

Aufgabenstellung

Formeln:

Allgemeine Wachstumsgleichung: $X = X_0 e^{\mu_{\max} t}$

Monod-Gleichung: $\mu = \mu_{\max} \cdot s / (K_s + s)$

Beispiel 1: Schätzen Sie ab, ob die Monod-Gleichung zur Berechnung der Fermentation von E. coli unter den vorgegebenen Bedingungen vernachlässigt werden kann?

Glucose-Anfangskonzentration = 10 g l⁻¹

K_s von E. coli für Glucose = 0,022 g l⁻¹

μ_{max} von E. coli für Glucose = 1,20 h⁻¹

Anmerkungen: Die Batch-Fermentation wird üblicherweise mit der allgemeinen Wachstumsgleichung unter Verwendung von μ_{max} berechnet. Diese berücksichtigt nicht, dass die tatsächliche Wachstumsrate μ gemäß Monod-Gleichung eine Funktion der Substratkonzentration ist.

Lösungsansatz beispielsweise: Bei welcher Substratkonzentration ist die tatsächliche Wachstumsrate μ auf 95% des Wertes von μ_{max} abgefallen?

Vorgaben

| | | |
|------------------|---------|-----|
| c _{s0} | 10.0000 | g/l |
| K _s | 0.022 | g/l |
| μ _{max} | 1.200 | 1/h |

Berechnungen

| | | |
|-------|------------------|------|
| Case1 | residual glucose | 10% |
| | μ _y | 98% |
| Case2 | residual glucose | 5% |
| | μ _y | 96% |
| Case3 | residual glucose | 0.9% |
| | μ _y | 80% |

Aufgabenstellung

Ein Stamm von Escherichia coli, der genetisch verändert wurde, um menschliches Protein zu bilden, wird in Batch-Kultur gezüchtet. Der Fermenter, ein 100 m³-Blasensäulenreaktor, wird mit 12 kg Zellen beimpft. Die Glucosekonzentration beträgt 10 kg/m³, die maximale spezifische Wachstumsrate der Kultur ist 0,9 h⁻¹ und die Biomasseausbeute aus Glucose ist 0,575 [kg X/kg S].
Nach welcher Zeit wird die stationäre Phase erreicht?

Vorgaben

| | | |
|------|--------|-----|
| VR | 100000 | L |
| cs,0 | 10 | g/l |
| cx0 | 0.12 | g/l |
| μmax | 0.9 | 1/h |
| Yx/s | 0.575 | g/g |

Berechnungen

| | | |
|-------------------------------------|-------------|----------|
| $dcX/dt = \mu \cdot cX$ | | |
| $dcX/cX = \mu \cdot dt$ | | |
| $t \cdot \mu = \ln(cxt) - \ln(cx0)$ | | |
| $t = (\ln(cxt) - \ln(cx0)) / \mu$ | | |
| cxt über Stoichiometrie: | 5.87E+00 | |
| $Yx/s = rx/rs = dcx/dcs$ | | |
| t | 4.32 | h |

Aufgabenstellung

- a** Mit welcher Menge einer Vorkultur von E. coli muss ich meinen Fermenter mit einem maximalen Arbeitsvolumen von 9,5 l inokulieren, um nach einer vorgegebenen Fermentationsdauer von 6 h die gewünschte Menge von 80 g Trockensubstanz an E. coli zu erlangen? Weitere Angaben: Die maximale Wachstumsrate des eingesetzten Stamms wurde in Vorversuchen mit 1,20 h⁻¹ ermittelt. Die Biomassekonzentration in der Vorkultur beträgt 2 g Trockensubstanz pro Liter.
- b** Die Messung der Biomasse der Fermentation ergab 64 g Trockensubstanz an E. coli. Wie hoch ist die auf diese Weise experimentell ermittelte mittlere Wachstumsrate und steht sie im Einklang mit jener Wachstumsrate, die zu erwarten gewesen wäre?
- c** Der zugegebene Zucker (128 g Glucose) war am Ende der Fermentation vollständig verbraucht. Wie hoch war der Ausbeutekoeffizient Y_{X/S}?

Vorgaben

| | | |
|------------------------|-------|-----|
| VR | 9.5 | L |
| t _{end} | 6 | h |
| c _{X0} , inoc | 2 | g/l |
| μ _{max} | 1.2 | 1/h |
| c _{Xt} | 8.421 | g/l |

Berechnungen

$$dcX/dt = \mu \cdot cX$$

$$dcX/c = \mu \cdot dt$$

$$t \cdot \mu = \ln(c_{Xt}) - \ln(c_{X0})$$

$$c_{X0} = c_{Xt} / \exp(\mu \cdot t) \quad 0.0063 \quad \text{g/l}$$

Inoculum Dreisatz

| | | | |
|----------|---|---------------|------------|
| a | Vinoc | 0.030 | L |
| b | c _{Xt} | 6.74 | g/l |
| | $\mu = (\ln(c_{Xt}) - \ln(c_{X0})) / t$ | 1.16 | 1/h |
| c | c _{S0} | 13.4737 | g/l |
| | Y _{X/S} = dx/ds | 0.4995 | g/g |

Produktivität_1

Aufgabenstellung

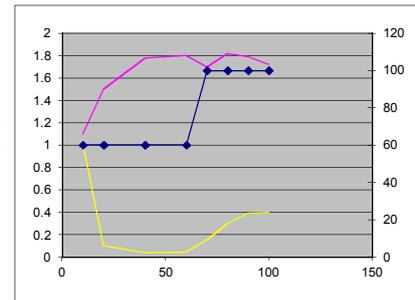
Ein Laborfermenter mit einem Arbeitsvolumen von 975 ml wird bei einer Flussrate von 60 ml h⁻¹ und einer Substratkonzentration von 5 g l⁻¹ im Feed betrieben. Es werden in regelmäßigen Zeitabständen Proben zur Bestimmung von Biomasse X und Substratkonzentration S im Fermenter gezogen bis sich ein Gleichgewicht eingestellt hat. Danach wird die Flussrate auf 100 ml h⁻¹ erhöht und die Probennahme bzw. Messung wie oben beschrieben wiederholt.

Berechnen Sie die maximale Wachstumsrate sowie die Monod-Konstante des Organismus.
Bei welcher Verdünnungsrate müssten Sie den Fermenter für diesen Organismus betreiben, damit die Produktivität bezüglich Biomasse optimal ist.
Wie hoch ist die bei dieser optimalen Verdünnungsrate erzielte Biomassekonzentration sowie Produktivität.
Berechnen Sie abschließend jene Verdünnungsrate, deren Überschreitung die Auswaschung des Fermenters zur Folge hätte.

Vorgaben

| Zeit [h] | Feedrate F [ml h ⁻¹] | Biomassekonzentration x [g/l] | Substratkonzentration S [g/l] |
|----------|----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 10 | 60 | 1.1 | 1.02 |
| 20 | 60 | 1.5 | 0.1 |
| 40 | 60 | 1.78 | 0.041 |
| 60 | 60 | 1.8 | 0.042 |
| 70 | 100 | 1.7 | 0.15 |
| 80 | 100 | 1.82 | 0.301 |
| 90 | 100 | 1.79 | 0.39 |
| 100 | 100 | 1.72 | 0.397 |

Volumen V 0.975 L
Feedkonzentration S₀ 5 g/L



| Bezeichnung | Kürzel | Formel | F = 60ml/h | F = 100ml/h |
|-----------------|--------|---------|------------|-------------|
| Verdünnungsrate | D | D = F/V | 0.062 | 0.103 |
| Wachstumsrate | μ | D = μ | 0.062 | 0.103 |

Linearisierung Monod-Kinetik

Lineweaver-Burk

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S} \quad \frac{1}{\mu} = \frac{K_s}{\mu_{\max}} \frac{1}{S} + \frac{1}{\mu_{\max}} \quad y = k \cdot x + d$$

| Zeit [h] | Feedrate F [ml h ⁻¹] | Biomassekonzentration X [g l ⁻¹] | Substratkonzentration S [g l ⁻¹] | 1/S | μ [h ⁻¹] | 1/μ |
|----------|----------------------------------|--|--|--------|----------------------|-------|
| 40 | 60 | 1.78 | 0.041 | 24.390 | 0.062 | 16.25 |
| 60 | 60 | 1.8 | 0.042 | 23.810 | 0.062 | 16.25 |
| 90 | 100 | 1.79 | 0.39 | 2.564 | 0.103 | 9.75 |
| 100 | 100 | 1.72 | 0.397 | 2.519 | 0.103 | 9.75 |

| | | |
|---------------|----------------------------------|--------------------------|
| Steigung | K _s /μ _{max} | 0.301 |
| Achsabschnitt | 1/μ _{max} | 8.985 |
| | μ _{max} | 0.111 [h ⁻¹] |
| | K _s | 0.034 [g/L] |

Berechnung der optimalen Verdünnungsrate

$$D_{\text{opt}} = \mu_{\max} \left(1 - \sqrt{\frac{K_s}{K_s + S_0}}\right)$$

D_{opt} 0.102 [h⁻¹]

Biomasse (wie bei D = 0.103)

1.72 g/L
Produktivität P = D · x 0.176 g/h/L

Berechnung der kritischen Verdünnungsrate

$$D_{\text{crit}} = \mu_{\max} \frac{S_0}{K_s + S_0}$$

D_{crit} 0.111 [h⁻¹]

Erhaltungsstoffwechsel_1

Aufgabenstellung

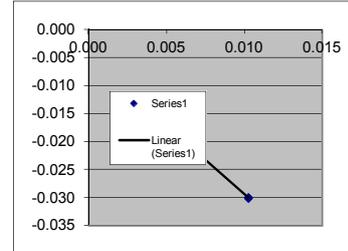
Ein Laborfermenter mit einem Arbeitsvolumen von 975 ml wird bei einer Flussrate von 5 ml h⁻¹ und einer Substratkonzentration von 5 g l⁻¹ im Feed betrieben. Es werden in regelmäßigen Zeitabständen Proben zur Bestimmung von Biomasse X und Substratkonzentration S im Fermenter gezogen bis sich ein Gleichgewicht eingestellt hat. Danach wird die Flussrate auf 10 ml h⁻¹ erhöht und die Probenahme bzw. Messung wie oben beschrieben wiederholt.

Berechnen Sie die spezifische Substratverbrauchsrate für den Erhaltungsstoffwechsel
Berechnen Sie den wahren Ausbeutekoeffizienten

Vorgaben

| Zeit [h] | Feedrate F [ml h ⁻¹] | Biomassekonzentration x [g/l] | Substratkonzentration S [g/l] |
|----------|----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 10 | 5 | 1.1 | 0.43 |
| 20 | 5 | 1.3 | 0.15 |
| 40 | 5 | 1.44 | 0.11 |
| 60 | 5 | 1.42 | 0.13 |
| 70 | 10 | 1.54 | 0.129 |
| 80 | 10 | 1.61 | 0.133 |
| 90 | 10 | 1.65 | 0.15 |
| 100 | 10 | 1.66 | 0.16 |

Volumen V 0.975 L
Feedkonzentration S₀ 5 g/L



| Bezeichnung | Kürzel | Formel | F = 5ml/h | F = 10ml/h |
|-----------------|--------|---------|-----------|------------|
| Verdünnungsrate | D | D = F/V | 0.005 | 0.010 |
| Wachstumsrate | μ | D = μ | 0.005 | 0.010 |

$$r_s = D(S_0 - S) \quad q_s = r_s / x$$

| Zeit [h] | Feedrate F [ml h ⁻¹] | Biomassekonzentration X [g l ⁻¹] | Substratkonzentration S [g l ⁻¹] | μ [h ⁻¹] | r _s [g/l/h] | q _s [g/g/h] |
|----------|----------------------------------|--|--|----------------------|------------------------|------------------------|
| 40 | 5 | 1.44 | 0.11 | 0.005 | 0.025076923 | -0.017 0.29447853 |
| 60 | 5 | 1.42 | 0.13 | 0.005 | 0.024974359 | -0.018 0.29158111 |
| 90 | 10 | 1.65 | 0.15 | 0.010 | 0.04974359 | -0.030 0.34020619 |
| 100 | 10 | 1.66 | 0.16 | 0.010 | 0.049641026 | -0.030 0.34297521 |

$$\mu = (q_s - m_s) Y_{x/s}^{\max}$$

$$q_s = m_s - \frac{\mu}{Y_{x/s}^{\max}}$$

| Steigung | -1/Y _{x/s} ^{max} | -2.442 |
|---------------|------------------------------------|---------------|
| Achsabschnitt | Y _{x/s} ^{max} | 0.4094 g/g |
| | m _s | -0.0050 g/g/h |

Aufgabenstellung

Der Bakterienstamm Pseudomonas 5401 wird für die Herstellung von Einzellerprotein verwendet.

Die Zusammensetzung der Zellen ist C H1,83 O0,55 N0,25.

Wenn die Zellkonzentration zu Versuchsende 25 g/l beträgt, welche minimale Konzentration an Ammonsulfat muss vorliegen, wenn Ammonsulfat die einzige Stickstoffquelle ist?

Vorgaben

| | | |
|-----------------------|------|-----|
| c_{Biomasse} | 25 | g/L |
| Biomasse | | |
| C | 1 | |
| H | 1.83 | |
| N | 0.25 | |
| O | 0.55 | |

Berechnungen

$$M_{\text{Biomasse}} = M_{\text{C}} \cdot x_{\text{C}} + M_{\text{H}} \cdot x_{\text{H}} + M_{\text{O}} \cdot x_{\text{O}} + M_{\text{N}} \cdot x_{\text{N}}$$

| | | |
|-----------------------|-------|---------|
| M_{Biomasse} | 26.13 | g/C-mol |
|-----------------------|-------|---------|

$$c_{\text{Biomasse}} [\text{C-mol/L}] = c_{\text{Biomasse}} [\text{g/L}] / M_{\text{Biomasse}} [\text{g/C-mol}]$$

| | | |
|-----------------------|------|---------|
| c_{Biomasse} | 0.96 | C-mol/l |
|-----------------------|------|---------|

| | | |
|----------------|------|--------|
| c_{n} | 0.24 | molN/l |
|----------------|------|--------|

| | | |
|----------------------------------|--------|------------|
| $M_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4}$ | 132.00 | g/mol NSO4 |
|----------------------------------|--------|------------|

| | | |
|----------------|------|--------------|
| N Content NSO4 | 2.00 | molN/molNSO4 |
|----------------|------|--------------|

$$c_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4} [\text{g/L}] = c_{\text{n}} [\text{molN/L}] \cdot M_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4} [\text{g NSO4/mol NSO4}] / \text{molN} \cdot \text{molNSO4}$$

| | | |
|--------------------|--------------|------------|
| c (NH4)2SO4 | 15.79 | g/l |
|--------------------|--------------|------------|

Aufgabenstellung

Eine Hefe mit der Zusammensetzung C H_{1,8} O_{0,5} N_{0,2} (5 % Asche) erzielt einen Umsatz von 0.5 g Biomasse/g Substrat. Es werden keine weiteren Metabolite gebildet.

Welcher RQ stellt sich ein, wenn als Substrat Glycerol (C₃H₈O₃) eingesetzt wird?

Wo liegt der RQ bei Glukose?

Vorgaben

| | | | |
|----------|------------------|-----|-----|
| Biomasse | | | |
| | C | 1 | |
| | H | 1.8 | |
| | N | 0.2 | |
| | O | 0.5 | |
| | Y _{x/s} | 0.5 | g/g |

Berechnungen

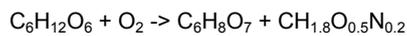
| | | | |
|--|---|------------------------------------|--------------------------------------|
| $M_{\text{Biomasse}} = M_C \cdot x_C + M_H \cdot x_H + M_O \cdot x_O + M_N \cdot x_N$ | | | |
| | M _{Biomasse} | 25.894737 | g/C-mol |
| $\text{DoR}_{\text{Biomasse}} = (\text{DoRC} \cdot x_C + \text{DoRH} \cdot x_H + \text{DoRO} \cdot x_O + \text{DoRN} \cdot x_N)$ | | | |
| | DoR Biomasse | 4.20 | - |
| DoR Glycerol 4.66 | | | |
| M Glycerol | | | |
| | M Glyc | 30.67 | g/C-mol |
| | Y _{x/s} | 0.59 | C-mol/C-mol |
| C-Bilanz | Y _{Co2} = 1 - Y _{x/s} | 0.41 | C-mol/C-mol |
| DoR Bilanz | | | |
| | | 0.54 | C-mol/C-mol |
| RQ | =CER/OUR | =r _{co2} /r _{o2} | =Y _{CO2s} /Y _{o2s} |
| | | 0.75 | - |

Aufgabenstellung

Citronensäure (C₆H₈O₇) wird aus Glucose durch Fermentation mit *Aspergillus niger* (CH_{1,8}O_{0,5}N_{0,2}) unter Belüftung hergestellt. Der pH liegt zwischen 1,8 und 2,0. Die Stickstoffquelle ist Ammonnitrat. Es wird kein Kohlendioxid gebildet. Eine typische Ausbeute unter diesen Bedingungen ist 68 g Citronensäure pro 100 g Glucose. Bestimme den entsprechenden Sauerstoffverbrauch unter der Annahme, dass nur Biomasse und Citronensäure gebildet wird!

Vorgaben

| | | | |
|------------------|---|------|-------|
| Y _{p/s} | | 0.68 | [g/g] |
| Biomasse | | | |
| | C | 1 | |
| | H | 1.8 | |
| | N | 0.2 | |
| | O | 0.5 | |
| | | 4.2 | |



Berechnungen

$$M_{\text{Biomasse}} = \frac{M_C \cdot x_C + M_H \cdot x_H + M_O \cdot x_O + M_N \cdot x_N}{M_{\text{Biomasse}}} = 24.6 \quad \text{g/C-mol}$$

$$M_{\text{Glucose}} = 30 \text{ g/C-mol} \quad M_{\text{Citronensäure}} = 32 \text{ g/C-mol}$$

DoR (c-molar)

$$\text{DoR}_{\text{Glucose}} = 4 \quad \text{DoR}_{\text{Citronensäure}} = 3 \quad \text{DoR}_{O_2} = -4 \quad \text{DoR}_{\text{Biomasse}} = \frac{\text{DoRC} \cdot x_C + \text{DoRH} \cdot x_H + \text{DoRO} \cdot x_O + \text{DoRN} \cdot x_N}{4.2}$$

$$Y_{p/s} [\text{C-mol/C-mol}] = Y_{p/s} [\text{g/g}] \cdot \frac{M_{\text{Glucose}}}{M_{\text{Citronensäure}}}$$

$$Y_{p/s} = 0.6375 [\text{C-mol/C-mol}]$$

$$\text{Massen-Bilanz: } Y_{x/s} = 1 - Y_{p/s}$$

$$Y_{x/s} = 0.3625 [\text{C-mol/C-mol}]$$

$$4 + Y_{O_2/s} \cdot (-4) = 0.6375 \cdot 3 + 0.3625 \cdot 4.2$$

$$Y_{O_2/s} = 0.14125 [\text{mol/C-mol}]$$

Aufgabenstellung

Stellen Sie die Stoffbilanz für den Substratzulauf im Zulaufverfahren auf, und begründen Sie jeden Term!

Die Kultur ist aerob, Temperatur und pH kontrolliert

Leiten Sie Gleichung für den initiellen Feed im Zulaufverfahren ab (μ , x_0 , $Y_{x/s}$, V_0 , S_0)

Vorgaben

$$\dot{V}_{In} c_{i,In} - \dot{V}_{Out} c_{i,Out} + V_R r_i - V_R r_{ph-trans} = V_R \frac{\partial c_i}{\partial t} + c_i \frac{\partial V_R}{\partial t}$$

Berechnungen

$$\dot{V}_{Out} c_{i,Out} = 0$$

kein Ablauf!

$$V_R r_{ph-trans} \ll \dot{V}_{In}$$

$$\dot{V}_{In} c_{s,In} + V_R r_s = V_R \frac{\partial c_s}{\partial t} + c_s \frac{\partial V_R}{\partial t}$$

$$\frac{\partial V_R}{\partial t} = \dot{V}(t) = \dot{V}_{In}$$

Volumensänderung = Zulauf

$$\frac{\partial c_s}{\partial t} \equiv 0$$

Substrat im Feed limitierende Komponente

$$\dot{V}_{In} c_{s,In} + V_R r_s - \dot{V}_{In} c_s = 0$$

$$\frac{\dot{V}_{In}}{V_R} (c_{s,In} - c_s) + r_s = 0$$

$$r_s = - \frac{\mu X}{V_R Y_{x/s}}$$

$$\frac{\dot{V}_{In}}{V_R} (c_{s,In} - c_s) = \frac{\mu X}{V_R Y_{x/s}}$$

$$\frac{\dot{V}_{In}}{V_R} (c_{s, In} - c_s) = \frac{\mu X}{V_R Y_{x/s}}$$

$$c_s \ll c_{s, In}$$

Substratkonzentration im Reaktor viel kleiner als Substratkonzentration im Feed

$$\dot{V}_0 = \frac{\mu x_0 V_{R0}}{c_{s, in} Y_{x/s}}$$

initielle Feedrate

Aufgabenstellung

Eine Fermentation mit Bakterien hat nach Inokulation einer Zelldichte von 10^9 Zellen/ml und wird mit einer Zelldichte von 10^{10} Zellen/ml beendet. Wie hoch ist der Anteil an Infektionskeimen oder Mutanten zu Züchtungsende, wenn das Inokulum einen Infektionskeim/ml enthält und sich dieser (a) 0,5 x; (b) 1,1 x; (c) 2 x so schnell vermehrt wie das Bakterium.

Vorgaben

| | |
|-------------------------|----------|
| $c_{X0,A}$ | 1.00E+05 |
| $c_{Xt,A}$ | 1.00E+09 |
| $\mu_B = x \cdot \mu_A$ | |
| x1 | 0.5 |
| x2 | 1.1 |
| x3 | 2 |
| $c_{X0,B}$ | 1 |

Berechnungen

| | |
|--|-----------------|
| $dc_X/dt = \mu \cdot c_X$ | |
| $dc_X/c = \mu \cdot dt$ | |
| $t \cdot \mu_A = \ln(c_{Xt,A}) - \ln(c_{X0,A})$ | 9.2 |
| $t = (\ln(c_{Xt,A}) - \ln(c_{X0,A})) / \mu_A$ | |
| $t = \ln((c_{Xt,A}) / (c_{X0,A})) / \mu_A$ | |
| Gleiche Zeit | |
| $t = \ln((c_{Xt,B}) / (c_{X0,B})) / \mu_B$ | |
| $\ln(c_{Xt,A}) / (c_{X0,A})$ | 9.2 |
| $c_{Xt,B} = c_{X0,B} \cdot e^{(\ln(c_{Xt,A}/c_{X0,A}) \cdot x)}$ | 1.00E+02 |
| | 2.51E+04 |
| | 1.00E+08 |

Aufgabenstellung

Eine Hefe mit der Zusammensetzung C H_{1,8} O_{0,5} N_{0,2} (5 % Asche) erzielt einen Umsatz von 0.6 g Biomasse/g Substrat. Es werden keine weiteren Metabolite gebildet.

Welche Wärme muss abgeführt werden, wenn in einem 15 m³ Reaktor eine Kultur mit 50g/l Biomasse mit einer spezifischen Wachstumsrate von 0.2 1/h wächst, 5 kW/m³ Rührarbeit dissipiert wird und Glukose (C₆H₁₂O₆) als Substrat eingesetzt wird?

Vorgaben

| | | | |
|----------|----------------|-------|----------------------|
| Biomasse | | | |
| | C | 1 | |
| | H | 1.8 | |
| | N | 0.2 | |
| | O | 0.5 | |
| | Yx/s | 0.6 | g/g |
| | my | 0.2 | 1/h |
| | cX | 50 | g/l |
| | Reaktorvolumen | 15000 | L |
| | spezWärme | 460 | kJ/molO ₂ |

Berechnungen

| | | | |
|--|--|---------------------|-------------|
| $M_{\text{Biomasse}} = M_C \cdot x_C + M_H \cdot x_H + M_O \cdot x_O + M_N \cdot x_N / (1 - \text{asche\%})$ | | | |
| | Mbiomasse | 25.894737 | g/C-mol |
| | DoR Biomasse | 4.20 | - |
| DoR Glukose | | | |
| | DoR Glukose | 4.000 | - |
| M Glukose | | | |
| | M Glukose | 30.00 | g/C-mol |
| | Yx/s | 0.70 | C-mol/C-mol |
| C-Bilanz | YCo ₂ = 1 - Yx/s | 0.30 | C-mol/C-mol |
| DoR Bilanz | | | |
| | DoRS-4*Yo ₂ s = DoRX*Yx/s | | |
| | Yo ₂ s = (DoRS-DoRX*Yx/s)/4 | | |
| | | 0.270 | C-mol/C-mol |
| Biomasse Aktivität | | | |
| | rx = my * cX | 10.00 | g/l/h |
| Substrate | | | |
| | rS = rx / Yx/s | 16.666667 | g/l/h |
| | rs | 0.5555556 | C-mol/l/h |
| OUR | | | |
| | rO ₂ =Yo ₂ /s * rS | 0.1500678 | C-mol/l/h |
| | q=rO ₂ * spezWärm | 69.031165 | kJ/l/h |
| | Q=VR*q/3600s/h | <u>362.6</u> | kW |

Aufgabenstellung

Ein Produktstrom von 500 L mit 1 g/l rekombinatem Protein muss innerhalb 3 Stunden (Gesamtprozesszeit) von Proteasen mittels IonExchange Chromatography getrennt werden. Legen Sie das Chromatographie System und Säule aus!

Berechnen Sie die Dauer des Gesamtprozesses!

Hinweis: Die Säulendurchmesser sind wie folgt gestaffelt: 30/40/45/50/60/80/100 cm

Vorgaben

| | | |
|----------------------------------|-----|------|
| Max. Binding capacity | 15 | g/l |
| Column height | 20 | cm |
| Equil | 5 | BV |
| Wash 1 | 2 | BV |
| Wash 4 = regenerate | 2 | BV |
| Elution | 5 | BV |
| Elution Cut fraction | 2.0 | BV |
| Load / Elute Velocity | 100 | cm/h |
| Equil Wash / Regenerate Velocity | 200 | cm/h |

| Equipment TAG | Quantity (1 Batch) | Material in | | Process Step (occupation) |
|---------------|--------------------|---------------------------|-----|-----------------------------------|
| LEGEND: | | | | |
| | | | | 100 L |
| | | 5 L g/l | | Protein |
| | | | #CV | Chroma 1 |
| Hold Tank 3 | 503 L | Equilibration Buffer | 5 | Product Amount 0.5000 kg |
| Hold Tank 3 | 201 L | Post Load Wash buffer | 2 | CV: 100.5 L |
| | | | | Cycles: 1 |
| Hold Tank 4 | 503 L | Elution Buffer | 5 | Col Diam: 80 |
| Hold Tank 2 | 201 L | Regeneration Buffer | 2 | Col Height: 20 |
| | | | | Load Elute flow(cm/h) 100 |
| | | | | Load flow(l/h): 502 |
| | | | | Equil flow(cm/h): 200 |
| | | | | Equil flow(l/h): 1005 |
| | | | | effective binding g/l 4.97 |
| | | | | max. binding g/l: 15.0 |
| | | | | Process (h): 2.100 |
| | | cut ca 2.0 CV | | |
| | | constant during scale up | | |
| | | variables during scale up | | |
| | | | | 201 L |
| | | | | 2.49 |
| | | | | Eluate |
| | | | | g/l |

Aufgabenstellung

Ein Produktstrom von 500 L mit 1 g/l rekombinantem Protein muss 5 fach konzentriert und für die nächste Chromatographie umgepuffert werden.

Die Umpufferung darf maximal 7% vom initiiell vorhanden Puffersystem enthalten .

Gesamtprozesszeit ist maximal 3 Stunden

Legen Sie die Membranfläche aus!

Vorgaben

| | |
|-------------------|------------------------|
| Transmembranfluss | 20 l/m ² /h |
| | |

Berechnungen

| DF Faktor | Volumen | % Puffer |
|---------------|----------|----------|
| | | 100 |
| 1 | | 50 |
| 2 | | 25 |
| 3 | | 12.5 |
| 4 | | 6.25 |
| Gesamtpermeat | 800.00 L | |

UF und DF jeweils 1.5 Stunden

| Quantity (1 Batch) | Material in | Process Step (occupation) |
|--------------------|---------------------------|--|
| | | 500 L Supernatant |
| 400 L | DF Buffer | 2.2 UF/DF #1 [B101, B131] Recovery 100% Conc. Factor 5.0 Conc. Time 1.5 h DF Factor 4.0 h DF Time 1.5 h Conc. To 100 L Membrane Area (m ²) 13.3 Flux (L/m ² h) 20 X Fl. (L/m ² .min) 8.0 X Fl. (CIP)(L/m2.h) 16.0 X Fl. 6'400 L/h X Fl. (CIP) 12'800 L/h Process (h): 3.0 h 100 L Retentate |
| | constant during scale up | |
| | variables during scale up | |

Aufgabenstellung

Skizzieren Sie einen kompletten Prozess für rekombinante Proteinproduktion mit der methylo trophen Hefe *Pichia pastoris* (CH1.800.5N0.2) in einem Laborfermenter mit 5L Arbeitsvolumen. Der Batch dauert 12 Stunden und es entstehen 10g/L Biomasse. Die Kultur ist rein oxidativ, es entstehen keine Metabolite. Anschließend folgt ein Fedbatch mit Glycerol und eine Induktionsphase mit Methanol, in der rekombinantes Protein produziert wird.

- Berechnen Sie die Wachstumsrate im Batch.
- Legen Sie einen Fedbatch mit einer Wachstumsrate von 80% der Wachstumsrate im Fedbatch aus. Berechnen Sie dafür die initiale Feedrate. Wie lange dauert der Fedbatch wenn 500g Biomasse produziert werden sollen?
- Berechnen Sie einen konstanten Feed für 10% der maximalen Wachstumsrate in der Induktionsphase. Da Methanol die rekombinante Proteinproduktion induziert wird keine Biomasse mehr gebildet. Welcher OTR/OUR stellt sich in der Induktionsphase ein? Wie lange dauert die Induktionsphase wenn 5g/l Protein produziert werden sollen?
- Was ist die Gesamtprozessdauer? Wieviel Protein kann in einem Produktionsreaktor von 1000L pro Jahr produziert werden, wenn zwischen den Prozessen 1 Tag für Reinigung und 1 Tag für die Vorbereitung der Sterilisation ansteht?

Vorgaben

Generell

Biomasse $\text{CH}_{1.8}\text{O}_{0.5}\text{N}_{0.2}$
 $Y_{x/s}$ 0.5 g/g

BATCH

V_{R0} 2 L
 Inokulum c_{x0} 0.5 g/L
 c_x Batchende 10 g/L
 Dauer Batch 12 h

Fedbatch

$c_{S,in}$ Fedbatch Glycerol 500 g/L
 ρ Glycerol Feed 1170 g/L

Induktion

$c_{S,in}$ Induktion Methanol 850 g/L
 ρ Methanol Feed 820 g/L
 M_{Methanol} 32 g/c-mol
 Produktivität Proteinproduktion 0.01 g/g/h

Produktivität Gesamtprozess

Arbeitstage pro Jahr 250 d
 Produktionsfermenter 1000 L
 Protein 5 g/L

$$-V_{\xi} = -R_S = \dot{V}_{In} c_{i,In}$$

| | | |
|-------|--------------|------------------|
| R_S | 25.96 g/h | 6.49075326 g/l/h |
| R_S | 0.81 c-mol/h | |

DoR-Bilanz

DoRMethanol 6

$DoR_{Biomasse} = (DoRC \cdot x_C + DoRH \cdot x_H + DoRO \cdot x_O + DoRN \cdot x_N)$

$DoR_{Biomasse}$ 4.2

$M_{Biomasse} = M_C \cdot x_C + M_H \cdot x_H + M_O \cdot x_O + M_N \cdot x_N$

$M_{Biomasse}$ 24.6 g/c-mol

$Y_{x/s}$ 0 c-mol/c-mol

$DoRS - 4 \cdot Yo_{2s} = DoRX \cdot Y_{x/s}$

$Yo_{2s} = (DoRS - DoRX \cdot Y_{x/s}) / 4$ 1.5 c-mol/c-mol

$$OUR = \frac{Y_{O_2/S} R_S}{V_R} * 1000$$

OUR/OTR 304.254059 mmol/L/h

| | |
|---------------------------------|---------------|
| Protein | 20 g |
| Proteinproduktion | 2000 gh |
| Dauer Induktion | 3.84615385 h |
| Gesamtdauer Kultur | 32.159844 h |
| Dauer Vorbereitung+Sterilsation | 24 h |
| Dauer Reinigung | 24 h |
| Gesamtdauer Prozess | 80.159844 h |
| Arbeitsstunden pro Jahr | 6000 h |
| Proteinproduktion po Lauf | 5000 g |
| Proteinproduktion po Jahr | 374.252225 kg |

Aufgabenstellung

Legen Sie die Reaktorgeometrie für einen 10L Reaktor fest
Führen Sie einen Scale-up auf 800L und auf 10m³ durch, halten sie dabei die Rührerspitzengechwindigkeit konstant

Vorgaben

| | | |
|------------------------------|----------------|---------------------------------------|
| Rührerdrehzahl | 1000rpm | 1000 rpm |
| wässriges Medium | | |
| dynamische Viskosität Wasser | η | 0.001 Pa*s = kg/m/s |
| Dichte Wasser | ρ | 1000 kg/m ³ |
| Newtonzahl | Ne | 5 - |
| Aspect ratio | a | 0.3333 d _R /h _R |
| Durchmesser Rührer | d _i | 0.3 d _R |

Reaktorgeometrie

| Bezeichnung | Kürzel | Formel | 10L Laborreaktor | Einheit |
|---------------------------|----------------|--|------------------------------|---------|
| Volumen Reaktor | V | $V = (d_R/2)^2 \pi h_R$ | 0.01 m ³ | |
| Innen-Durchmesser Reaktor | d _R | $d_R = (4 \cdot a \cdot V / (3 \cdot \pi))^{1/3}$ | 0.1619 m | |
| Höhe Reaktor | h _R | $h_R = d_R \cdot 3$ | 0.4857 m | |
| Durchmesser Rührer | d _i | | 0.049 m | |
| Rührerdrehzahl | n | | 16.6667 rps | |
| Rührerdrehzahl | n | $n [\text{min}^{-1}] / 60 \cdot n [\text{s}^{-1}]$ | 1000 rpm | |
| Rührerleistung | P | $P = \rho \cdot Ne^3 \cdot d_i^5$ | 6.2580 Watt | |
| Spez. Rührerleistung | P/V | P/V | 625.8025 Watt/m ³ | |

| Spitzengeschwindigkeit | v | $v = d_i \cdot \pi \cdot n$ | 2.5432 m/s |
|------------------------|--------|--|--------------|
| Reynoldszahl | Re | $Re = n \cdot d_i^2 \cdot \rho / \eta$ | 39320.3313 - |
| log Reynoldszahl | Re log | log(Re) | 4.5946 - |

| Scale Up I | Kürzel | Formel | 800L Pilotreaktor | 10m ³ Produktionsreaktor | Einheit |
|---------------------------|----------------|--|-------------------|-------------------------------------|----------------|
| Volumen Reaktor | V | $V = (d_R/2)^2 \pi h_R$ | 0.8 | 10 | m ³ |
| Innen-Durchmesser Reaktor | d _R | $h_R = d_R^3; d_R = (4 \cdot V / (3 \cdot \pi))^{1/3}$ | 0.6976 | 1.6191 | m |
| Höhe Reaktor | h _R | $h_R = d_R^3$ | 2.0929 | 4.8572 | m |
| Durchmesser Rührer | d _i | $V \sim d_i^3; d_2 = (V_2/V_1)^{1/3} \cdot d_{i1}$ | 0.2093 | 0.485718013 | m |
| Rührerdrehzahl | n | $v_2 = v_1 / \pi / d_{i2}$ | 3.8680 | 1.6667 | rps |
| Rührerdrehzahl | n | $n [\text{min}^{-1}] / 60 \cdot n [\text{s}^{-1}]$ | 232.0794 | 100 | rpm |

Scale Up II

| Bezeichnung | Kürzel | Formel | 800L Pilotreaktor | 10m ³ Produktionsreaktor |
|------------------------|--------|--|-------------------|-------------------------------------|
| Rührerleistung | P | $P = \rho \cdot Ne^3 \cdot d_i^5$ | 116.1887 | 625.8025 Watt |
| Spez. Rührerleistung | P/V | P/V | 145.2359 | 62.5803 Watt/m ³ |
| Spitzengeschwindigkeit | v | $v = d_i \cdot \pi \cdot n$ | 2.5432 | 2.5432 m/s |
| Reynoldszahl | Re | $Re = n \cdot d_i^2 \cdot \rho / \eta$ | 169426.1715 | 393203.3129 - |
| log Reynoldszahl | Re log | | 5.2290 | 5.5946 - |

Zusammenfassung - Faktor

| Bezeichnung | Kürzel | Formel | 10L Laborreaktor | 800L Pilotreaktor | 10m ³ Produktionsreaktor |
|---------------------------|----------------|--|------------------|-------------------|-------------------------------------|
| Volumen Reaktor | V | $V = (d_R/2)^2 \pi h_R$ | 1 | 80.0000 | 1000 |
| Innen-Durchmesser Reaktor | d _R | $h_R = d_R^3; d_R = (4 \cdot V / (3 \cdot \pi))^{1/3}$ | 1 | 4.3089 | 10 |
| Höhe Reaktor | h _R | $h_R = d_R^3$ | 1 | 4.3089 | 10 |
| Durchmesser Rührer | d _i | $V \sim d_i^3; d_2 = (V_2/V_1)^{1/3} \cdot d_{i1}$ | 1 | 4.3089 | 10 |
| Rührerdrehzahl | n | | 1 | 0.2321 | 0.1 |
| Rührerdrehzahl | n | $n [\text{min}^{-1}] / 60 \cdot n [\text{s}^{-1}]$ | 1 | 0.2321 | 0.1 |
| Rührerleistung | P | $P = \rho \cdot Ne^3 \cdot d_i^5$ | 1 | 18.5664 | 100 |
| Spez. Rührerleistung | P/V | P/V | 1 | 0.2321 | 0.1 |
| Spitzengeschwindigkeit | v | $v = d_i \cdot \pi \cdot n$ | 1 | 1 | 1 |
| Reynoldszahl | Re | $Re = n \cdot d_i^2 \cdot \rho / \eta$ | 1 | 4.3089 | 10 |

Scale up Proportionalität

| Bezeichnung | Proportionalität |
|------------------------------|----------------------------|
| Spitzengeschwindigkeit | $v \sim N \cdot d_i$ |
| Volumen | $V \sim d_i^3$ |
| Leistung | $P \sim n^3 \cdot d_i^5$ |
| Umwälzkapazität Rührer | $F \sim n \cdot d_i^3$ |
| Spez. Rührerleistung | $P/V \sim n^3 \cdot d_i^2$ |
| Spez. Umwälzkapazität Rührer | $F/V \sim n$ |
| Reynoldszahl | $Re \sim n \cdot d_i^2$ |