



## کاربرد بیورئولوژی در طراحی فرآیندهای زیستی

(مقاله مروری)

حمید توکلی پور<sup>۱\*</sup>، منوچهر وثوقی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار (مسوول مکاتبات)

h.tavakolipour@gmail.com

<sup>۲</sup> استاد دانشکده ی مهندسی شیمی، مرکز تحقیقات مهندسی بیوشیمی دانشگاه صنعتی شریف

تاریخ دریافت: ۸۸/۵/۲۱ تاریخ پذیرش: ۸۸/۶/۲۰

### چکیده

بیورئولوژی، کاربرد رئولوژی در بیوتکنولوژی برای طراحی زیست فرایند ها، کنترل فرایند و اندازه گیری خواص رئولوژیکی فرآورده های زیستی است. محیط های کشت زیست شناختی، گستره ی نسبتاً وسیعی از سیالات غیر نیوتنی را در برمی گیرند. بنابراین، تحلیل رفتار رئولوژیکی و به دست آوردن مدل ریاضی آن ها جهت طراحی صحیح فرایندهای بیوتکنولوژی بویژه بیوراکتورها که قلب سیستم های زیست شناختی محسوب می شوند، الزامی است. در این راستا، باید کارهای زیادی در زمینه ی اندازه گیری خواص رئولوژیکی محیط های فوق الذکر انجام گیرد و معادلات پدیده های انتقال به خصوص ضرایب انتقال جرم و گرما بر مبنای رفتار غیر نیوتنی این محیط ها، ارائه و محاسبه گردند. واژه های کلیدی: بیورئولوژی، بیوراکتور، سیالات غیر نیوتنی، خصوصیات رئولوژیک

### مقدمه

با گسترش دانش رئولوژی و ترکیب آن با بیوتکنولوژی، دانش میان رشته ای بیورئولوژی شکل گرفته است که هدف از آن طراحی و بهینه سازی زیست فرایندها با حل همزمان سیستم های انتقال مومنوم (تکانه)، جرم و حرارت بر پایه ی ویژگی های غیر نیوتنی محیط های کست و محلول های تخمیر است. در بسیاری از موارد ممکن است به دلایل خاص، محیط کشت در زیست واکنشگاه (بیوراکتور) غیر نیوتنی باشد. در این شرایط ضرایب پدیده های انتقال (تکانه، گرما و جرم) تغییر خواهند کرد و برای تعیین آن ها باید از روش های دیگری استفاده نمود. دلیل غیر نیوتنی شدن بعضی از مواد زیست شناختی را می توان ناشی از اختلاط ذرات جامد در سیال، نظیر وجود لخته ها و قارچ ها در محیط های آبی و یا حل شدن مولکول های بزرگ مانند پروتئین ها و پلی ساکاریدها در محلول ها دانست که با توجه به شرایط، ممکن است از رفتارهای متفاوت سیالات غیر نیوتنی پیروی کنند. به عنوان مثال هنگامی که باکتری ها تشکیل لخته می دهند به صورت سیال بینگهام پلاستیک در می آیند و یا برخی مانند استرپتومایسس محلول هایی با رفتار کاسون تشکیل می دهند. اثر منفی سیالات نوع بینگهام به صورت گیراندازی حباب های هوای درون مایع تخمیر بروز می کند که در نهایت باعث کاهش ضریب نفوذ اکسیژن در محیط می شود. تا کنون کلیه ی روابطی که برای تعیین ضرایب انتقال جرم و یا توان همزن ها ارائه شده اند مربوط به محیط های کشت نیوتنی بوده اند. اما همان طور که ذکر گردید، بسیاری از محیط های زیست شناختی، رفتار غیر نیوتنی دارند. بنابراین یا باید روابط ارائه شده بر مبنای خواص رئولوژیکی سیالات غیر نیوتنی اصلاح شوند و یا برای فرایندهایی که غیر نیوتنی هستند روابط جدیدی ارائه گردد. منابع موجود در زمینه ی بیورئولوژی محدودند و هنوز به صورت جدی به آن



پرداخته نشده است (۹ و ۵، ۶). در این مقاله، سعی شده است ضمن معرفی این شاخه از رئولوژی به برخی کاربردهای آن نیز اشاره گردد.

## مدلسازی سیالات غیرنیوتنی

بیش تر دوغابها و ذرات جامد معلق در مایع غیر نیوتنی هستند، همچنین محلولهای همگن حاوی پلیمرهای زنجیره بلند رفتار غیرنیوتنی دارند. بسیاری از فرایندهای تخمیر حاوی موادی مانند نشاسته، پلی ساکاریدهای خارج سلولی و محیطهای کشت شامل سوسپانسیونهای سلولی یا گویچهها هستند. دسته بندی سیالات غیرنیوتنی به روابط بین تنش برشی اعمال شده بر سیال و آهنگ برشی حاصله بستگی دارد.

سیالات غیرنیوتنی به دو دسته ی وابسته به زمان<sup>۱</sup> و مستقل از زمان<sup>۲</sup>، تقسیم بندی می شوند. رایج ترین انواع سیالات غیرنیوتنی مستقل از زمان شامل رقیق شونده با برش<sup>۳</sup>، غلیظ شونده با برش<sup>۴</sup>، بینگهام پلاستیک<sup>۵</sup> و کاسون پلاستیک (Casson Plastic) هستند. منحنیهای جریان برای این سیالات در شکل ۱، نشان داده شده است. نسبت تنش برشی به آهنگ برشی در سیالات غیرنیوتنی ثابت نبوده و گرانروی (ویسکوزیته ی) ظاهری (Apparent Viscosity) نامیده می شود. گرانروی ظاهری یک خاصیت فیزیکی سیال، مشابه گرانروی سیال نیوتنی نیست و به نیروی برشی اعمال شده به سیال بستگی دارد. بنابراین، گرانروی ظاهری یک سیال غیرنیوتنی بدون ذکر تنش برشی یا آهنگ برشی بدون معنی خواهد بود. برای سیالات غیر نیوتنی مدل های ریاضی متعددی ارائه شده است. سیالات رقیق شونده و غلیظ شونده با برش از قانون توان (Power law) تبعیت می کنند:

$$\sigma = K \dot{\gamma}^n \quad . 1$$

که در آن  $\sigma$  تنش برشی (Shear Stress)،  $\dot{\gamma}$  آهنگ برشی،  $K$  ضریب پایداری و  $n$  شاخص رفتار جریان است. پارامترهای  $K$  و  $n$  ویژگی سیالات قانون توان هستند. شاخص رفتار جریان بدون بعد است و بعد  $K$ ،  $L^{-1}MT^{n-2}$  است که به  $n$  وابسته می باشد. همان طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، زمانی که  $n < 1$  باشد سیال رقیق شونده با برش (شبه پلاستیک)، هنگامی که  $n > 1$  باشد سیال غلیظ شونده با برش (دیلاتانت) است و  $n = 1$  متناظر با رفتار نیوتنی است. برای سیالات قانون توان، گرانروی ظاهری به صورت زیر بیان می شود:

$$\mu_a = \frac{\sigma}{\dot{\gamma}} = K \dot{\gamma}^{n-1} \quad . 2$$

1. Time dependent
2. Time independent
3. Shear thickening ( dilatant)

4. Shear thinning (pseudoplastic)
5. Bingham Plastic



برای سیالات رقیق شونده با برش، با افزایش آهنگ برشی ویسکوزیته ی ظاهری کاهش می‌یابد. توضیح رفتار سیال شبه‌پلاستیک به این شکل است که در واقع سیال حاوی ذرات میکروسکوپی است که به‌طور تصادفی قرار گرفته‌اند. هنگامی که نیرویی به آن‌ها وارد می‌شود، این ذرات با مسیر جریان همسو می‌شوند و ذرات ماریچ نیز تغییر شکل داده، در جهت جریان کشیده می‌شوند. ذرات انباشته نیز به ذرات کوچک‌تر شکسته می‌شوند. در نتیجه ویسکوزیته ی ظاهری سیال، کاهش و سیالیت افزایش می‌یابد. این رفتار برگشت‌پذیر است، یعنی هنگامی که نیروی برشی متوقف می‌شود بعد از گذشت مدت زمانی مشخص، ذرات دوباره به شکل اولیه ی خود باز می‌گردند، یعنی ذرات کشیده، ماریچی شکل و ذرات جدا شده دوباره انباشته می‌شوند (۳۰۱). در سیال غلیظ شونده با برش، با افزایش آهنگ برشی ویسکوزیته ی ظاهری افزایش می‌یابد.

در واقع، این سیالات سوسپانسیون‌های ذرات جامد در مایع هستند که مایع به‌عنوان روانساز عمل می‌کند. در آهنگ‌های برشی کم‌تر، مایع ذرات جامد را روانکاری می‌کند و سوسپانسیون مانند یک مایع نیوتنی جریان می‌یابد. با افزایش آهنگ برشی، ذرات جامد شروع به جدا شدن می‌کنند و حجم کل افزایش می‌یابد. بنابراین، مایع نمی‌تواند به‌عنوان یک روانساز عمل نماید و با اصطکاک ذرات در سوسپانسیون، ویسکوزیته ی ظاهری افزایش می‌یابد (۱). به‌طور کلی، بخش عمده‌ای از محیط‌های کشت زیست‌شناختی غیرنیوتنی دارای رفتاری شبیه سیالات قانون توان هستند.

همان‌طور که در شکل ۱ نیز دیده می‌شود، در برخی از سیالات تا هنگامی که تنش اعمال شده از یک حد مشخص که تنش تسلیم نامیده می‌شود، بیش‌تر نشده باشد، جریان پیدا نمی‌کنند و به انواع بینگهام پلاستیک، کاسون و هرشل-بالکلی طبقه‌بندی می‌شوند. این سیالات به دلیل دارا بودن یک شبکه ی بین مولکولی که در مقابل نیروی برشی اعمال شده مقاومت می‌کند، برای شروع جریان نیاز به یک تنش برشی اولیه یا تنش تسلیم دارند. در پایین‌تر از تنش تسلیم، سیال مانند یک جسم جامد عمل می‌کند و هنگامی که تنش اعمال شده از نیروهایی که باعث پیوستگی شبکه ی ماده می‌شوند بیش‌تر شود، سیال جاری می‌شود (۲). برای سیالات بینگهام پلاستیک مدل زیر پیشنهاد شده است:

$$\sigma = \sigma_0 + \mu_{pl} \gamma \quad . 3$$

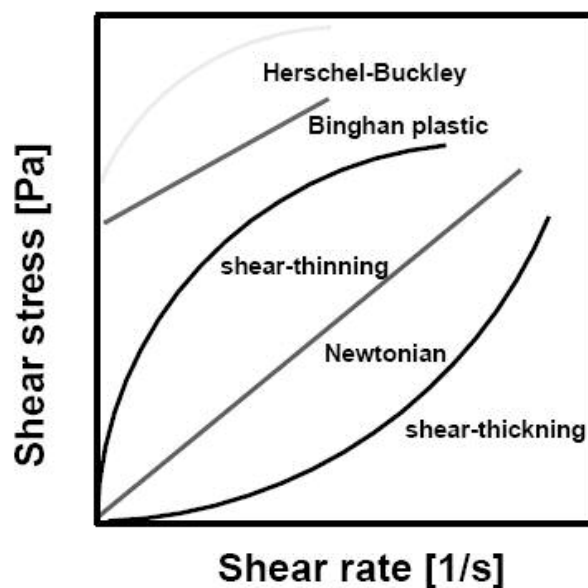
که در آن  $\sigma_0$  تنش تسلیم و  $\mu_{pl}$  نسبت ثابت تغییر تنش برشی به تغییر سرعت برشی یا ویسکوزیته ی پلاستیک است. هنگامی که تنش اعمال شده از تنش تسلیم بیش‌تر می‌شود، سیال شروع به حرکت کرده، رفتار مانند سیال نیوتنی می‌شود. رفتار معمول دیگر مدل کاسون است که به‌صورت زیر بیان می‌شود:

$$\sigma^{\frac{1}{2}} = \sigma_0^{\frac{1}{2}} + K_c \gamma^{\frac{1}{2}} \quad . 4$$

زمانی که تنش برشی از تنش تسلیم بیش تر شود ، رفتار سیالات کاسون مانند سیال رقیق شونده با برش می شود (۱ و ۳).  
برای سیالات هرشل-بالکلی، مدل زیر پیشنهاد شده است:

$$\sigma = \sigma_0 + K \dot{\gamma}^n \quad . 5$$

بنابراین بعد از این که تنش اعمال شده به سیال از تنش تسلیم بیش تر می شود ، رفتار سیال از مدل قانون توان پیروی می کند.



شکل ۱- رئوگرام سیالات غیر نیوتنی مستقل از زمان

### سیالات غیر نیوتنی وابسته به زمان

هنگامی که نیروی برشی بر روی بعضی از سیالات عمل می کند ، گرانیروی ظاهری ممکن است در حین اعمال نیرو ، افزایش یا کاهش یابد . اگر گرانیروی ظاهری با زمان افزایش پیدا کند ، سیال رئوپکتیک<sup>۱</sup> نامیده می شود که این گونه رفتار در محلول های زیست شناختی نادر است . در صورتی که گرانیروی ظاهری با زمان کاهش یابد به سیال ، تیکسوتروپیک<sup>۲</sup> گفته می شود. رفتار تیکسوتروپیک در محیط های کشت حاوی قارچ های رشته ای یا پلی ساکارید های میکروبی خارج سلولی غیر معمول نیست و ظاهر شدن این رفتار به اثرات ساختاری برگشت پذیر در ارتباط با جهت گیری سلول ها و مولکول های بزرگ در سیال ، بستگی دارد.

1. Rheopectic

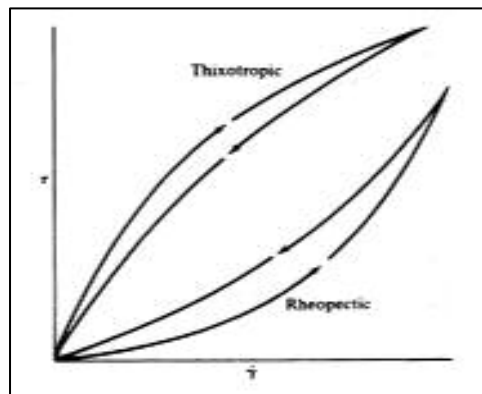
2. Thixotropic

جدول ۱- رفتار رئولوژیکی میکروارگانیسم‌های تولیدکننده ی میسیلیوم ( ۴ )

نوع میکروارگانیسم	کاربرد	رفتار غیر نیوتنی
پنی‌سیلیوم کرایوزنوم <sup>۱</sup>	تولید پنی‌سیلین	کاسون پلاستیک
کونیوتریوم هلیجوری <sup>۲</sup>	هیدروکسیلاسیون استروئید	بینگهام پلاستیک
اترپتومایسس نورسئی <sup>۳</sup>	نیستاتین	نیوتنی
استرپتومایسس نیوئوس <sup>۴</sup>	نووبیوسین	بینگهام پلاستیک
استرپتومایسس گریسئوس <sup>۵</sup>	استرپتومایسین	بینگهام پلاستیک
گونه اندومایسس <sup>۶</sup>	گلو کو آمیلاز	رقيق شونده با برش

- |                                   |                                 |
|-----------------------------------|---------------------------------|
| 1. <i>Penicillium chrysogenum</i> | 2. <i>Coniothyrim hellibori</i> |
| 3. <i>Streptomyces nourseri</i>   | 4. <i>Streptomyces niveus</i>   |
| 5. <i>Sreptomyces griseus</i>     | 6. <i>Endomyces sp.</i>         |

خواص رئولوژیکی در حدود اعمال نیروی برشی تغییر می‌کند ، زیرا برای رسیدن به حالت تعادل میان تخریب ساختار و بازسازی ساختار مدتی طول می‌کشد(۴). رئوگرام سیالات غیر نیوتنی وابسته به زمان در شکل ۲ ارائه شده است ( ۱ ).



شکل ۲- تغییرات ویسکوزیته ی ظاهری با زمان برای سیالات غیر نیوتنی وابسته به زمان

## ویسکوالاستیسیته

ماده ویسکوالاستیک هم خواص الاستیک و هم رفتار ویسکوز را از خود نشان می‌دهد و متفاوت از سیالات پلاستیک است ، چون مواد ویسکوالاستیک خواص الاستیک و ویسکوز را همزمان نشان می‌دهند ، اما سیالات پلاستیک در بالای تنش تسلیم خاصیت ویسکوز و در زیر آن خاصیت الاستیک را نمایش می‌دهند. ویژگی دیگر مواد ویسکوالاستیک این است که وقتی تنش برشی حذف می‌گردد ، کرنش فوراً به صفر کاهش نمی‌یابد. سیالات ویسکوالاستیک شامل بعضی از محلول‌های پلیمری در مقابل تغییرات تنشی برشی پاسخ الاستیک می‌دهند. هنگامی که نیروهای برشی از روی سیال ویسکوالاستیک در حال جریان برداشته می‌شود ، ممکن است جهت جریان بر اثر نیروهای الاستیک که در حین حرکت به وجود آمده‌اند ، معکوس شود. اغلب سیالات ویسکوالاستیک ، رقيق شونده با برش نیز هستند و ممکن است ویژگی‌های رئولوژیکی دیگر مانند تنش تسلیم را از خود نشان دهند. تحلیل ریاضی رفتار ویسکوالاستیک پیچیده است( ۸ ) .



### خواص رئولوژیکی محیط‌های تخمیر

داده‌های رئولوژیکی برای تعدادی از سیالات تخمیر گزارش شده است. این اطلاعات با استفاده از دستگاه‌های گرانروی‌سنج (Viscometer) مانند گرانروی‌سنج‌های دورانی مانند استوانه‌ای هم‌محور صفحه‌ای و مخروطی و پروانه‌ای به دست آمده‌اند (۱، ۴ و ۸). اغلب سوسپانسیون‌های رشته‌ای به‌عنوان سیالات رقیق‌شونده و در صورتی که دارای تنش تسلیم باشند، به‌صورت بینگهام یا کاسون پلاستیک مدل‌سازی می‌شوند. از سوی دیگر رئولوژی محیط‌های کشت رقیق و حاوی مخمر و باکتری‌هایی که زنجیره تشکیل نمی‌دهند، معمولاً نیوتنی است. خواص رئولوژیکی برخی از محیط‌های کشت در جدول ۱ ارائه شده است (۲). در بیش تر موارد، این نتایج فقط در دامنه‌ی محدودی از شرایط برشی که توسط گرانروی‌سنج انتخاب شده تحمیل می‌شود، اعتبار دارند. هنگامی که محصولات تخمیری، پلیمرهای خارج سلولی مانند تولید میکروبی پولولان و زانتان باشند، ویژگی‌های رئولوژیکی محیط کشت به میزان زیادی به خواص و غلظت این مواد بستگی پیدا می‌کند.

عوامل موثر بر خواص رئولوژیکی محلول‌های زیست‌شناختی

الف) غلظت سلول: گرانروی گویچه‌های معلق در مایع نیوتنی توسط معادله‌ی وند (Vand) پیش‌بینی می‌شود:

$$\mu = \mu_L (1 + 2.5\phi + 7.25\phi^2) \quad ۶.$$

که در آن  $\mu_L$  گرانروی حلال و  $\phi$  جزء حجمی مواد جامد (ذرات معلق) است (۴). رابطه فوق برای سوسپانسیون‌های مخمر و اسپور تا غلظت حجمی ۱۴ درصدی مواد جامد برقرار است. معادله دیگری که برای دوغاب‌ها پیشنهاد شده است، به‌صورت رابطه‌ی ۷ بیان می‌باشد:

$$\mu = \mu_L (1 + 2.5\phi + b\phi^2 \dots) \quad ۷.$$

که در آن  $b$  عدد ثابتی است بین ۶ تا ۸ که به نوع ذرات بستگی دارد.

مقدار  $\phi$  زمانی مهم می‌شود که غلظت ذرات از طریق فرآیندهای جداسازی مثل صاف کردن، افزایش می‌یابد. در چنین حالتی ممکن است رفتار سیال تغییر کند و رفتار سیال بینگهام را بروز دهد (۳).

ب) ریخت‌شناسی سلول: ویژگی‌های ریخت‌شناسی تاثیر زیادی بر رئولوژی دارد. رشد رشته‌های پراکنده منجر به تولید ساختاری در محیط کشت می‌شود که نتیجه‌ی آن بروز رفتار شبه‌پلاستیک، پلاستیک و یا هر دو می‌باشد. از سوی دیگر، محیط کشت‌هایی که حاوی سلول‌های گویچه‌ای هستند بیش تر به رفتار نیوتنی تمایل دارند که این مورد نیز به تغییر شکل گویچه‌ها در حین جریان بستگی دارد. میزان شاخه‌ای شدن سلول‌های هائیفی نیز بر رئولوژی اثر می‌گذارد. سلول‌هایی که فرکانس شاخه‌ای شدن در آن‌ها بالاست، معمولاً انعطاف‌ناپذیرتر از سلول‌های بدون شاخه بوده، گرانروی بیش تری تولید می‌کنند (۷).

ج) فشار اسمزی: فشار اسمزی محیط کشت بر روی فشار سلول اثر می‌گذارد. این نیز به نوبه‌ی خود بر قابلیت انعطاف سلول‌های هائیفی اثر دارد. افزایش فشار اسمزی، فشار پایین‌تری تولید می‌کند و هائیف‌ها انعطاف بیش تری پیدا می‌کنند. بهبود قابلیت انعطاف هائیف‌ها که گرانروی محیط کشت را کاهش می‌دهد، می‌تواند تاثیر زیادی بر تنش تسلیم داشته باشد (۴).

د) غلظت محصول و سوبسترا: هنگامی که محصول تخمیر یک پلیمر است، دفع پیوسته‌ی آن به محیط کشت گرانروی آن را افزایش می‌دهد. مثلاً در حین تولید پلی‌ساکارید خارج سلولی توسط آئروبازیوم پولولانس، گرانروی ظاهری که



در آهنگ برش  $1s^{-1}$  اندازه گیری شده است می تواند تا حد بالای  $24000cp$  برسد. در این تخمیرها غلظت سلول معمولاً بر روی گرانروی کل، اثر ناچیزی دارد و پلیمر حل شده، اثر غالبی بر خواص رئولوژیکی سیال دارد. محصولات دیگری که دارای اثر مشابهی بر رئولوژی محیط کشت هستند عبارتند از: دکستران، آلژینات و صمغ زانتان. این محصولات برای افزایش قوام و گرانروی فرآورده های غذایی، کاربرد زیادی دارند. برخلاف حالت قبل، هنگامی که محیط تخمیر شامل سوبسترای پلیمری مانند نشاسته است، گرانروی ظاهری با پیشرفت تخمیر کاهش می یابد و پلیمر تجزیه می شود.

این حالت باعث تغییر تدریجی رفتار سیال از غیرنیوتنی به نیوتنی می شود. در تخمیرهای مایسلالی، این تغییر کوتاه مدت است و همان طور که سلول ها رشد می کنند و یک شبکه رشته ای به وجود می آورند، محیط کشت به طور فزاینده ای رقیق شونده با برش و گرانرو می شود (۴).

### نتیجه گیری

همان طور که در بخش های قبلی این مقاله بررسی گردید، سیالات غیرنیوتنی محدوده ی گسترده ای از محلول های زیست شناختی را در برمی گیرد. بنابراین دستگاه های مورد استفاده در فرآیند باید با توجه به خواص رئولوژیکی آن ها طراحی شوند. به عنوان مثال در طراحی زیست واکنشگاه ها به ویژه در بخش های همزدن و انتقال اکسیژن، در صورت عدم توجه به رفتار غیرنیوتنی محیط های کشت، منجر به بروز مشکلاتی مانند بازدهی پایین تولید می شود. برای نمونه میکروارگانیسم های رشته ای در سرعت های برش زیاد معمولاً رفتار سیالات قانون توان را نشان خواهند داد. در چنین حالتی باید سرعت جذب اکسیژن سلول ها را بر پایه ی محدودیت انتقال اکسیژن در سرعت های برشی زیاد تنظیم کرد تا سلول ها دچار کمبود اکسیژن نشوند.

همچنین در طراحی فرآیندهای پایین دستی مانند صاف کردن، فراپالایش، استخراج و عملیات دیگر مانند سترون سازی ۱ نیز رفتار رئولوژیکی سیال باید در نظر گرفته شود (۲، ۴ و ۶).



## منابع

- ۱- توکلی پور، ح. ۱۳۸۷. "اصول مهندسی صنایع غذایی، ویرایش سوم". نشر آبیژ، .
- ۲- مرتضوی، ع. و همکاران. ۱۳۷۶. "بیوتکنولوژی، میکروبیولوژی صنعتی". انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
- ۳- وثوقی، م. ۱۳۸۰. "مهندسی بیوشیمی". موسسه علمی انتشارات علمی دانشگاه صنعتی شریف.
- 4- Doran, P.M. 1995. Bioprocess engineering principles. Academic Press.
- 5- Lopez, J.L.F., Perez, J.A.S., Sevilla, J.M.F., Porcel, E.M.R. and Chisti, Y. 2005. Pellet morphology, culture rheology and lovastatin production in cultures of *Aspergillus terreus*, 116: 61-77.
- 6- Pimenova, N.V. and Hanley, T.R. 2003. Measurement of rheological properties of corn stover suspensions. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 106: 383-392.
- 7- Prave, P. et al. 1986. Basic biotechnology. VCH publishers. Ed. Freeman Press.
- 8- Steffe, J.F. 1966. Rheological methods in food process engineering,
- 9- Werner, F. and Mersmann, A. 1999. About the rheology of polymer solutions; Part 2: A model for the prediction of the concentration dependence of the rheological parameters of power-law fluids. *Chemical Engineering and Technology*, 21(8): 644-647.