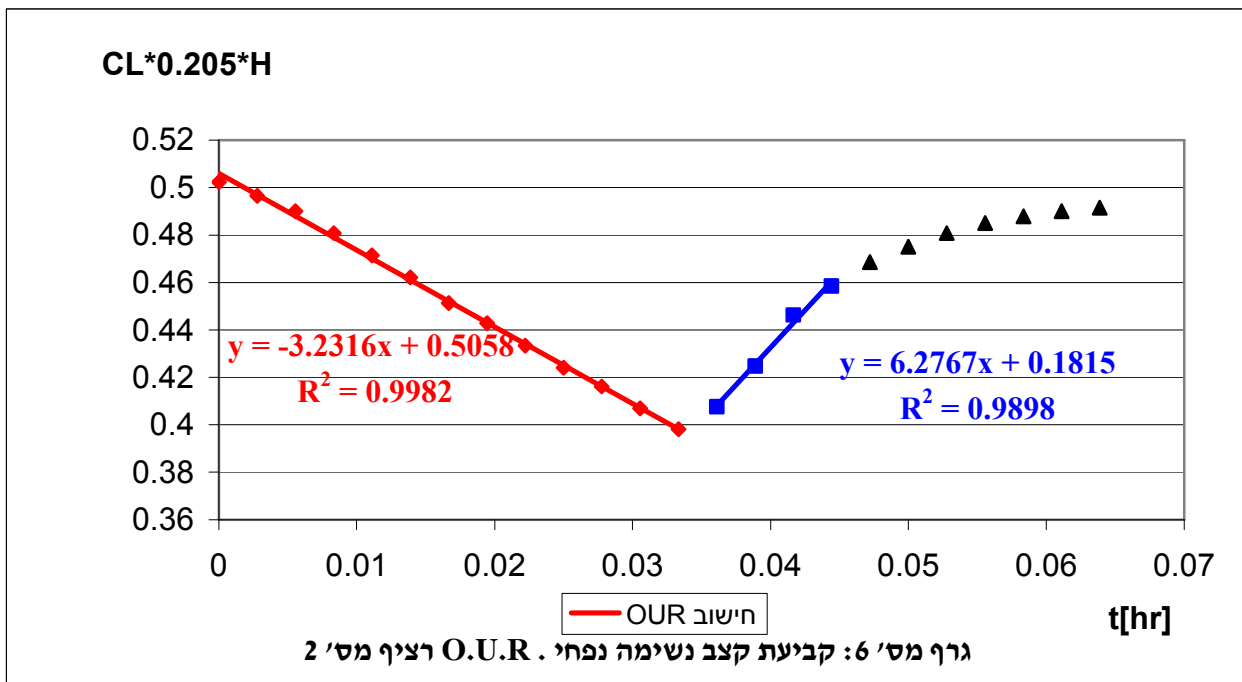
## מציאת קצב הצריכה הנפחי בפרמנטציה רציפה O.U.R.



ניתן לראות כי שיפוע הגרף היורד הוא  $4.6 \text{ gO}_2/\text{l*hr}$   $\text{OUR}=4.6$  באותו הזמן OD נותר קבוע על 0.16  
לכן:  $X=16*0.35=5.6 \text{ gr}_x/\text{liter}$

מכאן:  $Q_{O_2}=\text{OUR}/X=4.621/5.6=0.825 \text{ grO}_2/\text{grX*hr}$

את הניסוי ביצענו פעמיים, להלן תוצאות הניסוי השני לקביעת OUR:

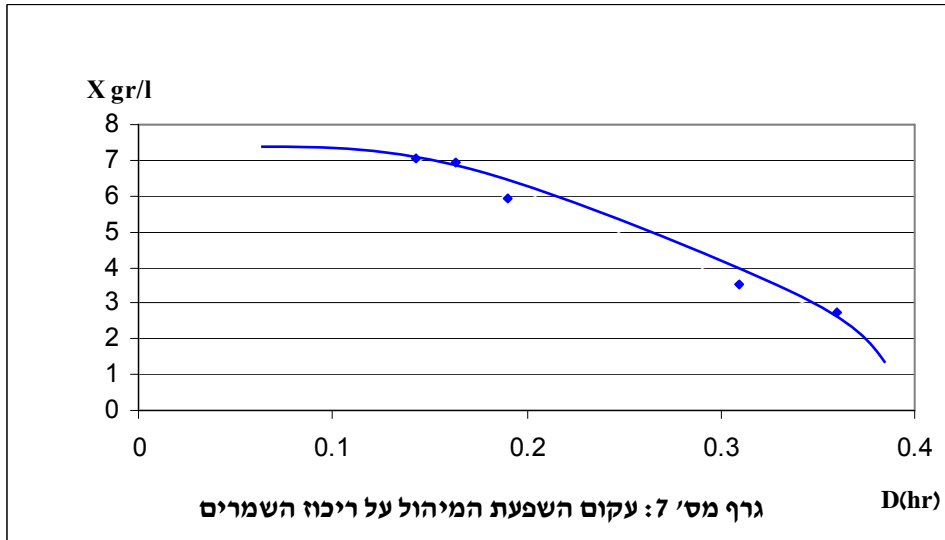


ניתן לראות כי שיפוע הגרף היורד הוא  $3.2 \text{ gO}_2/\text{l*hr}$   $\text{OUR}=3.2$  באותו הזמן OD נותר קבוע על 0.16

לכן:  $X=16*0.35=5.6 \text{ gr}_x/\text{liter}$

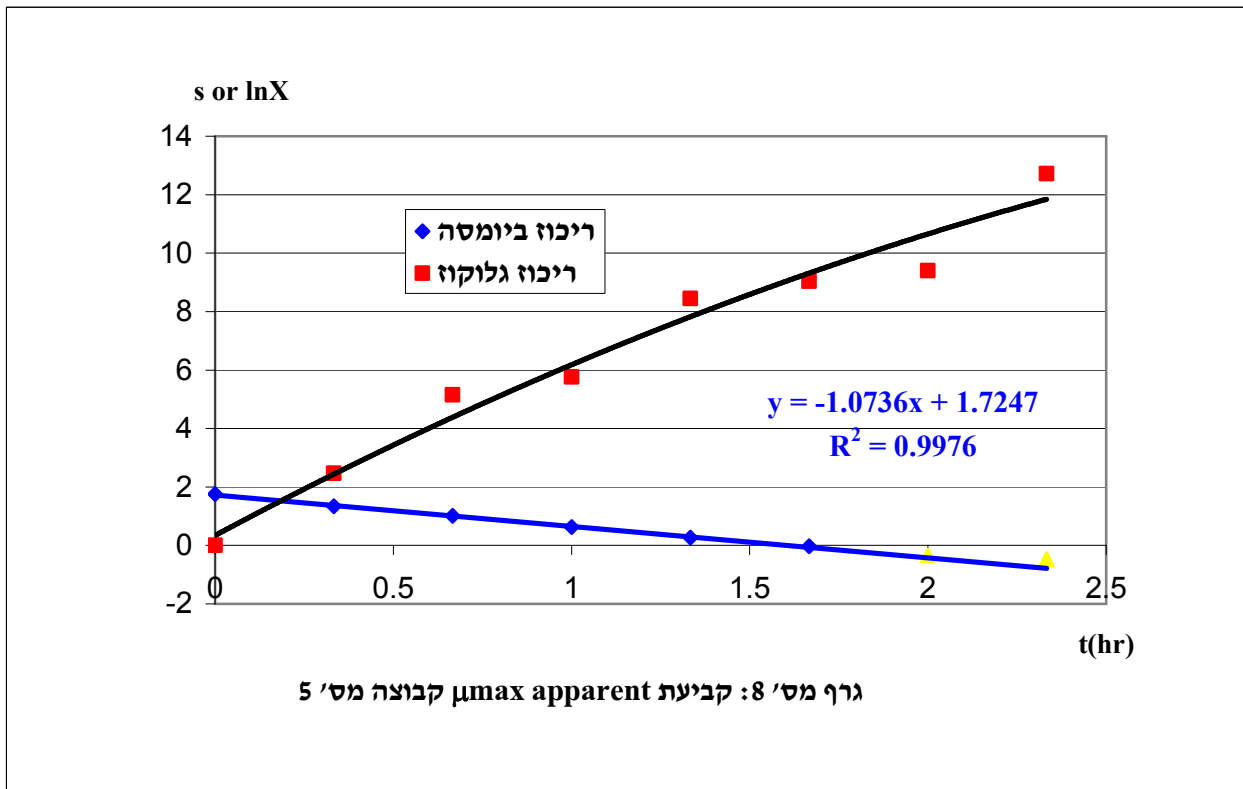
מכאן:  $q_{O_2}=\text{OUR}/X=3.2/5.6=0.57 \text{ grO}_2/\text{grX*hr}$

## תוצאות קבוצתיות – השפעת המיחול על ריכוז השמרים



ניתן לראות כי ריכוז האורגניזם משתנה ויורד ככל שקצב המיחול עולה. המגמה תואמת לציפיות שלנו. ניתן לראות שב  $D=0$  יתקבל ריכוז  $X$  מקסימלי, המשמעות היא שכאשר קצב המיחול שווה לאפס, המצע אינו מתחלף, ומדובר בתהליך מנתי. \* הורדו תוצאות קבוצה א' ו-ו' בשל סטייה גבוהה מהמגמה הקבוצתית

## קביעת $\mu_{max}$ apparent

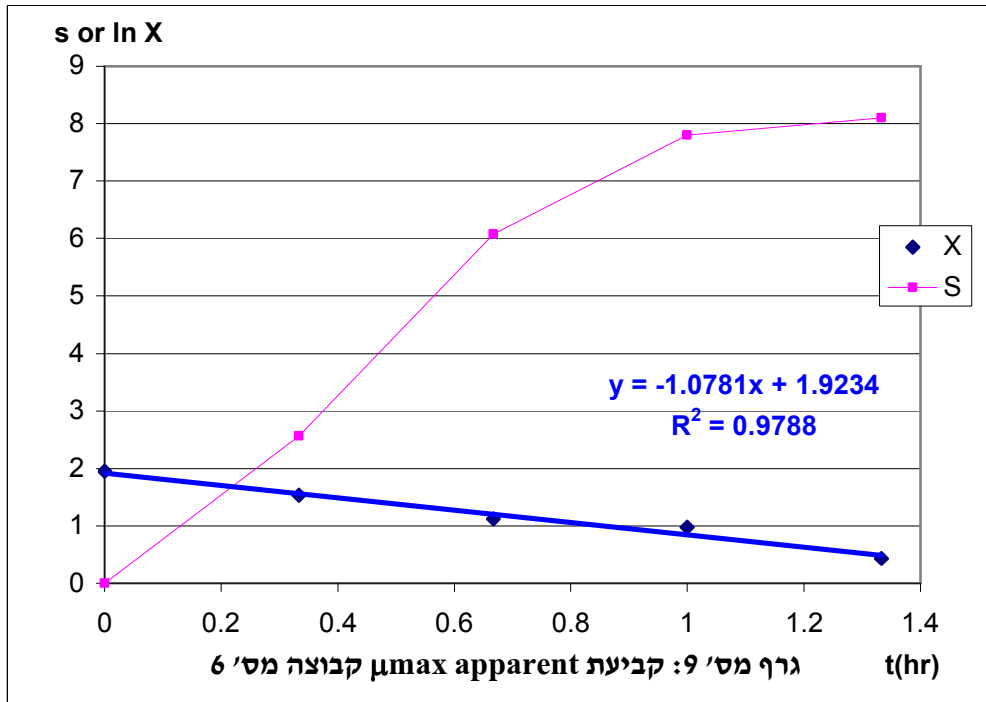


בניסוי זה העלנו את  $D$  ל 1.3 ליטר לשעה ערך הגבוה מ  $\mu_{max}$ , קצב המיחול הקודם היה 0.19 ליטר לשעה, כלומר נקבל שטיפה. משמעות הדבר הוא שאנחנו "מטביעים" את המיקרואורגניזם בסובסטרטט ולאחר זמן מה הפרמנטור יכיל סובסטרטט בריכוז  $S_0$  ו  $X$  בריכוז אפס. ניתן לראות מהגרף כי אכן קיבלנו תוצאות כפי

המצופה.  $S_0=15.52$  גרם לליטר. לא הגענו ממש עד ה S המקסימלי וגם לא ממש עד X אפסי, אך זה בסדר מכיוון שקצב שינוי ריכוז X יכתיב את  $\mu_{\max}$ .  
המשוואה המאפיינת את הגרף:

$$\ln X = \ln X_0 + (\mu_{\max} - D)\Delta t$$

משיפוע הגרף ניתן לראות כי  $\mu_{\max} - D = -1.073$  כלומר  $\mu_{\max} = -1.073 + 1.3 = 0.227 \text{ hr}^{-1}$   
כמו כן, נתייחס לתוצאות של קבוצה 6 עבור אותו ניסוי.



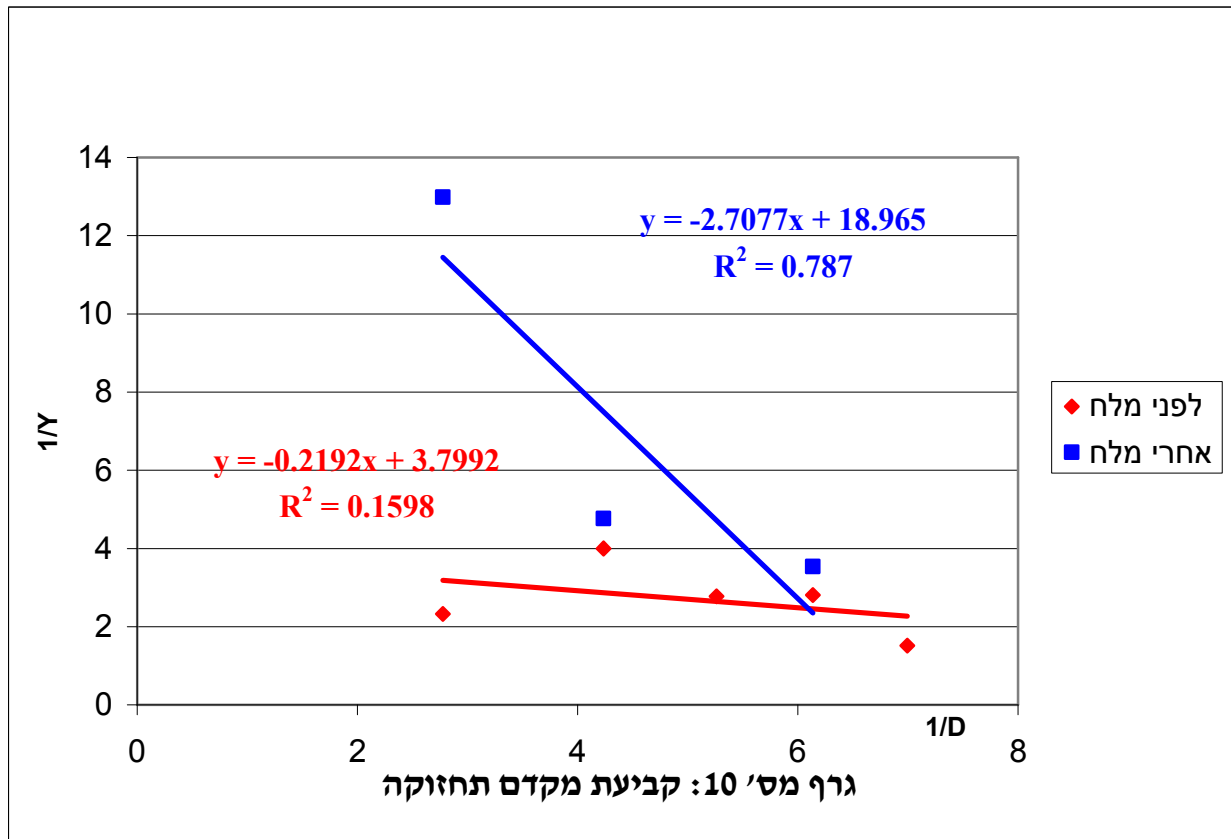
באותו אופן, ניתן לחשב את  $\mu_{\max}$  של קבוצה 6 כאשר  $D=1.5 \text{ l/hr}$   
משיפוע הגרף ניתן לראות כי  $\mu_{\max} - D = -1.078$  כלומר  $\mu_{\max} = -1.078 + 1.5 = 0.422 \text{ hr}^{-1}$   
ניתן לעשות ממוצע בין ערכי ה  $\mu_{\max}$  ונקבל  $\mu_{\max} = 0.3245 \text{ hr}^{-1}$ .



## קביעת מקדם התחזוקה

עבור תנאים שונים נקבל מקדמי תחזוקה שונים. במצב עקה של ריכוז מלח גבוה נצפה לקבל  $m$  גבוה. כלומר הרבה סובסטרט נוצל עבור שימור המצב הקיים ולא לשם גידול.

המשוואה המאפיינת את הגרף:  $\frac{1}{Y} = \frac{1}{Y_{MAX}} + \frac{1}{\mu} \cdot m$ , השיפוע הינו מקדם התחזוקה  $m$ .



השיפוע במצב עמיד:  $m = 0.1215 \frac{g_s}{g_x \cdot hr}$ , השיפוע בתנאי עקה:  $m = 2.7077 \frac{g_s}{g_x \cdot hr}$

קבוצות 2 ו-3 לא פרסמו נתוניןן לאחר המלחה, לכן הגרף בתנאי עקה ("אחרי מלח") מתבסס על 3 נקודות בדיקה בלבד.

## קצב ייצור חומצה

חישוב ריכוז החומצה שנוצרת בפרמנטור ניתנת לחשוב לפי חוק שימור המסה. כלומר כמות הבסיס שטיטרה שווה לכמות החומצה שנוצרה.  $C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$  או  $N1 \cdot F1 = N2 \cdot F2$ ,  $V$  ו  $F$  פרופורציונאליים.  $F2$  הוא הזרם היוצא פחות זרם הטיטור כלומר הזרם היוצא ללא הפרעת הטיטרציה

ריכוז החומצה:

$$N_{H^+} = \frac{F_{NaOH} \cdot N_{NaOH}}{(\Sigma F - F_{NaOH})} = \frac{0.0115 \frac{liter}{hr} \cdot 0.25_N}{(0.19 \frac{liter}{hr} - 0.0115 \frac{liter}{hr})} = 0.0161_N$$

## דיון ומסקנות

1. למדנו ליישם את החומר התיאורטי הנלמד בהרצאות, הלכה למעשה, עמדנו על ההבדלים בין תהליך מנתי ורציף.
2. ראינו כי הקשרים והפרופורציות עליהם למדנו אכן מתקיימים באופן מעשי, תוך התחשבות בשגיאות מדידה אקראיות וחישוביות.