

# Nanomedicinsko inženjerstvo

---

Handout 8 – 2011/2012

## 1. Bioreaktori

Široka oblast primene i razlike u karakteristikama tehnološkog procesa uslovlili su različita konstrukciona i tehnološka rešenja bioreaktora. Prema tome, postoji veliki broj različitih podela bioreaktora.

Bioreaktor se uopšteno definiše kao uređaj koji je u stanju da stvori odgovarajuće okruženje za stvaranje određenih bioloških proizvoda. Stoga, bioreaktor je opisan kao stimulator, uređaj u kojem se mogu proizvesti biološki, kao i biohemijski procesi. Bioreaktor mora da efikasno transportuje hranljive materije i kiseonik za izgradnju i održavanje odgovarajuće koncentracije u rastvoru.

Pri konstruisanju bioreaktora potrebno je uzeti u obzir sledeće faktore:

- mikrobiološke i biohemijske karakteristike ćelijskih sistema;
- hidrodinamičke karakteristike bioreaktora;
- karakteristike prenosa toplote i materije u bioreaktoru;
- kinetiku rasta ćelija i dobijanje produkta;
- genetsku stabilnost ćelijskog sistema;
- aseptičnost postrojenja;
- kontrolu procesa u bioreaktoru;
- mogućnost prečišćavanja proizvoda;
- investicione i eksploatacione troškove bioreaktora i
- mogućnost za primenu modela za povećanje dimenzija bioreaktora.

Osnovna podela bioreaktora (po načinu vođenja tehnološkog procesa) je na diskontinualne (šaržne), polukontinualne i kontinualne.

S obzirom na način mešanja biomase i supstrata u bioreaktoru, može se izvršiti podela na: bioreaktore sa mehaničkim mešanjem, bioreaktore sa protočnom pumpom i bioreaktore sa uduvavanjem gasa (vazduha).

U prvom sistemu, mešanje se ostvaruje: rotaciono, duž ose fermentora (propelerima, lopaticama itd.), sa pogonom iznad ili ispod reaktora, vibracijama, pomoću rotirajućih horizontalnih ili vertikalnih diskova, itd.

U bioreaktorima sa protočnom pumpom, mešanje se odvija cirkulisanjem medijuma (fermentacione tečnosti) kroz bioreaktor. Pumpa mora ispunjavati sledeće osnovne zahteve: da je potisna, da se može lako sterilisati i da se lako razdvaja pena od medijuma.

Bioreaktori sa uduvavanjem gasa predstavljaju dinamičke aeratore. Princip njihovog rada sastoji se u tome da pomoću mlaznica uvodi gas u medijum. Time se postiže ravnomerna raspodela mehura gasa u supstratu, dobro mešanje i velika kontaktna površina.

# Nanomedicinsko inženjerstvo

---

Oblik i veličina ćelija imaju veoma značajan uticaj na tip i rad bioreaktora. Sferične ćelije (bakterije, gljivice) su obično manje i u odnosu na končaste mikroorganizme manje osetljive na postupke mešanja, pošto zahtevaju veći stepen disperzije vazduha. Male dimenzije ćelija osiguravaju visoki odnos površine prema zapremini, kao i veliku brzinu potrošnje supstrata, što sve utiče na brži rast ćelija.

U fermentacionim procesima enzim ima funkciju katalizatora (ubrzava biološku reakciju, bez promene energije aktivacije). Enzim može biti slobodan i imobilisan. Imobilisan enzim može biti smešten na površini, ili u unutrašnjosti kapljice nosećeg materijala.

Imobilisani enzimi često imaju veću termičku stabilnost u odnosu na slobodne enzime. Zbog toga se procesi sa imobilisanim enzimima mogu voditi pri višim temperaturama u odnosu na temperature u fermentacionim procesima sa slobodnim enzimima. Više temperature su povoljnije, jer se povećavaju brzina reakcije i kapacitet reaktora i uništava se većina zagađujućih organizama. Sterilisani hranljivi rastvori i mere sterilizacije reaktora mogu u dovoljnoj meri obezbediti uslove zaštite od zagađujućih komponenata. Češće se antiseptici dodaju hranljivim sredinama pre stupanja u reaktorski prostor. Reaktorski prostor i prateća oprema se povremeno podvrgavaju postupcima sterilizacije.

Izbor materijala bioreaktora uslovljen je zahtevima koji obuhvataju: otpornost na dejstvo vode, vodene pare, organskih i neorganskih kiselina, temperature od  $-50$  do  $+150^{\circ}\text{C}$  i sve vrste korozija. Materijali koji imaju potrebne karakteristike prema navedenim zahtevima su hrom-nikl čelici Č 4572 (prokron 11 spec.) i Č 4574 (pro-kron 12 spec). Ovi materijali imaju najširu primenu u izradi svih tipova bioreaktora u prehrambenoj, farmaceutskoj i hemijskoj industriji.

Bakarni i mesingani materijali se ne smeju ugrađivati u reaktorski prostor bioreaktora, jer veoma loše utiču na mnoge biološke procese. Ustanovljeno je da se efikasnost proizvodnje penicilina smanjuje za više od 50% pri korišćenju ventila od bronz.

## 1.1. OSNOVNI TIPOVI BIOREAKTORA

U bioreaktoru se odigrava veliki broj izrazito nekatalitičkih reakcija. Svaka faza procesa zavisi od tipa i vrste mikroorganizama, karakteristika supstrata i niza drugih uslova. Zbog toga postoji veliki broj različitih podela bioreaktora, a u okviru svake grupe veliki broj različitih tipova.

Veličine koje se odnose na bioreaktore su:

- $P_v$ ,  $\text{kW/m}^3$ , specifična snaga mešanja (odnos potrebne snage koja se utroši na mešanje i zapremine supstrata u bioreaktoru);
- $\dot{J}_{O_2}$ ,  $\text{g/(l\cdot h)}$ , fluks kiseonika koji se transportuje iz gasne faze u supstrat;

# Nanomedicinsko inženjerstvo

---

- $\tau$ , s, vreme kontakta tečne faze i gasa (vazduha);
- $\Psi$ , % ,  $\text{m}^3/\text{m}^3$ , zapreminski udeo vazduha (gasa) u supstratu;
- $V$ ,  $\text{m}^3$ , zapremina bioreaktora.

Dosadašnja teorijska i eksperimentalna istraživanja pokazuju da nije uvek moguće za različite mikroorganizme i za različite biotehnoške procese (po tipu reakcije) koristiti univerzalni reaktor. Svaki proces je interakcija karakteristika mikroorganizama i hranljive sredine i zahteva sopstveno rešenje reaktorskog prostora.

Pri izboru tipa bioreaktora za određeni proces potrebno je voditi računa o sledećem:

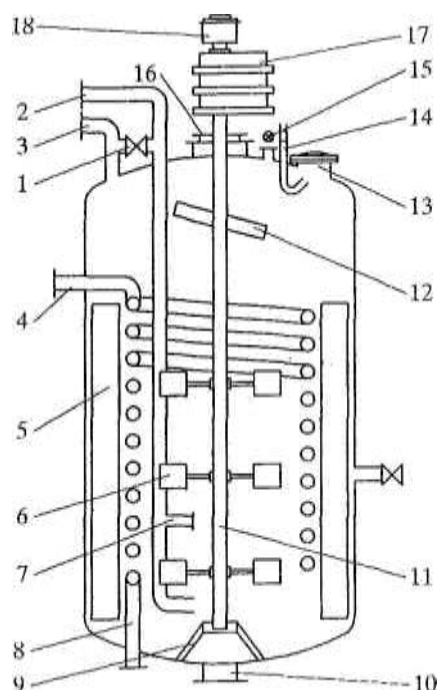
- ne sme postojati direktna povezanost sterilisanog i nesterilisanog dela sistema;
- razdvojive veze (prirubnice, spojnice) u bioreaktoru i u pratećoj opremi smanjiti na najmanju moguću meru;
- koristiti što je više moguće zavarene spojeve;
- eliminirati ili maksimalno smanjiti uticaj vibracija u sistemu; toplotne dilatacije (pri toplotnoj sterilizaciji) i vibracije mogu na razdvojivim vezama stvoriti izvore kontaminacije (zagađenja) hranljive sredine;
- delovi postrojenja moraju biti izvedeni tako da se mogu nezavisno sterilisati;
- za vreme odvijanja procesa fermentacije sve posude koje rade u sterilnim uslovima moraju biti pod natpritiskom;
- pri građenju više bioreaktora unutar postrojenja, rastojanje između jedinica bi trebalo da bude što manje, jer su kraći cevovodi i manja je mogućnost kontaminacije; bioreaktori se najčešće raspoređuju paralelno, u temenima pravilnog mnogougla.

## 1.1.1. Šaržni bioreaktori

U industriji su najčešće u primeni šaržni bioreaktori (fermentori) sa mehaničkim mešanjem. Ova konstrukcija se intenzivno koristi poslednjih 40 godina za komercijalne procese i zahvaljujući fleksibilnosti i jednostavnosti rada ima različite primene (slika 1.1).

Šaržni bioreaktori prema načinu snabdevanja ulaznim materijama dele se u dve grupe: bioreaktori u kojima se vrši prethodno doziranje svih komponenata potrebnih za proces i oni u kojima se u toku rada vrši dodavanje drugih hranljivih materija. Prednost sistema sa doziranjem u toku rada je mogućnost variranja kapaciteta i boljeg vođenja i kontrole procesa (jer su komponente koje se naknadno doziraju promenljive veličine u procesu). Neke konstrukcije šaržnih bioreaktora sa doziranjem komponenata u toku rada imaju najširu primenu u industriji.

## Nanomedicinsko inženjerstvo



Slika 1.1. Konvencionalni šaržni bioreaktor: 1 — ventil na obilaznom vodu; 2 — ulaz vazduha; 3 — izlaz vazduha; 4 — izlaz vode za hladjenje; 5 — pregrada — razbijač mlaza; 6 — mešalica; 7 — mlaznica; 8 — ulaz vode za hladjenje; 9 — ležaj vratila i oslonac; 10 — otvor za ispuštanje; 11 — vratilo; 12 — zaštitnik protiv pene; 13 — otvor za reviziju; 14 — providna staklena cev sa podeocima; 15 — providno staklo sa osvetljenjem; 16 — poklopac vratila; 17 — reduktor; 18 — pogonski motor.

Proces u šaržnim bioreaktorima obuhvata: inokulaciju (zasejavanje) sterilnog supstrata, proizvodnju do formiranja željenog proizvoda (međuproizvoda) metabolizma mikroorganizama ili samo biomase mikroorganizama. Proces je karakterističan za visokovredne proizvode (antibiotike, vitamine itd.), koji se proizvode u reaktorima relativno manjih zapremina. Uređaj za mešanje u šaržnom bioreaktoru mora biti tako konstruisan da bude obezbeđena promenljiva brzina obrtanja odnosno promenljiv kapacitet transporta kiseonika. Osnovna prednost šaržnih bioreaktora u odnosu na bioreaktore sa kontinualnim radom odnosi se na tehniku obezbeđenja i održavanja aseptičnih uslova u radnom prostoru. Pre svakog puštanja u rad vrši se sterilizacija radnog prostora. Aseptični uslovi se održavaju u toku procesa u periodu od jedan do dva dana (proces sa bakterijama), ili pet do sedam dana (proces sa gljivicama). U kontinualnim bioreaktorima moraju se održavati aseptični uslovi u sistemu u dužem vremenskom intervalu (za period rada od najmanje nekoliko meseci).

Po dimenzijama i nameni šaržni bioreaktori se dele na: laboratorijske (zapremine do 100 l), poluindustrijske (zapremine do 1 m<sup>3</sup>) i industrijske (zapremine 100 m<sup>3</sup> i više). Odnos između radne visine bioreaktora (tj. visine do koje se vrši punjenje suda) i unutrašnjeg prečnika se kreće u granicama 2—3, pri čemu ne treba ići na visine iznad 3—5 m. U takvim slučajevima u aparat se postavlja više mešalica, radi redistribucije vazduha u gornjim zonama bioreaktora.

# Nanomedicinsko inženjerstvo

---

Glavni nedostaci šaržnih bioreaktora su visoki proizvodni troškovi i relativno niža produktivnost, zbog limitirajuće koncentracije ćelija u supstratu (pre svega zbog ograničenja u rastu biomase, odnosno inhibitorских efekata koje u sistemu prouzrokuje rastuća masa osnovnog produkta i proizvoda metabolizma). Zapreminski udeo mikroorganizama u ovakvim sistemima je ograničen na 5 do 10% (a u nekim slučajevima i manje od jednog procenta), što zavisi od vrste mikroorganizama koji se koriste u procesu.

## 1.1.2. Kontinualni bioreaktori

Razvoj biotehnologija uslovio je i niz tehnoloških i konstrukcionih rešenja kontinualnih bioreaktora. U primeni su bioreaktori: sa mešalicom, sa mešalicom i unutrašnjim cilindrom, sa barbotaznom cevi, sa komorama za mešanje, u obliku cevne zmijske, sa uduvavanjem i unutrašnjim cilindrom, sa pneumatskim kretanjem tečnosti, barbotazne kolone, sa sitastim podovima, sa mlaznicama, sa cirkulacionim diznama, sa rotirajućim perajima, sa uronjenom cevi, membranski, rotirajući, sa ispunom, sa padajućim tečnim filmom i dr.

Koncentracija mikroorganizama u kontinualnim bioreaktorima je niža u odnosu na šaržne, ali zbog dužine rada i kontinualnog načina rada njihova produktivnost je veća.

Kod kontinualnih bioreaktora, hranljiva podloga stalno, ili u kratkim vremenskim intervalima, ulazi u bioreaktor, uz stalno ili povremeno odvajanje dela supstrata sa željenim proizvodom. U ovakvim procesima je relativno teško održati sterilne uslove u dužem vremenskom intervalu.

Prema jednoj od podela definisane su tri osnovne grupe kontinualnih bioreaktora:

- a) hemostati,
- b) bioreaktori u obliku tornja i
- c) kaskadni bioreaktori sa ispunom.

### a) *Hemostati*

Ovaj tip bioreaktora je prerađena verzija šaržnog bioreaktora sa doziranjem pojedinih komponenata u toku rada. Količina proizvoda koja se kontinualno odvodi iz bioreaktora usklađena je sa količinom materija koje se dovode u reaktor, tako da se održava stalna zapremina šarže. Ovaj tip bioreaktora se često koristi u laboratorijama za ispitivanje efekata procesa kontinualne fermentacije.

Za hemostatski način kontrole i održavanja ustaljenog stanja, hranljiva podloga je tako sastavljena da su svi hranljivi sastojci, osim jednog bitnog (tzv. graničnog supstrata), u višku, računajući na prinos biomase prosečnog (ili željenog) sastava. Taj hranljivi sastojak ograničava rast i time kontroliše koncentraciju ćelija u kulturi. Pojam *hemostat* označava

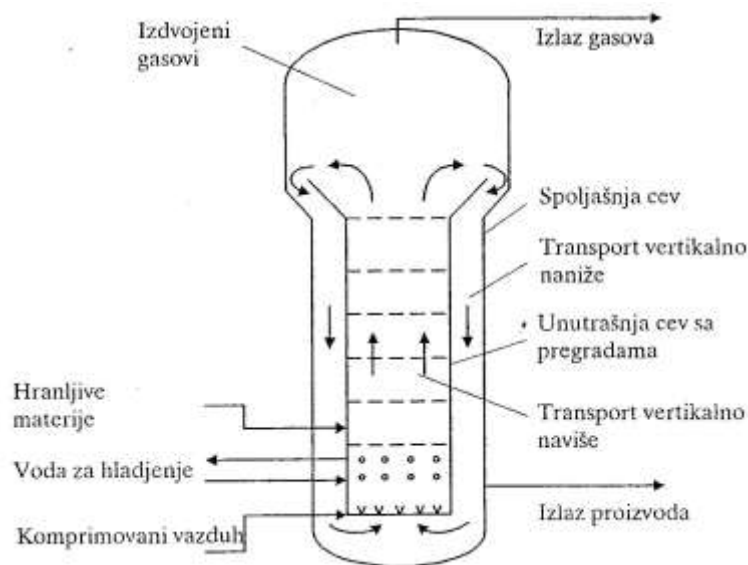
# Nanomedicinsko inženjerstvo

stalnost hemijskih svojstava hranljive podloge u ustaljenom stanju. Kao ograničavajući faktor rasta može se iskoristiti bilo koji sastojak hranljive podloge (iako se najčešće koristi izvor ugljenika).

Osnovni nedostatak hemostata je gubitak netransformisanih polaznih komponenata koje se delom odvođe sa izlaznim materijama iz procesa.

## b) Bioreaktori u obliku tornja

Odnos visine i prečnika ovog tipa konstrukcije bioreaktora veći je od 6 : 1. Najveće dimenzije (visinu 100 m i prečnik 10 m) ima bioreaktor izgrađen u Billinghamu (Engleska), a koristi se za proizvodnju jednoćelijskih proteina od ugljovodonika. Koriste se u tehnološkim procesima u proizvodnji različitih proizvoda (npr. piva, sirćetne kiseline, limunske kiseline i dr.). Veća efikasnost procesa u ovim reaktorima postiže se recirkulacijom mešavine tečne i gasovite faze. Proces se naziva još i fermentacija "er—lift" ("air lift"), a reaktori bioreaktori "er-lift". Najširu primenu ima bioreaktor "er—lift" šematski prikazan na slici 1.2.



Slika 1.2. Bioreaktor "er-lift".

U dvocevnom bioreaktoru "er—lift" ne koristi se mehanička mešalica, već se pomoću vazdušne struje obezbeđuje mešanje. Vazdušna struja koja se uvodi kroz mlaznice na dnu unutrašnje cevi, dovodi do smanjenja prividne gustine tečnosti u unutrašnjoj cevi. Mešavina se transportuje vertikalno naviše do gornjeg dela reaktora, gde se odvajaju izlazni gasovi ( $\text{CO}_2$ , višak vazduha i dr.), a tečna faza se vraća na dno kroz prostor između spoljne i unutrašnje cevi.

Prednosti bioreaktora "er-lift" su jednostavnost konstrukcije, smanjenje opasnosti od kontaminacije (jer se ne koristi mehanička mešalica) i sistem stalne cirkulacije.

# Nanomedicinsko inženjerstvo

---

Nedostaci bioreaktora "er-lift" su promene uslova kojima su izložene ćelije u sistemu cirkulacije i hidraulički sistem rada koji onemogućava održavanje konstantnih vrednosti koncentracije komponenata u procesu (ugljenika, kiseonika i hranljivih materija) po celoj zapremini bioreaktora. Snabdevanje vazduhom je poseban problem, jer je potrebno usaglasiti minimalno potrebnu količinu vazduha (kiseonika) za proces metabolizma sa količinom vazduha potrebnim za transport šarže.

## *c) Kaskadni bioreaktori sa ispunom*

Kaskadni bioreaktori imaju pregrade sa ispunom od inertnog materijala (najčešće kuglica od keramike, stakla i drugih materijala). Mikroorganizmi su imobilisani u sloju ispune koja je propustljiva za druge materije koje se dovode u reaktor i proizvode koji se odvođe. Ovo je posebno pogodno za tehnologije kojima se dobijaju ekstracelularni proizvodi.

Teškoće sa funkcionisanjem ovih bioreaktora su vezane za imobilizaciju mikroorganizama. Drugi problem je što se zbog ograničenog životnog veka mikroorgani-zama proizvodnja u reaktoru posle određenog vremena smanjuje. Jedan od postupaka za rešavanje ovog problema je povremena promena uslova procesa radi stvaranja određene količine novih ćelija. Usavršavanje procesa i konstrukcije bioreaktora sa imobilizacijom ćelija predmet je daljih istraživanja.

Razvoj biotehnološkog procesa do komercijalne primene obično se izvodi u tri stupnja (definisanje procesa u laboratorijskim uslovima u reaktoru malih zapremina, poluindustrijsko postrojenje i industrijsko postrojenje), pri čemu je osnovni problem u održavanju optimalnih uslova rasta mikroorganizama i proizvodnje odgovarajućih proizvoda metabolizma pri promeni dimenzija radnog prostora (odnosno kapaciteta postrojenja).

## 1.2. BIOREAKTORI SA MEHANIČKIM MEŠANJEM

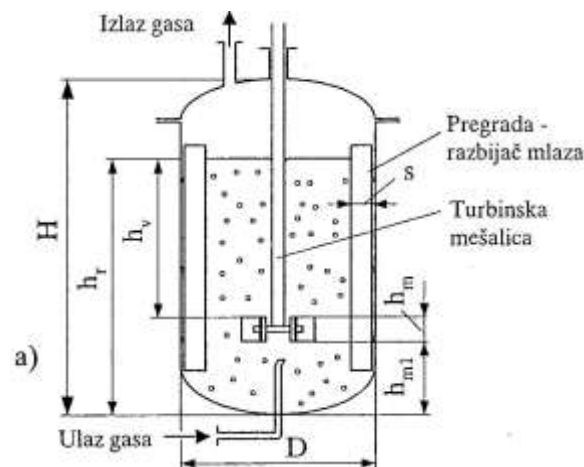
Reaktori sa mešalicama predstavljaju još uvek najšire primenjivan tip bioreaktora u fermentacionim tehnologijama. Reaktor je cilindričnog oblika, obično sa odnosom visine i prečnika suda 3:1.

Podešenost kompleksne prirode fermentacione tečnosti, brzine, temperature, koncentracije komponenata, lokalne i opšte mikrobne reakcije, koncentracije gasovitih komponenata, dinamika zagrevanja i hlađenja reakcione mešavine, još uvek ne mogu biti opisani fizičko-hemijskim zakonima. Zbog toga se tehnički problemi rešavaju primenom empirijskih jednačina, uz tumačenje naučnim principima, koliko je to moguće. Najvažnije svojstvo fermentacione tečnosti je viskoznost. Vodeni rastvor se može smatrati tečnošću niske viskoznosti, dok su guste suspenzije tečnosti sa visokom viskoznošću. Viskoznost i druga svojstva tečnosti mogu biti zavisne od vremena (vremenskog intervala odvijanja procesa

# Nanomedicinsko inženjerstvo

fermentacije). Od lokalne viskoznosti zavisi veličina mehura, što je značajno za transport materije između tečne i gasovite faze. Ovo lokalno svojstvo tečnosti je nepoznato, zbog trodimenzionalnog strujanja tečnosti u bioreaktoru. Zbog toga se vreme zadržavanja gasa u sloju tečnosti opisuje jedino empirijskim jednačinama.

Šema bioreaktora sa mešalicama prikazana je na slici 1.3. Rotacione mešalice su postavljene na centralnom vertikalnom vratilu. Gas se uvodi sa donje strane posude.



Slika 1.3. Šema bioreaktora sa mešalicom: konvencionalni bioreaktor.

U upotrebi su mnogi fluidi za koje ne važi Njutnov zakon. Fluidi kod kojih, pri laminarnom strujanju važi linearna zavisnost napona smicanja i brzine klizanja:

$$\tau = \mu \cdot \dot{\gamma} = \mu \cdot \frac{dw}{dy},$$

gde se:

$\tau$ , Pa, napon smicanja,

$\dot{\gamma}$ , 1/s, brzina klizanja (brzina deformacije),

$\mu$ , Pas, koeficijent dinamičke viskoznosti,

$y$ , m, karakteristična dužina,

$w$ , m/s, brzina sloja tečnosti.

nazivaju se Njutnovskim fluidima. Fluidi kod kojih ova zavisnost nije linearna pri datom pritisku i temperaturi nazivaju se nenjutnovskim.

Nenjutnovski fluidi se mogu podeliti na dve grupe: čisto viskozni fluidi i viskoelastični fluidi. Čisto viskozni nenjutnovski fluidi dele se na vremenski nezavisne



# Nanomedicinsko inženjerstvo

---

i vremenski zavisne fluide. Vremenski nezavisni fluidi dele se na bingamovske, pseudoplastične i dilatanske, a vremenski zavisni na tiksotropne i reotropne fluide.

Reološki modeli daju zavisnost napona smicanja od brzine klizanja. Svi parametri koji se pojavljuju u ovim jednačinama nazivaju se reološkim svojstvima fluida.

Postoji nekoliko izraza koji se mogu primeniti u praksi za proračun napona smicanja kod pseudoplastičnih i kod dilatanskih fluida.

Najčešće se primenjuje eksponencijalni zakon prikazan izrazom:

$$\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n = K \cdot \left( \frac{dw}{dy} \right)^n$$

odnosno:

$$\mu_a = K \cdot \dot{\gamma}^{n-1}$$

gde su:

$K$ ,  $Ns^n/m^2$ , Osvaldov (Ostwald) faktor,

$n$ , — , indeks reološkog ponašanja,

$\mu_a = \tau/\dot{\gamma}$ , Pas, prividna viskoznost.

Veličina  $n$  određuje se eksperimentalnim putem. Za Njutnovske fluide je  $n = 1$  ( $K = \mu$ ), za pseudoplastične fluide je  $n < 1$ , a za dilatanske je  $n > 1$ .

Mešalice u reaktorskim sudovima imaju četiri osnovne uloge:

1. prenos energije u fluid (iz pogonskog motora, preko vratila);
2. disperzija gasa u fermentacionu tečnost;
3. razdvajanje gasa i fermentacione tečnosti;
4. mešanje svih komponenata u fermentacionoj tečnosti.

Pri projektovanju bioreaktora za fermentaciju najčešće se koriste geometrijske veličine (mere) (slika 1.3):

$D$  — unutrašnji prečnik bioreaktora,

$h_r$  — visina radnog sloja u bioreaktoru,

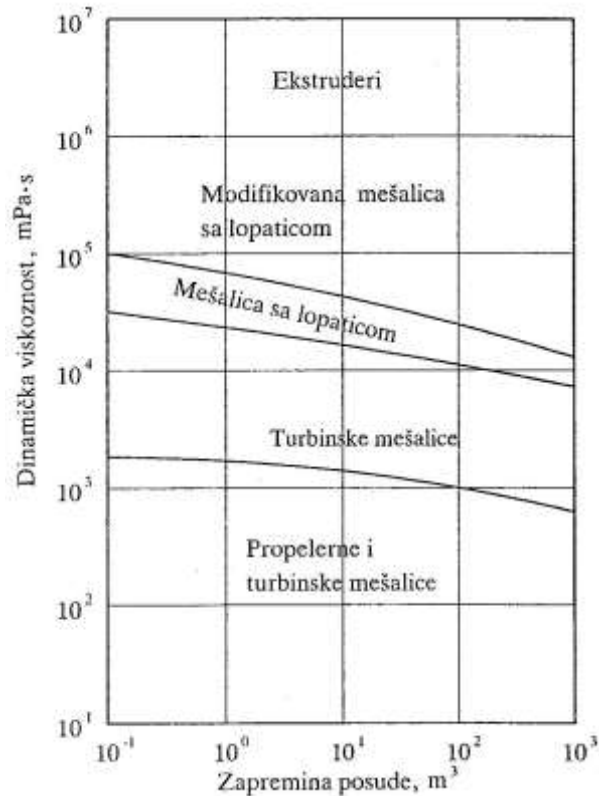
$h_{ml}$  — aksijalno rastojanje mešalice od dna bioreaktora,

$h_v$  — visina vratila potopljena u tečnost,

$s$  — širina pregrade-razbijača mlaza.

Primena (izbor) tipa mešalice najviše zavisi od viskoznosti fermentacione tečnosti (slika 1.4).

# Nanomedicinsko inženjstvo



Slika 1.4. Primena različitih tipova mešalica u zavisnosti od viskoznosti fermentacione sredine i zapremine posude.

Mehanika fluida u domenu mešanja fermentacionih tečnih sredina zasniva se na oblastima istraživanja: modela mešalice, primarnog i sekundarnog toka tečnosti u posudi, zapreminskog protoka i energije u primarnom i sekundarnom toku, transporta energije sa mešalice na tečnost. Transport (prostiranje) toplote u posudama sa mešalicama obuhvata teorijska i eksperimentalna istraživanja:

- fizičkih fenomena pojave (matematička formulacija problema, temperatursko polje u fluidu koji miruje, temperatursko polje u fluidu koji se kreće - bez disipacije mehaničke energije i sa njom),
- kriterijalnih jednačina (izraza) za transport toplote.

Analiza disperzije (rasprostiranja) gasova u fermentacionim tečnostima obuhvata: fizičke osnove procesa, generisanje mehurova pomoću različitih disperzionih elemenata, kretanje mehurova u posudi (reaktoru) sa mešalicama, sadržaj (udeo) gasa u tečnoj fazi, prenos energije u procesu disperzije.

Za disperziju gasa koriste se dva kriterijuma:

Frudov (Froude) broj

$$Fr = \frac{n_m^2 \cdot d_m}{g}$$

Veberov (Weber) broj

$$We = \frac{n_m^2 \cdot d_m^3 \cdot \rho}{\sigma}$$

gde su:

- $n_m$  — broj obrtaja mešalice,
- $g$  — ubrzanje Zemljine teže,
- $\rho$  — gustina fermentacione tečnosti,
- $\sigma$  — površinski napon.

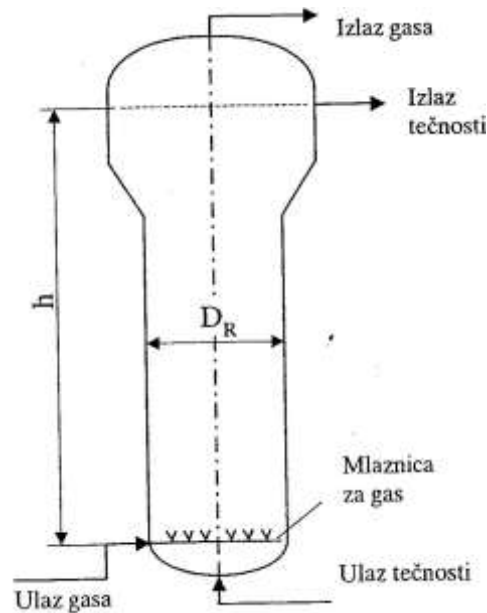
Na osnovu eksperimentalnih istraživanja utvrđeno je da gubitak snage iznosi: 40% kod turbinskih i mešalica sa lopaticom, 30% kod propelernih mešalica i 10% kod mešalica sa diskom sa otvorima.

U opštem slučaju, snaga koju je potrebno predati na vrtilu mešalice određuje se na osnovu Rejnoldsovog kriterijuma za faktor oblika mešalica, njenih dimenzija, broja obrtaja i gustine tečnosti. U određenim slučajevima, zbog reoloških karakteristika tečnosti u bioreaktoru (npr. u procesu fermentacije antibiotika) koje spadaju u nenjutnovske pseudoplastične tečnosti, za određivanje faktora oblika mora se koristiti modifikovani Rejnoldsov kriterijum.

Prisustvo vazduha u supstratu rezultuje smanjenjem potrebne snage mešalice u odnosu na mešanje čiste tečnosti, prvenstveno zbog smanjenja gustine dvofaznog — dinamičkog sloja.

### 1.3. BARBOTAŽNI BIOREAKTORI

Barbotažne kolone u stubu fermentacione tečnosti imaju funkciju obogaćivanja tečne faze gasom. Zbog jednostavne konstrukcije, jednostavnog održavanja tokom eksploatacije, povoljnijih (u odnosu na ostala rešenja) tehničkih, tehnoloških i eksploatacionih karakteristika procesa prenosa toplote i materije, ovi bioreaktori se najčešće koriste u biotehnološkim procesima. Pretežno se koriste u procesima aerobne fermentacije (uvođenje vazduha ili tehničkog kiseonika u tečnu fazu). Karakteristična šema reaktora prikazana je na slici 1.5.



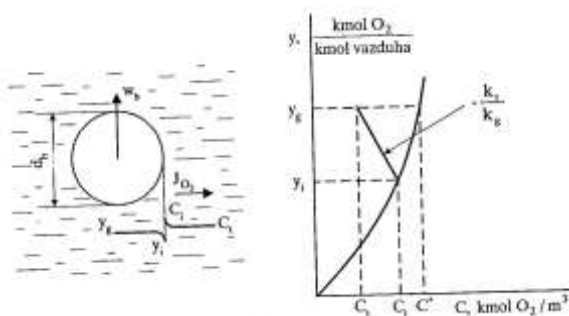
Slika 1.5. Šematski prikaz konvencionalnog barbotaznog bioreaktora.

Reaktor nema pokretnih delova, što znatno olakšava operaciju sterilizacije aparata. Vrh cilindričnog reaktora je obično proširen, da bi se povećao intenzitet transporta gasa u tečnost i smanjila zapremina stvorene pene.

## 1.4. PRENOS KISEONIKA U SISTEMU

Većina komercijalnih fermentacionih procesa je aerobna, što zahteva odgovarajuće snabdevanje kiseonikom. Kiseonik se u bioreaktor dovodi komprimovanim vazduhom. Fenomen prenosa kiseonika iz vazduha u supstrat predstavlja poseban problem. Rastvorljivost kiseonika je mala u odnosu na njegovu potrošnju. Ukoliko žive ćelije ne dobiju dovoljnu količinu kiseonika za svoje aktivnosti, jasno je da će proizvodnja u takvim okolnostima biti nezadovoljavajuća. Mikroorganizmi će proizvoditi više proizvoda metabolizma, što prouzrokuje njihovo izumiranje.

Osnovna jednačina prenosa (transporta) kiseonika bazirana je na slučaju prenosa kiseonika iz vazdušnog mehura u okolni supstrat i teoriji dva filma (sl. 1.6).



Slika 1.6. Prenos kiseonika kroz površinu mehura.

# Nanomedicinsko inženjerstvo

Oznake na slici 1.6 su:  $y$ , kmol  $O_2$ /kmol, molni udeo kiseonika u vazduhu, a  $C$ , kmol  $O_2/m^3$ , zapreminska molska koncentracija kiseonika u supstratu.

U ovom slučaju se ukupni koeficijent prenosa kiseonika može izračunati na osnovu filmske teorije.

$$\frac{1}{K_t} = \frac{1}{m \cdot k_g} + \frac{1}{k_t}$$

gde su:

$m$ ,  $m^3/\text{kmol}$  vazduha, koeficijent nagiba ravnotežne krive,

$k_g$ ,  $\text{kmol } O_2/m^2 \cdot s \Delta y$ , koeficijent prenosa kiseonika kroz vazduh do granice faza,

$k_t$ ,  $\text{kmol } O_2/m^2 \cdot s \Delta c$ , koeficijent prenosa kiseonika kroz supstrat.

S obzirom da je rastvorljivost kiseonika u podlozi mala (veliki je koeficijent nagiba ravnotežne linije), može se smatrati da su osnovni otpori prenosu kiseonika kroz sistem u podlozi, tj. da je koeficijent prenosa kiseonika:

$$K_t \cong k_t$$

Izraz za određivanje fluksa kiseonika u bioreaktoru u tom slučaju glasi:

$$J_{O_2} = k_v \cdot (C^* - C_t)_{sr}, \frac{\text{kmol } O_2}{m^3 \cdot s}$$

$$k_v, \frac{\text{kmol } O_2}{m^3 \cdot s \cdot \Delta c}$$

— zapreminski koeficijent prenosa materije,

$$k_v = k_t \cdot a,$$

$a$ ,  $m^2/m^3$ , — specifična zapreminska površina kontakta između vazduha i podloge,

$$a = a(\psi)$$

$\psi$ ,  $m^3/m^3$ , — zapreminski udeo vazduha u supstratu,

$C$ ,  $\text{kmol } O_2/m^3$ , — molska koncentracija kiseonika na granici između faza sa strane podloge.

Količina kiseonika koja se transportuje iz gasa u podlogu se najčešće određuje praćenjem koncentracije kiseonika u izlaznom gasu iz bioreaktora. Pogonska sila procesa se takođe određuje eksperimentalno, na bazi utvrđivanja moguće rastvorljivosti kiseonika ( $C$ ) i koncentracije stvarno rastvorenog kiseonika u podlozi pri radnim uslovima (temperatura, pritisak, protok gasa itd.).

Tako se za određene radne uslove može izračunati zapreminski koeficijent prenosa

materije:

$$k_v = \frac{J_{O_2}}{(C^* - C_l)_{sr}}$$

U opštem slučaju, na zapreminski koeficijent prenosa kiseonika utiču sledeći faktori:

- 1) oblik i veličina bioreaktora,
- 2) aeracioni odnos,
- 3) intenzitet mešanja podloge,
- 4) pritisak,
- 5) temperatura i vrednost pH,
- 6) prisustvo pene,
- 7) termofizička svojstva podloge,
- 8) prenos toplote itd.

### *1) Oblik i veličina bioreaktora*

U bioreaktoru malih dimenzija, zapremine do 50 l, ostvaruje se idealno mešanje faza. Smatra se da je koncentracija kiseonika u gasu jednaka njegovoj koncentraciji u izlaznoj struji gasa.

### *2) Aeracioni odnos*

Aeracioni odnos određuje ukupnu količinu kiseonika koji se transportuje kroz sistem. Količina vazduha koja se dovodi u bioreaktor veća je za pet do deset puta od potrebne (definisane prema količini kiseonika potrebnoj za ostvarivanje osnovnih metaboličkih funkcija mikroorganizama). Tako se obezbeđuje pogonska sila za adekvatan prenos kiseonika u procesu.

### *3) Intenzitet mešanja podloge*

Intenzivno mešanje podloge dovodi do povećanog sadržaja kiseonika (vazduha) u sistemu, do povećanja pogonske sile procesa razmene materije i međufazne površine kontakta, a time i zapreminskog koeficijenta prenosa odnosno količine kiseonika koji se transportuje iz vazduha u supstrat ( $J_{O_2}$ ).

### *4) Pritisak*

Sa porastom pritiska povećava se i rastvorljivost (C), a time i količina kiseonika koji se prenosi. Sa druge strane, povećava se i rastvorljivost drugih gasova, što može uticati na pravilan rast i razvoj mikroorganizama. Na primer, u slučaju povećanog sadržaja ugljen-dioksida, koji je čest proizvod metabolizma, može doći do uginuća ćelija mikroorganizama. Ta činjenica praktično svodi dijapazon promene pritiska u uske granice.

### *5) Temperatura i vrednost pH*

# Nanomedicinsko inženjerstvo

---

Svaki mikroorganizam ima optimalan dijapazon temperatura i vrednosti pH. Ako se ova dva parametra znatno menjaju u odnosu na optimalne vrednosti, znatno se smanjuje potrošnja kiseonika, što može dovesti do izumiranja mikroorganizama.

## 6) *Prisustvo pene*

U toku procesa fermentacije najčešće se stvara određena količina pene iznad dvofaznog dinamičkog sloja, koji formiraju supstrat i vazduh. U nekim slučajevima pena može nekontrolisano isticati iz bioreaktora kroz cevovod za izlazne gasove. Često se na cevovodu za izlazne gasove postavlja filter za sprečavanje povratne kontaminacije radnog prostora. Ako pena dospe u kontakt sa ovim filtrom izaziva začepljenje, a time i prekid strujanja izlaznih gasova, odnosno prekid rada bioreaktora.

Za sprečavanje pojave pene koriste se dve tehnike: mehanički sistemi i hemijski agensi, tzv. antipenušavci. U primeni su više hemijski agensi zbog veće efikasnosti i niže cene. Od hemijskih agensa primenjuju se prirodne masti i ulja, alkoholi, polietri, poliglikoli i silikonski polimeri.

## 7) *Termofizička svojstva podloge*

Od značajnog uticaja na proces prenosa kiseonika je viskoznost podloge. Utvrđeno je da u opštem slučaju količina predatog kiseonika opada sa povećanjem viskoznosti podloge. Problem postaje veći u slučaju tretiranja nenjutnovskih fluida, što je moguć slučaj.

## 8) *Prenos toplote*

Za obezbeđenje optimalnih uslova i proizvodnje u procesu fermentacije potrebno je da se temperatura kreće u vrlo uskim granicama. Zbog toga se mora obezbediti da odvođenje toplote, tj. rad sistema za hlađenje bioreaktora bude vrlo efikasan.

U periodu metaboličkih aktivnosti mikroorganizama (u procesu rasta ćelije do postizanja krajnje koncentracije ćelijske mase, tj. do ulaska u stacionarnu fazu u kojoj nema daljeg rasta), oslobađa se određena količina toplote.

Količina toplote koja se oslobađa u ovim procesima (uz korišćenje ugljenika i kiseonika kao energetske osnove za rast ćelija) srazmerna je količini utrošenog kiseonika:

$$q_f = 0,5 \cdot 10^6 \cdot J_{O_2}, \text{ kJ/lmin}$$

Pored ove količine toplote, mora se voditi računa i o toplotnom ekvivalentu mehaničkog rada mešalice  $q_m$ . Kod bioreaktora manjih dimenzija, ova toplota može

iznositi i 30% toplote odvedene iz reaktorskog prostora.

U toplotnom bilansu bioreaktora pojavljuju se još:  $q_i$  — gubitak toplote na isparavanje,  $q_p$  — toplota dovedena vazduhom i  $q_p$  — toplota odvedena (ili dovedena) u okolinu, koji se kod velikog broja dobro izolovanih bioreaktora mogu zanemariti.

Većina sistema fermentacije radi u temperaturnim granicama od 30 do 37°C, sa kontrolom od  $\pm 1^\circ\text{C}$ . Najčešće se koristi hladna voda iz sistema sa rashladnim uređajem.

Konstrukcija sistema za hlađenje u samom bioreaktoru može biti u obliku plašta (za male bioreaktore), unutrašnje cevne zmijske ili spoljašnjeg razmenjivača toplote (za velike bioreaktore).

Konstrukcijom hladnjaka kao spoljašnjeg razmenjivača toplote eliminisani su navedeni nedostaci. Problem ovih hladnjaka je održavanje sterilnih uslova u sistemu. Transport velikih količina tečnosti iz bioreaktora u razmenjivač toplote i obrnuto, koji se obavlja pomoću pumpe, dovodi do teškoća u obezbeđenju uslova sterilnosti.

## MARIJA STR 60 I 61

### 1.5. IZBOR KONSTRUKCIJA BIOREAKTORA

Pri konstruisanju i građenju novog bioreaktorskog postrojenja potrebno je da projektanti i konstruktori procesne opreme zadovolje sve zahteve koje postavljaju mikrobiolozi, biohemičari i biotehnolozi. U većini slučajeva tehničke karakteristike razmatranog procesa i opreme su nepotpune.

Pri projektovanju i konstruisanju bioreaktora, neophodno je prvo sagledati opšte karakteristike biotehnološkog postupka koji se projektuje. Osnovne karakteristike su:

- karakteristike jednog ili više supstrata (rastvorljivi u vodi, nerastvorljivi, u gasovitom stanju), koncentracija supstrata u vodenom rastvoru, fizičko-hemijske karakteristike (termostabilnost supstrata, da li je proces sterilan ili ne);

- način kultivacije mikroorganizama (šaržni, polukontinualni, kontinualni i slično) i način procesa fermentacije (u tečnoj fazi - takozvana dubinska, na čvrstoj fazi — površinska, biokataliza i slično);

- nazivna vrednost i mogući opseg izmerene vrednosti veličina kojima se vrši kontrola procesa; odnos veličina kojima se upravlja procesom i sekundarnih (pratećih) veličina koje se dobijaju proračunom na osnovu izmerenih vrednosti; način praćenja i analize izmerenih i izračunatih veličina;

- potrebna masa kiseonika u jedinici vremena po jedinici zapremine reaktora, maseni protok ciljnog proizvoda i slično;

- osetljivost kulture prema  $\text{CO}_2$  i izlaznom (otpadnom, prerađenom) vazduhu;

- dinamika oslobađanja količine toplote u jedinici vremena i po jedinici zapremine reaktora, specifični toplotni kapacitet, toplotna provodnost, koeficijent temperaturske provodljivosti rastvora; ovo su minimalno potrebni pokazatelji za određivanje površine razmene toplote u bioreaktoru;

- karakteristike stvaranja i svojstva (stabilnost i slično) pene u procesu ferme-



# Nanomedicinsko inženjerstvo

ntacije; vrsta tečnog aditiva za suzbijanje pene;

— svojstva biomase u odnosu na proces flotacije;

— sklonost biomase ka taloženju na radnim površinama u unutrašnjosti reaktora;

preporuke za pranje (čišćenje) unutrašnjih površina bioreaktora;

— potreba dezintegracije stvorenih micelija za vreme kultivacije;

— uticaj radne sredine, sa stanovišta korozije na različite konstrukcione materijale opreme.

Tabela 1 . Karakteristike bioreaktora tipa "er—lift" i bioreaktora sa mehaničkim mešanjem koji se koriste u industriji krmnog kvasca.

Karakteristika	Tip "er-lift"			Sa mehaničkim mešanjem		
	EVC 630	EVC 1250	EVK 200-1K-01	EVC 1250	ADR 900-1K-01	Prototip
1	2	3	4	5	6	7
Kapacitet, t/24 h	8,1	17,5	7,0	20,0	Do 40	do45
Zapremina, m <sup>3</sup> : — geometrijska — radna	630 250	1250 500	200 70-100	1250 550	900 550	900 550
Potrebna snaga, kW	320	600	283	550	409	2600
Radna temperarnra, °C	36	36	39	36	34	34
Površina za razmenu toplote, m <sup>2</sup>	400	560	330	600	3000	3000
Specifični kapacitet proizvodnje, kg/(m <sup>3</sup> -h)	1,35	1,46	4,16	1,52	3,03	3,4
Masa ugrađenog metala po jedinici zapremine, kg/m <sup>3</sup>	78,0	69,6	160	64,0	533	388
Specifična potrošnja energije, kW/m <sup>3</sup>	1,28	1,20	2,76	1,0	7,44	4,72
Interval rada između dva kapitalna remonta, 103h	40	40	40	40	25,8	40
Gabaritne mere, mm: dužina širina visina	8270 8070 15600	12360 12360	3712 3540 26420	12360 12360	19800 19800 8000	19800 19800 8000
Masa, 103 kg	49	87	32	80	48	950

U tabeli 2 su navedeni orijentacioni podaci koji se mogu koristiti pri izboru bioreaktora.

Pri laboratorijskim i poluindustrijskim eksperimentalnim istraživanjima, ekonomski uslovi (potrošnja električne energije i slično) ne predstavljaju značajne uslove. Zbog toga se najviše primenjuju univerzalni reaktori sa mehaničkim mešanjem iz grupe bioreaktora FTG (tabela 2). Složen zadatak predstavlja jednoznačan krajnji (završni) izbor i proračun bioreaktora za

# Nanomedicinsko inženjerstvo

trajnu (pogonsku) eksploataciju. Osim toga, u praksi se često postavlja zahtev da se određeni fermentacioni proces (uslovljen tekućim potrebama za proizvodom) obavi u postojećem reaktoru predviđenom za druge namene.

Tabela 2. Kriterijumi za postupak prethodnog izbora bioreaktora za slučaj različitih mikroorganizama.

Red. broj	Mikroorganizam	[kg/(m <sup>3</sup> h)]	Grupa reaktora	Posebni zahtevi
1	2	3	4	5
1.	Bakterije			
	brzorastuće ( $\mu > 0,2$ 1/h) spororastuće ( $\mu < 0,3$ 1/h)	4-5i više <4	FTG <sup>2)</sup> FG <sup>2)</sup> , FG <sup>2)</sup> , FT, FTG	nema posebnih zahteva, osim ekonomskih nema posebnih zahteva, osim ekonomskih
	osetljive na mehanička naprezanja, bakterije koje stvaraju mikrofibri-larne vanćelijske polimere i drugi slučajevi	zavisi od procesa	FTG	preporučuju se specijalne konstrukcije
	sa visokom koncentracijom biomase (>50 g/l)	5-12	FTG	preporučuju se specijalne konstrukcije, sa ponovnim korišćenjem biomase
	sa izdvajanjem viskoznih metabolita	zavisi od procesa	FTG	preporučuju se specijalne konstrukcije za viskozne sredine
	anaerobne		specijalni aparati za proces vrenja	preporučuju se specijalne konstrukcije
	ostale	zavisi od procesa	FG, FT, FTG	nema posebnih zahteva, osim ekonomskih
2.	Gljive			
	micelijalne	3-8	FTG	preporučuju se specijalne konstrukcije, sa intenzivnim, ali dobro regulisanim mešanjem
	sklone ukрупnjavanju aglomeracija sa stvaranjem prstenova i drugih oblika)	3-8	FTG	preporučuju se specijalne konstrukcije sa periodičnom dezintegracijom
	kvasci sa korišćenjem ugljenih hidrata	2-4	FG,FT, FTG	nema posebnih zahteva, osim ekonomskih
	kvasci sa korišćenjem celulozodestilacionog ostataka	>4	FT,FTG	emulgovanje parafina
	kvasci sa korišćenjem alkohola, organskih kiselina	3-5	FT, FTG	ograničenje isparavanja supstrata
	kvasci sa korišćenjem gasa	>4	FT, FTG	opasnost od eksplozije
	ostali kvasci	zavisi od procesa	FG, FT, FTG	zavisi od procesa
3.	Jednostavni (prosti) mikroorganizmi	zavisi od procesa	FG	preporučuju se specijalne konstrukcije sa dobro regulisanim mešanjem
4.	Ćelije životinja i biljaka	0-2	FG,FTG	dobro regulisano mešanje, izbor odgovarajućeg materijala za konstrukciju
5.	Virusi (intracelularni paraziti)	Za bakteriofage karakteristike pod rednim brojem 1, a za ostale po rednim brojem 4.		

# Nanomedicinsko inženjerstvo

---

<sup>1)</sup>  $m_{O_2}$  — specifična potrošnja kiseonika.

*Tip bioreaktora:*

<sup>2)</sup> *FT* — sa dovodom energije samo tečnom fazom (ejektorski, strujni),

*FTG* — kombinovani, sa dovodom energije gasovitom i tečnom fazom,

*FG* — sa dovodom energije samo gasom za aeraciju (barbotazni, "er—lift" sa kontaktim uređajima, sa potopljenom ispunom).

## 1.6. PRIMENA BIOREAKTORA

Biohemijske i mikrobiološke reakcije su danas od velikog industrijskog i ekonomskog značaja za:

- 1) proizvodnju proteina određenog soja ćelija iz metana, mineralnih frakcija ulja, poljoprivrednog otpada, itd.;
- 2) proizvodnju hrane (npr. pekarskog kvasca, sirćeta, alkoholnih pića), farmaceutskih proizvoda (antibiotika, vitamina, steroida) i organskih jedinjenja (kiselina, aminokiselina, rastvarača, polisaharida);
- 3) degradaciju zagađivača i korisnih sirovih materijala iz otpada, otpadnih voda i izduvnih gasova;
- 4) remedikaciju zemljišta;
- 5) proizvodnju energije (vodonik, metan, etanol) i sirovih materijala mikrobnim kvašenjem ruda;
- 6) korišćenje mikroorganizama kao katalizatora u organskim reakcijama (biooksidacija, bioredukcija, biofosforhlorisanje) i kao izvora važnih enzima (deterdženti, industrija hrane, medicina).

# Nanomedicinsko inženjerstvo

---

## Literatura:

- [1] Bonassar, J. and Vacanti, C. Tissue engineering: the first decade and beyond. *J. Cell Biochem. Suppl.* 30/31, 297, 1998.
- [2] Darling, E.M. and Athanasiou, K.A. Articular cartilage bioreactors and bioprocesses. *Tissue Eng.*, 9, 9, 2003.
- [3] Martin, I., Wendt, D., and Herberer, M. The role of bioreactors in tissue engineering. *Trends Biotechnol.*, 22, 80–86, 2004.
- [4] Rehm, H. J., Reed, G., Brauer H.: *Biotechnology*, Vol.2, Fundamentals of Biochemical Engineering, VCH Verlagsgesellschaft, mbH, Weingheim, 1985.
- [5] Perry, H. R.: *Perry's Chemical Engineer's Handbook*, Section 27, Biochemical Engineering, pp 27-1/27-19, Mc Graw Hill, Book Company, New York, 1976.
- [6] Đaković, B., Jaćimović, B., Obradović, B., Tifenteler, K., Tasić V.: *Bioinženjering i razvoj fermentatora*, Mašinski fakultet, Beograd, 1985.
- [7] Kuburović, M., Stanojević, M.: *Biotehnologija*, SMEITS, Beograd, 1985.