

EXEMPLE D'APPLICATION BATCHREACTOR

BIOTECHNOLOGIE BLANCHE

SIMULATION DE LA PRODUCTION BATCH D'ACIDE POLY- β -HYDROXYBUTYRIQUE (PHB) AVEC UN MODELE CINETIQUE UTILISATEUR

OBJECTIFS DE CET EXEMPLE

L'intérêt principal de cet exemple est la possibilité pour l'utilisateur de décrire ses propres modèles cinétiques grâce à l'utilisation du mode avancé de Simulis Reactions, serveur de réactions chimiques utilisé dans BatchReactor.

Cet exemple de technologie blanche traite de la production d'acide Poly- β -Hydroxybutyrique (PHB) par le micro-organisme *Alcaligenes eutrophus*. La modélisation mathématique des mécanismes de la réaction a recours à des équations spécifiques (équation de Monod et termes sigmoïdaux) non disponibles dans les bibliothèques standards de réactions chimiques comme Simulis Reactions.

DIFFUSION	<input checked="" type="checkbox"/> Libre internet	<input type="checkbox"/> Réservée aux clients ProSim	<input type="checkbox"/> Réduite	<input type="checkbox"/> Confidentielle
-----------	--	--	----------------------------------	---

FICHIER BATCHREACTOR CORRESPONDANT	BATCHREA_E01_FR - PHB.pbpr
------------------------------------	--

Il est rappelé au lecteur que ce cas d'utilisation est un exemple et ne doit pas être utilisé à d'autres fins. Bien que cet exemple soit basé sur un cas concret, il ne doit pas être considéré comme cas d'utilisation typique, et les données utilisées ne sont pas toujours les données disponibles les plus précises. ProSim se dégage de toute responsabilité pour tout dommage provenant de l'utilisation des résultats de calculs basés sur cet exemple.

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION	3
2. MECANISME REACTIONNEL	3
3. CONSTITUANTS	4
4. MODELE THERMODYNAMIQUE	5
5. MODELE CINETIQUE	5
6. IMPLEMENTATION DU MODELE CINETIQUE EN UTILISANT SIMULIS REACTIONS	6
7. SIMULATION	13
7.1. Description du procédé	13
7.2. Résultats	15
8. BIBLIOGRAPHIE	16
9. NOMENCLATURE	17

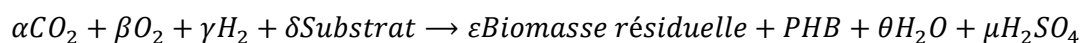
1. INTRODUCTION

Cet exemple provient de [HEU80] et traite de la production d'acide poly- β -hydroxybutyrique (PHB), un polymère biodégradable, grâce à l'action de la bactérie *Alcaligenes eutrophus*. Le modèle développé par Heinzle et Lafferty [HEI80] décrit la culture en mode batch de ces micro-organismes et considère que la croissance et le stockage de PHB, utilisé comme réserve d'énergie par la bactérie, sont liés aux substrats limitants (NH_4^+), à la biomasse résiduelle et aux concentrations du produit. L'influence du transfert de gaz est annulée par le maintien des concentrations de gaz dissous. En phase de croissance, il y a assez de substrat pour permettre la synthèse de protéines (biomasse résiduelle). Quand le substrat arrive à une concentration suffisamment basse, la production de protéines est stoppée et la production de PHB augmente (phase de stockage).

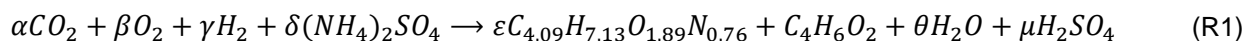
2. MECANISME REACTIONNEL

Le mécanisme réactionnel pour la synthèse du PHB est le suivant :

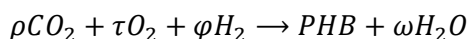
- ✓ Étape de croissance :



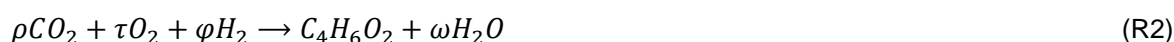
Par exemple :



- ✓ Étape de stockage :



Par exemple :



Les coefficients stœchiométriques des réactions sont obtenus par bilan massique pour chaque élément chimique. Le tableur Excel est utilisé pour ce calcul. Cette étape est indispensable car les stœchiométries des réactions ne sont pas disponibles dans la bibliographie utilisée. Il est important de noter que le PHB est un polymère et que le nombre de monomères le constituant est inconnu. Dans [ISH91], ce constituant est modélisé par son monomère. La même hypothèse est faite pour la simulation présentée dans cet exemple. Les coefficients stœchiométriques utilisés sont présentés dans le tableau ci-dessous.

	CO ₂	O ₂	H ₂	Substrat (NH ₄) ₂ SO ₄	Biomasse résiduelle	PHB	H ₂ O	H ₂ SO ₄
(R1)	-42,95238	-3,678021	-99,35604	-3,619048	9,5238095	1	73,26080	3,619048
(R2)	-4	-12	-33	-	-	1	30	-

3. CONSTITUANTS

Les constituants considérés dans la simulation sont les suivants :

Nom	Numéro CAS
Dioxyde de carbone ^(*)	124-38-9
Oxygène ^(*)	7782-44-7
Azote ^(*)	7727-37-9
Hydrogène ^(*)	1333-74-0
Eau ^(*)	7732-18-5
Acide sulfurique ^(*)	7664-93-9
Sulfate d'ammonium ^(*)	7783-20-2
PHB	
Biomasse résiduelle	

Les constituants suivis d'un astérisque proviennent de la base de données standard de Simulis Thermodynamics, serveur de calculs de propriétés physico-chimiques et d'équilibres entre phases utilisé dans BatchReactor. Les propriétés thermodynamiques stockées dans cette base de données sont issues de la base DIPPR [ROW15]. L'azote est ajouté car au début de la simulation, le ciel du réacteur est rempli par de l'air (79% N₂, 21% O₂). Les pressions de vapeur saturante du dioxyde de carbone, de l'oxygène, de l'azote et de l'hydrogène ont été modifiées pour représenter au mieux leur solubilité dans l'eau. Les paramètres de ces lois de Henry proviennent de [FOG91].

Le PHB et la biomasse résiduelle ont été créés en utilisant la fonctionnalité « Ajouter un nouveau constituant » dans Simulis Thermodynamics. Leur formule chimique provient de [ISH91]. Les propriétés spécifiées sont les suivantes :

- ✓ Numéro CAS : Numéro arbitraire
- ✓ Formule chimique : Dans [ISH91]
- ✓ Poids moléculaire : Dans [ISH91]
- ✓ État physique à 25°C : Solide
- ✓ État physique en solution aqueuse à 25°C : Insoluble
- ✓ Enthalpie de formation gaz parfait à 25°C : 0 J/mol
- ✓ Chaleurs spécifiques massiques vapeur et liquide : Identique à celle de l'eau
- ✓ Pression de vapeur saturante : choisies de façon à éviter la vaporisation

$$\ln(P^0) = -30 \quad (\text{Equation 101})$$

- ✓ Enthalpie de vaporisation : 0 J/mol
- ✓ Densité liquide : Identique à celle de l'eau

Les propriétés qui figurent ci-dessus, à l'exception du numéro CAS, sont également appliquées au sulfate d'ammonium.

Pour tous les constituants de la phase liquide (acide sulfurique, sulfate d'ammonium, PHB et biomasse résiduelle), la densité liquide est considérée comme étant égale à la densité de l'eau.

4. MODELE THERMODYNAMIQUE

Les réactions se produisent à température ambiante (30°C) et à pression atmosphérique, de telle sorte que la phase gazeuse soit supposée respecter la loi des gaz parfaits.

La phase liquide contient des solides insolubles (biomasse résiduelle, PHB et sulfate d'ammonium). Ces solides ont été représentés comme étant des liquides non volatiles (voir § 3). Ils devraient être exclus de la phase liquide pour l'équilibre liquide-vapeur. Dans le cas contraire, ils modifient les compositions réelles de la phase liquide, et donc de la constante d'équilibre liquide-vapeur des constituants volatiles (eau, dioxyde de carbone, oxygène, azote, hydrogène). Ainsi, le modèle « Solides exclus de la phase liquide » a été sélectionné pour calculer la fugacité liquide.

Les lois de Henry [FOG91] ont été utilisées pour modéliser les solubilités des gaz (dioxyde de carbone, oxygène, azote et hydrogène) dans l'eau.

5. MODELE CINETIQUE

[HEI80] a développé un modèle mathématique pour la production de PHB par la bactérie *Alcaligenes eutrophus*. L'évolution de la concentration du PHB est modélisée comme étant la somme de deux contributions:

$$\frac{dP}{dt} = r_P = r_{P,1} + r_{P,2}$$

Ces deux contributions sont décrites ci-dessous, ce sont les deux réactions mises en œuvre dans la simulation.

✓ Terme associé à la croissance :

$$r_{P,1} = Y_{P/R} \times r_R \tag{R1}$$

Où

$$\frac{dR}{dt} = r_R = \mu \times R$$

$$\mu = \mu_1 + \mu_2 = \mu_{m,1} \frac{S}{K_{S,1} + S} + \mu_{m,2} \frac{(S/K_{S,2})^{n_{Hill}}}{1 + (S/K_{S,2})^{n_{Hill}}}$$

✓ Terme associé au stockage :

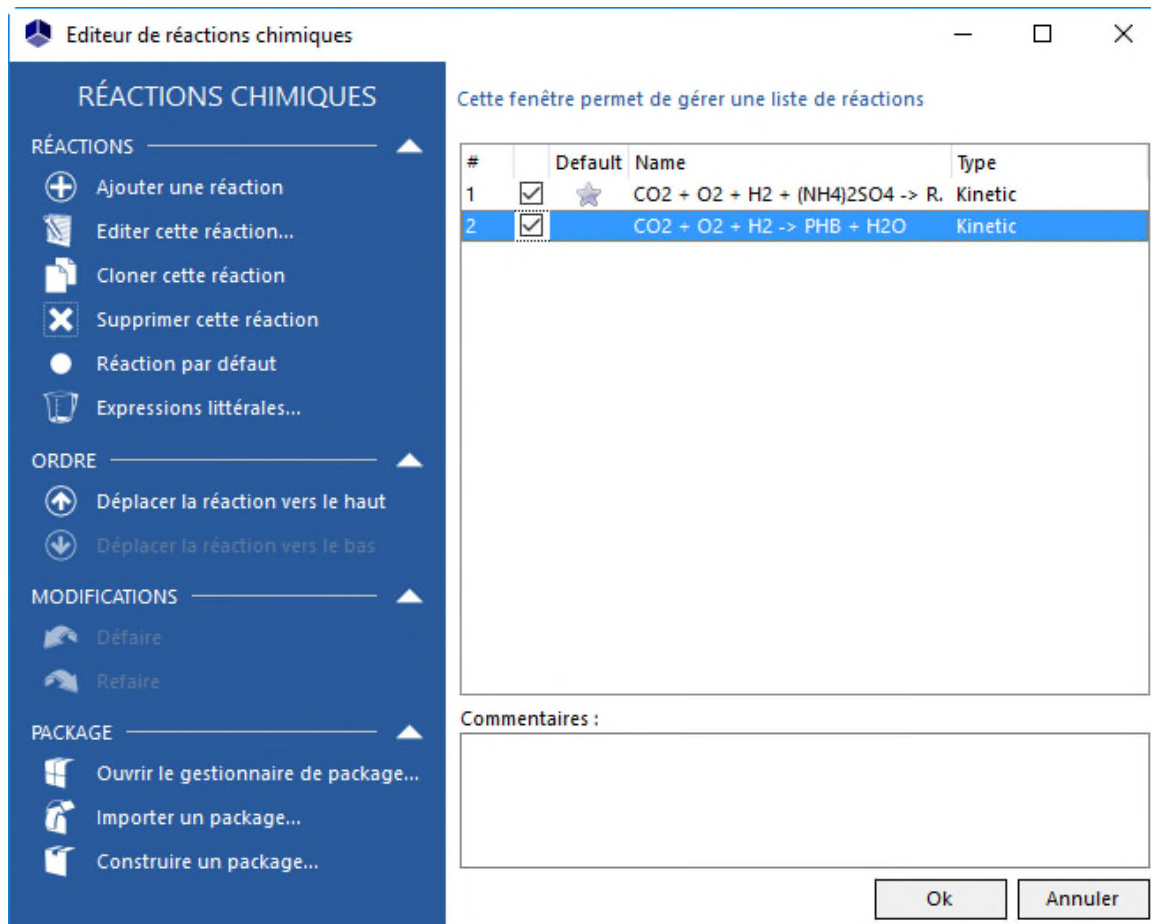
$$r_{P,2} = \frac{K_1}{K_1 + S} (-k_1 P + k_2 R) \tag{R2}$$

Tous les paramètres provenant de [HEI80] sont présentés dans le tableau suivant.

$\mu_{m,1}$ (h ⁻¹)	$\mu_{m,2}$ (h ⁻¹)	$K_{S,1}$ (g/l)	$K_{S,2}$ (g/l)	n_{Hill}	$Y_{P/R}$	K_1 (g/l)	k_1 (h ⁻¹)	k_2 (h ⁻¹)
0,13	0,08	0,1	1,0	5	0,105	0,041	0,045	0,18

6. IMPLEMENTATION DU MODELE CINETIQUE EN UTILISANT SIMULIS REACTIONS

Les deux réactions (R1) et (R2) présentées dans les paragraphes 2 et 5 sont décrites dans Simulis Reactions, comme illustré dans la capture d'écran ci-dessous.

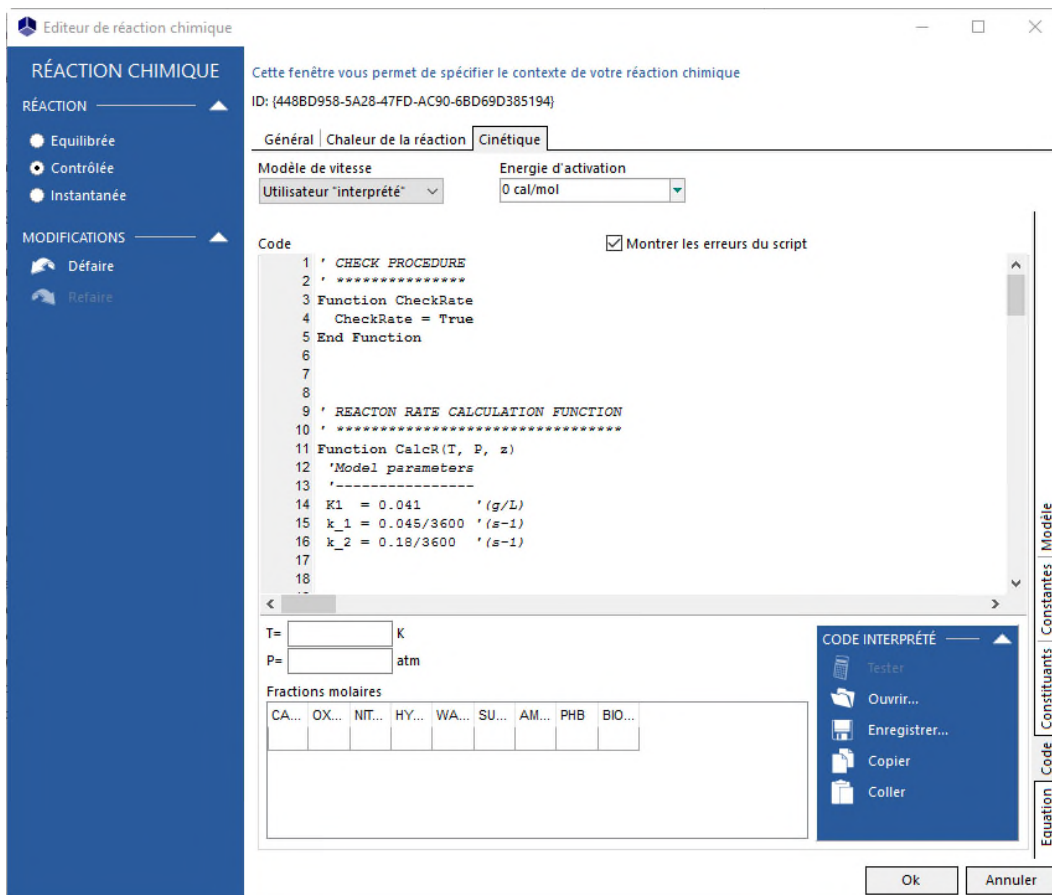


Le mode « utilisateur interprété » a été utilisé pour implémenter le modèle cinétique présenté par [HEI80] pour les deux réactions, comme illustré sur la capture d'écran suivante. Cette fonctionnalité de Simulis Reactions permet à l'utilisateur d'écrire pour le modèle cinétique son propre code en VBScript (Microsoft Visual Basic Scripting Edition), qui est un langage interprété (c'est-à-dire un langage ne nécessitant pas de compilateur). Pour de plus amples informations sur le langage VBScript, se référer à :

[http://msdn.microsoft.com/en-us/library/t0aew7h6\(v=vs.84\).aspx](http://msdn.microsoft.com/en-us/library/t0aew7h6(v=vs.84).aspx)

<http://en.wikipedia.org/wiki/VBScript>

Toutes les réactions ont lieu en phase liquide et il est supposé que les réactions sont athermiques.



Le code VBS pour la réaction (R1) est le suivant :

```

' CHECK PROCEDURE
Function CheckRate
    CheckRate = True
End Function

' REACTON RATE CALCULATION FUNCTION
Function CalcR(T, P, z)
    ' Model parameters
    Mi_m1 = 0.13/3600 '(s-1)
    Mi_m2 = 0.08/3600 '(s-1)
    K_s1 = 0.1 '(g/L)
    K_s2 = 1 '(g/L)
    n = 5
    Y_PR = 0.105
    ' Calculation of the molar volume
    Vm1 = ThermoCalculator.PCalcVm1(T,P,z)
    ' Units conversion
    ' Molar volume
    Set Repository = CreateObject("CverStarDustRepository.StarDust_CVER_Repository")
    Set Quantity = Repository.QuantityByName("Molar volume")
    
```

```

Vm1          = Quantity.Convert(Vm1,"cm3/mol","l/mol")

'Molar mass
Set MwQty = Repository.QuantityByName("Molar mass")

' Calculation of the concentrations
CASN_AmmoniumSulfate = "7783-20-2"
CASN_ResidualBiomass = "55001-02-0"
CASN_PHB          = "55001-01-9"

For i=1 To ThermoCalculator.Compounds.Count
  With ThermoCalculator.Compounds.Items(i-1)
    If (.CasRegistryNumber = CASN_AmmoniumSulfate) Then
      ipos_AmmoniumSulfate = i-1
      Mw_AmmoniumSulfate  = MwQty.Convert(.Mw.Value,.Mw.UnitName,"g/mol")
      C_AmmoniumSulfate   = z(ipos_AmmoniumSulfate)*Mw_AmmoniumSulfate/Vm1
      S                   = C_AmmoniumSulfate '(g/L)
    ElseIf (.CasRegistryNumber = CASN_ResidualBiomass) Then
      ipos_ResidualBiomass = i-1
      Mw_ResidualBiomass   = MwQty.Convert(.Mw.Value,.Mw.UnitName,"g/mol")
      C_ResidualBiomass    = z(ipos_ResidualBiomass)*Mw_ResidualBiomass/Vm1
      R                     = C_ResidualBiomass '(g/L)
    ElseIf (.CasRegistryNumber = CASN_PHB) Then
      Mw_PHB = MwQty.Convert(.Mw.Value,.Mw.UnitName,"g/mol")
    End If
  End With
Next

' Calculation of the reaction rate
RateR = ((Mi_m1*S)/(K_s1 + S) + (Mi_m2*(S/K_s2)^n)/(1 + (S/K_s2)^n))*R
Rate  = Y_PR*RateR '(g PHB/L.s)
CalcR = Rate/Mw_PHB '(mol PHB/L.s)

End Function

' CALCULATION PROCEDURE
' T: Variant - Temperature (K)
' P: Variant - Pressure (atm)
' z: Variant - Molar fractions
' --- Results ---
' Rate: Variant - rate in mol/L/s
' dRatedT: Variant - rate derivative with the respect to temperature in mol/L/s/K
' dRatedP: Variant - rate derivative with the respect to pressure in mol/L/s/atm
' dRatedN: Variant - rate derivative with the respect to number of moles in mol/L/s
' Err: Variant - Error code

```



```
Sub CalcRate(T, P, z, Rate, dRatedT, dRatedP, dRatedN, Err)
  ' Reaction rate
  Rate = CalcR(T, P, z)
  ' Temperature derivative
  dT      = 0.1
  T1      = T + dT
  Rate1   = CalcR(T1, P, z)
  dRatedT = (Rate1-Rate)/dT
  ' Pressure derivative
  dP = 0.1
  P1 = P + dP
  Rate1 = CalcR(T, P1, z)
  dRatedP = (Rate1-Rate)/dP
  ' Compositions derivatives
  NC = ThermoCalculator.Compounds.Count
  Dim z1()
  ReDim z1(NC-1)
  For i=0 To NC-1
    For j=0 To NC-1
      z1(j) = z(j)
    Next
    dz = z1(i)*5e-6
    If (dz < 1e-8) Then
      dz = 1e-8
    End If
    z1(i) = z1(i) + dz
    Tot = 0
    For j=0 To NC-1
      Tot = Tot + z1(j)
    Next
    For j=0 To NC-1
      z1(j) = z1(j) / Tot
    Next
    Rate1      = CalcR(T, P, z1)
    dRatedN(i) = (Rate1-Rate)/dz
  Next
End Sub
```

Le code VBS pour la réaction (R2) est le suivant :

```
' CHECK PROCEDURE
Function CheckRate
    CheckRate = True
End Function

' REACTON RATE CALCULATION FUNCTION
Function CalcR(T, P, z)
' Model parameters
K1 = 0.041      '(g/L)
k_1 = 0.045/3600 '(s-1)
k_2 = 0.18/3600 '(s-1)
' Calculation of the molar volume
Vm1 = ThermoCalculator.PCalcVm1(T,P,z)
' Units conversion
' Molar volume
Set Repository = CreateObject("CVerStarDustRepository.StarDust_CVER_Repository")
Set Quantity = Repository.QuantityByName("Molar volume")
Vm1 = Quantity.Convert(Vm1,"cm3/mol","l/mol")
' Molar mass
Set MwQty = Repository.QuantityByName("Molar mass")
' Calculation of the concentrations
CASN_AmmoniumSulfate = "7783-20-2"
CASN_ResidualBiomass = "55001-02-0"
CASN_PHB = "55001-01-9"
For i=1 To ThermoCalculator.Compounds.Count
    With ThermoCalculator.Compounds.Items(i-1)
        If (.CasRegistryNumber = CASN_AmmoniumSulfate) Then
            ipos_AmmoniumSulfate = i-1
            Mw_AmmoniumSulfate = MwQty.Convert(.Mw.Value,.Mw.UnitName,"g/mol")
            C_AmmoniumSulfate = z(ipos_AmmoniumSulfate)*Mw_AmmoniumSulfate/Vm1
            S = C_AmmoniumSulfate '(g/L)
        ElseIf (.CasRegistryNumber = CASN_ResidualBiomass) Then
            ipos_ResidualBiomass = i-1
            Mw_ResidualBiomass = MwQty.Convert(.Mw.Value,.Mw.UnitName,"g/mol")
            C_ResidualBiomass = z(ipos_ResidualBiomass)*Mw_ResidualBiomass/Vm1
            R = C_ResidualBiomass '(g/L)
        End If
    End With
End For
```

```

ElseIf (.CasRegistryNumber = CASN_PHB) Then
    ipos_PHB = i-1
    Mw_PHB = MwQty.Convert(.Mw.Value,.Mw.UnitName,"g/mol")
    C_PHB = z(ipos_PHB)*Mw_PHB/Vm1
    P = C_PHB '(g/L)
End If
End With
Next
' Calculation of the reaction rate
Rate = K1*(-k_1*P+k_2*R)/(K1+S) '(g PHB/L.s)
CalcR = Rate/Mw_PHB '(mol PHB/L.s)
End Function

' CALCULATION PROCEDURE
' T: Variant - Temperature (K)
' P: Variant - Pressure (atm)
' z: Variant - Molar fractions
' --- Results ---
' Rate: Variant - rate in mol/L/s
' dRatedT: Variant - rate derivative with the respect to temperature in mol/L/s/K
' dRatedP: Variant - rate derivative with the respect to pressure in mol/L/s/atm
' dRatedN: Variant - rate derivative with the respect to number of moles in mol/L/s
' Err: Variant - Error code

Sub CalcRate(T, P, z, Rate, dRatedT, dRatedP, dRatedN, Err)
    ' Reaction rate
    Rate = CalcR(T, P, z)
    ' Temperature derivative
    dT = 0.1
    T1 = T + dT
    Rate1 = CalcR(T1, P, z)
    dRatedT = (Rate1-Rate)/dT
    ' Pressure derivative
    dP = 0.1
    P1 = P + dP
    Rate1 = CalcR(T, P1, z)
    dRatedP = (Rate1-Rate)/dP
    ' Compositions derivatives
    NC = ThermoCalculator.Compounds.Count
    Dim z1()
    ReDim z1(NC-1)

```

```
For i=0 To NC-1
  For j=0 To NC-1
    z1(j) = z(j)
  Next
  dz = z1(i)*5e-6
  If (dz < 1e-8) Then
    dz = 1e-8
  End If
  z1(i) = z1(i) + dz
  Tot = 0
  For j=0 To NC-1
    Tot = Tot + z1(j)
  Next
  For j=0 To NC-1
    z1(j) = z1(j) / Tot
  Next
  Rate1 = CalcR(T, P, z1)
  dRatedN(i) = (Rate1-Rate)/dz
Next
End Sub
```

7. SIMULATION

7.1. Description du procédé

Le réacteur utilisé pour la production de PHB est décrit dans le tableau suivant. Un condenseur est utilisé pour éviter la perte d'eau par évaporation.

Réacteur	
Type	Liquide-vapeur (fermé)
Volume global (vapeur + liquide)	10 l
Ciel (initial)	Air
Condenseur	
Type	Idéal sous-refroidi
Température	0°C
Taux de reflux	1 (i.e. reflux total)

Les conditions initiales sont présentées dans le tableau suivant :

Conditions initiales	
Température	30°C
Pression	1 atm
Charge initiale (kg)	
Eau	7,97968
Sulfate d'ammonium	0,01840
PHB	0,00016
Biomasse résiduelle	0,00176
Autres constituants	0
Charge totale	8

Un flux de gaz alimente en continu le réacteur dans les conditions ambiantes de façon à transporter l'hydrogène, le dioxyde de carbone et l'oxygène (rapport molaire 6:2:1) exigés pour les réactions. Le tableau suivant présente les caractéristiques de cette alimentation :

Température	30°C
Pression	1 atm
Débit total	15 l/min
Fractions molaires	
Dioxyde de carbone	0,11
Oxygène	0,22
Hydrogène	0,67
Autres constituants	0

Le mode opératoire (scénario) est constitué d'une seule étape isotherme avec les paramètres suivants :

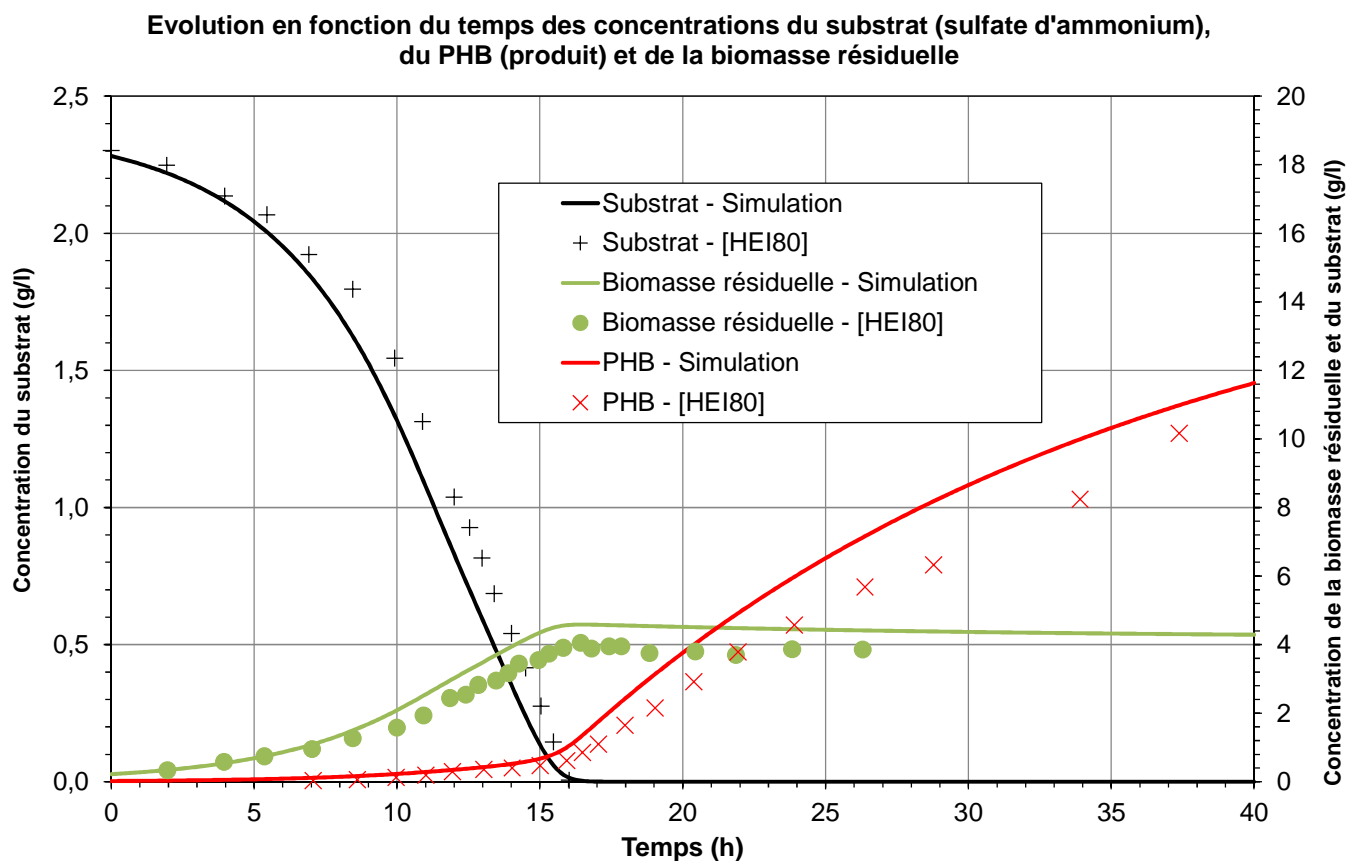
Type	TR fixé sans dispositif thermique
Température	30°C
Pression	1 atm
Durée de l'étape	40 h

Le scénario apparaît sur la gauche de l'écran ci-dessous et le schéma procédé dans la partie de droite.

The screenshot displays the BatchReactor software interface. The window title is "BatchReactor - V:\exemples prosim\batchreactor\en\batchrea_e01_en - phb\BATCHREA_E01_EN - PHB.pbpr". The menu bar includes "Fichier", "Edition", "Affichage", "Configuration", "Simulation", "Eléments", "Formes", "Outils", and "Aide". The toolbar contains various icons for file operations and simulation control. The main workspace is divided into two panels: "Scénario" (Scenario) on the left and "Procédé" (Process) on the right. The "Scénario" panel shows a simple schematic of a reactor vessel with a stirrer. The "Procédé" panel shows a more detailed process flow diagram with a large reactor vessel, a smaller vessel, and various pipes and valves. The status bar at the bottom indicates "Le système de validation ne rapporte aucune erreur." (The validation system reports no errors).

7.2. Résultats

Le graphique suivant présente les résultats de la simulation obtenus avec BatchReactor. Les courbes de concentrations des constituants en fonction du temps montrent une bonne adéquation avec les données fournies par [HEI80]. L'utilisation de BatchReactor permet de contrôler tous les paramètres (volume liquide, composition de la phase gaz...). De plus, la modélisation détaillée du réacteur (système de chauffage/refroidissement, condenseur, géométrie de la cuve...) peut être prise en considération dans BatchReactor.



8. BIBLIOGRAPHIE

- [FOG91] FOGG P.G.T., GERRARD W., "Solubility of gases in liquids", Wiley (1991)
- [HEI80] HEINZLE E., LAFFERTY R.M., "A Kinetic Model for Growth and Synthesis of Poly- β -Hydroxybutyric Acid (PHB) in *Alcaligenes eutrophus* H16", European J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 11, 8-16 (1980)
- [ISH91] ISHIZAKI A., TANAKA K., "Production of Poly- β -Hydroxybutyric Acid from Carbon Dioxide by *Alcaligenes eutrophus* ATCC 17697^T", J. Ferment. Bioeng., 71, 254-257 (1991)
- [ROW15] ROWLEY R.L., WILDING W.V., OSCARSON J.L., GILES N.F., "DIPPR® Data Compilation of Pure Chemical Properties", Design Institute for Physical Properties, AIChE, New York, NY (2015)

9. NOMENCLATURE

k_1	Constante	h^{-1}
K_1	Constante d'inhibition	g/l
k_2	Constante	h^{-1}
$K_{S,1}$	Constante d'inhibition	g/l
$K_{S,2}$	Constante d'inhibition	g/l
n_{Hill}	Coefficient de Hill	(-)
P	Concentration de PHB	g/l
P^0	Pression de vapeur saturante du constituant pur	Pa
R	Concentration de la biomasse résiduelle	g/l
r_P	Vitesse de synthèse du PHB	g/(l.h)
$r_{P,1}$	Vitesse de la réaction (R1)	g/(l.h)
$r_{P,2}$	Vitesse de la réaction (R2)	g/(l.h)
r_R	Vitesse de synthèse de la biomasse résiduelle	g/(l.h)
S	Concentration du substrat (sulfate d'ammonium)	g/l
t	Durée	h
$Y_{P/R}$	Coefficient de Yield	$g_{PHB}/g_{substrat}$
μ	Vitesse spécifique de synthèse de la biomasse résiduelle	h^{-1}
μ_1	Terme 1 de la vitesse spécifique de synthèse de la biomasse résiduelle	h^{-1}
μ_2	Terme 2 de la vitesse spécifique de synthèse de la biomasse résiduelle	h^{-1}
$\mu_{m,1}$	Taux de croissance spécifique maximum	h^{-1}
$\mu_{m,2}$	Taux de croissance spécifique maximum	h^{-1}