BIOTEKNOLOGI



Copyright: Novozymes A/S

Modelbaseret valg og optimering af industrielle bioreaktorer

Cellulaser er nødvendige i produktionen af den næste generation af bioethanol. ErhvervsPhD i samarbejde mellem Novozymes og DTU har søgt efter den mest effektive gæringsteknologi for ekspression af cellulaser af den filamentøse svamp *Trichoderma reesei*.

Af Mads O. Albæk¹, Krist V. Gernaey², Morten S. Hansen¹ og Stuart M. Stocks¹ ¹Fermentation Pilot Plant, Novozymes A/S ²Center for Process Engineering and Technology, DTU Kemiteknik

Cellulose er en lineær polymer af β -1,4-bunden glukose og er verdens mest forekommende organiske molekyle [1]. Næste generation af bioethanol kan produceres ved enzymatisk nedbryd-

ning af cellulose til glukose, der herefter forgæres til ethanol. Råmaterialet kan være "affaldscellulose" fra skovdrift eller majs- og halmstængler, som ellers skulle have været brændt. Processen er mere kompleks end den nuværende stivelsesbaserede bioethanolproduktion, idet cellulosen fra naturens hånd er svært nedbrydelig. Det betyder, at der skal doseres mere enzym pr. produceret enhed bioethanol, og at effektiviteten skal være højere. Industriel produktion af cellulaser foregår som regel ved aerob kultivering af den filamentøse svamp *Trichoderma reesei*,

BIOTEKNOLOGI



Figur 1. Filamentøs vækst af svampen *Trichoderma reesei*. Svampen gror bl.a. ved forgrening og forlængelse af dens hyfer, hvorved viskositeten stiger. I løbet af en gæringsprocess ($A \rightarrow B \rightarrow C$) kan viskositeten stige fra 1 mPa.s (vands viskositet) til over 100 mPa.s.

hvorefter enzymerne oprenses og formuleres. Dette studie har fokuseret på gæringsdelen af enzymproduktionen.

Studiet baserer sig på en mekanistisk gæringsmodel udviklet i pilotskala gæringstanke. Den begrænsende faktor i gæringen er iltovergangen til kulturvæsken, som ud over tankens geometri begrænses af den stigende viskositet af kulturvæsken. I løbet af en gæring er det ikke unormalt, at viskositeten stiger med faktor 100 (figur 1), idet biomassekoncentrationen stiger. Iltkoncentrationen måles konstant og benyttes til at styre tilsætningen af en kulstofkilde, hvilket også modelleres. Modellen beskriver herudover produktdannelsen, biomassekoncentrationen og viskositetsudviklingen.

Jagten på energieffektivitet

For at udvælge de potentielt mest energieffektive bioreaktorer blev 14 forskellige teknologier, hvis iltovergangstal var beskrevet i litteraturen og patenter, testet vha. modellen. Denne screening hjalp med at identificere to energieffektive teknologier, som blev evalueret yderligere:

1) Traditionelle omrørte bioreaktorer, og

2) airlift-reaktorer med luftdreven cirkulation af gæringsvæsken (uden omrøring).

Energiforbruget i en industriel bioreaktor fordeler sig mellem omrøring, beluftning og køling (se tabel 1, side 24). Mekanisk omrøring bidrager med bedre opblanding og iltovergang, men



Plougmann & Vingtoft Intellectual property consulting Munich · Copenhagen · Aarhus · Oslo · Madrid · Basel

I BIOTEKNOLOGI



Figur 2. Energieffektivitet (kg O_2/kWh) og produktivitet (mol $O_2/m^3/dag$) som funktion af den omrørte bioreaktors energiforbrug. Modelsimuleringerne (rød) stemmer fint overens med de eksperimentelle data (sort). Produktiviteten er højest ved højest energiforbru , mens bioreaktorens energieffektivitet er omvendt proportional med energiforbruget. Den højeste effektivitet findes ved lavest energi orbrug [3].

Omrøring	44%
Beluftning - energiforbrug af kompressoren	26%
Køling	30%

Tabel 1. Procentvis fordeling af energiforbruget i en typisk industriel omrørt reaktor på 300 m³ [2].

medfører samtidig også et højere kølebehov. Vi definerede energieffektivitet som den mængde O_2 , der kunne overføres ved forbrug af 1 kWh. Ved at bruge iltovergang som "målestok" kan fremgangsmåden i dette studie senere genbruges i andre processer, som også er begrænsede af netop iltovergangen. Samtidig defineres produktiviteten som iltovergangen pr. volumen pr. tid (mol $O_2/m^3/dag$). For at finde de mest optimale betingelser for gæringsprocessen varierede vi energiforbruget mellem 1-17 kW/m³ – et meget stort interval. Vores forsøg i pilotskala med begge typer bioreaktorer viste klart, at der var et inverst forhold mellem energiforbrug og energieffektivitet (figur 2). Den højeste energieffektivitet var ved lavt energiforbrug, og vores model af gæringsforløbet kunne gengive dette forhold meget præcist.

Simuleringer i industriel skala

I projektets afsluttende del behandledes de to bioreaktorers egenskaber i industriel skala. Her brugte vi gæringsmodellen til at forudsige energiforbruget for forskellige udformninger (højde-bredde-forhold), voluminer samt procesvariable for begge teknologier. Vi indlagde herudover økonomiske beregninger af kapitalomkostningerne for hver reaktorteknologi og brugte derefter modellen til at minimere den totale omkostning ved gæringsprocessen over en tiårig afskrivningsperiode.

Resultaterne af disse simuleringer og økonomiske beregninger ses i tabel 2. De optimale reaktorvoluminer er 400 m³ for den omrørte tank og 1000 m³ for airlift-reaktoren. For begge reaktortyper gælder, at effektiviteten øges ved at holde energiforbruget lavt. Vores resultater tyder på, at der er et potentiale ved at nedsætte energiforbruget. Samtidig blev det klart, at omkostningerne til energiforbruget i øjeblikket er væsentlig lavere end omkostningerne til andre råvarer i gæringsprocessen (især kulstofkilden), og at denne udgift er uafhængig af reaktorteknologien. Dermed er en stor del af omkostningerne "låst".

	Omrørt tank	Airlift reaktor
Optimalt volumen (m ³)	400	1000
Bioreaktor højde (m)	26	36
Omrøring (kW/m ³)	0,5	-
Kapitalomkostning (\$/kg O ₂)	0,097	0,065
Energiomkostninger (\$/kg O ₂)	0,139	0,111
Råvareomkostninger ((\$/kg O ₂)	0,773	0,773

Tabel 2. Reaktorkonfigurationer for to teknologier optimeret for lavest totale omkostninger. Bioreaktorerne har store voluminer og lavt energiforbrug. Både kapitalomkostninger og energiforbruget er lavere for airliftreaktoren, men råvareomkostningerne er identiske og udgør en stor del af de samlede udgifter [3].

Kan resultaterne overføres til praksis?

Det er dyrt at lave "forsøg" i 400-1000 m³ skala! Derfor kan vi ikke umiddelbart efterprøve dette studies simuleringsresultater. Den seneste udvikling inden for Computational Fluid Dynamics (CFD) har betydet, at open source software som f.eks. OpenFOAM, nu kan håndtere ikke-Newtonske væsker. Vi vil bruge den slags software til at lave yderligere simuleringer af opblandingsforhold i den størrelse reaktorer og koble den nuværende gæringsmodel med mere detaljerede iltovergangssimuleringer. Herefter skal vi undersøge *T. reesei*'s fysiologiske respons på den eventuelt reducerede opblanding i så store reaktorer. Dette kan udføres vha. nedskaleringsforsøg i pilotskala.

E-mail

Mads O. Albæk: maoa@novozymes.com Krist V. Gernaey: kvg@kt.dtu.dk Morten S. Hansen: mosh@novozymes.com Stuart M. Stocks: stus@novozymes.com

Referencer

- Kubicek CP, Mikus M, Schuster A, Schmoll M, Seiboth B. 2009. Metabolic engineering strategies for the improvement of cellulase production by Hypocrea jecorina. Biotechnology for Biofuel 2:19
 Humbird, D, Davis, R, Tao, L, Kinchin, C, Hsu, D., Aden, A, Schoen, P,
- Humbird, D, Davis, R, Tao, L, Kinchin, C, Hsu, D., Aden, A, Schoen, P, Lukas, J, Olthof, B, Worley, M, Sexton, D, and Dudgeon, D. 2011. Process design and economics for biochemical conversion of lignocellulosic biomass to ethanol; dilute-acid pretreatment and enzymatic hydrolysis of corn stover. Technical Report NREL/TP-5100-47764
- Albaek MO. 2012. Evaluation of the efficiency of alternative enzyme production technologies. PhD afhandling, DTU Kgs. Lyngby.