

Kriteriji povećanja obujma bioreaktora

KUI 02/2004
Prispjelo 25. travnja 2002.
Prihvaćeno 23. prosinca 2002.

B. Šantek, S. Novak, P. Horvat i V. Marić

Zavod za biokemijsko inženjerstvo, Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišta u Zagrebu, Pierottijeva 6/IV, 10000 Zagreb, Hrvatska

Razlike u odvijanju transportnih i kinetičkih procesa u različitim obujmima bioreaktora uzrokuju probleme kod razmjernog povećanja bioreaktora. Zbog toga još uvijek ne postoji jedinstvena procedura za povećanje obujma bioreaktora. U ovom radu razmatrani su kriteriji geometrijske, hidrodinamičke i "fiziološke" sličnosti koji se mogu primijeniti u procesu povećanja obujma bioreaktora u kojem se odvija pseudohomogeni bioproces, te njihova ovisnost o procesnim parametrima bioreaktora. Industrijski bioprocеси su u pravilu heterogeni sustavi, a najzastupljenija skupina tih sustava su aerobni bioprocеси. Obujamni koeficijent brzine prijenosa kisika ($k_L a$) najčešće se primjenjuje kao kriterij za povećanje obujma bioreaktora u kojem se odvija određeni aerobni bioproces. U ovom radu razmatrani su i kriteriji koji se primjenjuju u procesu povećanja obujma bioreaktora kod kojih se miješanje radnog medija izvodi pomoću cirkulacije zraka ili cirkulacije medija ostvarene pumpom. Bioprocеси s flokulama, peletima i filmom mikrobnе biomase kao i njihovi strukturirani matematički modeli koji se mogu primijeniti za povećanje obujma bioreaktora također su razmatrani ovom radu.

Ključne riječi: Pseudohomogeni i heterogeni bioprocеси, bioreaktori, strukturirani modeli, kriteriji povećanja obujma bioreaktora

Uvod

Izraz povećanje bioreaktora (eng. scale-up) koristi se za proceduru gdje se industrijski bioreaktor projektira i izrađuje na osnovi rezultata eksperimenata provedenih u laboratorijskoj ili poluindustrijskoj veličini bioreaktora. Problemi povećanja obujma bioreaktora postoje zbog razlika u odvijanju kinetičkih i transportnih procesa u različitim obujmima bioreaktora. Sama kinetika bioprocеса neovisna je o veličini bioreaktora u kojem se odvija određeni bioproces. Međutim, povećanjem obujma bioreaktora sve se teže postiže homogenost sustava, te zbog toga prevladava utjecaj transportnih procesa na ukupnu brzinu bioprocеса. Drugim riječima, u laboratorijskim, dobro miješanim, homogenim bioreaktorima brzina bioprocеса ograničena je kinetikom, a u industrijskim bioreaktorima brzinom prijenosa tvari.^{1,2} Zbog toga je prijenos bioprocеса u veći obujam bioreaktora često težak i upitan. Transport supstrata i drugih hranjivih tvari do stanice mikroorganizma nužan je za odvijanje svakog bioprocеса. U aerobnim bioprocесima transport kisika do stanice u pravilu limitira ukupnu brzinu bioprocеса. Zbog toga je povećanje obujma bioreaktora kompliciranije za aerobne, te kontinuirane i šaržne procese s dotokom supstrata nego za anaerobne i šaržne bioprocесе.

U laboratorijskom bioreaktoru zbog dobrog miješanja postoje zanemarivo mali gradijenti koncentracije i tlaka, dok se u industrijskom bioreaktoru ti gradijenti ne mogu zanemariti. Transportni procesi odvijaju se pomoću dva osnovna mehanizma: konvekcije, koja je posljedica protoka i kondukcije, koja je posljedica difuzijskih procesa. Najveći utjecaj na ove procese imaju način strujanja, miješanje, prijenos tvari i topline. Radna okolina mikrobnе stanice i njene promjene bitno utječu na ponašanje mikroorganiz-

ma tijekom bioprocеса, te mogu uzrokovati promjenu kinetike određenog bioprocеса.³

U laboratorijskom bioreaktoru uvjeti okoline se znatno razlikuju od uvjeta u industrijskom, te se dobiveni rezultati iz laboratorijskog bioreaktora često ne mogu primijeniti na industrijski bioreaktor. Zbog toga je prilikom povećanja obujma bioreaktora u kojem se odvija određeni bioproces potrebno osigurati geometrijsku i hidrodinamičku sličnost bioprocеса u obje veličine bioreaktora, a u proceduru za povećanje potrebno je uključiti i karakteristike tog bioprocеса. Prije povećanja obujma bioreaktora potrebno je odrediti kinetičke karakteristike određenog bioprocеса, te njihovu ovisnost o procesnim parametrima sustava.⁴⁻⁶ Za povećanje veličine bioreaktora postoje različite metode koje se mogu grupirati u ove skupine: temeljne (eng. fundamental), polutemeljne (eng. semifundamental), iskustvene metode, dimenzijska analiza i analiza režima i metode pokušaja i pogreške. Za povećanje obujma bioreaktora u praksi se najčešće primjenjuju kombinacije navedenih metoda, a osobito iskustvene metode u kombinaciji s polutemeljnim metodama.^{5,7}

Pseudohomogeni bioprocеси

Bioprocеси su najčešće heterogeni sustavi koji sadrže ove komponente: radni medij kao kapljevitu fazu, mjehuriće zraka ili plinova nastalih u bioprocесu kao plinovitu fazu, te mikrobnе stanice i netopljive sastojke medija kao čvrstu fazu. U realnom sustavu je zbog toga vrlo teško ostvariti stanje potpune homogene raspodjele komponenata sustava u cijelom obujmu bioreaktora. Nehomogenost sustava vrlo često uzrokuje probleme prilikom modeliranja i povećanja obujma bioreaktora. Prilikom formiranja modela

određenog bioprocesa vrlo često se pretpostavlja stanje idealne homogene raspodjele komponenata sustava unutar bioreaktora koje se još naziva i pseudohomogeno stanje. Pseudohomogeno stanje bioprocesa je karakterizirano jednolikom raspodjelom komponenata radnog medija i mikroorganizma u cijelom obujmu bioreaktora. U tom slučaju mikroorganizam treba rasti u obliku pojedinačnih stanica ili u obliku vrlo tankog biofilma kod bioprocesa s biofilmom. Formiranje nakupina ili agregata stanica odnosno povećanje debljine biofilma uzrokuje povećanje nehomogenosti sustava, tj. pseudohomogeni sustav prelazi u heterogeni sustav.⁸ U daljnjem razmatranju analizirat će se veličine i kriteriji koji utječu na povećanje obujma bioreaktora u kojem se odvija pseudohomogeni bioproces.

Povećanje obujma bioreaktora u kojem se odvija bioproces od laboratorijske do industrijske veličine povezano je s hidrodinamikom medija unutar bioreaktora i kinetičkim karakteristikama određenog bioprocesa, te međusobnom interakcijom navedenih karakteristika. Pri tome je nemoguće očuvati potpunu sličnost svih parametara procesa u obje veličine bioreaktora. Najveći utjecaj na hidrodinamiku ima geometrija i način rada bioreaktora (diskontinuirani ili kontinuirani rad). Značajke miješanja koje pokazuju odstupanje od idealnog miješanja radnog medija u bioreaktoru su sljedeće: vrijeme miješanja,^{9–11} vrijeme cirkulacije,^{12,13} raspodjela vremena zadržavanja,^{14–16} raspodjela vremena cirkulacije,^{17–20} vrijeme homogenizacije ili stupanj nehomogenosti.²¹ Prilikom povećanja obujma bioreaktora, osim geometrijske i hidrodinamičke sličnosti, potrebna je i "fiziološka" sličnost bioprocesa unutar laboratorijske i industrijske veličine bioreaktora. Na "fiziološku" sličnost bioprocesa najveći utjecaj ima okolina mikroorganizma, te fiziološko stanje mikroorganizma. Okolina mikroorganizma posljedica je fizikalnih (temperatura, tlak, način strujanja, površinska napetost, viskoznost i difuznost radnog medija), kemijskih (pH, redoks potencijal i puferski kapacitet medija, te koncentracija supstrata ili produkta) i bioloških čimbenika (infekcija fagom, koncentracija inhibitora, prekursora, genetička stabilnost, kvaliteta i količina inokuluma). Osim uvjeta okoline na fiziološko stanje mikroorganizma utječu i promjene unutar samog mikroorganizma, a to su fizičke (morfologija i pigmentacija) i biokemijske (enzimska aktivnost i sastav mikrobnih stanica) promjene.²² Općenito govoreći, prilikom povećanja obujma bioreaktora u kojem se odvija određeni bioproces potrebno je odrediti međusobni utjecaj karakteristika bioreaktora i uvjeta okoline radnog mikroorganizma te odabrati one utjecaje koji su bitni za proces povećanja obujma bioreaktora. Kako se bioprocesi međusobno mogu znatno razlikovati (aerobni, anaerobni, homogeni, heterogeni, površinski, submerzni, rast u obliku flokula, peleta ili filma biomase, pojava inhibicije supstratom ili produktom i dr.), to je jasno da ne može postojati jedinstvena metoda kojom bi se mogli riješiti problemi kod povećanja obujma bioreaktora za sve navedene slučajeve ili njihove kombinacije.

U industriji se još uvijek najviše rabe bioreaktori s miješalom, a za njihovo razmjerno povećanje u homogenom neaeriranom bioprocesu mogu se primijeniti sljedeći kriteriji: geometrijska sličnost bioreaktora, način strujanja, ulazna snaga (P/V), vrijeme miješanja, cirkulacije ili homogenizacije, Reynoldsov broj miješala ili brzina rotacije miješala.^{23,24} U procesu povećanja obujma bioreaktora često

se primjenjuje kombinacija prethodno navedenih kriterija. Najčešće primjenjen kriterij povećanja obujma bioreaktora je geometrijska sličnost koja se zasniva na jednakom omjeru karakterističnih dimenzija laboratorijskog (1) i industrijskog (2) bioreaktora, a pri tome se najčešće primjenjuje odnos visine i promjera bioreaktora:²⁵

$$(H/D_T)_1 = (H/D_T)_2. \quad (1)$$

Geometrijska sličnost bioreaktora omogućava ekstrapolaciju rezultata eksperimenata iz laboratorijske i poluindustrijske na industrijsku veličinu bioreaktora. Za geometrijski različite bioreaktore nužna je izrada dodatnih korelacija, što komplicira proces povećanja obujma bioreaktora. Primjer geometrijski različitog povećanja obujma bioreaktora je odnos promjera miješala i bioreaktora (d_i/D_T) zbog bolje disperzije plina.²⁵ Ostali prethodno navedeni kriteriji povećanja obujma bioreaktora usko su povezani s procesom miješanja unutar bioreaktora. Postoje različiti pristupi u određivanju vremena miješanja, a zajedničko je u svim tim pristupima da se vrijeme miješanja definira kao vrijeme potrebno za postizanje određenog stupnja miješanja.^{8,10,26}

Stupanj miješanja (η_D) određen je sljedećom jednadžbom:

$$\eta_D = [(c - c_M) / (c_M - c_0)] \cdot 100. \quad (2)$$

Na osnovi stupnja miješanja (η_D) može se odrediti vrijeme miješanja (t_m):¹¹

$$t_m = \ln [1 - (\eta_D / 100)] / d_m, \quad (3)$$

gdje je d_m – parametar smanjenja intenziteta miješanja određen jednadžbom:¹⁰

$$d_m = 2 \Pi^2 \sigma_\tau^2 / t_z^*. \quad (4)$$

Ovisnosti vremena miješanja o procesnim parametrima bioreaktora najčešće su formirane na osnovi eksperimentalnih istraživanja u bioreaktorima s različitim tipovima miješala i geometrijskim odnosima karakterističnih veličina bioreaktora. Tako npr. za bioreaktor s različitim tipovima miješala kod potrošnje snage ($P/V\rho$) od 0,01 – 2,00 W kg⁻¹ uz promjenu odnosa d_i/D_T od 0,2 – 0,7, te povećanje promjera bioreaktora do 2,7 m uz odnos $h_L = D_T$ formirana je sljedeća ovisnost:^{27–29}

$$n t_m = 5,3 N_p^{-1/3} (d_i/D_T)^{-2}. \quad (5)$$

U slučaju više miješala u bioreaktoru ovisnost vremena miješanja o procesnim parametrima je definirana ovom jednadžbom:^{27,30,31}

$$n t_m = 3,3 N_p^{-1/3} (d_i/D_T)^{-2,43}. \quad (6)$$

Prethodno navedene jednadžbe postavljene su na osnovi istraživanja provedenih u medijima male viskoznosti. Za viskozne medije od početne točke strujanja ($Re \approx 6\,400$ $N_p^{-1/3}$) vrijeme miješanja je proporcionalno dinamičkoj viskoznosti (η), a definirano je ovom ovisnošću:³²

$$n t_m = 3,4 \cdot 10^4 Re^{-1} N_p^{-2/3} (d_i/D_T)^{-2}. \quad (7)$$

Određivanje vremena miješanja ima određene nedostatke: nepoznavanje mehanizma miješanja medija u bioreaktoru, eksperimentalno određivanje je relativno komplicirano, a određivanje stupnja miješanja često je subjektivne prirode. Zbog navedenih nedostataka vremena miješanja definirano je vrijeme cirkulacije koje pokazuje cirkulacijsku raspodjelu komponenata bioprocesa unutar obujma bioreaktora. Prema definiciji to vrijeme je odnos toka kapljevine (medija) u bioreaktoru (s_C) i srednje brzine cirkulacije kapljevine (v_C):^{12,20}

$$t_c = s_C / v_C. \quad (8)$$

Povezanost vremena miješanja i cirkulacije određena je eksperimentalno:¹¹

$$t_m = a t_c, \quad (9)$$

gdje je "a" – parametar ovisan o gustoći i viskoznosti medija, brzini cirkulacije i duljini puta cirkulacije, a poprima vrijednosti iz intervala 3 – 7.^{11,33} Najčešće se pretpostavlja da vrijednost parametra "a" iznosi 5.^{10,13,34} U većini slučajeva određivanje vremena miješanja ili cirkulacije izvedeno je samo s jednim osjetilom, a kako uvjeti miješanja u cijelom obujmu bioreaktora nisu identični, rezultati mjerenja znatno ovise o položaju mjernog osjetila u bioreaktoru. Mayr i suradnici²¹ su primijenili više osjetila (šest) za detekciju trasera, te iz odziva sustava formirali krivulju nehomogenosti. Vrijeme homogenizacije su definirali kao vrijeme potrebno da se vrijednost krivulje nehomogenosti smanji na određenu razinu. Time je vrijeme homogenizacije upotrebljeno umjesto vremena miješanja kao novi kriterij za uspješnost miješanja radnog medija u bioreaktoru. Ta metoda je primjenjiva kada se rabi više mjernih osjetila za mjerenje odziva sustava. Prethodno razmatrana vremena koja karakteriziraju miješanje mogu se primijeniti kao kriterij za povećanje obujma bioreaktora nakon povezivanja s geometrijskim i procesnim parametrima bioreaktora. Međutim, za uspješno povećanje obujma bioreaktora u kojem se odvija određeni bioproces potrebno je osigurati i "fiziološku" sličnost bioprocesa u različitim obujmima bioreaktora. Za različite odnose visine medija prema promjeru bioreaktora, te promjera miješala prema promjeru bioreaktora vrijeme cirkulacije (t_c) definirano je jednadžbom:^{23,35}

$$n t_c = 0,76 (h_L / D_T)^{0,6} (D_T / d_i)^{2,7}. \quad (10)$$

Mukataka i suradnici³⁶ povezuju vrijeme cirkulacije s ulaznom snagom (P/V) koja se često primjenjuje kao kriterij za povećanje obujma bioreaktora.

$$t_c = 7,8 \left[0,35 \left(\frac{P/V}{D_T^2} \right)^{1/3} \right]^{-1}. \quad (11)$$

Bioreaktori s većim brojem miješala mogu se proučavati s pozicije cirkulacijskog toka medija pod utjecajem svakog pojedinog miješala kao i toka izmjene između pojedinih miješanih zona. Za bioreaktor s dva miješala vrijeme cirkulacije oko gornjeg i donjeg miješala definirano je sljedećim jednadžbama:³⁴

za donje miješalo:

$$n t_c = 5 [(2 h_L / d_i) + (D_T / d_i)] (h_b / d_i), \quad (12)$$

za gornje miješalo:

$$n t_c = 5 [(2 h_L / d_i) + (D_T / d_i)] [(h_L - h_b) / d_i]. \quad (13)$$

Na karakteristična vremena miješanja utječu i fizikalno-kemijska svojstva medija, kao što su viskoznost ili gustoća medija u kojem se odvija određeni bioproces. Promjenom viskoznosti medija dolazi do promjene vrijednosti karakterističnih vremena miješanja. Jednadžbe 10 – 13 mogu se primijeniti za povećanje obujma bioreaktora, ali kod medija male viskoznosti. Kod viskoznih medija koji su karakteristični za bioprocese s micelijskim mikroorganizmima vrijeme cirkulacije se može odrediti ovom jednadžbom:^{36,37}

$$t_c = 7,8 \left[n_{FI}^3 \left(\frac{0,35 P/V}{D_T^2} \right)^{\frac{2-n_n}{3}} (100 d_i^2)^{1-n_n} \right]^{-1}. \quad (14)$$

Mjerenja provedena u medijima s micelijem plijesni *Penicillium chrysogenum*³⁷ koncentracije biomase od 4,5 – 9,1 kg m⁻³ i suspenzije papirne pulpe masene koncentracije od 7 – 15 kg m⁻³ pokazuju da indeks toka (n_{FI}) poprima vrijednosti od 0,37 – 0,64 uz indeks konzistencije (η_C) od 0,3 – 3,0 Pa sⁿ. Povećanje obujma bioreaktora na temelju karakterističnih vremena miješanja podrazumijeva konstantne vrijednosti tih veličina unutar laboratorijskog, poluindustrijskog i industrijskog bioreaktora. Poznato je da povećanje obujma bioreaktora uzrokuje povećanje karakterističnih vremena miješanja zbog povećanja puta cirkulacije medija unutar bioreaktora. Eksperimentalno je utvrđeno da ovisnost vremena miješanja o promjeni obujma ili promjera bioreaktora ima oblik:^{38,39}

$$t_m \approx V^{0,3} \approx D_T^{-1,33}. \quad (15)$$

Postoji više načina da vrijeme miješanja ostane konstantno, u procesu povećanja obujma bioreaktora s miješalom, a najčešće se primjenjuje povećanje ulazne snage (P/V) ili brzine rotacije miješala. Povećanje ulazne snage, da bi se sačuvalo konstantno vrijeme miješanja, dopušteno je do određenih granica. Prijeđu li se te granice, zbog ekonomskih ili tehničkih razloga daljnje povećanje nije opravdano. Za industrijske bioreaktore zbog velikog obujma trebalo bi instalirati opremu čija tehnička izvedba nije moguća ili ekonomski opravdana.^{5,6} Ekonomska kategorija (znatno povećanje utroška energije po jedinici proizvoda) u takvom slučaju traži razmatranje mogućnosti primjene drugih tipova bioreaktora. Druga mogućnost očuvanja konstantnog vremena miješanja je povećanje brzine rotacije miješala, jer veće brzine rotacije uvjetuju bržu cirkulaciju medija unutar bioreaktora, a time i mogućnost očuvanja vremena miješanja pri povećanju obujma bioreaktora. Posljedica većih brzina rotacije miješala je brža cirkulacija medija unutar bioreaktora, a time se stvara mogućnost održavanja vremena miješanja konstantnim u obje veličine bioreaktora. Povećanje brzine rotacije miješala može se tolerirati samo do određene razine, a povećanje iznad te granice može negativno djelovati na odvijanje samog bio-

Tablica 1 – Karakteristična vremena različitih procesa tijekom proizvodnje biomase pekarskog kvasca u koloni s barbotirajućim mjehurićima zraka ($V_L = 120 \text{ m}^3$)⁴¹

Table 1 – Characteristic times of different processes in baker's yeast production in a bubble column fermentor ($V_L = 120 \text{ m}^3$)⁴¹

Proces Process	Definicija Definition	Vrijednost Value (s)
a) Miješanje kapljevite faze Mixing of liquid phase	s_C^2 / D_Z	$10^1 - 10^3$
b) Cirkulacija tekućine Liquid circulation	$2 s_C / v_C$	$10^1 - 10^2$
c) Prijenos kisika u kapljevitoj fazi Oxygen transfer in liquid phase	$1 / k_{La}$	$1 - 10^2$
d) Potrošnja kisika Oxygen consumption	c_L / r_O	1
e) Potrošnja supstrata Substrate consumption	c_S / r_{CR}	$10^1 - 10^2$
f) Rast biomase Biomass growth	$1 / \mu$	10^4

procesa. U bioprocima s micelijskim mikroorganizmima velike brzine rotacije miješala izazivaju oštećenje micelija ili peleta, što ima kao posljedicu smanjenje djelotvornosti i produktivnosti.^{23,40} U primjeni vremena miješanja kao kriterija povećanja obujma bioreaktora treba biti vrlo oprezan, jer i ostali procesi unutar tog sustava mogu utjecati na odvijanje bioprocisa u industrijskom bioreaktoru. Kao primjer u tablici 1 prikazana su karakteristična vremena različitih procesa bitnih za proizvodnju biomase pekarskog kvasca.⁴¹ Svi procesi čija su vremena u razini ili manja od vremena cirkulacije kapljevite faze mogu utjecati na odvijanje proizvodnje biomase kvasca. Povećanje obujma bioreaktora također se dugo izvodilo na osnovi kriterija geometrijske sličnosti i konstantne ulazne snage (P/V). Odnos između ulazne snage i obujma bioreaktora dobiven je eksperimentalno:³⁸

$$(P/V) \approx V^{-a}, \quad (16)$$

gdje je "a" – eksponent koji u slučaju neaerirane podloge ima vrijednost 0,5, a kod aerirane podloge 0,37. Gore navedeni odnos postavljen je na osnovi istraživanja u 30 bioreaktora s miješalom radnog obujma od 0,1 – 300 m³ koji su optimizirani za procese proizvodnje mikrobnog biomase i sekundarnih metabolita. U industriji pri projektiranju bioreaktora predviđa se potrebna ulazna snaga od 0,8 – 3,0 kW m⁻³. Veličina potrebne ulazne snage ovisi o fizikalno-kemijskim karakteristikama medija (viskoznost, gustoća, formiranje pjene) kao i o morfološkim karakteristikama radnog mikroorganizma.³⁶ Reynoldsov broj miješala je također jedan od empirijskih kriterija povećanja obujma bioreaktora čija se vrijednost može odrediti ili procijeniti na osnovi ovih ovisnosti:³⁸

$$N_{RE} = n d_i^2 \rho / \eta \approx V^{0,35} \approx n d_i^2. \quad (17)$$

Prilikom povećanja obujma bioreaktora na osnovi konstantnog Reynoldsovog broja miješala (N_{RE}) treba posebnu pozornost posvetiti morfološkim karakteristikama radnog mikroorganizma. Velika obodna brzina miješala može oštetiti radni mikroorganizam, što uzrokuje smanjenje produktivnosti i djelotvornosti bioprocisa. U industriji se primjenjuju obodne brzine od 2,5 – 6,0 m s⁻¹ neovisno o obujmu bioreaktora. Svi prethodno spomenuti empirijski kriteriji povećanja obujma bioreaktora ne primjenjuju se pojedinačno, već se ovisno o zahtjevima bioprocisa odabire optimalna kombinacija kriterija koja će omogućiti najveću moguću produktivnost i djelotvornost bioprocisa u industrijskom bioreaktoru.

Heterogeni bioprocisi

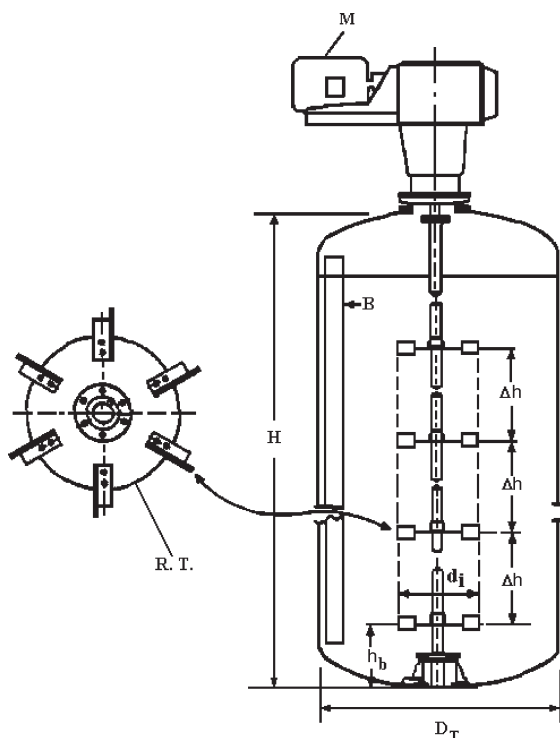
Realni bioprocisi su u pravilu heterogeni sustavi gdje često dolazi do aglomeracije stanica u flokule ili micelijske pelete kao i do formiranja tankog sloja mikrobnog biomase tzv. biofilma. Povećanjem veličine flokula, peleta ili debljine biofilma javljaju se transportni problemi, a osobito na granici između kapljevite i čvrste faze heterogenog sustava. U takvim slučajevima za opisivanje sustava nužno je postavljanje bilance tvari ili topline, te rješavanje kompleksnih sustava diferencijalnih jednadžbi. Dimenzija flokula, peleta, mjehurića zraka ili kristala se ne povećava proporcionalno s povećanjem obujma bioreaktora, već ostaje konstantna. Dimenzija prethodno navedenih čestica u bioreaktoru određena je s dva suprotna procesa: disperzijom i koalescencijom. Oba su procesa ovisna o karakteristikama strujanja i površinskim svojstvima radnog medija u bioreaktoru. Ako se prilikom povećanja obujma bioreaktora ne mijenjaju površinska svojstva medija karakteristike strujanja određuju veličinu čestica u bioreaktoru.⁵

U industriji najzastupljenija grupa heterogenih procesa su aerobni bioprocisi, kao što su proizvodnja mikrobnog biomase, nekih organskih kiselina, antibiotika itd. U aerobnim bioprocima kisik je konačni akceptor elektrona u respiratornom lancu, te pad koncentracije otopljenog kisika ispod neke kritične vrijednosti ograničava rast i usporava bioprocis. Zbog toga je važno da u aerobnim bioprocima koncentracija otopljenog kisika u radnom mediju bude veća od kritične vrijednosti, koja ovisi o vrsti mikroorganizma, sastavu, viskoznosti, gustoći i površinskoj napetosti radnog medija. U nekim aerobnim bioprocima npr. proizvodnji octene kiseline već kratkotrajna nestašica kisika (od nekoliko minuta) može prouzročiti ireverzibilno oštećenje enzimskog sustava stanice, što dovodi do potpunog zaustavljanja bioprocisa. Zbog toga je prilikom povećanja obujma bioreaktora potrebno analizom bioprocisa odrediti kritične parametre sustava.

Bioreaktori s miješalom

Kod bioreaktora s miješalom aeracija se izvodi dovodnjem zraka preko statičkog ili dinamičkog raspršivača zraka uz mehaničko miješanje medija. Navedeni sustav miješanja i aeracije zahtijeva relativno visoku potrošnju energije. Miješala koja se primjenjuju kod ovih bioreaktora razlikuju se po dimenzijama i obliku, te daju različite profile strujanja medija u bioreaktoru. Najveći utjecaj na odabir miješala ima viskoznost medija i koncentracija otopljenog kisi-

ka koja je nužna za normalni tok određenog bioprocesa. U praksi se još uvijek najčešće primjenjuje turbinsko miješalo (Rushtonova turbina) zbog svojeg dobrog izmješavanja i aeracijskog protoka. Kod visokih bioreaktora ugrađuje se više miješala na osovinu u cilju poboljšanja miješanja, tj. sprečavanja formiranja mrtvih zona u bioreaktoru. Omjer visine i promjera bioreaktora može varirati u širokom rasponu. Kad je ovaj omjer jednak jedan, površina bioreaktora je najmanja što rezultira najmanjim utroškom materijala za izgradnju bioreaktora. Međutim, u slučaju aeracije potrebno je povećati taj odnos da bi se povećalo vrijeme zadržavanja mjehurića zraka (ili plina) u radnom mediju, čime se ujedno povećava i koncentracija otopljenog kisika.⁴² O utjecaju aeracije na miješanje postojala su suprotna mišljenja sve do primjene metode mjerenja cirkulacije medija unutar bioreaktora radio-odašiljačem ili magnetnom kapsulom. Navedenom tehnikom ustanovljeno je da povećanje protoka aeracije uzrokuje povećanje srednjeg vremena cirkulacije, a istodobno je intenzitet miješanja veći.³⁸ Taj rezultat pokazuje da aeracija pridonosi djelotvornosti miješanja. Ovisnost srednjeg vremena cirkulacije medija o aeraciji za bioreaktor s miješalom ima maksimum u nekoj kritičnoj točki nakon koje dolazi do smanjenja srednjeg vremena cirkulacije bez obzira na povećanje aeracije. Aeracija viša od te kritične vrijednosti dovodi do fluidizacije medija u struji zraka, te rotacija miješala više ne utječe na disperziju mjehurića zraka. U takvoj situaciji cijeli sustav se ponaša slično kao kolona s barbotirajućim mjehurićima zraka, tj. miješanje unutar bioreaktora ovisno je o protoku aeracije.^{24,43} Povećanje obujma bioreaktora u kojem se odvija aerobni bioproces se zbog prethodno navedene pojave vrlo rijetko izvodi na osnovi karakterističnih vremena miješanja. Klasični bioreaktor s miješalima prikazan je na slici 1.



Slika 1 – Standardni bioreaktor s miješalima (B – odbijač vrtloga, M – motor, R. T. – Rushtonova turbina)

Fig. 1 – Standard bioreactor with stirrers (B – baffle, M – motor, R. T. – Rushton turbine)

Za povećanje obujma bioreaktora s miješalom u kojem se odvija aerobni bioproces najčešće se primjenjuju ove kombinacije kriterija povećanja obujma bioreaktora:^{44–46}

1. Geometrijska sličnost (ili konstantan odnos d_i/D_T), konstantna $k_L a$ vrijednost i obujamni protok zraka po jedinici obujma podloge (Q_G/V).
2. Geometrijska sličnost, konstantna $k_L a$ vrijednost i obodna brzina miješala (nd_i).
3. Konstantna $k_L a$ vrijednost, konstantna obodna brzina miješala i konstantni obujamni protok zraka po jedinici obujma podloge (Q_G/V). Odnos d_i/D_T unutar granica predložениh po Oldshueu.⁴⁷

Osim navedenih moguće je formirati i druge kombinacije kriterija povećanja obujma bioreaktora. Međutim, ključna i nezaobilazna veličina je $k_L a$ vrijednost. Kod povećanja obujma bioreaktora u kojem se odvija aerobni bioproces nužno je osigurati jednaku brzinu prijenosa kisika u svim veličinama bioreaktora. *Ju* i *Chase*⁴⁸ izradili su poboljšanu kombinaciju kriterija za povećanje obujma bioreaktora s aerobnim bioprocima koja sadrži ova četiri kriterija: geometrijsku sličnost, obodnu brzinu miješala, ulaznu snagu i konstantnu maksimalnu brzinu prijenosa kisika ($C_{OTR,M}$) određenu jednadžbom 18.

$$C_{OTR,M} = k_L a c_r = k_L a p_{O_2} He \quad (18)$$

Ova poboljšana kombinacija kriterija povećanja obujma bioreaktora omogućava bolju kontrolu ulazne snage (P_G/V) za industrijske bioreaktore.⁴⁸ Kako je $k_L a$ jedan od najčešće primjenjivanih kriterija povećanja obujma bioreaktora s aerobnim bioprocima, to je za njegovo izračunavanje i predviđanje izrađen cijeli niz ovisnosti o procesnim parametrima bioreaktora. Na osnovi provedenih istraživanja u bioreaktorima obujma od 2,5 m³ do 900 m³ utvrđeno je da linearna brzina strujanja zraka (v_s) bolje opisuje sustav od obujamnog protoka zraka po jedinici obujma podloge (Q_G/V).⁴⁹ Najčešće primjenjivana jednadžba za izračunavanje $k_L a$ vrijednosti u medijima male viskoznosti ima oblik:^{50–53}

$$k_L a = K_1 (P_G/V_L)^a (v_s)^b, \quad (19)$$

gdje su K_1 , a , b – koeficijenti koji ovise o viskoznosti, gustoći i površinskoj napetosti medija, te o disperziji i koalescenciji. Najveći broj dosadašnjih ovisnosti $k_L a$ o procesnim parametrima sustava postavljen je na osnovi modelnih istraživanja, a vrlo malo na osnovi podataka iz stvarnih bioprocisa.⁵⁴ *Henzler*⁵⁵ nakon niza eksperimenata u vodi i vodenim otopinama soli za različite obujme bioreaktora formira bezdimenzijsku grupu koja sadrži $k_L a$, te razvija ovisnost o procesnim parametrima bioreaktora:

$$\left(\frac{P_T}{V_L}\right)\left(\frac{v^2}{g}\right)^{1/3} = K_2 \left(\frac{P_G}{V_L v_s \rho g}\right). \quad (20)$$

Istu bezdimenzijsku grupu primjenjuju *Reuss* i suradnici^{56,57} za uzgoj kvasca u šaržnom procesu s dotokom supstrata za različite obujme i geometrijske karakteristike bioreaktora, te postavljaju jednadžbu:

$$\left(\frac{k_L a}{v_s}\right) \left(\frac{v^2}{g}\right)^{1/3} Sc^{0,3} = 0,00055 \left(\frac{P_G}{V_L v_s \rho g}\right). \quad (21)$$

Ista jednadžba primijenjena je za opisivanje proizvodnje glukonske kiseline s *Aspergillus niger*, pri čemu je Schmidov broj (Sc) uveden zbog opisivanja utjecaja promjene viskoznosti medija na molekulska difuziju odnosno koeficijent prijenosa tvari. Linek i Vacek^{58,59} i Linek i suradnici⁶⁰ na osnovi proučavanja različitih koalescirajućih sustava postavljaju ovu jednadžbu za određivanje $k_L a$:

$$k_L a = \exp(-4.18 N_1 - 4.36) \left(\frac{P_T}{V_L}\right)^{N_1} (v_s)^{0,4} \quad (22)$$

$$N_1 = 0,56 + \frac{1,5 \gamma_{x_2}}{10^{-6} + 3,05 \gamma_{x_2}}$$

$$\gamma_{x_2} = c \left(\frac{d\sigma}{dc}\right)^2 \left(\frac{1 + d \ln \sigma}{d \ln c}\right)^{-1}$$

Za viskozne medije problem određivanja $k_L a$ vrijednosti kod povećanja obujma bioreaktora dodatno se komplicira zbog teškoća u karakterizaciji načina strujanja. U tom slučaju za izračunavanje $k_L a$ najčešće se primjenjuje jednadžba:^{51,61,62}

$$k_L a = c (P_G / V_L)^A (v_s)^B (\eta_{PR})^C, \quad (23)$$

gdje je η_{PR} – prividna dinamička viskoznost određena ovom jednadžbom:⁶³

$$\eta_{PR} = a (11 n)^{\eta_m - 1} \left(\frac{3 \eta_m + 1}{4 \eta_m}\right)^{\eta_m}, \quad (24)$$

gdje je a – parametar, η_m – indeks snage, a n – brzina rotacije miješala.

Na osnovi istraživanja otopina s Na-poliakrilatom (PAA) i Na-karboksi-metil-celulozom (CMC), Ranade i Ulbrecht⁶⁴ postavljaju jednadžbu za određivanje $k_L a$:

$$\frac{k_L a D_T^2}{D_L} = 2,5 \cdot 10^{-4} \left(\frac{\rho n d_i^2}{\eta_{PR}}\right)^{1,8} \left(\frac{\eta_{PR}}{\eta_v}\right)^{1,39} (1 + 100 De)^{-0,67}. \quad (25)$$

Formiranje bezdimenzijskih grupa koje sadrže $k_L a$ nije omogućilo dobivanje opće jednadžbe ovisnosti za viskozne medije, jer dobiveni rezultati istraživanja jako ovise o značajkama medija.^{65,66} Međutim, tijekom istraživanja uočeno je da dva medija različitih indeksa konzistencije i toka imaju približno jednaku prividnu viskoznost kod određene brzine rotacije miješala. U industrijskim bioreaktorima⁶⁷ uočeno je da viskozni mediji započinju homogeno strujanje kod brzine rotacije miješala od 10^4 s^{-1} . Na osnovi toga za tri otopine CMC različite viskoznosti postavljena je jedna jednadžba za $k_L a$:⁶⁴

$$k_L a \frac{V_L}{Q_G} \left(\frac{v_{PR}}{D_{O_2}}\right)^{0,3} = 0,103 \left(\frac{P}{Q_G \rho (g v)^{2/3}}\right)^{0,53}. \quad (26)$$

Koncept s dvije različite viskoznosti poboljšava ovisnost između mjernih i modelnih podataka. Međutim, on je još uvijek empirijske prirode, te stoga nije primjenjiv u procesu povećanja obujma bioreaktora.⁵⁴ Na osnovi odvojenog definiranja k_L i "a" Kawasa i Moo-Young⁶⁸ razvijaju ovisnost za određivanje $k_L a$ vrijednosti u aeriranim bioreaktorima s miješalom za newtonovske i nenewtonovske medije:

$$k_L a = 0,675 D_L^{0,5} \left(\frac{\rho^{3/5} E^{9+4\eta_m/(10(1+\eta_m))}}{(\eta_c / \rho)^{(1+\eta_m)/2} \sigma^{3/5}}\right) \left(\frac{v_s}{v_b}\right)^{0,5} \left(\frac{\eta_{PR}}{\eta_v}\right)^{-0,25}. \quad (27)$$

Jednadžba 27 primijenjena je za simulaciju strujanja osam različitih newtonovskih medija s točnošću od $\pm 50 \%$. Međutim, ista jednadžba je dobro simulirala strujanje testiranih nenewtonovskih medija (otopine CMC i karpopola). Herbst i suradnici⁶⁹ su primijenili jednadžbu 27 u fermentaciji ksantana i postigli točnost od $\pm 30 \%$.

Kao kriterij povećanja obujma bioreaktora s aerobnim bioprocima često se uz $k_L a$ primjenjuje i snaga miješanja. Snaga miješanja (P) ovisi o geometriji bioreaktora, protoku zraka, karakteristikama miješala, brzini rotacije miješala, karakteristikama radnog medija itd., a izražava se kao funkcija broja snage (N_p) koji je definiran jednadžbom:⁴⁴

$$N_p = P / (n^3 d_i^5 \rho). \quad (28)$$

Za proces povećanja bioreaktora važno je da kod $N_{RE} > 10\,000$ broj snage poprima konstantnu vrijednost tj. strujanje medija u bioreaktoru je turbulentno. Zbog nedostatka eksperimentalnih podataka za aerobne bioprocise, povećanje obujma bioreaktora se izvodi primjenom aeracijskog broja (N_A) koji je bezdimenzijska grupa koja ima oblik:⁷⁰

$$N_A = Q_G / (n d_i^3). \quad (29)$$

Ovisnost N_A o (P_G/P) ovisi o karakteristikama radnog medija i vrijedi samo za određenu geometriju bioreaktora uz jedno miješalo u bioreaktoru. Za bioreaktore s više miješala potrebna snaga miješanja (P_G) ovisi o položaju miješala i načinu strujanja medija oko miješala. Uvjeti oko pojedinog miješala se razlikuju, ali nije poznata pouzdana metoda koja predviđa distribuciju snage na pojedina miješala bioreaktora. Za izračunavanje promjera miješala, njihovog broja, brzine rotacije ili razmaka između miješala još se uvijek primjenjuju iskustvene metode koje se zasnivaju na geometrijskoj sličnosti, ulaznoj snazi ili Reynoldsovom broju miješala.⁷¹ U nekim slučajevima te metode uzimaju u obzir karakteristike radnog mikroorganizma.⁷² Velik utjecaj na brzinu prijenosa kisika i $k_L a$ u aerobnim bioprocima ima linearna brzina strujanja zraka. Ona također utječe i na parcijalni tlak kisika u bioreaktoru. Utjecaj linearne brzine strujanja zraka na brzinu prijenosa kisika (c_{OTR}) određen je sljedećom jednadžbom:⁷²

$$c_{OTR} = \frac{26786 v_s S_c P_t}{V_L T} \frac{298K}{T} [1 - \exp(-Z v_s^{C-1})] \quad (30)$$

$$Z = \frac{3,73 \cdot 10^{-5} \frac{T}{298K} V_L a \left(\frac{P_G}{V}\right)^b}{S_c}$$

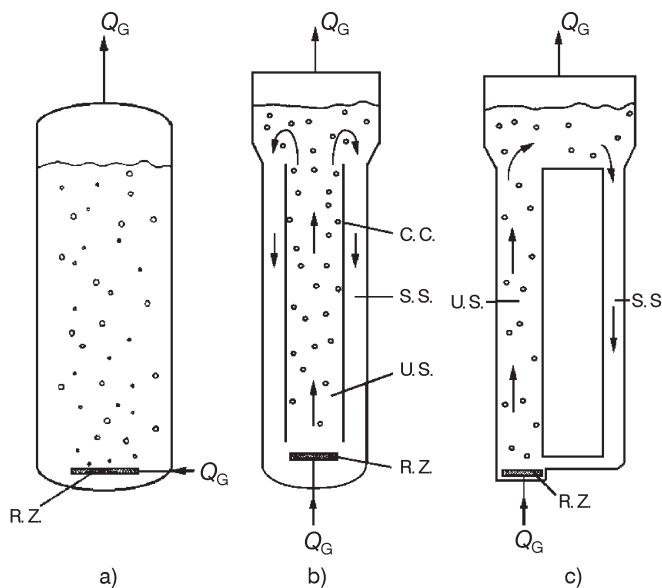
Povećanjem srednje linearne brzine strujanja povećava se i obujamni udjel plinovite faze u kapljevitoj fazi sustava (eng. gas hold-up). Smanjenje korisnog obujma bioreaktora i produktivnosti određenog bioprocesa posljedice su povećanja obujmnog udjela plinovite faze u kapljevitoj fazi sustava. Povećanje obujma medija zbog aeracije ne bi smjelo biti veće od 20 – 25 % neaeriranog obujma medija. U aerobnim bioprocima, kao jedan od kriterija povećanja obujma bioreaktora primjenjuje se i obujamni protok zraka po jedinici obujma podloge (Q_G/V). Primjena tog odnosa može dovesti do problema u industrijskom bioreaktoru. Razlog je tome što primjena konstantnog odnosa (Q_G/V) ima za posljedicu znatno povećanje linearne brzine strujanja ako se povećava promjer bioreaktora, a što može uzrokovati fluidizaciju i izbacivanje medija iz bioreaktora. Zbog toga je potrebno povećanje obujma bioreaktora izvoditi na osnovi konstantne srednje linearne brzine strujanja, a radne uvjete odabrati na osnovi bilance mase tvari određene komponente sustava.⁷²

Kolone s barbotirajućim mjehurićima zraka i "air-lift" reaktori

Miješanje i aeracija kod ovih bioreaktora izvodi se cirkulacijom zraka kroz sustav. Raspršivanjem zraka u radni medij pomoću različitih statičkih ili dinamičnih raspršivača nastaje smjesa zraka i radnog medija koja se zbog niže gustoće diže kroz medij te ga miješa. U odnosu na bioreaktore s miješalom ovi bioreaktori zahtijevaju manje energije za miješanje. Kolone s barbotirajućim mjehurićima zraka su vrlo jednostavne konstrukcije, pri čemu se omjer visine i promjera kolone kreće u intervalu od 3 : 1 do 6 : 1. Glavne prednosti kolona s barbotirajućim mjehurićima zraka u odnosu na bioreaktore s miješalom su niža cijena izgradnje i manji troškovi održavanja uz zadovoljavajući prijenos tvari odnosno topline. Kod "air-lift" reaktora za razliku od kolona s barbotirajućim mjehurićima zraka postoje odvojene uzlazne i silazne sekcije za protok radnog medija. Uzlazna sekcija bioreaktora se aerira slično kao i kolona s barbotirajućim mjehurićima zraka. Na vrhu uzlazne sekcije odvaja se zrak od radnog medija, kojemu se zbog toga povećava gustoća te se spušta silaznom sekcijom na dno bioreaktora, gdje se ponovo aerira. Cirkulacija radnog medija u "air-lift" reaktoru posljedica je razlike u gustoći između uzlazne i silazne sekcije bioreaktora. U odnosu na kolone s barbotirajućim mjehurićima zraka "air-lift" reaktori omogućavaju bolje miješanje i aeraciju radnog medija. Međutim, kod malih brzina strujanja medija aeracija i miješanje na razini su kao kod kolona s barbotirajućim mjehurićima zraka.⁴² Tipični primjeri bioreaktora kod kojih se miješanje radnog medija izvodi cirkulacijom zraka prikazani su na slici 2.

Za povećanje obujma bioreaktora kod kojih se miješanje izvodi cirkulacijom zraka kao kriteriji se mogu primijeniti geometrijska sličnost, konstantna $k_{L,A}$ vrijednost, konstantna linearna brzina strujanja ili konstantna brzina prijenosa kisika. Tako npr. za kolone s barbotirajućim mjehurićima zraka Yang i suradnici⁷³ postavljaju sljedeći odnos brzina strujanja kapljevite faze sustava:

$$\frac{v_L}{v_{LM}} = 1 + b_R^{-2} \varphi^2 + \frac{2 - b_R^{-2}}{b_R^{e_{NF}} - \frac{4}{e_{NF} + 4}} (\varphi^{e_{NF}+2} - b_R^{e_{NF}} \varphi^2). \quad (31)$$



Slika 2 – Bioreaktori kod kojih se miješanje izvodi pomoću cirkulacije zraka:⁴² a) kolona s barbotirajućim mjehurićima zraka, b) "air-lift" reaktor s centralnom cijevi, c) "air-lift" reaktor s bočnom cijevi (R. Z. – raspršivač zraka, U. S. – uzlazna sekcija, S. S. – silazna sekcija, C. C. – centralna cijev)

Fig. 2 – Bioreactors with mixing performed by air circulation:⁴² a) bubble column, b) air-lift reactor with central tube, c) air-lift reactor with side tube (R. Z. – air sparger, U. S. – riser, S. S. – downcomer, C. C. – draft tube)

Jednadžba 31 empirijske je prirode, a njezine osnovne veličine su: ε_{NF} koji opisuje radijalni profil zadržavanja plinovite faze u mediju i b_R koji povezuje utjecaj geometrije bioreaktora i karakteristika medija na brzinu strujanja u bioreaktoru. Clark i suradnici⁷⁴ postavljaju model turbulentne cirkulacije za kolonu s barbotirajućim mjehurićima zraka koja ima radijalnu distribuciju aksijalne brzine medija u visokoj koloni s turbulentnim strujanjem. Postavljeni model nema analitičko rješenje, te se distribucija brzine dobiva numeričkom integracijom. Na stijenci kolone dolazi do promjene načina strujanja, a integracija profila brzina kroz površinu poprečnog presjeka kolone daje protok kapljevite faze (Q_L):

$$Q_L = \int_0^{D_T} 2R\Pi Q(R) dR, \quad (32)$$

gdje je R – radijalna udaljenost.

Za "air-lift" reaktore s povratnim tokom medija Chisti i suradnici⁷⁵ određuju prosječnu brzinu strujanja kapljevite faze (v_{LR}):

$$v_{LR} = \left[\frac{2g h_L (\varphi_{gr} - \varphi_{gd})}{\frac{f_T}{(1 - \varphi_{gr})} + \frac{f_B \Psi_A^2}{(1 - \varphi_{gd})^2}} \right]^{0.5}. \quad (33)$$

S postavljenom jednadžbom mogu se uspješno simulirati literaturni podaci o brzini strujanja radnog medija u "air-lift" reaktorima različitih konfiguracija uz odabir odgovarajuće vrijednosti koeficijenta trenja. Za "air-lift" reaktore

re s koncentričnom cijevi f_T može se zanemariti, a za bioreaktor s cirkulacijskim tokom f_T je jednak f_B . Faktor trenja za dno bioreaktora određuje se ovom jednačbom:

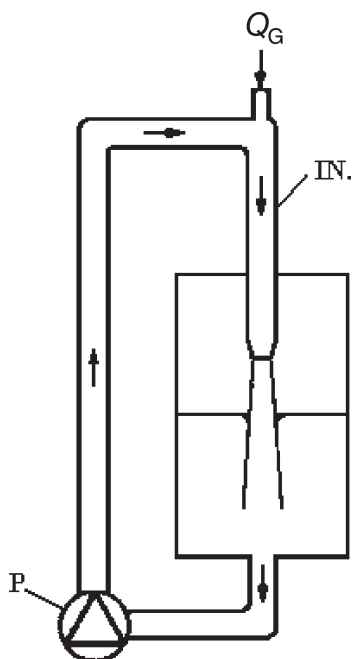
$$f_B = 11,4 (S_D / A_B) . \quad (34)$$

Navedena jednačba za f_B dobro aproksimira eksperimentalne rezultate, ali treba unaprijediti metodu za određivanje f_B kako bi se jednačba 33 mogla primijeniti za povećanje obujma bioreaktora.^{76–80} Za opisivanje hidrodinamike u "air-lift" reaktorima često se primjenjuje i disperzijski model, a obično se odvojeno definiraju uzlazna i silazna sekcija zbog različitog načina strujanja unutar tih sekcija.^{81–84}

Bioreaktori s miješanjem izvedenim cirkulacijom medija pomoću pumpe

U ovom tipu bioreaktora radni medij se odvodi pomoću pumpe i onda se tlačnom cijevi dovodi do mlaznice u obliku injektora, ejektora ili Venturijeve cijevi, gdje zbog pada tlaka dolazi do usisavanja zraka u radni medij. Bioreaktori s miješanjem izvedenim cirkulacijom medija pomoću pumpe karakteristični su po intenzivnom miješanju i aeraciji, te se vrlo često primjenjuju za bioprocese gdje je potrebna velika dobava kisika. Primjeri takvih bioprocasa su aerobna obrada otpadnih voda i proizvodnja pekarskog kvasca.⁴² Tipični primjer bioreaktora kod kojeg se miješanje izvodi cirkulacijom medija pomoću pumpe prikazan je na slici 3.

Kao primjer za povećanje obujma ove grupe bioreaktora izdvojeni su bioreaktori s hidroejektorima za koje *Orfanio-tis* i suradnici⁸⁵ primjenjuju ove kriterije povećanja obujma bioreaktora: srednja linearna brzina strujanja plinovite faze, moment mlaza i ulazna snaga (P_C/V). U ovoj vrsti bioreaktora linearna brzina strujanja ovisi o obujmu i karakteri-



Slika 3 – Bioreaktor s miješanjem izvedenim cirkulacijom medija pomoću pumpe (P – pumpa, IN. – injektor)

Fig. 3 – Bioreactor with medium mixing performed by pump (P – pump, IN. – injector)

stikama radnog medija (viskoznosti, gustoći i površinskoj napetosti), procesu difuzije, udjelu plinovite faze u dvofaznom sustavu, a također i o geometriji bioreaktora i protoku medija koji utječe na pad tlaka u hidroejektoru. Sve prethodno navedene karakteristike treba uzeti u obzir prilikom određivanja brzine strujanja plinovite faze koja će se primijeniti kao kriterij za povećanje obujma bioreaktora. Drugi kriterij je moment mlaza (F) koji karakterizira hidroejektor, a definiran je ovom jednačbom:

$$F = \rho Q_L^2 [(1 + \beta) / S_S] . \quad (35)$$

U bezdimenzijskom obliku izraz za moment mlaza (F_S) prima oblik:⁸⁵

$$F_S = F / (\rho v_L g) . \quad (36)$$

Treći kriterij povećanja bioreaktora ulazna snaga (P_C/V) određivana je primjenom sljedeće ovisnosti:

$$k_L a \left(\frac{v}{g} \right)^{1/3} = 1,28 \cdot 10^{-4} \left(\frac{P_C / V}{\rho (v g^4)^{1/3}} \right)^{0,52} F_S^{1/3} . \quad (37)$$

Povezivanje procesnih i fizioloških parametara bioprocasa

Kinetika bioprocasa bitno utječe na povećanje volumena bioreaktora. Dobar je primjer proizvodnja 2,3-butandiola s bakterijom *Enterobacter aerogenes* koja je testirana u tri tipa bioreaktora: bioreaktoru s miješalom, koloni s barbotirajućim mjehurićima zraka i "air-lift" reaktoru. Pri tome su primijenjeni sljedeći kriteriji povećanja bioreaktora: geometrijska sličnost, ulazna snaga (P/V) i brzina prijenosa kisika. U laboratorijskom mjerilu za sve tipove bioreaktora dobivena je približno jednaka djelotvornost bioprocasa, a u poluindustrijskoj veličini (1,5 m³) "air-lift" reaktor je pokazao prednost pred bioreaktorom s miješalom zbog manjeg utroška energije po obujmu radnog medija. Istraživanjem je utvrđeno da konstantna brzina prijenosa kisika ($c_{O_{TR}}$) ili $k_L a$ nisu zadovoljavajući kriteriji za povećanje obujma bioreaktora u slučaju kada je radni mikroorganizam osjetljiv na promjene koncentracije otopljenog kisika u mediju. Razlog tome je velik utjecaj hidrodinamike na proces proizvodnje 2,3-butandiola u mikroaerobnim uvjetima.⁸⁶ Zbog velike osjetljivosti radnog mikroorganizma na koncentraciju otopljenog kisika u mediju, kao kriterij za povećanje obujma bioreaktora primijenjen je respiratorni kvocijent (RQ) koji je definiran sljedećom jednačbom:⁸⁷

$$RQ = c_{O_{UR}} / c_{CO_2} . \quad (38)$$

Eksperimentalno je utvrđeno da vrijednost RQ od 4 – 4,5 (koja odgovara stehiometrijskom odnosu iz metaboličkog puta dobivanja 2,3-butandiola) daje maksimalnu produktivnost i djelotvornost bioprocasa.⁸⁷

Kriteriji povećanja bioreaktora vezani za oblik biomase

U procesu povećanja obujma bioreaktora osim geometrijske sličnosti, ulazne snage, koeficijenta prijenosa mase

tvori ili topline treba razmotriti i način rasta radnog mikroorganizma. Mikroorganizmi mogu biti suspendirani u radnom mediju kao pojedinačne stanice, formirati nakupine stanica (flokule), formirati film stanica na unutarnjim površinama bioreaktora ili u slučaju micelijskih mikroorganizama formirati micelijske pelete. Flokule, peleti ili film mikrobnih stanica (biofilm) uzrokuju heterogenost određenog sustava, a za opisivanje tih sustava primjenjuju se različiti matematički modeli.

Bioprocеси s flokulama i peletima

Za bioreaktor s miješalom, pri postavljanju bilance mase tvori za sustav s flokulama potrebno je razmotriti i postojanje supstrata unutar flokula biomase. Masa bioflokule se zbog toga dijeli na aktivnu masu biomase (m_A) i masu supstrata u flokuli (m_S), a promjene unutar flokule su opisane jednadžbama:⁸⁸

$$\frac{\mu_M}{Y_{X/S} \Phi_T} = \mu m_A, \quad \frac{\partial \gamma_i}{\partial t_z} = \left(r_q - \frac{\mu}{Y_{X/S}} - k_{OD} \right) m_A. \quad (39)$$

Brzina potrošnje supstrata i brzina rasta ovise o koncentraciji supstrata u mediju i sastavu flokule koji se mijenja ovisno o vremenu zadržavanja flokula u bioreaktoru. Ako se sastav flokula izrazi kao omjer mase supstrata i mase aktivne biomase ($Y = m_S / m_A$) onda se promjena sastava tijekom bioprocеса može opisati jednadžbom:⁸⁸

$$\frac{\gamma}{\gamma_0} = \left(\frac{1}{\alpha} - Y \frac{dm_A}{dt} \right) = r_q - \left(\frac{1}{Y_{X/S}} + Y \right) \mu - k_{OD}. \quad (40)$$

Postavljena jednadžba se u općem slučaju može riješiti analitički. Flokule određenog sastava ulaze u bioreaktor te se adaptiraju na novu okolinu, tj. dolazi do promjene odnosa mase supstrata i biomase unutar flokule. Formiranje kinetičkog modela određenog bioprocеса, te povezivanje parametara modela s procesnim parametrima bioreaktora omogućava primjenu tog modela u procesu povećanja bioreaktora. Obujamna brzina potrošnje supstrata (r_S) ili rasta biomase (r_{AX}) u slučaju linearne kinetike bioprocеса tj. $r_q = k_1 \gamma_S (1 - Y/Y_M)$ i $\mu = k_2 Y$ ima oblik:

$$r_S = \gamma_{XA} k_1 \gamma_S (1 - Y_{SR}/Y_M) \quad (41)$$

$$r_{AX} = \gamma_{XA} k_2 Y_{SR}. \quad (42)$$

U kolonskom bioreaktoru s fluidiziranim slojem flokula brzina potrošnje supstrata po jedinici obujma (r_q) opisana je prema Andrews⁸⁹ jednadžbom:

$$r_q = \frac{\mu_M}{Y_{X/S} \Phi_T} [2 \gamma - 2 \ln(1 + \gamma)]^{0.5} \quad (43)$$

$$\Phi_T = \frac{1}{\alpha D_L Y_{X/S} K_S},$$

gdje su $\gamma = \gamma_S / K_S$ i Φ_T – Thieleov modul.

Strujanje unutar bioreaktora s fluidiziranim slojem može se opisati disperzijskim modelom čije se rješenje u bezdimenzijskom obliku uz konstantnu bezdimenzijsku potrošnju

supstrata (r_G^*) i sastav flokula (Y) može prikazati jednadžbom:

$$\frac{\gamma}{\gamma_0} = 1 - \frac{r_G^*}{Pe} \{1 + Pe Y - \exp[Pe(Y - 1)]\} \quad (44)$$

$$r_G^* = \frac{r_q h_L (1 - E_{AV})}{\gamma_{S_0} v_L}.$$

Jednadžba 44 može se primijeniti za povećanje obujma bioreaktora, ali kod primjene bezdimenzijskih grupa treba biti oprezan zbog mogućnosti promjene uvjeta okoline i načina strujanja kapljevite faze u bioreaktorima većeg obujma.

Micelijski mikroorganizmi formiraju pelete prilikom submerzne kultivacije, a u većini slučajeva brzina transportnih procesa određuje ukupnu brzinu određenog bioprocеса. Transport tvori u pelet i iz peleta provodi se molekulskom difuzijom koja se odvija u dva stupnja: transport do površine peleta i difuzija kroz pore u pelet. Jednosmjerna difuzija u pelet povezana s bilancom mase limitirajućeg supstrata (c_i) opisana je jednadžbom:⁹⁰

$$\frac{\partial c_i}{\partial t_z} = D_{LE} \frac{1}{z^2} \cdot \frac{\partial}{\partial z} \left(z^2 \frac{\partial c_i}{\partial z} \right) - r_{ci}, \quad (45)$$

gdje je r_{ci} – molarna brzina formiranja određene tvori.

Umjesto rješenja diferencijalne jednadžbe i dobivanja koncentracijskog profila određene tvori u peletu kao funkcije vremena, utjecaj prijenosa tvori na ukupni stupanj konverzije obično se određuje faktorom djelotvornosti (R_E):⁹⁰

$$R_E = \frac{r_{ST}}{r_{ID}} = \frac{\tanh \Phi_{TO}}{\Phi_T} \quad (46)$$

$$\Phi_T = \frac{r_{ID} \alpha}{\sqrt{2D_{LE} \int_0^{c_i} -r_{ST}(c_i) dc_i}}. \quad (47)$$

U procesu povećanja obujma bioreaktora dovoljno je primijeniti faktor djelotvornosti prijenosa tvori (jednadžba 46) što reducira diferencijalnu jednadžbu sustava (45) na funkciju vremena zadržavanja u dobro miješanim bioreaktorima ili funkciju duljine puta peleta u cijevnim bioreaktorima. Dobivena vremenska konstanta može se primijeniti kao jedan od kriterija za povećanje obujma bioreaktora.

Bioprocеси s biofilmom

Mikroorganizmi vrlo često na unutarnjim površinama bioreaktora ili na čvrstim pomoćnim česticama stvaraju tanak sloj mikrobnog biomase (tzv. biofilm). Način strujanja kapljevite faze i koncentracija supstrata najviše utječu na debljinu formiranog biofilma. Tipični primjeri bioreaktora s biofilmom su Frings generator (proizvodnja octa), prokapni filter (obrada otpadnih voda) i bioreaktori s fluidiziranim slojem ili nasutim slojem nosača (eng. packed bed) na kojima mikrobnost kultura raste u obliku biofilma.⁴² U bioreaktorima s biofilmom sustav je u cjelini heterogen, no može

se pretpostaviti stanje pseudohomogenosti. To vrijedi samo kada je profil koncentracija na presjeku sloja biofilma jednoličan. U slučaju pseudohomogenosti za cijevni bioreaktor s fiksnim slojem biofilma formiran je model sustava u stacionarnom stanju uz primjenu Monodove kinetike:

$$Q_L d\gamma_s + \frac{\mu_M \gamma_x \gamma_s a_{FS} \delta_F A_F}{Y_{X/S} (K_S + \gamma_s)} dz = 0. \quad (48)$$

U slučaju konstantne debljine filma biomase (δ_F) i konstantne vrijednosti K_S , te uz početne i konačne granične uvjete $z = 0, \gamma_s = \gamma_{s_0}$ i $z = z, \gamma_s = \gamma_s$ rješenje jednadžbe 48 ima oblik:⁸

$$\ln \frac{\gamma_s}{\gamma_{s_0}} = \frac{\gamma_{s_0} - \gamma_s}{K_S} - \left(\frac{\mu_M \delta_F \gamma_x}{Y_{X/S}} \right) \cdot \frac{a_{FS} A_F z}{Q_L K_S}. \quad (49)$$

U slučaju da debljina biofilma nije konstantna, jednadžba 48 ima sljedeće rješenje:⁸

$$\ln \frac{\gamma_s}{\gamma_{s_0}} = K_S \left(\frac{1}{\gamma_s} - \frac{1}{\gamma_{s_0}} \right) - \left(\frac{\mu_M \delta_F \gamma_x}{Y_{X/S} \gamma_s} \right) \frac{a_{FS} A_F z}{Q_L}. \quad (50)$$

Postavljeni pseudohomogeni model pretpostavlja limitaciju prijenosa tvari što odgovara stvarnom odvijanju bioprocasa u bioreaktoru s fiksnim slojem biofilma.⁸ U bioreaktoru s biofilmom nastoji se ostvariti idealna debljina biofilma. To je ona debljina do koje penetriraju limitirajući supstrat i kisik, a ovisi o vrsti mikroorganizma i načinu strujanja u bioreaktoru. Model pseudohomogenosti postavljen na osnovi bilance supstrata i primjene Monodove kinetike u rotirajućem biodisk reaktoru ima oblik:

$$\frac{\gamma_s}{\gamma_{s_0}} = \frac{1}{1 + \frac{(\mu_M \delta_F \gamma_x a_{FS} t_z)'}{Y_{X/S} (K_S + \gamma_s)}}, \quad (51)$$

gdje je $t_z = V_L / Q_L$ srednje vrijeme zadržavanja.

Postavljeni modeli pseudohomogenosti za bioreaktore s biofilmom ne udovoljavaju ako se detaljno razmatra ponašanje sustava, a budući da su empirijske prirode, ne mogu se primijeniti za povećanje obujma bioreaktora. Zbog toga se nastoji formirati detaljnije modele koji uzimaju u obzir heterogenost sustava. Modeli heterogenosti za bioreaktor s biofilmom postavljaju se zbog ova dva razloga:

– određivanje brzine potrošnje supstrata u slučaju interakcije između reakcije bioprocasa i vanjskih ili unutarnjih transportnih procesa (unutar biofilma ili stanice mikroorganizma),

– određivanje brzine rasta biofilma.

Modeli heterogenosti uzimaju u obzir navedene kriterije, te se model bioreaktora i kinetika bioprocasa ugrađuju u konačni model cijelog sustava. U diferencijalnom obujmu bioreaktora konverzija supstrata može se opisati jednadžbom:^{91,92}

$$dV E_L \frac{\partial \gamma_s}{\partial t} = -v_z \frac{\partial \gamma_s}{\partial z} dV + D_{LE} \frac{\partial^2 \gamma_s}{\partial z^2} dV - (E_L r_s dV + a_{FS} G_s dV). \quad (52)$$

Prednost jednadžbe 52 je što se može primijeniti na različite konfiguracije bioreaktora, jer je postavljena na osnovi dinamičke interakcije kinetičkih i transportnih procesa. Rezultati dobiveni primjenom jednadžbe 52 pokazuju da se jednostavni modeli za opisivanje ponašanja biofilma ne mogu primijeniti budući da zanemaruju interakcije između brzine potrošnje supstrata, brzine rasta biomase i bilance tvari u radnom obujmu bioreaktora. Jednadžba koja uzima u obzir heterogenost sustava omogućava određivanje navedenih dinamičkih interakcija u stanju aktivnog rasta biofilma. Međutim, jednadžba 52 nema analitičko rješenje, te zahtijeva primjenu numeričkih metoda za dobivanje rješenja.⁸

Za povećanje obujma bioreaktora nije nužno detaljno odrediti transport unutar peleta, flokula ili biofilma biomase zbog toga što se pomoću faktora djelotvornosti mogu zadovoljavajuće opisati spomenuti procesi. Međutim, ako su transportni procesi unutar peleta, biofilma ili flokule bitni za odvijanje određenog bioprocasa, tada je potrebno detaljnije odrediti odnose unutar tih struktura i postaviti modele koji će opisati realno stanje. Dobiveni modeli mogu se primijeniti u proceduri za povećanje obujma bioreaktora u kojem se odvija određeni bioprocasa.⁹³

Strukturirani modeli heterogenih sustava

Kod heterogenih sustava zbog nehomogenosti radnog medija unutar bioreaktora nameće se potreba primjene strukturiranih modela koji su zasnovani na bilancama količine gibanja, mase tvari ili topline.

Varijacije u koncentraciji otopljenog kisika mogu kod nekih mikroorganizama uzrokovati promjenu metabolizma, a time i promjenu djelotvornosti određenog bioprocasa.⁹⁴ Sinclair i Brown⁹⁵ su primijenili strukturirani model na kontinuirani bioreaktor (sa simetrično postavljenim miješalom) radi istraživanja utjecaja intenziteta miješanja na izlaznu koncentraciju biomase iz bioreaktora. Model se sastoji od dva idealno miješana prostora (kaskade) između kojih postoji tok izmjene. Primjenom Monodove kinetike koncentracija biomase, a time i model miješanja definirani su jednadžbom:⁹⁵

$$f(\gamma_x) = \frac{V_L}{Q_{IZ}} \mu_M \gamma_x \left[\frac{\gamma_{s_0} - \gamma_x / Y_{X/S}}{K_S + \gamma_{s_0} - \gamma_x / Y_{X/S}} \right]. \quad (53)$$

Za bioreaktor s dva miješala Oosterhuis i Kossen⁹⁶ postavljaju model s pet kaskada. Model se sastoji od dvije kaskade koje opisuju događaje u prostoru oko miješala i tri kaskade koje čine ostatak bioreaktora. Brzina strujanja medija između kaskada modela jednaka je cirkulaciji medija oko miješala (eng. pumping capacity of impellers). Kinetika potrošnje kisika opisana je Monodovom jednadžbom, a bilanca kisika postavljena je za svaku kaskadu modela. Tako je npr. bilanca kisika za i-tu kaskadu definirana jednadžbama:

$$Q_G (c_G^{i-1} - c_G^i) - k_L a^i V_{L+G} [(c_G^i / He) - c_L^i] = 0. \quad (54)$$

$$Q_D (C_L^i + C_L^{i+1} - 2 C_L^i) + k_L a^i V_{L+G} [(C_G^i / He) - C_L^i] - r_{O_2 \max} \frac{c_L^i V_L^i}{K_{O_2} + c_L^i} = 0. \quad (55)$$

Za bioreaktore s više miješala *Bader*⁹⁷ primjenjuje strukturirani model za opisivanje miješanja u obujmu od 150 m³. Bioreaktor s četiri miješala, koji se primjenjuje u proizvodnji antibiotika, podijeljen je na četiri kaskade između kojih se odvija izmjena tvari i energije. Model miješanja u bioreaktoru je postavljen na osnovi bilance kisika za svaku pojedinu kaskadu bioreaktora, a zanemareno je povratno strujanje plinovite faze. *Singh* i suradnici^{98,99} za bioreaktor s više miješala postavljaju strukturirani model s idealno miješanim kaskadama između kojih postoji recirkulacija i povratni tok kao što je to prikazano na slici 4. Veličine modela su cirkulacijski tok, broj kaskada u cirkulaciji (N_C) i obujam idealno miješane kaskade oko miješala ($V_{ID1} - V_{ID3}$). Cirkulacijski tok je funkcija protočnosti pumpe i broja kaskada u cirkulaciji (N_C) čiji broj je funkcija reoloških svojstava medija i razine turbulencije u bioreaktoru. Obujam kaskade oko miješala ($V_{ID1} - V_{ID3}$) definiran je kao kod Oosterhuisa i Kossena.⁹⁶ Koncentracija otopljenog kisika se predviđa numeričkim rješavanjem sustava jednadžbi za bilancu kisika i to u svakoj kaskadi modela zasebno. Prethodno opisan model primijenjen je za predviđanje koncentracije otopljenog kisika u viskoznom mediju *Penicillium chrysogenum* u bioreaktoru obujma 40 m³. U većini slučajeva do sada primijenjeni strukturirani modeli imaju i određene nedostatke. Autori većine strukturiranih modela ne uzimaju u obzir povratno strujanje plinovite faze, a broj kaskada u modelu ovisan je o intenzitetu povratnog miješanja ili turbulencije. Prilikom postavljanja strukturiranih modela treba uz određivanje broja kaskada modela razmatrati miješanje faza medija (kapljevite i plinovite), prijenos tvari i kinetiku samog bioprocasa.²³ *Mayr* i suradnici^{100,101} primjenjuju strukturirani model za karakterizaciju miješanja u industrijskom bioreaktoru s jednom i tri Rushtonove turbine. U tom modelu idealno miješanje je definirano uz samo miješalo, a cirkulacijski tok radnog medija oko miješala podijeljen je u niz idealno mi-

ješanih prostora (kaskada) čiji broj je ujedno jedan od parametara modela. Između kaskada u modelu simulacijom aksijalnog i radijalnog protoka medija predviđena je izmjena tvari i energije. Radijalno odnosno aksijalno vrijeme cirkulacije određeno je jednadžbama:

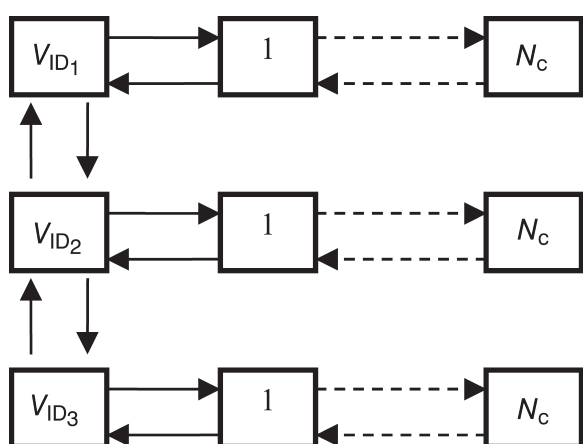
$$t_{CRAD} = V_L / 6 Q_{RAD} \quad t_{AX} = V_L / Q_{AX}. \quad (56)$$

Formirani model miješanja medija u bioreaktoru ima četiri promjenjiva parametra, a to su: radijalno i aksijalno vrijeme cirkulacije, obujam idealno miješane kaskade miješala i broj kaskada unutar svakog cirkulacijskog segmenta. Na osnovi modela miješanja formiran je novi koncept povećanja obujma bioreaktora povezivanjem parametara modela i procesnih parametara bioreaktora koji su izraženi u bezdimenzijskom obliku:¹⁰²

1. $n t_{CRAD} = 0,76 (h_T / D_T)^{0,6} (D_T / d_i)^{2,7}$
 $h_T = (h_L / N_{TR}) \quad N_{TR} = 3$
2. $t_{AX} = f (Fr_S, Fr_A, \eta^*, \lambda)$
3. $V_M / V_L = f (Fr_S, Fr_A, \eta^*, \lambda)$
4. $N = 4$

Parametri jednadžbi 2. i 3. iz sustava 57 definirani su u ovisnosti o Froudeovom broju miješala (Fr_S) i Froudeovom broju aeracije (Fr_A), a polinomni koeficijenti jednadžbi povezani su s bezdimenzijskom viskoznošću (η^*) i odnosom promjera bioreaktora (λ) za dvije različite veličine bioreaktora.¹⁰² Prethodno navedeni model miješanja primijenjen je za simulaciju utjecaja miješanja i povećanja obujma bioreaktora na proizvodnju glutaminske kiseline u bioreaktoru s tri miješala obujma 65 m³. U proizvodnji glutaminske kiseline oscilacije pH – vrijednosti imaju vrlo negativan učinak na djelotvornost samog bioprocasa. Primjenom opisanog modela miješanja određen je broj mjesta kao i lokacije za doziranje amonijaka uz uvjet očuvanja konstantne pH vrijednosti. Zbog toga je smanjeno inhibicijsko djelovanje amonijaka na mjestu utoka u bioreaktor.¹⁰³ Strukturirani se modeli mogu primijeniti na sve poznate tipove bioreaktora, što omogućava usporedbu odvijanja bioprocasa u različitim tipovima bioreaktora. Za uspoređivanje procesa u različitim tipovima bioreaktora nužno je poznavati utjecaj fizičkih i bioloških parametara na odvijanje određenog bioprocasa. Postavljanje bilance tvari ili topline, te primjena numeričkih metoda za rješavanje postavljenih bilančnih jednadžbi strukturiranog modela omogućit će smanjenje broja pogrešaka prilikom povećanja obujma bioreaktora.

U cijevnim bioreaktorima (vertikalnim ili horizontalnim) bioprocasi se odvijaju uz gradijent koncentracije, temperature ili tlaka uzduž cijevi, što čini karakterističan heterogeni sustav. Cijevni bioreaktori se najčešće primjenjuju u različitim procesima biokonverzije s imobiliziranim enzimima ili stanicama mikroorganizama, te u obradi otpadnih voda i uzgoju kulture životinjskih stanica.^{42,104,105} Za povećanje obujma cijevnih bioreaktora najčešće je potrebno na osnovi geometrijske sličnosti odrediti duljinu i promjer bioreaktora, te vrstu pumpe, protočnost radnog medija ili zraka. Cijevni bioreaktori su karakterizirani protokom koji se približava čepolikom strujanju. Osim karakteristika strujanja, pri povećanju volumena bioreaktora treba razmatrati i kinetiku bioprocasa koji se odvija u bioreaktoru. Tako npr.



Slika 4 – Fizički model miješanja s idealno miješanim kaskadama oko svakog miješala ($V_{ID1} - V_{ID3}$) i cirkulacijom koja je karakterizirana brojem kaskada (N_C)^{98,99}

Fig. 4 – Physical mixing model with ideally mixed cascades around each impeller ($V_{ID1} - V_{ID3}$) and circulation characterised by number of circulation cascades (N_C)^{98,99}

Ziegler i suradnici¹⁰⁶ postavljaju jednadžbe bilance biomase, supstrata i kisika u kapljevitoj i plinovitoj fazi kod uzgoja kvasca *Candida tropicalis*.

$$\frac{dy_x}{dt_z} = \frac{\mu_M \gamma_s \gamma_x}{K_s + \gamma_s} \cdot \frac{c_L}{K_{O_2} + c_L}, \quad (58)$$

$$\frac{dy_s}{dt_z} = -\frac{1}{Y_{X/S}} \cdot \frac{\mu_M \gamma_s \gamma_x}{K_s + \gamma_s} \cdot \frac{c_L}{K_{O_2} + c_L}, \quad (59)$$

Bilanca kisika u kapljevitoj fazi opisana je sljedećom jednadžbom:

$$\frac{dc_L}{dt_z} = \frac{k_G a}{\varphi_L} \left(Y_G - \frac{c_L He}{p_R} \right) - \frac{1}{Y_{O_2}} \cdot \frac{\mu_M \gamma_s \gamma_x}{K_s + \gamma_s} \cdot \frac{c_L}{K_{O_2} + c_L}, \quad (60)$$

a u plinovitoj fazi:

$$\frac{dc_L}{dt_z} = \frac{k_G a R_g T}{\varphi_G} \left(Y_G - \frac{c_L He}{p_R} \right). \quad (61)$$

Potrebna ulazna snaga za miješanje aerirane podloge (P_P/V) određena je iz gradijenta tlaka (dp_R/dz) uz aksijalnu os:

$$\frac{P_P}{V} = \frac{v_L}{\eta_p} \cdot \frac{dp_R}{dz}. \quad (62)$$

Uz poznavanje kinetike bioprocesa, te primjenu geometrijske sličnosti može se uspješno obaviti povećanje cijevnih bioreaktora. Prethodno postavljene jednadžbe za cijevni bioreaktor zbog znatno većeg strujanja u aksijalnom smjeru zanemaruju radijalno strujanje medija unutar bioreaktora. Za tankoslojne cijevne bioreaktore jednadžba bilance kisika u radijalnom i aksijalnom smjeru ima oblik:¹⁰⁷

$$\frac{\partial c_{O_2}}{\partial t} = D_z \frac{\partial^2 c_{O_2}}{\partial R^2} - v_R \frac{\partial c_{O_2}}{\partial R} - v_z \frac{\partial c_{O_2}}{\partial z} - r_A c_{O_2} \beta^*. \quad (63)$$

Šantek i suradnici^{108,109} konstruirali su horizontalni rotirajući cijevni bioreaktor (HRCB) koji objedinjava karakteristike tankoslojnih^{110,111} i biodisk reaktora.^{88,112} Nakon provedenog istraživanja miješanja kod različitih procesnih uvjeta u HRCB-u formirana su dva modificirana kaskadna modela miješanja. Usporedbom tih modela na osnovi posebno odabranih kriterija izdvojen je model sa "spiralnim" strujanjem koji ima četiri promjenjiva parametra (N_1 , N_V , Q_{CR} i Q_P). Jednadžbe ovisnosti promjenjivih parametara modela o procesnim parametrima bioreaktora izraženim u bezdimenzijskom obliku [Reynoldsov broj rotacije (Re_N) i Reynoldsov broj aksijalnog strujanja (Re_D)] primijenjene su za formiranje sustava jednadžbi za predviđanje promjenjivih parametara modela. Ti sustavi jednadžbi su međusobno uspoređivani na osnovi posebno formiranih kriterija, a izdvojena su tri sustava koja su najbolje opisivala miješanje u HRCB-u.^{113,114} Izdvojeni sustavi jednadžbi testirani su u novim eksperimentalnim uvjetima [razina tekućine (h_M) i razmak između diskova (l_S)], a odabran je sustav jednadžbi koji najbolje opisuje miješanje u novim uvjetima.¹¹⁵ Taj sustav jednadžbi ima sljedeći oblik:

$$N_1, N_i = f [a_1 - a_N f (h_M, l_S), Re_D, Re_N] \quad (64)$$

$$Q_{CR}, Q_P = f [a_1 - a_N f (h_M, l_S), Re_D, Re_N].$$

Odabrani sustav jednadžbi definira parametre modela N_1 i N_i s točnošću ± 1 , a veličine Q_{CR} i Q_P s točnošću $\pm 30\%$. Navedeni sustav jednadžbi može se primijeniti u procesu povećanja HRCB u kombinaciji s kriterijima za povećanje koji opisuju "fiziološku" sličnost bioprocesa u laboratorijskoj i industrijskoj veličini bioreaktora.

Zaključak

Prijenos bioprocesa iz laboratorijske u industrijsku veličinu bioreaktora još je uvijek jedan od izazova biotehnologije zbog toga što u obje veličine bioreaktora nije moguće osigurati potpuno identične uvjete okoline za radni mikroorganizam. Povećanje obujma bioreaktora uzrokuje promjene u odvijanju kinetičkih i transportnih procesa u različitim obujmima bioreaktora. Za povećanje obujma bioreaktora u kojem se odvija pseudohomogeni bioproces kao kriteriji povećanja mogu se primijeniti geometrijska sličnost bioreaktora, način strujanja, ulazna snaga, vrijeme miješanja, cirkulacije ili homogenizacije, Reynoldsov broj miješala ili brzina rotacije miješala. Ovi kriteriji geometrijske i hidrodinamičke sličnosti se ne primjenjuju pojedinačno, već u kombinaciji s kriterijima "fiziološke" sličnosti bioprocesa u različitim obujmima bioreaktora. U biotehnologiji jedni od najzastupljenijih heterogenih procesa su aerobni bioprocеси. Za povećanje obujma bioreaktora u kojem se odvijaju ti bioprocеси vrlo često se kao kriterij primjenjuje koeficijent brzine prijenosa kisika ($k_L a$) u kombinaciji s ostalim kriterijima povećanja obujma bioreaktora. Kod heterogenih bioprocesa potrebno je osim kriterijima geometrijske i hidrodinamičke sličnosti posebnu pozornost posvetiti kriterijima "fiziološke" sličnosti. Najveći utjecaj na "fiziološku" sličnost bioprocesa u različitim obujmima bioreaktora imaju kinetika bioprocesa i karakteristike radnog mikroorganizma. Matematički modeli bioprocesa u kombinaciji s ostalim kriterijima povećanja obujma bioreaktora daju pouzdanu proceduru za prijenos bioprocesa iz laboratorijske u industrijsku veličinu bioreaktora.

Popis simbola

List of symbols

- a – parametar
- parameter
- a_{FS} – aktivna površina biofilma, $m^2 m^{-3}$
- active biofilm surface, $m^2 m^{-3}$
- A_B – površina dna "air-lift" bioreaktora, m^2
- the area of the bottom of air-lift bioreactor, m^2
- A_F – površina filma biomase, m^2
- biofilm surface, m^2
- b_R – radijalna točka inverzije strujanja
- radial point of flow inversion
- c – koncentracija, $mol m^{-3}$
- concentration, $mol m^{-3}$
- c_0 – početna koncentracija, $mol m^{-3}$
- initial concentration, $mol m^{-3}$

c_G – koncentracija kisika u plinovitoj fazi, mol m ⁻³ – oxygen concentration in gas phase, mol m ⁻³	G_S – gustoća protoka supstrata, kg m ⁻⁵ s ⁻¹ – substrate flux, kg m ⁻⁵ s ⁻¹
c_L – koncentracija otopljenog kisika u kapljevitoj fazi, mol m ⁻³ – oxygen concentration in liquid phase, mol m ⁻³	Δh – razmak između miješala, m – distance between stirrers, m
c_M – maksimalna koncentracija, mol m ⁻³ – maximal concentration, mol m ⁻³	h_b – udaljenost miješala od dna bioreaktora, m – the distance of stirrer from the bottom of bioreactor, m
c_{OTR} – brzina prijenosa kisika, mol m ⁻³ h ⁻¹ – oxygen transfer rate, mol m ⁻³ h ⁻¹	h_L – visina kapljevine u bioreaktoru, m – liquid height in bioreactor, m
$c_{OTR,M}$ – maksimalna brzina prijenosa kisika, mol m ⁻³ h ⁻¹ – maximal oxygen transfer rate, mol m ⁻³ h ⁻¹	h_M – razina kapljevine u HRCB-u, m – liquid level in HRCB, m
c_{OUR} – molarna brzina potrošnje kisika, mol m ⁻³ h ⁻¹ – molar oxygen uptake rate, mol m ⁻³ h ⁻¹	H – visina bioreaktora, m – bioreactor height, m
c_r – ravnotežna koncentracija kisika na granici plinovite i kapljevite faze, mol m ⁻³ – equilibrium oxygen concentration on the gas liquid interface, mol m ⁻³	He – Henryeva konstanta, mol m ⁻³ Pa ⁻¹ – Henry constant, mol m ⁻³ Pa ⁻¹
c_S – koncentracija supstrata, mol m ⁻³ – substrate concentration, mol m ⁻³	k_1 – koeficijent brzine linearne kinetike procesa, s ⁻¹ – coefficient of linear kinetic reaction rate, s ⁻¹
C_{CO_2} – molarna brzina formiranja CO ₂ , mol m ⁻³ h ⁻¹ – molar rate of CO ₂ production, mol m ⁻³ h ⁻¹	k_2 – koeficijent brzine linearne kinetike procesa, s ⁻¹ – coefficient of linear kinetic reaction rate, s ⁻¹
d_m – parametar smanjenja intenziteta miješanja – the parameter of the decrease of mixing intensity	k_{Ga} – koeficijent prijenosa kisika izračunat na osnovi parcijalnog tlaka, mol Pa ⁻¹ m ⁻³ s ⁻¹ – oxygen transfer coefficient calculated on the basis of pressure, mol Pa ⁻¹ m ⁻³ s ⁻¹
De – modificirani Deborahov broj – modified Deborah number	k_{La} – obujamni koeficijent brzine prijenosa kisika, h ⁻¹ – volumetric oxygen transfer rate coefficient, h ⁻¹
d_i – promjer miješala, m – impeller diameter, m	k_{OD} – koeficijent održavanja biomase, kg kg ⁻¹ h ⁻¹ – biomass maintenance coefficient, kg kg ⁻¹ h ⁻¹
D_L – koeficijent difuzije, m ² s ⁻¹ – diffusion coefficient, m ² s ⁻¹	K_1 – konstanta – constant
D_{LE} – koeficijent efektivne difuzije, m ² s ⁻¹ – effective diffusion coefficient, m ² s ⁻¹	K_2 – konstanta – constant
D_{O_2} – koeficijent difuzije kisika u kapljevitoj fazi, m ² s ⁻¹ – oxygen diffusion coefficient in liquid phase, m ² s ⁻¹	K_{O_2} – konstanta zasićenja kisikom, kg m ⁻³ – saturation constant for oxygen uptake, kg m ⁻³
D_T – promjer bioreaktora, m – bioreactor diameter, m	K_S – konstanta zasićenja supstratom, kg m ⁻³ – substrate saturation constant, kg m ⁻³
D_{TRF} – referentni promjer bioreaktora, m – referent bioreactor diameter, m	l_S – razmak između diskova u bioreaktoru, m – distance between partition walls in bioreactor, m
D_Z – koeficijent aksijalne disperzije, m ² s ⁻¹ – axial dispersion coefficient, m ² s ⁻¹	m_A – masa aktivne biomase u flokuli, kg – mass of active biomass in a floc, kg
E – potrošnja energije na jedinicu mase, W kg ⁻¹ – energy consumption per unit mass, W kg ⁻¹	m_S – masa supstrata u flokuli, kg – mass of stored substrate in a floc, kg
f_B – faktor trenja na dnu "air-lift" bioreaktora – the friction factor for the bottom of air-lift bioreactor	n – brzina rotacije miješala, s ⁻¹ – impeller rotation speed, s ⁻¹
f_T – faktor trenja na vrhu "air-lift" bioreaktora – the friction coefficient on the top of air-lift bioreactor	n_{FI} – indeks toka – flow index
F – moment mlaza, kg m s ⁻² – jet moment, kg m s ⁻²	N_1 – broj kaskada – cascade number
F_S – bezdimenzijski moment mlaza – dimensionless jet moment	N_A – aeracijski broj – aeration number
Fr_A – Froudeov broj aeracije – Froude aeration number	N_C – broj kaskada u cirkulaciji – the number of cascade in circulation flow
Fr_S – Froudeov broj miješala – Froude impeller number	N_i – broj idealno miješanih odjeljaka unutar kaskade – number of ideally mixed compartments in cascade
g – gravitacijsko ubrzanje, m s ⁻² – gravitational acceleration, m s ⁻²	N_P – broj snage – power number (Newton number)

N_{RE} – Reynoldsov broj mješala – Reynolds impeller number	r_{O_2max} – maksimalna brzina potrošnje kisika, $kg\ kg^{-1}\ h^{-1}$ – maximal oxygen uptake rate, $kg\ kg^{-1}\ h^{-1}$
N_{TR} – broj miješala u bioreaktoru – the number of impellers in bioreactor	r_q – brzina potrošnje supstrata, $kg\ kg^{-1}\ h^{-1}$ – rate of substrate consumption, $kg\ kg^{-1}\ h^{-1}$
p_{O_2} – parcijalni tlak kisika u plinovitoj fazi, Pa – oxygen partial pressure in the gas phase, Pa	r_s – masena brzina potrošnje supstrata, $kg\ m^{-3}\ h^{-1}$ – mass substrate uptake rate, $kg\ m^{-3}\ h^{-1}$
p_R – tlak sustava, Pa – system pressure, Pa	r_{ST} – stvarna brzina reakcije, $mol\ m^{-3}\ s^{-1}$ – real reaction rate, $mol\ m^{-3}\ s^{-1}$
p_t – prosječni tlak u bioreaktoru, Pa – average pressure in bioreactor, Pa	R – radijalna koordinata – radial coordinate
P – snaga, kW – power, kW	Re – Reynoldsov broj – Reynolds number
P/V – ulazna snaga na jedinicu obujma, kWm^{-3} – input power per unit volume, kWm^{-3}	Re_D – Reynoldsov broj aksijalnog strujanja – Reynolds axial flow number
Pe – Pecletov broj – Peclet number	Re_N – Reynoldsov broj rotacije – Reynolds rotation number
P_G – snaga potrebna za miješanje aeriranog medija, kW – mixing power for aerated medium, kW	R_g – opća plinska konstanta, $J\ mol^{-1}K^{-1}$ – general gas constant, $J\ mol^{-1}K^{-1}$
P_P – snaga pumpe, kW – pump power, kW	RQ – respiratorni kvocijent – respiratory quotient
P_T – ukupna ulazna snaga, kW – total input power, kW	s_C – putanja kretanja kapljevine u bioreaktoru, m – liquid circulation path in the bioreactor, m
Q_{AX} – protok kapljevine faze u aksijalnom smjeru, $m^3\ s^{-1}$ – liquid flow rate in axial direction, $m^3\ s^{-1}$	S_C – površina presjeka bioreaktora, m^2 – cross section area of bioreactor, m^2
Q_{CR} – cirkulacijski protok, $m^3\ s^{-1}$ – circulation flow, $m^3\ s^{-1}$	Sc – Schmidtov broj – Schmidt number
Q_D – protočnost pumpe, $m^3\ s^{-1}$ – pump flow rate, $m^3\ s^{-1}$	S_D – površina presjeka silazne sekcije "air-lift" bioreaktora, m^2 – cross section area of downcomer section of air-lift bioreactor, m^2
Q_G – protok zraka, $m^3\ s^{-1}$ – air flow rate, $m^3\ s^{-1}$	S_s – površina presjeka sapnice hidrojektora, m^2 – cross section area of hydrojector's jet, m^2
Q_{IZ} – protok izmjene, $m^3\ s^{-1}$ – exchange flow rate, $m^3\ s^{-1}$	t_{AX} – aksijalno vrijeme cirkulacije, s – axial circulation time, s
Q_L – protok kapljevine faze, $m^3\ s^{-1}$ – liquid flow rate, $m^3\ s^{-1}$	t_c – vrijeme cirkulacije, s – circulation time, s
Q_P – povratni tok, $m^3\ s^{-1}$ – back flow, $m^3\ s^{-1}$	t_{CRAD} – radijalno vrijeme cirkulacije, s – radial circulation time, s
Q_{RAD} – protok kapljevine faze u radijalnom smjeru, $m^3\ s^{-1}$ – liquid flow rate in radial direction, $m^3\ s^{-1}$	t_m – vrijeme miješanja, s – mixing time, s
Q_V – protok, $m^3\ s^{-1}$ – flow rate, $m^3\ s^{-1}$	t_z – vrijeme zadržavanja supstrata ili biomase u cijevnom bioreaktoru, s – residence time of substrate or biomass in tubular bioreactor, s
r_A – brzina kemijske reakcije, $mol\ m^{-3}\ s^{-1}$ – chemical reaction rate, $mol\ m^{-3}\ s^{-1}$	t_z^* – srednje vrijeme zadržavanja, s – mean residence time, s
r_{AX} – brzina formiranja biomase, $kg\ m^{-3}\ h^{-1}$ – rate of biomass formation, $kg\ m^{-3}\ h^{-1}$	T – temperatura, K – temperature, K
r_{CR} – molarna brzina potrošnje supstrata, $mol\ m^{-3}\ s^{-1}$ – molar substrate consumption rate, $mol\ m^{-3}\ s^{-1}$	v_B – najveća brzina podizanja mjehurića zraka u kapljevitom fazi, $m\ s^{-1}$ – maximal rising flux of air bubble in liquid phase, $m\ s^{-1}$
r_{ID} – brzina reakcije (kada je otpor prijenosu mase zanemariv), $mol\ m^{-3}\ s^{-1}$ – reaction rate (when the mass transfer resistance is negligible), $mol\ m^{-3}\ s^{-1}$	v_C – srednja brzina cirkulacije kapljevine, $m\ s^{-1}$ – mean velocity of liquid circulation, $m\ s^{-1}$
r_O – brzina potrošnje kisika, $mol\ m^{-3}\ s^{-1}$ – oxygen consumption rate, $mol\ m^{-3}\ s^{-1}$	

V_L – linearna brzina strujanja kapljevine, $m\ s^{-1}$ – linear velocity of liquid fluence, $m\ s^{-1}$	ε_{AV} – prosječna poroznost fluidiziranog sloja – average porosity of fluidized layer
V_{LM} – maksimalna brzina strujanja kapljevine, $m\ s^{-1}$ – maximal velocity of liquid fluence, $m\ s^{-1}$	ε_L – poroznost medija – medium porosity
V_{LR} – prosječna brzina strujanja kapljevine, $m^3\ m^{-2}\ s^{-1}$ – average flux of liquid flow, $m^3\ m^{-2}\ s^{-1}$	ε_{Nf} – radijalni profil zadržavanja plina u mediju – radial profile of gas hold-up in medium
V_R – brzina strujanja kapljevine u radijalnom smjeru, $m^3\ m^{-2}\ s^{-1}$ – liquid velocity in radial direction, $m^3\ m^{-2}\ s^{-1}$	φ – bezdimenzijski polumjer bioreaktora – dimensionless bioreactor radius
V_S – srednja linearna brzina strujanja zraka, $m\ s^{-1}$ – average linear gas velocity, $m\ s^{-1}$	φ_G – udjel plina u ukupnom obujmu – gas fraction in total volume
V_Z – brzina strujanja kapljevine u aksijalnom smjeru, $m\ s^{-1}$ – liquid flux in axial direction, $m\ s^{-1}$	φ_{gd} – obujamni udjel plinovite faze u silaznom dijelu "air-lift" bioreaktora – gas hold-up in downcomer section of air-lift bioreactor
V – obujam bioreaktora, m^3 – bioreactor volume, m^3	φ_{gr} – obujamni udjel plinovite faze u uzlaznom dijelu "air-lift" bioreaktora – gas hold-up in riser section of air-lift bioreactor
$V_{ID1} - V_{ID3}$ – obujam idealno miješanih kaskada oko miješala, m^3 – the volume of ideally mixed cascade around stirrer, m^3	φ_L – udjel kapljevine u ukupnom obujmu – liquid fraction in total volume
V_L – obujam kapljevine u bioreaktoru, m^3 – liquid volume in bioreactor, m^3	Φ_A – odnos površina presjeka uzlaznog i silaznog dijela "air-lift" bioreaktora – ratio between cross section area of riser and downcomer section of air-lift bioreactor
V_{L+C} – obujam aeriranog medija, m^3 – volume of aerated medium, m^3	Φ_T – Thieleov modul – Thiele module
V_M – obujam idealno miješane kaskade, m^3 – volume of ideally mixed cascade, m^3	η – dinamička viskoznost kapljevine, $kg\ m^{-1}\ s^{-1}$ – liquid dynamic viscosity, $kg\ m^{-1}\ s^{-1}$
Y_G – molni udjel O_2 u plinovitoj fazi, $mol\ mol^{-1}$ – oxygen mole fraction in gas phase, $mol\ mol^{-1}$	η^* – bezdimenzijska viskoznost – dimensionless viscosity
Y_M – maksimalna vrijednost omjera m_S / m_A – maximal value of ratio m_S / m_A	η_C – indeks konzistencije, $Pa\ s^n$ – consistency index, $Pa\ s^n$
Y_{O_2} – stupanj konverzije kisika u biomasu, $kg\ kg^{-1}$ – oxygen to biomass conversion coefficient, $kg\ kg^{-1}$	η_D – stupanj miješanja – mixing degree
Y_{SR} – srednja vrijednost $Y (m_S/m_A)$ u bioreaktoru – average value of $Y (m_S/m_A)$ in bioreactor	η_m – indeks snage – power index
Y_{XS} – stupanj konverzije supstrata u biomasu, $kg\ kg^{-1}$ – substrate to biomass conversion coefficient, $kg\ kg^{-1}$	η_P – djelotvornost pumpe – pump efficiency
z – aksijalna koordinata – axial coordinate	η_{PR} – prividna dinamička viskoznost, $kg\ m^{-1}\ s^{-1}$ – apparent dynamic viscosity, $kg\ m^{-1}\ s^{-1}$
α – odnos površine i obujma flokule (ili peleta), $m^2\ m^{-3}$ – relation between area and volume of floc (or pellet), $m^2\ m^{-3}$	η_V – dinamička viskoznost vode, $kg\ m^{-1}\ s^{-1}$ – water dynamic viscosity, $kg\ m^{-1}\ s^{-1}$
β – omjer plinovite i kapljevine faze u protoku – ratio between gas and liquid phase in flow rate	λ – omjer veličine promjera tankova $[(D_T/D_{TRF}); D_{TRF} = 1\ m]$ – ratio between tank diameters
β^* – red reakcije – reaction order	μ – specifična brzina rasta, h^{-1} – specific growth rate, h^{-1}
γ – bezdimenzijska masena koncentracija supstrata – dimensionless substrate concentration	μ_M – maksimalna specifična brzina rasta, h^{-1} – maximal specific growth rate, h^{-1}
γ_0 – početna bezdimenzijska masena koncentracija supstrata – initial dimensionless substrate mass concentration	ν – kinematička viskoznost, $m^2\ s^{-1}$ – kinematics viscosity, $m^2\ s^{-1}$
γ_S – koncentracija supstrata, $kg\ m^{-3}$ – substrate concentration, $kg\ m^{-3}$	ν_{PR} – prividna kinematička viskoznost, $m^2\ s^{-1}$ – apparent kinematics viscosity, $m^2\ s^{-1}$
γ_{S0} – početna koncentracija supstrata, $kg\ m^{-3}$ – initial substrate concentration, $kg\ m^{-3}$	ρ – gustoća kapljevine, $kg\ m^{-3}$ – liquid density, $kg\ m^{-3}$
γ_X – masena koncentracija biomase, $kg\ m^{-3}$ – biomass concentration, $kg\ m^{-3}$	σ – površinska napetost kapljevine, $N\ m^{-1}$ – liquid surface tension, $N\ m^{-1}$
δ_F – debljina biofilma, m – biofilm thickness, m	σ_τ – varijanca raspodjele vremena zadržavanja – the variance of residence time distribution

Literatura References

1. D. I. C. Wang, R. C. J. Fewkes, *Dev. Ind. Microbiol.* **18** (1977) 39.
2. D. E. Brown, *J. Chem. Tech. Biotechnol.* **32** (1982) 34.
3. N. Blakebrough, *Chem. Eng. Feb.* (1972) 58.
4. T. B. Young, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **326** (1979) 165.
5. N. W. F. Kossen, N. M. G. Oosterhuis, Modelling and scaling-up of bioreactor u H. J. Rehm, G. Reed (uredn.), *Biotechnology*, H. Brauer (Vol. uredn.), *Fundamentals of biochemical engineering Vol. 2*, VCH Verlag, Weinheim, 1985, str. 571 – 605.
6. N. W. F. Kossen, Scale-up in biotechnology, u F. Vardar-Suku and S. Suka Sukan (uredn.), *Recent Advances in Industrial Application of Biotechnology*, Kluwer Academic Publisher, Dordrecht – Boston – London, 1992, str. 147 – 182.
7. B. Atkinson, F. Mavituna, *Industrial microbial processes, Biochemical Engineering and Biotechnology Handbook*, 2nd ed., Stockton press, London, 1991, str. 1111 – 1220.
8. A. Moser, Bioreactor performance: process design methods u A. Moser *Bioprocess Technology Kinetics and Reactors*, Springer Verlag, New York – Wien, 1988, str. 307 – 396.
9. O. Levenspiel, *Chemical Reaction Engineering*, 2nd ed, J. Wiley & Sons, London, 1972.
10. S. J. Khang, O. Levenspiel, *Chem. Eng. Sci.* **31** (1976) 569.
11. A. Moser, Mixing in bioreactors – quantification and modelling u W. Crueger *i sur.* (uredn.), *Physical Aspects of Bioreactor Performance*, Part 2, E. F. B. – *Bioreactor Performance*, Dechema, 1987, poglavlje 4.
12. D. B. Holmes, R. M. Voncken, J. A. Dekker, *Chem. Eng. Sci.* **19** (1964) 201.
13. J. B. Joshi, A. B. Prandit, M. M. Sharma, *Chem Eng. Sci.* **37** (1982) 813.
14. P. Ovaskainen, R. Lundell, P. Laiho, *Process Biochem.* **11** (1976) 37.
15. J. Laine, R. Kuoppamäki, *Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.* **18** (1979) 501.
16. M. Reuss, R. K. Bajpai, Performance of stirred bioreactors in the light of mass and energy distributions” u C. S. Ho and D. I. C. Wang (uredn.), *Biochemical Engineering – Bioreactor Design and Operation*, Butterworth, Stonehan/MA (USA), 1987.
17. J. Bryant, *Adv. Biochem. Eng.* **5** (1977) 101.
18. S. Mukataka, H. Kataoka, J. Takahashi, *J. Ferment. Technol.* **59** (1981) 303.
19. R. K. Bajpai, M. Reuss, *Can. J. Chem. Eng.* **60** (1982) 384.
20. J. Bryant J., S. Sadeghzadeh, Circulation rates in stirred and aerated tanks, 3th European Conf. on Mixing, 4 – 6 April, York (UK), Vol. I, 1979, str. 325 – 336.
21. B. Mayr, P. Horvat, A. Moser, *Bioproc. Eng.* **8** (1992) 137.
22. J. Votruba, M. Sobotka, *Folia Microbiol.* **37** (1992) 331.
23. M. Reuss, R. K. Bajpai, Stirred tank models u H. J. Rehm, G. Reed, A. Pühler, P. Stadler (uredn.), *Biotechnology*, K. Schügerl (Vol. uredn.) *Measuring, modelling and control Vol 4.*, VCH Verlag, Weinheim, 1991, str. 300 – 348.
24. L. K. Ju, G. G. Chase, *Bioproc. Eng.* **8** (1992) 49.
25. J. Y. Oldshue, *Biotechnol. Bioeng.* **8** (1966) 3.
26. J. M. Smith, Dispersion of gasses in liquids, u J. J. Ulbrecht, G. K. Patterson (uredn.), *Mixing of liquids by mechanical agitation*, Gordon & Breach, New York, 1985, str. 139 – 202.
27. M. Cooke, J. C. Middleton, J. Bush, *Proc. 2nd Int. Conf. on Bioreactor Fluid Dynamics*, BHRA published, Cambridge, 1988, str. 37 – 64.
28. S. Ruzskowski, *Proc. 8th European Mixing Conf.*, IChE, Rugby, 1994, str. 283 – 291.
29. A. W. Nienow, *Stirred Tank Bioreactors*, u M. Berovič (uredn.) *Bioprocess Engineering Course*, National Institute of Chemistry, Ljubljana, 1998, str. 235 – 260.
30. Y. Q. Cui, R. G. J. M. Van der Lans, H. J. Noorman, K. Ch. A. M. Luyben, *Trans IChemE* **74** (1996) 261.
31. A. W. Nienow, Scale-up, Scale-down of Stirred Bioreactors, u M. Berovič (uredn.) *Bioprocess Engineering Course*, National Institute of Chemistry, Ljubljana, 1998, str. 313 – 332.
32. R. Grenville, S. Ruzskowski, E. Garred, Blending of miscible liquids in turbulent and transitional regimes, *N. Am. Mixing Conf.*, Banff (Canada), 1995.
33. R. M. Voncken, D. B. Holmes, H. W. Hartog, *Chem. Eng. Sci.* **19** (1964) 209.
34. A. B. Prandit, J. B. Joshi, *Chem. Eng. Sci.* **38** (1983) 1189.
35. M. Reuss, *Chem. Eng. Technol.* **11** (1988) 178.
36. S. Mukataka, H. Kataoka, J. Takahashi, *J. Ferment. Technol.* **58** (1980) 155.
37. M. Reuss, Oxygen transfer and mixing: scale – up implications u H.J. Rehm, G. Reed, A. Pühler, P. Stadler, *Biotechnology*, G. Stephanopoulos (Vol. uredn.) *Bioprocessing Vol 3.*, VCH Verlag, Weinheim, 1993, str. 185 – 217.
38. A. Einsele, *Process Biochem.* **13** (1978) 13.
39. A. W. Nienow, *Appl. Mech. Rev.* **51** (1998) 3.
40. A. W. Nienow, *Trends Biotechnol.* **8** (1990) 224.
41. A. P. J. Sweere, J. R. Mesters, K. Ch. A. M. Luyben, N. W. F. Kossen, Regime analysis of the bakers yeast production, *Bioreactor Fluid Dynamics*, BHRA – published, Cambridge, 1986, str. 217 – 230.
42. P. M. Doran, *Reactor engineering u P. M. Doran Bioprocess Engineering Principles*, Academic Press, London, 1998, str. 333 – 391.
43. J. C. Middleton, Gas – liquid dispersion and mixing, u N. Harnby, M. F. Edwards, A. W. Nienow (uredn.), *Mixing in the Process Industries*, Butterworth, London, 1985, str. 322 – 355.
44. D. I. C. Wang, C. L. Cooney, A. L. Demain, P. Dunnill, A. E. Humphrey, M. D. Lilly, *Aeration and Agitation u Fermentation and Enzyme Technology*, J. Wiley & Sons, New York, 1979, str. 157 – 211.
45. C. L. Cooney, *Science* **219** (1983) 728.
46. D. W. Hubbard, Scale -up strategies for bioreactors u C. S. Ho, J. Y. Oldshue (uredn.), *Biotechnology Processes, Scale-up and Mixing*, AIChE, New York, 1987, str. 168 – 184.
47. J. Y. Oldshue, *Biotechnol. Bioeng.* **8** (1966) 3.
48. L. K. Ju, G. G. Chase, *Bioproc. Eng.* **8** (1992) 49.
49. H. Judat, *Chem. Ing. Tech.* **54** (1982) 520.
50. K. vant Riet, *Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.* **18** (1979) 367.
51. T. Koloini, A. Pavko, E. Žiberna, *Vestn. Slov. Kem. Drus.* **32** (1989) 167.
52. A. Humphrey, *Biotechnol. Prog.* **14** (1998) 3.
53. K. vant Riet, J. Tramper, *Basic Bioreactor Design*, Marcel Dekker Inc., New York – Basel – Hong Kong, 1991.
54. M. Reuss, Oxygen transfer and mixing: scale -up implications u H. J. Rehm, G. Reed, A. Pühler, P. Stadler, *Biotechnology*, G. Stephanopoulos (Vol. uredn.) *Bioprocessing Vol 3.*, VCH Verlag, Weinheim, 1993, str. 185 – 217.
55. H. J. Henzler, *Chem. Ing. Tech.* **54** (1982) 461.
56. M. Reuss, D. Debus, G. Zoll, *Chem. Eng.* **381** (1982) 233.
57. M. Reuss, S. Fröhlich, B. Kramer, K. Messerschmidt, G. Pommerening, *Bioproc. Eng.* **1** (1986) 79.
58. V. Linek, V. Vacek, *Chem. Eng. Sci.* **36** (1981) 1747.

59. V. Linek, V. Vacek, *Chem. Eng. Sci.* **37** (1982) 1425.
60. V. Linek, P. Benes, V. Vacek, F. Hovorka, *Chem. Eng. J.* **25** (1988) 77.
61. D. Y. Ryu, A. E. Humphrey, *J. Ferment. Technol.* **50** (1972) 424.
62. A. D. Hickman, A. W. Nienow, Mass transfer and gas hold up in an agitated simulated fermentation broth as a function of viscosity u *Bioreactor Fluid Dynamics*, BHRA – published, Cambridge, 15 – 17 April, 1986, str. 301 – 316.
63. A. B. Metzner, R. E. Otto, *AIChE J.* **3** (1957) 3.
64. V. R. Ranade, J. J. Ulbrecht, *AIChE J.* **24** (1978) 796.
65. H. Höcker, G. Langer, U. Werner, *Chem. Ing. Tech.* **52** (1980) 752.
66. R. Jurecic, M. Berovic, W. Steiner, T. Koloinj, *Can. J. Chem. Eng.* **62** (1984) 334.
67. R. A. Mashelkar, *AIChE J.* **19** (1973) 382.
68. Y. Kawase, M. Moo-Young, *Chem. Eng. Res. Des., Trans. Inst. Chem. Eng.* **66** (1988) 284.
69. H. Herbst, A. Schumpe, W. D. Deckwer, *Chem. Eng. Technol.* **15** (1992) 425.
70. S. Nagata, *Mixing: Principles and Applications*, Halsted Press, New York, 1975, str. 59 – 62.
71. J. Y. Oldshue, *Fluid Mixing Technology*, McGraw-Hill, New York, 1983, str. 64 – 68.
72. M. Charles, J. Wilson, Design of aseptic, aerated fermentors u *H. J. Rehm, G. Reed, A. Pühler, P. Stadler*, *Biotechnology, G. Stephanopoulos* (Vol. uredn.) *Bioprocessing Vol 3.*, VCH Verlag, Weinheim, 1993, str. 401 – 426.
73. Z. Yang, V. Rustemeyer, R. Buchholz, U. Onken, *Chem. Eng. Commun.* **49** (1986) 51.
74. N. N. Clark, C. M. Atkinson, R. L. C. Flemmer, *AIChE J.* **33** (1987) 515.
75. M. Y. Chisti, B. Harald, M. Moo-Young, *Chem. Eng. Sci.* **43** (1988) 451.
76. H. Kubota, Y. Hosono, K. Fujie, *J. Chem. Eng. Jpn.* **11** (1978) 319.
77. J. C. Merchuk, Y. Stein, *AIChE J.* **27** (1981) 377.
78. J. C. Merchuk, Y. Stein, *Biotechnol. Bioeng.* **22** (1981) 1309.
79. P. Verlaan, J. Tramper, K. van't Reit, K. C. A. M. Luyben, *Chem. Eng. J.* **33** (1986) B43.
80. M. Y. Chisti, M. Moo-Young, *J. Chem. Tech. Biotechnol.* **42** (1988) 211.
81. Y. Ohki, H. Inoe, *Chem. Eng. Sci.* **25** (1970) 1.
82. Y. Murakami, T. Hirose, S. Ono, T. Nishijima, *J. Chem. Eng. Jpn.* **15** (1982) 121.
83. H. J. Warnecke, J. Pruss, H. Langemann, *Chem. Eng. Sci.* **40** (1985) 2321.
84. J. C. Merchurk, Tower reactor models u *H. J. Rehm, G. Reed, A. Pühler, P. Stadler* (uredn.), *Biotechnology, K. Schügerl* (Vol. uredn.) *Measuring, modelling and control Vol 4.*, VCH Verlag, Weinheim, 1991, str. 350 – 382.
85. A. Orfanotiis, M. Lalane, N. Doubrovine, C. Fonade, B. Mayr, A. Moser, *Bioproc. Eng.* **14** (1996) 211.
86. T. G. Byun, A. P. Zeng, W. D. Deckwer, *Bioproc. Eng.* **11** (1994) 167.
87. A. P. Zeng, T. G. Byun, C. Posten, W. D. Deckwer, *Biotechnol. Bioeng.* **44** (1994) 1107.
88. G. F. Andrews, Aerobic wastewater process models u *H. J. Rehm, G. Reed, A. Pühler, P. Stadler* (uredn.), *Biotechnology, K. Schügerl* (Vol. uredn.) *Measuring, modelling and control Vol 4.*, VCH Verlag, Weinheim, 1991, str. 409 – 437.
89. G. F. Andrews, *Biotechnol. Bioeng.* **24** (1982) 2013.
90. J. Nielsen, J. Villadsen, *Bioreactors: description and modelling u H. J. Rehm, G. Reed, A. Pühler, P. Stadler*, *Biotechnology, G. Stephanopoulos* (Vol. uredn.) *Bioprocessing Vol 3.*, VCH Verlag, Weinheim, 1993, str. 79 – 104.
91. B. E. Rittmann, *Biotechnol. Bioeng.* **24** (1982) 501.
92. B. E. Rittmann, *Biotechnol. Bioeng.* **24** (1982) 1341.
93. P. Žnidaršič, A. Pavko, *Food technol. biotechnol.* **39** (2001) 237.
94. K. Schügerl, *Bioproc. Eng.* **9** (1993) 215.
95. C. G. Sinclair, D. E. Brown D. E., *Biotechnol. Bioeng.* **12** (1970) 1001.
96. N. M. G. Oosterhuis, N. W. F. Kossen, *Biotechnol. Bioeng.* **26** (1984) 546.
97. F. G. Bader, *Biotechnol. Bioeng.* **30** (1987) 37.
98. V. Singh, W. Hensler, R. Fuchs, A. Constantinides, On – line determination of mixing parameters and fermentors using pH – transients u *Bioreactor Fluid Dynamics*, BHRA – published, Cambridge, 15 – 17 April, 1986, str. 231 – 256.
99. V. Singh, R. Fuchs, A. Constantinides, A new method for fermentor scale-up incorporating both mixing and mass transfer effects – I. Theoretical basis u *C. S. Ho, J. Y. Oldshue* (uredn.), *Biotechnology Processes, Scale-up and Mixing*, AIChE, New York, 1987, str. 200 – 214.
100. B. Mayr, P. Horvat, E. Nagy, A. Moser, *Bioproc. Eng.* **9** (1993) 1.
101. B. Mayr, E. Nagy, P. Horvat, A. Moser, *Chem. Biochem. Eng. Q.* **7** (1993) 31.
102. B. Mayr, E. Nagy, P. Horvat, A. Moser, *Biotechnol. Bioeng.* **43** (1994) 195.
103. E. Nagy, B. Neubeck, B. Mayr, A. Moser, *Bioproc. Eng.* **12** (1995) 231.
104. J. E. Bailey, D. F. Ollis, *Biochemical Engineering Fundamentals*, 2nd ed, McGraw Hill, New York, 1986.
105. A. Moser, Imprefectly mixed bioreactor systems u *M. Moo-Young* (uredn.) *Comprehensive Biotechnology*, Vol. 2, Pergamon Press, Oxford, 1985, str. 77 – 98.
106. H. Ziegler, D. Meister, I. J. Dunn, H. W. Blanch, T. W. F. Russell, *Biotechnol. Bioeng.* **19** (1977) 507.
107. A. Moser, *Chem Ing. Tech.* **45** (1973) 1313.
108. B. Šantek, P. Horvat, S. Novak, B. Mayr, A. Moser, V. Marić, *Bioproc. Eng.* **14** (1996) 195.
109. B. Šantek, P. Horvat, S. Novak, B. Mayr, A. Moser, V. Marić, *Bioproc. Eng.* **14** (1996) 223.
110. A. Moser, *Chem. Ing. Tech.* **49** (1977) 612.
111. Y. S. Park, H. Ohtake, K. Toda, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **33** (1990) 259.
112. J. A. Borchardt, *Biotechnol. Bioeng. Symp.* **2** (1971) 131.
113. B. Šantek, P. Horvat, S. Novak, A. Moser, V. Marić, *Bioproc. Eng.* **18** (1998) 467.
114. B. Šantek, P. Horvat, S. Novak, A. Moser, V. Marić, *Bioproc. Eng.* **19** (1998) 19.
115. B. Šantek, P. Horvat, S. Novak, A. Moser, V. Marić, *Bioproc. Eng.* **19** (1998) 91.

SUMMARY

Scale-up Criteria of Bioreactor

B. Šantek, S. Novak, P. Horvat, and V. Marić

Differences between transport and kinetics phenomena in different bioreactor volumes are related to the bioreactor scale-up problems. These phenomena, together with differences between great number of specific bioprocesses, are the main reasons for the fact that a general scale-up procedure is not established. In this work, the scale-up problems of bioreactor with pseudohomogeneous bioprocess (homogeneous distribution of microorganisms and suspended particles in medium) were considered. The criteria for the scale-up of bioreactor with pseudohomogeneous bioprocesses and their relations to the system and bioprocess parameters were studied. The most often used criteria for the scale-up of bioreactor with pseudohomogeneous bioprocesses are: geometrical similarity, mixing or circulation time, residence or circulation time distribution, specific power input, Reynolds rotation number or stirrer tip speed. Relations between these criteria and bioreactor process parameters for different experimental conditions and bioreactor constructions were presented and considered. Characteristic times of different processes during yeast biomass production were presented as examples to illustrate their range in industrial bioreactor (Table 1) and to show which process parameters could have significant influence on the scale-up of bioreactor. Industrial bioprocesses are mainly characterised by heterogeneous distribution of system components. Mass, heat or momentum balances have to be established for description of the system heterogeneity. Aerobic bioprocesses are the most numerous group of heterogeneous bioprocesses. The most often used criterion in the bioreactor scale-up procedure with aerobic bioprocesses, which are conducted in stirred tank bioreactor (Fig. 1), is volumetric oxygen transfer rate coefficient ($k_L a$). Its relations to different bioprocess and system parameters were studied in details. In this work, criteria for the scale-up of bioreactors where mixing is performed by air (Fig. 2) or pump (Fig. 3) were also considered. Besides the geometrical and hydrodynamic similarity for successful bioreactor scale-up it is necessary to obtain the physiological similarity of the bioprocess in laboratory and industrial scale. Therefore, the bioprocesses with flocs, pellets and microbial biofilm were also studied. For these bioprocesses, mathematical relations between bioprocess and system parameters were also presented. For mathematical description of phenomena in heterogeneous systems structured models are most often used. These models are characterised by mass or heat balances which are most often established according to the physical mixing models with ideally mixed compartments – cascades (Fig. 4). Mass or heat balance equations usually define relations between bioprocess and system parameters. Obtained mathematical models are very often used with other criteria in the scale-up of bioreactor with heterogeneous systems.

*Department of Biochemical Engineering,
Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb,
Pierottijeva 6/IV, 10000 Zagreb, Croatia*

*Received April 25, 2002
Accepted December 23, 2002*