

Ireneusz GRUBECKI, Dagmara POLITOWSKA

e-mail: ireneusz.grubecki@utp.edu.pl

Katedra Inżynierii Chemicznej i Bioprosesowej, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy, Bydgoszcz

Porównanie ilości enzymu ulegającego dezaktywacji dozowanego do bioreaktora okresowego w warunkach izotermicznych oraz z optymalnym sterowaniem temperaturą

Wstęp

Prowadzenie procesu okresowego przy optymalnym profilu temperatury z ekonomicznego punktu widzenia jest bardziej korzystne w porównaniu z procesem izotermicznym [Kordabadi i Jahanniri, 2007; Bonvin, 1998]. Prace związane z tym zagadnieniem publikowane są już od lat 60. XX wieku [Lee i Crowe, 1970; Szepe i Levenspiel, 1968], jednak pomijano w nich próbę oceny korzyści wynikających z zastosowania optymalnego sterowania temperaturą. Jak dotąd jedynie Hass i in. [1974], Kim i in. [1982] jak również Grubecki [2012] wskazali na korzyści wynikające z zastosowanie optymalnego profilu temperatury względem stosowania warunków izotermicznych.

W niniejszej pracy podjęto próbę odpowiedzi na pytanie, o ile mniej enzymu należy zastosować w procesie biotransformacji przebiegającym przy optymalnym sterowaniu temperaturą w porównaniu z procesem prowadzonym izotermicznie. Rozpatrzono przy tym proces z dezaktywacją enzymu niezależną od stężenia substratu oraz z dezaktywacją równoległą. Z ekonomicznego punktu widzenia podjęte zagadnienie jest bardzo ważne, szczególnie w przypadku drogich enzymów.

Model matematyczny

Analizie poddano proces biotransformacji z dezaktywacją enzymu przebiegający w reaktorze okresowym z idealnym wymieszaniem. Wobec takich założeń model matematyczny może być przedstawiony następująco:

$$-\frac{dC_S}{dt} = k_R \frac{C_E C_S}{K_M + C_S} \quad C_S(t=0) = C_{S0} \quad C_S(t=t_f) = C_{Sf} \quad (1a)$$

$$-\frac{dC_E}{dt} = k_D C_E C_S^q \quad C_E(t=0) = C_{E0} \quad C_E(t=t_f) = C_{Ef} \quad (1b)$$

Układ rów. (1), dla $q = 0$, opisuje proces biotransformacji o kinetyce Michaelisa-Menten z dezaktywacją enzymu niezależną od stężenia substratu. Natomiast dla $q = 1$ i $K_m > C_S$ stanowi model matematyczny procesu biotransformacji z równoległą dezaktywacją enzymu.

Wpływ temperatury na stałą szybkości reakcji k_R i dezaktywacji k_D jest opisany zależnością Arrheniusa.

Aby osiągnąć założony w pracy cel niezbędne jest wyznaczenie analitycznych rozwiązań dla procesu przebiegającego izotermicznie oraz przy stacjonarnie optymalnym profilu temperatury.

Równania opisujące czasy przebiegu procesu w warunkach izotermicznych i przy optymalnym sterowaniu temperaturą

Proces izotermiczny

Analizując proces izotermiczny podstawowym zadaniem jest określenie temperatury Y_{isot} zapewniającej realizację procesu dla zadanych warunków początkowych i końcowych oraz czas jego realizacji $t_{f,isot}$. Jedyne druga z tych wielkości jest istotna z punktu widzenia prowadzonej analizy. Zatem wyrażenie ją opisujące jest następujące:

– dla dezaktywacji niezależnej od stężenia substratu ($q = 0$)

$$t_{f,isot} = k_{D0}^{-1} \left\{ \frac{k_{D0} [C_{S0} - C_{Sf} - K_M \ln(C_{Sf}/C_{S0})]}{k_{R0} (C_{E0,isot} - C_{Ef,isot})} \right\}^{E-1} \ln \left(\frac{C_{E0,isot}}{C_{Ef,isot}} \right) \quad (2)$$

– dla dezaktywacji równoległej ($q = 1, K_M \gg C_S$)

$$t_{f,isot} = k_{D0}^{-1} \left(K_M \frac{k_{D0}}{k_{R0}} \right)^{\frac{E}{E-1}} \frac{(C_{E0,isot} - C_{Ef,isot})}{C_{Ef,isot}} \quad (3a)$$

gdzie $C_{Ef,isot} = C_{Sf}$

$$t_{f,isot} = k_{D0}^{-1} \left(K_M \frac{k_{D0}}{k_{R0}} \frac{(C_{S0} - C_{Sf})}{(C_{E0,isot} - C_{Ef,isot})^{1/E}} \right)^{\frac{E}{E-1}} \times \frac{\ln(C_{Ef,isot} C_{S0} / C_{Sf} C_{E0,isot})}{C_{S0} C_{Ef,isot} - C_{Sf} C_{E0,isot}} \quad (3b)$$

gdzie $C_{Ef,isot} \neq C_{Sf}$

W powyższych równaniach $E = E_D/E_R$.

Sterowanie stacjonarnie optymalne

Analizując proces optymalny, rozwiązano problem polegający na poszukiwaniu profilu temperatury, który przy danych wartościach początkowych aktywności enzymu $C_{E0,stat}$ i stężenia substratu C_{S0} oraz założonych wartościach końcowych tych zmiennych stanu $C_{Ef,stat}$ i C_{Sf} minimalizuje czas przebiegu procesu $t_{f,stat}$.

Sformułowane zagadnienie rozwiązano stosując klasyczną metodę rachunku wariacyjnego [Grubecki i Wójcik, 2002] z funkcją celu postaci

$$t = \left(\frac{k_{D0}}{k_{R0}} \right)^{1/(E-1)} \int_{C_{Sf}}^{C_{S0}} \left[\frac{(K_M + C_S)^E}{C_S^{E-q} C_E^{E-1}} \left(\frac{dC_E}{dC_S} \right)^{-1} \right]^{\frac{1}{E-1}} dC_S \quad (4)$$

Zastosowanie warunku koniecznego Eulera-Lagrange'a oraz jego rozwiązanie prowadzi do funkcji $C_E(C_S)$, która uwzględniona w równ. (4), po jego scałkowaniu, daje w efekcie wyrażenie opisujące czas przebiegu stacjonarnego procesu optymalnego $t_{f,stat}$

– dla dezaktywacji niezależnej od stężenia substratu ($q = 0$)

$$t_{f,stat} = k_{D0}^{-1} \left\{ E^{1/E} \frac{k_{D0}}{k_{R0}} \frac{[C_{S0} - C_{Sf} - K_M \ln(C_{Sf}/C_{S0})]}{(C_{E0,stat}^E - C_{Ef,stat}^E)^{1/E}} \right\}^{\frac{E}{E-1}} \quad (5)$$

dla dezaktywacji równoległej ($q = 1, K_M \gg C_S$)

$$t_{f,stat} = k_{D0}^{-1} \left\{ E^{(E+1)/E} K_M \frac{k_{D0}}{k_{R0}} \frac{C_{S0}^{1/E} - C_{Sf}^{1/E}}{(C_{E0,stat}^E - C_{Ef,stat}^E)^{1/E}} \right\}^{\frac{E}{E-1}} \quad (6)$$

Analiza wyników

Dla procesu biotransformacji z dezaktywacją enzymu znane jest zagadnienie redukcji czasu jego przebiegu, wynikającej z zastosowania optymalnego profilu temperatury [Grubecki, 2012].

Aby oszacować, jaką ilość enzymu można zaoszczędzić w celu osiągnięcia zadanego stopnia przemiany $\alpha_f = 1 - \bar{C}_S$ stosując optymalne sterowanie temperaturą założono równość czasów przebiegu procesu w analizowanych warunkach temperaturowych (Rów. (2) i (5) oraz (3) i (6))

$$t_{f,isot} = t_{f,stat} \quad (7)$$

oraz równość rzeczywistych końcowych aktywności biokatalizatora

$$C_{Ef,isot} = C_{Ef,stat} \quad (8)$$

Po wprowadzeniu zmiennych bezwymiarowych $\bar{C}_i = C_i / C_{i0}$, ($i = E, S$) poszukiwaną oszczędność enzymu można wyrazić za pomocą ilo-

razu $S_X = C_{E0,isol}/C_{E0,stat} \bar{C}_{Ef,stat}/\bar{C}_{Ef,isol}$ określającego względną ilość enzymu dozowaną do reaktora w warunkach izotermicznych. Wspomniany iloraz wyraża się następująco:

$$S_X = \left[\frac{\beta}{1 + \beta(\bar{C}_{Ef,isol})^E} \right]^{1/E} \quad (9)$$

Parametr β występujący w równ. (9), a tym samym analizowana wielkość S_X , jest zależny jedynie od E i $\bar{C}_{Ef,isol}$ (niezależny od kinetyki reakcji), w przypadku dezaktywacji niezależnej od stężenia substratu, oraz dodatkowo zależny od \bar{C}_{Sf} , w przypadku dezaktywacji równoległej. Parametr, o którym mowa jest opisany następująco:

– dla dezaktywacji niezależnej od stężenia substratu ($q = 0$)

$$\beta = [E(1 - \bar{C}_{Ef,isol})^{E-1} \exp\{(E-1)\ln[-\ln(\bar{C}_{Ef,isol})]\}] \quad (10)$$

– dla dezaktywacji równoległej ($q = 1, K_M \gg C_S$)

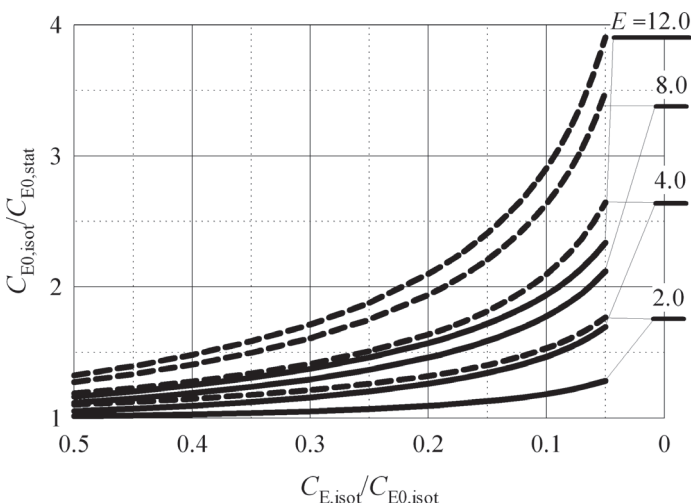
$$\beta = [E^{(E+1)}(1 - \bar{C}_{Ef,isol}^{1/E})^{E-1} [(1 - \bar{C}_{Ef,isol})/\bar{C}_{Ef,isol}]^{(E-1)}]$$

dla $C_{Ef,isol} = C_{Sf}$ (11a)

$$\beta = [E^{(E+1)}(1 - \bar{C}_{Ef,isol}^{1/E})^{E-1} \left[\frac{1 - \bar{C}_{Sf}}{1 - \bar{C}_{Ef,isol}} \right]^E \left[\frac{\ln(\bar{C}_{Sf}/\bar{C}_{Ef,isol})}{\bar{C}_{Sf} - \bar{C}_{Ef,isol}} \right]^{E-1}]$$

dla $C_{Ef,isol} \neq C_{Sf}$ (11b)

Graficzną interpretację zależności (9) przedstawiono na rys. 1.



Rys. 1. Wpływ ilorazu energii aktywacji E oraz końcowej aktywności enzymu C_{Ef} na wartość ilorazu $C_{E0,isol}/C_{E0,stat}$ (Linia ciągła jest odniesiona do enzymu ulegającego dezaktywacji niezależnej od stężenia substratu, natomiast linia przerywana – do dezaktywacji równoległej dla stopnia przemiany $\alpha_f = 0,9$)

Z powyższego rysunku wynika, że wraz ze wzrostem ilorazu energii aktywacji i spadkiem końcowej aktywności enzymu oraz dodatkowo ze wzrostem stopnia przemiany (w przypadku dezaktywacji równoległej), wzrasta względna ilość enzymu S_X dozowana do bioreaktora w procesie izotermicznym. Ponadto można zauważyć, że wspomniana względna ilość enzymu (S_X) jest większa w procesie z równoległą dezaktywacją enzymu i rośnie wraz ze wzrostem stopnia przemiany. Przykładowo, dla $C_{Ef,isol} = 0,5$ względna dawka enzymu w procesie izotermicznym jest nieznacznie tylko większa w porównaniu z procesem prowadzonym przy stacjonarnie optymalnym profilu temperatury. Gdy końcowa zdolność katalityczna enzymu spada do około $\bar{C}_{Ef,isol} = 0,05$, wówczas względna ilość enzymu w procesie izotermicznym S_X wzrasta od 1,05 dla $E = 2$ do 2,3 dla $E = 12$ w procesach biotransformacji z dezaktywacją niezależną od stężenia substratu (Rys. 1, linia ciągła) oraz odpowiednio od 1,75 do 4,0 w procesach z równoległą dezaktywacją enzymu (Rys. 1, linia przerywana).

Podsumowanie i wnioski

W odniesieniu do procesu biotransformacji o kinetyce *Michaelisa-Menten* z dezaktywacją enzymu przeprowadzono analizę mającą na

celu oszacowanie, ile enzymu można zaoszczędzić (w porównaniu z warunkami izotermicznymi) w procesie ze stacjonarnie optymalnym sterowaniem temperaturą. W rozważaniach założono równość czasów przebiegu procesu oraz końcowych aktywności enzymu w rozważanych warunkach temperaturowych.

Na podstawie przeprowadzonej analizy stwierdzono, że w przypadku dezaktywacji niezależnej od stężenia substratu, wraz ze wzrostem ilorazu energii aktywacji i spadkiem końcowej aktywności enzymu, wrażliwość oszczędności wynikające z zastosowania optymalnego sterowania temperaturą.

W procesie z dezaktywacją równoległą wspomniane oszczędności dodatkowo wrażliwość wzrastają wraz ze wzrostem stopnia przemiany i dla stopnia przemiany równego 90% mogą być większe nawet o około 80% od oszczędności uzyskanych w procesie z dezaktywacją enzymu niezależną od stężenia substratu.

Oznaczenia

- C_E – aktywność enzymu, [kmol·m⁻³]
- $\bar{C}_E = C_E/C_{E0}$ – bezwymiarowa aktywność enzymu
- C_S – stężenie substratu, [kmol·m⁻³]
- $\bar{C}_S = C_S/C_{S0}$ – bezwymiarowe stężenie substratu
- $E = E_D/E_R$ – iloraz energii aktywacji
- E_D – energia aktywacji procesu dezaktywacji, [J·mol⁻¹]
- E_R – energia aktywacji reakcji, [J·mol⁻¹]
- K_M – stała *Michaelisa-Menten*, [kmol·m⁻³]
- k_D – stała szybkości dezaktywacji, [(m³·kmol⁻¹)·h⁻¹]
- k_{D0} – współczynnik częstości dla dezaktywacji, [h⁻¹]
- k_R – stała szybkości reakcji, [(m³·kmol⁻¹)·h⁻¹]
- k_{R0} – współczynnik częstości dla reakcji, [h⁻¹]
- R – uniwersalna stała gazowa, 8,314 [J·mol⁻¹·K⁻¹]
- $S_X = C_{E0,isol}/C_{E0,stat}$ – względna ilość enzymu dozowanego do reaktora w procesie izotermicznym
- t – czas, [s]
- T – temperatura, [K]
- $\tau = t/t_f$ – czas bezwymiarowy

Indeksy dolne

- f – stan końcowy
- 0 – stan początkowy
- isol* – warunki izotermiczne
- stat* – warunki stacjonarnie optymalne

LITERATURA

Bonvin D., 1998. Optimal operation of batch reactors – a personal review. *J. Proc. Cont.*, **8**, 355-368. DOI: 10.1016/S0959-1524(98)00010-9

Grubecki I., Wójcik M., 2002. Analytical solution of the Euler-Lagrange equation in an optimization problem for a batch reactor with deactivating catalyst. *Chem. Eng. Sci.*, **56**, 6617-6621. DOI: 10.1016/S0009-2509(01)00306-2

Grubecki I., 2012. Analytical determination of the optimal temperature profiles for the reactions with parallel deactivation of enzyme encapsulated inside microorganisms cells. *Chem. Biochem. Eng. Q.* **26**, nr 1, 31-43

Hass W.R., Tavlarides L.L., Wnek W.J., 1974. Optimal temperature policy for reversible reactions with deactivation: Applied to enzyme reactors. *AIChE J.*, **20**, 707-712. DOI: 10.1002/aic.690200411

Kim C., Kim H.S., Ryu D.D.Y., 1982. Optimization of operating temperature for continuous glucose isomerase reactor system. *Biotechnol. Bioeng.*, **24**, 1889-1896. DOI: 10.1002/bit.260240816

Kordabadi H., Jahanmiri A., 2007. A pseudo-dynamic optimization of a dual-stage methanol synthesis reactor in the face of catalyst deactivation. *Chem. Eng. Process.*, **46**, 1299-1309. DOI: 10.1016/j.cep.2006.10.015

Lee S., Crowe C.M., 1970. Optimal temperature policies for batch reactors with decaying catalyst. *Chem. Eng. Sci.*, **25**, 743-744. DOI: 10.1016/0009-2509(70)85105-3

Szépe S., Levenspiel O., 1968. Optimal temperature policies for reactors subject to catalyst deactivation – I Batch reactor. *Chem. Eng. Sci.*, **23**, 881-894. DOI: 10.1016/0009-2509(68)80022-3