

### 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<sup>-1</sup>

K<sub>s</sub> von E. coli für Glucose = 0,022 g l<sup>-1</sup>

μ<sub>max</sub> von E. coli für Glucose = 1,20 h<sup>-1</sup>

Anmerkungen: Die Batch-Fermentation wird üblicherweise mit der allgemeinen Wachstumsgleichung unter Verwendung von μ<sub>max</sub> 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<sub>max</sub> abgefallen?

### Vorgaben

c <sub>so</sub>	10,0000	g/l
k <sub>S</sub>	0,022	g/l
m <sub>y,max</sub>	1,200	1/h

### Berechnungen

Case1	residual glucose	10%
	m <sub>y</sub>	98%
Case2	residual glucose	5%
	m <sub>y</sub>	96%
Case3	residual glucose	0,9%
	m <sub>y</sub>	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 m<sup>3</sup>-Blasensäulenreaktor, wird mit 12 kg Zellen beimpft. Die Glucosekonzentration beträgt 10 kg/m<sup>3</sup>, die maximale spezifische Wachstumsrate der Kultur ist 0,9 h<sup>-1</sup> 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

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

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

$$t^* \mu = \ln(cxt) - \ln(cx0)$$

$$t = (\ln(cxt) - \ln(cx0)) / \mu$$

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<sup>-1</sup> 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<sub>X/S</sub>?

## Vorgaben

VR	9,5	L
t <sub>end</sub>	6	h
cx <sub>0</sub> , inoc	2	g/l
μ <sub>max</sub>	1,2	1/h
c <sub>xt</sub>	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

<b>a</b>	<b>Vinoc</b>	<b>0,030</b>	<b>L</b>
<b>b</b>	c <sub>xt</sub>	6,74	g/l
	$\mu = (\ln(c_{xt}) - \ln(c_{x0})) / t$	<b>1,16</b>	<b>1/h</b>
<b>c</b>	cs <sub>0</sub>	13,4737	g/l
	<b>Y<sub>x/s</sub> = dx/ds</b>	<b>0,4995</b>	<b>g/g</b>

# Produktivität\_1

## Aufgabenstellung

Ein Laborfermenter mit einem Arbeitsvolumen von 975 ml wird bei einer Flussrate von 60 ml h<sup>-1</sup> und einer Substratkonzentration von 5 g l<sup>-1</sup> im Feed betrieben. Es werden in regelmäßigen Zeitabständen Proben zur Bestimmung von Biomasse X und Substratkonzentration S im Fermenter gezogen bis sich ein Gleichgewicht eingest. Danach wird die Flussrate auf 100 ml h<sup>-1</sup> 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.

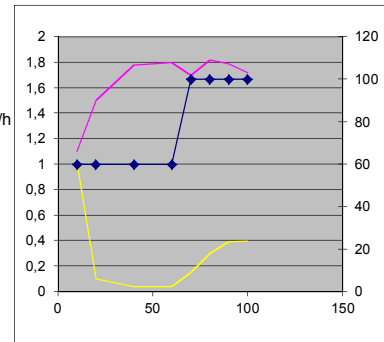
Wie hoch ist die bei dieser optimalen Verdünnungsrate erzielte Biomassekonzentration sowie Produktivität.

Berechnen Sie abschließend jene Verdünnungsrate, deren Überschreitung die Auswaschung des Fermenters zur Folge hätte.

## Vorgaben

Zeit [h]	Feedrate F [ml h <sup>-1</sup> ]	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 S<sub>0</sub> 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 <sup>-1</sup> ]	Biomassekonzentration X [g l <sup>-1</sup> ]	Substratkonzentration S [g l <sup>-1</sup> ]	1/S	μ [h <sup>-1</sup> ]	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 <sub>s</sub> /μ <sub>max</sub>	0,301
Achsabschnitt	1/μ <sub>max</sub>	8,985
	μ <sub>max</sub>	<b>0,111 [h<sup>-1</sup>]</b>
	K <sub>s</sub>	<b>0,034 [g/L]</b>

Berechnung der optimalen Verdünnungsrate

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

D<sub>opt</sub> 0,102 [h<sup>-1</sup>]

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<sub>crit</sub> 0,111 [h<sup>-1</sup>]

# Erhaltungsstoffwechsel\_1

## Aufgabenstellung

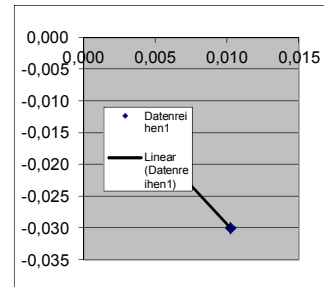
Ein Laborfermenter mit einem Arbeitsvolumen von 975 ml wird bei einer Flussrate von 5 ml h<sup>-1</sup> und einer Substratkonzentration von 5 g l<sup>-1</sup> im Feed betrieben. Es werden in regelmäßigen Zeitabständen Proben zur Bestimmung von Biomasse X und Substratkonzentration S im Fermenter gezogen bis sich ein Gleichgewicht eingestellt. Danach wird die Flussrate auf 10 ml h<sup>-1</sup> erhöht und die Probennahme 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 <sup>-1</sup> ]	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 S<sub>0</sub> 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

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

Zeit [h]	Feedrate F [ml h <sup>-1</sup> ]	Biomassekonzentration X [g l <sup>-1</sup> ]	Substratkonzentration S [g l <sup>-1</sup> ]	μ [h <sup>-1</sup> ]	rs [g/l/h]	qs [g/g/h]
40	5	1,44	0,11	0,005	0,025076923	-0,017
60	5	1,42	0,13	0,005	0,024974359	-0,018
90	10	1,65	0,15	0,010	0,04974359	-0,030
100	10	1,66	0,16	0,010	0,049641026	-0,030

$\mu = (q_s - m_s) Y_{x/s}^{\max}$	$q_s = m_s - \frac{\mu}{Y_{x/s}^{\max}}$	Steigung	-1/Y <sub>x/s</sub> max	-2,442
		Achsabschnitt	Y <sub>x/s</sub> max	0,409441527 g/g
			m <sub>s</sub>	-0,004976175 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

$c_{\text{Biomasse}}$	25	g/L
Biomasse		
C	1	
H	1,83	
N	0,25	
O	0,55	

## Berechnungen

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

$M_{\text{Biomasse}}$	26,13	g/C-mol
-----------------------	-------	---------

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

$c_{\text{Biomasse}}$	0,96	C-mol/l
-----------------------	------	---------

$c_{\text{n}}$	0,24	mol/l
$M_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4}$	132,00	g/mol

$$c_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4} [\text{g/L}] = c_{\text{n}} [\text{mol/L}] \cdot M_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4} [\text{g/mol}] / 2$$

$c_{(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4}$	15,79	g/l
----------------------------------	-------	-----

## Aufgabenstellung

Eine Hefe mit der Zusammensetzung C H<sub>1,8</sub> O<sub>0,5</sub> N<sub>0,2</sub> (5 % Asche) erzielt einen Umsatz  $\nu$  0.5 g Biomasse/g Substrat. Es werden keine weiteren Metabolite gebildet.

Welcher RQ stellt sich ein, wenn als Substrat Glycerol (C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>) eingesetzt wird?

Wo liegt der RQ bei Glukose?

## Vorgaben

Biomasse			
	C	1	
	H	1,8	
	N	0,2	
	O	0,5	
	Y <sub>x/s</sub>	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 <sub>Biomasse</sub>	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 <sub>x/s</sub>	0,59	C-mol/C-mol

C-Bilanz	Y <sub>Co2</sub> = 1 - Y <sub>x/s</sub>	0,41	C-mol/C-mol
----------	---	------	-------------

DoR Bilanz

		0,54	C-mol/C-mol
RQ	=CER/OUR	=r <sub>co2</sub> /r <sub>o2</sub>	=Y <sub>CO2s</sub> /Y <sub>o2s</sub>
		<b>0,75</b>	-

## Aufgabenstellung

Citronensäure (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>) wird aus Glucose durch Fermentation mit *Aspergillus niger*

(CH<sub>1,8</sub>O<sub>0,5</sub>N<sub>0,2</sub>) unter Belüftung hergestellt. Der pH liegt zwischen 1,8 und 2,0.

Die Stickstoffquelle ist Ammonnitrat. Es wird kein Kohlendioxid gebildet.

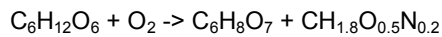
Eine typische Ausbeute unter diesen Bedingungen ist 68 g Citronensäure pro 100 g Glucose.

Bestimme den entsprechenden Sauerstoffverbrauch unter der Annahme,

dass nur Biomasse und Citronensäure gebildet wird!

## Vorgaben

Y <sub>p/s</sub>		0,68	[g/g]
Biomasse			
	C	1	
	H	1,8	
	N	0,2	
	O	0,5	
		4,2	



## Berechnungen

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

$$M_{\text{Biomasse}} = 24,6 \quad \text{g/C-mol}$$

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

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

DoR (c-molar)

$$\text{DoR}_{\text{Glucose}} = 4 \quad \text{DoR}_{\text{Citronensäure}} = 3 \quad \text{DoR}_{O_2} = -4 \quad \text{DoR}_{\text{Biomasse}} = \text{DoRC} \cdot x_C + \text{DoRH} \cdot x_H + \text{DoRO} \cdot x_O + \text{DoRN} \cdot x_N = 4,2$$

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

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

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

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

$$4 + Y_{O_2/s} \cdot (-4) = 0.6375 \cdot 3 + 0.3625 \cdot 4,2$$

$$Y_{O_2/s} =$$

$$0,14125 \quad [\text{mol/C-mol}]$$



**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  $f(\mu, x_0, Y_{x/s}, V_0, S_0)$

**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!

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

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

Stoffbilanz

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

Volumensänderung = Zulauf

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

Substrat im Feed limitierende Komponente

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

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

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

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

$$V_R \quad V_R Y_{x/s}$$

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

Substratkonzentration im Reaktor viel kleiner als Substratkonzentration im Feed

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

initiale Feedrate

**Aufgabenstellung**

Eine Fermentation mit Bakterien hat nach Inokulation einer Zelldichte von  $10^5$  Zellen/ml und wird mit einer Zelldichte von  $10^8$  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**

$dcX/dt = \mu \cdot cX$	
$dcX/c = \mu \cdot dt$	
$t \cdot \mu_A = \ln(c_{xt,A}) - \ln(c_{x0,A})$	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<sub>1,6</sub> O<sub>0,5</sub> N<sub>0,2</sub> (5 % Asche) erzielt einen Umsatz  $\mu$  0.6 g Biomasse/g Substrat. Es werden keine weiteren Metabolite gebildet.

Welche Wärme muss abgeführt werden, wenn in einem 15 m<sup>3</sup> Reaktor eine Kultur mit 50g/ Biomasse mit einer spezifischen Wachstumsrate von 0.1 1/h wächst, 5 kW/m<sup>3</sup> Rührarbeit dissipiert wird und Glukose (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) als Substrat eingesetzt wird?

## Vorgaben

Biomasse

C	1	
H	1,6	
N	0,2	
O	0,5	
Y <sub>x/s</sub>	0,6	g/g
μ <sub>y</sub>	0,1	1/h
c <sub>X</sub>	50	g/l
Reaktorvolumen	15000	L
spezWärme	460	kJ/molO <sub>2</sub>

## 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 <sub>biomasse</sub>	25,684211	g/C-mol
DoR Biomasse	4,00	-

DoR Glukose

DoR Glukose	4,000	-
-------------	-------	---

M Glukose

M Glukose	30,00	g/C-mol
Y <sub>x/s</sub>	0,70	C-mol/C-mol

C-Bilanz

Y <sub>Co2</sub> = 1 - Y <sub>x/s</sub>	0,30	C-mol/C-mol
---	------	-------------

DoR Bilanz

DoRS-4*Y <sub>o2s</sub> = DoRX*Y <sub>x/s</sub>		
Y <sub>o2s</sub> = (DoRS-DoRX*Y <sub>x/s</sub> )/4		
	0,299	C-mol/C-mol

Biomasse Aktivität

$$r_x = \mu_y \cdot c_X \quad \mathbf{5,00} \quad \text{g/l/h}$$

Substrate

r <sub>S</sub> = r <sub>x</sub> / Y <sub>x/s</sub>	8,33333333	g/l/h
r <sub>s</sub>	0,2777778	C-mol/l/h

OUR

r <sub>O2</sub> = Y <sub>o2s</sub> * r <sub>S</sub>	0,0831056	C-mol/l/h
q = r <sub>O2</sub> * spezWärme	38,228597	kJ/l/h
Q = VR * q / 3600s/h	<u>234,3</u>	<b>kW</b>

## Aufgabenstellung

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

Hinweis: Die Säulendurchmesser sind wie folgt gestaffelt: 30/4045/50/60/80/100 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:			
			200 L
		2,5 L g/l	Protein
			#CV
			<b>Chroma 1</b>
Hold Tank 3	196 L	Equilibration Buffer	Product Amount <b>0,5000 kg</b> CV: <b>39,3 L</b> Cycles: <b>1</b>
Hold Tank 3	79 L	Post Load Wash buffer	Col Diam: <b>50</b> Col Height: <b>20</b> Equil flow(cm/h) <b>200</b> Equil flow(l/h): <b>393</b> Load Elute flow(cm/h): <b>100</b> Load Elute flow(l/h): <b>196</b>
Hold Tank 4	196 L	Elution Buffer	effective binding g/l <b>12,73</b> max. binding g/l: <b>15,0</b>
Hold Tank 2	79 L	Regeneration Buffer	Process (h): 2,920
		cut ca 2.0 CV	79 L
		constant during scale up	Eluate
		variables during scale up	

## 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 vorhandenen Puffersystem enthalten .

Gesamtprozesszeit ist maximal 3 Stunden

Legen Sie die Membranfläche und das System aus!

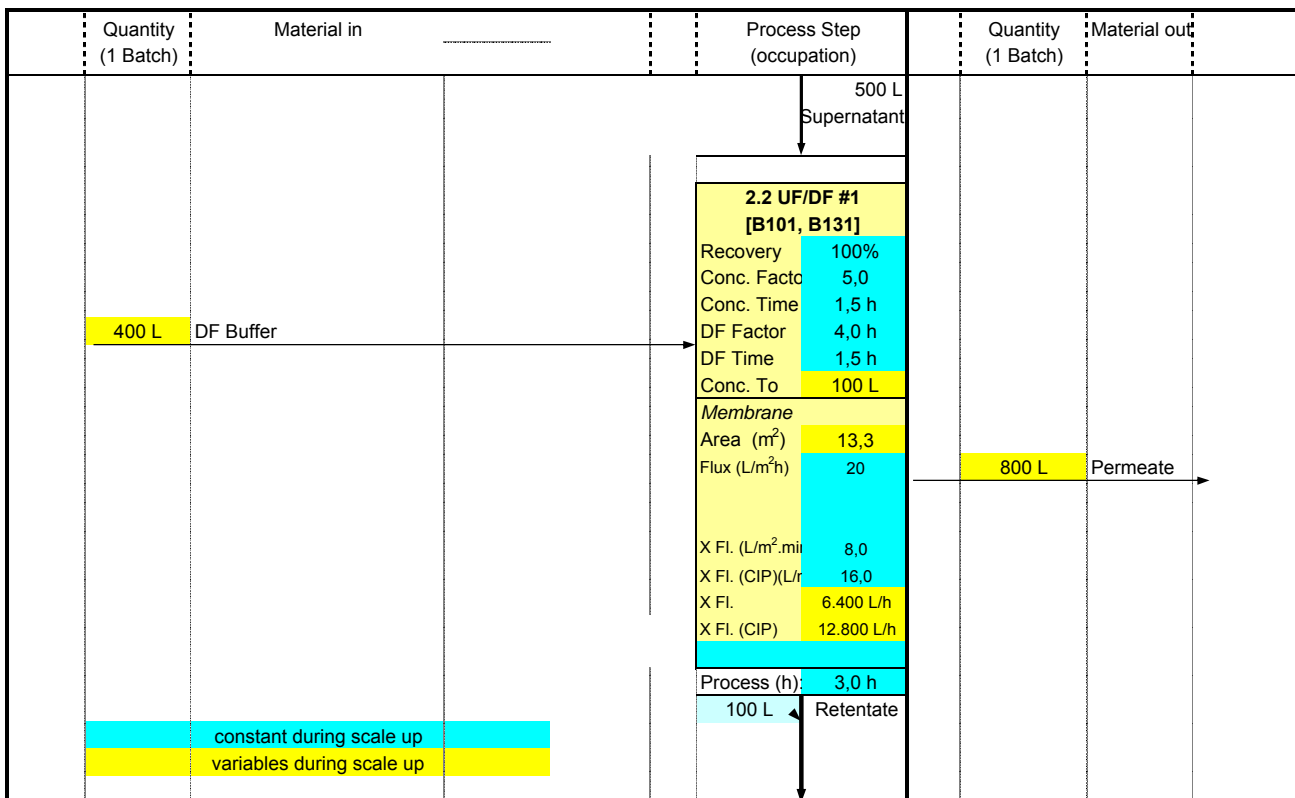
### Vorgaben

Transmembranfluss	20	l/m <sup>2</sup> /h
Tangentialflussrate	8	l/m <sup>2</sup> /min

### 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



## Aufgabenstellung

Skizzieren Sie einen kompletten Prozess für rekombinante Proteinproduktion mit der methylotrophen 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  
 $\rho$  Glycerol Feed 1170 g/L

#### Induktion

$c_{S,in}$  Induktion Methanol 850 g/L  
 $\rho$  Methanol Feed 820 g/L  
 $M_{\text{Methanol}}$  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

#### Batch

$$c_x = c_{x0} e^{\mu t}$$

$$\mu = \frac{\ln\left(\frac{c_x}{c_{x0}}\right)}{t}$$

$\mu_{\text{max Batch}}$  0,250 [h-1]  
 $\mu_{\text{Fedbatch}} = \mu_{\text{max}} \cdot 0.8$  0,200 [h-1]

#### Fedbatch

$$\frac{F_0}{\rho} = \dot{V}_0 = \frac{\mu x_0 V_{R0}}{c_{S,in} Y_{x/s}}$$

$F_0$  18,7 g/h

$$X = X_0 e^{\mu t}$$

$$t = \frac{\ln\left(\frac{X}{X_0}\right)}{\mu}$$

$X_0$  aus Batch                    20 g  
 X Ende Fedbatch                520 g  
 Dauer                                16,314 h

$$\frac{\partial V_R}{\partial t} = \dot{V} = \frac{\dot{V}_0 e^{\mu t}}{\rho}$$

$$V_R - V_{R0} = \frac{\dot{V}_0}{\rho \mu} (e^{\mu t} - 1)$$

$V_R - V_{R0}$                         2 L  
 $V_R$                                  4 L  
 $c_x$                                  130,00 g/L

**Induktion**

$\mu_{\text{Induktion}} = \mu_{\text{max}} \cdot 0.1$                     0,025 [h<sup>-1</sup>]  
 $F_0$                                  25,047 g/h

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

$R_S$                                  25,96 g/h                    6,490753 g/l/h  
 $R_S$                                  0,81 c-mol/h

**DoR-Bilanz**

DoRMethanol                    6  
 $\text{DoR}_{\text{Biomasse}} = (\text{DoRC} \cdot x_C + \text{DoRH} \cdot x_H + \text{DoRO} \cdot x_O + \text{DoRN} \cdot x_N)$   
 $\text{DoR}_{\text{Biomasse}}$                     4,2  
 $M_{\text{Biomasse}} = M_C \cdot x_C + M_H \cdot x_H + M_O \cdot x_O + M_N \cdot x_N$   
 $M_{\text{Biomasse}}$                         24,6 g/c-mol

$Y_{x/s}$                                  0 c-mol/c-mol  
 $\text{DoRS} - 4 \cdot Y_{O2s} = \text{DoRX} \cdot Y_{x/s}$   
 $Y_{O2s} = (\text{DoRS} - \text{DoRX} \cdot Y_{x/s}) / 4$                     1,5 c-mol/c-mol

$$OUR = \frac{Y_{O2/s} R_S}{V_R} * 1000$$

OUR/OTR                        304,2541 mmol/L/h

Protein                             20 g  
 Proteinproduktion               2000 gh  
 Dauer Induktion                 3,846154 h  
 Gesamtdauer Kultur            32,15984 h  
 Dauer Vorbereitung+Sterilsation    24 h  
 Dauer Reinigung                24 h  
 Gesamtdauer Prozess         80,15984 h  
 Arbeitsstunden pro Jahr        6000 h  
 Proteinproduktion po Lauf      5000 g  
 Proteinproduktion po Jahr     374,2522 kg



## Aufgabenstellung

Legen Sie die Reaktorgeometrie für einen 10L Reaktor fest

Führen Sie einen Scale-up auf 800L und auf 10m<sup>3</sup> durch, halten sie dabei die Rührerspitzengewindigkeit konstant

### Vorgaben

Rührerdrehzahl	1000rpm	1000 rpm
wässriges Medium		
dynamische Viskosität Wasser	$\eta$	0,001 Pa*s = kg/m/s
Dichte Wasser	$\rho$	1000 kg/m <sup>3</sup>
Newtonzahl	Ne	5 -
Aspect ratio	a	0,3333 d <sub>R</sub> /h <sub>R</sub>
Durchmesser Rührer	d <sub>i</sub>	0,3 d <sub>R</sub>

### Rektorgeometrie

Bezeichnung	Kürzel	Formel	10L Laborreaktor	Einheit
Volumen Reaktor	V	$V = (d_R/2)^2 \pi h_R$	0,01	m <sup>3</sup>
Innen-Durchmesser Reaktor	d <sub>R</sub>	$d_R = (4 \cdot a \cdot V / (3 \cdot \pi))^{1/3}$		0,1619 m
Höhe Reaktor	h <sub>R</sub>	$h_R = d_R \cdot 3$		0,4857 m
Durchmesser Rührer	d <sub>i</sub>		0,049	m
Rührerdrehzahl	n			16,6667 rps
Rühdrehzahl	n	$n [\text{min}^{-1}] / 60 \cdot n [\text{s}^{-1}]$	1000	rpm
Rührerleistung	P	$P = \rho \cdot Ne \cdot n^3 \cdot d_i^5$		6,2580 Watt
Spez. Rührerleistung	P/V	P/V		625,8025 Watt/m <sup>3</sup>

Spitzengeschwindigkeit	v	$v = d_i \cdot \pi \cdot n$	2,5432 m/s
Reynoldszahl	Re	$Re = n \cdot d_i^{2/3} \cdot \rho / \eta$	39320,3313 -
log Reynoldszahl	Re log	log(Re)	4,5946 -

Scale Up I	Kürzel	Formel	800L Pilotreaktor	10m <sup>3</sup> Produktionsreaktor	Einheit
Volumen Reaktor	V	$V = (d/2)^2 \pi h_R$	0,8	10	m <sup>3</sup>
Innen-Durchmesser Reaktor	d <sub>R</sub>	$h_R = d_R \cdot 3; d_R = (4 \cdot V / (3 \cdot \pi))^{1/3}$	0,6976		1,6191 m
Höhe Reaktor	h <sub>R</sub>	$h_R = d_R \cdot 3$	2,0929		4,8572 m
Durchmesser Rührer	d <sub>i</sub>	$V \sim d_i^3; d_2 = (V_2/V_1)^{1/3} \cdot d_{i1}$	0,2093		0,485718013 m
Rührerdrehzahl	n <sub>2</sub>	$n_2 = v_i / \pi / d_{i2}$	3,8680		1,6667 rps
Rühdrehzahl	n	$n [\text{min}^{-1}] / 60 \cdot n [\text{s}^{-1}]$	232,0794		100 rpm

Scale Up II	Kürzel	Formel	800L Pilotreaktor	10m <sup>3</sup> Produktionsreaktor
Rührerleistung	P	$P = \rho \cdot Ne \cdot n^3 \cdot d_i^5$	116,1887	625,8025 Watt
Spez. Rührerleistung	P/V	P/V	145,2359	62,5803 Watt/m <sup>3</sup>
Spitzengeschwindigkeit	v	$v = d_i \cdot \pi \cdot n$	2,5432	2,5432 m/s
Reynoldszahl	Re	$Re = n \cdot d_i^{2/3} \cdot \rho / \eta$	169426,1715	393203,3129 -
log Reynoldszahl	Re log		5,2290	5,5946 -

### Zusammenfassung - Faktor

Bezeichnung	Kürzel	Formel	10L Laborreaktor	800L Pilotreaktor	10m <sup>3</sup> Produktionsreaktor
Volumen Reaktor	V	$V = (d/2)^2 \pi h_R$	1	80,0000	1000
Innen-Durchmesser Reaktor	d <sub>R</sub>	$h_R = d_R \cdot 3; d_R = (4 \cdot V / (3 \cdot \pi))^{1/3}$	1	4,3089	10
Höhe Reaktor	h <sub>R</sub>	$h_R = d_R \cdot 3$	1	4,3089	10
Durchmesser Rührer	d <sub>i</sub>	$V \sim d_i^3; d_2 = (V_2/V_1)^{1/3} \cdot d_{i1}$	1	4,3089	10
Rührerdrehzahl	n		1	0,2321	0,1
Rühdrehzahl	n	$n [\text{min}^{-1}] / 60 \cdot n [\text{s}^{-1}]$	1	0,2321	0,1
Rührerleistung	P	$P = \rho \cdot Ne \cdot n^3 \cdot d_i^5$	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	$Re = n \cdot d_i^{2/3} \cdot \rho / \eta$	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	$Re \sim n \cdot d_i^{2/3}$