

Joanna KARCZ, Marcelina BITENC, Marek DOMAŃSKI, Monika MUSIAŁ

e-mail: joanna.karcz@zut.edu.pl

Instytut Inżynierii Chemicznej i Procesów Ochrony Środowiska, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny, Szczecin

Analiza eksperymentalna i numeryczna bioprocessu w kolumnie airlift z zewnętrzną cyrkulacją płynu

Wstęp

Kolumny airlift, ze względu na liczne zalety, coraz częściej stanowią alternatywę dla klasycznych aparatów procesowych z mieszaniem mechanicznym. Obszerne badania procesów wymiany pędu i masy w aparatach typu airlift opisano m.in. w pracach [Kawalec-Pietrenko, 1992; Kawalec-Pietrenko, 2000].

Pomimo licznych badań prezentowanych w literaturze, brakuje wśród nich kompleksowego powiązania parametrów wymiany masy i pędu z dynamiką zmian zachodzących w układach bioprocessowych.

Badania wpływu stężenia drożdży na hydrodynamikę w bioreaktorze airlift z wewnętrzną cyrkulacją płynu były przedmiotem pracy Kleina i in. [2005]. Wykazano, że udział biomasy w układzie poniżej stężenia krytycznego $X = 73 \text{ kg}_{\text{drożdży}}/\text{m}^3_{\text{roztworu}}$ nie ma istotnego wpływu na wartość prędkości cyrkulacji płynu w aparacie. Powyżej tej wartości, wzrost stężenia biomasy powoduje natomiast gwałtowny spadek prędkości.

Analogiczny brak wpływu stężenia biomasy na prędkość cyrkulacji cieczy w bioreaktorze z wewnętrzną cyrkulacją cieczy zaobserwowano w badaniach wpływu zawartości grzybów *Aspergillus niger* na hydrodynamikę kolumny airlift [Juraščík i in., 2006]. Autorzy wykazali jednak spadek wartości średniego udziału gazu zatrzymanego w cieczy wraz ze wzrostem stężenia biofazy w układzie.

Badania eksperymentalne przedstawione w niniejszej pracy miały na celu analizę przebiegu procesu hodowli drożdży realizowanego w kolumnie z zewnętrzną cyrkulacją płynu.

Badania doświadczalne

Materiały. Jako materiał biologiczny zastosowano świeże prasowane drożdże piekarniane *Saccharomyces cerevisiae* firmy Lesaffre Polska S.A. o stałym stężeniu początkowym $X = 16 \text{ kg}/\text{m}^3$ w przeliczeniu na suchą masę. Jako źródło węgla organicznego dla mikroorganizmów zastosowano wodny roztwór sacharozy spożywczej o stężeniu początkowym $c = 10\%$ mas. Ponadto, w dwóch badanych przypadkach pożywkę dla drożdży wzbogacano diwodorowęglanem amonu $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ w ilości $5 \text{ kg}_{\text{sol}}/\text{m}^3_{\text{roztworu}}$ jako źródło azotu oraz fosforu do syntezy białka. Temperatura układu mierzona była w sposób ciągły i wynosiła $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Układy napowietrzano w sposób ciągły, ze stałym natężeniem przepływu gazu przez 11 godzin w ciągu doby. Szczegóły dotyczące badanych układów zestawiono w tab. 1.

Tab. 1. Szczegóły układów procesowych

Symbol przypadku	$V_g \cdot 10^5, \text{m}^3/\text{s}$	$w_{og} \cdot 10^2, \text{m/s}$	Dodatek $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$
(A)	3,64	0,416	+
(B)	7,78	0,888	-
(C)	12,1	1,382	-
(D)	21,64	2,471	+

Aparatura badawcza składała się z kolumny typu airlift z zewnętrzną cyrkulacją cieczy, instalacji doprowadzającej sprężone powietrze do aparatu, przyrządów pomiarowych oraz stanowiska komputerowego do cyfrowej analizy rejestrowanych danych. Szczegóły dotyczące konstrukcji aparatu opisano w pracy [Karcz i in., 2012]. Gęstość zawiesin drożdży w badanych układach wyznaczono metodą wagową z uwzględnieniem temperatury układu, lepkość przy użyciu wiskozymetru rotacyjnego typu RT10 firmy Haake.

Opis badań. W badaniach kontrolowano w sposób ciągły temperaturę układu, ilość rozpuszczonego tlenu oraz przewodność właściwą płynu za pomocą sond umieszczonych w górnej części strefy opadania. Okresowo kontrolowano także pH układu.

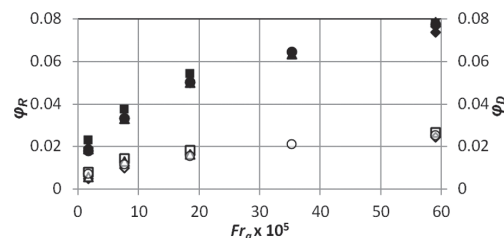
Badania udziału gazu zatrzymanego w cieczy w strefie wznoszenia φ_R i opadania φ_D przeprowadzono metodą manometryczną z manometrem odwróconym [Karcz i in., 2010].

Prędkość cieczy w strefie opadania określono metodą znacznikową [Karcz i in., 2010] na podstawie analizy krzywych odpowiedzi uzyskanych na podstawie zmian przewodności układu po wprowadzeniu impulsu w postaci 10 cm^3 nasyconego roztworu chlorku sodu do górnej części strefy opadania. Wartość prędkości cieczy w strefie wznoszenia określano, korzystając z prawa ciągłości strugi z uwzględnieniem zawartości gazu w układzie. Pomiary prędkości przeprowadzono okresowo podczas prowadzenia hodowli ($t = 1 \div 72 \text{ h}$).

Wyniki badań doświadczalnych

Wyniki pomiarów uzyskano na podstawie uśrednienia dziesięciu odczytanych wartości φ dla każdego punktu pomiarowego. Średni błąd pomiarowy wynosił $\pm 5\%$. Rezultaty przedstawiono graficznie w zależności od bezwymiarowej zmodyfikowanej liczby Froude'a $Fr_g = (w_{og})^2/gD_R$ [Karcz i in., 2010].

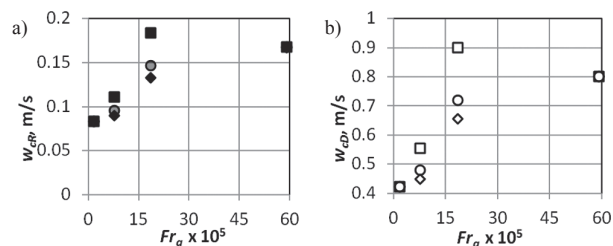
Jak wynika z rys. 1, zawartość gazu zatrzymanego w cieczy w strefie wznoszenia zależy głównie od zadanej prędkości przepływu gazu w układzie – wzrasta nieliniowo wraz ze wzrostem liczby Froude'a Fr_g . W strefie opadania zawartość gazu była znikoma w całym zakresie przeprowadzonych badań.



Rys. 1. Zmiany udziału gazu zatrzymanego w cieczy w strefie wznoszenia $\varphi_R = f(Fr_g)$: (♦) $t = 1 \text{ h}$, (■) $t = 24 \text{ h}$, (▲) $t = 48 \text{ h}$, (●) $t = 72 \text{ h}$ i opadania $\varphi_D = f(Fr_g)$: (◇) $t = 1 \text{ h}$, (□) $t = 24 \text{ h}$, (Δ) $t = 48 \text{ h}$, (○) $t = 72 \text{ h}$

Na rys. 2 przedstawiono przebieg zmian prędkości cieczy w strefie wznoszenia i opadania w zależności od zmodyfikowanej liczby Froude'a Fr_g . Wyniki pomiarów uzyskano na podstawie uśrednienia siedmiu odczytów w każdym punkcie pomiarowym.

Najwyższą wartość prędkości cieczy zaobserwowano w drugim dniu prowadzenia hodowli w przypadku (C).

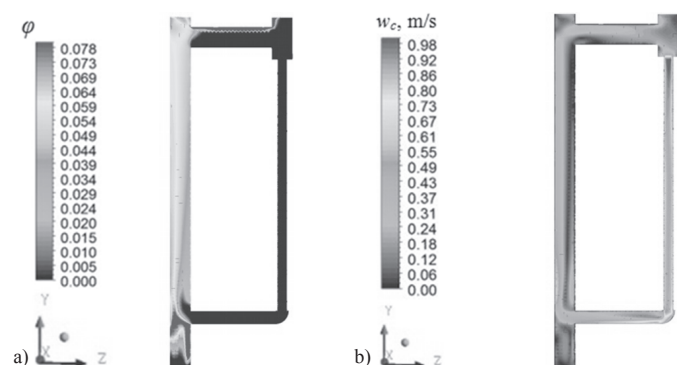


Rys. 2. Zmiany prędkości cieczy a) w strefie wznoszenia $w_{cr} = f(Fr_g)$ (♦) $t = 1 \text{ h}$, (■) $t = 24 \text{ h}$, (●) $t = 72 \text{ h}$, b) w strefie opadania $w_{cd} = f(Fr_g)$ (◇) $t = 1 \text{ h}$, (□) $t = 24 \text{ h}$, (○) $t = 72 \text{ h}$

Symulacje numeryczne

Aby uzyskać wgląd w lokalne wartości parametrów hydrodynamicznych, przeprowadzono symulacje numeryczne badanego procesu

z uwzględnieniem nieniuonowskiego charakteru zawiesiny drożdży w roztworze cukru. Wyniki przedstawiono w postaci konturów w przekroju osiowym kolumny na rys. 3.

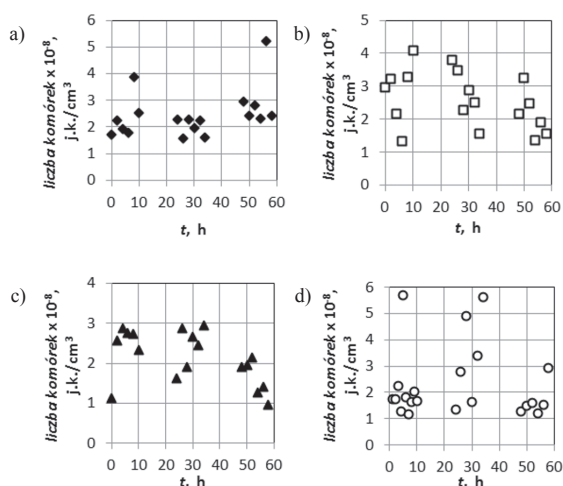


Rys. 3. Kontury parametrów hydrodynamicznych w przekroju osiowym kolumny airlift; a) udział gazu zatrzymanego w cieczy φ , b) prędkość cieczy w_c

Ze względu na cyrkulacyjny charakter przepływu płynu w aparacie, w strefie wznoszenia obserwowana jest silna asymetria w rozkładach parametrów lokalnych. Wyższe wartości zarówno zawartości gazu φ , jak również prędkości cieczy w_c występują w sąsiedztwie ściany strefy wznoszenia najbardziej oddalonej od osi pionowej aparatu. W strefie opadania udział gazu zatrzymanego w cieczy jest pomijalnie mały.

Efektywność produkcji biomasy

Do oceny efektywności produkcji biomasy wybrano bezpośrednią metodę zliczania komórek na zdjęciach mikroskopowych, która dostarcza dodatkowych informacji o wielkości i żywotności mikroorganizmów, czego nie można uzyskać powszechnie stosowanymi prostymi metodami pośrednimi. Obserwacje prowadzono z zastosowaniem komory hemocytometrycznej Thoma pod mikroskopem odwróconym OPTA-TECH MW-100 z cyfrową kamerą mikroskopową. Zaawansowane oprogramowanie do analizy obrazu OptaView pozwoliło na precyzyjne wykonanie zliczania i pomiarów wielkości komórek drożdży. Rys. 4 przedstawia przebieg zmian liczby komórek drożdży w trakcie prowadzenia hodowli.

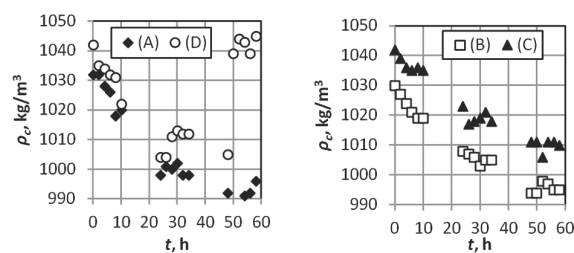


Rys. 4. Zależność zmian liczności komórek drożdży od czasu trwania hodowli a) układ (A), b) układ (B), c) układ (C), d) układ (D)

Jak przedstawiono na rys. 4, w każdym przypadku w pierwszej dobie następuje zauważalny przyrost biomasy. W drugiej dobie prowadzenia hodowli zaobserwowano silne zjawisko pienia, przez co nastąpił ubytek pewnej ilości biomasy wskutek flotacji. Największy ubytek objętości płynu nastąpił w przypadku (D), ze względu na dużą prędkość przepływu gazu i spowodowaną tym burzliwość. W 50 godzinie prowadzenia procesu, objętość roboczą uzupełniono wodnym roztworem cukru do objętości początkowej i stężenia cukru $c = 10\%$. W dalszym etapie nie zaobserwowano istotnego przyrostu biomasy (Rys. 4 d), co

może wynikać z nagromadzenia w układzie metabolitów hamujących rozwój mikroorganizmów.

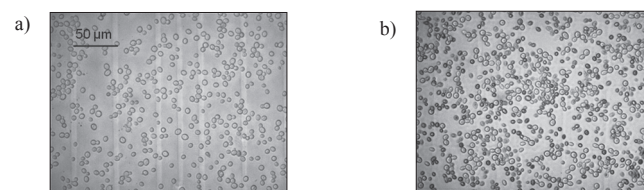
Ze względu na niewielkie stężenie biomasy w układzie, kontrola gęstości (Rys. 5) pozwoliła wnioskować o zmianach stężenia cukru w układzie.



Rys. 5. Zależność zmian gęstości fazy ciągłej ρ_c podczas trwania bioprocasu; a) układy z dodatkiem $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$; b) układy bez dodatku $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$

W układach z dodatkiem diwodorofosforanu amonu spadek gęstości następuje znacznie szybciej. Ma to bezpośredni związek z większym przyrostem biomasy w tych układach (Rys. 4 a i d).

Dodając do zawiesiny drożdży wodny roztwór błękitu metylenowego można zidentyfikować martwe komórki drożdży, które zabarwiają się wówczas na niebiesko, w przeciwieństwie do komórek żywych, których barwa pozostaje bez zmian. Na tej podstawie analizowano zmiany udziału komórek martwych w populacji. Na rys. 6 przedstawiono przykładowe zdjęcia mikroskopowe barwionych komórek drożdży.



Rys. 6. Zdjęcia mikroskopowe wybarwionych zawiesin drożdży; przypadek (D); powiększenie 400 ×, a) t = 1 h, b) t = 72 h

W przypadku (D) w trzeciej dobie zaobserwowano znaczny udział komórek martwych w stosunku do żywych. W pozostałych przypadkach stosunek martwych komórek do żywych był niewielki i utrzymywał się na stałym poziomie.

Wnioski

W zakresie przeprowadzonych badań stwierdzono, iż na hydrodynamikę układów bioprosesowych w kolumnie airlift wpływa głównie natężenie przepływu gazu, a niejednorodny rozkład wartości lokalnych zależy od konstrukcji aparatu.

Analiza doświadczalna i numeryczna bioprocasu jest złożona, wymaga powiązania wielu parametrów, jednak umożliwia dobór korzystnych warunków procesowych.

LITERATURA

- Jurašič M., Hucik M., Sikula I., Annus J., Markoš J., 2006. Influence of biomass on hydrodynamics of an internal loop airlift reactor. *Chem. Pap.*, **60**, nr 6, 44-445. DOI: 10.2478/s11696-006-0080-2
- Karcz J., Bitenc M., Domański M., Kacperski Ł., 2012. Analiza numeryczna zawartości gazu w cieczy i rozkładu rozmiarów pęcherzyków gazu w kolumnie airlift. *Inż. Ap. Chem.*, **43**, nr 6, 332-333
- Karcz J., Bitenc M., Kacperski Ł., 2010. Badania hydrodynamiki w kolumnie airlift z zewnętrzną cyrkulacją cieczy. *Inż. Ap. Chem.*, **49**, nr 1, 57-58
- Kawalec-Pietrenko B., 1992. Charakterystyka hydrodynamiczna i wymiana masy w trójfazowym reaktorze airlift z cyrkulacją wewnętrzną. Rozprawa habilitacyjna. *Zesz. Nauk. Pol. Gdańskiej*, nr 494
- Kawalec-Pietrenko B., 2000. Liquid circulation velocity in the inverse fluidized bed airlift bioreactor. *Bioprocess Engineering*, **23**, 397-402. DOI: 10.1007/s004499900182
- Klein J., Maia J., Vicente A. A., Domingues L., Teixeira A. J., Jurašič M., 2005. Relationships between hydrodynamics and rheology of flocculating yeast suspensions in a high-cell-density airlift bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, **89**, 393-399. DOI: 10.1002/bit.20335