**10.10 kLa’nın belirlenmesi (Measurement of kLa)**

Biyoreaktörlerde kLa’yı tahmin etmek için korelasyonların kullanılmasıyla ilgili zorluklar nedeniyle, oksijen transfer katsayıları genellikle deneysel olarak belirlenir. Ancak aşşağıda tartışıldığı gibi, bu yönteminde sorunları bulunmaktadır. kLa’yı ölçmek için hangi yöntem kullanılırsa kullanılsın, ölçüm koşulları fermenterde uygulananlarla eşleşmelidir.

**10.10.1 Oksijen Dengesi Yöntemi (Oxygen Balance Method)**

Yatışkın hal oksijen dengesi yöntemi, kLa’yı tahmin etmek için en güvenilir prosedürdür ve tek noktalı bir ölçümden belirlemeye izin verir. Önemli bir avantaj, yöntemin normal çalışma sırasında fermenterlere uygulanabilmesidir. Bununla birlikte, giriş ve çıkış gaz bileşiminin akış hızının, basıncın ve sıcaklığın doğru ölçümüne büyük ölçüde bağlıdır. Ölçüm teknikleri yetersizse, +-%100’e varan büyük hatalar ortaya çıkabilir.

kLa’yı belirlemek için, fermentöre giren ve fermentörden çıkan gaz akışlarınının oksijen içerikleri ölçülür. Kararlı halde kütle denkliğinden;

(10.52)

Burada;

: hacimsel oksijen transferi

: fermenterdeki sıvı hacmi

: hacimsel gaz akış hızı

: oksijenin gaz faz konsantrasyonu ve

altindisleri : giren (inlet) ve çıkan (outlet) gaz çıkışlarını belirtir.

Sağ taraftaki ilk parantez içindeki terim, giriş gazı akışında oksijenin fermentöre giriş hızını temsil eder, ikinci terim oksijenin fermentörden çıkış hızıdır. Aralarındaki fark, oksijenin gazdan sıvıya aktarılma hızıdır. Gaz derişimleri genellikle kısmi basınçlar olarak ölçüldüğü için, ideal gaz yasası (10.52) denklemine dahil edilebilir.

(10.53)

Burada;

: ideal gaz sabiti

: gazda oksijenin kısmi basıncı

: mutlak sıcaklık (K)

Fermentöre giren ve çıkan gaz akışlarındaki oksijen miktarı arasında özellikle küçük sistemlerde, genellikle büyük farklar olmadığı için, denklem (10.53) , benzer büyüklükte iki sayının çıkarılmasını içerir. İlişkili hatayı en aza indirmek için, genellikle kütle spektrometrisi veya benzer hassasiyet teknikleri kullanılarak ölçülür. Doğru bir değeri belirlemek için, gazların sıcaklığı ve akış hızı da dikkatlice ölçülmelidir. bilindikten sonra, fermentasyon sıvısındaki bir çözünmüş oksijen elektrotu kullanılarak ölçülür ve , Bölüm 10.8’de açıklandığı gibi belirlenirse, kLa daha sonra denklem (10.39) yardımıyla elde eedilebilir. kLa değeri, ölçüm sırasında kullanılan karıştırıcı hızına ve hava akış hızına ve kültür sıvısının özelliklerine bağlı olarak değişir.

Oksijen dengesi yönteminde kullanılan denklemler için birkaç varsayım vardır.

1. Sıvı faz iyi karıştırılmıştır.
2. Gaz faz iyi karışmıştır.
3. Basınç tankın heryerinde sabittir.

Bu varsayımlar, için ölçülen sonuçlardan kLa’yı belirlemek için denklem (10.39) uygulanması ile ilgilidir. Varsayım (1), fermentasyon sıvısı besi yerinde çözünmüş oksijen konsantrasyonunu temsil etmek için tek bit değeri kullanmamıza izin verir. Birim hacim başına nispeten yüksek bir karıştırıcı güç girişinin olduğu kaplarda oldukça iyi uygulanır. Bununla birlikte, büyük ölçekli fermenterlerdeki sıvı faz, özellikle kültür suyu viskoz ise, iyi karıştırılamayabilir. 2 ve 3. Varsayımlar ise oksijen çözünürlüğü ’nin hesaplanması için gereklidir. Çözünürlük gaz fazı bileşimine ve basınca bağlı olduğundan, bu özelliklerin tank boyunca aynı olduğunu varsayıyoruz. Varsayım (2), kabarcık gaz bileşimi kap boyunca tek tip ve çıkız gaz akışındaki ile aynı olduğunda geçerlidir. Bu, en çok, yüksek düzeyde gaz devridaimi olan küçük, yoğun şekilde çalkalanan kaplarda meydana gelir, buna göre, varsayım (2) genellikle laboratuver ölçekli fermentörlerde geçerlidir. Buna karşılık, büyük kaplarda daha yüksek kabarcık kalma süreleri ve daha düşük gaz devridaim seviyeleri, gaz fazının iyi karışma olasılığının daha düşük olduğu anlamına gelir. Varsayım (3), küçük ölçekli kaplarda genel olarak geçerlidir. Bununla birlikte, büyük, uzun fermenterlerde, sıvı ağırlığı nedeniyle tankın üstü ve altı arasında hidrostatik basınçta önemli farklar olabilir.

Example 10.2: Yatışkın koşulda kLa ölçümü

Mikrobiyal bir insektisit (bir pestisit türü) üretmek için *Bacillus thuringiensis* içeren 20 litrelik karıştırmalı bir fermentör kullanılır. kLa’yı belirlemek için oksijen dengesi yöntemi uygulanacaktır. Fermentör çalışma basıncı 150 kPa ve kültür sıcaklığı 30 oC’dir. Fermentasyon sıvısı içindeki oksijen gerilimi, 30 oC ve 150 kpa’da, su ve hava kullanılarak %100 ’e kalibre edilmiş bir prob kullanılarak % 82 olarak ölçülmüştür. Oksijenin kültür sıvısındaki çözünürlüğü sudaki ile aynıdır. Hava fermenter içerisine sparger vasıtasıyla verilir ve fermentör dışında 1 atm 22 oC’de ölçülmüş olan giriş gazı akış hızı 0.23 l/s ’dir. Fermentör çıkış gazı % 20.1 oksijen içermektedir ve çıkış hızı 8.9 l/min ‘dir.

1. Kültür tarafından oksijen hacimsel oksijen alım (tüketim) hızını (OUR) hesaplayın.
2. kLa değeri nedir ?

Çözüm:

metin içeren bir resim

Açıklama otomatik olarak oluşturuldu

metin içeren bir resim

Açıklama otomatik olarak oluşturuldu

metin içeren bir resim

Açıklama otomatik olarak oluşturuldu

metin içeren bir resim

Açıklama otomatik olarak oluşturuldu

metin içeren bir resim

Açıklama otomatik olarak oluşturuldu

Yüksek hassasiyetli gaz ölçüm ekipmanları kullanıldığında bile, oksijen dengesi yöntemi, örneğin bitki ve hayvan hücre kültürleri ve aerobik atık arıtma sistemleri gibi düşük hücre büyümesi ve oksijen alım (OUR) hızlarına sahip kültürlerde kolayca uygulanamaz. Oksijen alımı yavaş olduğunda, giriş çıkış gazı arasındaki oksijen içeriği farkı çok küçülerek kabul edilemez hata seviyelerine neden olabilir. Bu durumlarda, kLa’yı ölçmek için diğer yöntemler dikkate alınmalıdır.

**10.10.2 Dinamik Yöntem ile kLa belirlenmesi**

kLa’yı tahmin etmeye yönelik bu yöntemde, çözünmüş oksijen gerilimindeki değişiklikler, fermenterdeki havalandırma koşullarındaki bir basamak etki değişikliğinden sonra oksijen elektrodu kullanılarak ölçülür. Sonuçlar, kLa değerini elde etmek için yatışkın olmayan hal kütle dengesi denklemleri kullanılarak yorumlanır. Dinamik yöntemin yatışkın durum oksijen denge tekniğine göre ana avantajı, ihtiyaç duyulan analitik ekipmanların nispeten düşük maliyetidir. Ayrıca ölçüm, bilinmese de gerçekleştirilebilir. Pratikte dinamik yöntem, nispeten küçük kaplarda kLa’yı ölçmek için en uygun yöntemdir. Laboratuvar ölçekli fermentörlerde yaygın olarak kullanılır. Dinamik yöntem deneysel olarak uygulanması basit ve kolay olmasına rağmen, ölçüm sisteminin çeşitli yönleri incelenmedikçe ve karakterize edilmedikçe çok yanlış sonuçlar verebilir. Bunlar çözünmüş oksijen elektrotunun tepki süresini, prob yüzeyindeki sıvı sınır tabakalarının etkisini ve kaptaki gaz faz dinamiklerini içerir. Ölçüm sisteminin bu özellikleri dinamik yöntemle birlikte değerlendirilmelidir.

***Basit Dinamik Yöntem***

Dinamik yöntemin en basit versiyonu burada açıklanacaktır. Bu yöntem, yalnızca aşağıdaki varsayımlar geçerliyse kLa için makul sonuçlar verir.

1. Sıvı faz iyi karıştırılmaktadır.
2. Çözünmüş oksijen elektrotunun tepki süresi, 1/kLa’dan çok daha küçüktür.
3. Ölçüm, oksijen probunun yüzeyindeki sıvı sınır tabakalarını ortadan kaldırmak için yeterince yüksek karıştırıcı hızında gerçekleştirilir.
4. Gaz fazı dinamikleri göz ardı edilebilir (Bölüm 10.10.2).

Reaktörde sabit bir konumda ölçümlerinin kap boyunca çözünmüş oksijen derişimini temsil etmesi için varsayım (1) gereklidir. Böylece kLa için sonuçlar elektrot konumuna bağlı değildir. Bu küçük, iyi karıştırılan fermenterlerde nispeten kolaydır, ancak viskoz sıvı içeren büyük kaplarda gerçekleşmeyebilir. Varsayımlar 2 ve 3, basit dinamik yöntemle birlikte gerçekleştirilmesi gereken test deneylerinin sonuçlarını ifade eder. Bu varsayımların kLa’nın değeri nispeten küçük olduğunda, iyi karıştırılmış, düşük viskoziteli sıvılarda hızlı oksijen elektrotlarını kullanarak tutma olasılığı daha yüksektir. Varsayım 4, ölçüm süresi boyunca gaz fazının özelliklerini ifade eder. Gaz tutma ve karıştırma, dinamik yöntemin çoğu uygulamasında önemli bir etkiye sahiptir; ancak, basitlik için burada etkileri ihmal edilmiştir. Yukarıdaki dört varsayımdan herhangi biri geçerli değilse, basit dinamik yöntem kLa’nın doğru bir değerini tanımlamayacaktır ve alternatif prosedürler değerlendirilmelidir.

Basit dinamik yöntemi kullanarak kLa’yı ölçmek için, kültür suyu içeren fermenter, çözünmüş oksijen konsantrasyonu ’nin sabit olması için karıştırılır. zamanında ya fermentöre azot gönderilerek ya da Şekil 10.14’te gösterildiği gibi hava akışını durdurarak, kültürün çözeltideki mevcut oksijeni gidermesine izin verilir.

Daha sonra hava, kültür sıvısına sabit bir hızda pompalanır ve ’deki artış, zamanın bir fonksiyonu olarak prob ile ölçülür. Oksijen konsantrasyonunun ktirik Ccrit seviyesinin üstünde kalması önemlidir, böylece hücreler tarafından oksijen alım hızı (OUR) çözünmüş oksijen geriliminden bağımsız kalır. Sıvının yeniden oksijenlenmesinin hücre büyümesine göre hızlı olduğu varsayılırsa, çözünmüş oksijen seviyesi kısa bir süre içerisinde sabit bir durum değeri olan değerine ukaşacaktır. Bu sistemdeki oksijen kaynağı ve oksijen tüketimi arasındaki dengeyi yansıtır. ve , sırasıyla ve zamanlarında ölçülen iki oksijen konsantrasyonudur. Bu deneysel verilerden yola çıkarak kLa için bir denklem geliştirebiliriz.

Reoksijenasyon adımı sırasında system yatışkın durumda değildir. Çözünmüş oksikjen derişimindeki değişim hızı, gazdan sıvıya oksijen transfer hızı eksi hücreler tarafından tüketim hızına eşittir.

(10.54)

Burada oksijen tüketim hızıdır. Nihai kararlı durum çözünmüş oksijen konsantrasyonu,

‘yi dikkate alarak için bir ifade belirleyebiliriz. olduğunda, olacaktır çünkü,’de zamanla bir değişiklik olmaz. Bu sayede denklem (10.54)’den

(10.55)

Bu sonucu denklem 10.54 de yerine koyarsak;

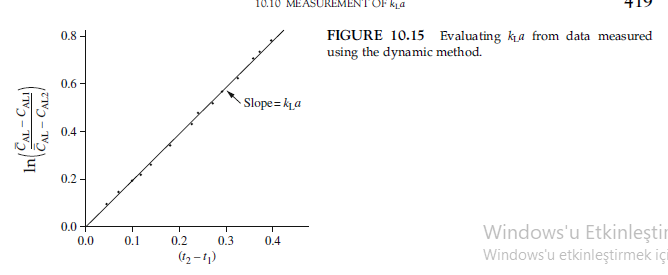
(10.56)

denklemini elde ederiz.

kLa’nın zamanla sabit olduğunu varsayarsak (10.56) denklemini integrasyonu alınırsa;

(10.57)

(10.57) denklemi, Sekil 10.14’teki iki nokta (,) ve (,)’nin çeşitli değerlerinden kLa tahmin edilebilir.

e karşı () grafiğe geçirildiğinde, eğim kLa ya eşittir. Bu işlem Şekil 10.15’te gösterilmiştir. 

kLa için elde edilen değer, çalışan karıştırıcı hızını, reoksijenasyon adımı sırasındaki hava akış hızını ve kültür sıvısının özelliklerini yansıtır. Denklem (10.57), aktif olarak solunum yapan kültürlere veya oksijen alımı olmayan sistemlere uygulanabilir. Bu teknik kullanılarak belirlenen kLa değerini kabul etmeden önce, ölçüm sırasında (1) ve (4) arasındaki varsayımların geçerliliği kontrol edilmelidir. Varsayım (1), farklı prob konumları kullanılarak kLa ölçümü tekrarlanarak doğrulanabilir, kalan üç varsayım aşağıdaki bölümlerde ele alınmaktadır.