
UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

Second Semester Examination
Academic Session 2008/2009

April/Mei 2009

BTT 303/3 – Biochemical Engineering
[Kejuruteraan Biokimia]

Duration: 3 hours
[Masa : 3 jam]

Please ensure that this examination paper contains TWELVE printed pages before you begin the examination.

[Sila pastikan bahawa kertas peperiksaan ini mengandungi DUA BELAS muka surat yang bercetak sebelum anda memulakan peperiksaan ini.]

Instructions: Answer **FIVE** (5) out of **SIX** (6) questions, in English or Bahasa Malaysia. Each question carries 20 marks.

[Arahan: Jawab **LIMA** (5) daripada **ENAM** (6) soalan yang diberikan dalam Bahasa Inggeris atau Bahasa Malaysia. Tiap-tiap soalan bernilai 20 markah.]

- 2 -

1. A recombinant *Pichia pastoris* is to be cultivated in a stirred-tank bioreactor containing 70 L of a suitable medium with 2% (w/v) glucose, ($C_6H_{12}O_6$, MW 180 g-mol) and aerated with compressed air at a rate of 1 vvm. At this aeration rate and an impeller agitation at 400 rpm, the dissolved oxygen tension, DO, will be kept above 30% saturation throughout the duration of the fermentation. The pH is controlled by a bang-bang controller with a deadband of 1 pH unit and a setpoint of pH 5. The culture is initiated with the addition of the inoculum and is allowed to grow for 48 hours to reach a biomass of 20 g/L. Samples are taken periodically and analysed for biomass and glucose.
- [a] Showing the appropriate numerical values whenever possible, sketch the probable time profiles of the fermentation for :
- [i] Biomass (2 marks)
 - [ii] Glucose (2 marks)
 - [iii] pH (2 marks)
 - [iv] Dissolved oxygen (2 marks)
- [b] State the mode of operation of the fermentation process described. (2 marks)
- [c] Describe the typical characteristics of this mode of operation in an ideal stirred tank reactor. (10 marks)

2. [a] Controlling a fermentation process can be crucial, especially at high cell densities. Any perturbations in the environmental conditions can lead to significant effects on the fermentation progress. Among the most commonly used control algorithms in fermentation control are listed below. Describe each of the control algorithms and cite an example of its application in a fermentation process.
- [i] Bang-bang (2 marks)
 - [ii] Proportional (P) (2 marks)
 - [iii] Proportional-Integral (PI) (2 marks)
 - [iv] Proportional-Integral-Derivative (PID) (2 marks)
- [b] Bioreactors come in many shapes and sizes. Various designs offer certain characteristics which can be advantageous to the types of microbial culture.
- [i] Sketch three typical bioreactor designs. (6 marks)
 - [ii] Discuss the characteristics of the designs above and their suitability in cultivating different types of microbes. (6 marks)

3. In any fermentation vessel, knowing the oxygen transfer coefficient, $k_L a$, can help one to estimate the oxygen supply rate that can be achieved by the fermentation system.
- [a] State five factors that can affect the oxygen supply rate of the fermentation system. (5 marks)
- [b] Describe how each of the factors above affects the oxygen supply rate. (10 marks)
- [c] To ensure oxygen is non-limiting in a fermentation process, state the design constraint that must be satisfied by the fermentation system. Discuss how the design constraint can be implemented. (5 marks)
4. [a] Write the Michealis-Menten equation and state the significance of K_m and V_{max} . (6 marks)
- [b] Sketch a typical Michaelis-Menten plot for a enzymatic reaction. Compare this sketch with that of an allosteric enzyme reaction on the same graph. Label the axes. (4 marks)

- [c] One of the methods to estimate the parameters in the Michealis-Menten type kinetics is by using the Lineweaver-Burk Plot. Write the equation for the plot and briefly discuss the disadvantages of this method.

(6 marks)

- [d] With the help of a graph, compare competitive with noncompetitive inhibitions in an enzymatic reaction.

(4 marks)

5. [a] With the help of a flowchart, describe a process flowsheet for an antibiotic production and recovery.

(10 marks)

- [b] List five unit operations that are often used in the process flowsheet and discuss the underlying principles of each.

(10 marks)

6. [a] You have successfully isolated a strain of bacteria that produces a metabolite that is of commercial importance. Microbial product synthesis can be classified into several categories, based on the kinetic patterns of growth and product formation. With the help of diagrams, list these categories and the corresponding equation for the specific rate of product formation, q_p .

(6 marks)

- [b] Discuss the characteristics of each category and how it affects your choice of fermentation protocol.

(6 marks)

- [c] Using the appropriate design sketches and equations, describe the following:

- [i] Continuous stirred tank reactor.

(4 marks)

- [ii] Plug flow tubular reactor.

(4 marks)

1. *Pichia pastoris* akan dikulturkan dalam bioreaktor tangki teraduk yang mengandungi 70 L medium yang sesuai dengan 2% (b/i) glukosa ($C_6H_{12}O_6$, MW 180 g-mol) dan diudarakan dengan udara termampat pada kadar 1 vvm. Pada kadar ini dan putaran pengaduk pada 400 psm, tegangan oksigen terlarut, DO, akan ditetapkan lebih tinggi daripada 30% ketepuan sepanjang tempoh fermentasi. pH dikawal dengan kawalan beng-beng dengan jalur mati sebanyak 1 unit pH dan titik set pada pH 5. Pengkulturan dimulakan dengan penambahan inokulum dan dibiarkan tumbuh selama 48 jam untuk mencapai biojisim sebanyak 20 g/L. Sampel diambil secara berkala dan dianalisis untuk biojisim dan glukosa.
- [a] Dengan menunjukkan nilai berangka yang sesuai bila-bila mungkin, lakarkan profil masa untuk :
- [i] Biojisim (2 markah)
 - [ii] Glukosa (2 markah)
 - [iii] pH (2 markah)
 - [iv] Oksigen terlarut (2 markah)
- [b] Nyatakan mod operasi proses fermentasi yang telah diterangkan. (2 markah)
- [c] Terangkan ciri biasa mod operasi ini dalam reaktor tangki teraduk unggul. (10 markah)

2. [a] Kawalan sesuatu proses fermentasi boleh menjadi penting, terutamanya pada kepekatan sel yang tinggi. Sebarang usikan pada keadaan persekitaran boleh menyebabkan kesan yang signifikan pada kemajuan fermentasi. Antara algoritma kawalan yang selalu digunakan dalam kawalan fermentasi adalah seperti disenaraikan di bawah. Terangkan setiap algoritma kawalan dan sebutkan contoh aplikasinya dalam proses fermentasi.
- [i] Beng-beng
(2 markah)
- [ii] Berkadar (P)
(2 markah)
- [iii] Berkadar-Kamiran (PI)
(2 markah)
- [iv] Berkadar-Kamiran-Terbitan (PID)
(2 markah)
- [b] Bioreaktor terdapat dalam berbagai bentuk dan saiz. Kepelbagaian rekabentuk menawarkan ciri-ciri tertentu yang boleh menguntungkan kepada sesetengah kultur mikrob.
- [i] Lakarkan tiga rekabentuk bioreaktor lazim.
(6 markah)
- [ii] Bincangkan ciri rekabentuk di atas dan kesesuaiannya dalam pengkulturan mikrob yang berbeza.
(6 markah)

3. Dalam suatu tangki fermentasi, koefisien pemindahan oksigen, k_{La} , boleh membantu seseorang menganggarkan kadar pembekalan oksigen yang boleh dicapai dengan sistem fermentasi itu.
- [a] Nyatakan lima faktor yang boleh memberi kesan kepada kadar pembekalan oksigen.
(5 markah)
- [b] Terangkan bagaimana setiap faktor di atas memberi kesan kepada kadar pembekalan oksigen.
(10 markah)
- [c] Bagi memastikan oksigen tidak mengehadkan dalam suatu proses fermentasi, nyatakan kekangan reka bentuk yang mesti dipenuhi oleh sistem fermentasi ini. Bincangkan bagaimana kekangan reka bentuk ini dapat dilaksanakan.
(5 markah)
4. [a] Tulis persamaan Michealis Menten dan nyatakan kepentingan K_m dan V_{max} .
(6 markah)
- [b] Lakarkan satu plot Michaelis-Menten lazim bagi suatu tindak balas berenzim. Bandingkan lakaran ini dengan lakaran satu tindak balas berenzim alosteri pada graf yang sama. Labelkan paksi-paksinya.
(4 markah)

- [c] Satu daripada kaedah-kaedah untuk menganggar parameter dalam kinetic Michealis Menten ialah dengan menggunakan plot Lineweaver-Burk. Tulis persamaan untuk plot ini dan bincangkan secara ringkas kelemahan kaedah ini.

(6 markah)

- [d] Dengan bantuan satu graf, bandingkan perencatan kompetitif dengan perencatan tidak bersaing dalam satu tindak balas berenzim.

(4 markah)

5. [a] Dengan bantuan satu carta aliran, huraikan satu proses helaian alir untuk satu pengeluaran dan pemerolehan antibiotik.

(10 markah)

- [b] Senaraikan 5 operasi unit yang kerap digunakan dalam proses helaian alir dan bincangkan prinsip dasar bagi setiap operasi.

(10 markah)

6. [a] Anda telah berjaya memencilkan sejenis bakteria yang menghasilkan satu metabolit yang berkepentingan komersial. Sintesis produk mikrob boleh diklasifikasikan kepada beberapa kategori, berdasarkan corak kinetik pertumbuhan dan pembentukan produk. Dengan bantuan gambarajah, senaraikan kategori-kategori ini bersama persamaan sepadan untuk kadar spesifik pembentukan produk, q_p .

(6 markah)

- [b] Bincangkan ciri setiap kategori dan bagaimana ia mempengaruhi protokol fermentasi pilihan anda.

(6 markah)

- [c] Menggunakan lakaran dan persamaan reka bentuk yang sesuai, huraikan yang berikut:

- [i] Reaktor tangki teraduk selanjur.

(4 markah)

- [ii] Reaktor tiub aliran palam.

(4 markah)

Helaian Rumus

Formula Sheet

$$v = V_{\max} - K_m \frac{v}{[S]}$$

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{K_m}{V_{\max}} \frac{1}{[S]}$$

$$\frac{[S]}{v} = \frac{K_m}{V_{\max}} + \frac{1}{V_{\max}} [S]$$

$$v = - \frac{d[S]}{dt} = \frac{V_{\max} [S]^n}{K'_m + [S]^n}$$

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) + [S]}$$

$$v = \frac{V_{\max} [S] K_i}{(K'_m + [S]) (K_i + [I])}$$

$$v = \frac{\frac{V_{\max}}{\left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)} [S]}{\frac{K'_m}{\left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)} + [S]}$$

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{K'_m + [S] + \frac{[S]^2}{K_{SI}}}$$

$$t = N_{i0} \int_0^{X_i} \frac{dX_i}{(-r_i)V}$$

$$r_i = -kC_i = -kC_{i0}(1-X_i)$$

$$r_i = -kC_i^2 = -kC_{i0}^2(1-X_i)^2$$

$$V = V_0 + Ft$$

$$D_{\max} = \frac{\mu_{\max} S_f}{K_s + S_f}$$

$$D_{\max \text{ output}} = \mu_{\max} \left(1 - \sqrt{\frac{K_s}{K_s + S}} \right)$$

$$\frac{d\chi}{dt} = \mu\chi$$