

UNIVERSITATEA DIN BACĂU
FACULTATEA DE INGINERIE

NISTOR Ileana Denisa
URSU Alina-Violeta

BIOREACTOARE

- *Indrumar de laborator*
- *Indrumar de proiect*

** pentru uzul studenților*

Editura ALMA MATER, Bacău
2007

CUPRINS

PARTEA I-A. BIOREACTOARE. INDRUMAR DE LABORATOR	5
1. Norme de protectia muncii, prevenire si paza contra incendiilor in laboratorul de bioreactoare. Notiuni de prim ajutor.	6
2. Prepararea mediilor de cultura industriale utilizate in procesele biotehnologice	9
2.1. Generalitati asupra mediilor de cultura	9
2.2. Clasificarea mediilor de cultura	9
2.3. Reguli generale de lucru	10
2.4. Compozitia si tehnica prepararii mediilor de cultura	10
2.5. Exemple de medii de cultura	12
3. Bioreactorul discontinuu: descrierea si operarea bioreactorului de laborator in sistem "batch"	14
3.1. Pregatirea bioreactorului in vederea efectuarii unei sarje de biosinteza	17
3.2. Controlul pH-ului in bioreactor cu ajutorul electrodului de pH – Ingold; calibrarea electrodului de pH; reglarea automata a pH-ului cu ajutorul pompelor peristaltice	18
3.2.1. Principiul de actiune in electrolizii combinati	19
3.2.2. Constructia electrodului de pH (electrod combinat)	20
3.2.3. Calibrarea electrodului de pH, aferent bioreactorului Braun	20
3.3. Masurarea concentratiei de O ₂ din mediul de fermentatie cu ajutorul electrodului de O ₂ ; descriere; functionare, calibrare electrod de O ₂	21
3.3.1. Masurarea concentratiei de O ₂ dizolvat in mediu	22
3.3.2. Electrocul de O ₂	23
3.4. Obtinerea si caracterizarea unui preparat proteazic din <i>Bacillus subtilis</i> , in bioreactorul tip "BRAUN"	24
3.4.1. Obtinerea si prelucrarea culturilor de <i>Bacillus subtilis</i>	25
3.4.2. Determinarea activitatii proteolitice a proteazelor de <i>Bacillus subtilis</i>	25
4. Procese biotehnologice la nivel de bioreactor-micropilot	27
4.1. Obtinerea unui preparat cu <i>Lactobacillus plantarum</i> pentru conservarea furajelor	27
4.1.1. Obtinerea si prelucrarea culturilor de <i>Lactobacillus sp.</i>	27
4.1.2. Obtinerea proteinelor furajere din melasa, la nivel de	29

bioreactor	
4.1.3. Prelucrarea mediului de fermentatie cu continut in proteine microbiene la nivel micropilot	31
4.1.3.1. Separarea biomasei proteice prin centrifugare	31
4.1.3.2. Determinarea caracteristicilor fizico-chimice ale drojdiilor furajere	32
5. Influenta unor factori asupra curbei de crestere a microorganismelor in bioreactor	33
5.1. Stabilirea curbei prin masuratori de turbiditate	34
5.2. Stabilirea curbei de crestere prin numarare directa	37
5.3. Determinarea numarului de celule viabile prin metoda dilutiilor succesive	38
6. Influenta caracteristicilor materiilor prime asupra capacitatii de fermentatie	40
6.1. Determinarea capacitatii de fermentatie a diferitelor glucide	43
7. Influenta concentratiei biomasei (produsului biosintetizat) asupra vascozitatii lichidelor de fermentatie	45
7.1. Notiuni de reologie a lichidelor de fermentatie	46
7.2. Studiul influentei concentratiei biomasei sau a produsului biosintetizat asupra vascozitatii lichidelor de fermentatie	47
7.2.1. Influenta biomasei asupra vascozitatii lichidelor de fermentatie	49
7.2.2. Influenta concentratiei polizaharidelor asupra vascozitatii lichidelor de fermentatie	49
8. Influenta temperaturii asupra vascozitatii lichidelor de fermentatie	50
9. Influenta regimului static si dinamic (agitare) asupra dezvoltarii biomasei	52
10. Variatia parametrilor biochimici pe parcursul diferitelor tipuri de fermentatie	55
10.1. Variatia pH – ului pe parcursul biosintezei de acid lactic	56
10.2. Determinarea consumului de glucoza pe parcursul fermentatiei lactice	57
10.3. Determinarea concentratiei in acid lactic pe parcursul fermentatiei	61
10.4. Variatia parametrilor biochimici pe parcursul fermentatiei alcoolice	64
10.4.1. Variatia cantitatii sursei de carbon pe parcursul fermentatiei alcoolice	64
10.4.2. Determinarea continutului in alcool in mediul de fermentatie	65
10.5. Variatia parametrilor biochimici pe parcursul obtinerii acidului gluconic	65
11. Influenta temperaturii asupra proceselor biochimice de fermentatie alcoolica	69
11.1. Influenta temperaturii asupra proceselor de biosinteza	69
11.2. Influenta temperaturii in procesul de fermentatie alcoolica	70
12. Influenta temperaturii in procesul de scindare enzimatica a proteinelor	72
13. Influenta temperaturii asupra activitatii amilazei obtinute intr-un bioreactor de laborator din tulpini de <i>Bacillus sp.</i>	74

13.1. Pregătirea materialului pentru însămânțare	74
13.2. Obținerea de enzime amidolitice de origine bacteriană în baloane agitate	75
13.3. Controlul interfazic al bioprocesului	75
13.3.1. Identificarea amidonului cu soluție de iod	75
13.3.2. Efectuarea de preparate microscopice între lamă și lamelă	76
13.3.3. Inocularea baloanelor Erlenmeyer	76
13.4. Determinarea activității amidolitice	76
14. Influența pH-ului asupra procesului de multiplicare într-un reactor biochimic. Influența pH-ului mediului asupra activității enzimatică proteolitice a proteazelor din <i>Aspergillus oryzae</i>	78
15. Studiul influenței adaosurilor în procesul de obținere a proteinelor din etanol cu ajutorul drojdiilor în bioreactor	80
15.1. Studiul influenței adaosurilor în obținerea proteinelor din metanol cu ajutorul drojdiilor	80
15.1.1. Pregătirea materialului de însămânțare	81
15.1.2. Fermentația la baloane agitate	81
15.1.3. Fermentația în bioreactor	82
15.2. Studiul influenței adaosurilor în obținerea proteinelor din etanol cu ajutorul drojdiilor	83
15.2.1. Biochimia și stoechiometria procesului	84
15.2.2. Pregătirea materialului de însămânțare	84
15.2.3. Fermentația la flacoane agitate (pregătirea inoculului)	84
15.2.4. Fermentația la nivel de bioreactor	85
PARTEA A II-A. BIOREACTOARE. INDRUMAR DE PROIECT	86
16. Elemente de proiectare a bioreactoarelor	87
16.1. Marimi fizice utilizate în proiectarea bioreactoarelor	88
16.1.1. Vâscozitatea, vâscozitatea lichidelor	88
16.1.2. Densitatea lichidelor	90
16.1.3. Caldura specifică a lichidelor	90
16.1.4. Conductivitatea termică a lichidelor	91
16.1.5. Coeficientul de difuziune în lichide	92
16.2. Proiectarea bioreactoarelor discontinue cu amestecare perfectă	93
16.3. Proiectarea bioreactoarelor continue cu amestecare perfectă	95
16.3.1. Calculul unei baterii de bioreactoare continue cu amestecare perfectă	97
16.4. Proiectarea bioreactoarelor continue cu amestecare perfectă cu recirculare	98
16.5. Proiectarea bioreactoarelor cu deplasare totală	99
17. Transpunerea la scară cu aplicații în proiectarea bioreactoarelor	102
Bibliografie	104