

**С. И. ДВОРЕЦКИЙ, Д. С. ДВОРЕЦКИЙ,
Е. И. АКУЛИНИН, М. С. ТЕМНОВ**

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ И БИОРЕАКТОРЫ: РАЗРАБОТКА И ПРОЕКТИРОВАНИЕ



**Тамбов
Издательский центр ФГБОУ ВО «ТГТУ»
2025**

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Тамбовский государственный технический университет»

С. И. ДВОРЕЦКИЙ, Д. С. ДВОРЕЦКИЙ,
Е. И. АКУЛИНИН, М. С. ТЕМНОВ

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ И БИОРЕАКТОРЫ: РАЗРАБОТКА И ПРОЕКТИРОВАНИЕ

Утверждено Ученым советом университета
в качестве учебного пособия для студентов бакалавриата
инженерной подготовки и магистратуры высших учебных заведений
химико-технологических направлений и специальностей

Учебное электронное издание



Тамбов
Издательский центр ФГБОУ ВО «ТГТУ»
2025

УДК 663.15.60-7
ББК 28.087.1
Б63

Рецензенты:

Доктор технических наук, профессор,
главный научный сотрудник ФГБНУ «ВНИИТиН»
С. А. Нагорнов

Доктор технических наук, профессор, профессор кафедры
«Техника и технологии производства нанопродуктов»
ФГБОУ ВО «ТГТУ»
Е. Н. Туголуков

Б63 Биотехнологические процессы и биореакторы: разработка и проектирование [Электронный ресурс] : учебное пособие / С. И. Дворецкий, Д. С. Дворецкий, Е. И. Акулинин, М. С. Темнов. – Тамбов : Издательский центр ФГБОУ ВО «ТГТУ», 2025. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM). – Системные требования : ПК не ниже класса Pentium IV ; RAM 512 Мб ; необходимое место на HDD 2,4 Мб ; Windows 7/8/10/11 ; дисковод CD-ROM ; мышь. – Загл. с экрана.
ISBN 978-5-8265-2922-5

Является систематическим введением в современную теорию и практику создания новых и совершенствования существующих биотехнологических процессов и производств. Описаны методы проведения научных исследований и обработки их результатов в целях определения практической скорости биохимических превращений; методы и примеры выполнения стехиометрических, термодинамических и термодинамических расчетов, проводимых при проектировании биотехнологических процессов; изложены основы биохимической кинетики и теории реакторов, методы расчета биохимических реакторов; описаны основные подходы к изменению масштаба биотехнологических процессов и масштабированию биохимических реакторов.

Предназначено для студентов бакалавриата инженерной подготовки и магистратуры высших учебных заведений химико-технологических направлений и специальностей, слушателей повышения квалификации, преподавателей вузов и инженерно-технических работников, занимающихся проектированием, модернизацией и эксплуатацией биотехнологических производств. Может быть полезно аспирантам технологических вузов.

УДК 663.15.60-7
ББК 28.087.1

*Все права на размножение и распространение в любой форме остаются за разработчиком.
Незаконное копирование и использование данного продукта запрещено.*

ISBN 978-5-8265-2922-5

© Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тамбовский государственный технический университет» (ФГБОУ ВО «ТГТУ»), 2025

ПРЕДИСЛОВИЕ

Учебное пособие написано на основе лекций по методологии проектирования биотехнологических процессов и производств, читаемых одним из авторов бакалаврам, магистрантам и аспирантам Технологического института в Тамбовском государственном техническом университете.

Цель учебного пособия – показать, что биотехнология и биоинженерия как области новых научных знаний интегрируют знания различных наук – химической термодинамики, биохимической кинетики, процессов и аппаратов био- и химической технологии, математики, экономики, а главное – формируют у студентов профессиональные компетенции при решении задач различной сложности, таких как оценка биохимической концепции метода биотехнологического производства, выполнение стехиометрических, термохимических, термодинамических и кинетических расчетов, расчетов и масштабирования биологических реакторов при разработке и проектировании биотехнологических процессов и производств.

Основные подходы к созданию новых биотехнологических процессов и производств, состав и содержание исходных данных для их разработки и проектирования, методы проведения научных исследований и обработки их результатов для определения практической скорости биохимических превращений, использование теории моделирования для изменения масштаба биотехнологического процесса играют существенную роль при разработке и проектировании биотехнологических производств нового поколения.

Основной упор в учебном пособии сделан на практические методы решения широкого спектра задач, связанных с проведением стехиометрических, термохимических и термодинамических расчетов при проектировании биотехнологических процессов; изложение основ биохимической

кинетики и макрокинетики, теории биохимических реакторов, методов и примеров составления материального и энергетического балансов биохимических превращений, расчета и масштабирования биореакторов.

Семантически учебное пособие состоит из трех частей. В первой части (раздел 1) изложены научные составляющие и проблемы биохимической технологии; при разработке новых биотехнологических процессов особое внимание уделяется анализу исходных данных, необходимых для проектирования и разработки таких процессов и производств.

Во второй части (разделы 2 и 3) эксперимент рассматривается как основа для создания биотехнологического процесса, тогда как математическое моделирование выступает третьим методом после эксперимента и физического моделирования. Этот метод позволяет получить новые знания о биотехнологическом процессе посредством численного анализа его математической модели на вычислительных машинах.

В разделе 3 показаны критерии оценки биохимической концепции метода (технологии) биотехнологического производства, а также технологические факторы, влияющие на производительность и экономику биохимических превращений. Приведены методики стехиометрических, термодинамических и термодинамических расчетов, выполняемых при разработке и проектировании биотехнологических процессов и производств; все методики иллюстрируются широким спектром решенных практических задач.

В третьей части (разделы 4, 5) рассматриваются основы биохимической кинетики и теории биореакторов; методы решения прямых и обратных задач биохимической кинетики; зависимости скорости биохимической реакции от температуры и рН-культуральной среды; приводятся сведения о классификации биохимических реакторов, обсуждаются вопросы сравнения и выбора биореакционного аппарата для осуществления биохимического превращения вещества; основные подходы к использованию теории моделирования для изменения масштаба биотехнологического процесса

и масштабирования биохимических реакторов. В разделе 4 приводится большое количество примеров по решению прямых и обратных задач биохимической кинетики из учебного пособия (задачника) В. М. Байрамова «Химическая кинетика и катализ». – М.: Изд. центр «Академия», 2003 г., составленного на основе многолетнего опыта преподавания автором физической химии в МГУ им. М. В. Ломоносова.

В разделе 5 показано, что для правильного проектирования промышленной установки необходимо провести исследования в промежуточных масштабах между лабораторным и промышленным. Данный этап работ называется развитием биотехнологического процесса; он охватывает не только экспериментальные исследования, но и проектные расчеты и предварительные пробы экономической оценки биотехнологического процесса.

Научный уровень содержательной части рукописи определяют новые подходы к разработке и проектированию научно обоснованной технологии, расчету и совершенствованию ее аппаратурно-технологического оформления с позиций энерго- и ресурсосбережения, экологической безопасности и надежности биотехнологических процессов и производств, оснащения биотехнологических схем и производств современными машинами, биореакторами и аппаратами, формирующими предпосылки эффективного управления и автоматизации. Решая задачи биотехнологии (в лабораторных и опытно-промышленных условиях) методами физического и математического моделирования, можно масштабировать полученные экспериментальные данные и подготовить исходные данные для проектирования промышленных установок биотехнологических процессов и производств. Это позволяет существенно сократить время подготовки, повысить качество и надежность исходных данных для разработки и проектирования новых промышленных биотехнологических процессов и производств.

Для достижения этой цели создаются гибкие аппаратно-программные комплексы и используются современные цифровые технологии. Это позволяет:

- автоматизировать сбор и обработку экспериментальных данных;
- разрабатывать математические модели биотехнологических процессов и установок;
- проводить компьютерное моделирование и оптимизацию процессов;
- визуализировать результаты моделирования и оптимизации;
- генерировать исходные данные для проектирования промышленных установок.

Использование методов математического и физического моделирования в сочетании с современными цифровыми технологиями значительно ускоряет и повышает эффективность процесса разработки и проектирования новых биотехнологических процессов и производств. Это позволяет оптимизировать процессы, повысить их производительность и снизить затраты на проектирование и строительство промышленных установок.

ВВЕДЕНИЕ

В современную эпоху биотехнологии (биологические технологии) вышли на передний план научно-технического прогресса, дополняя традиционные методы брожения новыми, более эффективными подходами к производству белков, аминокислот, антибиотиков, ферментов, витаминов и органических кислот [1].

Глубокое изучение процессов жизни на клеточном и молекулярном уровнях привело к появлению новаторских технологий и разработке передовых биопродуктов. Биотехнология сегодня сосредоточена на решении актуальных и насущных задач, в том числе:

- повышение продуктивности сельскохозяйственных растений и животных: биотехнологические методы позволяют генетически модифицировать растения и животных для улучшения урожайности, устойчивости к болезням и питательной ценности;

- выведение новых пород селекционных видов: биотехнология предоставляет инструменты для выведения новых пород растений и животных с желаемыми характеристиками, такими как повышенная устойчивость к вредителям или улучшенное качество продукции;

- охрана окружающей среды и переработка отходов: биотехнологические решения используются для разработки экологически чистых способов очистки сточных вод, переработки отходов и восстановления загрязненных территорий;

- разработка экологически чистых методов преобразования энергии и добычи минеральных ресурсов: биотехнологические подходы применяются для создания устойчивых процессов преобразования энергии, таких как биогаз и биодизель, а также для более эффективной добычи минеральных ресурсов с минимальным воздействием на окружающую среду.

Непрерывно развиваясь, биотехнология играет решающую роль в формировании будущего человечества, предлагая инновационные решения для таких глобальных проблем, как продовольственная безопасность, охрана здоровья людей и устойчивость окружающей среды [2 – 5].

Биотехнологии – это создание контролируемых процессов биосинтеза посредством манипуляций с условиями окружающей среды или генно-инженерных вмешательств, возможно применение обоих подходов в совокупности. Данная область науки и техники позволяет эффективно строить цепочки производства ценных материалов для различных областей человеческой жизни за счет использования каталитических свойств разнообразных живых систем: микроорганизмов, вирусов, растительных и животных клеток с тканями, а также внеклеточных структур и клеточных компонентов.

В конце 1960-х и начале 1970-х годов XX века возникла новая дисциплина в биотехнологии – инженерная энзимология. Она сосредоточена на разработке методов для получения, очистки, стабилизации и применения ферментов. Основная цель этой научной сферы – создание биоорганических катализаторов с заданными свойствами на основе ферментных препаратов, а также разработка высокоэффективных и экологически чистых биотехнологических процессов на их основе.

Высокая специфичность ферментов к субстратам и их уникальная способность ускорять реакции в десятки и сотни раз при нормальном давлении и температурах, благоприятных для микроорганизмов, позволяют достичь значительных выходов конечных продуктов. Это открывает путь к созданию практически безотходных биотехнологических процессов в различных отраслях, включая пищевую промышленность, энергетику, медицину, биоэлектрокатализ, микроэлектронику.

Широкое применение биотехнологий в различных сферах человеческой деятельности, включая производство продуктов питания и напитков, а также экологически чистых источников энергии и новых материалов, обусловлено их уникальными преимуществами:

- компактность: биотехнологические процессы можно осуществлять в относительно компактных установках;
- высокая степень автоматизации: биотехнологические процессы должны быть высоко автоматизированы, что снижает потребность в рабочей силе;
- экологическая чистота: биотехнологии используют экологически чистые методы, которые производят минимальное количество отходов и не загрязняют окружающую среду;
- адресная эффективность: биотехнологические процессы могут быть адаптированы к конкретным потребностям, обеспечивая адресную эффективность.

В отличие от химических процессов, биотехнологические методы осуществляются в более мягких условиях, при стандартном атмосферном давлении и невысоких температурах. Они не требуют обширных земельных площадей, не зависят от климатических условий и не используют вредные химические вещества.

Таким образом, биотехнологии представляют собой передовые технологии, которые открывают новые возможности для прогресса во многих отраслях промышленности и имеют решающее значение для решения глобальных проблем человечества. Интерес к биотехнологическим процессам и производствам, темпы их развития в последние десятилетия растут высокими темпами [2 – 5].

Биотехнология и биоинженерия соединяют в себе аспекты базовых наук, включая химию, биологию, физику, математику, термодинамику в химии, кинетику в биохимии, кибернетику и механику. Кроме того, они охватывают различные прикладные дисциплины, такие как химическая технология, машиностроение и экономика. Основной фокус биотехнологии и биоинженерии как научных направлений заключается в научно обоснованной разработке технологий и их аппаратном и технологическом представлении. Это требует тесного взаимодействия с техническими науками, такими как машиностроение, автоматика, электроника и мехатроника [6].

1. БИОТЕХНОЛОГИЯ И БИОИНЖЕНЕРИЯ: РАЗРАБОТКА НОВОГО БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

1.1. НАУЧНЫЕ СОСТАВЛЯЮЩИЕ И ПРОБЛЕМЫ БИОТЕХНОЛОГИИ И БИОИНЖЕНЕРИИ

При разработке нового биотехнологического процесса (БТП) важнейшей задачей является научное обоснование технологии и совершенствование ее аппаратурно-технологического оформления с позиций энерго- и ресурсосбережения, экологической безопасности и надежности био-технологических процессов и производств, оснащения биотехнологических схем и производств современными машинами, биореакторами и аппаратами, формирующими предпосылки эффективного управления и автоматизации [6, 7].

Сложность в сфере биотехнологий заключается в использовании высокоорганизованной биоматерии, где каждый биологический компонент, будь то клетка или фермент, функционирует как автономная и саморегулируемая система. Особенно интересна гетерогенность микробных популяций, которая проявляется в различных параметрах, таких как возраст, физиологическая активность и устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды [2, 4].

Биологический агент играет ключевую роль в биотехнологических процессах и является одним из центральных элементов этой области. Несмотря на быстрое расширение номенклатуры биологических агентов,

микробные клетки по-прежнему остаются традиционным объектом исследования. При выборе биологического агента и его внедрении в производственный процесс необходимо учитывать технологичность штаммов: клетка или популяция должны сохранять свои физиолого-биохимические свойства на протяжении всего процесса ферментации. Промышленные биоагенты должны быть устойчивыми к мутациям, вирусам и загрязняющим факторам, а также безопасными для человека и окружающей среды, не образуя токсичных побочных продуктов и отходов, и способствовать высокому выходу экологически чистых биопродуктов [2].

В биотехнологии существует возможность использования множества биологических агентов с различным уровнем организации – от молекулярного до клеточного. Вопросы, касающиеся технологической настройки процессов, изучаются в рамках биоинженерии; имеется большое количество специализированного оборудования как для ферментации, так и для получения готового продукта. Особого внимания требует аппаратура для ферментационных этапов, так как она является наиболее сложной и специфичной [8].

Разнообразие методов культивирования и широкий спектр биологических агентов приводят к множеству конструктивных решений для процессов ферментации. Выбор конструкции зависит от различных факторов, таких как тип продуцента (микроорганизм, растение или животное); среда культивирования; технология процесса (периодическая, непрерывная, поверхностная или глубинная); масштаб производства; целевой биопродукт.

Технические аспекты конструкций ферментеров

С технической точки зрения наиболее сложными являются аэробные глубинные стерильные процессы с подпиткой субстрата и непрерывные процессы. Для осуществления этих процессов требуется обеспечение:

- аэрации и перемешивания среды для поддержания роста и активности микроорганизмов;
- стерильных условий для предотвращения контаминации;
- постоянного добавления субстрата для поддержания роста и производства продукта;
- контроля и регулирования режимных переменных процесса, таких как температура, рН среды и концентрация растворенного кислорода.

Конструкции ферментеров для различных типов процессов

Ферментеры для поверхностной и анаэробной ферментации менее сложны и менее затратны по энергии. Поверхностная ферментация проводится на твердой или полужидкой среде, что устраняет необходимость в аэрации и перемешивании. Анаэробная ферментация проводится в отсутствие кислорода, что упрощает конструкцию ферментера.

Выбор оптимальной конструкции ферментера для конкретного процесса ферментации требует тщательного рассмотрения всех перечисленных факторов. Правильный выбор конструкции обеспечивает эффективную работу процесса, высокую производительность и качество целевого биопродукта. В современной научной литературе можно найти сотни различных конструкций биореакторов, которые отличаются по принципу работы и размерам [9, 10].

Проблемы аэробной глубинной ферментации заключаются как в конструктивных аспектах, так и в их эксплуатации. При проектировании ферментеров главной задачей является обеспечение интенсивного массо- и энергообмена между клетками и средой. Массообмен играет решающую

роль в транспорте кислорода и других необходимых элементов из среды к микробным клеткам; удалении продуктов обмена.

Ключевым показателем интенсивности массообмена в ферментере является коэффициент массового переноса кислорода, который характеризует скорость переноса кислорода из газовой фазы в жидкую, где находятся микроорганизмы. Содержание кислорода в культуральной среде является ограничивающим фактором для аэробных процессов. Следовательно, высокий коэффициент массового переноса кислорода необходим для обеспечения интенсивного снабжения кислородом микроорганизмов.

На коэффициент массового переноса кислорода влияют различные факторы, такие как конструкция ферментера (геометрия, система аэрации и перемешивания); свойства среды культивирования (вязкость, плотность); условия процесса (скорость аэрации, температура).

Для оптимизации массо- и энергообмена в ферментерах используются различные стратегии, в том числе:

- использование высокоэффективных систем аэрации и перемешивания;
- усовершенствование элементов конструкции ферментера в целях улучшения распределения кислорода по объему среды;
- использование сред культивирования с низкой вязкостью и плотностью;
- контроль и регулирование режимных переменных биотехнологического процесса для обеспечения интенсивного массо- и энергообмена.

Эффективное обеспечение массо- и энергообмена в ферментерах имеет решающее значение для поддержания высокой продуктивности и жизнеспособности микроорганизмов, что служит основой оптимизации

производства целевых биопродуктов. Для образования одного килограмма биомассы расход кислорода может варьироваться от 0,75 до 5 кг в зависимости от типа углеродсодержащего сырья и его степени восстановления. Клетки могут использовать кислород только в растворенной форме, поэтому необходимо поддерживать растворенный в культуре кислород на оптимальном уровне для конкретного продуцента [4, 5, 8].

Кроме этого, важно, чтобы концентрации клеток и растворенного субстрата равномерно распределялись по всему объему реактора. Эффективное перемешивание культуральной среды является одним из ключевых факторов поддержания рабочих гидродинамических условий в аппарате. При активном перемешивании пузырьки воздуха разбиваются, а увеличенная площадь контакта между средой и клетками способствует эффективному обмену; при этом следует учитывать, что чрезмерное перемешивание может повредить биологические объекты. На сегодняшний день существует множество различных устройств для перемешивания и аэрации [8, 10].

Повышение эффективности биотехнологических процессов связано с совершенствованием методов контроля и управления режимами микробиологического культивирования микроорганизмов. Разработаны системы автоматического регулирования, которые стабилизируют такие переменные состояния, как дозирование субстратов и питательных веществ, температуру и pH среды в биореакторе. Реализация автопилотируемого культивирования предполагает создание алгоритмов на основе математических моделей биотехнологических процессов. Для этого необходимо контролировать и управлять множеством переменных, таких как концентрации субстрата, биомассы, pH среды культивирования, температура и парциальное давление кислорода в культуральной среде.

Стандартная схема автоматизированного контроля и управления включает датчики и преобразователи, с помощью которых вырабатываемые ими сигналы передаются в управляющий компьютер для анализа и выработки управляющих воздействий. Однако внедрение автоматизированных систем сдерживается недостатком контрольно-измерительной аппаратуры, устойчивой к стерилизации и удовлетворяющей современным требованиям к чувствительности, быстродействию и надежности.

Экспериментальный метод исследования позволяет изучать биотехнологические процессы, механизмы которых известны в недостаточно полной степени. Этот метод часто является единственным способом разработки новаторских биотехнологий. Первоначально экспериментальный метод применяется на лабораторном уровне, где при небольших затратах проводятся исследования новых продуцентов и будущих микробиологических процессов. Далее результаты экспериментальных исследований в лабораторных условиях используются для масштабирования на опытном, полупромышленном и промышленном уровнях.

Моделирование, как физическое, так и математическое, является ключевым направлением разработки и масштабирования БТП и позволяет исследовать механизмы БТП, развивать новые технологии и аппаратные решения. При физическом моделировании создаются модели различного масштаба, тестируются все технологические способы и приемы, обучается персонал, создается необходимое оборудование, уточняются технико-экономические показатели, и только затем проводятся масштабные промышленные испытания.

Сложности и трудоемкость разработки новых промышленных БТП обусловлены далеко не решенными проблемами масштабирования техно-

логий и проектируемого технологического оборудования. При этом развитие биологических агентов связано как с поведением веществ в ферментере, так и с их метаболизмом. Следовательно, масштабирование в биотехнологии требует разработки уникального подхода и комплексных решений.

Для успешного решения задач оптимизации и управления БТП необходима разработка математических моделей (ММ) статики и динамики БТП, методов и алгоритмов оптимизации режимов их функционирования. При этом экспериментальный метод исследования как бы предшествует математическому моделированию, поскольку предоставляет экспериментальные данные, необходимые для идентификации и оценки адекватности ММ БТП. Математические модели различных биологических и биохимических процессов включают уравнения стехиометрического баланса, кинетики, материального и теплового балансов БТП, массо- и теплообмена и гидродинамики [6, 11].

Наиболее сложной задачей моделирования остается описание биологических объектов, которые неоднородны и способны к саморегуляции. Реакции в биореакторе зависят как от сложно регулируемых внутренних процессов, так и от внешних условий их осуществления. На сегодняшний день разработаны лишь упрощенные математические модели, позволяющие описать биологические преобразования и биохимические превращения.

Оптимизация биотехнологических процессов требует интеграции подходов экспериментального, физического и математического моделирования, а также современных методов оптимизации. Важно определить критерии оптимальности и учесть ограничения, связанные с экономиче-

скими, производственными и экологическими стандартами. Создание адекватных математических моделей и на их основе алгоритмов оптимизации и управления режимами осуществления биотехнологических процессов является стратегическим вектором развития сферы биотехнологий как «высокой» технологии.

1.2. ОСНОВЫ РАЗРАБОТКИ И ПРОЕКТИРОВАНИЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

На начальном этапе разработки промышленного биотехнологического производства какого-либо биопродукта прежде всего нужно определить биохимическую концепцию метода производства (собственно технологии его получения) и принять определенный способ рассмотрения биохимизма этого метода. Производство биотехнологических продуктов осуществляется по индивидуальным технологиям, которые включают три обязательные стадии.

Предферментационная стадия содержит приемы и технологические операции хранения и подготовки культуры продуцента (инокулята); получения и подготовки питательных субстратов и сред культивирования.

Ферментационная стадия содержит приемы и технологические операции взаимодействия продуцента с субстратом и образования целевых продуктов (биомасс, эндо- и экзопродуктов).

Постферментационная стадия содержит способы получения готовой товарной продукции, обезвреживания отходов и побочных продуктов.

Описание стадий

На предферментационной стадии подготавливаются инокулят и питательные среды. Инокулят представляет собой культуру продуцента,

которая размножается и готовится к использованию в ферментационном процессе. Питательные среды содержат необходимые компоненты для роста и жизнедеятельности продуцента.

На ферментационной стадии продуцент взаимодействует с питательным субстратом в ферментере. Происходит образование целевых продуктов, таких как биомасса продуцента, внутриклеточные и внеклеточные метаболиты.

На постферментационной стадии применяются приемы и технологические операции выделения и очистки целевых продуктов из ферментационной среды; при этом отходы и побочные продукты процесса обезвреживаются или перерабатываются.

Эффективная реализация приемов, способов и технологических операций каждой стадии имеет решающее значение для успешного производства биотехнологических продуктов с высоким выходом и качеством. Настоящее учебное пособие представляет собой введение в теорию биотехнологии и содержит основы разработки и проектирования новых биотехнологических процессов. Результатом деятельности биотехнолога, проектирующего новый биотехнологический процесс, является технологический регламент производства, заключающий в себе характеристики исходных веществ (культуры продуцента (инокулята), питательных субстратов и сред, технологической воды, воздуха и др.), определение типа, числа, конструктивных размеров и последовательности всех аппаратов технологической цепочки, а также оптимальных режимов осуществления технологических процессов (операций) на каждой стадии биотехнологического производства. Разумеется, проект, являющийся основой промышленной реализации метода производства, кроме технологической, будет

содержать и другие части (конструкторско-технологическую, энергетическую, КИП и А, теплотехническую, строительную, сметно-экономическую и др.), разрабатываемые специалистами в этих областях, но в обязанности биотехнолога входит решение только тех вопросов, которые были указаны выше (в частности, он не должен заниматься конструированием нестандартных аппаратов).

Цель биохимической концепции метода – выбор исходных веществ (культуры продуцента (инокулята), питательных субстратов и сред, технологической воды, воздуха и др.).

Установление последовательности биохимических и физико-химических превращений, необходимых для получения целевого биопродукта, представляет собой сложный и многогранный процесс. Как правило, существует несколько альтернативных маршрутов, ведущих от исходных веществ к конечному продукту. Предварительный анализ этих маршрутов осуществляется с помощью термодинамических и стехиометрических расчетов, что позволяет теоретически оценить потенциальные выходы, основываясь на уже существующих литературных данных. После такого анализа можно исключить некоторые варианты и выбрать наиболее перспективный метод производства, для которого затем планируются экспериментальные исследования.

Эксперименты проводятся в лабораторных условиях, где спектр исследований определяется типом биотехнологического процесса. С помощью теории подобия, а также физических и математических моделей определяются необходимые условия, переменные состояния и параметры, которые обеспечивают однозначность процесса. Исследования охватывают изучение статики, кинетики и механизмов биотехнологи-

ческого процесса. Однако в некоторых случаях полное исследование оказывается невозможным, и внимание сосредотачивается на выявлении зависимости производительности от условий реализации и режимов функционирования. Результаты экспериментальных исследований требуют математической обработки данных, наиболее наглядно они могут быть представлены через уравнения, позволяющие интерполировать или экстраполировать полученные данные, а также оценить погрешности измерений переменных состояния БТП [13].

На этапе предпроектных исследований также выполняются измерения и расчеты физико-химических характеристик, описывающих исходные вещества и биореакционные системы, включая полупродукты и конечные продукты. Среди таких параметров – термодинамические, термохимические и термокинетические характеристики, такие как теплота образования, теплоемкость, энтальпия, кинетические константы, плотность, вязкость и коэффициенты теплопроводности, тепло- и массообмена, а также диффузии. Необходимо учитывать эти параметры не только для чистых реагентов, но и для их смесей, а также исследовать равновесие в многофазных системах, участвующих в БТП.

Собранные сведения о статике и кинетике, а также свойствах реагентов формируют базу для разработки технологической концепции, которая включает в себя выбор и упорядочение технологических процессов и операций, а также решение вопроса о способах их реализации [14, 15].

Технологическая концепция нового биотехнологического процесса основывается на принципах:

- 1) оптимального использования движущих сил процесса;
- 2) эффективного использования исходных материалов;

- 3) рационального распределения энергетических ресурсов;
- 4) использования оборудования с максимальной эффективностью;
- 5) соблюдения соразмерности, когда применение отдельных принципов не приводит к конфликтам.

Результатом создания такой концепции становится предварительная (эскизная) технологическая схема, в которой прямоугольники символизируют отдельные элементы и основные переменные состояния процесса. Стрелки между прямоугольниками показывают последовательность и направление перемещения реагентов [16]. Эта схема представляет собой первую попытку превратить теоретическую концепцию в проект промышленного производства. Поскольку она основана на качественных принципах, дальнейшие шаги требуют количественного анализа и возможной корректировки.

При подтверждении целесообразности предложенной схемы необходимо провести дополнительные исследования, направленные на совершенствование методов биотехнологического производства. Физическое и математическое моделирование помогают определить, какие элементы процесса следует изучить последовательно для последующего масштабирования (до четверть- и полупромышленных уровней) и какие элементы можно проектировать сразу для большего масштаба без тестирования в опытно-промышленных условиях. Данные, полученные из предпроектных исследований, служат основой для составления принципиальной технологической схемы, где отдельные элементы обозначаются условными символами различных машин, аппаратов и агрегатов.

Расчет конструктивных размеров технологического оборудования для стадий биотехнологического процесса основывается на решении урав-

нений материальных и энергетических балансов. Определение размеров аппаратуры, включая биореакторы, осуществляется по методикам (известным в области биохимической инженерии) с учетом экспериментальных данных об осуществляемых БТП. Конструктивные размеры могут быть скорректированы по результатам тестов на полупромышленных установках с применением математического моделирования. Важной задачей является выбор числа параллельно работающих аппаратов и резервных единиц в технологической схеме для обеспечения бесперебойной работы в случае аварий или ремонтов. Эта задача рассматривается в контексте взаимосвязанности различных стадий биотехнологического производства, а результаты определения размеров аппаратов подлежат тщательной проверке. Установление конструктивных размеров, условий реализации процессов и рабочего графика является основой для корректировки предварительной (эскизной) технологической схемы. В заключение на этом этапе определяются способы контроля и автоматизации БТП, разрабатывается функциональная схема автоматизации [16].

Работа завершает фазу разработки методов биотехнологического производства, включая составление окончательной версии принципиальной технологической схемы и критический анализ полученных результатов. Для завершения анализа рассчитываются материальные и энергетические балансы всего биотехнологического производства, строятся диаграммы потоков, определяются коэффициенты расхода различных ресурсов и материалов. Проводится анализ расположения (компоновки) технологического оборудования, а также количества необходимых рабочих для его обслуживания. Составляются ориентировочная смета и предварительная калькуляция затрат, проводятся экономические оценки нового метода био-

технологического производства по сравнению с существующими аналогами [5, 14, 15].

Если в ходе разработки технологического проекта исследуются несколько вариантов методов производства, проводятся сравнительные анализы для выбора оптимального варианта. При создании биохимической и технологической концепции основное внимание уделяется литературным данным и уравнениям биохимических и физико-химических преобразований с указанием предполагаемых значений технологических переменных (допустимые диапазоны для изменения температуры, давления, рН среды и концентраций компонентов).

1.3. СОСТАВ И СОДЕРЖАНИЕ ИСХОДНЫХ ДАННЫХ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ И ПРОЕКТИРОВАНИЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ И ПРОИЗВОДСТВ

Основным документом при разработке биотехнологических процессов и производств (БТП) являются «Исходные данные». Ответственной за составление и выдачу исходных данных, как правило, является специализированная фирма, имеющая право (лицензию) на их разработку и выдачу.

Документ «Исходные данные» для разработки и проектирования БТП включает следующие разделы: введение; общие сведения о биотехнологии; перспективы производства и потребления; патентный формуляр; характеристику производимой биопродукции; характеристику сырья, биологических материалов и агентов, полупродуктов и энергоресурсов; биохимические, физико-химические и теплофизические свойства исходных, промежуточных, побочных продуктов и отходов биотехнологическо-

го производства; описание стадий биотехнологического производства и технологической схемы; материальный баланс по стадиям биотехнологического производства; расходные коэффициенты сырья и вспомогательных материалов; математическое описание процессов и аппаратов по стадиям производства; данные для расчета и выбора основного промышленного технологического оборудования; рекомендации по автоматизации и управлению технологическими процессами на стадиях БТП; рекомендации по охране окружающей среды и утилизации отходов БТП.

Раздел «Общие сведения о биотехнологии» включает описание стадий и метода (технологии) биотехнологического производства, количества технологических линий (потоков); сведения об отечественных и зарубежных аналогах; характеристику и результаты работы лабораторных, пилотных и опытно-промышленных установок, на которых отработаны и проверены результаты предпроектных научно-исследовательских работ, на основании которых разрабатываются исходные данные для проектирования.

В разделе «Перспективы производства и потребления» приводятся результаты мониторинга потребности в товарной продукции биотехнологического производства с учетом реализации побочных продуктов, а также продуктов, полученных от переработки отходов на перспективу; дается оценка экспортных возможностей и обеспеченности биотехнологического производства биологическими материалами, агентами и вспомогательными материалами требуемого качества. Кроме того, в этом разделе приводятся ориентировочный расчет себестоимости биопродукта и сравнение ее с себестоимостью аналогичного продукта, получаемого другими методами; ожидаемая экономическая эффективность от внедрения новой биотехнологии производства, технико-экономические показатели производства.

В разделе «Патентный формуляр» определяется патентная чистота биотехнологического процесса, аппаратурно-технологического оформления по стадиям производства, приводится отчет о патентных исследованиях и перечень использованных и рекомендуемых к использованию патентов при разработке БТП.

В разделе «Характеристика производимой биопродукции» приводятся наименование продукта в соответствии с нормативно-технической документацией; наименования государственного и отраслевого стандартов, технических условий, стандартов предприятия, в соответствии с требованиями которых будет производиться биопродукция.

В разделе «Характеристика сырья, биологических агентов, субстратов и питательных сред, полупродуктов и энергоресурсов» приводятся данные, характеризующие требования, предъявляемые к биологическим агентам, субстратам и питательным средам, технологической воде, воздуху, полупродуктам и энергоресурсам, используемым в биотехнологическом производстве.

Раздел «Био-, физико-химические и теплофизические свойства исходных, промежуточных, побочных и готовых продуктов, реакционных масс, смесей и отходов биотехнологического производства» включает описание (в табличном виде) свойств биологических агентов, субстратов и питательных сред, культуральной среды после ферментации и отходов производства в рабочих диапазонах температур и рН-культуральной среды; коэффициенты диффузии, коэффициенты относительной летучести в разделяемых ректификацией смесях, коэффициенты распределения для экстракционных процессов или соответствующие равновесные концентрации в соответствующих фазах.

В разделе «Биохимизм и физико-химические основы биотехнологических процессов, в том числе по переработке отходов биотехнологического производства» приводятся: описание биохимизма по стадиям производства, тепловые эффекты биохимических реакций и физических процессов, кинетические уравнения биохимических реакций, выходы по стадиям биотехнологического производства, влияние гидродинамической обстановки в биореакторе (при осуществлении каждого биохимического процесса) на его основные показатели эффективности.

Раздел «Описание биотехнологического процесса и технологической схемы производства» содержит все основные современные машины, биологические реакторы и аппараты, используемые в проектируемом биотехнологическом производстве. Описание технологической схемы производится по стадиям производства, начиная с поступления сырья (чистой культуры, стерилизованного посевного материала, жидких и сухих веществ для подготовки стерилизованной питательной среды, технологической воды, стерилизованного воздуха для аэрации культуральной среды, пара и т.п.) и кончая отгрузкой готовой биопродукции.

В описании указываются:

- основные технологические режимы (переменные состояния) БТП, влияющие на обеспечение качества биопродукции и безопасность производства;
- аппаратурно-технологическое оформление БТП;
- система автоматического контроля переменных состояния БТП, схема регулирования важнейших технологических параметров с указанием запорно-регулирующей арматуры, сигнализации и блокировок аварийного состояния технологического оборудования БТП;
- и т.д.

Материальный баланс производства формируется на основе расчетов для единицы времени (ч) и объема выпускаемой биопродукции в рамках непрерывного биотехнологического процесса, а также для одной операции в периодической технологии. Он представлен в виде таблиц, детализирующих этапы производства и состав промежуточных и конечных продуктов, основываясь на фактических данных функционирования технологической схемы опытно-промышленного производства. Также указываются величины потерь на всех стадиях производственного цикла, что является ключевым для проектирования промышленного биотехнологического производства.

В разделе, посвященном математическому описанию биотехнологических процессов и аппаратов, приводятся общие математические модели для биореакторов и других технологических узлов, что позволяет проводить надежные расчеты промышленных биореакторов и других аппаратов технологической схемы биотехнологического производства.

Раздел «Данные для расчета, конструирования и выбора основного промышленного технологического оборудования и защиты строительных конструкций» содержит рекомендации по выбору конструкционных материалов для основного технологического оборудования на основании экспериментальной проверки их в опытно-промышленных условиях; материалов для трубопроводов, арматуры и прокладок по всей технологической схеме биотехнологического производства; рекомендации по типу аппаратуры, уплотнению фланцевых соединений, материалам сальниковых набивок, смазочным материалам, уплотняющим жидкостям для трубопроводов и арматуры. Приводятся также рекомендации и требования для конструирования и подбора основного биотехнологического оборудования, которые должны базироваться на результатах проверки на опытно-

промышленных установках рекомендуемых конструкций оборудования; рекомендации по применению оригинальных аппаратов, технические проекты таких аппаратов, их стоимость, режимы работы с учетом всех видов ремонтов, рекомендации по обслуживанию.

Этот раздел обеспечивает инженеров и технологов необходимыми знаниями, информацией и рекомендациями для выбора и конструирования надежного и эффективного технологического оборудования для биотехнологических производств.

В разделе «Рекомендации по автоматизации и управлению технологическими процессами на стадиях биотехнологического производства» детализируются переменные состояния, подлежащие автоматическому контролю, рекомендуемые точки отбора информации и системы автоматического регулирования технологических параметров. Описываются методы контроля качества, указываются места отбора проб и методики обработки данных с использованием автоматических анализаторов, а также приводятся рекомендации по управлению БТП в биотехнологическом производстве.

В разделе «Рекомендации по охране окружающей среды и утилизации отходов биотехнологического производства» предоставляются информация и рекомендации по следующим аспектам.

Очистка сточных вод: методы и параметры технологического процесса очистки химически и механически загрязненных сточных вод, включая технологии первичной очистки, позволяющие повторное использование воды или окончательное обезвреживание на централизованных очистных сооружениях. Указывается количество и состав сточных вод по отдельным стадиям производства, а также частота сброса.

Обезвреживание газовых выбросов: способы и приемы обезвреживания газовых выбросов, образующихся в процессе биотехнологического производства.

Утилизация вредных отходов: методы утилизации вредных отходов, образующихся в процессе биотехнологического производства. Описываются технологии переработки и обезвреживания отходов, а также способы и приемы по снижению количества их образования.

Этот раздел имеет решающее значение для обеспечения того, чтобы биотехнологические производства соответствовали экологическим нормам и минимизировали свое воздействие на окружающую среду. Он предоставляет инженерам и технологам необходимые знания и рекомендации для разработки и внедрения эффективных систем охраны окружающей среды и утилизации отходов. Помимо этого, раздел охватывает данные о количестве и составе газовых выбросов, технологии их обезвреживания, эффективность очистки и характеристики реагентов, а также рекомендации по извлечению товарной продукции из сточных вод и газовых выбросов. Приводятся методы контроля за содержанием вредных веществ в воздухе производственных помещений.

В разделе, посвященном технике безопасности, охране труда и противопожарной безопасности, представлены рекомендации по обеспечению безопасности на всех этапах производства. Указываются потенциально опасные участки технологической схемы, возможные источники вредных выделений и предложены меры по обеспечению герметичности оборудования. Рассматриваются подходы к удалению вредных веществ и методы их очистки и дегазации для аппаратов, трубопроводов и конструкций.

Наконец, акцентируется внимание на потенциальных источниках шума и вибрации, а также на методах их устранения или снижения до допустимого уровня. В этом разделе также приводятся токсикологические характеристики веществ, используемых на производстве, информация о их воздействии на здоровье человека и предельно допустимые концентрации вредных веществ в воздухе рабочих зон и водоемах, согласованные санитарными органами. Указываются рекомендации по индивидуальным средствам защиты сотрудников, работающих с новыми продуктами, методам дегазации и стирки специальной одежды.

2. ЭКСПЕРИМЕНТ – ОСНОВА ПРОЕКТИРОВАНИЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

При разработке биотехнологического процесса обычно используются опытные данные, собранные при обследовании действующих биотехнологических производств, информация, почерпнутая из литературы, и результаты предпроектных научных исследований, проводимых экспериментальным методом в лабораторных и опытно-промышленных условиях. После предварительного анализа возможных вариантов концепции метода производства (биотехнологии) выбирается наиболее многообещающий метод и проводятся исследования, связанные с экспериментальной проверкой концепции и определением оптимальных режимов функционирования БТП по стадиям биотехнологического производства.

2.1. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

В основе метода экспериментального исследования находится научно поставленный опыт с точно учитываемыми и управляемыми исследователем условиями. В научном методе термин «эксперимент» относится к систематической постановке опытов и наблюдению за исследуемым явлением в контролируемых условиях. Эксперименты позволяют исследователям изучать причинно-следственные связи БТП путем проверки выдвигаемых гипотез и выявления свойств исследуемых биологических объектов.

Характеристики эксперимента. К ключевым характеристикам эксперимента относятся:

– научная постановка: эксперимент должен быть спланирован и проведен в соответствии с научными принципами, включая контроль переменных и использование надлежащих методов сбора, анализа и обработки получаемых данных;

– контролируемые условия: эксперимент проводится в условиях, которые можно контролировать и воспроизводить, позволяя изолировать и изучать конкретные технологические процессы и переменные его состояния;

– наблюдение: исследователи наблюдают и регистрируют изменения в исследуемом явлении при изменении контролируемых условий;

– повторяемость: эксперимент должен быть возможен для повторения другими исследователями при использовании тех же условий и методов, что повышает надежность и достоверность его результатов.

Цели эксперимента. Основная цель эксперимента – углубленное изучение предмета исследования путем:

- выявления свойств и характеристик исследуемых объектов;
- проверки справедливости выдвигаемых гипотез;
- установления причинно-следственных связей, исследуемых БТП.

Постановка эксперимента. Постановка и организация эксперимента определяются его назначением и могут варьироваться в зависимости от конкретного исследования. Исследователи должны учитывать следующие факторы:

- выбор независимых (входных) и зависимых (выходных) переменных;
- установление контрольной группы для сравнения;

- обеспечение достаточного размера выборки экспериментальных данных для оценки статистической значимости;
- использование соответствующих измерительных инструментов и методик.

Проведение тщательных и хорошо спланированных экспериментов имеет решающее значение для продвижения научного знания и понимания механизма БТП. Эксперименты классифицируются:

- по способу формирования условий (естественный и искусственный);
- по организации проведения (лабораторные, натурные, производственные и т.п.);
- по контролируемым величинам (активный и пассивный);
- по числу варьируемых факторов (одно- и многофакторный).

Лабораторный эксперимент проводится с применением типового лабораторного оборудования и приборов, экспериментальных стендов, пилотных установок и т.д. в лабораторных условиях. Чаще всего в лабораторном эксперименте изучается не сам объект, а его физическая модель. Этот эксперимент позволяет доброкачественно, с требуемой повторяемостью изучить влияние определенных характеристик (путем их варьирования) на эффективность функционирования биотехнологического процесса, тем самым получить необходимые экспериментальные данные. Ясно, что такой эксперимент не в полном объеме моделирует реальный ход изучаемого процесса, поэтому возникает потребность в проведении натурального эксперимента.

Натурный эксперимент проводится на реальных объектах в опытно-промышленных условиях. Он широко используется в биотехнологии для тестирования и оценки созданных биотехнологических систем перед их внедрением в промышленное производство.

Характеристики натурального эксперимента. Ключевые характеристики натурального эксперимента включают:

- реальные объекты и условия: эксперимент проводится на фактических объектах и в условиях, максимально приближенных к тем, в которых будет работать проектируемая биотехнологическая система;
- пилотный масштаб: эксперимент обычно проводится на пилотной установке, что позволяет протестировать систему в условиях, близких к промышленным;
- тщательное планирование: натурные эксперименты требуют тщательного планирования и продумывания, поскольку они часто сопряжены с высоким уровнем сложности и затрат.

Научная проблема натурального эксперимента. Основной научной проблемой натурального эксперимента является обеспечение соответствия условий однозначности эксперимента и реальной ситуации. Это означает, что условия эксперимента должны быть тщательно контролируемые, воспроизводимыми и обеспечивающими достоверность и надежность получаемых результатов.

Преодоление научной проблемы. Разрешение научной проблемы обеспечивается путем выбора соответствующих методов исследования и сбора данных; репрезентативности выбранных объектов и условий эксперимента; контроля и минимизации влияния внешних факторов на результаты эксперимента.

Натурные эксперименты играют важную роль в биотехнологии, поскольку они позволяют исследователям и инженерам изучать и оптимизировать биотехнологические системы в условиях, максимально приближенных к реальным.

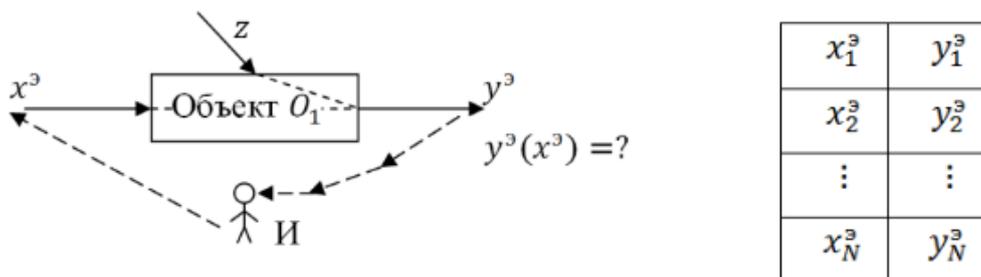


Рис. 2.1. Схема эксперимента:

$x_i^z, y_i^z, i = \overline{1, N}$ – табличные экспериментальные данные

Это помогает обеспечить успешное внедрение и масштабирование этих систем для коммерческого использования. Схематично создаваемый БТП показан на рис. 2.1, где x и y – входная (независимая) и выходная (зависимая) переменные состояния БТП; z – случайная помеха, влияющая на y ; И – исследователь.

Исследователь (И) осуществляет некоторое экспериментальное воздействие, обозначаемое как x^z , и фиксирует реакцию БТП y^z . При многократном проведении эксперимента с различными значениями $x_i^z, i = 1, 2, \dots, N$, исследователь получает соответствующие выходные данные $y_i^z, i = 1, 2, \dots, N$. Итоговые результаты эксперимента систематизируются в виде числовой таблицы (рис. 2.1), графика или в обобщенной записи $y^z(x^z)$, представляющей табличное отображение данных.

По окончании эксперимента исследователь приступает к анализу полученной экспериментальной информации с целью ответить на два ключевых вопроса:

- какова будет выходная реакция БТП при заданном x_i^z ;
- каков механизм преобразования x_i^z в y_i^z ?

Поиск ответа на первый вопрос включает в себя задачу прогнозирования значений выходной переменной y при известных x из диапазона

значений экспериментальных данных $x_i^э, y_i^э, i = 1, 2, \dots, N$. Установление такой экспериментальной зависимости $y^э(x^э)$ позволяет планировать действия БТП или проектировать аналогичные системы. Более того, зависимость $y^э(x^э)$ служит исходными данными для создания прогностических математических моделей вида $y = f(x, a)$, где a – вектор эмпирических параметров.

Ответ на второй вопрос рассматривает проблему выявления механизма, по которому происходит преобразование $x^э$ в $y^э$. Решение этой задачи значительно сложнее, чем первой. Для достижения результата необходимо выдвинуть теоретическую гипотезу и затем провести анализ полученных экспериментальных данных, что позволяет сделать одно из двух утверждений:

- 1) отсутствуют основания для отказа от гипотезы;
- 2) отсутствуют основания для ее подтверждения.

Итак, объяснив необходимость получения экспериментальных данных $y^э(x^э)$ для решения первой и частично второй задач, перейдем к краткому сравнению достоинств (+) и недостатков (–) экспериментального метода исследования БТП.

(+): проведение эксперимента требует минимального объема знаний у исследователя; полученные результаты $y^э(x^э)$ наиболее достоверны для данного БТП, так как учитывают его индивидуальные особенности; эксперимент является быстрым способом познания функционирующего и создаваемого БТП; при активном эксперименте (когда $x^э$ создает исследователь) можно планировать опыт в целях быстрого (или экономичного) получения $y^э$ или минимизации числа N проводимых опытов $x_i^э, y_i^э, i = 1, 2, \dots, N$.

(–): эксперимент нельзя проводить на потенциально опасных объектах, а также на очень быстрых или очень медленных БТП; полученные на БТП¹ результаты $[y^z(x^z)]^1$ нельзя переносить на другие даже однотипные (родственные) объекты; результаты эксперимента y^z искажены наложением случайной помехи z , что снижает их ценность и требует при значительном уровне помехи z дополнительной математической обработки.

Основное направление эксперимента заключается в исследовании свойств биотехнологического процесса (БТП), верификации гипотез о механизмах, лежащих в основе биохимических реакций, и в конечном счете в более глубоком понимании исследуемого БТП. На начальной стадии, наблюдая за поведением объекта или развитием явления, исследователь формирует предположения о наличии определенных взаимосвязей и закономерностей в БТП. На завершающем этапе определяются переменные – факторы, влияющие на свойства БТП и вид их взаимосвязи, выдвигается гипотеза о механизме, био-, физико-химической и математической моделях проектируемого БТП.

В зависимости от выбранной математической модели разрабатывается план проведения эксперимента. Успех исследований во многом зависит от того, насколько правильно будет спланирован этот эксперимент. Правильно составленный план позволяет не только сократить количество испытаний, но и минимизировать влияние неучтенных и неконтролируемых факторов. Проектные решения в разработке БТП и оценка их качества основываются в основном на данных, полученных в ходе эксперимента.

Таким образом, в условиях ограниченных ресурсов задача извлечения максимального объема информации посредством экспериментального исследования БТП становится особенно актуальной. Это достигается благодаря активному применению статистических методов планирования

экспериментов, которые не только позволяют обрабатывать экспериментальные данные, но и способствуют оптимальной организации самого эксперимента. Обучение и внедрение методов планирования экспериментов способствуют повышению эффективности принятия решений при разработке и проектировании новых БТП. Вопросы планирования эксперимента и математической обработки его результатов становятся все более важными для студентов старших курсов, аспирантов и инженеров, что подчеркивает их значимость в современных научных исследованиях.

Более подробно методы и алгоритмы планирования и оптимизации эксперимента описаны в литературе [17 – 19]. Наша же цель заключалась только в том, чтобы показать важное значение и практическую выгоду использования «стратегии экспериментального исследования» при разработке и проектировании новых БТП.

Анализ и представление результатов эксперимента. Точность результатов, получаемых исследователем в ходе эксперимента, обозначаемых как $x_j^3, y_j^3, j = 1, 2, \dots, N$, зависит не только от качества измерительной аппаратуры и внешних условий, но и от правильности организации самого эксперимента. Например, на достоверность данных может существенно повлиять количество повторных измерений $x_{ji}^3, y_{ji}^3, j = 1, 2, \dots, N; i = 1, 2, \dots, m$, для фиксированных значений j переменной состояния x_j^3 БТП. При исследовании сложных БТП важно учитывать, что любая физическая теория представляет природные явления в определенном приближении. Это означает, что исследователь может упускать из виду некоторые аспекты и «тонкие» особенности изучаемого БТП. Ввиду этого приближенного характера моделей невозможно определить истинные значения физических величин с абсолютной точностью.

В научном эксперименте мы зачастую и не стремимся получить точно известное значение измеряемой величины. Гораздо важнее оценить:

- а) на сколько результат отличается от истинного значения;
- б) какова вероятность того, что при повторном проведении эксперимента будет получен аналогичный результат.

Следовательно, значения физических величин, полученные в процессе исследования, всегда подвержены ошибкам и должны быть представлены с указанием соответствующей погрешности. Основная задача заключается в минимизации этих погрешностей и обеспечении надежного их расчета [33, 34].

Ошибки измерений. Величины, которые исследователь применяет в расчетах, являются результатом измерения при проведении экспериментов. Поэтому он не знает точных значений этих величин, а оперирует лишь приближенными их значениями, содержащими некоторую ошибку измерения. Проводя расчеты, нужно знать погрешность измерения, чтобы определить, какая ошибка может быть совершена и иметь возможность эту ошибку учесть.

Различают два рода ошибок измерения. Систематическая ошибка обусловлена погрешностями измерительных устройств или неправильной методикой проведения измерений; систематическую ошибку можно компенсировать, вводя в расчет результата измерения соответствующие поправки.

Случайная ошибка зависит от точности применяемого способа измерения и умения исследователя. Измеряя одну и ту же величину всегда одинаковым способом, исследователь получает вследствие случайных ошибок разные результаты; при этом случайную ошибку нельзя исключить,

используя поправки. Все дальнейшие рассуждения будут касаться случайных ошибок.

Если исследователь выполнил m повторных измерений некоторой выходной переменной $y_j, j = \overline{1, N}$, состояния БТП, найдя их значения $y_{j1}, y_{j2}, \dots, y_{jm}$, то среднее арифметическое этих значений для $y_j, j = \overline{1, N}$, вычисляется по формуле

$$\bar{y}_j = \frac{y_{j1} + y_{j2} + \dots + y_{jm}}{m}, j = \overline{1, N},$$

и будет приблизительно равняться измеренной величине y_j , т.е. $\bar{y}_j \approx y_j$, где y_j – истинное значение измеряемой величины, которое остается неизвестным исследователю. В этом контексте абсолютная ошибка i -го измерения величины $y_j, j = \overline{1, N}$, определяется как модуль разности:

$$|y_j - y_{ji}| = \Delta y_{ji}, j = \overline{1, N}.$$

Также стоит отметить, что абсолютная ошибка Δy_{ji} остается неопределенной. Задача теории ошибок заключается в том, чтобы на основе результатов измерений $y_{ji}^3, j = \overline{1, N}, i = \overline{1, m}$, оценить как искомую величину y_j , так и саму погрешность Δy_{ji} .

Относительная погрешность i -го измерения δ_{ji} выражается как отношение абсолютной погрешности Δy_{ji} к модулю измеряемой величины и обычно представляется в процентах: $\delta_{ji} = \frac{\Delta y_{ji}}{|y_j|} \cdot 100\%$.

Относительная погрешность – это безразмерная величина, которая позволяет сравнивать погрешности измерений для величин различного масштаба.

В экспериментальной практике случайные факторы могут вызывать разброс результатов измерений. Влияние этих факторов может варьиро-

ваться при каждом измерении, а сама измеряемая величина может изменяться вокруг определенного значения. Это усложняет проведение экспериментов и анализ результатов без учета случайного разброса.

Определение случайной погрешности. Оценить величину случайной погрешности на основе одного измерения невозможно; при этом многократное измерение одной и той же величины приводит к разбросу результатов. Этот разброс предоставляет информацию, которая позволяет определить случайную погрешность с использованием статистических методов.

Обычно используются следующие оценки случайной погрешности:

- среднее арифметическое: среднее значение нескольких повторных измерений дает более надежную оценку истинного значения, чем отдельное измерение;

- среднеквадратичное отклонение: это мера разброса данных вокруг среднего значения, которая показывает, насколько сильно результаты измерений отклоняются от среднего значения;

- доверительный интервал: это диапазон значений Δu_j , в котором с определенной вероятностью находится истинное значение u_j .

Оценка случайной погрешности имеет важное значение для определения надежности экспериментальных результатов; сравнения результатов, полученных при разных условиях или с помощью разных методов измерения; установления пределов, в которых можно находиться истинное значение измеряемой величины.

Учет случайной погрешности в экспериментальной практике позволяет повысить точность и достоверность результатов исследований. Важно также разграничивать случайный разброс результатов измерений $x_j^3, y_j^3, j = 1, 2, \dots, N$, в эксперименте, вызванный флуктуациями измеряе-

мой величины под воздействием внешних факторов (в том числе и на прибор), и погрешность каждого из полученных значений $x_j^э$, $y_j^э$, связанную с классом точности измерительного устройства и ошибками, возникающими при считывании значений с его шкалы.

Измерение, при котором интересующая величина не фиксируется напрямую с помощью прибора, а вычисляется на основе одного или нескольких непосредственно измеренных значений, называется *косвенным*.

По окончании эксперимента и проведения необходимых вычислений корректной формой представления результата будет указание наилучшей оценки измеряемой величины вместе с интервалом Δy_j , в котором предполагается нахождение ее истинного значения:

$$y_j = (\bar{y}_j \pm \Delta y_j).$$

Эта запись означает, что $(\bar{y}_j + \Delta y_j)$ есть наибольшее вероятное значение, а $(\bar{y}_j - \Delta y_j)$ – наименьшее вероятное значение измеренной величины y_j . Следовательно, можно утверждать, что истинное значение y_j находится в указанном интервале с определенной вероятностью, которая зависит от выбора величины Δy_j ; интервал $(\bar{y}_j - \Delta y_j; \bar{y}_j + \Delta y_j)$ называется доверительным интервалом, а вероятность $P(\bar{y}_j - \Delta y_j < y_j < \bar{y}_j + \Delta y_j)$ того, что истинное значение y_j лежит внутри этого диапазона, называется доверительной вероятностью: $P(\bar{y}_j - \Delta y_j < y_j < \bar{y}_j + \Delta y_j) = P_{\text{дов}}$, где $P_{\text{дов}}$ – это заданное значение доверительной вероятности. Для стандартного отклонения доверительная вероятность составляет $P_{\text{дов}} = 0,68$, а в практических задачах обычно устанавливается значение доверительной вероятности в диапазоне $P_{\text{дов}} \in (0,90 \dots 0,99)$.

Записанное выражение можно интерпретировать следующим образом: с вероятностью $P_{\text{дов}}$ результаты серий измерений величины y_j не выйдут за пределы доверительного интервала $(\bar{y}_j - \Delta y_j; \bar{y}_j + \Delta y_j)$. К примеру, если $P_{\text{дов}} = 0,9$, то это означает, что 90% результатов y_{ji}^3 , полученных при повторении эксперимента (т.е. при проведении такого же числа измерений), попадут в доверительный интервал.

Следовательно, можно сделать вывод о том, что запись погрешности измерений какой-либо физической величины без указания доверительной вероятности теряет свою ценность. Сравнение и учет погрешностей из разных источников возможны только в том случае, если все погрешности соответствуют одной и той же доверительной вероятности. Для удобства сравнения и приведения погрешностей к единой характеристике доверительных интервалов принято использовать стандартное отклонение, обозначаемое символом σ_j .

В дальнейшем для простоты изложения материала мы не будем указывать индекс j , считая y – истинным значением измеряемой величины при фиксированном значении индекса j .

Большинство методов обработки измерительных данных позволяет задавать доверительную вероятность $P_{\text{дов}}$ и, следовательно, варьировать доверительный интервал в зависимости от необходимых стандартов надежности полученных результатов. Ниже приведены значения $P_{\text{дов}}$ для различных доверительных интервалов, выраженные в единицах стандартного отклонения σ :

Погрешность Δy	σ	$1,5\sigma$	2σ	$2,5\sigma$	3σ
$P_{\text{дов}}$	0,68	0,87	0,95	0,988	0,997.

Вычисление погрешностей при проведении прямых измерений физической величины $\Delta y_{j(1)}$ включает учет двух основных источников: погрешности $\Delta u_{\text{приб}}$ измерительного прибора и ошибки $\Delta u_{\text{отсч}}$, возникающей при считывании показаний со шкалы прибора.

Класс точности измерительных приборов. Измерительные приборы, в том числе стрелочные устройства, могут иметь погрешности, связанные с конструктивными элементами. Для таких приборов абсолютная погрешность остается постоянной для всех измеряемых значений. Относительная погрешность измерительного прибора рассчитывается как отношение абсолютной погрешности к пределу шкалы прибора и выражается в процентах. Класс точности прибора – это характеристика, указывающая на максимальную относительную погрешность прибора. Например, если в паспорте прибора указан класс точности $\gamma = 2,5\%$, это означает, что относительная погрешность показаний прибора не превышает 2,5% от максимального значения на его шкале. Таким образом, класс точности дает представление о точности измерительного прибора.

Указание класса точности измерительного прибора имеет большое значение, поскольку оно характеризует погрешность и надежность прибора; позволяет сравнивать разные приборы и выбирать наиболее подходящий для конкретного применения; устанавливает доверительные границы для измерений, проводимых с помощью приборов.

Знание класса точности измерительного прибора необходимо для обеспечения достоверности и погрешности экспериментальных результатов. Абсолютная приборная погрешность $\Delta u_{\text{приб}}$ рассчитывается по следующей формуле:

$$y_{\text{приб}} = \frac{\gamma \cdot y_{\text{max}}}{100},$$

где γ – класс точности измерительного прибора; y_{max} – максимальное значение измеряемой величины, соответствующее пределу шкалы прибора.

Доверительная вероятность, связанная с приборной погрешностью, должна быть указана в паспорте устройства. Например, если рядом с классом точности стоит пометка «3 σ », либо указано, что данная погрешность является максимальной ошибкой прибора, то доверительная вероятность равна $P_{\text{дов}} = 0,997$. В противном случае следует считать, что $\Delta y_{\text{приб}}$ соответствует стандартной доверительной вероятности $P_{\text{дов}} = 0,68$.

При использовании цифровых приборов, у которых измеряемая величина представлена в цифровом формате, следует использовать абсолютные погрешности, указанные в паспорте устройства. Если нужная документация отсутствует, обычно принимается абсолютная погрешность, равная единице последнего разряда. Например, если прибор показывает время как $t = 124,02$, то погрешность будет составлять $\Delta t = 0,01$ мс, $\Delta t = 0,01$ мс или $\Delta t = 0,01$ с в зависимости от установленного диапазона измерений.

При считывании показаний со стрелочного прибора существует необходимость округления до ближайшей отметки шкалы или интерполяции (оценки долей делений). Это вносит человеческий (случайный) фактор в погрешность измерений. Погрешность отсчета зависит от размера делений прибора, освещенности шкалы и зоркости исследователя. Для определения показаний необходимо точно указать место на шкале, на которое указывает стрелка (рис. 2.2).

При высокой частоте делений (рис. 2.2, *a*), или если погрешность прибора сопоставима с ценой деления шкалы $l_{\text{ц.д}}$, целесообразно округлять показания.

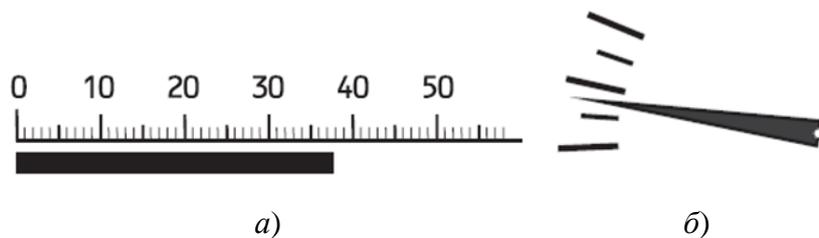


Рис. 2.2. Отсчет показаний:

а – со шкалы линейки; *б* – со шкалы стрелочного прибора

Максимальная возможная ошибка при округлении составляет половину цены деления шкалы:

$$\Delta y_{\text{отсч}} = l_{\text{ц,д}}/2, \quad P_{\text{дов}} = 0,997.$$

Погрешность отсчета, соответствующая стандартной доверительной вероятности $P_{\text{дов}} = 0,68$, определяется как

$$\Delta y_{\text{отсч}} = \sigma_{\text{отсч}} = \frac{1}{3} \cdot \frac{l_{\text{ц,д}}}{2}, \quad P_{\text{дов}} = 0,68.$$

Если шкала прибора имеет редкие деления (рис. 2.2, *б*), исследователи могут провести визуальную интерполяцию. При считывании с цифровых приборов погрешность отсчета, как правило, отсутствует.

Для правильного вычисления итоговой погрешности нужно привести все источники погрешностей к одной доверительной вероятности. Для сравнения и объединения погрешностей следует выразить соответствующие им величины Δy в терминах стандартного отклонения σ и привести их к одинаковому количеству «сигм», расширяя или сжимая доверительные интервалы в зависимости от нужной вероятности. Например, если приборная погрешность $\Delta y_{\text{приб}} = 3\sigma$ отвечает $P_{\text{дов}} = 0,997$, а погрешность отсчета $P_{\text{дов}} = 0,68$ (т.е. отвечает одной σ), можно либо разделить $\Delta y_{\text{приб}}$ на три, чтобы свести обе погрешности к стандартному значению доверительной вероятности $P_{\text{дов}} = 0,68$, либо увеличить $\Delta y_{\text{отсч}}$ до 3σ , чтобы

обе погрешности соответствовали доверительной вероятности $P_{\text{дов}} = 0,997$. Если же для записи результата требуется какая-либо другая доверительная вероятность, необходимо изменить оба доверительных интервала до нужного количества «сигм».

После приведения погрешностей к единому значению доверительной вероятности, итоговая погрешность определяется с учетом того, что погрешность прибора и ошибка отсчета являются независимыми величинами. Суммарная погрешность вычисляется как

$$\Delta y_{(1)} = \sqrt{\Delta y_{\text{приб}}^2 + \Delta y_{\text{отсч}}^2}.$$

Погрешности серии измерений. Чтобы адекватно оценить погрешности в серии измерений, следует выполнить несколько повторных измерений. Если полученные результаты различаются (в пределах установленной погрешности), это указывает на влияние случайных ошибок.

Способы оценки случайной погрешности. Рассмотрим ситуацию, когда было выполнено m повторных измерений и получен набор экспериментальных данных: $\{x_i^3, y_i^3\}$, $i = 1, 2, \dots, m$. Если все измерения проводились одним и тем же методом и с одинаковой тщательностью, их называют равноточными.

Поскольку наилучшей оценкой истинного значения y является среднее арифметическое значение \bar{y} , то определим погрешность, с которой \bar{y} приближено к истинному значению y с помощью стандартной (среднеквадратичной) ошибки.

Величина

$$S_{y^3} = \sqrt{\frac{(y_1^3 - \bar{y})^2 + (y_2^3 - \bar{y})^2 + \dots + (y_m^3 - \bar{y})^2}{m - 1}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (y_i^3 - \bar{y})^2}{m - 1}}$$

называется оценкой *среднеквадратичной ошибки* или *стандартного отклонения*.

Оценка среднеквадратичной ошибки S_{y^3} – это случайная величина каждого единичного результата y^3 при проведении m повторных измерений. Она характеризует случайный разброс результатов измерения $\{y_i^3\}$ вокруг наиболее вероятного значения \bar{y} . Если увеличивать число повторных измерений, то величина S_{y^3} будет уточняться, стремясь к некоторому постоянному значению σ :

$$\sigma = \lim_{m \rightarrow \infty} S_{y^3}.$$

Именно этот статистический предел σ на самом деле и является истинным стандартным отклонением случайной величины y_i^3 от \bar{y} в случае нормального распределения случайной величины S_{y^3} ; квадрат истинного стандартного отклонения σ^2 называется *дисперсией* измерений. В действительности, мы всегда вычисляем не величину σ стандартного отклонения, а его оценку S_{y^3} , которая тем ближе к σ , чем больше количество повторных измерений m .

Погрешность, вычисленная по формуле

$$\rho_{y^3} = \frac{|y_1^3 - \bar{y}| + |y_2^3 - \bar{y}| + \dots + |y_m^3 - \bar{y}|}{\sqrt{m(m-1)}} = \frac{\sum_{i=1}^m |y_i^3 - \bar{y}|}{\sqrt{m(m-1)}},$$

называется *средней арифметической ошибкой* измерений.

Аналогично среднеквадратичной ошибке величина ρ_{y^3} уточняется с ростом числа измерений m и стремится к некоторому истинному значению ρ средней арифметической ошибки: $\rho = \lim_{m \rightarrow \infty} \rho_{y^3}$. В большинстве случаев целесообразнее пользоваться величиной S_{y^3} , поскольку легче

определять доверительные вероятности: при достаточно большом числе измерений ($m > 30$) между S_{y^3} и ρ_{y^3} существуют простые соотношения:

$$S_{y^3} \cong 1,25 \rho_{y^3}, \quad \rho_{y^3} \cong 0,8 S_{y^3}.$$

Нормальное распределение. Рассмотрим, как случайные величины y_i^3 распределены относительно среднего значения \bar{y} . При выполнении большого числа измерений физической величины ($m \rightarrow \infty$) результаты индивидуальных измерений y_i^3 распределены по нормальному закону, т.е. подчиняются *распределению Гаусса*:

$$f(y_i^3) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp -\frac{(y_i^3 - \bar{y})^2}{2\sigma^2}.$$

Параметрами нормального распределения являются среднее значение \bar{y} и стандартное отклонение σ . Функция $f(y_i^3)$ представляет собой плотность вероятности распределения случайной величины y_i^3 ; суть распределения Гаусса заключается в возможности вычисления вероятности нахождения случайной величины y_i^3 в заданном интервале. Вероятность определяется как отношение числа случаев, когда произошло событие, к общему количеству экспериментов при стремлении этого количества к бесконечности. Например, вероятность P того, что значение y_i^3 окажется в диапазоне между $y_i^3 = a$ и $y_i^3 = b$, равна

$$P(a < y_i^3 < b) = \int_a^b f(y_i^3) dy_i^3.$$

Согласно физическому смыслу определенного интеграла, эта вероятность соответствует площади под кривой $f(y_i^3)$ на отрезке $[a, b]$; очевидно, что функция распределения удовлетворяет условию нормировки:

$$\int_{-\infty}^{\infty} f(y_i^3) dy_i^3 = 1.$$

Таким образом, если случайная величина подчиняется распределению Гаусса, можно вычислить вероятность ее нахождения в доверитель-

ном интервале $(\bar{y} - \sigma, \bar{y} + \sigma)$, т.е. доверительную вероятность, отвечающую погрешности $\Delta y = \sigma$:

$$P(\bar{y} - \sigma < y_i^3 < \bar{y} + \sigma) = \int_{\bar{y}-\sigma}^{\bar{y}+\sigma} f(y_i^3) dy_i^3 \cong 0,68.$$

Аналогично, можно определить доверительные вероятности для интервалов другой протяженности. Следует напомнить, что доверительная вероятность $P_{\text{дов}}$ при обработке результатов измерений выбирается исследователем самостоятельно и часто принимается равной 0,95 или 0,98.

Стандартное отклонение среднего. При нормальном распределении среднее значение \bar{y} считается наилучшей оценкой величины y , а типичное отклонение результатов отдельного измерения y_i^3 от этого оптимального значения задается оценкой стандартного отклонения S_{y^3} . Тем не менее, итоговым результатом серии измерений является среднее значение \bar{y} , которое предоставляет более надежную оценку физической величины по сравнению с отдельными измерениями y_i^3 . Поэтому исследователю важнее понять, на сколько \bar{y} может отличаться от истинного значения y .

Ясно, что при проведении нескольких одинаковых серий измерений из-за случайных факторов исследователь будет каждый раз получать немного разные наборы данных $\{y_i^3\}^{(1)}$, $\{y_i^3\}^{(2)}$, ... и, соответственно, различия в средних значениях $\bar{y}^{(1)}$, $\bar{y}^{(2)}$, Разброс средних значений между сериями также будет случайным, как и разброс значений y_i^3 внутри каждой серии. Поэтому распределение средних значений $\{\bar{y}^{(i)}\}$ также подчиняется нормальному закону, и плотность вероятности распределения случайной величины \bar{y} описывается функцией $f(\bar{y})$.

Доказано, что погрешность среднего арифметического значения при нормальном распределении $S_{\bar{y}}$ выражается через стандартное отклонение:

$$S_{\bar{y}} = \frac{S_{y^3}}{\sqrt{m}}.$$

Эта величина характеризует случайный разброс средних значений, полученных при повторных сериях из m измерений.

Обратим внимание, что оценки S_{y^3} стандартного отклонения случайной величины $y_i^3, i = \overline{1, m}$, от среднего значения \bar{y} и $S_{\bar{y}}$ рассчитываются по следующим формулам:

$$S_{y^3} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (y_i^3 - \bar{y})^2}{m-1}} \text{ и } S_{\bar{y}} = \frac{S_{y^3}}{\sqrt{m}}.$$

Важно понимать, что эти величины не идентичны по смыслу; в то время как оценка S_{y^3} описывает разброс отдельных значений y_i^3 относительно \bar{y} и почти не меняется с увеличением числа повторных измерений m (а лишь уточняется), оценка $S_{\bar{y}}$ стандартного отклонения среднего относительно y при выполнении нескольких одинаковых серий уменьшается в $1/\sqrt{m}$ раз с увеличением количества измерений.

Распределение Стьюдента. При использовании распределения Гаусса предполагается, что проделано очень большое число измерений. Однако, как правило, исследователь может определить лишь величину оценки $S_{\bar{y}}$ стандартного отклонения среднего, соответствующую тому или иному количеству повторных измерений m , чаще всего сравнительно небольшому (в лабораторных опытах редко встречаются ситуации, когда физическая величина измеряется более 20 раз). Если считать, что получаемые исследователем значения оценки $S_{\bar{y}}$ совпадают с величиной стандартного среднеквадратичного отклонения σ , и пользоваться табличными данными для нахождения доверительной вероятности $P_{\text{дов}}$, то полученные значения $P_{\text{дов}}$ окажутся неверными (завышенными). Это результат того, что, определяя среднеквадратичную погрешность среднего из малого числа наблюдений, исследователь определяет ее с малой точностью.

Так что, когда мы заменяем σ на оценку $S_{\bar{y}}$, погрешность оказывается определена неверно, и исследователь фактически снижает надежность этой оценки, причем тем сильнее, чем меньше проводилось повторных измерений. Поэтому в случае небольших t распределение результатов измерений выглядит иначе и называется *распределением Стьюдента*.

При недостаточно большом числе измерений исследователь имеет гораздо меньше информации об измеряемой физической величине y^3 , и поэтому ее разброс относительно среднего значения больше; на практике это означает, что доверительный интервал, соответствующий какой-либо доверительной информации, будет в случае распределения Стьюдента гораздо больше, чем в случае нормального распределения, и тем самым будет учтено отличие $S_{\bar{y}}$ от σ .

Чтобы получить доверительный интервал в случае распределения Стьюдента, необходимо умножить величину $S_{\bar{y}}$ стандартного отклонения среднего на так называемый *коэффициент Стьюдента*, который отражает различие в распределениях для малого и большого числа опытов. Используя коэффициенты Стьюдента, можно записать определение $P(\bar{y} - \Delta y < y_j < \bar{y} + \Delta y) = P_{\text{дов}}$ в виде

$$P(\bar{y} - t_{P_{\text{дов}},m} \cdot S_{\bar{y}} < y < \bar{y} + t_{P_{\text{дов}},m} \cdot S_{\bar{y}}) = P_{\text{дов}},$$

где $t_{P_{\text{дов}},m}$ выбирается из табл. 2.1.

Таким образом, при малом количестве измерений алгоритм вычисления случайной погрешности включает следующую последовательность шагов.

1. Исследователем вычисляется стандартное отклонение среднего $S_{\bar{y}}$.
2. Выбирается желаемая доверительная вероятность $P_{\text{дов}}$.

2.1. Таблица коэффициентов Стьюдента $t_{P_{\text{дов}},m}$

m	$P_{\text{дов}}$									
1	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	0,95	0,98	0,99	0,999
2	0,73	1,00	1,35	2,0	3,1	6,3	12,7	31,8	63,7	636,6
3	0,62	0,82	1,06	1,3	1,9	2,9	4,3	7,0	9,9	31,6
4	0,58	0,77	0,98	1,3	1,6	2,4	3,2	4,5	5,8	12,9
5	0,57	0,74	0,94	1,2	1,5	2,1	2,8	3,7	4,6	8,6
6	0,56	0,73	0,92	1,2	1,5	2,0	2,6	3,4	4,0	6,9
7	0,55	0,72	0,90	1,1	1,4	1,9	2,4	3,1	3,7	6,0
8	0,55	0,71	0,90	1,1	1,4	1,9	2,4	3,0	3,5	5,4
9	0,54	0,71	0,90	1,1	1,4	1,9	2,3	2,9	3,4	5,0
10	0,54	0,70	0,88	1,1	1,4	1,8	2,3	2,8	3,3	4,8
11	0,54	0,70	0,88	1,1	1,4	1,8	2,2	2,8	3,2	4,6
12	0,54	0,70	0,87	1,1	1,4	1,8	2,2	2,7	3,1	4,5
13	0,54	0,70	0,87	1,1	1,4	1,8	2,2	2,7	3,1	4,3
14	0,54	0,69	0,87	1,1	1,4	1,8	2,2	2,7	3,0	4,2
15	0,54	0,69	0,87	1,1	1,3	1,8	2,1	2,6	3,0	4,1
20	0,53	0,69	0,86	1,1	1,3	1,7	2,1	2,5	2,9	3,9
25	0,53	0,69	0,86	1,1	1,3	1,7	2,1	2,5	2,8	3,7

3. Из таблицы 2.1 коэффициентов Стьюдента выбирается значение $t_{P_{\text{дов}},m}$, соответствующее заданной доверительной вероятности $P_{\text{дов}}$ и количеству повторных измерений m .

4. Вычисляется доверительный интервал $\Delta y = t_{P_{\text{дов}},m} \cdot S_{\bar{y}}$.

5. Результат эксперимента записывается в следующем виде: $y = \bar{y} \pm \Delta y$, причем указываются доверительная вероятность $P_{\text{дов}}$ и относительная погрешность $\delta y = \Delta y / \bar{y}$ результата проведенных опытов.

Оценка погрешности методом Корнфельда. Часто при проведении эксперимента описанная выше статистическая методика вычисления

погрешности оказывается слишком трудоемкой; в таких случаях для грубой оценки погрешности допустимо использовать метод Корнфельда. Согласно этому методу, доверительный интервал выбирается так, чтобы в него попали все результаты измерений, а наилучшей оценкой истинного значения физической величины считается среднее арифметическое между максимальным и минимальным результатами измерений:

$$y_{\text{наил}} = \frac{y_{\text{max}} + y_{\text{min}}}{2}, \Delta y = \frac{y_{\text{max}} - y_{\text{min}}}{2}.$$

Такому доверительному интервалу соответствует доверительная вероятность $P_{\text{дов}} = 1 - (1/2)^{m-1}$, т.е. доверительная вероятность не выбирается исследователем, а зависит от количества проведенных измерений. Следует отметить, что в реальных экспериментах, где с целью повышения точности исследователь стремится увеличить число измерений, метод Корнфельда не применяется.

О количестве проводимых исследователем измерений в эксперименте. Что касается количества измерений в эксперименте, исследователю необходимо заранее решить, сколько опытов и измерений проводить для получения достоверных результатов и корректной оценки их погрешности.

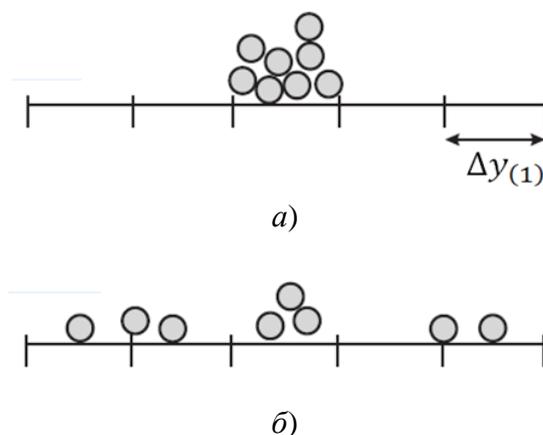


Рис. 2.3. Случайный разброс результатов измерений, обозначенных кружочками, в сравнении с ошибкой отдельного измерения $\Delta y_{(1)}$

Это решение зависит от специфики эксперимента и используемой физической модели (экспериментальной установки). Например, если исследователь осуществил серию из восьми измерений некоторой физической величины, то на рис. 2.3 представлен разброс полученных результатов относительно ошибки одного отдельного измерения $\Delta y_{(1)}$.

Вывод о погрешности на основе визуализации:

1) разброс значений меньше ошибки отдельного измерения; в этом случае следует использовать погрешность отдельного измерения $\Delta y_{(1)}$ в качестве погрешности результата (рис. 2.3, а);

2) разброс значений превышает ошибку отдельного измерения; в этом случае необходимо вычислить оценку $S_{\bar{y}}$ случайной погрешности, а погрешность одного измерения можно не учитывать (рис. 2.3, б).

Если случайный разброс результатов $(y_{\max} - y_{\min})/2$ оказывается меньше, чем погрешность индивидуального измерения $\Delta y_{(1)}$, то можно ограничиться одним измерением, а в качестве погрешности взять приборную погрешность; при этом увеличение числа измерений не приведет к уточнению результата. В противном случае, т.е. если $(y_{\max} - y_{\min})/2 > \Delta y_{(1)}$, необходимо проводить серию измерений и опре-

делять погрешность среднего значения $S_{\bar{y}}$ по формуле $S_{\bar{y}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (y_i - \bar{y})^2}{m(m-1)}}$, а погрешность единичного измерения в расчетах не использовать; при этом погрешность среднего значения $S_{\bar{y}}$ будет уменьшаться с увеличением числа повторных измерений m .

Вычисление погрешностей косвенных измерений. В большинстве экспериментов переменные состояния, представляющие интерес для исследователя, не поддаются непосредственному измерению. Вместо этого

осуществляется сбор данных по другим переменным, обозначенным как x , z и др., после чего вычисляется искомая переменная состояния, обозначаемая через y , которая представляет собой известную функцию от этих первичных величин: $y = y(x, z, \dots)$. Такие виды измерений принято называть *косвенными*.

Предположим, что исследователь провел измерения переменных x, z, \dots напрямую, вычислил их средние значения \bar{x}, \bar{z}, \dots , а также определил погрешности $\Delta x, \Delta z$: $x = \bar{x} + \Delta x$, $z = \bar{z} + \Delta z$. Далее ему необходимо вычислить переменную y состояния системы с учетом ее погрешности Δy .

Для расчета переменной y применяется следующая формула: $y = y(x, z, \dots)$, где вместо x и z подставляются их средние значения \bar{x} и \bar{z} : $y = y(\bar{x}, \bar{z}, \dots)$. Таким образом, следует разобраться, как определить Δy .

Рассмотрим случай, когда величина y равна сумме двух измеренных величин – $y = x + z$. Предположим, что x варьируется в интервале $(\bar{x} - \Delta x, \bar{x} + \Delta x)$, а z – в интервале $(\bar{z} - \Delta z, \bar{z} + \Delta z)$. В таком случае наибольшее значение y будет равным $y_{\max} = x_{\max} + z_{\max} = (\bar{x} + \Delta x) + (\bar{z} + \Delta z) = (\bar{x} + \bar{z}) + (\Delta x + \Delta z)$, наименьшее значение – $y_{\min} = x_{\min} + z_{\min} = (\bar{x} - \Delta x) + (\bar{z} - \Delta z) = (\bar{x} + \bar{z}) - (\Delta x + \Delta z)$.

Таким образом, наилучшая оценка для величины y – это $y_{\text{наил}} = \bar{x} + \bar{z}$, а погрешность – $\Delta y = \Delta x + \Delta z$; очевидно, что в случае разности $y = x - z$ формула будет такой же.

Тем не менее, подобный подход может привести к завышенным оценкам погрешности. Доказано, что если все измеряемые величины независимы и результаты следуют нормальному закону распределения, то погрешность линейной комбинации вида $y = x + z + \dots$ можно выразить формулой

$$\Delta y = \sqrt{(\Delta x)^2 + (\Delta z)^2 + \dots},$$

что подразумевает, что погрешности складываются «в квадрате». Использование квадратичного сложения обычно приводит к меньшим оценкам погрешности, чем применение обычного сложения.

Важно понимать, что при сложении погрешностей они должны быть приведены к одинаковым значениям доверительной вероятности. Если все погрешности соответствуют стандартной доверительной вероятности $P_{\text{дов}} = 0,68$, тогда вышеупомянутая формула может быть представлена так:

$$S_{\bar{y}} = \sqrt{S_{\bar{x}}^2 + S_{\bar{z}}^2 + \dots},$$

где $S_{\bar{y}}, S_{\bar{x}}, S_{\bar{z}}$ – оценки стандартного отклонения среднего для \bar{y} , \bar{x} и \bar{z} соответственно.

Рассмотрим пример вычисления погрешности для функции одной переменной: $y = y(x)$, причем величина x принимает значения в интервале $(\bar{x} - \Delta x, \bar{x} + \Delta x)$. Предположим, что на этом интервале функция возрастает, тогда

$$y_{\text{max}} = y(x_{\text{max}}) = y(\bar{x} + \Delta x); \quad y_{\text{min}} = y(x_{\text{min}}) = y(\bar{x} - \Delta x).$$

Поскольку погрешность Δx мала, то можно записать

$$y(\bar{x} + \Delta x) - y(\bar{x}) = \Delta y = \frac{dy}{dx} \Delta x,$$

где производная берется в точке $x = \bar{x}$.

Случаи возрастания и убывания функции можно объединить, если записать следующее соотношение: $\left| \Delta y = \frac{dy}{dx} \Delta x \right|$. С учетом последнего выражения можно получить формулу для расчета относительной погрешности δy : $\delta y = \frac{\Delta y}{y_{\text{наил}}} = \frac{y'(x)|_{x=\bar{x}}}{y(\bar{x})} \cdot \Delta x$.

Точность задания погрешностей. Если бы в ходе эксперимента оценка среднеквадратической ошибки $S_{y^{\text{э}}}$ определялась на основе беско-

нечного числа измерений, она была бы равна предельному значению σ . Однако при небольшом m значение S_{y^3} будет отличаться от σ и это отличие увеличивается по мере уменьшения m . Например, при $m = 50$ определение S_{y^3} может быть оценено с погрешностью $\sim 10\%$, в то время как при $m = 25$ эта оценка вырастает до значения $\sim 15\%$. При меньшем же количестве повторных измерений можно говорить лишь об оценке погрешности с той или иной точностью.

Точность представления числа определяется количеством значащих цифр в нем. К примеру, в числе 0,012040 значащими являются последние пять цифр – первые два нуля не считаются значащими, так как они лишь указывают на разряд. Если это число записать в научной нотации в виде $1,2040 \cdot 10^{-2}$, первые два нуля будут отсутствовать, но другие два будут значащими, что говорит о том, что в этих позициях действительно находятся нули.

Правило округления погрешностей:

- округляйте экспериментальные погрешности до одной значащей цифры;
- если первая значащая цифра погрешности равна 1, сохраните две значащие цифры (например, округляйте 0,14 до 0,15, а не до 0,1).

Правило округления результата измерений:

- последняя значащая цифра в результате измерения должна находиться в той же десятичной позиции, что и последняя значащая цифра соответствующей погрешности.

Рекомендации:

- точность всех чисел в эксперименте должна соответствовать точности, с которой определяются погрешности;

- избегайте чрезмерного округления на промежуточных этапах вычислений, так как это может привести к потере точности;
- округлите числа временно, оставив на один знак больше, чем предполагается в результате;
- окончательное округление погрешности и результата следует проводить после завершения всех вычислений.

Построение и обработка графиков. Построение графиков – один из основных способов визуального представления результатов эксперимента. Его основное преимущество заключается в наглядности, позволяющей исследователю легко выявлять экстремумы, максимальные и минимальные скорости изменения переменных состояния БТП, периодичность и другие важные характеристики графически представленных зависимостей.

Рекомендации по выбору масштаба на графике:

- экспериментальные точки не должны накладываться друг на друга;
- масштаб должен быть простым, желательно с единицей измеряемой величины, соответствующей 1, 2 или 5 см. Допустимо также использовать масштабы с единицей измеряемой величины, соответствующей 2,5 или 4 см (если это необходимо для повышения наглядности);
- точка пересечения осей не обязательно должна быть нулевой по обеим осям;
- обозначайте откладываемые величины и их единицы измерения в конце каждой оси;
- для удобства в конце оси указывайте порядок величины в виде $10^{\pm n}$ перед единицей измерения;
- используйте общепринятые обозначения порядков величины, если таковые имеются;

- экспериментальные точки обозначайте небольшими символами (кругами, треугольниками, квадратами и т.п.);
- для разных зависимостей на одном графике используйте разные цвета или символы;
- откладывайте погрешности обеих измеряемых величин в виде вертикальных и горизонтальных отрезков, пересекающихся в экспериментальной точке; при этом длина отрезков должна соответствовать доверительному интервалу Δy ;
- если у одной из величин погрешность отсутствует или слишком мала, что укладывается в пределах точки, соответствующие отрезки не откладываются.

После нанесения экспериментальных точек и их погрешностей на график выполните следующие действия.

1. Вычертите плавную линию (прямую или кривую), которая проходит как можно ближе к большинству точек. Поскольку большинство физических зависимостей являются гладкими функциями, не следует соединять точки ломаной линией.

2. Если ожидается линейная зависимость, в пределах погрешностей экспериментальных точек проведите прямую линию, которая визуальным образом наилучшим образом аппроксимирует результаты эксперимента (опытные данные).

3. Если форма функциональной зависимости $y = f(x)$ неизвестна, погрешности нанесенных точек станут важным фактором для корректной интерпретации данных.

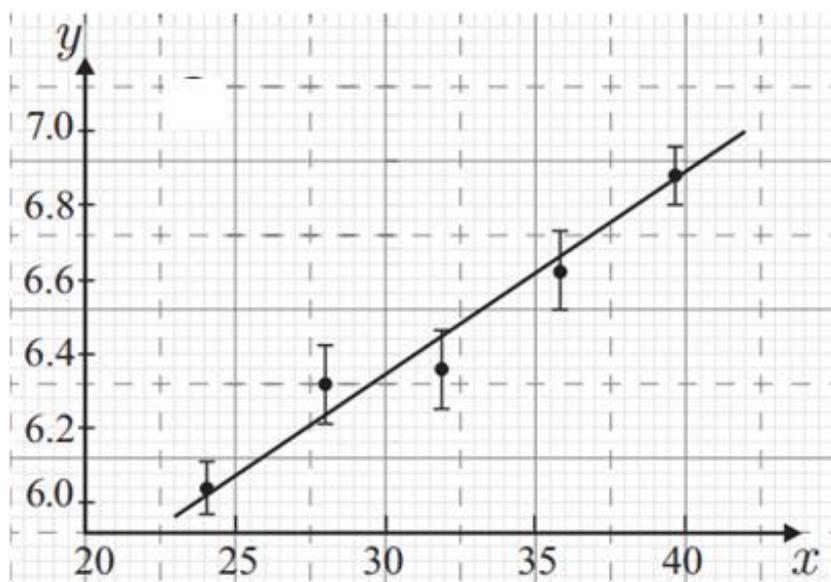


Рис. 2.4. Экспериментальные точки и их погрешности

Графики в логарифмическом масштабе. При изучении нелинейных функциональных зависимостей или когда экспериментальные данные охватывают широкий диапазон, включающий несколько порядков измеряемой величины, рекомендуется использовать логарифмические шкалы.

Логарифмическая шкала – это неравномерное деление, в котором:

- отметки шкалы соответствуют десятичным логарифмам соответствующих величин;
- на шкале отображаются сами значения, а не их логарифмы.

Использование логарифмических шкал позволяет:

- преобразовать нелинейные зависимости в линейные;
- удобно представлять данные, охватывающие несколько порядков измеряемой величины.

Преимущество данного подхода заключается в равномерном распределении порядков, таких как 1, 10, 100 и т.д.; если бы логарифмы этих величин были проставлены на оси, они бы располагались равномерно (рис. 2.5).

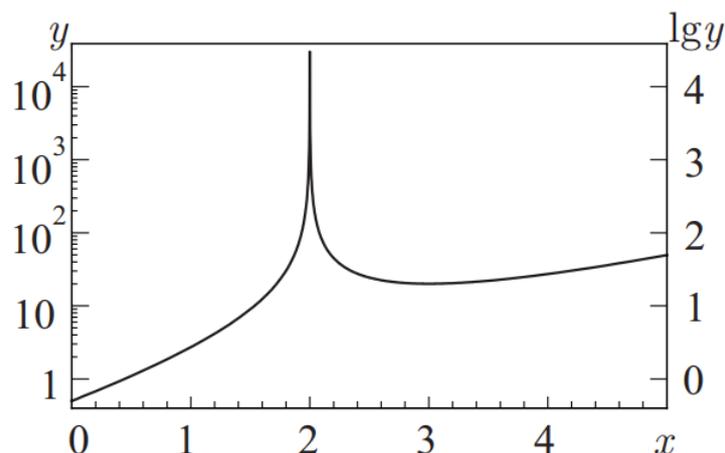


Рис. 2.5. График зависимости $y(x) = \exp x/|x - 2|$

в полулогарифмическом масштабе:

слева (на оси ординат) показана неравномерная шкала значений y ;

справа – равномерная шкала значений $\lg y$:

$$y = 1 \rightarrow \lg y = 0; y = 10 \rightarrow \lg y = 1; y = 100 \rightarrow \lg y = 2$$

Когда исследователь обрабатывает результаты измерений, он сталкивается с необходимостью определения координат точек на логарифмической шкале и считывания данных с кривых, построенных в таком масштабе. На рисунке 2.6 представлена кривая в полулогарифмическом масштабе, на которой отмечены пять точек с координатами, которые исследователь хочет определить.

При считывании данных полезно запомнить: $\lg 1 = 0$; $\lg 2 = 0,3$; $\lg 3 = 0,5$; $\lg 5 = 0,7$; $\lg 10 = 1$. На логарифмической шкале цифра 3 располагается примерно посередине отрезка между 1 и 10. Интервалы от 1 до 2, от 2 до 5 и от 5 до 10 составляют приблизительно 0,3; 0,4 и 0,3 от длины этого отрезка соответственно; мелкие риски, обозначенные на оси y между 1 и 10 в каждом порядке, представляют доли отрезка: 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 (см. ось y на рис. 2.6). Учитывая эти данные, исследователь может приблизительно определить координаты интересующих его экспериментальных

значений: $y_1 = 10$, $y_2 \approx 4,5 \cdot 10 = 45$, $y_3 \approx 1,1 \cdot 10^2 = 110$, $y_4 \approx 3 \cdot 10^2 = 300$, $y_5 \approx 7 \cdot 10^2 = 700$. При считывании данных следует понимать, что погрешность считываемых чисел из-за неточности интерполяции тем больше, чем выше порядок величины, в котором расположены деления: так, из приведенного примера следует, что для y_2 доверительный интервал составляет ± 5 , тогда как для y_3 , y_4 и y_5 — ± 50 .

Для упрощения интерполяции исследователь может воспользоваться тем, что неравномерная шкала величины y соответствует равномерной шкале ее логарифма; для этого необходимо рядом с осью ординат нарисовать вторую ось, показывающую изменение $\lg y$, и разметить ее соответственно делениям, отвечающим порядкам на оси y (рис. 2.6). Тогда, имея привычную глазам исследователя равномерную разметку, он сможет интерполировать значения логарифма с большей точностью и далее вычислить значения y_i как $10^{\lg y_i}$ для каждой i -й точки:

$$(\lg y)_1 = 1 \rightarrow y_1 = 10^1 = 10; (\lg y)_2 = 1,65 \rightarrow y_2 = 10^{1,65} \approx 45;$$

$$(\lg y)_3 = 2,05 \rightarrow y_3 = 10^{2,05} \approx 112; (\lg y)_4 = 2,5 \rightarrow y_4 = 10^{2,5} \approx 320;$$

$$(\lg y)_5 = 2,85 \rightarrow y_5 = 10^{2,85} \approx 710.$$

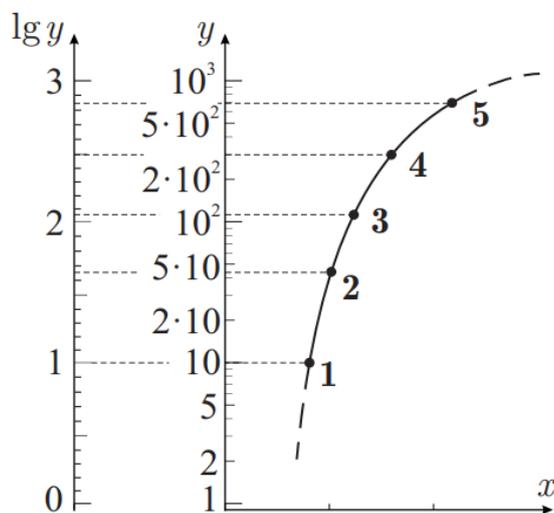


Рис. 2.6. Пример считывания данных с экспериментальных кривых

Взяв погрешность отсчета в этом случае как половину размера деления на шкале $\lg y$, можно получить абсолютную погрешность считанных данных y_i , как погрешность косвенного измерения:

$$\Delta y = \left(\frac{\partial(10^{\lg y})}{\partial(\lg y)} \right) \cdot \Delta(\lg y) = y \cdot \ln 10 \cdot \Delta(\lg y),$$

которая будет разной для различных y_i : для $y_2 \rightarrow \Delta y \approx 5$; для $y_3 \rightarrow \Delta y \approx 13$; для $y_4 \rightarrow \Delta y \approx 40$; для $y_5 \rightarrow \Delta y \approx 80$.

Таким образом, считанные данные соответствуют друг другу в пределах погрешностей, и точность второго метода считывания оказывается выше для большинства значений.

Следует заметить, что описанные выше способы определения координат точек на логарифмической шкале применимы не только для считывания данных с графиков, но и для нанесения точек на график при его построении.

2.2. ФИЗИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ, МАСШТАБИРОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

При разработке нового биотехнологического процесса может оказаться невозможным или слишком затратным проведение на нем экспериментальных исследований. В этом случае исследователь может построить удобный во всех отношениях другой объект, называемый *физической моделью* БТП. Такая модель удовлетворяет всем требованиям исследователя, он проводит на ней все необходимые опыты и получает экспериментальные данные $x_{\text{ф}}^3$, $y_{\text{ф}}^3$, где нижний индекс «ф» означает принадлежность переменных x , y к физической модели.

По завершении экспериментов с физической моделью возникают традиционные вопросы, касающиеся экспериментальной методологии. Например, будут ли результаты $y_{\Phi}^{\exists}(x_{\Phi}^{\exists})$ эквивалентны интересующим исследователя данным $y^{\exists}(x^{\exists})$? Возможно ли это, основываясь на данных $y_{\Phi}^{\exists}(x_{\Phi}^{\exists})$ для оригинального биотехнологического процесса?

На эти вопросы отвечает теория подобия, которая устанавливает «родство» между различными БТП, описываемыми одним и тем же дифференциальным уравнением. Для подобных процессов некоторые или все характерные величины будут находиться в одинаковых взаимосвязях. Условия полного или частичного геометрического/временного подобия задаются безразмерными комплексами, известными как критерии подобия, которые могут выглядеть как $R(x^{\exists}, y^{\exists})$, $R(x_{\Phi}^{\exists}, y_{\Phi}^{\exists})$. Если выполняется равенство $R(x^{\exists}, y^{\exists}) = R(x_{\Phi}^{\exists}, y_{\Phi}^{\exists})$, то для всех подобных объектов, используя данные x_{Φ}^{\exists} , y_{Φ}^{\exists} и x^{\exists} , можно вычислить выход y^{\exists} реального БТП.

Действительно, по известным данным x_{Φ}^{\exists} , y_{Φ}^{\exists} вычислим значение $R(x^{\exists}, y^{\exists}) = c_1 > 0$, затем для подобного реального БТП получим критериальное уравнение $R(x^{\exists}, y^{\exists}) = R(x_{\Phi}^{\exists}, y_{\Phi}^{\exists}) = c_1$, из которого для любого x_1^{\exists} находим численное или аналитическое решение $y_1^{\exists} = \varphi(c_1, x_1^{\exists})$. В первом случае получим знакомую таблицу $|x_i^{\exists}; y_i^{\exists}|$, $i = 1, 2, \dots, N$; во втором случае – формулу для вычисления y^{\exists} по известным x^{\exists} и c_1 .

Трудность применения физического моделирования связана с отсутствием методики создания физической модели БТП, обеспечивающей полное или частичное подобие с реальным БТП. Для хорошо изученных физических процессов типа теплопроводность, диффузия, тепломассоперенос, гидродинамика и др. задача конструирования подобной физической моде-

ли решается, как правило, эвристически, что, однако, неприемлемо для БТП, представляющих собой комбинацию различных био- и физико-химических явлений.

Кроме того, для анализа условий подобия необходимо знание чисел/критериев подобия, называемых критериями Ньютона, Эйлера, Рейнольдса, Нуссельта, Кирпичева и др. [13, 14]. Нахождение новых непротиворечивых критериев подобия процессов, описываемых разнотипными дифференциальными уравнениями, пока представляется неразрешимой проблемой.

К несомненным достоинствам физического моделирования следует отнести возможность создания серии новых подобных технологических процессов разного геометрического или временного масштаба по результатам $x_{\text{ф}}^{\text{э}}$, $y_{\text{ф}}^{\text{э}}$ экспериментального исследования одной физической модели БТП в комфортных условиях.

Итак, закончим краткое знакомство с методом физического моделирования БТП и перейдем к сравнению его достоинств (+) и недостатков (–).

(+): метод физического моделирования позволяет по результатам экспериментов $x_{\text{ф}}^{\text{э}}$, $y_{\text{ф}}^{\text{э}}$ на физической модели вычислять аналогичные данные для подобных БТП с желаемыми конструктивными и временными характеристиками; косвенно исследовать потенциально опасные реальные БТП, для которых имеется подобная физическая модель; экспериментальное исследование физической модели БТП, проводимое в комфортных условиях, позволяет ослабить случайную помеху z и повысить точность данных $x_{\text{ф}}^{\text{э}}$, $y_{\text{ф}}^{\text{э}}$, необходимых для вычисления критериев подобия.

(–): для успешного применения физического моделирования исследователь должен владеть большим объемом знаний и умений в области

теории подобия, биотехнологии и физико-математических наук; метод физического моделирования неприменим для исследования БТП, описываемых неизвестными или разнотипными дифференциальными уравнениями; сфера применения физического моделирования значительно уже сферы применения метода экспериментального исследования БТП; физическое моделирование БТП более трудоемкое и дорогостоящее по сравнению с непосредственным экспериментированием на функционирующем БТП.

В заключение отметим, что физическое моделирование, базирующееся на теории подобия и частично на теории размерности, находило в первой половине XX века широкое применение для теоретико-экспериментального исследования ряда тепловых, гидромеханических, диффузионных и других процессов, описываемых однотипными дифференциальными уравнениями, но оказалось малополезным инструментом для экспериментального анализа разнородных био- и физико-химических явлений и биотехнологических процессов.

2.3. МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

Фундаментальными компонентами метода математического моделирования являются создаваемый биотехнологический процесс и математическое описание его функционирования в статике или динамике. К инструментальной составляющей относятся ЭВМ, программное обеспечение, реализующее задачи математического моделирования, и методы/алгоритмы их решения. Семантическое содержание процедуры моделирования обеспечивает исследователь, который экспериментальным методом изучает БТП, разрабатывает его математическую модель, формулирует задачи математического моделирования и выбирает соответствующие численные

методы их решения на ЭВМ, анализирует качество и физическую реализуемость получаемых решений [20].

Из этого анализа следует, что знания, умения и навыки исследователя существенно влияют на успехи и эффективность решения задач математического моделирования, создаваемого БТП.

Описание биотехнологического процесса. Как упоминалось ранее, любой биотехнологический процесс включает три ключевые стадии: *предферментационную, ферментационную и постферментационную.*

Предферментационная стадия биотехнологического процесса включает в себя:

- хранение и подготовку культуры продуцента (инокулята);
- получение и предварительную подготовку питательных субстратов, сред, ферментационного оборудования, а также технологической и рециркулируемой воды и воздуха.

На этой стадии особое внимание уделяется поддержанию и подготовке чистой культуры, поскольку физиолого-биохимические характеристики продуцента определяют общую эффективность процесса. К основным этапам этой стадии относятся:

- хранение производственных штаммов и их реактивация;
- накопление инокулята в необходимых количествах;
- использование принципа масштабирования для увеличения биомассы продуцента от колб до полупромышленных биореакторов.

На каждом этапе масштаб увеличивается в десятки раз.

Полученный инокулят передается по стерильной посевной линии в биологический аппарат, где начинается ферментационная стадия. Подготовка питательных сред осуществляется в специализированных реакторах, оснащенных смешивающими устройствами. В зависимости от растворимо-

сти и совместимости компонентов могут применяться различные типы биореакторов. При этом процесс приготовления сред может быть значительно усложнен, если в их состав входят нерастворимые компоненты.

Приготовление питательной среды. Для осуществления различных ферментационных процессов требуются разные субстраты, что влияет на состав питательной среды. Дозирование компонентов подбирается индивидуально для каждого БТП в соответствии с технологическим регламентом. В качестве дозирующего оборудования при этом применяются весовые и объемные устройства, используемые в пищевой и химической промышленности; транспорт веществ осуществляется насосами, ленточными и шнековыми транспортерами [10].

Сыпучие компоненты подают в ферментеры с помощью вакуумных насосов. Часто применяют принцип предварительных смесей, согласно которому соли предварительно растворяют и затем транспортируют по трубопроводам, дозируя их подачу в аппарат по объему. В силу исключительного разнообразия биотехнологических процессов и применяемых для их реализации питательных сред, методов и аппаратуры рассмотрение данных элементов далее будет связано с конкретным биотехнологическим производством.

Стадия ферментации осуществляется в биохимическом реакторе (ферментере) и может быть организована в зависимости от особенностей используемого продуцента и требований к типу и качеству конечного продукта различными способами.

Разновидности процесса ферментации:

- асептическая или незащищенная;
- на жидких или твердых субстратах;

- анаэробная или аэробная;
- поверхностная или глубинная аэрация;
- периодическая, проточная или полунепрерывная;
- добавление субстрата в периодическом или непрерывном режиме.

В периодическом процессе ферментер заполняется исходной питательной средой и инокулятом микроорганизмов. В течение определенного периода времени в аппарате происходит взаимодействие микроорганизмов X и субстрата S , сопровождающееся образованием в культуре продукта P , т.е. $X + S \rightarrow P$.

Биохимические реакции в биореакторе могут проводиться от нескольких часов до нескольких суток. Управление переменными состояниями культуральной среды внутри ферментера – важнейшая задача периодического культивирования микроорганизмов. В ходе периодического процесса культура проходит через несколько последовательных фаз: лаг-фазу, экспоненциальную фазу, фазу замедленного роста, стационарную фазу и фазу отмирания клеток. В каждой фазе наблюдаются изменения как переменных состояний самого биообъекта, так и переменных состояний культуральной среды.

Целевые продукты формируются в экспоненциальной (первичные метаболиты, такие как ферменты, аминокислоты и витамины) и стационарной (вторичные метаболиты, такие как антибиотики) фазах. В зависимости от целей биотехнологического процесса, применяются оптимальные режимы культивирования микроорганизмов, обеспечивающие максимальную продуктивность получаемых целевых продуктов.

По завершении процесса периодической ферментации производят опорожнение ферментера, очистку и санитарную обработку его внутрен-

ней поверхности, изоляцию и очистку продукта, после чего начинается новый цикл.

Непрерывные процессы культивирования микроорганизмов обладают значительными преимуществами по сравнению с периодическими. В непрерывной ферментации поддерживается установившийся режим, что позволяет обеспечивать однородность как микробной популяции, так и продуктов, а также создает условия для эффективного регулирования и управления микробиологическими процессами.

С точки зрения инженерной реализации, организация процесса ферментации включает дозирование поступающих в биореактор потоков инокулята, воздуха (или газовых смесей), питательных веществ и пеногасителей, а также отвод из биореактора тепла, отработанного воздуха и культуральной жидкости. Важно также измерять и регулировать ключевые переменные состояния процесса в биореакторе, поддерживая их на оптимальном уровне для благоприятного роста микроорганизмов и получения целевого биопродукта.

В процессе ферментации образуются сложные смеси, содержащие клетки, внеклеточные метаболиты и остаточные концентрации исходного субстрата. Целевые продукты, как правило, присутствуют в малых концентрациях, а многие из них подвержены разрушению, что создает значительные сложности для способов выделения, очистки, концентрирования и подготовки товарной формы биологических продуктов.

На *постферментационной стадии* обеспечивается получение готового продукта, а также необходимость обезвреживания отходов и побочных продуктов. В зависимости от места нахождения конечного продукта (в клетках или в культуральной жидкости) и его характеристик на этой

стадии используются разные методы и оборудование для выделения и очистки; при этом особо трудоемким является процесс извлечения продукта, накапливающегося внутри клеток.

Начальным этапом на постферментационной стадии является фракционирование культуральной жидкости и отделение взвешенной фазы, то есть биомассы. Наиболее распространенным способом для этих целей является сепарация, проводимая в специальных аппаратах – сепараторах. Эти устройства могут работать по различным схемам, адаптированным под физико-химические свойства обрабатываемой культуральной жидкости. Основные сложности возникают при выделении мелко взвешенных частиц (например, бактериальных клеток) размером $\sim 0,5 \dots 1,0$ мкм и при необходимости переработки больших объемов жидкости, например в производстве кормового белка и аминокислот.

Для повышения эффективности процесса сепарации часто проводят предварительную специальную обработку культуры путем варьирования рН среды культивирования микроорганизмов, температуры и добавления химических агентов. В целях увеличения срока хранения биотехнологических продуктов осуществляются процессы обезвоживания и стабилизации. В зависимости от характеристик продукта применяются различные методы сушки. Термостабильные препараты сушатся на подносах, ленточных конвейерах или в кипящем слое, в то время как чувствительные к перегреву препараты высушивают в вакуумных сушилках при пониженных давлении и температуре либо в распылительных сушилках.

Для стабилизации свойств биотехнологических продуктов в качестве наполнителей используются разнообразные вещества. Например, при стабилизации кормового белка применяются пшеничные отруби и кукурузная

мука, что также увеличивает питательную ценность готового продукта. Для стабилизации ферментных препаратов используются глицерин и углеводы, предотвращающие денатурацию ферментов, а также неорганические ионы кобальта, магния, натрия, антибиотики и другие добавки.

Понятие математической модели технологического процесса.

На рисунке 2.7 представлена структурная схема технологического процесса (ТП), где $x(t)$, $y(t)$ – входные (независимые) и выходные (зависимые) переменные; $z(t)$ – случайная помеха; $x^э, y^э = \bar{y} + z$ – экспериментальные данные, \bar{y} – точная реакция технологического процесса (как объекта управления) на воздействие $x^э$; $a = \{a_1, a_2, \dots, a_k\}$ – вектор параметров/коэффициентов уравнений математической модели; $l = \{l_1, l_2, l_3\}$ – вектор пространственных координат; t – время.

Математическая модель (ММ) БТП представляет собой функциональную (операторную) зависимость между векторами x, y, a , описывающую с заданной точностью поведение БТП во времени и пространстве:

$$F(x, y, a) = 0, \quad (2.1)$$

где $F(\cdot)$ – оператор; для простоты изложения не показаны аргументы (t, l) векторов x, y, a .

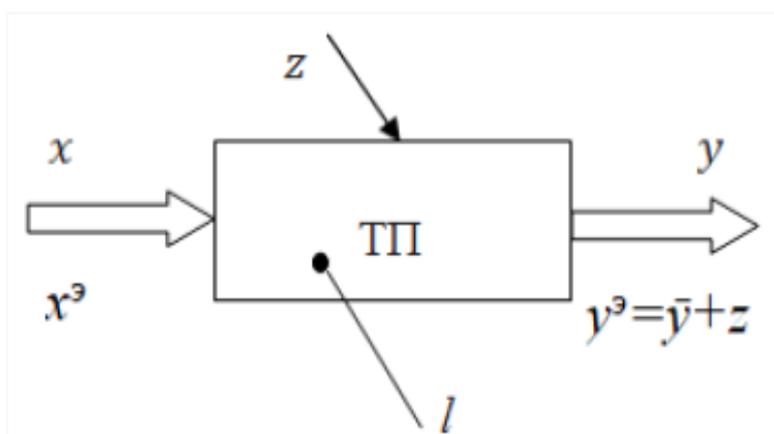


Рис. 2.7. Структурная схема технологического процесса

Предположим, что оператор $F(\cdot)$ включает в себя дифференциальные и/или конечные уравнения в векторной форме:

$$\dot{y} = f(x, y, a), \quad f(x, y, a) = 0,$$

где вектор параметров a уравнений ММ технологического процесса пока неизвестен и в дальнейшем подлежит определению по экспериментальным данным $x^э, y^э = \bar{y} + z$. Неизвестна пока и структура $F(x, y, a)$ уравнений ММ, которую придется выбирать из «знакомых» моделей, опираясь при этом на гипотетические знания, аккумулированные в био- физико-химической модели (БФХМ) БТП.

Задачи определения структуры $F(x, y, a)$ и вектора параметров a по заданным данным $x^э, y^э$ называются структурной и параметрической идентификацией ММ; ключевым моментом здесь является то, что в математическую модель не включается помеха z .

Построение математических моделей биотехнологических процессов. Процесс создания математических моделей БТП заключается в выборе структуры уравнений, входящих в (2.1), а также в идентификации параметров a^* на основе экспериментальных данных $x^э, y^э = \bar{y} + z$. Главная задача состоит в том, чтобы найденные параметры обеспечивали достаточную близость решения уравнений к вектору \bar{y} выходной переменной состояния БТП, свободному от помехи z .

Качество математического моделирования БТП будет оцениваться по следующим критериям:

- 1) трудоемкость процесса построения модели;
- 2) удобство и простота применения модели;
- 3) адекватность и точность ММ, описывающей функционирование

БТП в статике и/или динамике.

Данные критерии качества будут полезны при принятии решений на различных этапах построения математической модели.

Этапы построения математической модели $F(x, y, a) = 0$.

1. Определение (задание) структуры $F(x, y, a)$ уравнений математической модели.

2. Получение двух наборов экспериментальных данных: $x_I^э, y_I^э$ и $x_{II}^э, y_{II}^э$ на пилотных установках для разрабатываемого БТП в лабораторных или опытно-промышленных условиях.

3. Определение вектора параметров $a^* = a(x_I^э, y_I^э)$ уравнений математической модели $F(x, y, a) = 0$ (или параметрический синтез ММ).

4. Анализ адекватности математической модели $F(x, y, a^*) = 0$ БТП по экспериментальным данным $x_{II}^э, y_{II}^э$.

5. Обеспечение адекватности математической модели $F(x, y, a^*) = 0$.

Для математического описания БТП будем использовать формулу аналитического построения ММ технологических процессов [20].

На предварительном этапе проводится предварительный анализ БТП как объекта математического моделирования, предусматривающий:

- целевое назначение и принцип функционирования БТП;
- аппаратное и технологическое оформление БТП;
- технологический регламент эксплуатации БТП;
- обзор литературных источников, касающихся аналогичных производств;
- универсальный список общих предположений или аксиом о возможных режимах работы и основных свойствах БТП.

На первом этапе формируется аналитическая структура $F(x, y, a)$ путем вывода уравнений баланса субстанции, учитывающих конструктив-

ные особенности аппаратурно-технологического оформления БТП, свойства обрабатываемых биологических материалов и используемых биологических агентов. Обычно оператор $F(x, y, a)$ – является нелинейным по y, a . При его формировании учитываются допущения БФХМ о режимах функционирования (статических/динамических) БТП, а также о его характеристиках (линейности и/или нелинейности).

На втором этапе проводят активные эксперименты на установках в лабораторных условиях, позволяющие выявить каждое значимое биофизико-химическое явление. В результате получают «чистые» данные $x_I^э, y_I^э$ и $x_{II}^э, y_{II}^э$, справедливые для класса идентичных БТП. Подготовка и проведение этих экспериментов отличаются высокими затратами времени, трудоемкостью и стоимостью.

На третьем этапе решают задачу параметрической аппроксимационной идентификации ММ $F(x, y, a) = 0$, которая сводится к аргументной оптимизационной задаче:

$$\Phi(a^*) = \min_{a \in A_D} \Phi(a),$$

где
$$\Phi(a) = \frac{1}{N_1} \sum_{j=1}^{N_1} \left(\bar{y}_j^э - y(x_j^э, a) \right)^2 = \frac{1}{n \cdot N_1} \sum_{j=1}^{N_1} \sum_{\lambda=1}^n \left(\bar{y}_{\lambda j}^э - y_{\lambda}(x_j^э, a) \right)^2,$$

j – номер опыта, причем $j > k$, k – размерность вектора a ; n – размерность вектора y ; $y(x_j^э, a), j = \overline{1, N_1}$ – решение конечного векторного уравнения (2.1) с векторами $x_j^э$ и $a \in A_D$, A_D – множество допустимых значений вектора параметров a .

Устойчивое решение a^* сформулированной выше оптимизационной задачи существует, но не единственно для выпуклой/невыпуклой $\Phi(a)$; вектор параметров a^* имеет физическую трактовку.

На четвертом этапе проводится анализ адекватности решения $y_j(x_j^э, a)$ уравнений математической модели $F(x, y, a^*) = 0$ по экспериментальным данным $x_{II}^э, y_{II}^э$ и с использованием условия

$$\|\bar{y}_j^э - y_j(x_j^э, a^*)\| < \delta_{ж},$$

где $\delta_{ж}$ – допустимая погрешность рассогласования экспериментальных и расчетных выходных переменных состояния БТП.

Для обеспечения адекватности ММ $F(x, y, a) = 0$ на пятом этапе следует увеличить количество значимых био- и физико-химических явлений в структуре БФХМ БТП и количество получаемых экспериментальных данных $x_I^э, y_I^э, x_{II}^э, y_{II}^э$ в лабораторных условиях.

Сфера применения математических моделей, построенных по данной методологии (этапы 1 – 5), включает:

- изучение свойств и режимов функционирования новых БТП;
- научное обоснование вопросов аппаратурно-технологического оформления, формирующих предпосылки эффективного управления и автоматизации процессов БТП;
- оптимизацию режимов работы и показателей устойчивости, надежности и безопасности функционирования БТП;
- проектирование ресурсосберегающих БТП с оптимальными удельными расходами на сырье и энергоресурсы.

Анализ адекватности математической модели БТП. При анализе адекватности ММ БТП мы располагаем уравнениями $F(x, y, a^*) = 0$, вектор параметров a^* был определен на основе экспериментальных данных $x_{I,j}^э, y_{I,j}^э$, где $j = \overline{1, N_1}$, $x_{II,j}^э, y_{II,j}^э, j = \overline{1, N_2}$. Кроме того, известна желаемая погрешность $\delta_{ж}$ (как правило, средняя квадратическая ошибка (СКО)) ММ.

Для анализа адекватности ММ статики БТП необходимо определить СКО $\delta_{\text{ММ}}$ по экспериментальным данным $x_{II,j}^{\exists}, y_{II,j}^{\exists}, j = \overline{1, N_2}$:

$$\begin{aligned} \delta_{\text{ММ}} &= \frac{1}{N_2} \sum_{i=1}^{N_2} \|\bar{y}_j^{\exists} - y(x_{II,j}^{\exists}, a^*)\|_{E^n} = \\ &= \frac{1}{N_2} \sum_{j=1}^{N_2} \left[\sum_{\lambda=1}^n \left(\bar{y}_{\lambda,j}^{\exists} - y_{\lambda}(x_{II,j}^{\exists}, a^*) \right)^2 \right]^{1/2}, \end{aligned}$$

размерность которой совпадает с физической размерностью вектора выходных переменных y состояния БТП (если компоненты вектора y имеют разные физические размерности, то следует преобразовать их в безразмерные величины путем деления каждой компоненты y_j на базовую величину $y_j^{\circ}, j = \overline{1, n}, n$ – число компонент вектора y).

Математическая модель статики $F(x, y, a^*) = 0$ считается адекватной БТП на базе экспериментальных данных $x_{II,i}^{\exists}, y_{II,i}^{\exists}$, если выполняется следующее неравенство:

$$\delta_{\text{ММ}} = \|\bar{y}_j^{\exists} - y(x_{II,j}^{\exists}, a^*)\|_{E^n} < \delta_{\text{ж}}. \quad (2.2)$$

В некоторых случаях экспериментальные данные $x_I^{\exists}, y_I^{\exists}, x_{II}^{\exists}, y_{II}^{\exists}$ могут представлять собой случайные величины или ординаты случайных процессов. В таком случае параметры $a(x_I^{\exists}, y_I^{\exists}), a^*$ и численные решения $y(x_{II}^{\exists}, a^*)$ уравнений $F(x, y, a^*) = 0$ также будут случайными, и прямое сравнение случайного числа $\delta_{\text{ММ}}$ с фиксированным значением $\delta_{\text{ж}}$ может привести к некорректным выводам. Чтобы устранить эту неопределенность, вводится другое условие адекватности: если

$$\text{Вер} \left\{ \text{того, что } \|\bar{y}_j^{\exists} - y(x_{II,j}^{\exists}, a^*)\|_{E^n} < \delta_{\text{ж}} \right\} > P_{\text{дов}}, \quad (2.3)$$

то ММ признается адекватной БТП на основании данных $x_{II,j}^{\exists}, y_{II,j}^{\exists}$ с доверительной вероятностью $P_{\text{дов}} \in (0,85 \dots 0,95)$ (или $P_{\text{дов}} \in (0,95 \dots 0,98)$) для

потенциально опасных БТП). Например, при $P_{\text{дов}} = 0,9$ для признания адекватности ММ достаточно выполнить неравенство (2.3) всего 90 раз из 100 возможных проверок, т.е. допускается 10 невыполнений условия (2.3). Понятно, что уменьшение $P_{\text{дов}}$ снижает надежность принимаемых решений.

Для практического применения условия (2.3) необходимо знать закон распределения случайной величины

$$\left\{ \left\| \bar{y}_j^{\exists} - y(x_{II,j}^{\exists}, a^*) \right\|_{E^n} - \delta_{\text{ж}} \right\}.$$

Это знание позволяет вычислять величину $\text{Вер}\{\cdot\}$ с помощью статистических таблиц. Тем не менее определение закона распределения по конечной выборке случайных чисел может вызвать затруднения. В связи с этим подходящий закон распределения должен быть задан исследователем, который субъективно выбирает его из класса известных распределений, таких как нормальное распределение Гаусса, распределение Стьюдента, χ^2 -распределение и т.п. Выбор распределения может повлиять на точность определения величины $\text{Вер}\{\cdot\}$ и, соответственно, на надежность ММ БТП.

3. ОЦЕНКА БИОХИМИЧЕСКОЙ КОНЦЕПЦИИ МЕТОДА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА

Анализ биохимической концепции начинается с выполнения стехиометрических расчетов, чтобы определить количество основных (биологических материалов и агентов) и вспомогательных веществ, необходимых для синтеза целевого биопродукта в заданном количестве. Эти расчеты опираются на законы сохранения массы, постоянства состава, кратных соотношений, а также на закон действующих масс в случае обратимых реакций, если известны значения констант равновесия.

Тем не менее, фактический выход биохимической реакции, как правило, существенно ниже теоретически рассчитанного, полученного с использованием уравнения стехиометрического баланса. Это связано с рядом факторов:

- 1) как правило, реакция замедляется до достижения равновесия, когда разница между скоростями прямой и обратной реакций становится минимальной;
- 2) в процессе биохимических превращений возникают побочные реакции, что увеличивает затраты биологических материалов;
- 3) в ходе биотехнологического процесса могут происходить потери, которые не учтены в теоретическом расчете.

Если результаты влияния этих факторов известны (например, из экспериментальных исследований, проведенных в опытно-промышленных условиях), теоретический расчет следует скорректировать, вводя экономический коэффициент $Y_{X/S} \leq 1$.

3.1. КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

К критериям оценки эффективности биотехнологических процессов следует отнести скорость роста продуцента, выход целевого продукта, экономический коэффициент и непродуктивные затраты энергии, энергозатраты и затраты на обезвреживание отходов, а также технологические факторы, влияющие на производительность и продуктивность биотехнологических процессов.

В биотехнологии при выборе метода получения конкретного целевого продукта обязательно проводится технико-экономическая оценка альтернативных вариантов биотехнологических производств получения подобных продуктов традиционными методами [5].

По сравнению с известными биотехнологические процессы должны быть более технологичными, экономичными и экологичными. Оценкой эффективности биотехнологии, помимо качества получаемого продукта, может служить сопоставление экспериментального и теоретического выходов продукта, рассчитанных с использованием уравнений стехиометрического, материального и энергетического балансов биотехнологического производства. При этом затраты и стоимость сырья в крупномасштабных производствах, как правило, являются определяющими, а материально-энергетическая оценка в данном случае является достаточно существенной. И, напротив, при использовании процессов на основе высокопродуктивных рекомбинантных штаммов-продуцентов основная доля затрат относится не к сырью, а к созданию продуцента и поддержанию его жизнедеятельности, а также разработке специальных условий его культивирования.

В любом биотехнологическом процессе ключевую роль играют биологический агент, его природа и физиолого-технологические свойства. Для роста любого биообъекта нужны исходный жизнеспособный посевной материал, источники энергии и углерода, питательные вещества для синтеза биомассы, отсутствие ингибиторов роста, соответствующие физико-химические условия осуществления процесса ферментации (температура, рН среды культивирования, аэрация культуральной среды, подходящая гидродинамическая структура потоков в биореакторе и др.).

Одним из основных показателей, характеризующих интенсивность процесса ферментации, служит скорость роста продуцента (увеличение биомассы). Скорость роста организмов с бинарным делением в перемешиваемой среде (например, в аппарате периодического действия) будет пропорциональна концентрации x микробной биомассы:

$$\frac{dx}{dt} = \mu \cdot x,$$

где $\frac{dx}{dt}$ – скорость роста; x – концентрация биомассы; μ – коэффициент пропорциональности (удельная скорость роста).

Удельная скорость μ роста является одним из основных параметров, определяющих физиологическое состояние продуцента; ряд других параметров может быть выражен через этот показатель.

Продуктивность Π [г/(л · ч)] биотехнологического процесса характеризуется количеством продукта, получаемого в единице объема биореактора в единицу времени:

$$\Pi = q_S \cdot Y_{P/S} \cdot x,$$

где q_S – скорость потребления субстрата (метаболический коэффициент); $Y_{P/S}$ – выход продукта (экономический коэффициент); x – концентрация биомассы; P – продукт; S – субстрат.

Воздействовать на величину продуктивности можно путем изменения различных ее составляющих. Так, при повышении концентрации x биомассы могут возникнуть ограничения по массообменным характеристикам аппарата и лимитирующие состояния. Воздействовать на величину метаболического коэффициента культуры возможно только при условии глубокого знания взаимосвязей между физиолого-биохимическими характеристиками продуцента и переменными состояниями культуральной среды.

Выход продукта Y (экономический коэффициент) определяется как количество продукта, получаемого из данного $(s_0 - s)$ количества потребляемого субстрата:

$$Y = \frac{x}{s_0 - s},$$

где s и s_0 — конечная и исходная концентрации субстрата S .

Данный коэффициент Y выражает эффективность использования субстрата для получения целевого продукта и является важным показателем продуктивности P биотехнологического процесса, так как оказывает непосредственное влияние на себестоимость целевого биопродукта. Экономический коэффициент необходим для расчета и прогнозирования эффективности функционирования биотехнологического процесса в целом, а также используется в качестве параметра для контроля и управления ходом различных БТП и сопоставления их эффективности.

Конечная концентрация продукта должна планироваться с учетом продолжительности процесса и величины выхода продукта; при этом достижение конечной высокой концентрации продукта оправданно, когда затраты на выделение, очистку и концентрирование биопродукта высоки.

Удельные энергозатраты существенно изменяются в зависимости от направленности и схемы процесса ферментации, а также от условий подготовки сырья на предферментационной стадии и проведения постферментационной стадии; удельные энергозатраты также существенно зависят от типа выбираемого ферментационного оборудования.

Можно выделить непродуктивные затраты h энергии субстрата как затраты энергии, которые не участвуют в приросте продукта. В общем виде они выражаются через экономический коэффициент Y :

$$h = Y_{\text{эксп.}}/Y_{\text{теорет.}} < 1.$$

Непродуктивные затраты существенно влияют на эффективность и экономичность биотехнологического процесса; поэтому выявление причин этих дополнительных затрат энергетического субстрата очень важно. Первичная оценка эффективности биотехнологических процессов по перечисленным выше показателям проводится на стадии лабораторных разработок и испытаний и далее уточняется при масштабировании биотехнологии в опытно-промышленных условиях.

Далее приведены технические, экономические, эксплуатационные и социальные показатели эффективности функционирования биотехнологических процессов, которые применяются для системного анализа, математического моделирования и оптимизации режимов их функционирования, разработки и проектирования новых высокоэффективных биотехнологических производств.

Производительность (мощность) биотехнологического производства – количество получаемого биопродукта или количество перерабатываемого сырья в единицу времени:

$$П = \frac{G}{t},$$

где $П$ – производительность; G – количество получаемого биопродукта или перерабатываемого сырья за время t .

Обычно производительность выражают в количестве биопродукта за 1 ч или 1 сут, показывая максимальную возможность непрерывного биотехнологического процесса. Производительность за длительный срок работы – один год – учитывает плановые остановки производства, поэтому для связи часовой или суточной производительности с годовой принимают, что производство работает 8000 ч или 330 сут в году.

Степень превращения α определяется как отношение количества превращенного исходного вещества к количеству исходного вещества в питании аппарата (биореактора):

$$\alpha = \frac{n_0 - n}{n_0} = \frac{m_0 - m}{m_0},$$

где n , m – количество вещества в молях и массовых единицах соответственно; величины с индексом «0» относятся к начальному моменту превращения, а величины без индекса – к конечному.

Абсолютный выход η находится как отношение количества биопродукта m_p к количеству исходного вещества (субстрата) m_s , израсходованного для получения этого количества биопродукта:

$$\eta = \frac{m_p}{m_s}.$$

Относительный выход η' является мерой правильности проведения процесса. Он определяется как отношение количества продукта, которое можно получить теоретически из того же количества исходного вещества:

$$\eta' = \frac{\eta}{\eta_{\text{макс}}}.$$

Интенсивность процесса – количество перерабатываемого сырья или образующегося биопродукта в единице объема аппарата (биореактора).

Производительность аппарата P_A – это количество продукта, полученного в аппарате (биореакторе) в единицу времени:

$$P_A = G\eta,$$

где G – количество продукта, получаемого в биореакторе в единицу времени; η – выход биопродукта.

Удельные капитальные затраты – затраты на оборудование, отнесенные к единице его производительности. Удельные капитальные затраты характеризуют эффективность организации биотехнологического процесса в отдельных аппаратах и в биотехнологическом производстве в целом, совершенство используемых конструкций биореакторов.

Качество биопродукта определяет его потребительские свойства и товарную ценность. Показатель индивидуален для каждого биопродукта. Он может включать содержание (состав и количество) примесей, физические и биохимические показатели, внешний вид, цвет, запах и прочее. Определяется нормативными документами (ГОСТ – государственный отраслевой стандарт, технические условия, сертификат качества).

Экономические показатели определяют экономическую эффективность биотехнологического производства.

Себестоимость продукции – суммарные затраты на получение единицы биопродукта. Себестоимость складывается из следующих расходов: затраты на сырье, энергию, вспомогательные материалы; единовременные капитальные затраты, распределяемые планомерно на срок эксплуатации оборудования; затраты на оплату труда работников. Общая структура себестоимости C :

$$C = \sum(C_i G_{\text{сэм},i} + E Z_k + Z_T) / G_{\text{бп}},$$

где C_i и $G_{\text{сэм},i}$ – цена и количество израсходованного сырья, энергии, материалов на производство продукта в количестве $G_{\text{бп}}$; Z_k – капитальные затраты; E – коэффициент окупаемости капитальных затрат (их доля, отнесенная на время производства количества продукта $G_{\text{бп}}$; в среднем для биохимических производств $E = 0,15$ в расчете на годовую производительность); Z_T – оплата труда. Себестоимость имеет денежное выражение.

Экономические показатели рассчитываются на основе технических показателей. Некоторые из них (производительность, расходные коэффициенты, удельные капитальные затраты) можно представить в денежном выражении. Эти экономические показатели называют технико-экономическими.

Эксплуатационные показатели характеризуют изменения, возникающие в биотехнологических процессах на стадиях производства во время их эксплуатации при появлении отклонений от регламентированных условий эксплуатации БТП.

Надежность характеризуют средним временем безаварийной работы либо числом аварийных остановов оборудования или производства в целом за определенный отрезок времени. Этот показатель зависит от качества используемого технологического оборудования и правильности его эксплуатации.

Чувствительность к нарушениям режима и изменению условий эксплуатации определяется отношением изменения показателей эффективности функционирования биотехнологических процессов к этим отклонениям.

Управляемость и регулируемость характеризуют возможность поддерживать показатели биотехнологических процессов в допустимых пределах, определяют величину допустимых изменений условий осуществления процесса, управляющие параметры и их взаимовлияние.

Социальные показатели определяют комфортность работы в биотехнологическом производстве и его влияние на окружающую среду.

Безвредность обслуживания следует из сопоставления санитарно-гигиенических условий для обслуживающего персонала с соответствующими нормами по загазованности, запыленности, уровню шума и др.

Степень автоматизации и механизации определяет долю ручного и тяжелого труда при эксплуатации производства.

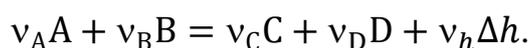
Экологическая безопасность – степень воздействия биотехнологического производства на окружающую среду и экологическую обстановку в регионе.

Иногда можно применить точно такую же технологию, какую используют в лабораторных исследованиях. Однако чаще всего лабораторный метод слишком дорог и нужно искать или разрабатывать новый, более дешевый метод получения требуемого биопродукта.

3.2. СТЕХИОМЕТРИЧЕСКИЙ БАЛАНС, УРАВНЕНИЯ ДЛЯ СТЕХИОМЕТРИЧЕСКИХ РАСЧЕТОВ. ПРИМЕРЫ

В химии вещества вступают во взаимодействие в определенных соотношениях, которые находят отражение в уравнениях химических реакций. Из них определяют изменение состава реагирующей смеси при протекании реакции, т.е. результат химического превращения.

Стехиометрические уравнения показывают, в каких соотношениях вещества вступают в химическое взаимодействие. Так, если в результате взаимодействия реагентов А и В получаются продукты С и D и выделяется тепло Δh , то можно записать с использованием стехиометрических коэффициентов $\nu_A, \nu_B, \nu_C, \nu_D$ следующее уравнение стехиометрического баланса реакции:



Коэффициенты $\nu_A, \nu_B, \nu_C, \nu_D$ подбирают таким образом, чтобы выразить фундаментальный закон природы – закон сохранения материи. Количество атомов любого элемента, входящего в составы веществ А, В, С и D, не должно изменяться в процессе превращения веществ.

В биологии также действует закон сохранения материи. В ходе биологических превращений в клетке перегруппировываются атомы углерода, азота, фосфора, водорода, кислорода и других жизненно важных химических элементов, но общее количество каждого из этих элементов, включенное в структуры клетки, в точности равно количеству, взятому клеткой из питательной среды.

Процессы ферментации можно представить как систему, в которой происходит преобразование исходных реагентов (субстратов) в продукты (клетки и продукты метаболизма). В аэробных процессах в число субстратов входит кислород O_2 , а в число продуктов – диоксид углерода CO_2 . Другие субстраты и продукты в разных процессах различные, но стехиометрические соотношения между ними должны соблюдаться.

По аналогии со стехиометрией в химии можно записать стехиометрическое уравнение для микробиологического процесса [3]:

$v_C[\text{углеродный субстрат}] + v_N[\text{азотный субстрат}] + v_P[\text{фосфорный субстрат}] + v_{O_2}[O_2] + \dots = v_X[\text{биомасса}] + v_P[\text{продукт метаболизма}] + v_{CO_2}[CO_2] + \dots + v_{H_2O}[H_2O] + v_h \Delta h.$

Разница между «истинной» стехиометрией и микробиологической в том, что наряду с веществами, имеющими определенную химическую формулу, в нее входит биомасса, состоящая из множества индивидуальных веществ – белков, нуклеиновых кислот, липидов и т.д., многие из которых даже не идентифицированы. Все эти вещества записывают целой совокупностью, «связкой». Отсюда следует, что какой-то существующей в природе истинной формулы биомассы нет; интересно, что «молекулярная масса» для каждой из этих формул будет 100 или около того (неучтенной золой можно пренебречь).

В стехиометрических расчетах обычно пренебрегают элементами, составляющими малую часть состава биомассы; часто в формуле отбрасывают фосфор и серу, а иногда и азот [3].

При этом оказывается удобным принимать такую «молекулярную массу», чтобы в ней оказался один атом (грамм-атом) углерода; для этого в ранее вычисленных формулах биомассы достаточно все индексы при атомах разделить на индекс при атоме углерода. Такой условный моль, приведенный к атому углерода, называют С-моль. Для «усредненной биомассы» часто используется формула, предложенная Стоутхамером, для С-моля $(CH_{1,8}O_{0,5}N_{0,2})$ с молекулярной массой $M = 1 \cdot 12 + 1,8 \cdot 1 + 0,5 \cdot 16 + 0,2 \cdot 14 = 24,6$. Имея брутто-формулу биомассы, можно проводить стехиометрические расчеты в биохимических превращениях.

Расчет стехиометрического выхода на углеродный субстрат.
Обычно наибольший интерес с учетом выхода составляет самый дорогой

субстрат – углеродный. В качестве углеродного субстрата могут использоваться разные вещества: глюкоза, крахмал, этанол, метанол, парафины нефти, метан и др. Эти вещества можно также пересчитать на С-моль. Например, для глюкозы с формулой $C_6H_{12}O_6$ С-моль будет иметь формулу CH_2O , для крахмала с формулой $(C_6H_{12}O_6)_n$ вид С-моля не изменится. Рассчитав молекулярную массу С-моля субстрата и сравнив ее с массой С-моля биомассы, можно найти теоретический выход биомассы, если весь углерод субстрата перейдет в углерод биомассы. При этом не учитывается тот факт, что в клетке одновременно протекают два процесса [3]:

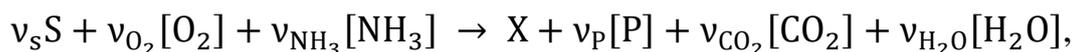
1) *катаболизм* – преобразование субстратов в элементарные биохимические соединения, в том числе и содержащие энергию, которые в дальнейшем используются при биосинтезе. Есть здесь и «отходы» – диоксид углерода, тепло – то, что напрямую не идет для синтеза биомассы и других продуктов;

2) *анаболизм* – построение макромолекулярных соединений (белков, нуклеиновых кислот, компонентов клеточной стенки), а также продуктов метаболизма с использованием универсальных биохимических «кирпичей».

При катаболизме энергия выделяется, при анаболизме – расходуется. Затраты энергии (да и материи – молекул, атомов) на анаболизм никогда не бывают равны разности энергетических уровней исходных и конечных веществ. Прежде всего это вытекает из второго закона термодинамики (нужна энергия для на осуществление биохимических превращений). С другой стороны, биохимические механизмы не идеальны, часть энергии и вещества расходуется на побочные продукты и тепло. Эти потери вещества учитываются реальными стехиометрическими (экономическими)

коэффициентами, которые как раз и определяются из эксперимента – сравнением кривых изменения концентрации биомассы, субстрата и продуктов.

При этом общее стехиометрическое соотношение для объединенного процесса, включающего катаболизм и анаболизм, может быть записано в следующем виде [3]:



здесь биомасса выражена в С-молях, а субстрат – в обычных молях.

Рассмотрим теперь вопрос о нахождении стехиометрических коэффициентов, указанных в объединенном стехиометрическом уравнении, если известны из эксперимента фактические данные по потреблению субстрата и образованию продуктов биохимического взаимодействия. Необходимо знать по меньшей мере количество израсходованного субстрата (в реальных мерах – граммы, килограммы и т.д.) и соответствующие данные по количеству образовавшейся биомассы микроорганизмов или продукта метаболизма – соответственно G_S , G_X и G_P (в пересчете на весь аппарат), или для периодического процесса приращения их концентраций – соответственно ΔS , ΔX и ΔP .

Разделив эти величины на молекулярные массы соответственно субстрата, биомассы или продукта, получаем для этих веществ количества г-молей (или кг-молей), которые и являются основой для последующих стехиометрических расчетов. Первый из этих расчетов – приведение всех количеств к одному С-молю биомассы.

Условимся находить такие стехиометрические коэффициенты, которые дают стехиометрический коэффициент при биомассе (выраженной в С-молях), равный 1, как это записано в стехиометрическом уравнении. Таким образом, сразу находим стехиометрические коэффициенты v_S и v_P .

Для определения коэффициентов по другим веществам (O_2 , CO_2 , NH_3 и H_2O) необходимо составить и решить систему уравнений элементного баланса, имея в виду, что каждое вещество (субстрат, биомасса, продукт, вода, кислород, диоксид углерода) может быть описано общей элементной формулой $C_m H_n O_p N_q$.

При этом индексы в формуле субстрата будем обозначать как m_S , n_S , p_S , q_S , а в формуле продукта – соответственно m_P , n_P , p_P , q_P ; для биомассы соответствующие индексы будут следующими $m_X = 1$; $n_X = 1,8$; $p_X = 0,5$; $q_X = 0,2$. Тогда уравнения элементного баланса можно записать следующим образом:

- по углероду: $v_S m_S = 1 + v_P m_P + v_{CO_2}$;
- по водороду: $v_S n_S + 3 \cdot v_{NH_3} = 1,8 + v_P n_P + 2 \cdot v_{H_2O}$;
- по кислороду: $v_S p_S + 2 \cdot v_{O_2} = 0,5 + v_P p_P + 2 \cdot v_{CO_2} + v_{H_2O}$;
- по азоту: $v_S q_S + v_{NH_3} = 0,2 + v_P q_P$.

Решение составленной системы уравнений (с учетом ранее найденных коэффициентов v_S и v_P) относительно v_{O_2} , v_{NH_3} , v_{CO_2} , v_{H_2O} позволит найти все стехиометрические коэффициенты для данного процесса ферментации.

Стехиометрический расчет по описанной методике для конкретного процесса получения лимонной кислоты приведен в учебном пособии [13].

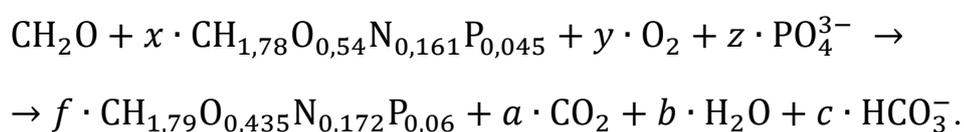
В настоящем пособии рассмотрим пример составления и расчета стехиометрического и энергетического балансов процесса ферментации, осуществляемого по периодической технологии глубинного культивирования на глюкозе биомассы бактерий *Bac. thuringiensis var. kurstaki* [21].

Пример 3.1. Стехиометрический расчет проводится при следующих исходных данных:

- количество G культуральной жидкости, получаемой с одной операции ферментации $G = 4050$ кг/ферм;
- экономический коэффициент $Y_{X/S} = 0,484$ кг/кг;
- конечная концентрация биомассы $c_X^{\text{кон}} = 15,74$ кг/м³;
- элементный молярный состав биомассы $\text{CH}_{1,79}\text{O}_{0,435}\text{N}_{0,172}\text{P}_{0,06}$;
- элементный молярный состав дрожжевого экстракта $\text{CH}_{1,78}\text{O}_{0,54}\text{N}_{0,161}\text{P}_{0,045}$.

Требуется составить уравнение стехиометрического баланса процесса ферментации; определить стехиометрические коэффициенты; рассчитать начальные концентрации компонентов питания (глюкозы, дрожжевого экстракта и минеральной соли фосфора), массовый и объемный расходы 30%-ного раствора глюкозы, 40%-ных растворов дрожжевого экстракта и гидрофосфата калия на одну операцию ферментации; количество образующейся биомассы за одну операцию ферментации, расходные коэффициенты по кислороду и углекислому газу, объемные расходы входящего в ферментер воздуха и выходящего из него газа, объемы потребленного кислорода и образовавшегося углекислого газа за одну операцию ферментации; объемный расход технологической воды, который необходимо добавить при приготовлении питательной среды на одну операцию ферментации.

Запишем уравнение стехиометрического баланса процесса ферментации [21]:



Зная из исходных данных значение экономического коэффициента $Y_{X/S} = 0,484$ кг/кг, сразу находим стехиометрический коэффициент f перед формулой биомассы в стехиометрическом уравнении по формуле

$$f = Y_{X/S} \cdot M(\text{CH}_2\text{O}) / M(\text{H}_{1,79}\text{O}_{0,435}\text{N}_{0,172}\text{P}_{0,06}) = 0,484 \frac{30}{25,02} = 0,58.$$

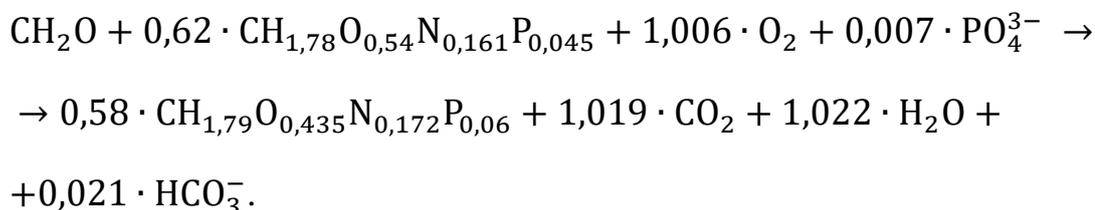
Для определения остальных неизвестных стехиометрических коэффициентов составляют систему балансовых уравнений:

- по углероду: $1 + x = (f = 0,58) + a + c$;
- по водороду: $2 + 1,78x = 1,79 \cdot 0,58 + 2b + c$;
- по кислороду: $1 + 0,54x + 2y + 4z = 0,435 \cdot 0,58 + 2a + b + 3c$;
- по азоту: $0,161x = 0,172 \cdot 0,58$;
- по фосфору: $0,045x + z = 0,06 \cdot 0,58$;
- по зарядам: $3z = c$.

Решая систему балансовых уравнений, определяют искомые стехиометрические коэффициенты:

$$x = 0,62; z = 0,007; c = 0,021; a = 1,019; b = 1,022; y = 1,006.$$

В результате получают стехиометрическое уравнение реакции в следующем виде:



Полученное стехиометрическое уравнение реакции будем использовать для определения коэффициентов пересчета основного субстрата (глюкозы), компонентов питания (дрожжевого экстракта, фосфора), кислорода, углекислого газа и их начальных концентраций.

Начальные концентрации компонентов питания, помимо субстрата, определяют по формуле

$$c_i^0 = c_X^{\text{кон}} \cdot \beta_X^i + c_i^{\text{кон}},$$

где $c_X^{\text{кон}}$ – конечная концентрация биомассы в микробной суспензии; β_X^i – коэффициент пересчета для компонента питания i , рассчитываемый в соответствии со стехиометрическим уравнением реакции; $c_i^{\text{кон}}$ – остаточная концентрация компонента питания i по окончании процесса ферментации. Если задается степень потребления η_i элементов питания, то их начальные концентрации следует рассчитывать по следующей формуле:

$$c_i^0 = c_X^{\text{кон}} \frac{\beta_X^i}{1-\eta_i}.$$

Пусть в соответствии с заданными условиями и составленным стехиометрическим уравнением реакции в питательную среду будем добавлять дрожжевой экстракт и минеральную соль фосфора; при этом примем, что дрожжевой экстракт потребляется из среды полностью, а остаточное содержание фосфора в среде составляет $c_P^{\text{кон}} = 0,05 \text{ кг/м}^3$. Тогда при заданной конечной концентрации биомассы $c_X^{\text{кон}} = 15,74 \text{ кг/м}^3$ для дрожжевого экстракта получают следующий коэффициент пересчета:

$$\beta_X^{\text{ДЭ}} = \frac{0,62 \cdot M(\text{ДЭ})}{0,58 \cdot M(\text{X})} = \frac{0,62 \cdot 26,069}{0,58 \cdot 25,018} = 1,114.$$

Так как $c_{\text{ДЭ}}^{\text{кон}} = 0,0 \text{ кг/м}^3$, то

$$c_{\text{ДЭ}}^0 = 15,74 \cdot 1,114 + 0,0 = 17,534 \text{ кг/м}^3.$$

Аналогично определяют начальную концентрацию другого компонента питания – фосфора:

$$\beta_X^{\text{P}} = \frac{0,007 \cdot M(\text{P})}{0,58 \cdot M(\text{X})} = \frac{0,007 \cdot 31}{0,58 \cdot 25,018} = 0,015.$$

Так как $c_p^{\text{KOH}} = 0,05 \text{ кг/м}^3$, то

$$c_p^0 = 15,74 \cdot 0,015 + 0,05 = 0,286 \text{ кг/м}^3.$$

В качестве минерального источника фосфора будем использовать гидрофосфат K_2HPO_4 , который одновременно является источником калия. В соответствии с приведенным выше уравнением стехиометрического баланса для приготовления питательной среды берут дрожжевой экстракт и гидрофосфат калия K_2HPO_4 . Считают, что их готовят, стерилизуют и хранят в виде 40%-ных растворов, а плотность каждого из них составляет $\rho_{\text{дэ}} = \rho_{\text{K}_2\text{HPO}_4} = 1200 \text{ кг/м}^3$. Тогда на одну операцию ферментации необходимы следующие количества 40%-ных растворов дрожжевого экстракта $G_{\text{дэ}}$ и гидрофосфата калия $G_{\text{р}}$: $G_{\text{дэ}} = c_{\text{дэ}}^0 \cdot W_0$; $G_{\text{р}} = c_{\text{р}}^0 \cdot W_0$, где W_0 – объемный расход культуральной жидкости на одну ферментацию.

Объемный расход W_0 культуральной жидкости на одну операцию ферментации при плотности $\rho_{\text{сусп}} = 1020 \text{ кг/м}^3$ рассчитают по формуле

$$W_0 = G / \rho_{\text{сусп}} = 4050 / 1020 = 3,97 \text{ м}^3 / \text{ферм.}$$

Тогда необходимые количества дрожжевого экстракта и фосфора на одну операцию ферментации составят:

$$G_{\text{р-ра дэ}} = \frac{c_{\text{дэ}}^0 \cdot W_0}{0,4} = \frac{17,534 \cdot 3,97}{0,4} = 173,688 \text{ кг/ферм.}$$

$$G_{\text{р-ра K}_2\text{HPO}_4} = \frac{c_{\text{р}}^0 \cdot W_0}{0,4 \cdot 0,176} = \frac{0,286 \cdot 3,97}{0,4 \cdot 0,176} = 16,128 \text{ кг/ферм.}$$

где 0,076 – массовая доля фосфора в соли K_2HPO_4 .

Далее определяют расходный коэффициент α_X^S по основному субстрату S (глюкозе):

$$\alpha_X^S = \frac{1}{Y_{X/S}} = \frac{1}{0,484} = 2,066.$$

Примем степень утилизации η_S основного субстрата (глюкозы) равной $\eta_S = 0,9$ и определим начальную концентрацию глюкозы:

$$c_X^{\text{КОН}} = Y_{X/S}(c_S^0 - c_S^{\text{КОН}}); c_S^{\text{КОН}} = c_S^0(1 - \eta_S) = 0,1c_S^0 \rightarrow c_S^0 = \frac{c_X^{\text{КОН}}}{0,1 \cdot Y_{X/S}};$$

$$c_S^0 = \frac{15,74}{0,9 \cdot 0,484} = 36,134 \text{ кг/м}^3.$$

Массовый расход основного субстрата G_S на одну операцию ферментации составит

$$G_S = c_S^0 \cdot W_0 = 36,134 \cdot 3,97 = 143,452 \text{ кг/ферм.}$$

Глюкозу вносят и стерилизуют отдельно в виде 30%-ного раствора плотностью $\rho_S = 1124,7 \text{ кг/м}^3$; следовательно, на одну операцию ферментации необходим следующий объем раствора глюкозы:

$$W_S = G_S / (\rho_S \cdot 0,3) = 143,452 / (1124,7 \cdot 0,3) = 0,425 \text{ м}^3/\text{ферм.}$$

Далее определяют объемные расходы W_i вспомогательных растворов солей на одну операцию ферментации:

$$W_i = G_i / \rho_i,$$

где G_i – массовый расход раствора, содержащего необходимый компонент питания, на одну операцию ферментации, кг; ρ_i – плотность раствора, содержащего необходимый компонент питания, на одну операцию ферментации, кг/м³.

Тогда объемные расходы компонентов питания (растворов дрожжевого экстракта и гидрофосфата калия) на одну операцию ферментации составят

$$W_{\text{р-ра ДЭ}} = 173,688 / 1200 = 0,145 \text{ м}^3/\text{ферм.};$$

$$W_{\text{р-ра K}_2\text{HPO}_4} = 16,128 / 1200 = 0,013 \text{ м}^3/\text{ферм.}$$

Итого:

$$\begin{aligned} W_{\Sigma i} &= W_S + W_{\text{р-ра ДЭ}} + W_{\text{р-ра K}_2\text{HPO}_4} = 0,425 + 0,145 + 0,013 = \\ &= 0,583 \text{ м}^3/\text{ферм.} \end{aligned}$$

Количество требуемого воздуха рассчитывают, принимая степень потребления η_{O_2} кислорода равной $\eta_{O_2} = 30\%$ от исходного содержания в подаваемом воздухе на аэрацию культуральной среды в аппарате.

Расходные коэффициенты по кислороду и углекислому газу рассчитывают по формулам:

$$\alpha_X^{O_2} = \frac{1,006 \cdot M(O_2)}{0,58 \cdot M(X)} = \frac{1,006 \cdot 32}{0,58 \cdot 25,018} = 2,219 \text{ кг/кг};$$

$$\alpha_X^{CO_2} = \frac{1,019 \cdot M(CO_2)}{0,58 \cdot M(X)} = \frac{1,019 \cdot 44}{0,58 \cdot 25,018} = 3,09 \text{ кг/кг}.$$

Количество (массу) G_X образующейся биомассы за одну операцию ферментации определяют следующим образом:

$$G_X = c_X^{кон} \cdot W_0 = 15,74 \cdot 3,97 = 62,488 \text{ кг/ферм.}$$

Тогда объемный расход $W_{возд}$ входящего в аппарат воздуха с плотностью $\rho_{O_2} = 1,43 \text{ кг/м}^3$, долей кислорода $v_{O_2} = 0,21$ и степенью $\eta_{O_2} = 30\%$ потребления кислорода составит

$$W_{возд}^{in} = \frac{\alpha_X^{O_2} \cdot G_X}{\eta_{O_2} \cdot v_{O_2} \cdot \rho_{O_2}} = \frac{2,219 \cdot 62,488}{0,3 \cdot 0,21 \cdot 1,43} = 1539,137 \text{ м}^3/\text{ферм.}$$

Объемный расход $W_{газа}^{out}$ выходящего газа при плотности углекислого газа $\rho_{CO_2} = 1,98 \text{ кг/м}^3$ рассчитывают по формуле

$$\begin{aligned} W_{газа}^{out} &= W_{возд}^{in} - \left(\frac{\alpha_X^{O_2} \cdot G_X}{\rho_{O_2}} \right) + \left(\frac{\alpha_X^{CO_2} \cdot G_X}{\rho_{CO_2}} \right) = \\ &= 1539,137 - \frac{2,219 \cdot 62,488}{1,43} + \frac{3,09 \cdot 62,488}{1,98} = 1539,691 \text{ м}^3/\text{ферм.} \end{aligned}$$

При этом объемные доли кислорода $v_{O_2}^{out}$ и углекислого газа $v_{CO_2}^{out}$ в выходящем из аппарата газе составят:

$$\begin{aligned} v_{O_2}^{out} &= \frac{W_{возд}^{in} \cdot v_{O_2} \cdot (1 - \eta_{O_2})}{W_{газа}^{out}} = \frac{1539,137 \cdot 0,21 \cdot (1 - 0,3)}{1539,691} = \\ &= 0,147 = 14,7\%; \end{aligned}$$

$$v_{\text{CO}_2}^{\text{out}} = \frac{\alpha_X^{\text{CO}_2} \cdot G_X}{W_{\text{газа}}^{\text{out}} \cdot \rho_{\text{CO}_2}} = \frac{3,09 \cdot 62,488}{1539,691 \cdot 1,98} = 0,0633 = 6,33\%.$$

Далее рассчитывают объемы потребленного кислорода $V(\text{O}_2)$ и образовавшегося углекислого газа $V(\text{CO}_2)$ за одну операцию ферментации:

$$V(\text{O}_2) = W_{\text{возд.}}^{\text{in}} \cdot v_{\text{O}_2} \cdot \eta_{\text{O}_2} = 1539,137 \cdot 0,21 \cdot 0,3 = 96,97 \text{ м}^3/\text{ферм.},$$

$$V(\text{CO}_2) = v_{\text{CO}_2}^{\text{out}} \cdot W_{\text{газа}}^{\text{out}} = 0,0633 \cdot 1539,691 = 97,462 \text{ м}^3/\text{ферм.}$$

Наконец, определяют объемный расход технологической воды, который необходимо добавить при приготовлении питательной среды:

$$W_{\text{H}_2\text{O}} = \frac{\rho \cdot W_0 + \rho_{\text{газа}} (W_{\text{газа}}^{\text{out}} - W_{\text{возд.}}^{\text{in}}) - \rho_S \cdot W_S - \rho_{\text{дэ}} (W_{\text{р-ра дэ}} + W_{\text{р-ра K}_2\text{HPO}_4})}{\rho_{\text{H}_2\text{O}}} =$$

$$= \frac{1020 \cdot 3,97 + 1,29 \cdot (1539,691 - 1539,137) - 1124,7 \cdot 0,425 - 1200 \cdot (0,145 + 0,013)}{1000} = 3,383 \text{ м}^3/\text{ферм.},$$

где плотность $\rho_{\text{газа}}$ газа, выходящего из ферментера, принимается равной $\rho_{\text{газа}} = 1,29 \text{ кг/м}^3$.

Таким образом, в соответствии с исходными данными и принятым уравнением стехиометрического баланса процесса при заданной конечной концентрации $c_X^{\text{кон}} = 15,74 \text{ кг/м}^3$ биомассы в микробной суспензии, достигаемой в конце операции ферментации, определены:

– начальные концентрации основного субстрата S (глюкозы $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) $c_S^0 = 36,134 \text{ кг/м}^3$ и компонентов питания (дрожжевого экстракта и минерального источника фосфора P – гидрофосфата калия K_2HPO_4) $c_{\text{дэ}}^0 = 17,534 \text{ кг/м}^3$, $c_{\text{р}}^0 = 0,286 \text{ кг/м}^3$ соответственно;

– количества (массовые и объемные расходы на одну операцию ферментации) основного субстрата S (глюкозы) в виде 30%-ного раствора и компонентов питания (дрожжевого экстракта и гидрофосфата калия) в виде 40%-ных растворов;

– количество воздуха, подаваемого в аппарат на аэрацию среды, при степени потребления кислорода $\eta_{O_2} = 30\%$, объемы потребленного кислорода $V(O_2)$ и образовавшегося углекислого газа $V(CO_2)$ за одну операцию ферментации;

– объемный расход $W_{H_2O} = 3,383 \text{ м}^3/\text{ферм.}$ технологической воды для приготовления питательной среды.

Для конструирования биореактора (ферментера) необходимо также составление и расчет теплового эффекта биохимической реакции и энергетического баланса процесса ферментации.

3.3. ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ РАСЧЕТЫ ПРИ ПРОЕКТИРОВАНИИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ. ПРИМЕРЫ

Термодинамические расчеты дают возможность решать следующие задачи, существенные с оценкой биохимической концепции метода биотехнологического производства и проектирования технологического процесса, а именно:

1) расчет теплового эффекта и теоретической температуры реакции, константы химического равновесия и энергии Гиббса, необходимых для составления уравнения теплового баланса и определения коэффициентов расхода энергии;

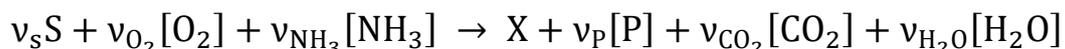
2) расчет максимальных (теоретически возможных) температур осуществления технологических процессов;

3) расчет максимальных, теоретически достижимых степени превращения исходного реагента и выхода продукта биохимической реакции;

4) предварительный выбор оптимальных условий осуществления процесса (температуры, давления, степени превращения) биохимической реакции.

Следует отметить, что выбор оптимальных условий проведения биохимического процесса, основанный на термодинамических расчетах, предварительный, поскольку в дальнейшем необходимо учитывать фактор скорости протекания биохимического процесса. Может так случиться, что в условиях, оптимальных с термодинамической точки зрения, биохимический процесс будет проходить слишком медленно, и тогда нужно несколько снизить выход продукта реакции, чтобы добиться высокой скорости превращения исходного реагента.

В стехиометрическом уравнении, если произвести расчеты степени



восстановленности веществ, указанных слева (субстратов) и справа (продуктов), часто получается все же определенная разница в пользу левой части равенства, что говорит о том, что энергия в субстрате больше энергии, заключенной в биомассе и продуктах метаболизма. Именно эта разность энергий и преобразуется в тепловыделения, имеющие место в ходе биохимического процесса [4]. Определение величины тепловыделений является важной задачей, поскольку ее решение требуется для расчета биореакторов. Информацию о двух важных вопросах, необходимых для расчета биореакторов, дает химическая термодинамика: она позволяет определить тепловой эффект реакции и максимально достижимый выход продуктов реакции [14].

Химическая термодинамика базируется на трех основных законах общей термодинамики и применяет их для изучения биохимических явлений:

1) закон сохранения энергии, позволяющий рассчитывать тепловые балансы различных процессов, в том числе и биохимических реакций;

2) закон о возможности протекания самопроизвольных процессов, на основании которого можно предсказывать внешние условия, при которых возможен процесс и направление его развития;

3) закон об абсолютном значении энтропии, позволяющий вычислять константу равновесия биохимической реакции, следовательно, и максимально возможный выход продукта биохимической реакции, не прибегая к опытному ее определению.

Термодинамическое описание происходящих биохимических процессов начинается с описания системы, в которой протекает биохимическая реакция и внешних условий – окружающей среды, в которой осуществляется биохимическое превращение. Любая, в том числе и биохимическая, реакция сопровождается изменением функций состояния системы – внутренней энергии ΔU , энтропии ΔS , энтальпии ΔH , определяющихся переменными состояния системы, такими как объем V , давление P , температура T , число молей компонентов N_k биохимической реакции.

Если термодинамическая система изолирована, то ее состояние необратимо эволюционирует к инвариантному во времени состоянию, в котором в системе не наблюдается ни физических, ни химических изменений. Такое состояние называется термодинамическим равновесием; равновесная термодинамика не включает рассмотрение необратимых процессов, а все преобразования материи подаются как идеализированные бесконечно медленные обратимые процессы.

Для закрытой системы энергию, которой она обменивается с окружающей средой, можно разделить на две части: на количество теплоты δQ и количество механической энергии δA .

Количество теплоты $Q_{\text{бхр}}$, выделяющееся или поглощающееся при протекании биохимической реакции, называется тепловым эффектом реакции. Функция состояния реакционной системы $H = U + pV$ называется энтальпией H (здесь U – внутренняя энергия системы), а теплота $Q_{\text{бхр}}$, выделяющаяся в ходе протекания биохимической реакции, рассчитывается как $Q_{\text{бхр}} = H_2 - H_1 = \Delta H$ – разность конечного H_2 и начального H_1 значений функции состояния системы. Другими словами, энергия системы, которая может быть превращена в тепло при постоянном давлении, называется энтальпией H ; абсолютное значение энтальпии измерить невозможно, но можно измерить ее изменение ΔH . С точки зрения равновесной термодинамики, тепловой эффект биохимической реакции, протекающей при постоянном давлении, равен изменению энтальпии системы: $Q_{\text{бхр}} = \Delta H$, а для реакции, протекающей при постоянном объеме, тепловой эффект равен изменению внутренней энергии системы: $Q_{\text{бхр}} = \Delta U$. Реакции, протекающие с выделением теплоты, называются экзотермическими, в них запас энергии реакционной системы уменьшается ($\Delta H_{\text{бхр}} < 0$); реакции, протекающие с поглощением теплоты, называются эндотермическими, в этих реакциях запас энергии реакционной системы увеличивается ($\Delta H_{\text{бхр}} > 0$).

Реальные биохимические процессы в опытно-промышленных или в лабораторных условиях в большинстве случаев протекают при постоянном давлении, т.е. при $P = \text{const}$ (главным образом при атмосферном давлении). Взаимосвязь изобарного и изохорного тепловых эффектов

реакции описывается уравнением $\Delta H = \Delta U + P\Delta V$; если реакция протекает с участием только жидких и твердых веществ, то изменение объема в такой системе близко к нулю ($\Delta V = 0$); в таких процессах тепловой эффект реакции при постоянном давлении практически равен тепловому эффекту при постоянном объеме ($\Delta H = \Delta U$).

Если в реакции участвуют газообразные вещества, подчиняющиеся законам идеальных газов, то при постоянных температуре и давлении имеем зависимость: $p\Delta V = \Delta\nu \cdot RT$, где $\Delta\nu$ – изменение числа молей газообразных веществ в ходе реакции, равное разности между суммой числа молей продуктов реакции и суммой числа молей исходных реагентов.

Таким образом, для реакций, протекающих с участием идеальных газов, соотношение между ΔH и ΔU можно выразить уравнением вида

$$\Delta H = \Delta U + \Delta\nu \cdot RT.$$

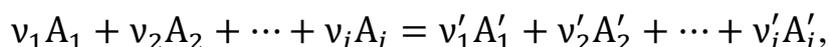
Важными термодинамическими характеристиками, непосредственно связанными с направлением ее протекания и величиной константы равновесия, являются: изменение *энергии Гиббса* (изобарно-изотермического потенциала) ΔG биохимических реакций, протекающих при постоянных давлении и температуре, и *энергии Гельмгольца* (изохорно-изотермического потенциала) ΔF для реакций, протекающих при постоянных объеме и температуре. При равновесии изменения энергий Гиббса и Гельмгольца равны нулю, т.е. $\Delta G = 0$ и $\Delta F = 0$.

Изменение энергий Гиббса и Гельмгольца характеризуют максимальную работу процесса и равно разности между соответствующими тепловым эффектом и связанной энергией системы ($T\Delta S$):

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S, \Delta F = \Delta U - T\Delta S,$$

где ΔS – изменение энтропии при протекании биохимической реакции.

Стехиометрическое уравнение биохимической реакции в общем виде записывается следующим образом:



где A_i – химический символ участников реакции; v_i – соответствующий стехиометрический коэффициент. Тогда изменение какой-либо термодинамической характеристики биохимической реакции ΔY (ΔH , ΔS , ΔG и т. д.) можно рассчитать с помощью обобщенного уравнения:

$$\Delta Y = \sum_{j=1}^i v'_j Y'_j - \sum_{j=1}^i v_j Y_j,$$

где Y'_j , Y_j – мольные значения термодинамических функций веществ, относящихся к продуктам реакции и исходным реагентам соответственно. Биохимическая реакция через некоторое время после ее начала приходит в равновесное состояние; в этом состоянии состав реакционной системы (концентрации или парциальные давления исходных реагентов и продуктов) со временем не изменяется. Равновесное состояние биохимической реакции характеризуется константой равновесия; практическое значение имеют константы равновесия, выраженные через парциальное давление K_p или концентрации K_c .

Если все вещества (исходные и конечные), участвующие в биохимические реакции, находятся в стандартном состоянии (температура 25°C (298 K) и давление 1 атм), то в этом случае уравнение изотермы реакции ($T = \text{const}$, $P = \text{const}$) будет следующим:

$$\Delta G_T^\circ = -RT \ln K_p,$$

где ΔG_T° – стандартное изменение энергии Гиббса. Из последнего уравнения можно выразить $\ln K_p$ как $\ln K_p = -\Delta G_T^\circ/RT$; соответственно для процесса, протекающего при $V = \text{const}$ и $T = \text{const}$, $-\ln K_c = -\Delta F_T^\circ/RT$.

Для неидеальных (реальных) систем концентрации участников биохимической реакции необходимо заменить активностью, а парциальные давления – летучестью.

Знание константы равновесия химической реакции позволяет рассчитать количество веществ, вступающих в реакцию и образующихся в ходе ее протекания. Обычно степень полноты протекания биохимической реакции, ее завершенности характеризуется степенью превращения одного из реагирующих веществ; степень превращения является своеобразным коэффициентом полезного действия биохимической реакции. Если биохимическая реакция заключается в распаде какого-либо вещества, степень превращения именуется как *степень диссоциации*.

Степень превращения зависит от константы равновесия и от соотношения между исходными количествами реагентов; конкретный вид связи между этими величинами определяется стехиометрией биохимической реакции.

Расчет тепловых эффектов биохимических реакций базируется на основном законе термохимии, сформулированном в 1840 году Г. И. Гессом. Тепловой эффект реакции (при $P = \text{const}$ и $V = \text{const}$) не зависит от промежуточных стадий биохимической реакции, а определяется только начальным и конечным состояниями реакционной системы, т.е. состояниями исходных реагентов и продуктов реакции. Закон Гесса играет важную роль в химической термодинамике, так как позволяет, зная тепловые эффекты одних реакций, рассчитывать тепловые эффекты других реакций, которые протекают с участием тех же соединений, что и первые. Исходными данными для расчета стандартного теплового эффекта биохимической реакции служат стандартные теплоты образования и сгорания веществ, участвующих в биохимической реакции.

Стандартной теплотой образования называется тепловой эффект реакции образования одного моля соединения из простых веществ в их устойчивых состояниях при $T = 298,15 \text{ К}$ и стандартном давлении $P = 101,325 \text{ кПа}$ (1 атм). Стандартные теплоты (энтальпии) образования обозначаются $\Delta H_{f,298}^{\circ}$. Стандартные энтальпии образования простых веществ в их устойчивых модификациях (при стандартных условиях) принимаются равными нулю. Из закона Гесса вытекает ряд следствий, два из которых позволяют вычислять тепловые эффекты биохимических реакций.

Первое следствие из закона Гесса позволяет рассчитывать стандартный тепловой эффект биохимической реакции исходя из стандартных теплот образования веществ, участвующих в реакции:

$$\Delta H_{\text{бхр},298}^{\circ} = \sum_{j=1}^i v'_j (\Delta H_{f,298}^{\circ})'_j - \sum_{j=1}^i v_j (\Delta H_{f,298}^{\circ})_j,$$

где v_j, v'_j – стехиометрические коэффициенты при соответствующем реагенте или продукте реакции. Энтальпии образования в стандартных условиях соединений можно найти в таблицах термодинамических данных [22, 23].

Вычисление стандартных тепловых эффектов реакций с участием органических соединений можно проводить и по стандартным теплотам сгорания:

$$\Delta H_{\text{бхр},298}^{\circ} = \sum_{j=1}^i v_j (\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ})_j - \sum_{j=1}^i v'_j (\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ})'_j.$$

Стандартной теплотой сгорания $\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ}$ называется тепловой эффект реакции окисления данного соединения кислородом с образованием высших оксидов элементов, входящих в это соединение, отнесенный к стандартным условиям ($T = 298 \text{ К}$, $P = 101,325 \text{ кПа}$). При этом элементы С, Н, N, S, Cl и Br, входящие в состав соединений, окисляются соответст-

венно до CO_2 , $\text{H}_2\text{O}(\text{ж.})$, N_2 , SO_2 , HCl и HBr . Теплоту сгорания обычно относят к одному моллю исходного вещества.

Пересчет изменения термодинамической характеристики биохимической реакции (теплого эффекта, энтропии и т.п.) от температуры 298,15 К на любую другую температуру требует сведений о теплоемкостях веществ – участников реакции. Так, зависимости теплового эффекта, энтропии и энергии Гиббса биохимической реакции от температуры в дифференциальной форме имеют вид:

$$\left[\frac{\partial(\Delta H_{\text{бхр}})}{\partial T} \right]_P = \Delta c_{p,r}^\circ; \left[\frac{\partial(\Delta S)}{\partial T} \right]_P = \frac{\Delta c_p^\circ}{T}; \left[\partial \left(\frac{\Delta G}{T} \right) \right]_P = -\frac{\Delta H_{\text{бхр}}}{T^2},$$

где $\Delta c_{p,r}^\circ$ – изменение теплоемкости реакционной системы в ходе реакции при $P = \text{const}$:

$$\Delta c_{p,r}^\circ = \sum_{j=1}^i \nu_j'(c_p^\circ)'_j - \sum_{j=1}^i \nu_j(c_p^\circ)_j,$$

где $(c_p^\circ)_j$, $(c_p^\circ)'_j$, $j = 1, 2, \dots, i$ – мольные теплоемкости исходных веществ и конечных продуктов. В соответствии с уравнениями

$$c_p = a + bT + cT^2 + dT^3 \text{ или } c_p = a + bT + c''/T^2$$

зависимость мольной теплоемкости j -го вещества, участвующего в реакции, можно записать в виде $(c_p)_j = a_j + b_jT + c_jT^2 + \frac{(c'')_j}{T^2} + d_jT^3$.

Для вычисления правой части уравнения $\Delta c_{p,r}^\circ = \sum_{j=1}^i \nu_j'(c_p^\circ)'_j - \sum_{j=1}^i \nu_j(c_p^\circ)_j$ нужно сгруппировать выражения, содержащие a_j , b_j , c_j , ..., и рассчитать приращения:

$$\Delta a = \sum_{j=1}^i \nu_j'(a)'_j - \sum_{j=1}^i \nu_j(a)_j;$$

$$\Delta b = \sum_{j=1}^i \nu_j'(b)'_j - \sum_{j=1}^i \nu_j(b)_j; \Delta c = \sum_{j=1}^i \nu_j'(c)'_j - \sum_{j=1}^i \nu_j(c)_j;$$

$$\Delta c'' = \sum_{j=1}^i \nu_j'(c'')'_j - \sum_{j=1}^i \nu_j(c'')_j; \Delta d = \sum_{j=1}^i \nu_j'(d)'_j - \sum_{j=1}^i \nu_j(d)_j.$$

Тогда уравнение теплового эффекта биохимической реакции от температуры приобретает вид

$$\left[\frac{\partial(\Delta H_{\text{бхр}})}{\partial T} \right] = (\Delta c_{p,r}^{\circ}) = \Delta a + \Delta b \cdot T + \Delta c \cdot T^2 + \Delta c'' \cdot T^{-2} + \Delta d \cdot T^3,$$

интегрируя которое, получим зависимость теплового эффекта $\Delta H_{\text{бхр}}$ биохимической реакции от температуры T :

$$\Delta H_{\text{бхр}} = I_1 + \Delta a \cdot T + \frac{\Delta b}{2} T^2 + \frac{\Delta c}{3} T^3 - \frac{\Delta c''}{T} + \frac{\Delta d}{4} T^4.$$

На основе значений стандартных величин можно рассчитать изменение энтальпии реакции $\Delta H_{\text{бхр},298}^{\circ}$ при температуре $T = 298,15$ К. Подставив в уравнение $\Delta H_{\text{бхр}} = I_1 + \Delta a \cdot T + \frac{\Delta b}{2} T^2 + \frac{\Delta c}{3} T^3 - \frac{\Delta c''}{T} + \frac{\Delta d}{4} T^4$ значения $\Delta H_{\text{бхр},298}^{\circ}$ и $T = 298,15$ К, найдем постоянную интегрирования I_1 . Теперь можно найти энтальпию реакции из уравнения

$$\Delta H_{\text{бхр}} = I_1 + \Delta a \cdot T + \frac{\Delta b}{2} T^2 + \frac{\Delta c}{3} T^3 - \frac{\Delta c''}{T} + \frac{\Delta d}{4} T^4$$

при любой произвольной температуре в диапазоне, где действительно это уравнение.

В литературе по химической термодинамике вводится понятие «теоретическая температура» реакции; это – гипотетическая температура, которую достигла бы реакционная система, реагирующая адиабатически, при постоянном давлении без производства внешней работы. Теоретическую температуру биохимической реакции можно рассчитать из уравнения теплового баланса, когда известны зависимости мольной теплоемкости $(c_p)_j$ реагентов от температуры T и тепловой эффект реакции $Q_{p,298} = \Delta H_{298}^{\circ}$.

Термодинамический расчет дает возможность установить связь между концентрациями исходных веществ и продуктов биохимической реак-

ции с помощью вычисления значения константы равновесия биохимической реакции. Для этого нужно рассчитать изменение энергии Гиббса во время реакции и из уравнения $\Delta G_T^\circ = -RT \ln K_p$ найти константу равновесия K_p .

Запишем уравнение зависимости теплового изменения энергии Гиббса биохимической реакции от температуры в дифференциальной форме $\left[\partial \left(\frac{\Delta G}{T} \right) \right]_p = -\frac{\Delta H_{\text{бхр}}}{T^2}$. Зависимость $\Delta H_{\text{бхр}}$ от температуры определяется уравнением $\Delta H_{\text{бхр}} = I_1 + \Delta a \cdot T + \frac{\Delta b}{2} T^2 + \frac{\Delta c}{3} T^3 - \frac{\Delta c''}{T} + \frac{\Delta d}{4} T^4$. Подставим это значение в уравнение $\left[\partial \left(\frac{\Delta G}{T} \right) \right]_p = -\frac{\Delta H_{\text{бхр}}}{T^2}$ и проинтегрируем полученное уравнение; в результате получим следующее выражение:

$$\Delta G_T = I_1 - \Delta a \cdot T \cdot \ln T - \frac{\Delta b}{2} T^2 - \frac{\Delta c}{6} T^3 - \frac{\Delta c''}{2 \cdot T} - \frac{\Delta d}{12} T^4 + I_2 \cdot T.$$

Если известно изменение энергии Гиббса ΔG_{298}° в ходе реакции, то, используя в последнем уравнении ΔG_{298}° и $T = 298$ К, можно рассчитать постоянную интегрирования I_2 . При этом константа равновесия K_p связана с термодинамическими функциями, в частности с энтальпией $\Delta H_{\text{бхр},T}$ и энтропией $\Delta S_{\text{бхр},T}$ биохимической реакции, следующим соотношением:

$$-RT \ln K_p = \Delta H_{\text{бхр},T} - T \Delta S_{\text{бхр},T} = \Delta G_T,$$

где ΔG_T – изменение стандартного изобарно-изотермического потенциала биохимической реакции (энергия Гиббса).

Интегрирование уравнения $\left[\frac{\partial(\Delta H_{\text{бхр}})}{\partial T} \right] = \Delta c_p^\circ$ позволяет получить уравнение Кирхгофа в интегральной форме, которое можно применить для расчета теплового эффекта биохимической реакции при конкретной температуре:

$$\Delta H_{T,\text{бхр}} = \Delta H_{298}^\circ + \int_{298}^T \Delta c_p dT.$$

Аналитическое вычисление теплового эффекта по интегральному уравнению можно осуществить с учетом трех приближений:

- 1) полагают, что $\Delta c_p = 0$; тогда получается, что $\Delta H_{T, \text{бхр}} = \Delta H_{298}^\circ$;
- 2) считают, что $\Delta c_p = \text{const} = \Delta c_{p, 298}^\circ (T - 298)$, где $\Delta c_{p, 298}^\circ$ вычисляют по формуле $(\Delta c_{p, r}^\circ) = \Delta a + \Delta b \cdot T + \Delta c \cdot T^2 + \Delta c'' \cdot T^{-2} + \Delta d \cdot T^3$;
- 3) для точных расчетов полагают, что $\Delta c_{p, r} = f(T)$; при этом зависимости теплоемкости от температуры удовлетворительно описываются степенными рядами.

Итак, при вычислении изменения энтальпии, энтропии, энергии Гиббса и константы равновесия по приведенным выше уравнениям необходимо знать для каждого реагента и продукта реакции стандартную теплоту образования или сгорания ($\Delta H_{f, 298}^\circ, \Delta H_{\text{сг}, 298}^\circ$); стандартную энтропию ΔS_{298}° и температурную зависимость теплоемкости от температуры $(c_p^\circ)_j = f(T)$.

На практике тепловой эффект $\Delta H_{\text{бхр}}$ биохимической реакции определяют с применением теплоемкости, поэтому точность термодинамических расчетов определяется точностью вычисления теплоемкости и аналитической зависимости изменения теплоемкости в зависимости от температуры. Необходимый справочный материал, на котором основываются термохимические расчеты, обычно представляются в термодинамических таблицах в виде диаграмм, а также может быть вычислен с помощью эмпирических методов и пакетов прикладных программ [24].

Пример 3.2. Приведем пример составления и расчета энергетического баланса процесса глубинного культивирования на глюкозе биомассы бактерий *Bac. thuringiensis var. kurstaki* в ферментере периодического действия [21] (исх. данные взять из *Примера 3.1*).

Теплоту биохимического превращения глюкозы и дрожжевого экстракта с помощью микроорганизмов *Bac. thuringiensis var. kurstaki* будем вычислять по формуле

$$\Delta H_{\text{бхр},298}^{\circ} = (\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ})_{\text{глюк}} + (\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ})_{\text{дэ}} - (\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ})_{\text{х}},$$

где $(\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ})_{\text{глюк}}$, $(\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ})_{\text{дэ}}$ – теплота сгорания глюкозы и дрожжевого экстракта соответственно; $(\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ})_{\text{х}}$ – теплота сгорания биомассы.

По справочным термодинамическим таблицам принимаем $(\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ})_{\text{глюк}} = 15,59 \frac{\text{кДж}}{\text{г}}$; $(\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ})_{\text{дэ}} = 21,0 \frac{\text{кДж}}{\text{г}}$; $(\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ})_{\text{х}} = 21,0 \text{ кДж/г}$.

Тогда в соответствии с уравнением стехиометрического баланса теплота биохимической реакции составит

$$\begin{aligned} \Delta H_{\text{бхр},298}^{\circ} &= \frac{M_{\text{глюк}} \cdot (\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ})_{\text{глюк}} + 0,62 \cdot (\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ})_{\text{дэ}} - 0,58 \cdot M_{\text{х}} \cdot (\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ})_{\text{х}}}{0,58 \cdot M_{\text{х}}} \cdot G_{\text{х}} = \\ &= \frac{30 \cdot 15,59 + 0,62 \cdot 26,07 \cdot 21 - 0,58 \cdot 25,02 \cdot 21}{0,58 \cdot 25,02} \cdot 62,49 \cdot 10^3 = 2,16 \cdot 10^6 \frac{\text{кДж}}{\text{ферм}}. \end{aligned}$$

При продолжительности ферментации $t_{\text{ф}} = 28 \text{ ч}$ выделяемая тепловая мощность, обусловленная биосинтезом, с одного ферментера составит

$$N_{\Delta H_{\text{бхр},298}^{\circ}} = \frac{\Delta H_{\text{бхр},298}^{\circ}}{28 \cdot 3600} = \frac{2,16 \cdot 10^6}{28 \cdot 3600} = 21,4 \text{ кВт}.$$

Запишем выражение для расчета тепловой нагрузки Q_{Σ} на ферментер за цикл ферментации: температура ферментации $T_{\text{ф}} = 30 \text{ }^{\circ}\text{C}$; температура охлаждающей воды на входе в теплообменную рубашку $T_{2\text{н}} = 15 \text{ }^{\circ}\text{C}$, на выходе из теплообменной рубашки $T_{2\text{к}} = 20 \text{ }^{\circ}\text{C}$:

$$Q_{\Sigma} = \Delta H_{\text{бхр},298}^{\circ} + Q_{\text{перем}} - Q_{\text{исп}},$$

где $\Delta H_{\text{бхр},298}^{\circ}$ – количество тепла, выделяемого в реакционной системе в ходе процесса биосинтеза, $\Delta H_{\text{бхр},298}^{\circ} = 2,16 \cdot 10^6 \frac{\text{кДж}}{\text{ферм}}$; $Q_{\text{перем}}$ – тепло,

выделяемое в течение 1 цикла ферментации за счет перемешивания культуральной среды и аэрации, $Q_{\text{перем}} = 0,86 \cdot 10^6 \frac{\text{кДж}}{\text{ферм}}$; $Q_{\text{исп}}$ – тепло, уносимое из реакционной системы (среды) за счет испарения воздуха, $Q_{\text{исп}} = 9,873 \cdot 10^3 \frac{\text{кДж}}{\text{ферм}}$.

В этом случае тепловая нагрузка Q_{Σ} на ферментер за 1 цикл ферментации и тепловая мощность ферментера составят:

$$Q_{\Sigma} = \Delta H_{\text{бхр},298}^{\circ} + Q_{\text{перем}} - Q_{\text{исп}} = 2,16 \cdot 10^6 + 0,86 \cdot 10^6 - 9,873 \cdot 10^3 = \\ = 3,01 \cdot 10^6 \frac{\text{кДж}}{\text{ферм}}; N_{\Sigma} = \frac{Q_{\Sigma}}{t_{\text{ф}} \cdot 3600} = \frac{3,01 \cdot 10^6}{28 \cdot 3600} = 29,9 \text{ кВт.}$$

Далее рассчитывают расход охлаждающей воды $G_{\text{охл.воды}}$ и площадь поверхности F теплопередачи, требуемые для охлаждения ферментера с помощью теплообменной рубашки, по формулам:

$$G_{\text{охл.воды}} = \frac{N_{\Sigma}}{c_{p2} \cdot (T_{2к} - T_{2н}) \cdot \rho_2} = \frac{29,9}{4,19 \cdot (20 - 15) \cdot 1000} = 1,427 \cdot 10^{-3} \text{ м}^3/\text{с},$$

где $c_{p2} = 4,19 \frac{\text{кДж}}{\text{кг} \cdot ^{\circ}\text{C}}$, $\rho_2 = 1000 \text{ кг/м}^3$ – удельная теплоемкость и плотность охлаждающей воды соответственно;

$$F = \frac{N_{\Sigma}}{K_T \cdot \Delta t_{\text{ср}}},$$

где K_T – коэффициент теплопередачи; $\Delta t_{\text{ср}}$ – средняя логарифмическая разность температур (движущая сила теплообмена).

Среднюю логарифмическую разность температур при отводе тепла из реакционной системы к охлаждающей воде определяют по формуле

$$\Delta t_{\text{ср}} = \frac{(T_{\text{ф}} - T_{2н}) - (T_{\text{ф}} - T_{2к})}{\ln\left(\frac{T_{\text{ф}} - T_{2н}}{T_{\text{ф}} - T_{2к}}\right)} = \frac{(30 - 15) - (30 - 20)}{\ln\left(\frac{30 - 15}{30 - 20}\right)} = 12,33 \text{ }^{\circ}\text{C}.$$

Для расчета коэффициента теплоотдачи K_T необходимо знать коэффициенты теплоотдачи охлаждающей воды α_2 и микробной суспензии α_1 ; их можно найти, рассчитав критерии Нуссельта, а табличные константы

находят из справочника [25] при данных температурах и размерах теплообменной системы: внутренний диаметр $D_{\text{вн}} = 1,55$ м обечайки ферментера; толщина стенки ферментера 1,5 см; зазор для течения воды в рубашке – 1 см.

Коэффициент теплоотдачи охлаждающей воды рассчитывают по формулам:

$$\alpha_2 = \text{Nu}_2 \frac{\lambda_2}{d_3}; \text{Nu}_2 = 0,021 \text{Re}_2^{0,8} \cdot \text{Pr}_2^{0,43}; \text{Re}_2 = v_2 \cdot d_3 \cdot \frac{\rho_2}{\mu_2},$$

где v_2 – скорость течения воды в рубашке, м/с:

$$v_2 = \frac{G_{\text{охл.воды}}}{0,785 \cdot (D_2^2 - D_1^2)} = \frac{1,427 \cdot 10^{-3}}{0,785 \cdot (1,6^2 - 1,52^2)} = 28,582 \cdot 10^{-3} \text{ м/с},$$

где $D_1 = 1,58$ м, $D_2 = 1,6$ м – внешние диаметры ферментера и рубашки соответственно; $d_3 = 0,02$ м – эквивалентный диаметр.

Далее рассчитывают значения:

– критерия Рейнольдса, характеризующего соотношение сил инерции и молекулярного трения в потоке:

$$\text{Re}_2 = v_2 \cdot d_3 \cdot \frac{\rho_2}{\mu_2} = \frac{28,582 \cdot 10^{-3} \cdot 0,02 \cdot 1000}{0,83 \cdot 10^{-3}} = 688,723;$$

– критерия Прандтля, характеризующего физические свойства потока охлаждающей воды:

$$\text{Pr}_2 = \frac{c_{p2} \cdot \mu_2}{\lambda_2} = \frac{4190 \cdot 0,83 \cdot 10^{-3}}{0,618} = 5,627;$$

– критерия Нуссельта

$$\text{Nu}_2 = 0,021 \cdot \text{Re}_2^{0,8} \cdot \text{Pr}_2^{0,43} = 0,021 \cdot (688,723)^{0,8} \cdot (5,627)^{0,43} = 8,228,$$

где динамическая вязкость, коэффициент теплопроводности и плотность воды соответственно равны:

$$\mu_2 = 0,83 \cdot 10^{-3} \text{ Па} \cdot \text{с}; \lambda_2 = 0,618 \text{ Вт}/(\text{м} \cdot \text{К}); \rho_2 = 1000 \text{ кг}/\text{м}^3.$$

Зная численное значение критерия Нуссельта, определяют коэффициент теплоотдачи α_2 от стенки ферментера к охлаждающей воде:

$$\alpha_2 = Nu_2 \frac{\lambda_2}{d_3} = \frac{8,228 \cdot 0,618}{0,02} = 254,245 \text{ Вт}/(\text{м}^2 \cdot \text{К}).$$

Затем определяют коэффициент теплоотдачи α_1 от микробной суспензии к стенке ферментера; принимаем следующие значения физико-химических свойств микробной суспензии: $\rho_1 = 1020 \text{ кг}/\text{м}^3$ – плотность; $c_{p1} = 3,18 \text{ кДж}/(\text{кг} \cdot \text{К})$ – удельная теплоемкость; $\lambda_1 = 0,408 \text{ Вт}/(\text{кг} \cdot \text{К})$ – коэффициент теплопроводности суспензии; $\mu_1 = 0,07 \text{ Па} \cdot \text{с}$ – динамическая вязкость, $\mu_{1\text{ст}} = 0,058$ – динамическая вязкость суспензии вблизи (при температуре) стенки обечайки ферментера; $d_M = 0,465 \text{ м}$ – диаметр мешалки.

Коэффициент теплоотдачи от микробной суспензии к стенке ферментера рассчитывают по формулам:

$$\alpha_1 = Nu_1 \frac{\lambda_1}{d_3}; Nu_1 = 0,87 \cdot Re_1^{0,62} \cdot Pr_1^{0,33} \left(\frac{\mu_1}{\mu_{1\text{ст}}} \right)^{0,14} \cdot \frac{d_M}{D_1}; Re_1 = \frac{\rho_1 \cdot n \cdot d_3^2}{\mu_1},$$

где $n = 1,9$ – число оборотов мешалки, об/с, $d_3 = d_M$; $Pr_1 = \frac{c_{p1} \cdot \mu_1}{\lambda_1}$,

где $c_{p1} = 3180 \text{ Дж}/(\text{кг} \cdot \text{К})$; $Re_1 = \frac{\rho_1 \cdot n \cdot d_M^2}{\mu_1} = \frac{1020 \cdot 1,9 \cdot 0,465^2}{0,07} = 5986,344$; $Pr_1 =$

$$\frac{c_{p1} \cdot \mu_1}{\lambda_1} = \frac{3180 \cdot 0,07}{0,408} = 545,588; Nu_1 = 0,87 \cdot Re_1^{0,62} \cdot Pr_1^{0,33} \cdot \left(\frac{\mu_1}{\mu_{1\text{ст}}} \right)^{0,14} \cdot \frac{d_M}{D_{\text{ВН}}} =$$

$$0,87 \cdot (5986,344)^{0,62} \cdot (545,588)^{0,33} \cdot \left(\frac{0,07}{0,058} \right)^{0,14} \cdot \frac{0,465}{1,55} = 471,064, \alpha_1 =$$

$$Nu_1 \frac{\lambda_1}{d_M} = 471,064 \cdot \frac{0,408}{0,465} = 413,32 \text{ Вт}/(\text{м}^2 \cdot \text{К}).$$

Далее рассчитывают коэффициент теплопередачи K_T с помощью уравнения аддитивности термических сопротивлений на пути теплового потока от микробной суспензии через стенку ферментера к потоку охлаждающей воды:

$$K_T = \frac{1}{\frac{1}{\alpha_1} + \frac{1}{\alpha_2} + r_2 + \frac{\delta}{\lambda}} = \frac{1}{\frac{1}{413,32} + \frac{1}{254,245} + 0 + \frac{0,015}{17,5}} = 138,7 \text{ Вт}/(\text{м}^2 \cdot \text{К}),$$

где термические загрязнения r_2 поверхности стенки ферментера принимали равными нулю; коэффициент теплопроводности $\lambda_{\text{ст}} = 17,5 \frac{\text{Вт}}{\text{м} \cdot \text{К}}$ и толщину δ стенки ферментера, изготовленного из нержавеющей стали, выбирали в соответствии с прочностным расчетом толщины стенки обечайки ферментера, равной $\delta = 15 \text{ мм} = 0,015 \text{ м}$.

Наконец рассчитывают требуемую поверхность F теплообмена, необходимую для отвода выделяющегося тепла в результате осуществления биохимической реакции:

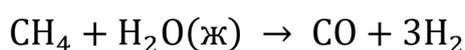
$$F = \frac{N_{\Sigma}}{K_T \cdot \Delta t_{\text{ср}}} = \frac{29,9 \cdot 10^3}{138,7 \cdot 12,33} = 17,4836 \text{ м}^2.$$

Далее проводят проверочный расчет, т.е. определяют ориентировочную площадь охлаждения через теплообменную рубашку:

$$F_{\text{руб}} = \pi \cdot D_{\text{вн}} \cdot H_{\text{ж}} = 3,14 \cdot 1,55 \cdot 2,8 = 13,628 \text{ м}^2.$$

Проверочный расчет показывает, что при расчетной тепловой мощности ферментера $N_{\Sigma} = 29,9 \cdot 10^3 \text{ кВт}$ площади поверхности теплообмена только за счет теплообменной рубашки не будет хватать для обеспечения заданного температурного режима ферментации, что может привести к перегреву культуральной среды в ферментере. В этом случае необходимо предусмотреть дополнительное охлаждение, например, через внутренний теплообменник (змеевикового, трубчатого или пластинчатого типа), либо снизить температуру $T_{2\text{н}}$ охлаждающей воды или повысить объемную скорость охлаждающей воды.

Пример 3.3. Требуется определить тепловой эффект реакции



при стандартных условиях ($T = 298 \text{ К}$; $P = 101,325 \text{ кПа}$) с учетом агрегатного состояния реагирующих веществ, если она протекает при $T = 298 \text{ К}$ в автоклаве при постоянном объеме.

Для нахождения теплового эффекта $\Delta H_{\text{хр},298}^{\circ}$ химической реакции воспользуемся уравнениями

$$\Delta H_{\text{хр},298}^{\circ} = \sum_{j=1}^i \nu_j' (\Delta H_{f,298}^{\circ})_j' - \sum_{j=1}^i \nu_j (\Delta H_{f,298}^{\circ})_j,$$

$$\Delta H_{\text{хр},298}^{\circ} = \sum_{j=1}^i \nu_j (\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ})_j - \sum_{j=1}^i \nu_j' (\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ})_j'.$$

В справочниках [22, 23] найдем соответствующие величины $\Delta H_{f,298}^{\circ}$ и $\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ}$:

Термодинамические свойства	CH_4	$\text{H}_2\text{O(ж)}$	CO	H_2
$\Delta H_{f,298}^{\circ}$, кДж/моль	-74,85	-285,83	-110,53	0
$\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ}$, кДж/моль	-890,31	0	-282,92	-285,83

Примечание. Изменение энтальпии $\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ}$ при сгорании водорода равно изменению энтальпии $\Delta H_{f,298}^{\circ}$ при образовании воды.

Согласно первому следствию из закона Гесса по формуле

$$\Delta H_{\text{хр},298}^{\circ} = \sum_{j=1}^i \nu_j' (\Delta H_{f,298}^{\circ})_j' - \sum_{j=1}^i \nu_j (\Delta H_{f,298}^{\circ})_j$$

получим

$$\begin{aligned} \Delta H_{\text{хр},298}^{\circ} &= [1 \cdot \Delta H_{f,298}^{\circ}(\text{CO}) + 3 \cdot \Delta H_{f,298}^{\circ}(\text{H}_2)] - \\ &- [1 \cdot \Delta H_{f,298}^{\circ}(\text{CH}_4) + 1 \cdot \Delta H_{f,298}^{\circ}(\text{H}_2\text{O})] = (-110,53 \cdot 1 - 3 \cdot 0) - \\ &- (-74,85 \cdot 1 - 285,83 \cdot 1) = 250,15 \text{ кДж}. \end{aligned}$$

Согласно второму следствию из закона Гесса по формуле

$$\Delta H_{\text{хр},298}^{\circ} = \sum_{j=1}^i \nu_j (\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ})_j - \sum_{j=1}^i \nu_j' (\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ})_j'$$

определим

$$\begin{aligned}\Delta H_{\text{xp},298}^{\circ} &= [1 \cdot \Delta H_{\text{сг},298}^{\circ}(\text{CH}_4) + 1 \cdot \Delta H_{\text{сг},298}^{\circ}(\text{H}_2\text{O})] - \\ &- [1 \cdot \Delta H_{\text{сг},298}^{\circ}(\text{CO}) + 3 \cdot \Delta H_{\text{сг},298}^{\circ}(\text{H}_2)] = (-890,31 + 0) - \\ &- (-282,92 - 3 \cdot 285,83) = 250,10 \text{ кДж.}\end{aligned}$$

Рассчитав тепловой эффект реакции при постоянном давлении, определим тепловой эффект при постоянном объеме по уравнению

$$\Delta U_{298} = \Delta H_{\text{xp},298}^{\circ} - \Delta \nu \cdot R \cdot T,$$

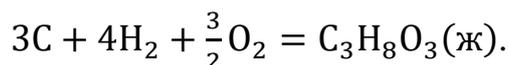
где изменение числа молей $\Delta \nu$ газообразных участников реакции равно

$$\Delta \nu = 4 - 1 = 3;$$

$$\Delta U_{298} = 250,15 \cdot 10^3 - 3 \cdot 8,314 \cdot 298,15 = 242,714 \cdot 10^3 \text{ Дж.}$$

Пример 3.4. Требуется определить стандартную теплоту образования глицерина $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$, используя справочные данные для теплоты сгорания и образования.

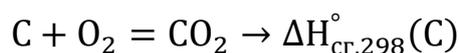
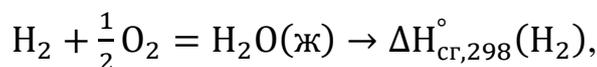
Из определения теплоты образования следует, что $\Delta H_{f,298}^{\circ}(\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3)$ есть тепловой эффект реакции



Из уравнения $\Delta H_{\text{xp},298}^{\circ} = \sum_{j=1}^i \nu_j (\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ})_j - \sum_{j=1}^i \nu'_j (\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ})'_j$ можно записать

$$\begin{aligned}\Delta H_{\text{xp},298}^{\circ} &= \Delta H_{f,298}^{\circ}(\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3(\text{ж})) = \\ &= 3 \cdot \Delta H_{\text{сг},298}^{\circ}(\text{C}) + 4 \cdot \Delta H_{\text{сг},298}^{\circ}(\text{H}_2) - \Delta H_{\text{сг},298}^{\circ}(\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3(\text{ж})).\end{aligned}$$

Следует знать, что теплоты сгорания простых веществ при стандартных условиях численно равны стандартной теплоте образования продукта сгорания, т.е. для реакций



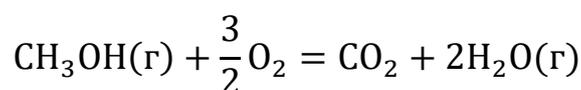
из справочника [22] находим

$$\begin{aligned}\Delta H_{\text{сг},298}^{\circ}(\text{H}_2) &= \Delta H_{f,298}^{\circ}(\text{H}_2\text{O}(\text{ж})) = -241,8 \text{ кДж/моль}, \Delta H_{\text{сг},298}^{\circ}(\text{H}_2) = \\ &= \Delta H_{f,298}^{\circ}(\text{CO}_2) = -393,51 \text{ кДж/моль}.\end{aligned}$$

Тогда

$$\begin{aligned}\Delta H_{\text{хр},298}^{\circ} &= \Delta H_{f,298}^{\circ}(\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3(\text{ж})) = [3 \cdot (-393,51) + 4 \cdot (-285,83)] - \\ &- (-1661,05) = -662,8 \text{ кДж/моль}.\end{aligned}$$

Пример 3.5. Для химической реакции



вывести аналитические зависимости теплового эффекта реакции от температуры для следующих условий:

$$1) \Delta c_p^{\circ} = \text{const} = \Delta c_{p,298}^{\circ}; 2) c_p^{\circ} = f(T).$$

Рассчитать тепловой эффект реакции при температуре $T = 500 \text{ К}$.

Исходные данные приведены в табл. 3.1.

В соответствии с уравнением Кирхгофа

$$\Delta H_{\text{хр},T}^{\circ} = \Delta H_{298}^{\circ} + \int_{298}^T \Delta c_p^{\circ} dT$$

находим тепловой эффект химической реакции в стандартных условиях по уравнению

$$\begin{aligned}\Delta H_{\text{хр},298}^{\circ} &= \sum_{j=1}^i v_j' (\Delta H_{f,298}^{\circ})_j' - \sum_{j=1}^i v_j (\Delta H_{f,298}^{\circ})_j = \\ &= \Delta H_{f,298}^{\circ}(\text{CO}_2) + 2 \cdot \Delta H_{f,298}^{\circ}(\text{H}_2\text{O}) - \Delta H_{f,298}^{\circ}(\text{CH}_3\text{OH}) - \frac{3}{2} \Delta H_{f,298}^{\circ}(\text{O}_2) = \\ &= -393,51 + 2 \cdot (-241,81) - (-201,00) - \frac{3}{2} \cdot 0 = -676,13 \text{ кДж}.\end{aligned}$$

Знак минус перед тепловым эффектом означает, что тепло выделяется в результате реакции.

3.1. Термодинамические свойства веществ

Вещества	ν	$\frac{\Delta H_{f,298}^\circ}{\text{кДж моль}}$	$\frac{\Delta c_{p,298}^\circ}{\text{Дж моль} \cdot \text{К}}$	Коэффициенты уравнения $c_p^\circ = f(T)$				Темпер. интервал, К
				a	$b \cdot 10^3$	$c'' \cdot 10^{-5}$	$c \cdot 10^6$	
CO ₂	1	-393,51	37,3	44,14	9,04	-8,54	-	298...1000
H ₂ O	2	-241,81	33,56	30,00	10,71	0,33	-	298...1000
CH ₃ OH	1	-201,00	43,90	15,28	105,2	-	-31,04	298...1000
O ₂	3/2	0	29,36	31,46	3,39	-3,77	-	298...1000

Запишем уравнение для теплового эффекта реакции:

$$\left[\frac{\partial(\Delta H_{\text{xp}})}{\partial T} \right] = (\Delta c_p^\circ)_j = \Delta a_j + \Delta b_j T + \Delta c_j T^2 + \Delta c_j'' T^{-2} + \Delta d_j T^3.$$

Вначале находим изменение теплоемкости Δc_p° реакционной системы по уравнению

$$\begin{aligned} \Delta c_{p,298}^\circ &= [c_{p,298}^\circ(\text{CO}_2) + 2 \cdot c_{p,298}^\circ(\text{H}_2\text{O})] - [c_{p,298}^\circ(\text{CH}_3\text{OH}) + \frac{3}{2} c_{p,298}^\circ(\text{O}_2)] = \\ &= 37,13 + 2 \cdot 33,56 - 43,90 - \frac{3}{2} \cdot 29,36 = 16,31 \text{ Дж}/(\text{моль} \cdot \text{К}). \end{aligned}$$

Далее вычисляем изменение энтальпии реакционной системы по уравнению Кирхгофа:

$$\begin{aligned} \Delta H_{\text{xp},T}^\circ &= \Delta H_{298}^\circ + \int_{298}^T \Delta c_p^\circ dT = -676,13 \cdot 10^3 + \int_{298,15}^T 16,31 dT = \\ &= -676,13 \cdot 10^3 + 16,31(T - 298,15). \end{aligned}$$

После преобразований получаем для данной реакции аналитическую зависимость

$$\begin{aligned} \Delta H_{\text{xp},T}^\circ &= f(T): \Delta H_{\text{xp},T}^\circ = -676,13 \cdot 10^3 - 16,31 \cdot 298,15 + 16,31 \cdot T = \\ &= -680,99 \cdot 10^3 + 16,31 \cdot T. \end{aligned}$$

Наконец, определим тепловой эффект реакции при температуре $T = 500$ К:

$$\Delta H_{\text{xp},500}^{\circ} = -680,99 \cdot 10^3 + 16,31 \cdot 500 = -672,84 \cdot 10^3 \text{ Дж.}$$

Уточним полученную оценку теплового эффекта реакции с учетом зависимости изменения теплоемкости реакционной системы от температуры:

$$\Delta c_{p,r}^{\circ} = \Delta a + \Delta b \cdot T + \Delta c \cdot T^2 + c''/T^2.$$

Величины $(a)_{\text{CO}_2}$, $(a)_{\text{H}_2\text{O}}$, $(a)_{\text{CH}_3\text{OH}}$, $(a)_{\text{O}_2}$, $(b)_{\text{CO}_2}$, $(b)_{\text{H}_2\text{O}}$, $(b)_{\text{CH}_3\text{OH}}$, $(b)_{\text{O}_2}$ и т.д. приведены в табл. 3.1. Необходимо учитывать, что в табл. 3.1 приведены величины $b \cdot 10^3$, $c'' \cdot 10^{-5}$, $c \cdot 10^6$; тогда как сами численные значения коэффициентов определяются как $b = \text{тз} \cdot 10^{-3}$, $c'' = \text{тз} \cdot 10^5$, $c = \text{тз} \cdot 10^{-6}$, где тз – значение соответствующей величины, приведенной в табл. 3.1. Рассчитаем значения Δa , Δb , Δc и $\Delta c''$:

$$\begin{aligned} \Delta a &= [(1 \cdot (a)_{\text{CO}_2} + 2 \cdot (a)_{\text{H}_2\text{O}}) - (1 \cdot (a)_{\text{CH}_3\text{OH}} + 1,5 \cdot (a)_{\text{O}_2})] = \\ &= [(1 \cdot 44,14 + 2 \cdot 30,00) - (1 \cdot 15,28 + 1,5 \cdot 31,46)] = 41,67 ; \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \Delta b &= [(1 \cdot (b)_{\text{CO}_2} + 2 \cdot (b)_{\text{H}_2\text{O}}) - (1 \cdot (b)_{\text{CH}_3\text{OH}} + 1,5 \cdot (b)_{\text{O}_2})] = \\ &= [(9,04 \cdot 10^{-3} + 2 \cdot 10,71 \cdot 10^{-3}) - (105,2 \cdot 10^{-3} + 3,39 \cdot 10^{-3})] = \\ &= -79,83 \cdot 10^{-3}; \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \Delta c'' &= [(1 \cdot (c)_{\text{CO}_2} + 2 \cdot (c)_{\text{H}_2\text{O}}) - (1 \cdot (c)_{\text{CH}_3\text{OH}} + 1,5 \cdot (c)_{\text{O}_2})] = \\ &= [(-8,54 \cdot 10^5 + 2 \cdot 0,33 \cdot 10^5) - 1,5 \cdot (-3,77 \cdot 10^5)] = -2,225 \cdot 10^5; \end{aligned}$$

$$\Delta c = [(1 \cdot (c)_{\text{CO}_2} + 2 \cdot (c)_{\text{H}_2\text{O}}) - (1 \cdot (c)_{\text{CH}_3\text{OH}} + 1,5 \cdot (c)_{\text{O}_2})] = 31,04 \cdot 10^{-6}.$$

Таким образом, для данной реакции уравнение зависимости изменения теплоемкости реакционной системы от температуры будет иметь вид

$$\begin{aligned} \Delta c_{p,r}^{\circ} &= \Delta a + \Delta b \cdot T + \Delta c \cdot T^2 + c''/T^2 = \\ &= 41,67 - 79,82 \cdot 10^{-3} \cdot T + 31,04 \cdot 10^{-6} \cdot T^2 - 2,225 \cdot 10^5/T^2. \end{aligned}$$

Подставляя полученную зависимость в уравнение Кирхгофа и интегрируя это уравнение в пределах от 298,15 до T ($T \leq 1000$ К), получим

$$\begin{aligned} \Delta H_{\text{xp},T}^{\circ} &= \Delta H_{298}^{\circ} + \int_{298}^T \Delta c_p^{\circ} dT = \Delta H_{\text{xp},298}^{\circ} + \int_{298}^T (41,67 - 79,82 \cdot 10^{-3} \cdot T + \\ &+ 31,04 \cdot 10^{-6} \cdot T^2 - 2,225 \cdot 10^5 / T^2) dT = -676,13 \cdot 10^3 + \\ &+ 41,67(T - 298,15) - \frac{1}{2} \cdot 79,82 \cdot 10^{-3}(T^2 - 298,15^2) + \frac{1}{3} \cdot 31,03 \cdot 10^{-6} \times \\ &\times (T^3 - 298^3) + 2,225 \cdot 10^5 \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{298,15} \right) = -686,027 \cdot 10^3 + 41,67 \cdot T - \\ &- 39,91 \cdot 10^{-3} T^2 + 10,34 \cdot 10^{-6} T^3 + 2,225 \cdot 10^5 / T. \end{aligned}$$

Теперь для температуры $T = 500$ К рассчитаем тепловой эффект реакции:

$$\begin{aligned} \Delta H_{\text{xp},500}^{\circ} &= -686,027 \cdot 10^3 + 41,67 \cdot T - 39,91 \cdot 10^{-3} T^2 + \\ &+ 10,34 \cdot 10^{-6} T^3 + 2,225 \cdot \frac{10^5}{T} = -673,432 \cdot 10^3 \text{ Дж.} \end{aligned}$$

4. ОСНОВЫ БИОХИМИЧЕСКОЙ КИНЕТИКИ И ТЕОРИИ БИОРЕАКТОРОВ

4.1. ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ.

КИНЕТИКА НЕОБРАТИМЫХ РЕАКЦИЙ РАЗНЫХ ПОРЯДКОВ. ПРЯМЫЕ И ОБРАТНЫЕ ЗАДАЧИ БИОХИМИЧЕСКОЙ КИНЕТИКИ

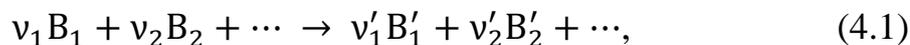
Биохимическая кинетика – раздел физической химии, посвященный изучению закономерностей протекания биохимических процессов во времени; термин «кинетика» означает изменение, его используют для описания скорости реакции и ее изменения в зависимости от условий ее проведения [26 – 28].

Кинетическое исследование протекания биохимических процессов включает в себя:

- полный химический анализ реакционной смеси, позволяющий записать уравнение стехиометрического баланса реакции;
- изменение через определенные промежутки времени химического состава реакционной системы;
- количественное изучение влияния каждой переменной состояния (температуры, рН среды культивирования, давления, концентраций, природы растворителя, фермента-катализатора и т.д.), способной изменить скорость реакции.

На базе полученных экспериментальных данных находят соотношения между различными измеряемыми величинами: скоростями и различными переменными осуществления биохимического процесса. Этот этап

исследований приводит к установлению кинетических закономерностей, которые характеризуют данную биохимическую реакцию. Рассмотрим биохимическую реакцию в общем виде:



где B_1, B_2, B'_1, B'_2 – соответственно исходные вещества и продукты реакции; v_1, v_2, v'_1, v'_2 – стехиометрические коэффициенты.

Для упрощения записи используем следующую форму уравнения:

$$0 \rightarrow v'_1 B'_1 + v'_2 B'_2 \dots - v_1 B_1 - v_2 B_2 \dots = \sum_i v_i B_i, \quad (4.2)$$

где коэффициент v_i считается положительным ($v_i > 0$), если компонент B_i относится к продуктам, и отрицательным ($v_i < 0$), если компонент B_i относится к исходным веществам.

Изменение в ходе реакции количества n_{B_i} вещества B_i [моль] связано с химической переменной ξ известным соотношением [28]

$$dn_{B_i} = v_i \cdot d\xi, \quad (4.3)$$

размерность химической переменной ξ – [моль]. Интегрирование формулы (4.3) в интервале времени от t_1 до t_2 позволяет получить для прямой реакции следующее соотношение:

$$n_{2,B_i} - n_{1,B_i} = v_i \cdot (\xi_2 - \xi_1), \quad (4.4)$$

где $\xi_2 - \xi_1 > 0$.

В начальный момент времени $t_1 = 0$ реакция не протекает и, следовательно, $\xi_1 = 0$; соотношение (4.4) превращается в уравнение вида

$$n_{t,B_i} - n_{0,B_i} = v_i \cdot \xi_t. \quad (4.5)$$

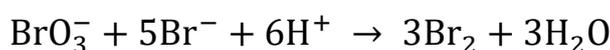
Уравнение (4.5) позволяет вычислить значение глубины ξ_t протекания биохимической реакции к моменту времени t на основании измерения количества n только одного компонента, присутствующего в реакционной

смеси. Очевидно, из опыта выбирают компонент, наиболее легко определяемый аналитически (одно из исходных веществ, либо один из продуктов реакции).

Скорость реакции (W или r) является важным кинетическим параметром при изучении биохимических реакций. Современное определение скорости реакции таково: число элементарных актов или изменение количества вещества (исходного или продукта) в единицу времени в единице объема (V), рассчитанное на единицу его стехиометрического коэффициента ν_i [28]:

$$W = r = \frac{1}{\nu_i \cdot V} \left(\frac{dn_i}{dt} \right). \quad (4.6)$$

Например, для химических реакций, протекающих соответственно в газовой и жидкой фазах



выражения для скоростей реакций можно записать в следующем виде:

$$W = r = -\frac{1}{2V} \frac{dn_{\text{N}_2\text{O}_5}}{dt} = \frac{1}{2V} \frac{dn_{\text{N}_2\text{O}_4}}{dt} = \frac{1}{V} \frac{dn_{\text{O}_2}}{dt},$$

$$W = r = -\frac{1}{V} \frac{dn_{\text{BrO}_3^-}}{dt} = -\frac{1}{5 \cdot V} \frac{dn_{\text{Br}^-}}{dt} = -\frac{1}{6 \cdot V} \frac{dn_{\text{H}^+}}{dt} = \frac{1}{3V} \frac{dn_{\text{Br}_2}}{dt}.$$

Скорость по определению является положительной величиной, поскольку $dn_i > 0$; знак минус в вышеприведенных выражениях указывает на расходование исходных веществ в течение реакции. Соотношение (4.6) с учетом формулы (4.3) принимает вид

$$W = r = \frac{1}{V} \frac{d\xi}{dt}. \quad (4.7)$$

Уравнение (4.7) наглядно показывает, что значение скорости W или r не зависит от природы вещества, выбранного для определения

скорости. Если объем реакционной системы постоянен, то его можно ввести под знак дифференциала в соотношение (4.6) и получить другое, наиболее часто используемое выражение

$$W = r = \frac{1}{v_i \cdot V} \frac{dn_i}{dt} = \frac{1}{v_i} \left(\frac{dn_i}{V dt} \right) = \frac{1}{v_i} \left(\frac{dc_i}{dt} \right), \quad (4.8)$$

где $c_i = \frac{n_i}{V}$ – концентрация компонента B_i , моль \cdot л $^{-1}$.

Для реакции в газовой фазе при постоянном объеме стремление выразить скорость реакции через парциальные давления требует аккуратности. Для идеального газа можно записать

$$p_i V = n_i RT \text{ или } p_i = n_i RT / V = c_i RT.$$

Тогда, если $T = \text{const}$, то p_i прямо пропорционально c_i и, следовательно, можно записать $\frac{1}{v_i} \frac{dp_i}{dt} \sim \frac{1}{v_i} \frac{dc_i}{dt}$. Эти соотношения принимают другой вид, если в газовой фазе $p = \text{const}$.

Экспериментальным путем для реакций, протекающих при постоянной температуре, было показано, что скорость реакции в каждый момент времени пропорциональна произведению текущих концентраций взаимодействующих веществ, возведенных в определенные степени. Этот эмпирический закон получил название основного постулата химической кинетики и был впервые сформулирован К. Гульдбергом и П. Вааге в 1879 году в виде общего выражения кинетической формы закона действующих масс [26 – 28].

Для реакции (4.1) запишем кинетическое уравнение

$$W = r = k \prod_i c_i^{\alpha_i}, \quad (4.9)$$

где k – коэффициент пропорциональности, который не зависит от концентраций реагирующих веществ, но зависит от температуры; c_i – концентра-

ции реагентов; α_i – экспериментально определяемые показатели степени при концентрации i -го компонента реагирующих веществ.

По предложению Я. Вант-Гоффа k называют константой скорости, коэффициент α_i – порядком реакции по веществу B_i , $\sum_i \alpha_i = n$ – порядком реакции в целом. При этом размерность $[k]$ константы скорости составляет $[k] = [c]^{1-n} [t]^{-1}$. Часто используют термин «псевдо-» или «наблюдаемый порядок» реакции, если в ходе реакции концентрации одного или нескольких реагентов остаются практически постоянными.

Наряду с термином «порядок реакции» Я. Вант-Гофф ввел понятие «молекулярность», отражающее число молекул в одном элементарном реакционном акте. Именно с этим числом связана классификация реакций – моно-, би- и тримолекулярные реакции.

Различие важных в биохимической кинетике понятий «порядок» и «молекулярность» заключается в следующем:

– молекулярность указывает на конкретное число частиц (атомов и/или молекул), участвующих в элементарной реакции; она принимает целочисленные значения $M = 1, 2, 3$ поскольку вероятность одновременного столкновения четырех и более молекул близка к нулю; понятие «молекулярность» применимо к любой сложной реакции;

– «порядок» реакции – математическое число, формальная величина, принимающая любые значения, в гомогенной среде обычно изменяется от 0,5 до 4; порядок зависит от механизма сложной реакции и, следовательно, от влияющих на него переменных состояния (концентраций, рН среды, давления, температуры, активности катализатора).

Механизмом биохимической реакции называют совокупность элементарных стадий, составляющих процесс превращения исходных реагентов в конечные продукты.

При изучении кинетики сложных биохимических реакций решают две задачи: *прямую* и *обратную*.

Прямая задача: на основании известного механизма и констант скорости каждой элементарной стадии биохимической реакции кинетического закона действующих масс составляют систему дифференциальных уравнений кинетики, решение которой (в квадратурах или численными методами) позволяет получить интегральное кинетическое уравнение, выраженное через концентрации исходных реагентов и продуктов реакции.

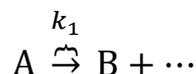
Обратная задача: на основании экспериментально полученных кинетических кривых проверяют предполагаемый механизм реакции, определяют порядок и константу скорости каждой из ее стадий. Эта задача часто оказывается достаточно сложной и неоднозначной.

Кинетика односторонних (необратимых) реакций разных порядков. Для нахождения кинетического закона изучаемой реакции при постоянной температуре необходимо записать выражения (4.6) или (4.8) в случае закрытой системы для скорости реакции и выражение (4.9) для основного постулата биохимической кинетики. Приравнивая их, получаем дифференциальное уравнение, связывающее концентрации c_i веществ и время t :

$$\frac{1}{\nu_i} \frac{dc_i}{dt} = k \prod_i c_i^{\alpha_i}. \quad (4.10)$$

Интегрирование выражения (4.10) после разделения переменных при известных значениях α_i и ν_i приводит к математической зависимости между c_i и t , что позволяет сравнивать рассчитанные по этому уравнению значения $c_i(t)$ с экспериментальными кинетическими кривыми $c_i^{\text{э}}(t)$.

Реакции первого порядка. К ним относятся реакции изомеризации, разложения соединений в газовой фазе, например $(C_2H_5)_2O$, $CH_3N = NCH_3$. Рассмотрим схему этой реакции согласно уравнению



количество вещества (моль) $t = 0$ n_0 $[A]_0 = \frac{n_0}{V} = a$,

количество вещества (моль) t $n_0 - x$ $[A] = \frac{n_0 - x}{V} = a - x$,

где A – исходное вещество; B – продукт, $x = \frac{\xi}{V}$.

Согласно схеме уравнение (4.10) запишется в виде

$$-\frac{d[A]}{dt} = -\frac{d(a-x)}{dt} = \frac{dx}{dt} = k_1(a-x).$$

Разделяя переменные x и t , получим

$$\frac{dx}{a-x} = k_1 dt.$$

Интегрирование последнего уравнения в пределах соответственно от 0 до x и от 0 до t дает $-\ln(a-x) = k_1 t + \text{const}$; с учетом начальных условий при $t = 0$, $x = 0$ – $\text{const} = -\ln a$. Следовательно, после подстановки получаем искомое кинетическое уравнение

$$\ln a - \ln(a-x) = \ln \frac{a}{a-x} = k_1 t.$$

Потенцирование последнего выражения позволяет получить зависимость концентраций исходного вещества и продукта от времени

$$[A] = a - x = a \cdot \exp(-k_1 t) \text{ и } [B] = x = a \cdot [1 - \exp(-k_1 t)].$$

Выражение для расчета константы скорости реакции первого порядка находится из уравнения $\ln \frac{a}{a-x} = k_1 t$:

$$k_1 = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}.$$

Размерность константы k_1 по определению $[k_1] = [c]^{1-n}[t]^{-1} = [t]^{-1}$; обычно $[k_1] = \text{с}^{-1}$ или мин^{-1} . Обратим внимание на то, что в последнем выражении отношение начальной и текущей концентраций (или количеств) реагента может быть заменено на отношение любых величин, пропорциональных числу молей.

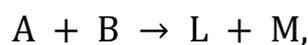
В биохимической кинетике для характеристики скорости процесса превращения вещества широко используют понятие времени полупревращения $t_{1/2}$, где $t_{1/2}$ – время, необходимое для превращения половины количества исходного реагирующего вещества. Для реакции первого порядка необходимо подставить в формулу $k_1 = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$ значения $x = a/2$, $t = t_{1/2}$, в результате получим

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_1} = 0,693/k_1.$$

Как видно из полученной формулы, время $t_{1/2}$ для реакции первого порядка зависит только от значения константы скорости и не зависит от начальной концентрации реагента.

Реакции второго порядка. К ним относятся многие гомогенные реакции в газовой и жидкой фазах, например реакции разложения и образования йодоводорода, омыления этилацетата щелочью, димеризации циклопентадиена, а также большая группа бимолекулярных реакций с участием атомов и свободных радикалов [28].

При рассмотрении реакций второго порядка предположим, что реакция имеет первый порядок по каждому из двух реагентов и оба вещества реагируют в эквивалентных соотношениях. Используя принятые ранее обозначения для концентраций, по аналогии запишем схему реакции



$$t = 0 \quad a \quad b,$$

$$t \quad (a - x) \quad (b - x).$$

В этом случае дифференциальное уравнение кинетики примет вид

$$-\frac{d(a-x)}{dt} = \frac{dx}{dt} = k_2(a-x)(b-x),$$

где k_2 – константа скорости реакции второго порядка.

Разделение переменных приводит к уравнению вида

$$\frac{dx}{(a-x)(b-x)} = k_2 dt.$$

Размерность константы скорости реакции второго порядка $[k_2] = [c]^{1-n} \cdot [t]^{-1}$, т.е. константа выражается в моль⁻¹ · л · с⁻¹, причем численное значение константы зависит от выбора единиц концентрации.

Понятие времени полупревращения $t_{1/2}$ однозначно применимо только для случаев, когда одно вещество превращается по второму порядку или два соединения присутствуют в реакционной системе в одинаковых концентрациях. Для этих случаев кинетическое уравнение $\frac{dx}{(a-x)(b-x)} = k_2 dt$ превращается в уравнение $\frac{dx}{(a-x)^2} = k_2 dt$, которое легко интегрируется с учетом начальных условий (при $t = 0 \quad x = 0$) и принимает вид интегрального кинетического уравнения $\frac{1}{(a-x)} - \frac{1}{a} = k_2 t$. Преобразуем последнее выражение к виду $k_2 = \frac{1}{t} \frac{x}{a(a-x)}$. Подставляя в последнюю формулу значение $x = a/2$ для $t = t_{1/2}$, получим $t_{1/2} = \frac{1}{a \cdot k_2}$.

Для реакции второго порядка ($c_A = c_B$) время полупревращения обратно пропорционально константе скорости реакции и начальной концентрации реагирующего вещества.

Пусть концентрации $[A]$ и $[B]$ первоначально различны, т.е. $a \neq b$.

В этом случае интегрирование уравнения $\frac{dx}{(a-x)(b-x)} = k_2 dt$ проводят методом неопределенных коэффициентов и с учетом начальных условий приходят к искомому интегральному кинетическому уравнению

$$\frac{1}{b-a} \ln \left(\frac{a(b-x)}{b(a-x)} \right) = k_2 t.$$

Интересен случай, когда концентрация $b \gg a$. Поскольку $x < a$, то можно считать, что $(b-a)$ и $(b-x) \approx b$, и кинетическое уравнение существенно упрощается: $\ln \left(\frac{a}{a-x} \right) = bk_2 t = k_1 t$.

Идентичность кинетических уравнений $\ln \left(\frac{a}{a-x} \right) = bk_2 t = k_1 t$ и $\ln \frac{a}{a-x} = k_1 t$ указывает на то, что в данном случае речь идет о кажущейся реакции первого порядка с константой скорости $k_1 = bk_2$. Это означает, что если реакция, имеющая кинетический первый порядок по каждому из реагентов, осуществляется в присутствии избытка одного из них, концентрация второго реагента будет убывать по экспоненциальному закону со скоростью, пропорциональной концентрации реагента, взятого в избытке.

Реакции n-го порядка. В этом случае дифференциальное и интегральное кинетические уравнения легко получить, если все реагенты первоначально присутствуют в равных количествах и взаимодействуют в эквивалентных соотношениях [28]. В этом случае дифференциальное уравнение скорости реакции n-го порядка запишется так:

$$-\frac{d(a-x)}{dt} = \frac{dx}{dt} = k_n (a-x)^n.$$

Разделяя переменные и интегрируя в пределах от 0 до x и соответственно от 0 до t , для $n \neq 1$ получим интегральное кинетическое уравнение

$$\frac{1}{(n-1)} \left[\frac{1}{(a-x)^{n-1}} - \frac{1}{a^{n-1}} \right] = k_n t$$

или

$$k_n = \frac{1}{t} \frac{1}{(n-1)} \frac{a^{n-1} - (a-x)^{n-1}}{a^{n-1}(a-x)^{n-1}}.$$

Размерность константы скорости реакции n -го порядка:

$$[\text{концентрация}]^{1-n} [\text{время}]^{-1}.$$

Общее выражение для времени полупревращения реакции получим из уравнения кинетики путем подстановки $x = a/2$ при $t = t_{1/2}$:

$$t_{1/2} = \frac{1}{k_n} \left(\frac{1}{n-1} \frac{2^{n-1}-1}{a^{n-1}} \right).$$

Как видно из формулы, для любой реакции, порядок которой отличен от единицы, время полупревращения реакции обратно пропорционально начальной концентрации реагента, возведенной в степень $(n-1)$.

Рассмотрим частный случай реакций нулевого порядка, которые встречаются в гетерогенных и фотохимических процессах. Подставляя значение $n = 0$ в кинетическое уравнение $\frac{1}{(n-1)} \left[\frac{1}{(a-x)^{n-1}} - \frac{1}{a^{n-1}} \right] = k_n t$, после соответствующих преобразований получим выражение

$$a - x = a - k_0 t,$$

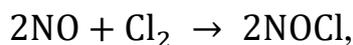
где k_0 – константа скорости реакции нулевого порядка; размерность $[k_0] = [c]^1 [t]^{-1}$, например $\left[\frac{\text{моль}}{\text{л} \cdot \text{с}} \right]$. Очевидно, что текущая концентрация исходного вещества в этом случае линейно уменьшается со временем.

Время полупревращения реакции нулевого порядка находят путем подстановки значения $n = 0$ в уравнение $t_{1/2} = \frac{1}{k_n} \left(\frac{1}{n-1} \frac{2^{n-1}-1}{a^{n-1}} \right)$:

$$t_{1/2} = a/2k_0,$$

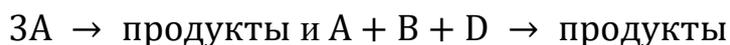
т.е. время полупревращения обратно пропорционально константе скорости и прямо пропорционально начальной концентрации реагента.

К числу реакций третьего порядка относятся реакции оксида азота (II) с галогенами, водородом и кислородом, например



а также большая группа процессов рекомбинации свободных атомов и радикалов при участии третьей частицы.

Рассмотрим вначале реакции типа [28]



при условии, что начальные концентрации исходных веществ равны: $[\text{A}]_0 = [\text{B}]_0 = [\text{D}]_0 = c_0$. Дифференциальное кинетическое уравнение примет вид

$$-\frac{dc}{dt} = kc^3.$$

Его интегрирование после разделения переменных приводит к соотношению

$$\frac{1}{2} \left(\frac{1}{c^2} - \frac{1}{c_0^2} \right) = kt.$$

Из последнего уравнения после замены t на $t_{1/2}$ и c на $c_0/2$ получим выражение для времени полупревращения:

$$t_{1/2} = 3/(2kc_0^2).$$

Размерность константы скорости реакции третьего порядка $c^{-2}t^{-1}$ и, как правило, приводится в моль⁻² · л² · с⁻¹.

Для реакции типа $2\text{A} + \text{B} \rightarrow \text{продукты}$, если $[\text{A}]_0 \neq [\text{B}]_0$ или $[\text{A}]_0 \neq 2[\text{B}]_0$, дифференциальное кинетическое уравнение запишется так:

$$-\frac{d[\text{A}]}{dt} = k[\text{A}]^2[\text{B}].$$

После интегрирования конечное выражение принимает вид

$$\frac{2}{(2[\text{B}]_0 - [\text{A}]_0)^2} \left[\frac{2(2[\text{B}]_0 - [\text{A}]_0)([\text{A}]_0 - [\text{A}])}{[\text{A}]_0[\text{A}]} + \ln \frac{[\text{B}]_0[\text{A}]}{[\text{A}]_0[\text{B}]} \right] = kt.$$

Для реакции типа $A + B \rightarrow$ продукты, если $[A]_0 \neq [B]_0$ и $-\frac{d[A]}{dt} = k[A]^2[B]$, получим интегральное кинетическое уравнение вида

$$\frac{1}{([B]_0 - [A]_0)^2} \left[\frac{([B]_0 - [A]_0)([A]_0 - [A])}{[A]_0[A]} + \ln \frac{[B]_0[A]}{[A]_0[B]} \right] = kt.$$

Для реакции $A + B + D \rightarrow$ продукты при условии, что $[A]_0 \neq [B]_0 \neq [D]_0$, дифференциальное уравнение кинетики запишется так:

$$-\frac{d[A]}{dt} = k[A][B][D],$$

а интегральное уравнение будет иметь вид

$$\frac{\ln([A]/[A]_0)}{([A]_0 - [B]_0)([D]_0 - [A]_0)} + \frac{\ln([B]/[B]_0)}{([A]_0 - [B]_0)([B]_0 - [D]_0)} + \frac{\ln([D]/[D]_0)}{([B]_0 - [D]_0)([D]_0 - [A]_0)} = kt.$$

На рисунке 4.1 показано влияние порядка реакции (от 0 до 2) на уменьшение текущей концентрации исходного вещества в зависимости от времени.

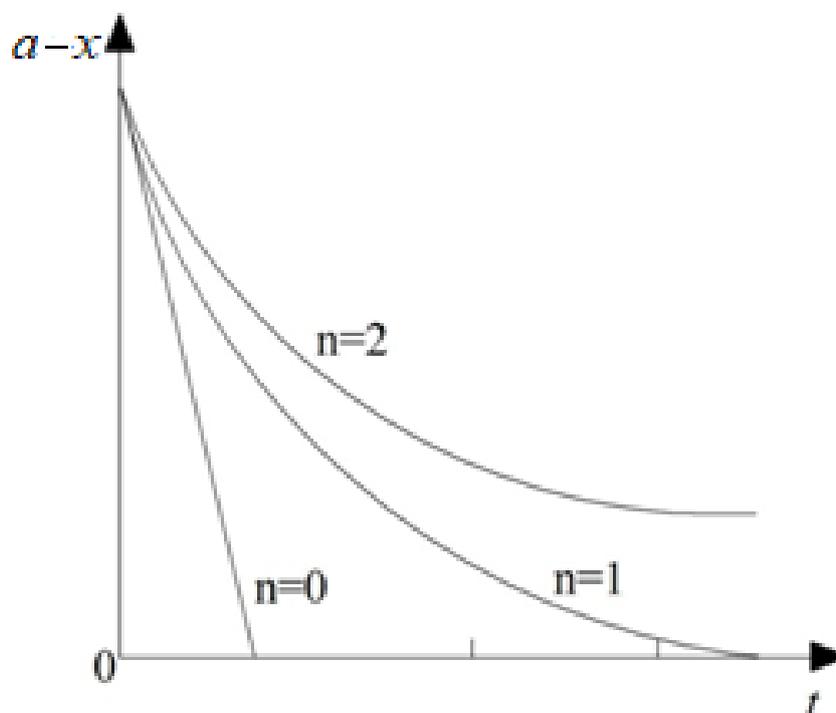
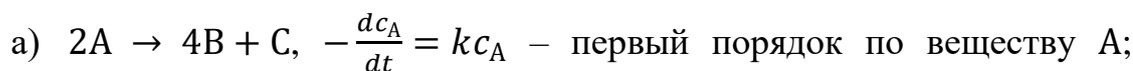
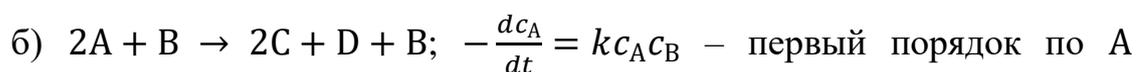


Рис. 4.1. Кинетические кривые реакций разных порядков для одинаковых концентраций исходных веществ

Пример 4.1. Укажите порядок приведенных ниже реакций отдельно по веществам и в целом:



общий порядок равен 1;



и В (катализатор); общий порядок равен 2;



общий порядок равен 3;



по В (ингибитор); общий порядок равен 0.

Пример 4.2. Для реакции типа $2A + B \rightarrow 2C$ получены следующие опытные данные:

	Опыт 1	Опыт 2	Опыт 3
$[A]_0$, М.	0,10	0,30	0,30
$[B]_0$, М.	0,20	0,40	0,80
W_0 , моль · л ⁻¹ · с ⁻¹	300	3600	14 400

Требуется получить кинетическое уравнение этой реакции и определить, совпадает ли оно со стехиометрическим уравнением.

Из опытов 2 и 3 видно, что при одинаковой концентрации [А] удвоение концентрации [В] приводит к увеличению скорости W_0 реакции в 4 раза. Из опытов 1 и 2 также видно, что увеличение скорости W_0 реакции в 12 раз происходит при увеличении концентрации [В] в 2 раза и [А] – в 3 раза. Следовательно, увеличение концентрации [А]

в 3 раза сопровождается ростом скорости также в 3 раза и основной постулат химической кинетики выразится следующим образом:

$$W = k[A][B]^2.$$

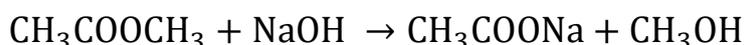
Кинетическое уравнение реакции не совпадает со стехиометрическим (это явление наблюдается в большинстве случаев, кроме элементарных реакций).

Реакция имеет первый порядок по веществу А и второй порядок – по В; общий порядок реакции равен 3.

Используя опытные данные, например опыта 1, можно определить k :

$$k = \frac{W_0}{[A]_0[B]_0^2} = \frac{300}{0,1 \cdot (0,2)^2} = 7,5 \cdot 10^4 \text{ л}^2 \text{ моль}^{-2} \text{ с}^{-1}.$$

Пример 4.3. Известно, что реакция омыления эфира



имеет второй порядок; при одинаковых исходных концентрациях реагентов $c_0 = 10^{-2}$ М через 10 мин прореагировало 20% эфира. Определить, сколько времени необходимо, чтобы подвергнуть омылению 20 и 50% эфира; вычислить концентрацию спирта CH_3OH , полученного через 30 мин протекания реакции.

Для реакции второго порядка при одинаковых начальных концентрациях реагентов интегральное уравнение кинетики имеет вид

$$\frac{1}{a-x} - \frac{1}{a} = k_2 t \rightarrow k_2 = \frac{x}{at(a-x)}.$$

Введем величину α , равную мольной доле прореагировавшего реагента (эфира), и из интегрального уравнения кинетики определим зависимость времени t протекания реакции от α :

$$t = \frac{1}{k_2} \frac{\alpha}{a(1-\alpha)}.$$

По полученной зависимости находим время, необходимое для превращения указанной в условии доли прореагировавшего эфира $\alpha = 0,5$:

$$t_{1/5} = \frac{1}{k_2 \cdot a} \frac{0,2}{(1-0,2)} = \frac{1}{4k_2 a} = 10 \text{ мин};$$

$$t_{1/2} = \frac{1}{k_2 \cdot a} \frac{0,5}{(1-0,5)} = \frac{1}{k_2 a}.$$

Далее находим отношение $t_{1/2}/t_{1/5} = 4$ и, следовательно, $t_{1/2} = 40$ мин.

Для вычисления концентрации спирта CH_3OH , полученного через 30 мин протекания реакции, из интегрального уравнения кинетики получим выражение

$$\frac{1}{a-x} - \frac{1}{a} = k_2 t \rightarrow \frac{x}{a-x} = k_2 a t.$$

На основании формулы $t_{1/2} = \frac{1}{k_2 a}$ находим значение $k_2 a = 1/t_{1/2} = \frac{1}{40}$ и подставляем его в последнее выражение с учетом того, что $t = 30$ мин:

$$\frac{x}{a-x} = k_2 a t = \frac{1}{40} \cdot 30 = \frac{3}{4} \rightarrow x = \frac{3}{7} a = \frac{3}{7} 10^{-2} = 4,29 \cdot 10^{-3} \text{ М}.$$

Пример 4.4. Для реакций разных порядков, протекающих при одинаковых концентрациях реагентов ($c_0 = 1 \text{ М}$), половина исходного вещества превращается за время, равное $t_{1/2}$. Требуется оценить время (выразить в $t_{1/2}$), за которое практически все количество исходного вещества превратилось в продукты:

- а) в реакции нулевого порядка;
- б) в реакции первого порядка;
- в) в реакции второго порядка.

Пусть c_0 и c соответственно начальная (при $t = 0$) и текущая концентрации в момент времени t :

а) запишем интегральное кинетическое уравнение реакции нулевого порядка: $c = c_0 - k_0 t$; выразим k_0 через $t_{1/2}$:

$$k_0 = \frac{c_0}{2 \cdot t_{1/2}}.$$

Перепишем интегральное кинетическое уравнение в следующем виде:

$$t = \frac{c_0 - c}{k_0} = \frac{(c_0 - c)}{c_0} \cdot 2 \cdot t_{1/2}.$$

Если исходное вещество разлагается практически полностью, то $c \rightarrow 0$, а $t \rightarrow 2 \cdot t_{1/2}$, и время превращения будет равно $2 \cdot t_{1/2}$;

б) аналогично п. а) запишем два выражения для реакции первого порядка $\ln \frac{c_0}{c} = k_1 t$, $k_1 = \frac{0,693}{t_{1/2}}$ и выразим через них время t :

$$t = \frac{1}{k} \ln \frac{c_0}{c} = \left(\ln \frac{c_0}{c} \right) \frac{t_{1/2}}{0,693}.$$

Рассмотрим случай, когда исходное вещество утилизируется на 99,99%, т.е. $c = 0,01\%$ или $c = 0,0001$. Подставляя значение $c = 0,0001$ в формулу для времени t , получим

$$t = \left(\ln \frac{1}{10^{-4}} \right) \frac{t_{1/2}}{0,693} = 13,3 t_{1/2};$$

в) интегральное кинетическое уравнение для реакции второго порядка при одинаковых начальных концентрациях реагентов (по условию) имеет вид

$$\frac{1}{c} = \frac{1}{c_0} + k_2 t \rightarrow k_2 = \frac{1}{c_0 t_{1/2}}.$$

Используя эти выражения, получим

$$t = \frac{(c_0 - c)}{c \cdot c_0} \cdot \frac{1}{k_2} = \frac{c_0 - c}{c} \cdot t_{1/2}.$$

Как и в случае реакции первого порядка, данная реакция может протекать полностью при $t \rightarrow \infty$. Рассмотрим случай, когда исходные вещества превращаются на 99%, т.е. $c = 0,01$. Подставляя c_0 и c в выражение для времени, находим

$$t = \frac{c_0 - c}{c} t_{1/2} = \frac{1 - 0,01}{0,01} t_{1/2} = 99 t_{1/2}.$$

Проведенные расчеты указывают на существенное замедление протекания процессов для реакций более высоких порядков.

Способы определения порядка реакций из опытных данных [26 – 28]. Экспериментальный метод исследования в случае, если в реакции участвуют два или более реагентов состоит в следующем: все реагирующие вещества берутся в равных количествах (концентрациях). Методы обработки данных разделяются на две группы в зависимости от того, используют ли они интегральное кинетическое уравнение.

1. Способ подстановки позволяет установить соответствие опытных данных одному из интегральных кинетических уравнений. На практике используют алгебраический и графический варианты способа. Алгебраический вариант заключается в проверке справедливости того или иного кинетического уравнения: проводится расчет константы скорости последовательно для реакций разных порядков (от 0 до 3). В случае, когда при подстановке опытных значений рассчитанные значения константы приближаются к некоторой постоянной величине (с учетом ошибки опытных данных), считают, что изучаемая реакция в целом имеет искомый порядок. Если ни одно из кинетических уравнений не дают удовлетворительного результата, можно сделать заключение о более сложном характере реакции, порядок которой может быть дробным или отрицательным. В целом способ подстановки экспериментальных данных (c_i^3, t_i) дает надежные

результаты для реакций, степень превращения в которых достигает ~ 70 ... 90 %.

Графический вариант способа определения порядка реакции заключается в построении для реакций (0 ... 3)-го порядков зависимостей $(a - x)$, $\ln(a - x)$, $(a - x)^{-1}$ и $(a - x)^{-2}$ от времени: если экспериментальные данные описываются уравнением прямой в соответствующих спрямляющих координатах, можно считать, что данная реакция отвечает искомому порядку. При этом численные значения констант скорости определяют по тангенсу угла наклона каждой прямой, как это показано на рис. 4.2.

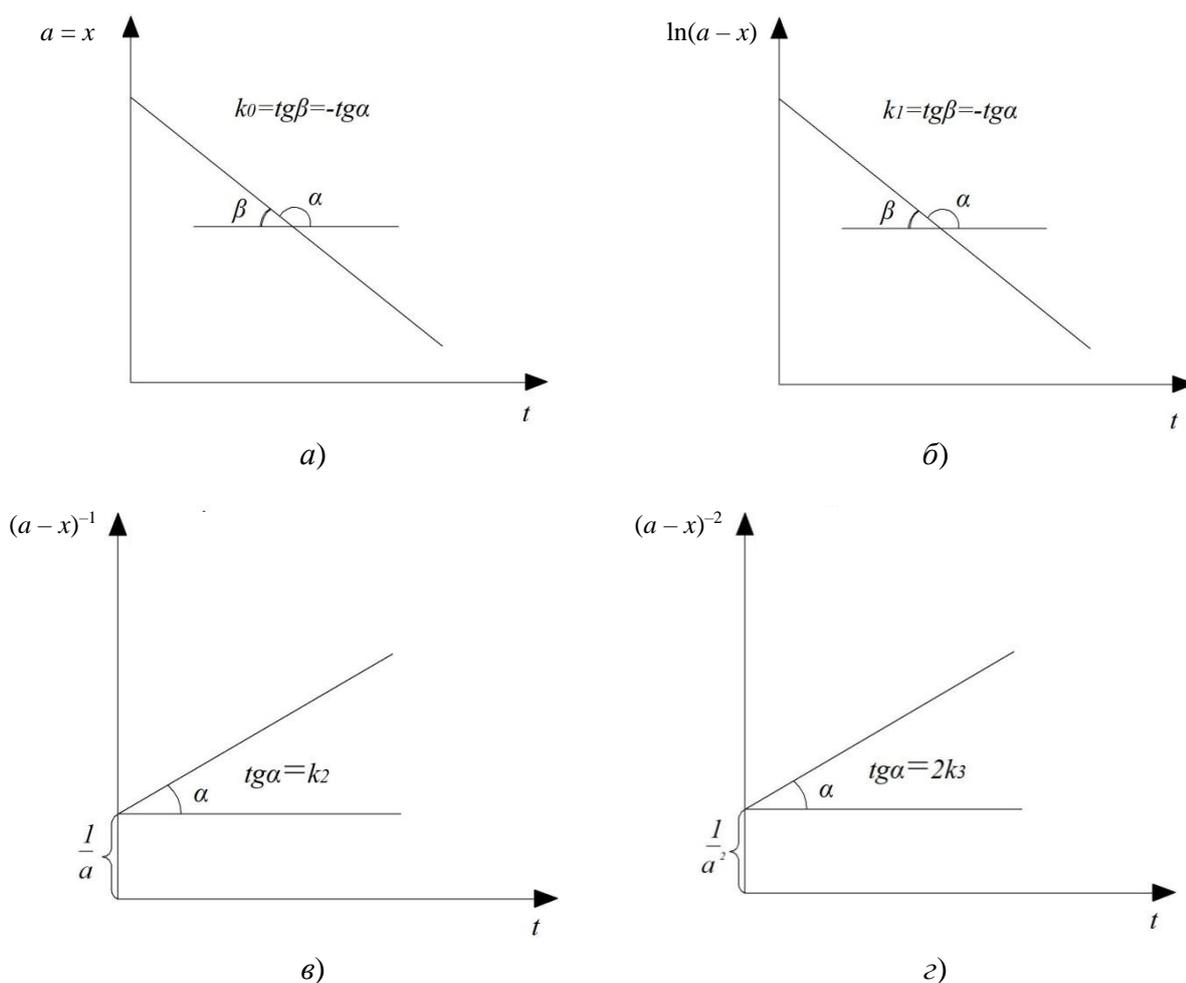


Рис. 4.2. Графический способ определения порядка реакции:

a – при $n = 0$; $б$ – при $n = 1$; $в$ – при $n = 2$; $г$ – при $n = 3$

2. Способ определения порядка реакции по времени полупревращения. Для реакции n -го порядка время полупревращения выражается формулой

$$t_{1/2} = \frac{2^{n-1}-1}{k_n(n-1)a^{n-1}}.$$

Произведение времени полупревращения на кинетически активную начальную концентрацию a исходного, возведенную в степень $(n-1)$, является постоянной величиной:

$$t_{1/2}a^{n-1} = \frac{2^{n-1}-1}{k_n(n-1)} = \text{const.}$$

Следовательно, для двух опытов, отличающихся начальной концентрацией исходного вещества, можно записать

$$(t_{1/2})_1 a_1^{n-1} = (t_{1/2})_2 a_2^{n-1}.$$

Логарифмируя последнее выражение, получим

$$n = 1 - \frac{\ln(t_{1/2})_2 / (t_{1/2})_1}{\ln(a_2/a_1)}.$$

Отметим, что этот способ позволяет найти любые значения порядка реакции, включая дробные и отрицательные величины. Можно применить графическую разновидность указанного способа, логарифмируя выражение $t_{1/2} = \frac{1}{k_n} \frac{1}{n-1} \frac{2^{n-1}-1}{a^{n-1}}$:

$$\ln t_{1/2} = \ln \frac{2^{n-1}-1}{k_n(n-1)} - (n-1) \ln a.$$

Строя зависимости $\ln t_{1/2}$ от $\ln a$, находят порядок реакции по угловому коэффициенту прямой ($n = 1 - \text{tg}\alpha$) и константу скорости по отрезку, отсекаемому построенной прямой на оси ординат (рис. 4.3).

Напомним, что время полупревращения $t_{1/2}$ не зависит от начальной концентрации исходного вещества. Следовательно, если на основании опытных данных $t_{1/2}$ не зависит от начальной концентрации реагента, то реакция имеет первый порядок.

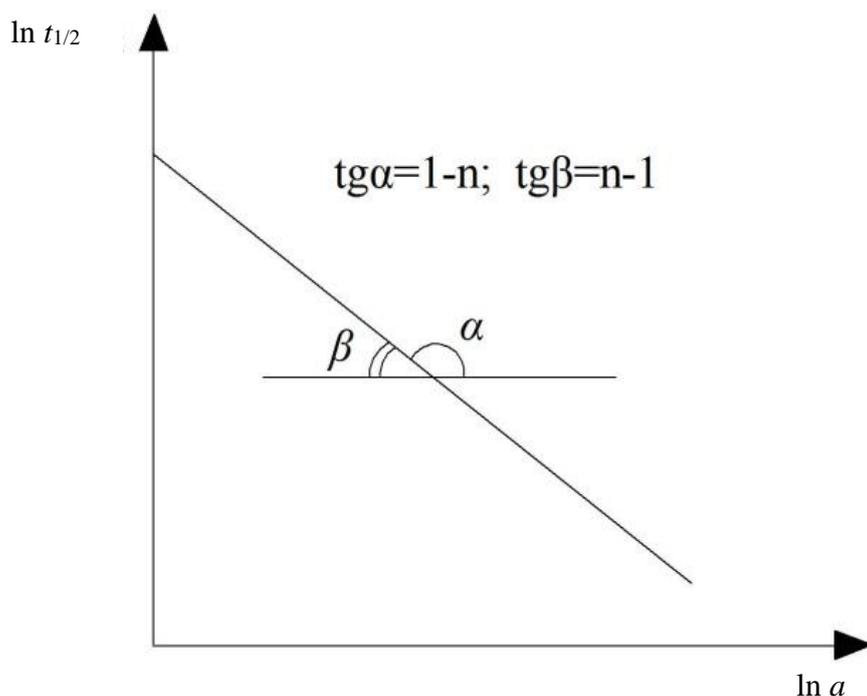


Рис. 4.3. Зависимость логарифма времени полупревращения $t_{1/2}$ от логарифма начальной концентрации

Пример 4.5. При изучении реакции между пиридином и йодистым этилом $C_5H_5N + C_5H_5I = C_7H_{10}N^+ + I^-$ при одинаковых концентрациях двух реагентов ($c_0 = 0,1$ М) измерялась концентрация ионов I^- через определенные промежутки времени:

t, c	235	465	720	1040	1440	1920	2370
$[I^-] \cdot 10^3, M$	15	26	35	44	52	59	64

Требуется определить порядок реакции и вычислить значение константы скорости реакции.

Ион йода I^- является продуктом реакции; приведенные в условии его концентрации позволяют рассчитать концентрации пиридина и йодистого этила с учетом стехиометрических коэффициентов реакции:

t, c	0	235	465	720	1040	1440	1920	2370
$[C_5H_5N] \cdot 10^3, M$	100	85	74	65	56	48	41	36

Для нахождения порядка реакции рассмотрим случаи $n = 1$ и $n = 2$; рассчитаем и построим графически зависимости $\ln[C_5H_5N]$ (для реакции первого порядка) и $[C_5H_5N]^{-1}$ (для реакции второго порядка) от времени t :

t, c	0	235	465	720	1040	1440	1920	2370
$\ln\{[C_5H_5N], M\}$	-2,30	-2,47	-2,60	-2,73	-2,88	-3,04	-3,19	-3,32
$[C_5H_5N]^{-1}, M^{-1}$	10,0	11,8	13,5	15,4	17,9	20,8	24,4	27,8

На рисунке 4.4 представлены зависимости в координатах $(\ln[C_5H_5N], t)$ – для реакции первого порядка и $([C_5H_5N]^{-1}, t)$ – для реакции второго порядка. Анализ графиков позволяет сделать вывод о том, что зависимость $([C_5H_5N]^{-1}, t)$ имеет линейный характер, и, следовательно, порядок реакции можно принять равным 2. Константу скорости находят как тангенс угла наклона прямой, в данном случае $k = 7,52 \cdot 10^{-3} \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$. Заметим, что графический способ позволяет обычно найти соответствие между опытными данными и кинетическими уравнениями реакций целочисленных порядков.

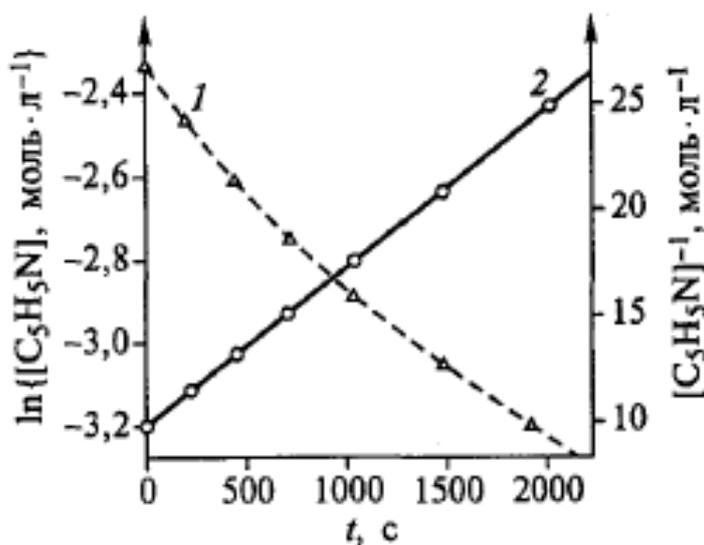


Рис. 4.4. Графический способ определения соответствия между опытными данными и кинетическими уравнениями реакций целочисленных порядков:

1 – первого порядка (шкала слева); 2 – второго порядка (шкала справа)

Алгебраический способ определения порядка реакции заключается в подстановке в интегральное кинетическое уравнение экспериментальных данных. Например, при использовании уравнения реакции первого порядка в виде $k_1 = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$ получены следующие значения $k_1 \cdot 10^4 \text{с}^{-1}$: 6,92; 6,48; 5,98; 5,56; 5,10; 4,64; 4,31; поскольку величина k_1 монотонно убывает с течением времени, она не может являться константой скорости, т.е. реакция не подчиняется кинетике первого порядка.

Используем теперь интегральное кинетическое уравнение для реакции второго порядка:

$$k_2 = \frac{1}{t} \frac{x}{a(a-x)}.$$

Подставляя в правую часть последнего уравнения опытные данные $a, a - x, x$ и t , получим следующие значения $k_2 \cdot 10^3 \text{л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$: 7,51; 7,56; 7,48; 7,55; 7,52; 7,49; 7,50. Видно, что значение константы скорости колеблется около среднего значения $k_2 = 7,51 \cdot 10^{-3} \text{л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$; следовательно, реакция подчиняется кинетике второго порядка.

Зависимость скорости реакции от температуры. Первые количественные измерения температурной зависимости скорости химической реакции выполнил С. Аррениус в 1889 году; он опубликовал статью, в которой проанализировал опытные данные восьми различных исследований, посвященных температурной зависимости скорости реакции, и эмпирические уравнения, предлагавшиеся авторами для описания экспериментальных данных [26 – 28]. На основании предложенного им уравнения

$$k = A \cdot \exp(-E_a/RT),$$

где A, E – не зависящие от температуры параметры уравнения; E_a – энергия активации реакции; R – универсальная газовая постоянная.

Аррениус С. рассматривал для каждой реакции отношение констант скоростей при различных температурах, т.е. отношение

$$\frac{k_1(T_1)}{k_0(T_0)} = \exp \left[-C \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_0} \right) \right],$$

где $C = E_a/R$.

Это позволило ему для каждой реакции определить константу $C = E_a/R$ и затем вычислить по уравнению значения констант скорости $k(T)$ для температур, по которым имелись экспериментальные данные. Заслугой С. Аррениуса является введение в уравнение $k = A \cdot \exp(-E_a/RT)$ вместо определяемой из опыта постоянной $C = E_a/R$ новой величины, названной им энергией активации E_a . Уже к началу XX века уравнение Аррениуса стало в кинетических исследованиях общепринятым феноменологическим уравнением, достаточно точным для многих реакций.

Термодинамическое обоснование температурной зависимости константы скорости впервые было дано Я. Вант-Гоффом. Выведенное им уравнение изохоры имеет вид

$$\frac{d \ln K_c}{dT} = \frac{\Delta U^0}{RT^2},$$

где K_c – константа равновесия элементарной реакции; ΔU^0 – стандартное изменение внутренней энергии. Полагая, что $\Delta U^0 = E_{a(1)} - E_{a(-1)}$ и для выбранного небольшого интервала температур величины $E_{a(1)}$ и $E_{a(-1)}$ не зависят от температуры, можно записать уравнение

$$\frac{d \ln k}{dT} = \frac{E_a}{RT^2},$$

которое называют дифференциальной формой уравнения Аррениуса [28].

По Аррениусу, энергия активации E_a для каждой реакции указывает на тот избыток внутренней энергии (по сравнению со средней энергией

всех молекул), которым должны обладать молекулы для протекания реакции. Если реакция экзотермическая и $\Delta U^0 < 0$, то $E_{a(1)} < E_{a(-1)}$ и энергия активации $E_{a(1)}$ прямой реакции меньше $E_{a(-1)}$ обратной реакции. При недостаточном отводе выделяющейся теплоты из реактора доля энергетически активных молекул реакционной смеси с ростом температуры возрастает, что приводит к увеличению скорости реакции.

Интегрирование уравнения $\frac{d \ln k}{dT} = \frac{E_a}{RT^2}$ в небольшом интервале температур, либо логарифмирование уравнения $k = A \cdot \exp(-E_a/RT)$ приводят к идентичному выражению

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T},$$

используемому для расчета «аррениусовских» параметров – энергии активации E_a и предэкспоненциального множителя A по опытным данным. Если экспериментально найденные значения константы скорости в координатах $\ln k, 1/T$ с заданной точностью описываются уравнением прямой в небольшом интервале температур ($T_1 \leq T \leq T_2$), то можно сделать вывод о справедливости уравнения Аррениуса $k = A \cdot \exp(-E_a/RT)$ для изучаемой реакции и графически определить параметры A и E_a , как это показано на рис. 4.5.

Предэкспоненциальный множитель и энергию активации можно вычислить аналитическим путем, если известны значения $k(T)$ при различных температурах. В этом случае из уравнения $\ln k = \ln A - \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T}$ получим

$$\ln \frac{k_1}{k_2} = \frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right),$$

откуда $E_a = \frac{RT_1 T_2}{(T_2 - T_1)} \ln \frac{k_2}{k_1}$ и с учетом формулы $\ln k = \ln A - \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T}$:

$$\ln A = \ln k + \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T}.$$

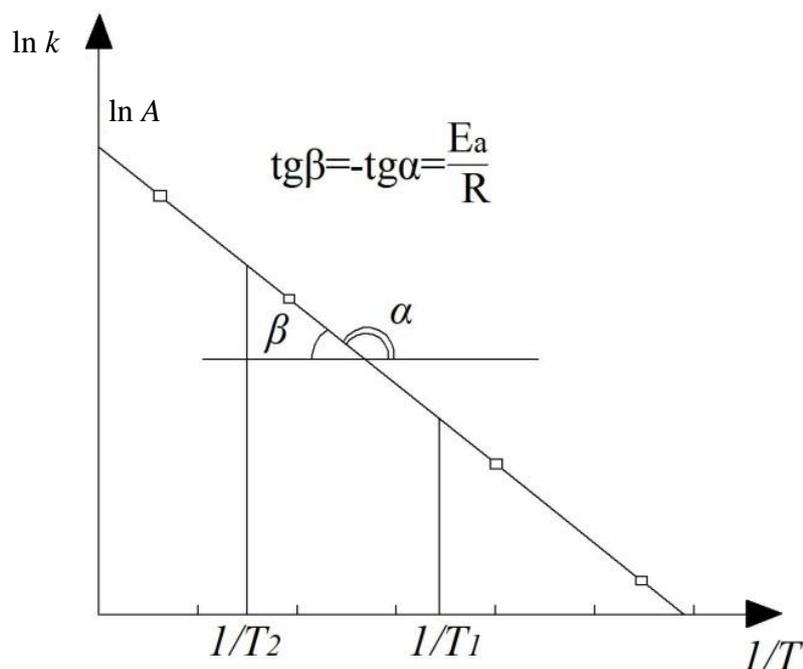


Рис. 4.5. Определение параметров уравнения Аррениуса в координатах $[\ln k, 1/T]$

Практическое использование этих методов в широком температурном диапазоне показало, что зависимость $\ln k$ от $1/T$ перестает быть линейной, т.е. параметры A и E_a зависят от температуры.

На феноменологическом уровне наблюдаются отклонения от классического уравнения Аррениуса для нескольких классов реакций по ряду причин, к которым относятся: изменение механизма реакции; квантовые эффекты; эффекты, обусловленные неравновесностью реакционной системы. В связи с этим в настоящее время применяют модифицированное уравнение Аррениуса [26 – 28]

$$k(T) = AT^n \exp[-E_a/(RT)],$$

которое включает три параметра: A , E_a и n .

К преимуществам использования последнего уравнения относятся:

- простая, но достаточно эффективная математическая структура уравнения;

– возможность описания «конкуренции» между кинетической энергией RT поступательных степеней свободы и энергией «химического сопротивления» E_a ;

– разнообразие форм получаемых зависимостей k от T .

Пример 4.6. Необходимо определить при температуре 273 К константу скорости реакции, энергия активации которой равна 160 кДж·моль⁻¹. С какой допустимой погрешностью следует измерять температуру, чтобы получить значение константы скорости с точностью до 2%?

Используем дифференциальную форму уравнения Аррениуса:

$$\frac{d \ln k}{dT} = \frac{dk}{k dT} = \frac{E_a}{RT^2} \rightarrow \frac{dk}{k} = \frac{E_a}{RT^2} dT.$$

Переходя от бесконечно малых к конечным величинам, получим следующее выражение: $\frac{\Delta k}{k} = \frac{E_a}{RT^2} \Delta T$ или $\Delta T = \frac{\Delta k}{k} \frac{RT^2}{E_a}$. Подставим численные значения всех величин согласно условию и получим

$$\Delta T = \frac{0,02 \cdot 8,314 \cdot 273^2}{1,6 \cdot 10^5} \approx 0,08 \text{ К.}$$

Запишем уравнение Аррениуса в двух формах:

$$k = A \cdot \exp(-E_a/RT) \text{ и } \ln k = \ln A - E_a/RT$$

и построим зависимость в координатах $\ln k = f(1/T)$. В случае получения прямой линии по угловому коэффициенту прямой находим величину $-E_a/R$ и по отрезку, отсекаемому на оси ординат, $\ln A$. Запишем необходимые величины, по которым будем строить график в координатах $\ln k = f(1/T)$:

$T, ^\circ\text{C}$	35,0	40,0	45,0	50,0	54,0	57,0	61,2
$T, \text{К}$	308,0	313,0	318,0	323,0	327,0	330,0	334,2
$334,2(1/T) \cdot 10^3$	3,246	3,195	3,145	3,096	3,058	3,030	2,992
$k \cdot 10^4, \text{с}^{-1}$	1,82	3,85	7,90	16,40	27,40	40,00	73,80
$\ln k$	-8,611	-7,862	-7,143	-6,413	-5,900	-5,521	-4,909

Из анализа графической зависимости находим, что тангенс угла наклона прямой равен $-14,57 \cdot 10^3$, откуда $E_a = -R \cdot \operatorname{tg} \alpha = 14,57 \cdot 10^3 \times 8,314 = 121,0$ кДж/моль. Отрезок, отсекаемый на оси ординат, равен 38,68, т.е. $\ln A = 38,68$; $A = 6,3 \cdot 10^{16} \text{ с}^{-1}$.

Пример 4.8. Некоторая реакция протекает при температуре 20 °С за 24 ч, а при 40 °С – за 4 ч. Требуется оценить время протекания реакции при температуре 60 °С, полагая, что время реакции обратно пропорционально константе скорости реакции.

Используем интегральную форму уравнения Аррениуса:

$$\ln \frac{k_2}{k_1} = \frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right),$$

откуда выразим энергию активации

$$E_a = R \frac{T_1 T_2}{T_2 - T_1} \ln \frac{k_2}{k_1}.$$

Поскольку по условию $\frac{k_2}{k_1} = \frac{t_1}{t_2}$, то после подстановки численных

значений в формулу получим

$$E_a = 8,314 \frac{293 \cdot 313}{313 - 293} \ln \frac{24}{4} = 68 \text{ кДж/моль}.$$

Зная E_a , используем формулу $E_a = R \frac{T_1 T_2}{T_2 - T_1} \ln \frac{k_2}{k_1}$ при температуре

60 °С для определения $\ln \frac{k_3}{k_1}$:

$$\ln \frac{k_3}{k_1} = \frac{E_a}{R} \frac{T_1 T_3}{T_3 - T_1} = \frac{6,8 \cdot 10^4 \cdot (333 - 293)}{8,314 \cdot 293 \cdot 333} = 3,3.$$

Осуществив снова замену отношения констант скорости на отношение времен протекания реакции при разных температурах, находим

$$\frac{k_3}{k_1} = \frac{t_1}{t_3} = 27; \quad t_3 = \frac{t_1}{27} = 0,9 \text{ ч} = 54 \text{ мин}.$$

4.2. КИНЕТИКА СЛОЖНЫХ РЕАКЦИЙ. ПРИНЦИП КВАЗИСТАЦИОНАРНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ. ПРИМЕРЫ¹

Сложными называют реакции, протекающие в несколько стадий, которые определенным образом связаны между собой через исходные вещества и промежуточные соединения. Изучение кинетики сложных реакций проводят с использованием, кроме основного, других постулатов химической кинетики. При этом важную роль играет *принцип независимости*: если в системе протекает несколько элементарных реакций, то каждая из них протекает независимо от других, подчиняясь основному постулату химической кинетики.

Принцип лимитирующей стадии: если процесс состоит из нескольких последовательных стадий, то стадия, константа скорости которой наименьшая, является лимитирующей, т.е. определяет скорость всего процесса.

К характерным признакам сложных реакций, отличающихся от элементарных стадий, относятся:

- несовпадение порядка реакций и стехиометрических коэффициентов;
- возможное изменение состава продуктов в зависимости от температуры, начальных концентраций и других условий;
- ускорение либо замедление процесса при добавлении в реакционную смесь небольших количеств веществ;
- влияние материала и размеров реакционного пространства на скорость реакции;

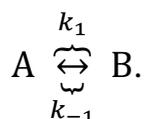
¹ Решаемые задачи приведены из учебного пособия (задачника) [29].

– существенное влияние на скорость процесса незначительного изменения условий проведения эксперимента.

Обратимые реакции. Реакции, в которых превращение реагентов в продукты сопровождается обратным процессом превращения продуктов в исходные вещества, называются обратимыми. С течением времени в таких реакциях устанавливается химическое равновесие [28].

1. Рассматривается процесс, в котором прямая и обратная реакции имеют первый порядок. Примерами служат реакции мутаротации глюкозы ($\alpha \leftrightarrow \beta$), енолизации кетонов ($R_1CH_2COR_2 \leftrightarrow R_1CHC(OH)R_2$), превращения тиоционата в тиомочевину ($NH_4NCS \leftrightarrow (NH_2)_2CS$).

Составляется материальный баланс для простейшей схемы:



Количество вещества в момент времени

$t = 0$	n_0	m_0
Концентрации при $t = 0$	$[A]_0 = \frac{n_0}{V} = a$	$[B]_0 = \frac{m_0}{V} = b$
Количество вещества в момент времени t	$n_0 - \xi$	$m_0 + \xi$
Концентрации при t	$[A] = \frac{n_0 - \xi}{V}$	$[B] = \frac{m_0 + \xi}{V}$
	$[A] = a - x$	$[B] = b + x$
	$x = \xi/V.$	

Записывается выражение для скорости обратимой реакции

$$W = -\frac{d[A]}{dt} = \frac{d[B]}{dt} = k_1[A] - k_{-1}[B]$$

или с учетом введенных обозначений

$$-\frac{d(a-x)}{dt} = \frac{dx}{dt} = k_1(a-x) - k_{-1}(b+x).$$

После разделения переменных получается дифференциальное уравнение вида

$$\frac{dx}{dt} + (k_1 + k_{-1})x = k_1a - k_{-1}b.$$

Интегрирование этого уравнения с учетом начальных условий приводит к выражению вида

$$x = \frac{k_1a - k_{-1}b}{k_1 + k_{-1}} [1 - \exp(-(k_1 + k_{-1})t)].$$

Преобразование последнего выражения позволяет получить важное уравнение для определения суммы констант $(k_1 + k_{-1})$:

$$k_1 + k_{-1} = \frac{1}{t} \ln \frac{k_1a - k_{-1}b}{k_1a - k_{-1}b - x(k_1 + k_{-1})}.$$

Далее учтем условия равновесия, при достижении которых можно записать:

$$W = -\frac{d[A]}{dt} - \frac{d[B]}{dt} = 0.$$

Следовательно, $k_1[A]_\infty = k_{-1}[B]_\infty$, где $[A]_\infty, [B]_\infty$ – равновесные концентрации, или

$$K_c = \frac{k_1}{k_{-1}} = \frac{[B]_\infty}{[A]_\infty}.$$

При достижении равновесия (при $t \rightarrow \infty$) величина x стремится к равновесному значению x_∞ , а соотношение $k_1[A]_\infty = k_{-1}[B]_\infty$ можно выразить через a, b, x_∞ :

$$k_1[a - x_\infty] = k_{-1}[b - x_\infty].$$

После соответствующих преобразований из последнего выражения можно получить:

$$x_\infty = \frac{k_1a - k_{-1}b}{k_1 + k_{-1}}.$$

Подстановка последнего выражения в уравнение $\frac{dx}{dt} + (k_1 + k_{-1})x = k_1a - k_{-1}b$ позволяет после простых преобразований получить дифференциальное уравнение вида

$$\frac{dx}{dt} = (k_1 + k_{-1})(x_\infty - x) = k_{\text{каж}}((x_\infty - x)),$$

которое формально записывается так же, как и для односторонней реакции первого порядка с наблюдаемой или кажущейся константой $k_{\text{каж}} = k_1 + k_{-1}$.

Интегрирование последнего дифференциального уравнения с учетом начальных условий дает интегральное кинетическое уравнение для определения суммы констант:

$$k_1 + k_{-1} = \frac{1}{t} \ln \frac{x_\infty}{x_\infty - x}.$$

Последнее уравнение можно представить в ином виде:

$$k_1 + k_{-1} = \frac{1}{t} \ln \frac{[A]_0 - [A]_\infty}{[A] - [A]_\infty},$$

где $[A]_0 = a$; $[A]_\infty = a - x$; $[A] - [A]_\infty = (a - x) - (a - x_\infty) = x_\infty - x$.

На основании уравнений $K_c = \frac{k_1}{k_{-1}} = \frac{[B]_\infty}{[A]_\infty}$ и $k_1 + k_{-1} = \frac{1}{t} \ln \frac{x_\infty}{x_\infty - x}$

можно найти аналитические выражения для расчета констант k_1 и k_{-1} :

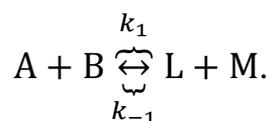
$$k_1 = \frac{K_c}{t(K_c + 1)} \ln \frac{x_\infty}{x_\infty - x},$$

$$k_{-1} = \frac{1}{t(K_c + 1)} \ln \frac{x_\infty}{x_\infty - x}.$$

Рассматривается обратимая реакция, в которой прямая и обратная реакции протекают по второму порядку, например реакция омыления сложного эфира [28]:



В целях упрощения обозначений предлагается схема реакции в виде



Выражение для скорости реакции можно записать в следующем виде:

$$\frac{dx}{dt} = k_1([A]_0 - x)([B]_0 - x) - k_{-1}([L]_0 + x)([M]_0 + x).$$

С учетом того, что $[A]_0 = [B]_0 = a$; $[L]_0 = [M]_0 = 0$, выражение для скорости реакции запишется так:

$$\frac{dx}{dt} = k_1(a - x)^2 - k_{-1}x^2.$$

Для состояния равновесия можно записать условие

$$K_c = \frac{k_1}{k_{-1}} = \frac{x_\infty^2}{(a - x_\infty)^2},$$

из которого выразим $k_{-1} = k_1((a - x_\infty)^2/x_\infty^2)$ и в результате получим дифференциальное уравнение вида

$$\frac{dx}{dt} = k_1(a - x)^2 - \frac{(a - x_\infty)^2}{x_\infty^2}x^2.$$

Интегральная форма этого уравнения имеет вид

$$k_1 \frac{2a(a - x_\infty)}{x_\infty} = \frac{1}{t} \ln \frac{a \cdot x_\infty - x \cdot (2x_\infty - a)}{a(x_\infty - x)},$$

при этом константу скорости прямой реакции k_1 можно определить, зная кажущуюся константу скорости:

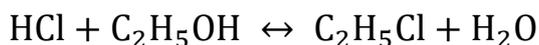
$$k_1 \frac{2a(a - x_\infty)}{x_\infty} = k_{\text{каж}},$$

которую находят экспериментальным методом при известном значении x_∞ .

Константу скорости обратной реакции k_{-1} рассчитывают по формуле

$$K_c = \frac{k_1}{k_{-1}} = \frac{[B]_\infty}{[A]_\infty}.$$

Пример 4.9. Изучаемая реакция



протекает в органическом растворителе, содержащем 80% этанола, и отве-

чает обратимой реакции типа $\text{A} \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_1} \text{B}$. Порядки реакции по веществам А

и В равны единице.

Требуется найти:

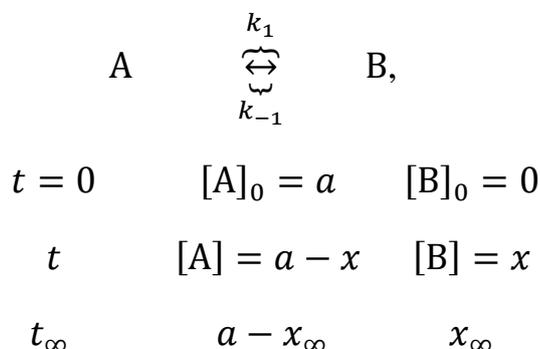
а) математическое соотношение между текущей и равновесной концентрациями вещества В, начальной концентрацией вещества А и константой скорости k_1 , полагая, что $[\text{B}]_0 = 0$;

б) на основании зависимости текущей концентрации вещества А от времени при температуре $T = 118^\circ\text{C}$

t, c	0	19	36	45	85	∞
$[\text{A}] \cdot 10^2, \text{M}^{-1}$	3,0300	3,0287	3,0277	3,0272	3,0248	1,5900

определить численные значения констант k_1 и k_{-1} .

Предлагается схема обозначения концентраций участвующих в реакции веществ с течением времени и при достижении равновесия:



Записывается дифференциальное кинетическое уравнение:

$$W = -\frac{d[\text{A}]}{dt} = -\frac{d(a-x)}{dt} = \frac{dx}{dt} = k_1(a-x) - k_{-1}x.$$

При равновесии $W = 0$, поэтому

$$k_1(a - x_\infty) - k_{-1}x_\infty = 0$$

или $k_{-1} = \frac{k_1(a-x_\infty)}{x_\infty}$.

Подставляя $k_{-1} = \frac{k_1(a-x_\infty)}{x_\infty}$ в уравнение $\frac{dx}{dt} = k_1(a - x) - k_{-1}x$, после некоторых преобразований получают

$$\frac{dx}{dt} = \frac{k_1 a}{x_\infty} (x_\infty - x).$$

Разделение переменных в уравнении, затем интегрирование с учетом начальных условий ($x = 0$ при $t = 0$) приводит к искомому результату:

$$\ln \frac{x_\infty}{x_\infty - x} = \frac{k_1 a}{x_\infty} t.$$

Для вычисления константы скорости k_1 достаточно построить в соответствии с интегральным уравнением кинетики графическую зависимость

$$\ln \frac{x_\infty}{x_\infty - x} = f(t).$$

$t, \text{с}$	19	36	45	85
$\ln \frac{x_\infty}{x_\infty - x}$	$9,0319 \cdot 10^{-2}$	$1,5985 \cdot 10^{-3}$	$1,9800 \cdot 10^{-3}$	$3,0176 \cdot 10^{-3}$

Угловой коэффициент прямой в указанных координатах равен

$$\operatorname{tg} \alpha = \frac{k_1 a}{x_\infty} = 4,2 \cdot 10^{-5},$$

откуда $k_1 = \frac{x_\infty}{a} \operatorname{tg} \alpha = \frac{1,44 \cdot 10^{-2}}{3,03 \cdot 10^{-2}} 4,2 \cdot 10^{-5} = 1,996 \cdot 10^{-5} \text{ с}^{-1}$.

Для нахождения k_{-1} из уравнения $k_{-1} = \frac{k_1(a-x_\infty)}{x_\infty}$ получаем

$$K = \frac{k_1}{k_{-1}} = \frac{x_\infty}{(a-x_\infty)} = \frac{1,44}{1,59} = 0,9057, \quad \text{тогда} \quad k_{-1} = \frac{k_1}{K} = \frac{1,996 \cdot 10^{-5}}{0,9057} = 2,204 \cdot 10^{-5} \text{ с}^{-1}.$$

Пример 4.10. Кинетика реакции этерификации этанола муравьиной

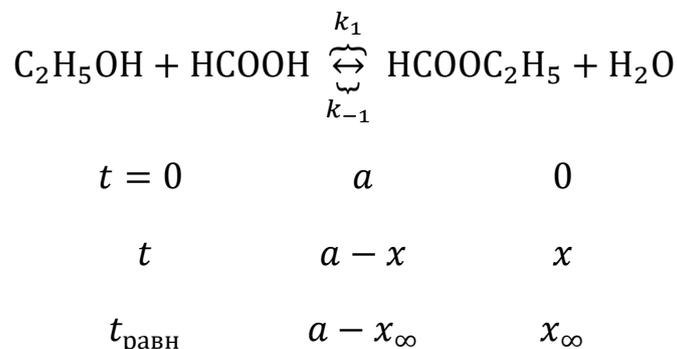
кислотой $C_2H_5OH + HCOOH \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_1} HCOOC_2H_5 + H_2O$ отвечает реакции пер-

вого порядка (изучение проводили при большом избытке этанола и воды) в обоих направлениях. При температуре 25 °С константы скорости реакций соответственно равны: $k_1 = 1,85 \cdot 10^{-3} \text{мин}^{-1}$, $k_{-1} = 1,76 \cdot 10^{-3} \text{мин}^{-1}$; начальная концентрация муравьиной кислоты равна 0,1 М.

Требуется:

- рассчитать процентное содержание образующегося продукта (этил-формиата) при достижении равновесия в реакционной системе;
- вычислить время, необходимое для протекания реакции этерификации на 80% от равновесного состояния.

Предлагается схема обозначения концентраций участвующих в реакции веществ с течением времени и при достижении равновесия:



Записывается кинетическое уравнение

$$W = -\frac{d(a-x)}{dt} = \frac{dx}{dt} = k_1(a-x) - k_{-1}x = k_1a - (k_1 + k_{-1})x.$$

При равновесии $W = 0$ и, следовательно, получается следующее соотношение:

$$k_1(a - x_{\infty}) = k_{-1}x_{\infty} \text{ и } k_1a = (k_1 + k_{-1})x_{\infty},$$

откуда

$$x_{\infty} = \frac{k_1 a}{k_1 + k_{-1}} = \frac{1,85 \cdot 10^{-3} \cdot 0,1}{(1,85 + 1,76) \cdot 10^{-3}} = 5,12 \cdot 10^{-2} \text{ моль/л.}$$

Процентное содержание продукта при равновесии (или превращение муравьиной кислоты в %) будет равно $\frac{x_{\infty}}{a} \cdot 100 = \frac{5,12 \cdot 10^{-2} \cdot 10^2}{0,1} = 51,2 \%$.

Далее вычисляется время, необходимое для протекания реакции этерификации на 80% от равновесного состояния. Для этого выражается k_{-1} из уравнения $k_1(a - x_{\infty}) = k_{-1}x_{\infty}$ и подставляется в кинетическое уравнение:

$$\frac{dx}{dt} = k_1(a - x) - \frac{k_1(a - x_{\infty})}{x_{\infty}} x = k_1 \frac{a}{x_{\infty}} (x_{\infty} - x).$$

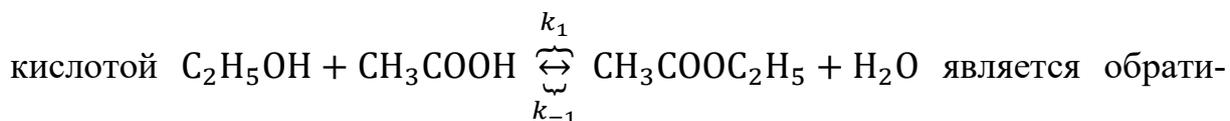
Поскольку a и x_{∞} – постоянные, то после подстановки $K = k_1 \frac{a}{x_{\infty}}$ в уравнение кинетики, разделения переменных и интегрирования с учетом начальных условий ($x = 0$ при $t = 0$) получают

$$-\ln(x_{\infty} - x) = Kt - \ln x_{\infty} \rightarrow t = \frac{1}{K} \ln \frac{x_{\infty}}{x_{\infty} - x} = \frac{x_{\infty}}{k_1 a} \ln \frac{x_{\infty}}{x_{\infty} - x}.$$

По условию реакция этерификации протекает на 80%, т.е. достигаемая концентрация продукта равна $x_{0,8} = 0,8x_{\infty} = 0,8 \cdot 5,12 \cdot 10^{-2} = 4,096 \cdot 10^{-2}$ моль/л. Подставляя численные значения $x_{0,8}, x_{\infty}, a, k_1$ в формулу $t = \frac{x_{\infty}}{k_1 a} \ln \frac{x_{\infty}}{x_{\infty} - x_{0,8}}$, находят время протекания реакции этерификации на 80%:

$$t = \frac{5,12 \cdot 10^{-2}}{1,85 \cdot 10^{-3} \cdot 0,1} \ln \frac{5,12 \cdot 10^{-2}}{(5,12 - 4,096) \cdot 10^{-2}} = 445,4 \text{ мин} = 7,42 \text{ ч.}$$

Пример 4.11. Реакция этерификации этилового спирта уксусной



При определенной температуре для начальных концентраций реагентов, равных 1 М, было установлено, что концентрация образующегося эфира равна 0,25 М через $t = 65$ сут и $\frac{2}{3}$ М при установлении равновесия в реакционной системе (при $t \rightarrow \infty$). Требуется определить время, необходимое для уменьшения концентрации спирта на 50%.

Записывается кинетическое уравнение для реакции второго порядка в обоих направлениях

$$W = -\frac{d(a-x)}{dt} = \frac{dx}{dt} = k_1(a-x)^2 - k_{-1}x^2,$$

где a – концентрация этанола в начальный момент времени, $a = 1$ М; x – текущая концентрация эфира.

Через x_∞ обозначают равновесную концентрацию эфира при $t \rightarrow \infty$, тогда

$$W = \frac{dx}{dt} = 0 \rightarrow k_1(1-x_\infty)^2 - k_{-1}x_\infty^2 = 0,$$

где $x_\infty = \frac{2}{3}$ М (по условию);

$$\frac{k_1}{k_{-1}} = \frac{x_\infty^2}{(1-x_\infty)^2} = \frac{\left(\frac{2}{3}\right)^2}{\left(1-\frac{2}{3}\right)^2} = 4; \rightarrow k_{-1} = k_1/4.$$

Подставив k_{-1} в уравнение $\frac{dx}{dt} = k_1(a-x)^2 - k_{-1}x^2$, получают

$$W = \frac{dx}{dt} = k_1(1-x)^2 - \frac{k_1}{4}x^2.$$

После разделения переменных и некоторых преобразований можно получить

$$\frac{dx}{(2-x)\left[\frac{2}{3}-x\right]} = \frac{3}{4}k_1 dt.$$

Интегрирование уравнения с учетом начальных условий приводит к интегральному кинетическому уравнению вида

$$\ln \frac{1 \cdot (2-x)}{3 \cdot \left[\frac{2}{3}-x\right]} = k_1 t.$$

По условию концентрация образующегося эфира равна 0,25 М через $t = 65$ сут, следовательно: $k_1 = \ln \frac{1(2-0,25)}{3\left[\frac{2}{3}-0,25\right]}/65$, и время, необходимое для уменьшения концентрации спирта на 50%, можно вычислить по формуле

$$t = 65 \cdot \ln \frac{1(2-0,5)}{3\left[\frac{2}{3}-0,5\right]} / \ln \frac{1(2-0,25)}{3\left[\frac{2}{3}-0,25\right]} = 65 \cdot \frac{1,0986}{0,3365} = 212,2 \text{ сут.}$$

Параллельные реакции. Реакции, в которых исходные вещества превращаются одновременно по нескольким направлениям с образованием различных продуктов, называются параллельными.

Например, процесс превращения изопронилциклобутана идет по двум направлениям с образованием [28]:

- 1) 1-метилциклогексена;
- 2) эквимолярных количеств этилена и изопрена.

Предположим, что процесс является необратимой реакцией первого порядка. В таком случае схема имеет вид



Вводят обозначения: a – начальная концентрация вещества А; x – убыль концентрации вещества А в ходе процесса по обеим реакциям, $x = x_1 + x_2$. Запишем согласно основному постулату биохимической кинетики и принципу независимости кинетическое уравнение в дифференциальной форме:

$$-\frac{d[A]}{dt} = -\frac{d(a-x)}{dt} = \frac{dx}{dt} = k_1(a-x) + k_2(a-x) = (k_1 + k_2)(a-x).$$

После разделения переменных и интегрирования получают

$$\frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x} = (k_1 + k_2) = k_{\text{каж}},$$

где кажущаяся константа $k_{\text{каж}}$ равна сумме констант скорости отдельных реакций, $k_{\text{каж}} = k_1 + k_2$. После потенцирования уравнения получают экспоненциальную зависимость убыли текущей концентрации вещества А с течением времени, т.е.

$$a - x = a \cdot \exp[-(k_1 + k_2)t],$$

а общая концентрация продуктов реакции L и M будет равна

$$x = a \cdot [1 - \exp\{-(k_1 + k_2)t\}].$$

Пусть ξ_1 и ξ_2 – количества прореагировавших веществ по каждой из параллельных реакций; полагают $x_1 = \xi_1/V$, $x_2 = \xi_2/V$, где V – объем реакционной массы. Тогда можно записать выражения для текущих концентраций веществ А, L и M:

$$a - x = a - x_1 - x_2; [L] = [L]_0 + x_1 \text{ и } [M] = [M]_0 + x_2.$$

Превращения вещества А по обеим реакциям не являются независимыми, а отношение их скоростей равно отношению констант скорости:

$$\frac{W_1}{W_2} = \frac{dx_1}{dx_2} = \frac{k_1}{k_2}.$$

Если предположить, что в начале реакции нет следовых количеств продуктов L и M, то последнее соотношение интегрируют от 0 до x_1 и от 0 до x_2 :

$$\frac{x_1}{x_2} = \frac{k_1}{k_2},$$

т.е. отношение количеств продуктов постоянно и не зависит от времени.

Используя последнее соотношение и $\frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x} = (k_1 + k_2) = k_{\text{каж}}$, можно определить численные значения констант скорости k_1 и k_2 . Записывают аналитические выражения для текущих концентраций веществ:

$$a - x = a - x_1 \left(1 + \frac{k_2}{k_1}\right) = a - \frac{x_1}{k_1} (k_1 + k_2);$$

$$x_1 = a \frac{k_1}{k_1 + k_2} (1 - \exp\{-(k_1 + k_2)t\}) = [L];$$

$$x_2 = a \frac{k_2}{k_1 + k_2} (1 - \exp\{-(k_1 + k_2)t\}) = [M].$$

Как следует из аналитических выражений для текущих концентраций веществ, концентрации продуктов возрастают со временем по экспоненциальному закону.

Если требуется получить чистый продукт L, необходимо обеспечить условия проведения реакции таким образом, чтобы $k_1 \gg k_2$; контроль за чистотой продукта L осуществляют путем проверки равенства

$$\frac{d[L]}{dt} = -\frac{d[A]}{dt} \text{ или } [L] = [A]_0 - [A] = x.$$

Далее рассматривается случай, когда обе параллельные реакции подчиняются кинетике второго или более высокого порядков; в общем случае схема реакции имеет вид [28]



Составляется таблица материального баланса для этих реакций, на основании которой в соответствии со схемой составляются дифференциальные уравнения кинетики (табл. 4.1).

$$\frac{d[C]}{dt} = \frac{dy}{dt} = k_1(a - x)^p(b - x)^q,$$

$$\frac{d[D]}{dt} = \frac{dz}{dt} = k_2(a - x)^p(b - x)^q,$$

где p и q – соответственно порядки реакций по каждому веществу.

Разделив второе уравнение на первое $\frac{dz}{dy} = \frac{k_2}{k_1}$ и интегрируя полученное дифференциальное уравнение в пределах от 0 до z и соответственно от 0 до y , получают отношение концентраций продуктов C и D:

$$\frac{z}{y} = \frac{k_2}{k_1} \text{ и } z = \frac{k_2}{k_1} y.$$

4.1. Материальный баланс для параллельных реакций второго порядка

Показатель	A	B	C	D
Количество вещества в момент времени $t = 0$	n_0	m_0	0	0
Концентрация вещества в момент времени $t = 0$	$[A]_0 = \frac{n_0}{V} = a$	$[B]_0 = \frac{m_0}{V} = b$	$[C]_0 = 0$	$[D]_0 = 0$
Количество вещества в момент времени t	$n_0 - (\xi_1 + \xi_2)$	$m_0 - (\xi_1 + \xi_2)$	ξ_1	ξ_2
Концентрация вещества в момент времени t	$[A] = a - x$ $(x = y + z)$	$[B] = b - x$ $(x = y + z)$	$[C] = \frac{\xi_1}{V} = y$	$[D] = \frac{\xi_2}{V} = z$

Как и в первом случае, оно не зависит от времени и определяется отношением констант скорости k_1 и k_2 . При этом, когда общий порядок реакции равен 2 ($p = q = 1$), уравнение

$$\frac{dx}{dt} = \frac{dy}{dt} + \frac{dz}{dt} = (k_1 + k_2)(a - x)^p(b - x)^q$$

принимает вид

$$\frac{dx}{dt} = (k_1 + k_2)(a - x)(b - x).$$

После интегрирования последнего уравнения методом неопределенных коэффициентов получают интегральное уравнение кинетики:

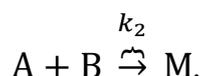
$$k_1 + k_2 = \frac{1}{t(a-b)} \ln \frac{b(a-x)}{a(b-x)}.$$

Полученные соотношения $z = \frac{k_2}{k_1} y$ и $k_1 + k_2 = \frac{1}{t(a-b)} \ln \frac{b(a-x)}{a(b-x)}$

позволяют из опытных данных определить значения кинетических констант k_1 и k_2 .

Далее рассматриваются параллельные (конкурирующие) реакции

разных порядков согласно схеме $A \xrightarrow{k_1} L$,



Кинетические уравнения для убыли x реагента А и образования продукта L в этом случае имеют вид:

$$-\frac{d[A]}{dt} = \frac{dx}{dt} = k_1(a-x) + k_2(a-x)(b-x) = [k_1 + k_2(b-x)](a-x);$$

$$\frac{d[L]}{dt} = k_1(a-x).$$

Отношение концентраций продукта L и реагента А в каждый момент времени равно

$$-\frac{d[L]}{d[A]} = \frac{k_1}{k_1 + k_2(b-x)} \text{ или } [L] = \frac{k_1}{k_2} \ln \frac{k_1 + k_2 b}{k_1 + k_2(b-x)}.$$

Интегрирование уравнения $\frac{dx}{dt} = [k_1 + k_2(b-x)](a-x)$ приводит к выражению $k_1 = \frac{1}{t} \ln \left\{ \frac{a[k_1 + k_2(b-x)]}{(a-x)(k_1 + k_2 b)} \right\}$, в котором $(a-x)$ и $(b-x)$ взаимосвязаны. В результате получают уравнение для расчета концентрации убыли x реагента А и образования продукта L:

$$x = \frac{a(k_1 + k_2 b)(\exp(k_1 t) - 1)}{k_1 \exp(k_1 t) + k_2 b(\exp(k_1 t) - 1)};$$

$$\frac{a-x}{a} = \frac{k_1(\exp(k_1 t) - 1)}{k_1 \exp(k_1 t) + k_2 b(\exp(k_1 t) - 1)}.$$

Из анализа расчетных уравнений кинетики следует, что:

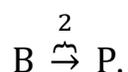
1) для достаточно высоких концентраций исходных реагентов, когда $[A] > \frac{k_1}{k_2}$ при условии $[A] = [B]$, протекает только реакция второго порядка

$$-\frac{d[A]}{dt} \cong k_2[A]^2 = k_2(a-x)^2;$$

2) для малых концентраций вещества А, когда $[A] \ll \frac{k_1}{k_2}$, в основном протекает реакция первого порядка

$$-\frac{d[A]}{dt} \cong k_1[A] = k_1(a-x).$$

Далее рассматривают конкурирующие реакции одинакового порядка [28]; предполагается, что продукт Р образуется одновременно по двум реакциям первого порядка по схеме $A \xrightarrow{1} L$,



Следовательно, концентрации каждого из реагентов уменьшаются с течением времени по экспоненциальному закону:

$$[A] = a - x_1 = a \cdot \exp(-k_1 t);$$

$$[B] = a - x_2 = b \cdot \exp(-k_2 t).$$

Текущие концентрации веществ А, В и Р могут быть выражены через концентрации $x_i = \xi_i/V, i = A, B, P$, убыли веществ А, В и образования продукта Р; например, для продукта Р получим

$$[P] = [P]_0 + x_1 + x_2 = [P]_0 + a \cdot [1 - \exp(-k_1 t)] + b[1 - \exp(-k_2 t)].$$

При $a = b$ и $[P]_0 = 0$ последнее уравнение значительно упрощается

$$[P] = a(2 - \exp(-k_1 t) - \exp(-k_2 t)).$$

Пример 4.12. Вещество А разлагается одновременно согласно двум

уравнениям реакций первого порядка $A \xrightarrow{k_1} B + C$, $A \xrightarrow{k_2} D + E$.

Введем обозначения: a – начальная концентрация вещества А;
 x – уменьшение концентрации А ко времени t по реакции $A \rightarrow B + C$;
 y – уменьшение концентрации А ко времени t по реакции $A \rightarrow D + E$.

Требуется выразить константы скорости k_1 и k_2 через x и y ;
 рассчитать значения k_1 и k_2 , если известно, что $a = 1$ М; через 20 мин –
 $x = 0,092$ и $y = 0,074$.

Положим $z = x + y$ и запишем выражение для общей скорости
 процесса $W = \frac{dz}{dt} = (k_1 + k_2)(a - z)$.

После разделения переменных и интегрирования с учетом начальных
 условий (при $t = 0$, $z = 0$) получим интегральное уравнение кинетики
 $\ln \frac{a}{a-z} = \ln \frac{a}{a-x-y} = (k_1 + k_2)t$.

Запишем дифференциальные уравнения кинетики для каждой реак-
 ции:

$$\frac{dx}{dt} = k_1(a - x - y) \text{ и } \frac{dy}{dt} = k_2(a - x - y) \rightarrow \frac{dx}{dy} = \frac{k_1}{k_2} \text{ или } \frac{x}{y} = \frac{k_1}{k_2}.$$

Из интегрального уравнения кинетики находим сумму констант ско-
 ростей реакций:

$$k_1 + k_2 = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x-y} = \frac{1}{20} \ln \frac{1}{1-0,092-0,074} = 9,076 \cdot 10^{-3} \text{ мин}^{-1}.$$

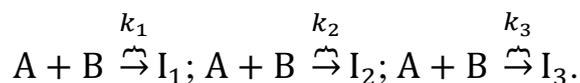
$$\text{Используя соотношение } \frac{x}{y} = \frac{k_1}{k_2}, \text{ вычисляем } \frac{k_1}{k_2} = \frac{0,092}{0,074} = 1,243.$$

Совместное решение уравнений $k_1 + k_2 = 9,076 \cdot 10^{-3}$ и $\frac{k_1}{k_2} = 1,243$

позволяет найти $k_1 = 5,030 \cdot 10^{-3} \text{ мин}^{-1} = 8,38 \cdot 10^{-5} \text{ с}^{-1}$,

$$k_2 = 4,046 \cdot 10^{-3} \text{ мин}^{-1} = 6,74 \cdot 10^{-5} \text{ с}^{-1}.$$

Пример 4.13. При взаимодействии реагентов А и В одновременно происходит образование трех изомеров I_1, I_2, I_3 :



Порядок реакции по каждому веществу А и В равен 1. Смешивая 1 моль вещества А и 5 моль вещества В в 1 л раствора, через 0,73 мин отмечают, что прореагировало 0,5 моль вещества А. К моменту времени t в реакционной смеси образовалось 0,16 моль I_1 ; 0,28 моль I_2 и 0,36 моль I_3 . Требуется определить константы скорости образования каждого изомера и время протекания реакции, необходимое для образования продуктов указанного состава в условии задачи.

Рассчитывается константа скорости суммарной реакции $k = k_1 + k_2 + k_3$, используя уравнение для реакции второго порядка ($n = 1 + 1 = 2$):

$$k = \frac{1}{t(b-a)} \ln \frac{a(b-x)}{b(a-x)} = \frac{1}{0,73(5-1)} \ln \frac{1(5-0,5)}{5(1-0,5)} = 0,20 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \text{мин}^{-1} = 3,33 \cdot 10^{-3} \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \text{с}^{-1}.$$

Записываются уравнения кинетики для реакций образования каждого изомера:

$$\frac{d[I_1]}{dt} = k_1[A][B]; \frac{d[I_2]}{dt} = k_2[A][B]; \frac{d[I_3]}{dt} = k_3[A][B] \rightarrow$$

$$\rightarrow \frac{d[I_1]}{d[I_2]} = \frac{k_1}{k_2} \text{ или } \frac{k_1}{k_2} = \frac{[I_1]}{[I_2]} = \frac{0,16}{0,28} = 0,571;$$

аналогично $\frac{d[I_1]}{d[I_3]} = \frac{k_1}{k_3}$

или $\frac{k_1}{k_3} = \frac{[I_1]}{[I_3]} = \frac{0,16}{0,36} = 0,444; \frac{d[I_2]}{d[I_3]} = \frac{k_2}{k_3},$

или $\frac{k_2}{k_3} = \frac{[I_2]}{[I_3]} = \frac{0,28}{0,36} = 0,778.$

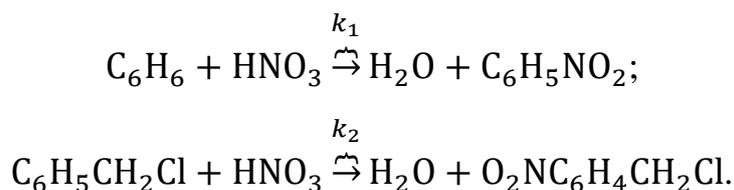
Используя исходные данные, находят

$$\begin{aligned}
 k_1 &= 0,571k_2, \quad k_3 = k_2/0,778, \quad k = k_1 + k_2 + k_3 = \\
 &= 0,571k_2 + k_2 + k_2/0,778 = 3,33 \cdot 10^{-3} \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1}\text{с}^{-1} \rightarrow \\
 &\rightarrow k_1 = 6,63 \cdot 10^{-4} \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1}\text{с}^{-1}; \quad k_2 = 1,17 \cdot 10^{-3} \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1}\text{с}^{-1}; \\
 &\quad k_3 = 1,15 \cdot 10^{-3} \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1}\text{с}^{-1}.
 \end{aligned}$$

Зная $k = 3,33 \cdot 10^{-3} \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1}\text{с}^{-1}$ по формуле $t = \frac{1}{k(b-a)} \ln \frac{a(b-x)}{b(a-x)}$ находят время, необходимое для образования указанного в условии состава реакционной смеси:

$$t = \frac{1}{3,33 \cdot 10^{-3} \cdot (5-1)} \ln \frac{(5-0,8)}{(1-0,8)} = 107 \text{ с.}$$

Пример 4.14. Нитрование смеси бензола и хлористого бензила ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{Cl}$) осуществляется по схеме



Обе конкурирующие реакции протекают необратимо, порядок реакции по отношению к каждому реагенту равен 1. Обозначим текущие концентрации веществ через:

$$[\text{HNO}_3] = [\text{A}], \quad [\text{C}_6\text{H}_6] = [\text{B}_1],$$

$$[\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{Cl}] = [\text{B}_2],$$

$$[\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2] = [\text{C}_1],$$

$$[\text{O}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{Cl}] = [\text{C}_2];$$

в начальный момент времени при $t = 0$ концентрации веществ соответственно равны: $[\text{A}]_0, [\text{B}_1]_0, [\text{B}_2]_0, [\text{C}_1]_0 = 0, [\text{C}_2]_0 = 0$. Требуется получить кинетические уравнения для скорости расходования бензола и хлористого бензила и вывести формулу для расчета отношения k_2/k_1 в зависимости от $[\text{B}_1]_0, [\text{B}_2]_0, [\text{C}_1]$ и $[\text{C}_2]$.

Записывают выражения для скоростей W_1 и W_2 химических реакций:

$$W_1 = -\frac{d[B_1]}{dt} = \frac{d[C_1]}{dt} = k_1[A][B_1];$$

$$W_2 = -\frac{d[B_2]}{dt} = \frac{d[C_2]}{dt} = k_2[A][B_2]$$

и уравнения материального баланса:

$$[B_1]_0 = [B_1] + [C_1]; [B_2]_0 = [B_2] + [C_2].$$

Исключая $[B_1]$ и $[B_2]$ из уравнений кинетики, получают:

$$-\frac{d[B_1]}{dt} = \frac{d[C_1]}{dt} = k_1[A]([B_1]_0 - [C_1]);$$

$$-\frac{d[B_2]}{dt} = \frac{d[C_2]}{dt} = k_2[A]([B_2]_0 - [C_2]).$$

Разделив одно уравнение на другое, получают

$$\frac{d[C_1]}{d[C_2]} = \frac{k_1[A]([B_1]_0 - [C_1])}{k_2[A]([B_2]_0 - [C_2])} \rightarrow \frac{d[C_1]}{[B_1]_0 - [C_1]} = \frac{k_1}{k_2} \frac{d[C_2]}{([B_2]_0 - [C_2])}.$$

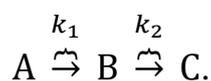
Интегрируя уравнение от 0 до C_1 (левую часть) и от 0 до C_2 (правую часть), получают $\ln \frac{[B_1]_0 - [C_1]}{[B_1]_0} = \frac{k_1}{k_2} \ln \frac{[B_2]_0 - [C_2]}{[B_2]_0}$ или

$$\frac{k_2}{k_1} = \frac{\ln\left(1 - \frac{[C_2]}{[B_2]_0}\right)}{\ln\left(1 - \frac{[C_1]}{[B_1]_0}\right)}.$$

Последовательные реакции. Реакции, которые протекают в две или более стадий таким образом, что продукт, образующийся в одной стадии, служит реагентом в последующей стадии, называются последовательными. Примерами таких реакций являются, в частности, нуклеофильные замещения в ароматических соединениях.

Составляется таблица для реакций, протекающих по схеме (табл. 4.2)

[28]



4.2. Материальный баланс для последовательных реакций

Показатель	A	B	C
Количество вещества в момент времени $t = 0$	n_0	0	0
Концентрации веществ в момент времени $t = 0$	$[A]_0 = \frac{n_0}{V} = a$	$[B]_0 = 0$	$[C]_0 = 0$
Количество вещества в момент времени t	$n_0 - \xi$	$\xi - \xi'$	ξ'
Концентрации веществ в момент времени t	$[A] = (n_0 - \xi)/V$ $[A] = a - x$ $x = \xi/V$	$[B] = (\xi - \xi')/V$ $[B] = x - y$ $y = \xi'/V$	$[C] = \xi'/V$ $[C] = y$

Используя основной постулат биохимической кинетики и принцип независимости, записываются уравнения:

- для первой стадии

$$-\frac{d[A]}{dt} = k_1[A] \text{ или } \frac{dx}{dt} = k_1(a - x);$$

- для второй стадии

$$\frac{d[B]}{dt} = k_1[A] - k_2[B] = k_1(a - x) - k_2(x - y),$$

$$\frac{d[C]}{dt} = k_2[C] = k_2(x - y).$$

Решение этой системы линейных дифференциальных уравнений приводит к интегральному уравнению кинетики

$$[A] = [A]_0 \exp(-k_1 t)$$

или

$$a - x = a \cdot \exp(-k_1 t),$$

$$x = a \cdot (1 - \exp(-k_1 t)).$$

Подставляя последнее выражение для x в уравнение $\frac{d[B]}{dt} = k_1[A] - k_2[B]$ после несложных преобразований можно получить следующее уравнение:

$$\frac{d[B]}{dt} + k_2[B] = k_1[A]_0 \exp(-k_1 t),$$

интегрирование которого приводит к следующему решению:

$$[B] = x - y = [A]_0 \frac{k_1}{k_2 - k_1} (\exp(-k_1 t) - \exp(-k_2 t)).$$

Из уравнения материального баланса $[A]_0 = [A] + [B] + [C]$ находят концентрацию продукта С:

$$[C] = [A]_0 \cdot \left[1 - \frac{k_1}{k_2 - k_1} \exp(-k_2 t) + \frac{k_1}{k_2 - k_1} \exp(-k_1 t) \right].$$

На рисунке 4.6 представлены зависимости концентраций веществ А, В, С от времени для $k_2 = 1,5k_1$.

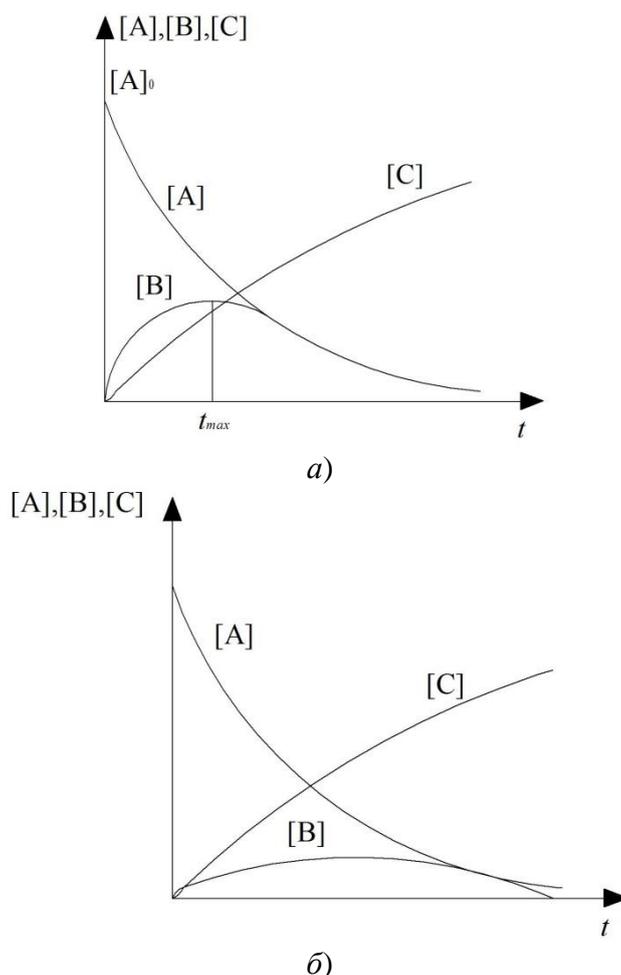


Рис. 4.6. Зависимости концентраций веществ А, В, С от времени при:
 $a - k_2 = 1,5k_1$; $b - k_2 = 20k_1$

Как видно из рис. 4.6, a , концентрация исходного реагента А уменьшается с течением времени по зависимости $a \cdot \exp(-k_1 t)$, а концентрация [С] – по зависимости

$$[A]_0 \cdot \left[1 - \frac{k_1}{k_2 - k_1} \exp(-k_2 t) + \frac{k_1}{k_2 - k_1} \exp(-k_1 t) \right];$$

при этом зависимость концентрации промежуточного продукта В от времени изменяется от 0 (при $t = 0$) до 0 (при $t \rightarrow \infty$) и, следовательно, проходит через максимум в точке $t_{\max} = \frac{\ln k_2 / k_1}{k_2 - k_1}$. Подстановка t_{\max}

в формулу для [В] позволяет оценить значение $[B]_{\max}$ в зависимости от соотношения констант k_1 и k_2 : $[B]_{\max} = a \left(\frac{k_1}{k_2} \right)^{\frac{1}{1 - \frac{k_1}{k_2}}}$.

В случае $k_1 \gg k_2$ скорость образования промежуточного соединения В существенно превосходит скорость его расходования и, как следует

из выражения $[B]_{\max} = a \left(\frac{k_1}{k_2} \right)^{\frac{1}{1 - \frac{k_1}{k_2}}}$, $[B]_{\max} \rightarrow [A]_0 = a$.

В случае $k_2 \gg k_1$, когда скорость расходования В существенно больше скорости его образования, $[B]_{\max} \rightarrow 0$. Если $k_2 > k_1$, то выражение для расчета концентрации [В] принимает вид

$$[B] = a \frac{k_1}{k_2 - k_1} \exp(-k_1 t).$$

После деления этой формулы на формулу $[A] = [A]_0 \exp(-k_1 t)$ получают выражение для так называемого переходного равновесия

$$\frac{[B]}{[A]} = \frac{k_1}{k_2 - k_1},$$

т.е. отношение указанных концентраций в этом состоянии постоянно. При этом отношение концентрации вещества С к начальной концентрации вещества А принимает вид

$$\frac{[C]}{[A]_0} = 1 - \exp(-k_1 t).$$

Если $k_2 \gg k_1$, в формуле $\frac{[B]}{[A]} = \frac{k_1}{k_2 - k_1}$ можно пренебречь в знаменателе величиной k_1 , в итоге получают выражение, характеризующее состояние равновесия:

$$\frac{[B]}{[A]} = \frac{k_1}{k_2} = \frac{\tau_2}{\tau_1} = \frac{t_{1/2(2)}}{t_{1/2(1)}}$$

где τ_1, τ_2 – средние времена жизни; $t_{1/2(1)}, t_{1/2(2)}$ – периоды полупревращения соответственно веществ А и В.

Очевидно в этом случае при $t \rightarrow \infty$ имеем $\frac{[C]}{[A]_0} \approx 1$.

На рисунке 4.6, б представлены зависимости концентраций веществ А, В и С от времени при $k_2 = 20k_1$. Анализ графиков позволяет сделать следующие выводы: значение $[B]_{\max}$ снижается с увеличением отношения k_2/k_1 ; время t_{\max} достижения $[B]_{\max}$ уменьшается с ростом отношения k_2/k_1 , т.е. период индукции уменьшается.

Иллюстрацией этих выводов служат результаты расчета численных значений величин:

k_2/k_1	20	50	100	1000
t_{\max}	0,32	0,13	0,09	0,012
$[B]_{\max}$	0,19	0,085	0,063	0,09
W_B/W_A	5	2	1	0,1

На основании полученных экспериментальных данных сформулируем принцип квазистационарных концентраций: если $k_2 \gg k_1$ и при $t > t_{\max}$ концентрация промежуточного продукта В остается достаточно малой и постоянной (квазистационарной) в течение всего времени протекания реакции, то при этом выполняются условия

$$[B] \approx [B]_{\max} \quad \text{и} \quad \frac{d[B]}{dt} \approx 0.$$

В этом случае скорость образования продукта С будет практически равна скорости расходования реагента А

$$\frac{d[C]}{dt} = -\frac{d[A]}{dt}.$$

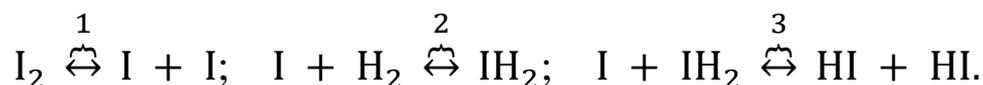
Таким образом, можно сделать вывод, что первая стадия является лимитирующей, т.е. определяющей скорость всего процесса в целом. Этот принцип является приближенным, и его нельзя применять при $k_1 > k_2$ и $t < t_{\max}$.

Принцип квазистационарных концентраций имеет большое значение для составления кинетических уравнений при описании сложных реакций, протекающих в три и более стадий [28]. Применение этого принципа позволяет путем замены части дифференциальных уравнений алгебраическими выразить концентрации неустойчивых промежуточных соединений через концентрации аналитически определяемых исходных веществ и конечных продуктов.

В кинетике часто используют и принцип квазиравновесных концентраций, суть которого заключается в следующем: если в сложной реакции одна или несколько стадий протекают быстро и обратимо таким образом, что между реагентами и промежуточными соединениями устанавливается термодинамическое равновесие, то можно использовать соотношение между константами прямой и обратной реакциями:

$$K = \frac{k_i}{k_{-i}}.$$

Рассмотрим пример классической реакции образования йодоводорода из простых веществ:



Согласно принципу равновесных концентраций получим выражения для концентраций промежуточных веществ:

$$[I] = K_1^{1/2} [I_2]^{1/2};$$

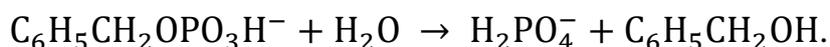
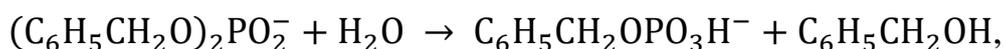
$$[IH_2] = K_2 [I] [H_2] = K_1^{1/2} K_2 [H_2] [I_2]^{1/2}.$$

Уравнение скорости реакции, записанное по расходованию H_2 или через образование HI , с учетом последних выражений примет следующий вид:

$$-\frac{d[H_2]}{dt} = \frac{d[HI]}{2dt} = k_3 [IH_2] [I] = k_3 K_1 K_2 [H_2] [I_2].$$

Полученное уравнение отвечает кинетике реакции второго порядка считая, что $k = k_3 K_1 K_2$.

Пример 4.15. Гидролиз дибензилфосфата протекает в две стадии:



Учитывая, что вода находится в избытке, можно записать следующую схему протекающих реакций: $D \xrightleftharpoons{k_1} M + B; M \xrightleftharpoons{k_2} P + B$.

Изучают гидролиз дибензилфосфата при постоянной ионной силе (1 М) и температуре 75,6 °С путем измерения концентрации спирта спектрофотометрическим методом; определяют константу скорости k_2 при тех же значения ионной силы и температуре, $k_2 = 4,98 \cdot 10^{-3} \text{ мин}^{-1}$; определение k_1 осуществляют следующим образом: рассчитывают отношение $[B]/[D]_0$ для различных соотношений $r = k_2/k_1$ и затем сравнивают с имеющимися экспериментальными данными для тех же соотношений.

Опытные данные при $[D]_0 = 33,9 \cdot 10^{-4} \text{ М}$.

$t, \text{ мин} \dots\dots\dots$	10,00	20,00	40,16	60,24	100,40	140,60	180,70	200,80
$[B] \cdot 10^4, \text{ М} \dots$	6,78	13,56	24,41	30,51	39,66	45,76	50,85	52,54

Требуется выразить концентрацию бензилового спирта в зависимости от соотношения констант скорости k_1 и k_2 , времени t и начальной концентрации диметилфосфата; как изменится формула для вычисления концентрации бензилового спирта при $k_1 = k_2$; провести расчеты для значений $r = k_2/k_1 = 0,2; 1$; установить, в каком случае наблюдается удовлетворительное согласие между опытными и расчетными данными и определить константу k_1 .

Записываются дифференциальные и интегральные уравнения кинетики для веществ $[D]$, $[M]$, $[B]$:

$$\begin{aligned}
 -\frac{d[D]}{dt} &= k_1[D] \rightarrow [D] = [D]_0 \cdot \exp(-k_1 t); \\
 -\frac{d[M]}{dt} &= k_2 \cdot [M] - k_1 \cdot [D] = k_2 \cdot [M] - k_1 \cdot [D]_0 \cdot \exp(-k_1 t); \\
 \frac{d[B]}{dt} &= k_1 \cdot [D] + k_2 \cdot [M] = k_1 \cdot [D]_0 \cdot \exp(-k_1 t) + k_2 \cdot [M] = \\
 &= k_1 \cdot [D]_0 \cdot \exp(-k_1 t) + \frac{k_1 \cdot k_2 \cdot [D]_0}{k_2 - k_1} (\exp(-k_1 t) - \exp(-k_2 t)).
 \end{aligned}$$

После интегрирования последнего уравнения с учетом начальных условий при $t = 0$ $[B] = 0$ получают

$$\frac{[B]}{[D]_0} = \frac{k_1 \exp(-k_2 t) + (k_1 - 2k_2) \cdot \exp(-k_1 t)}{k_2 - k_1} + 2.$$

В частном случае, когда $k_1 = k_2$, определяется концентрация вещества M :

$$-\frac{d[M]}{dt} = k_1 \cdot [M] - k_1 \cdot [D]_0 \cdot \exp(-k_1 t) \rightarrow [M] = k_1 \cdot [D]_0 \cdot t \cdot \exp(-k_1 t).$$

В соответствии с указанными в задании условиями проведенные по соответствующим уравнениям расчеты представлены ниже:

t , мин	10,00	20,00	40,16	60,24	100,40	140,60	180,70	200,80
$[B] \cdot 10^4$, М ...	6,78	13,56	24,41	30,51	39,66	45,76	50,85	52,54
$\left(\frac{[B]}{[D]_0}\right)^3$	0,20	0,40	0,72	0,90	1,17	1,35	1,50	1,55
$\left(\frac{[B]}{[D]_0}\right)_{r=0,2}^{\text{расч}}$...	0,230	0,410	0,700	0,906	1,140	1,340	1,470	1,530
$\left(\frac{[B]}{[D]_0}\right)_{r=1,0}^{\text{расч}}$...	0,050	0,100	0,198	0,296	0,4830	0,659	0,821	0,896

Анализ представленных данных показывает, что хорошее согласие между расчетными и экспериментальными данными наблюдается при значении $r = k_2/k_1 = 0,2$. Следовательно,

$$k_1 = \frac{k_2}{0,2} = \frac{4,98 \cdot 10^{-3}}{0,2} = 2,49 \cdot 10^{-2} \text{ мин}^{-1} = 4,15 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}.$$

4.3. КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ. ПРИМЕРЫ²

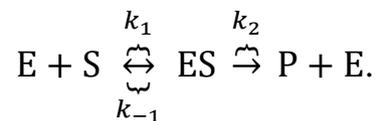
Ферментативные реакции подчиняются общим законам катализа, но вследствие сложности состава и строения ферментов образуют специфическую область каталитических реакций. Биологические катализаторы белковой природы, ускоряющие каталитические реакции в живых системах, называют ферментами или энзимами.

Ферменты представляют собой компактные молекулы с молекулярной массой от 10^4 и диаметром от 20 \AA и выше. Входящие в их состав глобулярные белки состоят из расположенных в определенной последовательности α -аминокислотных остатков, соединенных пептидными связями ($-\text{CO}-\text{NH}-$) [28].

² Решаемые задачи приведены из учебного пособия (задачника) [29].

Рассмотрим кинетику реакции с одним субстратом S при участии фермента E: $S \rightarrow P$.

Начальная скорость ферментативной реакции при фиксированной концентрации фермента и малых концентрациях субстрата изменяется линейно с концентрацией субстрата, однако для высоких концентраций субстрата скорость реакции не зависит от его концентрации. Для описания кинетики этой реакции Л. Михаэлис предложил механизм, состоящий из двух стадий (первая – обратимая и быстрая реакция, вторая – необратимая и медленная реакция) [26 – 28]:



Скорость реакции в этом случае определяется скоростью образования конечного продукта P:

$$W = \frac{dP}{dt} = k_2[ES].$$

В свою очередь, скорость образования промежуточного соединения ES, согласно закону действующих масс:

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[S][E] - k_{-1}[ES] - k_2[ES].$$

Уравнения материального баланса для фермента и субстрата имеют вид:

$$[E]_0 = [E] + [ES], [S]_0 = [S] + [ES] + [P],$$

где $[E]_0, [S]_0$ – начальные концентрации фермента и субстрата; $[E], [S]$ – их текущие концентрации; $[ES], [P]$ – концентрации промежуточного соединения и продукта.

Решение системы из трех уравнений находим при выполнении следующих условий:

- 1) для $t \rightarrow 0$, $[P] \rightarrow 0$, следовательно, $[S]_0 = [S] + [ES]$;
- 2) обычно $[S]_0 \gg [E]_0$, поэтому с учетом условия 1) $[S]_0 = [S]$;
- 3) концентрация промежуточного соединения ES стационарна,

поэтому принимают, что $d[ES]/dt = 0$.

Подставляя значение $[E]$ из $[E]_0 = [E] + [ES]$ в уравнение $k_1[S][E] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] = 0$, получаем выражение

$$[ES] = \frac{k_1[E]_0[S]_0}{k_1[S]_0 + k_{-1} + k_2},$$

которое после деления числителя и знаменателя на k_1 принимает вид

$$[ES] = \frac{[E]_0[S]_0}{K_M + [S]_0},$$

где $K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$.

Величину K_M принято называть по решению ИЮПАК константой Михаэлиса.

Подставляя выражение $[ES] = \frac{[E]_0[S]_0}{K_M + [S]_0}$ в уравнение $W = \frac{dP}{dt} = k_2[ES]$,

получаем уравнение для скорости образования продукта в начальный момент времени $W_0 = \frac{k_2[E]_0[S]_0}{K_M + [S]_0}$.

Если $[S]_0 \ll K_M$, тогда $W_0 = \frac{k_2[E]_0}{K_M} [S]_0$, т.е. начальная скорость линейно зависит от концентрации субстрата, что подтверждает наблюдаемый на опыте первый порядок реакции по субстрату.

Если $[S]_0 \gg K_M$, тогда из уравнения $W_0 = \frac{k_2[E]_0[S]_0}{K_M + [S]_0}$ получаем

$$W_0 = k_2[E]_0,$$

т.е. начальная скорость не зависит (как и в опыте) от концентрации субстрата, следовательно, порядок реакции по субстрату будет нулевой,

по ферменту – первый, а сама скорость достигает предельного значения, W_{\max} :

$$W_0 = k_2[E]_0 = W_{\max}.$$

При достижении W_0 значения W_{\max} концентрация фермент-субстратного комплекса $[ES] \rightarrow [ES]_{\max}$; это означает, что весь фермент переходит в состав промежуточного соединения, т.е. фермент насыщен субстратом. В этих условиях удобно сравнивать скорости различных реакций, поэтому запишем уравнение для начальной скорости в следующем виде:

$$W_0 = \frac{W_{\max}[S]_0}{K_M + [S]_0},$$

где K_M и W_{\max} – параметры ставшего классическим уравнения Михаэлиса–Ментен.

Физический смысл константы Михаэлиса K_M можно пояснить исходя из уравнения $W_0 = \frac{W_{\max}[S]_0}{K_M + [S]_0}$: она численно равна концентрации субстрата $K_M = [S]_0$, при которой активность фермента составляет половину максимальной, т.е. $W_0 = W_{\max}/2$; K_M и $[S]_0$ имеют одинаковую размерность концентрации (М) и лежат в пределах $10^{-2} \dots 10^{-8}$ М, легко воспроизводятся и не зависят от концентрации фермента. В то же время K_M является функцией температуры, рН среды, зависит от присутствия других веществ, играющих роль ингибитора или активатора.

$$\text{Если } k_{-1} \gg k_2, \text{ то } K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \approx \frac{k_{-1}}{k_1} = K_S,$$

где K_S – субстратная константа, т.е. константа диссоциации фермент-субстратного комплекса на фермент и субстрат, характеризующая меру связывания фермента с субстратом. В этом случае константу Михаэлиса

K_M можно рассматривать как величину, характеризующую сродство фермента к субстрату; в общем случае $K_M \geq K_S$.

При анализе простых ферментных реакций полезно использовать соотношение k_2/K_M , которое, если выполняется условие $k_2 \gg k_{-1}$, равно константе скорости k_1 прямой реакции первой стадии механизма Михаэлиса–Ментен.

Способы определения кинетических параметров уравнения Михаэлиса–Ментен. Для определения параметров K_M и W_{\max} используют несколько способов линеаризации уравнения Михаэлиса–Ментен, которые позволяют представить экспериментальные данные в удобной для анализа линейной графической форме.

Первая форма способа Лайнуивера–Берка. Запишем уравнение Михаэлиса–Ментен в координатах $\left(\frac{1}{W_0}, \frac{1}{[S]_0}\right)$:

$$\frac{1}{W_0} = \frac{1}{W_{\max}} + \frac{K_M}{W_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]_0},$$

которое можно использовать для построения линейного графика (рис. 4.7).

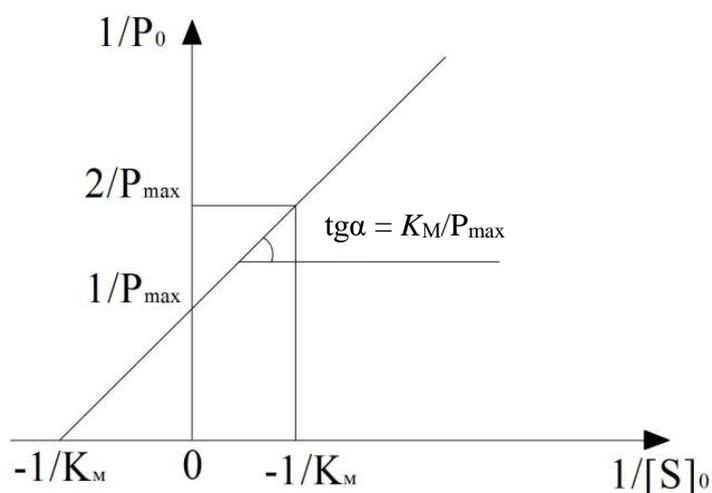


Рис. 4.7. К определению параметров K_M и W_{\max} по способу Лайнуивера–Берка

Отрезок l , отсекаемый прямой на оси ординат, будет равен $1/W_{\max}$, т.е. $W_{\max} = \frac{1}{l}$; тангенс угла наклона прямой равен K_M/W_{\max} , т.е. $K_M = W_{\max} \cdot \operatorname{tg}\alpha = \frac{\operatorname{tg}\alpha}{l}$. Константу K_M можно также определить по отрезку, отсекаемому прямой на оси абсцисс, так как при $\frac{1}{W_0} = 0$ имеем $\frac{1}{W_{\max}} = -\frac{K_M}{W_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]_0}$ и $-\frac{1}{K_M} = \frac{1}{[S]_0}$.

Вторая форма способа Лайнуивера–Берка. При умножении обеих частей уравнения $\frac{1}{W_0} = \frac{1}{W_{\max}} + \frac{K_M}{W_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]_0}$ на $[S]_0$ получим уравнение вида

$$\frac{[S]_0}{W_0} = \frac{K_M}{W_{\max}} + \frac{1}{W_{\max}} [S]_0.$$

Графическая зависимость $\frac{[S]_0}{W_0}$ от $[S]_0$ представляет собой прямую линию (рис. 4.8).

Способ Эди–Хофсти. После умножения обеих частей уравнения $\frac{1}{W_0} = \frac{1}{W_{\max}} + \frac{K_M}{W_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]_0}$ на $W_{\max} \cdot W_0$ и несложных преобразований получим

$$W_0 = W_{\max} - K_M \frac{W_0}{[S]_0}.$$

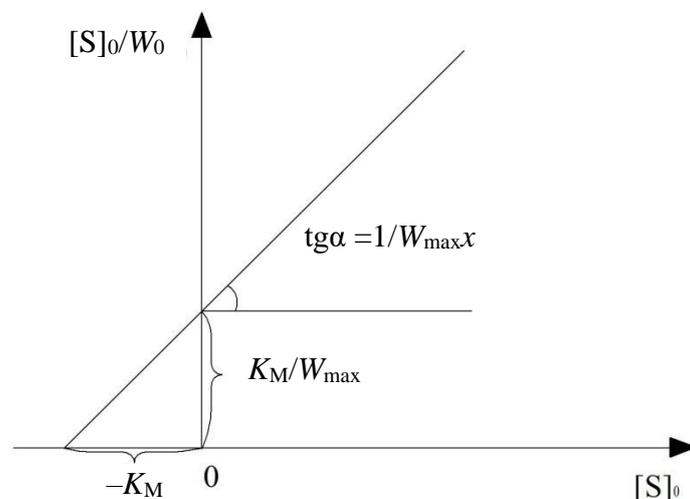


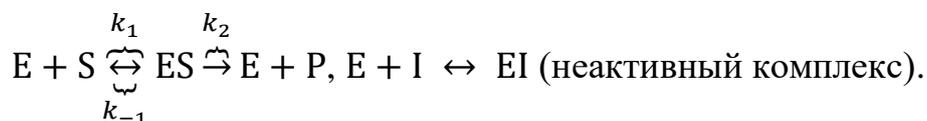
Рис. 4.8. К определению параметров K_M и W_{\max} по второй форме уравнения Лайнуивера–Берка

Построение графика в координатах $(W_0, \frac{W_0}{[S]_0})$, как видно из рис. 4.9, дает прямую линию, тангенс угла наклона которой $\text{tg } \alpha = -K_M$, а отрезок, отсекаемый на оси ординат, соответствует W_{max} . Кроме того, отрезок, отсекаемый на оси абсцисс, должен быть равен W_{max}/K_M , так как при $W_0 \rightarrow 0$ имеем

$$W_{\text{max}} \approx K_M \frac{W_0}{[S]_0} \text{ и } \frac{W_{\text{max}}}{K_M} = \frac{W_0}{[S]_0}.$$

Во всех способах обработки экспериментальных результатов, кроме графических методов, широко используется метод наименьших квадратов.

Ингибирование ферментативных реакций [28]. Вещества, присутствие которых в системе понижает активность фермента, т.е. уменьшает скорость реакции, называются ингибиторами. Рассмотрим реакцию конкурентного ингибирования, протекающего по следующему механизму:



Константу $K_I = \frac{[E][I]}{[EI]}$ называют константой ингибирования или константой диссоциации комплекса EI.

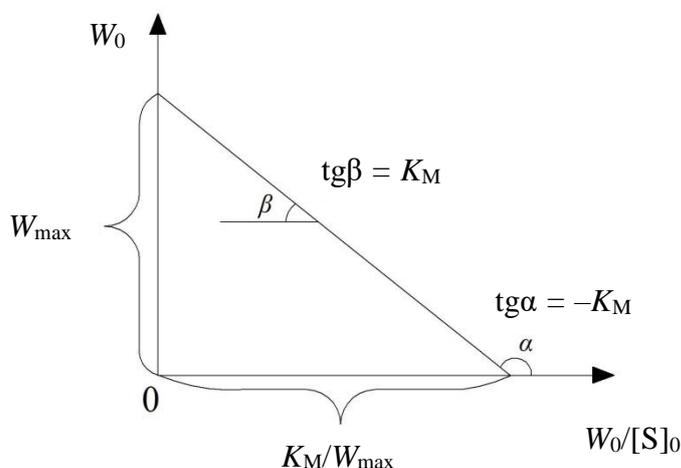


Рис. 4.9. К определению параметров K_M и W_{max} по способу Эди-Хофсти

При решении задачи будем использовать следующие допущения:

при $t \rightarrow 0$ $[P] \rightarrow 0$, $[S]_0 = [S] + [ES]$; $[S]_0 \gg [E]_0$,

поэтому $[S]_0 \approx [S]$;

$\frac{d[ES]}{dt} = 0$, т.е. $[ES]$ – стационарна; $[I]_0 \gg [E]_0$, т.е. $[I] \approx [I]_0$ –

начальная концентрация ингибитора.

Скорость реакции определяется скоростью образования продукта $[P]$:

$$W = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES].$$

В присутствии ингибитора уравнение материального баланса для фермента примет вид $[E]_0 = [E] + [ES] + [EI]$.

Выражая $[EI]$ как $[EI] = \frac{[E][I]_0}{K_I}$ и подставляя в уравнение материального баланса, получим: $[E]_0 = [ES] + [E] \left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right)$.

Согласно принципу равновесных концентраций имеем

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[S][E] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] = 0,$$

$$\text{откуда } [ES] = \frac{k_1[S]_0[E]}{k_{-1}+k_2} = \frac{[S]_0[E]}{K_M}.$$

Из последнего уравнения выразим концентрацию фермента $[E]$:

$$[E] = \frac{K_M}{[S]_0} [ES]$$

и подставим в формулу $[E]_0 = [ES] + [E] \left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right)$:

$$\begin{aligned} [E]_0 &= [ES] + \frac{K_M}{[S]_0} [ES] \left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right) \rightarrow [E]_0[S]_0 = \\ &= [ES] \left[[S]_0 + K_M \left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right) \right] \rightarrow [ES] = \frac{[E]_0[S]_0}{[S]_0 + K_M \left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right)}. \end{aligned}$$

Полученная формула для расчета [ES] позволяет получить выражение для расчета начальной скорости реакции, ускоряемой ферментом в присутствии ингибитора

$$W_{0I} = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] = \frac{k_2[E]_0[S]_0}{[S]_0 + K_M \left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right)} = \frac{W_{max}[S]_0}{K_{Mэф} + [S]_0},$$

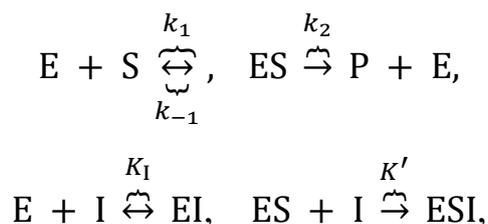
где $K_{Mэф} = K_M \left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right)$ – эффективная константа, зависящая от $[I]_0$ и K_I .

Сравнение уравнений Михаэлиса–Ментен $W_0 = \frac{W_{max}[S]_0}{K_M + [S]_0}$ и W_{0I} показывает, что начальная скорость реакции в присутствии ингибитора всегда меньше скорости реакции в его отсутствие; предельные значения скорости в обоих случаях для большинства концентраций субстрата одинаковы и равны $W_{max} = k_2[E]_0$. Если $[I]_0 = K_I$ и $[S]_0 = K_M$, скорость W_{0I} реакции в присутствии ингибитора будет равна $W_{0I} = \frac{W_{max}}{3}$.

Выражение для расчета константы K_I ингибирования получим из уравнения $K_{Mэф} = K_M \left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right)$: $K_I = \frac{[I]_0}{K_{Mэф}/K_M - 1}$.

Таким образом, для определения K_I необходимо знание начальной концентрации ингибитора $[I]_0$, $K_{Mэф}$ и K_M . Графическую обработку результатов опытов в отсутствие ингибитора и в его присутствии удобно проводить способом Лайнуивера–Берка в координатах $\left(\frac{1}{W_0}, \frac{1}{[S]_0}\right)$.

Для неконкурентного ингибирования в книге [28] рассматривается простейший механизм процесса:



где $K_I = \frac{[E][I]}{[EI]}$, $K' = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$.

Если оба комплекса неактивны, т.е. не дают продукта, а константы их диссоциации равны между собой, т.е. $K_I = K'$, то это равносильно дополнительному условию: ингибитор не мешает взаимодействию субстрата с ферментом, но уменьшает скорость реакции из-за неактивности образующихся комплексов на поверхности фермента.

Выражение для начальной скорости записывается в следующем виде:

$$W_{0I} = \frac{W_{\max\text{эф}}[S]_0}{K_M + [S]_0},$$

где $W_{\max\text{эф}} = \frac{W_{\max}}{1 + \frac{[I]_0}{K_I}}$.

Из записанного выражения следует, что в этом случае изменяется предельная скорость процесса, но константа Михаэлиса остается постоянной. Если $[I]_0 = K_I$ и $K_M = [S]_0$, то скорость реакции W_{0I} при неконкурентном ингибировании будет равна $W_{0I} = W_{\max}/4$.

Выражение для константы ингибирования, полученное из формулы

$$W_{\max\text{эф}} = \frac{W_{\max}}{1 + \frac{[I]_0}{K_I}}, \quad K_I = \frac{[I]_0}{W_{\max}/W_{\max\text{эф}} - 1},$$

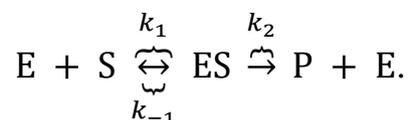
показывает, что K_I можно вычислить при известной $[I]_0$, измеряя скорости реакции в отсутствие и присутствии ингибитора. Обработка экспериментальных данных для неконкурентного ингибирования осуществляется по способу Лайнуивера–Берка в координатах $\left(\frac{1}{W_0}, \frac{1}{[S]_0}\right)$:

$$\frac{1}{W_0} = \frac{1}{W_{\max\text{эф}}} + \frac{K_M}{W_{\max\text{эф}}} \frac{1}{[S]_0}.$$

Линеаризованное уравнение позволяет определить K_M , W_{\max} , $W_{\max\text{эф}}$ и K_I , зная $[I]_0$.

Пример 4.16. Методом квазиравновесных концентраций получить уравнение для начальной скорости ферментативной реакции ($S \rightarrow P$), протекающей по предложенному Михаэлисом–Ментен механизму, с учетом условия $[S]_0 \gg [E]_0$. Каким образом определяются параметры этого уравнения?

Для простейшей ферментативной реакции $S \rightarrow P$ Л. Михаэлис и М. Ментен рассматривали механизм, состоящий из двух стадий (первая реакция – обратимая и быстрая, вторая реакция – необратимая и медленная):



Скорость этого процесса определяется лимитирующей стадией, т.е. скоростью образования продукта P: $W = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES]$.

Для нахождения концентрации $[ES]$ используем метод квазиравновесных концентраций $K_S = \frac{k_{-1}}{k_1} = \frac{[E][S]}{[ES]} \rightarrow [ES] = \frac{k_1}{k_{-1}} [E][S]$.

Для исключения текущей концентрации фермента $[E]$ используем уравнение материального баланса по ферменту $[E]_0 = [E] + [ES] \rightarrow [E] = [E]_0 - [ES]$.

Тогда имеем $[ES] = \frac{k_1}{k_{-1}} [E][S] = \frac{k_1}{k_{-1}} ([E]_0 - [ES])[S] \rightarrow [ES] = \frac{[E]_0[S]}{\frac{k_{-1}}{k_1} + [S]}$.

Уравнение для общей скорости реакции можно записать в следующем виде:

$$W = k_2[ES] = \frac{k_2[E]_0[S]}{\frac{k_{-1}}{k_1} + [S]} = \frac{W_{\max}[S]}{K_M + [S]},$$

где $W_{\max} = k_2[E]_0$ – предельная скорость реакции; $K_M = \frac{k_{-1}}{k_1} = K_S$ – субстратная константа, получившая название константы Михаэлиса.

Уравнение материального баланса по субстрату записывается следующим образом: $[S]_0 = [S] + [ES] + [P]$; однако в начальный момент времени при $t \rightarrow 0$ с учетом условий $[S]_0 \gg [E]_0$, $[P] \rightarrow 0$, $[ES] \rightarrow 0$, уравнение $[S]_0 = [S] + [ES] + [P]$ примет вид

$$[S]_0 = [S],$$

где $[S]_0$ – начальная концентрация субстрата; $[S]$ – текущая концентрация субстрата.

Уравнение $W = \frac{W_{\max}[S]}{K_M + [S]}$ для скорости образования продукта с учетом $[S]_0 = [S]$ в начальный период времени запишется в виде уравнения Михаэлиса–Ментен:

$$W_0 = \frac{W_{\max}[S]_0}{K_M + [S]_0},$$

для определения параметров K_M и W_{\max} полученного кинетического уравнения используют способы Лайнуивера–Берка и Эди–Хофсти.

Гидролиз *N*-глутарил-*L*-фенилаланин-*p*-нитроанилида в присутствии фермента α -химотрипсина приводит к образованию двух продуктов: *p*-нитроанилина и *N*-глутарил-*L*-фенилаланина. На основании полученных опытных данных и полагая, что процесс описывается уравнением Михаэлиса–Ментен, определить кинетические параметры K_M , W_{\max} и k_2 . Из экспериментов известно:

$$[E]_0 = 4,0 \cdot 10^{-6} \text{ М},$$

$[S]_0 \cdot 10^4, \text{ М}$	2,5	5,0	10,0	15,0
$W_0 \cdot 10^8, \text{ моль} \cdot \text{ л}^{-1} \cdot \text{ с}^{-1}$	3,7	6,3	9,8	11,8

Способ Лайнуивера–Берка заключается в построении графика уравнения Михаэлиса–Ментен в координатах $\left(\frac{1}{W_0}, \frac{1}{[S]_0}\right)$:

$$\frac{1}{W_0} = \frac{1}{W_{\max}} + \frac{K_M}{W_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]_0}.$$

При этом отрезок l , отсекаемый прямой на оси ординат, равен $\frac{1}{W_{\max}}$:
 $W_{\max} = \frac{1}{l} = \frac{1}{0,469 \cdot 10^7} = 2,13 \cdot 10^{-7}$ моль \cdot л $^{-1} \cdot$ с $^{-1}$. Тангенс угла наклона прямой равен отношению $\frac{K_M}{W_{\max}}$: $K_M = W_{\max} \cdot \operatorname{tg} \alpha = 2,13 \cdot 10^{-7} \cdot 5,58 \cdot 10^3 = 1,19 \cdot 10^{-3}$ М. Используя соотношение $W_{\max} = k_2 \cdot [E]_0$, находим

$$k_2 = \frac{W_{\max}}{[E]_0} = \frac{2,13 \cdot 10^{-7}}{4,0 \cdot 10^{-6}} = 0,053 \text{ с}^{-1}.$$

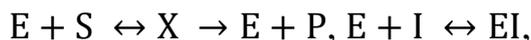
Способ Эдди–Хофсти заключается в построении линейного графика в координатах $(W_0, W_0/[S]_0)$ на основании соотношения

$$W_0 = W_{\max} - K_V \frac{W_0}{[S]_0}.$$

Отрезок, отсекаемый прямой на оси ординат, $l = W_{\max} = 2,12 \cdot 10^{-7}$ моль \cdot л $^{-1} \cdot$ с $^{-1}$. Тангенс угла наклона прямой равен $-K_M$:
 $K_M = -(\operatorname{tg} \alpha) = -(-1,18 \cdot 10^{-3}) = 1,18 \cdot 10^{-3}$ М.

$$k_2 = \frac{W_{\max}}{[E]_0} = \frac{2,12 \cdot 10^{-7}}{4,0 \cdot 10^{-6}} = 0,053 \text{ с}^{-1}.$$

Пример 4.17. Для ферментативной реакции с участием ингибитора I предложен механизм



в соответствии с которым описывается процесс конкурентного ингибирования. В этом случае субстрат и ингибитор конкурируют между собой за право вступить в реакцию с ферментом; ингибирование характеризуется константой $K_I = \frac{[E][I]}{[EI]}$. Записать кинетическое уравнение для процесса

в начальный момент времени, используя принцип квазистационарных концентраций, с учетом условий: $[S]_0 \gg [E]_0$ и $[I]_0 \gg [E]_0$; проанализировать кинетическое уравнение в координатах уравнения Лайнуивера–Берка.

Можно записать следующие три уравнения:

для скорости образования продукта [P]

$$W = \frac{d[P]}{dt} = k_2[X];$$

материального баланса по ферменту

$$[E]_0 = [E] + [X] + [EI];$$

для скорости образования промежуточного продукта X

$$\frac{d[X]}{dt} = k_1[E][S] - k_{-1}[X] - k_2[EI] = 0.$$

Далее можно выразить [EI] через $\frac{[E][I]}{K_I}$ и подставить в уравнение ма-

териального баланса, которое примет вид $[E]_0 = [X] + [E] \left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right)$; затем,

используя уравнение $k_1[E][S] - k_{-1}[X] - k_2[EI] = 0 \rightarrow [X] = \frac{k_1[E][S]_0}{k_{-1} + k_2} =$

$= \frac{[E][S]_0}{K_M}$, можно выразить [E] следующим образом: $[E] = \frac{K_M[X]}{[S]_0}$. Полученное

выражение для [E] подставляем в уравнение $[E]_0 = [X] + [E] \left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right)$,

которое решаем относительно концентрации [X]:

$$[E]_0 = [X] + \frac{K_M[X]}{[S]_0} \left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right) \rightarrow$$

$$\rightarrow [E]_0[S]_0 = [X] \left[[S]_0 + K_M \left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right) \right] \rightarrow [X] = \frac{[E]_0[S]_0}{K_M \left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right) + [S]_0}.$$

Знание или возможность вычисления [X] позволяет получить иско-
мое кинетическое уравнение в начальный период времени протекания
реакции:

$$W_{0I} = \frac{d[P]}{dt} = k_2[X] = \frac{k_2[E]_0[S]_0}{K_M\left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right) + [S]_0} = \frac{W_{\max}[S]_0}{K_{M,\text{эф}} + [S]_0},$$

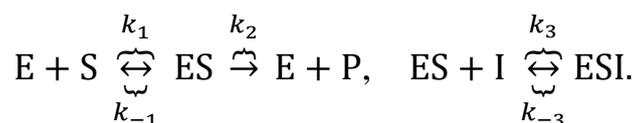
где $W_{\max} = k_2[E]_0$ и $K_{M,\text{эф}} = K_M\left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right)$.

Запишем полученное уравнение $W_{0I} = \frac{d[P]}{dt} = \frac{W_{\max}[S]_0}{K_{M,\text{эф}} + [S]_0}$ в координатах уравнения Лайнуивера–Берка:

$$\frac{1}{W_{0I}} = \frac{1}{W_{\max}} + \frac{K_{M,\text{эф}}}{W_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]_0}.$$

Зависимость $\frac{1}{W_{0I}}$ от $\frac{1}{[S]_0}$ представляет прямую линию, причем отрезок, отсекаемый прямой на оси ординат, равен $\frac{1}{W_{\max}}$, а тангенс угла $\text{tg } \alpha$ наклона прямой равен $\text{tg } \alpha = \frac{K_{M,\text{эф}}}{W_{\max}}$, т.е. он больше, чем при отсутствии ингибирования.

Пример 4.18. При бесконкурентном ингибировании механизм реакции имеет вид



В этом случае образуется один неактивный комплекс ESI за счет присоединения ингибитора к промежуточному соединению с константой равновесия обратимой реакции K_I : $K_I = \frac{k_{-3}}{k_3} = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$. Требуется вывести уравнение для начальной скорости реакции, ускоряемой ферментом в присутствии ингибитора, учитывая следующие условия между начальными концентрациями субстрата, ингибитора и фермента: $[S]_0 \gg [E]_0$; $[I]_0 \gg [E]_0$; каким образом можно определить параметры этого кинетического уравнения?

Скорость реакции равна скорости образования продукта P:

$$W = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES].$$

В присутствии ингибитора уравнение материального баланса для фермента примет вид $[E]_0 \approx [E] + [ES] + [ESI]$. Выражая концентрацию $[ESI]$ как $[ESI] = \frac{[ES][I]}{K_I}$ и подставляя в уравнение материального баланса, получим $[E]_0 \approx [E] + [ES] \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)$.

Для нахождения концентрации $[ES]$ используем принцип квазистационарных концентраций

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - (k_{-1} + k_2)[ES] + k_{-3}[ESI] - k_3[ES][I] = 0.$$

Записанное соотношение с учетом выражения

$$K_I = \frac{k_{-3}}{k_3} = \frac{[ES][I]}{[ESI]} \rightarrow k_{-3}[ESI] = k_3[ES][I]$$

упрощается до вида

$$k_1[E][S] - (k_{-1} + k_2)[ES] = 0 \rightarrow [ES] = \frac{k_1[E][S]}{k_{-1} + k_2} = \frac{[E][S]}{K_M}.$$

Выразив текущую концентрацию фермента E из последней формулы $[E] = \frac{K_M[ES]}{[S]}$, подставляем полученное выражение в уравнение материального баланса $[E]_0 \approx [E] + [ES] \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)$, которое решаем относительно концентрации $[ES]$: $[ES] = \frac{[E]_0[S]}{K_M + \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)[S]}$.

Знание концентрации $[ES]$ позволяет получить путем подстановки в уравнение $W = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES]$ искомое выражение для начальной скорости ферментативной реакции с учетом заданных условий при бесконкурентном ингибировании:

$$W_{0I} = \frac{k_2[E]_0[S]_0}{K_M + \left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right)[S]_0} = \frac{k_2[E]_0[S]_0}{\left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right) \left[\frac{K_M}{\left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right)} + [S]_0 \right]} = \frac{W_{\max \text{эф}}[S]_0}{K_{M,\text{эф}} + [S]_0},$$

где $W_{\max \text{эф}} = k_2[E]_0 / \left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right) = \frac{W_{\max}}{1 + \frac{[I]_0}{K_I}}$; $K_{M,\text{эф}} = \frac{K_M}{\left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right)}$.

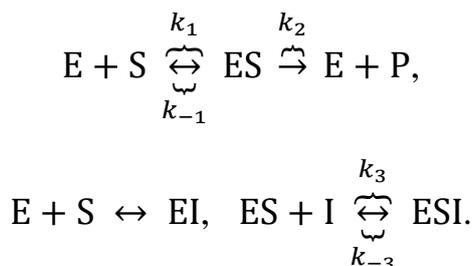
Из записанных выше соотношений видно, что параметры W_{\max} и K_M уравнения Михаэлиса–Ментен уменьшаются в случае ферментативной реакции при бесконкурентном ингибировании в $\left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right)$ раз.

Параметры полученного кинетического уравнения для ферментативной реакции при бесконкурентном ингибировании можно определять графическим способом в координатах Лайнуивера–Берка:

$$\frac{1}{W_{0I}} = \frac{1}{W_{\max \text{эф}}} + \frac{K_{M,\text{эф}}}{W_{\max \text{эф}}} \cdot \frac{1}{[S]_0}.$$

Строя график в координатах $\left(\frac{1}{W_{0I}}, \frac{1}{[S]_0}\right)$, по отрезку l , отсекаемому прямой на оси ординат, определяют величину $W_{\max \text{эф}} = \frac{1}{l}$; по тангенсу угла наклона прямой – величину $K_{M,\text{эф}} = W_{\max \text{эф}} \cdot \text{tg}\alpha = \frac{\text{tg}\alpha}{l}$. Эффективную константу $K_{M,\text{эф}}$ можно также определить по отрезку, отсекаемому прямой на оси абсцисс: $-\frac{1}{K_{M,\text{эф}}} = \frac{1}{[S]_0}$.

Пример 4.19. При смешанном ингибировании механизм реакции имеет следующий вид:



Отличительной чертой этого типа ингибирования является неравенство констант диссоциации комплексов EI и ESI, т.е. $K_I \neq K_{II}$:

$$K_I = \frac{[E][I]}{[EI]}; K_{II} = \frac{k_{-3}}{k_3} = \frac{[ES][I]}{[ESI]}.$$

Требуется вывести уравнение для начальной скорости ферментативной реакции при смешанном ингибировании, учитывая следующие условия: $[S]_0 \gg [E]_0$; $[I]_0 \gg [E]_0$; каким образом можно определить параметры этого кинетического уравнения?

Выразим скорость реакции через скорость образования продукта [P]:

$$W = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES].$$

В присутствии ингибитора уравнение материального баланса для фермента запишется в виде: $[E]_0 \approx [E] + [ES] + [EI] + [ESI]$. Выражая [EI] из формулы $K_I = \frac{[E][I]}{[EI]}$ и [ESI] из формулы $K_{II} = \frac{k_{-3}}{k_3} = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$, получим уравнение материального баланса в следующем виде:

$$[E]_0 \approx [E] + [ES] + \frac{[E][I]}{K_I} + \frac{[ES][I]}{K_{II}} = [E] \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) + [ES] \left(1 + \frac{[I]}{K_{II}}\right).$$

Используя принцип стационарных концентраций для обратимой реакции, определим концентрацию фермента [E]:

$$\begin{aligned} \frac{d[ES]}{dt} &= k_1[E][S] - (k_{-1} + k_2)[ES] - \underbrace{k_3[ES][I] + k_{-3}[ESI]}_{\text{равно 0}} = \\ &= k_1[E][S] - (k_{-1} + k_2)[ES] = 0 \rightarrow [E] = \frac{K_M[ES]}{[S]}, \text{ где } K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}. \end{aligned}$$

После подстановки $[E] = \frac{K_M[ES]}{[S]}$ в уравнение материального баланса $[E]_0 \approx [E] \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) + [ES] \left(1 + \frac{[I]}{K_{II}}\right)$ и несложных преобразований получаем выражение для стационарной концентрации [ES] промежуточного соединения:

$$[ES] = \frac{[E]_0[S]}{K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) + [S] \left(1 + \frac{[I]}{K_{II}}\right)} = \frac{[E]_0[S]}{\left(1 + \frac{[I]}{K_{II}}\right) \left(K_M \cdot \frac{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}{\left(1 + \frac{[I]}{K_{II}}\right)} + [S] \right)}.$$

Знание $[ES]$ позволяет получить путем подстановки в уравнение $W = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES]$ выражение для начальной скорости ферментативной реакции при смешанном ингибировании (с учетом начальных условий):

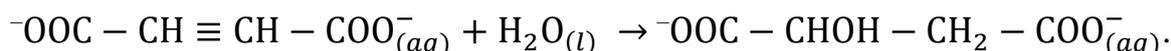
$$W_{01} = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] = \frac{W_{\max\text{эф}}[S]_0}{K_{M,\text{эф}} + [S]_0},$$

где $W_{\max\text{эф}} = \frac{k_2[E]_0}{\left(1 + \frac{[I]_0}{K_{II}}\right)}$; $K_{M,\text{эф}} = K_M \frac{\left(1 + \frac{[I]_0}{K_I}\right)}{\left(1 + \frac{[I]_0}{K_{II}}\right)}$.

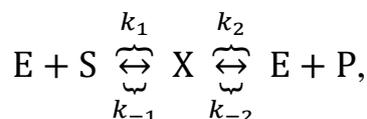
Как видно из приведенных формул, эффективная скорость всегда меньше предельной при $[I]_0 > 0$: $W_{\max\text{эф}} < W_{\max}$. Соотношение констант $K_{M,\text{эф}}$ и K_M зависит от соотношения K_I и K_{II} : если $K_I > K_{II}$, то $K_{M,\text{эф}} < K_M$; если $K_I < K_{II}$, то $K_{M,\text{эф}} > K_M$.

Параметры полученного кинетического уравнения могут быть определены графически по способу Лайнуивера–Берка.

Пример 4.20. Гидролиз фумарат-иона с образованием *L*-малат-иона ускоряется фумаразой



Предложен следующий механизм ферментативной реакции:



где E – фермент; S – субстрат; X – фермент-субстратный комплекс; P – продукт реакции. Требуется записать кинетическое уравнение реакции, полагая, что $\frac{dX}{dt} = 0$; проанализировать кинетику в начальный момент времени для условий $[S]_0 \ll K_S$ и $[S]_0 \gg K_S$.

Запишем кинетическое уравнение реакции для фермент-субстратного комплекса X и продукта реакции P:

$$\frac{d[X]}{dt} = 0 = k_1[E][S] - k_{-1}[X] - k_2[X] + k_{-2}[E][P];$$

$$\frac{d[P]}{dt} = k_2[X] - k_{-2}[E][P],$$

где $[E]_0 = [E] + [X]$.

Из первого и третьего уравнений выразим концентрации $[X]$ и $[E]$:

$$k_1[E][S] - k_{-1}[X] - k_2[X] + k_{-2}[E][P] = 0 \rightarrow [X] = \frac{k_1[E][S] + k_{-2}[E][P]}{k_{-1} + k_2},$$

$$[E] = [E]_0 - [X] = [E]_0 - \frac{k_1[E][S] + k_{-2}[E][P]}{k_{-1} + k_2} \rightarrow [E] \left(\frac{k_1[S] + k_{-2}[P]}{k_{-1} + k_2} \right) = [E]_0 \rightarrow$$

$$\rightarrow [E] = [E]_0 / \left(\frac{k_1[S] + k_{-2}[P]}{k_{-1} + k_2} \right).$$

Подставляя выражения для $[X]$ и $[E]$ в кинетическое уравнение, получим

$$W = \frac{d[P]}{dt} = \frac{\left(\frac{W_S}{K_S}\right)[S] - \left(\frac{W_P}{K_P}\right)[P]}{1 + [S]/K_S + [P]/K_P},$$

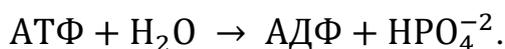
где $W_S = k_2[E]_0$; $W_P = k_{-1}[E]_0$; $K_S = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$; $K_P = \frac{k_{-1} + k_2}{k_{-2}}$.

Поскольку измерение скоростей реакции проводят в начальный момент времени, т.е. $[S] \approx [S]_0$, $[P] \rightarrow 0$, то кинетическое уравнение упрощается, превращаясь в уравнение Михаэлиса–Ментен:

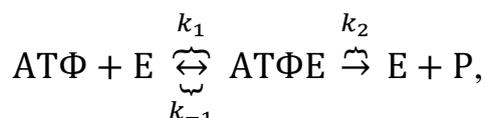
$$W_0 = \frac{d[P]}{dt} = \frac{(W_S/K_S)[S]_0}{1 + \frac{[S]_0}{K_S}} = \frac{W_S[S]_0}{K_S + [S]_0} = \frac{W_{\max}[S]_0}{K_M + [S]_0}.$$

Если $[S]_0 \ll K_S$, то $W_0 = W_S \frac{[S]_0}{K_S}$, реакция имеет псевдопервый порядок по отношению к субстрату; если же $[S]_0 \gg K_S$, то $W_0 = W_S$, реакция имеет псевдонулевой порядок реакции по отношению к субстрату. В обоих случаях скорость реакции в нулевой момент времени зависит от W_S , причем максимальная скорость W_S имеет первый порядок по отношению к $[E]_0 \approx [E]$.

Пример 4.21. Превращение аденозинтрифосфата (АТФ) в аденозиндифосфат (АДФ) протекает по реакции



Эта реакция может катализироваться кислотой или ферментом – аденозинтрифосфатазой (Е). Для этого случая наиболее простая схема реакции имеет вид



где АТФЕ – промежуточный комплекс. Требуется выразить скорость образования продукта W в зависимости от $[\text{АТФ}]$, начальной концентрации $[\text{Е}]_0$ фермента и K_M – константы Михаэлиса; показать, что константа K_M представляет собой константу диссоциации промежуточного комплекса; для интервала времени, когда применим принцип стационарных концентраций (фиксируя начальную концентрацию $[\text{Е}]_0$ фермента и выбирая начальную концентрацию $[\text{АТФ}] \gg K_M$), получить выражение для скорости реакции в начальный момент времени и в конце указанного интервала времени; выразить W в зависимости от W_{\max} и представить в соответствующей форме уравнение кинетики, позволяющее определять значения W_{\max} и K_M , на основании опытных данных.

$W, \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$	9,1	28,6	44,5	59,9	66,7
$[\text{АТФ}] \cdot 10^3, \text{ М}$	0,100	0,400	0,800	1,500	2,000

Рассчитать численные значения W_{\max} и K_M .

Для предложенной схемы реакции выражение для скорости реакции имеет вид

$$W = \frac{d[\text{P}]}{dt} = k_2[\text{АТФЕ}].$$

Применим принцип стационарных концентраций к АТФЕ:

$$\frac{d[\text{АТФЕ}]}{dt} = k_1[\text{АТФ}][\text{Е}] - k_{-1}[\text{АТФЕ}] - k_2[\text{АТФЕ}] = 0.$$

Выражая $[\text{Е}]$ из уравнения материального баланса $[\text{Е}]_0 = [\text{Е}] + [\text{АТФЕ}]$ через $[\text{Е}]_0$, можно записать

$$k_1[\text{АТФ}]([\text{Е}]_0 - [\text{АТФЕ}]) - k_{-1}[\text{АТФЕ}] - k_2[\text{АТФЕ}] = 0,$$

откуда $[\text{АТФЕ}] = \frac{k_1[\text{Е}]_0[\text{АТФ}]}{k_{-1} + k_2 + k_1[\text{АТФ}]}$.

Подставляя полученное выражение для $[\text{АТФЕ}]$ в уравнение кинетики, находим

$$W = \frac{k_1 k_2 [\text{Е}]_0 [\text{АТФ}]}{k_{-1} + k_2 + k_1 [\text{АТФ}]} = \frac{k_2 [\text{Е}]_0 [\text{АТФ}]}{K_M + [\text{АТФ}]},$$

где $\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_M$.

Применяя принцип квазистационарных концентраций к АТФЕ, полагают, что его концентрация постоянна во времени, следовательно, это соединение находится в равновесии с его продуктами разложения на исходные вещества:

$$k_1[\text{АТФ}][\text{Е}] = (k_{-1} + k_2)[\text{АТФЕ}] \text{ или } \frac{[\text{АТФ}][\text{Е}]}{[\text{АТФЕ}]} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_M.$$

Таким образом, K_M оказывается константой диссоциации промежуточного комплекса.

Если $[\text{АТФ}] \gg K_M$, то, используя уравнение для скорости $W = \frac{k_2[\text{Е}]_0[\text{АТФ}]}{K_M + [\text{АТФ}]}$ реакции, находим

$$W = \frac{k_2[\text{Е}]_0[\text{АТФ}]}{K_M + [\text{АТФ}]} \approx k_2[\text{Е}]_0 = W_{\max}.$$

Наиболее удобной формой обработки кинетических опытных данных по уравнению Михаэлиса–Ментен является способ Лайнуивера–Берка:

$$\frac{1}{W} = \frac{1}{W_{\max}} + \frac{K_M}{W_{\max}} \frac{1}{[\text{ATФ}]}$$

В координатах $\left(\frac{1}{W}, \frac{1}{[\text{ATФ}]}\right)$ график представляет собой прямую линию: отрезок отсекаемый на оси ординат, равен $\frac{1}{W_{\max}}$, а тангенс угла

наклона прямой равен $\frac{K_M}{W_{\max}}$. Обработка экспериментальных данных дает

следующие результаты:

$$\frac{K_M}{W_{\max}} = 10^{-5}, \frac{1}{W_{\max}} = 10^{-2}; W_{\max} = 10^2 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}, K_M = 10^{-3} \text{ М.}$$

5. РАЗВИТИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

5.1. ОСНОВЫ БИОХИМИЧЕСКОЙ МАКРОКИНЕТИКИ И ТЕОРИИ БИОРЕАКТОРОВ

Расчет степени превращения по термодинамическим данным позволяет определить максимально возможный выход, не давая, однако, никакой информации о скорости процесса. Такие термодинамические расчеты относятся к условиям равновесия, когда результирующая скорость биохимической реакции равна нулю. Теоретическое достижение равновесия невозможно за конечное время проведения реакции, и степень превращения всегда несколько ниже, чем при равновесии. Для экономичного технологического процесса время его проведения должно быть ограничено; чем оно короче, тем большее количество исходных веществ (сырья) может быть переработано установкой или тем меньшие размеры должно иметь оборудование, предназначенное для получения заданного количества продукта. Из этого следует, что для окончательного выбора биохимической концепции метода производства необходимо знать зависимость скорости биохимической реакции от условий проведения биохимического процесса.

Измерение скорости биохимической реакции в лабораторных условиях обычно осуществляется в условиях, исключающих влияние побочных факторов; как правило, исследования ведутся при постоянных температуре, давлении и интенсивном перемешивании. Полученные таким образом кинетические данные очень полезны для изучения механизма реакции, но не касаются количественной оценки скорости процесса.

При осуществлении сложной биохимической реакции в опытно-промышленных условиях в ферментере одновременно могут протекать несколько (и даже несколько десятков) простых реакций, связанных с пе-

реносом массы и тепла в культуральной среде, гидродинамической структурой потоков при перемешивании среды в аппарате. Поэтому для биотехнологического процесса, проводимого в большом масштабе, вводят понятие макрокинетики (технической скорости биохимического превращения); в общем случае эта скорость будет функцией не только состава реакционной системы и температуры, но также скорости технологического потока, величины поверхности соприкосновения фаз, интенсивности перемешивания и т.д. [12, 14, 15]. На протяжении последних десятилетий существует тенденция выделения теории промышленных биохимических процессов как отдельной науки; в ней можно различать два основных направления: макрокинетику, т.е. методы расчета скорости превращения [26 – 28], и теорию биохимических реакторов, цель которой – определение выхода целевого продукта в биореакторах различных типов и их проектирование [5, 8, 10, 13, 21, 30].

Задача биохимической макрокинетики – выбор таких условий осуществления, при которых биохимические превращения, проходящие с соответствующим выходом, достигали бы скорости, позволяющей реализовать эти превращения в промышленных условиях.

При проектировании биохимических реакторов следует учитывать сложность и многообразие способов осуществления биохимических процессов. В большинстве случаев, кроме основного конструктивного элемента, в котором происходят биохимическое превращение исходного вещества, биореакторы оборудуются большим количеством вспомогательных конструктивных элементов, предназначенных для проведения физических процессов (гидродинамических, массо- и теплообменных), и с помощью которых создаются оптимальные условия для проведения собственно биохимического превращения вещества (биохимической реакции). Это могут быть мешалки, контактные устройства, насосы, теплообменники и т.д. Поэтому все биохимические реакторы представляют собой комплексные

аппараты, состоящие из известных конструктивных элементов, большинство которых используется для проведения технологических операций, не сопровождающихся биохимическим превращением перерабатываемых веществ. Количество таких конструктивных сочетаний, а значит и типов биореакторов, может быть достаточно большим, что объясняется многообразием и сложностью протекающих в них биохимических реакций. Однако для большинства биореакторов существуют общие принципы, на основе которых находят связь между конструкцией (типом аппарата) и основными закономерностями протекающего в нем биотехнологического процесса [9, 10].

Часто реакторы классифицируют по тем факторам, которые определяют выбор метода их расчета:

- 1) способ подвода и отвода реагентов;
- 2) вид перемешивания в реакционном пространстве;
- 3) условия теплообмена;
- 4) фазовый состав реагирующей смеси [4, 5, 12].

По способу подвода и отвода реагентов биореакторы делятся на следующие типы:

а) аппараты периодического действия, в которые все исходные реагенты вводятся до начала реакции, а смесь продуктов отводится после окончания биотехнологического процесса;

б) аппараты непрерывного действия, характеризующиеся установившимся потоком реагентов в реакционном пространстве;

в) аппараты полунепрерывного действия [30].

В биореакторе периодического действия все отдельные стадии биотехнологического процесса (биохимической реакции) протекают последовательно, в разное время; условия осуществления биотехнологического процесса в реакторе периодического действия изменяются во времени. Характер изменения концентраций реагирующих веществ одинаков

во всех точках реакционного объема; в таком аппарате продолжительность реакции можно измерить непосредственно, так как время биохимического превращения и время пребывания реагентов в реакционном объеме одинаковы. Биореакторы периодического действия функционируют в динамическом режиме и поэтому трудно поддаются автоматическому контролю и управлению.

В реакторе непрерывного действия все отдельные стадии биотехнологического процесса (подача реагирующих веществ, биохимическое превращение вещества, вывод продуктов реакции) осуществляются в установленном (статическом) режиме. Характер изменения концентраций реагирующих веществ различен в разных точках реакционного объема биореактора, но постоянен во времени для одной и той же точки реакционного пространства аппарата.

В аппаратах непрерывного действия элементарные объемы поступающего в аппарат технологического потока находятся в реакционном пространстве биореактора разное время, и, следовательно, общее время их пребывания в реакционной зоне определяется из плотности распределения времени пребывания элементарных объемов в аппарате. В общем случае время осуществления биохимического превращения зависит от интенсивности перемешивания, структуры потоков в реакционном пространстве биореактора, и для каждого типа биореактора оно индивидуально.

Биореакторы непрерывного действия высокопроизводительны, сравнительно легко поддаются автоматическому контролю и регулированию технологических параметров при управлении процессом биохимического превращения вещества с применением управляющих ЭВМ [12].

В биореакторы полунепрерывного действия часть исходных реагентов вводится до начала процесса, а другая часть равномерно дозируется в ходе протекания процесса; при этом объем реакционной массы увеличивается, поскольку смесь продуктов отводится из биореактора после окон-

чания биотехнологического процесса. Кроме того, работа таких биореакторов может быть основана на непрерывном удалении одного из продуктов биохимического превращения методом дистилляции или ректификации.

По виду перемешивания биореакторы можно подразделить на две группы: емкостные аппараты с перемешиванием механической мешалкой или циркуляционным насосом, а также трубчатые реакторы, в которых перемешивание имеет локальный характер и вызывается неравномерностью распределения скорости потока и ее флуктуациями, а также завихрениями.

В трубчатом аппарате существует определенное распределение скоростей потока по его сечению; в результате состав, а также температуры реакционной смеси в центре аппарата и у его стенок различны; кроме того, существует значительный перепад концентраций и температур на входе и выходе из биореактора. К таким аппаратам относятся трубчатые биореакторы при соотношении их высоты H (длины) к диаметру D , равному не менее 20, т.е. $H/D \geq 20$.

На практике мы имеем дело с аппаратами для осуществления биохимических превращений с промежуточным (между режимами идеального перемешивания и идеального вытеснения) гидродинамическим режимом. Отклонения от идеального режима перемешивания в реакционном объеме наблюдаются, например, в аппаратах большого объема при недостаточной частоте вращения мешалки, наличии теплообменных устройств внутри реакционного объема, большой скорости подачи реагентов в аппарат непрерывного действия и т.д. В этих случаях могут возникать застойные зоны (объемы с малым перемешиванием или вообще без перемешивания), байпасные потоки внутри реакционного объема аппарата, а также проскок части элементарных объемов потока без смешения через реакционный объем аппарата [5, 13, 14, 30].

Влияние этих факторов на эффективность биохимического превращения вещества может быть существенным. Например, в застойных зонах

реакционного объема аппарата клетки будут находиться значительно большее время, чем в остальном реакционном объеме аппарата, из-за чего произойдет ингибирование процесса роста биомассы (образование инфицирующей микрофлоры). При наличии байпасного потока будет происходить проскок части субстрата, его неполное использование.

Следует отметить, что для биореакторов характерным является то, что рост микроорганизмов и транспорт к ним питательных веществ осуществляется в жидкой фазе. Вследствие этого от времени их пребывания в реакционном объеме аппарата будут зависеть конечные результаты их работы, а именно: концентрация биомассы и продуктов метаболизма, степень использования субстрата.

В аппаратах вытеснения регулярный гидродинамический режим может быть нарушен в результате поперечного и особенно продольного перемешивания потока, что приводит к частичному выравниванию концентраций и температур по сечению и длине трубчатого аппарата. Объясняется это тем, что продольное (обратное) перемешивание интенсифицирует перемешивание одних элементарных объемов потока, а других замедляет, вследствие чего время пребывания их в реакционном объеме аппарата становится различным. Одним из технических способов уменьшения эффекта продольного перемешивания является секционирование реакционного объема, в результате чего перемешивание приобретает локальный характер и по длине аппарата сохраняется режим, близкий к режиму полного вытеснения.

К аппаратам с промежуточным гидродинамическим режимом относятся большинство ферментеров колонного типа [8]. Биореактор как аппарат, в котором осуществляется основной процесс биотехнологии – образование нового продукта в результате сложного биохимического превращения исходных веществ с участием микроорганизмов, должен функционировать эффективно, т.е. обеспечивать требуемую глубину и избиратель-

ность биохимического превращения. Следовательно, конструкция биохимического реактора должна удовлетворять ряду различных требований: иметь необходимый реакционный объем, обеспечивать определенный гидродинамический режим технологического потока, создавать требуемую поверхность контакта взаимодействующих фаз, обеспечивать необходимую интенсивность теплообмена в реакционном объеме, требуемый режим аэрации и т.д. [4, 5, 10].

В промышленных условиях важнейшее значение приобретает не только скорость биохимического превращения вещества, но и производительность аппаратуры; поэтому выбор типа и конструкции технологического оборудования является одним из главных и ответственных этапов реализации биотехнологического процесса.

Большое влияние на ход биотехнологического процесса оказывает температура; если температура практически одинакова во всем реакционном объеме и равна температуре потока питания, то биореактор называется изотермическим. Его противоположностью является адиабатический реактор с практически полным отсутствием теплообмена между реакционным объемом и окружающей средой; температура реакционной смеси в этом случае зависит непосредственно от теплового эффекта биохимической реакции. Умеренный теплообмен между реакционным объемом и окружающей его средой характерен для неизотермических биореакторов.

По фазовому составу реагирующей смеси биореакторы подразделяют на гомогенные (реакция проводится в одной фазе) и гетерогенные (биохимическое превращение вещества проводится в многофазной системе). При этом важную подгруппу составляют контактные биореакторы, применяемые для проведения биохимической реакции при использовании биологических катализаторов белковой природы (ферментов), ускоряющих каталитические реакции в живых системах [5, 10].

По конструкции биохимические реакторы классифицируются следующим образом: биореакторы емкостного типа; биореакторы трубчатого типа; биореакторы пленочного типа; биореакторы мембранного типа; биореакторы с псевдоожиженным слоем. Выбор конструктивного типа биореактора зависит от условий проведения биотехнологического процесса и свойств участвующих веществ в биохимическом превращении.

К важнейшим из факторов, определяющих устройство биореактора, относятся: агрегатное состояние исходных веществ и продуктов биохимической реакции, а также их биохимические и микробиологические свойства; температура и давление, при которых протекает биотехнологический процесс; тепловой эффект биохимической реакции и скорость теплообмена; интенсивность переноса массы (массообмен), перемешивания реагентов; непрерывность или периодичность организации процесса; удобство монтажа и ремонта аппарата, простота его изготовления; доступность конструкционных материалов и т.д. [8, 10]. Из всех перечисленных выше факторов агрегатное состояние вещества оказывает наибольшее влияние на принцип организации движения взаимодействующих фаз и определяет конструктивный тип реакторного устройства. Кроме того, от этого фактора зависит выбор некоторых основных и вспомогательных деталей аппарата, таких как перемешивающее устройство, поверхность теплообмена и др.

С точки зрения определения технологических возможностей биохимических реакторов целесообразно систематизировать их с учетом основных гидродинамических и массообменных показателей, которые в значительной мере зависят от количества и способа подвода энергии на перемешивание и аэрацию в биореакторах. В соответствии с этим все биохимические реакторы (ферментеры) могут быть отнесены к трем группам: биореакторы с подводом энергии через газовую фазу – барботажные, эрлифтные ферментеры; биореакторы с подводом энергии через жидкую фазу – ферментеры с самовсасывающими перемешивающими устройствами,

с эжекционной системой перемешивания и аэрации, с внешним циркуляционным контуром; биореакторы с комбинированным подводом энергии – высокоинтенсивные ферментеры с механическим перемешиванием и одновременно барботажем сжатым воздухом [8, 10].

Биохимический реактор (ферментер) имеет также ряд устройств и даже целых узлов, с помощью которых к нему присоединяются основное и вспомогательное оборудование, датчики, контрольно-измерительные приборы и запорно-регулирующая арматура.

Сравнение и выбор определенного типа биохимического реактора – сложная техническая задача, для решения которой необходимы, прежде всего, всесторонний анализ и установление взаимной связи большого числа технологических и экономических требований. Одной из важнейших характеристик биореактора является его удельная производительность, численно равная количеству основного продукта, получаемого с единицы реакционного объема в единицу времени.

Величина удельной производительности биореактора связана непосредственно с кинетикой биотехнологического процесса и типом биореактора. Сравнение биореакторов непрерывного и периодического действия показывает, что для достижения одной и той же величины удельной производительности в аппаратах требуется разное время. В периодических процессах к чистому времени биохимического превращения вещества надо добавить дополнительное время, связанное с необходимостью подготовки аппарата к очередной операции ферментации; причем влияние дополнительного времени сильнее всего проявляется при проведении быстрых биохимических превращений, что делает невыгодным использование биореакторов периодического действия. Однако, для биохимических реакций, протекающих медленно и в малом объеме, биореакторы периодического действия распространены достаточно широко.

Известно, что количество теплоты, которое выделяется (или поглощается) в биохимическом превращении вещества, всегда пропорционально количеству реагирующих веществ или реакционному объему. Вместе с тем количество теплоты, отводимой (или подводимой) из реакционного объема, должно быть пропорционально площади поверхности теплообменного устройства. В свою очередь объем биореактора и площадь поверхности теплообмена неодинаково зависят от основного размера емкостного аппарата – его диаметра. Отсюда следует, что с увеличением размеров аппарата (его реакционного объема) снижается удельный теплосъем, т.е. количество теплоты, приходящееся на единицу объема биореактора. Поэтому с увеличением реакционного объема тепловые условия работы биореактора должны приближаться к адиабатическим; в биореакторах с небольшим реакционным объемом эти условия близки к изотермическим. Это означает, что при ограниченном (неинтенсивном) теплообмене на практике целесообразно использовать реакторы с большими реакционными объемами, а при интенсивном – наоборот, с малыми реакционными объемами.

При выборе типа биореактора основное значение имеют анализ кинетических характеристик, их взаимосвязь, а также механизм биохимического превращения вещества. Сравнение выхода продукта в непрерывно действующих биореакторах идеального (полного) перемешивания и вытеснения (или действующем реакторе идеального перемешивания периодического действия), а также их реакционных объемов при постоянной степени превращения показывает, что в случае последовательных реакций целесообразно использовать биореактор периодического действия или идеального вытеснения. Однако, если необходимо обеспечить интенсивный тепло- и массообмен между реагирующими веществами, то можно применить каскад биореакторов с перемешиванием (при незначительном снижении выхода целевого продукта). Причем для последовательных

реакций, когда продуктом является промежуточное вещество, реакционный объем биореактора вытеснения всегда меньше реакционного объема биореактора перемешивания (при одинаковой степени превращения вещества).

При выборе и сравнении биореакторов по кинетическим характеристикам процесса можно пользоваться зависимостью между величиной обратной скорости реакции и степенью превращения вещества. Этот метод позволяет подобрать оптимальный по производительности вариант аппаратного оформления биохимического процесса с практически любым типом реакции.

Кроме кинетических закономерностей биотехнологического процесса, которые являются одними из главных факторов при выборе и сравнении типов биореакционных аппаратов, во многих случаях следует учитывать и экономическую эффективность – зависимость между экономическим коэффициентом и селективностью реакции, а также между коэффициентом использования сырья и степенью его превращения. Необходимо также учесть зависимость себестоимости продукта, ее слагаемых и дохода от удельной производительности биореактора, поскольку технологические условия (концентрация, температура, соотношение реагирующих потоков и др.) влияют на такие показатели, как степень превращения, избирательность, удельная производительность биореактора, а следовательно, и на себестоимость биопродукта.

Для осуществления стерильных процессов биосинтеза почти исключительно применяют герметичные биореакторы-ферментаторы для культивирования микроорганизмов с механическим перемешиванием культуральной среды; для теплообмена биореакционные аппараты снабжают змеевиками, теплообменными рубашками или теми и другими вместе.

Автоматизированный контроль и управление процессом биохимического превращения вещества, протекающим в биохимическом реакторе,

связан с контролем и регулированием технологических переменных состояния биореакционных аппаратов, таких как расход, температура, давление, влагосодержание, концентрация кислорода и др. При этом измерение и регистрация переменных состояния биохимического процесса не должны нарушать стерильных условий работы биохимического реактора.

Для управления процессом биохимического синтеза необходимо иметь надежную и достоверную информацию как о собственно биохимическом превращении вещества, так и о физических условиях его протекания. В связи с этим важное значение приобретают датчики первичной информации, необходимые для автоматического измерения и контроля технологических переменных состояния биохимического реактора. Выбор датчиков производится в зависимости от контролируемой переменной и пределов ее измерения; наилучшим решением будет применение бесконтактных датчиков. Однако это не всегда возможно, особенно для такого биохимического процесса, как ферментация.

Важным требованием, предъявляемым к датчику, является возможность его стерилизации тепловым или химическим способом; в первом случае используют острый водяной пар, а во втором – такие агенты стерилизации, как, например, оксид этилена, формалин и др. Наибольшее распространение имеет стерилизация острым паром (от нескольких десятков минут до нескольких часов), в то время как химический способ дороже, требует последующего удаления агента стерилизации, а в некоторых случаях может даже влиять на течение биохимического процесса.

В заключение отметим, что стратегия развития биотехнологического производства, в центре которой находится биохимический реактор, отражает главные направления организации связи биореактора с субстратом и целевым биопродуктом. Это, прежде всего, наличие необходимого вида сырья, расширение его базы за счет нетрадиционных источников, таких,

например, как природный газ, продукты химического синтеза, газообразные субстраты (азот, водород, оксид углерода и др.); все большее значение будут приобретать природные возобновляемые сырьевые источники (целлюлоза, крахмал и другая растительная биомасса). Для реализации биохимического превращения вещества нужны источники энергии, а также питательные вещества для биологических агентов (соли, витамины, белки и др.). Кроме того, необходимы воздух и вода (первый – для обеспечения кислородом жизнедеятельности микроорганизмов, вторая – для технологических целей и обеспечения теплообмена).

5.2. РАСЧЕТ БИОХИМИЧЕСКИХ РЕАКТОРОВ

Цель расчета биореактора обычно заключается в определении степени превращения, достигаемой в биореакционном аппарате заданных размеров при принятых условиях осуществления биохимического процесса, или в вычислении объема реакционного пространства, необходимого для достижения заданной степени превращения. Основой этих расчетов служат уравнения стехиометрического баланса, кинетики, материального и теплового балансов процесса биохимических превращений, осуществляемого в биореакторе [5, 10, 13, 21, 30].

Запишем уравнение материального баланса биореактора, в котором осуществляется биохимическое превращение вещества, относительно выбранного компонента реагирующей смеси; наиболее часто таким компонентом служит исходное вещество. Если биохимическое превращение можно описать одним стехиометрическим уравнением, содержание остальных компонентов можно определить по этому уравнению. В том случае, когда для описания биотехнологического процесса необходимо привести большее число стехиометрических уравнений, нужно составить балансовые уравнения для такого же числа компонентов реакционной

системы. Уравнение материального баланса для одного компонента реакционной системы, например вещества А, можно записать следующим образом:

$$\begin{aligned} & \left(\underbrace{\begin{pmatrix} \text{Кол} - \text{во А,} \\ \text{поступающее} \\ \text{в биореактор} \end{pmatrix}}_{\text{Приход}} \right) - \left[\underbrace{\begin{pmatrix} \text{Кол} - \text{во А,} \\ \text{выходящее} \\ \text{из биореактора} \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} \text{Кол} - \text{во А,} \\ \text{расходуемое} \\ \text{в биохимическом} \\ \text{превращении} \end{pmatrix}}_{\text{Расход}} \right] = \\ & = \underbrace{\begin{pmatrix} \text{Кол} - \text{во А,} \\ \text{остающееся} \\ \text{в биореакторе} \end{pmatrix}}_{\text{Накопление}}. \end{aligned}$$

Уравнение материального баланса для одного компонента смеси называется проектным уравнением биореактора; конкретный вид проектного уравнения для определенного типа биореактора зависит от способа подвода и отвода реагентов, а также от гидродинамической структуры потока в реакционном пространстве.

Аналогично составим уравнение теплового баланса биореактора (для процесса биохимического превращения вещества, проводимого при постоянном давлении):

$$\begin{aligned} & \underbrace{\left(\begin{pmatrix} \text{Энтальпия} \\ \text{(входящего потока)} \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} \text{Теплота, выделяемая} \\ \text{при биохимическом} \\ \text{превращении} \end{pmatrix} \right)}_{\text{Приход}} - \\ & - \left[\underbrace{\left(\begin{pmatrix} \text{Энтальпия} \\ \text{(выходящего потока)} \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} \text{Теплота, отводимая} \\ \text{через поверхность теплоотвода} \end{pmatrix} \right)}_{\text{Расход}} \right] = \\ & = \underbrace{\begin{pmatrix} \text{Теплота, накапливаемая} \\ \text{в биореакторе} \end{pmatrix}}_{\text{Накопление}}. \end{aligned}$$

Биореактор полного перемешивания. Если интенсивность перемешивания так велика, что поступающий поток практически мгновенно и равномерно распределяется в реакционном пространстве, то мы имеем дело

с полным перемешиванием. Это крайний случай, поскольку в действительности всегда существует время, необходимое для перемешивания введенной доли потока с остальным содержимым биореакционного аппарата. Однако в небольших биореакторах емкостного типа с интенсивным механическим перемешиванием культуральной среды с малой вязкостью отклонение от полного перемешивания незначительно.

Состояние, близкое к полному перемешиванию, дает возможность использовать очень важное предположение, упрощающее уравнения балансов биореактора: принимается допущение о том, что состав и температура культуральной среды одинаковы во всем реакционном объеме.

Составим баланс исходного вещества А, выражая его количество в молях. В общем случае концентрация реагента А, объемные скорости подвода и отвода реагентов, а также степень заполнения реактора могут изменяться во времени; следовательно, необходимо составить баланс для бесконечно малого периода времени dt . Число молей исходного вещества А, поступающее с потоком реагентов в биореактор, равно $c_{A,0}G_0dt$, где G_0 – объемная скорость потока на входе в биореактор; $c_{A,0}$ – мольная концентрация вещества А в поступающем потоке. Аналогично, число молей реагента А, отводимое из биореактора составляет $c_{A,вых} \cdot G_{вых} \cdot dt$. Здесь $c_{A,вых}$ и $G_{вых}$ означают соответственно концентрацию вещества А на выходе из биореактора, численно равную его концентрации в реакционном объеме, и объемную скорость отвода потока из биореактора.

Число молей исходного вещества А, расходуемое в результате биохимического превращения, составляет: $V_r \cdot W_A \cdot dt$, где V_r – заполненный объем биореактора; W_A – скорость биохимического превращения вещества А. Если в реакционной системе происходит несколько биохимических превращений вещества А, то W_A представляет собой алгебраическую сумму скоростей этих превращений, выраженных относительно исходного вещества А. Подобным образом в уравнении теплового баланса

суммируются количества теплоты, выделяемые в результате отдельных биохимических превращений.

Накопление реагента А в реакционном объеме биореактора равно изменению его количества за период времени dt ; при этом содержание вещества А в данный момент составляет $V_r \cdot c_{A, \text{ВЫХ}}$, а его изменение – $d(V_r \cdot c_{A, \text{ВЫХ}})$.

Теперь объединим все части баланса в одном уравнении:

$$c_{A,0} G_0 dt - c_{A, \text{ВЫХ}} \cdot G_{\text{ВЫХ}} \cdot dt - V_r \cdot W_A \cdot dt = d(V_r \cdot c_{A, \text{ВЫХ}}).$$

Разделив левую и правую части данного равенства на dt , получим уравнение

$$c_{A,0} G_0 - c_{A, \text{ВЫХ}} \cdot G_{\text{ВЫХ}} - V_r \cdot W_A t = \frac{d(V_r \cdot c_{A, \text{ВЫХ}})}{dt},$$

которое является общим проектным уравнением биореактора полного перемешивания.

Подобным образом составляется уравнение теплового баланса. Энтальпии поступающего в биореактор и выходящего из него потоков вычисляются как

$$\Delta H_0 = c_{p,0} \cdot \rho_0 \cdot G_0 (T_0 - T_{0,d}) dt, \quad \Delta H_{\text{ВЫХ}} = c_{p, \text{ВЫХ}} \cdot \rho_{0, \text{ВЫХ}} \cdot G_{\text{ВЫХ}} (T_{\text{ВЫХ}} - T_{0,d}) dt,$$

где $c_{p,0}, \rho_0, T_0, c_{p, \text{ВЫХ}}, \rho_{0, \text{ВЫХ}}, T_{\text{ВЫХ}}$ – соответственно удельная теплоемкость, плотность и температура в потоках на входе и выходе из реакционного объема, а $T_{0,d}$ – температура, по отношению к которой составляется тепловой баланс.

Теплота, выделяемая во время биохимического превращения, вычисляется как

$$\Delta Q = -H_{\text{бхр}} \cdot W_A \cdot V_r \cdot dt,$$

где $H_{\text{бхр}}$ – энтальпия биохимического превращения вещества А.

Количество теплоты, передаваемое через поверхность теплообмена в биореакторе, можно выразить следующим образом:

$$Q = K_T \cdot F \cdot (T_{\text{ВЫХ}} - T_{\text{хлад}}) dt,$$

где K_T – коэффициент теплопередачи; F – площадь поверхности теплообмена; $T_{\text{хлад}}$ – температура хладагента.

Обозначим через $d(c_{p,\text{вых}} \cdot \rho_{\text{вых}} \cdot T_{\text{вых}} \cdot V_r)$ накопление теплоты в реакционном объеме и составим уравнение теплового баланса биореактора:

$$\begin{aligned} & c_{p,0} \cdot \rho_0 \cdot G_0 (T_0 - T_{0,d}) dt - H_{\text{бхр}} \cdot W_A \cdot V_r \cdot dt - \\ & - c_{p,\text{вых}} \cdot \rho_{\text{вых}} \cdot G_{\text{вых}} (T_{\text{вых}} - T_{0,d}) dt - K_T \cdot F (T_{\text{вых}} - T_{\text{хлад}}) dt = \\ & = d(c_{p,\text{вых}} \cdot \rho_{\text{вых}} \cdot T_{\text{вых}} \cdot V_r). \end{aligned}$$

Разделив левую и правую части этого выражения на dt , получаем окончательный вид уравнения теплового баланса биореактора полного перемешивания:

$$\begin{aligned} & c_{p,0} \cdot \rho_0 \cdot G_0 (T_0 - T_{0,d}) - \\ & - c_{p,\text{вых}} \cdot \rho_{\text{вых}} \cdot G_{\text{вых}} (T_{\text{вых}} - T_{0,d}) dt - H_{\text{бхр}} \cdot W_A \cdot V_r - K_T \cdot F (T_{\text{вых}} - T_{\text{хлад}}) = \\ & = \frac{d(c_{p,\text{вых}} \cdot \rho_{\text{вых}} \cdot T_{\text{вых}} \cdot V_r)}{dt}. \end{aligned}$$

Записанные выше балансовые уравнения представляют собой обобщенные зависимости, служащие для расчета основных типов биореакторов полного перемешивания [13, 14, 30].

Реактор полного вытеснения (идеальный трубчатый биореактор).

В длинных трубчатых биореакторных аппаратах локальное перемешивание жидкости имеет большое значение для распределения концентраций и температуры в направлении, перпендикулярном оси, чем в осевом направлении, ввиду того, что поперечный размер аппарата, как правило, в несколько раз (или даже в несколько десятков раз) меньше длины. В результате появляется довольно значительная однородность состава и температуры смеси реагентов в поперечном сечении реакционного аппарата при относительно малом влиянии продольного перемешивания на осевое распределение этих величин. Таким образом, для упрощения проектного уравнения трубчатого биореактора можно принять модель движения потока, называемую поршневым течением (полным вытеснением). Такое тече-

ние характеризуется плоским профилем скорости, отсутствием продольного перемешивания, а также полным перемешиванием в направлении, перпендикулярном оси. При этих предположениях в реакторе с поршневым течением (полным вытеснением) мы имеем дело также с плоскими профилями концентрации и температуры; температура и концентрация изменяются непрерывно только вдоль оси биореактора.

Проектное уравнение биореактора с поршневым течением представляет дифференциальное уравнение с частными производными [13, 14, 30]:

$$\frac{\partial(G \cdot c_A)}{\partial V} + W_A = -\frac{\partial c_A}{\partial t}.$$

Трубчатые биореакторы чаще всего имеют вид каналов с постоянным поперечным сечением; при расчете таких биореакторов удобнее заменить бесконечно малый элемент объема dV бесконечно малым элементом длины dx : $dV = F \cdot dx$. Кроме того, линейная скорость потока связана с его объемной скоростью соотношением вида $v = G/F$.

Учитывая эти формулы, проектное уравнение биореактора с поршневым течением принимает следующий вид:

$$\frac{\partial(v \cdot c_A)}{\partial x} + W_A = -\frac{\partial c_A}{\partial t}.$$

Записанные выше проектные уравнения $\frac{\partial(G \cdot c_A)}{\partial V} + W_A = -\frac{\partial c_A}{\partial t}$ и $\frac{\partial(v \cdot c_A)}{\partial x} + W_A = -\frac{\partial c_A}{\partial t}$ применяются главным образом для описания динамики функционирования биореактора полного вытеснения; для целей проектирования биореакторов достаточно стационарных уравнений, получаемых при $\frac{\partial c_A}{\partial t} = 0$: $\frac{\partial(G \cdot c_A)}{\partial V} = -W_A$. В этом уравнении произведение $G \cdot c_A$ представляет собой число молей реагента А, поступающее в элементарный объем в единицу времени, или мольную скорость потока. Из определения степени превращения следует

$$\alpha = \frac{G_0 \cdot c_{A,0} - G \cdot c_A}{G_0 \cdot c_{A,0}}$$

или

$$d(G \cdot c_A) = -G_0 \cdot c_{A,0} \cdot d\alpha.$$

После подстановки α в стационарное уравнение $\frac{\partial(G \cdot c_A)}{\partial V} + W_A = -\frac{\partial c_A}{\partial t}$,

получим

$$G_0 \cdot c_{A,0} \frac{d\alpha}{dV} = W_A.$$

Интегрирование последнего дифференциального уравнения дает возможность получить наиболее часто используемый вид проектного уравнения материального баланса биореактора полного вытеснения:

$$\frac{V}{G_0} = c_{A,0} \int_0^{\alpha_{\text{вых}}} \frac{d\alpha}{W_A}.$$

Отношение $\frac{V}{G_0}$ имеет размерность времени и носит название кажущегося времени пребывания реагентов в биореакторе; оно равно действительному времени пребывания только тогда, когда процесс проводится без изменения реакционного объема системы.

Аналогичным образом можно записать и проектное уравнение теплового баланса биореактора полного вытеснения [13, 14, 30]:

$$\frac{\partial(c_p \cdot \rho \cdot T)}{\partial t} + v \cdot \rho \frac{\partial(c_p \cdot T)}{\partial x} = -H_{\text{бхр}} \cdot W - K_T \cdot F \cdot (T - T_{\text{хлад}}).$$

Для стационарного состояния последнее уравнение упрощается до вида

$$\frac{v}{c_p} \frac{d(c_p \cdot T)}{dx} = -\frac{H_{\text{бхр}} \cdot W}{c_p \cdot \rho} - \frac{K_T}{c_p \cdot \rho} F (T - T_{\text{хлад}}).$$

В случае протекания биохимических превращений в жидкой фазе, а также при многих превращениях в газовой фазе удельная теплоемкость смеси реагентов изменяется незначительно во время протекания биохимической реакции и может считаться постоянной; тогда проектное уравнение теплового баланса приводится к наиболее часто используемому виду:

$$v \frac{dT}{dx} = -\frac{H_{\text{бхр}} \cdot W}{c_p \cdot \rho} - \frac{K_T}{c_p \cdot \rho} F (T - T_{\text{хлад}}).$$

Изотермические биореакторы. Проектирование изотермического биореактора только для одного биохимического превращения сводится к расчету времени, необходимого для достижения принятой степени пре-

вращения вещества, или объема реакционного пространства на основе проектного уравнения; концентрации остальных компонентов реакционной смеси определяются по стехиометрическому уравнению. Расчет значительно усложняется, когда в реакторе могут протекать несколько биохимических превращений. Тогда, как правило, нужно решать систему проектных дифференциальных или алгебраических уравнений [13, 14, 30].

При осуществлении изотермического биотехнологического процесса температура не является переменной величиной в уравнении скорости реакции; поэтому в расчетах можно отдельно рассчитывать объем или производительность биореактора на основе проектного уравнения материального баланса биореактора, а затем определить количество отводимой или подводимой теплоты и площадь поверхности теплообмена по уравнению теплового баланса.

Реактор полного перемешивания периодического действия. Биореакторы периодического действия используются в промышленности почти исключительно для проведения биохимических реакций в жидкой фазе или процессов ферментативного катализа с участием жидкости. Это типовые биореакционные аппараты для малотоннажных производств фармацевтической промышленности. Обычно биореактор периодического действия представляет собой закрытый сосуд с мешалкой; такой биореактор только частично заполняется реагентами, так что степень заполнения колеблется обычно от 0,7 до 0,8 [14].

При этом следует помнить об изменении объема реакционной системы во время проведения биохимической реакции и принимать более низкую степень заполнения, если процесс происходит со значительным увеличением объема.

В период проведения биохимического превращения подачи реагентов в биореактор и отвода из него продуктов не происходит, т.е. $G_0 = G_{\text{вых}} = 0$. Таким образом проектное уравнение материального баланса приводится к виду

$$-V_r \cdot W_A = \frac{d}{dt} (c_A \cdot V_r),$$

где c_A – концентрация реагента А в момент времени t ; выражение $c_A \cdot V_r$ равно числу молей вещества А в реакционной системе в данный момент времени. Последнее уравнение можно связать со степенью превращения:

$$\alpha = 1 - \frac{c_A \cdot V_r}{c_{A,0} \cdot V_{r,0}},$$

где $V_{r,0}$ – начальный объем реакционной системы.

Отсюда следует проектное уравнение материального баланса, записанное относительно α :

$$\frac{d}{dt} (c_A \cdot V_r) = -c_{A,0} \cdot V_{r,0} \frac{d\alpha}{dt}.$$

Поскольку масса реакционной системы остается постоянной, то объем V_r реакционной системы можно выразить как функцию плотности реагирующей смеси в данный момент времени:

$$V_r = V_{r,0} \cdot \frac{\rho_0}{\rho},$$

где ρ_0 – начальная плотность; ρ – плотность при данной степени превращения. Учитывая эту зависимость, получаем проектное уравнение материального баланса биореактора в следующем виде [14]:

$$c_{A,0} \cdot \frac{d\alpha}{dt} = \frac{\rho_0}{\rho} W_A,$$

или в интегральной форме $t = \frac{c_{A,0}}{\rho_0} \int_0^{\alpha_{\text{вых}}} \frac{\rho}{W_A} d\alpha$. Если в реакционном объеме биореактора не возникает значительных градиентов концентраций и температуры, а изменение реакционного объема во время биохимического превращения невелико (и в технологических расчетах им можно пренебречь), то проектное уравнение можно использовать в следующем виде:

$$t = c_{A,0} \int_0^{\alpha_{\text{вых}}} \frac{d\alpha}{W_A}.$$

Погрешность расчетов, обусловленную таким упрощением, можно значительно уменьшить, если относить начальные концентрации реагентов

не к начальному объему, а к среднему объему, вычисленному, например, для значения α , равного половине конечной степени превращения.

Для производительности биореактора периодического действия решающее значение имеет не только время, необходимое для проведения реакции, но и продолжительность вспомогательных операций, связанных с заполнением и опорожнением биореактора, подготовкой его к очередному циклу работы и т.п. Переработанное за время одного цикла количество вещества составляет

$$m = \rho_0 \cdot \varphi \cdot V,$$

где ρ_0 – плотность смеси исходных веществ; φ – степень заполнения биореактора; V – объем биореактора.

Деля величину $\rho_0 \cdot \varphi \cdot V$ на продолжительность цикла, получаем производительность биореактора периодического действия $PP_{\text{рпд}}$ (кг/ч):

$$PP_{\text{рпд}} = \frac{\rho_0 \cdot \varphi \cdot V}{t_r + t_0},$$

где t_r – время протекания биохимической реакции; t_0 – общая продолжительность вспомогательных операций.

Для сравнения эффективности функционирования биореакторов различных размеров удобно пользоваться количеством вещества, переработанным в единице объема биореактора за единицу времени:

$$\bar{W}_A = \frac{c_{A,0} \cdot \alpha}{t_r + t_0}.$$

Величину \bar{W}_A , измеряемую обычно в кмоль/(м³ · ч), можно назвать средней технической скоростью биохимического превращения в биореакторе периодического действия.

Неизотермические биореакторы. При изменении температуры во времени или при наличии градиента температуры в реакционном объеме расчеты биореактора следует проводить с одновременным учетом проектных уравнений материального и теплового балансов биореактора, поскольку оба этих уравнения связаны со скоростью биохимического пре-

вращения, которая становится функцией степени превращения и температуры. Следовательно, расчет биореактора сводится к решению системы двух уравнений с двумя неизвестными: α и T ; для проточного биореактора полного перемешивания это будет система алгебраических уравнений, а в остальных случаях получается система дифференциальных уравнений.

Биореактор периодического действия с полным перемешиванием культуральной среды. Запишем проектное уравнение теплового баланса:

$$\rho \cdot V_r \frac{d}{dt} (c_p \cdot T) = -H_{\text{бхр}} \cdot V_r \cdot W_r - K_T \cdot F \cdot (T - T_{\text{хлад}}).$$

Если удельную теплоемкость реакционной системы можно считать постоянной, то записанное уравнение сводится к виду

$$\frac{dT}{dt} = -\frac{H_{\text{бхр}}}{c_p \cdot \rho} W_r - \frac{K_T}{c_p \cdot \rho} \cdot \frac{F}{V_r} (T - T_{\text{хлад}}).$$

Такое уравнение наиболее часто используется для расчета неизотермического биореактора периодического действия совместно с проектным уравнением материального баланса:

$$\frac{d}{dt} (V_r \cdot c) = -V_r \cdot W_r.$$

Решение системы проектных дифференциальных уравнений теплового и материального балансов дает возможность определить изменения температуры и концентрации вещества во времени.

Для адиабатического превращения уравнение теплового баланса упрощается

$$\frac{dT}{dt} = -\frac{H_{\text{бхр}}}{c_p \cdot \rho} \cdot W_r.$$

Часто коэффициент $\frac{H_{\text{бхр}}}{c_p \cdot \rho}$ можно считать постоянным; тогда после подстановки $W_r = W_A = c_{A,0} \cdot \frac{d\alpha}{dt}$ и интегрирования получаем

$$T - T_0 = \frac{H_{\text{бхр}} \cdot c_{A,0}}{c_p \cdot \rho} \cdot \alpha.$$

Следовательно, в адиабатическом процессе приращение температуры реакционной системы в многих случаях пропорционально степени превращения:

$$T - T_0 = k \cdot \alpha,$$

$$\text{где } \alpha = \frac{H_{\text{бхр}} \cdot c_{A,0}}{c_p \cdot \rho}.$$

Это дает возможность непосредственно интегрировать проектное уравнение: выразив скорость реакции как $W_A = k_0 \cdot \exp\left(\frac{E}{RT_0} \cdot \frac{T-T_0}{T}\right) \cdot f(\alpha)$. В этом случае проектное уравнение адиабатического биореактора периодического действия можно записать в виде

$$t_r = c_{A,0} \int_0^{\alpha_k} \frac{d\alpha}{k_0 \cdot \exp\left(\frac{b \cdot \alpha}{T_0 + a \cdot \alpha}\right) \cdot f(\alpha)},$$

где $b = \frac{E}{RT_0} \cdot \frac{H_{\text{бхр}} \cdot c_{A,0}}{c_p \cdot \rho}$; здесь подынтегральное выражение в уравнении содержит, как и при изотермическом режиме, только одну переменную α .

5.3. МАСШТАБИРОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ РЕАКТОРОВ

После проведения предпроектных научных исследовательских работ, позволяющих разработать технологическую концепцию нового биотехнологического процесса, возникает проблема практической реализации биотехнологического процесса в промышленном масштабе. В подавляющем большинстве случаев собранная к этому времени информация о проектируемом БТП недостаточна для разработки проекта промышленной установки, так как большинство единичных элементов биотехнологического процесса реализуется различными способами в лабораторном и промышленном масштабах. Кроме того, промышленная установка включает в себя разнообразное вспомогательное оборудование, не применяемое в лабораторной аппаратуре, что связано с необходимостью накопления и перемещения больших масс (исходных реагентов, полупродуктов и целевых продуктов) и переноса большого количества энергии в промышленном биотехнологическом производстве. Поэтому для правильного проектирования промышленной установки необходимо провести исследование био-

химического превращения вещества в опытно-промышленных условиях, т.е. в среднем масштабе между лабораторным и промышленным. Данный этап работ при создании нового биотехнологического процесса называется развитием технологического процесса; он охватывает не только экспериментальные исследования, но и проектные расчеты и предварительные оценки экономичности создаваемого биотехнологического процесса.

После разработки технологической концепции метода (технологии) производства и предварительного определения числа и видов единичных элементов аппаратного оформления по стадиям биотехнологического производства приступают к проектированию установки промежуточного масштаба. Цель исследований на такой установке – пополнение сведений о создаваемом биотехнологическом процессе, необходимых для принятия правильных проектно-конструкторских решений при проектировании промышленной установки, определение оптимальных режимов функционирования технологического оборудования на стадиях производства и экономическая оценка метода (технологии) биотехнологического производства.

Основные задачи, которые необходимо решать при проведении исследований в опытно-промышленных условиях, можно сформулировать следующим образом:

- 1) экспериментальная проверка пригодности аппаратного оформления выбранного типа на стадиях биотехнологического производства для осуществления данных единичных элементов биотехнологического процесса или, в случае нескольких вариантов, выбор наиболее подходящей конструкции аппарата;

- 2) получение дополнительных данных о ходе единичных элементов биотехнологического процесса в большем масштабе или в аппаратах другого типа, в отличие от использованных в лабораторных исследованиях;

- 3) определение показателей работы технологической аппаратуры, которые невозможно установить в лабораторных условиях (например, ско-

рости испарения с 1 м^2 свободной поверхности жидкости, расход мощности на образование 1 т культуральной среды в емкостном аппарате с мешалкой);

4) исследование скорости коррозии и подбор конструкционных материалов, предназначенных для изготовления оборудования;

5) исследование возможности продолжительной работы установок непрерывного действия;

б) исследование динамики функционирования единичных элементов установки с целью автоматизации режимов их функционирования.

При большом расхождении между масштабом лабораторных исследований и планируемым промышленным производством необходимо проводить исследования на нескольких опытно-промышленных установках с постепенным увеличением размеров их аппаратурного оформления. Число промежуточных этапов зависит не только от производительности промышленного производства, но и от сложности повышения масштаба отдельных элементов биотехнологического процесса. Как правило, чем сложнее БТП, тем мельче должны быть последовательные «шаги».

Достоинство описанного способа – получение надежных и полных данных, необходимых для проектирования промышленного производства, недостаток – высокая продолжительность научно-исследовательских, экспериментальных и проектных работ в промежуточных масштабах и высокая стоимость внедрения проектируемого БТП в промышленное производство.

Во все времена быстрое внедрение БТП в производство имело важное значение; поэтому обычно стремятся к максимальному сокращению исследований в промежуточных масштабах. Многие единичные процессы (например, теплообмен, ректификация, осаждение и др.) изучены достаточно полно, что на основе лабораторных исследований можно без большого риска сразу же рассчитывать аппараты промышленного масштаба.

Следовательно, при этом отпадает необходимость проведения исследований в четверть- и полупромышленном масштабе (если, конечно, нет необходимости определения эффектов продолжительной работы всей технологической установки непрерывного действия). Другие единичные элементы БТП, масштабирование которых вызывает затруднения (например, сложные биохимические превращения, кристаллизация, процессы в гетерогенных системах), должны, как правило, исследоваться во всех запланированных промежуточных масштабах.

Идеальным считается такое знание БТП, при котором можно проектировать промышленную установку в любом масштабе на основе теоретических расчетов с использованием данных, полученных при лабораторных исследованиях. Развивающееся в последние десятилетия изучение механизмов биохимического превращения вещества, ферментативного катализа, процессов переноса количества движения, массы и теплоты, а также кинетики биохимических превращений позволило разработать расчетные методы масштабирования (методы математического моделирования) [14, 31].

Расчетные методы масштабирования основаны на описании всех явлений БТП с помощью математического описания (чаще всего – дифференциальных уравнений). Математическая модель БТП позволяет рассчитать аппаратно-технологическое оформление технологического процесса любого выбранного масштаба, в том числе и промышленного; при этом метод математического моделирования предусматривает экспериментальные исследования в целях установления математического описания состояний равновесия, определения кинетических констант биохимических превращений и коэффициентов переноса массы и энергии. В связи с этим становится понятным, что широкое применение расчетных методов масштабирования затруднено, поскольку в математическую модель включаются эмпирические зависимости и не вполне точные коэффициенты,

определенные экспериментальным методом. Это ограничивает применимость метода математического моделирования для масштабирования БТП и допустимый диапазон изменения масштаба.

Введение в систему уравнений математической модели БТП до нескольких десятков коэффициентов может вызвать такое снижение точности результатов расчетов, что они будут лишь качественно характеризовать эффективность функционирования БТП; с точки зрения инженера-проектировщика эти результаты не имеют практической ценности. Поэтому в настоящее время расчетные методы масштабирования эффективно используются лишь для проектирования относительно простых и хорошо изученных единичных процессов, например теплообмена, некоторых массообменных процессов, простых биохимических превращений в гомогенных системах и т.п.

Наиболее целесообразным представляется следующий способ действий при масштабировании БТП [14, 31, 32]. После разработки технологической концепции следует выделить те единичные элементы технологической схемы биотехнологического процесса, для которых аппаратурно-технологическое оформление может быть спроектировано в промышленном масштабе непосредственно на основе лабораторных исследований. Масштабирование остальных элементов БТП необходимо проводить эмпирическим способом, применяя, однако, методы математической обработки экспериментальных данных и используя все возможности рациональной экстраполяции результатов для максимального ограничения числа промежуточных этапов масштабирования. Важную роль при этом играют опыт и интуиция исследователя и инженера-проектировщика.

Расчет промышленных биореакторов непосредственно по данным лабораторных исследований возможен только в простых случаях, например для биохимических реакций, осуществляемых в изотермических или адиабатических условиях в гомогенной среде. Выше указывалось, что

нужно проводить исследования в промежуточном масштабе. Необходимые для проектирования данные находятся при исследованиях в опытно-промышленных условиях в виде эмпирических зависимостей выхода биохимического превращения от условий работы биореактора. Нашей целью в основном является достижение в оптимальных условиях осуществления биохимических превращений в опытно-промышленном масштабе, установленных при исследованиях в лабораторном масштабе. Как и при масштабировании единичных типовых процессов, в этом случае можно использовать теорию подобия [14, 31, 32].

Теория подобия приносит пользу не только при экспериментальном повышении масштаба; она используется также и при расчетном методе масштабирования. Преобразование уравнений математической модели в критериальные уравнения дает возможность получить решение в обобщенном виде для всего класса подобных процессов. При этом уменьшается число переменных, что облегчает представление результатов в графической или табличной форме.

Переходя к масштабированию, напомним, что под понятием «физическая модель» подразумевается в данном случае не только геометрическое подобие аппаратов, но и подобие физических величин [14, 31, 32]. Аппарат меньшего масштаба будем называть физической моделью, а аппарат большего масштаба – образцом.

Необходимые и достаточные условия подобия двух систем определены третьей теоремой подобия [31], из которой следуют следующие указания, относящиеся к моделированию:

- 1) необходимо соблюдать геометрическое подобие физической модели и образца (натуры);
- 2) процессы в обеих системах должны подчиняться одним и тем же закономерностям; это означает, что безразмерные (критериальные) уравнения, описывающие одинаковые процессы в физической модели и образце, должны быть идентичны;

3) необходимо, чтобы значения граничных условий в модели и образце были пропорциональны или чтобы соответствующие безразмерные граничные условия были идентичны;

4) константы подобия (критерии, числа подобия) физических величин следует подбирать так, чтобы одноименные критерии подобия для физической модели и образца были численно равны.

Последнее условие достаточно реализовать для одной, наиболее удобной для исследователя точки системы; если выполняются указанные выше условия 1 – 3, то равенство одноименных критериев подобия будет соблюдаться во всех сходственных точках физической модели и образца.

Добиться полного подобия физической модели и образца удастся для немногих простых случаев; как правило, когда в аппарате протекает несколько элементарных процессов, условия подобия некоторых из них могут быть противоречивы. В таких случаях применяется приближенное моделирование; оно основано на соблюдении условий подобия только наиболее важных (определяющих) процессов и соответствующих им полей физических величин. Так, в биохимическом реакторе должно соблюдаться подобие процессов биохимических превращений и полей концентраций реагентов, участвующих в них. Правильное осуществление приближенного моделирования также позволяет описать количественно ход процесса в большем масштабе; однако приходится считаться и с тем, что при слишком большом расхождении масштабов может возникнуть значительная разница между физической моделью и образцом, обусловленная неучтенными нами явлениями (так называемые эффекты повышения масштаба); иногда эти эффекты весьма велики, что ограничивает диапазон использования метода моделирования повышением масштаба всего лишь в несколько раз.

Масштабирование с применением теории подобия является общим случаем моделирования; соблюдение полного подобия чаще всего не позволяет сохранить оптимальные переменные состояния (режимы функцио-

нирования) процесса, полученные в меньшем масштабе. Например, если исследователь определил в физической модели оптимальное распределение температуры или концентраций, то для сохранения этих условий потребуется идентичность полей указанных величин в физической модели и образце, а не только их подобие. Другое ограничение обусловлено применением одних и тех же реагентов в физической модели и образце, что не позволяет считать физические величины независимыми переменными; следует добиваться того, что био- и физико-химические свойства реагентов в физической модели и образце были одинаковы.

Обычно на ход биохимического превращения в биореакторе оказывают влияние движения потоков переноса массы и теплоты в реакционном объеме. Для достижения полного подобия биореакторов необходимо соблюдать:

- 1) геометрическое подобие;
- 2) гидродинамическое подобие;
- 3) подобие процессов массо- и теплопереноса;
- 4) биохимическое подобие.

В литературе [14, 31, 32] выведены критерии химического подобия из общих уравнений материального и теплового балансов системы, в которой проходит биохимическое превращение. В результате были получены следующие критерии подобия:

– критерий гомохронности $Но = \frac{v \cdot t}{l}$, характеризующий подобие динамических систем;

– первый и второй критерии Дамкелера: $Da_I = \frac{W_r}{v \cdot c}$, $Da_{II} = \frac{W_r \cdot l^2}{c \cdot D}$, характеризующие движения потоков с биохимической реакцией и подобие процесса диффузии с биохимической реакцией; здесь W_r – скорость биохимической реакции; v, c – линейная скорость потока и концентрация вещества соответственно; l – пространственная переменная; D – коэффициент диффузии;

– третий и четвертый критерии Дамкелера:

$$Da_{III} = \frac{H_{\text{бхр}} \cdot W_r \cdot l}{v \cdot \rho \cdot c_p \cdot T}, \quad Da_{IV} = \frac{H_{\text{бхр}} \cdot W_r \cdot l^2}{\lambda \cdot T},$$

характеризующие соответственно подобие процессов подвода (или отвода) теплоты реакции с потоком реагентов и с помощью теплопроводности; здесь $H_{\text{бхр}}$ – энтальпия биохимической реакции; λ – коэффициент теплопроводности.

Критерии Дамкелера можно заменить более известными диффузионным и тепловым критериями подобия Пекле:

$$Pe_D = \frac{Da_{II}}{Da_I} = \frac{v \cdot l}{D}; \quad Pe = \frac{Da_{IV}}{Da_{III}} = \frac{v \cdot l \cdot \rho \cdot c_p}{\lambda}.$$

С технологической точки зрения при масштабировании следует стремиться к достижению, по крайней мере, того же выхода с единицы объема образца, что и в физической модели; с учетом идентичности состава и био-физико-химических свойств реагирующей смеси в реакционных аппаратах физической модели и образца, это условие сводится к сохранению одинаковых скоростей биохимической реакции в сходственных точках физической модели и образца: $W_{r, \text{фм}} = W_{r, \text{обр}}$, что в свою очередь требует соблюдения равенства температур в этих точках: $T_{\text{фм}} = T_{\text{обр}}$.

Ранее было упомянуто, что при сохранении геометрического и гидродинамического подобий выполнение этих условий невозможно; поэтому необходимо ограничиться прежде всего соблюдением биохимического и теплового подобий. Получаемые при этом уравнения изменения масштаба будут иметь приближенный характер, а значит, их можно использовать только при небольших изменениях промежуточных масштабов [14, 31, 32].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Освоение студентами теории и практики разделов настоящего учебного пособия, являющегося систематическим введением в методологию проектирования биотехнологических процессов и производств, позволит им сформировать соответствующие компетенции, необходимые для решения задач профессиональной деятельности научно-исследовательского и проектного типов.

Изложенные в пособии основы разработки и проектирования биотехнологических процессов, формулирование и реализация биохимической и технологической концепций метода (технологии) биотехнологического производства, включающих принципы наилучшего использования разности потенциалов, сырья, энергии, технологического оборудования, и их проверка путем решения уравнений стехиометрического баланса, кинетики, материального и энергетического балансов; использование теории моделирования для изменения масштаба биотехнологического процесса и масштабирования биохимических реакторов предназначены для формирования соответствующих знаний, умений и навыков будущих специалистов.

Третий и четвертый разделы учебного пособия включают широкий диапазон решенных примеров, связанных с оценкой биохимической концепцией метода (технологии) биотехнологического производства и проведением стехиометрических, термохимических и термодинамических расчетов при проектировании биотехнологических процессов; а также с решением прямых и обратных задач биохимической кинетики с учетом зависимости скорости реакций от температуры и рН среды: для необрати-

мых, сложных (обратимых, параллельных и последовательных) реакций разных порядков и реакций ферментативного катализа.

Учебное пособие будет особенно полезным магистрантам, инженерам и аспирантам, выполняющим научные исследования, аналитические и технологические, проектные и прикладные работы в биотехнологическом секторе науки, техники и экономики.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Волова, Т. Г. Введение в биотехнологию. Версия 1.0 [Электронный ресурс] / Т. Г. Волова. – Красноярск : ИПК СФУ, 2008.
2. Волова, Т. Г. Биотехнология / Т. Г. Волова. – Новосибирск : Изд-во Сибирского отделения Российской Академии наук, 1999. – 252 с.
3. Бирюков, В. В. Основы промышленной биотехнологии : учебник для студентов вузов / В. В. Бирюков. – М. : КолосС, 2004. – 296 с.
4. Бейли, Дж. Основы биохимической инженерии : в 2-х ч. / Дж. Бейли, Д. Оллис ; пер. с англ. – М. : Мир, 1989. – Ч. 1. – 692 с.
5. Бейли, Дж. Основы биохимической инженерии : в 2-х ч. / Дж. Бейли, Д. Оллис ; пер. с англ. – М. : Мир, 1989. – Ч. 2. – 590 с.
6. Системный анализ и оптимизация биотехнологических производств / Д. С. Дворецкий, С. И. Дворецкий, Е. И. Акулинин и др. – Тамбов : Издательский центр ФГБОУ ВО «ТГТУ», 2019. – 160 с.
7. Системный анализ в биотехнологии: методы принятия решений и поисковой оптимизации [Электронный ресурс] : учебное пособие / С. И. Дворецкий, Д. С. Дворецкий, Е. И. Акулинин, М. С. Темнов. – Тамбов : Издательский центр ФГБОУ ВО «ТГТУ», 2024.
8. Процессы и аппараты биотехнологии: ферментационные аппараты : учебное пособие / А. Ю. Винаров, Л. С. Гордеев, А. А. Кухаренко, В. И. Панфилов ; под ред. В. А. Быкова. – М. : Юрайт, 2018. – 275 с.
9. Смирнов, Н. Н. Биохимические реакторы : учебное пособие для вузов / Н. Н. Смирнов, В. А. Плесовских. – СПб. : Химиздат, 1998. – 128 с.
10. Конструирование биореакторов будущего пищевых технологий: учебник для вузов / С. Т. Антипов С. А. Бредихин, А. И. Ключников и др. ; под ред. В. А. Панфилова. – СПб.: Лань, 2022. – 524 с.

11. Моделирование биохимических реакторов / В. В. Кафаров, А. Ю. Винаров, Л. С. Гордеев. – М. : Лесная промышленность, 1979. – 343 с.
12. Кафаров, В. В. Моделирование и системный анализ биохимических производств / В. В. Кафаров, А. Ю. Винаров, Л. С. Гордеев. – М. : Лесная промышленность, 1985. – 280 с.
13. Методология проектирования биотехнологических производств : учебное пособие / Д. С. Дворецкий, С. И. Дворецкий, Е. И. Акулинин, М. С. Темнов. – Тамбов : Издательский центр ФГБОУ ВО «ТГТУ», 2020.
14. Общие основы химической технологии / С. Бретшнайдер, В. Кавецкий, Я. Лейко, Р. Марционковский ; под ред. П. Г. Романкова ; пер. с польского. – Л. : Химия, 1977. – 504 с.
15. Бесков, В. С. Общая химическая технология и основы промышленной экологии : учебник / В. С. Бесков, В. С. Сафронов. – М. : Химия, 1999. – 472 с.
16. Основы проектирования химических производств : учебник / С. И. Дворецкий, Д. С. Дворецкий, Г. С. Кормильцин, А. А. Пахомов. – М. : Издательский дом «Спектр», 2014. – 356 с.
17. Налимов, В. В. Статистические методы планирования экстремальных экспериментов / В. В. Налимов, Н. А. Чернова. – М.-Л. : Наука, 1965.
18. Ахназарова, С. Л. Оптимизация эксперимента в химии и химической технологии : учебное пособие / С. Л. Ахназарова, В. В. Кафаров. – М. : Высшая школа, 1978. – 319 с.
19. Вершинин, В. И. Планирование и математическая обработка результатов химического эксперимента : учебное пособие / В. И. Вершинин, Н. В. Перцев. – 4-е изд., стер. – СПб. : Лань, 2019. – 236 с.
20. Математическое моделирование технологических процессов : учебное пособие / В. С. Балакирев, С. И. Дворецкий, Н. Н. Аниськина,

В. Н. Акишин ; под ред. В.С. Балакирева. – 2-е изд. перераб. – Ярославль : Издательский дом Н. П. Пастухова, 2020. – 262 с.

21. Проектирование биотехнологических производств : учебное пособие / А. А. Красноштанова, А. Е. Кузнецов, М. М. Баурина и др. – М. : РХТУ имени Д. И. Менделеева, 2019. – 228 с.

22. Краткий справочник физико-химических величин / под ред. А. А. Равделя и А. М. Пономаревой. – Л. : Химия, 1983. – 232 с.

23. Рябин, В. А. Термодинамические свойства веществ. Справочник / В. А. Рябин, М. А. Остроумов, Т. Ф. Свит. – Л. : Химия, 1977. – 390 с.

24. Викторов, М. М. Методы вычисления физико-химических величин и прикладные расчеты / М. М. Викторов. – Л. : Химия, 1977. – 360 с.

25. Справочник химика : в 7 т. / под ред. Б. П. Никольского. – Л. : Химия, 1971. – 1072 с.

26. Березин, И. В. Практический курс химической и ферментативной кинетики : учебное пособие / И. В. Березин, А. А. Клесов. – М. : Изд-во Московского государственного университета, 1976. – 320 с.

27. Варфоломеев, С. Д. Биокинетика: Практический курс : учебное пособие / С. Д. Варфоломеев, К. Г. Гуревич. – М. : ФАИР-ПРЕСС, 1999. – 720 с.

28. Байрамов, В. М. Основы химической кинетики и катализа : учебное пособие / В. М. Байрамов. – М. : Издательский центр «Академия», 2003. – 256 с.

29. Байрамов, В. М. Химическая кинетика и катализ : учебное пособие / В. М. Байрамов. – М. : Издательский центр «Академия», 2003. – 320 с.

30. Левеншпиль, О. Инженерное оформление химических процессов / О. Левеншпиль ; пер. с англ. под ред. М. Г. Слинько. – М. : Химия, 1969. – 624 с.

31. Гухман, А. А. Введение в теорию подобия / А. А. Гухман. – М. : Высшая школа, 1973. – 295 с.

32. Масштабный переход в химической технологии: разработка промышленных аппаратов методом гидродинамического подобия / А. М. Розен, Е. И. Мартюшин, В. М. Олевский и др. ; под ред. А. М. Розена. – М. : Химия, 1980. – 320 с.

33. Касымов, Д. П. Планирование и обработка результатов эксперимента : учебно-методическое пособие / Д. П. Касымов. – Томск : Изд-во Томского государственного университета. 2021. – 93 с.

34. Анализ и представление результатов эксперимента : учебно-методическое пособие / Н. С. Воронова, С. Г. Бежанов, С. А. Воронов и др. ; под общ. ред. Н. С. Вороновой. – М. : НИЯУ МИФИ, 2015. – 120 с.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	3
ВВЕДЕНИЕ	7
1. БИОТЕХНОЛОГИЯ И БИОИНЖЕНЕРИЯ: РАЗРАБОТКА НОВОГО БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА	10
1.1. Научные составляющие и проблемы биотехнологии и биоинженерии	10
1.2. Основы разработки и проектирования биотехнологических процессов	17
1.3. Состав и содержание исходных данных для проектирования биотехнологических процессов и производств	23
2. ЭКСПЕРИМЕНТ – ОСНОВА ПРОЕКТИРОВАНИЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА	31
2.1. Экспериментальное исследование	31
2.2. Физическое моделирование, масштабирование биотехнологических процессов	64
2.3. Математическое моделирование	67
3. ОЦЕНКА БИОХИМИЧЕСКОЙ КОНЦЕПЦИИ МЕТОДА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА	80
3.1. Критерии оценки эффективности биотехнологических процессов	81
3.2. Стехиометрический баланс, уравнения для стехиометрических расчетов. Примеры	88
3.3. Термодинамические расчеты при проектировании биотехнологических процессов. Примеры	101
4. ОСНОВЫ БИОХИМИЧЕСКОЙ КИНЕТИКИ И ТЕОРИИ БИОРЕАКТОРОВ	124
4.1. Основные понятия и определения. Кинетика необратимых реакций разных порядков. Прямые и обратные задачи биохимической кинетики	124
4.2. Кинетика сложных реакций. Принцип квазистационарных концентраций. Примеры	152
4.3. Кинетика ферментативных реакций. Примеры	179
5. РАЗВИТИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА	202
5.1. Основы биохимической макрокинетики и теории биореакторов	202
5.2. Расчет биохимических реакторов	214
5.3. Масштабирование биохимических реакторов	225
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	234
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	236

Учебное электронное издание

ДВОРЕЦКИЙ Станислав Иванович
ДВОРЕЦКИЙ Дмитрий Станиславович
АКУЛИНИН Евгений Игоревич
ТЕМНОВ Михаил Сергеевич

**БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ
И БИОРЕАКТОРЫ:
РАЗРАБОТКА И ПРОЕКТИРОВАНИЕ**

Учебное пособие

Редактор Л. В. Комбарова
Графический и мультимедийный дизайнер Т. Ю. Зотова
Обложка, тиражирование, упаковка Л. В. Комбаровой

ISBN 978-5-8265-2922-5



Подписано к использованию 11.06.2025.

Тираж 50 экз. Заказ № 80

Издательский центр ФГБОУ ВО «ТГТУ»
392000, г. Тамбов, ул. Советская, д. 106, к. 14
Тел. 8(4752) 63-81-08;
E-mail: izdatelstvo@tstu.ru