

AKADEMIA TECHNICZNO-ROLNICZA  
IM. JANA I JĘDRZEJA ŚNIADECKICH  
W BYDGOSZCZY

Rozprawy  
Nr 4

Włodzimierz Sokół

UTLENIANIE SUBSTRATU  
INHIBITUJĄCEGO WZROST MIKROORGANIZMÓW  
W PRZEPLYWOWYM REAKTORZE ZBIORNIKOWYM  
W STANIE NIEUSTALONYM

BYDGOSZCZ - 1981



AKADEMIA TECHNICZNO-ROLNICZA  
IM. JANA I JĘDRZEJA ŚNIADECKICH  
W BYDGOSZCZY

663.023.094.37:577.15/.17:547.56:541  
.128](04)(083/084.2)

Rozprawy  
Nr 4

Włodzimierz Sokół

UTLENIANIE SUBSTRATU  
INHIBITUJĄCEGO WZROST MIKROORGANIZMÓW  
W PRZEPLYWOWYM REAKTORZE ZBIORNIKOWYM  
W STANIE NIEUSTALONYM

BYDGOSZCZ - 1981

PRZEWODNICZĄCY KOMITETU REDAKCYJNEGO  
doc. dr hab. Juliusz Skonieczny

OPINIODAWCY

Prof. dr hab. Helena Oberman  
Prof. dr inż. Mieczysław Serwiński

REDAKTORZY NAUKOWI

doc. dr hab. Ojcumiła Stefaniak  
doc. dr Michalina Sierocka

60536

OPRACOWANIE REDAKCYJNE I TECHNICZNE

mgr Grażyna Winiarska, Alfons Grzenkiewicz

Wydano za zgodą Rektora  
Akademii Techniczno-Rolniczej  
w Bydgoszczy

WYDAWNICTWO UCZELNIANE AKADEMII TECHNICZNO-ROLNICZEJ  
W BYDGOSZCZY

---

Wyd. I. Nakład 100+50 egz. Ark. wyd. 11,9. Ark. druk. 8,75. Papier kl. V, 70g, 70×100 cm.

Oddano do druku w sierpniu 1981 r. Druk ukończono w listopadzie 1981 r.

Zam. nr 681/81. Cena 35 zł W-6/125

WSiP Zakłady Graficzne w Bydgoszczy

# S P I S   T R E Ś C I

	str.
CD AUTORA .....	3
OZNACZENIA WIELKOŚCI I JEDNOSTKI MIAR .....	5
I. WPROWADZENIE .....	7
1. Geneza pracy .....	7
2. Omówienie dotychczasowych badań szybkości właściwej wzrostu komórek bakterii .....	9
3. Cel, metoda i zakres badań .....	20
II. PODSTAWY TEORETYCZNE .....	21
1. Bilans masowy idealnego reaktora zbiornikowego przepływowego ..	24
2. Szybkość właściwa pobierania substratu w stanie ustalonym .....	25
3. Szybkość właściwa pobierania substratu w stanie nieustalonym ..	36
III. BADANIA DOŚWIADCZALNE .....	47
1. Opis aparatury doświadczalnej .....	47
2. Materiały i metody analityczne .....	49
3. Sposób prowadzenia doświadczeń .....	51
3.1. Wyznaczanie parametrów hodowli w stanach nieustalonych ...	52
3.2. Pomiarzy szybkości właściwej pobierania substratu .....	53
IV. OPACOWANIE WYNIKÓW BADAŃ DOŚWIADCZALNYCH .....	57
1. Doświadczalne wartości szybkości właściwej pobierania substratu w stanie ustalonym .....	57
2. Doświadczalne wartości szybkości właściwej pobierania substratu w stanie nieustalonym .....	61
3. Określenie wartości zastępczego czasu $t_z^*$ .....	63
4. Określenie wartości parametru T .....	72
5. Obliczenie doświadczalnych wartości $t_0$ .....	77
V. PODSUMOWANIE .....	78
1. Omówienie wyników badań .....	78
2. Wnioski końcowe .....	91
3. Obszar stabilności utleniania .....	95
4. Kierunki przyszłych badań doświadczalnych .....	103
LITERATURA .....	107
RYSUNKI .....	113

OD AUTORA

Podstawą rozważań teoretycznych przedstawionych w niniejszej pracy były wyniki doświadczalne uzyskane podczas stażu naukowego w Zespole Inżynierii Biochemicznej Uniwersytetu Walijskiego w Swansea, Wielka Brytania, kierowanym przez Dr. J. A. Howella. Część wyników, dotyczących kinetyki utleniania fenolu przez *Pseudomonas putida* w stanie ustalonym, które opracowałem wspólnie z Dr. J. A. Howellem, została przedstawiona do publikacji w *Bio-technology and Bioengineering*.

Pragnę w tym miejscu podziękować Dr. J. A. Howellowi za umożliwienie wykonania dodatkowych badań nad kinetyką tego procesu w stanie nieustalonym. Posłużyły one do sprawdzenia własnej koncepcji opisanego utleniania substratu inhibującego wzrost mikroorganizmów w przepływowym reaktorze zbiornikowym w stanie nieustalonym. Opracowanie wyników badań dla stanu nieustalonego wykonałem w Instytucie Technologii i Inżynierii Chemicznej Akademii Techniczno-Rolniczej im. J. J. Śniadeckich w Bydgoszczy w ramach działalności badawczej tej placówki.

Autor

OZNACZENIA WIELKOŚCI I JEDNOSTKI MIAR

D	- szybkość rozcieńczenia	$[h^{-1}]$
$K_S$	- stała nasycenia	$[mg/l]$
$K_I$	- stała inhibicji	$[mg/l]$
$m_f$	- masa fenolu utlenionego w reaktorze okresowym	$[mg]$
$m_r$	- masa radioaktywnego fenolu utlenionego w reaktorze okresowym	$[mg]$
$M_f$	- masa fenolu w reaktorze okresowym na początku doświadczenia	$[mg]$
P	- szybkość właściwa pobierania substratu	$\frac{[mg \text{ substratu}]}{[mg \text{ biomasy} \cdot h]}$
$P_{max}$	- maksymalna szybkość właściwa pobierania substratu	$\frac{[mg \text{ substratu}]}{[mg \text{ biomasy} \cdot h]}$
$P_p$	- szybkość właściwą pobierania substratu w reaktorze okresowym	$\frac{[mg \text{ substratu}]}{[mg \text{ biomasy} \cdot h]}$
$P_r$	- szybkość właściwa pobierania substratu w reaktorze przepływowym	$\frac{[mg \text{ substratu}]}{[mg \text{ biomasy} \cdot h]}$
r	- zawartość radioaktywnego fenolu w biozawiesinie w reaktorze okresowym	
R	- stała gazowa	$[kJ/kmol \cdot deg]$
S	- stężenie substratu w reaktorze przepływowym	$[mg/l]$
$S_o$	- stężenie substratu w pożywce	$[mg/l]$
$S_p$	- stężenie substratu w reaktorze okresowym	$[mg/l]$
t	- czas od wystąpienia zakłócenia	$[h]$
$t_o$	- czas liczony od zakłócenia, w którym nie występuje zmiana aktywności metabolicznej komórek	$[h]$
T	- parametr charakteryzujący szybkość przystosowywania się komórek do zmian S w reaktorze przepływowym	$[h^{-1}]$
T'	- temperatura	$[^{\circ}C]$
$V_p$	- objętość biozawiesiny w reaktorze okresowym na początku doświadczenia	$[ml]$
X	- stężenie biomasy w zawiesinie w reaktorze przepływowym	$[mg/l]$
$X_o$	- stężenie komórek rosnących na ścianach reaktora przepływowego	$[mg/l]$
Y	- wydajność ogólna wzrostu komórek	$\frac{[mg \text{ biomasy}]}{[mg \text{ substratu}]}$
$\eta$	- stopień przemiany substratu	

$\mu$	- szybkość właściwa wzrostu komórek	$[h^{-1}]$
$\mu_{\max}$	- maksymalna szybkość właściwa wzrostu komórek	$[h^{-1}]$
$\tau$	- czas pomiaru masy $m_f$	$[\text{min}]$
$\theta$	- średni czas przebywania	$[h]$

## INDEKSY DOLNE

e	- oznacza wielkość równoważną
k	- oznacza wartości krytyczne
n	- odnosi się do stanu nieustalonego
s	- oznacza stan stabilny
z	- oznacza wielkość zastępczą
w	- dotyczy wartości zmierzonych w pomiarach wstępnych
1	- oznacza stan ustalony przed zakłóceniem
2	- oznacza stan ustalony po uprzednim wystąpieniu zakłócenia

## INDEKS GÓRNY

*	- oznacza stan ustalony
---	-------------------------



## I. W P R O W A D Z E N I E

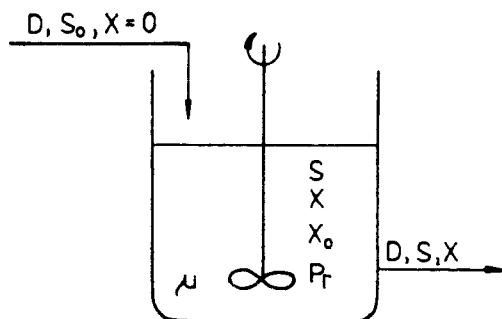
### 1. GENEZA PRACY

Z uwagi na coraz częstsze stosowanie w przemyśle chemicznym i w pokrewnych bioreaktorów zbiornikowych przepływowych, na przykład do otrzymywania białka paszowego, biologicznego oczyszczania ścieków itp., istotnym zagadnieniem podczas projektowania i eksploatacji takich aparatów jest znajomość dynamiki utleniania substratu.

Bilans masowy biomasy i substratu ograniczającego wzrost komórek w idealnym reaktorze zbiornikowym przepływowym opisuje następujący układ równań różniczkowych (rys.1) [1,2]:

$$\frac{dX}{dt} = -DX + \mu X \quad (1)$$

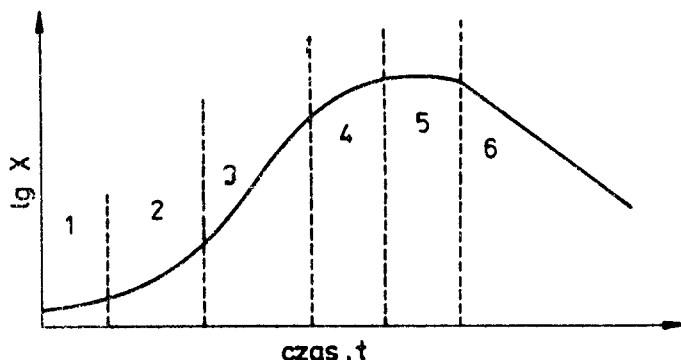
$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \frac{\mu X}{Y} \quad (2)$$



Rys.1 Schemat idealnego reaktora zbiornikowego przepływowego do bilansu masowego biomasy i substratu

Występującą w powyższym układzie równań szybkość właściwą wzrostu komórek  $\mu$  definiuje się następująco (rys.2) :

$$\mu = \frac{1}{X} \frac{dX}{dt}$$



Rys.2 Zmiana stężenia biomasy X w czasie t liczonym od wprowadzenia inokulum do reaktora okresowego

- 1 - Faza spoczynkowa ; szybkość właściwa wzrostu komórek jest równa zero
- 2 - Faza przyspieszenia ; szybkość właściwa wzrostu komórek zwiększa się z czasem
- 3 - Faza wzrostu wykładniczego ; szybkość właściwa wzrostu komórek jest stała
- 4 - Faza opóźnienia ; szybkość właściwa wzrostu komórek zmniejsza się z czasem
- 5 - Faza stacjonarna ; szybkość właściwa wzrostu komórek jest równa zero
- 6 - Faza zamierania ; szybkość właściwa wzrostu komórek jest ujemna

W zakresie wykładniczego wzrostu komórek, gdzie szybkości zmiany stężenia biomasy ( $dX/dt$ ) są wprost proporcjonalne do stężeń biomasy X, wartości szybkości właściwej wzrostu komórek  $\mu$  są jednakowe (rys.2).

W modelu przyjętym przez autorów [3-8], wartości  $\mu$  w reaktorze przepływowym były w stanie ustalonym ściśle związane ze stężeniem S substratu ograniczającego wzrost komórek. W stanie nieustalonym wartości  $\mu$  zależały ponadto od czasu t, liczonego od wystąpienia zakłócenia. Wykorzystanie w równaniach (1) i (2) szczegółowych zależności :  $\mu = f(S)$  lub  $\mu = \varphi(S, t)$ , otrzymanych doświadczalnie dla danego modelu biologicznego i składnika utlenianego, z reguły prowadziło do znacznych różnic między wartościami S

i X obliczonymi oraz zmierzonymi. Nierzadko wyniki teoretyczne różniły się od doświadczalnych nawet jakościowo. Na przykład w przypadkach, w których według rozwiązania teoretycznego cała ilość substratu powinna ulec bio-utlenieniu, doświadczalnie nie stwierdzono jego przemiany, gdyż nastąpiło wymycie komórek z reaktora [8]. Bywało też odwrotnie. Po znacznym nawet zakłóceniu doświadczalnie stwierdzano wysoki stopień przemiany substratu, natomiast teoretycznie powinno nastąpić wymycie komórek [5,8]. Po wymyciu komórek z reaktora stężenie biomasy w zawieszynie było równe zero i wobec braku wzrostu bakterii na ścianach reaktora nie zachodziło utlenianie doprowadzanego substratu. Rozbieżności między rozwiązaniami teoretycznymi i doświadczalnymi wynikają stąd, że zarówno szeregowa zależność  $\mu = f(S)$ , jak również  $\mu = \varphi(S, t)$ , nie uwzględniają zjawiska histerezy mikrobiologicznej [4-9].

W pracy niniejszej proces utleniania substratu w reaktorze zbiornikowym przepływowym w stanie nieustalonym opisano układem równań bilansu masyowego łącznie z dynamicznym równaniem kinetycznym, określającym aktywność metaboliczną komórek bakterii w stanie nieustalonym. Zaproponowane równanie kinetyczne uwzględnia zjawisko histerezy mikrobiologicznej. Aktywność metaboliczną komórek bakterii w stanie nieustalonym określano w tej pracy szybkością właściwą pobierania substratu P, definiowaną jako ilość substratu utlenianego przez jednostkę masy komórek w jednostce czasu. Z przedstawionych dalej rozważań wynika bowiem, że wartość P w stanie nieustalonym można wyznaczyć doświadczalnie.

## 2. OMÓWIENIE DOTYCHCZASOWYCH BADAŃ SZYBKOŚCI WŁAŚCIWEJ WZROSTU KOMÓREK BAKTERII

Dla regulacji jednosubstratowej, zależność szybkości właściwej wzrostu komórek  $\mu$  od stężenia S substratu źródła węgla, inhibitującego wzrost mikroorganizmów, opisują równania o następującej postaci [6-10]:

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_S + S + S^2/K_1} \quad (3)$$

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_S + S + S^n/K_1} \quad (4)$$

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S(1 + \beta S/K_1)}{K_S + S + S^2/K_1} \quad (5)$$

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S (1 + S/K)}{K_S + S + S^2/K_1} \quad (6)$$

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_S + S + (S^2/K_1) (1 + S/K)} \quad (7)$$

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S \exp(-S/K_1)}{K_S + S} \quad (8)$$

$$\mu = \frac{\mu_{\max}}{1 + K_S/S + \sum_{j=1}^n (S/K_j)^n} \quad (9)$$

$$\mu = \mu_{\max} [\exp(-S/K_1) - \exp(-S/K_S)] \quad (10)$$

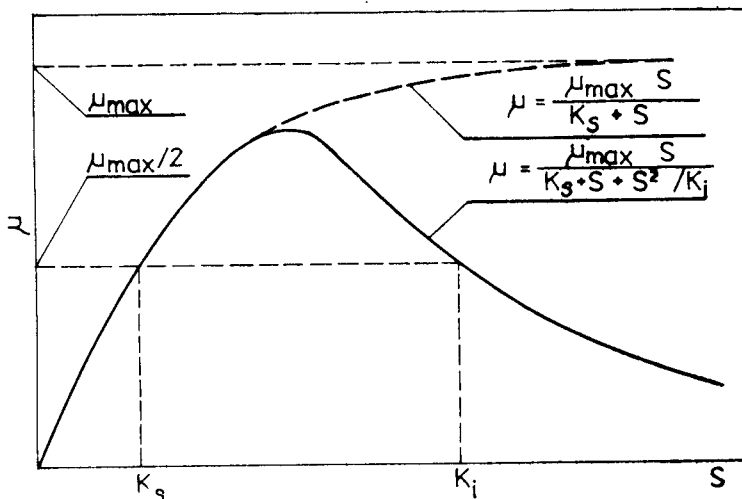
Wartości parametrów kinetycznych  $K_S$ ,  $K$ ,  $K_1$ ,  $K_j$ ,  $n$ ,  $\mu_{\max}$  i  $\beta$  występujących w powyższych równaniach oblicza się na podstawie wartości  $\mu$ , wyznaczonych doświadczalnie dla danego modelu biologicznego i składnika utlenianego [1-4].

Edwards [6] opisując powyższymi równaniami doświadczalne wartości  $\mu$ , wyznaczone przez autorów [11-15], stwierdził najmniejszy pas rozrzutu punktów w przypadku zastosowania równań (3) (4) (5) i (9). Błędy funkcji otrzymane w przypadku opisu wartości  $\mu$  równaniami (3) (4) (5) i (9) mało różniły się od siebie. Dlatego wymieniony autor sugeruje, aby doświadczalne wartości  $\mu$  opisywać trójparametrowym równaniem (3), z uwagi na najprostszą jego budowę w porównaniu z zależnościami (4) (5) i (9). Graficzny obraz równania (3) przedstawiono na rys.3. Z rysunku tego wynika, że stała nasycenia  $K_S$  oraz stała inhibicji  $K_1$  są równe takiemu stężeniu  $S$ , odpowiednio w zakresie aktywującego oraz hamującego działania substratu, przy którym  $\mu = \mu_{\max}/2$ .

W przypadku, gdy wartość  $K_1$  jest tak duża, że  $K_1 \gg S^2$ , wówczas zależność (3) sprowadza się do postaci:

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_S + S} \quad (11)$$

zatem takiej samej, jak równanie Monoda opisujące zależność  $\mu$  od stężenia  $S$  substratu aktywującego wzrost mikroorganizmów (rys.3) [1,2].



Rys.3 Zależność szybkości właściwej wzrostu komórek  $\mu$  od stężenia  $S$  inhibitującego substratu regulującego

Zastosowanie w równaniach (1) i (2) szczegółowej, dla danego układu biologicznego i składnika degradowanego, postaci wzoru (3) prowadzi do wspomnianych uprzednio rozbieżności wyników teoretycznych i doświadczalnych zarówno ilościowych, jak i jakościowych [4,8,10,16-18].

Howell i współpracownicy [19] stwierdzili dla przypadku osadu czynnego wzrastającego na pożywce, w której źródłem węgla był fenol, różnice jakościowe między rozwiązaniami teoretycznymi otrzymanymi na podstawie równań (1) (2) i (3) a wynikami doświadczalnymi, nawet dla stanu ustalonego. Ponadto po zakłóceniach, po których według rozwiązań teoretycznych powinno nastąpić wymycie komórek z reaktora, doświadczalnie stwierdzono utlenienie praktycznie całej ilości fenolu doprowadzonego do reaktora [19]. W celu uzyskania lepszej zgodności rozwiązań teoretycznych z wynikami doświadczalnymi, wspomniani autorzy uwzględnili w bilansach masowych substratu i biomasy również masę fenolu utlenionego przez komórki rosnące na ścianach reaktora, otrzymując następujący układ równań [19]:

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \frac{1}{Y} \mu (X + X_0) \quad (12)$$

$$\frac{dX}{dt} = -DX + \mu (X + X_0) \quad (13)$$

w którym wielkość  $X_0$  oznacza masę komórek na ścianach reaktora przypadającą na jednostkę jego objętości [19].

Wyniki teoretyczne otrzymane na podstawie równań (3) (12) i (13) były zgodne z wynikami doświadczalnymi jedynie dla stanu ustalonego. Dla stanu nieustalonego wystąpiły różnice zarówno ilościowe, jak i jakościowe [19, 20]. Rozbieżności wyników teoretycznych z doświadczalnymi wynikały stąd, że wartości  $\mu$  były zależne nie tylko od zmieniającego się stężenia S, ale również od szybkości zmian S oraz od czasu [21-25].

Powell [22] opisał wartości  $\mu$  równaniem :

$$\mu = Y Q f S$$

w którym wielkość Q jest niezdefiniowanym współczynnikiem aktywności metabolicznej komórek w stanie nieustalonym.

Rozwijając teorię Powella, Chi i Howell [18] opisali utlenianie fenolu przez *Pseudomonas putida* w stanie nieustalonym następującym układem równań:

$$\frac{dQ}{dt} = \frac{Q \mu_{\max} S}{K_S + S + S^2/K_1} - \frac{Y Q^2 S}{c K_S + S + cS^2/K_1} \quad (14)$$

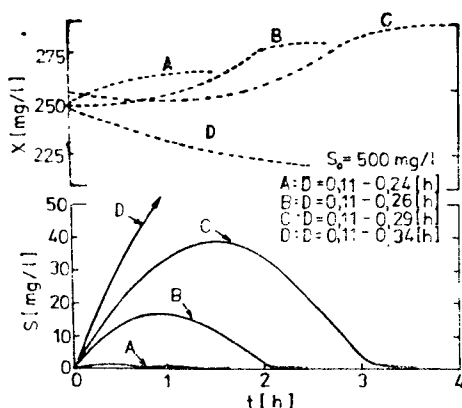
$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \frac{Q S (X + X_0)}{c K_S + S + cS^2/K_1} \quad (15)$$

$$\frac{dX}{dt} = \frac{Y Q S (X + X_0)}{c K_S + S + cS^2/K_1} - DX \quad (16)$$

w którym wielkość c jest ilorazem najmniejszej i największej wartości Q w stanie nieustalonym [18,22]. Rozwiązując numerycznie powyższy układ równań dla różnych wielkości zakłóceń, cytowani autorzy stwierdzili dobrą zgodność rozwiązań teoretycznych z wynikami doświadczalnymi jedynie dla zakłóceń nie przekraczających około 30 % wartości parametrów w stanie ustalonym poprzedzającym zakłócenie [18]. Wynikało to z zastosowania w równaniach (14) (15) i (16) wartości  $\mu_{\max}$ ,  $K_S$  i  $K_1$  otrzymanych na podstawie  $\mu$  zmierzonych w reaktorze okresowym. Ostatni układ równań nie uwzględniał więc zjawiska histerezy mikrobiologicznej [9,10,18,22,25].

Autorzy prac [25-27] podkreślają, że szybkości zmiany stężeń substratu i biomasy zależą nie tylko od wielkości zakłócenia, ale również od szybkości rozcieńczania, przy której wystąpiło zakłócenie. Skokowe zwiększenie szybkości rozcieńczania D lub stężenia  $S_0$ , nie przekraczające około 20 % wartości D lub  $S_0$  w stanie ustalonym poprzedzającym zakłócenie, dokonane przy  $D < 0,8 \mu_{\max}$ , nie powoduje nawet przejściowego zwiększenia S

(rys.4 i 5) [3]. Wystąpienie większego zakłócenia prowadzi albo do przejściowego zwiększenia stężenia  $S$  lub do wymycia komórek z reaktora (rys.4 i 5) [3,27-31]. W ostatnim przypadku stężenie biomasy w zawieszynie stopniowo zmniejsza się do zera i w nowym stanie ustalonym stężenie  $S$  jest równe stężeniu  $S_0$ ; zatem w ogóle nie zachodzi utlenianie substratu. Należy podkreślić, że w przypadku wzrostu komórek na ścianach reaktora po wystąpieniu nawet bardzo dużych zakłóceń nie występuje ich wymycie z reaktora. W takich przypadkach z reguły jednak tylko niewielka część inhibitującego substratu doprowadzonego do reaktora ulega utlenieniu [18].



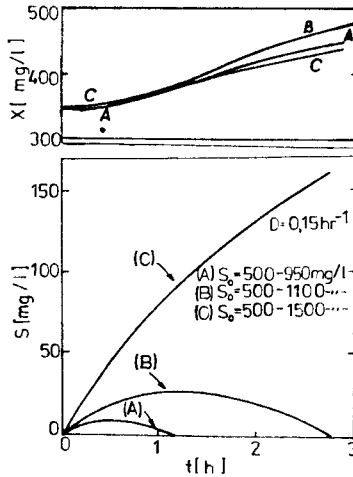
Rys.4 Zmiana stężeń substratu  $S$  i biomasy  $X$  w czasie  $t$ , po zastosowaniu różnych wielkości skokowego zwiększenia szybkości rozcieńczania  $D$  [3]. (*Pseudomonas putida* - fenol,  $\text{pH} = 6,0$ ,  $T = 30^\circ\text{C}$ )

Yang i Humphrey [3] opisali stężenia substratu i biomasy w stanie nieustalonym układem równań (1) i (2) łącznie z zależnością:

$$\mu = \mu(0) + d \cdot t \quad (17)$$

Wielkość  $\mu(0)$  występująca w powyższym równaniu oznacza szybkość właściwą wzrostu komórek natychmiast po zakłóceniu, zaś „ $d$ ” jest parametrem charakterystycznym dla układu mikroorganizmy - substrat. Można zauważyć, że według ostatniego równania wartości  $\mu$  zwiększają się liniowo z czasem i nie zależą od stężenia substratu w stanie nieustalonym. Badania doświadczalne wielu autorów [9,25,32-34] wskazują jednak na istnienie ścisłego związku między wartościami  $\mu$  i stężeniem  $S$ . Z tego względu rozwiązania teoretyczne, otrzymane na podstawie równań (1) (2) i (17) dla przypadków utleniania fenolu zarówno przez *Trichosporon cutaneum*, jak i przez *Pseudomonas putida*, były tylko jakościowo zgodne z wynikami doświadczalnymi. Wartości  $S$  i  $X$  obliczone według równań (1) (2) i (17) różniły

się bowiem od doświadczalnych S i X nawet kilkadziesiąt razy [3].



Rys.5 Zmiana stężeń substratu S i biomasy X w czasie t, po zastosowaniu różnych wielkości skokowego zwiększenia stężenia  $S_0$  substratu w pożywce [3]. (*Trichosporon cutaneum* - fenol, pH = 4,5 ,  
 $T = 30^{\circ}\text{C}$ )

Chase [35] przyjął, że szybkość przemiany substratu jest wprost proporcjonalna do stężenia „z” enzymu utleniającego. Wartość „z” była funkcją zarówno stężenia S, jak i czasu t. Mianowicie :

$$\frac{dS_b}{dt} = - A X z(S, t) \quad (18)$$

Przy wielkości S użyto indeksu „b” dla podkreślenia zmiany stężenia S wywołanej tylko bioutlenieniem. Wymieniony autor założył ponadto, że w stanie ustalonym w komórkach występowało równowagowe stężenie enzymu  $z_e^*$ , ściśle związane ze stężeniem  $S^*$  i opisał je równaniem [35] :

$$z_e^* = \frac{z_{\max}^* S^*}{K_S^* + S^*} \quad (19)$$

Można zauważyć, że powyższe równanie ma analogiczną postać jak wzór (11), określający zależność  $\mu^*$  od stężenia  $S^*$  substratu aktywującego wzrost



mikroorganizmów [1,2]. Szybkość zmiany stężenia enzymu „z” w komórkach, Chase [35] opisał równaniami :

$$\frac{dz}{dt} = k(z_e^* - z) \quad \text{gdy } z \leq z_e^* \quad (20)$$

oraz

$$\frac{dz}{dt} = -kz \quad \text{gdy } z > z_e^* \quad (21)$$

w których wielkość k oznacza stałą szybkości syntezy enzymu. Na podstawie wzorów (18) (19) (20) i (21) otrzymuje się ostatecznie następujący układ równań :

$$\frac{d^2 S_b}{dt^2} - \frac{1}{X} \frac{dS_b}{dt} \frac{dX}{dt} + k \frac{dS_b}{dt} + \frac{1}{Y} k X \frac{z^* \max}{K_S + S^*} = 0 \quad (22)$$

$$\text{gdy } z \leq z_e^*$$

oraz

$$\frac{d^2 S_b}{dt^2} - \frac{1}{X} \frac{dS_b}{dt} \frac{dX}{dt} + \frac{dS_b}{dt} = 0 \quad (23)$$

$$\text{gdy } z > z_e^*$$

opisujący zmianę stężenia substratu w czasie wywołaną tylko bioutlenianiem. Związek między szybkością zmiany stężenia substratu w reaktorze ( $dS/dt$ ) i szybkością zmiany stężenia substratu wywołanej bioutlenianiem ( $dS_b/dt$ ), Chase opisał równaniem [35]:

$$\frac{dS_b}{dt} = \frac{dS}{dt} - \frac{dS_c}{dt} \quad (24)$$

Ponieważ wielkości  $z_{\max}^*$ ,  $K_S^*$  i  $S^*$  występujące w równaniu (22) dotyczą stanu ustalonego, zatem zależności (19) (20) i (21) również nie uwzględniają zjawiska histerezy mikrobiologicznej [9,35]. Niestety zbyt mała liczba doświadczeń nie pozwala ocenić zgodności rozwiązań teoretycznych z wynikami doświadczalnymi cytowanego autora [35].

Według Aiby i współpracowników [36,37] ustalenie zależności szybkości zmiany stężenia składników wewnątrzkomórkowych, a w szczególności szybkości zmiany stężenia RNA, od parametrów hodowli może prowadzić do opracowania ogólnych podstaw dynamiki hodowli. Sposób wykorzystania doświadczalnej wartości stężenia RNA w komórkach *Azotobacter vinelandii* hodowanych na glukozie przedstawiono w pracy [38]. Stan nieustalony, wywołany dodaniem substratu z jednoczesną zmianą hodowli ciągłej na okresową, trwający do całkowitego wyczerpania substratu, opisano układem równań [38]:

$$\frac{dX}{dt} = k_1 \left( \ln \frac{N_R}{N_{R_0}} \right) X \quad (25)$$

$$\frac{dS}{dt} = (k_2 - k_3 N_R) X \quad (26)$$

$$\frac{dN_R}{dt} = k_4 (N_{R_{\max}} - N_R) (N_R - N_{R_1} + \gamma) \quad (27)$$

w którym  $N_R$  oznacza stężenie RNA. Wielkości  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$ ,  $k_4$  i  $\gamma$  występujące w powyższych równaniach są współczynnikami empirycznymi,  $N_{R_1}$  i  $N_{R_0}$  oznaczają zawartość RNA w komórkach, odpowiednio w czasie  $t = 0$  oraz  $t = t_0$  gdy  $\mu = 0$ , a  $N_{R_{\max}}$  jest maksymalną wartością  $N_R$ . Wyznaczając współczynniki  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$ ,  $k_4$  i  $\gamma$  metodą kolejnych przybliżeń, tak aby równania (25)(26) i (27) najlepiej opisywały zmierzony  $S$ ,  $X$  i  $N_R$ , wymienieni autorzy stwierdzili ścisły związek między wartością  $k_4$  i szybkością rozcieńczenia  $D$ . Wartości pozostałych współczynników nie zależały od  $D$ . Na tej podstawie sugerują, że w hodowli ciągłej poziom kompleksu enzymatycznego utleniającego substrat jest ściśle związany z szybkością rozcieńczenia [38]. Również własne badania nad kinetyką utleniania fenolu w reaktorze okresowym przez bakterie *Pseudomonas putida*, wyhodowane w reaktorze zbiornikowym przepływowym w stanie ustalonym, wykazały istnienie ścisłej zależności między wartościami  $\mu_{\max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  a stężeniem fenolu w reaktorze przepływowym [34,39]. Stężenie fenolu na wylocie z reaktora było ściśle związane z szybkością rozcieńczenia, praktycznie jednak nie zależało od stężenia fenolu w pożywce [34].

W innej pracy [40] Aiba i współpracownicy przyjmują, na podstawie badań doświadczalnych przedstawionych w pracach [41-43], liniową zależność  $\mu$  od zawartości RNA w komórkach, opisując ją równaniem :

$$\mu = k' (N_R - N_{R_0})$$

w którym wielkość  $k'$  jest współczynnikiem proporcjonalności, znaczenie  $N_R$  podano przy omawianiu związków (25) (26) i (27). Wspomnianą wyżej hodowlę w stanie nieustalonym opisano tym razem równaniami (26) i (27) łącznie z zależnością :

$$\frac{dX}{dt} = k' (N_R - N_{R_0}) X$$

stwierdzając dobrą zgodność rozwiązań teoretycznych z wynikami doświadczalnymi [38].

Young i współpracownicy [25,44] przyjmując, że wartość  $\mu$  jest wprost proporcjonalna do stężenia  $S_1$  substratu wewnątrz komórek, opisali jego utlenianie w stanie nieustalonym następującym układem równań :

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \frac{\mu X}{Y} - K_{S_1} \frac{S}{K_S + S} \quad (28)$$

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - DX \quad (29)$$

$$\frac{d\bar{\mu}}{dt} = \left[ K_{S_1} \frac{S}{K_S + S} - \bar{\mu} \right] \frac{1}{K'} \quad (30)$$

gdzie :  $\bar{\mu} = \mu - \mu^*$  ;  $S = S - S^*$  ;  $Y = Y^* - K_Y \bar{\mu}$

Wartości parametrów  $K$ ,  $K_S$ ,  $K_Y$  i  $K'$  wyznaczono, dla drożdży z gatunku *Saccharomyces cerevisiae* hodowanych na glukozie, metodą kolejnych przybliżeń, tak aby rozwiązania teoretyczne najmniej różniły się od wyników doświadczalnych [44-47]. Autorzy ci stwierdzili dobrą zgodność  $S$  i  $X$  zmierzonych oraz obliczonych według równań (28) (29) i (30) jedynie dla początkowego okresu po skokowym zwiększeniu  $D$  lub  $S_0$  ; zatem w zakresie zwiększającego się stężenia  $S$ . Natomiast dla zakresu zmniejszającego się stężenia substratu,

doświadczalne S i X były wielokrotnie większe od obliczonych. Powyższe rozbieżności wynikały stąd, że równanie (30) nie ujmowało zjawiska histerezy w zakresie zmniejszającego się stężenia substratu w reaktorze (rys.4 i 5).

Koncepcję kinetycznego modelu dwu stanów dla hodowli mieszanej przedstawiono w pracy [48]. Autorzy przyjęli, że komórki w zawiesinie występują w postaci rozproszonej i w zespołach. Z tego względu mają różne warunki wzrostu, a zwłaszcza występują różne opory transportu pożywki i tlenu. Zakładając ponadto, że proces tworzenia się i rozpadania zespołów jest odwracalny, otrzymali następujący układ równań [48]:

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \frac{1}{Y_1} \mu_1 X_1 - \frac{1}{Y_2} \mu_2 X_2 \quad (31)$$

$$\frac{dX_1}{dt} = -DX_1 + \mu X_1 + K_2 SX_2 - K_1 X_1 \quad (32)$$

$$\frac{dX_2}{dt} = -DX_2 + \mu_2 X_2 + K_1 X_1 - K_2 SX_2 \quad (33)$$

opisujące stężenia S i X w stanie nieustalonym. Wielkości z indeksem "1" odnoszą się do komórek rozproszonych w zawiesinie, a z indeksem "2" do tworzących zespoły. Wartości parametrów  $K_1$  i  $K_2$  określa się na podstawie doświadczalnych S i X, tak aby wartości S i  $X = X_1 + X_2$  obliczone według równań (31) (32) i (33) najmniej różniły się od zmierzonych S i X [46-48]. W przypadku hodowli na podłożu płynnym czystej kultury, kiedy populacja występuje w postaci rozproszonej, autorzy [48] sugerują rozróżnienie dwóch grup komórek, o różnych szybkościach właściwych wzrostu. Cytowani autorzy nie dokonali jednak identyfikacji modelu z uwagi na brak wyników doświadczalnych.

Szybkość zmniejszania się wartości  $\mu$  bakterii *Aerobacter aerogenes*, ze wzrostem stężenia etanolu powstającego w ciągłej fermentacji etanolowej inhibującego wzrost komórek, była przedmiotem pracy [49]. Wartości  $\mu$  opisano równaniem :

$$K^2 \frac{d^2 \mu}{dt^2} + 2 K^2 \xi \frac{d\mu}{dt} + \mu = \mu_{\max} (1 - q P_t) \quad (34)$$

w którym wielkość K oznacza stałą czasową,  $\xi$  współczynnik tłumienia,  $P_t$  stężenie produktu [% obj.], a q stałą [1/% etanolu]. Należy dodać, że prawa strona ostatniego równania określa szybkość właściwą wzrostu w stanie ustalonym fermentacji etanolowej [49].

Utlenianie glukozy przez *Aerobacter aerogenes* w stanie nieustalonym,

po skokowej zmianie temperatury hodowli ciągłej w zakresie od 25°C do 45°C, opisano w pracy [50]. Doświadczalnie stwierdzono, że po skokowej zmianie temperatury o taką samą wartość w górę lub w dół, w odniesieniu do temperatury optymalnej równej 25°C, większe zmniejszenie  $\mu$  występuje w przypadku zwiększenia temperatury. Wartości S i X w stanie nieustalonym, wywołanym skokową zmianą temperatury z  $T_1'$  na  $T_2'$ , opisano układem równań [50]:

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \frac{\mu_{\max}(T') S X}{Y(T')[K_S(T') + S]}$$

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_{\max}(T') S X}{K_S(T') + S} - DX - K(T') X$$

gdzie :

$$\mu_{\max}(T') = 2,45 \cdot 10^{10} e^{-14230/RT'} - 1,39 \cdot 10^{23} e^{-3290/RT'}$$

$$\frac{1}{K_S(T')} = 2,96 \cdot 10^{10} e^{-11800/RT'}$$

$$K(T') = 2,71 \cdot 10^5 e^{-9000/RT'}$$

$$T' = T_1' + (T_2' - T_1') (1 - e^{-t/\tau'})$$

Wielkość R występująca w powyższych równaniach jest stałą gazową, a  $\tau'$  stałą czasową. Doświadczalnie wyznaczono dla przypadku podwyższenia temperatury  $\tau' = 1,43$  h, a dla obniżenia  $\tau' = 0,83$  h. Rozwiązania teoretyczne dobrze pokrywały się z wynikami doświadczalnymi jedynie dla małych, nie przekraczających 5°C, skokowych zmian temperatury.

Powyżej przedstawiono przede wszystkim prace [3-52] dotyczące bio-utleniania substratu w stanie nieustalonym, najbardziej interesujące z punktu widzenia problematyki podjętej w niniejszym opracowaniu. Najważniejsze wnioski wynikające z analizy wyników opisanych wyżej badań są następujące :

1. Zastosowanie w równaniach bilansu masowego wzoru (3), po uprzednim wyznaczeniu wartości  $\mu_{\max}$ ,  $K_S$  i  $K_1$  na podstawie  $\mu$  zmierzonych w reaktorze okresowym dla danego modelu biologicznego i degradowanego składnika, prowadzi do znacznych różnic między wynikami teore-

- tycznymi i doświadczalnymi zarówno dla stanu ustalonego, jak i nieustalonego [19,20,52-72].
2. Wykorzystanie w równaniach (1) i (2) zależności (3), po uprzednim wyznaczeniu  $\mu_{\max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  na podstawie wartości  $\mu$  zmierzonych dla danego układu mikroorganizm - substrat w reaktorze okresowym przy stałym stężeniu substratu, daje dobrą zgodność rozwiązań teoretycznych z wynikami doświadczalnymi jedynie dla stanu ustalonego. Dla stanu nieustalonego różnice są znaczne, a nierzadko nawet jakościowe [3].
  3. Różnice między wynikami teoretycznymi i doświadczalnymi w stanie nieustalonym wynikają stąd, że równania określające wartości  $\mu$  dla danego modelu biologicznego nie ujmują zjawiska histerezy mikrobiologicznej [9,25].
  4. Określenie zależności wartości  $\mu$  nie tylko od stężenia  $S$ , ale również od szybkości zmiany  $S$  i od czasu, może prowadzić do poprawy zgodności rozwiązań teoretycznych z wynikami doświadczalnymi [3,18,22].
  5. Niewygodne jest opisanie zależności wartości  $\mu$  od stężenia substratu w stanie nieustalonym i od czasu równaniem różniczkowym obiektu o „n” pojemnościach, na przykład równaniem (34) obiektu dwupojemnościowego, bowiem wartości występujących w nim parametrów nie są stałe, lecz zależą od wielkości zakłócenia [49,73].
  6. Brak jest postaci równania określającego wartości  $\mu$ , po doświadczalnym wyznaczeniu występujących w nim parametrów dla danego modelu biologicznego i utlenianego substratu oraz uwzględniającego występowanie zjawiska histerezy mikrobiologicznej. W stanie nieustalonym dla zwiększającego się stężenia substratu  $S$  występują bowiem wartości  $\mu$  mniejsze, natomiast dla  $S$  zmniejszających się większe wartości  $\mu$ , od  $\mu$  obliczonych według równania wyznaczonego dla stanu ustalonego [9, 18,22,25,35].

### 3. CEL, METODA I ZAKRES BADAŃ

Z podanego wyżej przeglądu literatury wynika, że aby uzyskać zadowalający opis stężeń substratu  $S$  i biomasy  $X$  w stanie nieustalonym, należy określić doświadczalne wartości  $\mu$  równaniem uwzględniającym zjawisko histerezy mikrobiologicznej.

Wartości  $\mu$ , dla komórek wyhodowanych w reaktorze przepływowym przy stężeniu  $S$  w stanie nieustalonym, można wyznaczyć znaną metodą pomiaru zmiany stężenia biomasy  $X_p$  w czasie, dokonując pomiarów  $X_p$  przy stężeniu  $S_p$  równym  $S$  [1-3,8,74]. Opisując doświadczalne wartości  $\mu$ , wyznaczone dla różnych  $S = S_p$ , równaniem (rys.3) :

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S_p}{K_S + S_p + \frac{S_p^2}{K_I}}$$

otrzymuje się jedno rozwiązanie ; jedną wartość  $\mu_{\max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$ . Na podstawie wartości  $\mu$  wyznaczonych w reaktorze okresowym nie można więc ustalić szczegółowej zależności między  $\mu_{\max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  a stężeniem  $S$ , stwierdzonej doświadczalnie w pracach [3,34,72]. Niedogodnością powyższej metody pomiaru  $\mu$  jest ponadto trudność zaplanowania doświadczenia. Przygotowanie pożywki o stężeniu  $S_p = S$  jest możliwe, po uprzednim wyznaczeniu stężenia  $S$  w reaktorze przepływowym. Pomiar  $S$  z równoczesnym pobraniem bakterii z reaktora przepływowego, a następnie dopiero przygotowanie pożywki, znacznie wydłuża czas trwania doświadczenia. Wyznaczone wartości  $\mu$  mogą więc odpowiadać mniejszej ilości i aktywności enzymu w komórkach [3,34]. Zależność między wartościami  $\mu_{\max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  a stężeniem  $S$  można ustalić dokonując pomiarów  $\mu$  jednocześnie w kilku reaktorach okresowych, stosując w nich pożywkę o różnych stężeniach  $S_p$ . Na podstawie  $\mu$  zmierzonych dla bakterii pobranych z reaktora przepływowego przy stężeniu  $S$  otrzymuje się odpowiadające mu wartości  $\mu_{\max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$ . Wyznaczając wartości  $\mu$  dla bakterii pobranych przy różnych stężeniach  $S$ , można ustalić szczegółowe zależności między  $\mu_{\max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  a stężeniem  $S$  [3,34]. Należy zauważyć, że wartości  $\mu$  wyznaczone powyższą metodą mogą być jednak obarczone błędem systematycznym. Ilość enzymu, a także jego aktywność mogą bowiem zmieniać się w trakcie doświadczenia, w wyniku przystosowywania się komórek do stężenia  $S_p$ , różnego od stężenia  $S$ . Zatem zmierzone wartości  $\mu$  mogą nie odpowiadać aktywności komórek w reaktorze przepływowym. Aby tego uniknąć, pomiary stężeń  $X_p$  należałoby dokonywać w krótkim czasie, nie przekraczającym kilkanaście sekund [34,39,44]. Pomiary  $X_p$  w tak krótkim czasie, z potrzebną w inżynierii biochemicznej dokładnością są bardzo trudne, o ile w ogóle możliwe. Objętości reaktorów okresowych określone ilością biomasy, którą jednorazowo można pobrać z laboratoryjnego reaktora przepływowego są małe i zwykle nie przekraczają kilkudziesięciu mililitrów [1-3,34,39,74]. Syntezę enzymu w komórkach, w przypadku gdy  $S_p > S$ , można zatrzymać dodając do zawiesiny w reaktorach okresowych odpowiedni związek chemiczny np. chloramfenikol [75]. Wtedy jednak nie występuje przyrost biomasy i wyznaczona wartość  $\mu$  jest równa zero lub ujemna (rys.2). Z przedstawionych rozważań wynika więc, że pomiary wartości  $\mu$  dla komórek pobranych z reaktora przepływowego w stanie nieustalonym są nadzwyczaj trudne.

Z tego względu aktywność metaboliczną komórek w stanie nieustalonym określano w niniejszej pracy szybkością właściwą pobierania substratu  $P$ , której wartości można doświadczalnie wyznaczyć. Jak wspomniano uprzednio, wielkość  $P$  oznacza ilość substratu utlenianego przez jednostkę masy komórek w jednostce czasu. Pomiar wartości  $P$  sprowadza się do wyznaczenia ilości substratu utlenionego przez określoną masę komórek w znanym czasie. Podczas pomiaru wartości  $P$  w reaktorze okresowym należy w sposób ciągły doprowadzać substrat, aby jego stężenie  $S_p$  nie zmieniało się w trakcie doświadczenia. Aby otrzymać wartości  $P$  z wymaganą w inżynierii biochemicznej dokładnością, czas trwania doświadczenia może wynosić nawet kilka minut. Po dodaniu chloramfenikolu nie zachodzi synteza enzymu w komórkach i jego

poziom odpowiada stężeniu  $S$ , przy którym pobrano komórki z reaktora przepływowego [34,52]. Ponieważ w tym przypadku dokonuje się pomiaru ilości dodanego substratu, a nie przyrostu biomasy jak przy wyznaczaniu wartości  $\mu$ , dodanie do zawiesiny chloramfenikolu nie ogranicza stosowania proponowanej metody pomiaru  $P$  [34,39,75].

Celem pracy było opracowanie metody opisanie utleniania substratu inhibitującego wzrost mikroorganizmów w przepływowym reaktorze zbiornikowym w stanie nieustalonym. Przedstawione uprzednio metody opisanie tego procesu nie dają zadowalających wyników. Występują bowiem wspomniane różnice, między stężeniami  $S$  i  $X$  otrzymanymi tymi metodami a doświadczalnymi wartościami  $S$  i  $X$ , nie tylko ilościowe, ale nierzadko również jakościowe. Nadzwyczaj trudne, a wydaje się nawet niemożliwe, jest dokładne opisanie stężeń  $S$  i  $X$  w stanie nieustalonym dla szerokiego zakresu wielkości zakłóceń. Z tego względu uzyskanie potrzebnej w inżynierii biochemicznej większej zgodności rozwiązań teoretycznych otrzymanych poszukiwaną metodą z wynikami doświadczalnymi, niż w przypadku zastosowania poprzednich metod, czyni proponowaną metodę przydatną praktycznie. W praktyce hodowlą ciągłą prowadzi się przy takich parametrach, a zwłaszcza szybkości rozcieńczania, aby praktycznie cała ilość substratu doprowadzonego do reaktora uległa bioutlenieniu. W procesie sterowania hodowlą ciągłą istotne jest więc określenie, jeszcze przed zakłóceniem, czy jego wystąpienie spowoduje jedynie przejściowe zwiększenie stężenia substratu w reaktorze, czy też doprowadzi do wymycia komórek z reaktora. Wymienione cele osiągnięto stosując w równaniach bilansu masowego szybkość właściwą pobierania substratu  $P_r$ .

Celem badań doświadczalnych było wyznaczenie równania opisującego zależność  $P_r$  od stężenia substratu w reaktorze i od czasu oraz uwzględniającego zjawisko histerezy mikrobiologicznej. Aby można było dokonać oceny wyników otrzymanych zaproponowaną metodą, przeprowadzono pomiary stężeń  $S$  i  $X$  w stanach nieustalonych po zastosowaniu zakłóceń podanych w tabeli 1. Dokonywano takiego skokowego zwiększenia szybkości rozcieńczania lub skokowego zwiększenia stężenia substratu w pożywce, aby w nowym stanie ustalonym, występującym po przejściowym zwiększeniu się stężenia substratu, zachodziło utlenienie praktycznie całej ilości substratu doprowadzonego do reaktora. W badaniach doświadczalnych użyto szczepu bakterii *Pseudomonas putida* NCIB 10015 z National Collection of Industrial Bacteries w Londynie. Źródłem węgla był fenol, z uwagi na możliwość prowadzenia dokładnych pomiarów masy, która ulegała utlenieniu. Ponadto łatwo było przygotować pożywkę o żądanym stężeniu  $S_0$ , używając fenolu w postaci ciała stałego. Badania kinetyki utleniania fenolu mają też znaczenie praktyczne, bowiem fenol występujący w ściekach przemysłowych trudno ulega degradacji i jego rozkład na drodze mikrobiologicznej stanowi duży problem w ochronie środowiska naturalnego. Należy dodać, że wprawdzie w warunkach naturalnych zastosowany w badaniach szczep bakterii nie działa w monokulturze i w obecności wyłącznie fenolu, jednak wyniki pracy mogą być przydatne przy projektowaniu bioreaktora przepływowego do oczyszczania ścieków, zawierających związki chemiczne inhibitujące wzrost mikroorganizmów. Wartości  $P$  wyznaczono przy  $pH = 6,8$  i temperaturze  $30^{\circ}C$ , jako optymalnych dla rozwoju *Pseudomonas putida* [3,8,74].



Tabela 1

## Wielkości dokonywanych zakłóceń

Lp.	Skokowe zwiększenie D		Skokowe zwiększenie $S_o$	
	$S_o$ [mg/l]	Zmiana D [ $h^{-1}$ ]	D [ $h^{-1}$ ]	Zmiana $S_o$ [mg/l]
1	250	0,125 - 0,200	0,125	250 - 500
2	250	0,125 - 0,250	0,125	500 - 1000
3	250	0,190 - 0,400	0,190	250 - 500
4	500	0,125 - 0,200	0,190	500 - 750
5	500	0,125 - 0,250	0,260	500 - 750
6	500	0,260 - 0,333	0,290	750 - 1000
7	500	0,326 - 0,400	0,452	250 - 500
8	1000	0,125 - 0,200		
9	1000	0,125 - 0,250		
10	1000	0,260 - 0,333		

## II. P O D S T A W Y    T E O R E T Y C Z N E

## 1. BILANS MASOWY IDEALNEGO BIOREAKTORA ZBIORNIKOWEGO PRZEPLYWOWEGO

Bilans substratu S i biomasy X w stanie nieustalonym opisuje następujący układ równań różniczkowych (rys.1):

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - P_R(X + X_0) \quad (35)$$

$$\frac{dX}{dt} = -DX + YP_R(X + X_0) \quad (36)$$

Dla stanu ustalonego  $\frac{dS}{dt} = 0$  i  $\frac{dX}{dt} = 0$ , a ostatni układ równań sprowadza się do postaci :

$$D(S_0 - S^*) = P_R^*(X^* + X_0) \quad (37)$$

$$DX^* = Y^*P_R^*(X^* + X_0) \quad (38)$$

Układ równań (35) i (36) zastosowany dla przypadku braku wzrostu komórek na ścianach reaktora ( $X_0 = 0$ ) upraszcza się następująco :

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - P_R X \quad (39)$$

$$\frac{dX}{dt} = -DX + YP_R X \quad (40)$$

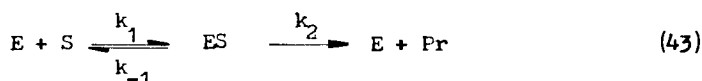
Ostatni układ równań przyjmuje dla stanu ustalonego następującą postać :

$$D(S_0 - S^*) = P_{rA}^{*} \quad (41)$$

$$D = Y^* \frac{P_{rA}^{*}}{P_r} \quad (42)$$

## 2. SZYBKOŚĆ WŁAŚCIWA POBIERANIA SUBSTRATU W STANIE USTALONYM

Badania doświadczalne kinetyki utleniania fenolu w reaktorze okresowym przez bakterie *Pseudomonas putida*, wyhodowane w reaktorze przepływowym w stanie ustalonym, wykazały dla stężeń fenolu mniejszych od 100 mg/l umiarkowaną inhibicję. Stwierdzono ponadto, że przy stężeniach mniejszych od 10 mg/l w utlenianiu uczestniczyła jedynie pewna ilość enzymu, natomiast reszta występowała w postaci niezwiązanej, tworząc zapas enzymu [34,39]. Z tego względu przyjęto, że zmniejszanie się szybkości właściwej pobierania substratu inhibującego wzrost mikroorganizmów ze zwiększaniem się stężenia S powodowane jest tworzeniem się trwałego, nieaktywnego kompleksu enzym - substrat (SES) [34,39,76-78]. Nie definiując enzymu przyjmijmy go za jednostkę umowną E. Enzym E decyduje o aktywności kompleksu enzymatycznego, istotnego dla rozważanego procesu utleniania. Załóżmy zatem, że w wyniku reakcji enzymu E z substratem S powstaje nietrwały kompleks ES, którego część rozkładając się daje produkt Pr i wolny enzym E, a reszta bierze udział w reakcji z substratem, w wyniku czego powstaje wspomniany trwały nieaktywny kompleks SES [34,76]. Mianowicie :



Szybkość powstawania produktu opisuje równanie :

$$\frac{d[Pr]}{dt} = k_2 [ES] \quad (45)$$

W stanie ustalonym dla podanych wyżej reakcji można napisać :

$$k_1 [E] [S] = k_{-1} [ES]$$

oraz

$$k_2 [ES] [S] = k_{-2} [SES]$$

Na podstawie powyższych równań otrzymuje się :

$$[E] = \frac{k_{-1} [ES]}{k_1 [S]} \quad (46)$$

oraz

$$[SES] = \frac{k_2}{k_{-2}} [ES] [S] \quad (47)$$

Ilość enzymu  $E_c$ , przypadająca na jednostkę objętości zawiesiny, jest sumą masy enzymu wolnego E oraz zawartego w kompleksach ES i SES. Zatem :

$$[E_c] = [E] + [ES] + [SES]$$

Uwzględniając w powyższym równaniu zależności (46) i (47) otrzymuje się :

$$\begin{aligned} [E_c] &= \frac{k_{-1}}{k_1} \frac{[ES]}{[S]} + [ES] + \frac{k_2}{k_{-2}} [ES] [S] = \\ &= [ES] \left[ \frac{k_{-1}}{k_1 [S]} + 1 + \frac{k_2 [S]}{k_{-2}} \right] \end{aligned}$$

Stąd

$$[ES] = \frac{[E_c]}{\frac{k_{-1}}{k_1 [S]} + 1 + \frac{k_2 [S]}{k_{-2}}}$$

Oznaczając  $K_S^* = k_{-1}/k_1$  oraz  $K_I^* = k_{-3}/k_3$  ostatnie równanie można przedstawić w postaci :

$$[ES] = \frac{[E_c][S]}{K_S^* + [S] + \frac{[S]^2}{K_I^*}}$$

Wreszcie wykorzystując powyższe równanie w zależności (45) otrzymuje się :

$$\frac{d[Pr]}{dt} = \frac{k_2 [E_c] [S]}{K_S^* + [S] + [S]^2 / K_I^*} \quad (48)$$

Ponieważ według równania (43) ilość produktu  $dPr$  związana jest z przemianą  $dS$  substratu, zatem :

$$\frac{dPr}{dt} = - \frac{dS}{dt} \quad (49)$$

Ponadto wielkość  $E_c$  można wyrazić następująco :

$$[E_c] = N_E^* X^* \quad (50)$$

gdzie  $N_E^*$  oznacza poziom enzymu w komórkach.

Wykorzystując w równaniu (48) związki (49) i (50) otrzymuje się ostatecznie następującą zależność :

$$P_r^* = \frac{P_{max}^* S^*}{K_S^* + S^* + S^{*2} / K_I^*} \quad (51)$$

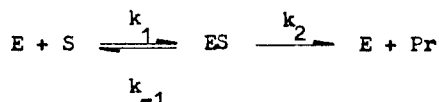
gdzie :

$$P_r^* = - \frac{1}{X^*} \frac{dS}{dt}$$

$$P_{\max}^* = k_2 N_E^*$$

Użyto górnego indeksu \* przy wielkości  $S^*$  dla podkreślenia, że dotyczy stanu ustalonego.

W przypadku utleniania substratu aktywującego wzrost mikroorganizmów, jego reakcję z enzymem można przedstawić następująco [1,2]:



Postępująco analogicznie jak uprzednio, otrzymuje się następujący związek:

$$P_r^* = \frac{P_{\max}^* S^*}{K_S^* + S^*} \quad (52)$$

gdzie :

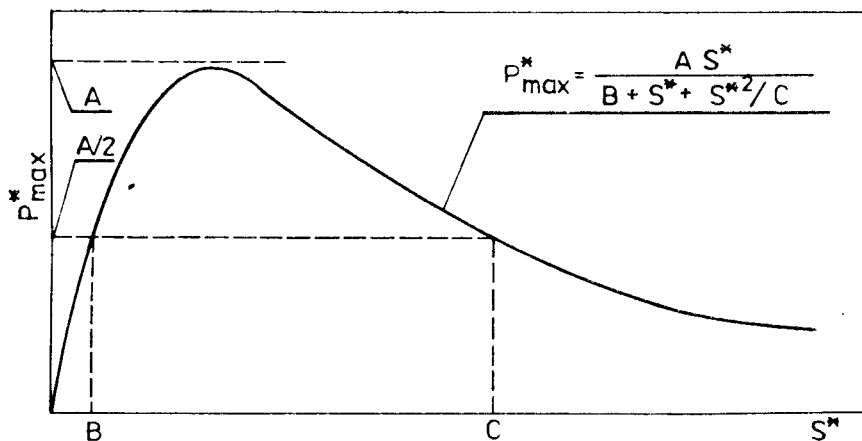
$$K_S^* = \frac{k_{-1}}{k_1}$$

$$P_{\max}^* = k_2 N_E^*$$

Można zauważyć, że w przypadku, gdy  $K_1^* \gg S^{*2}$  równanie (51) sprowadza się do zależności (52).

Autorzy prac [22,25,36-38,72] stwierdzili ścisłą zależność poziomu enzymu w komórkach od stężenia substratu, przy którym hodowano mikroorganizmy w reaktorze przepływowym. Chase [35] zależność tę opisał podanym uprzednio równaniem (19). Własne badania [34,39] wykazały, że istnieje ścisły związek między maksymalną szybkością właściwą pobierania substratu  $P_{\max}^*$  a stężeniem  $S^*$  substratu, przy którym hodowano bakterie. Charakter zależności między wielkością  $P_{\max}^*$  a stężeniem  $S^*$ , otrzymanej na podstawie wartości  $P_{\max}^*$  i  $S^*$  podanych w pracy [34], przedstawiono na rys.6. Z rysunku tego wynika, że zależność między  $P_{\max}^*$  a stężeniem  $S^*$  można opisać równaniami o następującej postaci [6,8,34,83,84]:

$$P_{\max}^* = \frac{AS^*}{B + S^* + S^{*2}/C} \quad (53)$$



Rys.6 Charakter zależności między maksymalną szybkością właściwą pobierania substratu  $P_{\max}^*$  a stężeniem  $S^*$  substratu [34]

$$P_{\max}^* = \frac{AS^*}{B + S^* + (S^{*2}/C)(1 + S/G)} \quad (54)$$

$$P_{\max}^* = \frac{AS^*(1 + S^*/G)}{B + S^* + S^*/C} \quad (55)$$

$$P_{\max}^* = \frac{AS^* \exp(-S^*/C)}{B + S^*} \quad (56)$$

$$P_{\max}^* = \frac{AS^*}{B + S^* + S^{*n}/C} \quad (57)$$

$$f_{\max} = \frac{A}{1 + B/S^* + \sum_{j=1}^n (S^*/C_j)^n} \quad (58)$$

$$P_{\max}^* = A[\exp(-S^*/B) - \exp(-S^*/C)] \quad (59)$$

gdzie wielkości A, B, C, G i n są parametrami kinetycznymi, których wartości oblicza się na podstawie doświadczalnych  $P_{\max}^*$  [2, 6, 34, 46, 83, 84]. W celu dokonania oceny przydatności powyższych równań do określania zależności między  $P_{\max}^*$  a  $S^*$ , opisano tymi równaniami doświadczalne wartości  $P_{\max}^*$  podane w pracy [34], obliczając wartości A, B, C, G i n. Analiza wartości  $P_{\max}^*$  zmierzonych i obliczonych według równań (53)–(59), po uprzednim wyznaczeniu wartości A, B, C, G i n na podstawie doświadczalnych  $P_{\max}^*$  i  $S^*$  wykazała, że najmniejsze różnice między nimi występowały w przypadku zastosowania równania (53). Z tego względu w dalszych rozważaniach zależność między  $P_{\max}^*$  a  $S^*$  opisano tym równaniem.

Wprowadzając do równania (51) wzór (53) otrzymuje się ostatecznie następującą zależność :

$$P_{\text{r}}^* = \frac{AS^{*2}}{(B + S^* + S^{*2}/C)(K_S^* + S^* + S^{*2}/K_1^*)} \quad (60)$$

Wartości parametrów kinetycznych A, B, C,  $K_S^*$  i  $K_1^*$  wyznacza się na podstawie doświadczalnych  $P_{\text{r}}^*$ , w sposób opisany w części doświadczalnej niniejszej pracy.

Wykorzystując związek (60) w zależnościach (37) i (38) otrzymuje się ostatecznie następujący układ równań :

$$D(S_0 - S^*) = \frac{AS^{*2}(X^* + X_0)}{(B + S^* + S^{*2}/C)(K_S^* + S^* + S^{*2}/K_1^*)} \quad (61)$$

$$DX^* = \frac{Y^*AS^{*2}(X^* + X_0)}{(B + S^* + S^{*2}/C)(K_S^* + S^* + S^{*2}/K_1^*)} \quad (62)$$

Rozwiązania powyższego układu równań dla kilku wartości  $S_0$  i  $X_0$  oraz różnych szybkości rozcieńczania D przedstawiono na rys. 7–9. Obliczenia przeprowadzono dla procesu utleniania fenolu przez bakterie *Pseudomonas putida* przyjmując następujące wartości parametrów : A = 3,5 mg fenolu/mg biomasy ; B = 2,4 mg/l ; C = 250 mg/l ;  $K_S^*$  = 1,5 mg/l ;  $K_1^*$  = 20 mg/l, wyznaczone na

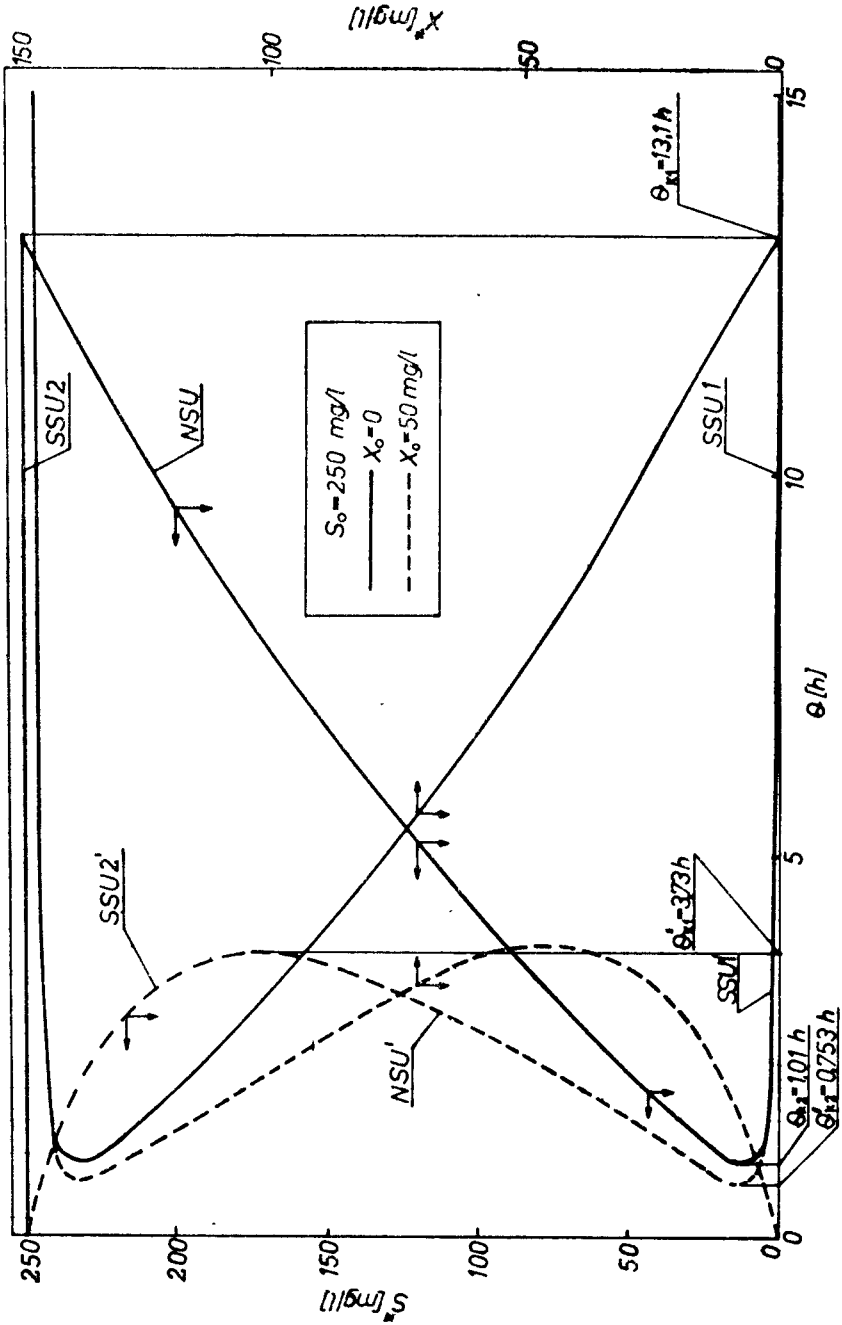


podstawie doświadczalnych  $P_r^*$  podanych w pracach [34,39].

Zależność między stężeniami  $S^*$  i  $X^*$ , obliczonymi według równań (61) i (62) dla  $S_0 = 250$  mg/l oraz  $X_0 = 0$  i 50 mg/l, a średnim czasem przebywania  $\theta = 1/D$  przedstawiono na rys.7. Z rysunku tego wynika, że dla  $X_0 = 0$  przy czasach przebywania  $\theta$  większych od  $\theta_{k1}$  występuje tylko jeden stan ustalony, który jest stabilny. Odpowiada mu małe stężenie  $S^*$ , zatem praktycznie cała ilość substratu doprowadzonego do reaktora ulega bioutlenieniu.

Gdy  $\theta_{k2} < \theta < \theta_{k1}$ , wówczas występuje zakres wielokrotnych stanów ustalonych. W zależności od stężenia substratu, przy którym rozpoczęto hodowlę ciągłą, może wystąpić jeden z trzech następujących stanów ustalonych: niezerowy stabilny stan ustalony SSU1, niestabilny stan ustalony NSU lub zerowy stabilny stan ustalony SSU2. Niezerowy stabilny stan ustalony SSU1 odpowiada wysokiemu stopniowi przemiany substratu, zatem praktycznie cała ilość substratu doprowadzonego do reaktora ulega utlenieniu. Zerowy stabilny stan ustalony SSU2 oznacza wymycie komórek z reaktora, a więc w ogóle nie zachodzi utlenianie substratu. Wreszcie, gdy  $\theta < \theta_{k2}$ , jedynym stanem ustalonym jest zerowy stabilny stan ustalony oznaczający wymycie komórek z reaktora. Podobne rozumowanie można przeprowadzić dla przypadku, gdy utlenianie substratu powodują zarówno komórki znajdujące się w zawieszynie, jak i rosnące na ścianach reaktora. Dla  $X_0 > 0$  można stwierdzić mniejsze wartości  $\theta'_{k1}$ , w porównaniu z  $\theta_{k1}$  dla  $X_0 = 0$ , powyżej których występuje tylko jeden stabilny stan ustalony, oznaczający bioutlenienie praktycznie całej ilości substratu doprowadzonego do reaktora. Podana na rys.7 wartość  $\theta'_{k1}$  wynosi 3,73 h, jest więc około czterokrotnie mniejsza od  $\theta_{k1}$ . Dla  $\theta'_{k2} < \theta < \theta'_{k1}$  może wystąpić jeden z trzech następujących stanów ustalonych: stabilny stan ustalony SSU1', niestabilny stan ustalony NSU' lub stabilny stan ustalony SSU2'. Należy podkreślić, że w przypadku, gdy mikroorganizmy rosną na ścianach reaktora, nawet dla  $\theta < \theta_{k2}$  nie wystąpi wymycie wszystkich komórek z reaktora. Część z nich pozostanie na jego ścianach powodując utlenianie substratu i dlatego stabilny stan ustalony SSU2' jest niezerowy. Dokonując analogicznych rozważań dla małego stężenia  $S_0$  oraz dużych  $X_0$  (np.  $S_0 = 50$  mg/l i  $X_0 = 50$  mg/l) można stwierdzić, że dla każdego  $\theta > 0$  występuje tylko jeden stan ustalony, który jest stabilny. Łatwo sprawdzić, że ostatni przypadek może wystąpić również dla wysokich stężeń  $S_0$ , jednak przy bardzo dużych wartościach  $X_0$ . Przykładowo dla  $S_0 = 100$  mg/l wspomniany stan ustalony wystąpiłby dla każdego  $\theta > 0$  dopiero przy  $X_0 = 900$  mg/l i większych, a więc przy wartościach  $X_0$  trudno osiągalnych nawet w reaktorach laboratoryjnych [8,18,21]. Z rysunków 7 i 8 wynika, że dla  $X_0 = 0$  stężenie  $S^*$  substratu na wylocie z reaktora nie zależy od stężenia  $S_0$ , natomiast dla  $X_0 > 0$  wartości  $S^*$  są ściśle związane z  $S_0$ .

W praktyce bioutlenianie prowadzi się przy takich wartościach  $\theta_{k2} < \theta < \theta_{k1}$ , aby możliwie największa ilość substratu doprowadzonego do reaktora uległa przemianie [21,34,39]. Istotna jest zatem znajomość obliczania wartości  $\theta_{k1}$  i  $\theta_{k2}$  dla  $X_0 = 0$  oraz  $\theta'_{k1}$  i  $\theta'_{k2}$ , gdy  $X_0 > 0$ . Dzieląc przez siebie równania (37) i (38) otrzymuje się następującą zależność:



Rys.7 Zależność stężeń substratu  $S^*$  i biomasy  $X^*$ , obliczonych na podstawie równań (61) i (62), od średniego czasu przebywania  $\theta$

$$X^* = Y^*(S_0 - S^*)$$

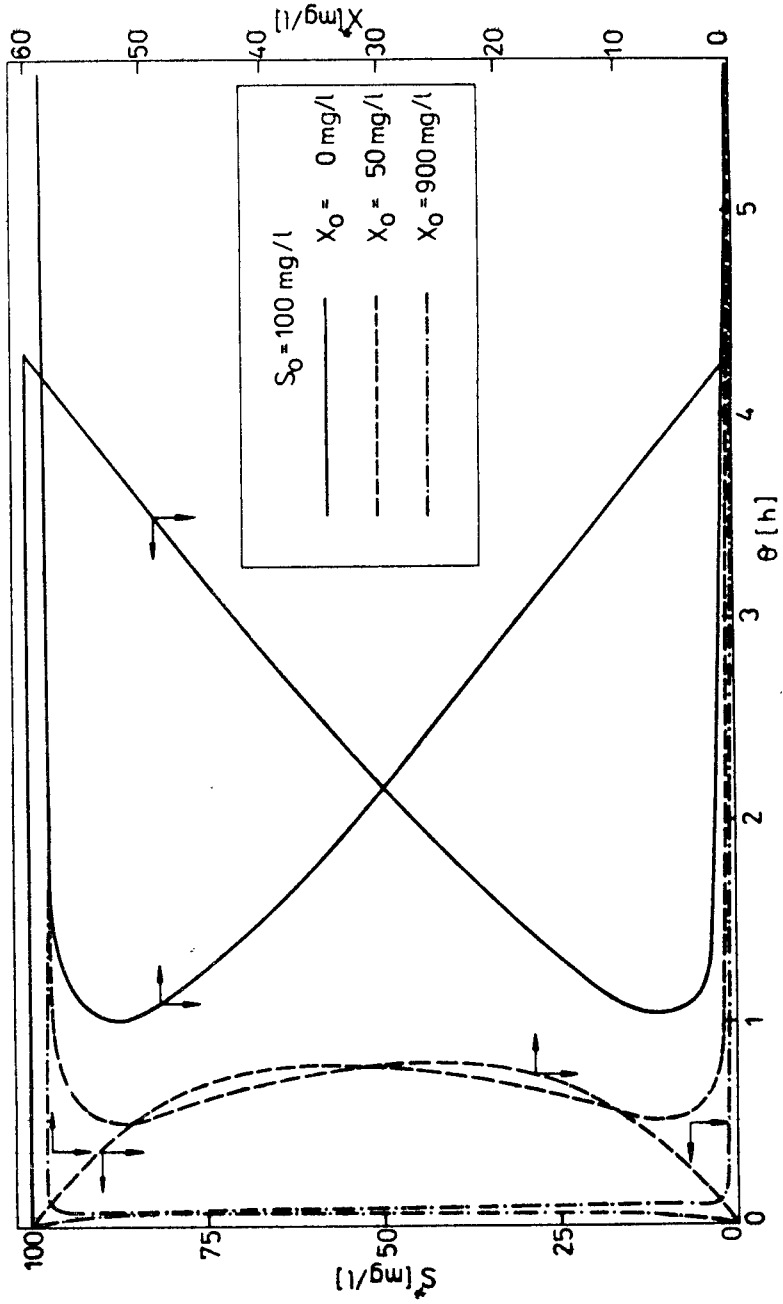
Wykorzystując powyższy związek w zależności (37) uzyskuje się równanie :

$$D(S_0 - S^*) = P_r^* [Y^*(S_0 - S^*) + X_0]$$

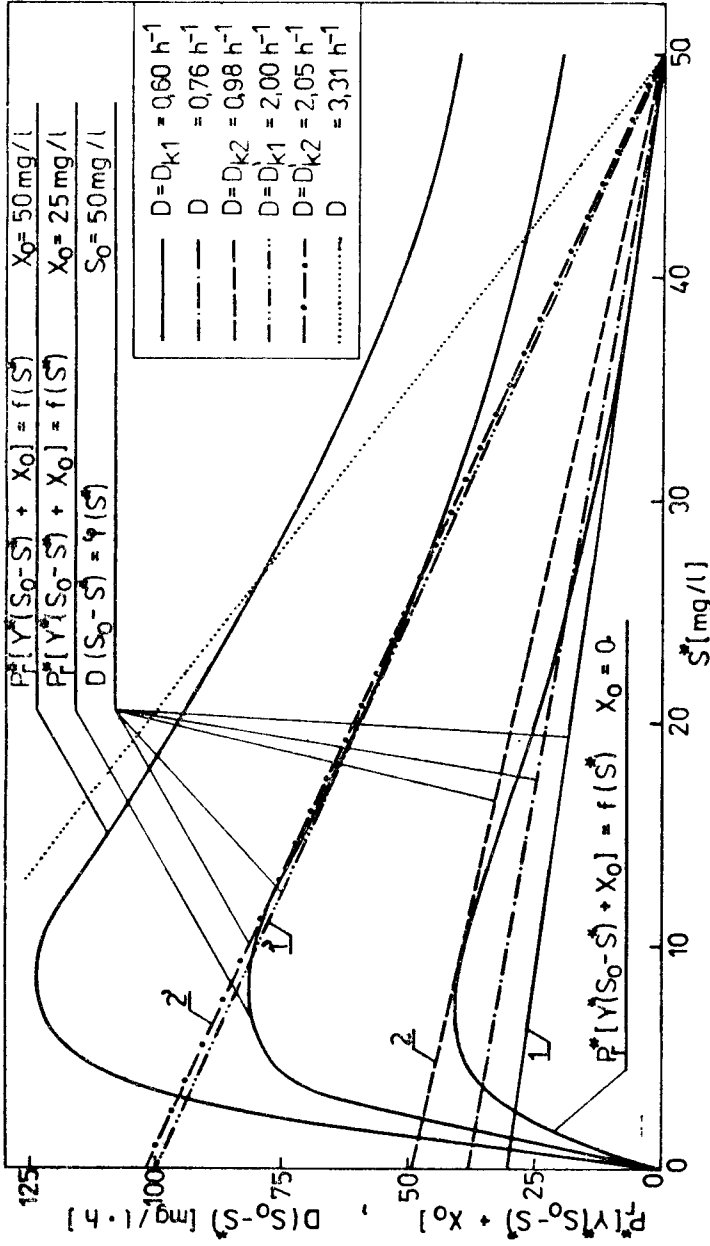
Lewa strona powyższego równania określa strumień substratu doprowadzanego do reaktora, prawa zaś szybkość jego bioutleniania. Powyższe równanie łatwo rozwiązać graficznie wykreślając funkcje (rys.9) :  $D(S_0 - S^*) = \varphi(S^*)$  oraz  $P_r^* [Y^*(S_0 - S^*) + X_0] = f(S^*)$ . Odcięta punktów przecięcia się wykreślonych linii określają stężenie  $S^*$ . Odcięta punktu styczności prostej  $D(S_0 - S^*) = \varphi(S^*)$  do krzywej  $P_r^* [Y^*(S_0 - S^*) + X_0] = f(S^*)$ , zatem gdy

$$\frac{d}{dS^*} \{P_r^* [Y^*(S_0 - S^*) + X_0]\} \Big|_{S^* = S_n^*} = \frac{d}{dS^*} [D(S_0 - S^*)] \Big|_{S^* = S_n^*}$$

określa stężenie  $S^* = S_n^*$  w niestabilnym stanie ustalonym. Graniczną wartość  $\Theta_{k1}$  dla  $X_0 = 0$ , przy której może wystąpić stabilny stan ustalony lub zerowy stan ustalony (rys.7 i 8), określa odwrotność współczynnika kierunkowego prostej 1, stycznej do krzywej  $P_r^* [Y^*(S_0 - S^*) + X_0] = f(S^*)$  w zakresie dużych stężeń  $S^*$ . Podobnie wartość  $\Theta_{k2}$ , odpowiadającą niestabilnemu stanowi ustalonemu (rys.7), określa odwrotność współczynnika kierunkowego prostej 2, stycznej do krzywej  $P_r^* [Y^*(S_0 - S^*) + X_0] = f(S^*)$  w zakresie umiarkowanych stężeń  $S^*$  (rys.7 i 9). Oznaczmy przez  $D_{k1}$  i  $D_{k2}$  współczynniki kierunkowe prostych odpowiednio 1 i 2. Proste  $D(S_0 - S^*) = \varphi(S^*)$  o nachyleniu  $D_{k1} < D < D_{k2}$  mają trzy punkty wspólne z krzywą  $P_r^* [Y^*(S_0 - S^*) + X_0] = f(S^*)$ , odpowiadają więc takim średnim czasom przebywania  $\Theta$ , przy których może wystąpić jeden z trzech stanów ustalonych, podanych przy omawianiu rys.7. Podane na rys.9 przykładowe wartości  $D = D_{k1}$  i  $D = D_{k2}$  dla  $S_0 = 50$  mg/l oraz  $X_0 = 0$  wynoszą odpowiednio  $0,60 \text{ h}^{-1}$  i  $0,98 \text{ h}^{-1}$ . Podobnie odwrotności współczynników kierunkowych prostych 1' i 2', stycznych do krzywej  $P_r^* [Y^*(S_0 - S^*) + X_0] = f(S^*)$ , określają odpowiednio wartości  $\Theta_{k1}'$  i  $\Theta_{k2}'$  (rys.9). Podane na rys.9 wartości  $D = D_{k1}'$  i  $D = D_{k2}'$  wynoszą dla  $X_0 = 25$  mg/l odpowiednio  $2,00 \text{ h}^{-1}$  i  $2,05 \text{ h}^{-1}$ . Warto zauważyć, że dla dużych wartości  $X_0$ , w odniesieniu do stężenia biomasy w zawieszynie (np.  $X_0 = 50$  mg/l na rys.9), przy dowolnej szybkości rozcieńczania  $D$  występuje tylko jeden punkt przecięcia prostej  $D(S_0 - S^*) = \varphi(S^*)$  z krzywą  $P_r^* [Y^*(S_0 - S^*) + X_0] = f(S^*)$ . Przy dowolnym  $\Theta$  istnieje zatem tylko jeden stabilny stan ustalony. Dla danego  $S^* = S_s^*$  stan ustalony jest stabilny gdy spełniona jest następująca nierówność :



Rys.8 Zależność stężeń substratu  $S^*$  i biomasy  $X$ , obliczonych na podstawie równań (61) i (62), od średniego czasu przebywania  $\theta$



Rys.9 Graficzne rozwiązanie równania  $D(S_0 - S^*) = P^*[(Y^*(S_0 - S^*) + X_0)]$  dla różnych szybkości rozcieńczenia  $D$  i stężeń  $X_0$

$$\frac{d}{ds^*} \left\{ P_r^* [Y^*(S_o - S^*) + X_o] \right\} / S^* = S_g^* > \frac{d}{ds^*} [D(S_o - S^*)] / S^* = S_g^* \quad (63)$$

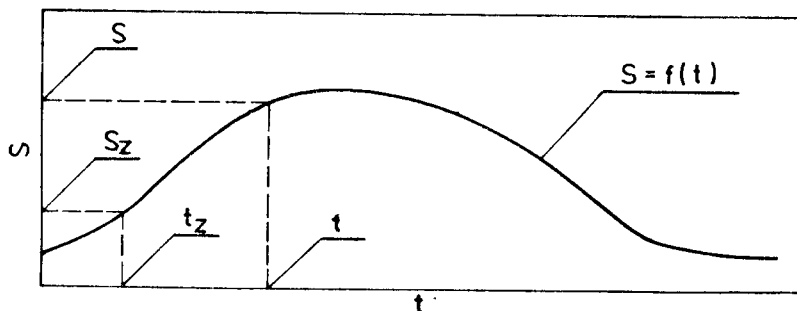
Z uwagi na skomplikowaną postać równania (60) łatwiej jest ocenić graficznie spełnienie nierówności (63) (rys.9).

### 3. SZYBKOŚĆ WŁAŚCIWA POBIERANIA SUBSTRATU W STANIE NIEUSTALONYM

W stanie ustalonym wielkość  $N_E^*$  występująca w równaniach (50) i (51) przyjmuje wartość niezmienną w czasie [34-39]. Po wystąpieniu zakłócenia wartość  $N_E$  w stanie nieustalonym zmienia się w czasie, a szybkość jej zmiany zależy zarówno od szybkości zmiany stężenia substratu, jak również od czasu [10,21,22,35,56]. Wyniki prac [9,72,74] wskazują, że w stanie nieustalonym aktywność metaboliczna komórek, liczona według równań otrzymanych dla stanu ustalonego, odpowiada stężeniu  $S$  dopiero po pewnym czasie, liczonemu od momentu wystąpienia tejże wartości  $S$  w reaktorze. Perret [9] sugeruje, że aktywność komórek z opóźnieniem postępuje za stężeniem  $S$ . Zatem wartości  $P_{max}$  odpowiadającej czasowi  $t$  liczonemu od wystąpienia zakłócenia, można według równania (53) przyporządkować odpowiadające jej stężenie  $S_e$  w przeszłości (rys.10). Wielkość  $S_e$  oznacza więc takie stężenie  $S$ , przy którym wartość  $P_{max}$  obliczona na podstawie równania (53) po zastosowaniu  $S^* = S_e$  jest równa doświadczalnej wartości  $P_{max}$  dla czasu  $t$ . Na podstawie zmierzonej wartości  $P_{max}$  można więc obliczyć według równania (53) stężenie  $S_e$ , a następnie korzystając z doświadczalnej zależności  $S = f(t)$  określić zastępczy czas  $t = t_z$ , w którym stężenie  $S$  było równe  $S_e$  (rys.10). W dalszej części niniejszej pracy stężenie  $S$  odpowiadające zastępczemu czasowi  $t_z$  oznaczano przez  $S_z$  (rys.10). Istotny jest sposób obliczania wartości zastępczego czasu  $t_z$ , a ściślej określania stężeń  $S_z$ , wykorzystywanych do opisanja szybkości właściwej pobierania substratu  $P_r$  w czasie  $t$ . Analiza wyników badań doświadczalnych nad dynamiką bioutleniania w reaktorze przepływowym przedstawionych w pracach [3,5,8,18,22,72] wskazuje, że zmiana aktywności komórek wywołana zakłóceniem występuje dopiero po pewnym czasie  $t_0$ . Opóźnienie zmiany aktywności metabolicznej względem  $S$ , największe na początku stanu nieustalonego, zmniejszało się z czasem  $t$  i ostatecznie było równe zeru w stanie ustalonym występującym po zakłóceniu. Na tej podstawie związek między zastępczym czasem  $t_z$  i czasem  $t$  opisano następującym układem równań (rys.10):

$$\text{Dla } t \leq t_0 \quad t_z = 0 \quad (64)$$

$$\text{Gdy } t > t_0 \text{ wówczas } t_z = t - t_0 \exp[-T(t - t_0)] \quad (65)$$



Rys.10 Zmiana stężenia  $S$  substratu w czasie  $t$ , wywołana skokowym zwiększeniem szybkości rozcieńczania lub skokowym zwiększeniem stężenia substratu w pożywce [3]

Na podstawie równania (65) dla  $t = t_0$  otrzymuje się  $t_z = 0$ , zatem wartości  $t_z$  określone są funkcją ciągłą. Z równania (65) wynika, że w czasie  $t$  opóźnienie wartości  $P_r$ , określonej zależnościami (51) po zastosowaniu  $S^* = S$  i (53) po podstawieniu  $S^* = S_e$ , względem stężenia  $S$  jest równe  $t - t_z$  (rys.10).

Dla zilustrowania przedstawionego sposobu obliczania wartości  $P_r$ , podano na rys.11-17 numeryczne rozwiązania układu równań:

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - P_r X \quad (66)$$

$$\frac{dX}{dt} = -DX + P_r YX \quad (67)$$

gdzie :

$$P_r = \frac{P_{\max} S}{K_S + S + S^2/K_1} \quad (68)$$

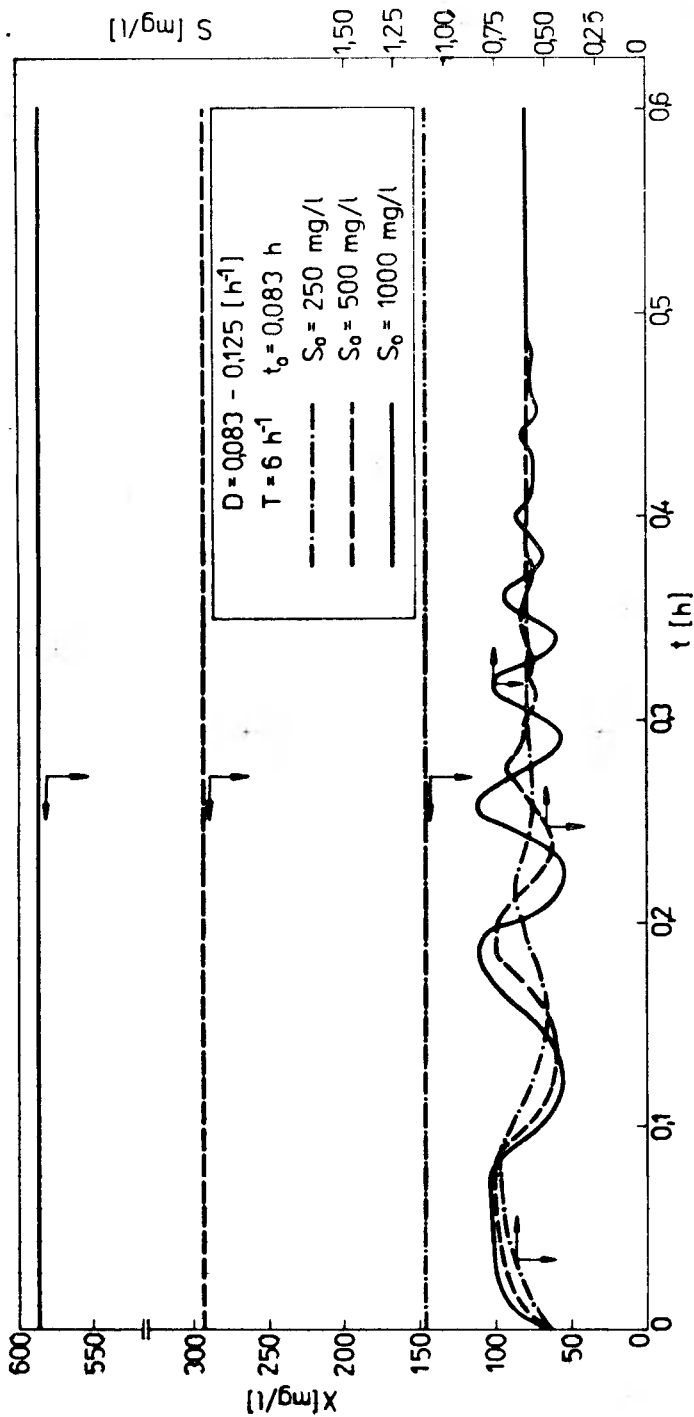
$$P_{\max} = \frac{AS_e}{B + S_e + S_e^2/C}$$

dla  $t \leq t_0$   $t_z = 0$ , zatem  $S_e = S^*$

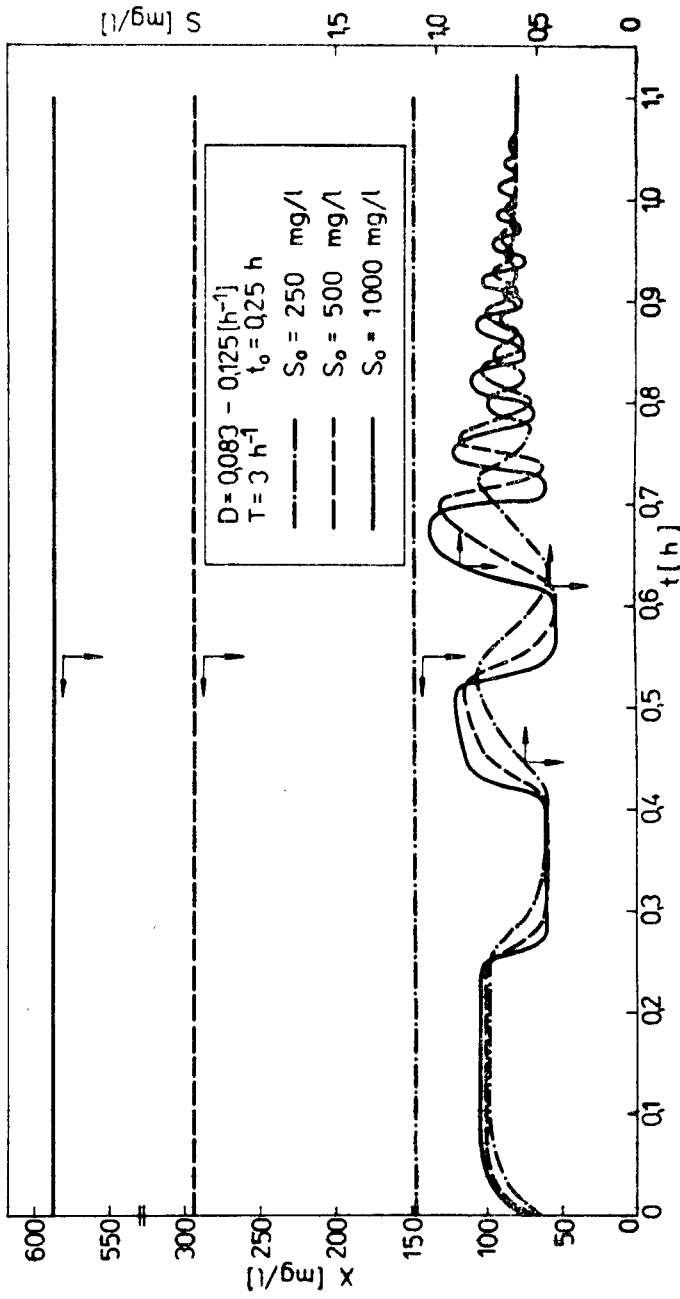
gdy  $t > t_0$  wówczas  $t_z = t - t_0 \exp[-T(t - t_0)]$  i  $S_e = S_z$

Obliczeń dokonano przyjmując wartości  $A, B, C, K_S = K_S^*$  i  $K_i = K_i^*$  podane uprzednio przy omawianiu rys.7. Stężenia substratu  $S_1^*$  i biomasy  $X_1^*$  w stanie ustalonym poprzedzającym zakłócenie, stanowiące warunki początkowe dla układu równań (66) i (67), zaczerpnięto z prac [3,34,39]. Na rys.11 przedstawiono rozwiązania układu równań (66) i (67), dla przypadku skokowego zwiększenia szybkości rozcieńczania  $D$  z  $0,083 \text{ h}^{-1}$  na  $0,125 \text{ h}^{-1}$  przy różnych stężeniach  $S_0$ , dla przyjętych  $T = 6 \text{ h}^{-1}$  i  $t_0 = 0,83 \text{ h}$ . Zmiana stężeń  $S$  i  $X$  w czasie  $t$  jest jakościowo zgodna z wynikami badań doświadczalnych podanych w pracy [3]. Można zauważyć, że umiarkowane skokowe zwiększenie  $D$ , dokonane przy małej wartości  $D$  poprzedzającej zakłócenie, powoduje jedynie niewielkie przejściowe zwiększenie  $S$ . Na przykład na rys.11 po skokowym zwiększeniu  $D$  z  $0,083 \text{ h}^{-1}$  na  $0,125 \text{ h}^{-1}$  największe stężenie  $S$  jest mniejsze od  $1 \text{ mg/l}$ . Autorzy prac [3,34,39] tłumaczą taką odpowiedź reaktora przepływowego na skokowe zwiększenie  $D$  występowaniem w komórkach wolnego enzymu, który wchodzi w reakcję z substratem dodatkowo wprowadzonym po zakłóceniu. Dotyczyło to jednak przypadków, gdy mikroorganizmy hodowano w zakresie wysokiego stopnia przemiany substratu [3,34,39]. Z tego względu również w tych przypadkach, gdy komórki potrzebują nawet znacznego czasu  $t_0$  dla dokonania syntezy dodatkowej ilości enzymu wywołanej zakłóceniem (np.  $t_0 = 0,25 \text{ h}$  na rys.12), występuje tylko nieznaczne przejściowe zwiększenie się  $S$ . Gdy jednak poziom enzymu w komórkach wzrasta po długim czasie  $t_0$ , wówczas największe stężenie  $S$  jest ściśle związane z wartością  $t_0$  (rys.13). Na rys.13 najwyższe stężenie  $S$  dla  $t_0 = 0,5 \text{ h}$  jest kilkadziesiąt razy większe od stężenia  $S_1^*$  w stanie ustalonym, poprzedzającym skokowe zwiększenie  $D$ . Warto zauważyć, że po wystąpieniu największego stężenia  $S$  następuje gwałtowne zmniejszanie się  $S$ . Najmniejsza wartość  $S$  może być nawet mniejsza od  $S_1^*$  (rys.12-13). Ostatni wniosek potwierdzają badania nad utlenianiem fenolu przez *Pseudomonas putida* w reaktorze zbiornikowym przepływowym w zakresie wysokiego stopnia przemiany fenolu [3-8]. Wystąpienie dużego zakłócenia z reguły prowadzi do wymycia komórek z reaktora (rys.14). Zachodzi wówczas ciągle zmniejszanie się stężenia biomasy do zera, co prowadzi do ciągłego zwiększania się stężenia  $S$  aż do osiągnięcia wartości  $S_0$ . Zatem w nowym stanie ustalonym w ogóle nie zachodzi bioutlenianie substratu. Przykładowo czterokrotne skokowe zwiększenie  $D$  na rys.14 prowadzi do wymycia komórek z reaktora. Można zauważyć, że stężenia  $S$  i  $X$  obliczone na podstawie równań (66) (67) i (68) wykazują oscylacje o znacznej amplitudzie i częstotliwości (rys.15). Wprawdzie badania doświadczalne przedstawione w pracach [3,8,44] potwierdziły występowanie w stanie nieustalonym oscylacji stężeń  $S$  i  $X$ , jednak miały one mniejsze amplitudy i trwały krócej. Z rys.15 wynika, że zarówno amplituda, jak i czas trwania oscylacji są ściśle związane z wartością parametru  $T$  występującego w zaproponowanym modelu matematycznym. Dla większych wartości  $T$ , oznaczających szybsze przystosowanie się komórek do zmian  $S$ , zarówno amplitudy oscylacji, jak i czas ich trwania są mniejsze (rys.15). Należy jednak wyjaśnić, że wobec braku badań doświadczalnych dotyczących szybkości właściwej pobierania substratu  $P_r$ , a także obliczeniowej szybkości właściwej wzrostu komórek  $\mu$  w stanie nieustalonym, zarówno wartości  $t_0$ , jak również wartości  $T$  oszac-

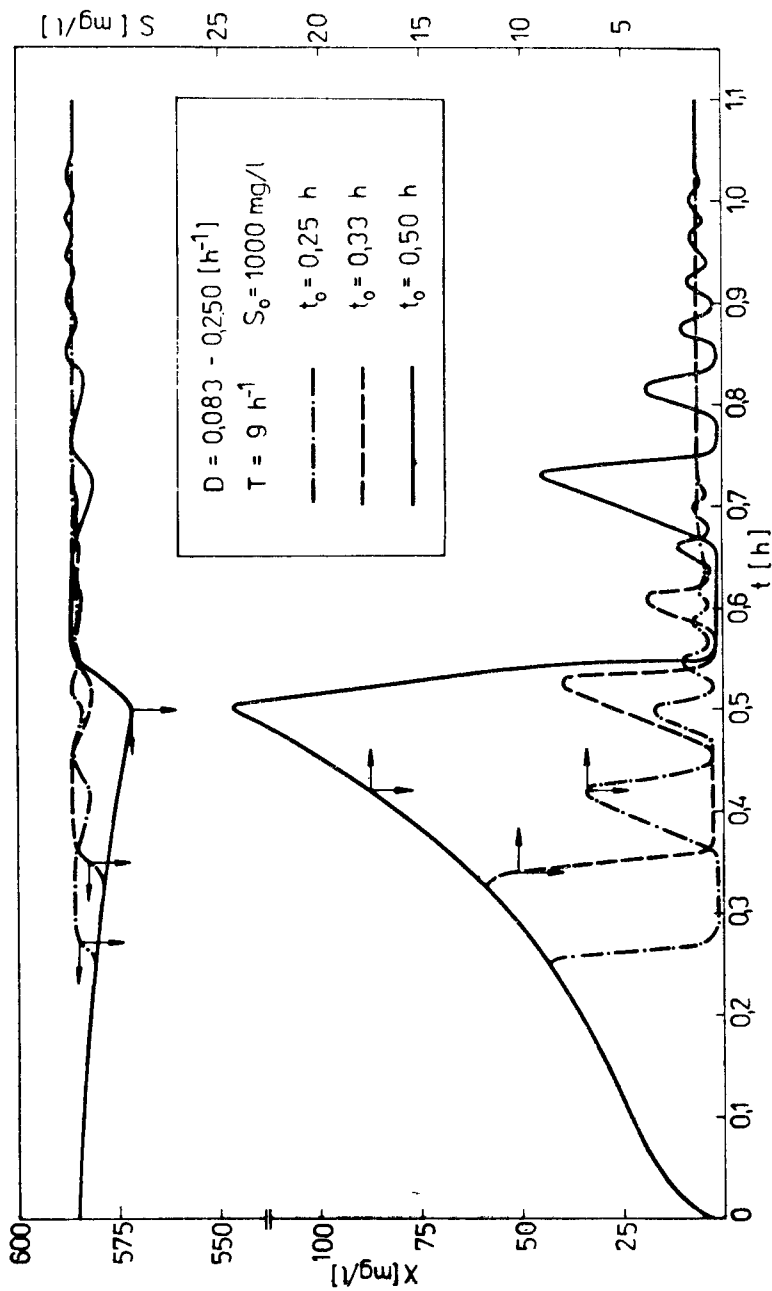




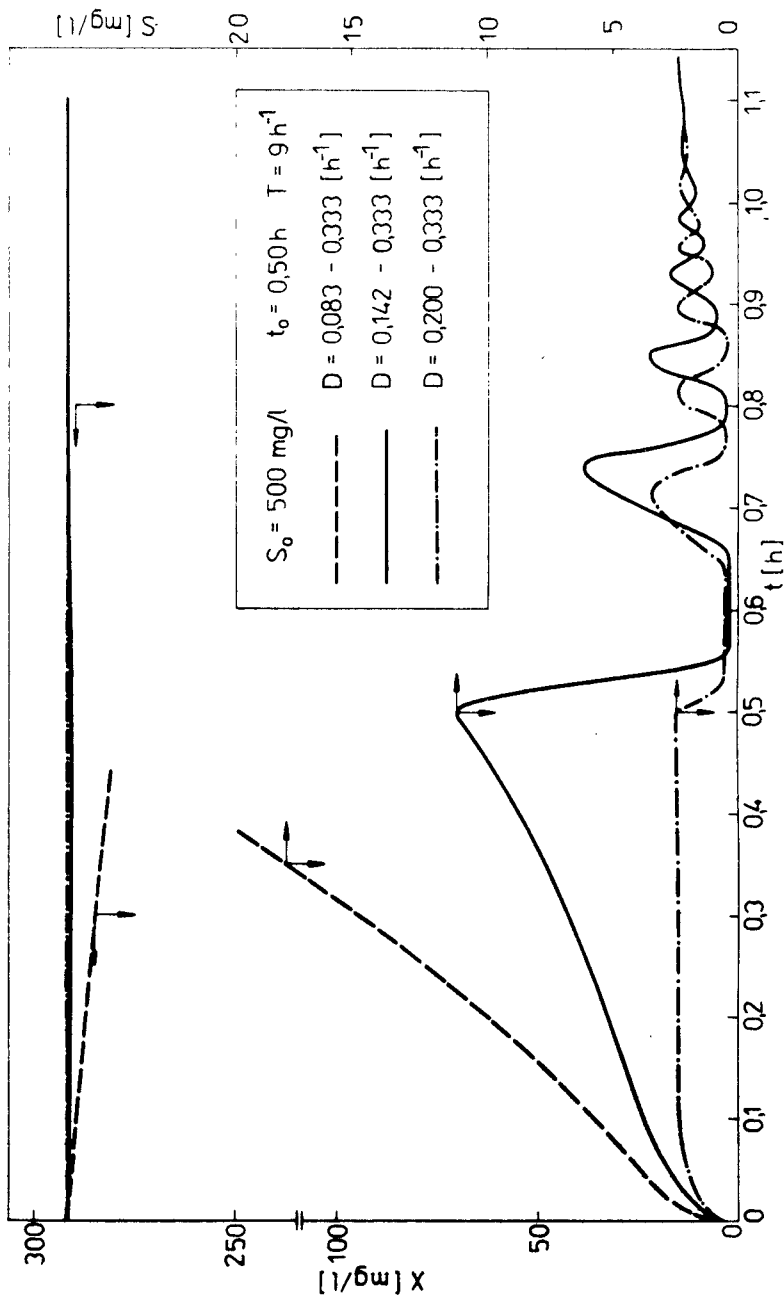
Rys.11 Zależność stężeń substratu S i biomasy X, obliczonych na podstawie równań (66) i (67), od czasu t



Rys. 12 Zależność stężenia substratu S i biomasy X, obliczonych na podstawie równań (66) i (67), od czasu t



Rys.13 Zależność stężenia substratu  $X$  i biomasy  $X$ , obliczonych na podstawie równań (66) i (67) dla różnych wartości  $t_0$ , od czasu  $t$

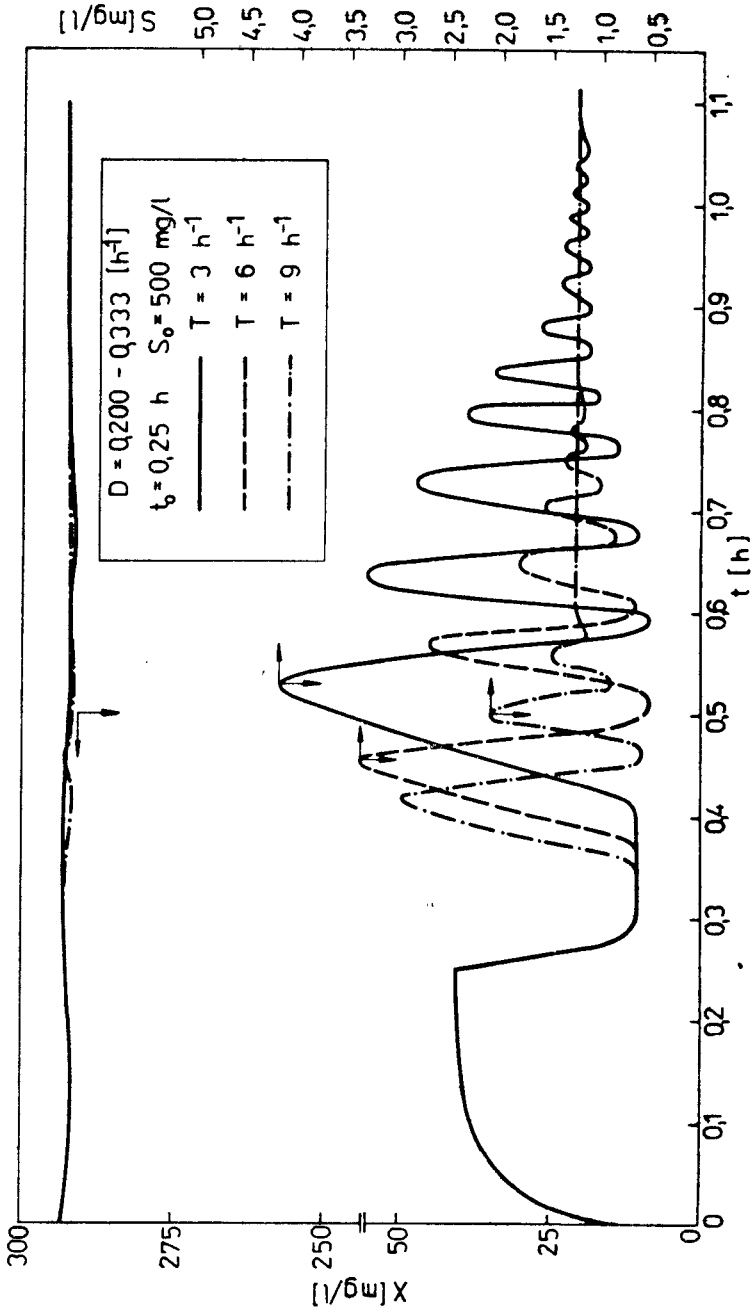


Rys.14 Zależność stężeń substratu S i biomasy X, obliczonych na podstawie równań (66) i (67) dla różnych wielkości skokowego zwiększenia szybkości rozcieńczenia D, od czasu t

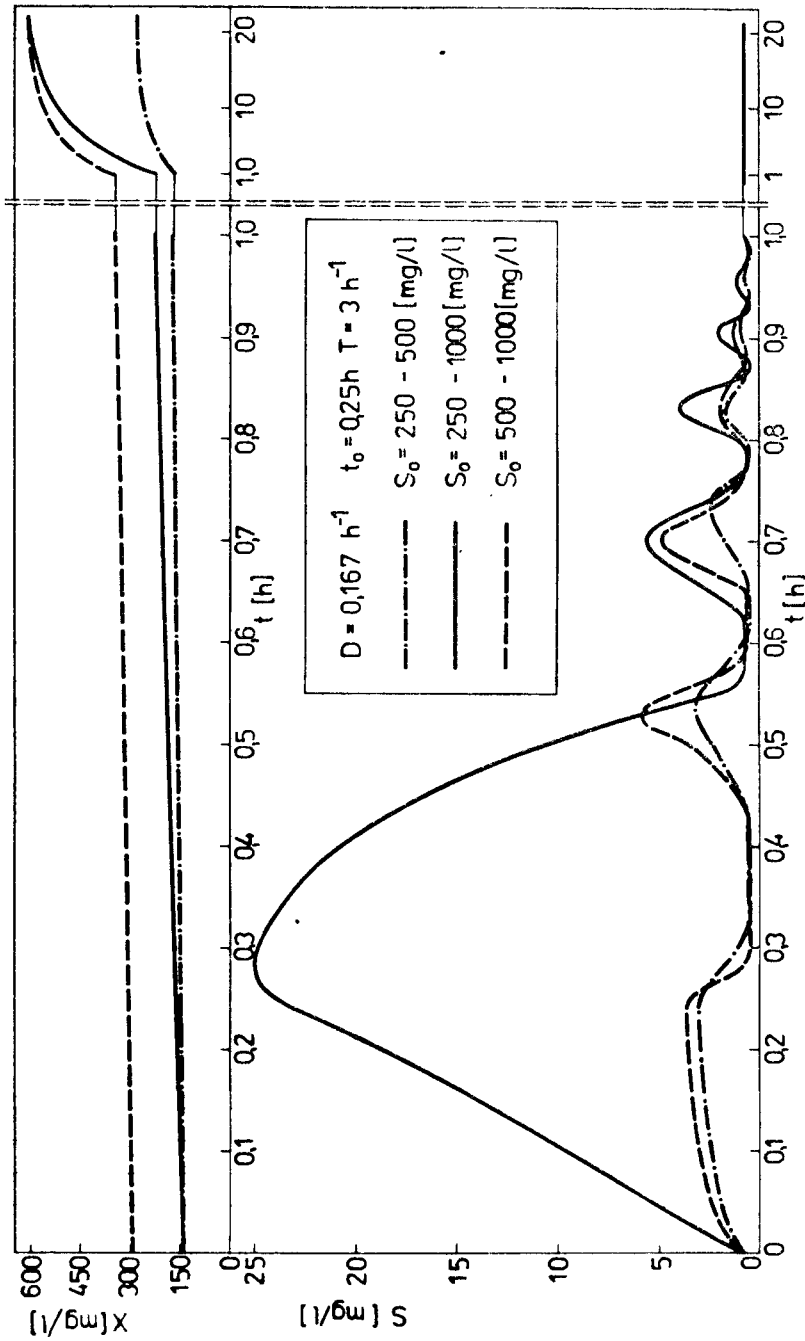
wano jedynie na podstawie odpowiedzi reaktora na skokowe zwiększenie  $D$  oraz  $S_0$ , przedstawionych w pracach [3,8,18].

Wartości  $S$  i  $X$  obliczone na podstawie równań (66) (67) i (68) dla kilku przypadków skokowego zwiększenia  $S_0$  przedstawiono na rys.16. Największe stężenie  $S$ , nawet kilkadziesiąt razy większe od stężenia substratu w reaktorze w poprzedzającym stanie ustalonym, wystąpi dla względnie największego skokowego zwiększenia  $S_0$ . Umiarkowane skokowe zwiększenie  $S_0$  (przykładowo dwukrotne na rys.16) prowadzi do niewielkiego, przejściowego tylko zwiększenia  $S$ . Warto na rys.16 zauważyć, że po takim samym względnym skokowym zwiększeniu  $S_0$  większe wartości  $S$  wystąpią w przypadku większych  $S_0$  poprzedzających zakłócenie. Ostatnie stwierdzenia dotyczą przypadków, gdy skokowego zwiększenia  $S_0$  dokonuje się przy umiarkowanej szybkości rozcieńczania. W przypadku niewielkiego nawet skokowego zwiększenia  $S_0$ , dokonanego jednak przy dużej szybkości rozcieńczania; bliskiej maksymalnej szybkości właściwej wzrostu komórek, z reguły zachodzi wymycie mikroorganizmów z reaktora (rys.17). Przykładowo na rys.17 dwukrotne zwiększenie  $S_0$  przy  $D = 0,167 \text{ h}^{-1}$  prowadzi jedynie do niewielkiego przejściowego zwiększenia  $S$ , natomiast przy  $D = 0,4 \text{ h}^{-1}$  powoduje wymycie mikroorganizmów z reaktora. Warto dodać, że powyższe wnioski są jakościowo zgodne z wynikami badań doświadczalnych przedstawionych w pracach [3,8,18,44]. Oznacza to, że zarówno charakter zmian  $S$  i  $X$ , jak również wielkości zakłóceń prowadzące do wymycia mikroorganizmów z reaktora, otrzymane na podstawie równań (66) (67) i (68), są zgodne z wynikami doświadczalnymi [3,8,18].

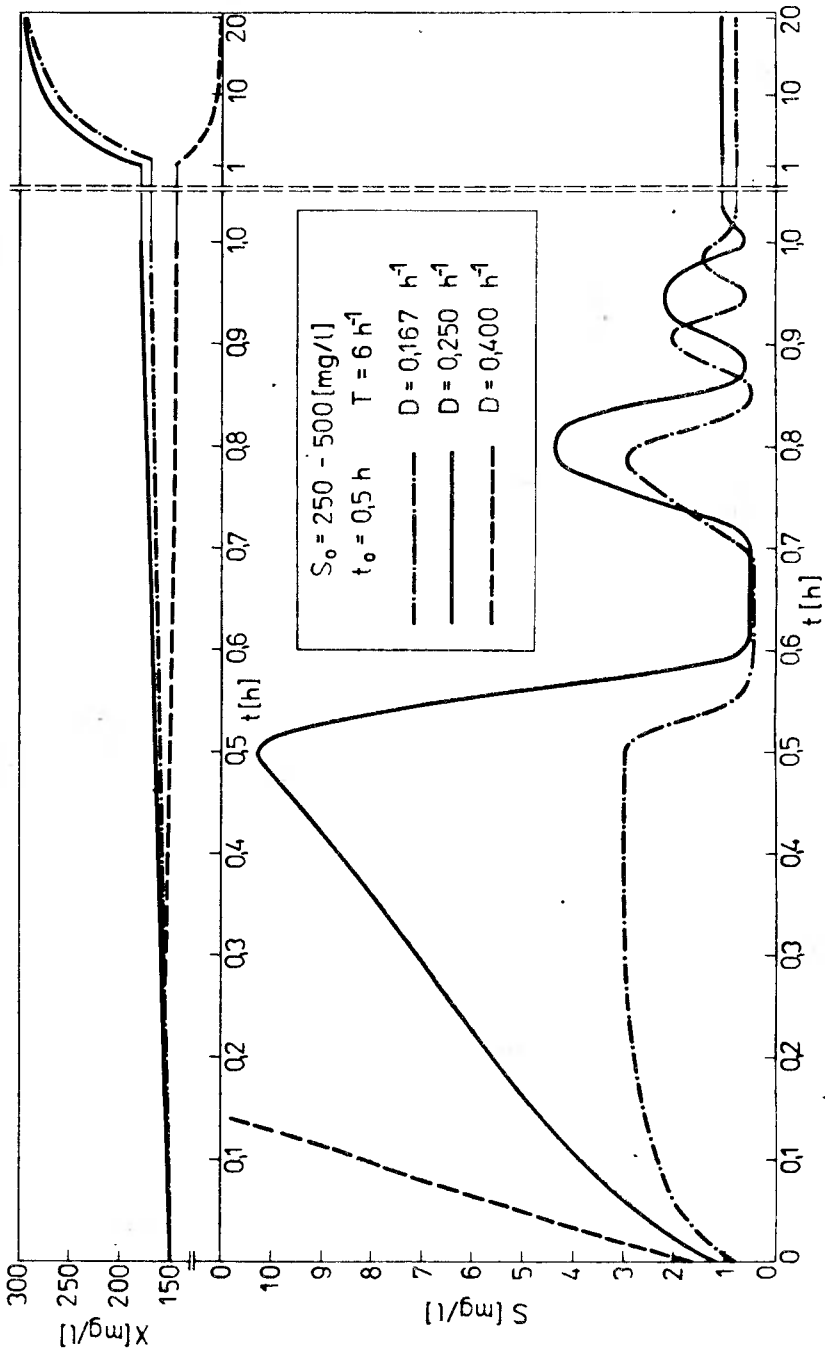
Jak uprzednio wspomniano, teoretycznie bardzo trudno jest ustalić wartość  $T$  dla danego modelu biologicznego. Na podstawie zmierzonych  $P_{\max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  oraz doświadczalnego związku  $S = f(t)$  można ją jednak określić zależnością doświadczalną. W tym celu należy zmierzyć, oddzielnie dla każdego zakłócenia, wartości  $P_{\max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  odpowiadające kilku czasom  $t$ , a następnie obliczyć według równania (53) odpowiadające im stężenia  $S_e$ . Z drugiej strony na podstawie zależności  $S = f(t)$ , którą wyznacza się doświadczalnie powtarzając dane zakłócenie, można obliczyć wartości  $t_z$ , równe czasom  $t$ , w których  $S = S_z = S_e$  (rys.10). Wreszcie na podstawie  $t_z$ ,  $t$  i  $t_0$  oblicza się według równania (65) wartości  $T$  odpowiadające czasom  $t$ , w których pobrano mikroorganizmy użyte do pomiaru  $P_{\max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$ .



Rys.15 Zależność stężenia substratu S i biomasy X, obliczonych na podstawie równań (66) i (67) dla różnych wartości T, od czasu t



Rys.16 Zależność stężenia substratu  $S$  i biomasy  $X$ , obliczonych na podstawie równań (66) i (67) dla różnych wielkości skokowego zwiększenia stężenia  $S_0$ , od czasu  $t$



Rys.17 Zależność stężeń substratu S i biomasy X, obliczonych na podstawie równań (66) i (67) dla skokowego zwiększenia stężenia  $S_0$  przy różnych szybkościach rozcieńczenia D, od czasu t

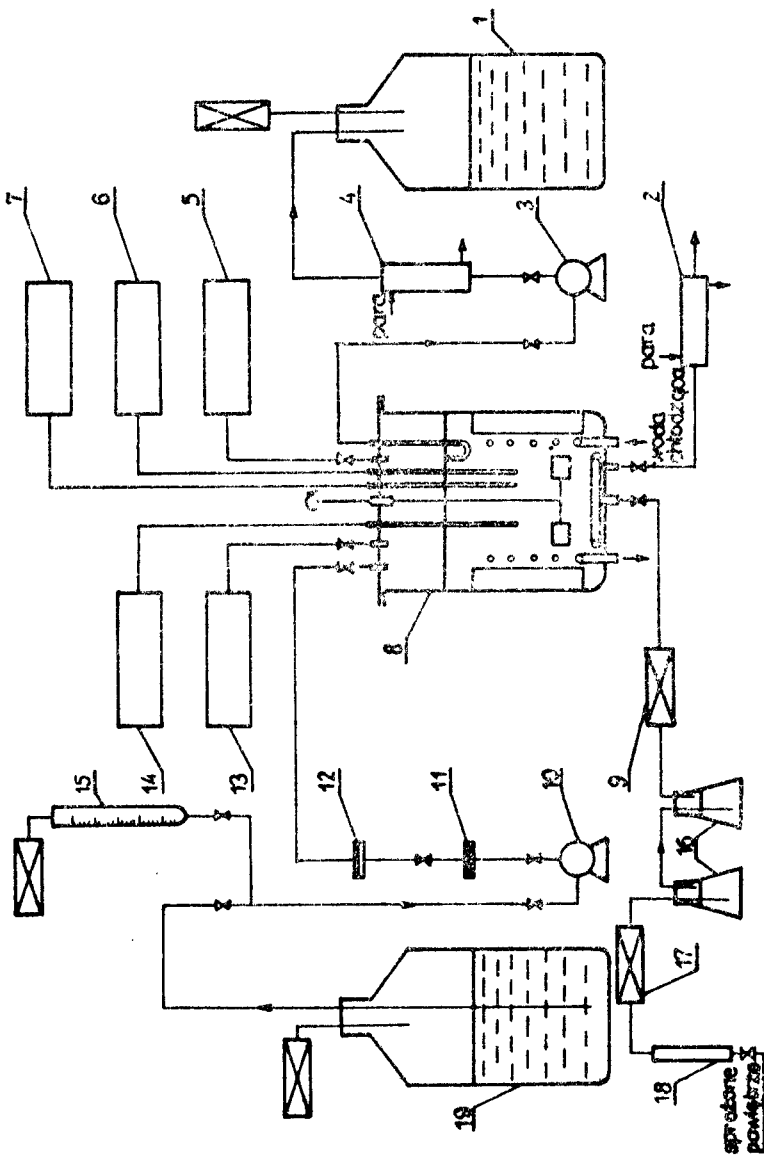


### III. B A D A N I A    D O Ś W I A D C Z A L N E

Wartości szybkości właściwej pobierania substratu wyznaczono w reaktorach okresowych dla procesu utleniania fenolu przez bakterie *Pseudomonas putida*. Bakterie hodowane w reaktorze zbiornikowym przepływowym pobierano w różnym czasie od wystąpienia zakłócenia, używając je następnie do pomiaru wartości  $P_p$  w reaktorach okresowych. Dokonywano skokowego zwiększenia szybkości rozcieńczania  $D$  lub skokowego zwiększenia stężenia substratu w pożywce  $S_0$ , po uprzednim wystąpieniu stanu ustalonego przy następujących szybkościach rozcieńczania : 0,125 ; 0,190 ; 0,260 ; 0,290 ; 0,325 ; 0,369 ; 0,395 ; 0,452 ; 0,485 ; 0,508 i 0,521 h<sup>-1</sup>. Wielkości dokonanych zakłóceń podano w tabeli 1. W celu określenia zależności między parametrami  $P_{max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  a stężeniem substratu, wartości  $P_p$  wyznaczono przy następujących stężeniach  $S_p$  : 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 i 50 mg/l.

#### 1. OPIS APARATURY DOŚWIADCZALNEJ

Ciągłą hodowlę prowadzono w układzie przedstawionym schematycznie na rys.18. Zasadniczym elementem aparatury był reaktor (8) o objętości 8 l, do którego w sposób ciągły doprowadzano ze zbiornika (19) pożywkę, przetwarzaną pompą (10) przez filtry biologiczne (11) i (12) z wkładami „Millipore filter” o średnicy otworów 0,45  $\mu$ m. Zastosowano dwa filtry, aby w przypadku zmiany wkładu filtra (11), czego dokonywano przeciętnie co trzy tygodnie, zapobiec zakażeniu zawiesiny w reaktorze. Stałą objętość zawiesiny w reaktorze równą 6 l utrzymywano za pomocą U-przelewu wraz z pompą (3), pracującą z potencjalnie większą wydajnością niż pompa (10). Stałą wartość pH utrzymywał automatyczny układ regulacji pH (6), który składał się z pehametru i z pH-elektrody zamocowanej w górnej pokrywie reaktora oraz z pompki doprowadzającej 0,5 n roztwór NaOH, uruchamianej i wyłączanej przez czujnik (5). Stałą temperaturę zawiesiny bakterii utrzymywał układ regulacji temperatury (7), składający się z wężownicy z przepływającą wodą chłodzącą oraz z grzałki elektrycznej sprzężonej z termometrem kontaktowym. Powietrze wyjaławiano przetwarzając je przez filtry biologiczne (9) i (17) z włókna szklanego. Produkty bioutlenienia oraz powietrze odprowadzana do zbiornika (1), skąd fazę gazową kierowano przez filtr biologiczny do atmosfery. Pomiaru ilości tlenu zawartego w biozawieszynie dokonywano



Rys. 18 Schemat aparatury do prowadzenia ciągłej hodowli bakterii. 1 - zbiornik produktów białnienia, 2, 4 - wymienniki ciepła, 3, 10 - pompy, 5 - automatyczny przełącznik pompki doprowadzającej NaOH, 6 - automatyczny układ utrzymywania pH, 7 - układ regulacji temperatury, 8 - reaktor, 9, 11, 12, 17 - filtry biologiczne, 13 - układ niszczenia piany, 14 - tlenomierz, 15.- biurets, 16 - układ nasycania powietrza, 18 - rotametr, 19 - zbiornik pożywki

tlenomierzem (14). Tworzeniu się piany, zwłaszcza w początkowym okresie po przełączeniu hodowli z okresowej na ciągłą, zapobiegano wprowadzając do reaktora olej silikonowy za pomocą układu (13). Strumień pożywki doprowadzanej do reaktora mierzono biuretą (15), a powietrza rotametrem (18).

Pomiaru szybkości właściwej pobierania substratu  $P_p$  dokonywano w reaktorach okresowych o objętości 50 ml, umieszczonych w łaźni wodnej o temperaturze 30°C, do których doprowadzano powietrze w ilości 25 l/h.

## 2. MATERIAŁY I METODY ANALITYCZNE

### M i k r o o r g a n i z m y

W doświadczeniach stosowano bakterie *Pseudomonas putida*, szczep NCIB 10015 z National Collection of Industrial Bacteries w Londynie, które przechowywano na pożywce agarowej syntetycznej w temperaturze 4°C. Pierwotną hodowlę okresową przygotowano zaszczipiając bakteriami 50 ml pożywki o składzie podanym w tabeli 2, zawierającej 150 mg fenolu/l. Hodowlę inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 30°C [8,18]. Następnie prowadzono przez 24 godziny wtórną hodowlę okresową w temperaturze 30°C, wprowadzając 5 ml hodowli pierwotnej do 50 ml pożywki o zawartości 150 mg fenolu/l. Właściwe inkulum stanowiła w ten sam sposób uzyskana trzecia hodowla okresowa, użyta bezpośrednio po fazie wykładniczego wzrostu komórek [18,74].

### P o ż y w k a

Podstawowy skład pożywki podano w tabeli 2. Aby zapobiec wytrąceniu się  $\text{CaSO}_4$  i  $\text{MgSO}_4$  przygotowano oddzielnie wodne roztwory poszczególnych składników (tabela 2). Do połączonych roztworów 1, 2 i 3 dodawano taką ilość fenolu, aby jego stężenie wynosiło  $S_0$ . Następnie pożywkę wyjaławiano w autoklawie w temperaturze 120°C przez około 1 godzinę [8,18,74].

### M e t o d y a n a l i t y c z n e

Stężenie biomasy w reaktorze przepływowym oznaczano zarówno metodą fotometryczną, jak i pomiarem suchej masy [1,2,74]. Aby wyeliminować wpływ flokulacji na gęstość optyczną zawiesiny komórek, próbki pobrane z reaktora umieszczano najpierw na około 20 sekund w homogenizatorze, a następnie mierzono ich gęstości optyczne. Stężenie fenolu mierzono fotometrycznie zmodyfikowaną metodą 4-aminofenazonu [18,79]. Metoda pomiaru masy  $m_f$  fenolu utlenionego przez bakterie w reaktorach okresowych zależała od wielkości stężenia  $S_p$ . W przypadku pomiaru  $P_p$  przy stężeniach  $S_p$  mniejszych od 15 mg/l, wartości  $m_f$  wyznaczano metodą atomów znaczonych, stosując w doświadczeniach fenol z węglem  $\text{C}^{14}$  [80].

Skład pożywki

Składnik	Ilość na 1 l pożywki [mg]	Roztwór
$\text{NH}_4/2\text{SO}_4$ $\text{KH}_2\text{PO}_4$ woda destylowana	500 200 do 0,4 l	1
$\text{MgCl}_2$ $\text{NaCl}$ $\text{CaCl}_2$ woda destylowana	30 30 20 do 0,4 l	2
$\text{FeCl}_3$ woda destylowana	7 do 0,1 l	3
woda destylowana z fenolem <sup>*</sup>	do 1 l pożywki	
<sup>*</sup> Stężenie fenolu w pożywce było zmienne		

Wartości  $m_f$  dla stężeń 15 mg/l i większych wyznaczano fotometrycznie wspomnianą już zmodyfikowaną metodą 4-aminofenazonu [79]. Należy wyjaśnić, że w celu wyeliminowania wpływu promieniotwórczości na aktywność metaboliczną bakterii oraz z uwagi na wysoki koszt radioaktywnego fenolu, stanowił on tylko część "r" całkowitej masy " $m_f$ " fenolu, zawartego w reaktorach okresowych na początku doświadczenia. Wartości "r" ustalano oddzielnie dla każdego stężenia  $S_p$  następująco: zarówno z charakterystyki aparatu stosowanego do pomiaru masy  $m_r$  radioaktywnego fenolu, utlenionego przez bakterie łącznie z fenolem bez atomów  $\text{C}^{14}$ , jak również z rozważań statystycznych przedstawionych w pracy [80] wynikało, że błąd pomiaru  $m_r$  nie przekraczał 5 % w przypadku, gdy izotop  $\text{C}^{14}$  zawarty w komórkach dawał około 300 rozpadów/min. Odpowiadało to utlenieniu  $3,672 \cdot 10^{-7}$  mg zastosowanego fenolu radioaktywnego. Z drugiej strony stosowano w reaktorach okresowych taką masę bakterii  $m_b$ , aby w trakcie doświadczenia trwającego 5 minut uległo utlenieniu około 10 % masy fenolu  $M_f$ . Uzasadnienie takiego postępowania podano w dalszej części pracy, przy opisie pomiarów wartości  $P_p$ . Pomiaru  $m_f$  dokonywano w próbach pobieranych z reaktorów okresowych co 1 minutę;

zatem w pierwszym interwale czasu bakterie utleniły  $(0,1 M_f/5)$  fenolu .  
w tym  $(0,1 r M_f/5)$  fenolu radioaktywnego. Masa  $(0,1 r M_f/5)$  powinna być  
równa, jak wyżej podano, co najmniej  $3,672 \cdot 10^{-7}$  mg. Zatem :

$$\frac{0,1 r M_f}{5} = 3,672 \cdot 10^{-7}$$

Ale 
$$M_f = S_p V_p$$

Stąd

$$r = \frac{5 \cdot 3,672 \cdot 10^{-7}}{0,1 V_p S_p} \quad (69)$$

Masę bakterii  $m_b$  obliczano na podstawie wstępnych wartości  $P_{pw}$ , wyznaczonych w badaniach pomocniczych przeprowadzanych przed pomiarami ostatecznych wartości  $P_p$ . Biorąc pod uwagę fakt, że wstępne wartości  $P_{pw}$  mogły być obciążone takim błędem, iż obliczona masa  $m_b$  mogła być niewystarczająca do utlenienia około 10 % masy fenolu  $M_f$ , dlatego w doświadczeniach stosowano dwukrotnie większą ilość fenolu radioaktywnego od obliczonej według równania (69).

### 3. SPOSÓB PROWADZENIA DOŚWIADCZEŃ

W celu określenia czasu pobierania bakterii z reaktora przepływowego, dla których następnie mierzono wartości  $P_p$ , najpierw wyznaczono odpowiedzi reaktora na zastosowane zakłócenia.

Następnie dla każdego zakłócenia postępowano następująco : powtarzano dane zakłócenie i w czasie  $t$ , liczonym od wystąpienia zakłócenia i ustalonym w wyniku analizy wcześniej wyznaczonej doświadczalnej zależności  $S = f(t)$ , pobierano z reaktora przepływowego bakterie, które używano następnie do pomiaru  $P_p$ . Jednocześnie po pobraniu biozawiesiny ustawiano takie parametry hodowli, a ściślej taką szybkość rozcieńczania lub takie stężenie substratu w pożywce, jakie były przed zakłóceniem i prowadzono hodowlę do osiągnięcia stanu ustalonego. Wówczas ponownie dokonywano tego samego zakłócenia i po pobraniu bakterii w kolejnym czasie  $t$  wyznaczano odpowiadające mu wartości  $P_p$ . Jednocześnie podobnie jak uprzednio, po po-

braniu bakterii z reaktora ustawiano takie same parametry hodowli, jakie były przed zakłóceniem.

Powyższe czynności wykonywano dla wszystkich czasów  $t$  podanych w tabelach 6 i 7, zamieszczonych w dalszej części pracy.

Opisany wyżej tok postępowania powtarzano dla wszystkich zakłóceń wyszczególnionych w tabeli 1.

### 3.1. Wyznaczanie parametrów hodowli w stanach nieustalonych

Hodowlę rozpoczynano zaszczepiając bakteriami około 5 l pożywki o stężeniu fenolu 150 mg/l w reaktorze przepływowym. Po fazie wykładniczego wzrostu komórek, co występowało po około 12-16 godzinach licząc od wprowadzenia inokulum, rozpoczynano powolne doprowadzanie pożywki do reaktora, łagodnie je zwiększając aż do osiągnięcia założonej szybkości rozcieńczenia  $D$ . Temperatura biozawiesiny w reaktorze przepływowym wynosiła  $30^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , a wartość pH była równa  $6,8 \pm 0,1$ . Strumień powietrza doprowadzanego do reaktora wynosił około  $2 \text{ m}^3/\text{h}$ , co zapewniało optymalną dla bakterii ilość tlenu [8,74,81]. Optymalne natlenienie, z punktu widzenia wzrostu bakterii, ustalono doświadczalnie, mierząc stężenie fenolu na wylocie z reaktora przy różnym strumieniu powietrza. Przy optymalnym natlenieniu stężenie fenolu na wylocie z reaktora było najmniejsze, zatem szybkość właściwa jego pobierania była największa. Zakłóceń dokonywano po wystąpieniu stanu ustalonego. Przyjmowano, że stan ustalony występował wówczas, gdy wyniki kolejnych pięciu pomiarów  $S$  i  $X$ , dokonanych w odstępach 5 minut, różniły się od siebie mniej niż o 10%. W przypadku zmiany hodowli okresowej na ciągłą stan ustalony występował z reguły po upływie około trzech średnich czasów przebywania, licząc od ustalenia szybkości rozcieńczenia [8,74]. Warto podkreślić, że w stanie ustalonym nie stwierdzano oscylacji stężeń fenolu i biomasy, obserwowanych w przypadku ciągłej hodowli na substracie aktywującym wzrost mikroorganizmów [10,18,50,55,60,72]. Należy dodać, że największa szybkość rozcieńczenia  $D$ , przy której prowadzono hodowlę w stanie ustalonym, była tylko nieznacznie mniejsza od wartości  $D_{\text{max}}$ , przy której zachodziło wymywanie bakterii z reaktora.

Po wystąpieniu stanu ustalonego skokowo zwiększano szybkość rozcieńczenia, przy niezmiennym stężeniu substratu w pożywce. Stężenia fenolu  $S$  i biomasy  $X$  mierzono opisanymi uprzednio metodami, pobierając aseptycznie co 2 minuty 5 ml zawiesiny [8,74,75]. Pomiarów  $S$  i  $X$  dokonywano do momentu wystąpienia stanu ustalonego, to jest do czasu, gdy wartości dziesięciu kolejnych pomiarów  $S$  i  $X$  różniły się od siebie mniej niż o 10%. Opisany sposób postępowania powtarzano dla wszystkich przypadków skokowego zwiększenia  $D$  podanych w tabeli 1. Badania powyższe przeprowadzono dla stężeń fenolu w pożywce równych 250, 500 i 1000 mg/l.

Analogicznie wyznaczano stężenia  $S$  i  $X$  dla przypadków skokowego zwiększenia stężenia  $S_0$ , dokonywanych przy niezminionej szybkości rozcieńczenia. Dokonywano następujących skokowych zmian  $S_0$ : 250-500, 500-750, 500-1000, 750-1000 mg/l.

Zgodnie z założeniami pracy, pomiarów  $P_p$  dokonywano dla bakterii pobieranych z reaktora przepływowego w stanach nieustalonych wywołanych tylko takimi skokowymi zmianami  $D$  lub  $S_o$ , aby w stanie ustalonym występującym po zakłóceniu zachodziło utlenienie praktycznie całej ilości fenolu doprowadzonego do reaktora (rys.7 i 8). Wielkości skokowych zmian  $D$  i  $S_o$  spełniających ostatecznie kryterium wyznaczono w oddzielnych badaniach.

Doświadczalne wartości  $S$  i  $X$  przedstawiono na rys.23-28 podanych w rozdziale V oraz na rys. XVI-XXVI zamieszczonych na końcu niniejszej pracy.

### 3.2. Pomiaru szybkości właściwej pobierania substratu

Dla danego stężenia  $S_p$  pomiary wartości  $P_p$  sprowadzały się do wyznaczenia zależności między masą  $m_f$  fenolu, utlenionego przez bakterie w reaktorze okresowym, a czasem  $\tau$  trwania doświadczenia.

W celu określenia wartości niektórych wielkości, potrzebnych do zaplanowania ostatecznych doświadczeń, właściwe pomiary  $P_p$  poprzedzono badaniami pomocniczymi. Wyznaczono wstępne wartości  $P_{pw}$  wykorzystywane następnie do obliczenia takiej masy  $m_p$  bakterii, ściśle związanej ze stężeniem  $S_p$ , aby w reaktorach okresowych uległo utlenieniu około 10 % (lub mniej) początkowej masy fenolu. Bliższego wyjaśnienia wymaga przyjęcie takiej właśnie ilości fenolu, którą bakterie mogły utlenić w reaktorach okresowych. Jak już wspomniano, wyznaczając wartości  $P_p$  w reaktorze okresowym należałoby w trakcie doświadczenia dodawać do reaktora taką ilość fenolu, aby utrzymać niezmiennie w czasie stężenie  $S_p$  [1,2,34,39]. Z uwagi na małą objętość zastosowanych reaktorów okresowych, uwarunkowaną ilością biomasy, którą można było jednorazowo pobrać z reaktora przepływowego (zwłaszcza dla  $S_o = 250$  mg/l), bardzo trudno było mierzyć  $S_p$  w sposób ciągły wobec braku odpowiednich przyrządów. Bardzo trudno byłoby więc utrzymywać stałe stężenie  $S_p$  w trakcie pomiaru  $P_p$  [34,39]. Doświadczalne badania szybkości właściwej pobierania fenolu  $P_p^{*d}$  przedstawione w pracach [34,39], wykazały, że wartości  $P_p^{*d}$  zależą od wielkości zmiany stężenia  $S_p$  w trakcie doświadczenia. Dla przypadków, gdy stężenie  $S_p$  na skutek utlenienia fenolu zmniejszyło się do  $0,8 S_p$  na końcu doświadczenia, wartości  $P_p^{*d}$  były dla  $S_p \leq 10$  mg/l o około 11 % mniejsze, a dla  $S_p > 10$  mg/l o około 9 % większe od wartości  $P_p^{*d}$  wyznaczonych przy  $S_p = \text{const}$ . Również w niniejszej pracy dokonano porównania wartości  $P_p$ , wyznaczonych w oddzielnych badaniach, dla kilku  $S_p$  niezmiennych w trakcie pomiaru  $P_p$  oraz zmniejszających się do  $0,9 S_p$  i  $0,8 S_p$ . Pomiarów wartości  $P_p$  dokonano dla bakterii pobranych z reaktora przepływowego w różnych stanach nieustalonych. Stwierdzono, że wartości  $P_p$  otrzymane przy  $S_p = \text{const}$  były dla  $S_p \leq 5$  mg/l przeciętnie o około 14 % większe, a dla  $S_p > 5$  mg/l o około 12 % mniejsze od  $P_p$  wyznaczonych, gdy stężenia  $S_p$  zmniejszyły się do  $0,8 S_p$ . W przypadku, gdy stężenia  $S_p$  zmniejszyły się do  $0,9 S_p$  zmierzone wartości  $P_p$  były dla  $S_p \leq 5$  mg/l przeciętnie o około 7 % mniejsze, a dla  $S_p > 5$  mg/l o około 5 % większe od  $P_p$  wyznaczonych przy  $S_p = \text{const}$ . Na tej podstawie

uznano, że wartości  $P_p$  wyznaczone w przypadku, gdy stężenia  $S_p$  zmniejszyły się do  $0,9 S_p$ , mało różniły się od  $P_p$  otrzymanych przy  $S_p = \text{const}$ . Rozrzut doświadczalnych wartości  $m_f$ , których pomiar jest bardzo trudny i wymaga dużej dokładności, wynosił przeciętnie kilkadziesiąt procent. Z tego względu, w dalszej części niniejszej pracy wartości  $P_p$  wyznaczano w reaktorach okresowych przy stężeniach  $S_p$  zmniejszających się co najwyżej do  $0,9 S_p$  na końcu doświadczenia. Otrzymane wartości  $P_p$  traktowano jako odpowiadające stężeniom  $S_p$  fenolu na początku doświadczenia.

Najpierw wyznaczono wstępne wartości  $P_{pw}^*$  dla bakterii wyhodowanych w stanie ustalonym. Wartości te wykorzystywano następnie do obliczenia takiej masy  $m_b$  bakterii, która przy pomiarach ostatecznych wartości  $P_p^*$  zapewniała utlenienie w reaktorach okresowych około 10 % początkowej masy fenolu. W tym celu wprowadzano do reaktorów okresowych pożywkę o takiej objętości i stężeniu, aby po dodaniu zawiesiny zawierającej  $m_{bw}^*$  biomasy, ściśle związanej ze stężeniem  $S_p$ , objętość  $V_p$  wynosiła 10 ml, a skład był taki jak podany w tabeli 2; o stężeniu fenolu  $S_p$ . Reaktory te umieszczano w łaźni wodnej o temperaturze  $30^\circ\text{C}$ . Po wystąpieniu stanu ustalonego w reaktorze przepływowym pobierano z niego około 1,5 l biozawiesiny, do której natychmiast dodawano około 150 mg chloramfenikolu i wirowano ją w temperaturze  $4^\circ\text{C}$ . W celu wymycia fenolu odwirowane komórki przemywano 500 ml roztworu o składzie podanym w tabeli 3 i ponownie wirowano w temperaturze  $4^\circ\text{C}$ . Z przemytych komórek przygotowywano zawiesiny o stężeniach 1,5, 10 i 20 mg biomasy na mililitr roztworu podanego w tabeli 3. Zawiesiny umieszczano w łaźni o temperaturze  $4^\circ\text{C}$  na czas dokonywania pomiarów  $P_{pw}^*$ . Dla danego stężenia  $S_p$  postępowano następująco: po dodaniu masy bakterii równej  $m_{bw}^*$  reaktor okresowy umieszczano w homogenizatorze na 20 sekund, a następnie w łaźni wodnej o temperaturze  $30^\circ\text{C}$ , jednocześnie pobierając z niego 1,5 ml zawiesiny, którą natychmiast mieszano z 2 ml wody destylowanej i filtrowano na próżniowym filtrze poliestrowym o średnicy otworów  $0,45 \mu\text{m}$ . Masę  $m_{bw}^*$  dla danego stężenia  $S_p$  obliczano na podstawie wartości  $P_p^*$  zaczerpniętych z prac [34, 39]. W przypadku, gdy pomiarów wartości  $P_{pw}^*$  dokonywano dla  $S_p < 15 \text{ mg/l}$ , zatem gdy masę  $m_{fw}^*$  utlenionego fenolu wyznaczano metodą atomów znaczonych, bakterie na filtrze przemywano dwukrotnie 10 ml wody destylowanej, a następnie filtry z komórkami umieszczano w probówkach z polietylenu [34, 39, 80]. Masę  $m_{fw}^*$  wyznaczano mierząc zawartość atomów  $\text{C}^{14}$  w komórkach według metody opisanej w pracy [80]. Gdy pomiary  $P_{pw}^*$  prowadzono dla  $S_p \geq 15 \text{ mg/l}$ , wtedy masę  $m_{fw}^*$  wyznaczano fotometrycznie, przesącze zbierano w probówkach, a po zakończeniu doświadczeń mierzono w nich stężenie fenolu i obliczano masę  $m_{fw}^*$  dla wszystkich  $S_p$  [18, 34]. Kolejne próby o objętości 1,5 ml pobierano z reaktora okresowego co 1 minutę wykonując opisane wyżej czynności. Powyższe czynności powtarzano dla wszystkich podanych uprzednio stężeń  $S_p$ . Na podstawie zmierzonych  $m_{fw}^*$  obliczano wartości  $P_{pw}^*$  dla każdego stężenia  $S_p$ , w sposób opisany szczegółowo w następnym rozdziale niniejszej pracy. Wartości  $P_{pw}^*$  wykorzystywano następnie do określenia masy  $m_b$  bakterii użytej do pomiaru ostatecznych wartości  $P_p^*$ .

Pomiaru ostatecznych wartości  $P_p^*$  dokonywano postępując w taki sam



sposób, jak w przypadku wyznaczania wstępnych wartości  $P_{pw}^*$ . Dopiero drugą zmierzoną wartość szybkości pobierania fenolu przyjmowano jako ostateczną wartość  $P_p^*$ . Wynikało to z faktu, że masa  $m_{bw}^*$  obliczona na podstawie  $P_p^*$ , podanych w pracach [34,39], mogła być za duża i przy danym stężeniu  $S_p$  mogło ulec utlenieniu więcej niż 10 % fenolu zawartego początkowo w reaktorze okresowym. Do pomiaru  $P_p^*$  stosowano taką masę bakterii  $m_b^*$ , aby podobnie jak uprzednio przy wyznaczaniu wartości  $P_{pw}^*$  co najwyżej 10 % masy fenolu uległo utlenieniu.

Analogicznie wyznaczano wartości  $P_p$  dla bakterii pobranych z reaktora przepływowego w stanie nieustalonym. Masę  $m_{bw}$  bakterii stosowaną do pomiaru wstępnych wartości  $P_{pw}$  obliczano na podstawie wartości  $P_p^*$ , zmierzonych wcześniej dla stanu ustalonego poprzedzającego zakłócenie. Ostateczne wartości  $P_p$  wyznaczano stosując masę bakterii  $m_b$  obliczoną na podstawie odpowiadających im wstępnych wartości  $P_{pw}$ .

Wartości  $t$  ustalono na podstawie analizy doświadczalnych stężeń  $S$  i  $X$ , przedstawionych na rys.23-28 oraz na rys. XVI-XXVI.

Jak podano wyżej, objętość zawiesiny w reaktorach okresowych po dodaniu  $m_b$  biomasy wynosiła 10 ml. Taka objętość wynikała z największej masy bakterii, którą można było jednorazowo pobrać z reaktora przepływowego przy stężeniu fenolu w pożywce równym 250 mg/l. Doświadczalnie stwierdzono bowiem, że pobierając mniej niż 30 % biozawiesiny stan ustalony występował, po ustawieniu takich parametrów jak przed zakłóceniem, po około trzech średnich czasach przebywania. Pobranie większej ilości biomasy znacznie wydłużało czas wystąpienia stanu ustalonego, a także zwiększało prawdopodobieństwo mutacji [76,78,82,83].

Stosowano biozawiesiny o różnych (podanych wyżej) stężeniach, aby zwiększyć dokładność pomiaru  $m_b$ , zwłaszcza dla stężeń  $S_p \leq 10$  mg/l.

Objętość wody destylowanej stosowanej do filtracji zawiesiny pobranej z reaktorów okresowych oraz do przemywania biomasy na filtry, w przypadku pomiarów  $P_p$  dla  $S_p < 15$  mg/l, wyznaczono oddzielnie. Aby czas filtracji nie przekraczał kilkadziesiąt sekund, zawiesinę pobraną z reaktorów okresowych filtrowano na dużym filtrze próżniowym (o średnicy 3 cm), z uwagi na duże stężenie bakterii, zwłaszcza w przypadku pomiaru wartości  $P_p$  dla  $S_p \geq 25$  mg/l. Objętość próbki równa 1,5 ml była jednak zbyt mała, aby pokryć cały filtr, co uniemożliwiłoby szybką jej filtrację. Z tego względu biozawiesinę pobraną z reaktora okresowego rozcieńczano najpierw 2 ml wody destylowanej, a następnie filtrowano. W wyniku prób ustalono, że mniejsza ilość wody nie zapewnia szybkiej filtracji próbki, większa natomiast wydłużała czas filtracji tak, że ilość fenolu utlenionego na filtrze w czasie filtracji była porównywalna z masą  $m_f$  odpowiadającą pierwszej próbie, trwającej jak podano 1 minutę [34,39]. Badania własne [34] wykazały, że w przypadku filtracji trwającej 10 sekund ilość fenolu utlenionego przez bakterie na filtrze nie przekraczała 5 % masy  $m_f$  dla pierwszej próby. Ponieważ masa  $m_f$  wzrastała dla kolejnych prób, zatem błędy pomiaru  $m_f$  związane z utlenianiem fenolu na filtrze były mniejsze dla pozostałych czterech prób [34]. W niniejszej pracy stwierdzono, że w przypadku pomiaru  $P_p$  dla  $S_p \geq 25$  mg/l, użycie do filtracji na przykład 10 ml wody destylowanej

prowadziło do takiego wydłużenia czasu filtracji próbek, że ilość fenolu utlenionego na filtrze stanowiła nawet około 40 % masy  $m_f$  dla pierwszego interwału czasu.

W wyniku prób ustalono również najkorzystniejszą objętość wody stosowanej do przemywania biomasy na filtrze, w przypadku pomiaru  $P_p$  dla  $S_p < 15$  mg/l. Stwierdzono, że po dwukrotnym przemyciu biomasy na filtrze 10 ml wody destylowanej masa radioaktywnego fenolu zawartego w biomacie była mniejsza niż 5 % masy  $m_{fr}$  dla pierwszego interwału czasu.

Chloramfenikol dodawano w celu zatrzymania syntezy enzymu w komórkach po pobraniu ich z reaktora przepływowego.

Operacje fizyczne jak wirowanie, przechowywanie biomasy itp. przeprowadzano w temperaturze  $4^{\circ}\text{C}$ . W dodatkowych doświadczeniach nie stwierdzono praktycznie uchwytne zmniejszenia się aktywności metabolicznej bakterii utrzymywanych uprzednio w ciągu 2 godzin w temperaturze  $4^{\circ}\text{C}$ . Na przykład zmniejszenie się wartości  $P_p$  o około 20 %, wynikające z przechowywania bakterii poza reaktorem przepływowym, stwierdzono dopiero po około 20 godzinach od pobrania zawiesiny. Należy dodać, że doświadczalnie nie stwierdzono wpływu zmiany temperatury przechowywania bakterii z  $30^{\circ}\text{C}$  na  $4^{\circ}\text{C}$ , a następnie z  $4^{\circ}\text{C}$  na  $30^{\circ}\text{C}$ , na ich aktywność metaboliczną. Podobne wyniki uzyskali autorzy prac [34,39].

W celu porównania dokładności pomiarów  $m_f$  metodą fotometryczną i atomów znaczonych, zmierzono równolegle obiema metodami kilkanaście wartości  $m_f$  dla  $S_p = 15$  mg/l. Wartości  $m_f$  różniły się od siebie przeciętnie o około 15 %; wyznaczone jedną metodą były zarówno większe, jak i mniejsze od  $m_f$  zmierzonych drugą metodą.

Doświadczalnie nie stwierdzono wpływu promieniotwórczości radioaktywnego fenolu na aktywność metaboliczną *Pseudomonas putida*.

Dla danego zakłócenia wyznaczono wartości  $P_p$  dla bakterii pobranych z reaktora przepływowego w kilku czasach  $t$ , podanych w tabelach 6 i 7 zamieszczonych w dalszej części pracy.

Tabela 3

Skład wodnego roztworu, którym przemywano biomasę używaną do pomiaru  $P_p$

Lp.	Składnik	Zawartość [mg/l]
1	$/\text{NH}_4/2\text{SO}_4$	500
2	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	200
3	$\text{MgCl}_2$	30
4	$\text{NaCl}$	30
5	$\text{CaCl}_2$	20
6	$\text{FeCl}_3$	7
7	Chloramfenikol	100
8	Woda destylowana	do 1 l

#### IV. O P R A C O W A N I E    W Y N I K Ó W    B A D A Ń D O Ś W I A D C Z A L N Y C H

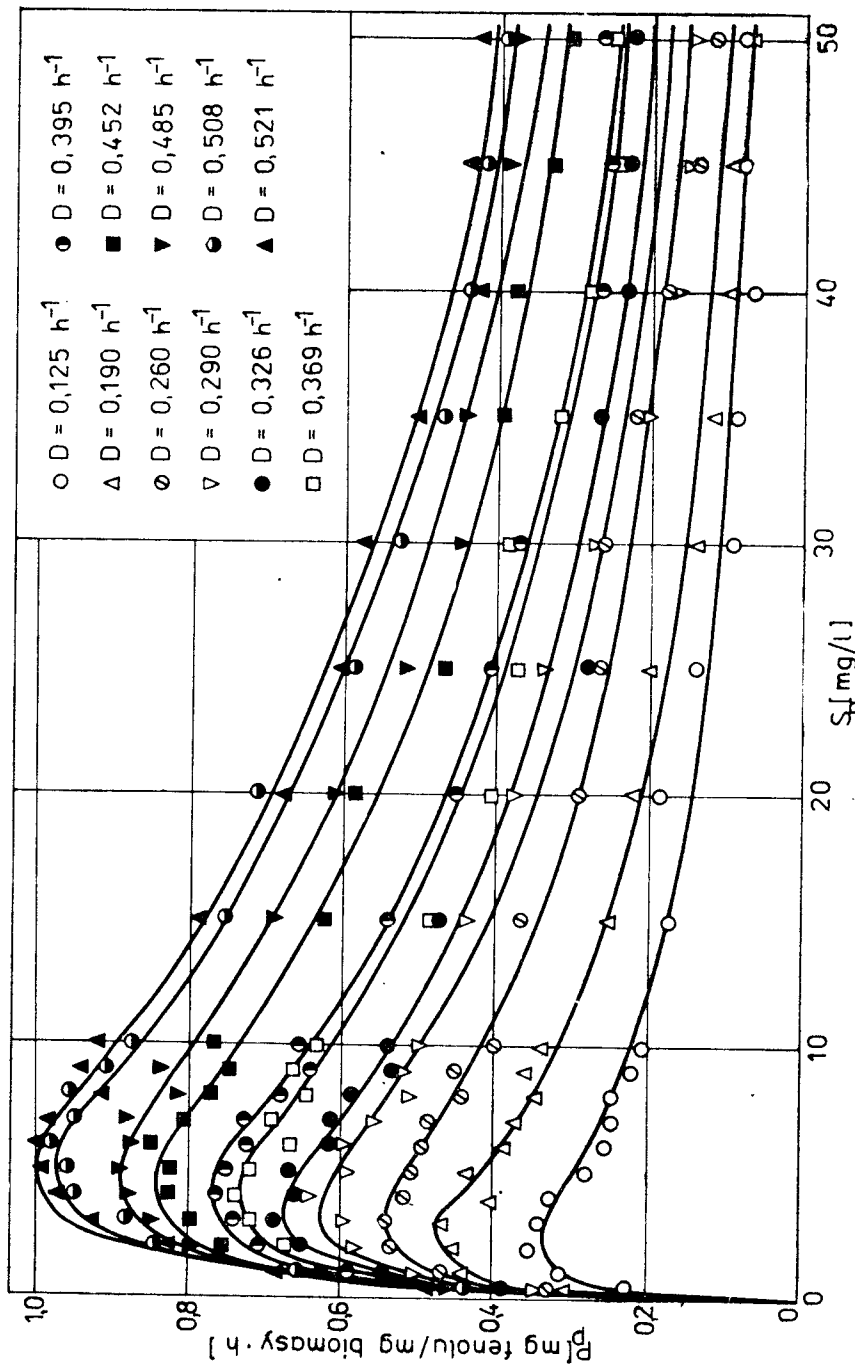
Wartości szybkości właściwej pobierania fenolu  $P_p$  obliczono na podstawie doświadczalnych  $m_f$ , a wartości  $P_p^*$  na podstawie  $m_f^*$ . Do ustalenia zależności między wartościami  $P_p$  a stężeniem  $S$  fenolu w reaktorze przepływowym w stanie nieustalonym i stężeniem  $S_p$  fenolu w reaktorze okresowym wykorzystano rachunek wyrównawczy, a w szczególności zmodyfikowaną przez Marquardtą i Flechtera [84] dla zastosowanego typu równania metodę najmniejszych kwadratów [85].

##### 1. D O Ś W I A D C Z A L N E    W A R T O Ś C I    S Z Y B K O Ś C I    W Ł A Ś C I W E J P O B I E R A N I A    S U B S T R A T U    W    S T A N I E    U S T A L O N Y M

Wartości szybkości właściwej pobierania fenolu  $P_p^*$  dla bakterii wyhodowanych w reaktorze przepływowym w stanie ustalonym obliczono dzieląc współczynnik kierunkowy prostej  $m_f^* = a\tau + b$ , wyznaczonej metodą najmniejszych kwadratów na podstawie doświadczalnych  $m_f^*$  i  $\tau$ , przez masę  $m_b^*$  bakterii. Zależność między wartościami  $P_p^*$  a stężeniem  $S_p$  dla bakterii wyhodowanych przy różnych szybkościach rozcieńczania, przedstawiono na rys.19. Z rysunku tego wynika, że dla danego  $S_p$  wartości  $P_p^*$  są związane z szybkością rozcieńczania przy jakiej wyhodowano bakterie, a ściślej ze stężeniem  $S^*$ . Zależność między wartościami  $P_p^*$  a stężeniem  $S_p$  opisano równaniem :

$$P_p^* = \frac{P_{\max}^* S_p}{K_S^* + S_p + S_p^2 / K_i^*} \quad (70)$$

obliczając wartości parametrów  $P_{\max}^*$ ,  $K_S^*$  i  $K_i^*$ , oddzielnie dla każdego  $S^*$  na podstawie zmierzonych  $P_p^*$ . Wyniki obliczeń podano w tabeli 4. Zawarte w niej dane wskazują, że istnieje związek między wartościami  $P_{\max}^*$ ,  $K_S^*$  i  $K_i^*$  a stężeniem  $S^*$ . Zależność między doświadczalnymi wartościami  $P_{\max}^*$  a stężeniem  $S^*$  opisano następującym równaniem :



Rys. 19 Zależność doświadczalnych wartości szybkości właściwej pobierania fenolu  $P^*$  od stężenia  $S_p$ .  
 Liniami ciągłymi zaznaczono wartości  $P^*$  obliczone według równania (70), po wykorzystaniu  
 w nim wartości  $P_{max}^*$ ,  $K_S^*$  i  $K_I^*$  wyznaczonych na podstawie zmierzonych  $P^*$

$$P_{\max}^* = \frac{AS^*}{B + S^*} \quad (71)$$

otrzymanym na podstawie związku (53) dla  $C \gg S^{*2}$ . Przyjęto  $C \gg S^{*2}$ , bowiem wartości  $P_{\max}^*$  wyznaczono dla bakterii wyhodowanych przy małych stężeniach  $S^*$  [34]. Na podstawie wartości  $P_{\max}^*$  i  $S^*$  podanych w tabeli 4 obliczono według równania (71)  $A = 2,86$  mg fenolu/mg biomasy·h oraz  $B = 2,08$  mg/l. Z tabeli 4 wynika, że wartości  $P_{\max}^*$  wyznaczone doświadczalnie oraz obliczone według równania (71), dla podanych wyżej wartości  $A$  i  $B$ , różnią się od siebie przeciętnie o około 6 %.

Wobec braku teoretycznych przesłanek zależność doświadczalnych wartości  $K_S^*$  i  $K_1^*$  od stężenia  $S^*$  opisano równaniami o następującej postaci [47, 84-86]:

$$K^* = \alpha + \beta S^{*\gamma} \quad (72)$$

$$K^* = \alpha S^{*\beta} \quad (73)$$

$$K^* = \alpha + \beta \exp(\gamma S^*) \quad (74)$$

$$K^* = \alpha \exp(\beta S^*) \quad (75)$$

obliczając wartości  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ , oddzielnie dla  $K_S^*$  i  $K_1^*$ , na podstawie  $K_S^*$  i  $K_1^*$  oraz  $S^*$  podanych w tabeli 4. Najmniejszy rozrzut punktów otrzymano w przypadku zastosowania równania (72). Szczegółowa postać tego równania była dla  $0,455 \text{ mg/l} \leq S^* \leq 2,14 \text{ mg/l}$  następująca:

$$K_S^* = -0,207 + 0,981 S^{*0,402} \quad (76)$$

$$K_1^* = 4,03 + 7,63 S^{*0,91} \quad (77)$$

Z tabeli 4 wynika, że doświadczalne wartości  $K_S^*$  i  $K_1^*$  różnią się od obliczonych według zależności (76) i (77) przeciętnie o około 8 % i 6 %.

W celu określenia stężenia  $X_0$  bakterii rosnących na ścianach reaktora, poddano analizie wartości szybkości właściwej pobierania fenolu  $P^*$  w reaktorze podane w tabeli 5. Obliczono je według zależności (70) (71) (76) i (77), po podstawieniu  $S_p = S^*$  oraz na podstawie równania (41) bilansu masowego

Tabela 4

Wartości parametrów kinetycznych  $P_{\max}^*$ ,  $K_S^*$  i  $K_I^*$  wyznaczone dla różnych stężeń  $S^*$

Lp.	D [h <sup>-1</sup> ]	S <sup>*</sup> [mg/l]	P <sub>max</sub> <sup>*</sup> [ $\frac{\text{mg fenolu}}{\text{mg biomasy} \cdot \text{h}}$ ]		K <sub>S</sub> <sup>*</sup> [mg/l]		K <sub>I</sub> <sup>*</sup> [mg/l]	
			Doświadczalne	Obliczone wg wzoru (71)	Doświadczalne	Obliczone wg wzoru (76)	Doświadczalne	Obliczone wg wzoru (77)
1	0,125	0,455	0,504	0,513	0,509	0,508	8,13	7,74
2	0,190	0,659	0,727	0,688	0,603	0,623	8,20	9,24
3	0,260	0,890	0,784	0,856	0,632	0,729	12,5	10,9
4	0,290	1,00	0,996	0,928	0,940	0,774	11,0	11,7
5	0,326	1,13	1,02	1,01	0,827	0,823	12,2	12,6
6	0,369	1,31	1,11	1,10	0,933	0,886	13,8	13,8
7	0,395	1,44	1,16	1,17	0,896	0,929	13,9	14,7
8	0,452	1,73	1,22	1,30	0,872	1,02	17,3	16,6
9	0,485	1,82	1,30	1,33	0,982	1,04	18,4	17,2
10	0,508	2,03	1,48	1,41	1,25	1,10	17,7	18,6
11	0,521	2,14	1,46	1,45	1,11	1,12	19,2	19,3

substratu, po wykorzystaniu w nim doświadczalnych stężeń fenolu  $S^*$  i biomasy  $X^*$  podanych w tabeli 5. Można stwierdzić, że wartości  $P_r^*$  obliczone według równań (70) (71) (76) i (77) różnią się mniej niż o 5 % od  $P_r^*$  wyznaczonych na podstawie zależności (41). Łatwo sprawdzić, że dla  $X_0$  większych od zera, wartości  $P_r^*$  obliczone według równania (37) wykazują większe odchylenie od  $P_r^*$  wyznaczonych na podstawie związków (70) (71) (76) i (77). Oznacza to, że stężenie  $X_0$  bakterii rosnących na ścianach reaktora przepływowego było równe zeru. Warto dodać, że w przypadku hodowli ciągłej prowadzonej nie dłużej niż około 30 dni, przy obrotach mieszadła 600 obr/min, nie zaobserwowano warstwy komórek rosnących na ścianach reaktora [3,34].

## 2. DOŚWIADCZALNE WARTOŚCI SZYBKOŚCI WŁAŚCIWEJ POBIERANIA SUBSTRATU W STANIE NIEUSTALONYM

Dla danego stężenia  $S_p$  wartości szybkości właściwej pobierania fenolu  $P_p$  obliczano dzieląc współczynnik kierunkowy prostej  $m_f = a + b$ , wyznaczonej na podstawie doświadczalnych  $m_f$  i  $\gamma$ , przez masę  $m_b$  bakterii. Zależność między wartościami  $P_p$  a stężeniem  $S_p$  opisano równaniem:

$$P_p = \frac{P_{\max} S_p}{K_S + S_p + S_p^2/K_1} \quad (78)$$

obliczając wartości parametrów  $P_{\max}$ ,  $K_S$  i  $K_1$ , oddzielnie dla każdego czasu  $t$ , na podstawie zmierzonych  $P_p$ . Obliczone wartości  $P_{\max}$ ,  $K_S$  i  $K_1$  podano w tabelach 6 i 7. Przykłady zależności wartości  $P_p$  od stężenia  $S_p$  dla różnych rodzajów zakłóceń przedstawiono na rys. 20 i 21, a pozostałe na rys. I-XV zamieszczonych na końcu niniejszej pracy. Porównanie wartości  $P_p$  zmierzonych i obliczonych według równania (78), po zastosowaniu w nim wartości  $P_{\max}$ ,  $K_S$  i  $K_1$  wyznaczonych na podstawie zmierzonych  $P_p$ , wykazało, że doświadczalne wartości  $P_p$  różnią się przeciętnie o około 12 % od wartości obliczonych.

Nie sposób było ustalić jednoznacznej zależności między obliczonymi wartościami  $P_{\max}$ ,  $K_S$  i  $K_1$ , podanymi w tabelach 6 i 7, a stężeniem fenolu  $S_p$ , przy którym pobrano bakterie użyte do pomiaru  $P_p$ .

Tabela 5

Doświadczalne stężenia fenolu  $S^*$  i biomasy  $X^*$  oraz wartości ogólnej wydajności wzrostu komórek  $Y^*$  i szybkości właściwej pobierania fenolu  $P^*$  przy różnych szybkościach rozcieńczenia D

Lp.	D [h <sup>-1</sup> ]	S <sup>*</sup> [mg/l] Dośw.	X <sup>*</sup> [mg/l] Doświadczalne			Y <sup>*</sup> $\left[ \frac{\text{mg biomasy}}{\text{mg fenolu}} \right]$ Obliczone wg wzoru (42)			P <sup>*</sup> $\left[ \frac{\text{mg fenolu}}{\text{mg biomasy} \cdot \text{h}} \right]$ Obliczone wg wzoru (41)			P <sup>*</sup> $\left[ \frac{\text{mg fenolu}}{\text{mg biomasy} \cdot \text{h}} \right]$ Obliczone wg wzoru (70) (71) (76) i (77)
			Stężenie S <sub>0</sub> substratu w pożywce [mg/l]									
			1000	500	250	1000	500	250	1000	500	250	
1	0,125	0,455	532	268	131	0,532	0,537	0,525	0,235	0,233	0,238	0,236
2	0,190	0,659	559	279	137	0,559	0,559	0,549	0,341	0,341	0,347	0,341
3	0,260	0,890	574	285	144	0,575	0,571	0,578	0,452	0,455	0,449	0,450
4	0,290	1,00	579	290	146	0,580	0,581	0,586	0,500	0,499	0,494	0,499
5	0,326	1,13	584	292	147	0,585	0,585	0,591	0,557	0,557	0,552	0,556
6	0,369	1,31	588	292	147	0,589	0,586	0,591	0,627	0,630	0,624	0,621
7	0,395	1,44	591	296	148	0,592	0,594	0,595	0,668	0,666	0,664	0,671
8	0,452	1,73	595	298	149	0,596	0,598	0,600	0,759	0,757	0,754	0,785
9	0,485	1,82	597	298	149	0,598	0,598	0,600	0,808	0,808	0,805	0,793
10	0,508	2,03	598	299	149	0,599	0,600	0,601	0,847	0,845	0,845	0,854
11	0,521	2,14	599	302	153	0,600	0,607	0,617	0,868	0,859	0,844	0,887



### 3. OKREŚLENIE WARTOŚCI ZASTĘPCZEGO CZASU $t'_z$

Analizując wartości  $P_{\max}$ ,  $K_S$  i  $K_1$  podane w tabelach 6 i 7 można stwierdzić, wspomniane już w rozdziale II, opóźnienie wartości  $P_{\max}$  względem stężeń  $S$ . Z tego względu zgodnie z rozważaniami przedstawionymi w rozdziale II, obliczono wartości zastępczego stężenia fenolu  $S_z$  według równania :

$$S_z = \frac{2,08 P_{\max}}{2,86 - P_{\max}} \quad (79)$$

otrzymanego z przekształcenia związku (71) i po zastosowaniu w nim  $S^* = S_z$ ,  $A = 2,86$  mg fenolu/mg biomasy  $\cdot$  h oraz  $B = 2,08$  mg/l. Obliczenia wartości  $S_z$  przeprowadzono wykorzystując w równaniu (79) wyznaczone uprzednio  $P_{\max}$ , podane w tabelach 6 i 7. Wyniki obliczeń wartości  $S_z$  przedstawiono w tabelach 6 i 7.

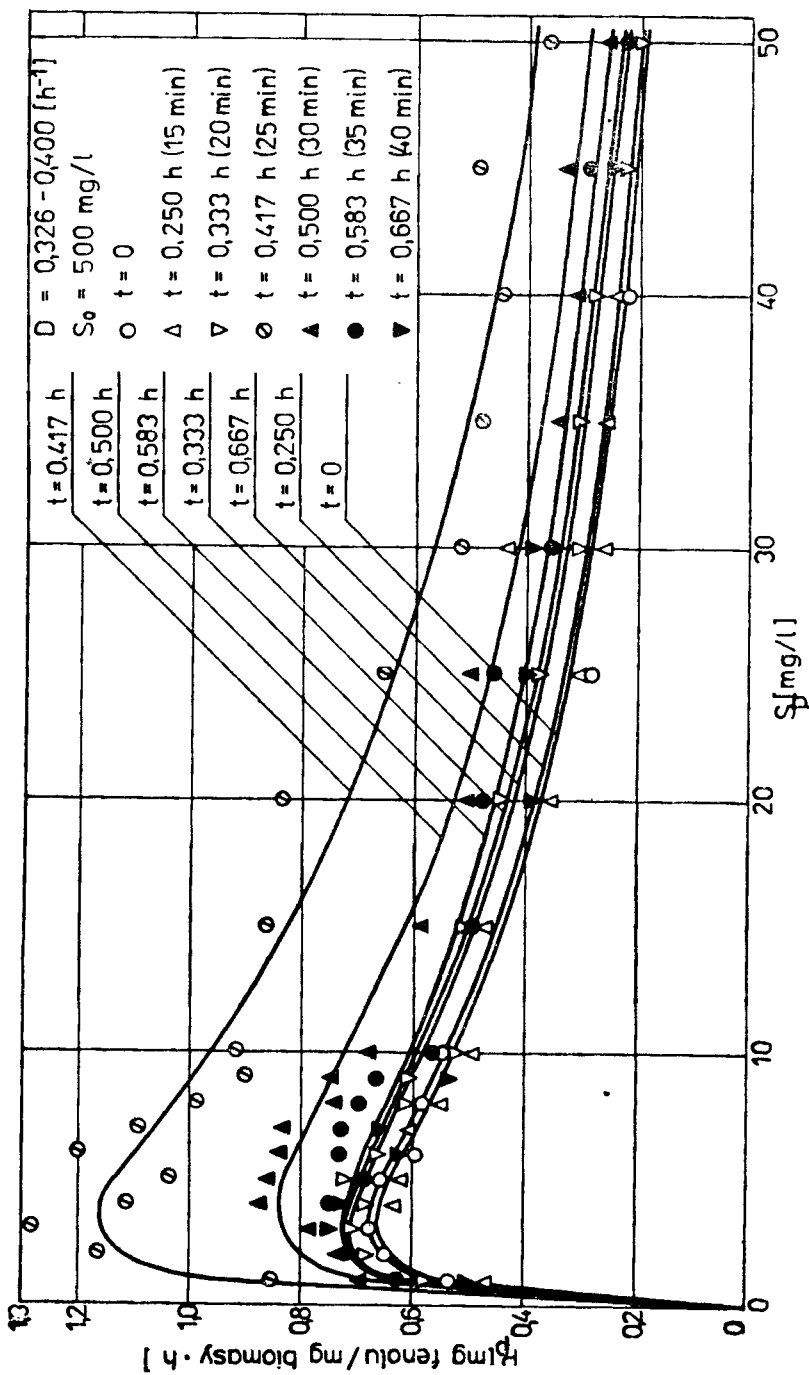
Dla danego zakłócenia nie można było ustalić jednoznacznej zależności również między wartościami  $K_S$  i  $K_1$  a zastępczymi stężeniami  $S_z$ . Należy podkreślić, że poszukiwane równanie dynamiczne, określające wartości szybkości właściwej pobierania substratu  $P_r$  w reaktorze przepływowym w stanie nieustalonym, musi w szczególnym przypadku określać również wartości  $P_r^*$  w stanach ustalonych przed i po zakłóceniu.

Oznaczmy przez  $t_\infty$  czas, liczony od zastosowania zakłócenia, po upływie którego w reaktorze przepływowym wystąpi stan ustalony. Poszukiwane równanie będzie określać wartości  $P_{r1}^*$  i  $P_{r2}^*$ , gdy spełnione będą następujące związki :

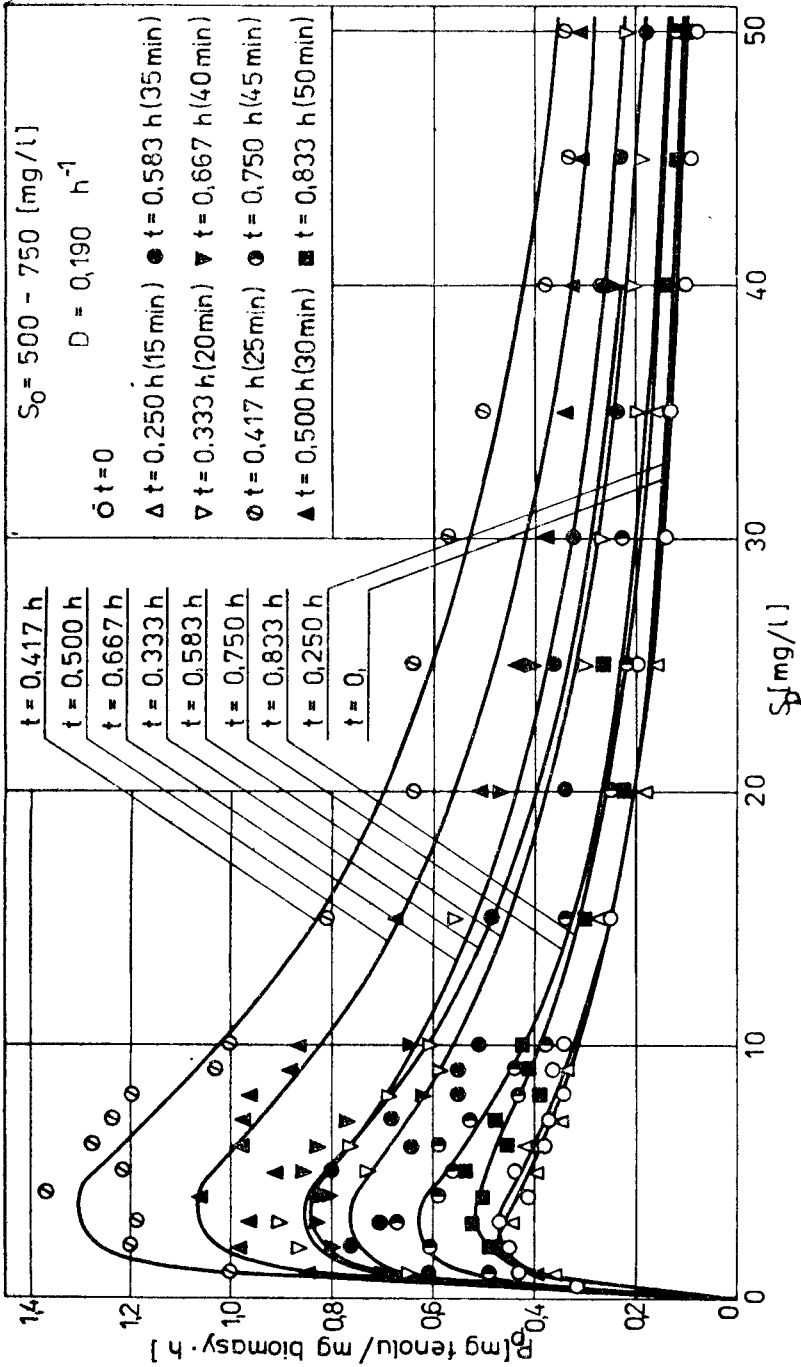
Dla  $t = 0$ ,  $P_{\max} = P_{\max 1}^*$ ,  $K_S = K_{S1}^*$  i  $K_1 = K_{i1}^*$ .

Gdy  $t = t_\infty$  wówczas  $P_{\max} = P_{\max 2}^*$ ,  $K_S = K_{S2}^*$  i  $K_1 = K_{i2}^*$ .

Użyto indeksów "1" i "2" dla podkreślenia, że wartości parametrów  $P_{\max}^*$ ,  $K_S^*$  i  $K_1^*$  odnoszą się do stanu ustalonego odpowiednio przed zakłóceniem ( $t = 0$ ) oraz po zakłóceniu ( $t_\infty = t$ ). Analizując wyznaczone uprzednio wartości  $K_S$  i  $K_1$  można stwierdzić, że dla  $t \leq t_0$  wartości  $K_S$  i  $K_1$  są takie same, jak odpowiadające im  $K_{S1}^*$  i  $K_{i1}^*$  w stanie ustalonym poprzedzającym zakłócenie. Można również zauważyć, że w przypadkach, gdy stan nieustalony wywołany był skokowym zwiększeniem  $D$ , średnie wartości  $K_S$  otrzymane dla  $t > t_0$  były przeciętnie o około 15 % większe od odpowiadających im  $K_{S2}^*$ , a największe wartości  $K_S$  były około 1,3 razy większe od wartości  $K_{S2}^*$ . Podobnie, gdy stany nieustalone wywołane były skokowym zwiększeniem  $S_0$ , średnie wartości  $K_S$  otrzymane dla  $t > t_0$  były przeciętnie o około 25 % większe od odpowiadających im  $K_{S2}^*$ . Z kolei średnie wartości  $K_1$  otrzymane dla  $t > t_0$  były dla skokowego zwiększenia  $D$  przeciętnie o około 15 % większe od odpowiadających im  $K_{i2}^*$  oraz o około 20 % większe, gdy stan nieustalony wywołany był skokowym zwiększeniem  $S$ .



Rys.20 Zależność doświadczalnych wartości szybkości wzięcia fenolu  $P_p$  od stężenia  $S_p$  Liniami ciągłymi zaznaczono wartości  $P_p$  obliczone według równania (78), po wykorzystaniu w nim wartości  $P_{max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  wyznaczonych na podstawie zmierzonych  $P_p$



Rys.21 Zależność doświadczalnych wartości szybkości właściwej pobierania fenolu  $P_p$  od stężenia  $S_p$  Liniami ciągłymi zaznaczono wartości  $P_p$  obliczone według równania (78), po wykorzystaniu w nim wartości  $P_{max}$ ,  $K_S$  i  $K_i$  wyznaczonych na podstawie zmierzonych  $P_p$

Lp.	Rodzaj zakłócenia	t [min]	S [mg/l]	$P_{max}$ [ $\frac{mg \text{ fenolu}}{mg \text{ biomasy} \cdot h}$ ]	$K_S$ [mg/l]	$K_I$ [mg/l]	$S_z$ [mg/l]
1	2	3	4	5	6	7	8
1	D=0,125-0,200 [h <sup>-1</sup> ] S <sub>o</sub> = 500 mg/l	20	1,6	0,731	0,470	8,08	0,72
		25	0,97	1,56	0,631	12,9	2,50
		30	0,78	1,47	0,519	9,68	2,21
		35	0,67	0,824	0,771	7,42	0,84
		40	0,49	0,555	0,551	8,92	0,50
		45	0,62	0,686	0,756	8,90	0,66
2	D=0,125-0,200 [h <sup>-1</sup> ] S <sub>o</sub> = 1000 mg/l	25	22,5	1,08	0,603	5,46	1,27
		30	4,58	2,01	0,538	10,1	4,94
		35	1,04	2,44	0,613	12,4	12,2
		40	3,54	2,12	0,693	13,9	5,98
		45	3,38	1,05	0,314	9,51	1,21
		50	0,63	1,29	0,424	11,6	1,71
		55	1,14	1,03	0,992	9,33	1,17
		60	0,75	0,72	0,443	10,6	0,70
3	D=0,125-0,200 [h <sup>-1</sup> ] S <sub>o</sub> = 250 mg/l	15	0,34	0,622	0,457	8,25	0,58
		20	0,97	1,54	1,39	7,14	2,43
		25	0,56	0,656	0,440	12,8	0,65
		30	0,81	0,756	0,716	11,3	0,75
		35	0,60	0,690	0,676	9,24	0,66
4	D=0,125-0,250 [h <sup>-1</sup> ] S <sub>o</sub> = 500 mg/l	20	15,4	0,756	1,15	6,15	0,75
		25	6,57	1,54	0,685	9,88	2,43
		30	0,36	2,70	1,07	9,76	35,8
		35	2,24	2,13	0,417	13,8	6,11
		40	4,32	1,47	0,617	12,7	2,21
		45	1,86	1,52	0,896	10,6	2,37
		50	0,87	0,994	0,696	10,8	1,11
		55	0,79	0,806	0,559	12,1	0,82

Tabela 6

Doświadczalne wartości parametrów kinetycznych dla bakterii wyhodowanych w stanie nieustalonym wywołanym skokowym zwiększeniem szybkości rozcieńczenia D, dokonany przy niezmienionym stężeniu  $S_0$  fenolu w pożywce

$p'_{max}$ [ $\frac{mg \text{ fenolu}}{mg \text{ biomasy} \cdot h}$ ]	$K^*_{S2}$ [mg/l]	$K^*_{12}$ [mg/l]	$S'_z$ [mg/l]	$t'_z$ [h]	T Doświadcz. [h <sup>-1</sup> ]	T Obl. wg wzoru (88a) [h <sup>-1</sup> ]
9	10	11	12	13	14	15
0,711	0,637	9,46	0,69	0,065	-0,849	-0,381
1,72	0,637	9,46	3,16	0,175	0,203	0,193
1,51	0,637	9,46	2,33	0,282	0,511	0,971
0,737	0,637	9,46	0,72	0,501	3,30	2,12
0,551	0,637	9,46	0,50	0,626	4,36	3,54
0,659	0,637	9,46	0,62	0,738	6,14	5,41
0,871	0,637	9,46	0,91	0,064	-0,696	-1,09
2,24	0,637	9,46	7,55	0,177	-0,177	-0,731
2,65	0,637	9,46	26,6	0,346	1,36	0,252
2,38	0,637	9,46	10,3	0,465	1,50	0,456
1,11	0,637	9,46	1,32	0,601	1,93	1,33
1,43	0,637	9,46	2,08	0,751	2,79	2,48
0,967	0,637	9,46	1,07	0,894	4,63	4,00
0,771	0,637	9,46	0,77	0,995	6,24	6,13
0,611	0,637	9,46	0,57	0,058	-1,73	0,758
1,25	0,637	9,46	1,62	0,155	-0,396	1,69
0,773	0,637	9,46	0,77	0,310	1,79	2,95
0,792	0,637	9,46	0,80	0,463	4,47	4,82
0,680	0,637	9,46	0,65	0,577	7,85	7,11
0,577	0,714	10,7	0,53	0,063	-0,925	-0,932
1,50	0,714	10,7	2,31	0,133	-0,758	-0,529
2,49	0,714	10,7	14,1	0,270	0,337	0,015
2,43	0,714	10,7	11,8	0,385	0,695	0,819
1,59	0,714	10,7	2,60	0,563	2,12	1,81
1,48	0,714	10,7	2,23	0,713	3,84	3,12
1,01	0,714	10,7	1,13	0,819	4,90	4,85
0,862	0,714	10,7	0,90	0,913	6,33	7,26

1	2	3	4	5	6	7	8
5	D=0,125-0,250 [h <sup>-1</sup> ] S <sub>o</sub> = 1000 mg/l	30	83	0,853	0,799	6,51	0,89
		40	126	2,77	0,879	3,90	66,2
		50	138	2,81	0,774	9,69	218
6	D=0,125-0,250 [h <sup>-1</sup> ] S <sub>o</sub> = 250 mg/l	15	3,98	0,979	0,471	8,83	1,09
		20	0,94	1,80	0,556	10,5	3,54
		25	0,96	1,24	0,524	10,4	1,59
		30	1,16	1,18	0,835	11,0	1,46
		35	0,79	0,720	0,613	10,2	0,70
		40	1,02	0,925	0,873	10,0	1,00
7	D=0,190-0,400 [h <sup>-1</sup> ] S <sub>o</sub> = 250 mg/l	20	12,8	1,15	1,07	8,88	1,41
		30	1,53	2,24	0,667	14,6	7,55
		40	2,84	1,78	1,57	9,86	3,44
		50	1,12	1,17	0,981	14,5	1,44
		60	1,43	1,34	1,11	11,4	1,84
8	D =0,260-0,333 [h <sup>-1</sup> ] S <sub>o</sub> = 500 mg/l	20	0,49	1,06	1,03	11,7	1,23
		25	1,37	1,54	0,729	18,4	2,43
		30	1,13	1,16	0,764	12,8	1,42
		35	0,76	1,07	0,655	19,8	1,24
		40	1,31	0,939	0,861	15,5	1,02
		45	1,24	0,938	0,538	20,3	1,01
9	D=0,260-0,333 [h <sup>-1</sup> ] S <sub>o</sub> = 1000 mg/l	25	1,43	1,25	0,828	12,0	1,62
		35	1,91	1,84	0,802	14,6	3,77
		45	1,02	1,43	1,10	18,3	2,08
		55	1,45	1,15	1,23	14,2	1,40
10	D=0,320-0,400 [h <sup>-1</sup> ] S <sub>o</sub> = 500 mg/l	20	1,07	1,02	0,694	14,4	1,16
		25	0,73	1,69	0,782	15,3	3,01
		30	1,84	1,24	0,834	15,6	1,59
		35	1,12	0,974	0,514	17,4	1,08
		40	1,43	1,02	0,764	15,2	1,16

c.d. tabeli 6

9	10	11	12	13	14	15
0,700	0,714	10,7	0,67	0,051	-0,897	-1,42
2,63	0,714	10,7	24,2	0,201	-0,445	-0,834
2,71	0,714	10,7	33,2	0,338	-0,356	0,278
0,956	0,714	10,7	1,05	0,077	-0,448	-0,130
1,84	0,714	10,7	3,74	0,172	0,195	0,524
1,26	0,714	10,7	1,65	0,285	0,943	1,41
1,17	0,714	10,7	1,44	0,448	3,49	2,72
0,725	0,714	10,7	0,71	0,557	4,43	4,33
0,896	0,714	10,7	0,95	0,662	7,19	6,46
0,948	0,934	14,8	1,03	0,061	-1,03	-0,754
2,31	0,934	14,8	8,84	0,225	-0,381	0,324
1,44	0,934	14,8	2,12	0,502	0,858	2,37
1,15	0,934	14,8	1,41	0,811	4,14	5,83
1,20	0,934	14,8	1,51	0,999	10,4	12,2
0,996	0,835	13,1	1,11	0,072	-0,532	-0,353
1,73	0,835	13,1	3,17	0,175	0,203	0,230
1,16	0,835	13,1	1,42	0,278	0,466	1,02
1,24	0,835	13,1	1,59	0,425	1,83	2,19
0,985	0,835	13,1	1,09	0,602	3,23	3,62
1,11	0,835	13,1	1,33	0,736	5,77	5,53
1,22	0,835	13,1	1,55	0,081	-0,953	-1,07
1,91	0,835	13,1	4,18	0,273	0,280	-0,220
1,52	0,835	13,1	2,35	0,615	2,17	1,39
1,11	0,835	13,1	1,33	0,892	4,46	4,10
1,05	0,934	14,8	1,21	0,067	-0,769	-0,467
1,74	0,934	14,8	3,25	0,168	0,020	0,056
1,27	0,934	14,8	1,67	0,304	0,969	0,788
1,09	0,934	14,8	1,29	0,451	1,91	1,87
1,05	0,934	14,8	1,21	0,615	3,78	3,21

Lp.	Rodzaj zakłócenia	t	S	$P_{\max}$	$K'_S$	$K_i$	$S_z$
		[min]	[mg/l]	$\frac{\text{mg fenolu}}{\text{mg biomasy} \cdot \text{h}}$	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]
1	$S_o = 250-500$ [mg/l] $D = 0,125 \text{ h}^{-1}$	15	2,41	1,21	1,40	4,25	1,53
		25	0,54	1,29	1,07	7,48	1,71
		35	0,93	1,20	1,06	7,46	1,51
		45	0,76	0,807	1,18	6,30	0,82
2	$S_o = 500-1000$ [mg/l] $D = 0,125 \text{ h}^{-1}$	25	7,92	0,812	0,553	7,47	0,83
		35	1,58	2,12	0,639	8,96	5,98
		45	2,21	1,93	1,04	9,08	4,33
		55	2,62	1,48	0,771	8,24	2,24
		65	1,46	0,903	0,523	7,31	0,96
3	$S_o = 500-750$ [mg/l] $D = 0,190 \text{ h}^{-1}$	20	2,07	1,59	1,22	6,80	2,61
		25	0,63	2,24	1,17	9,38	7,55
		30	2,34	1,87	1,23	8,78	3,94
		35	1,76	1,24	0,877	8,98	1,59
		40	1,09	1,37	0,916	9,58	1,92
		45	1,41	1,20	1,22	6,06	1,51
		50	0,84	0,906	1,21	8,64	0,97
4	$S_o = 250-500$ [mg/l] $D = 0,190 \text{ h}^{-1}$	20	7,34	1,59	1,14	7,82	2,61
		30	0,97	2,50	1,23	10,2	14,6
		40	1,42	1,62	0,796	9,82	2,73
		50	1,15	1,29	1,19	6,91	1,71
		60	0,83	0,855	1,14	9,22	0,89
5	$S_o = 500-750$ [mg/l] $D = 0,260 \text{ h}^{-1}$	20	19,4	1,81	1,98	5,89	3,59
		30	5,34	2,72	1,42	10,3	41,3
		40	1,18	2,11	1,55	10,2	5,88
		50	1,64	1,81	1,81	7,31	3,59
		60	1,21	1,24	1,11	8,48	1,60
6	$S_o = 750-1000$ [mg/l] $D = 0,290 \text{ h}^{-1}$	25	11,3	1,42	0,979	10,7	2,06
		35	2,14	2,62	1,14	11,0	23,0
		45	3,13	1,31	0,854	16,8	1,76
		55	1,07	1,29	1,35	8,14	1,71
		65	1,36	1,23	1,30	11,3	1,57
7	$S_o = 250-500$ [mg/l] $D = 0,452 \text{ h}^{-1}$	30	64	1,53	1,30	13,7	2,40
		40	91	2,48	1,05	18,0	13,7
		50	112	2,58	0,927	21,3	11,4



Tabela 7

Doświadczalne wartości parametrów kinetycznych dla bakterii wyhodowanych w stanie niestabilnym wywołanym skokowym zwiększeniem stężenia  $S_0$  fenolu w pożywce, dokonany przy niezmięnionej szybkości rozcieńczenia D

$F'_{max}$ [ $\frac{mg \text{ fenolu}}{mg \text{ biomasy} \cdot h}$ ]	$K_{S2}^*$ [mg/l]	$K_{I2}^*$ [mg/l]	$S'_z$ [mg/l]	$t'_z$ [h]	T Doświadcz. [ $h^{-1}$ ]	T Obl. wg wzoru (38a) [ $h^{-1}$ ]
0,828	0,508	7,74	0,85	0,063	-1,41	-0,134
1,16	0,508	7,74	1,42	0,255	0,122	1,40
1,08	0,508	7,74	1,27	0,561	4,82	4,31
0,671	0,508	7,74	0,64	0,749	11,5	9,24
0,795	0,508	7,74	0,80	0,043	-1,39	-0,932
2,19	0,508	7,74	6,77	0,215	-0,399	0,015
1,88	0,508	7,74	3,98	0,625	2,35	1,81
1,45	0,508	7,74	2,14	0,884	3,98	4,85
0,881	0,508	7,74	0,93	1,08	9,21	10,4
1,30	0,623	9,24	1,74	0,078	-0,277	-0,651
2,07	0,623	9,24	5,51	0,193	0,654	-0,161
1,68	0,623	9,24	2,95	0,298	9,943	0,502
1,18	0,623	9,24	1,46	0,457	2,05	1,48
1,32	0,623	9,24	1,80	0,591	2,87	2,69
0,932	0,623	9,24	1,01	0,720	4,24	4,29
0,811	0,623	9,24	0,82	0,830	7,40	6,39
1,39	0,623	9,24	1,97	0,073	-0,509	-0,658
2,36	0,623	9,24	9,97	0,256	0,099	0,490
1,61	0,623	9,24	2,69	0,570	2,28	2,67
1,07	0,623	9,24	1,24	0,829	6,95	6,35
0,790	0,623	9,24	0,79	0,999	13,5	13,1
1,23	0,729	10,9	1,58	0,055	-1,29	-0,965
2,52	0,729	10,9	15,4	0,268	0,290	-0,043
1,85	0,729	10,9	3,82	0,511	1,14	1,71
1,36	0,729	10,9	1,89	0,815	4,48	4,66
1,08	0,729	10,9	1,26	0,999	10,4	10,1
1,34	0,774	11,7	1,82	0,073	-0,384	-1,05
2,44	0,774	11,7	12,1	0,268	0,216	-0,199
1,44	0,774	11,7	2,12	0,613	2,13	1,42
1,05	0,774	11,7	1,21	0,880	4,30	4,17
1,13	0,774	11,7	1,37	1,08	9,24	9,21
1,39	1,02	16,6	1,97	0,036	-1,29	-1,36
2,53	1,02	16,6	15,8	0,205	-0,410	-0,723
2,64	1,02	16,6	25,6	0,345	-0,381	0,479

Doświadczalne wartości  $K_S$  i  $K_I$  wyznaczone dla stanu nieustalonego mało zatem różniły się od odpowiadających im  $K_{S2}^*$  i  $K_{I2}^*$  w stanie ustalonym występującym w reaktorze przepływowym po czasie  $t_{\infty}$ . Z tego względu dla  $t > t_0$  przyjęto  $K_S = K_{S2}^*$  oraz  $K_I = K_{I2}^*$  obliczając powtórnie wartości  $P'_{\max}$ , oddzielnie dla każdego  $t$ , według równania :

$$P_p = \frac{P'_{\max} S_p}{K_{S2}^* + S_p + S_p^2 / K_{I2}^*} \quad (80)$$

na podstawie zmierzonych  $P_p$ . Z tabel 6 i 7 wynika, że wartości  $P_{\max}$  i  $P'_{\max}$  różnią się od siebie przeciętnie o kilka procent. Analiza doświadczalnych wartości  $P_p$  oraz  $P_p$  obliczonych według równań (78) i (80) wskazuje, że zastosowanie równania (80) do opisu zmierzonych  $P_p$  nieznacznie tylko zwiększyło pas rozrzutu punktów doświadczalnych [85,86]. Doświadczalne wartości  $P_p$  różnią się bowiem przeciętnie o około 19 % od obliczonych według równania (80), a o około 14 % od  $P_p$  określonych zależnością (78).

Dla wyznaczonych wartości  $P'_{\max}$  obliczono następnie według równania :

$$\frac{S'}{z} = \frac{2,08 P'_{\max}}{2,86 - P'_{\max}} \quad (81)$$

odpowiadające im zastępcze stężenia  $S'_z$ . Ostatnie równanie otrzymano na podstawie zależności (79) podstawiając  $P_{\max} = P'_{\max}$ . Obliczone wartości  $S'_z$  podano w tabelach 6 i 7. Wartości zastępczego czasu  $t'_z$  wyznaczano postępując następująco : oddzielnie dla każdego zakłócenia opisano wielomianami 5 stopnia zależność  $S = f(t)$ , wyznaczając na podstawie doświadczalnych wartości  $S$  i  $t$  współczynniki wielomianu [85,86]. Wartości  $t'_z$ , odpowiadające otrzymanym  $S'_z$ , obliczano metodą kolejnych przybliżeń podstawiając do odpowiedniego wielomianu  $t = t'_z$  oraz  $S = S'_z$ . Obliczone wartości  $t'_z$ , przedstawione w tabelach 6 i 7, wykorzystano następnie do wyznaczenia parametru  $T$ .

#### 4. OKREŚLENIE WARTOŚCI PARAMETRU $T$

Wartości  $T$  obliczano według równania :

$$T = \frac{\ln \frac{t - t'_z}{t_0}}{t - t_0} \quad (82)$$

otrzymanego z przekształcenia zależności (65), wykorzystując doświadczalne  $t$  i  $t_0$  oraz obliczone  $t_z^*$  podane w tabelach 6 i 7. Obliczone wartości  $T$ , odpowiadające czasom  $t$ , podano w tabelach 6 i 7. Można zauważyć, że dla danego zakłócenia wartości  $T$  zwiększały się z czasem  $t$  liczonym od wystąpienia zakłócenia. Ponadto wartości  $T$  zależały zarówno od parametrów stanu ustalonego poprzedzającego zakłócenie, a zwłaszcza od stężenia  $S_1^*$ , jak również od wielkości zastosowanego zakłócenia. Analiza wyników badań własnych oraz podanych w pracach [3,18] wykazała, że wielkość zakłócenia  $Z$  można określać równaniem :

$$Z = D(S_0 - S_1^*) - P_1^* X_1^*$$

w którym wielkości  $D$  i  $S_0$  oznaczają odpowiednio szybkość rozcieńczania i stężenie fenolu w pożywce po zakłóceniu, a  $S_1^*$  i  $X_1^*$  są stężeniami fenolu i biomasy w stanie ustalonym poprzedzającym zakłócenie. Wobec braku teoretycznych przesłanek zależność  $T = f(Z, t)$  opisano równaniami o następującej postaci [85,86]:

$$T = \alpha Z^\beta t^\gamma \quad (83)$$

$$T = K' + \alpha Z^\beta t^\gamma \quad (84)$$

$$T = \alpha Z^\beta \exp[\gamma(t - t_0)] \quad (85)$$

$$T = \alpha \exp Z \exp[\gamma(t - t_0)] \quad (86)$$

$$T = \alpha t^\gamma \exp(\beta Z) \quad (87)$$

$$T = K' + \alpha Z^\beta \exp[\gamma(t - t_0)] \quad (88)$$

wyznaczając wartości  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  i  $K'$  na podstawie  $T$ ,  $Z$ ,  $t_0$  i  $t$  podanych w tabelach 6, 7 i 8. Zastosowanie równania (88) dawało najmniejszy pas rozrzutu punktów. Szczegółowa postać tego równania była dla  $18,7 \text{ mg/l}\cdot\text{h} \leq Z \leq 124 \text{ mg/l}\cdot\text{h}$  następująca :

$$T = -2,21 + 17,1 Z^{-0,697} \exp[3,44(t - t_0)] \quad (88a)$$

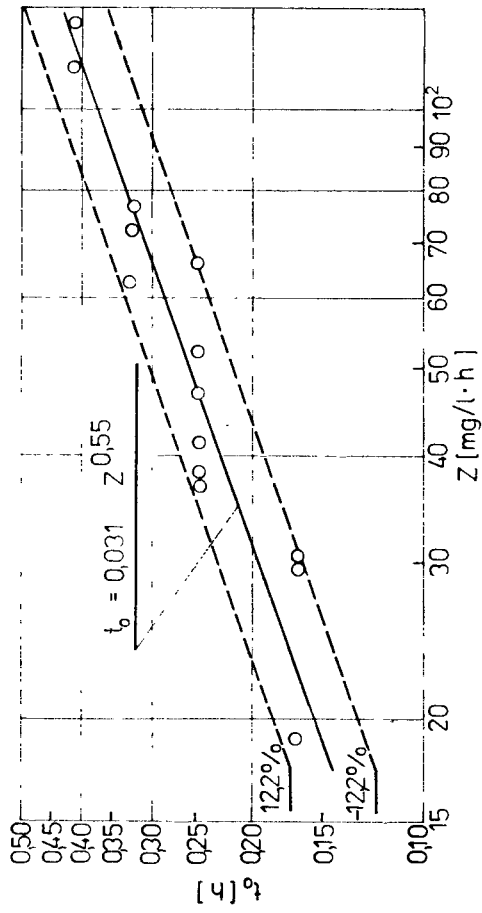
Z tabel 6 i 7 wynika, że doświadczalne wartości  $T$  różnią się od obliczonych według równania (88a) przeciętnie o około 30 %, chociaż w kilku przypadkach różnice są większe.

## 5. OBLICZENIE DOŚWIADCZALNYCH WARTOŚCI

Z rys.20 i 21 oraz z rys.1-XV wynika, że dla danego  $S_p$  zmiana wartości  $P_p$  nie występuje natychmiast po wystąpieniu zakłócenia, lecz po pewnym czasie  $t_0$ . Analiza wartości  $t_0$  podanych w tabeli 8 wskazuje, że były one ściśle związane z wielkością zakłócenia  $Z$ . Wobec braku teoretycznych przesłanek zależność  $t_0 = f(Z)$  określono następującym związkiem doświadczalnym :

$$t_0 = 0,031 Z^{0,55} \quad (89)$$

ważnym dla  $13,7 \text{ mg/l}\cdot\text{h} \leq Z \leq 124 \text{ mg/l}\cdot\text{h}$ , przedstawionym graficznie na rys. 22. Z danych w tabeli 8 oraz z rys.22 wynika, że doświadczalne wartości  $t_0$  różnią się od obliczonych według równania (89) przeciętnie o około 12 %.



Rys.22 Porównanie doświadczalnych wartości  $t_0$  z obliczonymi według równania (89)

Lp.	Rodzaj zakłócenia	Z [ $\frac{\text{mg}}{\text{l} \cdot \text{h}}$ ]	$t_0$ Doświadcz. [h]	$t_0$ Obl.wg wzoru (89) [h]
1	$D=0,125-0,200 [\text{h}^{-1}] S_0=500 \text{ mg/l}$	37,4	0,250	0,221
2	$D=0,125-0,200 [\text{h}^{-1}] S_0=1000 \text{ mg/l}$	74,9	0,333	0,324
3	$D=0,125-0,200 [\text{h}^{-1}] S_0=250 \text{ mg/l}$	18,7	0,167	0,151
4	$D=0,125-0,250 [\text{h}^{-1}] S_0=500 \text{ mg/l}$	62,4	0,250	0,293
5	$D=0,125-0,250 [\text{h}^{-1}] S_0=1000 \text{ mg/l}$	124,9	0,417	0,428
6	$D=0,125-0,250 [\text{h}^{-1}] S_0=250 \text{ mg/l}$	31,1	0,167	0,200
7	$D=0,190-0,400 [\text{h}^{-1}] S_0=250 \text{ mg/l}$	51,8	0,250	0,265
8	$D=0,260-0,333 [\text{h}^{-1}] S_0=500 \text{ mg/l}$	36,6	0,250	0,219
9	$D=0,260-0,333 [\text{h}^{-1}] S_0=1000 \text{ mg/l}$	73,2	0,333	0,320
10	$D=0,326-0,400 [\text{h}^{-1}] S_0=500 \text{ mg/l}$	40,7	0,250	0,232
11	$D=0,125 \text{ h}^{-1} S_0=250-500 [\text{mg/l}]$	31,2	0,167	0,200
12	$D=0,125 \text{ h}^{-1} S_0=500-1000 [\text{mg/l}]$	62,4	0,333	0,293
13	$D=0,190 \text{ h}^{-1} S_0=500-750 [\text{mg/l}]$	47,0	0,250	0,251
14	$D=0,190 \text{ h}^{-1} S_0=250-500 [\text{mg/l}]$	47,3	0,250	0,252
15	$D=0,260 \text{ h}^{-1} S_0=500-750 [\text{mg/l}]$	64,8	0,250	0,299
16	$D=0,290 \text{ h}^{-1} S_0=750-1000 [\text{mg/l}]$	72,1	0,333	0,317
17	$D=0,452 \text{ h}^{-1} S_0=250-500 [\text{mg/l}]$	110,7	0,417	0,402

Tabela 8

Wartości  $t_0$  wyznaczone doświadczalnie i obliczone według równania (89) dla różnych wielkości zakłóceń Z

$P_{max1}^*$ [ $\frac{\text{mg fenolu}}{\text{mg biomasy} \cdot \text{h}}$ ]	$K_{S1}^*$ [mg/l]	$K_{i1}^*$ [mg/l]	$P_{max}$ [ $\frac{\text{mg fenolu}}{\text{mg biomasy} \cdot \text{h}}$ ]	$K_S$ [mg/l]	$K_i$ [mg/l]
0,504	0,509	8,13	0,587	0,721	5,92
0,504	0,509	8,13	0,501	0,429	7,81
0,504	0,509	8,13	0,591	0,771	6,00
0,504	0,509	8,13	0,628	0,943	5,31
0,504	0,509	8,13	0,652	1,05	5,43
0,504	0,509	8,13	0,520	0,483	7,08
0,727	0,603	8,20	0,723	0,757	8,46
0,784	0,632	12,5	0,887	0,865	10,2
0,784	0,632	12,5	0,810	0,567	12,2
1,02	0,827	12,2	1,04	0,899	11,6
0,504	0,509	8,13	0,594	0,814	6,13
0,504	0,509	8,13	0,511	0,422	7,14
0,727	0,603	8,20	0,795	0,919	7,15
0,727	0,603	8,20	0,595	0,355	12,1
0,784	0,632	12,5	0,938	0,870	9,42
0,996	0,940	11,0	0,816	0,446	13,9
1,22	0,872	17,3	1,36	1,18	14,9

Wielkości z indeksem \* dotyczą stanu ustalonego przed zakłóceniem, a bez indeksu odnoszą się do czasu  $t_0$ .

## V. PODSUMOWANIE

## 1. OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Przeprowadzono rozważania teoretyczne dotyczące utleniania substratu inhibującego wzrost mikroorganizmów w przepływowym reaktorze zbiornikowym w stanie nieustalonym. W równaniach bilansu masowego substratu i biomasy zastosowano szybkość właściwą pobierania substratu  $P_r$ , której wartość w stanie nieustalonym łatwiej jest wyznaczyć niż obliczeniową wartość  $\mu$ . Wielkość  $P_r$  oznaczała ilość substratu utlenianego przez jednostkę masy bakterii w jednostce czasu. Na podstawie wyników badań doświadczalnych wyznaczono równanie opisujące zależność między wartością  $P_r$  a stężeniem substratu  $S$ .

Bilans masowy substratu i biomasy opisano układem równań :

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - P_r(X + X_0) \quad (90)$$

$$\frac{dX}{dt} = -DX + P_r Y(X + X_0) \quad (91)$$

d) przypadku braku wzrostu bakterii na ścianach reaktora  $X_0 = 0$  i wtedy równania (90) i (91) sprowadzają się do postaci :

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - P_r X \quad (92)$$

$$\frac{dX}{dt} = -DX + P_r YX \quad (93)$$

Dla stanu ustalonego  $\frac{dS}{dt} = 0$  oraz  $\frac{dX}{dt} = 0$  i układ równań (90) i (91) upraszcza się następująco :

$$D(S_0 - S^*) = P_r^*(X^* + X_0) \quad (94)$$



$$D X^* = P_r^* Y^* (X^* + X_0) \quad (95)$$

a ponadto, gdy  $X_0 = 0$  otrzymuje się :

$$D(S_0 - S^*) = P_r^* X^* \quad (96)$$

$$D = P_r^* Y^* \quad (97)$$

Wartości szybkości właściwej pobierania substratu  $P_r$  opisano następującym równaniem teoretycznym :

$$P_r = \frac{P_{\max} S}{K_S + S + S^2/K_I} \quad (98)$$

gdzie :

$$P_{\max} = \frac{A S_e}{B + S_e + S_e^2/C} \quad (98a)$$

dla  $t \leq t_0$        $t_z = 0$     oraz     $S_e = S_1^*$       (98b)

gdy  $t > t_0$        $t_z = t - t_0 \exp[-T(t - t_0)]$     oraz     $S_e = S_z$       (98c)

Wielkość  $S_z$  w równaniu (98c) oznacza stężenie substratu w reaktorze w czasie  $t_z$  (rys.10).

Analiza numerycznych rozwiązań układu równań (94) (95) i (98) wykazała możliwość występowania wielokrotnych stanów ustalonych. W przypadku braku wzrostu mikroorganizmów na ścianach reaktora, przy danej szybkości rozcieńczania  $D$  może wystąpić jeden z następujących trzech stanów ustalonych: stabilne utlenianie praktycznie całej ilości substratu doprowadzanego do reaktora, utlenianie niestabilne oraz stabilny stan zerowy, oznaczający wymycie komórek z reaktora. Gdy utlenianie substratu powodują zarówno mikroorganizmy zawarte w zawieszynie, jak i rosnące na ścianach reaktora, wówczas przy dużych nawet szybkościach rozcieńczania nie wystąpi zerowy stan ustalony (rys.7). Gdyby bowiem wszystkie komórki zawarte w zawieszynie zostały wymyte z reaktora, to te które rosną na jego ścianach powodują utlenianie substratu. Dlatego przy każdej skończonej wartości  $D$  stężenie substratu na wylocie z reaktora jest mniejsze od jego stężenia w pożywce.

W przypadku dużych wartości  $X_0$ , w odniesieniu do stężenia biomasy w zawieszynie, przy każdej skończonej szybkości rozcieńczania występuje tylko jeden stabilny stan ustalony (rys.8). Zachodzi wówczas utlenienie praktycznie całej ilości substratu doprowadzonego do reaktora, a tylko przy bardzo dużych D przemianie ulega część substratu (rys.8). Duże wartości  $X_0$  są łatwiej osiągalne w małych reaktorach, z uwagi na większą łączną powierzchnię ścian bocznych i dna przypadającą na jednostkę objętości aparatu. Z tego względu wyniki uzyskane w małych reaktorach należy ostrożnie przyjmować jako podstawę do powiększania skali [3,8,18,72]. Szczególnie dotyczy to hodowli mikroorganizmów na substracie aktywującym ich wzrost, przykładowo na glukozie, gdzie znaczący jest w utlenianiu udział komórek rosnących na ścianach reaktora [18,21].

Wartości parametrów  $A, B, C, P_{\max}, K_S$  i  $K_1$  występujących w równaniach (98) i (98a) wyznaczono na podstawie doświadczalnych  $P_p$ , otrzymanych dla przypadku utleniania fenolu przez bakterie *Pseudomonas putida*. Wyznaczono wartości  $P_p$ , ponieważ dokonanie pomiaru szybkości właściwej pobierania substratu w reaktorze przepływowym  $P_r$  było nadzwyczaj trudne. Najpierw zmierzono wartości  $P_p$  dla bakterii wyhodowanych w reaktorze przepływowym w stanach ustalonych, występujących przy szybkościach rozcieńczania podanych w tabeli 5. Stwierdzono, że otrzymane wartości  $P_{\max}^*$ ,  $K_S^*$  i  $K_1^*$  są zależne od stężenia  $S^*$ , przy którym wyhodowano bakterie użyte następnie do pomiaru  $P_p^*$ . Zależność między  $P_{\max}^*$ ,  $K_S^*$  i  $K_1^*$  a stężeniem  $S^*$  opisano następującymi równaniami doświadczalnymi :

$$P_{\max}^* = \frac{2,86 S^*}{2,08 + S^*} \quad (99)$$

$$K_S^* = -0,207 + 0,981 S^{*0,402} \quad (100)$$

$$K_1^* = 4,03 + 7,63 S^{*0,91} \quad (101)$$

ważnymi dla  $0,455 \text{ mg/l} \leq S^* \leq 2,14 \text{ mg/l}$ .

Porównując wartości  $P_r^*$  wyznaczone na podstawie równania (96), po wykorzystaniu w nim doświadczalnych  $S^*$  i  $X^*$  podanych w tabeli 5 oraz obliczone według zależności (98) łącznie ze związkami (99) (100) i (101) (wówczas  $S = S^*$ ,  $P_{\max} = P_{\max}^*$ ,  $K_S = K_S^*$ ,  $K_1 = K_1^*$  oraz  $S_e = S_1^* = S^*$ ) ustalono, że  $X_0 = 0$ . Doświadczenia potwierdziły powyższy wniosek, bowiem w przypadku hodowli ciągłej trwającej krócej niż 30 dni, przy obrotach mieszadła 600 obr/min, nie zaobserwowano warstwy bakterii na ścianach reaktora.

Pomiarów wartości  $P_p$  dla stanu nieustalonego dokonywano, oddzielnie dla każdego zakłócenia, dla bakterii pobranych z reaktora przepływowego w kilku czasach  $t$ , licząc od momentu wystąpienia zakłócenia. Analiza doświadczalnych wartości  $P_p$  wykazała, że dla  $t \leq t_0$  były one takie same,

jak wartości  $P_p^*$  dla stanu ustalonego poprzedzającego zakłócenie. Stąd dla  $t \leq t_0$  otrzymano związki:  $P_{\max} = P_{\max 1}^*$ ,  $K_S = K_{S1}^*$  i  $K_I = K_{I1}^*$ . Zmianę wartości  $P_p$ , w odniesieniu do  $P_p^*$ , wywołaną zakłóceniem stwierdzono dla bakterii pobranych z reaktora przepływowego po czasie  $t$  dłuższym niż  $t_0$ . Na podstawie doświadczalnych  $P_p$  wyznaczono wartości  $P_{\max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  odpowiadające czasom  $t$ . Nie sposób było ustalić ściślej zależności wartości  $P_{\max}$  od stężenia fenolu w stanie nieustalonym. Dlatego wartości  $P_{\max}$  opisano równaniem (99), w którym zamiast  $S^*$  zastosowano zastępcze stężenie  $S_z$ , równe stężeniu  $S$  w takim czasie  $t_z$ , że doświadczalna wartość  $P_{\max}$  była równa obliczonej według tegoż równania dla  $S^* = S_z$  (rys.10). Należy dodać, że równanie (99) wyznaczono na podstawie wartości  $P_p^*$  zmierzonych dla bakterii pobranych z reaktora przepływowego przy różnych szybkościach rozcieńczania  $D$ . Największa z nich była tylko nieznacznie mniejsza od wartości  $D_{\max}$ , przy której zachodziło wymycie komórek z reaktora. Do wyznaczenia równania (99) wykorzystano zatem również wartości  $P_p^*$  odpowiadające fizjologicznie największej aktywności metabolicznej zastosowanych bakterii.

Związek między zastępczym czasem  $t_z$ , a czasem  $t$ , jaki upłynął od zakłócenia, opisano równaniem:

$$t_z = t - t_0 \exp[-T(t - t_0)] \quad (102)$$

spełniającym następujące warunki:

1. Początkowy; dla  $t = t_0$   $t_z = 0$
2. Końcowy; gdy  $t \gg t_0$  wtedy  $t_z = t$

Wartości parametru  $T$  występującego w równaniu (102) wyznaczono doświadczalnie. Najpierw obliczono według równania (79) odpowiadające czasowi  $t$  wartości zastępczego stężenia  $S_z$ . Ponieważ nie można było ustalić jednoznacznych zależności między doświadczalnymi wartościami  $K_S$  i  $K_I$ , wyznaczonymi dla  $t > t_0$ , a stężeniem  $S$ , jak również zastępczym stężeniem  $S_z$ , dlatego przyjęto  $K_S = K_{S2}^*$  i  $K_I = K_{I2}^*$  i powtórnie obliczono wartości  $P_{\max}$  według równania (80). Ostatnie założenie wynikało z faktu, że poszukiwane równanie, określające wartości  $P_p$  w stanie nieustalonym, musiało spełniać następujący warunek końcowy:  $P_p = P_{r2}^*$  dla  $t \gg t_0$ . Zatem dla  $t \gg t_0$  zachodziły związki:  $P_{\max} = P_{\max 2}^*$ ,  $K_S = K_{S2}^*$  i  $K_I = K_{I2}^*$ . Ponadto w wyniku analizy doświadczalnych wartości  $K_S$  i  $K_I$  stwierdzono, że były one przeciętnie o około 15% i 20% większe od odpowiadających im wartości  $K_{S2}^*$  i  $K_{I2}^*$ . Stwierdzono także, że doświadczalne wartości  $P_p$  różniły się od  $P_p$  obliczonych według równania (78) przeciętnie o około 14%, a od określonych związkiem (80) o około 19%. Zatem przyjęte w równaniu (80) założenie, że  $K_S = K_{S2}^*$  i  $K_I = K_{I2}^*$  spowodowało tylko nieznaczne zwiększenie się pasa rozrzutu doświadczalnych wartości  $P_p$ .

Na podstawie wartości  $P_{\max}$  obliczono według równania (81) zastępcze stężenie  $S_z$ . Następnie określono wartości  $t_z'$  odpowiadające wyznaczonym  $S_z'$ . Wreszcie na podstawie  $t$ ,  $t_0$  i  $t_z'$  podanych w tabelach 6 i 7 obliczono według równania (82) wartości parametru  $T$ . Otrzymane wartości  $T$  zależały od wielkości zakłócenia  $Z$  i dla danego  $Z$  zwiększały się z czasem. Zależność  $T =$

= f (Z, t) opisano następującym równaniem doświadczalnym :

$$T = -2,21 + 17,1 Z^{-0,697} \exp[3,44(t - t_0)] \quad (103)$$

gdzie :

$$Z = D(S_0 - S^*) - F_{Pr}^* X_1^* \quad (104)$$

ważnym dla  $18,7 \text{ mg/l}\cdot\text{h} \leq Z \leq 124 \text{ mg/l}\cdot\text{h}$ . Wielkości D i  $S_0$  występujące w równaniu (104) oznaczają odpowiednio szybkość rozcieńczenia i stężenie fenolu w pożywce po zakłóceniu.

Na podstawie analizy doświadczalnych  $t_0$  podanych w tabeli 8 stwierdzono, że również wartości  $t_0$  były ściśle związane z wielkością zakłócenia Z określonego równaniem (104). Wobec braku teoretycznych przesłanek związek między t i Z opisano następującą zależnością doświadczalną :

$$t_0 = 0,031 Z^{0,55} \quad (105)$$

ważną dla  $18,7 \text{ mg/l}\cdot\text{h} \leq Z \leq 124 \text{ mg/l}\cdot\text{h}$ .

Z przedstawionych rozważań wynika, że wartości  $P_r$  dla przypadku utleniania fenolu przez bakterie *Pseudomonas putida* określone są następującym równaniem :

$$P_r = \frac{2,86 S_e S}{(2,08 + S_e) (K_S + S + S^2/K_1)} \quad (106)$$

gdzie :

$$S_e = S_1^*, \quad K_S = K_{S1}^* \quad \text{i} \quad K_1 = K_{11}^* \quad \text{dla} \quad t \leq t_0$$

$$S_e = S_z, \quad K_S = K_{S2}^* \quad \text{i} \quad K_1 = K_{12}^* \quad \text{gdy} \quad t > t_0$$

Wielkości S i  $S_z$  występujące w powyższym równaniu oznaczają stężenie fenolu w reaktorze odpowiednio w czasie t i  $t_z$  określonym równaniami (102) (103) i (105). Wartości  $K_{S1}^*$  i  $K_{11}^*$  oraz  $K_{S2}^*$  i  $K_{12}^*$  określone są równaniami (100) i (101) po zastosowaniu w nich odpowiednio związków  $S^* = S_1^*$  oraz  $S^* = S_2^*$ . Doświadczalne wartości  $S_1^*$  i  $S_2^*$  podano na rys.23-28 oraz na rys.XVI - XXVI zamieszczonych na końcu pracy. Należy dodać, że równanie (106) wyznaczono dla przypadku, gdy praktycznie cała ilość fenolu doprowadzonego do reaktora ulegała utlenieniu, zatem dotyczy przemiany fenolu w zakresie pożądanym w praktyce [1,2].

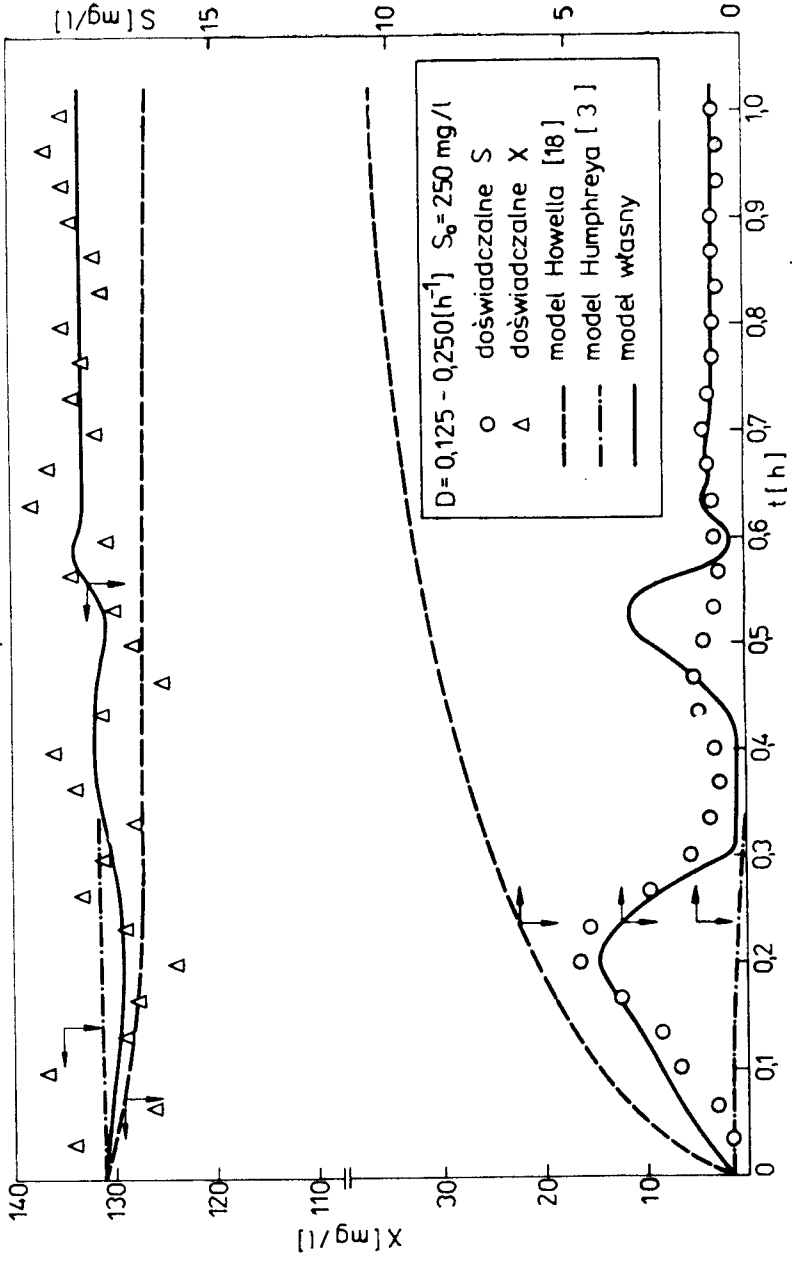
Aby dokonać oceny przydatności równania (106) do obliczania wartości

$P_r$ , na rys. 23-28 oraz na rys. XVI-XXVI przedstawiono stężenia  $S$  i  $X$  obliczone według równań (92), (93) i (106). Wartości wydajności ogólnej wzrostu komórek  $Y$  występującej w równaniu (93) obliczano według zależności:

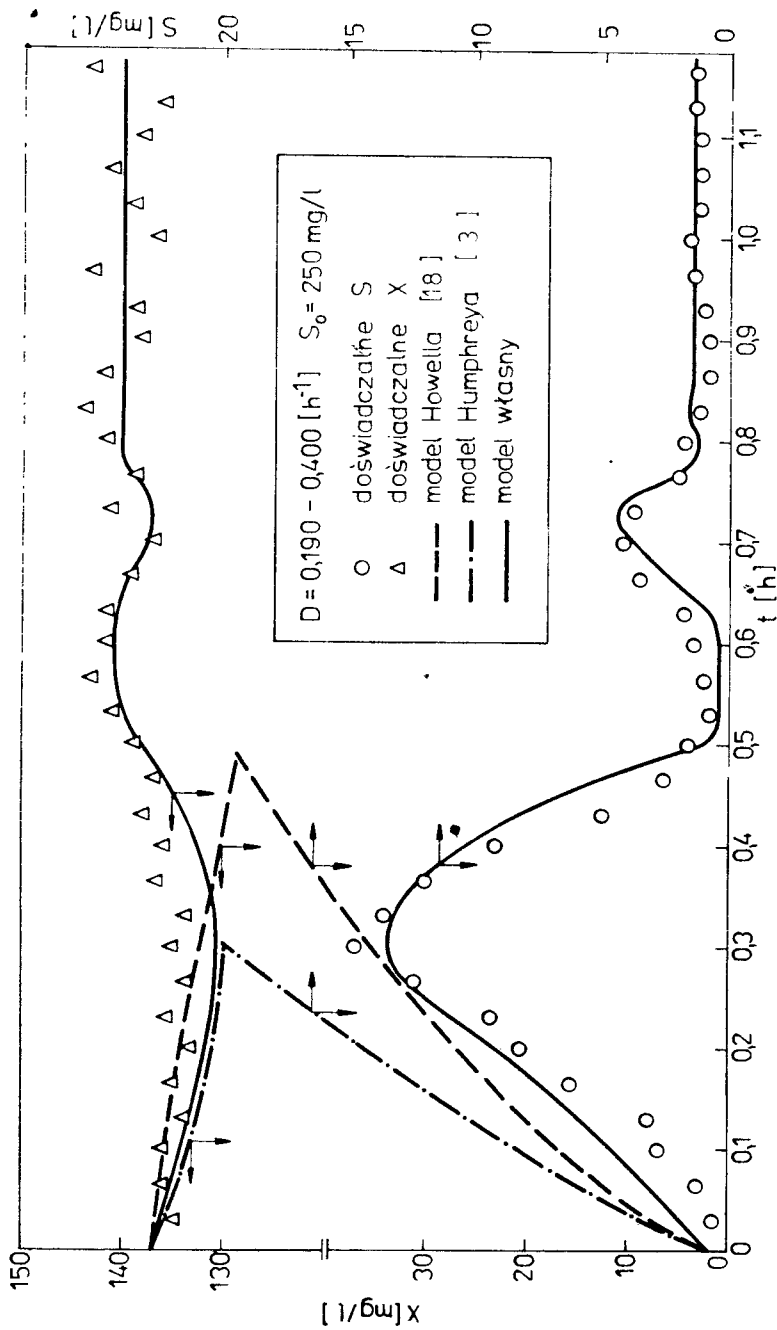
$$Y^* = \frac{P_r^*}{1,77 P_r^* + 0,088} \quad (107)$$

otrzymanej na podstawie doświadczalnych  $Y^*$  i  $P_r^*$  podanych w tabelach 4 i 5, podstawiając w miejsce  $P_r^*$  wartości  $P_r$  określone równaniem (106). Takie obliczanie wartości  $Y$  wynikało z nader trudnego, a wydaje się nawet, że nie- możliwego pomiaru  $Y$  [1,2,18,34]. Na podstawie danych w tabelach 4 i 5 można jednak stwierdzić nieznaczny wzrost wartości  $Y^*$  dla prawie czterokrotnego zwiększenia się  $P_r^*$ . Ponadto łatwo sprawdzić, że największa wartość  $P_r$  obliczona według równania (106) dla największych doświadczalnych  $S$  podanych na rys. 23 - 28 i XVI-XXVI, jest nieznacznie większa od największej wartości  $P_r^*$  podanej w tabeli 4, stanowiącej górną granicę ważności równania (107). Również autorzy prac [3,8,9,37] do obliczania wartości  $Y$  w stanie nieustalonym zastosowali równanie, opisujące zależność  $Y^* = f(\mu^*)$ , wyznaczone na podstawie  $Y^*$  i  $\mu^*$  zmierzonych dla stanu ustalonego. Porównanie wartości  $S$  i  $X$  zmierzonych oraz obliczonych na podstawie równań (92) (93) (106) i (107) dla kilku przykładowych zakłóceń przedstawiono na rys. 23-28, a dla pozostałych na rys. XVI-XXVI zamieszczonych na końcu niniejszej pracy.

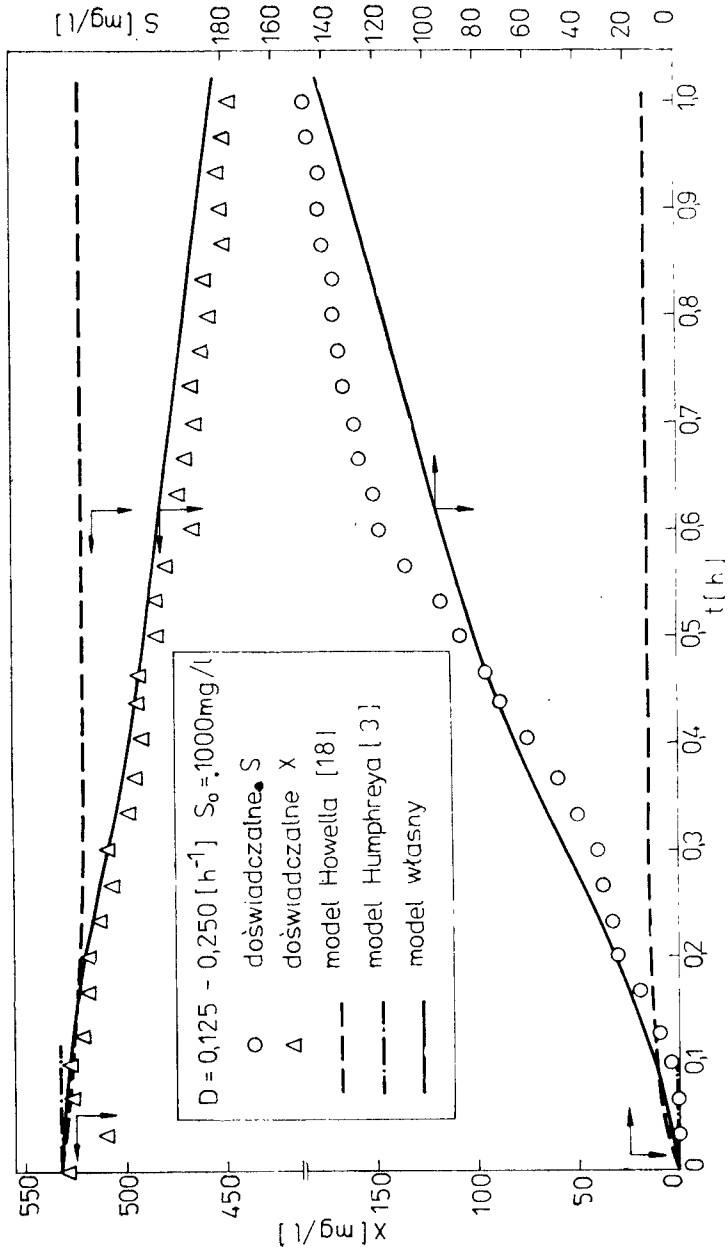
W praktyce istotna jest możliwość teoretycznego określenia, czy po wystąpieniu danego zakłócenia utlenianie substratu w nowym stanie ustalonym zachodzić będzie w pożądanym zakresie wysokich wartości stopnia przemiany substratu, czy też nastąpi wymycie bakterii z reaktora. W ostatnim przypadku zachodzi stopniowe zmniejszanie się stężenia biomasy do zera, co prowadzi do stopniowego zwiększania się stężenia substratu w reaktorze, aż do osiągnięcia stężenia  $S_0$ . W nowym stanie ustalonym nie będzie więc zachodzić w ogóle utlenianie substratu. Na podstawie rys. 23-28 i XVI-XXVI można stwierdzić, że rozwiązania teoretyczne, otrzymane według równań (92)(93) (106) i (107), były dla wszystkich zastosowanych zakłóceń zgodne jakościowo z wynikami doświadczalnymi. Oznaczało to, że określone na podstawie równań (92) (93)(106) i (107) utlenienie, w stanie ustalonym występującym po uprzednim zakłóceniu, praktycznie całej ilości fenolu doprowadzonego do reaktora zostało doświadczalnie potwierdzone (rys. 23-24, 26-27 i XVI-XXVI). Również stwierdzone doświadczalnie wymycie bakterii z reaktora było zgodne z rozwiązaniem równań (92) (93) (106) i (107) (rys. 25 i 28). Z danych na rys. 23-28 i XVI-XXVI oraz w tabelach I-IX i XI-XVIII wynika, że doświadczalne wartości  $S_2^*$  i  $X_2^*$ , w występującym po zakłóceniu nowym stanie ustalonym, różnią się od  $S_2^*$  i  $X_2^*$  obliczonych według równań (92) (93) (106) i (107) przeciętnie o kilka procent. Dla umiarkowanych wielkości zakłóceń ( $18,7 \leq Z \leq 47,3$ ) wartości  $S$  i  $X$  zmierzone oraz obliczone według równań (92) (93) (106) i (107) różniły się od siebie przeciętnie o około 20 % (rys. 23-24, 26-27, XVI - XIX



Rys.23 Porównanie stężeń fenolu S i biomasy X zmierzonych oraz obliczonych według własnych równań (92) (93) (106) (107), a także zależności (1) (2) (108) i (1) (2) (109) innych autorów [3,18]

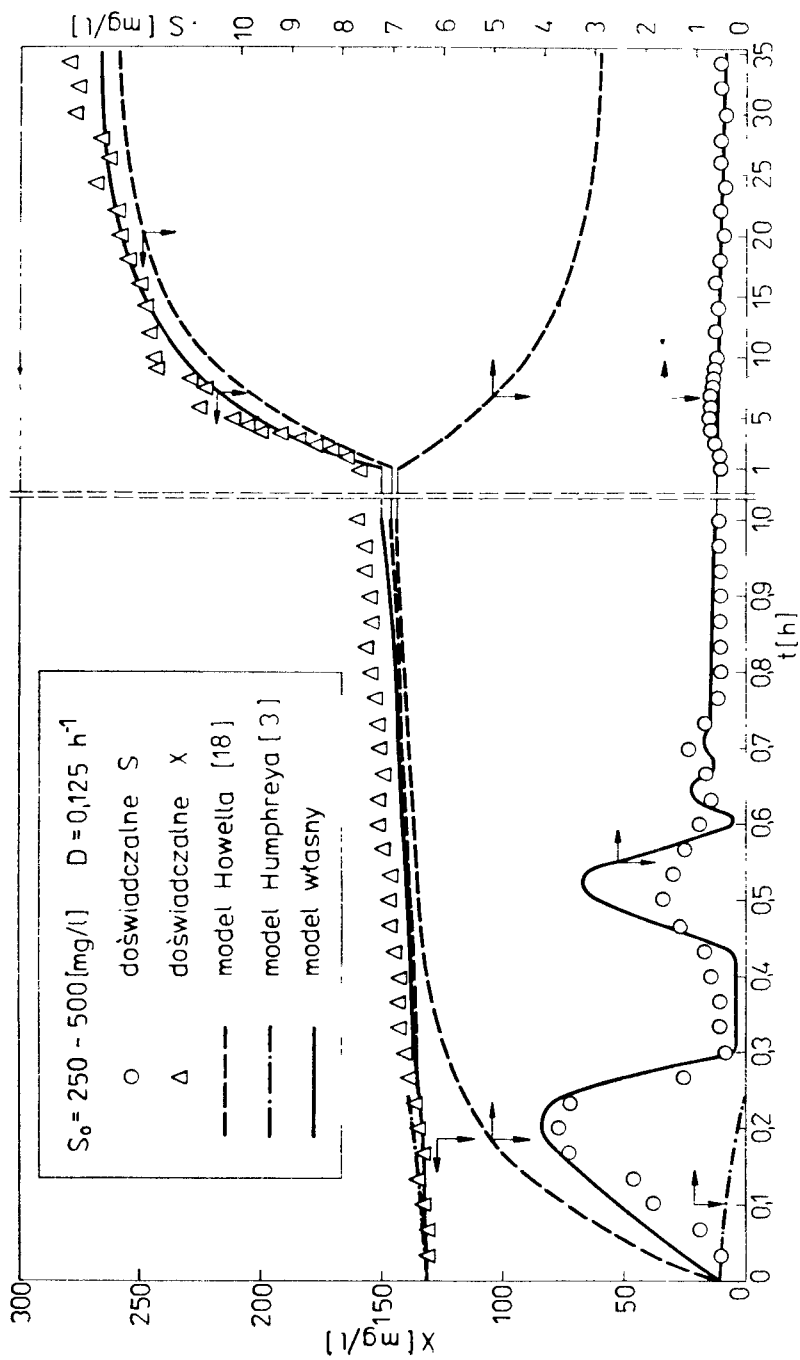


Rys.24 Porównanie stężeń fenolu S i biomasy X zmierzonych oraz obliczonych według własnych równań (92) (93) (106) (107), a także zależności (1) (2) (108) i (1) (2) (109) innych autorów [3,18]

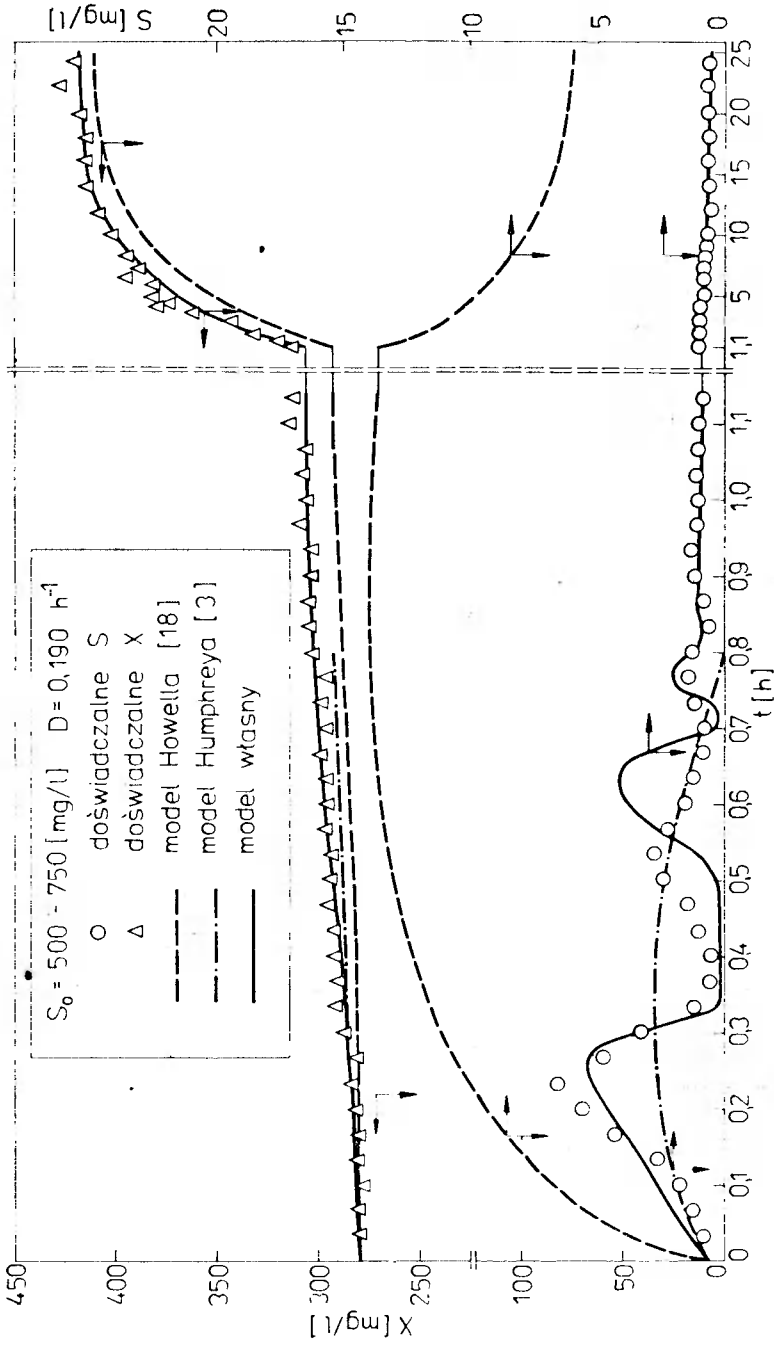


Rys.25 Porównanie stężeń fenolu S i biomasy X zmierzonych oraz obliczonych według własnych równań (92) (93) (106) (107), a także zależności (1) (2) (108) i (1) (2) (109) innych autorów [3,18]

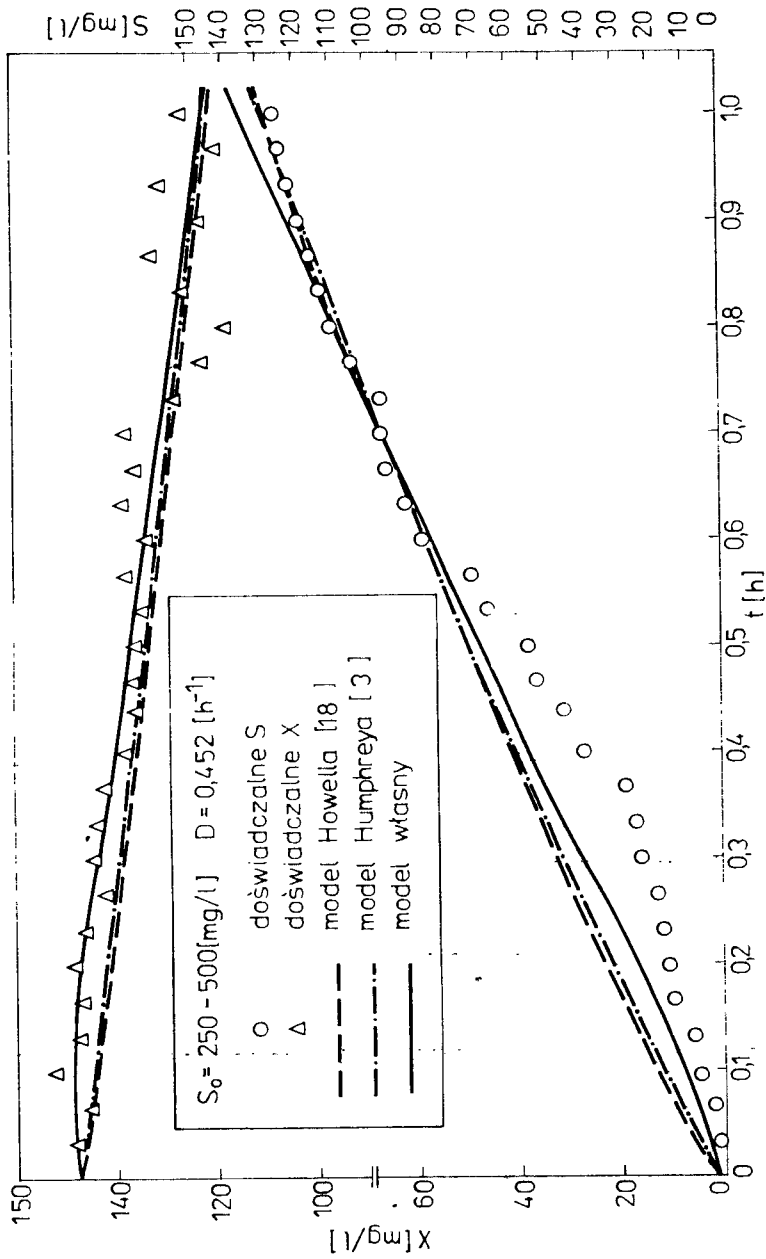




Rys.26 Porównanie stężeń fenolu S i biomasy X zmierzonych oraz obliczonych według własnych równań (92) (93) (106) (107), a także zależności (1) (2) (108) i (1) (2) (109) innych autorów [3,18]



Rys.27 Porównanie stężenia fenolu S i biomasy X zmierzonych oraz obliczonych według własnych równań (92) (93) (106) (107), a także zależności (1) (2) (108) i (1) (2) (109) innych autorów [3, 18]



Rys.28 Porównanie stężeń fenolu S i biomasy X zmierzonych oraz obliczonych według własnych równań (92) (93) (106) (107), a także zależności (1) (2) (108) i (1) (2) (109) innych autorów [3, 18]

i XXIII-XXV). Tylko w przypadku dużych zakłóceń, dokonanych zwłaszcza przy dużych  $D$  lub  $S_0$  poprzedzających zakłócenie, obliczone  $S$  i  $X$  w kilku przypadkach znacznie różniły się od doświadczalnych wartości  $S$  i  $X$ , jednakże i wtedy obliczone  $S_2^*$  i  $X_2^*$  różniły się od doświadczalnych wartości  $S_2^*$  i  $X_2^*$  przeciętnie o około 10 % (rys. XX-XXII i XXVI). Biorąc pod uwagę trudności w uzyskaniu powtarzalności wyników doświadczalnych w układach czynnych biologicznie oraz założenia poczynione przy wyznaczaniu równania (106) można uznać, że równania (92) (93) (106) i (107) opisują utlenianie fenolu w reaktorze przepływowym w stanie nieustalonym z dokładnością wystarczającą w praktyce do przewidywania stopnia jego przemiany po zakłóceniu. Warto wspomnieć, że w przypadku układów czynnych biologicznie doświadczalne stężenia  $S^*$  i  $X^*$  w stanie ustalonym nierzadko kilkakrotnie różnią się od obliczonych. W stanie nieustalonym wyniki są często nawet jakościowo różne [1,3,18].

W celu porównania wyników otrzymanych w niniejszej pracy oraz uzyskanych według modeli innych autorów, na rys. 23-28 i XVI-XXVI przedstawiono wartości  $S$  i  $X$  obliczone na podstawie równań (1) i (2) po zastosowaniu w nich następujących zależności:

a/ równanie Chi i Howella [18]

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_S + S + S^2/K_i} \quad (108)$$

gdzie:  $\mu_{\max} = 0,369 \text{ h}^{-1}$   $K_S = 5,94 \text{ mg/l}$   $K_i = 227 \text{ mg/l}$

b/ równanie Yanga i Humphreya [3]

$$\mu = 0,24 + 0,04 t \quad (109)$$

Z rys. 24-25, XIX-XX, XXII i XXV-XXVI wynika, że rozwiązania teoretyczne otrzymane na podstawie równań (1) (2) i (108) różniły się jakościowo od wyników uzyskanych doświadczalnie. Przykładowo na rys. 24, XIX-XX, XXII i XXV-XXVI rozwiązanie równań (1) (2) i (108) odpowiadało wymyciu bakterii z reaktora, natomiast doświadczalnie stwierdzono, że po przejściowym zwiększeniu się stężenia  $S$  zachodziło utlenienie praktycznie całej ilości fenolu doprowadzonego do reaktora. Występowały też sytuacje odwrotne. Na przykład po skokowym zwiększeniu szybkości rozcieńczenia  $D$  z  $0,125 \text{ h}^{-1}$  na  $0,250 \text{ h}^{-1}$ , dokonany przy  $S_0 = 1000 \text{ mg/l}$ , doświadczalnie stwierdzono wymycie bakterii z reaktora, natomiast rozwiązanie równań (1) (2) i (108) odpowiadało utlenianiu fenolu w zakresie wysokiego stopnia jego przemiany (rys. 25). Nawet w tych przypadkach, w których rozwiązania teoretyczne są jakościowo

zgodne z wynikami doświadczalnymi (rys. 23, 26-28, XVI-XVIII, XXI, XXIII-XXIV), obliczone na podstawie równań (1) (2) i (108) wartości  $S_2^*$  i  $X_2^*$ , a zwłaszcza  $S_2^*$ , wielokrotnie różniły się od doświadczalnych  $S_2^*$  i  $X_2^*$  uzyskanych zarówno w niniejszej pracy, jak również podanych w pracach [3,8].

Z kolei zgodnie z równaniem (109) podanym przez Yanga i Humphreya [3] wartości  $\mu$  w stanie nieustalonym zwiększają się liniowo w czasie. Zatem według równań (1) (2) i (109) wystąpienie nawet dużych zakłóceń nie spowodowałoby stwierdzonego doświadczalnie wymycia bakterii z reaktora. Po odpowiednio długim czasie wartość  $\mu$  byłaby bowiem wystarczająco duża, aby szybkość przemiany substratu ( $\mu X/Y$ ) była większa od szybkości jego doprowadzania do reaktora ( $D(S_0 - S)$ ) (rys. 27 i XXIV-XXVI). Z tego względu na podstawie równań (1) (2) i (109) nie można więc obliczyć stężeń  $S_2^*$  i  $X_2^*$ , bowiem stężenie  $S_2^*$  obliczone dla odpowiednio długiego czasu całkowania może być równe zeru lub może być nawet ujemne (rys. 23, 25, 26, XVI-XVIII, XXI i XXIII).

Z powyższego wynika, że zastosowanie w równaniach (92) i (93) zależności (106), uwzględniającej zjawisko histerezy mikrobiologicznej, daje najmniejsze różnice wartości  $S$  i  $X$  obliczonych i zmierzonych, w porównaniu z innymi modelami [3,18]. Warto dodać, że stężenia  $S$  i  $X$  obliczone na podstawie własnych równań (92) (93) (106) i (107) mało różniły się od doświadczalnych wartości  $S$  i  $X$  otrzymanych także przez innych autorów [3,8].

## 2. WNIOSKI KOŃCOWE

Celem pracy było opracowanie metody opisanego utleniania substratu inhibującego wzrost mikroorganizmów w przepływowym reaktorze zbiornikowym w stanie nieustalonym. W układzie równań bilansu masowego wykorzystano szybkość właściwą pobierania substratu  $P_r$ , która określała ilość substratu utlenianego przez jednostkę masy komórek w jednostce czasu. W wyniku rozważań teoretycznych otrzymano równanie opisujące zależność  $P_r$  od stężenia substratu w reaktorze i od czasu oraz uwzględniające zjawisko histerezy mikrobiologicznej. Celem badań doświadczalnych było wyznaczenie wartości parametrów kinetycznych występujących we wspomnianym równaniu teoretycznym. Pomiarów wartości  $P_r$  dokonano dla przypadku utleniania fenolu przez bakterie *Pseudomonas putida* hodowane w reaktorze przepływowym w stanie nieustalonym, wywołanym skokowym zwiększeniem szybkości rozcieńczania lub skokowym zwiększeniem stężenia fenolu w pożywce. Hodowlę ciągłą prowadzono na podłożu o pH = 6,8 oraz w temperaturze 30°C, a więc w warunkach optymalnych dla wymienionych bakterii.

Na podstawie przeprowadzonych rozważań teoretycznych oraz uzyskanych wyników doświadczalnych można sformułować następujące wnioski :

1. Stężenia substratu  $S$  i biomasy  $X$  w stanie nieustalonym opisuje następujący układ równań :

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - P_r(X + X_0) \quad (110)$$

$$\frac{dX}{dt} = -DX + P_r Y(X + X_o) \quad (111)$$

W przypadku braku wzrostu mikroorganizmów na ścianach reaktora ( $X_o = 0$ ), powyższy układ równań upraszcza się następująco :

$$\frac{dS}{dt} = D(S_o - S) - P_r X \quad (112)$$

$$\frac{dX}{dt} = -DX + P_r YX \quad (113)$$

Dla stanu ustalonego układ równań (110) i (111) przyjmuje postać :

$$D(S_o - S^*) = P_r^*(X^* + X_o) \quad (114)$$

$$DX^* = P_r^* Y^*(X^* + X_o) \quad (115)$$

a przy braku wzrostu komórek na ścianach reaktora :

$$D(S_o - S^*) = P_r^* X^* \quad (116)$$

$$D = P_r^* Y^* \quad (117)$$

2. Szybkość właściwą pobierania substratu  $P_r$  w stanie nieustalonym opisuje następujące równanie teoretyczne :

$$P_r = \frac{P_{\max} S}{K_S + S + S^2/K_I} \quad (118)$$

Wartości parametrów kinetycznych  $P_{\max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  należy wyznaczyć doświadczalnie dla danego modelu biologicznego i składnika utlenianego.

W przypadku utleniania fenolu przez bakterie *Pseudomonas putida*, w zakresie wysokiego stopnia jego przemiany, wartości  $P_{\max}$ ,

$K_S$  i  $K_1$  określone są zależnościami :

$$P_{\max} = \frac{2,86 S_e}{2,08 + S_e} \quad (119)$$

gdzie :  $S_e = S_1^*$  dla  $t \leq t_0$

$S_e = S_2$  dla  $t > t_0$

oraz

$$K_S = K_{S1}^*, \quad K_1 = K_{11}^* \quad \text{dla } t \leq t_0 \quad (120)$$

$$K_S = K_{S2}^*, \quad K_1 = K_{12}^* \quad \text{dla } t > t_0 \quad (121)$$

gdzie :  $K_S = -0,207 + 0,981 S^{*0,402}$  (122)

$$K_1 = 4,03 + 7,63 S^{*0,91} \quad (123)$$

Wartości  $K_{S1}^*$  i  $K_{11}^*$  otrzymuje się stosując w równaniach (122) i (123) stężenie  $S_1^*$ , zaś wartości  $K_{S2}^*$  i  $K_{12}^*$  po podstawieniu  $S^* = S_2^*$ . Wielkość  $S_2$  w równaniu (119) oznacza stężenie fenolu występujące w reaktorze w czasie  $t_z$  określonym wzorem :

$$t_z = t - t_0 \exp[-T(t - t_0)]$$

gdzie :  $t_0 = 0,031[D(S_0 - S_1^*) - P_{r1}^* X_1^*]^{0,55}$

$$T = -2,21 + 17,1[D(S_0 - S_1^*) - P_{r1}^* X_1^*]^{-0,697} \exp[3,44(t - t_0)]$$

ważnym dla  $18,7 \text{ mg/l}\cdot\text{h} \leq D(S_0 - S_1^*) - P_{r1}^* X_1^* \leq 124 \text{ mg/l}\cdot\text{h}$ . Wielkości  $D$  i  $S_0$  występujące w powyższych równaniach oznaczają odpowiednio szybkość rozcieńczania i stężenie fenolu w pożywce po zakłóceniu.

3. Dla wszystkich zastosowanych zakłóceń rozwiązania teoretyczne, otrzymane na podstawie równań (112) (113) i (118) - (123), były jakościowo zgodne z wynikami doświadczalnymi. Oznacza to, że otrzymane na podstawie równań teoretycznych zakresy utleniania całej

ilości fenolu lub wymycia bakterii z reaktora, zostały doświadczalnie potwierdzone.

4. Dla umiarkowanych zakłóceń stężenia fenolu  $S$  i biomasy  $X$ , wyznaczone według równań (112) (113) i (118) - (123), różniły się od odpowiadających im doświadczalnych wartości  $S$  i  $X$  przeciętnie o około 20%. W przypadku dużych zakłóceń, gdy  $D(S_0 - S_1^*) - P_{r1}^* X_1^* > 50$ , różnice między doświadczalnymi oraz obliczonymi wartościami  $S$  i  $X$  były większe. Jednakże i wtedy obliczone stężenia  $S_2^*$  i  $X_2^*$ , w stanie ustalonym występującym po zakłóceniu, różniły się od doświadczalnych wartości  $S_2^*$  i  $X_2^*$  przeciętnie tylko o około 10%.

Biorąc pod uwagę zarówno trudności w uzyskaniu powtarzalności wyników doświadczalnych w układach czynnych biologicznie, jak również założenia upraszczające przyjęte przy wyznaczaniu równania (118) można uznać, że uzyskana zgodność wyników teoretycznych i doświadczalnych jest wystarczająca dla celów praktycznych.

5. Stwierdzono, że stężenia  $S$  i  $X$  obliczone według własnych równań (112) (113) i (118) - (123) najmniej różnią się od doświadczalnych wartości  $S$  i  $X$ , uzyskanych zarówno w niniejszej pracy, jak również podanych w pracy [3]. Wynika to z faktu, że zależność (118), wyznaczona na podstawie rozważań teoretycznych i badań doświadczalnych, uwzględnia zjawisko histerezy mikrobiologicznej.
6. Na podstawie analizy wartości  $S^*$  i  $X^*$  obliczonych według równań (116) i (117) dla różnych szybkości rozcieńczania  $D$  stwierdzono, że tylko przy małych wartościach  $D$  występuje jeden stabilny stan ustalony, odpowiadający wysokiemu stopniowi przemiany substratu  $\eta$  [87]. Natomiast przy umiarkowanych  $D$  może wystąpić jeden z następujących trzech stanów ustalonych: stabilny - odpowiadający wartościom  $\eta$  bliskim jedności, zerowy - oznaczający wymycie bakterii z reaktora lub niestabilny stan ustalony. W przypadku wzrostu mikroorganizmów na ścianach reaktora, nawet przy bardzo dużych wartościach  $D$  nie wystąpi zerowy stan ustalony. Przy wartościach  $X_0$  wielokrotnie większych od stężenia biomasy w zawieszynie, utlenianie substratu w zakresie wartości  $\eta$  bliskich jedności zachodzi praktycznie przy każdej szybkości rozcieńczania.
7. Przeprowadzone rozważania teoretyczne i badania doświadczalne pozwalają zaproponować następujący tok obliczania stężeń  $S$  i  $X$ ; w stanie nieustalonym wywołanym skokowym zwiększeniem szybkości rozcieńczania lub skokowym zwiększeniem stężenia substratu w pożywce:
- a/ dla założonych  $D$  i  $S_0$  należy obliczyć według równań (116) i (117) stężenie  $S_1^*$  w stanie ustalonym poprzedzającym zakłócenie, a następnie określić na podstawie równań (122) i (123) odpowiadające mu wartości  $K_{S1}^*$  i  $K_{I1}^*$ . Wielkość  $P_{r1}^*$  występująca w równaniach (116) i (117) opisana jest wzorem:

$$P_{r1}^* = \frac{2,86 S_1^{*2}}{(2,08 + S^*) (K_{S1}^* + S^* + S^{*2}/K_{I1}^*)}$$



- otrzymanym na podstawie związków (118) (119) i (120). Wartości  $X_1^*$  i  $Y_1^*$ , odpowiadające założonym  $D$  i  $S_0$ , a niezbędne do obliczenia  $S_1^*$ , można oszacować na podstawie doświadczalnych  $X^*$  i  $Y^*$  podanych w tabeli 5.
- b/ podobnie można obliczyć stężenie fenolu  $S_2^*$  w stanie ustalonym występującym po zakłóceniu, odpowiadające wartościom  $D$  i  $S_0$  po zakłóceniu, a następnie analogicznie jak uprzednio wartości  $K_{S2}^*$  i  $K_{12}^*$ .
- c/ stężenia  $S$  i  $X$  oblicza się według równań (112) (113) (118) (119) (120) i (121). W przypadku, gdy w wyniku całkowania otrzymuje się ciągle wzrastające stężenie  $S$ , równe stężeniu  $S_0$  po czasie  $t \geq t_0$ , oznacza to, że wystąpienie założonego skokowego zwiększenia  $D$  lub  $S_0$  spowodowałoby wymycie bakterii z reaktora. Nie zachodziłoby więc wówczas utlenianie fenolu doprowadzonego do reaktora.
- Należy dodać, że podany wyżej sposób obliczania  $S$  i  $X$  w stanie nieustalonym dotyczy tylko tych przypadków, gdy utlenianie w stanach ustalonych zachodzi w zakresie wartości stopnia przemiany fenolu bliskich jedności.

### 3. OBSZAR STABILNOŚCI UTLENIANIA

Jak już wspomniano, wartości parametrów kinetycznych występujących w równaniu (118) otrzymano na podstawie wyników doświadczalnych utleniania fenolu przez bakterie wyhodowane w reaktorze przepływowym w stanie nieustalonym, wywołanym skokowym zwiększeniem szybkości rozcieńczania  $D$  lub skokowym zwiększeniem stężenia  $S_0$  fenolu w pożywce.

Stan nieustalony może wystąpić również w przypadku :

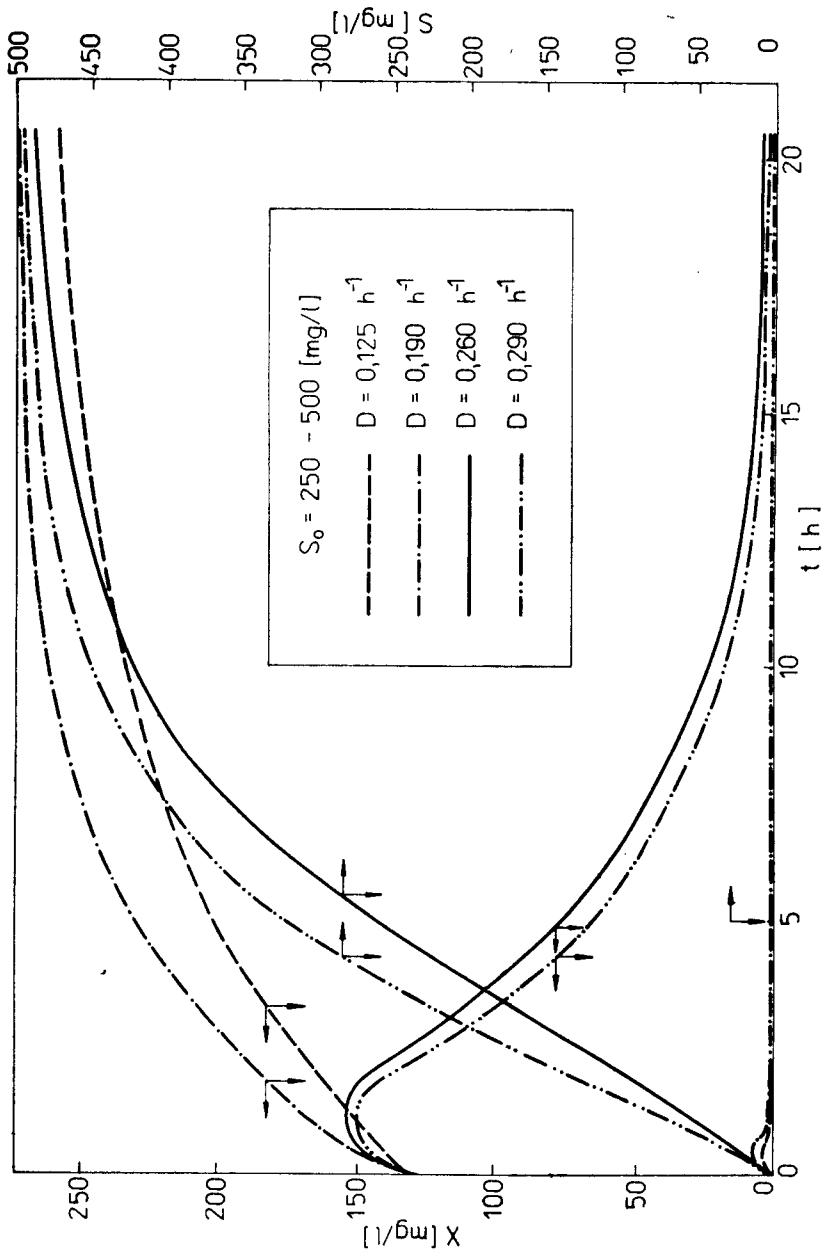
- jednoczesnego skokowego zwiększenia lub zmniejszenia  $D$  i  $S_0$ ,
- zwiększenia lub zmniejszenia  $D$ ,  $S_0$  lub jednocześnie  $D$  i  $S_0$  w określony sposób inny od skokowego,
- skokowego zmniejszenia  $D$  lub  $S_0$ ,
- impulsowego zakłócenia  $S$ , oznaczającego skokowy wzrost  $S$  wywołany wprowadzeniem do reaktora znacznej ilości substratu w bardzo krótkim czasie,
- kombinacji wymienionych rodzajów zakłóceń.

W praktyce istotna jest znajomość obszaru stabilności utleniania, który stanowią te wartości  $D$  i  $S_0$  po zakłóceniu, że w nowym stanie ustalonym zachodzi utlenianie praktycznie całej ilości substratu doprowadzonego do reaktora; jak w stanie ustalonym przed zakłóceniem. Jak podano uprzednio, po wystąpieniu dużego skokowego zwiększenia  $D$  lub  $S_0$  następowało wymycie bakterii z reaktora i wtedy, przy braku wzrostu komórek na ścianach reaktora, utlenianie substratu w ogóle nie zachodziło. Jeżeli nawet  $X_0 > 0$ , wówczas tylko niewielka część substratu ulegała biodegradacji.

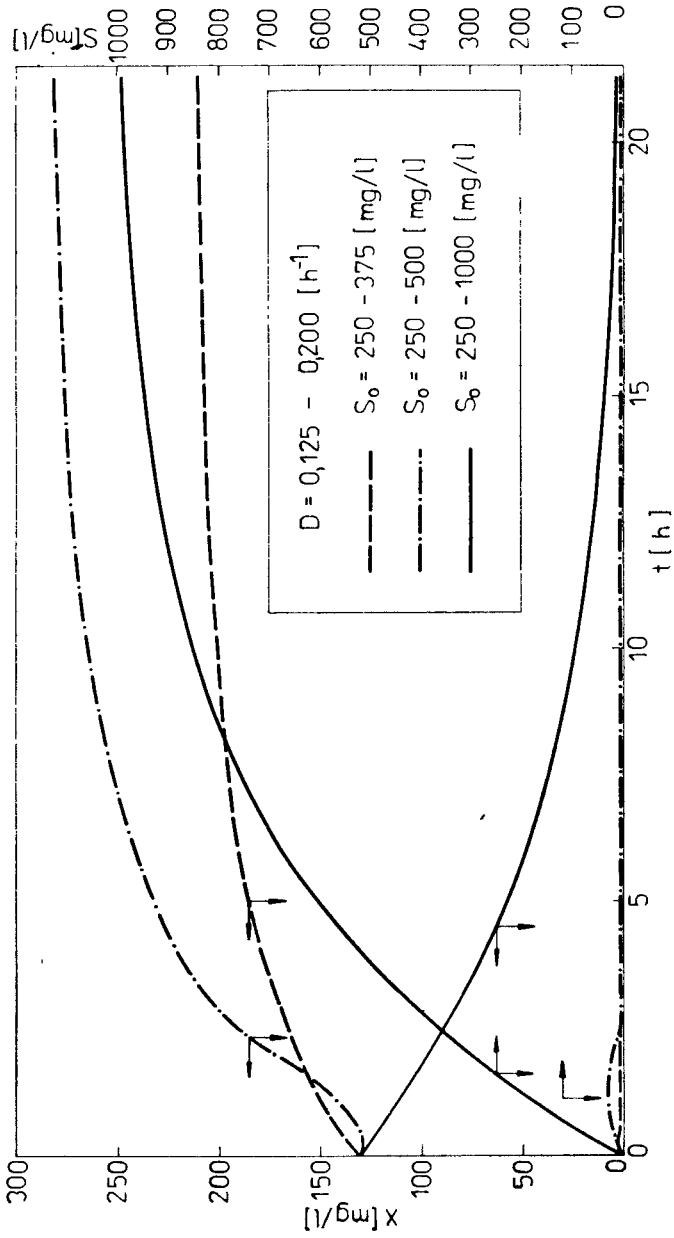
W celu zorientowania się co do wielkości zakłóceń prowadzących do wy-

mycia komórek z reaktora, przedstawiono na rys.29-32 numeryczne rozwiązania układu równań (112) (113) i (118)-(123) dla kilku przypadków zwiększenia  $D$  i  $S_0$ . Z rys.29 wynika, że już umiarkowane skokowe zwiększenie stężenia fenolu w pożywce, dokonane przy dużej szybkości rozcieńczania, prowadzi do wymycia mikroorganizmów z reaktora. Analiza stężeń  $S$  i  $X$  przedstawionych na rys.30 i 31 prowadzi do wniosku, że nawet przy małej szybkości rozcieńczania możliwe jest tylko umiarkowane skokowe zwiększenie jednocześnie  $D$  i  $S_0$ , aby w stanie ustalonym występującym po zakłóceniu zachodziło bioutlenienie praktycznie całej ilości fenolu doprowadzonego do reaktora. Warto również zwrócić uwagę, że względnie większy wzrost  $S_0$ , przy takim samym skokowym zwiększeniu  $D$ , jest możliwy w przypadku mniejszego stężenia  $S_0$  przed zakłóceniem. Na przykład z rys.30 i 31 wynika, że po skokowym zwiększeniu szybkości rozcieńczania z  $0,125 \text{ h}^{-1}$  na  $0,200 \text{ h}^{-1}$ , przy jednoczesnym dwukrotnym zwiększeniu  $S_0$  z  $250 \text{ mg/l}$  na  $500 \text{ mg/l}$ , nie występuje przekroczenie obszaru stabilności utleniania. Natomiast takie samo względne zwiększenie stężenia  $S_0$ , ale z  $500 \text{ mg/l}$  na  $1000 \text{ mg/l}$  prowadzi już do wymycia komórek z reaktora. Wreszcie, przedstawione na rys.32 zależności między stężeniami  $S$  i  $X$  a czasem  $t$ , otrzymane dla różnych wartości względnego skokowego zwiększenia  $D$  z jednoczesnym skokowym zwiększeniem  $S_0$  z  $250 \text{ mg/l}$  na  $500 \text{ mg/l}$  wskazują, że znaczące skokowe zwiększenie  $D$  jest możliwe jedynie przy małych  $D$  poprzedzających zakłócenie. Na przykład po dwukrotnym zwiększeniu  $D$  z  $0,083 \text{ h}^{-1}$  na  $0,167 \text{ h}^{-1}$  stężenie  $S$  zwiększa się tylko przejściowo. Natomiast takie samo względne zwiększenie  $D$  z  $0,125 \text{ h}^{-1}$  na  $0,250 \text{ h}^{-1}$  powoduje przekroczenie obszaru stabilności, bowiem prowadzi do wymycia mikroorganizmów. Przy dużych szybkościach rozcieńczania poprzedzających zakłócenie (np.  $D = 0,26 \text{ h}^{-1}$  na rys.32), nawet niewielkie zwiększenie  $D$  (np. do  $0,333 \text{ h}^{-1}$ ) prowadzi do wymycia komórek.

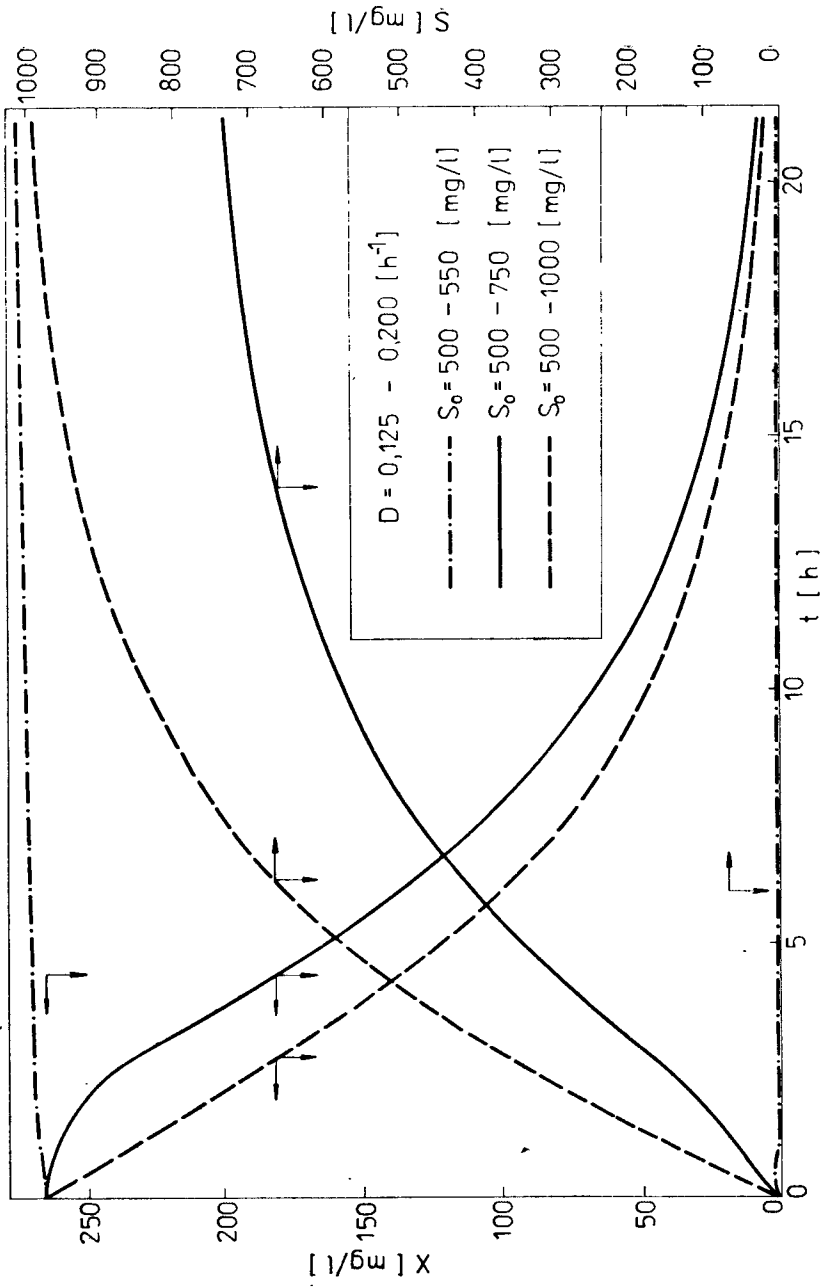
Należy dodać, że przedstawione rozwiązania teoretyczne otrzymano dla dowolnie dobieranych zmian  $D$  i  $S_0$ , zatem wielkości  $D$  i  $S_0$  były zmiennymi niezależnymi. W praktyce wartości  $D$  i  $S_0$  po zakłóceniu są zmiennymi zależnymi [81]. Może więc wystąpić takie zwiększenie  $D$  albo  $S_0$  lub równocześnie  $D$  i  $S_0$ , które przy zachowaniu pozostałych parametrów prowadziłoby do niepożądanego wymycia komórek z reaktora. Można temu zapobiec wprowadzając do reaktora biomasę z innej hodowli, zmniejszając  $D$  po zwiększeniu się  $S_0$  i odwrotnie lub stosując kombinację wymienionych sposobów. W praktyce istotne jest zatem określenie najwyższych wartości  $D = D_k$  lub  $S_0 = S_{ok}$ , przy niezmiennych wartościach innych parametrów, po wystąpieniu których bioutlenianie zachodzić będzie jeszcze w zakresie wysokich wartości stopnia przemiany substratu. Wartości  $D_k$  lub  $S_{ok}$  można obliczyć na podstawie równań (112) (113) i (118)-(123) metodą kolejnych przybliżeń. Są to jednak obliczenia żmudne. Znacznie prostsza jest metoda podana niżej. Jak już wspomniano, wartości  $P_{\text{max}}$ , odpowiadające poziomowi enzymów w komórkach wyhodowanych w stanie ustalonym przy stężeniu  $S^*$ , nie zmieniają się w czasie  $t \leq t_0$ . Ponadto z rys.19 wynika, że dla danej szybkości rozcieńczania  $D$ , a ściślej związanego z nią stężenia  $S^*$ , najwyższa wartość szybkości właściwej pobierania substratu  $P_p$ , przeciętnie o około 15 % większa od  $P_r^*$ , występuje przy stężeniu  $S_p$  wielokrotnie większym od stężenia  $S^*$ . Łatwo sprawdzić, że najwyż-



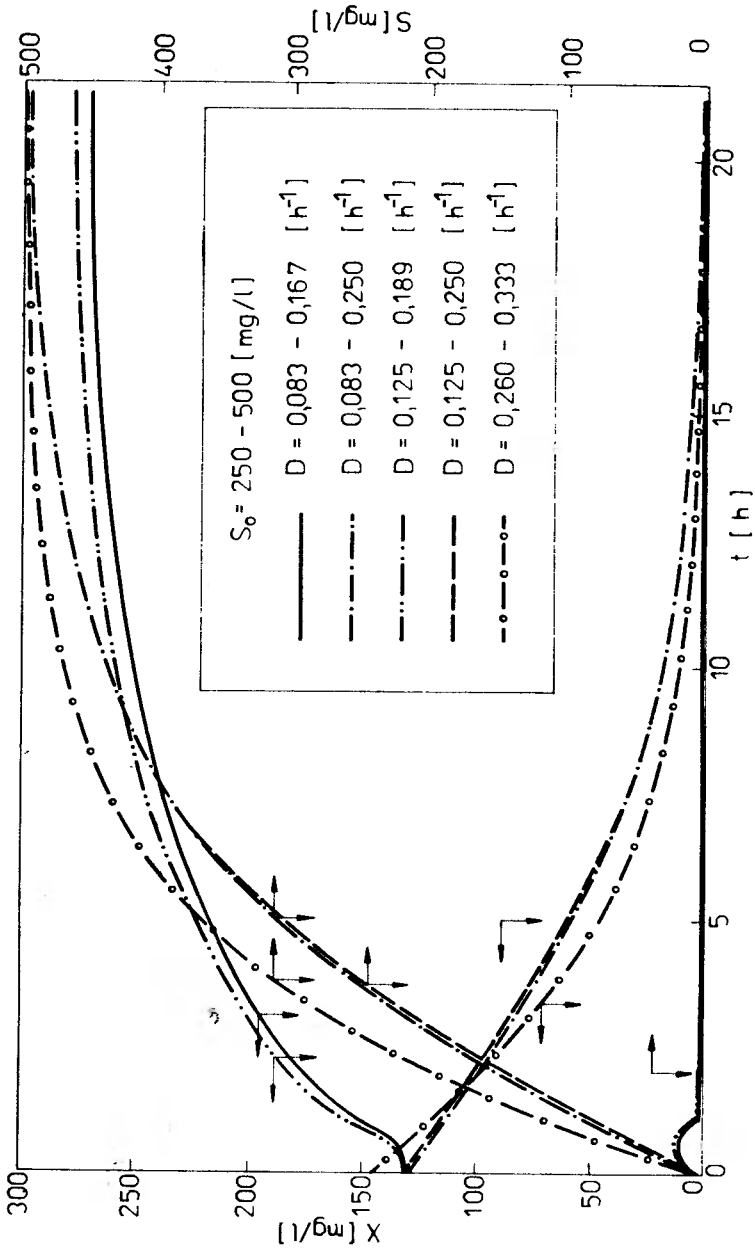
Rys.29 Zmiana stężenia fenolu S i biomasy X, obliczonych na podstawie równań (112) (113) i (118) - (123), w czasie t



**Rys. 30** Zależność stężenia fenolu S i biomasy X, obliczonych na podstawie równań (112) (113) i (116) - (123), od czasu t



rys. 31 Zależność stężenia fenolu  $S$  i biomasy  $X$ , obliczonych na podstawie równań (112) (113) i (118) - (123), od czasu  $t$



Rys. 32 Zależność stężenia fenolu  $S$  i biomasy  $X$ , obliczonych na podstawie równań (112) (113) i (118) - (123), od czasu  $t$

sza wartość  $P_p = P_{pmax}$  występuje przy  $S_p = S_{pmax} = \sqrt{K_S^* K_i^*}$ . Oznacza to, że zwiększanie się stężenia  $S$  do wartości  $S_{pmax}$  powoduje natychmiastowy wzrost  $P_r^*$ . Największa szybkość przemiany fenolu dla  $t \leq t_0$  będzie występować przy stężeniu  $S = S_{pmax}$ , bowiem wartość  $P_r$  jest przy  $S_{pmax}$  największa. Wynika to stąd, że przy  $S < S_{pmax}$  w komórkach występują wolne enzymy wchodzące w reakcję z fenolem dodatkowo wprowadzonym po zakłóceniu. Najwyższą wartość  $P_r$  występującą przy  $S = S_{pmax}$  oznaczmy przez  $P_{rmax}$ . W przypadku, gdy największa szybkość przemiany fenolu ( $P_{rmax} X$ ) nie będzie mniejsza od szybkości jego doprowadzania ( $D_k(S_0 - S_{pmax})$ ) po zakłóceniu, wówczas nie wystąpi wymycie bakterii z reaktora. Zatem na podstawie nierówności:

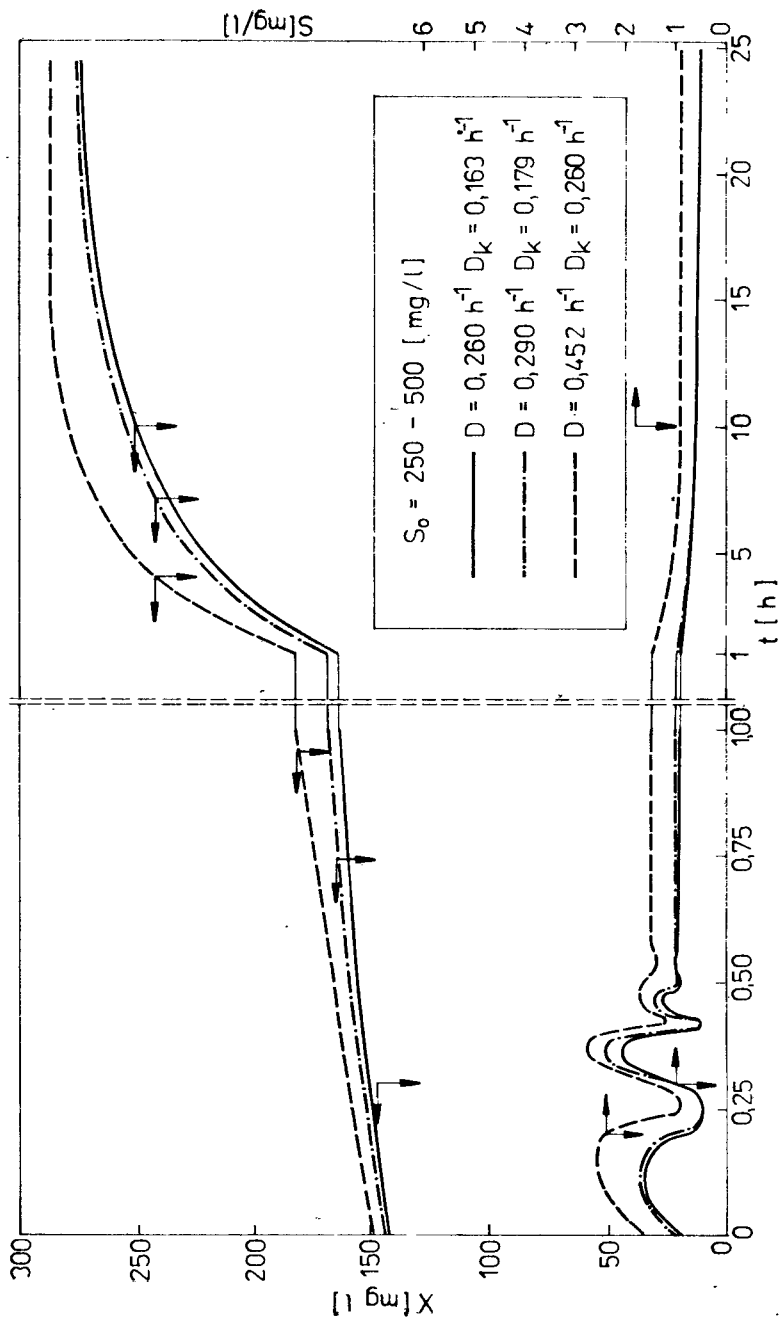
$$P_{rmax} X \geq D_k(S_0 - S_{pmax}) \quad (124)$$

można dla stężenia  $S_0$  obliczyć wartość  $D_k$  po zakłóceniu. Podobnie według nierówności:

$$P_{rmax} X \geq D(S_{ok} - S_{pmax}) \quad (125)$$

można dla szybkości rozcieńczania  $D$  obliczyć wartość  $S_{ok}$  po zakłóceniu. Wartość  $P_{rmax}$  określona jest równaniami (118) i (119), w których należy zastosować  $S_e = S_1^*$ ,  $K_S = K_S^*$ ,  $K_i = K_i^*$  oraz  $S = S_{pmax}$ . W przypadku, gdy wartość  $D$  lub  $S_0$  po zakłóceniu jest większa od  $D_k$  lub  $S_{ok}$ , obliczonej według nierówności (124) lub (125), wówczas nastąpi wymycie mikroorganizmów z reaktora. Można temu zapobiec zmieniając dwie wielkości spośród  $D$ ,  $S_0$  i  $X$  w taki sposób, aby spełniona została odpowiednia nierówność (124) lub (125). Kilka wartości  $D_k$ , obliczonych według nierówności (124) dla przypadku skokowego zwiększenia  $S_0$  z 250 mg/l na 500 mg/l, podano na rys.33. Skokowe zmniejszenie szybkości rozcieńczania z  $D$  na wartość  $D_k$  (lub mniejszą) zapobiega wymyciu bakterii z reaktora. Na rys.34 przedstawiono najniższe wartości stężenia biomasy  $X = X_k$ , obliczone na podstawie nierówności (124), zapewniające utlenianie w obszarze stabilnym po różnym skokowym zwiększeniu szybkości rozcieńczania. Łatwo zauważyć, że największe wartości  $X_k$  występują w przypadku największego skokowego zwiększenia  $D$ . Kombinację dodania biomasy (aby np.  $X = 200$  mg/l) z równoczesnym skokowym zmniejszeniem szybkości rozcieńczania z  $D$  na  $D_k$ , w celu zachowania bioutleniania w obszarze stabilnym po skokowym zwiększeniu  $S_0$ , przedstawiono na rys.35. Względnie największego obniżenia  $D$ , przy jednakowym stężeniu biomasy, należy dokonać w przypadku największej szybkości rozcieńczania przed zakłóceniem.

Na podstawie dodatkowych obliczeń stwierdzono, że wartości  $D_k$  oraz  $S_{ok}$ , wyznaczone na podstawie nierówności (124) oraz (125), są przeciętnie o około 15 % mniejsze od wartości  $D_k$  oraz  $S_{ok}$  obliczonych według układu równań (112) (113) i (118) - (123). Zatem  $S_k$  oraz  $S_{ok}$  nie są zbyt zaniżone w odniesieniu do ścisłego rozwiązania. Ponieważ w praktyce nie dokonuje się dużych zmian szybkości rozcieńczania  $D$  oraz stężenia  $S_0$ , dlatego wartości  $D_k$



Rys. 33 Zmiana stężenia fenolu  $S$  i biomasy  $X$ , obliczonych według równań (112) (113) i (118) - (123), w czasie  $t$ . Skokowe zwiększenie  $S_0$  z jednoczesnym skokowym zmniejszeniem szybkości rozcieńczenia z  $D$  na  $D_k$



oraz  $S_{ok}$  można traktować jako bezpieczne [82,83].

W niektórych przypadkach nie powinno występować nawet przejściowe zwiększenie się stężenia  $S$  po zakłóceniu [1,81]. Można to osiągnąć wprowadzając do reaktora taką ilość biomasy z innej hodowli, aby po zakłóceniu szybkość przemiany substratu ( $P_r^* X'$ ) przy stężeniu  $S_1^*$  była co najmniej równa szybkości jego doprowadzania do reaktora ( $D(S_0 - S)$ ). Zatem:

$$P_r^* X' = D(S_0 - S) \quad (126)$$

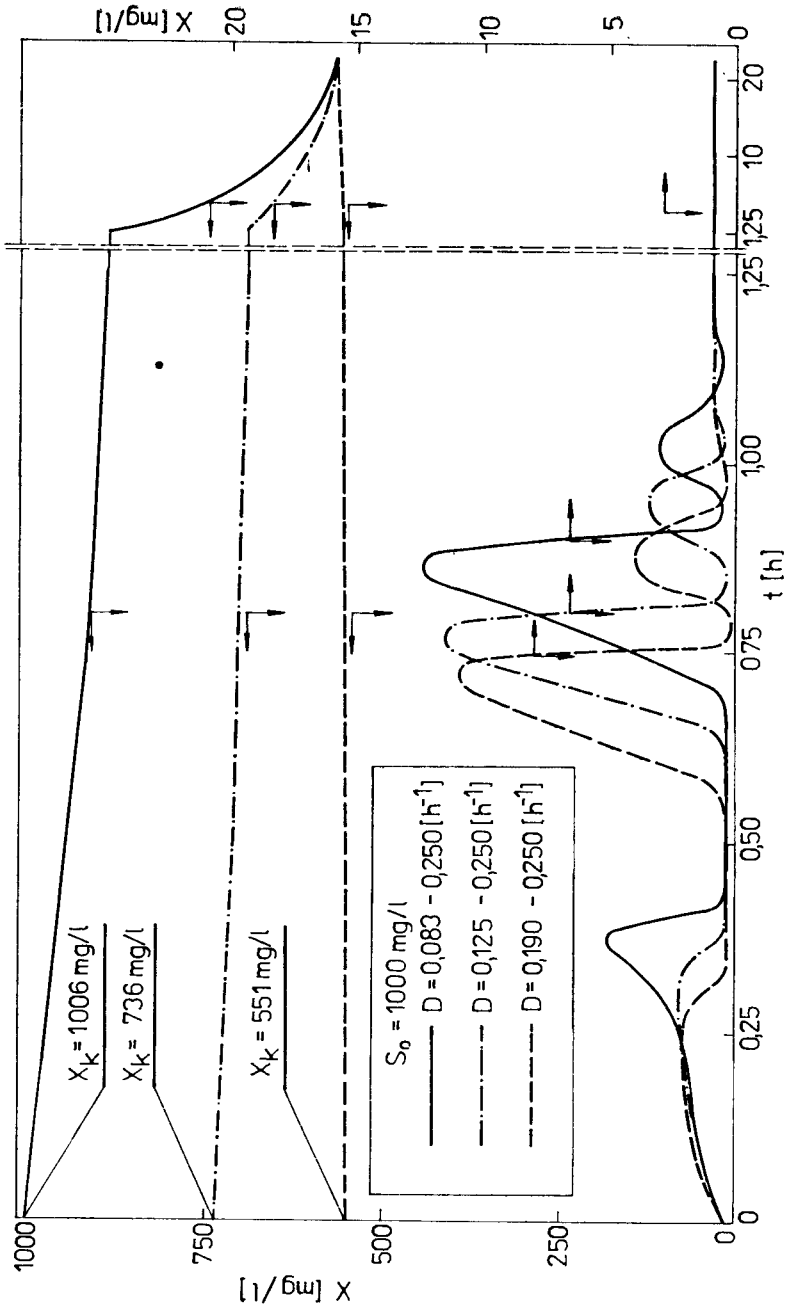
gdzie wielkość  $X'$  oznacza stężenie biomasy po dodaniu do reaktora bakterii z innej hodowli. Przykładowe wartości  $X'$ , obliczone na podstawie równania (126) dla kilku przypadków skokowego zwiększenia szybkości rozcieńczania  $D$  przy stałym  $S_0$ , podano na rys.36. Można stwierdzić łagodny wzrost stężenia  $S$  do wartości  $S_2^*$  w nowym stanie ustalonym, bez występowania maksimum funkcji  $S = f(t)$ .

#### 4. KIERUNKI PRZYSZYŁYCH BADAŃ DOŚWIADCZALNYCH

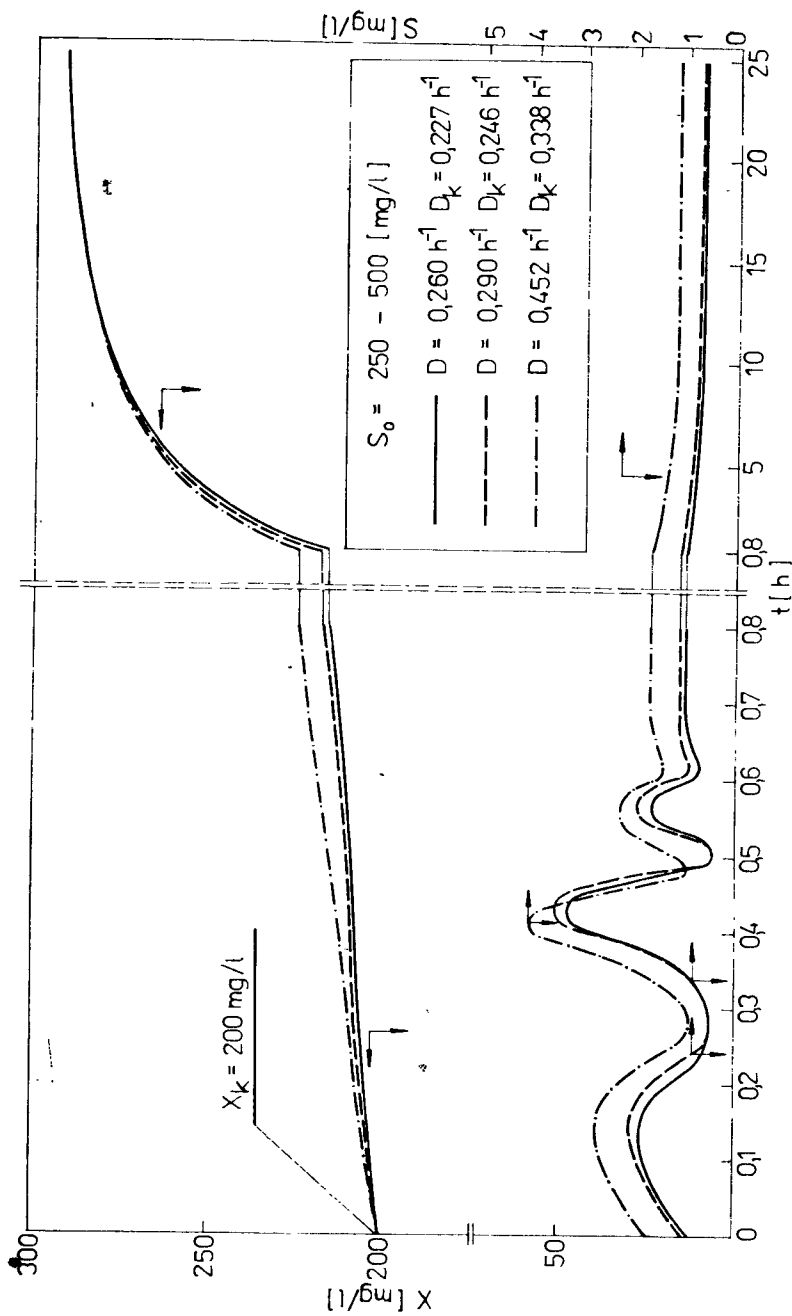
Należy podkreślić, że do obliczania stężeń substratu i biomasy w stanie nieustalonym, wywołanym jednoczesnym skokowym zwiększeniem  $D$  i  $S_0$ , wykorzystano w związkach (112) i (113) kinetyczne równania (118)-(123), wyznaczone jednak dla przypadku oddzielnego skokowego zwiększenia  $D$  lub  $S_0$ . Z tego względu, w celu dokonania oceny przydatności równań (112) (113) i (118) -(123) do obliczania stężeń  $S$  i  $X$  po jednoczesnym skokowym zwiększeniu  $D$  i  $S_0$ , należałoby wyznaczyć doświadczalne wartości  $S$  i  $X$ .

Biorąc pod uwagę, że prace badawcze prowadzone w dziedzinie inżynierii biochemicznej mają również cel poznawczy, wskazane byłoby wyznaczenie równania opisującego zależność wartości  $P_r$  od stężenia substratu  $S$  i od czasu  $t$ , również dla skokowego zmniejszenia  $D$  lub  $S_0$  oraz  $D$  i  $S_0$  jednocześnie. Duże znaczenie praktyczne i poznawcze miałyby wyznaczenie równania opisującego wartości właściwej szybkości pobierania substratu w stanie nieustalonym, wywołanym nagłym zwiększeniem  $S$  (tzw. wymuszenie impulsowe) [73].

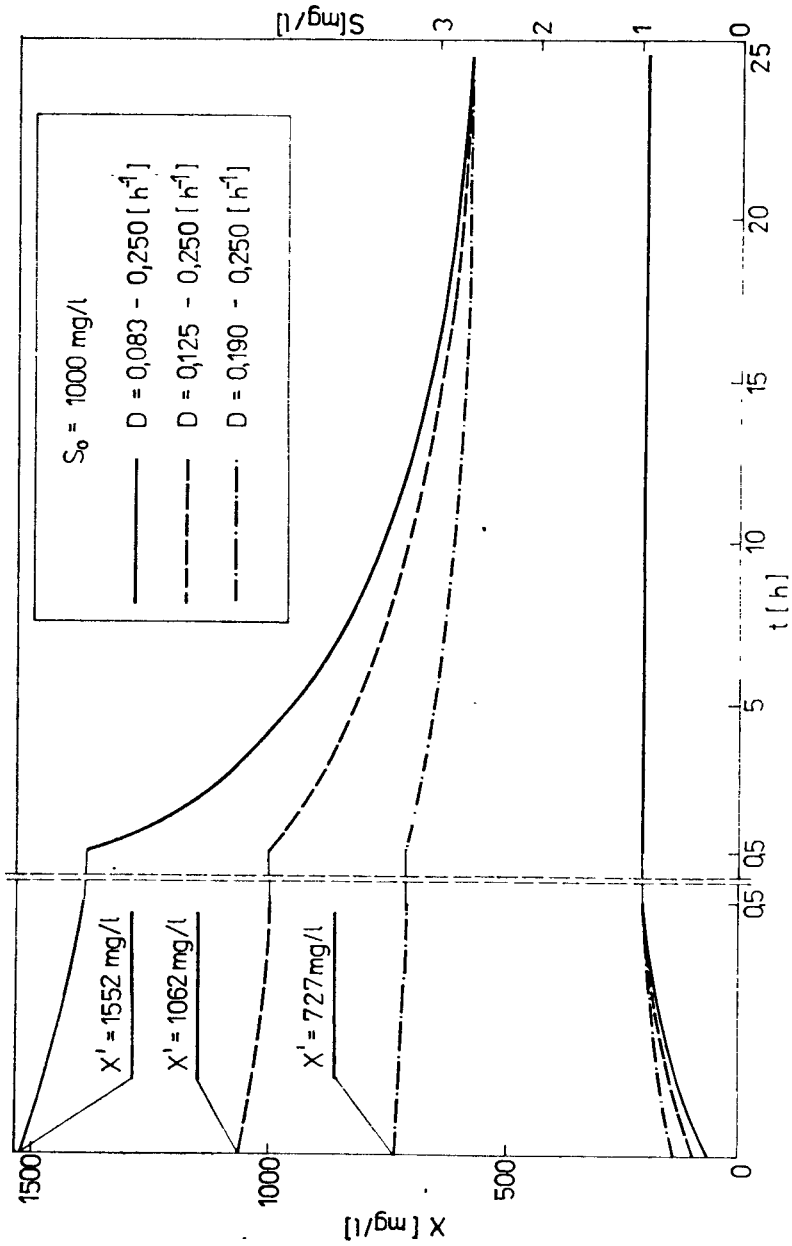
Przedstawiony w niniejszej pracy sposób opisanego  $S$  i  $X$  w stanie nieustalonym, poprzez wprowadzenie do równań bilansu masowego substratu i biomasy szybkości właściwej pobierania substratu  $P_r'$ , a także zastosowana metoda pomiaru  $P_r$  mogą być wykorzystane w przyszłych badaniach doświadczalnych dla innego modelu biologicznego i składnika degradowanego.



Rys. 34 Zależność stężeń fenolu  $S$  i biomasy  $X$ , obliczonych według równań (112) (113) i (118) - (123), od czasu  $t$



Rys. 35 Zależność stężenia fenolu  $S$  i biomasy  $X$ , obliczonych według równań (112) (113) i (118) - (123), od czasu  $t$ . Skokowe zwiększenie  $S_0$  z jednoczesnym zmniejszeniem szybkości rozcieńczenia z  $D$  na  $D_k$ , dokonane przy stężeniu biomasy  $X_k$  po dodaniu bakterii z innej hodowli



Rys.36 Zależność stężeń fenolu  $S$  i biomasy  $X$ , obliczonych według równań (112) (113) i (118) – (123), od czasu  $t$

## L I T E R A T U R A

1. Bailey J.E., Ollis D.F. ; Biochemical Engineering Fundamentals. McGraw-Hill Book Company, New York 1977.
2. Aiba S., Humphrey A.E., Millis N.F. ; Inżynieria biochemiczna. WNT, Warszawa 1977.
3. Yang R.D., Humphrey A.E. ; Biotechnol.Bioeng. **17**, 1211, 1975.
4. Pawlowsky U., Howell J.A. ; Biotechnol.Bioeng. **15**, 905, 1973.
5. Chi C.T., Howell J.A. ; Biotechnol.Bioeng. **18**, 63, 1976.
6. Edwards V.H. ; Biotechnol.Bioeng. **12**, 679, 1970.
7. Yano T., Koga S. ; Biotechnol.Bioeng. **11**, 139, 1969.
8. Pawlowsky U. ; Ph.D.thesis. State University of New York, Buffalo 1972.
9. Perret C.J. ; J.Gen.Microbiol. **22**, 589, 1960.
10. Malek I., Beran K., Fencel Z., Munk V., Ričica J., Smrčková H., Eds. ; Continuous Cultivation of Microorganisms. Academic Press, New York 1969.
11. Boon B., Laudelout H. ; Biochem.J. **85**, 440, 1962.
12. Uemura N., Takahashi J., Ueda K. ; J.Ferment.Technol. **47**, 3, 220, 1969.
13. Grant D.J.W. ; J.Gen.Microbiol. **46**, 213, 1967.
14. Holzberg I., Finn R.K., Steinkraus K.H. ; Biotechnol.Bioeng. **9**, 413, 1967.
15. Finn R.K. ; J.Ferment.Technol. **44**, 305, 1966.
16. Grady C.P.L.Jr, Harlow L.J., Riesing R.R. ; Biotechnol.Bioeng. **14**, 391, 1972.
17. Aris R. ; Biotechnol.Bioeng. **19**, 1375, 1977.
18. Chi C.T., Howell J.A. ; Biotechnol.Bioeng. **18**, 63, 1976.
19. Howell J.A., Chi C.T., Pawlowsky U. ; Biotechnol.Bioeng. **29**, 207, 1974.
20. Howell J.A., Chi C.T., Pawlowsky U. ; Biotechnol.Bioeng. **14**, 253, 1972.
21. Chi C.T., Howell J.A., Pawlowsky U. ; Chem.Eng.Sci. **29**, 207, 1974.
22. Powell E.O., Evans C.G.T. , Strange R.E., Tempest D.W., Eds. ; Microbial Physiology and Continuous Culture. Proceedings 3rd International Symposium. Her Majesty Stationary Office, London 1967.
23. Mateles I.R., Ryu D.Y., Yasuda T. ; Nature **208**, 263, 1965.
24. Wong Y.K., Yang P.Y. ; Biotechnol.Bioeng. **19**, 43, 1977.
25. Young III T.B., Bungay III H.R. ; Biotechnol.Bioeng. **15**, 377, 1975.
26. Vairo M.L.R., Borzani W., Magalhaes M.M.D.A., Perego L.Jr ; Biotechnol. Bioeng. **19**, 595, 1977.
27. Sherrard J.H., Lawrence A.W. ; Journal WPCF **47**, 7, 1848, 1975.
28. Topiwala H.H., Hamer G. ; Biotechnol.Bioeng. **13**, 919, 1971.
29. Borzani W., Gregori R.E., Vairo M.L.R. ; Biotechnol.Bioeng. **19**, 1363, 1977.

30. Lee I.H., Fredrickson A.G., Tsuchija H.M. ; *Biotechnol.Bioeng.* **18**,513, 1976.
31. Ramkrishna D., Fredrickson A.G., Tsuchija H.M. ; *Biotechnol.Bioeng.* **9**, 129, 1967.
32. Edwards V.H., Kinsella T.E., Sholiton D.B. ; *Biotechnol.Bioeng.* **14**,123, 1972.
33. Gaudy A.F.Jr, Srinivasaraghaven R. ; *Biotechnol.Bioeng.* **16**, 723, 1974.
34. Sokół W., Howell J.A. ; *Biotechnol.Bioeng.* /w druku/.
35. Chase L.M. ; *Biotechnol.Bioeng.* **19**, 1431, 1977.
36. Aiba S., Nagai S., Nishizawa Y., Onodera M. ; *J.Gen.Appl.Microbiol.* **13**, 73, 1967.
37. Aiba S., Nagai S., Nishizawa Y., Onodera M. ; *J.Gen.Appl.Microbiol.***13**, 85, 1967.
38. Nagai S., Nishizawa Y., Endo I., Aiba S. ; *J.Gen.Appl.Microbiol.* **14**, 121, 1968.
39. Sokół W., Howell J.A., Jones M.G. ; *University College Swansea Thesis No 76, Swansea 1978.*
40. Aiba S., Nagai S., Endo I., Nishizawa Y. ; *AIChE Journal* **15**, 4, 624, 1969.
41. Kjeldgaard N.O., Kurland C.G. ; *J.Mol.Biol.* **6**, 341, 1963.
42. Tempest D.W., Hunter J.R., Sykes J. ; *J.Gen.Microbiol.* **39**, 355, 1965.
43. Tempest D.W., Dicks J.W., Hunter J.R. ; *J.Gen.Microbiol.* **45**, 135,1966.
44. Young III T.B., Bruley D.F., Bungay III H.R. ; *Biotechnol.Bioeng.* **12** , 747, 1970.
45. Ketter R.L., Prawel S.P., Jr ; *Modern Methods of Engineering Computation.* McGraw-Hill Book Company, New York 1969.
46. Lapidus L. : *Digital Computation for Chemical Engineers.* McGraw-Hill Book Company, New York 1962.
47. Volk V. ; *Statystyka stosowana dla inżynierów.* WNT,Warszawa 1965.
48. Lee S.S., Jackman A.P., Schroeder E.D. ; *Water Research* **9**, 491, 1975.
49. Zines D.O., Rogers P.L. ; *Biotechnol.Bioeng.* **12**, 561, 1970.
50. Topiwala H., Sinclair C.G. ; *Biotechnol.Bioeng.* **13**, 795, 1971.
51. Borzani W., Vairo M.L.R. ; *Biotechnol.Bioeng.* **15**, 299, 1973.
52. George T.K., Gaudy A.F.Jr ; *Biotechnol.Bioeng.* **15**, 933, 1973.
53. Gaudy A.F.Jr ; *Biotechnol.Bioeng.* **17**, 1051, 1975.
54. Joschek H.I., Dehler J., Koch W., Engwllhardt H. ; *Biotechnol.Bioeng.* **17**, 422, 1975.
55. Borzani W., Gregori R.E., Vairo M.L.R. ; *Biotechnol.Bioeng.* **18**, 623, 1976.
56. Regan D.L., Roper C.H. ; *Biotechnol.Bioeng.* **13**, 815, 1971.
57. Sundstrom D.W., Klei H.E., Brookman G.T. ; *Biotechnol.Bioeng.* **18**, 1, 1976.
58. Tsai B.I., Erickson L.E., Fan L.T. ; *Biotechnol.Bioeng.* **11**, 181, 1969.
59. Meyer J.S., Tsuchiya H.M., Fredrickson A.G. ; *Biotechnol.Bioeng.* **17** , 1065, 1975
60. Borzani W., Gregori R.E., Vairo M.L.R. ; *Biotechnol.Bioeng.* **19**, 1363 , 1977.

61. Wolfbauer O., Klettner H., Moser F. ; Chem.Eng.Sci. **33**, 953, 1978.
62. Dibasio D., Lim H.C., Weigand W.A., Tsao G.T. ; AIChE Journal **24**, 4 , 686, 1978.
63. Attir U., Denn M.M. ; AIChE Journal **24**, 4, 693, 1978.
64. Ramanathan M., Gaudy A.F.Jr ; Biotechnol.Bioeng. **11**, 207, 1969.
65. Mehring A., Wiesman U. ; Chem.Ing.Techn. **49**, 1, 53, 1977.
66. Macdonald N. ; Biotechnol.Bioeng. **18**, 805, 1976.
67. Gagnon G.A., Crandall C.J., Zaroni A.E. ; Journal WPCF **49**, 5, 832, 1977.
68. Grady C.P.L.Jr, Williams D.R. : Water Reserch **9**, 1, 71, 1975.
69. Leduy A., Kosaric N., Zajic J.E. ; Biotechnol.Bioeng. **19**, 1653, 1977.
70. Gilley J.W., Bungay H.R. 3rd ; Biotechnol.Bioeng. **10**, 99, 1968.
71. Canale R.P. ; Biotechnol.Bioeng. **12**, 358, 1970.
72. Gaudy A.F.Jr, Ramanathan M., Rao B.S. ; Biotechnol.Bioeng. **9**, 387, 1967.
73. Friedly J.C. ; Analiza dynamiki procesów. WNT, Warszawa 1975.
74. Pawlowsky U., Howell J.A. ; Biotechnol.Bioeng. **15**, 889, 1973.
75. Knapp J.S. ; Ph.D.thesis.University College Cardiff, Cardiff 1975.
76. Haldane J.B.S. ; Enzymes. MIT Press, Massachusetts 1965.
77. Dixon M., Webb E.C. ; Enzymes, 2nd Ed. Academic Press, New York 1964.
78. Webb J.L. ; Enzymes and Metabolic Inhibitors. Academic Press, New York 1963.
79. Ettinger M.B., Ruchhoft C.G., Lishka R.J. ; Anal.Chem. **23**, 1783, 1957.
80. Dawes E.S. ; Quantitative problems in biochemistry. 4th Ed. E.& S.Livingstone, Edinburgh and London 1967.
81. Paluch J. ; Podstawy mikrobiologii przemysłowej. WNT, Warszawa 1972.
82. Kunicki-Goldfinger W.J.H. ; Życie bakterii. Wyd.3. PWN, Warszawa 1977.
83. Koteńko K., Sedlaczek L., Lachowicz T.M. ; Biologia bakterii.Wyd.2.PWN, Warszawa 1979.
84. Draper N.R., Smith H. ; Analiza regresji stosowana. PWN, Warszawa 1973.
85. Traczyk T., Mączyński M. ; Matematyka stosowana w inżynierii chemicznej. WNT, Warszawa 1970.
86. Bronstejn I.M., Siemiendajew K. ; Matematyka. Poradnik encyklopedyczny. Wyd.5. PWN, Warszawa 1973.
87. Levenspiel O. ; Chemical Reaction Engineering. 2nd Ed. John Wiley & Sons, Inc., New York 1972.

## STRESZCZENIE

Stwierdzono, że opisanie bioutleniania substratu w stanie nieustalonym układem równań bilansu masowego łącznie ze związkiem kinetycznym, nie uwzględniającym zjawiska histerezy mikrobiologicznej, prowadzi nie tylko do znacznych rozbieżności ilościowych między rozwiązaniami teoretycznymi a wynikami doświadczalnymi, ale często i jakościowych. W wielu bowiem przypadkach, w których według rozwiązania teoretycznego praktycznie cała ilość substratu doprowadzonego do reaktora powinna ulec przemianie, doświadczalnie w ogóle nie stwierdza się utleniania, gdyż nastąpiło wymycie komórek z reaktora. Występują też sytuacje odwrotne, w których doświadczalnie stwierdza się bioutlenianie substratu w zakresie wartości stopnia jego przemiany bliskich jedności, natomiast według rozwiązania teoretycznego powinno było już nastąpić wymycie bakterii z reaktora.

W pracy niniejszej bioutlenianie substratu inhibitującego wzrost mikroorganizmów opisano wyznaczonymi teoretycznie równaniami bilansu masowego substratu i biomasy. Wykorzystano w nich szybkość właściwą pobierania substratu  $P_r$ , określającą ilość substratu utlenianego w jednostce czasu przez jednostkę masy bakterii. Zastosowanie we wspomnianych równaniach bilansu masowego doświadczalnego związku określającego  $P_r$ , który uwzględniał zjawisko histerezy mikrobiologicznej, dało dobrą zgodność rozwiązań teoretycznych z wynikami doświadczalnymi dla umiarkowanych zakłóceń. Dla dużych zakłóceń uzyskano zgodność wystarczającą do praktycznego przewidywania zakresu stopnia przemiany substratu po zakłóceniu.

Podano metodę wyznaczania obszaru stabilności utleniania, który stanowią te wartości szybkości rozcieńczenia i stężenia substratu w pożywce po zakłóceniu, że w nowym stanie ustalonym zachodzić będzie bioutlenianie praktycznie całej ilości substratu doprowadzonego do reaktora, jak w stanie ustalonym poprzedzającym zakłócenie.

Zaproponowano kierunki przyszłych badań doświadczalnych.



## SUMMARY

It has been found that the description of biooxidation in transient state in continuous biochemical reactor by the system of an equations of a mass balance of substrate and biomass together with a relationship, determining a value of a specific growth rate depending on substrate concentration in bioreactor ; however, not taking into account a microbiological hysteresis, gives not only significant quantitative differences of a theoretical solutions and an experimental results, but often qualitative differences as well. In many cases in which according to theoretical solution practically all quantity of substrate supplied to reactor should be changed but experimentally biooxidation is not confirmed because washout has been reached. There are inverse cases too in which biooxidation is still experimentally confirmed in the range of conversion ratio value near unity ; however, according to theoretical solution washout should be reached before.

In this work the biooxidation of an inhibitory substrate has been described by the theoretically derived system of an equations of a mass balance of substrate and biomass applying in these equations the specific up-take rate, determining an amount of biooxidated substrate per unit biomass per unit time. The application in these equations of a relation, describing dependence of a specific up-take rate on substrate concentration in transient state in reactor and on time calculated from disturbance, which takes into account a microbial hysteresis, gives good compatibility of a theoretical solutions and experimental results after a moderate disturbances. For a large disturbances the sufficient compatibility to a practical prediction of a conversion rate range has been obtained.

The method of determining of a biooxidation stability range has been worked out. This stability range means such a range of step increase of dilute rate or step increase of substrate concentration in nutrient medium that after transient increase of substrate concentration in a reactor, biooxidation practically of all amount of substrate supplied to reactor takes place again, as in stable state going before disturbance.

The trends of a next experimental investigations have been proposed.

## Резюме

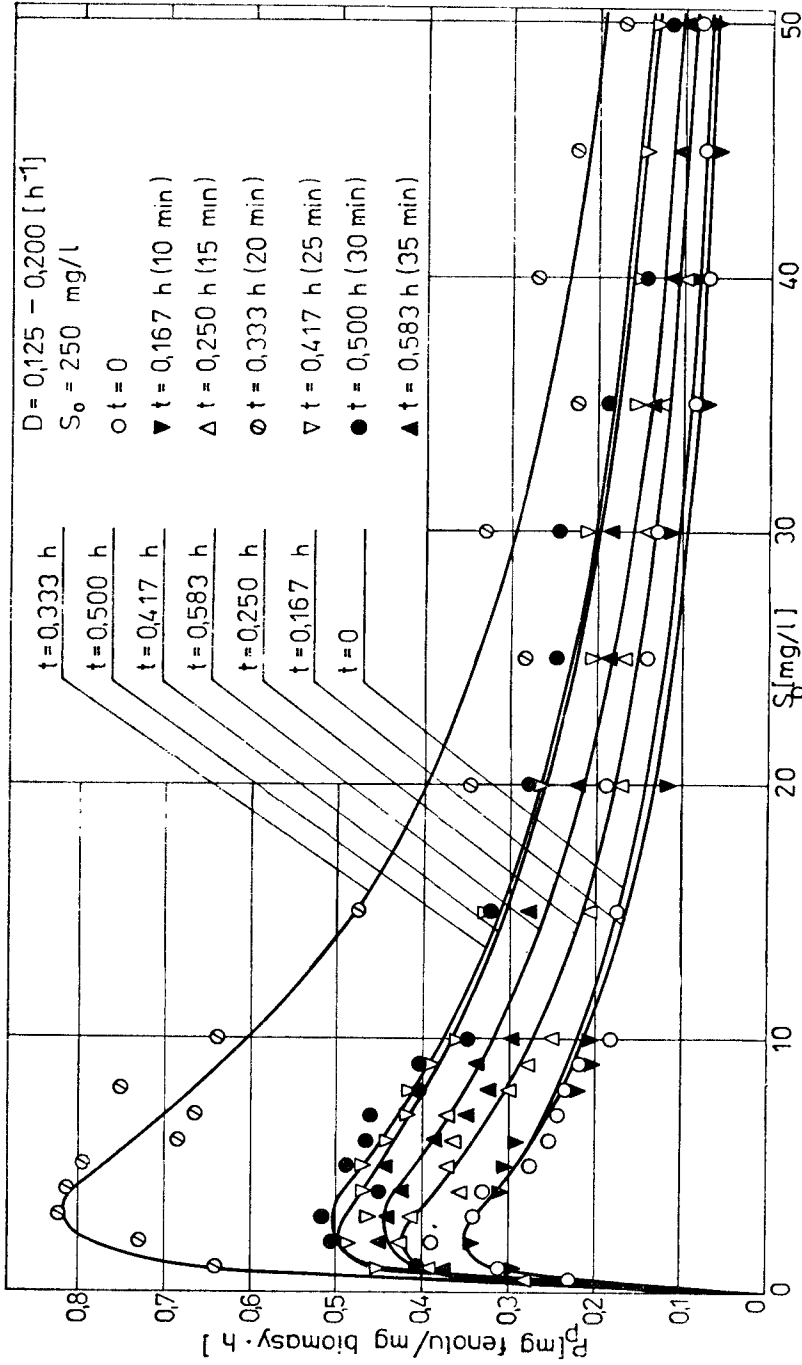
Доказано, что процесс биологического окисления исходного вещества в биохимическом реакторе непрерывного действия в неустановленном состоянии не можно представить системой управлений массового баланса исходного вещества и биомассы вместе с веществом определяющим значение удельной скорости роста ячеек в зависимости от концентрации исходного вещества в реакторе. Явление незамыкающей микробиологической гистерезы ведет не только к значительным количественным разницам между теоретическим решением и экспериментальными данными, но часто тоже и к качественным. Во многих случаях в которых по теоретическому решению практически все количество исходного вещества введенного в реактор должно прореагировать — это экспериментально вообще не доказано. Выступают также противоположные моменты в которых экспериментально доказывается еще биологическое окисление исходного вещества в пределе значения степени его конверсии приближенной к единице, зато по теоретическому решению управления должно уже произойти вымывание микроорганизмов из реактора.

В предлагаемой работе динамику биоокисления ингибиторного исходного вещества описано теоретически определенной системой управлений массового баланса исходного вещества и биомассы, применяя в них удельную скорость поглощения исходного вещества определяющую количество исходного вещества биоокисленного в единице времени через единицу массы микроорганизмов. Применение в упомянутых экспериментального соединения, описывающего зависимость удельной скорости поглощения исходного вещества от концентрации исходного вещества в реакторе в неустановленном состоянии и от времени отсчитанного от момента пертурбации, которое учитывало явление микробиологической гистерезы, была полугена хорошая сходимость теоретических решений с экспериментальными результатами для умеренных пертурбаций. Для больших пертурбаций полученная сходимость была достаточна для практического предвидения предела степени конверсии исходного вещества по пертурбации.

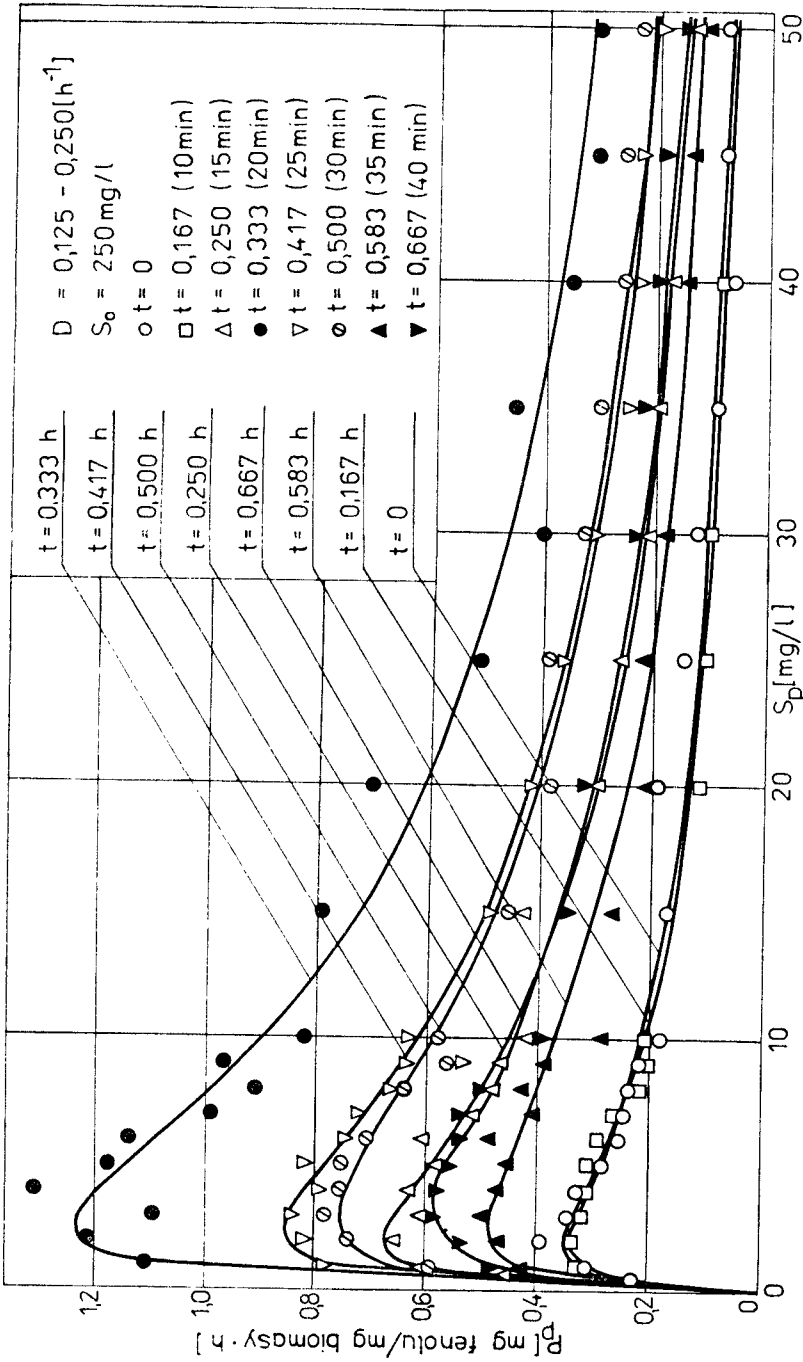
Дан метод определения области стабильности биологического окисления. Эта область стабильности означает такой предел скачкообразного увеличения скорости разбавления или скачкообразного увеличения концентрации исходного вещества в питании, что после переходного роста концентрации исходного вещества в реакторе еще раз произойдет биологическое окисление практически всего количества введенного в реактор, как в установленном состоянии до пертурбации.

Предложены направления будущих экспериментальных исследований.

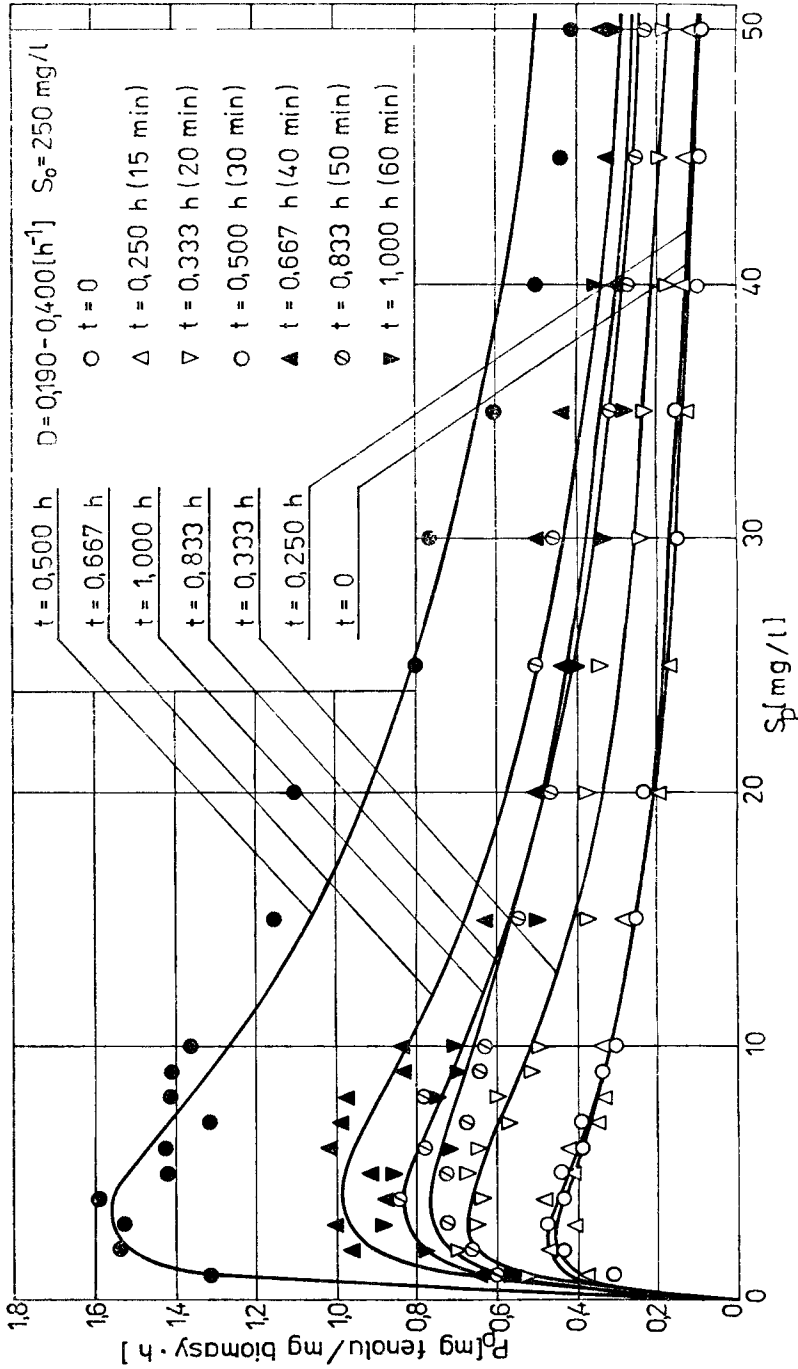
**R Y S U N K I**



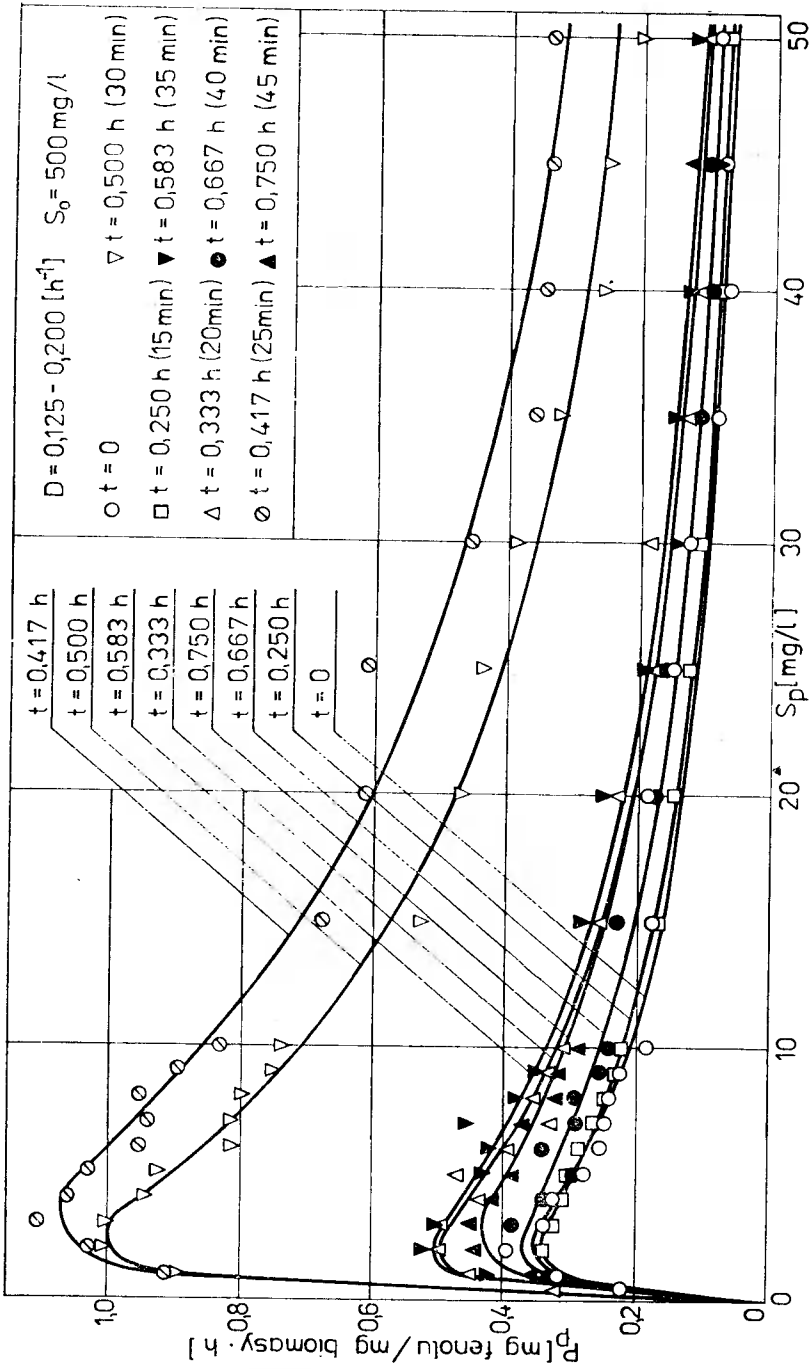
Rys. I Zależność doświadczalnych wartości szybkości wiaściwej pobierania fenolu  $P$  od stężenia  $S$   
 Liniami ciągłymi zaznaczono wartości  $P$  obliczone według równania (78), po wykorzystaniu  
 w nim wartości  $P_{max}$ ,  $K_S$  i  $k_1$  wyznaczonych na podstawie zmierzonych  $P$



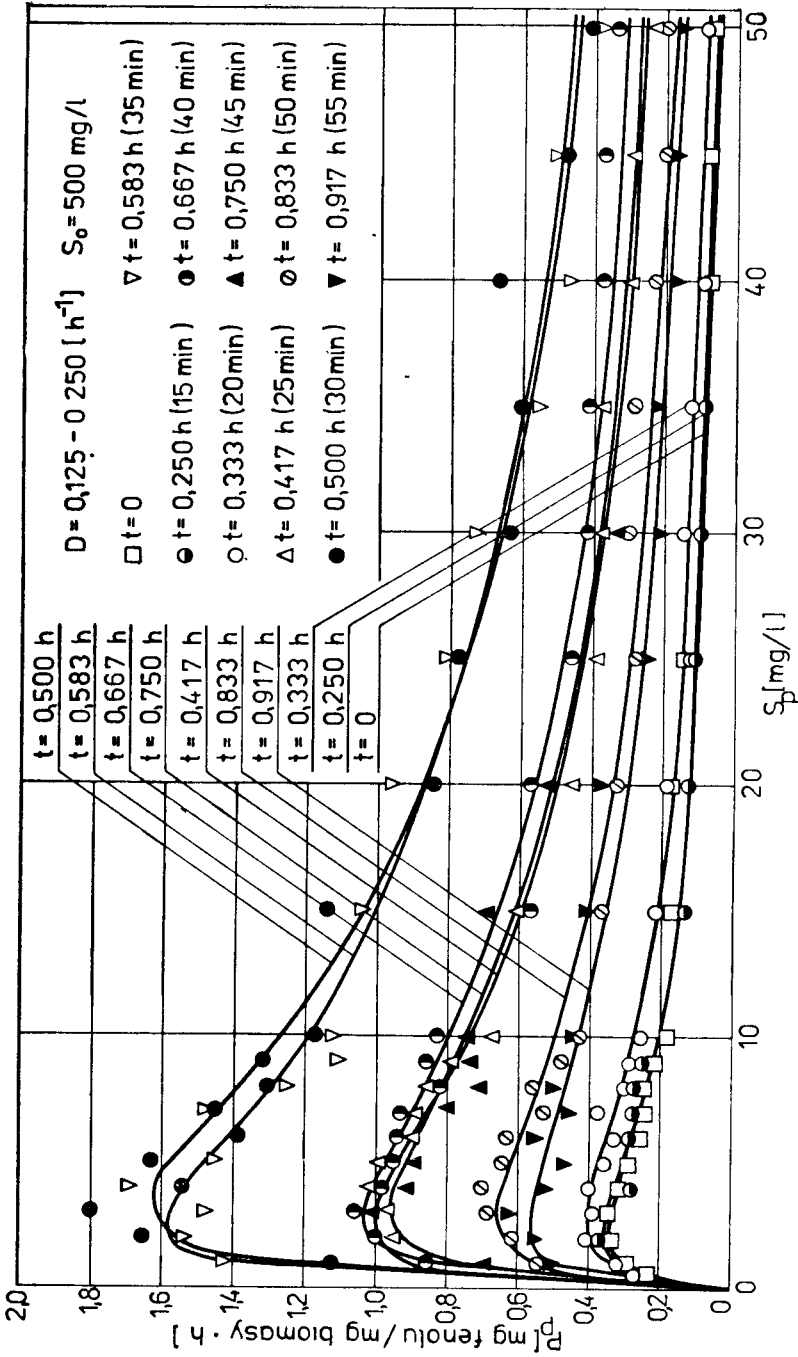
Fys.II Zależność doświadczalnych wartości szybkości wzięcia fenolu  $P_p$  od stężenia  $S_p$ .  
 Liniami ciągłymi oznaczono wartości  $P_p$  obliczone według równania (78), po wykorzystaniu  
 w nim wartości  $P_{max}$ ,  $K_S$  i  $k_1$  wyznaczonych na podstawie zmierzonych  $P_p$



Rys. III Zależność doświadczalnych wartości szybkości wiaściwej pobierania fenolu  $P_p$  od stężenia  $S_p$   
 .. Liniami ciągłymi oznaczono wartości  $P_p$  obliczone według równania (78), po wykorzystaniu  
 w nim wartości  $P_{max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  wyznaczonych na podstawie zmierzonych  $P_p$

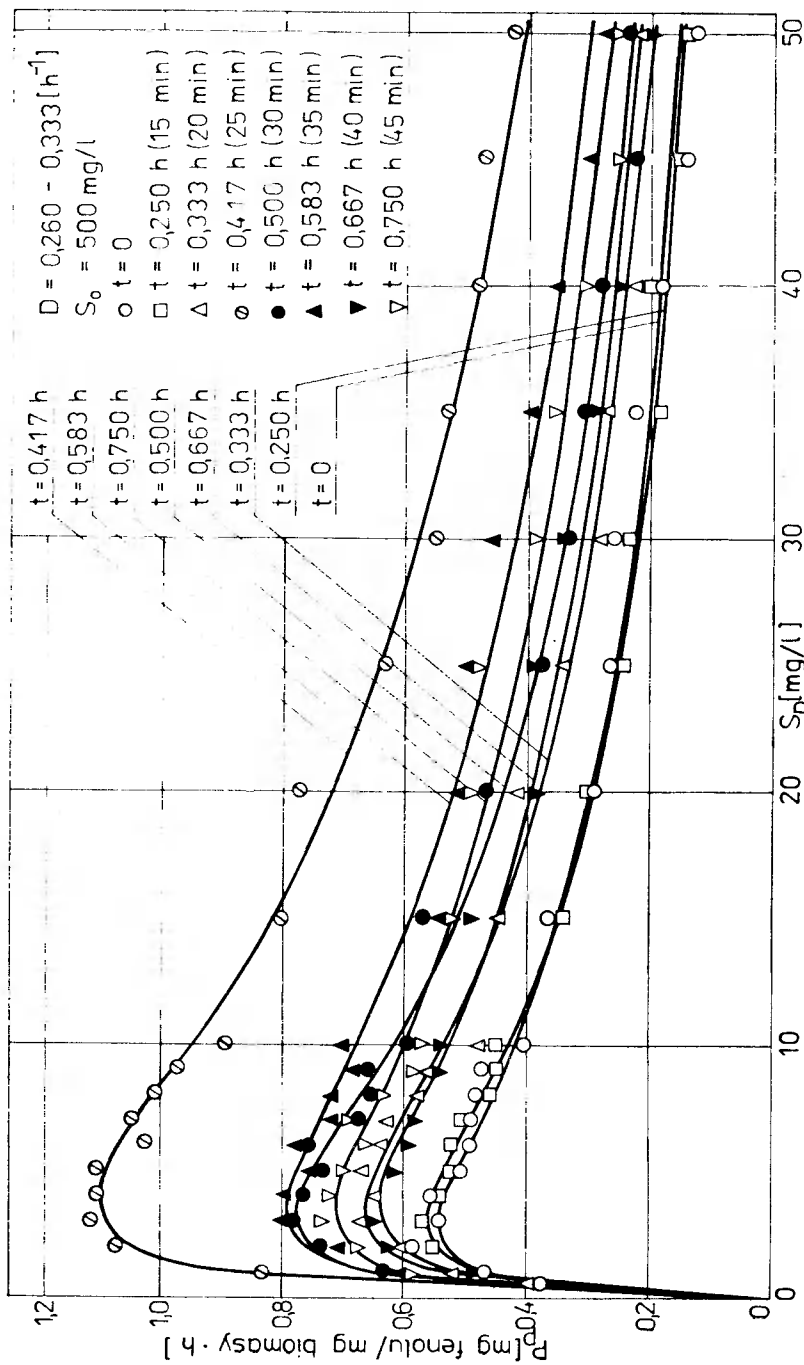


Rys. IV Zależność doświadczalnych wartości szybkości wiaściwej pobierania fenolu  $P_p$  od stężenia  $S_p$   
 Liniami ciągłymi zaznaczono wartości  $P_p$  obliczone według równania (78), po wykorzystaniu  
 w nim wartości  $P_{max}$ ,  $K_S$  i  $k_1$  wyznaczonych na podstawie zmierzonych  $P_p$

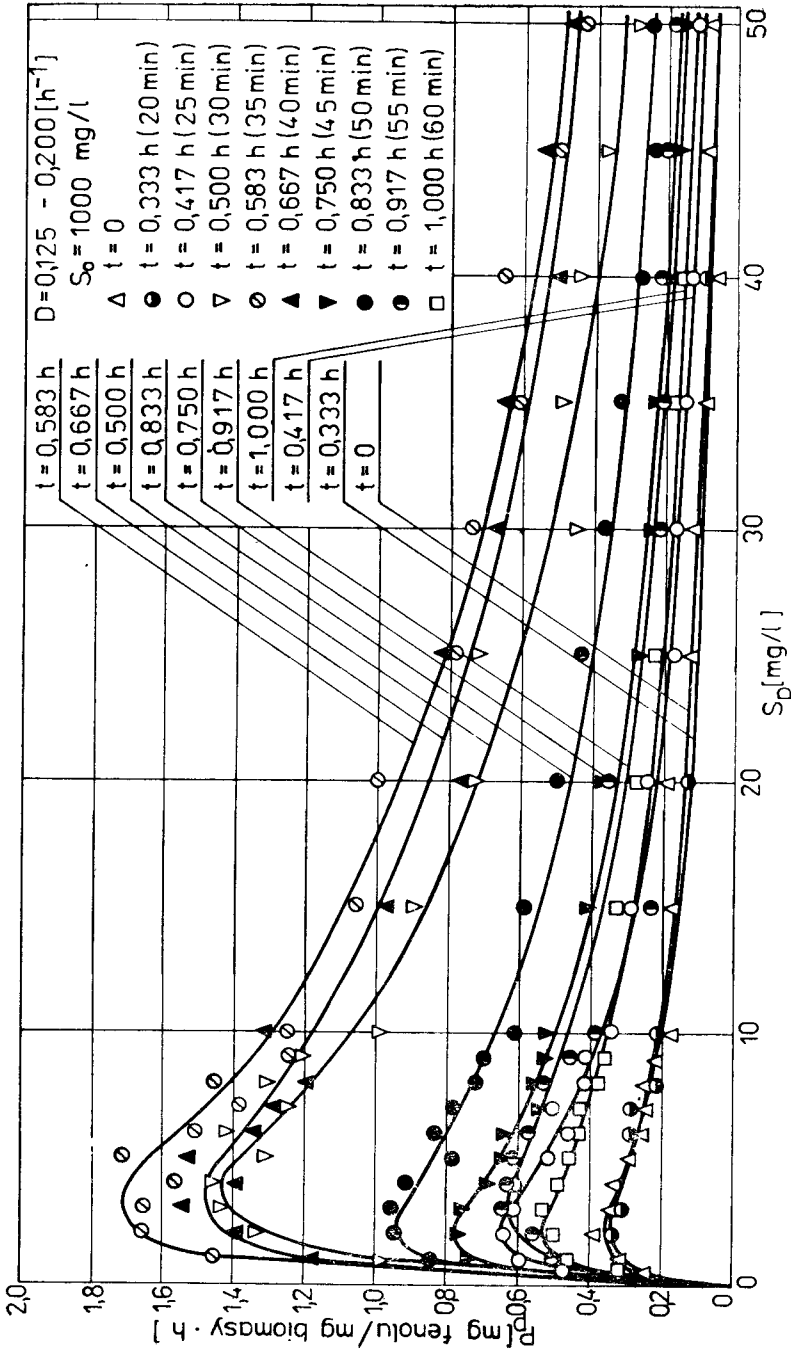


Fys.V Zależność doświadczalnych wartości szybkości właściwej pobierania fenolu  $P_p$  od stężenia  $S_p$ . Liniami ciągłymi oznaczono wartości  $P_p$  obliczone według równania (78), po wykorzystaniu w nim wartości  $F_{max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  wyznaczonych na podstawie zmierzonych  $P_p$ .

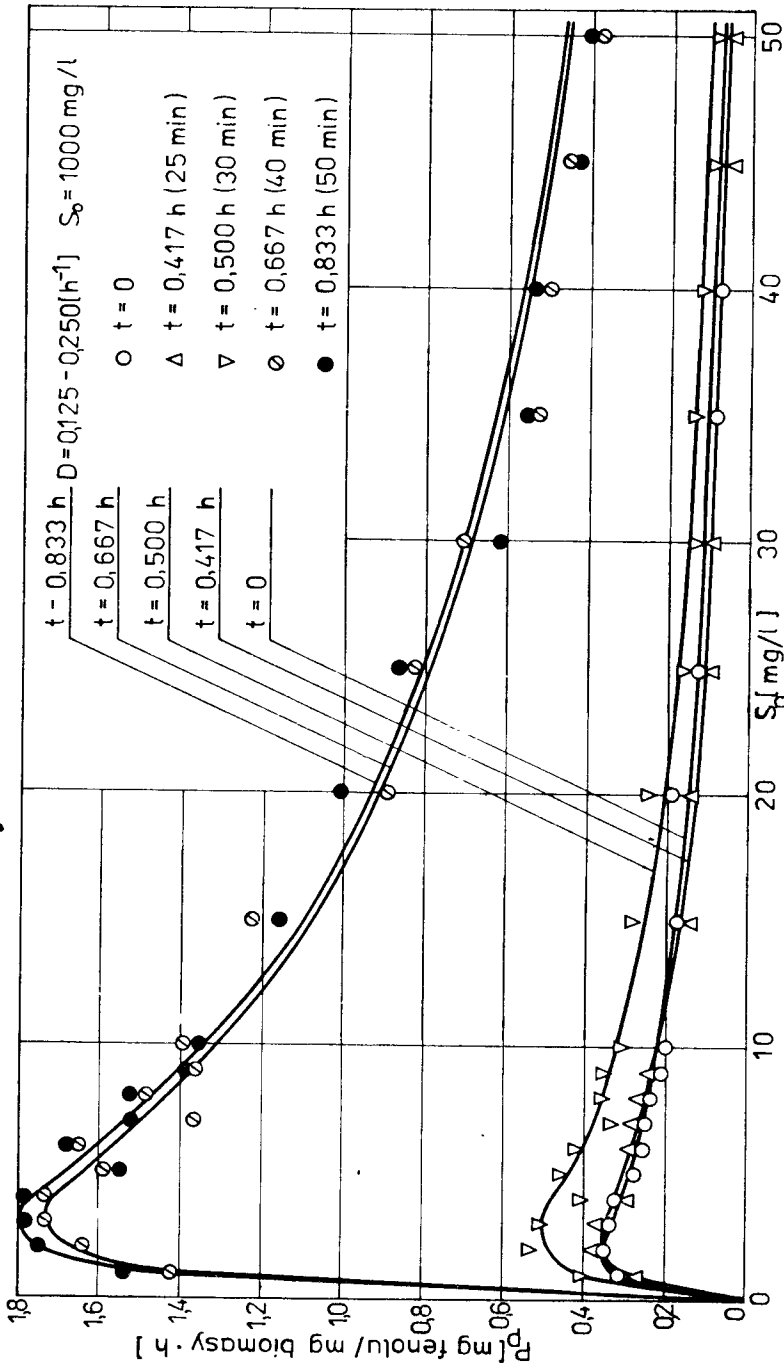




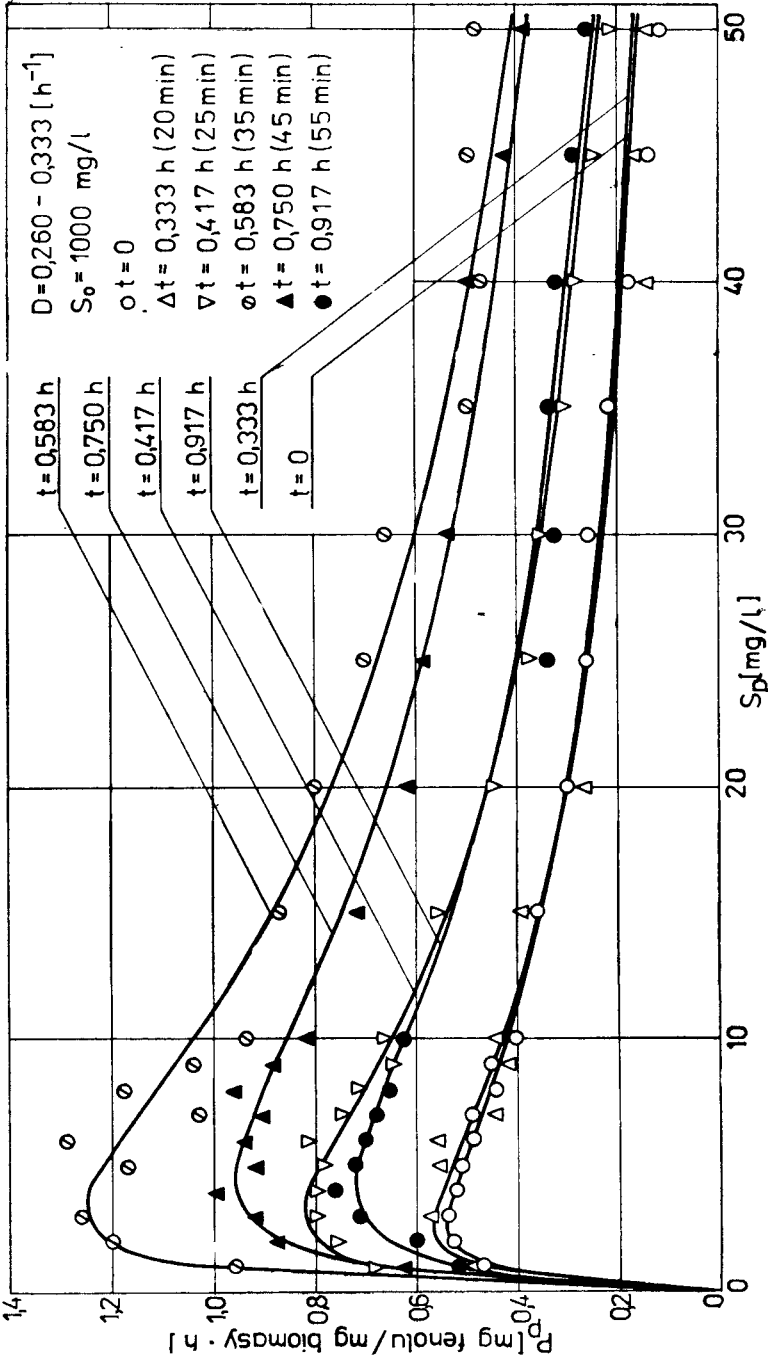
Rys. VI Zależność doświadczalnych wartości szybkości właściwej pobierania fenolu  $P_p$  od stężenia  $S_p$   
 Liniami ciągłymi zaznaczono wartości  $P_p$  obliczone według równania (78), po wykorzystaniu  
 w nim wartości  $P_{max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  wyznaczonych na podstawie zmierzonych  $P_p$



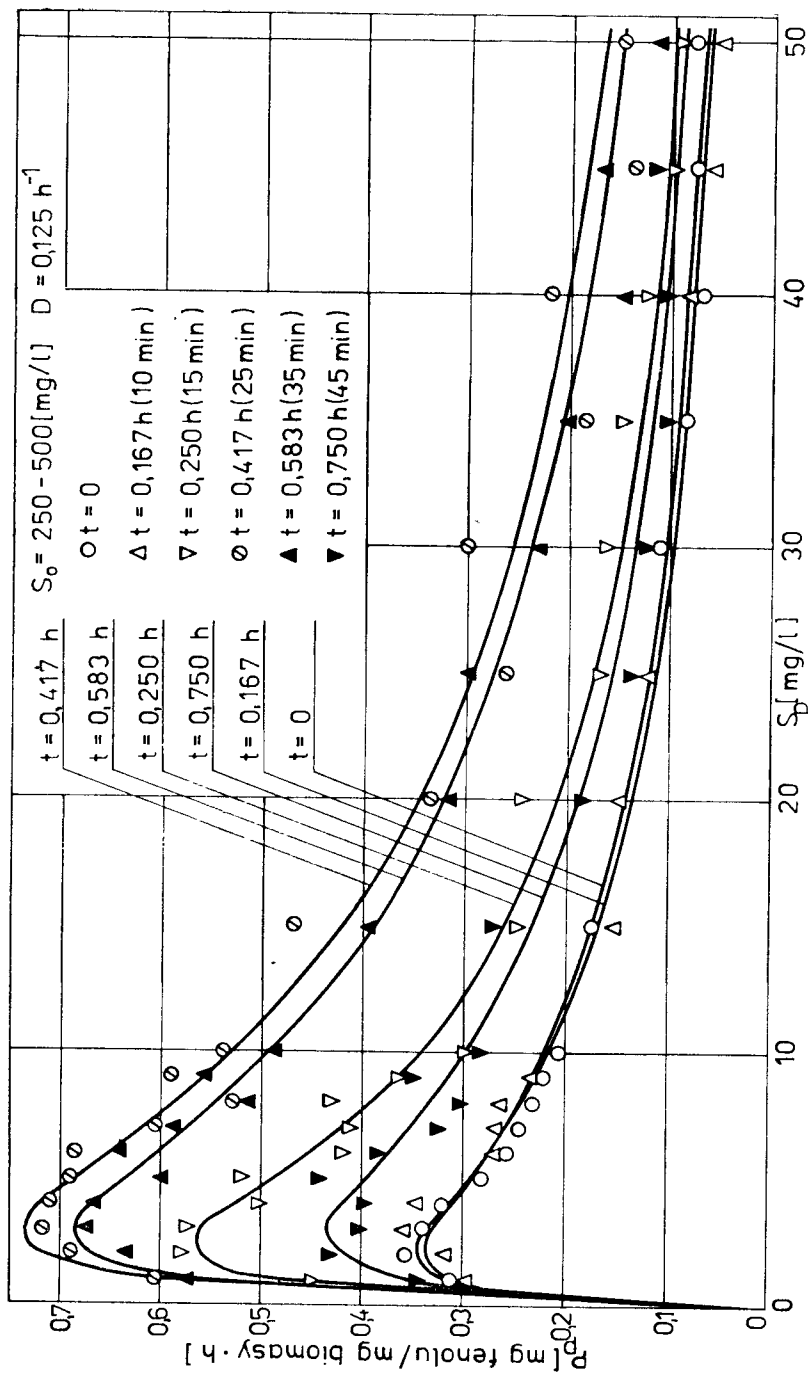
Rys. VII Zależność doświadczalnych wartości szybkości właściwej pobierania fenolu  $P_p$  od stężenia  $S_p$   
 Liniami ciągłymi oznaczono wartości  $P_p$  obliczone według równania (78), po wykorzystaniu  
 w nim wartości  $P_{max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  wyznaczonych na podstawie zmierzonych  $P_p$



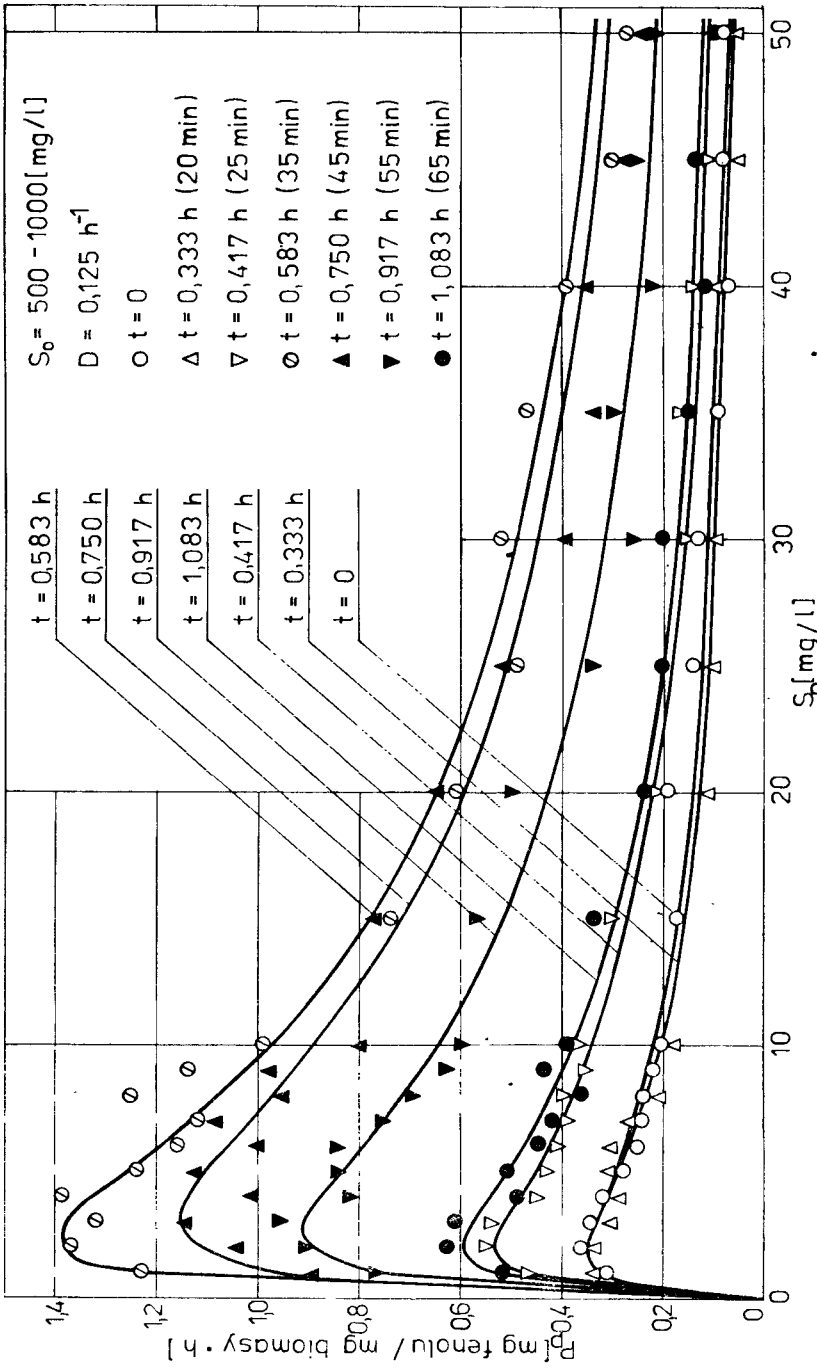
Rys. VIII Zależność doświadczalnych wartości szybkości wzięcia pobierania fenolu  $P_p$  od stężenia  $S_p$  liniami ciągłymi zaznaczono wartości  $P_p$  obliczone według równania (78), po wykorzystaniu w nim wartości  $P_{max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  wyznaczonych na podstawie zmierzonych  $P_p$



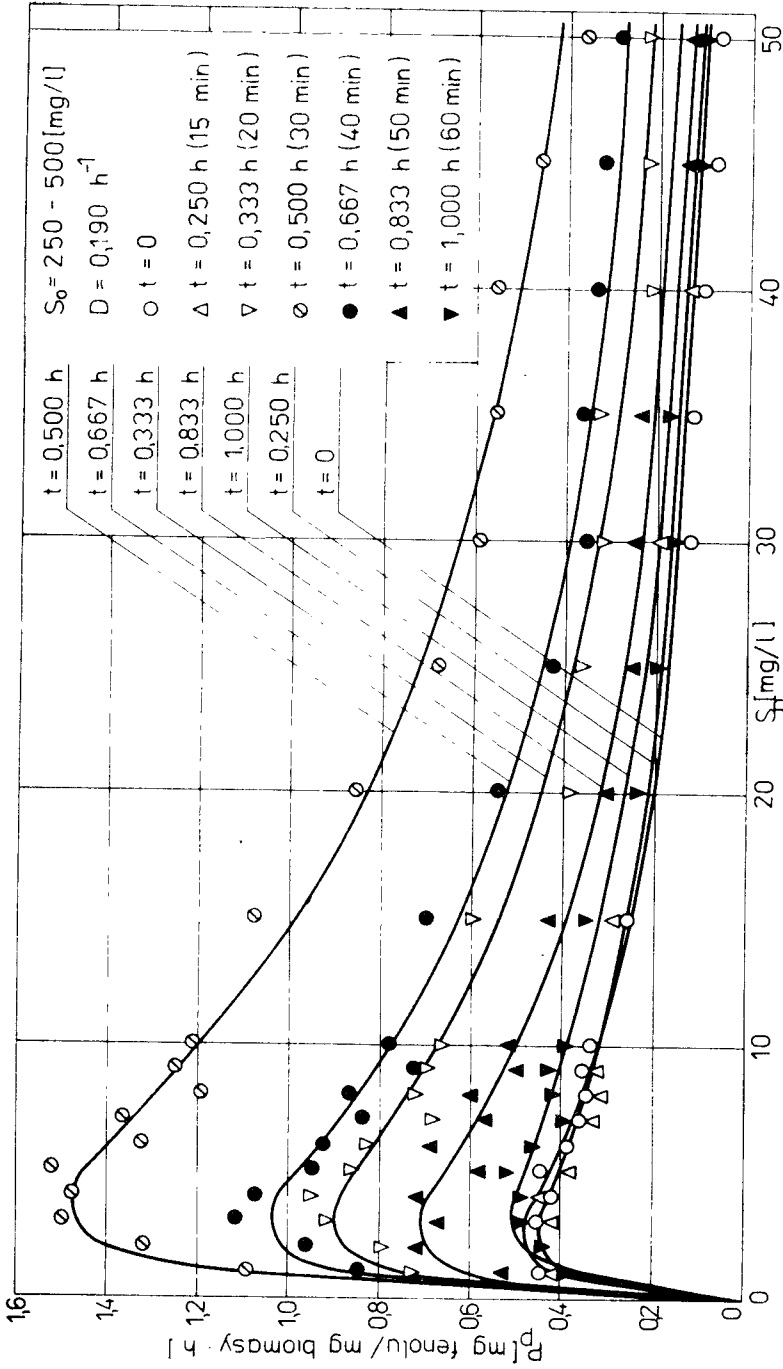
Fys. IX Zależność doświadczalnych wartości szybkości właściwej pomierania fenolu  $P_p$  od stężenia  $S_p$  liniami ciągłymi zaznaczono wartości  $P_p$  obliczone według równania (78), po wykorzystaniu w nim wartości  $P_{max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  wyznaczonych na podstawie zmierzonych  $P_p$



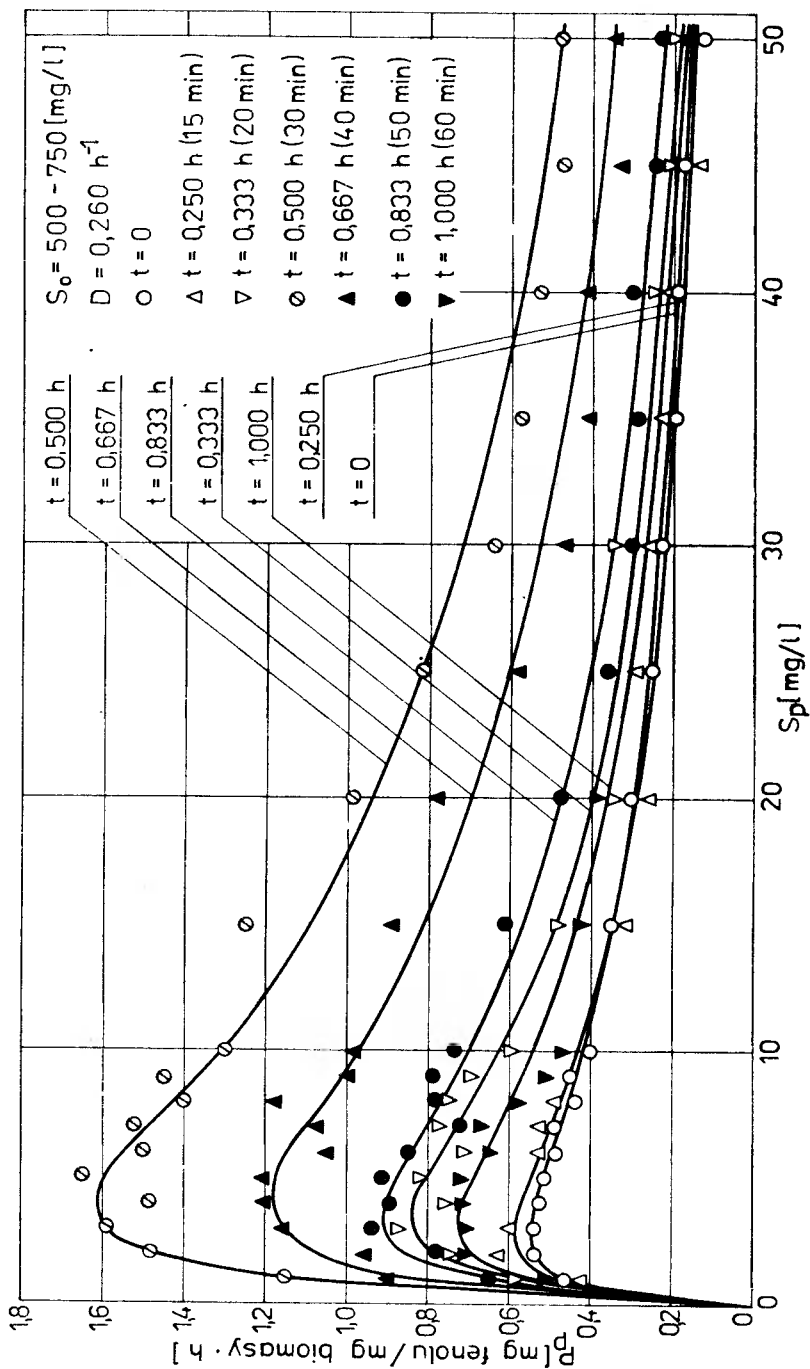
Rys. X Zależność doświadczalnych wartości szybkości właściwej pobierania fenolu  $P_p$  od stężenia  $S_p$ .  
 Liniami ciągłymi zaznaczono wartości  $P_p$  obliczone według równania (78), po wykorzystaniu  
 w nim wartości  $P_{max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  wyznaczonych na podstawie zmierzonych  $P_p$



Rys. XI Zależność doświadczalnych wartości szybkości właściwej pobierania fenolu  $P_p$  od stężenia  $S_p$ .  
 Liniami ciągłymi oznaczono wartości  $P_p$  obliczone według równania (78), po wykorzystaniu  
 w nim wartości  $P_{max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  wyznaczonych na podstawie zmierzonych  $P_p$

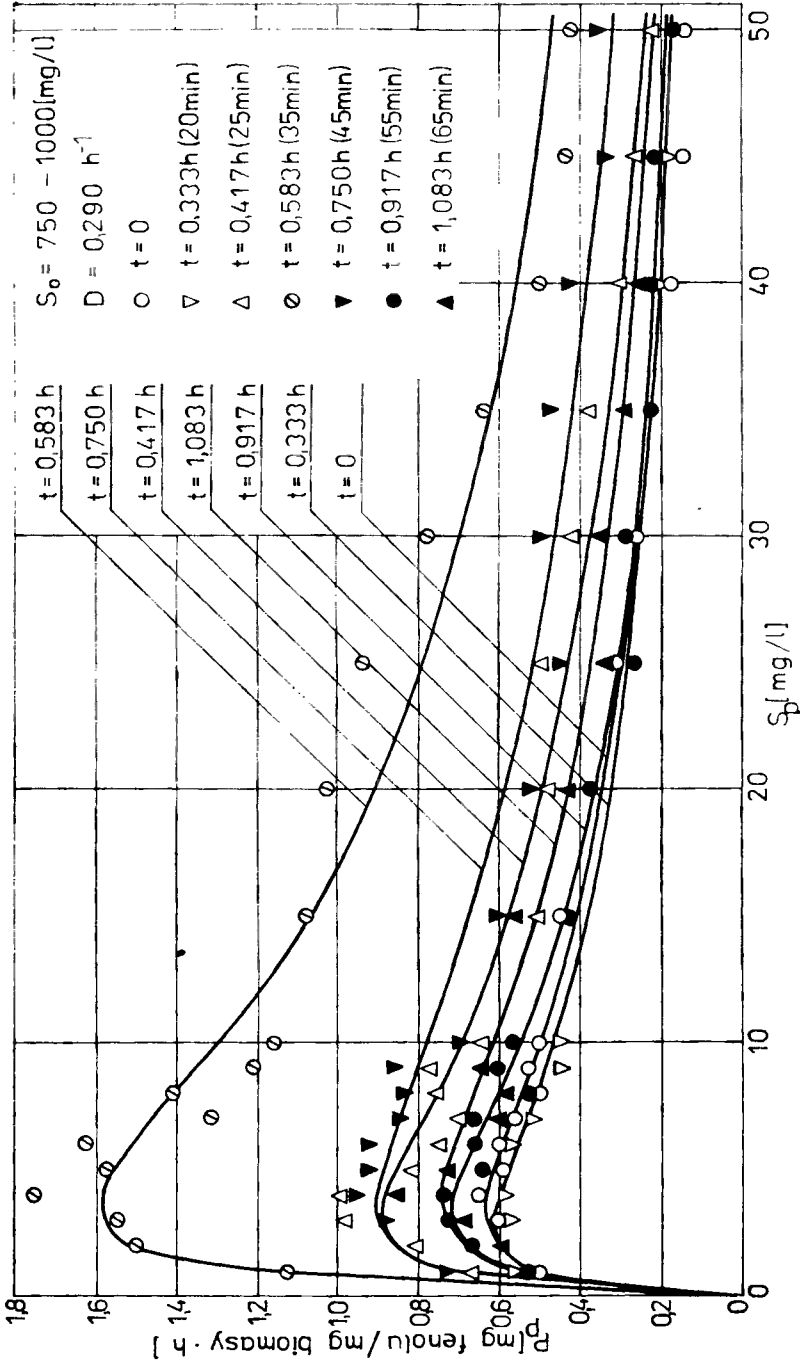


Rys. XII Zależność doświadczalnych wartości szybkości pobierania fenolu  $P_p$  od stężenia  $S_p$   
 Liniami ciągłymi zaznaczono wartości  $P_p$  obliczone według równania (78), po wykorzystaniu  
 w nim wartości  $P_{max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  wyznaczonych na podstawie zmierzonych  $P_p$

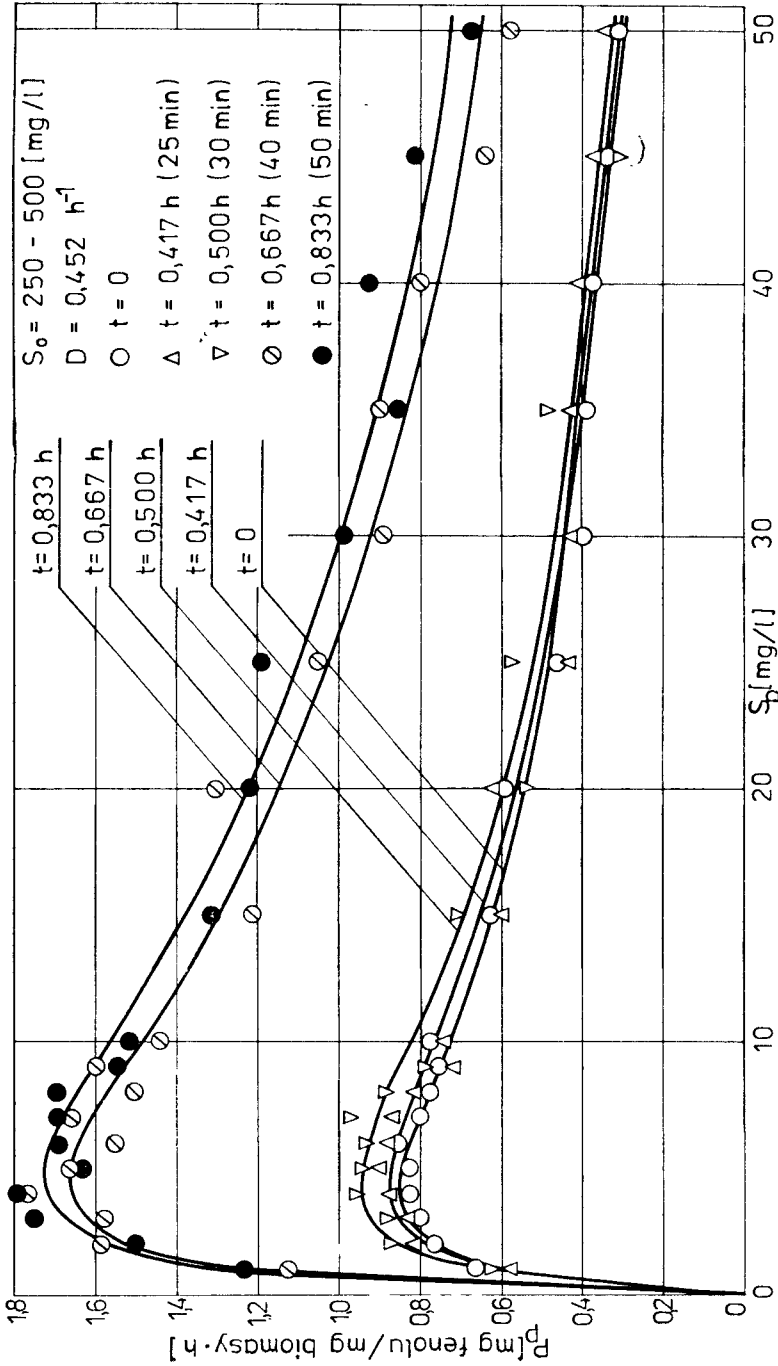


Rys. XIII Zależność doświadczalnej wartości szybkości właściwej pobierania fenolu  $P_p$  od stężenia  $S_p$  liniami ciągłymi zaznaczono wartości  $P_p$  obliczone według równania (78), po wykorzystaniu w nim wartości  $P_{max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  wyznaczonych na podstawie zmierzonych  $P_p$

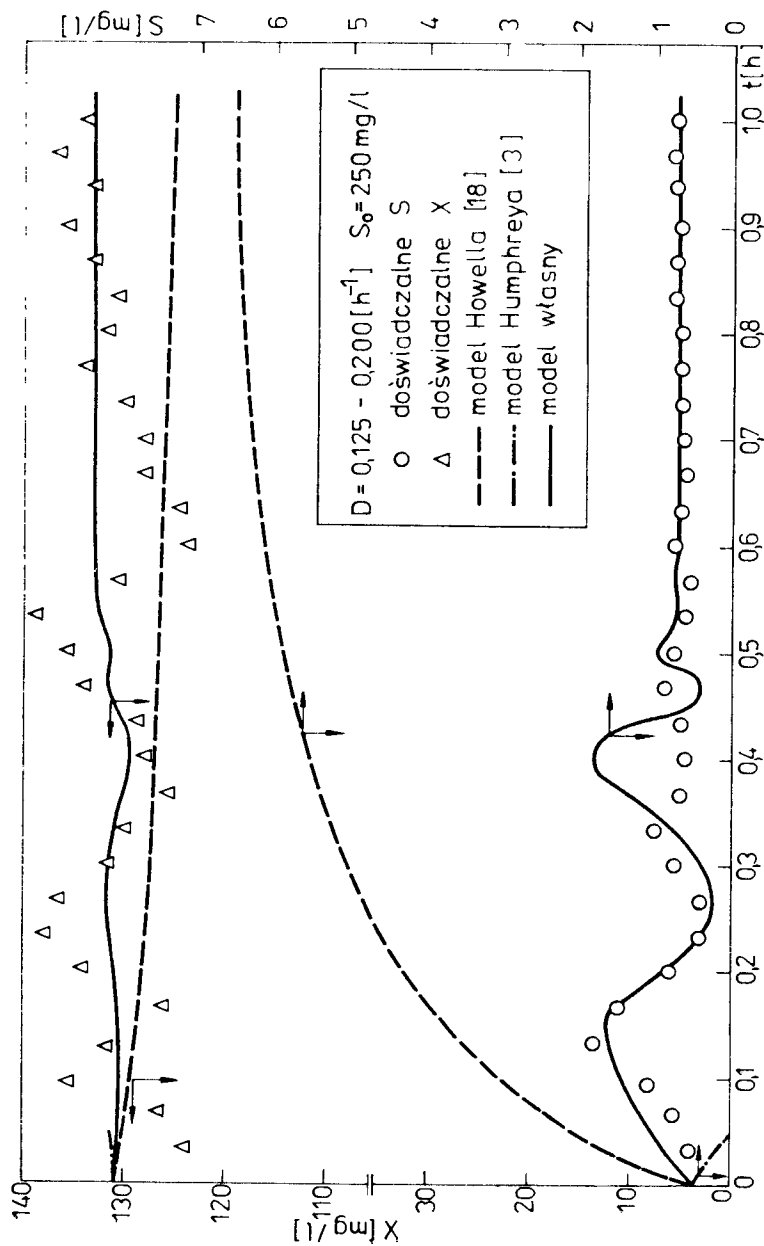




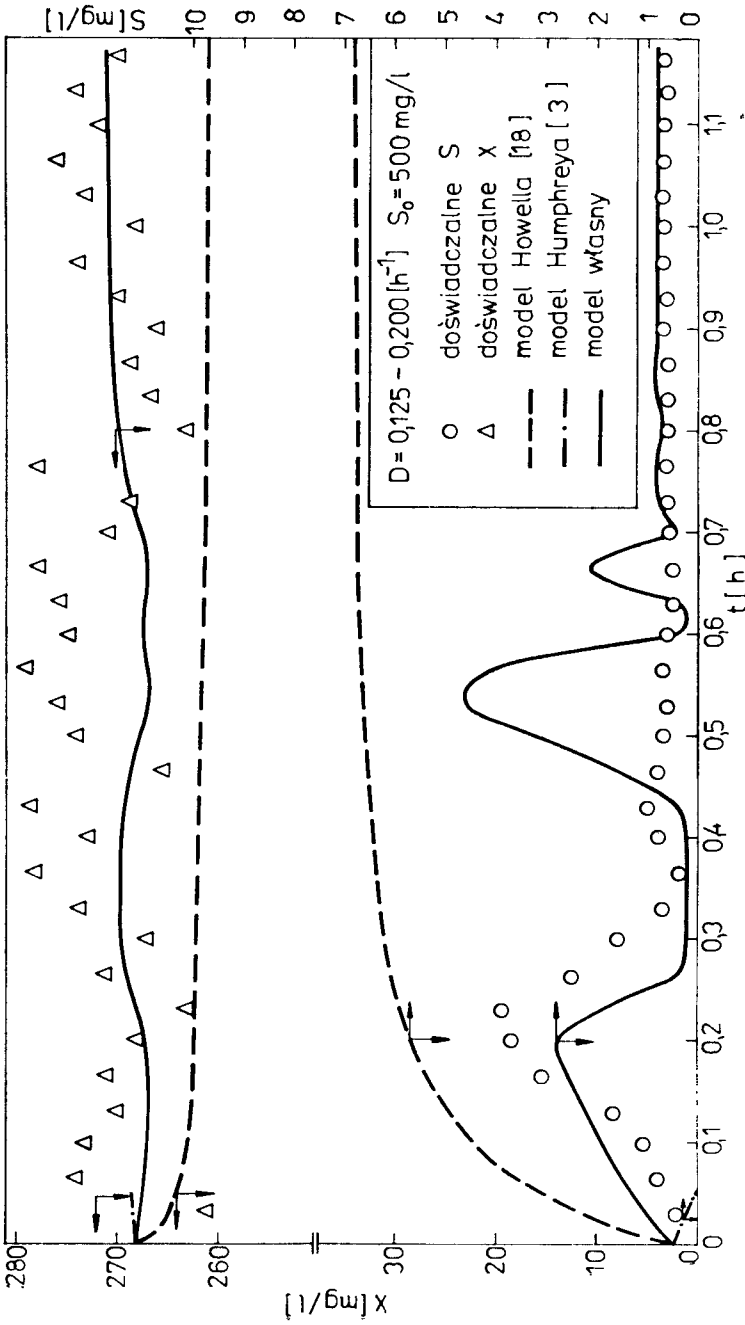
Rys. XIV Zależność doświadczalnych wartości szybkości wzięcia fenu od stężenia  $S_p$   
 Liniami ciągłymi zaznaczono wartości  $P_p$  obliczone według równania (78), po wykorzystaniu  
 w nim wartości  $P_{\max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  wyznaczonych na podstawie zmierzonych  $P_p$



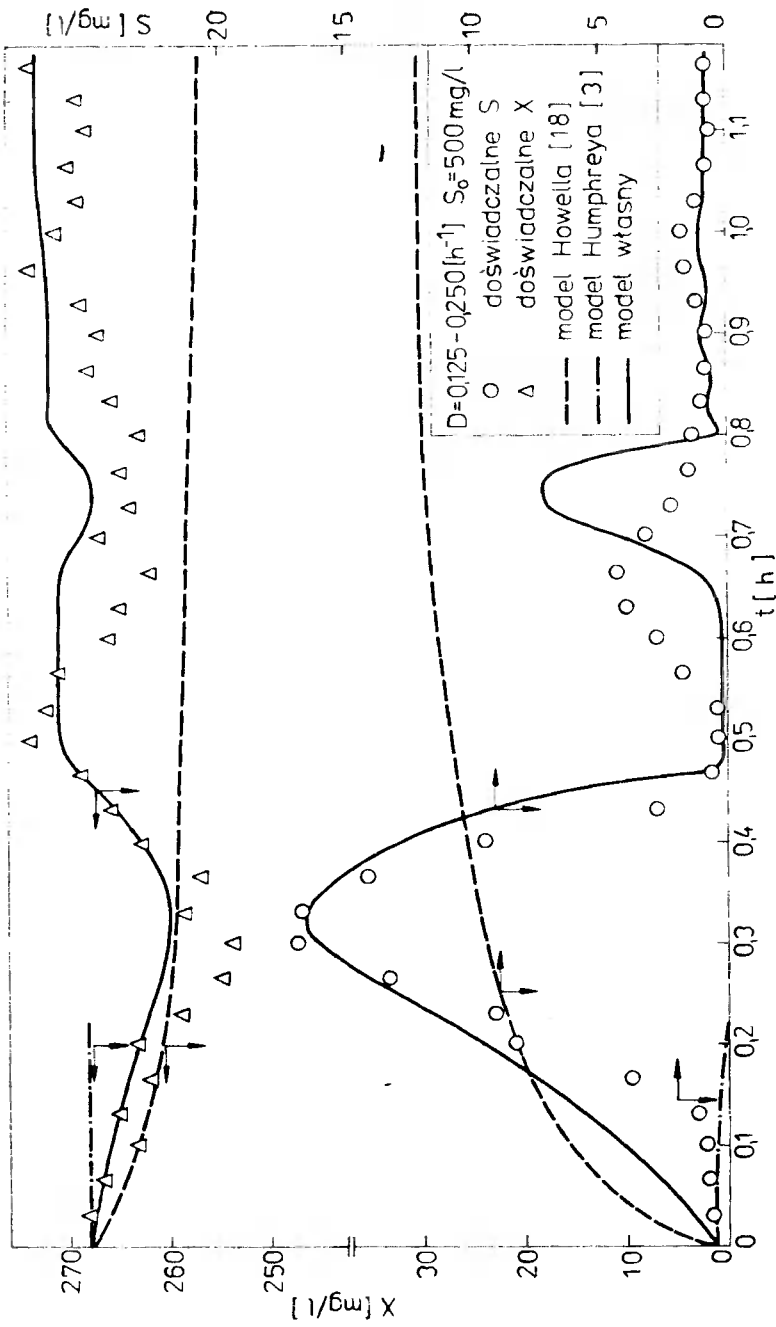
Rys. XV Zależność doświadczalnej wartości szybkości właściwej pobierania fenolu  $P_p$  od stężenia  $S_p$ .  
 Liniami ciągłymi zaznaczono wartości  $P_p$  obliczone według równania (78), po wykorzystaniu  
 w nim wartości  $P_{max}$ ,  $K_S$  i  $K_I$  wyznaczonych na podstawie zmierzonych  $P_p$



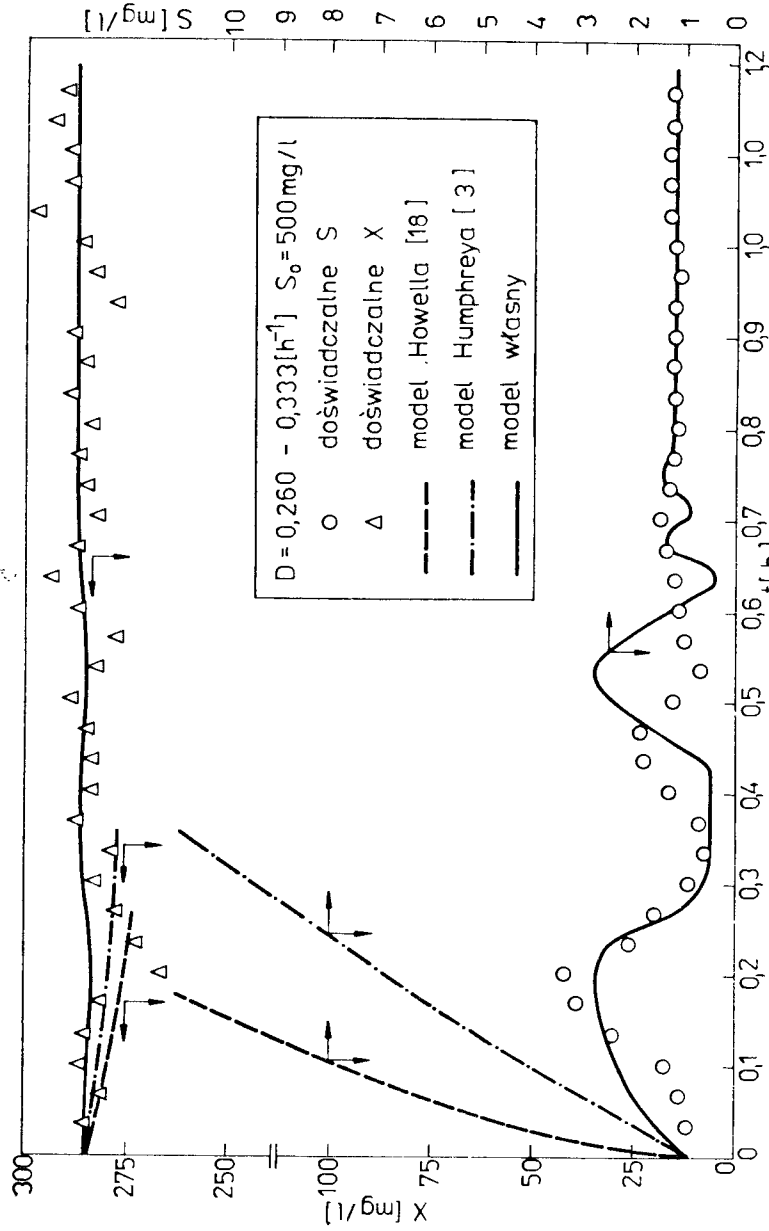
Rys. XVI Porównanie stężeń fenolu S i biomasy X zmierzonych oraz obliczonych według własnych równań (92) (93) (106) (107), a także zależności (1) (2) (108) i (1) (2) (109) innych autorów [3,18]



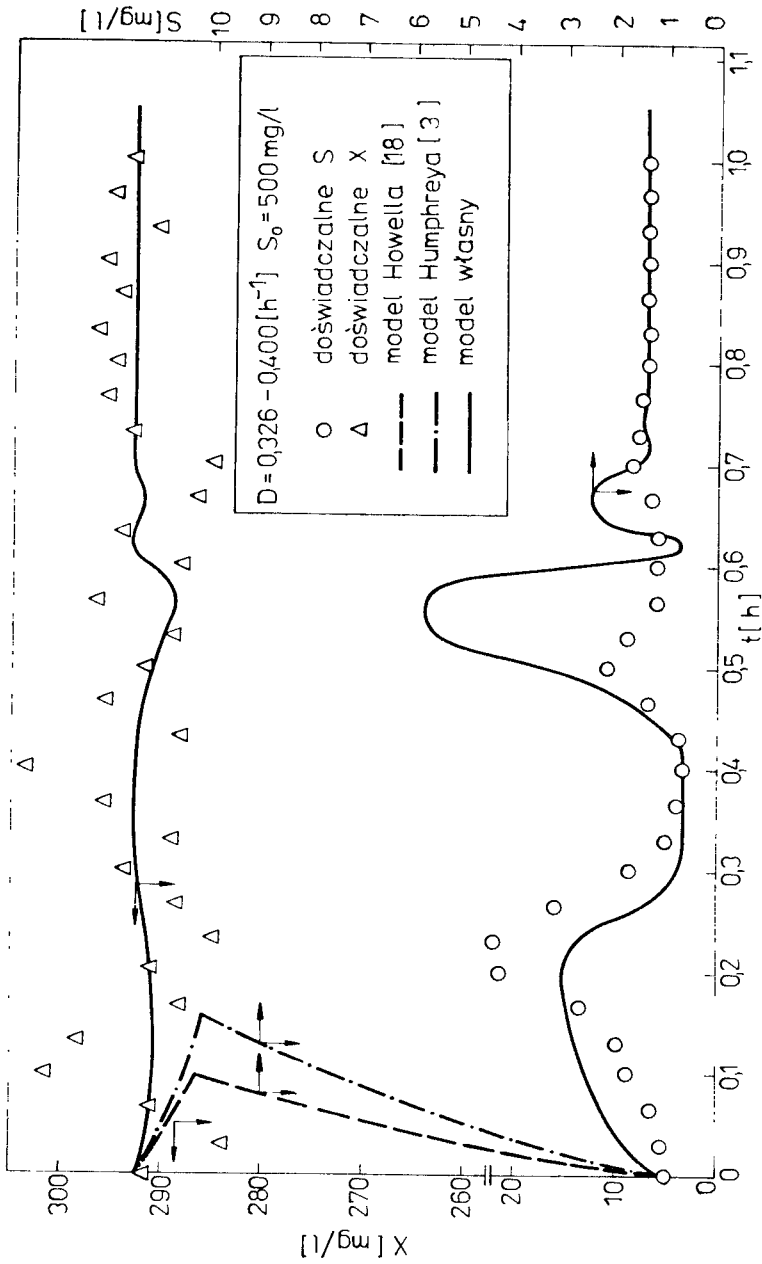
Rys. XVII Porównanie stężeń fenolu S i biomasy X zmierzonych oraz obliczonych według własnych równań (92) (93) (106) (107), a także zależności (1) (2) (108) i (1) (2) (109) innych autorów [3, 18]



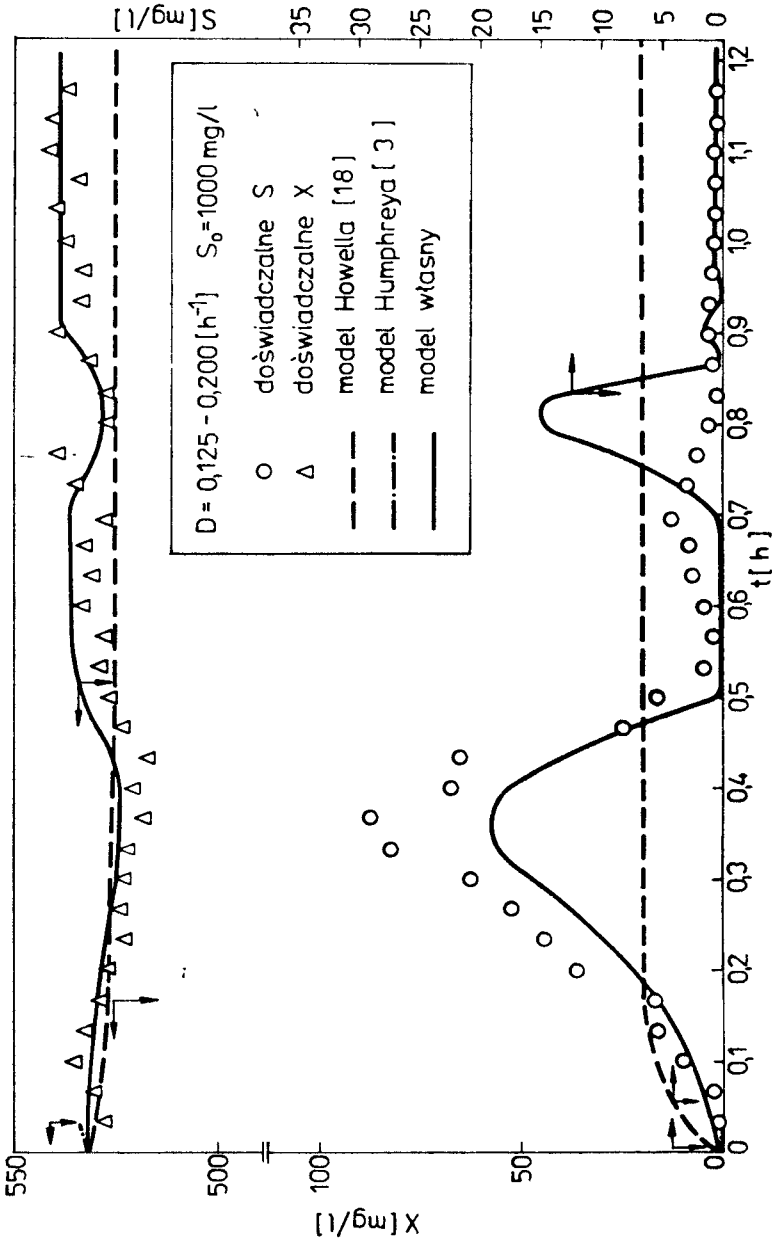
Rys. XVIII Porównanie stężeń fenolu  $X$  i biomasy  $S$  zmierzonych oraz obliczonych według własnych równań (92) (93) (106) (107), a także zależności (1) (2) (108) i (1) (2) (109) innych autorów [3,18]



Rys. XIX Porównanie stężenia fenolu S i biomasy X zmierzonych oraz obliczonych według własnych równań (92) (93) (106) (107), a także zależności (1) (2) (108) i (1) (2) (109) innych autorów [3,18]

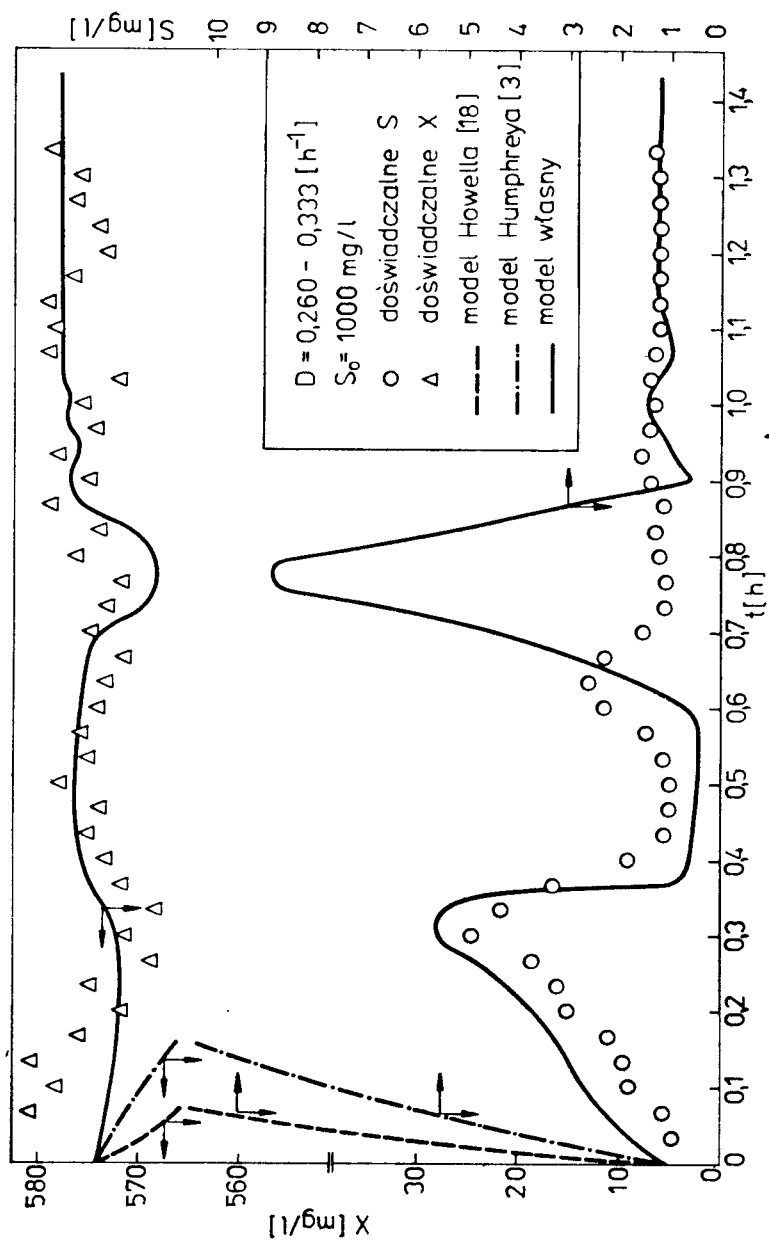


Rys. XX Porównanie stężenia fenolu S i biomasy X zmierzonych oraz obliczonych według własnych równań (92) (93) (106) (107), a także zależności (1) (2) (108) i (1) (2) (109) innych autorów [3, 18]

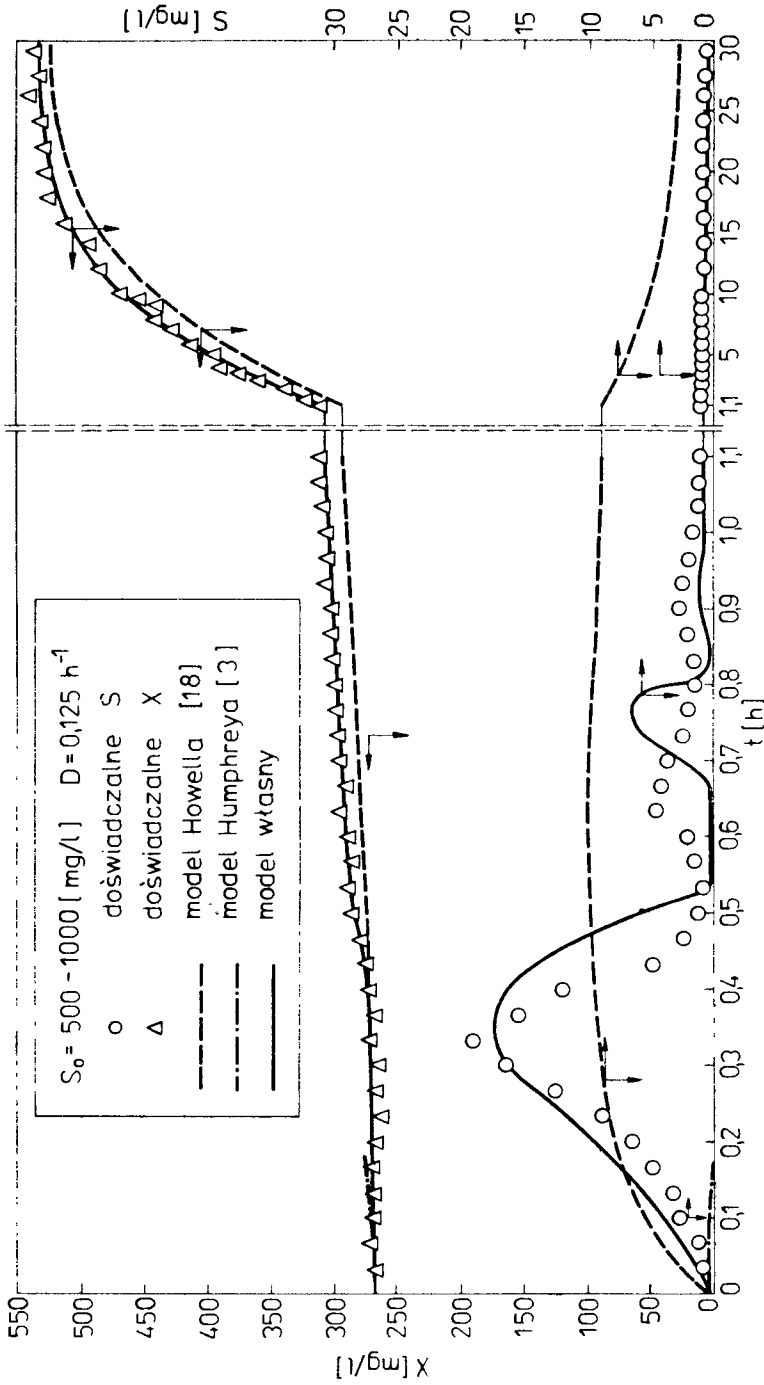


Rys. XXI Porównanie stężenia fenolu S i biomasy X zmierzonych oraz obliczonych według własnych równań (92) (93) (106) (107), a także zależności (1) (2) (108) i (1) (2) (109) innych autorów [3, 18]

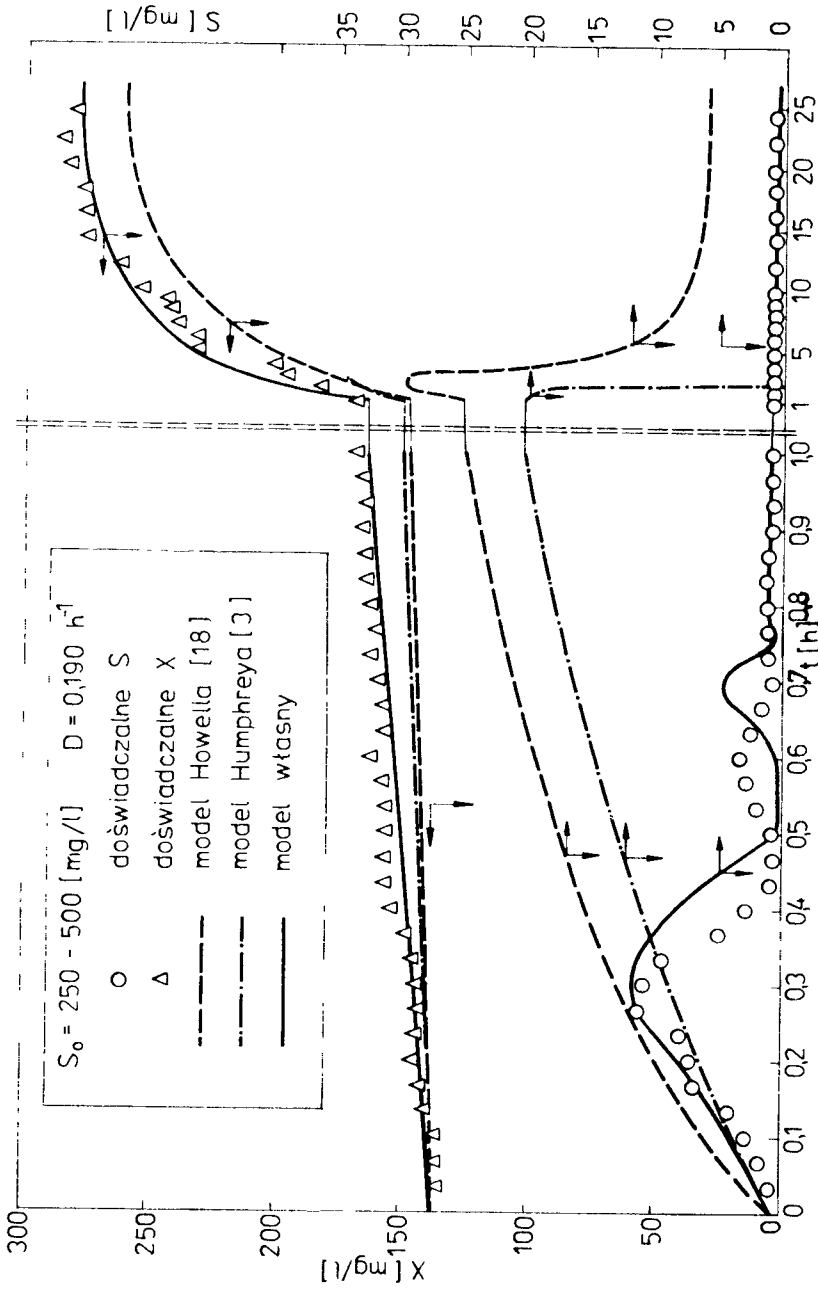




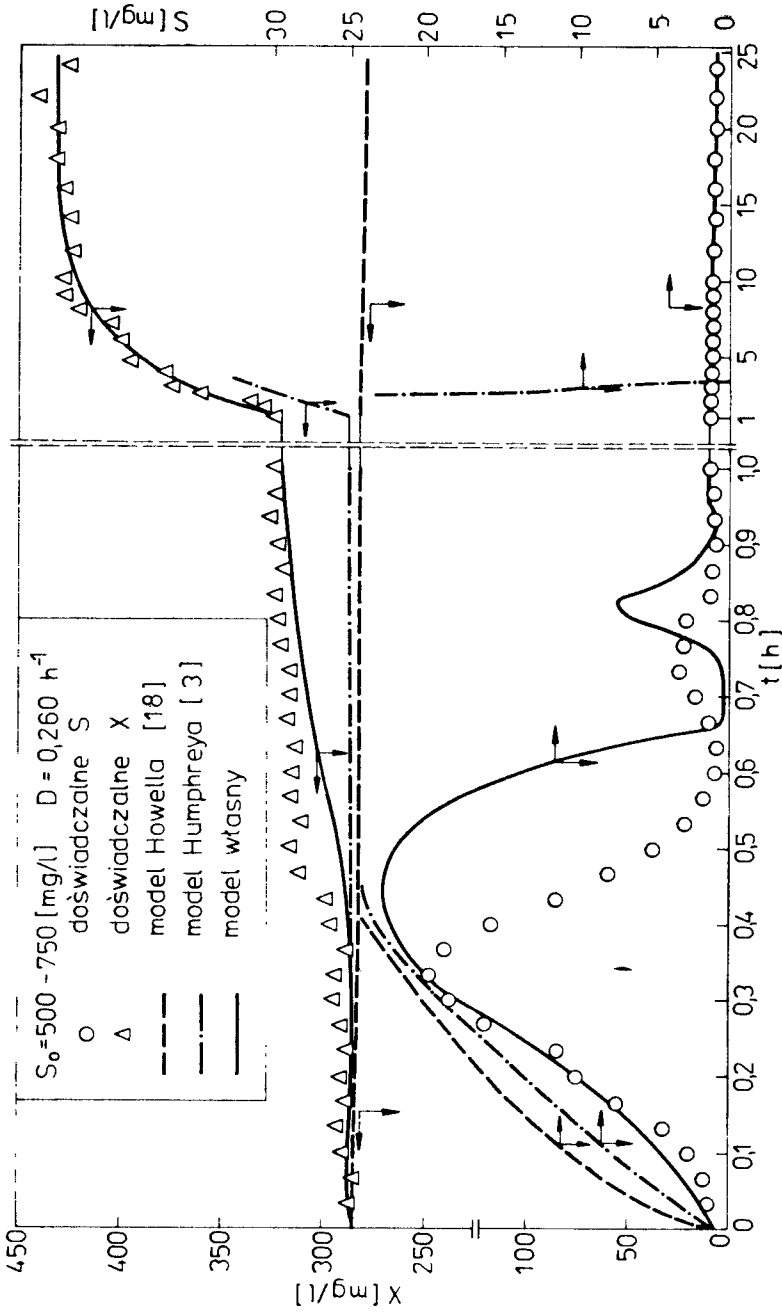
Rys. XXII Porównanie stężeń fenolu S i biomasy X zmierzonych oraz obliczonych według własnych równań (92) (93) (106) (107), a także zależności (1) (2) (108) i (1) (2) (109) innych autorów [3,18]



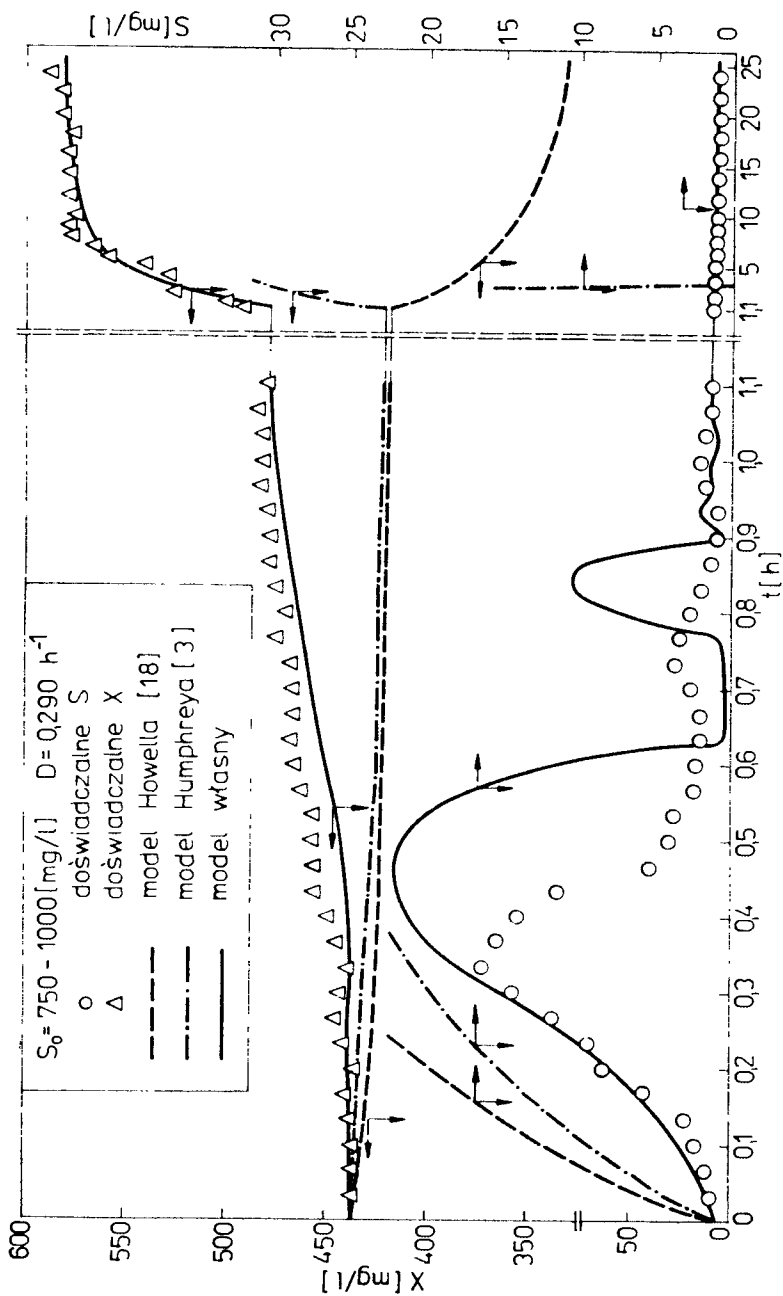
Rys. XXIII Porównanie stężeń fenolu  $S$  i biomasy  $X$  zmierzonych oraz obliczonych według własnych równań (92) (93) (106) (107), a także zależności (1) (2) (108) i (1) (2) (109) innych autorów [3,18]



Rys. XXIV Porównanie stężenia fenolu X i biomasy X zmierzonych oraz obliczonych według własnych równań (92) (93) (106) (107), a także zależności (1) (2) (108) i (1) (2) (109) innych autorów [5,18]



Rys. XXV Porównanie stężenia fenolu S i biomasy X zmierzonych oraz obliczonych według własnych równań (92) (93) (106) (107), a także zależności (1) (2) (108) i (1) (2) (109) innych autorów [3,18]



Rys. XXVI Porównanie stężeń fenolu S i biomasy X zmierzonych oraz obliczonych według własnych równań (92) (93) (106) (107), a także zależności (1) (2) (108) i (1) (2) (109) innych autorów [3, 18]



**Biblioteka Główna ATR  
w Bydgoszczy**

**60536**