# Bolesław TABIŚ, Szymon SKONECZNY

e-mail: btabis@usk.pk.edu.pl

Instytut Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Politechnika Krakowska, Kraków

# Ocena obecności i zrywania biofilmu w bioreaktorze zbiornikowym na jego zdolność biodegradacji toksycznego związku węglowego

# Wstęp

Przeważająca większość modeli mikrobiologicznych reaktorów zbiornikowych [*Ajbar*; 2001; Dunn i inni, 2003] lub obiektów z dyspersja wzdłużną, jak np. kanały napowietrzające [*Stamou 1997; Makinia, Wells, 2000*] z reguły nie uwzględniają obecności mikroorganizmów w biofilmie powstałym na ściankach aparatów. Tymczasem, zgodnie z opiniami [*Loosdrecht i inni, 1995; Eberl i inni, 2000*] powstawanie biofilmów w środowiskach wodnych jest w zasadzie zjawiskiem nieuniknionym. Dlatego należy uwzględnić ich obecność w modelowaniu reaktorów mikrobiologicznych i ocenić ich udział w sumarycznej szyb-kości procesu przebiegającego w aparacie.

Poniżej przedstawiono analizę obecności biofilmu na ściankach przepływowego bioreaktora zbiornikowego na wartość stopnia przemiany substratu węglowego i na położenie oraz stabilność stanów stacjonarnych bioreaktora. Wpływ szybkości przenoszenia aktywnej biomasy z biofilmu do cieczy określono poprzez analizę dwóch przypadków granicznych. W jednym z nich przyjęto całkowity brak zrywania biofilmu. Drugi przypadek graniczny odpowiada założeniu, iż cała ilość biomasy powstała w biofilmie jest przenoszona do cieczy w postaci aktywnej. Dokonano również obliczeń procesu, w którym przyjęto szybkość zrywania biofilmu obliczoną według zależności empirycznej. Celem tych obliczeń było porównanie wyników otrzymanych przy użyciu wspomnianej zależności empirycznej z analizowanymi w pracy granicznymi warunkami przenoszenia biomasy. Przedstawiony program badawczy zrealizowano dla procesu biodegradacji toksycznego związku organicznego. Aby uzyskać wyniki ilościowe, przyjęto, w charakterze przykładu procesowego biodegradację fenolu przebiegającą według kinetyki Haldane'a [Pawlowsky, Howell, 1973].

Teoretyczna analiza stanów stacjonarnych była już uprzednio przedmiotem prac, np. *Chi, Howella i Pawlowskiego* [*Chi i inni, 1974*]. Cytowani autorzy nie uwzględnili jednak zrywania biofilmu, zaś do jego modelowania użyli koncepcji [*Topiwala, Hamer, 1971*], która nie uwzględnia ani oporów międzyfazowego ruchu masy, ani gradientów stężeń w biofilmie. Może być zatem słuszną jedynie dla ekstremalnie cienkich, monokomórkowych warstw biofilmów. Również w znacznie późniejszych pracach, np. [*Ajbar, 2001*] dotyczących analizy nieliniowej i dynamiki bioreaktorów z biofilmem autorzy stosowali najprostsze modele biofilmu oparte na idei zaproponowanej przez *Topiwalę* i *Hamera.* Zaproponowany poniżej model, uwzględnia wszystkie trzy wspomniane wcześniej zjawiska, tj. międzyfazowe opory ruchu masy, ruch masy w biofilmie oraz jego przenoszenie między fazą stałą i cieczą.

# Model bioreaktora

Jeżeli uwzględni się obecność biofilmu immobilizowanego na ściankach aparatu, to wtedy przyjmuje się, że proces mikrobiologiczny przebiega w obydwu fazach, tj. w cieczy i w biofilmie, a pomiędzy obydwiema fazami dodatkowo zachodzi wymiana masy reagentów. Równania opisujące bilans masy substratu limitującego A i biomasy B w cieczy przedstawiają się następująco:

$$V\boldsymbol{\varepsilon}^{c}\frac{d\boldsymbol{c}_{A}^{c}}{dt} = F_{V}^{c}(\boldsymbol{c}_{Af} - \boldsymbol{c}_{A}^{c}) - V\boldsymbol{\varepsilon}^{c}\boldsymbol{r}_{A}^{c}(\boldsymbol{c}_{A}^{c}, \boldsymbol{c}_{B}^{c}) - V\boldsymbol{\varepsilon}^{c}\boldsymbol{a}\boldsymbol{k}_{s}(\boldsymbol{c}_{A}^{c}, \boldsymbol{c}_{As})$$
(1a)

$$V\boldsymbol{\varepsilon}^{c}\frac{d\boldsymbol{c}_{B}^{c}}{dt} = -F_{V}^{c}\boldsymbol{c}_{B}^{c} + V\boldsymbol{\varepsilon}^{c}\boldsymbol{r}_{B}^{c}(\boldsymbol{c}_{A}^{c},\boldsymbol{c}_{B}^{c}) + V\boldsymbol{\varepsilon}^{c}\boldsymbol{a}\,\boldsymbol{r}_{det}$$
(1b)

W równaniach (1) parametr *a* oznacza powierzchnię właściwą dostępną do immobilizacji mikroorganizmów, którą dla bioreaktora zbiornikowego można obliczyć z zależności

$$a = (1+\xi)\frac{4H+d}{Hd} \tag{2}$$

Parametr  $\xi > 0$  zależy od wewnętrznej zabudowy aparatu, obecności wymiennika ciepła itp. W równaniach (1) szybkości zużywania sub-

stratu  $r_A^c$  i wzrostu biomasy  $r_B^c$  zależą od stężeń tylko w fazie ciekłej, dlatego zaopatrzono je w górny indeks *c*.

Szybkość zrywania biofilmu  $r_{det}$  zależy od czynników hydrodynamicznych, kinetycznych i od wieku biofilmu. Nie ma, jak dotychczas, wiarygodnych równań określających szybkość zrywania biofilmów w reaktorach zbiornikowych, które uwzględniałyby wszystkie te elementy. Niemniej jednak można określić granice wypadkowej szybkości przenoszenia aktywnej biomasy z biofilmu do cieczy jako

 $0 \le r_{det} < r_{det,max}$ 

gdzie

$$\vec{r}_{B}^{b} = \frac{1}{L_a} \int_{0}^{b} r_{B}^{b} c_{A}^{b}(x) dx$$
 (4)

Szybkość przenoszenia biomasy z biofilmu do fazy ciekłej można zatem ująć ilościowo jako

$$r_{det} = X_B L_a \bar{r}_B^b , \qquad 0 \le X_B < 1 \tag{5}$$

gdzie  $X_B$  jest ułamkiem aktywnej biomasy przeniesionej z biofilmu do cieczy. Aktywną grubość biomasy, zwaną również głębokością penetracji dyfuzyjnej  $L_a$  obliczono według metody omówionej we wcześniejszym opracowaniu [*Tabiś B., Skoneczny S., 2010*].

Dla dwóch przypadków granicznych analizowanych w pracy nie ma potrzeby określania szybkości obumierania mikroorganizmów w biofilmie. Dlatego proces mikrobiologiczny przebiegający w tej fazie można zapisać równaniem (6) z warunkami brzegowymi (7)

$$D_e \frac{d^2 c_A^b}{dx^2} - r_A^b(c_A^b) = 0$$
 (6)

$$\frac{dc_{A}^{b}(0)}{dx} = 0 \qquad D_{e} \frac{dc_{As}}{dx} = k_{s} \left( c_{A}^{c} - c_{As} \right)$$
(7)

# Dyskusja wyników

Podstawą do dyskusji o konsekwencji obecności biofilmu na ściankach reaktora, jak również międzyfazowego przenoszenia biomasy są wyniki otrzymane dla aparatu bez biofilmu. Gałąź stanów stacjonarnych stopnia biodegradacji substratu węglowego względem czasu przebywania cieczy, tzn. krzywą  $\alpha(\tau^{c})$  pokazano na rys. 1a. W charakterze przykładu wybrano biodegradację fenolu, zgodnie z równaniami kinetycznymi [*Pawlowsky, Howell, 1973*]. Linie ciągłe odpowiadają stanom stabilnym, zaś linie przerywane – niestabilnym stanom stacjonarnym. W miarę spadku czasu przebywania cieczy w aparacie, osiąga się krytyczną wartość tego parametru,  $\tau_{kryt}$ , poniżej której następuje wymycie biomasy i utrata zdolności produkcyjnej reaktora. Według modeli nie uwzględniających obecności biofilmu na ściankach aparatu, jest to utrata nieodwracalna.

(3)



Rys. 1. Gałęzie stanów stacjonarnych  $\alpha(\tau^c)$  przepływowego bioreaktora zbiornikowego dla procesu mikrobiologicznego z inhibicją substratem; a) bez immobilizacji biofilmu na ściankach; b) z biofilmem na ściankach dla różnych szybkości przenoszenia biomasy ( $\rho_b = 50 \text{ kg/m}^3$ ;  $c_{AJ} = 0.5 \text{ kg/m}^3$ ) (d = H = 1m)

Na rys.1b przedstawiono natomiast gałęzie stanów stacjonarnych otrzymane przy założeniu obecności biofilmu na ściankach i jego międzyfazowego przenoszenia. Gałęzie  $\alpha(\tau^{c})$  obrazują dwa przypadki graniczne odpowiadające  $r_{det} = 0$  i  $r_{det} = r_{det,max}$ , o których wspomniano powyżej. Ponadto symbolami kwadratów pokazano położenie gałęzi stanów stacjonarnych otrzymane z uwzględnieniem zrywania biofilmu obliczoną według [*Kommedal, Bakke, 2003*].

Z wykresów przedstawionych na rys. 1 wynika, że nawet dla  $r_{det} = 0$ uwzględnienie obecności biofilmu na ściankach aparatu jest uzasadnione. Wykazano ponadto, że dla bioreaktorów zbiornikowych gałęzie stanów stacjonarnych  $\alpha(\tau^{c})$  otrzymane z uwzględnieniem zrywania biofilmu wg mechanizmu *Kommedala* i *Bakke* niewiele się różnią od gałęzi otrzymanych przy założeniu  $r_{det} = 0$ . Jest to wynik o znaczeniu praktycznym, ułatwiającym obliczenia procesowe. Z drugiej strony, założenie, że nawet cała ilość biomasy powstała na ściankach jest przenoszona do fazy ciekłej daje możliwość określenia granicznego położenia gałęzi stanów stacjonarnych. To położenie graniczne może być użyte do weryfikacji równań empirycznych określających szybkość zrywania biomasy, bowiem żadne z takich równań nie powinno przewidywać przesunięcia gałęzi stanów stacjonarnych poza wspomniane położenie graniczne.

## Wnioski

Wykazano, że uwzględnienie w modelu matematycznym obecności biomasy na ściankach aparatu ma istotne znaczenie przy modelowaniu, projektowaniu i na etapie eksploatacji takich obiektów. Nade wszystko obecność biofilmu zapobiega nieodwracalnemu wymyciu mikroorganizmów z aparatu. Z technologicznego punktu widzenia jest to okoliczność korzystna. Modele nie uwzględniające biofilmu na ściankach nie dają możliwości przewidywania tego zjawiska.

Z symulacji cyfrowych wynika, że gałęzie stanów stacjonarnych  $\alpha(\tau^{c})$  reaktora zbiornikowego otrzymane z uwzględnieniem zrywania biofilmu, tj. dla  $r_{det} > 0$  niewiele się różnią od gałęzi otrzymanych przy założeniu  $r_{det} = 0$ . Istnieją jednak znaczne różnice pomiędzy charakterystyką stacjonarną bioreaktora określaną z uwzględnieniem biofilmu (rys.1b) w porównaniu z taką charakterystyką określoną bez uwzględnienia biomasy na ściankach aparatu (Rys. 1a).

Przedstawiony w pracy sposób postępowania może być użyty do innych procesów prowadzonych w bioreaktorach zbiornikowych po uwzględnieniu stosownej kinetyki procesu mikrobiologicznego.

# Oznaczenia

 $ak_s$  – objętościowy współczynnik wnikania masy, [1/s]

 $c_{\rm A}, c_{\rm B}$  – stężenie odpowiednio substratu węglowego i aktywnej

- biomasy, [kg/m<sup>3</sup>]
- d-średnica aparatu, [m]
- $F_V$  objętościowe natężenie przepływu, [m<sup>3</sup>/s]
- *H*-wysokość słupa cieczy w bioreaktorze, [m]
- $r_{\rm A}$  szybkość zużywania substratu węglowego, [kg/(m<sup>3</sup>·h)]
- $r_{\rm B}$  szybkość przyrostu biomasy, [kg/(m<sup>3</sup>·h)]
- $r_{det}$  szybkość zrywania biofilmu, [kg/(m<sup>2</sup>·h)]
- $\alpha$  stopień przemiany substratu węglowego,  $\alpha = (c_{Af} c_A)/c_{Af}$
- $\varepsilon^{c}$  udział objętościowy cieczy w aparacie
- $\tau^{c}$  średni czas przebywania fazy ciekłej w aparacie, [h]

#### Indeksy dolne

f – strumień zasilający

s – dotyczy stężenia na powierzchni biofilmu

### Indeksy górne

b – dotyczy fazy biofilmu

# LITERATURA

- Ajbar A., 2001. Classification of stability behavior of bioreactors with wall attachment and substrate-inhibited kinetics *Biotechnol. Bioeng.*, 72, nr 2, 166-176. DOI: 10.1002/1097-0290(20000120)72:2<166::AID-BIT5>3.0.CO;2-R
- Ajbar A., 2001. Stability analysis of the biodegradation of mixed wastes in a continuous bioreactor with cell recycle *Wat. Res.*, 35, nr 5, 1201-1208. DOI: 10.1016/S0043-1354(00)00392-4
- Chi C.T., Howell J.A., Pawlowsky U., 1974. The regions of multiple steady states of a biological reactor with wall growth, utilising inhibitory substrates *Chem. Eng. Sci.*, 29, nr 1, 207-211. DOI: 10.1016/0009-2509(74)85046-3
- Dunn I.J., Heinze E., Ingham J., Prenosil J.E., 2003. Biological reaction engineering, Wiley, Weinheim.
- Eberl H.J., Picioreanu C., Heijnen J.J., Loosdrecht M.C.M., 2000. A three-dimensional numerical study on the correlation of spatial structure, hydrodynamic conditions and mass transfer and conversion in biofilms *Chem. Eng. Sci.*, 55, nr 24, 6209-6222. DOI: 10.1016/S0009-2509(00)00169-X
- Kommedal R., Bakke R., 2003. Modeling pseudomonas aeruginosa biofilm detachment HiT Working Paper no 3/2003, Telemark University College, Porsgrunn
- Loosdrecht M.C.M., Eikelboom D., Gjaltema A., Mulder A., Tijhuis L., Heijnen J.J., 1995. Biofilm structures *Wat. Sci. Technol.*, 32, nr 8, 35-43. DOI: 10.1016/0273-1223(96)00005-4
- Makinia J., Wells S.A., 2000. A general model of the activated sludge reactor with dispersive flow—I. model verification and application *Wat. Res.*, 34, nr 16, 3987-3996. DOI: 10.1016/S0043-1354(00)00150-0
- Pawlowsky U., Howell J.A., 1973. Mixed culture biooxidation of phenol. I. Determination of kinetic parameters *Biotechnol. Bioeng.*, 15, nr 5, 889-896. DOI: 10.1002/bit.260150506
- Stamou A.I., 1997. Modelling of oxidation ditches using an open channel flow 1-D advection-dispersion equation and ASM1 process description *Wat. Sci. Tech*nol., 36, nr 5, 269-276. DOI: 10.1016/S0273-1223(97)00483-6
- Tabiś B., Skoneczny S., 2010. Diffusional penetration depths in biofilms *Chem. Eng. Proc.*, 31, nr 4, 857-871.
- Topiwala H.H., Hamer G., 1971. Effect of wall growth in steady-state continuous culture *Biotechnol. Bioeng.*, 13, nr 6, 919-922. DOI: 10.1002/bit.260130614