

UNIVERZITET U BEOGRADU
TEHNOLOŠKO – METALURŠKI FAKULTET

Danijela S. Slavnić

DINAMIKA STRUJANJA TEČNOSTI I
ČESTICA U REAKTORIMA SA
OSCILATORNIM TOKOM I PRIMENA NA
BIOHEMIJSKU REAKCIJU UZ
UPOTREBU IMOBILISANIH ENZIMA

doktorska disertacija

Beograd, 2020.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY

Danijela S. Slavnić

DYNAMICS OF LIQUID AND SOLIDS
FLOW IN OSCILLATORY FLOW
REACTORS AND APPLICATION TO
BIOCHEMICAL REACTION WITH
IMMOBILIZED ENZYMES

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2020.

Mentor:

Dr Nikola Nikačević, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko – metalurški fakultet

Komisija:

Dr Dejan Bezbradica, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko – metalurški fakultet

Dr Branko Bugarski, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko – metalurški fakultet

Dr Mihal Đuriš, naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu, Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju

Doktorand:

Danijela S. Slavnić, dipl.inž.tehnol.

Datum odbrane doktorske disertacije: _____

Zahvalnica

Zahvaljujem se mentoru, Prof. dr Nikoli Nikačeviću, na ukazanom poverenju, podršci, vremenu i nesebičnoj pomoći. Posebno se zahvaljujem na razumevanju i bezgraničnom strpljenju tokom mog rada na ovoj disertaciji, ali i na tome što me je naučio kako da pristupim izazovima i problemima. Njegovi komentari i sugestije bili su veoma važni kako za osmišljavanje i realizaciju ideja, tako i u samom pisanju ove disertacije.

Prof. dr Branku Bugarskom se zahvaljujem na nesebičnoj podršci i savetima tokom izrade doktorske disertacije.

Zahvaljujem se Prof. dr Dejanu Bezbradici na nesebičnoj pomoći, savetima, komentarima i sugestijama koje su značajno doprinele kvalitetu i finalnoj formi disertacije.

Zahvaljujem se dr Mihalu Đurišu, naučnom saradniku Instituta za hemiju, tehnologiju i metalurgiju koji je sugestijama i komentarima pomogao da ovaj rad bude bolji.

Dr Milici Carević, naučnom saradniku Tehnološko – metalurškog fakulteta se zahvaljujem na nesebičnoj pomoći tokom izvođenja eksperimenata, savetima i sugestijama.

Zahvaljujem se svim studentima koji su radili svoje završne, master i diplomske radove, a koji su proistekli iz ove disertacije, na nesebičnom radu i trudu u toku izvođenja eksperimenata.

Hvala svim prijateljima koji su me sve ovo vreme bodrili, slušali i podržavali.

I na kraju, zahvaljujem se svojoj porodici koja je uvek tu za mene, koja mi daje snagu, koja me bodri i podržava.

DINAMIKA STRUJANJA TEČNOSTI I ČESTICA U REAKTORIMA SA OSCILATORNIM TOKOM I PRIMENA NA BIOHEMIJSKU REAKCIJU UZ UPOTREBU IMOBILISANIH ENZIMA

SAŽETAK

Disertacija obuhvata eksperimentalno i teorijsko istraživanje osnovnih fluido – dinamičkih karakteristika kontinualnih jednofaznih i višefaznih reaktora sa oscilatornim tokom fluida (ROT). Pored ispitivanja dinamike strujanja tečnosti i čestica, u okviru ove teze ispitivana je i mogućnost primene ROT na reakciju sinteze galaktooligosaharida (GOS) pomoću slobodnih i imobilisanih enzima.

U prvom poglavlju dat je detaljan pregled dosadašnjih istraživanja koja se odnose na reaktore sa oscilatornim tokom fluida. Prikazane su karakteristike, prednosti i nedostaci ROT predstavljeni u literaturi. Posebno su prikazani i rezultati istraživanja potencijalne industrijske primene ovog tipa uređaja.

U drugom poglavlju „Dinamika strujanja tečnosti u ROT“ prikazani su rezultati eksperimentalnog ispitivanja strujanja, tj. raspodele starosti tečnosti na izlazu, u dva geometrijski slična reaktora sa oscilatornim tokom fluida dužine 2 m i unutrašnjeg prečnika 44 i 26 mm. Primenjena je metoda praćenja odziva sistema na impulsnu promenu obeležene supstance čija koncentracija je merena u vremenu pomoću spektrofotometra. Na osnovu eksperimentalnih rezultata utvrđen je uticaj operativnih parametara (frekvencija, amplituda i protok peristaltičke pumpe) na raspodelu starosti tečnosti na izlazu iz ispitivanih reaktora sa oscilatornim tokom fluida. Primenom modela klipnog strujanja sa aksijalnom disperzijom, a na osnovu eksperimentalnih rezultata razvijena je matematička korelacija koja povezuje bezdimenzioni Pekleov broj sa bezdimenzionim brojevima koji opisuju oscilatorni tok tečnosti u reaktorima: oscilatorni Rejnoldsov broj, Strauhalov broj i odnos oscilatornog i Rejnoldsovog broja neto protoka. Razvijena korelacija je pored eksperimentalnih vrednosti ove disertacije verifikovana i uz pomoć eksperimentalnih rezultata dostupnih u literaturi.

U trećem poglavlju „Dinamika strujanja čestica“ prikazani su rezultati eksperimentalnog i teorijskog istraživanja načina proticanja čestica u kontinualnom reaktoru sa oscilatornim tokom fluida (unutrašnjeg prečnika 26 mm) u koji se čestice uvode kontinualno. Primenom metode praćenja odziva sistema na stepenastu promenu obeleženih čestica utvrđen je uticaj operativnih parametara – frekvencije, amplitude i

koncentracije čestica na ulazu u reaktor, na kumulativnu krivu vremena zadržavanja čestica u reaktoru. Kako bi se odredila koncentracija obeleženih (obojenih) čestica, fotografije uzoraka su analizirane u programskom paketu ImageJ. Pored toga, ispitan je i kvantifikovan uticaj operativnih parametara na način proticanja čestica i stešneno taloženje, srednje vreme zadržavanja kao i na udeo (zadržanih) čestica u reaktoru. Teorijski i eksperimentalno su utvrđeni kriterijumi za određivanje 4 režima proticanja čestica: puzajući režim strujanja čestica, zgušnjeno strujanje čestica, razblaženi tok čestica i odnošenje čestica.

U četvrtom poglavlju „Reakcija transgalaktozilacije u ROT“ prikazani su eksperimentalni i numerički rezultati istraživanja reakcije sinteze galaktoologosaharida (GOS) u reakcija transgalaktozilacije u rastvoru laktoze, u kontinualnom reaktoru sa oscilatornim tokom pomoću enzima β – galaktozidaza iz *Aspergillus oryzae*. Ispitivana je reakcija sa enzimima u slobodnoj formi i sa enzimima koji su imobilisani na česticama jonoizmenjivačke smole. Enzimi su uvođeni u reaktor kontinualno, a uzorci su uzimani u određenim vremenskim intervalima. Uzeti uzorci analizirani su tehnikom tačne hromatografije (HPLC). Eksperimentalni rezultati reakcije sinteze u ROT su upoređeni sa rezultatima ostvarenim u šaržnom reaktoru i u pneumatskom reaktoru sa spoljašnjom recirkulacijom (za reakciju sa imobilisanim enzimima).

Na osnovu eksperimentalnih rezultata za šaržni reaktor sa slobodnim i sa imobilisanim enzimima i pretpostavljenog mehanizma reakcije određene su konstante brzina reakcija. Pored toga, postavljeni su i dinamički modeli kojima se opisuje sinteza GOS u ROT, kako sa slobodnim enzimima, tako i sa imobilisanim enzimima. Matematički modeli su zasnovani na modelu klipnog strujanja sa aksijalnom disperzijom (određenog u ovoj tezi) i postavljenom kinetičkom modelu. Eksperimentalni rezultati su upoređeni sa rezultatima modela ROT i šaržnog reaktora. Istraživanja su potvrdila mogućnost kontinualne proizvodnje i intenzifikacije sinteze GOS u višefaznim reaktorima sa oscilatornim tokom fluida.

U poglavlju „Zaključci“ su dati zaključci izvedeni na osnovu istraživanja koja su prikazana u pojedinačnim poglavljima. Osim toga, u ovom poglavlju date su i praktične preporuke za podešavanje radnih uslova u cilju postizanja poželjnog načina kretanja tečnosti i čestica kroz reaktor sa oscilatornim tokom fluida, a na osnovu rezultata

prikazanih u poglavljima ove disertacije i rezultata istraživanja drugih autora prikazanih u literaturi.

Ključne reči: reaktori sa oscilatornim tokom fluida, intenzifikacija procesa, klipno strujanje, režimi kretanja čestica, reakcija transgalaktozilacije, kinetički modeli, modeli reaktora

Naučna oblast: Tehnološko inženjerstvo

Uža naučna oblast: Hemijsko inženjerstvo

UDK:

DYNAMICS OF LIQUID AND SOLIDS FLOW IN OSCILLATORY FLOW
REACTORS AND APPLICATION TO BIOCHEMICAL REACTION WITH
IMMOBILIZED ENZYMES

ABSTRACT

The dissertation presents experimental and theoretical investigation of the main fluid dynamic characteristics of continuous single – phase and multiphase fluid flow in continuous oscillatory flow reactors (COFR). In addition, the possibility of COFR application to reaction of galactooligosaccharides (GOS) synthesis with free – flow and immobilized enzymes was studied within this thesis.

The first chapter provides a detailed overview of the research related to oscillatory flow reactors (OFR). Further, the characteristics, advantages and disadvantages of OFR presented in the literature are discussed. In addition, the possibilities of industrial application for this type of device are presented.

In the second chapter "Dynamics of fluid flow in the OFR", the results of experimental investigation of the liquid residence time distribution (RTD) in two geometrically similar reactors with oscillatory flow of liquid are presented.. Reactors were 2 m in length and with internal diameter of 44 and 26 mm. The impulse response method with a tracer was applied. The concentration of the tracer in the samples was determined by measuring the absorbance using a spectrophotometer. The influence of operating parameters (frequency, amplitude and flow rate of the peristaltic pump) on the RTD in the reactors was determined. Using a plug flow with axial dispersion model and experimental results, an empirical correlation was derived. Developed correlation relates the dimensionless Peclet number to dimensionless numbers describing the oscillatory fluid flow in the reactors: oscillatory Reynolds number, Strauhal number and ratio of oscillatory and net Reynolds number. In addition to the experimental results of this dissertation, the correlation was verified using experimental results from the literature.

The third chapter "Dynamics of solids flow in the OFR" presents the results of experimental and theoretical investigation of the liquid – solids flow in continuous oscillatory flow reactor (internal diameter of 26 mm) into which the solids are introduced continuously. The influence of operating parameters – frequency, amplitude and concentration of solids at the inlet of the reactor, on solids cumulative residence

time curve (F) in the reactor was determined using the step response method with a tracer (solids of a different color). In order to determine concentration of tracer, the photos of samples were analysed using the ImageJ software. In addition, the influence of operating parameters on the solids flow regime, hindered particle settling, mean residence time as well as solids holdup in the reactor was examined and quantified. Four solids flow regimes were identified theoretically and experimentally: creeping solids flow, dense solids flow, dilute solids flow and solids washout.

In the fourth chapter "Reaction of transgalactosylation in OFR" the experimental and numerical results of investigation of galactooligosaccharides (GOS) synthesis in lactose solution using the enzyme β – galactosidase from *Aspergillus oryzae*, in continuous oscillatory flow reactor are elaborated. The reactions both with free flowing and immobilized enzymes on the ion exchange resin particles were investigated. Enzymes were introduced into the reactor continuously and samples were taken at certain intervals of time. Samples were analysed by liquid chromatography (HPLC). The experimental results in the COFR were compared with those obtained in the batch reactor and in the pneumatic reactor with external recirculation (for reaction with immobilized enzymes).

Based on the experimental results for batch reactor with free – flow and immobilized enzymes and assumed reaction mechanism, reaction rate constants were determined. In addition, dynamic models have been developed to describe the OFR system for GOS synthesis, with both free enzymes and immobilized enzymes. The mathematical models are based on the plug flow with axial dispersion model (derived in this thesis) and developed kinetics model. Results of simulations were compared to the experimental ones obtained in the OFR and batch reactor. Research have confirmed the possibility of continuous production and intensification of GOS synthesis using OFR.

The chapter „Conclusions“ summarizes the findings of the research presented in the previous chapters. Furthermore, this chapter provides practical recommendations for selection of operating conditions to achieve a desirable liquid and solids motion through the OFR, based on the results presented in the this dissertation and the results of other authors presented in the literature.

Key words: oscillatory flow reactors, process intensification, plug flow, solids flow regime, reaction of transgalactosylation, kinetic models, reactor models

Scientific field: Technological Engineering

Scientific subfield: Chemical Engineering

UDC number:

SADRŽAJ

1. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA	2
1.1 UVOD - OSNOVNE KARAKTERISTIKE REAKTORA SA OSCILATORNIM TOKOM FLUIDA.....	3
1.2 ISTORIJSKI RAZVOJ REAKTORA SA OSCILATORNIM TOKOM	10
1.3 OSNOVNI KRITERIJUMI ZA PROJEKTOVANJE REAKTORA SA OSCILATORNIM TOKOM.....	11
1.4 POBOLJŠANJE PRENOSA MASE U ROT	15
1.5 POBOLJŠANJE PRENOSA TOPLOTE U ROT	18
1.6 SMANJENJE BRZINE SMICANJA U ROT	23
1.7 RASPODELA VREMENA ZADRŽAVANJA U ROT	26
1.8 PRIMERI INTENZIFIKACIJE PROCESA PRIMENOM ROT	33
1.9 NEDOSTACI REAKTORA SA OSCILATORNIM TOKOM FLUIDA	38
2. DINAMIKA STRUJANJA TEČNOSTI U ROT	42
2.1 UVOD.....	42
2.2 EKSPERIMENTALNI DEO	43
2.3 MATEMATIČKI MODEL PROTICANJA I KORELACIJA PEKLEOVOG BROJA.....	49
2.4 REZULTATI I DISKUSIJA	53
2.5 ZAKLJUČCI	65
3. DINAMIKA STRUJANJA ČESTICA U ROT	69
3.1 UVOD.....	69
3.2 EKSPERIMENTALNI DEO	72
3.3 REZULTATI I DISKUSIJA	78
3.4 ZAKLJUČCI	98
4. REAKCIJA TRANSGALAKTOZILACIJE U ROT.....	104
4.1 SINTEZA GALAKTOOLIGOSAHARIDA.....	105
4.2 KINETIKA REAKCIJE SINTEZE GALAKTOOLIGOSAHARIDA IZ LAKTOZE	114
4.3 REAKCIJA SINTEZE GALAKTOOLIGOSAHARIDA U ROT POMOĆU SLOBODNIH ENZIMA.....	133
4.4 REAKCIJA SINTEZE GALAKTOOLIGOSAHARIDA U ROT POMOĆU IMOBILISANIH ENZIMA	145

4.5 ZAKLJUČCI	176
ZAKLJUČCI	181
LITERATURA	185
PRILOZI.....	199
BIOGRAFIJA.....	204
Izjava o autorstvu.....	205
Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada.....	206
Izjava o korišćenju	207
OCENA IZVEŠTAJA O PROVERI ORIGINALNOSTI DOKTORSKE DISERTACIJE	209

Spisak tabela

<i>Tabela 1.1.1. Prednosti reaktora sa oscilatornim tokom u odnosu na konvencionalne šaržne i kontinualne reaktore [1, 11]</i>	<i>9</i>
<i>Tabela 1.6.1. Srednja brzina smicanja u posudi sa mehaničkim mešanjem i u koloni sa oscilatornim tokom [20].....</i>	<i>24</i>
<i>Tabela 1.6.2. Srednja brzina smicanja u OBR i STR [45]</i>	<i>25</i>
<i>Tabela 2.2.1. Geometrijske karakteristike ROT1 i ROT2</i>	<i>45</i>
<i>Tabela 3.3.1. Režimi strujanja čestica</i>	<i>83</i>
<i>Tabela 3.3.2. Operativni uslovi i rezultati eksperimenata</i>	<i>84</i>
<i>Tabela 4.1.1. Sinteza GOS u različitim tipovima reaktora</i>	<i>109</i>
<i>Tabela 4.2.1. Konstante brzine reakcije transgalaktozilacije sa slobodnim i imobilisanim enzimima.....</i>	<i>124</i>
<i>Tabela 4.3.1. Granični uslovi.....</i>	<i>138</i>
<i>Tabela 4.3.2. Operativni uslovi u eksperimentima sa slobodnim enzimima</i>	<i>139</i>
<i>Tabela 4.3.3. Koncentracije GOS i glukoze u ROT i u šaržnom reaktoru za isto vreme kontakta.....</i>	<i>142</i>
<i>Tabela 4.3.4. Koncentracije GOS i glukoze u ROT i u šaržnom reaktoru za isto vreme kontakta</i>	<i>143</i>

<i>Tabela 4.4.1. Karakteristike rastvora laktoze i čestica jonoizmenjivačke smole</i>	148
<i>Tabela 4.4.2. Operativni uslovi u eksperimentima</i>	150
<i>Tabela 4.4.3. Zapreminski udeo čestica u reaktoru u zavisnosti od vremena</i>	151
<i>Tabela 4.4.4. Srednje vreme zadržavanja tečnosti i čestica</i>	152
<i>Tabela 4.4.5. Operativni uslovi eksperimenata</i>	158
<i>Tabela 4.4.6. Granični uslovi</i>	161
<i>Tabela 4.4.7. Koncentracija GOS na izlazu iz ROT nakon uspostavljanja stacionarnog stanja</i>	166
<i>Tabela A. 1. Operativni uslovi za eksperimente izvedene u ROT1 (Dinamika strujanja tečnosti)</i>	199
<i>Tabela A. 2. Operativni uslovi za eksperimente izvedene u ROT2 (Dinamika strujanja tečnosti)</i>	202
Spisak slika	
<i>Slika 1.1.1. Reaktor sa oscilatornim tokom fluida. Modifikovano iz ref. [6].</i>	5
<i>Slika 1.1.2. Primer generisanja oscilacija u ROT. Preuzeto iz ref. [10].</i>	5
<i>Slika 1.1.3. Mehanizam mešanja pomoću oscilatornog toka. Modifikovano iz ref. [15].</i>	7
<i>Slika 1.1.4. Intenzifikacija procesa proizvodnje sterola u reaktoru sa oscilatornim tokom. a) Konvencionalni šaržni proces; b) intenzifikovani proces u ROT. Preuzeto iz ref. [5]</i>	8
<i>Slika 1.4.1. Zapreminski koeficijent prenosa mase u reaktoru sa mehaničkim mešanjem (RMM – isprekidana linija) i u reaktoru sa oscilatornim tokom (ROT – puna linija) u zavisnosti od gustine energije. Modifikovano iz ref. [15]</i>	17
<i>Slika 1.5.1. Upoređivanje prenosa toplote u glatkim i cevima sa pregradama. a) Zavisnost Nu broja od Re_o za $Re_n = 130$; b) Zavisnost Nu od Re_n za $Re_o = 0$. Modifikovano iz ref. [23]</i>	19
<i>Slika 1.6.1. Srednja vrednost brzine smicanja u reaktoru sa oscilatornim tokom, $D = 50$ mm (ROT – puna linija) i reaktoru sa mehaničkim mešanjem zapremine 2 L (RMM – isprekidana linija). Modifikovano iz ref. [15]</i>	25

Slika 1.7.1. Koeficijent aksijalne disperzije u zavisnosti od vrednosti Re_o za $Re_n = 10, 19$ i 58 pri frekvencijama od: a) 2, b) 6, c) 10 i d) 12 Hz. Modifikovano iz ref. [6].	28
Slika 1.7.2. Uticaj amplitude i frekvencije na raspodelu vremena zadržavanja za Re_n vrednosti: a) 95; b) 127; c) 190; d) 252. Modifikovano iz ref. [36].	29
Slika 2.2.1. Shematski prikaz korišćene aparature. FT1, 2 – napojni sudovi, MP – membranska pumpa, PP – peristaltička pumpa, DP – damper posuda, PS – prihvatna posuda, SP1,2 – mesta uzorkovanja, VC – venturi cev i IP – mesto injektovanja OS.	44
Slika 2.2.2. Kalibraciona prava za jedan od izvedenih eksperimenata u ROT2.	48
Slika 2.4.1. Profil RSF u različitim ROT i pri različitim operativnim uslovima: a) $f=1,0$ Hz, $x_0=3,36$ mm, $Q_s=7,8$ Lh ⁻¹ , $Q_o=24,5$ Lh ⁻¹ , $Re_n=259$, $Re_o=924$, $Str=1,04$, $\psi=3,57$ za ROT1 b) $f=1,83$ Hz, $x_0=5,18$ mm, $Q_s=15,3$ Lh ⁻¹ , $Q_o=24,5$ Lh ⁻¹ , $Re_n=535$, $Re_o=1545$, $Str=0,4$, $\psi=2,89$ za ROT2.	54
Slika 2.4.2. Uticaj prečnika reaktora na RSF za slične vrednosti Re_o broja pri operativnim uslovima: a) ROT1 – $f=0,60$ Hz, $x_0=4,57$ mm, $Q_s=0$, $Q_o=20,0$ Lh ⁻¹ , $Re_o=376$ (puni simboli, plava boja) i ROT2 – $f=1,50$ Hz, $x_0=3,06$ mm, $Q_s=0$, $Q_o=11,7$ Lh ⁻¹ , $Re_o=374$ (otvoreni simboli, crvena boja) b) ROT1 – $f=1,67$ Hz, $x_0=4,47$ mm, $Q_s=0$, $Q_o=54,4$ Lh ⁻¹ , $Re_o=1025$ (puni simboli, plava boja) i ROT2 – $f=1,50$ Hz, $x_0=8,43$ mm, $Q_s=0$, $Q_o=32,2$ Lh ⁻¹ , $Re_o=1026$ (otvoreni simboli, crvena boja).	55
Slika 2.4.3. Poređenje RSF za oscilatorni i neoscilatorni tok u dva reaktora različitog unutrašnjeg prečnika pri operativnim ulovima koji su prikazani u legendi.	56
Slika 2.4.4. Uticaj operativnih parametara na RSF u ROT2 a) uticaj frekvencije pri konstantnom sekundarnom protoku i amplitudi, b) uticaj amplitude pri konstantnoj frekvenciji i protoku sekundarnog toka, c) uticaj amplitude pri konstantnom protoku oscilatornog i sekundarnog toka i d) uticaj sekundarnog toka pri konstantnoj frekvenciji i amplitudi.	57
Slika 2.4.5. Uticaj odnosa protoka oscilatornog i neoscilatornog toka na RSF u dva ROT različitog unutrašnjeg prečnika.	59
Slika 2.4.6. Poređenje modela i eksperimenata: a) $Re_n=332$, $Re_o= 1121$, $Str=1,43$ – ROT1; b) $Re_n=235$, $Re_o= 215$, $Str=2,24$ – ROT1; c) $Re_n=300$, $Re_o= 964$, $Str=0,17$ – ROT2 d) $Re_n=699$, $Re_o= 1532$, $Str=0,22$ – ROT2.	61

<i>Slika 2.4.7. Poređenje korelacije iz ove disertacije jednačina (2.3.6) sa najčešće korišćenom, Crittenden – ovom korelacijom (poglavlje I, jed. 1.7.6) za eksperimentalne rezultate dostupne u literaturi ($Re_o=40 - 1717$, $Str=0,36 - 6,1$, $\psi=1,20 - 4,71$). Srednja relativna greška je prikazana u legendi</i>	<i>62</i>
<i>Slika 2.4.8. Zavisnost Pe broja od operativnih uslova i bezdimenzionih brojeva za ROT1 (pune linije) i ROT2 (isprekidane linije) u opsegu eksperimentalnih uslova; izračunate vrednosti Pe brojeva su prikazane simbolima na grafiku (puni simboli za ROT1 i prazni simboli za ROT2): a) uticaj f pri konstantnim vrednostima x_0 i Q_s, b) uticaj x_0 pri konstantnim vrednostima f i Q_s, c) uticaj Re_o pri konstantnim vrednostima Q_s, d) uticaj Str pri konstantnim vrednostima f i ψ i e) uticaj ψ pri konstantnim vrednostima Str i Re_o</i>	<i>64</i>
<i>Slika 3.2.1. Shematski prikaz korišćene aparature. FT1 – napojni sud za vodu, FT2, 3 – napojni sudovi za suspenziju čestica, MP – membranska pumpa, PP – peristaltička pumpa, DP – damper posuda, PS – prihvatna posuda, SP1,2 – mesta uzorkovanja</i>	<i>73</i>
<i>Slika 3.2.2. Uvećan prikaz dela uzorka.....</i>	<i>76</i>
<i>Slika 3.2.3. Promene prilikom podešavanja praga vidljivosti parametra</i>	<i>77</i>
<i>Slika 3.3.1. Kumulativna kriva raspodele čestica (F – kriva) u ROT za različite udele čvrste faze u ulaznoj suspenziji i oscilatornim uslovima: a) $f=0,5$ Hz, $x_0=13,03$ mm (režim strujanja II), b) $f=2$ Hz, $x_0=3,02$ mm (režim strujanja II), c) $f=1$ Hz, $x_0=9,74$ mm (režim strujanja III) i d) $f=2$ Hz, $x_0=8,03$ mm (režim strujanja IV).....</i>	<i>86</i>
<i>Slika 3.3.2. Uticaj koncentracije čestica u ulaznoj suspenziji (ω) na aksijalnu disperziju čestica u ROT pri oscilatornim uslovima: a) $f=0,5$ Hz, $x_0=9,74$ mm b) $f=2$ Hz, $x_0=3,02$ mm, c) $f=1$ Hz, $x_0=9,74$ mm i d) $f=2$ Hz, $x_0=8,03$ mm</i>	<i>88</i>
<i>Slika 3.3.3. Uticaj frekvencije na F – krivu pri konstantnoj amplitudi i udelu čestica u ulaznoj suspenziji: a) $x_0 \approx 12,00$ mm i $\omega=30$ % v/v b) $x_0 \approx 8,50$ mm i $\omega=5$ % v/v, c) $x_0 \approx 9,34$ mm i $\omega=10$ % v/v i d) $x_0 \approx 9,34$ mm i $\omega=5$ % v/v</i>	<i>89</i>
<i>Slika 3.3.4. Uticaj amplitude na F – krivu pri konstantnoj vrednosti frekvencije i udelu čestica u ulaznoj suspenziji: a) $f=1$ Hz i $\omega=30$ % v/v, b) $f=2$ Hz i $\omega=5$ % v/v i c) $f=2$ Hz i $\omega=30$ % v/v.</i>	<i>90</i>
<i>Slika 3.3.5. Poređenje rezultata AD modela i eksperimenata pri različitim vrednostima operativnih parametara</i>	<i>93</i>

<i>Slika 3.3.6. Uticaj operativnih parametara a) frekvencije, b) amplitude i c) koncentracije čestica u ulaznoj suspenziji na Pe_s u ROT.....</i>	<i>94</i>
<i>Slika 4.1.1. Mehanizam reakcije konverzije laktoze u GOS pomoću β – galaktozidaze. Modifikovano iz ref. [100].....</i>	<i>106</i>
<i>Slika 4.2.1. Kinetika reakcije sinteze GOS iz ~20 % (mas.) rastvora laktoze pomoću slobodnih (SE, prazni simboli) i imobilisanih enzima (IE, puni simboli)</i>	<i>121</i>
<i>Slika 4.2.2. Slaganje rezultata modela (linije) sa eksperimentalnim vrednostima (tačke) za reakciju sa slobodnom enzimima: a) 4,5 % (mas.) rastvor laktoze, b)7 % (mas.) rastvor laktoze, c) 10 % (mas.) rastvor laktoze, d) 20 % (mas.) rastvor laktoze i e)40 % (mas.) rastvor laktoze. Kinetički parametri su određeni za 5 eksperimenta istovremeno</i>	<i>129</i>
<i>Slika 4.2.3. Slaganje rezultata modela (linije) sa eksperimentalnim vrednostima (tačke) za reakciju sa slobodnom enzimima: a) 4,5 % (mas.) rastvor laktoze, b)7 % (mas.) rastvor laktoze. Kinetički parametri su određeni za 2 eksperimenta istovremeno</i>	<i>131</i>
<i>Slika 4.2.4. Slaganje rezultata modela (linije) sa eksperimentalnim vrednostima (tačke) za reakciju transgalaktozilacije sa imobilisanim enzimima.....</i>	<i>132</i>
<i>Slika 4.2.5 Promene koncentracija enzima i intermedijera sa vremenom određene primenom modela</i>	<i>133</i>
<i>Slika 4.3.1. Shematski prikaz korišćene aparature. FT1 – napojni sud za rastvor laktoze, FT2 – napojni sud za rastvor enzima, WB –vodeno kupatilo, MP – membranska pumpa, PP – peristaltička pumpa, MS – magnetna mešalica, TP – termo par, T – termometar, DP – damper posuda, PP – prihvatna posuda, SP1,2 – mesta uzorkovanja</i>	<i>134</i>
<i>Slika 4.3.2. Promena koncentracije GOS u ROT sa vremenom pri različitim operativnim uslovima: a) uzorkovanje na mestu SP1 i b) uzorkovanje na mestu SP2</i>	<i>139</i>
<i>Slika 4.3.3. Poređenje koncentracije GOS postignute u ROT i u šaržnom reaktoru za isto kontaktno vreme</i>	<i>140</i>
<i>Slika 4.3.4. Poređenje modela (linije) sa eksperimentalnim vrednostima (simboli), kinetički parametri određeni za sve eksperimente: a) $f= 2$ Hz i $x_0= 1,94$ mm i b) $f= 1,5$ Hz i $x_0= 2,08$ mm</i>	<i>144</i>

<i>Slika 4.3.5. Poređenje modela (linije) sa eksperimentalnim vrednostima (simboli), kinetički parametri određeni za 2 eksperimenta: a) $f=2$ Hz i $x_0= 1,94$ mm i b) $f=1,5$ Hz i $x_0= 2,08$ mm</i>	144
<i>Slika 4.4.1. Shematski prikaz korišćene aparature. FT1 – napojni sud za obojeni rastvor laktoze, FT 2 – napojni sud za neobojeni rastvor laktoze, FT3 – napojni sud sa suspenzijom plavih čestica, FT4 – napojni sud sa suspenzijom belih čestica MP – membranska pumpa, PP – peristaltička pumpa, MS – mehanička mešalica, DP – damper posuda, PS – prihvatna posuda, SP1,2 – mesta uzorkovanja.....</i>	147
<i>Slika 4.4.2. F – krive koje odgovaraju uslovima $Q_o = 12,1$ Lh⁻¹, $x_0 = 9,50$ mm, SVZt=294 s i SVZč=439 s</i>	153
<i>Slika 4.4.3. F – krive za tečnu i čvrstu fazu u bezdimenzionom obliku za $Q_o= 12,1$ Lh⁻¹, $x_0= 9,50$ mm, SVZt=294 s i SVZč=439 s</i>	153
<i>Slika 4.4.4. Shematski prikaz korišćene aparature, FT1 – napojni sud za rastvor laktoze, FT3 – napojni sud za destilovanu vodu, FT2 – napojni sud za suspenziju imobilisanih enzima, WB – vodeno kupatilo, MP – membranska pumpa, PP – peristaltička pumpa, MS – magnetna mešalica, TP – termo par, T – termometar, DP – damper posuda, PS – prihvatna posuda, SP1,2 – mesta uzorkovanja</i>	155
<i>Slika 4.4.5. Promena koncentracija u reakciji sinteze GOS u vremenu: a) laktoze i b) proizvoda reakcije, pri operativnim uslovima: $f=0,5$ Hz, $x_0=9,50$ mm i $\beta=0,87$ %...</i>	163
<i>Slika 4.4.6. Poređenje bezdimenzione koncentracije GOS sa bezdimenzionim koncentracijama laktoze (tečnosti) i čestica u funkciji vremena, pri operativnim uslovima: $f=0,5$ Hz, $x_0=9,50$ mm i $\beta=0,87$ %.....</i>	164
<i>Slika 4.4.7. Koncentracija GOS na izlazu iz ROT pri različitim operativnim uslovima</i>	165
<i>Slika 4.4.8. Koncentracija GOS na ~60 % od ukupne dužine reaktora (SP1 – plava) i na izlazu iz reaktora (SP2 – crvena) pri operativnim uslovima: $f=0,5$ Hz, $x_0=9,50$ mm i $\beta=1,53$ %.....</i>	167
<i>Slika 4.4.9. Poređenje koncentracije GOS postignute u ROT sa koncentracijama u šaržnom reaktoru i šaržnom pneumatskom reaktoru sa spoljašnjom recirkulacijom ..</i>	168
<i>Slika 4.4.10. Poređenje koncentracije GOS na izlazu iz ROT sa koncentracijama u šaržnom i šaržnom pneumatskom reaktoru sa spoljašnjom recirkulacijom datim po zapreminskom udelu čestica</i>	170

<i>Slika 4.4.11. Aktivnost enzima u eksperimentima pri: $f=0,5$ Hz i $x_0=11,31$mm.....</i>	<i>171</i>
<i>Slika 4.4.12. Promena koncentracije učesnika reakcije sa vremenom – rezultat simulacije dinamičkog modela</i>	<i>172</i>
<i>Slika 4.4.13. Trodimenzionalni prikaz promene koncentracije galakto – oligosaharida u ROT</i>	<i>173</i>
<i>Slika 4.4.14. Udeo čvrste faze u zavisnosti od vremena na izlazu iz ROT.....</i>	<i>174</i>
<i>Slika 4.4.15. Slaganje modela sa eksperimentalnim vrednostima.....</i>	<i>175</i>

MOTIVACIJA I CILJEVI

Brz razvoj društva i ekonomije stavlja procesnu industriju pred različite izazove: proizvoditi kvalitetno sa što manjim energetske i materijalnim troškovima, uz smanjenu/minimalnu emisiju štetnih gasova, smanjenu količinu otpada i uz što bolju i jednostavniju kontrolu procesa. Jedan od načina unapređenja (intenzifikacije) procesa bila bi upotreba kontinualnih reaktora koji omogućavaju značajne operativne uštede i bolju kontrolu procesa umesto šaržnih reaktora. Međutim, kako su najzastupljenije reakcije u procesnoj industriji (npr. farmaceutska industrija, prehrambena industrija, industrija finih hemikalija itd.) spore, primena konvencionalnih cevni reaktora nije optimalno rešenje jer bi dužina tih reaktora bila nepraktično velika, za potrebno vreme kontakta tj. zadržavanja.

Poslednjih decenija se istražuju reaktori sa oscilatornim tokom fluida kao reaktori koji imaju dosta prednosti u odnosu na konvencionalne reaktore. Njihova prednost se ogleda i u veoma dobrom mešanju tj. dobrom prenosu mase i toplote koji se ostvaruje pri malim protocima fluida, niskim vrednostima smicajnih napona, te jednostavnom uvećanju razmera uređaja i efektom upravljanju. Mogućnost primene ovog tipa reaktora u različitim industrijskim granama privlači veliku pažnju, a ispitivanje, unapređenje i njihova primena u intenzifikaciji procesa predstavlja veoma aktuelnu temu.

Motivacija za izradu ove doktorske disertacije je upravo to što ovaj tip reaktora nudi značajne prednosti u odnosu na konvencionalne reaktore i što postoji širok spektar njegove potencijalne primene. Međutim, u literaturi nedostaje ispitivanja kretanja tečnosti koji su rezultirali u kvantitativnom opisu, tj. modelu strujanja koji može biti šire primenjiv. Naročito nedostaje ispitivanja višefaznog strujanja u ROT i definisanja režima strujanja. Takođe, primena ovih sistema u prehrambenoj industriji za aditive hrane su vrlo retka, a primena za kontinualnu proizvodnju GOS je pionirski ispitana.

Rad na ovoj disertaciji osmišljen je tako da se najpre ispita dinamika strujanja tečnosti kroz dva, geometrijski slična reaktora i da se na osnovu eksperimentalnih rezultata i modela klipnog strujanja sa aksijalnom disperzijom razvije bezdimenziona korelacija kojom bi se uspešno mogao predvideti način strujanja tečnosti kroz reaktor.

Iako je u literaturi prisutan veći broj radova u kojima se autori bave ispitivanjem dinamike strujanja tečnosti, korelacija je svega nekoliko i pokazano je da one nisu dobro opisale različite ROT sisteme. Cilj ovog dela istraživanja je, osim boljeg razumevanja dinamike strujanja tečnosti u ovom tipu reaktora, bio i razviti jednostavniju korelaciju koja uključuje manji broj parametara od najčešće korišćene korelacije u literaturi. Predložena korelacija povezuje bezdimenzioni broj mešanja – Pekleov broj, i bezdimenzione brojeve koji opisuju tok fluida u reaktoru. Korelacija je ispitana na eksperimentalnim rezultatima dostupnim u literaturi i upoređena sa najčešće korišćenom korelacijom.

Drugi deo istraživanja sprovedenog u okviru ove disertacije odnosi se na ispitivanje dinamike strujanja čestica kroz reaktor sa oscilatornim tokom tečnosti, pri čemu se čestice kontinualno uvode i izvode iz reaktora, što je novina. Naime, u literaturi postoji mali broj radova u kojima su objavljena istraživanja koja se odnose na ovu problematiku i u svima su čestice prisutne u reaktoru, a ne uvode se kontinualno. Kako su višefazni sistemi veoma zastupljeni u industriji, cilj istraživanja ovog dela disertacije je bio utvrditi i objasniti uticaj operativnih uslova na ponašanje čestica u reaktoru sa oscilatornim tokom tečnosti, i da se matematički definišu režimi kretanja čestica.

Na kraju, u okviru ove disertacije sprovedeni su eksperimenti u kojima je ispitivana primena reaktora sa oscilatornim tokom fluida na biohemijsku reakciju sinteze galaktooligosaharida (GOS) pomoću slobodnih i imobilisanih enzima. Ova reakcija je veoma atraktivna poslednjih godina zbog upotrebe GOS kao aditiva u ishrani odojčadi, ali i širenja polja primene na ostalu hranu za ljude i životinje što iziskuje drastično povećanje proizvodnih kapaciteta i potrebu za intenzifikacijom proizvodnog procesa. Eksperimentima je pokazano da se ova reakcija uspešno može izvoditi u kontinualnom reaktoru sa oscilatornim tokom fluida sa prinosom većim nego u šaržnom reaktoru (za isto, relativno kratko reakciono vreme), kako za primenjene enzime u slobodnoj formi, tako i za imobilisane. Razvijeni su novi kinetički modeli sinteze GOS i određeni parametri na osnovu eksperimentalnih rezultata iz šaržnog sistema. Cilj je takođe da se razviju prvi dinamički modeli ROT za sintezu GOS, a za kasnije upotrebe u projektovanju, analizi i upravljanju procesa.

Ideja kojom smo se vodili tokom izrade disertacije je bila ta da zaključci rada imaju i izvestan praktičan značaj. Na osnovu prikazanih rezultata, izvedene su opšte, praktične smernice za izbor radnih uslova i karakteristika sistema.

I PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

1. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

Teorijski deo ove doktorske disertacije objavljen je u preglednom radu pod nazivom: „HEMIJSKI REAKTORI SA OSCILIRAJUĆIM TOKOM FLUIDA“ Slavnić D., Bugarski B. i Nikačević N., *Hemijska Industrija*, 68(3): 363 – 379 (2014) [1] .

Ekonomski i ekološki pritisci, kao što su globalna konkurencija, povećanje energetske i drugih troškova proizvodnje, zahtevi za visokom kvalitetom proizvoda i smanjenje otpada, primoravaju farmaceutsku, finu hemijsku i biohemijsku industriju na radikalne promene u proizvodnji. Jedan od efikasnih načina za sveobuhvatno poboljšanje proizvodnje (smanjenje troškova i bolju kontrolu reakcije) je prelazak sa tradicionalno šaržnih procesa na kontinualne. Međutim, reakcije od interesa za pomenute industrijske sektore su često spore, te bi kontinualni cevni reaktori trebalo da budu nepraktično velikih dužina za režime strujanja koji obezbeđuju zadovoljavajuće prenose toplote i mase i uske raspodele vremena zadržavanja. Reaktori sa oscilatornim tokom fluida (ROT) nude rešenje jer obezbeđuju kontinualni rad, strujanje blisko klipnom, visoke prenose mase i toplote, a pri tom se mogu koristiti male brzine strujanja, te su reaktori prihvatljivih dužina za spore reakcije. Ove pozitivne karakteristike se ostvaruju zbog jako dobrog mešanja u reaktoru, usled stvaranja vrtloga pri sudaru generisanog talasa fluida sa internim pregradama. Osim navedenih prednosti u ROT se obezbeđuju i niži smicajni naponi (za isti unos energije) u odnosu na reaktore sa mehaničkim mešalicama, što je značajno za aplikacije u biohemijskom i biomedicinskom inženjerstvu. U ovom, preglednom delu doktorske disertacije je predstavljen princip rada ovih reaktora, različite konstrukcije i osnovni kriterijumi za projektovanje. Prikazani su reprezentativni rezultati istraživanja, koji jasno potvrđuju prednosti ovih uređaja u odnosu na konvencionalne i navedeni su primeri intenzifikacije procesa primenom ROT u različitim industrijskim sektorima, kao što su farmaceutski, polimerni, biogoriva, prerada otpadnih voda i dr.[1]

1.1 UVOD - OSNOVNE KARAKTERISTIKE REAKTORA SA OSCILATORNIM TOKOM FLUIDA

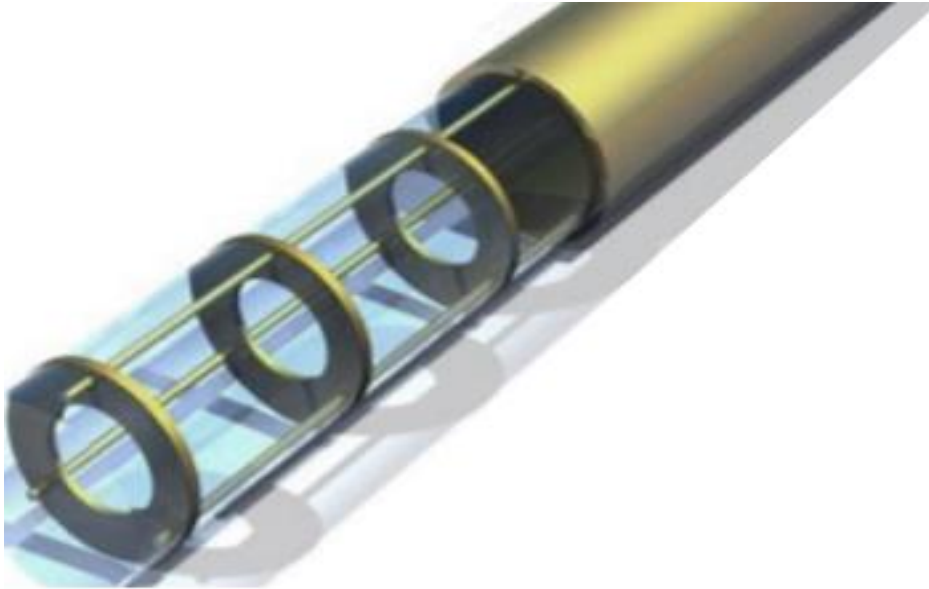
Procesna industrija se suočava sa različitim izazovima. Pre svega, društvo zahteva održivi razvoj industrije koja ne zagađuje životnu sredinu, više koristi obnovljive izvore energije i odlikuje se visokom energetsom efikasnošću. Ovi zahtevi ogledaju se u strožim propisima o proizvodnji i upravljanju otpadom, emisiji CO₂, zagađenju vode i vazduha itd. Sa druge strane, ekonomski zahtevi kao što su globalna konkurencija, brzi izlazak proizvoda na tržište, česte fluktuacije cena i dugotrajna ekonomska kriza, povećavaju pritiske na procesnu industriju. Društvo i ekonomija zahtevaju radikalno nova, ekološki efikasna i brza tehnička rešenja za trenutne izazove [1, 2].

Razmatrajući različite pristupe u okviru hemijskog inženjerstva može se zaključiti da koncepti intenzifikacije procesa najviše obećavaju, pogotovo kada su povezani sa zelenom hemijom i procesnim sistemskim inženjerstvom [3]. Jedan od uspešnih primera intenzifikacije procesa su reaktori sa oscilatornim tokom fluida koji se mogu primeniti za različite aplikacije u hemijskoj, biohemijskoj i farmaceutskoj industriji i zaštiti životne sredine. Ovaj tip reaktora omogućava da se spore reakcije, koje se uobičajeno odigravaju u šaržnim sistemima, odvijaju kontinualno, što vodi do značajnih investicionih i operativnih ušteda i bolje kontrole toka reakcije [1].

Jedan od najbitnijih fenomena u hemijskom inženjerstvu je mešanje fluida koje ključno utiče na prenos mase i toplote, performanse reakcije i uniformnost proizvoda. Kontinualni procesi često zahtevaju uređaje u kojima se ostvaruje dobro mešanje fluida, kod kojih je vreme zadržavanja približno jednako za sve elemente fluida, odnosno u kojima se ostvaruje strujanje fluida približno idealno klipnom strujanju [4]. Efikasan prenos mase i/ili toplote u toku kontinualnih procesa može se ostvariti pri turbulentnom strujanju fluida. Poboljšanje mešanja u nekim procesima je ostvareno na taj način što se u uređaj postavlja pakovani ili strukturirani sloj ili su u njega ugrađene pregrade. U šaržnim reaktorima se i danas mešanje najčešće obavlja preko dodatnih mehaničkih mešalica, a u pojedinim slučajevima se intenzivira ugradnjom odbojnika. Mešanje pomoću oscilatornog toka nudi visoko efikasnu alternativu za klasično mešanje kako za šaržne, tako i za kontinualne procese [5].

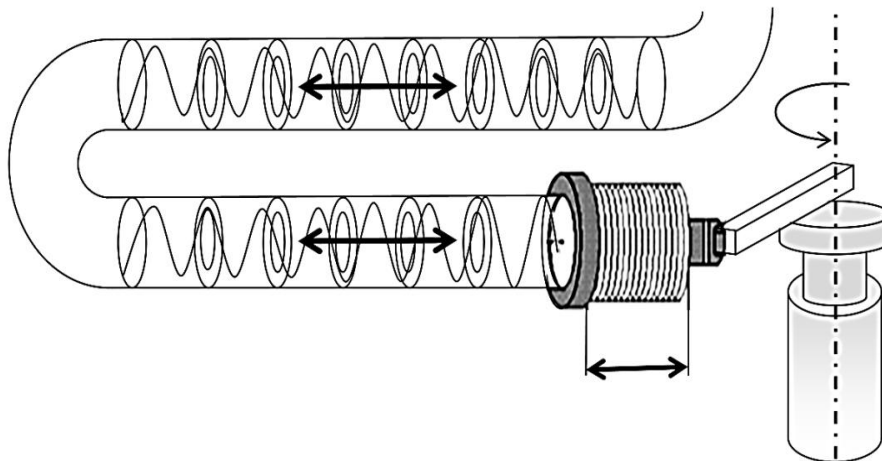
Mešanje pomoću oscilacija se istražuje poslednjih trideset godina, a najčešća primena je u cevnim reaktorima [6]. Ideja o načinu poboljšanja mešanja oscilacijama zasniva se na stvaranju kontrolisanih cikličnih vrtloga u zapremini fluida [7, 8]. Takvo mešanje se najčešće ostvaruje u dugim cevima u kojima su ugrađene pregrade (raspoređene duž cevi), a tečnost ili višefazni fluid aksijalno osciluje delovanjem dijafragme, mehova ili klipova, koji se nalaze na jednom ili na oba kraja cevi. U drugom tipu uređaja iz ove klase, oscilacije se generišu mehaničkim pomeranjem pregrada u reaktoru, što je ređi slučaj primene [9]. Oscilatorno proticanje fluida kroz set pregrada podstiče formiranje vrtloga, samim tim i efikasno radijalno mešanje. Treba napomenuti da se pri oscilovanju fluida u cevi bez pregrada, ne javljaju vrtlozi, te se ne obezbeđuje željeni intenzitet mešanja. Nasuprot ovde obrađenih reaktora sa oscilatornim tokom, treba razlikovati i reaktore sa periodičnim radom koji su takođe dosta istraživani i primenjeni. Ovo su klasični cevni reaktori ili reaktori sa pakovanim slojem, koji rade periodično, tj. uvode se oscilacije u protoku, koncentraciji ili temperaturi u cilju poboljšanja same hemijske reakcije, prenosa mase ili iskorišćenja toplote i slično [1].

Reaktori sa oscilatornim tokom (ROT) mogu raditi i kao šaržni i kao kontinualni uređaji, postavljeni bilo u horizontalni ili vertikalni položaj. Ispitivane su brojne različite konfiguracije pregrada, ali najčešće su korišćene one koje imaju jedan otvor na sredini (izgledaju kao prsten) postavljene na međusobnom rastojanju od oko 1,5 prečnika cevi. Upotreba ovakvih pregrada omogućava da strujanje bude aksisimetrično za relativno male vrednosti amplitude i frekvencije oscilacija [9, 10]. Na slici 1.1.1 je prikazana uobičajena konstrukcija reaktora sa oscilatornim tokom.



Slika 1.1.1. Reaktor sa oscilatornim tokom fluida. Modifikovano iz ref. [6].

Na slici 1.1.2 je prikazana skica reaktora kod kojeg se oscilatorno kretanje fluida postiže delovanjem meha na jedan kraj reaktora, koji je povezan sa obrtnim cilindrom.

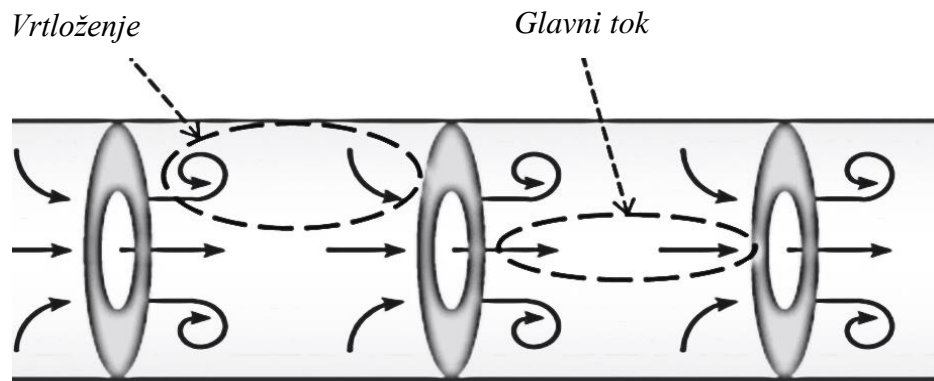


Slika 1.1.2. Primer generisanja oscilacija u ROT. Preuzeto iz ref. [10].

Postoje tri slična tipa reaktora sa pregradama u kojima se ostvaruje veoma dobro mešanje [1, 11]:

1. Reaktor sa oscilatornim tokom i pregradama (eng. *Oscillatory Baffled Reactor*). Reaktor u kojem se najčešće odvijaju šaržni i polušaržni procesi i uglavnom je postavljen vertikalno. U ovom uređaju oscilovanje fluida se postiže delovanjem klipa ili mehova koji su postavljeni sa donje strane reaktora ili pomeranjem seta pregrada delovanjem mehaničke sile čiji se izvor nalazi sa gornje strane.
2. Kontinualni reaktor sa oscilatornim tokom – ROT (eng. *Continuous Oscillatory Baffled Reactor*). Cevni reaktor koji se koristi za kontinualne procese i može biti postavljen horizontalno, vertikalno ili pod uglom. Ovaj tip reaktora sa pregradama je najčešće korišćen i sastavni je deo korišćene aparature u ovom istraživanju te će njegove osnovne karakteristike i prednosti biti opisane u daljem tekstu.
3. Cevni reaktor sa pregradama (eng. *Tube Baffled Reactor*). Po efektima, ovaj tip reaktora je sličan kontinualnom reaktoru sa oscilatornim tokom, osim što se u ovom slučaju ne koriste oscilacije. Uniformno mešanje se ostvaruje strujanjem fluida kroz set perforiranih pregrada postavljenih u unutrašnjost reaktora, što dovodi do stvaranja vrtloga u prostorima između pregrada, slično kao kod tzv. statičkog miksera. Ovaj reaktor takođe omogućava dobar prenos mase i toplote kao i ROT [1, 11].

U ROT celokupna zapremina fluida osciluje, a povratni tok fluida se periodično sudara sa pregradama formirajući vrtloge sa obe strane pregrada. Ovi vrtlozi obezbeđuju aksijalno i radijalno mešanje u prostoru između dve uzastopne pregrade duž celog reaktora, pri čemu intenzitet mešanja zavisi samo od uslova oscilovanja (amplituda i frekvencija oscilacija) [5, 12, 13]. Prednost oscilatornog toka je u tome što se može kontrolisati s dobrom preciznošću dajući pri tom širok opseg režima strujanja fluida – od laminarnog do potpuno turbulentnog strujanja [5, 7, 14]. Na slici 1.1.3 prikazan je mehanizam mešanja pomoću oscilatornog toka.



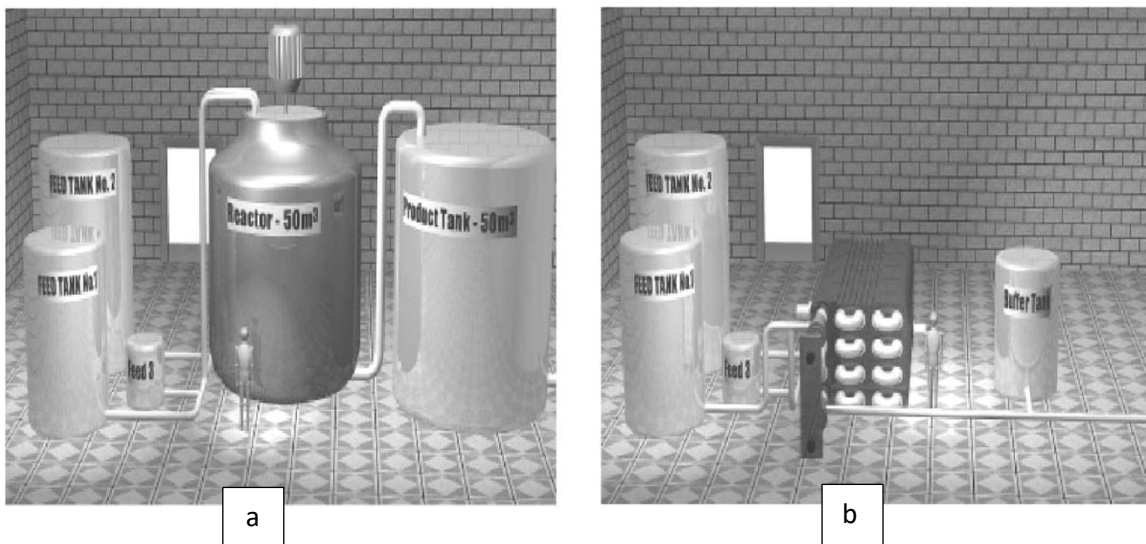
Slika 1.1.3. Mehanizam mešanja pomoću oscilatornog toka. Modifikovano iz ref. [15].

Zbog pojave vrtloženja, ukupno strujanje u ROT je blisko klipnom, što je poželjna slika proticanja za kontinualne reaktore. Kontrolisanje oscilatornih uslova omogućava da aksijalna disperzija bude minimizirana, a da raspodela vremena zadržavanja ne zavisi od brzine fluida na ulazu [7, 12, 16]. To znači da se i pri malim brzinama fluida, koje bi nominalno dale laminarni tok fluida, postiže veoma efikasno radijalno mešanje, kao pri turbulentnom toku u cevi (za šta su potrebne mnogo veće brzine strujanja). Zbog ovoga reaktor sa oscilatornim tokom omogućava da se šaržni procesi sa dugim reakcionim vremenom (veće od 10 minuta) odvijaju kontinualno (*eng. Batch – to – Continuous*) [5, 17]. Nasuprot tome, standardni cevni reaktori su nepraktični za spore reakcije jer je potrebna veoma velika dužina reaktora pri radu sa brzinama koje daju približno klipno strujanje i dobar prenos mase i toplote (turbulentni režim) [1].

U reaktoru sa oscilatornim tokom postiže se intenzivnije i uniformnije mešanje pri manjim smicajnim naponima u odnosu na standardne reaktore sa mehaničkim mešanjem (mešalicama), za iste vrednosti uložene energije [18, 19, 20]. Takođe, zbog dobrog mešanja koje se ostvaruje u ovom tipu reaktora, odnosno dobrog kontakta između faza, prenos mase i toplote je intenzivniji, tj. koeficijenti prenosa su znatno veći [7, 17, 21, 22, 23]. Mali smicajni naponi u ROT daju veliku prednost ovim reaktorima u odnosu na klasične mešalice za reakcije sa osetljivim i nestabilnim komponentama, kao što su mikroorganizmi, ćelije i drugi biohemijski elementi. Karakteristike mešanja fluida u ROT ostaju nepromenjene prilikom uvećanja razmera uređaja u geometrijski

sličnim sistemima, odnosno nema gubitka efikasnosti mešanja [24]. Sa druge strane, karakteristike mešanja u reaktorima sa mešalicama veoma zavise od dimenzija sistema, te prilikom uvećanja razmera reaktora dolazi do stvaranja zona sa smanjenom efikasnošću mešanja [24] i/ili zone sa vrlo intenzivnim mešanjem, koje može biti štetno za biološke elemente.

ROT se može efikasno primeniti za intenzifikaciju različitih procesa u hemijskoj, biohemijskoj i farmaceutskoj industriji, što će biti prikazano u poglavlju 1.8. Tehničke i ekonomske prednosti su mnogobrojne i značajne, a dobar primer su dali Harvey i saradnici za reakciju saponifikacije sterilestra [5, 25]. Oni su pokazali da je neophodna zapremina kontinualnog reaktora sa oscilatornim tokom deset puta manja u poređenju sa zapreminom konvencionalnog šaržnog reaktora, za istu količinu proizvedenog sterola (slika 1.1.4). Takođe su pokazali da bi se ova reakcija mogla odvijati i na nižoj temperaturi i za znatno kraće vreme (12 minuta) nego u šaržnom reaktoru gde ova reakcija traje 2 sata, a proizvodnja jedne šarže 24 sata [5, 25]. Potencijalne ekonomske pogodnosti koje nudi primena kontinualnog reaktora sa oscilatornim tokom date su u tabeli 1.1.1 [11].



Slika 1.1.4. Intenzifikacija procesa proizvodnje sterola u reaktoru sa oscilatornim tokom. a) Konvencionalni šaržni proces; b) intenzifikovani proces u ROT. Preuzeto iz ref. [5]

Tabela 1.1.1. Prednosti reaktora sa oscilatornim tokom u odnosu na konvencionalne šaržne i kontinualne reaktore [1, 11]

Pogodnost	Obim	Napomena
Reakciono vreme	do 90%	Uniformno mešanje, poboljšani prenos mase i toplote omogućavaju značajno smanjenje reakcionog vremena u ROT
Manje sporednih proizvoda	do 90%	Zbog bolje kontrole hemijske reakcije i rada reaktora, u ROT nastaje manja količina otpada
Veći prinos	do 20%	Veći prinos u ROT se ostvaruje usled manje količine nepoželjnih proizvoda, i smanjenja drugih gubitaka
Energetska ušteda	do 75%	Značajno manja uložena energija za mešanje u poređenju sa klasičnim mešalicama; bolje kontrolisana razmena toplote
Kapitalni troškovi	do 50%	Klipno strujanje u ROT se postiže pri malim brzinama (mali nominalni Re) što vodi ka značajno kraćim reaktorima, time i manjim neophodnim prostorom – niži kapitalni troškovi
Ušteda katalizatora	do 100%	U nekim reakcijama kao što je oksidacija aromatičnih jedinjenja, katalizator se može potpuno eliminisati iz procesa

1.2 ISTORIJSKI RAZVOJ REAKTORA SA OSCILATORNIM TOKOM

Oscilatorno kretanje fluida kroz niz periodično postavljenih suženja pokazalo se kao dobar način ostvarivanja efikasnog kontakta između faza i povećanja brzine prenosa mase u višefaznim sistemima još kada je Van Dijick (1935. god.) predložio kolonu sa vibracionim pločama (*eng. Reciprotating Plate Column – RPC*) kao uređaj za ekstrakciju tečno – tečno [26, 27]. Ploče u ovom tipu uređaja su pričvršćene za centralni nosač koji se pomera gore – dole, periodično, delovanjem zglobnog uređaja koji je postavljen na vrh kolone [1, 27].

U nuklearnoj industriji, četrdesetih i pedesetih godina dvadesetog veka primenjivale su se kolone sa pločama i kolone sa pakovanim slojem (*eng. Pulsed Packed Column – PPC*) radi poboljšanja selektivne ekstrakcije. Sadržaj kolone je pulsirao ili direktnim delovanjem klipa ili pneumatski, naizmeničnim uduvavanjem i izduvavanjem vazduha [5].

Andrew Karr je razvio kolonu sa vibracionim pločama i koristio za ekstrakciju intermedijera penicilina, tzv. *Karr* – ova kolona (1959. god.). U koloni su se nalazile ploče pričvršćene na jednoj ili više vertikalnih osovinu koje su se pomerale delovanjem elektro – mehaničkog oscilatora postavljenog na vrh kolone. Ploče su sadržale veliki broj gusto raspoređenih otvora [5]. Ovakav način rada kolone uticao je na povećanje dodirne površine između faza, a samim tim i na povećanje koeficijenta prenosa mase [1, 17].

Kolone sa vibrirajućim pločama (RPC) i kolone sa pulsirajućim pakovanim slojem (PPC), koje su koristile prednosti mešanja pomoću oscilacija, bili su uređaji koji su imali značajnu ulogu u industriji sve do ranih osamdesetih godina prošlog veka kada su brojne istraživačke grupe postale zainteresovane za primenu oscilatornog toka fluida u većem broju procesa [5]. *Karr* – ova kolona se i danas koristi za ekstrakciju tečno–tečno [17].

Reaktori sa oscilatornim tokom predstavljaju noviji tip reaktora čiji se rad zasniva na oscilovanju samog toka fluida. Nasuprot kolonama sa vibracionim pločama, ovaj tip reaktora se dosta razlikuje jer oscilovanje fluida u većoj meri poboljšava mešanje nego što utiče na povećanje kontaktne površine. Za razliku od kolona sa vibracionim pločama kod kojih su perforirane ploče (pregrade) postavljene na veoma malom rastojanju, pregrade (prstenovi) u reaktorima sa oscilatornim tokom se nalaze na

rastojanju $\approx 1,5D$, a primarni mehanizam mešanja je, gore objašnjeno, generisanje vrtloga u zapremini tečnosti [1, 17].

1.3 OSNOVNI KRITERIJUMI ZA PROJEKTOVANJE REAKTORA SA OSCILATORNIM TOKOM

Predloženi pristup projektovanju reaktora sa oscilatornim tokom je zasnovan na održavanju geometrijske i dinamičke sličnosti, pri čemu se koriste različite bezdimenzione grupe i druge empirijske korelacije specifične za oscilatorne tokove [17, 28].

a. Geometrijska i dinamička sličnost

Geometrijska sličnost projektovanog reaktora sa oscilatornim tokom se obezbeđuje održavanjem dve geometrijske vrednosti konstantnim: 1) rastojanja između pregrada, z i 2) površine otvorenog dela pregrade (prstena), S :

$$z = 1,5 D \quad (1.3.1)$$

$$S = \frac{d_0^2}{D^2} \quad (1.3.2)$$

gde je d_0 prečnik otvora, D unutrašnji prečnik reaktora. Površina otvorenog dela pregrada ima vrednost u opsegu 0,2 – 0,4, najčešće vrednost 0,25 kada prečnik otvora ima vrednost jedne polovine unutrašnjeg prečnika, D [1, 17].

Rastojanje između pregrada utiče na oblik i dužinu vrtloga, dok d_0 kontroliše širinu vrtloga koji se formiraju u ćeliji reaktora sa oscilatornim tokom. Ukoliko je rastojanje premalo, suzbija se formiranje vrtloga što ograničava njihov rast i redukuje preporučeno radijalno mešanje u svakoj ćeliji. Ukoliko je rastojanje veliko, javlja se suprotan efekat, vrtlozi formirani iza pregrade ne mogu efektivno ući u sledeću ćeliju, dolazi do stagnacije klipnog strujanja, vrtlozi bivaju rasuti i umanjeni [29, 30]. Brunold i saradnici su predložili odnos dat jednačinom (1.3.1) [13, 29].

Dinamika mešanja fluida oscilatornim tokom definiše se pomoću nekoliko osnovnih bezdimenzionih brojeva: klasični Rejnoldsov broj, Re_n , oscilatorni Rejnoldsov broj, Re_o , i Strauhalov broj, Str [7, 29].

Rejnoldsov broj je definisan na sledeći način:

$$Re_n = \frac{\rho u D}{\mu} \quad (1.3.3)$$

pri čemu D predstavlja unutrašnji prečnik reaktora, ρ gustinu fluida, μ dinamičku viskoznost i u srednju površinsku brzinu fluida. Brunold i saradnici [13] su definisali jedan od dva bezdimenziona broja koji kontrolišu mehaniku fluida u reaktoru sa oscilatornim tokom, oscilatorni Rejnoldsov broj:

$$Re_o = \frac{x_0 \omega D \rho}{\mu} \quad (1.3.4)$$

$$\omega = 2\pi f \quad (1.3.4a)$$

gde je x_0 amplituda oscilacija, ω ugaona brzina oscilacija, a f frekvencija oscilacija [1, 17, 29, 30].

Amplituda (x_0) i frekvencija (f) oscilacija predstavljaju dva najznačajnija operativna parametra u reaktorima sa oscilatornim tokom. Povećanje frekvencije i amplitude utiče da se i koeficijent prenosa mase $k_L a$, poveća [31]. Obzirom da su oscilacije obično oblika sinusoide, pomeraj, x , brzina, v , i ubrzanje, a , imaju sledeće vremenske zavisnosti [30, 32]:

$$x = x_0 \sin(\omega t) \quad (1.3.5)$$

$$v = x_0 \omega \cos(\omega t) \quad (1.3.6)$$

$$a = -x_0 \omega^2 \sin(\omega t) \quad (1.3.7)$$

a maksimalna brzina u toku jednog ciklusa oscilacija je $x_0 \omega$.

Za $Re_o = 100 - 300$ vrtložni prstenovi se aksisimetrično formiraju u svim ćelijama između pregrada, strujanje pokazuje karakteristike bliske klipnom strujanju. Sa povećanjem vrednosti Re_o broja, simetrija se narušava, mešanje postaje intenzivnije i haotičnije i postaje bliže mešanju u reaktorima sa mehaničkim mešanjem [1, 29, 30, 32, 33, 34].

Drugi bezdimenzioni broj koji opisuje mehaniku fluida u reaktoru sa oscilatornim tokom je Strauhalov broj, Str , i predstavlja meru efektivnog širenja vrtloga. Definisan je kao odnos unutrašnjeg prečnika reaktora i dužine klipa za formiranje oscilacija [12, 29, 30]:

$$Str = \frac{D}{4\pi x_0} \quad (1.3.8).$$

Sa povećanjem vrednosti ovog broja, povećava se i bezdimenziona srednja dužina vrtloga koji nastaju prilikom oscilovanja fluida [7, 30].

Odnos Re brojeva toka sa i bez oscilacija, odnosno, odnos njihovih brzina dat je sledećom jednačinom [25]:

$$\psi = \frac{Re_o}{Re_n} \quad (1.3.9).$$

Da bi se kvantifikovala aksijalna disperzija koriste se:

Pekleov broj:

$$Pe = \frac{uL}{De} \quad (1.3.10)$$

i Šmitov broj:

$$Sc = \frac{\mu}{\rho De} \quad (1.3.11)$$

gde je L dužina reaktora, a De koeficijent aksijalne disperzije [1, 12].

b. Radni uslovi

Kod reaktora sa oscilatornim tokom, oscilatorni tok je najčešće superponiran na postojeći srednji tok. To znači da je nominalni Rejnoldsov broj toka fluida na ulazu vezan za srednju površinsku brzinu fluida, tj. određen je zapreminskim protokom, a oscilatorni Rejnoldsov broj je određen intenzitetom oscilacija. Uobičajeno je da se površinska brzina podešava da bi se dobio željeni protok, čime se podešava vreme zadržavanja i na taj način se određuje kapacitet i dužina reaktora. Nakon toga se biraju oscilatorni uslovi tako da Re_o bude veći od Re_n čime se obezbeđuje da superponirane

oscilacije diktiraju režim mešanja [17]. Važno je napomenuti da postoje minimalne vrednosti Rejnoldsovog broja potrebne za postizanje strujanja: za ulazni tok $Re_n > 50$, i za oscilatorni tok $Re_o > 100$ [17, 34, 35]. Skorija istraživanja su pokazala da je odnos brzina, ψ , veoma bitan prilikom definisanja raspodele vremena zadržavanja u reaktoru sa oscilatornim tokom. Preporučuje se da ovaj odnos brzina bude u opsegu $2 \leq \psi \leq 6$, da bi se u reaktoru ostvarilo strujanje približno klipnom strujanju [13, 36]. Istraživanja su pokazala da se kod reaktora sa oscilatornim tokom raspodela vremena zadržavanja dobro opisuje kaskadnim modelom strujanja, a da je za klipno strujanje, broj idealno izmešanih sudova u nizu manji od broja ćelija između pregrada. Broj teorijskih sudova u nizu $N \geq 10$ se smatra dovoljnim za postizanje strujanja koje se približava klipnom strujanju [17, 36]. Srednje vreme zadržavanja se izračunava na osnovu površinske brzine (zapreminskog protoka), kao i kod klasičnih cevnih reaktora.

c. Izračunavanje gustine energije

U kontinualnim reaktorima sa oscilatornim tokom, gubitak snage potiče i od osnovnog i od oscilatornog toka. Pad pritiska usled proticanja fluida kroz reaktor u kojem se nalaze pregrade se može izračunati primenom standardne jednačine za protok kroz otvore koja je proširena članom koji predstavlja ukupan broj identičnih pregrada, N_B :

$$\Delta P = N_B \frac{\rho u^2}{2C_0} \left(\frac{1}{S^2} - 1 \right) \quad (1.3.12)$$

gde je C_0 standardni koeficijent otvora i najčešće ima vrednost 0,6, a S predstavlja površinu otvorenog dela pregrade (prstena) definisanu jednačinom (1.3.2) [1, 17].

Zbog uticaja oscilatornog toka, pad pritiska osnovnog toka ima veću vrednost u odnosu na pad pritiska kada je tok stacionaran, odnosno kada nema uticaja oscilacija. Odnos povećanja pritiska osnovnog toka se definiše na sledeći način [22]:

$$\zeta = \left[1 + \left(\frac{4\psi}{\pi} \right)^2 \right] \quad (1.3.13)$$

Snaga po jedinici zapremine, odnosno gustina snage ε_n , osnovnog toka je data jednačinom (1.3.14):

$$\varepsilon_n = \Delta P \frac{a_c}{V} u \cdot \zeta = \Delta P \frac{u}{z} \zeta \quad (1.3.14)$$

pri čemu a_c predstavlja površinu poprečnog preseka reaktora, V ukupnu zapreminu, a u površinsku brzinu [1, 22]. Da bi se izračunao gubitak snage oscilatorne komponente toka, može se iskoristiti jednačina kvazi – stacionarnog toka [3, 25, 27], gde je prosečna snaga po jedinici zapremine, ε_v , definisana na sledeći način:

$$\varepsilon_v = \frac{2N_B \rho (x_0 \omega)^3}{3\pi C_0^2 L} \left(\frac{1}{S^2} - 1 \right) \quad (1.3.15).$$

Skorija istraživanja pokazuju da se, ukoliko je Strauhalov broj, Str , veći od 0,2, gubitak snage može preciznije odrediti po modelu [1, 17]:

$$\varepsilon_v = \frac{3N_B \rho \omega^3 x_0^2 l}{S L} \quad (1.3.16)$$

gde je sa l označena dužina na kojoj se odvija mešanje usled vrtložnog strujanja i empirijski je utvrđeno da ima vrednost od 0,009.

Suma gubitka snage za osnovni tok (1.3.14) i gubitka snage oscilatornog toka (1.3.15 ili 16) predstavlja ukupan gubitak snage u ROT [17]:

$$\varepsilon_t = \varepsilon_n + \varepsilon_v \quad (1.3.17).$$

1.4 POBOLJŠANJE PRENOSA MASE U ROT

Zapreminski koeficijent prenosa mase, k_{la} , zavisi od uslova strujanja, odnosno mešanja u reaktoru i fizičkih karakteristika fluida. U reaktoru sa oscilatornim tokom, usled pojave vrtloga, koeficijent prenosa mase je značajno veći nego u klasičnim cevnim reaktorima, pri istim nominalnim protocima. U ROT rastojanje između pregrada je ključni projektni parametar koji utiče na dužinu vrtloga u ćelijama duž reaktora, a time i na koeficijent prenosa mase. Ukoliko su pregrade previše blizu jedna drugoj, generisanje vrtloga može biti prigušeno što ograničava rast vrtloga i time štetno utiče na

najbitniji mehanizam cirkulisanja fluida od zida reaktora do centra. Kao posledica ovoga javlja se mali koeficijent prenosa mase u sistemu. Ako su pregrade isuviše udaljene jedna od druge, vrtlozi koji se formiraju iza pregrade, ne mogu efektivno da pokriju zapreminu između dve pregrade. U ovom slučaju se stvaraju „slobodne“ zone u kojima se vrtlozi mogu rasformirati ili smanjiti, što takođe vodi ka slabijem ukupnom mešanju u uređaju. Jasno je da je optimalno rastojanje između pregrada u reaktoru sa oscilatornim tokom ono pri kojem se postiže maksimalna dužina vrtložnog kretanja u ćelijama reaktora, bez njihovog prigušenja [1, 37].

Ni i Gao [37] su eksperimentalno pokazali da koeficijent prenosa mase kiseonika između vazduha i vode raste sa povećavanjem rastojanja između pregrada u vertikalnim reaktorima sa oscilatornim tokom prečnika 50 mm i 100 mm i visina 525 mm i 1050 mm, do vrednosti $1,8D$, a da sa daljim povećanjem rastojanja vrednost koeficijenta prenosa mase opada. Autori su predložili da se reaktor sa oscilatornim tokom dizajnira tako da rastojanje između pregrada bude $1,5 D$ [37].

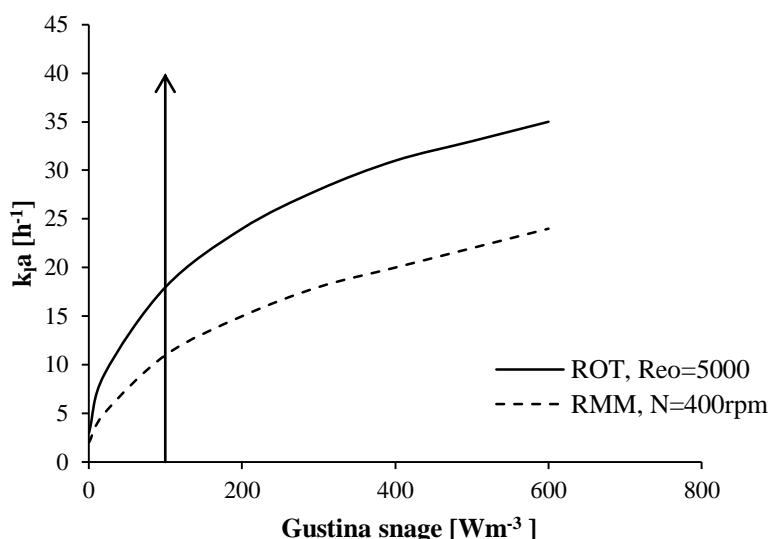
Takođe, autori su utvrdili [37] da vrednost k_{la} , raste sa povećavanjem frekvencije i amplitude oscilacija. Pri tom su uočili da za veće vrednosti amplitude, povećanje frekvencije rezultira znatno izraženijim rastom vrednosti k_{la} , nego pri istoj promeni frekvencije za manje amplitude. Ovo ukazuje da promene amplitude oscilacija imaju veći uticaj na k_{la} nego promene frekvencije jer amplituda oscilacija kontroliše dužinu vrtloga duž kolone [1, 22, 37].

Oliveira i Ni [38] su pokazali da je vrednost zapreminskog koeficijenta prenosa mase u dvofaznom sistemu voda – vazduh u ROT četiri puta veća od vrednosti koja se ostvaruje u barbotажnoj koloni i da, ukoliko raspodeljivač gasa ima jedan otvor, k_{la} ima 13 puta veću vrednost. Autori kao alternativno objašnjenje za poboljšani prenos mase u reaktorima sa oscilatornim tokom, iznose tvrdnju da ravnomerna raspodela brzine smicanja vodi ka stvaranju tanjih filmova tečnosti u reaktoru, te otuda i povećanje vrednosti koeficijenta prenosa mase, k_{la} [1, 25, 39].

Autori, Ahmed i saradnici [40] su ispitivali dvofazni tok vazduh – voda u 4 različite konstrukcije semi – šaržnog reaktora sa oscilatornim tokom fluida, gde se vazduh uvodi/izvodi kontinualno: reaktor sa pregradama u obliku spirale, reaktor sa periodičnim suženjima (*eng. smooth periodic constriction*), reaktor sa pregradama koje imaju jedan otvor i reaktor sa pregradama koje imaju više otvora. Ispitivani reaktori su

imali iste geometrijske karakteristike kao što su: prečnik i odnos dužine i prečnika. Autori su utvrdili da su u ispitivanim reaktorima režimi strujanja isti kao i oni koji se javljaju i u klasičnim barbotажnim kolonama. Takođe, eksperimentalno su utvrdili da je zapreminski koeficijent prenosa mase do 7 puta veći u odnosu na koeficijent prenosa u konvencionalnoj koloni. Značajno povećanje koeficijenta prenosa mase je uočeno za sve ispitivane konstrukcije reaktora, osim reaktora sa spiralnim pregradama [40].

Na slici 1.4.1 je prikazana zavisnost zapreminskog koeficijenta prenosa mase od gustine energije u reaktoru sa mehaničkim mešanjem (RMM) zapremine 2 L i reaktoru sa oscilatornim tokom (ROT) prečnika $D=50$ mm u toku reakcije fermentacije ćelija kvasca *Saccharomyces cerevisiae*. Sa slike 1.4.1 se može uočiti da je koeficijent prenosa mase u reaktoru sa oscilatornim tokom 75 % veći nego u reaktoru sa mehaničkim mešanjem [1, 15].



Slika 1.4.1. Zapreminski koeficijent prenosa mase u reaktoru sa mehaničkim mešanjem (RMM – isprekidana linija) i u reaktoru sa oscilatornim tokom (ROT – puna linija) u zavisnosti od gustine energije. Modifikovano iz ref. [15]

Ferreira i saradnici [41] su ispitivali prenos mase gas – tečno u prisustvu čvrste faze u mezo – reaktoru sa oscilatornim tokom fluida. Autori su eksperimentalno utvrdili da k_{La} raste i sa povećanjem površinske brzine gasa i sa povećanjem frekvencije i amplitude, pri čemu oscilatorni uslovi imaju izraženiji uticaj. Takođe, utvrdili su da

prisustvo čvrste faze (udeo 0 – 15 % v/v) nema značajnog uticaja na k_{ia} , za razliku od konvencionalnih reaktora kod kojih se javlja negativan uticaj čvrste faze [41].

1.5 POBOLJŠANJE PRENOSA TOPLOTE U ROT

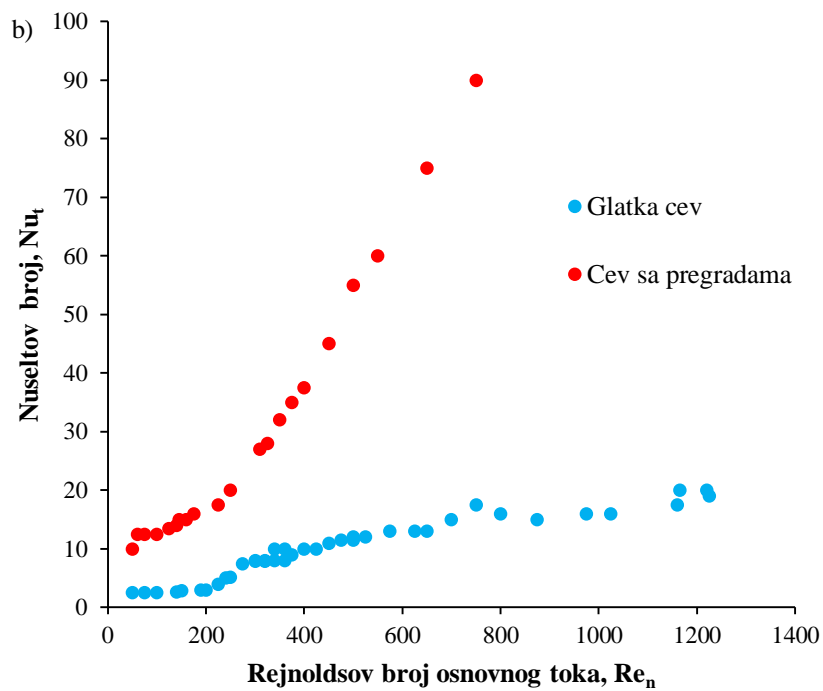
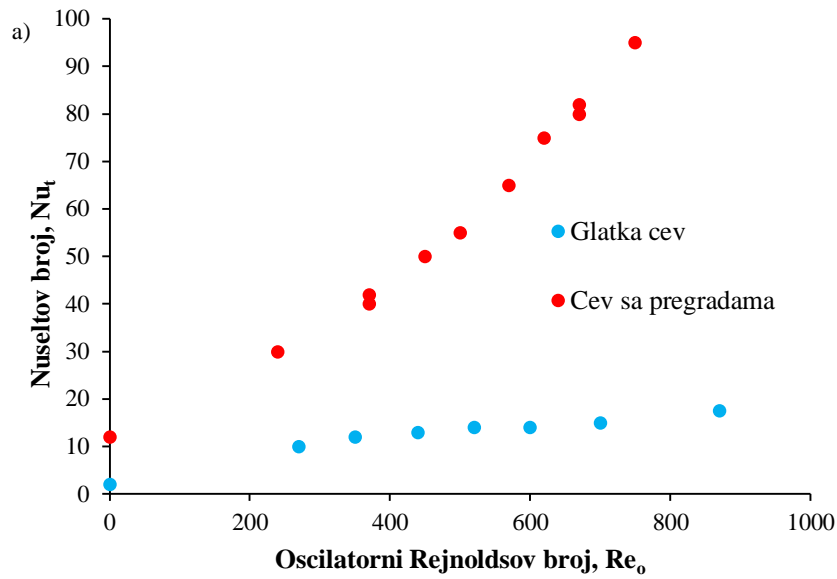
Prenos toplote prinudnom konvekcijom u cevnim sistemima takođe zavisi od uslova strujanja. Kada je strujanje fluida kroz cev potpuno turbulentno, brzina prenosa toplote u radijalnom pravcu (na zid reaktora) je relativno velika zahvaljujući radijalnom mešanju koje se javlja pri ovakvom proticanju. Ukoliko su brzine strujanja fluida male ili srednje, odnosno strujanje je laminarno, nema dobrog radijalnog mešanja, te je brzina prenosa toplote smanjena [23]. Oscilatorno kretanje fluida kroz cevni reaktor sa pregradama daje mogućnost poboljšanja prenosa toplote, slično kao kod prenosa mase [1].

Mackley i Stonestreet [23] su predložili model kojim se za Re_n u opsegu od 100 do 1200 i Re_o u opsegu od 0 do 800 može predvideti vrednost Nuseltovog broja:

$$Nu = 0,35 \cdot Re_n^{1,3} Pr^{1/3} + 0,3 \left[\frac{Re_o^{2,2}}{(Re_n + 800)^{1,25}} \right] \quad (1.5.1).$$

Prvi član zbira u jednačini (1.5.1) odgovara stacionarnom strujanju koje doprinosi prenosu toplote i sličan je jednačini Dittus – Boelter koja odgovara turbulentnom strujanju, s tim što eksponent od Re_n ima veću vrednost jer uključuje i uticaj prisustva pregrada. Drugi član se odnosi na povećanje Nu broja usled oscilatornog toka [1, 23].

Glavna prednost uređaja sa oscilatornim tokom je u tome što dobar prenos toplote može da se ostvari pri malim vrednostima Re_n . Autori su pokazali da je vrednost Nu broja u reaktorima sa oscilatornim tokom 30 puta veća u odnosu na konvencionalne reaktore. Na slici 1.5.1 (a) je prikazan uticaj prisustva pregrada na povećanje Nu broja pri oscilovanju toka fluida u glatkoj cevi i u cevi sa pregradama za $Re_n = 130$. Na slici 1.5.1 (b) je data zavisnost Nu od Re_n u glatkim i cevima sa pregradama bez oscilovanja toka fluida [1, 23]. Sa slike 1.5.1 (b) se može uočiti i da samo prisustvo pregrada u uređaju utiče na povećanje Nu broja.



Slika 1.5.1. Upoređivanje prenosa toplote u glatkim i cevima sa pregradama.
 a) Zavisnost Nu broja od Re_o za $Re_n = 130$; b) Zavisnost Nu od Re_n , za $Re_o = 0$.
 Modifikovano iz ref. [23]

Law i saradnici [42] su na osnovu sprovedenog eksperimentalnog istraživanja o uticaju oscilatornih uslova na prenos toplote, razvili empirijske korelacije za izračunavanje vrednosti Nuseltovog broja za dve oblasti Re_o broja:

$$Nu = 0,022 \cdot Re_n^{0,7} Pr^{0,3} Re_o^{0,44}, \quad 0 < Re_o < 1300 \quad (1.5.2)$$

$$Nu = 0,52 \cdot Re_n^{0,7} Pr^{0,3}, \quad Re_o > 1300 \quad (1.5.3).$$

Razvijene korelacije važe za sledeće opsege bezdimenzionih brojeva: $200 < Re_n < 1300$, $0 < Re_o < 8700$ i $4,4 < Pr < 73$ [42].

Pored toga, autori su utvrdili da se u ispitivanom reaktoru (unutrašnjeg prečnika 26 mm) ostvaruje 5 puta veća vrednost Nu broja nego šaržnom reaktoru sa mešalicom [42].

Ahmed i saradnici [43] su razvili korelacije za izračunavanje Nu broja za Re_o u opsegu od 0 do 1300, a na osnovu eksperimenata izvedenih mezo – reaktorima sa različitim geometrijama pregrada: prstenaste pregrade sa jednim otvorom (*eng. Orifice baffle design, OOB*), pregrade u obliku spirale (*eng. helical baffle design, OHBR*) i pregrade postavljene duž centralne ose reaktora (fluid protiče kroz prostor između spoljašnjeg zida pregrade i unutrašnjeg zida reaktora, (*eng. central axial baffle design, OCB*)) i na osnovu istraživanja Law i saradnika [42] :

$$Nu = 0,007 \cdot Re_n^{0,7} Pr^{0,3} Re_o^{0,44}, \quad \text{za OOB} \quad (1.5.4a)$$

$$Nu = 0,009 \cdot Re_n^{0,7} Pr^{0,3} Re_o^{0,44}, \quad \text{za OHBR} \quad (1.5.4b)$$

$$Nu = 0,011 \cdot Re_n^{0,7} Pr^{0,3} Re_o^{0,44}, \quad \text{za OCB} \quad (1.5.4c).$$

Pored korelacije za Nu , Ahmed i saradnici [43] su razvili i korelacije kojima može da se opiše pad pritiska u ispitivanim mezo – reaktorima i to:

za $0 < Re_o \leq 105$:

$$\frac{\Delta P}{L} = 5,8 \cdot 10^{-6} Re_n^{1,2} \quad \text{za OOB} \quad (1.5.5a)$$

$$\frac{\Delta P}{L} = 9,46 \cdot 10^{-6} Re_n^{1,2} \quad \text{za OHBR} \quad (1.5.5b)$$

$$\frac{\Delta P}{L} = 2,7 \cdot 10^{-5} Re_n^{1,2} \quad \text{za OCBR} \quad (1.5.5c)$$

i za opseg $105 < Re_o \leq 1800$:

$$\frac{\Delta P}{L} = 3,62 \cdot 10^{-6} Re_o^{-0,2} Re_n^{1,2} \quad \text{za OOB} \quad (1.5.6a)$$

$$\frac{\Delta P}{L} = 6,1 \cdot 10^{-6} Re_o^{-0,2} Re_n^{1,2} \quad \text{za OHBR} \quad (1.5.6b)$$

$$\frac{\Delta P}{L} = 10,6 \cdot 10^{-5} Re_o^{-0,2} Re_n^{1,2} \quad \text{za OCBR} \quad (1.5.6c).$$

Muñoz – Cámara i saradnici [44] su ispitivali termalne i hidrauličke karakteristike reaktora sa pregradama koje imaju jedan otvor (na sredini) u širokom opsegu Re_n broja (od 10 – 2200). Na osnovu eksperimenata u kojima su ispitivali gubitke usled trenja (pri konstantnoj temperaturi) identifikovali su laminarni, preobražajni, kvazi – turbulentni i turbulentni režim strujanja i predložili korelacije na osnovu kojih se može indirektno odrediti pad pritiska za laminarni, kvazi – turbulentni i turbulentni režim strujanja.

Za laminarni režim strujanja, $7 < Re_n < 165$ autori su predložili korelaciju:

$$f = 36,5 \cdot Re_n^{-0,709} \quad (1.5.7a)$$

Za kvazi-turbulentni režim strujanja, $235 < Re_n < 490$

$$f = 0,753 \cdot Re_n^{0,209} \quad (1.5.7b)$$

i za turbulentni režim strujanja $490 < Re_n < 3000$:

$$f = 5,34 \cdot Re_n^{-0,107} \quad (1.5.7c)$$

Pri čemu se gubici usled trenja računaju kao:

$$f = \frac{\Delta p}{2\rho u^2} \frac{D}{L} \quad (1.5.8).$$

gde u predstavlja srednju brzinu strujanja fluida kroz reaktor unutrašnjeg prečnika D i dužine L , a ρ predstavlja gustinu fluida [44].

U preobražajnom režimu strujanja ($165 < Re_n < 235$) su uočili da dolazi do nagle promene faktora trenja što ukazuje na početak turbulencije. Pored toga zapazili su da se nestabilnost u ponašanju toka sa intenzivnim promenama u pritisku, javlja pri $Re_n \approx 160$ [44].

Pored korelacija za izračunavanje gubitaka usled trenja, autori su razvili i korelacije za izračunavanje Nu broja za laminarni i turbulentni režim strujanja, a na osnovu eksperimenata sa konstantnim toplotnim fluksom:

Za laminarni režim strujanja, $10 < Re_n < 100$

$$Nu = 1,304 \cdot Re_n e^{0,402} Pr^{0,227} \quad (1.5.9a)$$

i za turbulentni režim strujanja, $300 < Re_n < 2200$

$$Nu = 0,503 \cdot Re_n^{0,735} Pr^{0,216} \quad (1.5.9b).$$

Predložene korelacije za izračunavanje Nu broja važe za opseg Pr broja od 130 – 650 [44].

1.6 SMANJENJE BRZINE SMICANJA U ROT

Smicajni naponi predstavljaju veoma bitan faktor za bioprocese koji uključuju ćelije ili molekule koji formiraju različite prostorne konformacije, kao što su enzimi jer pri velikim naponima može doći do njihovog oštećenja ili deaktivacije. Brzina smicanja se definiše kao stepen promene brzine kojom jedan sloj fluida struji preko drugog, paralelnog sloja [1, 15].

Ni i saradnici [20] su dali korelacije koje povezuju brzinu smicanja ($\bar{\gamma}$) i gubitak energije (ε) sa oscilatornim Reynoldsovim brojem, Re_o , u ROT:

$$\bar{\gamma} = 6 \cdot 10^{-4} Re_o^{1,2}, \quad 251 \leq Re_o \leq 4021 \quad (1.6.1)$$

gde je koeficijent korelacije 98%.

Gubitak energije se može odrediti pomoću jednačine:

$$\varepsilon = 7,54 \cdot 10^{-13} Re_o^3 \quad (1.6.2).$$

Kombinovanjem jednačina (1.6.1) i (1.6.2) dobija se izraz koji povezuje brzinu smicanja i gubitak energije:

$$\bar{\gamma} = 42,6 \cdot \varepsilon^{0,4} \quad (1.6.3).$$

Srednja vrednost brzine smicanja u sudu sa mehaničkim mešanjem, $\dot{\gamma}_{ST}$, je direktno proporcionalna brzini mešanja. Metzner i Otto (1957. god.) su predložili jednačinu za njeno izračunavanje koja važi za male vrednosti Reynoldsovog broja [20]:

$$\dot{\gamma}_{ST} = k N_o \quad (1.6.4)$$

gde je sa N_o označena rotaciona brzina mešalice u rpm, a sa k konstanta koja zavisi od dizajna mešalice i tipa fluida. Calderbank i Moo – Young (1961. god.) su predložili sledeću korelaciju kojom se k definiše kao:

$$k = B \left(\frac{4n}{3n+1} \right)^{\frac{n}{1-n}} \quad (1.6.5)$$

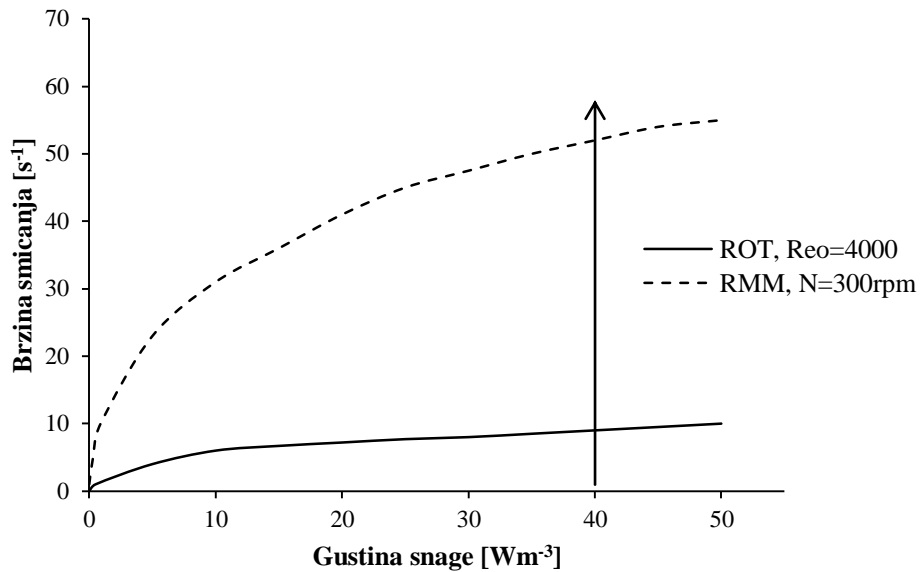
pri čemu je n indeks čija vrednost zavisi od reoloških karakteristika fluida, a B konstanta čija je vrednost 11 [1].

U tabeli 1.6.1. su date srednje vrednosti brzine smicanja pseudo – plastičnog fluida u posudi sa mehaničkim mešanjem i koloni sa oscilatornim tokom pri maksimalnoj vrednosti amplitude od 8 mm [20]. Pri tome vrednosti broja obrtaja mešalice odgovaraju frekvenciji oscilatornog toka fluida, u cilju adekvatnog poređenja.

Tabela 1.6.1. Srednja brzina smicanja u posudi sa mehaničkim mešanjem i u koloni sa oscilatornim tokom [20]

Parametar	$f/ \text{Hz}; N_o/\text{rpm}$			
	0,4 ; 24	0,8 ; 48	1,2 ; 72	1,6 ; 96
$\dot{\gamma}_{ST} (\text{s}^{-1})$	4,2	8,4	12,6	16,8
$\bar{\gamma} (\text{s}^{-1})$	3,5	7,1	10,1	13,3

Evidentno je da je za istu pobudu po minuti vrednost srednje brzine smicanja niža u koloni sa oscilatornim tokom prečnika 50 mm nego u posudi sa mehaničkim mešanjem prečnika 457 mm, s tim što ovakve brzine rotacije u posudi izazivaju mešanje malog intenziteta. Slika 1.6.1 pokazuje da je za isti unos energije od 40 Wm^{-3} , srednja brzina smicanja u reaktoru sa oscilatornim tokom 5 puta manja nego u reaktoru sa mehaničkim mešanjem [1, 15].



Slika 1.6.1. Srednja vrednost brzine smicanja u reaktoru sa oscilatornim tokom, $D = 50$ mm (ROT – puna linija) i reaktoru sa mehaničkim mešanjem zapremine 2 L (RMM – isprekidana linija). Modifikovano iz ref. [15]

Pored toga što su dimenzije uređaja sa mehaničkim mešanjem veće, srednja brzina smicanja fluida je veća. Uzevši u obzir ovu činjenicu i dimenzije posmatranih uređaja, zaključuje se da je kolona sa oscilatornim tokom znatno bolji uređaj u pogledu smicajnih napona od reaktora sa mehaničkim mešanjem [1, 20].

Ikwebe i Harvey [45] su eksperimentalno utvrdili da je brzina smicanja u OBR 2, odnosno 3 puta manja nego u reaktoru sa mehaničkim mešanjem pri unosu energije od 120 Wm^{-3} , odnosno 200 Wm^{-3} . Zapremina reakcione smeše je u oba tipa reaktora bila jednaka. Brzine smicanja izračunate su primenom korelacije koju su predložili Ni i saradnici [20]. U tabli 1.6.2 se mogu videti vrednosti brzine smicanja.

Tabela 1.6.2. Srednja brzina smicanja u OBR i STR [45]

$P/V \text{ (Wm}^{-3}\text{)}$	120	200
$\dot{\gamma}_{STR} \text{ (s}^{-1}\text{)}$	35	52
$\bar{\gamma} \text{ (s}^{-1}\text{)}$	16	19

Za reakciju enzimske saharifikacije celuloze, pri istom unosu energije od 10 Wm^{-3} , Ikwebe i Harvey [46, 47] su utvrdili da je srednja brzina smicanja ista ($6,65 \text{ s}^{-1}$) u šaržnom reaktoru sa oscilatornim mešanjem i pregradama i u reaktoru sa mehaničkim mešanjem, ali da sa povećanjem unosa energije brzina smicanja u STR postaje značajno veća u odnosu na brzinu smicanja u OBR. Manji smicajni naponi u OBR za posledicu imaju veći prinos reakcije saharifikacije.

1.7 RASPODELA VREMENA ZADRŽAVANJA U ROT

U kontinualnim cevnim sistemima zahteva se uska raspodela vremena zadržavanja (RVZ), odnosno približno klipno strujanje, pa zbog toga RVZ predstavlja važan parametar koji utiče na rad reaktora [36]. Uslovi oscilatornog mešanja (frekvencija i amplituda) definišu i kvantifikuju raspodelu vremena zadržavanja u ROT [1, 36].

Direktnim rešavanjem jednačina Navier Stokes – a može se dobiti tačna slika strujanja oscilatornog toka koja važi samo za aksisimetrični režim strujanja fluida (za $Re_o < 250$). Obzirom da se često zahtevaju vrednosti Re_o veće od 250, raspodela vremena zadržavanja u ROT se najčešće opisuje pomoću sledećih približnih modela [36]:

- 1) Disperzioni model, gde se reaktor posmatra kao kontinualni sistem i
- 2) Kaskadni model, gde je reaktor podeljen na jednake, diskretne delove.

U većini radova koji se odnose na mešanje fluida pomoću oscilatornog toka koristi se disperzioni model sa jednim parametrom – koeficijentom aksijalne disperzije. Kvantifikovanje aksijalne disperzije je od praktičnog značaja za reaktore sa oscilatornim tokom jer se dobijene vrednosti mogu iskoristiti za predviđanje raspodele vremena zadržavanja i za velike i za male reaktore [1, 48]. Ispitivanja aksijalne disperzije u uređajima sa oscilatornim tokom različitih dimenzija su pokazala tri zajedničke karakteristike:

- 1) Vrednost koeficijenta aksijalne disperzije je mala, bliska onoj koja se javlja u uređajima sa približno klipnim strujanjem;
- 2) Vrednosti koeficijenta aksijalne disperzije dobijene primenom različitih modela su približne;

- 3) Ne postoji značajna razlika u aksijalnoj disperziji između šaržnih i kontinualnih operacija kada je Re_o veće ili jednako Re_n . U ovim uslovima uticaj oscilacija prevazilazi uticaj osnovnog toka na koeficijent aksijalne disperzije, De , osim u slučaju veoma malih frekvencija [48].

Pretpostavlja se da se za dovoljno velike vrednosti Re_n može primeniti teorija Kolmogorova (Kolmogorov, 1941) [49], te se koeficijent aksijalne disperzije može izraziti kao:

$$De = b^{\frac{4}{3}} \varepsilon^{\frac{1}{3}} \quad (1.7.1)$$

gde b predstavlja karakterističnu dimenziju sistema, a ε gubitak energije za datu geometriju.

Ako se uzme da je gubitak energije približno jednak:

$$\varepsilon \approx x_0^3 \omega^3 \frac{(1-s^2)}{s^2 Z} \quad (1.7.2)$$

gde je Z bezdimenziono rastojanje između pregrada, a N_B broj pregrada:

$$Z = \frac{1}{N_B} \quad (1.7.3)$$

smenom jednačine (1.7.2) u jednačinu (1.7.1) dobija se sledeći izraz:

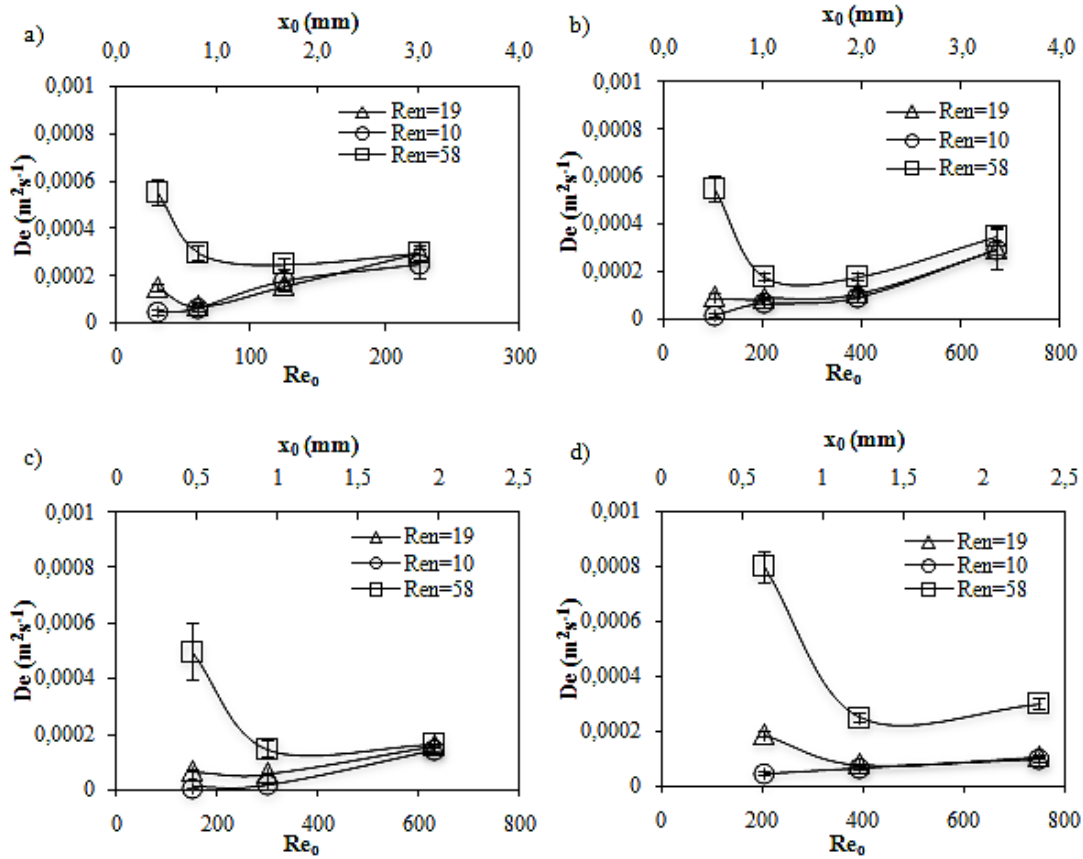
$$De \approx b^{4/3} (x_0 f) \left[\frac{(1-s^2)}{s^2 Z} \right]^{1/3} \quad (1.7.4).$$

Bezdimenzioni disperzni broj može se izračunati iz sledeće relacije [6]:

$$\frac{1}{Pe} = \frac{De}{uL} = \frac{De L}{L^2 u} = \frac{De \bar{t}}{L^2} \quad (1.7.5)$$

gde je sa \bar{t} označeno srednje vreme zadržavanja [1]. Zavisnost koeficijenta aksijalne disperzije od uslova oscilovanja u mezo – reaktoru (reaktor manjih dimenzija) sa oscilatornim tokom prikazana je na slici 1.7.1. Sa slike 1.7.1 se može zaključiti da koeficijent aksijalne disperzije blago raste sa porastom Re_o , za niske vrednosti Re_n . Međutim, za veću vrednost Re_n , De je značajno veći, zatim naglo opada sa porastom

Re_o , da bi potom imao isti trend blagog porasta (ima minimalnu vrednost). Ovaj efekat je naročito izražen za veće frekvencije oscilovanja (slika 1.7.1 (c) i (d)) [1].

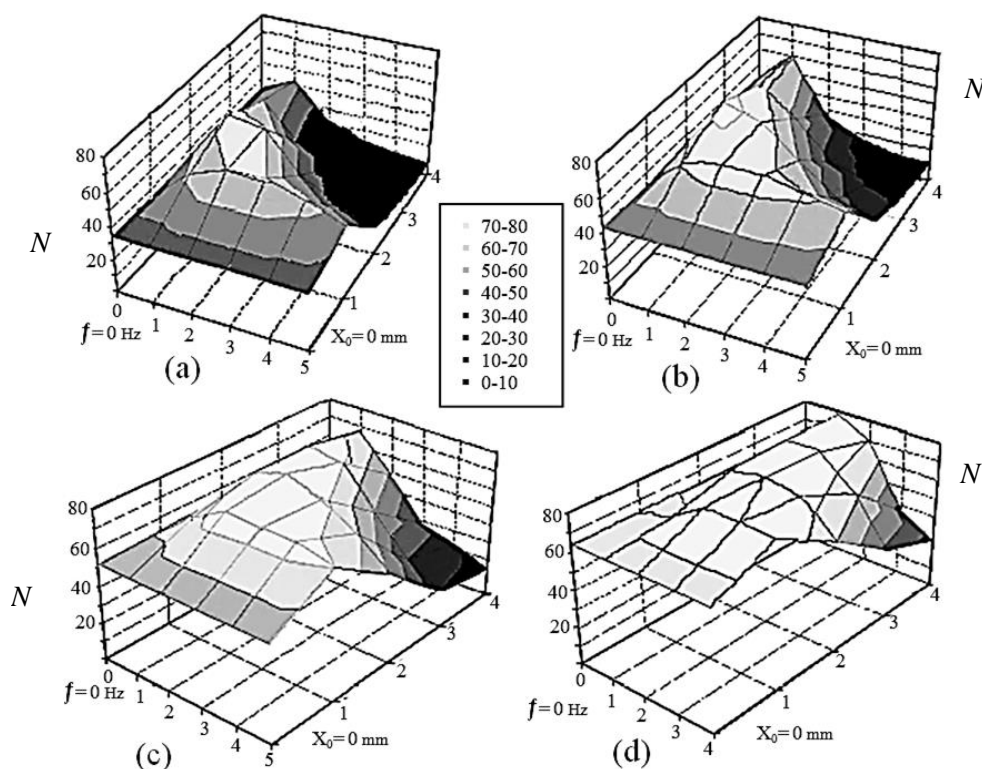


Slika 1.7.1. Koeficijent aksijalne disperzije u zavisnosti od vrednosti Re_o za $Re_n = 10, 19$ i 58 pri frekvencijama od: a) 2, b) 6, c) 10 i d) 12 Hz. Modifikovano iz ref. [6].

Primena disperzionog modela se zasniva na određivanju srednjeg vremena zadržavanja statističkom analizom podataka, pod pretpostavkom da imaju Gausovu raspodelu. Koeficijent aksijalne disperzije se određuje na osnovu izmerenih vrednosti koncentracije obeležene supstance na izlazu iz reaktora, s pretpostavkom o savršenom impulsu na ulazu. Ukoliko impuls na ulazu nije savršen, koriste se vrednosti merenja u dve tačke [1, 36].

Kaskadni model predstavlja drugi jednoparametarski model i pretpostavlja da fluid protiče kroz niz sudova sa idealnim mešanjem. Da bi se eksperimentalno odredio, ovaj model takođe zahteva primenu metode obeležene supstance za koju se pretpostavlja da u sistem ulazi kao idealna impulsna ili stepenasta promena [1, 36].

Na slici 1.7.2 se može videti da raspodela vremena zadržavanja zavisi i od amplitude i od frekvencije oscilacija. Na slici 1.7.2 se može zapaziti da postoji optimalna oblast amplituda i frekvencija za koje je broj sudova u nizu (ili ćelija u reaktoru), N najveći, odnosno aksijalna disperzija najmanja. Sa slike 1.7.2 se može zaključiti da je N veći u oblasti nižih frekvencija i viših ili srednjih amplituda. Interesantno je uočiti i to da se N povećava sa povećavanjem Re_n , kao i da u tom slučaju dolazi do smanjenja uticaja frekvencije i amplitude (manje izražen maksimum). Treba napomenuti da je ovaj rezultat u suprotnosti sa rezultatima prikazanim na slici 1.7.1, gde se za veće vrednosti Re_n dobijala veća disperzija, a ne manja [1].



Slika 1.7.2. Uticaj amplitude i frekvencije na raspodelu vremena zadržavanja za Re_n vrednosti: a) 95; b) 127; c) 190; d) 252. Modifikovano iz ref. [36]

Crittenden i saradnici [50] su razvili korelaciju sa više parametara kojom se može odrediti vrednost aksijalne disperzije u reaktoru sa pakovanim slojem i cevnom reaktoru sa pregradama. Predložena korelacija povezuje bezdimenzioni Pe broj sa bezdimenzionim brojevima kojima se karakteriše oscilatorni tok fluida:

Navedena jednačina je sledećeg oblika:

$$\frac{1}{Pe} = A_1 Re_n^r + A_2 Re_o^m Str^{m-q} + \frac{A_3 Re_n^{2r}}{A_1 Re_n^r + A_2 Re_o^m Str^{m-q}} \quad (1.7.6)$$

gde su A_1, A_2, A_3, r, m, q parametri koji zavise od posmatranog sistema.

Stonestreet i van der Veeken [36] su izveli kaskadni model za ROT koji se u osnovi zasniva na modelu koji je predložio Levenspiel [51], a na osnovu analize eksperimenata sa obeleženom supstancom i impulsnom pobudom. Oni su na osnovu kaskadnog modela i eksperimentalnih rezultata dobili optimalan broj sudova sa idealnim mešanjem u nizu – N . Ako se sa N označi teorijski broj sudova sa idealnim mešanjem dobijen iz kaskadnog modela, a sa M broj realnih ćelija u reaktoru, onda se koeficijent efikasnosti mešanja u ROT može predstaviti sledećom jednačinom:

$$\eta = \frac{N}{M} \quad (1.7.7).$$

Koeficijent efikasnosti mešanja, η , uvek ima vrednost manju od 1, odnosno teorijski broj sudova sa idealnim mešanjem dobijen primenom kaskadnog modela, N , je manji od realnog broja ćelija u ROT, M [36]. Autori su na osnovu sprovedenog istraživanja utvrdili da aksijalna disperzija u velikoj meri zavisi od oscilatornih uslova, posebno od odnosa oscilatornog i neto Re broja, a da se najmanji stepen aksijalne disperzije javlja kada je taj odnos u opsegu od 1,8 do 2.

Reis i saradnici [52] su ispitivali uticaj frekvencije, amplitude i brzine neto protoka na aksijalnu disperziju u kontinualnom mezo – reaktoru sa oscilatornim tokom fluida. Kako bi kvantifikovali aksijalnu disperziju, autori su primenili tri modela: kaskadni model, kaskadni model sa povratnim mešanjem i klipni model sa aksijalnom disperzijom. Najlošije slaganje je pokazao jednostavni kaskadni model.

Howes i Mackley [53] su eksperimentalno pratili povratno mešanje u kontinualnom reaktoru sa oscilatornim tokom fluida kako bi utvrdili udeo povratnog toka u glavnom toku, ali se nisu bavili ispitivanjem uticaja operativnih uslova na povratno mešanje.

Eksperimentalno je utvrđeno da sa povećanjem frekvencije i/ili amplitude dolazi do povećanja povratnog mešanja u koloni sa dve pregrade i oscilatornim mešanjem fluida [54].

Dickens i saradnici [55] su u eksperimentima gde je frekvencija bila konstantna, utvrdili da aksijalna disperzija opada sa amplitudom kada je amplituda u opsegu od 0 do 1 mm. U oblasti kada je vrednost amplitude veća od 2 mm, aksijalna disperzija raste sa amplitudom. U opsegu amplitude od 1 do 2 mm, autori su utvrdili da je aksijalna disperzija minimalna.

Uticao geometrije reaktora na aksijalnu disperziju, Smith i Mackley [12] su ispitivali u tri reaktora sa oscilatornim tokom fluida različitog unutrašnjeg prečnika: 24, 54 i 150 mm. Autori su uočili tri režima mešanja: I režim u kojem aksijalna disperzija ima konstantnu vrednost približno $5 \cdot 10^{-4} m^2 s^{-1}$, II režim – $80 < Re_o < 800$, gde aksijalna disperzija ima minimalnu vrednost približno $10^{-4} m^2 s^{-1}$ i III režim strujanja, $Re_o > 800$, u kojem aksijalna disperzija raste linearno sa Re_o . Značajno je da su autori utvrdili da veličina unutrašnjeg prečnika reaktora nema uticaja na aksijalnu disperziju ukoliko su bezdimenzioni brojevi Str , Re_o i Re_n konstantni [12].

Oliva i saradnici [56] su ispitivali uticaj oscilatornih parametara na aksijalnu disperziju u dva komercijalna reaktora unutrašnjeg prečnika DN15, odnosno DN6. Na osnovu izvedenih eksperimenata autori su zaključili da se u oba reaktora javlja minimum aksijalne disperzije pri amplitudi od 1 mm i pri frekvenciji od 1,5 Hz za reaktor od DN6 i 1 Hz za DN15. Pored toga, zaključili su i da je uticaj amplitude na aksijalnu disperziju izraženiji od uticaja frekvencije. Takođe su pokazali da poznavanje samo parametra mešanja, ψ nije dovoljno da bi se uspešno okarakterisao sistem sa oscilatornim tokom fluida [56].

Pored toga, autori su u ovom radu [56] objasnili i razliku u primeni klipova kao izvora oscilatornog kretanja fluida i membranske pumpe. Naime, povećanje brzine pomeranja klipova, tj. frekvencije dovodi do povećanja disperzije uslede značajnog uticaja povratnog mešanja koje suzbija direktni tok. Suprotno, sa povećanjem protoka membranske pumpe dolazi do smanjenja aksijalne disperzije. Autori tvrde da je za kristalizacione sisteme kao i za sisteme gde je neophodno ostvariti veoma intenzivno mešanje, primena klipova kao izvora oscilatornog kretanja, esencijalna [56].

U reaktorima sa oscilatornim tokom fluida u kojima je prisutna i čvrsta faza (reaktant, katalizator ili proizvod reakcije) slika strujanja je komplikovanija jer pored vrtloženja fluida dolazi i do složenog kretanja čestica. Za ove sisteme jednoparametarski modeli raspodele vremena zadržavanja (disperzioni ili kaskadni) nisu dovoljno precizni u opisu slike strujanja čestica. U ovom slučaju su adekvatniji višeparametarski modeli strujanja koji pored aksijalnog mešanja predviđaju postojanje stagnantnih zona čestica i njihovo ponašanje, a koje se realno mogu očekivati u ROT [1, 57, 58].

Mackley i saradnici [59] su pokazali da raspodela čestica u uređaju zavisi od oscilatorne brzine i razvili korelaciju kojom se ta raspodela može opisati:

$$\gamma = 1 - \exp\left(-R \frac{u_o}{u_p}\right) \quad (1.7.7)$$

gde je R empirijska konstanta, u_o – oscilatorna brzina ($= 2\pi f x_0$), a u_p brzina taloženja čestice.

Ejim i saradnici [60] su vrednost koeficijenta aksijalne disperzije čestica u kontinualnom mezo – reaktoru izračunali primenom modela klipnog strujanja sa aksijalnom disperzijom i utvrdili da je on istog reda kao i koeficijent aksijalne disperzije tečnosti.

Kacker i saradnici [61] su ispitivali zavisnost raspodele starosti fluida – čestica melanina od operativnih uslova. Autori su odredili operativne uslove pri kojima je aksijalna disperzija čestica najmanja ($f = 2$ Hz i $x_0 = 2$ mm).

Onyemelukwe i saradnici [62] su pokazali da se u mezo – reaktoru može ostvariti približno klipno strujanje čestica/tečnosti pri malim vrednostima neto protoka koji je karakterističan za procese kristalizacije. Utvrdili su da se pri malim vrednostima amplitude i velikim vrednostima frekvencije ostvaruje približno klipno strujanje, za razliku od konvencionalnih kristalizatora sa oscilatornim tokom gde se približno klipno strujanje ostvaruje pri velikim vrednostima amplitude i relativno malim vrednostima frekvencije. U ovom radu su autori pokazali da kada je suspenzija čestica malo gušća postoji velika razlika između aksijalne disperzije čestica i tečnosti, pri malom intenzitetu mešanja. Međutim, u uslovima približno klipnog strujanja, gde su radijalne brzine veće, može se javiti disperzija čestica slična disperziji tečnosti [62].

1.8 PRIMERI INTENZIFIKACIJE PROCESA PRIMENOM ROT

Zbog svojih performansi i uslova rada, reaktor sa oscilatornim tokom fluida našao je široku primenu u intenzifikaciji procesa. Pogodan je za reakcije sa dugim reakcionim vremenom (duže od 10 minuta) koje se u drugim, klasičnim uređajima odvijaju šaržno. Mehanizam mešanja i efikasni prenos toplote i mase u ovom tipu uređaja omogućava njihovu primenu u procesima u kojima se primenjuju mikroorganizmi, kristalizaciji farmaceutskih i drugih proizvoda, dobijanju biogoriva, polimerizaciji, separacionim procesima, procesima prečišćavanja otpadnih voda i dr. [1, 31].

Reaktor sa oscilatornim tokom nudi poboljšano i uniformnije mešanje pri niskim vrednostima smicajnih napona u odnosu na konvencionalne uređaje. Ova prednost omogućava upotrebu u biohemijskim i biomedicinskim procesima koji uključuju ćelije kultura mikroorganizama koje su veoma osetljive na smicanje i za čiji rast je neophodan dobar prenos mase [1, 15, 18, 31]. Vrednost koeficijenta prenosa mase kiseonika potrebnog za rast ćelija kvasca iz roda *Saccharomyces cerevisiae*, k_{O_2} , je u fermentoru sa oscilatornim tokom za 75 % veća nego u klasičnom reaktoru sa mehaničkim mešanjem [22]. Istraživanja su pokazala da i proizvodnja pululana iz obnovljivih, prirodnih izvora može da se ubrza upotrebom fermentora sa oscilatornim tokom. Upoređujući vrednosti koncentracije pululana dostignute za iste operativne uslove, zaključuje se da se u fermentoru sa oscilatornim tokom, u odnosu na fermentor sa mehaničkim mešanjem, postigne ista koncentracija pululana, ali za znatno kraće vreme (96 h u fermentoru sa mehaničkim mešanjem, a 37 h u fermentoru sa oscilatornim tokom) [18].

Ikwebe i Harvey [46] su ispitali uticaj oscilatornog mešanja na reakciju saharifikacije celuloze u šaržnom OBR. Dobijene eksperimentalne rezultate su uporedili sa rezultatima ostvarenim u reaktoru sa mehaničkim mešanjem. Nakon 168 h saharifikacije pri unosu energije od 200 Wm^{-3} , u OBR je ostvareno 91 % konverzije celuloze, dok je pri istom unosu energije ostvareno 74 % konverzije celuloze u konvencionalnom reaktoru. Pri manjem unosu energije (120 Wm^{-3}) ostvareno je 69 % konverzije u OBR u prvih 24 h reakcije odnosno 88 % nakon 168 sati dok je u reaktoru sa mehaničkim mešanjem ostvareno 55 %, odnosno 67 % za vreme od 24 h odnosno 168 h, respektivno [46].

Abbott i saradnici [63] su u svom radu pokazali mogućnost primene reaktora sa oscilatornim tokom i pregradama kao sistema za kultivaciju mikroalgi. Cevna konstrukcija OBR je bila takva da je odnos površine i zapremine veliki, što omogućava efikasnu raspodelu svetla neophodnog za rast mikroalgi. Autori su pokazali da je rast algi u šaržnom OBR za 95 % veći nego u šaržnom reaktoru (T – flasku).

U farmaceutskoj industriji jedna od ključnih operacija je vraćanje proteina u nativnu konformaciju na kraju procesa [1, 15], što se uglavnom odvija u reaktorima sa mehaničkim mešanjem. Pri uvećanju razmera reaktora sa mehaničkim mešanjem dolazi do stvaranja zona „slabijeg“ mešanja, tj. smanjuje se efikasnost mešanja, što negativno utiče na vraćanje proteina u nativnu konformaciju [15, 24]. Lee i saradnici [64] su eksperimentalno pokazali da se vraćanje proteina u nativnu konformaciju može vršiti efikasno u reaktoru sa oscilatornim tokom. U ovom primeru, prednost reaktora sa oscilatornim tokom u odnosu na konvencionalne reaktore ogleda se u tome što uvećanje razmera ovog reaktora nema uticaja na efikasnost mešanja, a samim tim i na stepen regeneracije proteina [1, 15, 24, 64].

Efikasnost mešanja je jedan od najbitnijih faktora koji utiču na strukturu i kvalitet kristala nastalih kristalizacijom. Upoređivanjem morfologije kristala paracetamola dobijenih kristalizacijom u reaktoru sa mehaničkim mešanjem i šaržnog reaktora sa pulzacijama, dolazi se do zaključka da se u reaktoru kod kojeg se mešanje ostvaruje oscilatornim kretanjem fluida proizvode kristali pravilnijeg oblika sa manje grešaka u strukturi [65]. Ispitivanja kristalizacije glutaminske kiseline u reaktoru sa oscilatornim tokom pokazuju da širina meta – stabilne zone opada sa povećanjem intenziteta mešanja i da je značajno manja u odnosu na zonu formiranu u reaktoru sa mehaničkim mešanjem [1, 66].

Zheng i saradnici [67] su pokazali da se kontinualni reaktor sa oscilatornim tokom može uspešno primeniti u heterogenoj katalizi na primeru tipične reakcije acetilacije kamfena katalizovane katjonskom jonoizmenjivačkom smolom koja je suspendovana u reaktoru (ne izvodi se iz reaktora). Utvrdili su da je temperatura u OFR uniformnija nego u šaržnom reaktoru sa mešanjem, a strujanje fluida približno klipnom strujanju. Pored toga, u ispitivanom reaktoru brzina reakcije je bila veća i sa većom selektivnošću nego u šaržnom reaktoru [67].

Reaktivna kristalizacija paracetamola u uslovima veoma sličnim uslovima u kojima se javlja rastvaranje paracetamola u reaktoru sa oscilatornim tokom fluida veoma uspešno se može odvijati u kontinualnom reaktoru sa oscilatornim tokom fluida [68]. Autori su utvrdili da veličina kristala paracetamola opada sa povećanjem vrednosti Re_o broja. Analiza koncentracije i veličine kristala u različitim tačkama u reaktoru je pokazala da nema promene ovih veličina duž reaktora. U eksperimentima su dobijeni kristali polimorfne strukture sa srednjom čistoćom od 99,96 % [68]. Ispitivanjem procesa kontinualne sonokristalizacije laktoze u kontinualnom oscilatornom kristalizadoru je utvrđeno da se u ovom tipu uređaja može ostvariti uža raspodela veličine čestica nego u šaržnom uređaju. Po prvi put je ovaj proces izveden pri protoku od 356 gh^{-1} , gde se ostvaruje približno klipno strujanje. Dobijen je proizvod konzistentnog kvaliteta i karakteristika [69].

McLachlan i Ni [70] su potvrdili tvrdnje ranijih industrijskih istraživanja da se u kristalizadoru sa oscilatornim tokom i pregradama mogu proizvoditi kristali veće čistoće u odnosu na kristale koji se mogu proizvesti u konvencionalnom kristalizadoru sa mehaničkim mešanjem u istim operativnim uslovima. Ovaj trend su autori potvrdili na urei – jedinjenju koje se razlikuje od jedinjenja koja su najčešće korišćena u industrijskim istraživanjima. Uočeno je da je u konvencionalnom kristalizadoru sa mehaničkim mešanjem veći stepen zasićenosti u nukleaciji povezan sa nižom temperaturom nukleacije pri svim ispitivanim operativnim uslovima u odnosu na kristalizador sa oscilatornim tokom i pregradama. Ovo vodi ka većim brzinama nukleacije u konvencionalnom kristalizadoru sa mehaničkim mešanjem, što za posledicu ima proizvodnju manjih kristala. Raspodela veličine kristala i analiza slika kristala ukazuju na to da je verovatnije da će ovi mali kristali formirati aglomerate koji mogu da “zarobe” matičnu tečnost i/ili nečistoće, što dovodi do manje čistoće kristala nego kristala formiranih u kristalizadoru sa oscilatornim tokom i pregradama [70].

Reaktor sa oscilatornim tokom se pokazao i kao efikasan uređaj za proizvodnju biogoriva. U toku proizvodnje bioetanola iz celuloznih sirovina, enzimaska saharifikacija celuloze do glukoze i fermentacija glukoze do etanola se u ROT odigravaju istovremeno, što predstavlja prednost. Stepenu konverzije sirovine je približan stepenu konverzije ostvarenom u laboratorijskom šaržnom reaktoru, ali se postiže za 25 sati kraće [1, 71]. Reakcija transesterifikacije biljnog ulja, kojom nastaje biodizel, se u

reaktoru sa oscilatornim tokom odvija kontinualno 30 minuta na temperaturi od 50 °C. U šaržnom reaktoru se navedena reakcija dešava na višoj temperaturi i traje 60 minuta [72]. U proizvodnji biodizela kao sporedni proizvod javlja se glicerol (10 % od ukupne količine proizvoda). Eze i Harvey [73] su ispitivali mogućnost prevođenja glicerola u proizvod veće ekonomske vrednosti – solketal u jednostepenom i dvostepenom mezo – reaktoru sa pakovanim slojem jonoizmenjivačke smole (katalizator reakcije). Veći prinos je ostvaren u dvostepenom mezo – reaktoru (76 % za 35 minuta) nego u jednostepenom (48,5 % za 30 minuta). Ova zapažanja predstavljaju dobru osnovu za buduća istraživanja kontinualnog procesa proizvodnje biodizela gde bi se reakcija transesterifikacije i sinteze solketala odigravale istovremeno [73]. Biobutanol kao biogorivo potencijalno je bolje od etanola i može se dobiti aerobnom fermentacijom sirovina. Masngut i Harvey [74] su pokazali da proizvodnja biobutanol može biti unapređena ukoliko se aerobna fermentacija odvija u reaktoru sa oscilatornim tokom. Najveća produktivnost postignuta u ovakvom bioreaktoru (0,22 g L⁻¹h⁻¹) je za 38 % veća od maksimalne vrednosti ostvarene u bioreaktoru sa mehaničkim mešanjem [1, 74].

Reaktori sa oscilatornim tokom su pogodni za intenzifikovanu proizvodnju polimera i postoji više aplikacija koje su komercijalizovane. Reaktor u kojem se pomeraju pregrade i time ostvaruje mešanje fluida, korišćen je za proizvodnju čestica reakcijom polimerizacije. Dimenzije i morfologiju čestica moguće je kontrolisati bez obzira da li reaktor radi šaržno ili kontinualno zahvaljujući dominaciji superponiranih oscilacija koje mešaju fluid u radijalnom pravcu, i obezbeđuju klipno ili približno klipno strujanje u kontinualnim sistemima. Ovakav vid mešanja u kombinaciji sa približno konstantnim intenzitetom turbulencija u reaktoru vodi ka ravnomernoj raspodeli veličina čestica sa velikim stepenom ponovljivosti [1, 75].

Rezultati istraživanja [76] pokazuju da proizvodnja polimetilmetakrilata i poliakrilamida u reaktoru sa oscilatornim tokom ima visok stepen ponovljivosti kvaliteta proizvoda (~90 %) sa približno Gausovom raspodelom veličine čestica, pri čemu je broj finih čestica konstantan i manji od 5 %, za razliku od reaktora sa mehaničkim mešanjem gde je udeo finih čestica 8 do 10 %. Veličina čestica, kao i raspodela veličine čestica se jednostavno može kontrolisati odabirom uslova oscilovanja, pri čemu hemijska reakcija ostaje nepromenjena [75]. Eksperimentalna

istraživanja su pokazala da je lakše suspendovati čestice oscilacijama velikih frekvencija i malih amplituda, nego oscilacijama malih frekvenci i velikih amplituda u vertikalnom reaktoru. U reaktoru sa oscilatornim tokom ne samo da čestice ostaju suspendovane, već je moguće suspendovati ih za nekoliko sekundi ukoliko su istaložene [1, 77].

Još jedan primer poboljšanja je reakcija između *n* – butil bromida i natrijum fenolata u prisustvu katalizatora koji prelazi iz jedne u drugu fazu u reaktoru kod kojeg se pomeraju pregrade i ostvaruje oscilatorni tok fluida. Ova reakcija počinje da se odvija pri manjem unosu energije (nakon jednog minuta) u odnosu na reaktor sa mehaničkim mešanjem, a pri tom se i postiže veći stepen konverzije [1, 78, 79].

Pored navedenih primena u reaktorskom inženjerstvu, ROT se mogu primeniti u procesima prečišćavanja otpadnih voda, kao i za druge separacione procese. U procesu prečišćavanja vode, flokulacija je operacija u kojoj se male čestice, u prisustvu polimera, spajaju gradeći flokule dovoljno velike da bi se mogle ukloniti filtracijom ili stabilizovati. Procenat flokulacije bentonita je u šaržnom flokulatoru sa pregradama kod kojeg se mešanje fluida postiže delovanjem meha postavljenog sa donje strane uređaja (oscilatorno mešanje), približno isti kao i u flokulatoru sa mehaničkim mešanjem, s tim što se taj nivo u flokulatoru sa pregradama postiže pri znatno manjim vrednostima brzine smicanja [1, 80].

U radu Lucas i saradnika [81] prikazan je novi pristup u intenzifikaciji tretmana vode i otpadne vode ozonom primenom veoma efikasne i kompaktne kolone – kontaktora sa oscilatornim tokom i pregradama sa većim brojem otvora (*eng. Multi – Orifice Oscillatory Baffled Column, MOBC*). Primena MOBC u tretmanu vode omogućava 12 puta veću iskorišćenost ozona. U MOBC zapremine koja je 5 puta manja u odnosu na zapreminu konvencionalnog reaktora, ostvaruje se ista brzina prenosa mase ozona. Autori su rezultate dobijene u MOBC poredili sa rezultatima iz barbotажne kolone. Utvrdili su da je u MOBC brzina degradacije *p* – HBA 20 % veća, brzina mineralizacije *p* – HBA po molu utrošenog ozona 75 % veća i 4,5 – 5 puta veća po molu “isporučenog“ ozona [81].

Oslanjajući se na istraživanja Mackley i saradnika [59], u Univerzitetu u Kembridžu istraživači Fabiyi i Skelton [82] su 1999. godine ispitivali reakciju oksidacije koja se može primeniti u tretmanu otpadnih voda u fotokatalitičkom reaktoru

sa pulsirajućim tokom fluida. Čestice, nosači katalizatora TiO_2 bile su suspendovane u tečnoj fazi pomoću pulzacija toka fluida izazvanih delovanjem dijafragme postavljene u dno reaktora, odakle je uvođena i gasovita faza. Kataliza je inicirana ultraljubičastim zračenjem čiji se izvor nalazio van reaktora [82], a utvrđeno je da je efikasnost iskorišćenja fotona veća u odnosu na konvencionalne fotohemijske reaktore [1, 6, 34].

Separacioni procesi koji podrazumevaju adsorpcije zastupljeni su u hemijskoj, petrohemijskoj i biohemijskoj industriji. Separacija adsorpcijom se zasniva na prenosu mase kroz jednu ili više kolona sa pakovanim slojem čestica ili granula od odgovarajućeg materijala – adsorbenta. Lau i saradnici [83] su pokazali prednost primene oscilatornog toka u koloni sa pakovanim slojem sfernih čestica zeolita, u dobijanju anhidrovanog etanola iz sirovog etanola koji sadrži 3,2 mas. % vode. Za dati protok na ulazu, koncentraciju i temperaturu, prisustvo oscilatornog toka u procesu adsorpcionog sušenja etanola utiče na odlaganje vremena proboja i smanjenje dužine neiskorišćenog pakovanog sloja. Primena oscilatornog toka poboljšava navedene parametre za 20 % [1, 83].

1.9 NEDOSTACI REAKTORA SA OSCILATORNIM TOKOM FLUIDA

Pored svih prednosti koje nudi, tehnologija reaktora sa oscilatornim tokom ima svojih nedostataka. Pošto gasovita faza prigušuje oscilacije fluida, zapreminski udeo gasa u sistemu je ograničen do 15 %, što znači da ovaj tip reaktora nije primenljiv u procesima u kojima se kao proizvod dobija gas ili je jedan od reaktanata u gasovitoj fazi. Prisustvo čvrste faze takođe utiče na širenje oscilacija fluida i intenzitet mešanja u ovim reaktorima. Istraživanja su pokazala da se ovaj tip reaktora može primeniti ukoliko udeo čvrste faze nije veći od 30 % (što varira u zavisnosti od raspodele veličine čestica, gustine, itd.). Viskoznost fluida ili smeše fluida je još jedan faktor koji utiče na prostiranje oscilacija fluida. Ukoliko je viskoznost tečne faze veća od 0,5 Pa s, ovi reaktori se ne mogu primeniti. Osim ovih radnih ograničenja, ROT su složenije konstrukcije od običnih cevni reaktora (prisustvo pregrada), a neophodno je i obezbediti dodatne uređaje za generisanje oscilacija, kao i za njihovu kontrolu. Ovo povećava cenu investicije za ROT koja može biti opravdana u slučaju značajnih ostalih ušteda, navedenih u tekstu rada (tabela 1.1.1) [1].

SPISAK UPOTREBLJENIH OZNAKA

- a_c – površina poprečnog preseka reaktora (m^2)
- D – unutrašnji prečnik reaktora (m)
- d_0 – prečnik otvorenog dela pregrada (m)
- D_e – koeficijent aksijalne disperzije ($m^2 s^{-1}$)
- $k_l a$ – zapreminski koeficijent prenosa mase ($mol m^{-3}$)
- l – dužina na kojoj se odvija mešanje usled vrtloženja (m)
- L – dužina reaktora (m)
- M – broj aktuelnih ćelija u reaktoru
- N – broj teorijskih sudova sa idealnim mešanjem
- N_B – broj pregrada u ROT
- N_o – broj obrtaja mešalice (rpm)
- Nu – Nuseltov broj
- ΔP – pad pritiska (Pa)
- $A1, A2, A3, r, m, q$ – parametri u jed. (1.7.6)
- Pe – Pekleov broj
- Pr – Prantlov broj
- Re_n – Rejnoldsov broj toka bez oscilacija
- Re_o – Oscilatorni Rejnoldsov broj
- S – površina otvorenog dela pregrada (m^2)
- Str – Strauhalov broj
- Sc – Šmitov broj
- t – vreme (s)
- \bar{t} – srednje vreme zadržavanja (s)
- u – površinska brzina fluida ($m s^{-1}$)
-

u_p – brzina taloženja čestica (m s^{-1})

u_o – oscilatorna brzina (m s^{-1})

v – brzina (m s^{-1})

a – ubrzanje (m s^{-2})

x – pomeraj (m)

x_0 – amplituda oscilacija (mm)

z – rastojanje između pregrada (m)

Z – bezdimenziono rastojanje između pregrada

b – karakteristična dimenzija sistema

V – zapremina (m^3)

R – konstanta u jed. (1.7.7)

Grčka slova

ρ – gustina fluida (kg m^{-3})

μ – dinamička viskoznost fluida (Pas)

f – frekvencija oscilacija (Hz)

ω – ugaona brzina oscilacija (rad)

ψ – odnos brzine toka sa oscilacijama i brzine toka bez oscilacija

ζ – odnos povećanja pritiska

ε_n – gubitak energije osnovnog toka (W m^{-3})

ε_v – gubitak energije oscilatorne komponente toka (W m^{-3})

ε_t – ukupni gubitak energije u ROT (W m^{-3})

$\bar{\gamma}$ – brzina deformacije u reaktoru sa oscilatornim tokom (s^{-1})

γ_{st} – srednja brzina deformacije u reaktoru sa mehaničkim mešanjem (s^{-1})

γ – raspodela čestica u uređaju

η – efikasnost mešanja

II DINAMIKA STRUJANJA TEČNOSTI U ROT

2. DINAMIKA STRUJANJA TEČNOSTI U ROT

Rezultati istraživanja dinamike strujanja tečnosti u ROT su publikovani u časopisu *Jurnal of Chemical Technology and Biotechnology* (vol 92, str. 2178 – 2188) pod nazivom „RESIDENCE TIME DISTRIBUTION AND PÉCLET NUMBER CORRELATION FOR CONTINUOUS OSCILLATORY FLOW REACTORS“, Slavnić D., Živković L., Bjelić A., Bugarski B., Nikačević N. [84].

2.1 UVOD

Mešanje pomoću oscilatornog toka fluida predstavlja veoma efikasnu alternativu konvencionalnom mešanju u cevnim reaktorima [5]. Reaktori sa oscilatornim tokom fluida i pregradama predstavljaju uspešan primer intenzifikacije procesa koji su već našli primenu u procesnoj industriji o čemu je bilo reči u poglavlju I. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA [71–83]. U ovim reaktorima mešanje je unapređeno oscilacijama, i vodi ka uštedama u investicijama kao i ka boljoj kontroli reakcija [1, 39, 74, 82, 84–86].

Kontinualni reaktori sa oscilatornim tokom fluida se sastoje od cevi u kojoj su na jednakim rastojanjima postavljene pregrade. Oscilatorno kretanje fluida je superponirano na osnovni tok procesnog fluida [1, 17, 84]. U ovim reaktorima celokupna zapremina fluida osciluje i periodično se sudara sa pregradama i tada dolazi do formiranja vrtloga u ćelijama između pregrada, što izaziva turbulencije [87]. Vrtlozi proizvode veoma dobro radijalno mešanje u zonama između dve uzastopne pregrade pri čemu intenzitet mešanja zavisi samo od frekvencije i amplitude oscilovanja fluida [5, 12, 13]. Ipak, aksijalno mešanje koje se ostvaruje u reaktorima sa oscilatornim tokom utiče na odstupanje od željenog klipnog strujanja fluida [15, 54, 55]. Zbog toga je radi pouzdanog modelovanja, uvećanja razmera i kontrole bitno što preciznije opisati strujanje tečnosti u reaktoru. Jedan od najboljih pristupa za definisanje neidealnog proticanja je ispitivanje raspodele starosti fluida na izlazu iz reaktora (RSF) koje se realizuje kroz eksperimente sa obeleženom supstancom (OS) i populaciono modelovanje i analizu. Navedeni pristup je najbolji zbog jednostavnosti i tačnosti koja rezultiraju modelima RSF koji se direktno i sa velikom pouzdanošću mogu generalno koristiti za modelovanje, optimizaciju i kontrolu rada reaktora [12, 36, 84].

2.2 EKSPERIMENTALNI DEO

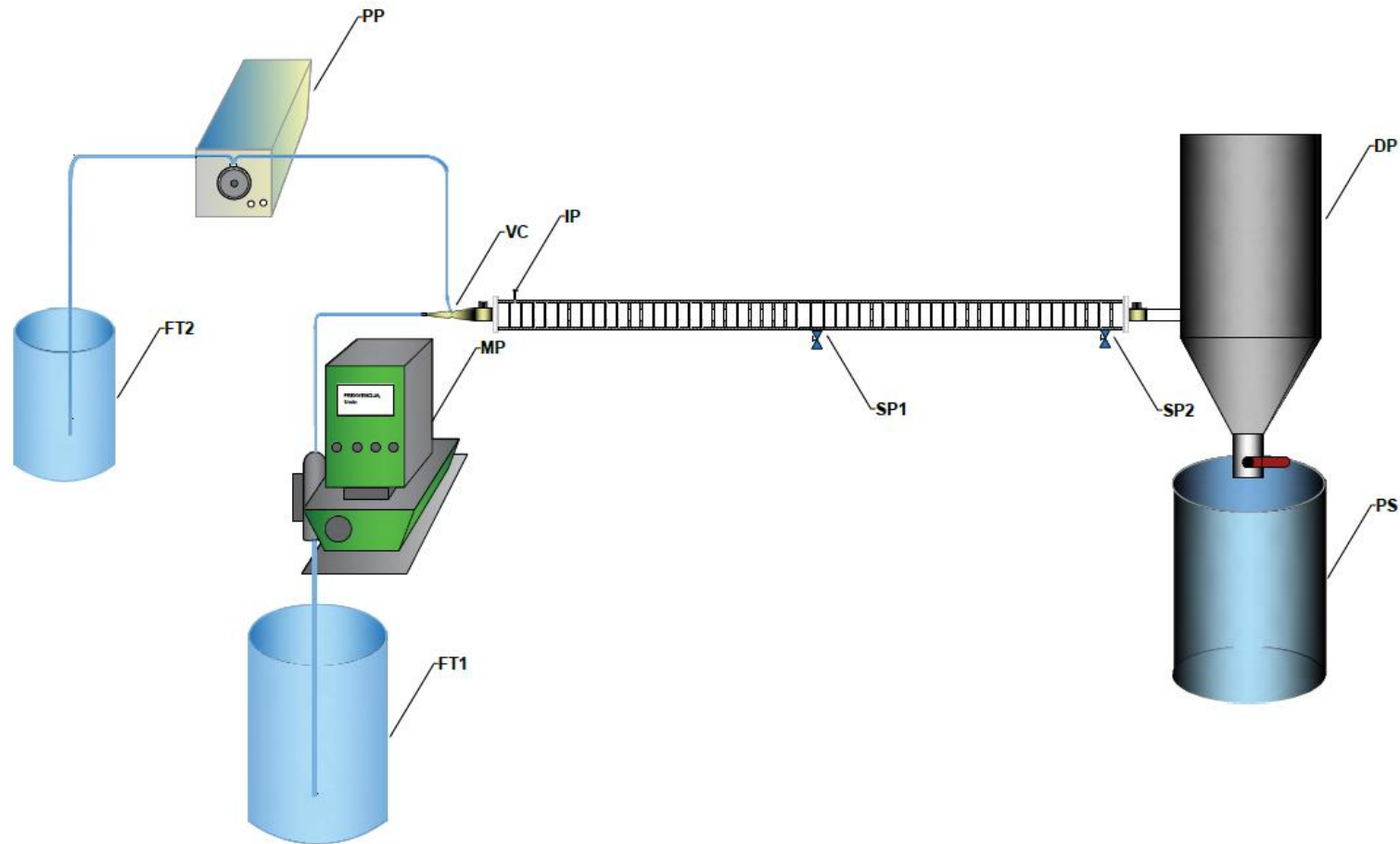
Aparatura

Eksperimenti koji su za cilj imali utvrđivanje raspodele starosti fluida na izlazu iz reaktora, odnosno načina proticanja tečne faze kroz ROT su izvedeni na aparaturi prikazanoj na slici 2.2.1.

Aparaturu čini sledeća oprema: dve napojne posude, damper posuda, prihvatna posuda, špric, membranska pumpa, peristaltička pumpa i reaktor sa oscilatornim tokom fluida koji predstavlja glavni deo aparature.

U navedenim eksperimentima ispitivana je dinamika strujanja tečnosti u dva geometrijski slična reaktora iste dužine i odnosa površine otvora na pregradama i površine unutrašnjeg poprečnog preseka reaktora, a različitog unutrašnjeg prečnika. Geometrijske karakteristike primenjenih reaktora date su u tabeli 2.2.1. Svaki od reaktora sastoji se od horizontalne poliakrilne cevi u kojoj su na jednakim rastojanjima postavljene prstenaste pregrade od čelika. Rastojanje između pregrada odgovara 1,5x unutrašnji prečnik reaktora, što je u skladu sa preporučenim rastojanjima u literaturi [12, 15, 16, 17]. Pregrade su fiksirane unutar reaktora pomoću tri uzdužne šipke i postavljene su veoma blizu unutrašnjeg zida cevi. Rastojanje između unutrašnjeg zida reaktora i pregrada je 2 mm odnosno 1 mm, za ROT1 i ROT2, respektivno [84].

Unutrašnji prečnik reaktora i pregrada je takav da je odnos površine poprečnog preseka reaktora i površine otvora na pregradama 21,3 % u slučaju oba reaktora.



Slika 2.2.1. Shematski prikaz korišćene aparature. FT1, 2 – napojni sudovi, MP –membranska pumpa, PP – peristaltička pumpa, DP – damper posuda, PS – prihvatna posuda, SP1,2 – mesta uzorkovanja, VC – venturi cev i IP – mesto injektovanja OS

Tabela 2.2.1. Geometrijske karakteristike ROT1 i ROT2

Reaktor	Unutrašnji prečnik D , mm	Prečnik otvora na pregradama d , mm	Dužina reaktora L , m	Debljina pregrada δ , mm	Rastojanje između pregrada z , mm	Br. pregrada, N_B	Br. ćelija, N_C	Zapremina reaktora, V , L
ROT1	44	20	2,0	2,0	65	29	30	2,730
ROT2	26	12	2,0	1,0	39	51	52	0,998

Pregrade reaktor dele na ćelije istih zapremina, osim u slučaju prve i poslednje ćelije koje imaju različitu dužinu od ostalih ćelija iz tehničkih razloga koji se tiču same izrade reaktora. Broj ćelija u reaktorima je dat je u tabeli 2.2.1.

Na reaktorima se nalaze tri otvora: jedan za injektovanje obeležene supstance (OS) – IP na slici 2.2.1 i dve za uzimanje uzoraka – SP1 i SP2. Damper posuda je otvorena posuda velike zapremine koja ima ulogu u prigušivanju oscilacija toka fluida na izlazu iz reaktora (ne reflektuje oscilacije).

Voda se iz napojnih posuda u reaktor transportuje dvema pumpama, za dva odvojena toka: membranskom, dozir pumpom Grundfos Alldos (tip DX221) sa kontrolnom jedinicom (primarni tok fluida) i peristaltičkom pumpom Masterflex Cole Palmer (sekundarni tok fluida). Tokovi se mešaju neposredno pre ulaska u reaktor, u Venturi cevi (VC na slici 2.2.1).

Primarnim tokom ostvaruje se oscilatorno kretanje fluida kroz reaktor generisano radom membranske pumpe (periodični hod membrane pumpe). Frekvencija i/ili zapremina fluida po jednom hodu membrane (tzv. udaru) se podešava pomoću kontrolne jedinice membranske pumpe. Amplituda se podešava izborom zapremine fluida koju membranska pumpa transportuje po jednom hodu/pomeranju membrane, V_0 i to u opsegu od 3,0 do 9,4 mL. Frekvencija oscilatornog kretanja predstavlja brzinu kojom se odvija hod membrane pumpe i u ovim eksperimentima opseg vrednosti frekvencije je od 0,5 do 2 Hz. Kapacitet, odnosno protok membranske pumpe zavisi od izabrane frekvencije i/ili amplitude i može imati vrednost u opsegu je od 0 do 66 Lh⁻¹. Srednja vrednost protoka membranske pumpe (oscilatorni tok) se može izračunati primenom sledeće jednačine:

$$Q_o = f V_o \cdot 3600 \quad (2.2.1).$$

Membranske pumpe predstavljaju specijalnu varijantu klipnih pumpi koje koriste klipno dejstvo membrane za „premeštanje“ tečnosti u komoru pumpe i iz nje. Kada pumpa „gura“ tečnost iz komore, zapremina fluida koja napušta komoru ulazi u reaktor i ostvaruje se direktan protok. U toku perioda kada pumpa usisava tečnost u komoru, u reaktoru se javlja povratni tok. Budući da je nepovratni ventil postavljen na potisu membranske pumpe s ulogom da značajno priguši povratni tok, protok direktnog toka je značajno veći od protoka povratnog toka.

Iz zapremine fluida koju pumpa transportuje po jednom hodu membrane može se izračunati amplituda u mm. Iz pretpostavke da zapremina fluida po jednom hodu membrane odgovara zapremini elipsoida, a da amplituda odgovara visini u središtu elipsoida, sledi:

$$x_0 = \frac{3V_o}{4\pi D^2} \quad (2.2.2).$$

Nominalni protok membranske pumpe, definisan od strane proizvođača pumpe, se pre svakog eksperimenta meri i podešava. Tačna vrednost protoka membranske pumpe se dobija merenjem zapremine tečnosti koju pumpa ispumpava u toku određenog vremenskog perioda. Dobijena vrednost protoka membranske pumpe se koristi u daljoj analizi.

Sekundarni, neoscilatorni tok se u reaktor uvodi peristaltičkom pumpom kapaciteta $Q_s = 0 - 28,9 \text{ Lh}^{-1}$. Ukupni – neto protok tečnosti koja se uvodi u reaktor je jednak zbiru primarnog i sekundarnog protoka tečnosti [84]:

$$Q = Q_o + Q_s \quad (2.2.3).$$

Materijali, metode i uslovi

U okviru ovog dela istraživanja veliki broj eksperimenata je izveden u cilju određivanja uticaja operativnih uslova na način proticanja tečne faze kroz kontinualni reaktor sa oscilatornim tokom fluida.

Izvedeni eksperimenti se mogu razvrstati u tri grupe:

- a) Eksperimenti u kojima ne postoji oscilatorni tok tečnosti; gde se tečnost u reaktor uvodi samo pomoću peristaltičke pumpe (sekundarni, neoscilatorni tok);
- b) Eksperimenti u kojima postoji samo oscilatorno kretanje tečnosti; gde se tečnost u reaktor uvodi samo membranskom pumpom (primarni oscilatorni tok) i
- c) Eksperimenti u kojima se tečnost u reaktor uvodi obema pumpama (primarni i sekundarni tok).

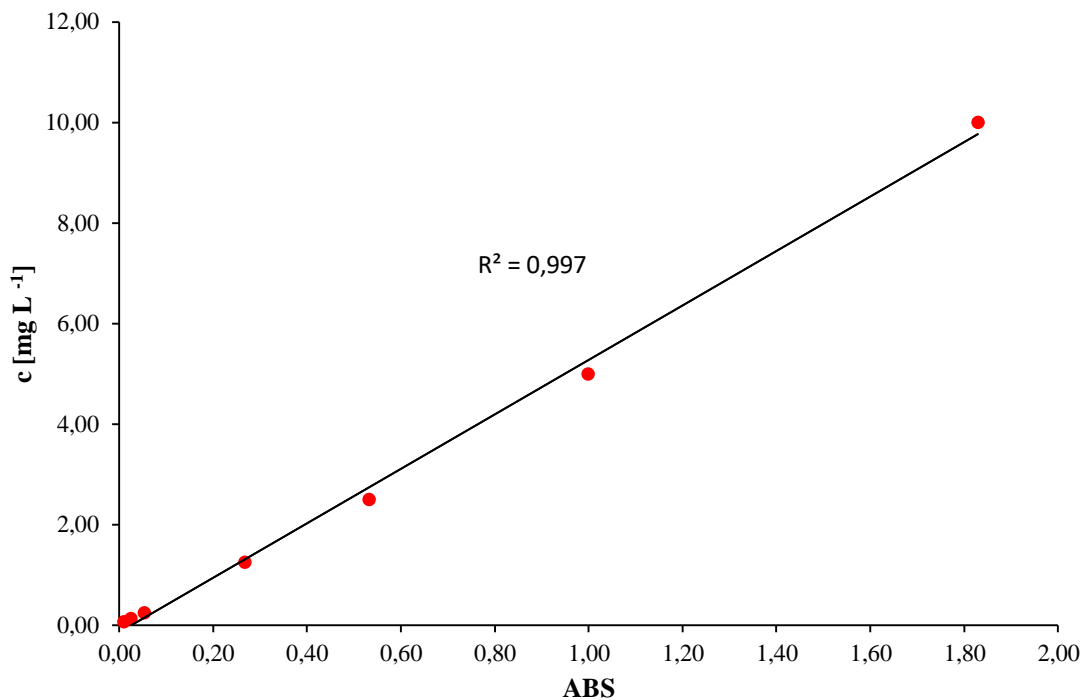
U svim grupama eksperimenata kao procesni fluid korišćena je voda iz vodovoda atmosferskog pritiska i temperature. Kao obeležena supstanca (OS) u eksperimentima je korišćen rastvor metilenskog plavog koncentracije $2,0 \text{ gL}^{-1}$ (proizvođač: Riedel – De Haën Ag Seelze–Hannover), a zbog velike optičke gustine pri malim koncentracijama. Apsorpcioni maksimum ove boje je na 664 nm.

Kako bi se odredio način proticanja tečnosti kroz ROT primenjena je metoda praćenja odziva sistema na impulsnu promenu. U svakom eksperimentu, pre injektovanja OS u reaktor, oscilatorni protok (amplituda i frekvencija) i sekundarni protok se podešavaju na željene vrednosti i kroz reaktor tečnost protiče sve do uspostavljanja stacionarnog protoka (oko 1,5 srednjeg teorijskog vremena zadržavanja u reaktoru izračunatog iz ukupnog protoka i zapremine tečnosti u reaktoru). U vremenu označenom kao $t = 0 \text{ s}$, 5 mL OS (u slučaju ROT 1) i 2 mL (za ROT2) je injektovano za cca 0,5 s u drugu ćeliju reaktora (IP na slici 2.2.1) pomoću šprica zapremine 10 mL. Uzorci tečnosti koji u sebi sadrže određenu koncentraciju OS se uzimaju u zadatim vremenskim trenucima na rastojanju od 1,93 m i 1,8 m od mesta injektovanja OS, za ROT1 i ROT2, respektivno (SP2 na slici 2.2.1) [84].

Kao što je već pomenuto, OS se injektuje u drugu ćeliju reaktora u kojoj je glavni fluid već dobro izmešan (vrtlozima koji se formiraju između pregrada), što omogućava dobru i brzu raspodelu OS po poprečnom preseku reaktora. Budući da se uzorci uzimaju iz preposlednje ćelije reaktora, obezbeđeno je da uzeti uzorci i tu budu dobro izmešani.

Nakon uzimanja određenog broja uzoraka, odnosno nakon završetka eksperimenta (pre početka sledećeg eksperimenta), sistem se prazni i ispira čistom vodom.

Uzorci fluida se iz reaktora uzimaju u određenim vremenskim intervalima, u zavisnosti od ukupnog protoka tečnosti u reaktoru, i analiziraju se. Zapremina uzetih uzoraka je bila oko 1 mL – dovoljna, a mala količina koja ne utiče na ukupni protok tečnosti i njen način proticanja kroz reaktor. Apsorbansa uzoraka određuje se spektrofotometrijski primenom UV – VIS spektrofotometra (model: UV – 3100 SPECTROPHOTOMETER MAPADA). Iz izmerenih vrednosti apsorbance jednostavno se izračunavaju koncentracije OS u analiziranim uzorcima primenom prethodno određene kalibracione prave. Kalibraciona prava se određuje na osnovu poznatih koncentracija OS. Za željeni opseg koncentracije OS, utvrđena je linearna zavisnost između absorbance i koncentracije, sa vrednošću $R^2 = 0,99$ (slika 2.2.2) [84].



Slika 2.2.2. Kalibraciona prava za jedan od izvedenih eksperimenata u ROT2

Oko 30 % izvedenih eksperimenata je ponovljeno kako bi se utvrdila doslednost i ponovljivost eksperimenata. Izračunata eksperimentalna greška za koncentraciju OS je oko 5 % i uključuje eksperimentalne greške koje se mogu javiti prilikom uzimanja

uzoraka, UV merenja i kalibracije. Greška merenja vremena koja se može javiti prilikom uzimanja uzoraka, tj. beleženja vremena uzorkovanja je oko 0,5 s.

Ukupno je izvedeno 70 eksperimenata: 42 u ROT1 (veći unutrašnji prečnik) i 28 u ROT2 (manji unutrašnji prečnik). Operativni uslovi: amplituda, frekvencija i sekundarni (neoscilatorni) protok tečnosti su varirani u širokom opsegu: 1,40 – 13,30 mm, 0,5 – 2,0 Hz, i 0 – 28,3 L h⁻¹, respektivno. Takođe, veliki je broj eksperimenata u kojima su vrednosti dva operativna uslova bile konstantne, a vrednost trećeg je varirana kako bi se jasno i pouzdano utvrdio uticaj operativnih uslova na način proticanja tečnosti kroz reaktor [84].

Operativni uslovi se mogu videti u tabeli A.1. i A.2. u Prilogu ove doktorske disertacije.

2.3 MATEMATIČKI MODEL PROTICANJA I KORELACIJA PEKLEOVOG BROJA

Kako bi se opisao neidealni način proticanja tečnosti kroz ROT primenjen je model klipnog strujanja fluida sa aksijalnom disperzijom (AD model) [51].

Materijalni bilans OS u bezdimenzionom obliku, dat je sledećom jednačinom:

$$\frac{\partial C}{\partial \theta} = \frac{1}{Pe} \frac{\partial^2 C}{\partial Z^2} - \frac{\partial C}{\partial Z} \quad (2.3.1)$$

pri čemu su Danckwerts – ovi [88] granični uslovi:

$$C \Big|_{0^-} = C \Big|_{0^+} - \frac{1}{Pe} \frac{\partial C}{\partial Z} \Big|_{0^+}, \quad Z = 0 \quad (2.3.2)$$

$$\frac{\partial C}{\partial Z} = 0, \quad Z = 1 \quad (2.3.3).$$

Stepen aksijalnog povratnog mešanja definisan je kroz *Pe* broj koji je inverzno proporcionalan koeficijentu aksijalne disperzije:

$$Pe = \frac{uL}{D_e} \quad (\text{poglavlje I: 1.3.10}).$$

Pored modelovanja načina proticanja tečne faze kroz ROT primenom AD modela, razvijena je i bezdimenziona empirijska korelacija za izračunavanje Pe broja, uz pretpostavku da se Pe broj ne menja duž reaktora. Izbor bezdimenzionih brojeva koji figurišu u razvijenoj korelaciji i oblik iste, su izvedeni na osnovu detaljne analize eksperimentalnih rezultata. Pored toga, uzeti su obzir zaključci i zapažanja iz literature [4, 12, 17, 54, 55, 87, 89, 90]. Uporedo sa razvijanjem korelacije, rađene su i analize osetljivosti modela, sa pretpostavkom različitih oblika korelacije i brojem promenljivih, odnosno bezdimenzionih grupa koje figurišu u njoj. Potrebno je da razvijena korelacija prati trendove dobijene eksperimentalno i ne uključuje promenljive koje su u značajnoj unakrsnoj korelaciji. Da bi se izvršila dobra selekcija oblika korelacije i postavila najjednostavnija korelacija, primenjeni su različiti statistički testovi i dobro analizirani eksperimentalni rezultati (uočeni trendovi) [84].

Analizom eksperimentalnih rezultata, za širok opseg operativnih uslova, nije utvrđena oblast u kojoj koeficijent aksijalne disperzije, D_e ima minimalnu vrednost, kako je zabeleženo u nekim radovima u literaturi [6, 12, 36, 55] i zbog toga je razvijena korelacija jednostavnog oblika. Empirijska korelacija je definisana sledećom jednačinom:

$$\frac{1}{Pe} = k Re_o^{p_1} Str^{p_2} \Psi^{p_3} \quad (2.3.4).$$

Oscilatorni Rejnoldsov broj, Re_o , predstavlja meru intenziteta oscilatornog mešanja koje se predaje sistemu, pri čemu proizvod $x_o\omega$ predstavlja maksimalnu oscilatornu brzinu ($m\ s^{-1}$):

$$Re_o = \frac{x_o\omega D\rho}{\mu} \quad (\text{poglavlje I: 1.3.4})$$

Strauhalov broj je definisan kao odnos prečnika reaktora i amplitude i predstavlja meru efikasnosti širenja vrtloga:

$$Str = \frac{D}{4\pi x_o} \quad (\text{poglavlje I: 1.3.8}).$$

Odnos Rejnoldsovih bojeva, odnosno odnos brzina predstavlja relativnu meru intenziteta oscilacija:

$$\psi = \frac{Re_o}{Re_n} \quad (\text{poglavlje I: 1.3.9})$$

gde je neto Rejnoldsov broj:

$$Re_n = \frac{uD\rho}{\mu} \quad (\text{poglavlje I: 1.3.3}).$$

Kako bi oscilatorni tok fluida diktirao režim mešanja neophodno je da on bude dominantan (primarni tok fluida većeg protoka od protoka sekundarnog toka, ($\psi > 1$) [17].

Predložena empirijska korelacija povezuje operativne parametre i veličinu reaktora sa koeficijentom aksijalne disperzije odnosno Pe brojem (koji je definisan jednačinom 2.3.4). Važno je napomenuti i to da je predložena korelacija značajno jednostavnija od najčešće primenjivane Crittenden – ove jednačine (poglavlje I, jed. 1.7.6) [50].

Navedena jednačina je sledećeg oblika:

$$\frac{1}{Pe} = A_1 Re_n^r + A_2 Re_o^m Str^{m-q} + \frac{A_3 Re_n^{2r}}{A_1 Re_n^r + A_2 Re_o^m Str^{m-q}} \quad (\text{poglavlje I: 1.7.6})$$

gde su A_1, A_2, A_3, r, m, q parametri koji zavise od posmatranog sistema [1, 50].

Određivanje parametara predložene korelacije: k, p_1, p_2, p_3 je urađeno istovremeno za svih 70 eksperimenata izvedenih u ROT1 i ROT2. Za određivanje parametara primenjen je programski paket *gPROMS* (Proces System Enterprise, UK) u kojem su simultano optimizovani AD model (jed. 2.3.1 – 3) i Pe korelacija (2.3.4). Kao funkcija cilja u optimizaciji korišćena je srednja relativna greška. Treba napomenuti da u proračunu nije korišćena idealna impulsna promena na ulazu u reaktor sa graničnim uslovima definisanim jed. 2.3.2 i 2.3.3, već je uzeta eksponencijalna funkcija koja realnije opisuje injektovanje OS (jed. (2.3.5)):

$$C|_{t=0} = |C_0 e^{-50t}| \quad (2.3.5).$$

Parametri korelacije su određeni za opseg Re_o od 192 do 3454, Str od 0,16 do 2,51 i za ψ od 1,20 do 4,71. Dobljene su sledeće vrednosti parametara (sa opsegom pouzdanosti):

$$k = 0,121 \pm 0,0233$$

$$p_1 = -0,308 \pm 0,0301$$

$$p_2 = 0,470 \pm 0,0176$$

$$p_3 = 0,253 \pm 0,0347.$$

Zamenom dobijenih vrednosti parametara u jed. 2.3.4 dobija se konačni oblik predložene korelacije:

$$\frac{1}{Pe} = 0,12 Re_o^{-0,31} Str^{0,47} \psi^{0,25} \quad (2.3.6).$$

Predložena korelacija i određene vrednosti njenih parametara su zadovoljili sve statističke testove u softveru *gPROMS*. Procenat tačnosti određenih parametara u odnosu na 95 % intervala pouzdanosti, $t_{95\%}$ je veći od referentne t – vrednosti za sve parametre. Referentna t – vrednost iznosi 1,664, a $t_{95\%}$ za parametre predložene korelacije: k , p_1 , p_2 i p_3 iznose 5,21; 10,2; 34,0 i 7,3, respektivno. Takođe, ponderisani ostatak, χ – vrednost je manja od χ^2 vrednosti. Dalje, matrice varijanse i ko – varijanse nisu pokazale jaku zavisnost između parametara [84].

2.4 REZULTATI I DISKUSIJA

Uzorkovanje i merenje apsorpcije rezultira koncentracijom OS u funkciji vremena. Dobijene vrednosti koncentracije OS u vremenu se konvertuju u krive raspodele starosti fluida na izlazu (RSF): E – krive, što se može videti u daljem tekstu.

Srednje vreme zadržavanja se izračunava po jednačini:

$$\bar{t} = \frac{\sum_i t_i c_i \Delta t_i}{\sum_i c_i \Delta t_i} \quad (2.4.1)$$

gde c_i predstavlja koncentraciju OS u vremenu t_i , a Δt_i vremenski interval između dva uzastopna uzimanja uzoraka [51].

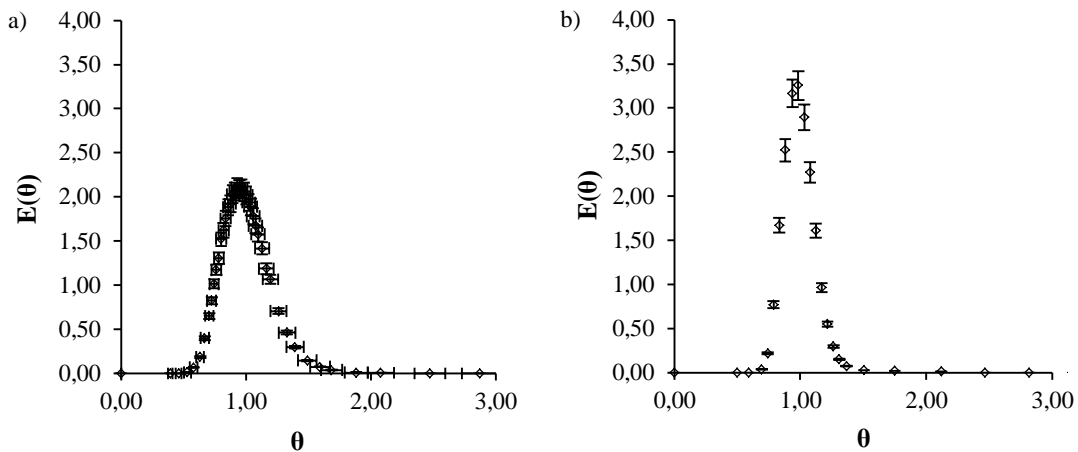
A kriva raspodele:

$$E(\theta) = \bar{t}E(t) = \bar{t} \frac{c_i}{\sum_i c_i \Delta t_i} \quad (2.4.2).$$

Bezdimenziono vreme se izračunava primenom sledeće jednačine:

$$\theta = \frac{t_i}{\bar{t}} \quad (2.4.3).$$

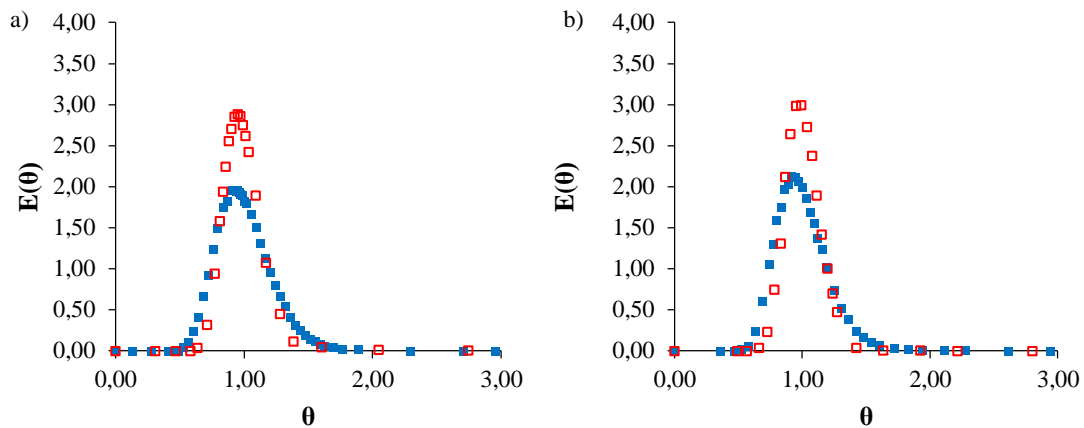
Na slici 2.4.1 prikazane su E – krive u zavisnosti od bezdimenzionog vremena (θ) za dva eksperimenta izvedena u reaktorima različitih unutrašnjih prečnika, za različite uslove oscilatornog toka. Na slici 2.4.1, prikazane su eksperimentalne greške, dok na graficima koji slede one nisu prikazane zbog bolje preglednosti [84].



Slika 2.4.1. Profil RSF u različitim ROT i pri različitim operativnim uslovima: a) $f=1,0$ Hz, $x_0=3,36$ mm, $Q_s=7,8$ Lh⁻¹, $Q_o=24,5$ Lh⁻¹, $Re_n=259$, $Re_o=924$, $Str=1,04$, $\psi=3,57$ za ROT1 b) $f=1,83$ Hz, $x_0=5,18$ mm, $Q_s=15,3$ Lh⁻¹, $Q_o=24,5$ Lh⁻¹, $Re_n=535$, $Re_o=1545$, $Str=0,4$, $\psi=2,89$ za ROT2

Eksperimentalni rezultati prikazani na slici 2.4.1 potvrđuju da se u ćelijama između pregrada reaktora ostvaruje veoma dobro mešanje i da su krive raspodele starosti fluida na izlazu relativno uske i simetrične. Međutim, ukoliko se uporede krive na slici 2.4.1 a) i b), može se uočiti da postoji određeni stepen odstupanja od klipnog strujanja i značajan uticaj operativnih uslova na RSF tečnosti u ROT.

Budući da su eksperimenti izvedeni u dva reaktora različitih unutrašnjih prečnika, krive RSF za ROT1 i ROT 2, za približne vrednosti oscilatornog Re broja su prikazane i upoređene na slici 2.4.2. Kao što se na slici 2.4.2 može videti, E – kriva za reaktor manjeg prečnika je uža i za manje (a) i za veće (b) vrednosti Re_o . Takođe, ovo zapažanje ukazuje na jak uticaj oscilatornih uslova (frekvencije i amplitude) na RSF. Osim toga, implicira da održavanje iste vrednosti Re_o broja u geometrijski sličnim reaktorima nije dovoljno da bi se u njima ostvario isti način proticanja tečnosti.



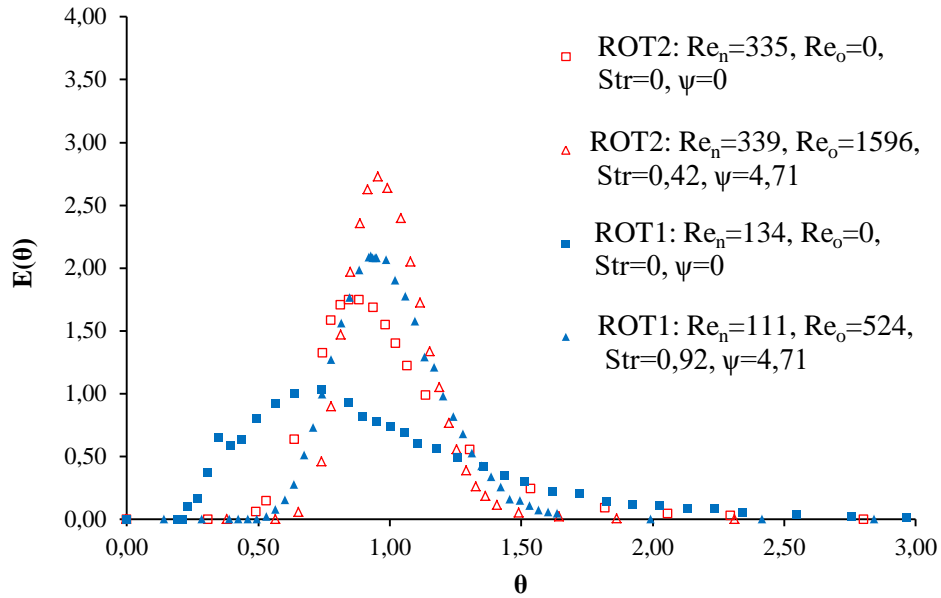
Slika 2.4.2. Uticaj prečnika reaktora na RSF za slične vrednosti Re_o broja pri operativnim uslovima: a) ROT1 – $f=0,60$ Hz, $x_0=4,57$ mm, $Q_s=0$, $Q_o=20,0$ Lh⁻¹, $Re_o=376$ (puni simboli, plava boja) i ROT2 – $f=1,50$ Hz, $x_0=3,06$ mm, $Q_s=0$, $Q_o=11,7$ Lh⁻¹, $Re_o=374$ (otvoreni simboli, crvena boja) b) ROT1 – $f=1,67$ Hz, $x_0=4,47$ mm, $Q_s=0$, $Q_o=54,4$ Lh⁻¹, $Re_o=1025$ (puni simboli, plava boja) i ROT2 – $f=1,50$ Hz, $x_0=8,43$ mm, $Q_s=0$, $Q_o=32,2$ Lh⁻¹, $Re_o=1026$ (otvoreni simboli, crvena boja)

Kako bi se uočio uticaj oscilatornih i neoscilatornih operativnih uslova na RSF, odgovarajuće/izabrane E – krive su zajedno prikazane na slici 2.4.3. Na ovoj slici prikazane su E – krive za dva ROT različitog unutrašnjeg prečnika (puni simboli za ROT1 i otvoreni simboli za ROT2). Kvadratnim simbolima su označeni eksperimenti u kojima nije bilo oscilatornog toka (postojao je samo sekundarni, neoscilatorni tok, Q_s). Trougaonim simbolima prikazani su eksperimenti u kojima je postojao samo oscilatorni tok tečnosti (Q_o), bez sekundarnog toka sa približno istim vrednostima Re_n kao i u eksperimentima bez oscilatornog toka (kvadratni simboli).

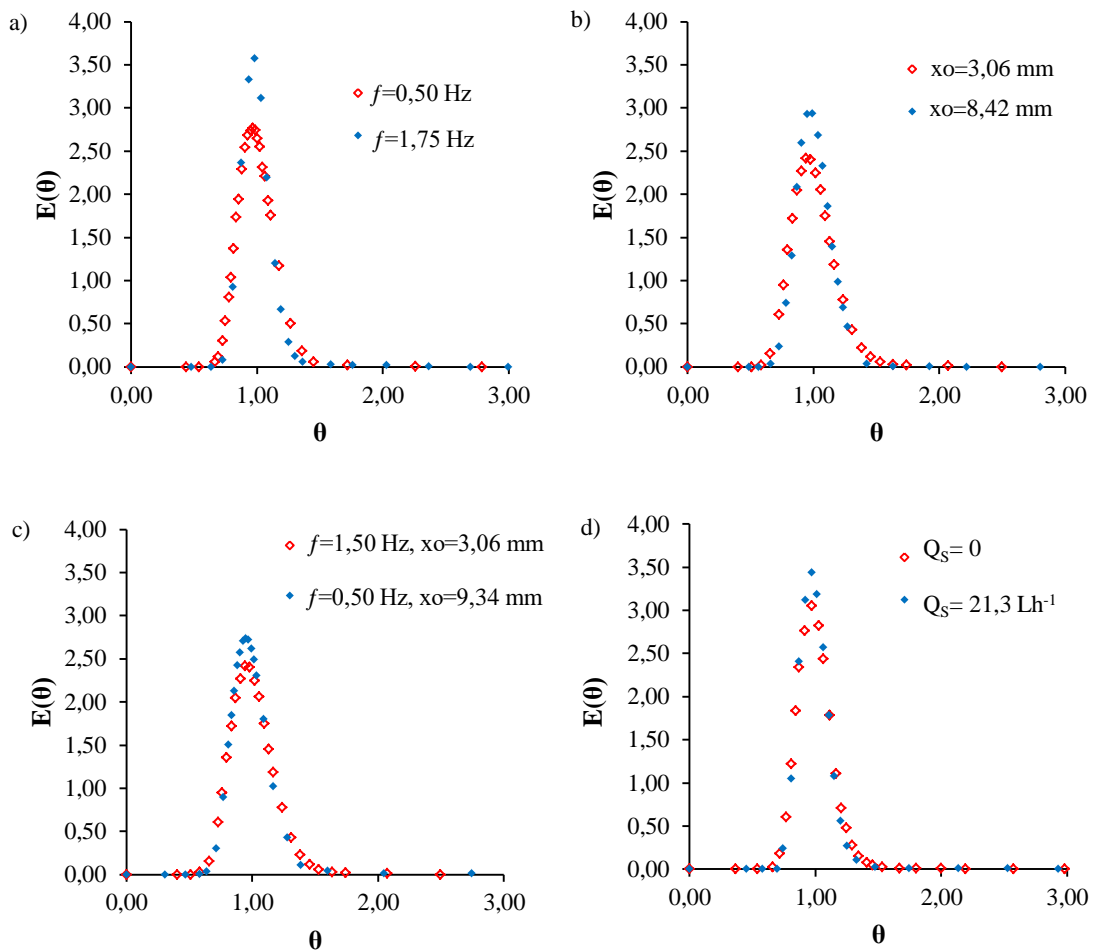
Na slici 2.4.3. se jasno može videti da oscilatorni tok rezultira značajno užom RSF krivom u poređenju sa neoscilatornim tokom u reaktoru sa pregradama. Krive RSF pri oscilatornom toku tečnosti u reaktoru manjeg prečnika su uže od onih u reaktoru većeg unutrašnjeg prečnika, kao što je već zaključeno sa slike 2.4.2.

Međutim, kada se za ova dva eksperimenta (trougaoni simboli na slici 2.4.3, puni za ROT1 i otvoreni za ROT2) uporede ukupne vrednosti protoka oscilatornog toka ($Q_o= 13,9$ Lh⁻¹ za ROT1 – veći unutrašnji prečnik i $Q_o= 25,0$ Lh⁻¹ za ROT2 – manji

unutrašnji prečnik), rezultujuće krive RSF imaju očekivani oblik budući da veći protok oscilatornog toka u reaktoru manjeg unutrašnjeg prečnika izaziva intenzivnije mešanje tečnosti i užu RSF, iako su neto Re brojevi slični [84].



Slika 2.4.3. Poređenje RSF za oscilatorni i neoscilatorni tok u dva reaktora različitog unutrašnjeg prečnika pri operativnim ulovima koji su prikazani u legendi



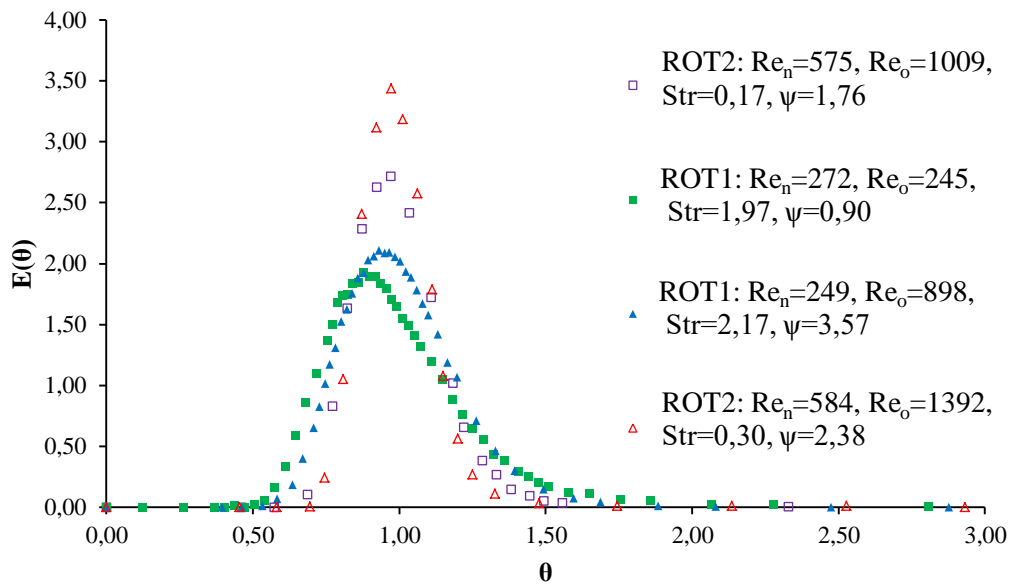
Slika 2.4.4. Uticaj operativnih parametara na RSF u ROT2 a) uticaj frekvencije pri konstantnom sekundarnom protoku i amplitudi, b) uticaj amplitude pri konstantnoj frekvenciji i protoku sekundarnog toka, c) uticaj amplitude pri konstantnom protoku oscilatornog i sekundarnog toka i d) uticaj sekundarnog toka pri konstantnoj frekvenciji i amplitudi

Detaljnije upoređivanje posebnih uticaja operativnih uslova na RSF je prikazano na slici 2.4.4. Na slici 2.4.4. a) se može uočiti da su za veće vrednosti frekvencije krive RSF uže, a samim tim i aksijalna disperzija manja (pri približno istim vrednostima amplitude). Budući da veća vrednost frekvencije talasa znači više vrtloga u ćelijama između pregrada, ovakav rezultat je očekivan i logičan. Slično važi i za uticaj amplitude na RSF ((slika 2.4.4.b)), konstantna frekvencija i protok sekundarnog toka) – veća vrednost amplitude rezultira intenzivnijim mešanjem kada se talasi sudaraju sa pregradama. Kao posledica, mešanje u ćelijama reaktora je efektivnije, a način

proticanja tečnosti kroz reaktor odgovara približno klipnom proticanju. Kao što je već pomenuto ranije, drugi autori [6, 12, 36, 55] su utvrdili da sa povećanjem vrednosti amplitude, aksijalna disperzija opada do određene vrednosti amplitude (minimum aksijalne disperzije). Nakon toga, aksijalna disperzija raste sa povećanjem amplitude. U ovom istraživanju je pokazano da sa povećanjem amplitude aksijalna disperzija opada što je posledica konfiguracije sistema. Naime, u eksperimentima izvedenim u ovoj disertaciji kao izvor oscilatornog toka korišćena je membranska pumpa čiji rad je takav da se u sistemu javlja minimalni povratni protok (videti podpoglavlje 2.2). Ovakav uticaj amplitude i frekvencije na aksijalnu disperziju je u skladu sa zapažanjima Oliva i saradnika [56] koji su utvrdili da u sistemima u kojima se koristi membranska pumpa kao izvor oscilatornog toka, aksijalna disperzija opada sa povećanjem protoka membranske pumpe, odnosno sa povećanjem frekvencije i/ili amplitude.

E – krive dobijene pri različitim kombinacijama frekvencije i amplitude koje daju isti ukupni protok oscilatornog toka, pri čemu je protok neoscilatornog toka konstantan su prikazani na slici 2.4.4.c). Na ovoj slici se može zapaziti da su dobijene E – krive pri manjim vrednostima frekvencije i većim vrednostima amplitude (puni kvadratni simboli) uže, sa višim pikom (većim vrednostima maksimuma) nego E – krive dobijene za eksperimente sa većim vrednostima frekvencije i manjim vrednostima amplitude (otvoreni kvadratni simboli). Na osnovu ovoga, može se zaključiti da amplituda ima izraženiji uticaj nego frekvencija na način proticanja tečnosti kroz ROT.

Pored toga, sličan trend je uočen i za slučaj povećanja protoka sekundarnog, neoscilatornog toka, kao što se može videti na slici 2.4.4.d). Pri konstantnim vrednostima frekvencije i amplitude sa povećanjem ovog protoka krive RSF postaju uže, a aksijalna disperzija opada. Pored toga, ukoliko je sekundarni neoscilatorni tok dominantan u odnosu na primarni oscilatorni tok (veći protok sekundarnog toka), aksijalna disperzija se povećava. Ovaj uticaj se može videti na slici 2.4.5. Kriva RSF je šira za eksperimente u kojima je protok sekundarnog toka veći od protoka primarnog toka (puni kvadratni simboli za ROT1 i otvoreni kvadratni simboli za ROT2). Objašnjenje ovoga bi moglo biti da veći protok sekundarnog toka sprečava formiranje vrtloga. Može se zaključiti da je prisustvo sekundarnog toka korisno i sa pozitivnim uticajem na način strujanja fluida – približno klipno strujanje, ali samo ako je protok sekundarnog toka manji od protoka primarnog toka [84].



Slika 2.4.5. Uticaj odnosa protoka oscilatornog i neoscilatornog toka na RSF u dva ROT različitog unutrašnjeg prečnika

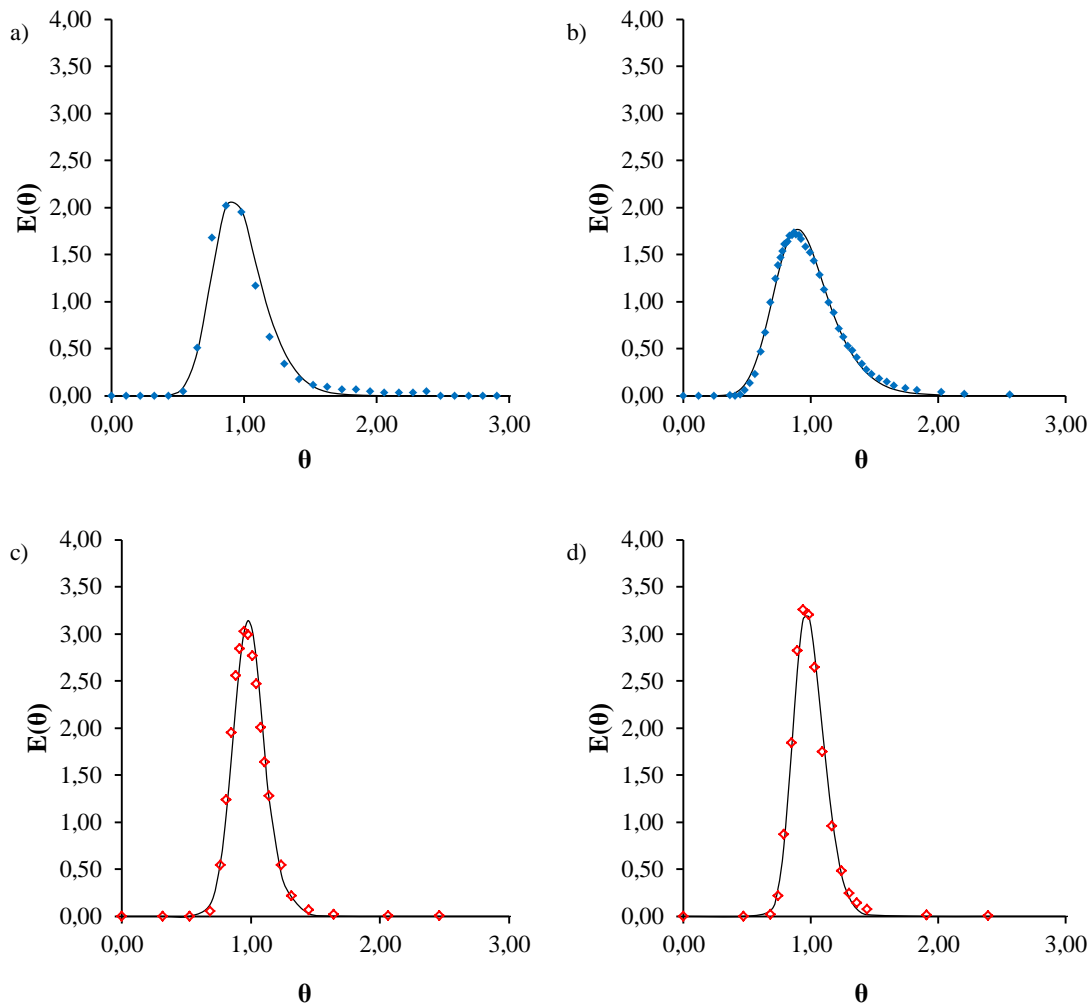
Prethodna analiza eksperimentalnih E – krivih za dva ROT različitih unutrašnjih prečnika za širok opseg oscilatornih uslova je pokazala da postoji značajan uticaj operativnih uslova na način proticanja tečnosti. Može se zaključiti da se intenzitet mešanja i odgovarajuća uska RSF mogu veoma dobro kontrolisati visokom vrednošću amplitude, pri čemu bi vrednost frekvencija mogla biti niska. Na taj način bi se ostvario mali ukupni neto protok neophodan u procesima koji uključuju spore reakcije (potrebno veće vreme zadržavanja). Prisustvo sekundarnog neoscilatornog toka (npr. sekundarni tok reaktanta ili rastvarača) može imati pozitivan uticaj na mešanje, sve dok je protok sekundarnog toka manji od protoka primarnog toka [84].

Bezdimenziona korelacija za Pe broj (jednačina 2.3.6.) kvantifikuje uočene uticaje operativnih uslova na RSF. Ukupni uticaj intenziteta oscilacija na Pe broj prikazan je kroz Re_o broj. Sa povećanjem protoka oscilatornog toka, odnosno Re_o broja, povećava se Pe broj, što za posledicu ima opadanje vrednosti koeficijenta aksijalne disperzije. Uticaj širenja vrtloga kroz reaktore različitog unutrašnjeg prečnika, kao i snažan uticaj amplitude (u poređenju sa frekvencijom i neoscilatornim tokom) je razmatran kroz Str broj. Kao što se u korelaciji može videti (jednačina 2.3.6.), vrednost Pe broja značajno opada (veća aksijalna disperzija) kada se Str broj povećava (manja

vrednost amplitude i /ili veći unutrašnji prečnik reaktora). Odnos oscilatornog i neto Re broja (koji uključuje i protok neoscilatornog toka), odnosno Ψ se uglavnom odnosi na uticaj neoscilatornog toka. Kao što se videlo u eksperimentalnim rezultatima, uticaj neoscilatornog toka je umeren, što i potvrđuje vrednost dobijenog parametra $p_3=0,253$ u jednačini 2.3.6.

Treba napomenuti da se predložena Pe korelacija ne može primeniti na reaktor sa pregradama u kojem ne postoji oscilatorni tok. Krive RSF za sistem u koji se ne uvodi oscilatorni tok su veoma slične profilima E – krive karakteristične za laminarno strujanje fluida (slika 2.4.3), a to znači da AD model nije pogodan za opisivanje ovakvih sistema.

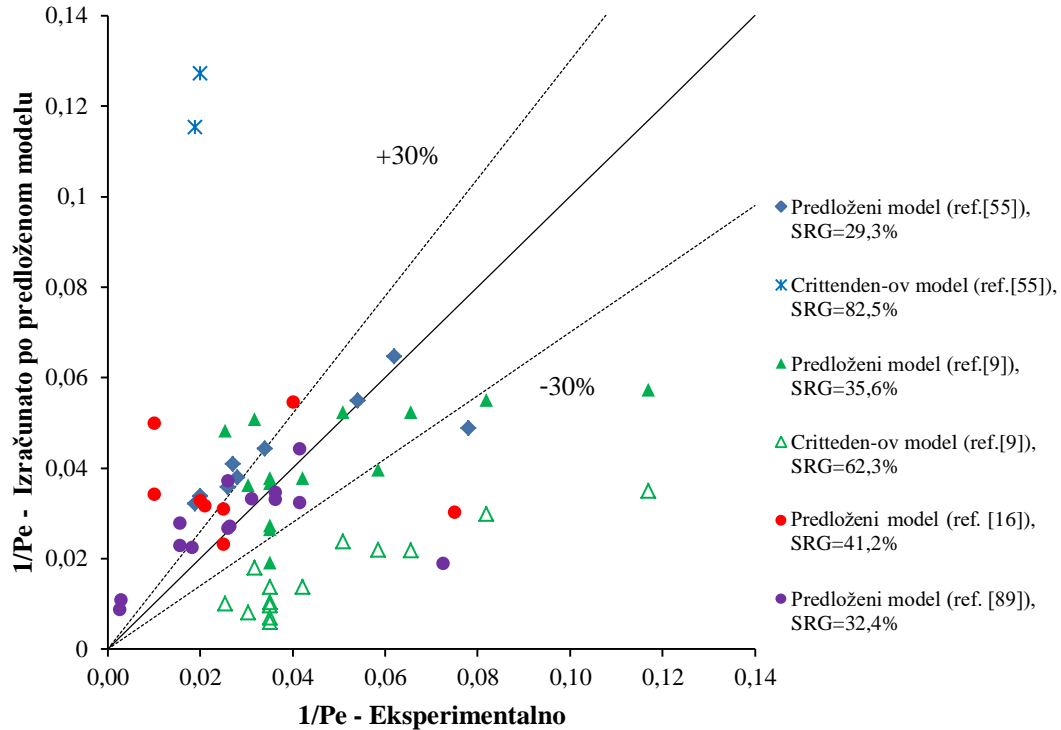
Na slici 2.4.6, upoređeni su profili RSF dobijeni primenom AD modela i predložene korelacije (linije) sa eksperimentalnim tačkama (simboli). Izabrano je nekoliko reprezentativnih eksperimenata za vizuelnu komparaciju, izvedenim pri različitim operativnim uslovima koji veoma dobro pokrivaju istraživanje. Dobijene E – krive primenom predložene korelacije se veoma dobro slažu sa eksperimentalnim rezultatima, što se može videti na slici 2.4.6. Blago odstupanje između modela i eksperimenata se uočava u prvom delu E – krive, kao i u zonama maksimuma (zona pika krive). Ako se uzmu u obzir: greške u izvođenju eksperimenata, širok opseg operativnih uslova, kao i to da je za dva ROT različitog unutrašnjeg prečnika primenjena ista korelacija, pomenuto neslaganje između modela i eksperimenata je neznatno. Slično slaganje je uočeno i za preostale eksperimente (videti tabele u Prilogu) koji nisu prikazani na slici 2.4.6. Ukupna srednja relativna greška uključujući sve eksperimente je 6 % [84].



Slika 2.4.6. Poređenje modela i eksperimenata: a) $Re_n=332$, $Re_o=1121$, $Str=1,43$ – ROT1; b) $Re_n=235$, $Re_o=215$, $Str=2,24$ – ROT1; c) $Re_n=300$, $Re_o=964$, $Str=0,17$ – ROT2 d) $Re_n=699$, $Re_o=1532$, $Str=0,22$ – ROT2

Predložena Pe korelacija je testirana primenom na eksperimentalne rezultate dostupne u literaturi [9, 16, 55, 89]. Dobijeni rezultati su upoređeni sa rezultatima koji su dobijeni primenom Crittenden – ove korelacije (poglavlje I, jed. 1.7.6) [50]. Poređenje rezultata je prikazano na slici 2.4.7. Slaganje između eksperimentalnih i izračunatih vrednosti po predloženoj korelaciji je prihvatljivo dobro, posebno ako se uzme u obzir različitost sistema i operativnih uslova. Kao što na slici 2.4.7 može videti, slaganje za predloženu korelaciju, sa srednjom relativnom greškom (SRG) od oko 30 %, je značajno bolje od slaganja za Crittenden – ove korelacije [50] sa SRG većom od 60 %. Pored tačnijeg predviđanja vrednosti $1/Pe$, predložena korelacija je znatno

jednostavnijeg oblika i ne uključuje parametre koje bi trebalo odrediti za svaki sistem posebno.



Slika 2.4.7. Poređenje korelacije iz ove disertacije jednačina (2.3.6) sa najčešće korišćenom, Crittenden – ovom korelacijom (poglavlje I, jed. 1.7.6) za eksperimentalne rezultate dostupne u literaturi ($Re_o=40 - 1717$, $Str=0,36 - 6,1$, $\psi=1,20 - 4,71$). Srednja relativna greška je prikazana u legendi

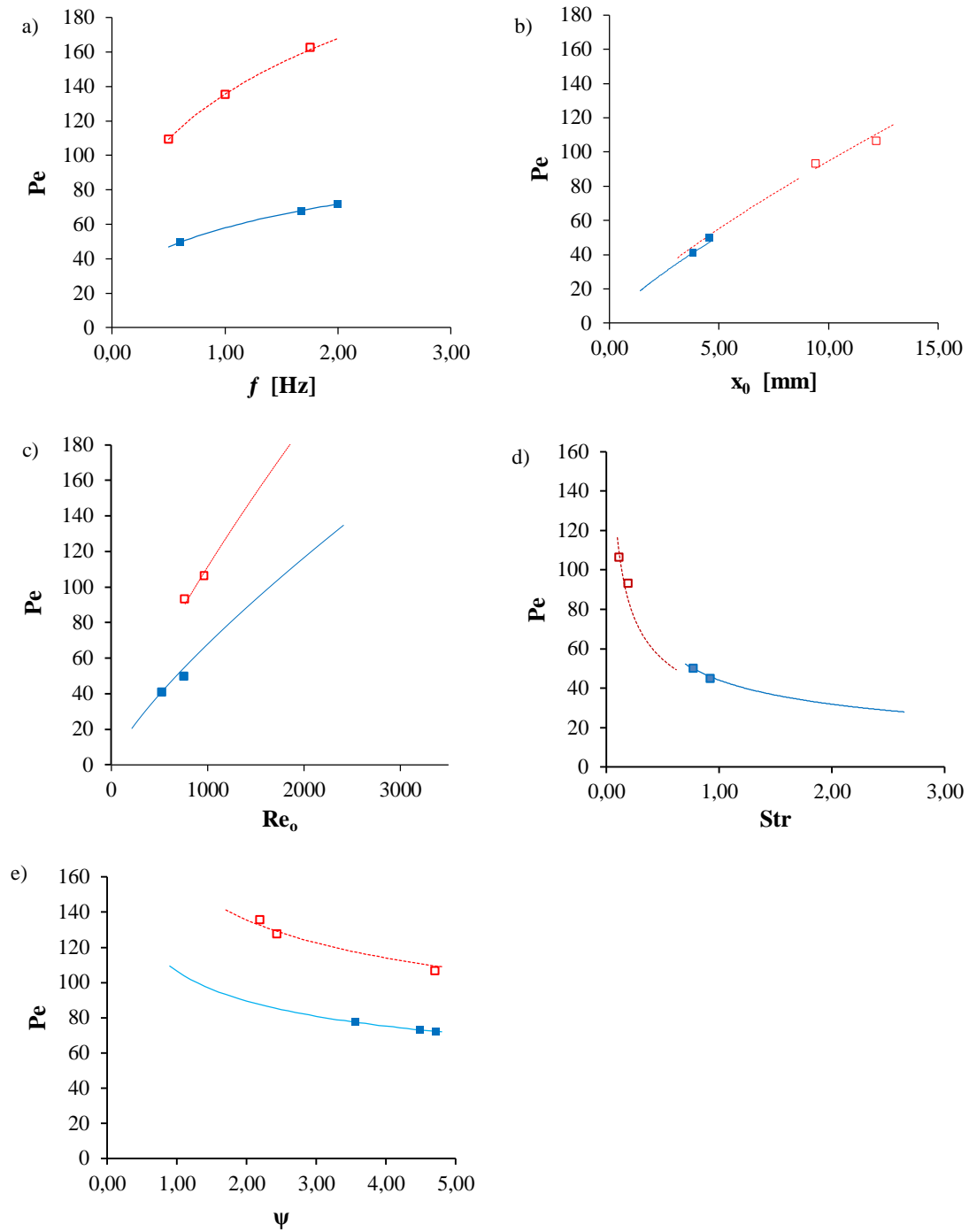
Trendovi uočeni iz eksperimentalnih rezultata i kvantifikovani predloženom korelacijom, prikazani su i grafički na slici 2.4.8. Vrednosti Pe brojeva su izračunate primenom predložene korelacije (jednačina 2.3.6.), i prikazane su grafički u zavisnosti od operativnih uslova i od bezdimenzionih brojeva, pri čemu su preostali uslovi konstantni i odgovaraju eksperimentalnim vrednostima. Dve linije, puna i isprekidana odgovaraju ROT1 i ROT2, respektivno, a opseg x – koordinata odgovara opsegu operativnih uslova ispitivanim u eksperimentima. Simbolima su na graficima označene izračunate vrednosti Pe broja pri eksperimentalnim operativnim uslovima (puni simboli za ROT1 i otvoreni simboli za ROT2). Na slici 2.4.8 (pod a)) se može videti da izračunata vrednost Pe broja raste, odnosno aksijalna disperzija opada, sa frekvencijom.

Izračunata vrednost Pe broja raste i sa amplitudom, ali je uticaj amplitude izraženiji od uticaja frekvencije (slika 2.4.8 b)), što je u skladu sa eksperimentalnim rezultatima (slika 2.4.4 c)). U nekim od ranijih istraživanja, dostupnih u literaturi [6, 12, 36, 55] pokazano je da Pe broj raste sa amplitudom do određene vrednosti amplitude. Sa daljim povećanjem vrednosti amplitude, vrednost Pe broja opada. U ovom istraživanju, takav trend (maksimum Pe za neku vrednost amplitude) nije uočen, za ispitivani opseg amplitude u eksperimentima. Interesantno je istaći i to da su za ROT različitog unutrašnjeg prečnika, a za uticaj promene frekvencije (slika 2.4.4 a)) uočene dve karakteristične linije za reaktore različitog unutrašnjeg prečnika, sa većim vrednostima Pe broja za reaktor manjeg prečnika (ROT2). To znači da je izbor frekvencije važan prilikom uvećanja razmera reaktora. Sa druge strane, uticaj amplitude na Pe broj formira gotovo jednu liniju trenda za oba ROT. Množenje amplitude i frekvencije, prisutno u Re_o broju rezultira različitim nagibima koji su prikazani na slici 2.4.4.c). Pored toga, za reaktore različitog unutrašnjeg prečnika uočene su dve $Pe - Re_o$ linije trenda, koje su posledica različitih $Pe - f$ trendova (slika 2.4.8 a)).

Može se zaključiti da za uvećanje razmera ROT, pri čemu bi se održao isti način proticanja tečnosti, nije dovoljno održati samo geometrijsku sličnost i iste vrednosti Re_o broja.

Na slici 2.4.4.d) prikazan je uticaj povećanja vrednosti Str broja. Na slici se može videti da Pe broj opada, odnosno aksijalna disperzija značajno raste (eksponencijalno) sa povećanjem Str broja. Budući da Str broj predstavlja odnos prečnika reaktora i amplitude i da je već pokazano da veće vrednosti amplitude povećavaju vrednost Pe broja, opadanje vrednosti Pe broja sa povećanjem Str broja je očekivano. Međutim $Pe - Str$ linije za različite ROT ne odstupaju kao linije $Pe - Re_o$ (slika 2.4.8 c)), odnosno linije se nadovezuju, a nisu razdvojene kao za uticaj Re_o .

Na slici 2.4.8.e) se može videti manje dominantan uticaj neoscilatornog toka na Pe broj. Naime sa povećanjem protoka neoscilatornog toka opada ψ broj, što vodi ka umerenom povećanju vrednosti Pe broja. I pored toga, linije za ROT1 i ROT2 se značajno razlikuju što je verovatno posledica razlike $Pe - Re_o$ linija budući da broj ψ predstavlja odnos Re_o i Re_n broja.



Slika 2.4.8. Zavisnost Pe broja od operativnih uslova i bezdimenzionih brojeva za ROT1 (pune linije) i ROT2 (isprekidane linije) u opsegu eksperimentalnih uslova; izračunate vrednosti Pe brojeva su prikazane simbolima na grafiku (puni simboli za ROT1 i prazni simboli za ROT2): a) uticaj f pri konstantnim vrednostima x_0 i Q_s , b) uticaj x_0 pri konstantnim vrednostima f i Q_s , c) uticaj Re_o pri konstantnim vrednostima Q_s , d) uticaj Str pri konstantnim vrednostima f i ψ i e) uticaj ψ pri konstantnim vrednostima Str i Re_o

2.5 ZAKLJUČCI

Rezultati eksperimenata sa OS su pokazali da se u kontinualnim reaktorima sa oscilatornim tokom fluida može ostvariti veoma dobro mešanje sa relativno uskom raspodelom starosti fluida na izlazu (RSF). Pored toga, uočeno je da način proticanja tečnosti, opisana RSF i modelom aksijalne disperzije, zavisi od operativnih uslova. Pri većim vrednostima frekvencije RSF je uža, a samim tim aksijalna disperzija mala. Sličan trend je uočen i u variranju vrednosti amplitude – povećanje vrednosti amplitude rezultuje efikasnijim mešanjem u ćelijama između pregrada, a time i užom RSF. Pored toga, uticaj amplitude je izraženiji od uticaja frekvencije na način proticanja tečnosti. Takođe, sličan zaključak je izveden i kada je u pitanju uticaj sekundarnog neoscilatornog toka na RSF. Veće vrednosti protoka neoscilatornog toka smanjuju aksijalnu disperziju, ali samo u slučaju kada je Q_s manje od protoka oscilatornog toka (Q_o). Kako bi se obezbedilo efikasno mešanje u ćelijama reaktora pri malim ukupnim protocima (duže vreme zadržavanja), potrebno je da amplituda ima veliku vrednost, frekvencija malu, a da protok neoscilatornog toka bude mali ili srednji.

Neidealni način proticanja tečnosti kroz ROT je u ovom radu opisan jednoparametarskim modelom klipnog strujanja sa aksijalnom disperzijom (AD model) koji se pokazao efikasnijim od kaskadnih modela (N – CSTR i N – CSTR sa povratnim mešanjem). Pored toga, razvijena je empirijska korelacija koja povezuje operativne uslove i prečnik reaktora iskazane kroz relevantne bezdimenzione brojeve – Re_o , Re_n , Str i Ψ , sa bezdimenzionim koeficijentom aksijalne disperzije, Pe . Parametri korelacije su određeni za sve eksperimente istovremeno. Izračunate vrednosti Pe prate trend uočen u eksperimentalnim rezultatima. Krive RSF dobijene primenom AD modela i predložene korelacije se veoma dobro slažu sa eksperimentalnim rezultatima ovog istraživanja (SRG= 6 %). Slaganje izračunate vrednosti Pe broja i eksperimentalnih rezultata dostupnih u literaturi je zadovoljavajuće dobro (SRG \approx 30 %) i značajno bolje u odnosu na vrednosti Pe broja dobijenih primenom najčešće korišćene korelacije u literaturi (SRG > 60 %), koja uključuje veći broj parametara.

SPISAK UPOTREBLJENIH OZNAKA

Re_n – Rejnoldsov broj

Re_o – Oscilatorni Rejnoldsov broj

Str – Strauhalov broj

Pe – Pekleov broj

D – unutrašnji prečnik reaktora (m)

z – rastojanje između pregrada (m)

L – dužina reaktora (m)

V – zapremina reaktora (m^3)

N_B – broj pregrada

N_C – broj ćelija u reaktoru

Q – ukupni protok ($L h^{-1}$)

Q_s – protok sekundarnog toka, protok peristaltičke pumpe ($L h^{-1}$)

Q_o – protok oscilatornog toka, protok membranske pumpe ($L h^{-1}$)

V_0 – zapremina po jednom hodu membrane membranske pumpe, (L)

x_0 – amplituda (mm)

u – površinska brzina strujanja ($m s^{-1}$)

t – vreme (s)

c – koncentracija obeležene supstance ($mg L^{-1}$)

C – bezdimenziona koncentracija

C_0 – bezdimenziona početna koncentracija

Z – bezdimenziono rastojanje

D_e – koeficijent aksijalne disperzije ($m^2 s^{-1}$)

\bar{t} – srednje vreme zadržavanja (s)

k, p_1, p_2, p_3 – parametar u jednačini (2.3.4)

A_1, A_3, A_3, m, r, q – parametar u jednačini (poglavlje I: 1.7.6)

E – kriva raspodele starosti fluida na izlazu iz reaktora

Grčki simboli

ρ – gustina fluida (kg m^{-3})

μ – viskoznost fluida (Pa s)

δ – debljina pregrade (mm)

ω – ugaona brzina (rad s^{-1})

f – frekvencija (Hz)

ψ – odnos brzina

θ – bezdimenziono vreme

III DINAMIKA STRUJANJA ČESTICA U ROT

3. DINAMIKA STRUJANJA ČESTICA U ROT

Rezultati istraživanja ovog poglavlja doktorske disertacije publikovani su u časopisu: *Chemical Engineering & Processing: Process Intensification*, 135 (2019) 108–119, pod nazivom „SOLIDS FLOW PATTERN IN CONTINUOUS OSCILLATORY BAFFLED REACTOR“, Slavnić D., Bugarski B. i Nikačević N. [91].

3.1 UVOD

U većini istraživanja koja se tiču reaktora sa oscilatornim tokom i pregradama ispitivan je uticaj operativnih uslova na način strujanja tečne faze (homogeni sistem). Taj uticaj operativnih parametara autori su opisivali korelacijama u kojima figurišu bezdimenzioni brojevi karakteristični za oscilatorni tok fluida (Re_o , Re_n , Str i ψ) [4, 5, 36, 84, 89, 92]. Međutim, mali broj autora se bavio istraživanjima koja uključuju višefazne sisteme (gas – tečno, tečno – čvrsto), iako postoji veliki potencijal primene ovog tipa reaktora u tim sistemima [37, 39, 60, 61, 75, 91, 93, 94].

Ni i saradnici [86] su ispitivali sistem tečno – tečno u reaktoru sa oscilatornim tokom u kojem se vrši disperzija jedne tečne faze u drugoj tečnoj fazi. Pokazali su da primena ovog reaktora omogućava kontrolu veličine čestica i morfologije, i u šaržnom i u kontinualnom režimu rada uređaja.

Nekoliko istraživačkih grupa je pokazalo da koeficijent prenosa mase u sistemu vazduh – voda može biti značajno povećan primenom ROT [37, 39].

Neki od autora ispitivali su reakciju polimerizacije metil – metakrilata kao i inverznu reakciju polimerizacije akrilamida i vinil acetatnog monomera u kolonama sa oscilatornim tokom fluida. Autori su pokazali da u ovim uređajima može da se ostvari uska raspodela veličine čestica, a da se sam prečnika čestica može kontrolisati izborom oscilatorne brzine. Pored toga, kvalitet čestica polimera je bio identičan u svim šaržama, uključujući identičnu masu i raspodelu veličina [75, 76, 91, 93, 95].

Fabiyi i Skelton [82] su kolonu sa oscilatornim tokom fluida koristili kao fotohemijski reaktor u kojem su ispitivali reakciju oksidacije kontaminirane vode – tretman otpadne vode. U ovom reaktoru su čestice koje su na površini imale nanet katalizator, bile suspendovane oscilatornim tokom. Istovremeno, suspendovane čestice su bile u kontaktu sa gasovitim fazom – mehurovima koji su proticali kroz uređaj.

Rezultati ovih autora pokazali su mnogo veću efikasnost primene fotona u odnosu na konvencionalne reaktore. Kasnije su brojne heterogene reakcije ispitivane primenom metode ovih autora [34].

Chew i saradnici [96] su ispitivali morfologiju kristala paracetamola proizvedenog u kristalizatoru sa oscilatornim tokom fluida. Pokazali su da su kristali dobijeni u ovom tipu uređaja značajno uniformnijeg oblika sa nekoliko defekata u odnosu na kristale dobijene u konvencionalnom šaržnom reaktoru sa mehaničkim mešanjem.

Iako su ispitane potencijalne primene ROT u reakcijama koje uključuju čvrstu fazu, u literaturi postoji mali broj radova u kojima se autori bave strujanjem i mešanjem fluida u višefaznim sistemima tečno – čvrsto, kao i faznim ograničenjima u primeni ROT [91].

Mackley i saradnici [59] su ispitivali mogućnost suspendovanja čestica pomoću oscilatornog toka tečnosti u vertikalnoj koloni sa pregradama. Autori su pokazali da se delovanjem oscilatornog toka čestice mogu suspendovati i da je mešanje čestica veoma osetljivo na promene oscilatornih parametara: frekvencije i amplitude. Podešavanjem ovih parametara može se dobiti željeni intenzitet mešanja u uređaju. Takođe, pokazali su da raspodela čestica u uređaju zavisi od oscilatorne brzine. Autori su razvili korelaciju kojom se može opisati raspodela čestica u ispitivanom uređaju [59].

Ejim i saradnici [60] su ispitivali uticaj unutrašnje geometrije horizontalnog mezo – reaktora (unutrašnji prečnik 10 mm) na suspendovanje i aksijalnu disperziju čestica u kontinualnom toku tečno – čvrsto. Autori su objasnili uticaj 4 geometrijska parametara: prečnika otvora na pregradama, odnosa površine poprečnog preseka reaktora i površine otvora na pregradama, rastojanja između pregrada i oblika pregrada (oštre ili zaobljene ivice) na suspendovanje kao i na aksijalnu disperziju čestica. Nakon uvođenja u reaktor i uspostavljanja homogene suspenzije, čestice su postepeno ispirane/odnošene iz reaktora konstantnim protokom tečnosti. Način proticanja čestica opisan je kumulativnim F – krivama. F – krive odgovaraju raspodeli koncentracije čestica duž reaktora i zavise od načina proticanja tečnosti. Autori su utvrdili da je lakše suspendovati čestice pri visokim vrednostima frekvencija i niskim vrednostima amplitude nego pri nižim frekvencijama i višim amplitudama. Takođe su utvrdili da je veličina otvora na pregradama najbitniji parametar u kontroli povratnog toka i

uspostavljanja uniformnog suspendovanja čestica u šaržnom mezo – reaktoru, gde se oscilacije obezbeđuju pomoću klipova. Mala površina otvora na pregradama minimizira aksijalnu disperziju i produžava SVZ čestica u mezo – reaktoru. Autori su primenili model klipnog strujanja sa aksijalnom disperzijom kako bi izračunali koeficijent aksijalne disperzije. Izračunate vrednosti koeficijenta aksijalne disperzije čestica su istog reda veličina kao i vrednosti koeficijenta aksijalne disperzije tečnosti (takođe izračunate u ovom radu). Pokazalo se da između primenjenog AD modela i eksperimentalnih vrednosti postoji veoma dobro slaganje [60].

Kacker i saradnici [61] su ispitivali homogeni i heterogeni sistem sa oscilatornim tokom fluida kako bi odredili zavisnost RSF od operativnih parametara. Kako bi odredili RSF, uveli su čestice melanina u sistem kao impulsnu promenu i pratili odziv sistema. Autori su utvrdili da su operativni uslovi: frekvencija od 2 Hz i amplituda od 2 mm optimalni kako bi čestice bile suspendovane i kako bi se postiglo približno klipno strujanje heterogene obeležene supstance za 4 različita udela čestica u sistemu (0,5 %, 1 %, 5 % i 10 % mas.).

Cilj ovog dela doktorske disertacije je da se eksperimentalno i teorijski opiše način proticanja čestica u kontinualnom reaktoru sa oscilatornim tokom fluida u koji se čestice uvode kontinualno. Kao što je već pomenuto, samo nekoliko istraživačkih grupa se bavi ovom temom, ali nisu ispitivali sisteme u kojima se čestice uvode kontinualno, kao ni sisteme u kojima je prisutna veća količina čestica, što je veoma bitno za industrijske procese. U ovom istraživanju je ispitan i kvantifikovan uticaj operativnih parametara na način proticanja čestica, srednje vreme zadržavanja i disperziju čestica, kao i na udeo čestica u reaktoru [91].

Sveobuhvatni integralni pristup predstavljen u ovom delu doktorske teze doprinosi razumevanju višefaznog (tečno – čvrsto) strujanja u oscilatornim uslovima. Štaviše, zapažanja ovog istraživanja su relevantna za dizajn kontinualnog reaktora sa oscilatornim tokom fluida koji uključuje čvrstu fazu bilo kao reaktant, bilo kao proizvod [91].

3.2 EKSPERIMENTALNI DEO

Aparatura

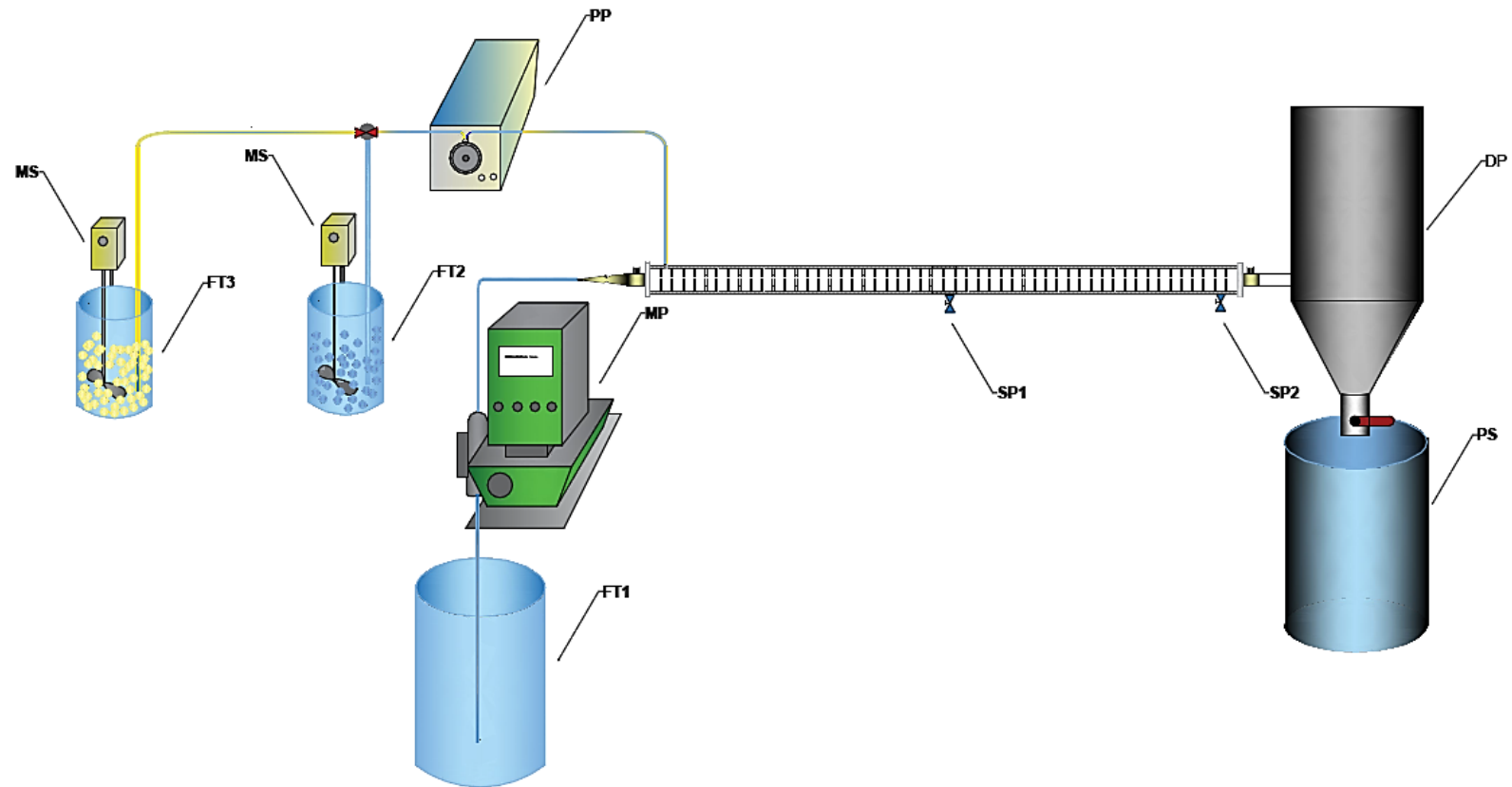
Eksperimentalna aparatura korišćena u ovom delu istraživanja prikazana je na slici 3.2.1. Aparatura se sastoji od napojnih posuda (FT1–3), membranske pumpe (MP), peristaltičke pumpe (PP), damper posude (DP), prihvatne posude (PS) i reaktora. Delovi aparature (reaktor unutrašnjeg prečnika 26 mm, membranska pumpa Grundfos Alldos, tip DMX–221, peristaltička pumpa Cole Parmer Masterflex i damper posuda) i način njihovog rada su opisani u prethodnom poglavlju (II DINAMIKA STRUJANJA TEČNOSTI U ROT).

Voda iz napojne posude FT1 se transportuje u reaktor pomoću membranske pumpe. Membranska pumpa, MP pored transporta vode, ima i funkciju generatora oscilatornog toka fluida, kao što je već navedeno u poglavlju II.

Tok suspenzije čestica je uveden u reaktor pomoću peristaltičke pumpe, PP iz napojnih posuda FT2 i FT3. U svim izvedenim eksperimentima peristaltička pumpa napaja sistem konstantnim protokom, $Q_s=1,7 \text{ L h}^{-1}$.

Ukupni protok fluida koji se uvodi u ROT predstavlja zbir protoka membranske i peristaltičke pumpe, i može se predstaviti jednačinom:

$$Q = Q_o + Q_s \quad (\text{poglavlje II: 2.2.3}).$$



Slika 3.2.1. Shematski prikaz korišćene aparature. FT1 – napojni sud za vodu, FT2, 3 – napojni sudovi za suspenziju čestica, MP – membranska pumpa, PP – peristaltička pumpa, DP – damper posuda, PS – prihvatna posuda, SP1,2 – mesta uzorkovanja

Napojne posude u kojima se nalazila suspenzija čestica su bile opremljene mešalicama kako bi čestice bile uniformno suspendovane u ulaznom toku. Korišćena je mehanička ili magnetna mešalica u zavisnosti od zapreminske koncentracije čestica u suspenziji. Izvedeno je ukupno 19 eksperimenata s ciljem da se odredi uticaj operativnih uslova, odnosno frekvencije i amplitude oscilatornog toka fluida i koncentracije čestica u suspenziji na ulazu u reaktor, na kumulativnu krivu raspodele vremena zadržavanja (F – kriva) i udeo čestica (β) u ROT [91].

Materijali, metode i uslovi

Kao tečna, odnosno čvrsta faza u svim izvedenim eksperimentima korišćeni su voda iz vodovodne mreže (atmosferskog pritiska i temperature) i inertne čestice anjonske jonoizmenjivačke smole (Resinex A-4, JACOBI CARBONS, Nemačka), respektivno. Čestice su prečnika u opsegu 0,85 – 1,05 mm (srednji prečnik 0,915 mm), i gustine od 1060 kg m⁻³. Srednja masa i zapremina jedne čestice je 0,424x10⁻³ g i 0,40 mm³, respektivno. Čestice jonoizmenjivačke smole su originalno žute boje (bez dodatnog bojenja) i kao takve su imale ulogu obeležene supstance (OS). Pored žutih čestica, u eksperimentima su korišćene i druge, obojene čestice. To su bile čestice iste jonoizmenjivačke smole, obojene u plavo pomoću rastvora bromfenol – plavog koncentracije 2,00 g L⁻¹ (ACR O S Organics, Nju Džersi). Bromfenol – plavo je izabrano zbog efikasnog bojenja čestica, bez uočljivih fizičkih promena na njima.

U ovom delu doktorske disertacije izvedene su dve grupe eksperimenata. Prvu grupu činili su eksperimenti koji su imali za cilj utvrđivanje uticaja protoka oscilatornog toka na režim strujanja čestica, kao i udeo čestica u reaktoru. Ovi eksperimenti su se odvijali tako što se ROT najpre napuni vodom, potom se podese željene vrednosti operativnih uslova i na kraju se membranska pumpa pusti u rad. Nakon nekoliko minuta rada membranske pumpe, uključuje se u rad i peristaltička pumpa i time se započinje sa uvođenjem suspenzije sa odgovarajućim udelom čestica u reaktor. U zavisnosti od operativnih uslova, ovi eksperimenti su trajali od 30 minuta do 2 sata. Na kraju svakog eksperimenta, reaktor je pražnjen, a čestice iz reaktor su sakupljane.

Nakon prikupljanja, čestice su ceđene i sušene na vazduhu. Masa suvih čestica je merena pomoću analitičke vage (Model: PS 4500.R2 RADWAG, Poljska), a na osnovu

izmerene vrednosti je određen udeo/sadržaj čestica u reaktoru. Udeo čestica u reaktoru predstavlja odnos ukupne zapremine prikupljenih čestica i zapremine reaktora:

$$\beta = \frac{V_s}{V_R} \quad (3.2.1)$$

$$V_s = \frac{m_s}{\rho_s} \quad (3.2.2)$$

gde je V_s zapremina čestica u zapremini reaktora – V_R , a m_s masa čestica u reaktoru [91].

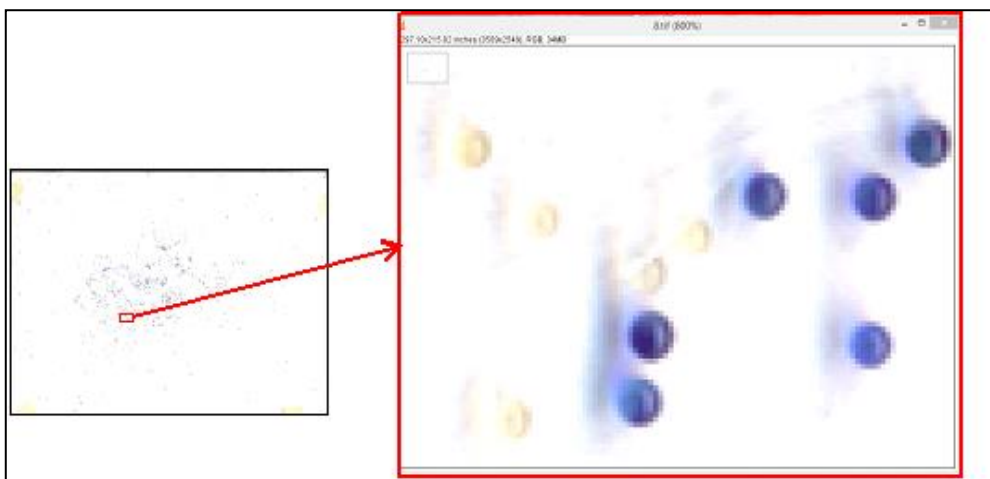
Drugu grupu eksperimenata su činili eksperimenti u kojima je primenjena metoda praćenja odziva sistema na stepenastu promenu kako bi se odredila disperzija čestica u ROT (određivane F – krive). U ovim eksperimentima su pre uvođenja OS kao stepenaste promene u reaktor, bili podešeni protok oscilatornog toka, odnosno amplituda i frekvencija, kao i protok suspenzije sa odgovarajućom koncentracijom obojenih čestica (iz napojne posude FT2 na slici 3.2.1). Obojene čestice se uvode sve dok se ne uspostavi njihova ravnomerna raspodela duž reaktora (cca 1,5 vremena zadržavanja čestica koje je karakteristično za svaki od eksperimenata). Nakon uspostavljanja ravnomerne raspodele obojenih čestica duž reaktora, započinje se sa uvođenjem OS (žute čestice iz napojne posude FT3 na slici 3.2.1) u referentnom vremenu (uzetim kao vreme $t = 0$). Uzorci se uzimaju na poziciji SP1 koja se nalazi na 0,94 m i SP2 na 1,8 m od tačke uvođenja čestica u reaktor, u zavisnosti od protoka oscilatornog toka. Za protoke veće od 40 Lh^{-1} , uzorkovanje je vršeno na poziciji SP2. Nakon svakog od eksperimenata, sadržaj iz ROT se ispušta, čestice iz reaktora se prikupljaju, a sistem se ispira čistom vodom. Uzimanje uzoraka za analizu (određivanje F – krive) se vrši u određenim vremenskim intervalima u zavisnosti od protoka. Ukupno vreme uzorkovanja je najmanje tri vremena zadržavanja (teorijska) tečne faze. Zapremina uzoraka tečnosti sa sadržajem čestica je 5 mL, što je mala zapremina i nema značajnog uticaja na ukupan protok i način proticanja kroz ROT. Budući da je zapreminski udeo čestica u ROT mali (maksimalno 13,7 %), zapremina uzetog uzorka tečnosti od 5 mL je minimalna zapremina u kojoj bi se našao dovoljan broj čestica potrebnih da bi se udeo OS u uzorku sa tačnošću odredio primenom softvera *ImageJ*.

Čestice iz uzoraka se najpre ocede i osuše, a zatim se i izmeri njihova masa. Nakon toga, suve čestice se fino rasporede na površinu za skeniranje. Raspodela čestica

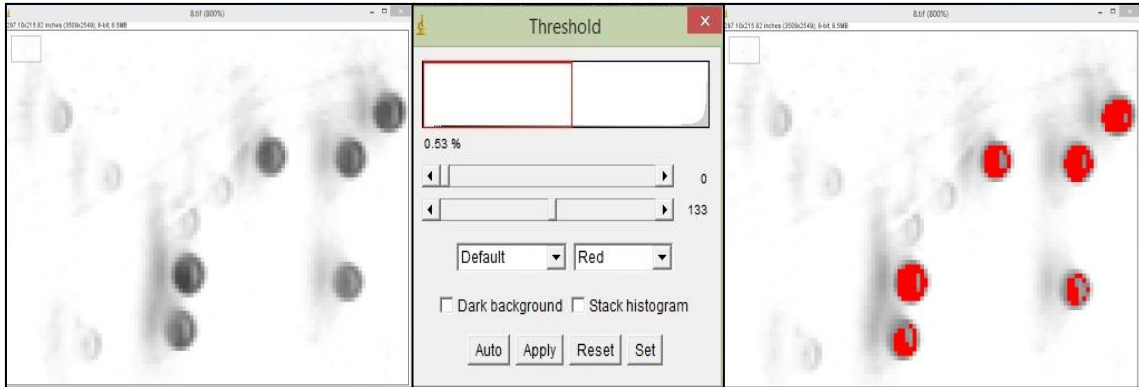
na površini za skeniranje je takva da postoji samo jedan sloj čestica koje se međusobno ne dodiruju. Čestice su skenirane pomoću skenera Hp ScanJet (Tip: G3110). Slike dobijene skeniranjem čestica su potom analizirane u besplatnom softveru *ImageJ* (NIH, USA).

Pomoću ovog softvera određuje se broj obojenih čestica u skeniranom uzorku (N_p). Pre prebrojavanja obojenih čestica u uzorku, podešava se prag vidljivosti (*eng. thresholding*) na slici što omogućava da samo obojene čestice budu selektovane. Podešavanje praga vidljivosti na slici podrazumeva to da se pojedini delovi slike vide u prvom planu, a da ostali delovi budu u pozadini i manje vidljivi ili nevidljivi odnosno da svaki piksel koji ima manju vrednost od izabrane vrednosti praga pripada jednoj klasi, dok pikseli veći od zadate vrednosti praga pripadaju drugoj klasi [91].

Na slikama 3.2.2. i 3.2.3 je prikazan način obrade slike u *ImageJ* programu. Na uvećanom delu originalne slike se vidi mali broj čestica, a nakon prelaska na 8 – bitnu sliku plave čestice se vide kao tamnije sive. Prag vidljivosti je potrebno podesiti tako da crvenom bojom budu označene samo plave čestice, a žute ne. Nije neophodno da cela čestica bude ispunjena crvenom bojom jer se određuje samo broj čestica, a ne njihova ukupna površina. Ne postoje univerzalne vrednosti praga vidljivosti koje bi se primenile na sve slike dobijene skeniranjem uzoraka, jer je metoda vrlo osetljiva na promene odnosa broja čestica, s obzirom da su ponekad neminovno označene i senke žutih čestica koje program prepoznaje kao plave.



Slika 3.2.2. Uvećan prikaz dela uzorka



Slika 3.2.3. Promene prilikom podešavanja praga vidljivosti parametra

Dobijeni broj čestica se lako konvertuje u koncentraciju nebojenih čestica OS u analiziranom uzorku primenom sledećih jednačina:

$$m_s = m_{cs} + m_{us} \quad (3.2.3)$$

$$m_{cs} = N_p m_p = N_p \rho_s V_p \quad (3.2.4)$$

$$C_i = \frac{m_s - m_{cs}}{m_s} \quad (3.2.5)$$

gde C_i predstavlja koncentraciju nebojenih čestica u uzorku, a m_{cs} , m_{us} i m_p masu obojenih, nebojenih i jedne čestice, respektivno.

Radi utvrđivanja konzistencije i ponovljivosti, oko 20 % eksperimenata je ponovljeno. Izračunata eksperimentalna apsolutna greška koja uključuje grešku u određivanju koncentracije OS primenom neidealne step metode, uzorkovanju i merenju mase čestica, iznosi oko 3 % u odnosu na procenat OS u uzorcima.

U zavisnosti od zapreminske koncentracije čestica u ulaznoj suspenziji, ω , izvedeni eksperimenti se mogu podeliti u tri grupe:

1. 30 % v/v,
2. 10 % v/v i
3. 5 % v/v.

Operativni uslovi u izvedenim eksperimentima su bili sledeći: $Re_n=154 - 597$, $Re_o= 619 - 2707$, $Str= 0,16 - 0,68$ i $\psi= 4 - 4,5$ i u skladu su sa vrednostima predloženim u literaturi [17], a pri kojima se ostvaruje dobro mešanje i mala aksijalna disperzija. Operativni uslovi i dobijeni rezultati analize eksperimentalnih rezultata prikazani su u tabeli 3.3.2.

3.3 REZULTATI I DISKUSIJA

3.3.1 REŽIMI STRUJANJA ČESTICA

U svakoj od ćelija ROT postoji specifičan način strujanja fluida (na mikro nivou). Nakon svake oscilacije fluida odnosno nakon svakog hoda membrane pumpe dolazi do formiranja vrtloga na samom otvoru prstenaste pregrade reaktora. Formirani vrtlozi „zarobljavaju“ čestice i drže ih suspendovanim. Formirani vrtlozi generišu fluks i omogućavaju mešanje čestica u svakoj od ćelija reaktora. Kretanje čestica iz jedne u drugu ćeliju posledica je ukupnog proticanja tečnosti u aksijalnom smeru – broj čestica koje prelaze iz jedne u drugu uzastopnu ćeliju zavisi od koncentracije čestica i izbora oscilatornih uslova: frekvencije i amplitude. Pored navedenih flukseva javlja se tendencija čestica da se talože ka donjem zidu ROT [59]. Ovo je posledica dezintegracije vrtloga koja se javlja usled male povratne brzine, u vremenu između dva udara pumpe, koja je niža od brzine taloženja čestica. Različite vrednosti brzine tečnosti u direktnom i povratnom smeru i njihov uticaj na ponašanje i suspenziju čestica su posledica rada membranske pumpe kao izvora oscilatornog kretanja fluida (poglavlje II DINAMIKA STRUJANJA TEČNOSTI U ROT, podpoglavlje 2.2), što je različito od klipnih generatora oscilacija, kod kojih su direktna i povratna brzina slične po intenzitetu [91].

Da bi čestice bile efikasno suspendovane i da bi bilo moguće njihovo kretanje kroz reaktor, maksimalna aksijalna oscilatorna brzina tečnosti u pravcu toka (jednačina 3.3.1) mora biti veća od terminalne brzine taloženja čestica (jednačina 3.3.4). Osim toga, periodično kretanje povećava silu otpora tečnosti i na taj način čestice bivaju efikasnije suspendovane u tečnosti [59, 91]. Maksimalna aksijalna oscilatorna brzina je definisana jednačinom:

$$u_o = 2\pi f x_0 \quad (3.3.1)$$

Koeficijent otpora (C_d) i brzina taloženja sferičnih čestica (u_p) u subkritičnoj oblasti, za vrednost Reynoldsovog broja do 2×10^5 , se mogu izračunati prema sledećim jednačinama koje predlaže Cheng, [97]:

$$C_d = \frac{432}{d_*^3} (1 + 0,022d_*^3)^{0,54} + 0,47[1 - \exp(-0,15d_*^{0,45})] \quad (3.3.2)$$

$$d_* = \sqrt[3]{\frac{(\rho_s - \rho_f)}{\rho_f} \frac{1}{\left(\frac{\mu_f}{\rho_f}\right)^2}} d_p \quad (3.3.3)$$

$$u_p = \sqrt{\frac{4d_*}{3C_d}} \quad (3.3.4)$$

gde d_* bezdimenzioni prečnik čestica, d_p srednji prečnik čestica, a μ_f i ρ_f su dinamička viskoznost i gustina tečnosti, respektivno [91, 97].

Kada su čestice suspendovane, javlja se stešnjeno kretanje čestica. Gradijenti brzine čestica su pod uticajem blizine drugih čestica. Sa druge strane, kretanje čestica pomera tečnost i dolazi do povećanja brzine tečnosti usled sile otpora (trenja). Dakle, brzina tečnosti je veća u odnosu na brzinu čestica. Stvarna brzina taloženja jedne čestice u slučaju stešnjelog kretanja je manja od brzine taloženja koja se može izračunati primenom jednačine 3.3.4. Stvarna sila otpora u suspenziji je veća zbog interakcija koje se javljaju između čestica. Štaviše, efektivna viskoznost smeše, μ_m , je veća od stvarne dinamičke viskoznosti same tečnosti [98]. Efektivna viskoznost se može izračunati primenom jednačine 3.3.5 u kojoj je viskoznost tečnosti podeljena empirijskim korekcionim faktorom ψ_p koji zavisi od udela tečnosti u suspenziji, ε , a koji odgovara $(1 - \beta)$ u simbolima korišćenim u ovom radu [91]:

$$\mu_m = \frac{\mu_f}{\psi_p} \quad (3.3.5)$$

$$\psi_p = \frac{1}{10^{(1,82\beta)}} \quad (3.3.6)$$

Pored toga, treba uzeti u obzir da je gustina suspenzije, ρ_m takođe različita od gustine tečnosti, ρ_f i može se izračunati primenom sledeće jednačine [98]:

$$\rho_m = (1 - \beta)\rho_f + \beta\rho_s \quad (3.3.7).$$

Kada se u jednačini 3.3.3, zameni μ_f jednačinom 3.3.5 i ρ_f jednačinom 3.3.7, dobija se:

$$d'_* = \sqrt[3]{\frac{(\frac{\rho_s}{\rho_m} - 1)g}{(\frac{\mu_m}{\rho_m})^2}} d_p \quad (3.3.8).$$

Smenom jed. 3.3.8 u 3.3.2 i 3.3.4 dobijaju se sledeći izrazi za koeficijent otpora i brzinu taloženja za slučaj stešnjenog kretanja:

$$C'_d = \frac{432}{d_*'^3} (1 + 0,022d_*'^3)^{0,54} + 0,47[1 - \exp(-0,15d_*'^{0,45})] \quad (3.3.9)$$

$$u'_p = \sqrt{\frac{4d'_*}{C'_d}} \quad (3.3.10).$$

Štaviše, kada se čestice kreću u prelaznom ili turbulentnom režimu strujanja tečnosti, kao što je to slučaj u ROT, pored vrtloga koje stvara sama tečnost, stvaraju se i vrtlozi koji se formiraju usled kidanja graničnog sloja između čestica i tečnosti. Tečnost rotira oko čestice, što rezultira da se vrtlog ponaša kao dopunska masa čestice. Dopunska ili virtualna masa se može tumačiti kao inercioni efekat tečnosti koji se ubrzava sa česticom [91].

Na osnovu eksperimentalnih istraživanja, zapremina dopunske mase fluida je jednaka polovini zapremine čestice. Dakle, koeficijent otpora raste, a samim tim i sila otpora raste. Kao posledica toga, a u skladu sa jednačinom 3.3.4, brzina taloženja čestica opada [99]. Opadanje brzine taloženja čestica utiče na to da je suspendovanje

čestica efikasnije. Pored toga, gradijent brzine tečnosti izaziva rotaciju oko čestica i dolazi do pojave *Magnus efekta* što znači da se pored sile otpora javlja i sila uzdizanja. U slučaju turbulentnog strujanja fluida, kao što je oscilatorno kretanje kroz reaktor sa pregradama, sila uzdizanja postaje značajna [91].

Pored navedenih uticaja, kretanje čestica kroz ROT zavisi i od unosa energije. Snaga po jedinici zapremine u ROT, raste sa operativnim parametrima: frekvencijom i/ili amplitudom oscilovanja toka tečnosti, odnosno sa maksimalnom aksijalnom brzinom oscilovanja, u skladu sa sledećim izrazom [17]:

$$\frac{P}{V_R} = \frac{2N_b \rho_f (2\pi f x_0)^3}{3\pi C_0^2 z} \left(\frac{1}{S^2} - 1 \right) = \frac{2N_b \rho_f u_o^3}{3\pi C_0^2 z} \left(\frac{1}{S^2} - 1 \right) \quad (3.3.11)$$

$$S = \frac{d_o^2}{D^2} \quad (\text{poglavlje I: 1.3.2})$$

gde N_b predstavlja broj identičnih pregrada, C_0 standardni koeficijent otvora i najčešće se uzima da ima vrednost od 0,7, dok je S udeo otvorene površine na pregradi u odnosu na površinu poprečnog preseka reaktora, kao što je već navedeno u poglavlju I [91].

Gore navedena teorijska zapažanja su primenjena u definisanju režima strujanja u okviru ovog istraživanja. Naime, režim strujanja čestica koji prevladava u ROT se može razlikovati na osnovu: odnosa maksimalne aksijalne oscilatorne brzine i brzine stešnjenog taloženja čestica, unosa snage po jedinici zapremine (jed. 3.3.11) i odnosa koncentracija između susednih ćelija – γ . Odnos koncentracija se računa primenom modifikovane empirijske korelacije [59]:

$$\gamma = 1 - \exp\left(-R(1 - \beta) \frac{u_o}{u_p'}\right) \quad (3.3.12)$$

gde je R empirijska konstanta koja zavisi od karakteristika čestica i iz literature je uzeta vrednost od 0,8 za čestice jonoizmenjivačke smole [59, 91].

Originalna korelacija koja je dostupna u literaturi [59] uključuje brzinu taloženja usamljene čestice (umesto brzine taloženja u slučaju stešnjenog kretanja) i ne uključuje činilac $(1 - \beta)$, odnosno udeo tečnosti u reaktoru, tj. ne uzima u obzir količinu čestica.

Za vrednosti $\gamma \approx 1$ čestice u reaktoru su uniformno suspendovane. Za $\gamma < 1$, u reaktoru se javlja gradijent koncentracije čestica [59].

U ovom radu je na osnovu izvedenih eksperimenata i kriterijuma definisanih u prethodnom tekstu utvrđeno 4 režima strujanja čestica (*eng. solids flow regime – SFR*) u ROT. Utvrđeni režimi strujanja sa opsegom vrednosti kriterijuma određenim u ispitivanom eksperimentalnom sistemu prikazani su u tabeli 3.3.1. U tabeli 3.3.1 su prikazane i fotografije koje ilustruju režime strujanja (slikane u toku samih eksperimenata). Rezultati svih eksperimenata mogu se videti u tabeli 3.3.2 [91].

Pri malim protocima oscilatornog toka tečnosti odnos maksimalne aksijalne oscilatorne brzine tečnosti i brzine taloženja čestica nije dovoljan i zbog toga čestice nisu bile efektivno suspendovane ($\gamma < 0,75$), kretale su se polako, uglavnom u donjem delu reaktora. Ovakvo ponašanje čestica odgovara I režimu strujanja tzv. *Puzajući režim strujanja čestica (eng. Creeping solids flow)*. Sa povećanjem protoka oscilatornog toka, maksimalna aksijalna oscilatorna brzina počinje da prevladava. Mešanje postaje intenzivnije i povećava koeficijent i silu otpora tečnosti što vodi ka smanjenju brzine taloženja čestica (u skladu sa jednačinom 3.3.10). Pored toga, sa povećanjem unosa snage po jedinici zapremine, sila uzdizanja postaje izražena i značajna količina čestica se transportuje iz jedne ćelije ROT u sledeću (režim II, *Zgušnjeno strujanje čestica, eng. Dense solids flow regime*). U ovakvom režimu strujanja, čestice i dalje nisu uniformno suspendovane u ćelijama, što je i evidentno iz vrednosti za γ koje je u opsegu od 0,75 do 0,91. Dalje povećanje maksimalne aksijalne oscilatorne brzine i odgovarajućeg unosa energije vodi ka većoj količini čestica koje su skoro uniformno suspendovane i koje se kreću iz jedne u drugu ćeliju ROT (III režim – *Razblaženi tok čestica, 0,91 < γ < 0,98, eng. Dilute solids flow regime*). Pri velikim protocima oscilatornog toka, maksimalna aksijalna oscilatorna brzina je dominantna u odnosu na brzinu taloženja čestica, i čestice bivaju isprane iz reaktora – odnošene tokom tečnosti (IV režim, *Odošenje čestica – eng. Solids Wash Out*) [91].

Tabela 3.3.1. Režimi strujanja čestica





Režim strujanja čestica (eng. SFR)	u_o/u'_p	P/V_R' Wm^{-3}	γ	Fotografije režima strujanja
I – Puzajuće strujanje čestica	< 2,5	< 3,6	< 0,75	
II – Zgušnjeno strujanje čestica	2,5 – 5,0	3,6 – 19,4	0,75 – 0,91	
III – Razblaženi tok čestica	5,0 – 7,0	19,4 – 227	0,91 – 0,98	
IV – Odošanje čestica	> 7,0	> 227	> 0,98	

Tabela 3.3.2. Operativni uslovi i rezultati eksperimenata

Eksp.	Q_o, Lh^{-1}	f, Hz	x_o, mm	$\omega, \% v/v$	$\beta, \% v/v$	MRT_S, s	MRT_L, s	MRT_S/MRT_L	Pe_s	Cd	u'_p, mms^{-1}	u_o/u'_p	$P/V_R', Wm^{-3}$	γ	Režim strujanja
1	11,4	0,5	8,95	5	5,74	1635	146	11,2	20,52	5,16	11,21	2,51	5,3	0,80	II
2	13,7	0,5	10,76	5	5,03	883	124	7,1	28,62	4,97	11,48	2,94	9,2	0,86	II
3	15,4	2	3,02	5	5,53	985	112	8,8	19,33	5,10	11,29	3,36	13,0	0,88	II
4	16,6	0,5	13,03	5	5,04	1115	105	10,6	23,07	4,97	11,47	3,57	16,3	0,91	II
5	24,8	1	9,74	5	2,82	307	72	4,3	58,20	4,41	12,33	4,96	54,6	0,97	III
6	40,9	2	8,03	5	0,42	117	80	1,5	52,02	3,88	13,31	7,58	243,3	0,99	IV
7	11,4	0,5	8,95	10	7,56	607	146	4,2	25,59	5,71	10,55	2,66	5,3	0,79	II
8	15,4	2	3,02	10	6,40	636	112	5,7	29,13	5,35	10,97	3,46	13,0	0,88	II
9	16,6	0,5	13,03	10	5,73	635	105	6,0	22,88	5,16	11,21	3,65	16,3	0,90	II
10	24,8	1	9,74	10	3,38	252	72	3,5	52,94	4,54	12,11	5,05	54,6	0,97	III
11	9,7	0,5	7,62	30	9,60	498	168	3,0	16,79	6,41	9,84	2,43	3,3	0,73	I
12	10	1	3,93	30	8,60	799	153	5,2	17,02	6,06	10,18	2,42	3,6	0,75	I
13	13	1,5	3,4	30	13,70	523	130	4,0	30,87	8,19	8,49	3,77	7,8	0,81	II
14	15,4	2	3,02	30	9,68	351	112	3,1	25,87	6,44	9,81	3,87	13,0	0,87	II
15	16,6	0,5	13,03	30	12,02	283	105	2,7	18,55	7,39	9,03	4,53	16,3	0,89	II
16	24	1,5	6,28	30	4,86	152	75	2,0	34,55	4,92	11,54	5,13	49,4	0,97	III
17	24,8	1	9,74	30	8,86	236	129	1,8	48,95	6,15	10,09	6,06	54,6	0,97	III
18	40,9	2	8,03	30	1,76	94	80	1,2	51,3	4,17	12,76	7,91	243,3	0,99	IV
19	42,4	1,5	11,1	30	2,80	134	78	1,7	61,74	4,40	12,34	8,47	271,1	0,99	IV

3.3.2 AKSIJALNA DISPERZIJA ČESTICA

Druga važna karakteristika načina proticanja čestica je njihova disperzija u aksijalnom pravcu dok se kreću kroz ROT. Ona je analizirana i kvantifikovana u okviru ovog istraživanja. Uzorkovanje i analiza slika uzoraka u softveru *ImageJ* su rezultirali koncentracijom čestica OS u funkciji vremena (C_i , kao što je objašnjeno u delu 3.2.) [91]. Dobijene vrednosti koncentracije C_i , su konvertovane u kumulativnu krivu raspodele vremena zadržavanja, F – krivu na sledeći način:

$$F(t) = \frac{C_i}{C_0} \quad (3.3.13).$$

Budući da je maksimalna koncentracija OS: $C_0=1$, sledi:

$$F(t) = C_i \quad (3.3.14).$$

Normalizovana kumulativna kriva raspodele vremena zadržavanja, $F(\theta)$ prikazana je u funkciji bezdimenzionog vremena zadržavanja, θ , koje se računa kao:

$$\theta = \frac{t_i}{\bar{t}_s} \quad (3.3.15)$$

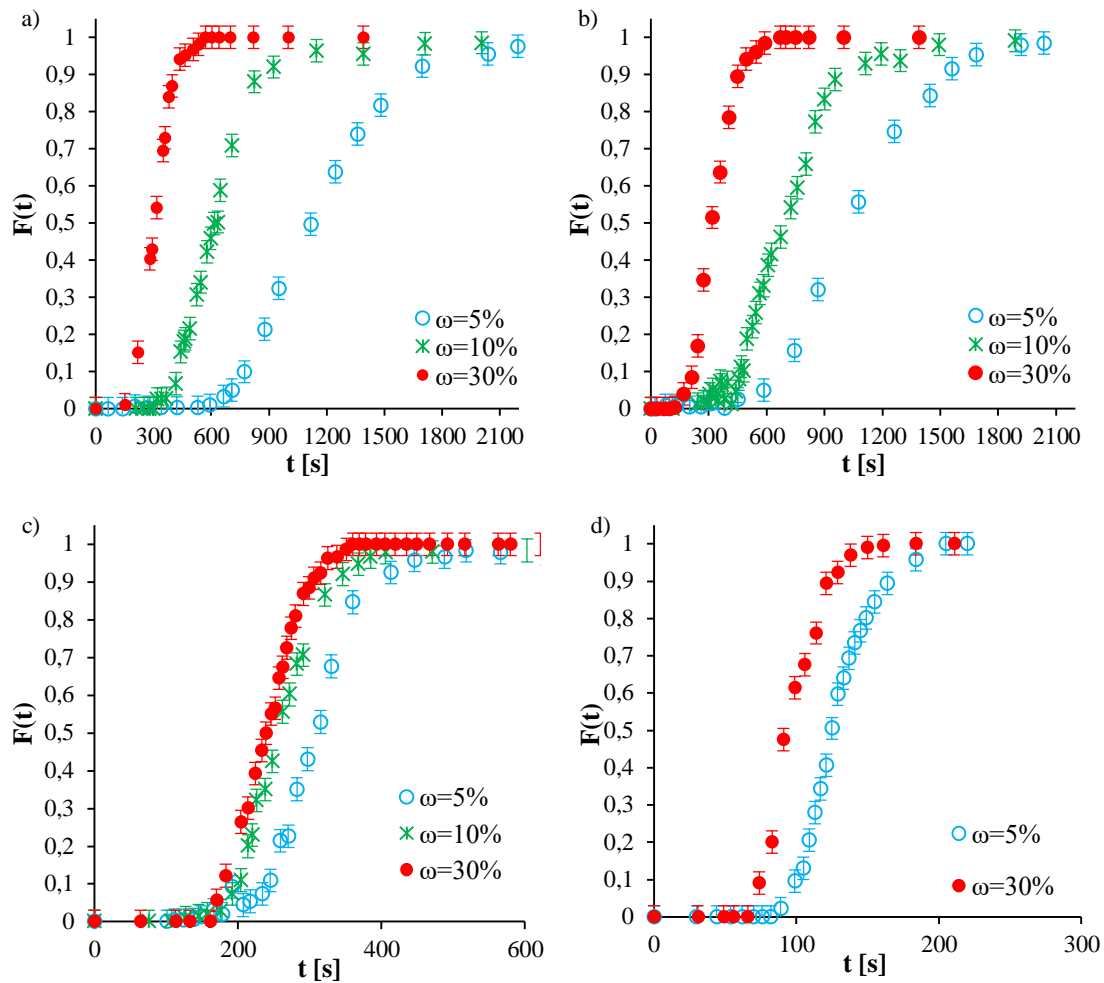
gde je t_i vreme u kojem je uzet uzorak, a \bar{t}_s srednje vreme zadržavanja čestica (SVZČ) izračunato iz eksperimentalnih rezultata [51]:

$$\bar{t}_s = \frac{\sum_{i=1}^n (c_0 - c_i) \Delta t_i}{\Delta c_0} \quad (3.3.16)$$

pri čemu je razlika u koncentraciji, $\Delta C_0 = C_0 - C_{min} = 1$, $C_{min} = 0$.

Na slici 3.3.1 prikazane su F – krive u funkciji vremena (t) za četiri izabrana eksperimenta izvedena pri različitim operativnim uslovima oscilatornog toka i nekoliko različitih udela čestica u ulaznom toku suspenzije. Operativni uslovi prikazanih eksperimenata odgovaraju II (slika 3.3.1 a i b)), III (slika 3.3.1 c)) i IV režimu strujanja čestica (slika 3.3.1 d). Odstupanje odnosno greške merenja (za koncentraciju i vreme) su prikazane na slici 3.3.1, ali su, zbog bolje preglednosti, izostavljeni sa svih ostalih slika [91]. Sve F – krive prikazane na slici 3.3.1 imaju karakterističan S oblik, sa relativno strmim nagibom što ukazuje na dobro mešanje čestica u ćelijama između

pregrada ROT. Pored toga, F – krive ukazuju i na to da strujanje čestica kroz ROT odstupa od idealnog klipnog načina strujanja, odnosno da aksijalna disperzija čestica nije zanemarljiva. Kada se uporede F – krive prikazane na slici 3.3.1 a) i b), koje pripadaju režimu strujanja čestica II (Zgušnjeno strujanje čestica), uočava se da one imaju sličan oblik, za približne vrednosti maksimalne aksijalne oscilatorne brzine od: 40 mm s^{-1} (pod a) i $37,9 \text{ mm s}^{-1}$ (pod b), iako se vrednosti amplitude i frekvencije značajno razlikuju.



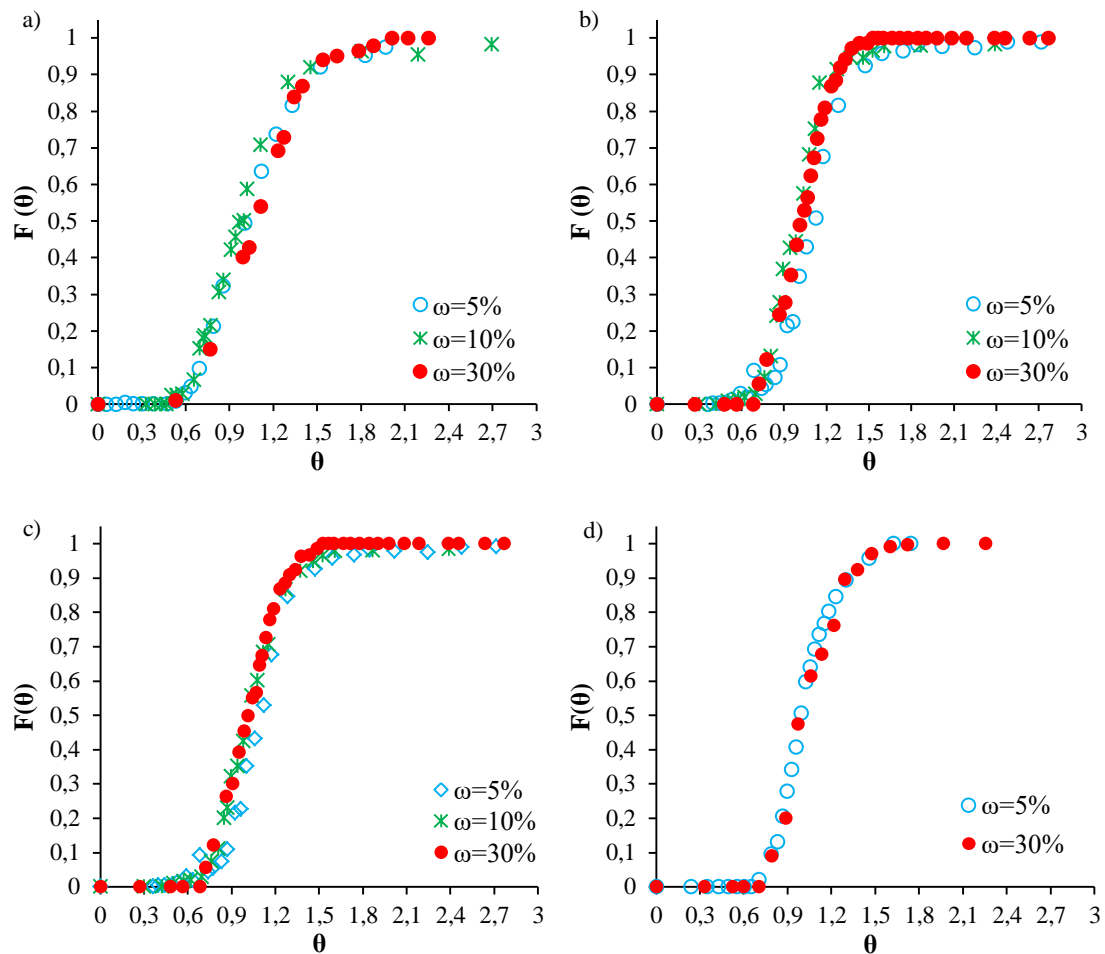
Slika 3.3.1. Kumulativna kriva raspodele čestica (F – kriva) u ROT za različite udele čvrste faze u ulaznoj suspenziji i oscilatornim uslovima: a) $f=0,5 \text{ Hz}$, $x_0=13,03 \text{ mm}$ (režim strujanja II), b) $f=2 \text{ Hz}$, $x_0=3,02 \text{ mm}$ (režim strujanja II), c) $f=1 \text{ Hz}$, $x_0=9,74 \text{ mm}$ (režim strujanja III) i d) $f=2 \text{ Hz}$, $x_0=8,03 \text{ mm}$ (režim strujanja IV)

Uporedivi oblik F – krivih, iako su različite vrednosti amplituda i frekvencija, je posledica slične vrednosti unosa energije u sistem: $16,3 \text{ Wm}^{-3}$, pod a) i 13 Wm^{-3} pod b), respektivno (videti tabelu 3.3.2).

Na slici 3.3.1. c) i d) su prikazane F – krive koje odgovaraju režimu strujanja čestica III i IV, u kojima su čestice potpuno suspendovane. Očigledno je da se u slučaju SFR III i IV čestice kreću brže, što je i očekivano s obzirom da je unos energije u sistem veći i veći je odnos maksimalne aksijalne oscilatorne brzine i brzine taloženja čestica. Pored toga, slika 3.3.1 potvrđuje da srednje vreme zadržavanja čestica (SVZ) u značajnoj meri zavisi od koncentracije čestica u suspenziji koja ulazi u reaktor, bez obzira na režim strujanja čestica, o čemu će biti reči kasnije [91].

Ipak, kada se F – krive predstavu u funkciji bezdimenzionog vremena (θ , slika 3.3.2), može se zaključiti da aksijalna disperzija ne zavisi značajno od koncentracije čestica u suspenziji na ulazu u reaktor u različitim slučajevima: slučaju niske vrednosti frekvencije i visoke vrednosti amplitude (slika 3.3.2 a), visoke vrednosti frekvencije i niske vrednosti amplitude (slika 3.3.2 b), slučaju srednje vrednosti frekvencije i visoke vrednosti amplitude (slika 3.3.2 c) kao i u slučaju visokih vrednosti i frekvencije i amplitude (slika 3.3.2 d). Navedeni eksperimentalni rezultati su dobijeni u eksperimentima u kojima je prisutno Zgušnjeno strujanje čestica (slika 3.3.2 a i b), Razblaženi tok čestica (slika 3.3.2c) i Odošenje čestica (slika 3.3.2 d).

Međutim, koncentracija čestica u suspenziji na ulazu u reaktor ima uticaj na udeo čestica u reaktoru, a o čemu će biti reči u daljem tekstu. Može se zaključiti da se željene vrednosti SVZ čestica i njihov udeo u ROT mogu ostvariti podešavanjem vrednosti koncentracije čestica u ulaznoj suspenziji bez značajnog efekta na aksijalnu disperziju čestica [91].

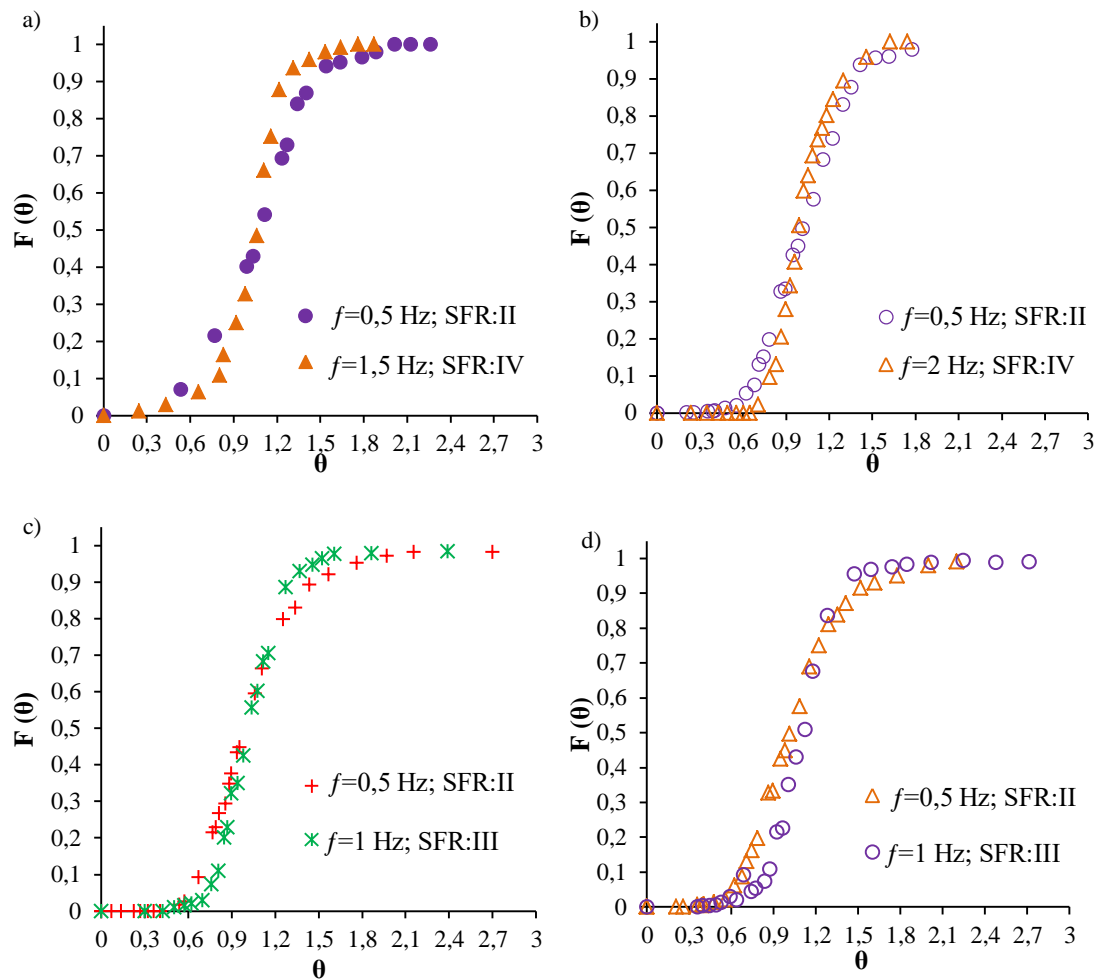


Slika 3.3.2. Uticaj koncentracije čestica u ulaznoj suspenziji (ω) na aksijalnu disperziju čestica u ROT pri oscilatornim uslovima: a) $f=0,5$ Hz, $x_0=9,74$ mm b) $f=2$ Hz, $x_0=3,02$ mm, c) $f=1$ Hz, $x_0=9,74$ mm i d) $f=2$ Hz, $x_0=8,03$ mm .

S druge strane, F – krive na slici 3.3.2. pokazuju značajan uticaj uslova oscilatornog toka (frekvencije i amplitude) na disperziju čestica, obzirom da postoji razlika u nagibu prikazanih F – krivih. Ova razlika u nagibu krivih nije usko povezana sa režimom strujanja čestica koji preovladava, već je u većoj meri povezana sa pojedinačnom promenom frekvencije i amplitude.

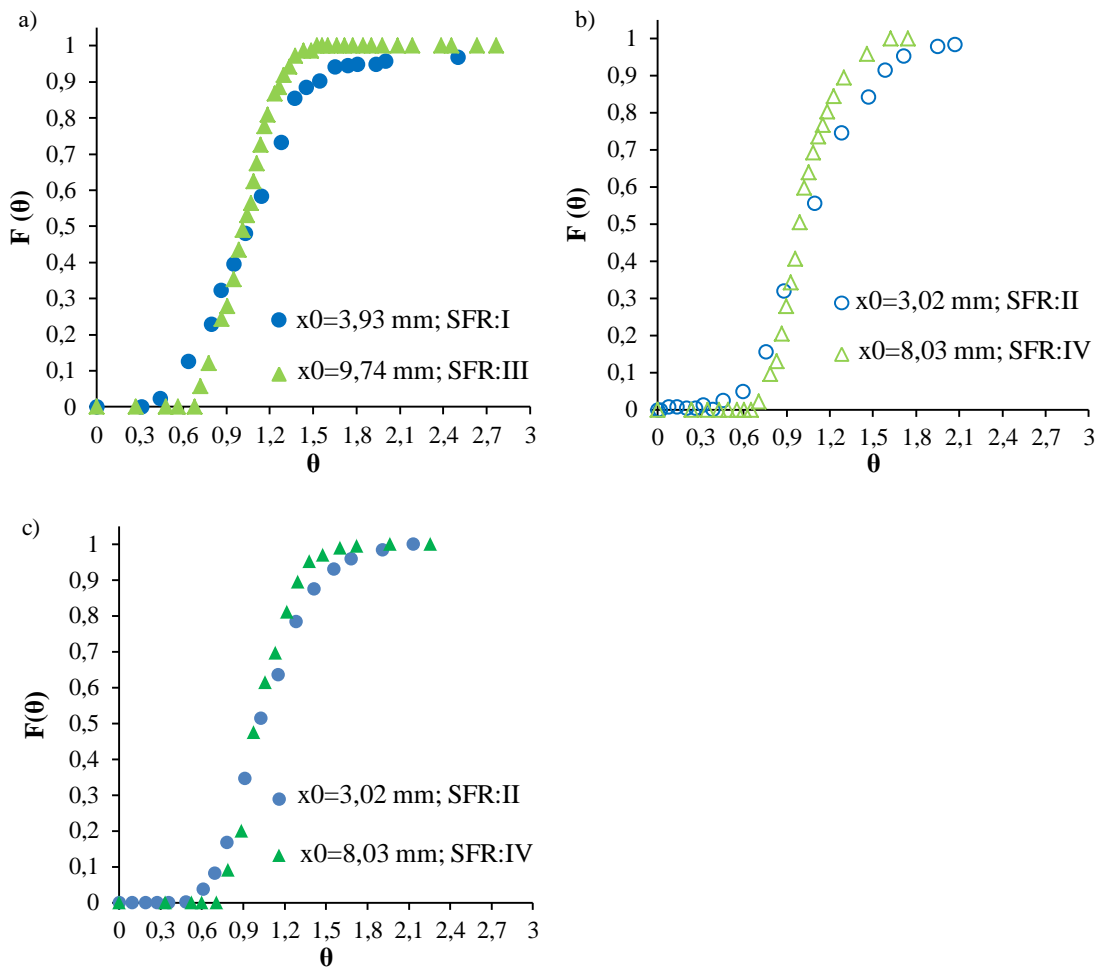
Na slici 3.3.3 je prikazan uticaj frekvencije, pri konstantnoj vrednosti amplitude i koncentraciji čestica u ulaznoj suspenziji, a na slici i 3.3.4. uticaj amplitude pri

konstantnoj vrednosti frekvencije i koncentraciji čestica u ulaznoj suspenziji na $F -$ krive [91].



Slika 3.3.3. Uticaj frekvencije na $F -$ krivu pri konstantnoj amplitudi i udelu čestica u ulaznoj suspenziji: a) $x_0 \approx 12,00$ mm i $\omega=30$ % v/v b) $x_0 \approx 8,50$ mm i $\omega=5$ % v/v, c) $x_0 \approx 9,34$ mm i $\omega=10$ % v/v i d) $x_0 \approx 9,34$ mm i $\omega=5$ % v/v

Režim strujanja čestica za eksperimente prikazane na slici 3.3.3 i 3.3.4. su navedeni u legendi datih slika.



Slika 3.3.4. Uticaj amplitude na $F -$ krivu pri konstantnoj vrednosti frekvencije i udelu čestica u ulaznoj suspenziji: a) $f=1$ Hz i $\omega=30$ % v/v, b) $f=2$ Hz i $\omega=5$ % v/v i c) $f=2$ Hz i $\omega=30$ % v/v.

Kao što se može videti na slici 3.3.3 i 3.3.4, i frekvencija i amplituda oscilatornog toka tečnosti imaju značajan uticaj na aksijalnu disperziju čestica. Generalno, veće vrednosti amplitude efikasnije suspenduju čestice, a visoke vrednosti frekvencije omogućavaju da čestice ostanu suspendovane (da se manje talože), što se odražava na aksijalnu disperziju čestica. Obrnuto, male vrednosti amplitude ne nose dovoljno energije (videti jednačinu 3.3.11) potrebne za efikasno suspendovanje čestica obzirom da su turbulencije (vrtlozi) tečnosti i sila uzdizanja manje izraženi; dok niske vrednosti frekvencije zbog veće pauze između hoda/udara membrane pumpe dozvoljavaju česticama da se više talože. Pre svega, u skladu sa jednačinom 3.3.1

maksimalna aksijalna oscilatorna brzina raste i sa amplitudom i sa frekvencijom i postaje dominantna u odnosu na brzinu taloženja čestica (jednačina 3.3.10). Zbog toga, primena visoke vrednosti frekvencije vodi ka manjoj aksijalnoj disperziji, odnosno način proticanja čestica je veoma sličan klipnom strujanju. Analogan trend je uočen i pri višim vrednostima amplitude – disperzija čestica opada sa amplitudom. Ovo se, takođe odražava i na promenu režima strujanja čestica koji preovlađuje, koji se menja iz II u IV, II u III i iz I u III, kao što se može videti na slikama 3.3.3. i 3.3.4. Ako se uporede F – krive prikazane na slici 3.3.3 i 3.3.4, može se zaključiti da amplituda ima izraženiji uticaj na aksijalnu disperziju čestica od frekvencije, što je skladu sa eksperimentalnim rezultatima za tečnu fazu [84]. Eksperimentalni rezultati prikazani ovde su bili donekle i očekivani budući da je sličan trend utvrđen i prikazan u literaturi koja se odnosi na uticaj operativnih uslova (frekvencije i amplitude) na RVZ (jedne) tečne faze [84, 89, 92].

Uočeni efekat amplitude na RVZ čestica je u skladu sa rezultatima prikazanim u literaturi [61]. Treba pomenuti da su neki od autora utvrdili povećanje aksijalne disperzije tečnosti sa daljim povećanjem vrednosti amplitude nakon uspostavljanja minimuma aksijalne disperzije (za jednofazne sisteme) [36, 53, 55].

U dvofaznim sistemima, tečno – čestice minimalna vrednost aksijalne disperzije je postignuta pri sledećim vrednostima bezdimenzionih brojeva $Re_n= 141$, $Re_o= 377$, $\psi= 2,56$ i $Str= 0,6$ [61]. U ovom istraživanju minimalna aksijalna disperzija, kada je koncentracija čestica u ulaznoj suspenziji 30 %(v/v) je ostvarena pri $Re_n= 597$, $Re_o= 2707$, $\psi=4,5$ i $Str= 0,19$. U slučaju koncentracije čestica u ulaznoj suspenziji od 5 %, odnosno 10 %, minimalna aksijalna disperzija se postiže pri $Re_n= 359$, $Re_o= 1584$, $\psi= 4,4$ i $Str= 0,21$ [91]. Iz gore navedenih vrednosti može se videti da je minimalna aksijalna disperzija postignuta u prilično širokom spektru bezdimenzionih brojeva i da je Re_o u ovom istraživanju (pri kojem se ostvaruje minimum aksijalne disperzije; minimum se dostiže pri više različitih vrednosti Re_o) više vrednosti, a Str nešto niže vrednosti u odnosu na vrednosti prikazane u radu drugih autora. Ova činjenica ukazuje na to da je potreban relativno veći unos oscilatorne energije u ispitivani sistem (veće vrednosti amplitude i frekvencije) kako bi čestice bile efikasno suspendovane i izmešane, sa niskom aksijalnom disperzijom, u odnosu na sisteme prikazane u literaturi

[61]. Ovo je posledica samog dizajna i načina rada izvora oscilatornog kretanja fluida – membranske pumpe, o čemu je bilo reči ranije (poglavlje II).

3.3.3 MODEL AKSIJALNE DISPERZIJE ČESTICA

Kako bi se kvantifikovala aksijalna disperzija čestica, primenjen je model klipnog strujanja sa aksijalnom disperzijom (AD model). Ovaj model je uspešno primenjen za kvantifikovanje aksijalne disperzije tečnosti u jednofaznim sistemima [84, 89, 92], kao i u slučaju dvofaznog toka, tečnost – čestice [60] u ROT.

Materijalni bilans OS u bezdimenzionom obliku je prikazan u poglavlju II, jednačinom 2.3.1, s tim da u ovom slučaju figuriše Pekleov broj za čvrstu fazu, Pe_s :

$$\frac{\partial C}{\partial \theta} = \left(\frac{1}{Pe_s} \right) \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} - \frac{\partial C}{\partial z} \quad (\text{poglavlje II: 2.3.1})$$

gde je Z bezdimenziono rastojanje:

$$z = \frac{x}{L} \quad (3.3.17)$$

L je rastojanje između tačke uvođenja suspenzije i tačke uzimanja uzoraka, i C bezdimenziona koncentracija čestica. Pekleov broj za čestice, odnosno bezdimenzioni broj mešanja čestica je:

$$Pe_s = \frac{u_s \cdot L}{D_e} \quad (\text{poglavlje I: 1.3.10})$$

u kojem D_e označava koeficijent aksijalne disperzije čestica, a u_s srednju površinsku brzinu čestica.

Dancwerts – ovi granični uslovi i početni uslovi su [88]:

$$z = 0, C_{0-} = C_{0+} - \frac{1}{Pe_s} \frac{\partial C}{\partial z} \quad (\text{poglavlje II: 2.3.2})$$

$$z = 1, \frac{\partial C}{\partial z} = 0$$

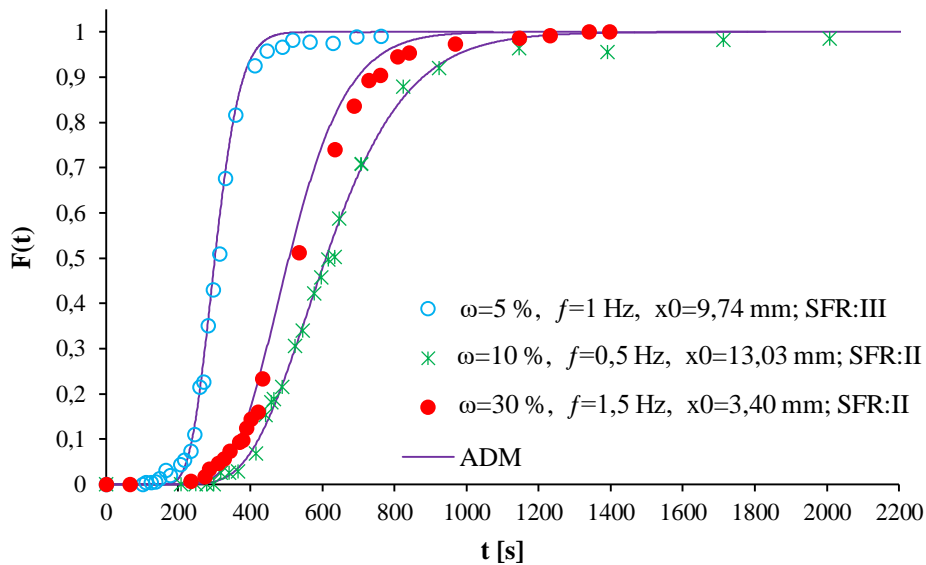
(poglavlje II: 2.3.3)

$$\theta = 0, C = 0$$

(3.3.18).

Vrednosti Pe_s brojeva su određene iz eksperimentalnih rezultata, za svaki eksperiment posebno, primenom programskog paketa MATLAB. Korišćena je direktna simpleks optimizaciona metoda u okviru MATLAB funkcije *fminsearch*. Funkcija cilja je bila definisana kao srednje kvadratno odstupanje između eksperimentalnih bezdimenzionih koncentracija OS i bezdimenzionih koncentracija dobijenih pomoću AD modela [91].

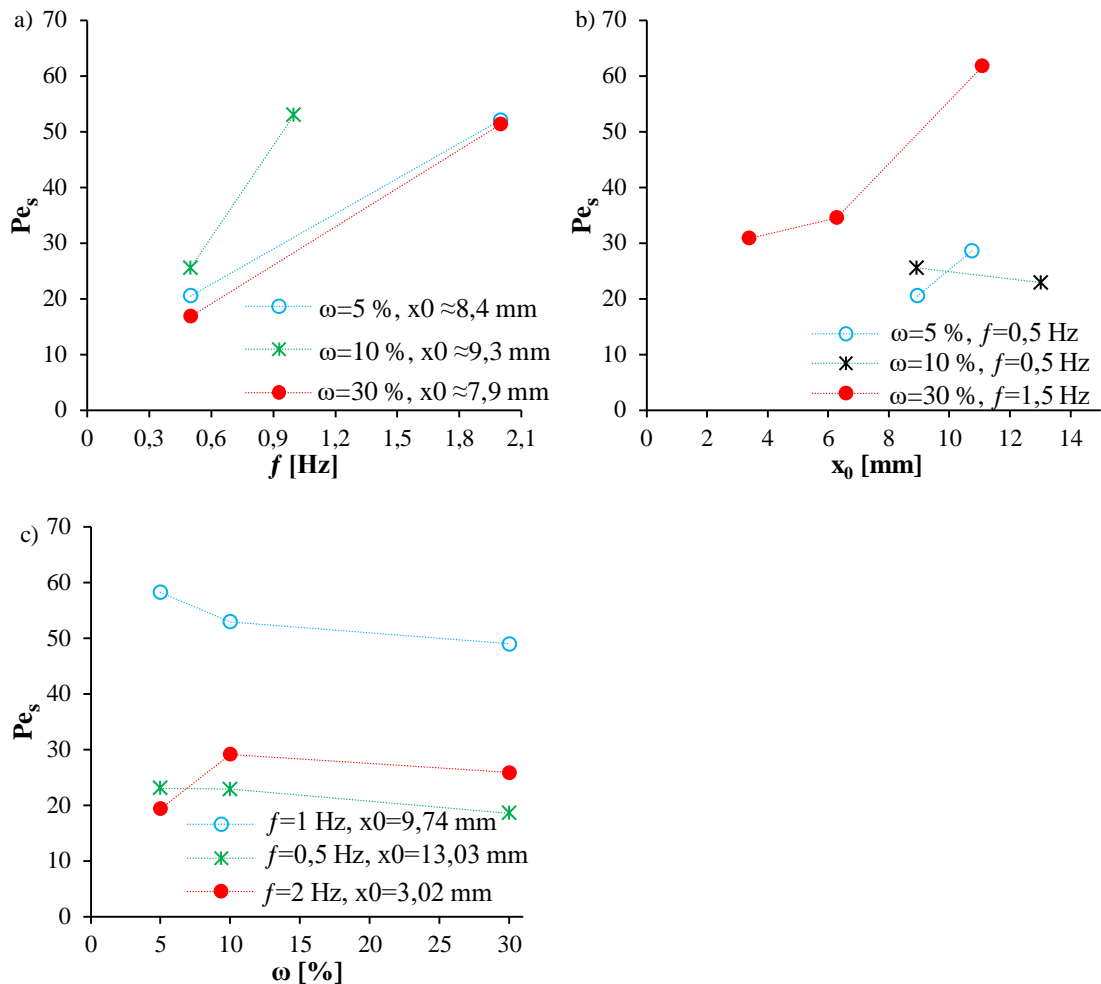
Na slici 3.3.5 su upoređeni profili F – krivih dobijenih primenom AD modela (linije na grafiku) sa eksperimentalnim tačkama (simboli na grafiku). Na slici je prikazano nekoliko odabranih eksperimenata koji su izvedeni pri različitim operativnim uslovima koji pokrivaju celokupan opseg eksperimentalnih operativnih uslova. Eksperimentalne greške na grafiku nisu prikazane zbog bolje vidljivosti.



Slika 3.3.5. Poređenje rezultata AD modela i eksperimenata pri različitim vrednostima operativnih parametara

Izračunate vrednosti F – krive primenom AD modela i estimiranih vrednosti za Pe_s , se dobro slažu sa eksperimentalnim rezultatima, kao što se može zaključiti sa slike 3.3.5. Ukupna relativna greška između modela i eksperimentalnih rezultata za sve

izvedene eksperimente iznosi 18,6 %. Blago odstupanje između rezultata modela i eksperimenata se može uočiti u početnom delu F – krivih i može biti posledica eksperimentalne greške, ako se uzme u obzir osetljivost same eksperimentalne metode (uzimanje uzoraka i analiza slika u softveru *ImageJ*). Prema tome, može se smatrati da je AD model adekvatan model kojim se makroskopski može opisati način proticanja čestica kroz dati, ispitivani sistem, odnosno nije potrebno korišćenje složenijih modela [91]. Izračunate vrednosti Pe_s brojeva grafički su prikazane na slici 3.3.6. Vrednosti Pe_s brojeva su prikazane u zavisnosti od promenljivih: frekvencije (kada su amplituda i koncentracija čestica u ulaznoj suspenziji konstantne), amplitude (kada su frekvencija i koncentracija čestica u ulaznoj suspenziji konstantne) i koncentracije čestica u ulaznoj suspenziji (kada su frekvencija i amplituda konstantne).



Slika 3.3.6. Uticaj operativnih parametara a) frekvencije, b) amplitude i c) koncentracije čestica u ulaznoj suspenziji na Pe_s u ROT

Na slici 3.3.6. a) i b) se može videti da izračunata vrednost Pe_s broja raste sa frekvencijom i amplitudom, pri svim vrednostima koncentracije čestica u ulaznoj suspenziji. Kao što je i očekivano, ovi trendovi su u skladu sa eksperimentalno dobijenim F – krivama prikazanim na slikama 3.3.3. i 3.3.4, a koje su ovde kvantifikovane kroz Pe_s broj. Jedini izuzetak od ovog trenda predstavlja zavisnost Pe_s broja od amplitude pri $\omega = 10$ % v/v (slika 3.3.6. b), gde sa amplitudom opada Pe_s . Ovo odstupanje može biti posledica eksperimentalne ili numeričke greške. Ovi rezultati ukazuju na to da aksijalna disperzija čestica može biti smanjena ukoliko se povećava vrednost amplitude i/ili frekvencije. Na slici 3.3.6. c) prikazan je uticaj povećanja ω na Pe_s . Može se zaključiti da koncentracija čestica u ulaznoj suspenziji nema značajan uticaj na Pe_s broj, odnosno na aksijalnu disperziju, što je u skladu sa eksperimentalnim zapažanjima prikazanim na slici 3.3.2, 3.3.3, i 3.3.4 [91].

3.3.4 ODNOS SREDNJEG VREMENA ZADRŽAVANJA ČESTICA I TEČNOSTI

Teorijsko srednje vreme zadržavanja tečnosti (SVZ_L) je izračunato na osnovu zapremine reaktora i ukupnog protoka tečnosti:

$$\bar{t}_L = \frac{V_R}{Q} \quad (3.3.19)$$

a srednje vreme zadržavanja čestica ($SVZ_{\check{c}}$) se računa iz eksperimentalnih rezultata primenom jednačine 3.3.16.

Kada je vrednost $SVZ_{\check{c}}$ približna vrednosti SVZ_L (videti tabelu 3.3.2), srednje vreme zadržavanja čestica je približno srednjem vremenu zadržavanja tečnosti, odnosno čestice se kreću istom (neto) brzinom tečnosti. U većini izvedenih eksperimenata $SVZ_{\check{c}}$ je bilo veće od SVZ_L , što znači da su se čestice sporije kretale od tečnosti kroz ROT.

Odnos SVZ zavisi od operativnih uslova: frekvencije, amplitude i koncentracije čestica u ulaznoj suspenziji [91]. Vrednost odnosa SVZ između 1 i 2 je poželjna u slučaju kada bi čestice ili proizvoda ili reaktanta trebalo da se „odnose“ iz sistema brzinom koja je približna neto brzini tečnosti. Ovaj odnos SVZ odgovara III ili IV režimu strujanja čestica. Sa druge strane, odnos SVZ veći od 2 (do 10) bi bio poželjan u sistemima u kojima bi čestice trebalo duže da borave, npr. ako su čestice apsorbenski ili

katalizatori (koji se deaktiviraju). U ovim slučajevima ne dolazi do promene veličine čestica duž reaktora kao što je to slučaj u reakciji kristalizacije ili polimerizacije gdje prečnik čestica raste duž reaktora, odnosno u ROT se obično uspostavi raspodela veličine čestica i na njih se navedeni zaključci iz rada verovatno ne mogu primeniti.

Zavisnost odnosa $SVZ_{\check{c}}$ i SVZ_L (τ) od uslova oscilatornog toka se može videti u tabeli 3.3.2. Kao što se može videti, τ se značajno razlikuje u zavisnosti od uslova oscilatornog toka (u opsegu od 1,2 do 11,2). Vrednost odnosa SVZ opada i sa frekvencijom i sa amplitudom pri svim vrednostima koncentracije čestica u ulaznoj suspenziji. Kao što je već ranije navedeno, povećanje frekvencije i/ili amplitude intenzifikuje mešanje tečnosti, a samim tim i mešanje čestica, kao i njihovo aksijalno kretanje. Treba istaći i to da i SVZ tečnosti takođe opada sa amplitudom i frekvencijom (videti jednačinu 3.3.19 i poglavlje II), ali za veće vrednosti amplituda i/ili frekvencija, SVZ čestica opada intenzivnije, pa time i odnos τ [91].

Pored uticaja amplitude i frekvencije u tabeli 3.3.2. se može videti i uticaj koncentracije čestica u ulaznoj suspenziji na τ . Kada je koncentracija čestica u ulaznoj suspenziji bila veća, čestice su se brže kretale kroz ROT. Ovo se takođe može videti i na slici 3.3.1, na kojoj $SVZ_{\check{c}}$ opada sa povećanjem koncentracije čestica u ulaznoj suspenziji. Sa povećanjem broja čestica, stešneno taloženje postaje izraženije, što rezultira smanjenjem brzine taloženja čestica. Dakle, odnos između maksimalne oscilatorne brzine tečnosti i brzine taloženja čestica postaje veći, a to vodi ka tome da se čestice kreću brže kroz reaktor [91].

Na kraju se zaključuje da se pravilnim odabirom operativnih uslova: frekvencije, amplitude, kao i koncentracije čestica u ulaznoj suspenziji može kontrolisati odnos SVZ u skladu sa potrebama potencijalne primene.

Pored efekata operativnih uslova, treba istaći i to da SVZ, kao i raspodela vremena zadržavanja i tečnosti i čestica zavise od oblika, veličine i gustine čestica. Budući da je u ovom radu korišćen samo jedan tip čestica, uticaj ovih parametara nije razmatran [91].

3.3.5 UDEO ČESTICA U ROT

U svim režimima strujanja, zapreminski udeo čestica u ROT (β), zavisi od operativnih uslova – frekvencije i amplitude oscilatornog toka tečnosti, udela čestica u ulaznoj suspenziji kao i od geometrijskih karakteristika reaktora, npr. površine otvorenog dela pregrada, konstrukcije pregrada itd. Uticaj geometrije ROT na udeo čestica u njemu, nije ispitivan u ovom radu [91].

Zavisnost β od frekvencije oscilatornog toka tečnosti pri konstantnoj amplitudi i koncentraciji čestica u ulaznoj suspenziji je prikazana u tabeli 3.3.2. Izračunata vrednost eksperimentalne greške koja uključuje metodu prikupljanja čestica i merenje njihove mase je bila oko 3 %.

U tabeli 3.3.2. se može videti da β opada sa frekvencijom, na sličan način kao i odnos SVZ. Isto važi i za uticaj amplitude. Kao što je već ranije rečeno, većim vrednostima frekvencije i /ili amplitude odgovara veći unos energije što rezultira intenzivnijim mešanjem. Kao posledica, čestice su u ćelijama efikasno suspendovane i brzo se kreću iz jedne u drugu (narednu) ćeliju (manja vrednost za τ), a to vodi ka maloj masi čestica koja se akumulira u reaktoru [91].

Udeo čestica u ROT raste sa povećanjem koncentracije čestica u ulaznoj suspenziji, što je i logično obzirom da veći broj čestica ulazi u sistem. Ovo povećanje β je izraženije u slučaju viših vrednosti amplitude (eksperimenti: 4, 9 i 15, kao i eksperimenti 5, 10 i 17, tabela 3.3.2.), budući da je β za manje vrednosti amplitude manje (eksperimenti: 3, 8 i 14, tabela 3.3.2.). Pored toga, za veće vrednosti amplitude (eksperimenti: 4, 9 i 15, kao i eksperimenti 5, 10 i 17, tabela 3.3.2.), udeo čestica u ROT raste brže za ω od 10 % do 30 %.

Ukoliko se uporede eksperimenti za $f=0,5$ Hz i $x_0=13,03$ mm (eksperimenti 4, 9 i 15), $f=1$ Hz, $x_0=9,74$ mm (eksperimenti 5, 10 i 17) i $f=2,0$ Hz i $x_0=3,02$ mm (eksperimenti 3, 8 i 14), u tabela 3.3.2., može se uočiti da udeo čestica u ROT sa većom koncentracijom čestica u ulaznoj suspenziji raste iako odnos SVZ – τ opada (kraće SVZ čestica). Dakle, efekat koncentracije čestica u ulaznoj suspenziji na udeo čestica u ROT je različit u odnosu na efekat amplitude i frekvencije, gde sa njihovim povećanjem i odnos SVZ i udeo čestica u ROT opada [91].

3.4 ZAKLJUČCI

Rezultati ovog dela doktorske disertacije pokazuju da operativni uslovi: frekvencija i amplituda oscilatornog toka tečnosti i koncentracije čestica u ulaznoj suspenziji imaju značajan uticaj na ponašanje i način proticanja čestica kroz kontinualni reaktor sa oscilatornim tokom fluida.

Utvrđena su 4 režima strujanja čestica i to: I – Puzajuće strujanje; II – Zgušnjeno strujanje; III – Razblaženi tok čestica i IV– Odnosenje čestica. Režimi strujanja čestica kroz ROT se razlikuju na osnovu odnosa maksimalne aksijalne oscilatorne brzine i brzine stešnjelog taloženja čestica, unosa snage oscilatornog toka po jedinici zapremine i odnosa koncentracija čestica u uzastopnim ćelijama.

Veće vrednosti frekvencije kao i veće vrednosti amplitude podrazumevaju veći unos energije u sistem što rezultira efikasnijim mešanjem tečnosti (turbulencije), a samim tim i efikasnije mešanje čestica (čestice su uniformnije suspendovane). Sa povećanjem vrednosti amplitude i/ili frekvencije režim strujanja čestica se može promeniti i to iz I režima strujanja u II, III ili IV. Povećanje vrednosti amplitude i/ili frekvencije vodi ka smanjenju aksijalne disperzije čestica (strujanje čestica se približava klipnom strujanju), smanjenju odnosa srednjeg vremena zadržavanja čestica i tečnosti i smanjenju udela čestica u ROT [91].

S druge strane, koncentracija čestica u ulaznoj suspenziji nije imala značajan uticaj na aksijalnu disperziju. Međutim, koncentracija čestica u ulaznoj suspenziji pokazala je značajan uticaj na srednje vreme zadržavanja čestica i njihov udeo u ROT. Sa povećanjem koncentracije čestica u ulaznoj suspenziji, brzina stešnjelog taloženja čestica je opadala (zgušnjena suspenzija), a oscilatorna brzina postajala dominantna. Usled navedenog, čestice su bile uniformnije suspendovane (uglavnom su to II ili III režim strujanja čestica) i brže se kretale iz jedne ćelije u drugu – sledeću ćeliju, odnosno srednje vreme zadržavanja čestica je opadalo, a samim tim odnos srednjih vremena zadržavanja čestica i tečnosti se smanjio. Nasuprot ovome, udeo čestica u ROT se povećavao sa koncentracijom čestica u ulaznoj suspenziji, što je i bilo očekivano uzevši u obzir da je veći broj čestica ulazio u reaktor [91].

Neidealni način proticanja čestica kroz kontinualni ROT je dobro opisan pomoću modela klipnog strujanja sa aksijalnom disperzijom (AD modelom).

Kumulativne krive raspodele vremena zadržavanja čestica (F – krive) dobijene primenom AD modela su pokazale veoma dobro slaganje sa eksperimentalnim krivama. Trendovi uočeni analizom eksperimentalnih rezultata su kvantifikovani i prikazani kroz vrednosti Pekleovih brojeva određenih na osnovu eksperimenata i optimizacije.

Rezultati ovog istraživanja pokazuju da su uticaji operativnih uslova na način proticanja čestica kroz ROT kontrarni. Na primer, ukoliko je potrebno ostvariti veliki udeo čestica u ROT, koncentracija čestica u ulaznoj suspenziji treba da bude velika. Međutim, srednje vreme zadržavanja čestica kao i odnos srednjih vremena zadržavanja za čestice i tečnost, opada. Ukoliko je poželjno ostvariti veći odnos srednjih vremena zadržavanja potrebno je koristiti nižu vrednost frekvencije i/ili amplitude. Sa druge strane, niža vrednost frekvencije i/ili amplitude uzrokuje povećanje aksijalne disperzije čestica. Dakle, potrebno je naći kompromis, tj. optimum, a željeni način proticanja čestica je moguće postići samo preciznim odabirom i kontrolom operativnih uslova. Ipak, sve ovo bitno zavisi od same primene sistema/reaktora, odnosno da li će čestice u sistemu imati ulogu reaktanta, proizvoda ili katalizatora, koliko dugo one treba da se zadrže u reaktoru u odnosu na tečnost i u kojoj koncentraciji [91].

SPISAK UPOTREBLJENIH OZNAKA

Re_n – Rejnoldsov broj

Re_o – Oscilatorni Rejnoldsov broj

Str – Strauhalov broj

Pe_s – Pekleov broj za čvrstu fazu

D – unutrašnji prečnik reaktora (m)

d_o – prečnik otvora na pregradama (m)

L – dužina reaktora (m)

P/V_R – snaga po jedinici zapremine (Wm^{-3})

N_b – broj pregrada

N_p – broj obojenih čestica u uzorku

Q – ukupni protok ($L h^{-1}$)

Q_s – protok sekundarnog toka, protok peristaltičke pumpe ($L h^{-1}$)

Q_o – protok oscilatornog toka, protok membranske pumpe ($L h^{-1}$)

F – kumulativna kriva raspodele vremena zadržavanja

d_* – bezdimenzioni prečnik čestica

d_p – srednji prečnik čestica (m)

d'_* – bezdimenzioni prečnik čestica u slučaju stešnjenog taloženja

d''_* – bezdimenzioni prečnik čestica u slučaju stešnjenog taloženja

V_s – zapremina čestica u zapremini reaktora (m^3)

V_R – zapremina reaktora (m^3)

V_p – zapremina jedne čestice (m^3)

m_{sr} – ukupna masa čestica u reaktoru (mg)

m_s – ukupna masa čestica u uzorku (mg)

m_{cs} – masa obojenih čestica u uzorku (mg)

m_{us} – masa nebojenih čestica u uzorku (mg)

m_p – masa jedne čestice (mg)

x_0 – amplituda (mm)

u_o – maksimalna aksijalna oscilatorna brzina (m s^{-1})

u_p – brzina taloženja sferičnih čestica (m s^{-1})

u'_p – brzina taloženja sferičnih čestica u slučaju stešnjenog taloženja (m s^{-1})

u_s – srednja površinska brzina čestica (m s^{-1})

t_i – vreme u kojem je uzet uzorak (s)

C_i – koncentracija nebojenih čestica u uzorku

C_0 – maksimalna koncentracija OS, 1

C_d – koeficijent otpora

C'_d – koeficijent otpora u slučaju stešnjenog taloženja

C_O – koeficijent otvora na pregradi

S – udeo otvorene površine na pregradi u odnosu na površinu poprečnog preseka reaktora

R – empirijska konstanta u jednačini (3.3.12)

Z – bezdimenziono rastojanje

D_e – koeficijent aksijalne disperzije čestica ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$)

\bar{t}_s – srednje vreme zadržavanja čestica (s)

\bar{t}_L – teorijsko srednje vreme zadržavanja tečnosti (s)

Grčki simboli

β – zapreminski udeo čestica u reaktoru

ρ_s – gustina čestica (kg m^{-3})

ρ_f – gustina tečnosti (kg m^{-3})

ρ_m – gustina suspenzije (kg m^{-3})

μ_f – viskoznost tečnosti (Pa s)

μ_m – efektivna viskoznost smeše (Pa s)

ω – zapreminska koncentracija čestica u ulaznoj suspenziji (% v/v)

f – frekvencija (Hz)

ψ – odnos brzina

ψ_p – korekcionni faktor

ε – udeo tečnosti

γ – odnos koncentracija čestica između susednih ćelija

θ – bezdimenziono vreme

IV REAKCIJA TRANSGALAKTOZILACIJE U ROT

4. REAKCIJA TRANSGALAKTOZILACIJE U ROT

Enzimski katalizovane reakcije, sa slobodnim ili imobilisanim enzimima, su jedne od najzastupljenijih reakcija u biohemijskim procesima. Procesi u kojima se koriste enzimi se mogu odvijati u različitim tipovima reaktora, ali su reaktori sa oscilatornim tokom fluida posebno pogodni. Kako su enzimi osetljivi na uslove u mikrookruženju koje je prisutno u sistemu, potrebno je obezbediti da se ti uslovi mogu lako i sa visokom preciznošću kontrolisati i regulisati. Pored niskih vrednosti smicajnih napona, što je veoma bitno za enzimске reakcije, u reaktorima sa oscilatornim tokom fluida može se ostvariti efikasno mešanje, a samim tim i dobar kontakt između učesnika reakcije što vodi ka boljem prenosu mase, odnosno ka većem prinosu reakcije, ukoliko je ona limitirana prenosom mase. Kao što je u poglavlju I navedeno, primena ROT, pored pogodnog mikrookruženja omogućuje i smanjenje troškova proizvodnje, jednostavan rad i lako upravljanje procesom.

U ovom istraživanju ispitivana je biohemijska reakcija transgalaktozilacije laktoze u cilju dobijanja vrednih prebiotskih jedinjenja galaktooligosaharida (GOS) pomoću komercijalnih enzima β – galaktozidaza iz *Aspergillus oryzae*, kako u slobodnom obliku, tako i imobilisanih na česticama jonoizmenjivačke smole.

Cilj istraživanja je da se pokaže da se reakcija transgalaktozilacije za dobijanje GOS može efikasno izvoditi kontinualno u reaktoru sa oscilatornim tokom fluida i to poželjno sa većim prinosom reakcije u odnosu na šaržni sistem.

Pored toga, razvijeni su matematički modeli kojima se opisuje sistem u kojem se odigrava ispitivana reakcija, kako sa slobodnim, tako i sa imobilisanim enzimima. Razvijeni modeli se baziraju modelu klipnog strujanja sa aksijalnom disperzijom, sa parametrima određenim u prethodnim poglavljima ove disertacije. Model uključuje kinetičke parametre – konstante brzine reakcija koji su određeni na osnovu eksperimentalnih vrednosti i predloženog mehanizma reakcije. Određivanje kinetičkih parametara je takođe predmet ove doktorske disertacije.

4.1 SINTEZA GALAKTOOLIGOSAHARIDA

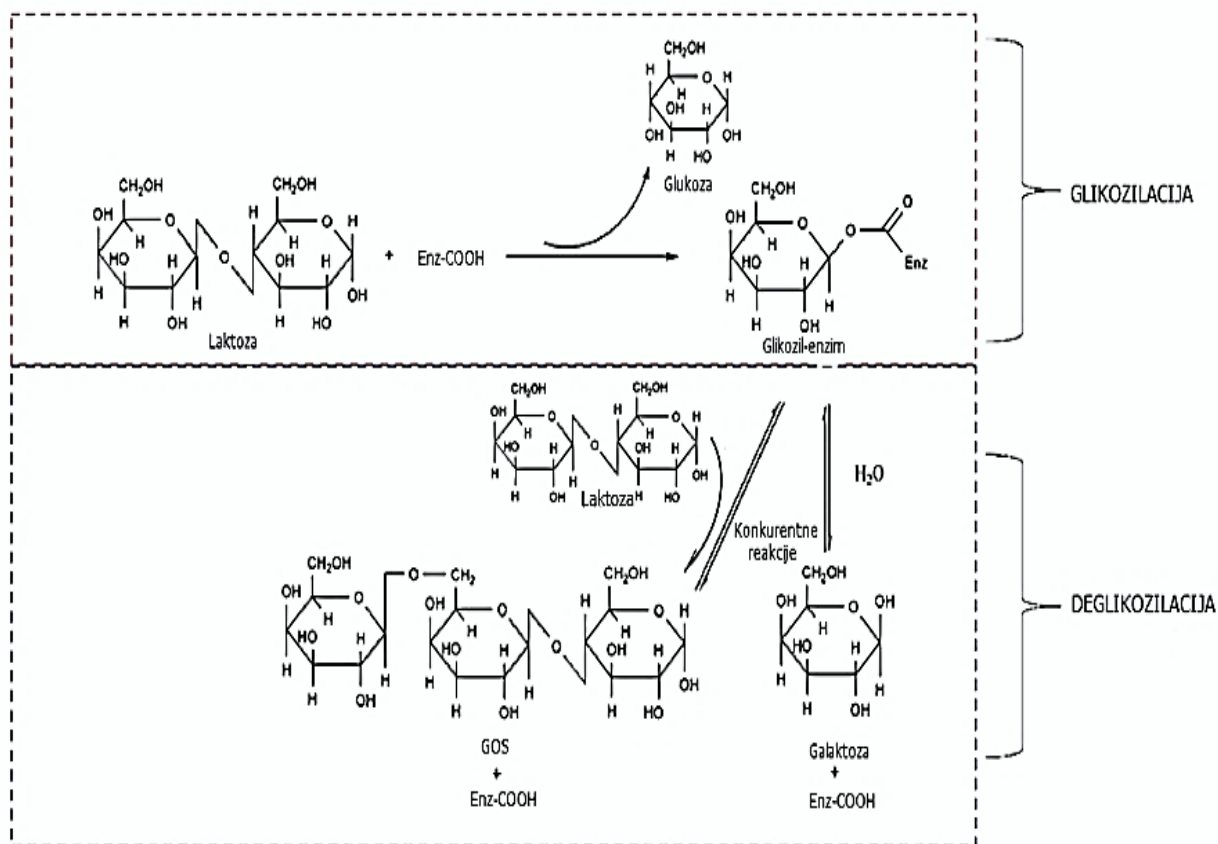
4.1.1 MEHANIZAM ENZIMSKE SINTEZE GALAKTOOLIGOSAHARIDA

Galaktooligosaharidi su prirodni, funkcionalni oligosaharidi koji su sastavljeni od jednog do sedam molekula galaktoze vezanih za terminalni molekul galaktoze ili glukoze [100, 101]. GOS predstavljaju jedan tip prebiotika i kao takvi su blagotvorni za ljudski organizam – poboljšavaju crevnu floru i imunitet, redukuju masnoću u krvi, pomažu organizmu u borbi sa tumorima i usporavaju starenje [100, 102, 103].

Galaktooligosaharidi nastaju iz laktoze u reakciji transglikozilacije koja može biti katalizovana različitim enzimima. Od skora je enzim β – galaktozidaza (β – gal) našao široku primenu u sintezi GOS [100, 104 –112]. U zavisnosti od porekla, β – galaktozidaza pokazuje različite sposobnosti u pogledu katalizovanja reakcije nastajanja GOS iz laktoze. Najčešće ispitivane β – galaktozidaze su poreklom iz *Aspergillus oryzae* (*Ao β – gal*) [100, 104, 105, 106], *Bacillus circulans* (*BgaC*) [107] ili *Kluyveromyces* [108].

Konverzija laktoze u GOS pomoću β – galaktozidaze podrazumeva mehanizam transgalaktozilacije identičan mehanizmu prisutnom u većini glikozidnih hidroliza. Ovaj mehanizam podrazumeva dve faze: glikozilaciju i deglikozilaciju [109]. Glikozilacija rezultira oslobađanjem glukoze i formiranjem intermedijera enzim – galaktoza usled kidanja β – 1,4 glikozidne veze u laktozi uz učešće nukleofilne aminokiseline. Glikozilacija je katalizovana drugom amino kiselinom koja omogućava razmenu protona. U fazi deglikozilacije se proizvodi GOS prenosom kovalentno vezanog molekula galaktoze na drugi molekul laktoze (ili drugi šećer). U „konkurentnom procesu“ – hidrolizi, intermedijer enzim – galaktoza ima molekul vode kao akceptor i nastaje galaktoza [110]. U toku deglikozilacije, voda i laktoza (ili drugi šećer) su u konkurentnom odnosu. Da bi prinos GOS bio veći, u procesu deglikozilacije mora biti laktoza, a i drugi oligosaharidi treba da budu dominantni akceptori [100].

Na slici 4.1.1 prikazan je mehanizam konverzije laktoze u GOS pomoću β – galaktozidaze [100].



Slika 4.1.1. Mehanizam reakcije konverzije laktoze u GOS pomoću β – galaktozidaze. Modifikovano iz ref. [100]

4.1.2 OPTIMIZACIJA ENZIMSKE SINTEZE GALAKTOOLIGOSAHARIDA

Zbog veoma dobrih karakteristika koje pokazuju, komercijalna proizvodnja GOS pomoću enzima postala je veoma važna poslednjih godina. U većini istraživanja koja se tiču proizvodnje GOS iz laktoze primenjen je enzim β – galaktozidaza u slobodnom obliku.

Iwasaki i saradnici [111] su ispitivali reakciju sinteze GOS iz laktoze pomoću β – galaktozidaze iz *A. oryzae*. Reakciju su izvodili u šaržnom reaktoru od 1 L (u kojem je bilo 500 mL reakcione smeše) na temperaturi od 40 °C i pH= 4,5 u trajanju od 5 h. Početna koncentracija laktoze je bila u opsegu od 0,139 do 1,67 mol L⁻¹. Autori su

utvrdili da konverzija GOS raste sa povećanjem inicijalne koncentracije laktoze. Step konverzije, izražen kao molarni odnos GOS i inicijalne koncentracije laktoze, od 0,32, je ostvaren pri maksimalnoj korišćenoj koncentraciji laktoze. Za najmanju vrednost početne koncentracije laktoze, step konverzije je iznosio 0,10 [111].

Pored dobrog prinosa reakcije i prihvatljivih operativnih uslova izvođenja reakcije sinteze GOS, upotreba enzima u slobodnom obliku ima i nekoliko ograničenja kao što su: visoki troškovi (visoka cena enzima na tržištu), poteškoće u regeneraciji i nemogućnost ponovne upotrebe. Imobilizacija enzima na odgovarajućim nosačima predstavlja jedan vid unapređenja – intenzifikacije ove reakcije. Imobilizacijom se neki od nedostataka upotrebe slobodnih enzima u konvencionalnim reaktorima, mogu prevazići [112, 113]. Imobilizacija enzima omogućava veću stabilnost enzima i dobijanje proizvoda u kontinualnim sistemima, smanjenje troškova prerade, poboljšanu čistoću i kvalitet proizvoda i eliminisanje potrebe za zahtevnim odvajanjem enzima iz reakcione smeše [112, 114, 115].

Pored operativnih uslova: koncentracija enzima, početna koncentracija laktoze, temperature, pH i sl., na prinos reakcije sinteze GOS utiče i izbor tipa reaktora u kojem se reakcija odvija. Kontinualni sistemi imaju veoma značajnu ulogu u proizvodnji GOS u odnosu na šaržne sisteme zbog visoke efikasnosti u proizvodnji, koje su navedene ranije u disertaciji (poglavljje I) [112].

U literaturi su prikazani rezultati istraživanja reakcije sinteze GOS pomoću imobilisanih enzima β – galaktozidaza iz *A. oryzae* u različitim tipovima reaktora. Neki od primenjenih tipova reaktora su navedeni u daljem tekstu.

Carević i saradnici [116] su ispitivali reakciju sinteze GOS sa enzimima imobilisanim na površinu čestice jonoizmenjivačke smole u šaržnom reaktoru i kontinualnom reaktoru sa fluidizovanim slojem čestica i recirkulacijom zapremine 8,6 mL, pri protoku od 2 mLmin⁻¹. Početna koncentracija rastvora laktoze je bila 400 gL⁻¹. Reakcija se odvijala na temperature od 40 °C i pH od 4,5. Prinos reakcije u šaržnom i u reaktoru sa fluidizovanim slojem sa recirkulacijom nakon 14 sati je bio 87 gL⁻¹, odnosno 100 gL⁻¹, respektivno [116].

Gaur i saradnici [117] su ispitivali reakciju sinteze GOS u šaržnom reaktoru iz 20 % (w/v) rastvora laktoze pomoću enzima β – galaktozidaza iz *A. oryzae* koji su bili

imobilisani na česticama hitozana. Za dva sata, na temperaturi od 40 °C ostvaren je prinos GOS od 17,3 % (od ukupnih šećera).

Albayrak i saradnici [104] su reakciju sinteze GOS izvodili u kontinualnom, cevnom, vertikalnom reaktoru zapremine 37 mL pri protoku supstrata od 37 mLh⁻¹. Enzimi, β –galaktozidaza iz *A. oryzae*, bili su imobilisani na pamučnoj tkanini. Na temperaturi od 40 °C i pH od 4,5 ostvaren je prinos od 80 odnosno 106 gL⁻¹ GOS, pri početnoj koncentraciji laktoze od 200 gL⁻¹ i 400 gL⁻¹, respektivno.

Sheu i saradnici [118] su reakciju sinteze GOS izvodili u reaktoru sa klipnim strujanjem, pri protoku od 1 mLmin⁻¹. Enzimi su bili imobilisani na hitozanskim česticama koje su tretirane glutaraldehidom radi poboljšanja njihovih karakteristika. Iz rastvora laktoze koncentracije 100, 200 i 300 gL⁻¹ dobijeno je 18, 21 i 26 % GOS od ukupnih šećera, respektivno [118].

U šaržnom membranskom reaktoru, sa enzimima imobilisanim na membranu reaktora, na temperaturi od 60 °C i pH od 4,5 dobijeno je 27 % GOS od ukupnih šećera iz rastvora laktoze koncentracije 320 gL⁻¹ [119].

Prinos reakcije sinteze GOS od 25,2 % od ukupnih šećera pomoću enzima β –galaktozidaza iz *A. oryzae* imobilisanih na staklenim sferama ostvaren je pri temperaturi od 60 °C, pH = 5,2 i početnoj koncentraciji laktoze od 26 gL⁻¹ u kontinualnom reaktoru sa pakovanim slojem pri protoku od 0,5 mL h⁻¹ [112].

Autori, Splechna i saradnici [120] su pokazali da su pri istim početnim koncentracijama laktoze, šaržni reaktor i kontinualni reaktor sa klipnim strujanjem bolja opcija u odnosu na kontinualni protočni reaktor (*eng. Stirred tank reactor, STR*). Kao što je poznato monosaharidi koji nastaju u reakciji imaju izraženo inhibirajuće dejstvo na enzim β – galaktozidazu. Ovaj negativni efekat monosaharida je veoma izražen u kontinualnom STR, izraženiji nego u šaržnom i reaktoru sa klipnim strujanjem, te otuda i niži prinos GOS u ovom tipu reaktora [120].

U tabeli 4.1.1 se može videti sažeti pregled ranijih istraživanja.

Tabela 4.1.1. Sinteza GOS u različitim tipovima reaktora

Autori	Tip enzima	Tip rektora i karakteristike	Početna koncentracija laktoze	Prinos reakcije
<i>Carević i saradnici [116]</i>	Enzimi imobilisani na česticama jonoizmenjivačke smole	Šaržni reaktor	400 gL ⁻¹	87 gL ⁻¹
<i>Carević i saradnici [116]</i>	Enzimi imobilisani na česticama jonoizmenjivačke smole	Reaktor sa fluidizovanim slojem čestica i recirkulacijom, zapremina 8,6 mL, protok supstrata 2 mL min ⁻¹	400 gL ⁻¹	100 gL ⁻¹
<i>Gaur i saradnici [117]</i>	Enzimi imobilisani na česticama hitozana	Šaržni reaktor	200 gL ⁻¹	17,3% od ukupnih šećera
<i>Albayrak i saradnici [104]</i>	Enzimi imobilisani na pamučnoj tkanini	Kontinualni cevni reaktor, zapremina 37 mL, protok supstrata 37 mL h ⁻¹	200 /400 gL ⁻¹	80/106 gL ⁻¹
<i>Sheu i saradnici [118]</i>	Enzimi imobilisani na hitozanskim česticama	Reaktor sa klipnim strujanjem	100/200 /300 gL ⁻¹	18/21/26 % od ukupnih šećera
<i>Güleç i saradnici [119]</i>	Enzimi imobilisani na staklenim sferama	Šaržni membranski reaktor	320 gL ⁻¹	27 % od ukupnih šećera

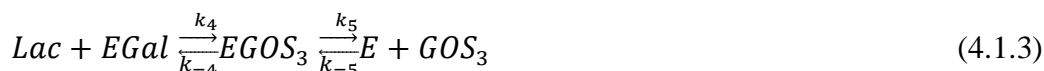
4.1.3 KINETIČKI MODELI ENZIMSKE SINTEZE GALAKTOOLIGOSAHARIDA

Za pravilan izbor tipa reaktora sa ciljem intenzifikacije reakcije sinteze GOS, neophodno je poznavanje mehanizma i kinetike reakcije. Na osnovu uprošćenog mehanizma reakcije razvijaju se najčešće mehanistički kinetički modeli kojima se opisuje reakcija, a koji predstavljaju sistem nelinearnih jednačina. Na osnovu modela, kinetički parametri (konstante brzine reakcija) se određuju najčešće nelinearnom regresijom, iako to i nije jednostavna numerička procedura. Najčešće su uslovi u kinetičkom modelu loše postavljeni i to uzrokuje veliku standardnu devijaciju parametara i nejedinstvenost rešenja [121, 122, 123, 124]. Sa druge strane loše slaganje modela sa eksperimentalnim vrednostima može biti posledica uprošćavanja ili pogrešno postavljenog mehanizma [125].

Neki od istraživača su se zbog kompleksnosti kinetičkih modela opredelili za primenu stohastičkih modela. Ovi modeli se uglavnom baziraju na metodologiji odgovora površine na datu promenu (*eng. response surface methodology – RSM*) kako bi opisali i predvideli uticaj operativnih parametara na sintezu GOS i najčešće predstavljaju polinomalnu funkciju kritičnih operativnih parametara: temperature, udela enzima, početne koncentracije laktoze i vremena [126, 127, 128, 129].

Većina kinetičkih modela koji se mogu naći u literaturi se zasnivaju na Mihaelis – Mentenovoj jednačini koja opisuje brzinu nastajanja proizvoda definisanu konstantom disocijacije (afiniteta) supstrata – Mihaelisova konstanta (K_m) i maksimalnom brzinom konverzije supstrata u proizvod (V_m) [130]. U daljem tekstu prikazani su neki od modela koji se mogu naći u literaturi, a koji opisuju proizvodnju galaktooligosaharida iz laktoze pomoću enzima β – galaktozidaza.

Zhou i saradnici [131] su predložili mehanizam reakcije koji opisuje istovremenu sintezu galaktooligosaharida i hidrolizu laktoze i uključuje inhibiciju proizvodom:



gde GOS_3 predstavlja trisaharide, a $EGOS_3$ nekovalentni kompleks enzim – trisaharidi. U ovom modelu, laktoza ima ulogu i supstrata i akceptora, dok glukoza nema ulogu akceptora. Pretpostavka modela je da se u reakcijama definisanim jednačinama (4.1.1) i (4.1.2) brzo uspostavlja ravnoteža, pri čemu su konstante ravnoteže $K_i = K_3 = k_3/k_{-3}$, $K_4 = k_4/k_{-4}$ i $K_5 = k_5/k_{-5}$, a koncentracija trisaharida:

$$[GOS_3] = a[Gal][Lac] \quad (4.1.4)$$

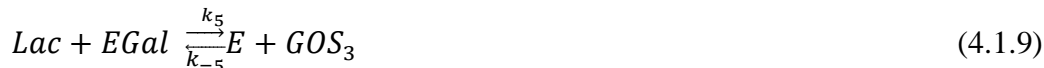
gde je konstanta $a = K_3K_4K_5$.

Brzina reakcije je po ovom modelu izražena kao:

$$r = -\frac{d[Lac]}{dt} = \frac{k_2E_0[Lac]}{K_m\left(1 + \frac{[Gal]}{K_i} + \frac{[GOS_3]}{K_T}\right) + [Lac]} \quad (4.1.5)$$

gde konstanta K_T ($K_T = K_4K_5$) predstavlja konstantu inhibicije trisaharidima [131].

Kim i saradnici [122] su predložili mehanizam po kojem se laktoza ponaša i kao supstrat i kao akceptor koji proizvodi trisaharide. Galaktoza se vezuje za slobodan enzim i gradi kompleks galaktoza – enzim koji dalje učestvuje u reakciji transgalaktozilacije sa glukozom ili laktozom kao akceptorom. Glukoza se ponaša kao akceptor u reakciji transgalaktozilacije, koji reaguje sa kompleksom galaktozil – enzim i gradi galaktozil – glukoza disaharide. Predloženi mehanizam je predstavljen sledećim jednačinama:



gde D označava galaktozil – glukoza disaharide. Uz pretpostavku modela da se u reakcijama definisanim jednačinama (4.1.6) do (4.1.8) brzo uspostavlja ravnoteža, konstante ravnoteže hidrolize, disaharida i trisaharida su: $KH=k_3/k_{-3}$, $KD=k_4/k_{-4}$ i $KT=k_5/k_{-5}$, respektivno. Brzina reakcije u slučaju ovog modela je [122]:

$$r = -\frac{d[Lac]}{dt} = \frac{k_2 E_0 [Lac]}{K_m \left(1 + \frac{[Gal]}{K_H} + \frac{[D]}{K_D [G]} + \frac{[GOS_3]}{K_T [S]} \right) + [Lac]} \quad (4.1.10).$$

Bazirajući se na mehanizam reakcije koji su predložili Kim i saradnici [122], Palai i saradnici [124] su predložili značajno složeniji mehanizam koji uzima u obzir kompetitivne reakcije (inhibicija glukozom i hidroliza GOS), uključuje i formiranje galaktoze i pretpostavlja reverzibilnu disocijaciju kompleksa enzim – laktoza u kompleks enzim – galaktoza. Predloženi mehanizam opisan je jednačinama:



Pretpostavka ovog modela je da iz tri –, tetra –, i viših oligosaharida nastaje jedinstvena forma GOS [124].

Pham [130] je u skladu sa Mihaelis – Mentenovom kinetikom predložio mehanizam reakcije hidrolize i transgalaktozilacije laktoze pomoću enzima β – galaktozidaze. Ovaj mehanizam uključuje reakciju deaktivacije enzima (reakcija prvog reda). Po ovom mehanizmu reakcije, laktoza se ponaša i kao supstrat i kao akceptor, enzim je inhibiran galaktozom, dok se glukoza ne smatra akceptorom i njen uticaj na kinetiku reakcije se smatra zanemarljivim. Galaktoza sa slobodnim enzimom gradi

kompleks enzim – galaktoza koji zajedno sa laktozom učestvuje u reakciji transgalaktozilacije. Pri većim koncentracijama laktoza se više ponaša kao akceptor koji vodi ka formiranju trisaharida. I po ovom mehanizmu, kombinacija tri – , tetra – i viši saharidi predstavljaju jedinstvenu formaciju GOS. Mehanizam reakcije se može predstaviti sledećim jednačinama:



Reakcija prvog reda prikazana jednačinom (4.1.20) opisuje termalnu deaktivaciju enzima. Pretpostavka predloženog mehanizma je ta da se deaktivacija slobodnih enzima i kompleksa enzima može opisati reakcijom prvog reda sa istom konstantom deaktivacije kao i u slučaju ostalih učesnika reakcije [130].

U završnom radu M. Bogdanovića [132] prikazana su dva mehanizma/modela reakcije koje predlaže istraživačka grupa sa Katedre za Biohemijsko inženjerstvo, Tehnološko – metalurškog fakulteta u Beogradu. Prvi mehanizam uključuje reakciju u kojoj dolazi do stvaranja međuproizvoda enzim – laktoza i uključuje vodu kao reaktant čija se promena koncentracije prati sa vremenom. U drugom modelu, promena koncentracija vode je zanemarena s obzirom da se voda u reakcionoj smeši nalazi u višku. Pored toga, u drugom modelu se zanemaruje stupanj nastajanja međuproizvoda enzim – laktoza pod pretpostavkom da je brzina nastajanja i nestajanja ovog kompleksa daleko veća od brzina ostalih reakcionih stupnjeva. U oba modela obuhvaćene su reakcije nastajanja GOS_3 i GOS_4 [132].

Prvi pomenuti reakcioni mehanizam je sledećeg oblika:





Drugi mehanizam prikazan u radu Bogdanovića je oblika:



4.2 KINETIKA REAKCIJE SINTEZE GALAKTOOLIGOSAHARIDA IZ LAKTOZE

Kinetika reakcije sinteze galaktooligosaharida je eksperimentalno ispitivana u šaržnom reaktoru – erlenmajeru sa mešanjem na orbitalnom šejkeru – sa slobodnim i imobilisanim enzimima. Ove eksperimente je uradila istraživačka grupa Katedre za Biohemijско inženjerstvo i biotehnologiju pod rukovodstvom prof. dr Dejana Bezbradice i dr Milice Carević.

U slučaju ispitivanja kinetike reakcije sa slobodnim enzimom izvedeni su eksperimenti sa rastvorom laktoze koncentracije: 4,5 %, 7 %, 10 %, 20 % i 40 % (mas.). Koncentracija slobodnog enzima iznosila je $9,09 \cdot 10^{-4} \text{ molm}^{-3}$. Temperatura i pH reakcione smeše su tokom eksperimenata bili konstantni i iznosili su: 42 °C i 4,5, respektivno. Koncentracija slobodnih enzima u reakcionoj smeši je bila 1 mg mL^{-1} , sadržaj proteina oko 10 %. Budući da je molarna masa β – galaktozidaze 110 kDa, izračunato je da je molarna koncentracija oko $9,09 \cdot 10^{-4} \text{ molm}^{-3}$.

U slučaju ispitivanja kinetike reakcije sinteze GOS pomoću imobilisanih enzima, urađen je jedan eksperiment. Temperatura i pH vrednost su tokom

eksperimenta bili konstantni i iznosili su: 42 °C i 4,5, respektivno, kao i u eksperimentima sa slobodnim enzimima. Aktivnost navedene količina imobilisanih enzima je identična aktivnosti slobodnih enzima korišćenih u eksperimentima za određivanje kinetike. Koncentracija laktoze u eksperimentu je bila 20 % (mas.). Početna koncentracija enzima je iznosila 0,095 molm⁻³čestica, a udeo čestica u reaktoru, $\beta=0,008 \text{ m}^3_{\text{čestica}}\text{m}^{-3}_{\text{reaktora}}$.

Ispitivanje aktivnosti enzima određuje se pomoću 10 mM *o*-nitrofenol- β -D-galaktopiranozid (*o*-NPG) i 0,1 M natrijum-acetatnog pufera (pH=4,5) kao supstrata. Suspenzija se konstantno meša pomoću magnetne mešalice pri 1000 o/min. Reakcija hidrolize *o* – NPG traje najmanje 2 minuta, uzorci se uzimaju na svakih 30 s, a koncentracija *o* – nitrofenola koji nastaje hidrolizom se određuje spektrofotometrijski pomoću spektrofotometra (Ultrospec 3300 pro, Amersham Biosciences, Freiburg, Germany) na talasnoj dužini od 410 nm. Jedna internacionalna jedinica za aktivnost (IU) se definiše kao količina enzima koja katalizuje oslobađanje 1 μ mol *o* – NPG u minutu. Molarni ekstinkcioni koeficijent za *o* – NPG je ranije određen i iznosi 1357 dm³ mol⁻¹ cm⁻¹. Aktivnost enzima se određuje iz nagiba prave koja predstavlja zavisnost koncentracije *o* – NPG i vremena. Aktivnost slobodnih enzima iznosila je 2 IU mg⁻¹ preparata, a imobilisanih enzima 40 IU g⁻¹ nosača [116].

Pre imobilizacije, enzim i nosač (čestice jonoizmenjivačke smole) se modifikuju, odnosno pripremaju za imobilizaciju. Enzim se hemijski modifikuje tako što se 10 mL rastvora enzima koncentracije 5 mg mL⁻¹ i 0,1 M natrijum acetatnog pufera (pH= 4,75) meša sa određenom količinom 1 – etil – 3 – (3dimetilaminopropil) – karbodiimidom (EDAC) kako bi se dobila finalna koncentracija enzima od 0,01 M. Pripremljeni rastvor se meša pomoću roler šejkera u trajanju od 1,5 h na ambijentalnoj temperaturi. Nakon toga, u smešu se dodaje 2,2 mL 0,5 M hidrosilamina (ukupna zapremina rastvora 12,2 mL) i prečišćava dijalizom pomoću celuloznih cevi za membransku dijalizu (obično molecular mass cut – off, 14 kDa; Sigma Chemical Co.). Modifikovani enzim se dalje koristi u imobilizaciji [116].

Kako bi se dobio epoksi funkcionalni nosač, 1 g prečišćene jonoizmenjivačke smole Purolite[®] A – 109 se inkubira sa 3 mL 1 M natrijum hidroksida i 330 mL epihlorohidrina. Reakcija inkubacije se odvija 0,5 h na temperature od 55 °C uz stalno mešanje. Nakon reakcije, jonoizmenjivačka smola – nosač se filtrira, dva puta ispira

acetonom i suši u vakuum sušnici na 40 °C, 24 h [133]. Nosač pripremljen na način koji je opisan se do korišćenja čuva na temperature od 4 °C. Jonoizmenjivačka smola Purolite® A – 109 je po prirodi veoma hidrofoban te je pre imobilisanja enzima, neophodno da se nosač “vlaži” na način koji je opisan u radu Mihailović i saradnici [133].

Imobilizacija pripremljenog enzima se vrši tako što se 20 mg prethodno pripremljenog nosača Purolite® A – 109 suspenduje u 1mL rastvora enzima (1 – 20 mg mL⁻¹). Imobilizacija enzima se odvija pri umerenom intenzitetu mešanja na orbitalnom šejkeru (IKA® Roller 6 basic, Werke GmbH and Co. KG, Staufen, Germany) na temperaturi od 25 °C. Imobilizacija se ostvaruje uglavnom reakcijom amino grupe u Purolite® A – 109 i površine enzima, pri čemu dolazi do formiranja jakih kovalentnih veza [116].

Svi eksperimenti u kojima je ispitivana kinetika reakcije (i sa slobodnim i sa imobilisanim enzimima) izvođeni su tako što se najpre pripremi rastvor supstrata odgovarajuće koncentracije i pH 4,5. Vrednost pH se podešava dodavanjem 0,1 M acetatnog pufera. U tako pripremljen rastvor dodaje se odgovarajuća količina slobodnih odnosno imobilisanih enzima. Reakcija se odvija u erlenmajeru – šaržnom reaktoru. Sadržaj u erlenmajeru se meša pomoću orbitalnog šejkera (IKA® KS 4000i control, Werke GmbH and Co. KG, Staufen, Germany) pri 150 o min⁻¹. Pored mešanja, orbitalni šejker omogućava da se temperatura reakcione smeše održava konstantnom (42 °C). Uzorci su uzimani u određenim vremenskim intervalima. Uzeti uzorci se greju u termošejkeru na temperaturi od 98 °C u trajanju od 10 min kako bi se prekinula biohemijska reakcija. Na ovaj način reakcija se u uzorcima zaustavlja metodom termičkog šoka (dolazi do deaktivacije/denaturacije enzima). Metoda termičkog šoka je primenljiva budući da su proizvodi reakcije sinteze GOS termostabilni [116].

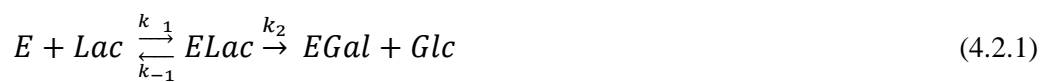
Uzeti uzorci se nakon zaustavljanja reakcije, razblažuju dejonizovanom vodom, centrifugiraju pri 12000 o min⁻¹ u trajanju od 10 min, filtriraju pomoću 0,2 µm špric filtera i na kraju se analiziraju pomoću uređaja za tečnu hromatografiju – HPLC (*eng. high performance liquid chromatography*) [116].

Kontrolni uzorci – rastvor laktoze koji ne sadrže enzim, a koji se koriste u analizi, se pripremaju paralelno sa uzorcima uzetim iz reakcione smeše, i izlažu se temperaturi od oko 98 °C u trajanju od 10 min [116].

Kvantitativna analiza uzoraka se vrši u Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) HPLC sistemu koji je opremljen Thermo Scientific kolonom za ugljene hidrate (Hyper REZ XP Carbohydrate Ca²⁺, 300mm x 7,7 mm, i.d. 8 μm) koja radi na temperaturi od 80 °C. Kao mobilna faza uređaja koristi se voda visoke čistoće. Protok ove vode u toku analize uzorka je konstantan i iznosi 0,6 mL min⁻¹. Detekcija se u uređaju ostvaruje RI detektorom (RefractoMax 520, ERC, Riemerling, Germany). Softver Chromeleon™ 7.2 Chromatography Data System (Thermo Scientific) se koristi za akviziciju/prikupljanje podatka – rezultata merenja u HPLC-u [116].

4.2.1 KINETIČKI MODEL REAKCIJE SINTEZE GOS

Za reakciju sinteze GOS koja uključuje enzime u slobodnoj formi ili imobilisane enzime predloženi mehanizam reakcije je istog oblika:



gde su *Lac*, *Glc*, *Gal*, *GOS* i *E*, laktoza, glukoza, galaktoza, GOS i enzim, respektivno. *ELac* i *EGal* su kompleksi enzima i supstrata i enzima i proizvoda.

Kao što se može videti, predloženi mehanizam reakcije je veoma sličan mehanizmima dostupnim u literaturi [124, 130]. Laktoza ima ulogu i supstrata i akceptora. Galaktoza reaguje sa slobodnim enzimom i gradi kompleks enzim – galaktoza koji dalje sa laktozom učestvuje u reakciji transgalaktozilacije u kojoj nastaju enzim i GOS (jednačina 4.2.3). Za razliku od mehanizama dostupnih u literaturi (sa kojima ima sličnosti), u ovom mehanizmu pretpostavlja se da nema inhibicije galaktozom ili glukozom i termalna deaktivacija enzima se zanemaruje [130]. Ove

pretpostavke su postavljene na osnovu rezultata prethodnih istraživanja grupe sa Katedre za biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju u kojima inhibitorno dejstvo nije primećeno, a brzina deaktivacije enzima je takva da se može pretpostaviti da će biti zanemarljiva u vremenu trajanja eksperimenta u ROT. Kao i u mehanizmu koji predlaže Pham [130], glukoza se ne uzima kao akceptor i njen uticaj na kinetiku reakcije se zanemaruje što je takođe dokazano u prethodnim istraživanjima, a model kombinuje tri – i tetrasaharide u jedinstvenu formu GOS.

Ako se predloženi model uporedi sa modelima prikazanim u radu Bogdanovića [132], može se uočiti veća sličnost sa drugim modelom (jed. 4.1.26 – 29) koji ne uključuje vodu kao reaktant (što je slučaj sa modelom iz ove disertacije). Predloženi model uključuje reakciju nastajanja intermedijera enzim – laktoza za razliku od modela jed. 4.1.26 – 29. Za razliku od prikazanih modela gde se GOS_3 i GOS_4 posmatraju kao posebne forme, u mehanizmu predloženom u ovoj disertaciji ovi saharidi su prikazani kao jedinstvena forma.

a) Reakcija sa enzimima u slobodnoj formi

Materijalni bilansi za komponente učesnike u reakciji u šaržnom reaktoru, za predloženi mehanizam, su definisani sledećim sistemom običnih nelinearnih diferencijalnih jednačina prvog reda:

$$\frac{dC_{Lac}}{dt} = r_{Lac} = -k_1 C_{Lac} C_E + k_{-1} C_{ELac} - k_4 C_{EGal} C_{Lac} + k_{-4} C_E C_{GOS} \quad (4.2.4)$$

$$\frac{dC_{ELac}}{dt} = r_{ELac} = k_1 C_{Lac} C_E - k_{-1} C_{ELac} - k_2 C_{ELac} \quad (4.2.5)$$

$$\frac{dC_{EGal}}{dt} = r_{EGal} = k_2 C_{ELac} - k_{-3} C_{EGal} + k_3 C_{Gal} C_E - k_4 C_{Lac} C_{EGal} + k_{-4} C_{GOS} C_E \quad (4.2.6)$$

$$\frac{dC_{Glc}}{dt} = r_{Glc} = k_2 C_{ELac} \quad (4.2.7)$$

$$\frac{dC_{Gal}}{dt} = r_{Gal} = k_{-3} C_{EGal} - k_3 C_{Gal} C_E \quad (4.2.8)$$

$$\frac{dC_{GOS}}{dt} = r_{GOS} = k_4 C_{Lac} C_{EGal} - k_{-4} C_E C_{GOS} \quad (4.2.9)$$

$$\frac{dC_E}{dt} = r_E = -k_1 C_{Lac} C_E + k_{-1} C_{ELac} + k_{-3} C_{EGal} - k_3 C_{Gal} C_E + k_4 C_{Lac} C_{EGal} - k_{-4} C_E C_{GOS} \quad (4.2.10).$$

Bilans enzima može se prikazati i u algebarskom obliku, na osnovu ukupnog materijalnog bilansa za enzim i njegove komplekse:

$$C_E = C_{E0} - C_{ELac} - C_{EGal} \quad (4.2.10a)$$

gde C_{E0} predstavlja početnu koncentraciju enzima.

b) Reakcija sa imobilisanim enzimima

Budući da se u eksperimentima sa imobilisanim enzimima pored tečne javlja i čvrsta faza na kojoj se nalazi vezan enzim, te njegovi kompleksi, neophodno je postaviti model za dvofazni reaktorski sistem u kome figuriše zapreminski udeo čestica u šaržnom reaktoru.

Koncentracija enzima u reaktoru direktno je proporcionalna količini čestica u reaktoru i izražena je u jedinicama $\text{mol m}^{-3}_{\text{čestica}}$. Pretpostavlja se da se pored enzima koji je imobilisan, na površini čestica formiraju i intermedijeri: enzim – laktoza i enzim – galaktoza, te je i njihova koncentracija definisana jedinicom $\text{mol m}^{-3}_{\text{čestica}}$. U uzorcima koji su u eksperimentima uzimani radi određivanja kinetičkih parametara, pomoću uređaja za tečnu hromatografiju – HPLC, određena je koncentracija supstrata (laktoze) i proizvoda (galaktoze, glukoze i GOS) u zapremini tečne faze, u jedinicama $\text{mol m}^{-3}_{\text{tečnosti}}$. Kako su brzine reakcija izražene u jedinicama $\text{mol m}^{-3}_{\text{reaktora}} \text{s}^{-1}$, a koncentracije rastvora date u $\text{mol m}^{-3}_{\text{tečnosti}}$, a koncentracije enzima i kompleksa date u $\text{mol m}^{-3}_{\text{čestice}}$, neophodno je koncentracije pomnožiti udelom čestica (β) odnosno udelom tečne faze ($1 - \beta$), respektivno za enzim i intermedijere odnosno za supstrat i proizvode.

Uzevši u obzir prethodno navedeno, materijalni bilansi za komponente u šaržnom reaktoru su :

$$(1 - \beta) \frac{dC_{Lac}}{dt} = r_{Lac} = -k_1(1 - \beta)C_{Lac}\beta C_E + k_{-1}\beta C_{ELac} - k_4(1 - \beta)C_{Lac}\beta C_{EGal} + k_{-4}(1 - \beta)C_{GOS}\beta C_E \quad (4.2.11)$$

$$\beta \frac{dC_{ELac}}{dt} = r_{ELac} = k_1(1 - \beta)C_{Lac}\beta C_E - k_{-1}\beta C_{ELac} - k_2\beta C_{ELac} \quad (4.2.12)$$

$$\beta \frac{dC_{EGal}}{dt} = r_{EGal} = k_2\beta C_{ELac} - k_{-3}\beta C_{EGal} + k_3(1 - \beta)C_{Gal}\beta C_E - k_4(1 - \beta)C_{Lac}\beta C_{EGal} + k_{-4}(1 - \beta)C_{GOS}\beta C_E \quad (4.2.13)$$

$$(1 - \beta) \frac{dC_{Glc}}{dt} = r_{Glc} = k_2\beta C_{ELac} \quad (4.2.14)$$

$$(1 - \beta) \frac{dC_{Gal}}{dt} = r_{Gal} = k_{-3}\beta C_{EGal} - k_3(1 - \beta)C_{Gal}\beta C_E \quad (4.2.15)$$

$$(1 - \beta) \frac{dC_{GOS}}{dt} = r_{GOS} = k_4(1 - \beta)C_{Lac}\beta C_{EGal} - k_{-4}(1 - \beta)C_{GOS}\beta C_E \quad (4.2.16)$$

$$\beta \frac{dC_E}{dt} = r_E = -k_1(1 - \beta)C_{Lac}\beta C_E + k_{-1}\beta C_{ELac} + k_{-3}\beta C_{EGal} - k_3(1 - \beta)C_{Gal}\beta C_E + k_4(1 - \beta)C_{Lac}\beta C_{EGal} - k_{-4}(1 - \beta)C_{GOS}\beta C_E \quad (4.2.17).$$

Bilans enzima se i u ovom slučaju može prikazati u algebarskom obliku:

$$\beta C_E = \beta C_{E0} - \beta C_{ELac} - \beta C_{EGal} \quad (4.2.17a)$$

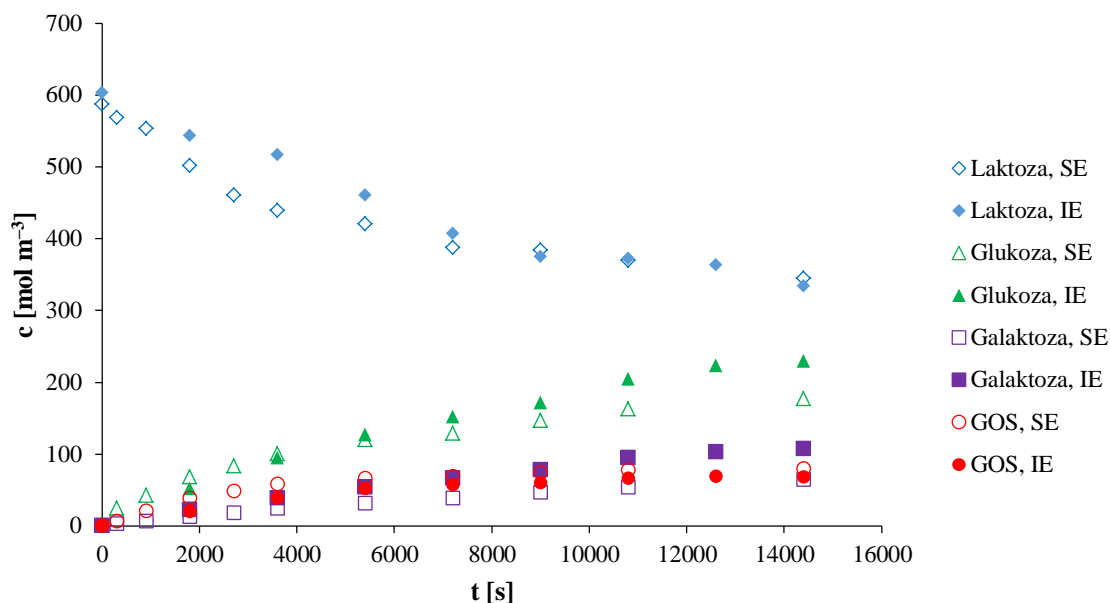
te se β može skratiti:

$$C_E = C_{E0} - C_{ELac} - C_{EGal} \quad (4.2.17b).$$

U jednačinama (4.2.11 – 17) udeo čestica (β) je ispred diferencijala po vremenu (leva strana jednačine), jer je u eksperimentima u šaržnom reaktoru konstantan. Treba napomenuti da predstavljeni kinetički modeli ne uzimaju u obzir zavisnost konstanti brzina od temperature. Eksperimenti u šaržnom laboratorijskom reaktoru su izvedeni pod izotermnim uslovima na temperaturi od 40 °C, a entalpija reakcije nije značajna. Dalje će se u modelima za ROT koristiti konstante dobijene za temperaturu od 40 °C, s obzirom da je i reakcija u ROT izvođena pod približno izotermnim uslovima.

4.2.2 REZULTATI I DISKUSIJA

Na slici 4.2.1 su prikazane krive promene koncentracija supstrata i proizvoda reakcije sa vremenom za eksperiment sa slobodnim i eksperiment sa imobilisanim enzimima, sa približno istom početnom koncentracijom laktoze.



Slika 4.2.1. Kinetika reakcije sinteze GOS iz ~20 % (mas.) rastvora laktoze pomoću slobodnih (SE, prazni simboli) i imobilisanih enzima (IE, puni simboli)

Kao što se na slici 4.2.1 može uočiti, promene koncentracije supstrata i proizvoda sa vremenom u slučaju slobodnih i imobilisanih enzima su slične, što ukazuje na to da je otpor prenosu mase u slučaju reakcije sa imobilisanim enzimima zanemarljiv. Ovo je značajan rezultat ispitivanja kinetike koji utiče na formiranje modela u ROT, tj. zanemarivanja otpora prenosu mase (kinetički kontrolisan proces).

Kako bi se razvili što verodostojniji matematički modeli koji opisuju reakciju sinteze GOS u kontinualnom reaktoru sa oscilatornim tokom fluida sa slobodnim i sa imobilisanim enzimima, određeni su kinetički parametri – konstante brzine reakcije po predloženom mehanizmu i za slučaj primene slobodnih i za slučaj primene imobilisanih enzima primenom programskog paketa MATLAB (MathWorks[®], United States of

America). Kinetički parametri za reakciju sa slobodnim enzimima određeni su na osnovu svih izvedenih eksperimenata (pet eksperimenata sa različitim početnim koncentracijama laktoze) i na osnovu dva eksperimenata sa niskim početnim koncentracijama laktoze (4,5 i 7 %).

Kao funkcija cilja korišćena je srednja relativna greška svih eksperimenata (u slučaju slobodnih enzima kao katalizatora), odnosno jednog eksperimenata (u slučaju imobilisanih enzima).

$$\delta_i = 100 \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left| \frac{C_{i,exp} - C_{i,mod}}{C_{i,exp}} \right| \quad (4.2.18)$$

gde je δ srednja relativna greška (%), n broj eksperimentalnih tačaka, a i komponenta, odnosno učesnik reakcije.

Za određivanje kinetičkih parametara primenjen je kod (isti za oba seta eksperimenata) koji uključuje stohastički evolutivni algoritam – *genetski algoritam* (eng. *Genetic Algorithm* – GA) i metodu *fminsearch*. Početne vrednosti parametara koje koristi GA u prvom koraku, tj. prvoj generaciji su određene u programskom paketu COPASI (COPASI: Biochemical System Simulator® 4.8.). GA generiše prve vrednosti parametara nasumičnim izborom. Algoritam vrši selekciju na osnovu kvaliteta funkcije cilja pojedinačnih rešenja koristeći se heurističkim metodama analognim evolucionom postupku. Nakon jedne estimacije se automatski generišu nove vrednosti parametara, a iterativni postupak se ponavlja do konvergencije rešenja, tj. pronalaženje minimuma funkcije cilja. Nakon poslednje iteracije, GA generiše optimalne vrednosti parametara koje se u metodi *fminsearch* koriste kao početne vrednosti. Metoda *fminsearch* koristi determinističku gradijentnu metodu optimizacije pri određivanju optimalnih vrednosti parametara, koje daju minimalnu vrednost funkcije cilja. GA se koristi kako bi se pronašao globalni maksimum funkcije cilja, jer gradijentne metode često konvergiraju ka lokalnim minimumima, naročito kada se optimizuje veći broj parametara, što je ovde slučaj. Sa druge strane gradijentne metode daju preciznije vrednosti optimizacionih parametara, te su zato obe metode korišćene, konsektivno, kako je opisano u prethodnom tekstu.

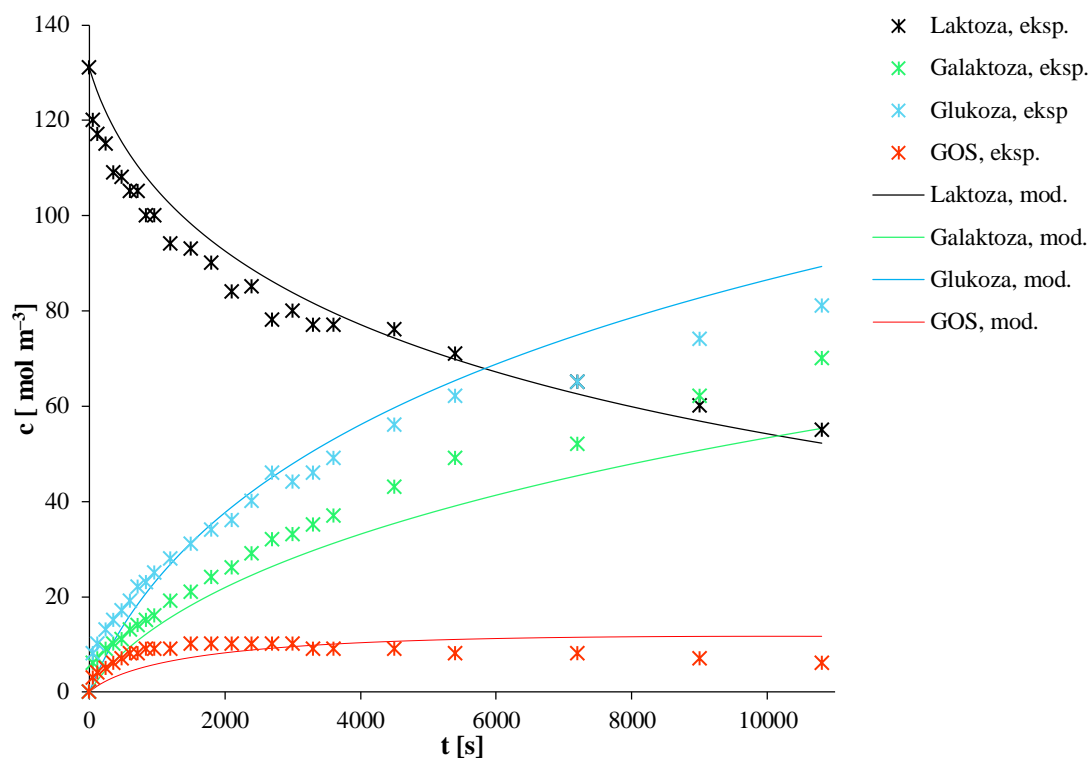
Dobijene vrednosti konstanti brzina reakcije, sa vrednostima srednjih relativnih grešaka kao mere odstupanja modela od eksperimenta za svaku komponentu (supstrat i proizvodi) su dati u tabeli 4.2.1. i za reakciju sa slobodnim i za reakciju sa imobilisanim enzimima. U tabeli 4.2.1. se može videti da se dobijene vrednosti konstanti za reakciju sa slobodnim enzimom razlikuju od vrednosti za reakciju sa imobilisanim enzimima iako je eksperimentalno dobijeno da je kinetika ovih reakcija veoma slična. Ova razlika u vrednostima konstanti može biti posledica toga što je za estimaciju kinetičkih parametara reakcije sa imobilisanim enzimima korišćen jedan eksperiment sa malim brojem eksperimentalnih tačaka, te je pouzdanost određivanja manja. Stoga su i greške za imobilisani enzim manje, jer je model fitovan samo za jedan set podataka sa malim brojem tačaka, dok za slobodni enzim jedan kinetički model pokriva više. Pored toga, iz tabele 4.2.1 se može videti da se i konstante za reakciju sa slobodnim enzimima dosta razlikuju u zavisnosti od toga koliko je eksperimenata uključeno u estimaciju.

Tabela 4.2.1. Konstante brzine reakcije transgalaktozilacije sa slobodnim i imobilisanim enzimima

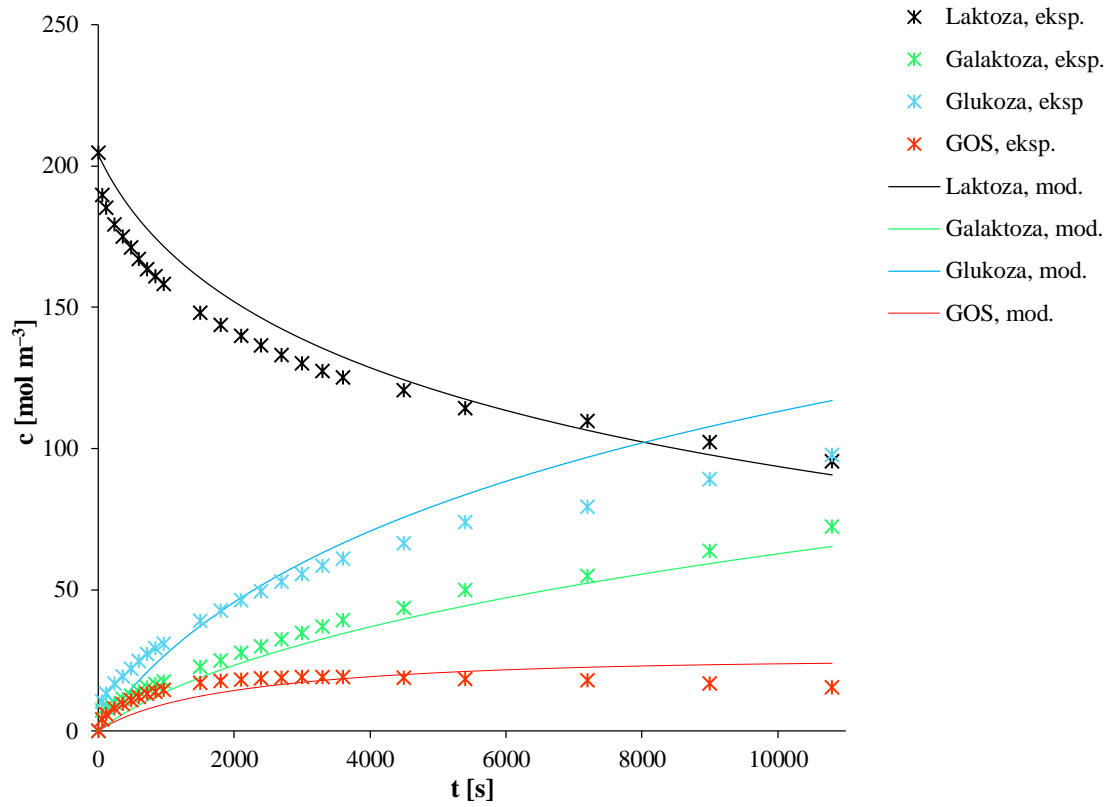
	SLOBODNI ENZIMI		IMOBILISANI ENZIMI
	Početna koncentracija laktoze: 4,5% / 7% / 10% / 20% / 40%	Početna koncentracija laktoze: 4,5% / 7%	Početna koncentracija laktoze: 20%
$k_1, \text{m}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$	$2,867 \cdot 10^3$	26	1,6
k_{-1}, s^{-1}	$9,885 \cdot 10^3$	90	$9,5798 \cdot 10^6$
k_2, s^{-1}	39,7	465	$3,5819 \cdot 10^5$
k_3, s^{-1}	$7,088 \cdot 10^3$	382	$4,358 \cdot 10^3$
$k_{-3}, \text{m}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$	$1,843 \cdot 10^3$	$2,918 \cdot 10^3$	$8,490 \cdot 10^5$
$k_4, \text{m}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$	15,3	7,0	1,2
$k_{-4}, \text{m}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$	$1,458 \cdot 10^4$	$1,4743 \cdot 10^4$	2,6
	SRG, %, konc. laktoze: 4,5% / 7% / 10% / 20% / 40%	SRG, %, konc. laktoze: 4,5% / 7%	SRG, %
Laktoza	6,1/6,7/5/5,2/5,9	3,0/2,5	3,3
Galaktoza	24,8//25/14,6/41,8/19,4	7,7/7,9	4,1
Glukoza	25,8/26,1/9,2/18,2/26,7	11/16,3	14,1
GOS	37,3/33/17,1/11,1/25,6	24,9/14,5	9,32
SRG svih komponenti, %	23,5/22,7/11,41/19,08/19,4	11,7/10,3	7,7

U tabeli 4.2.1 se može videti da je za reakciju sa imobilisanim enzimima konstanta brzine reakcije nestajanja intermedijera $ELac - k_2$ značajano veća od brzine nastajanja intermedijera, što znači da koncentracija intermedijera $ELac$ ima malu i konstantnu vrednost od početka reakcije.

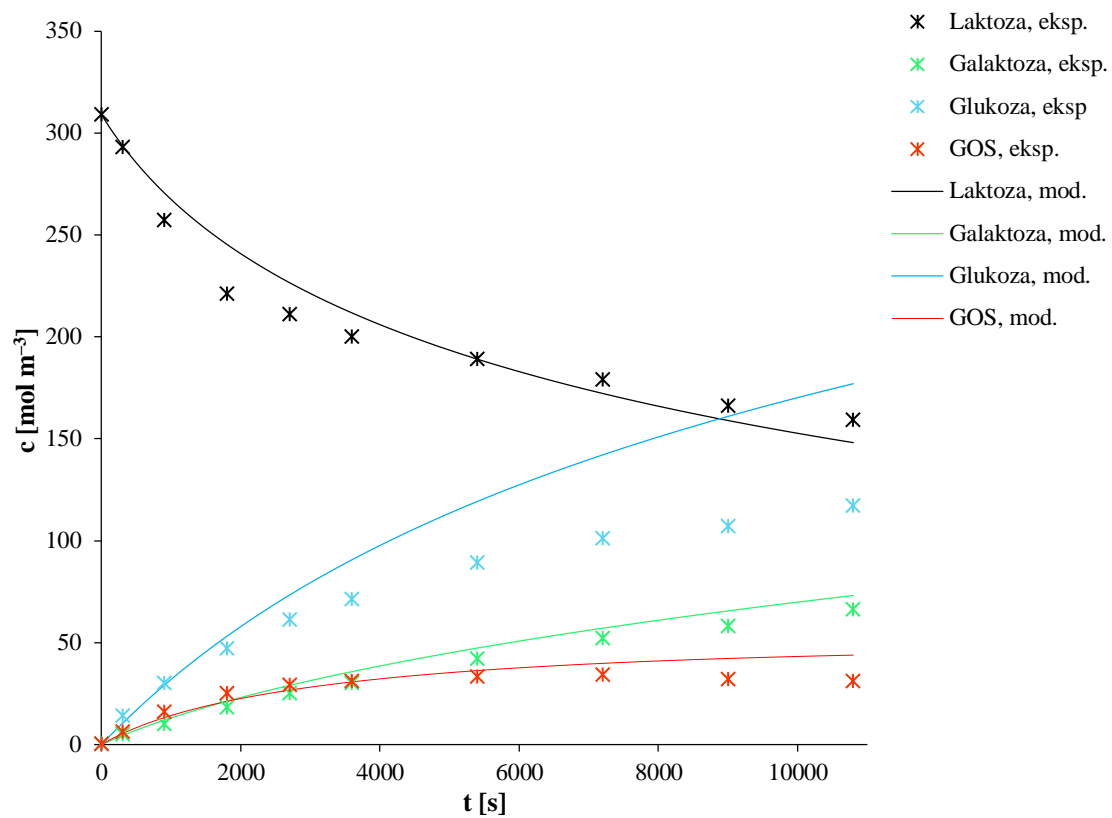
Na slici 4.2.2 prikazano je slaganje eksperimentalnih vrednosti i modela za reakciju sa slobodnim enzimima, pri čemu su kinetički parametri određeni za svih 5 eksperimenata istovremeno.



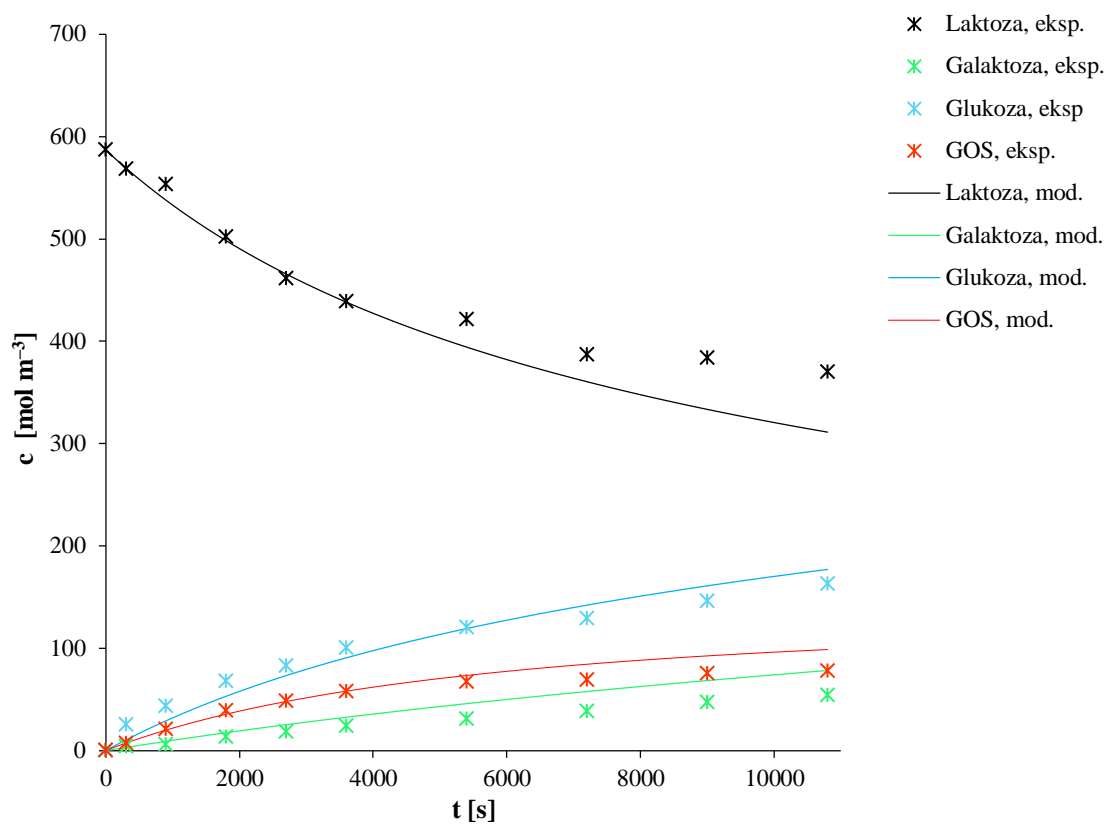
a) Početna koncentracija laktoze 4,5 %



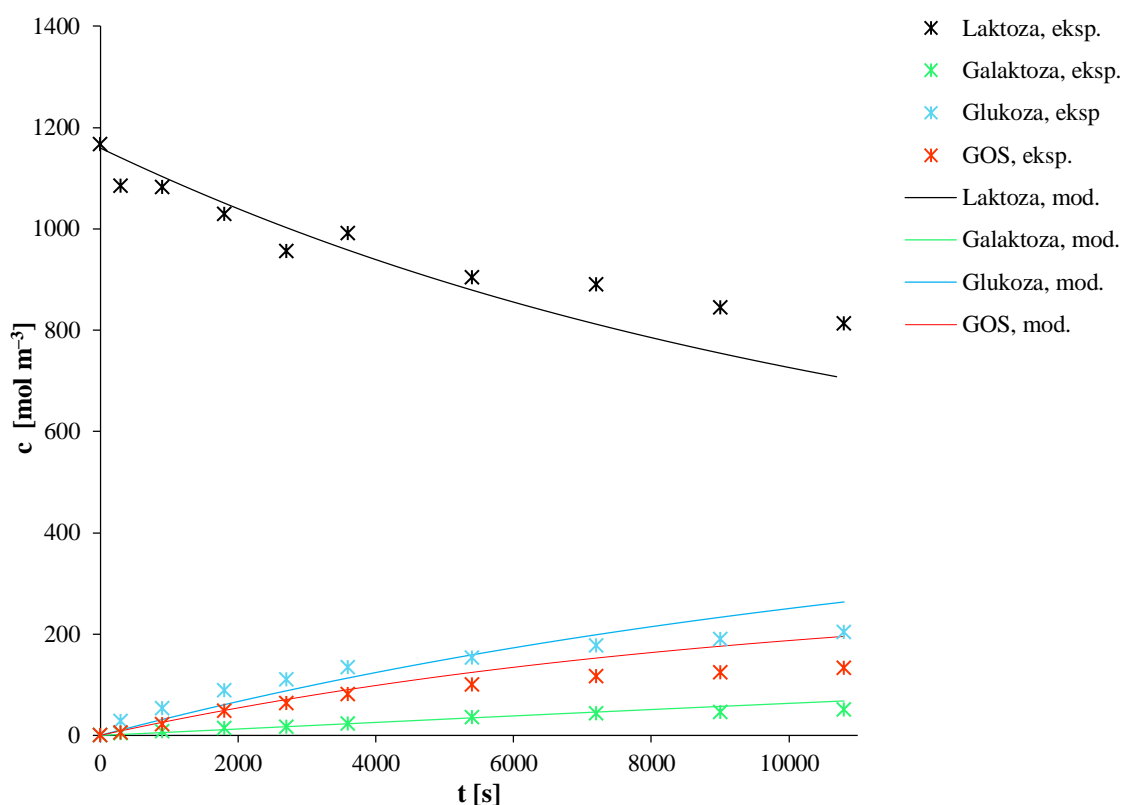
b) Početna koncentracija laktoze 7 %



c) Početna koncentracija laktoze 10 %



d) Početna koncentracija laktoze 20 %

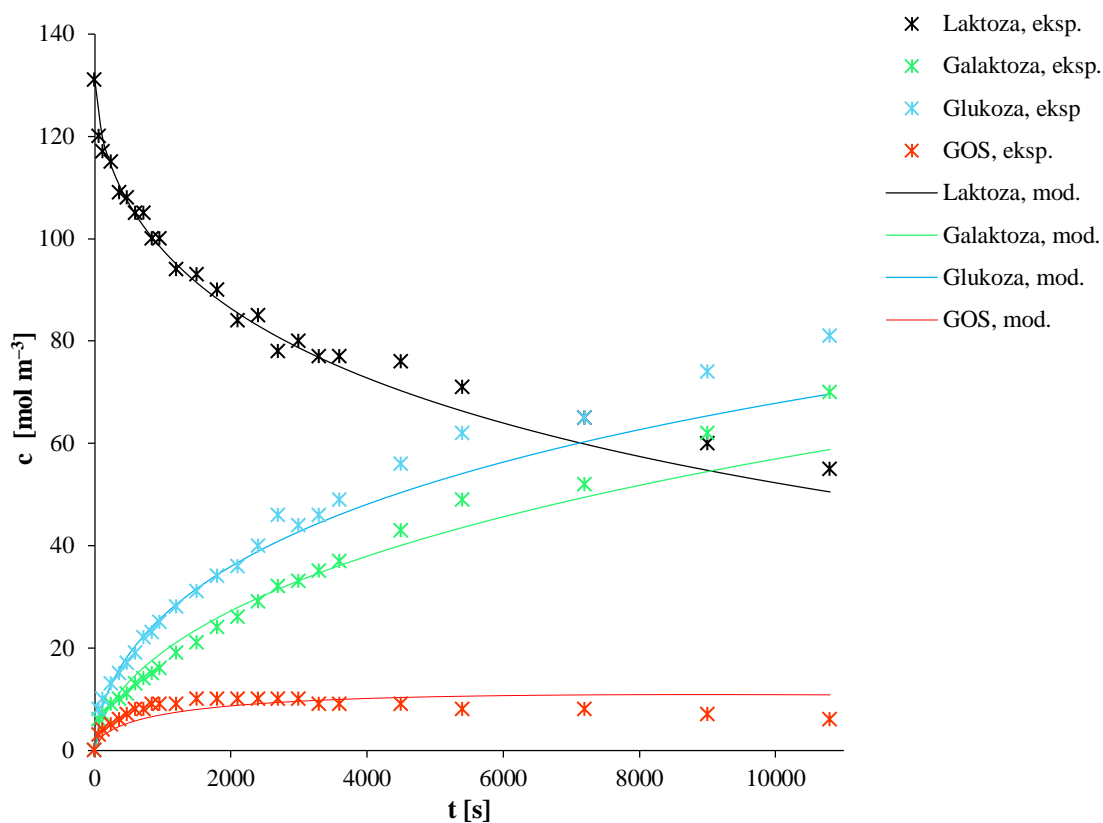


e) Početna koncentracija 40 %

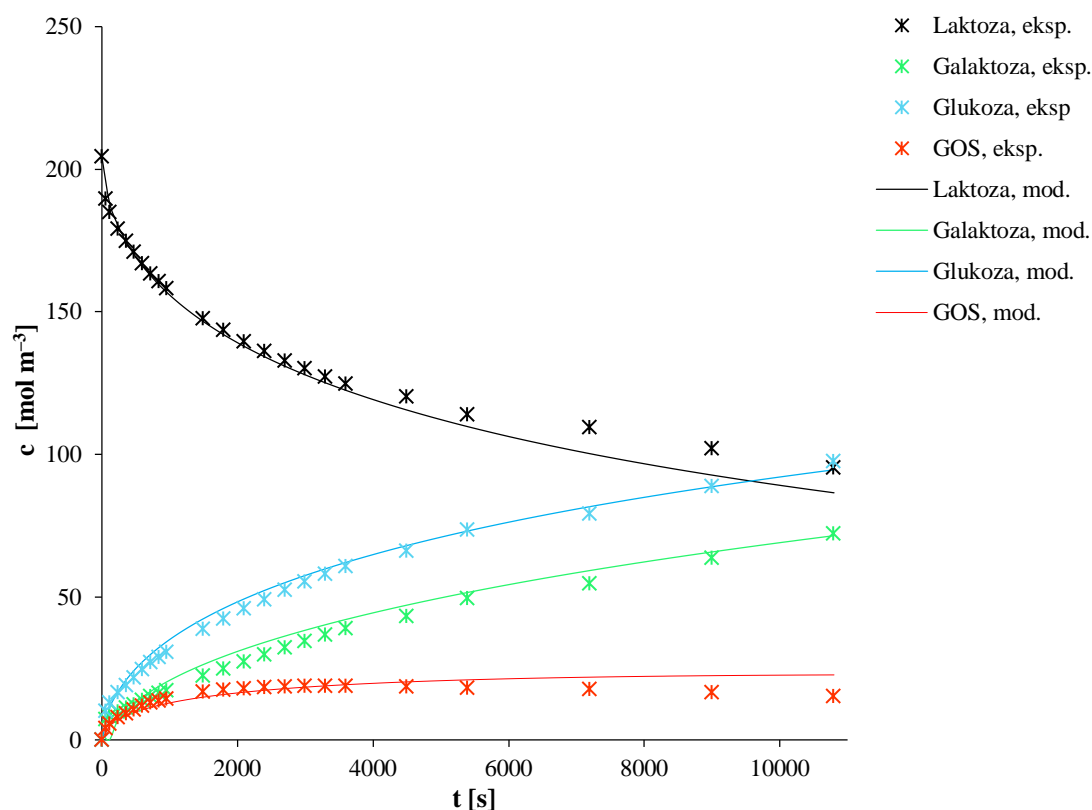
Slika 4.2.2. Slaganje rezultata modela (linije) sa eksperimentalnim vrednostima (simboli) za reakciju sa slobodnom enzimima: a) 4,5 % (mas.) rastvor laktoze, b) 7 % (mas.) rastvor laktoze, c) 10 % (mas.) rastvor laktoze, d) 20 % (mas.) rastvor laktoze i e) 40 % (mas.) rastvor laktoze. Kinetički parametri su određeni za 5 eksperimenta istovremeno

Na slici 4.2.2 se može videti da je slaganje rezultata modela sa eksperimentima najbolje u slučaju rastvora laktoze koncentracije 10 i 20 %. Najveće odstupanje se javlja kada je koncentracija laktoze 4,5%. Poznato je da je pri manjim početnim vrednostima koncentracije laktoze dominantna reakcija hidrolize, a da je pri većim koncentracijama dominantna reakcija transgalaktozilacije. Pomenuto odstupanje modela od eksperimentalnih vrednosti je upravo posledica primene uprošćenog mehanizma reakcije koji ne razlikuje koja od reakcija je dominantna.

Na slici 4.2.3 je prikazano slaganje modela čiji su kinetički parametri određeni samo za dva eksperimenta sa slobodnim enzimima sa niskim vrednostima početne koncentracije laktoze (sa 4,5 i 7 % laktoze). Kao što se na slici može videti, slaganje modela i eksperimentalnih vrednosti je veoma dobro, sa srednjom relativnom greškom od 11,7 i 10,3 %, respektivno za 4,5 i 7 % rastvor laktoze. Odstupanje modela od eksperimentalnih vrednosti je značajno manje nego u slučaju estimacije parametara na osnovu 5 eksperimenata gde je srednja relativna greška 23,5 i 22,7 %, respektivno za 4,5 i 7 % rastvor laktoze.



a) Početna koncentracija laktoze 4,5 %

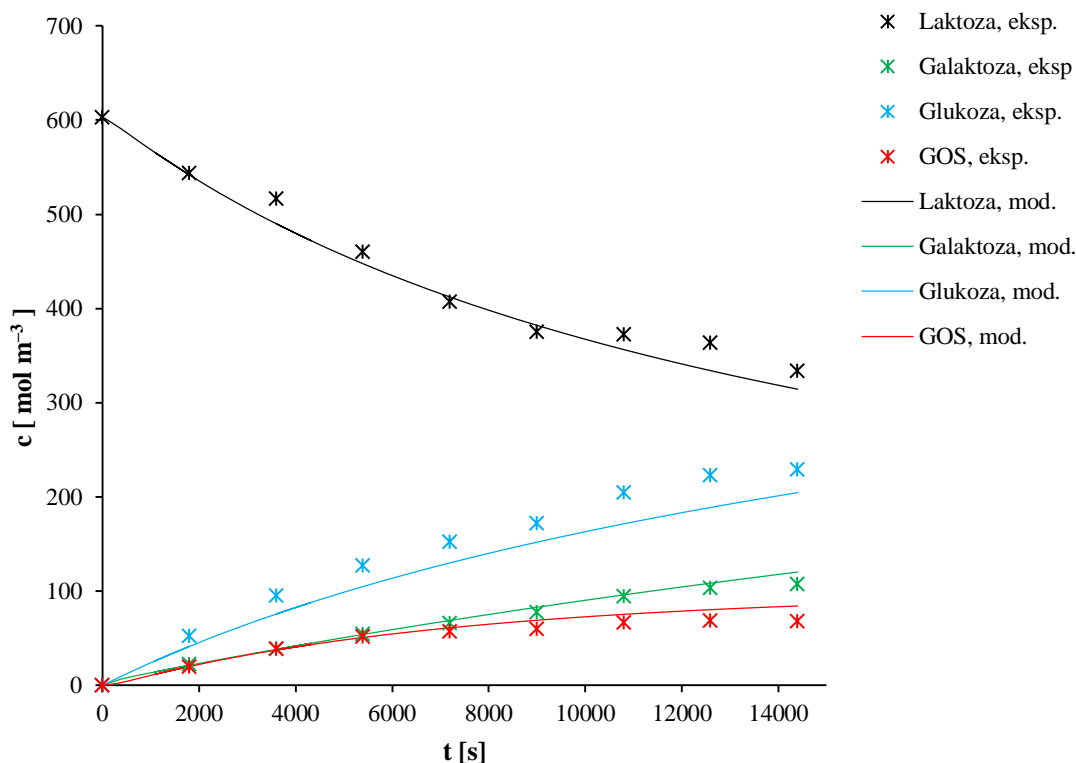


b) Početna koncentracija laktoze 7 %

Slika 4.2.3. Slaganje rezultata modela (linije) sa eksperimentalnim vrednostima (simboli) za reakciju sa slobodnom enzimima: a) 4,5 % (mas.) rastvor laktoze, b) 7 % (mas.) rastvor laktoze. Kinetički parametri su određeni za 2 eksperimenta istovremeno

Na slici 4.2.4. je prikazana promena koncentracije učesnika reakcije za slučaj reakcije sa imobilisanim enzimima. Na slici 4.2.4 se može uočiti da je slaganje modela sa eksperimentalnim vrednostima vrlo dobro što ukazuje na to da predloženi mehanizam dobro opisuje ovu reakciju. Slaganje modela sa eksperimentima je bolje nego u slučaju reakcije sa slobodnim enzimima kada je uključeno 5 eksperimenta, ali slično odstupanju modela od eksperimenata sa slobodnim enzimima kada su za estimaciju kinetičkih parametara korišćeni eksperimenti sa niskim koncentracijama laktoze. Međutim, dobro slaganje može biti i posledica toga da je izračunavanje kinetičkih parametara izvršeno na osnovu jednog eksperimenta sa malim brojem eksperimentalnih tačaka, a sa velikim brojem parametara.

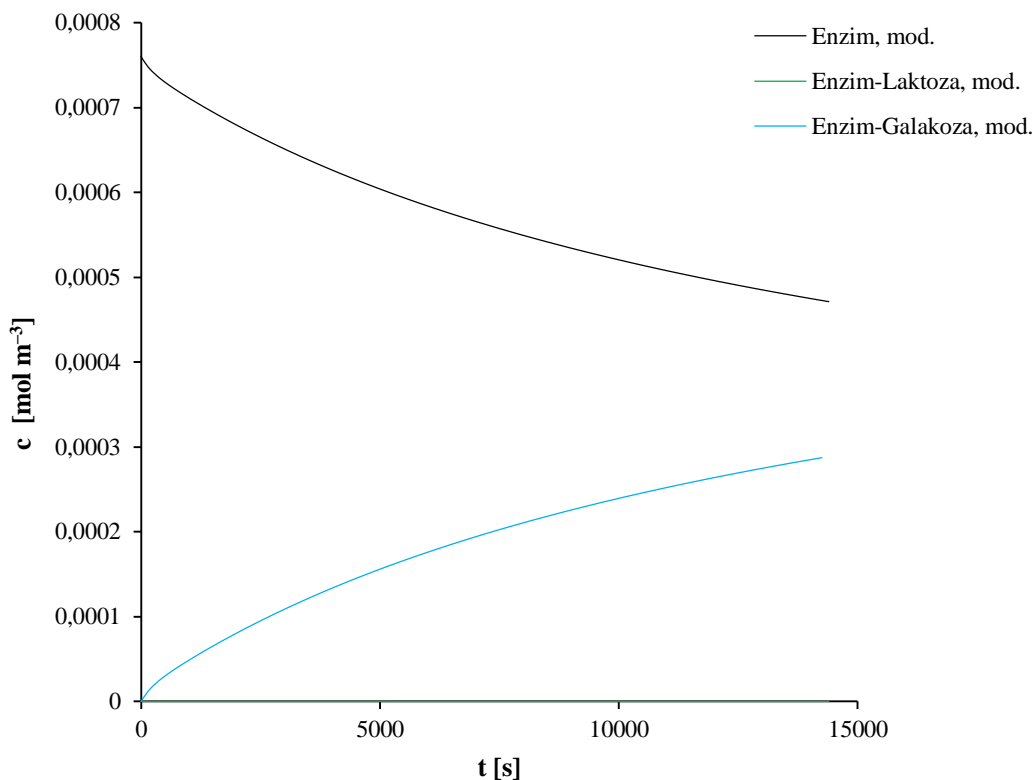
Najveće odstupanje modela od eksperimentalnih vrednosti je u slučaju glukoze i iznosi oko 14 %. Za ostale učesnike reakcije odstupanje je manje, srednja relativna greška je manja od 8 %.



Slika 4.2.4. Slaganje rezultata modela (linije) sa eksperimentalnim vrednostima (simboli) za reakciju transgalaktozilacije sa imobilisanim enzimima

Kao što je ranije pomenuto, promene koncentracije enzima i intermedijera nisu eksperimentalno određivane. Primenom predloženog modela dobijene su krive promene koncentracija enzima i intermedijera sa vremenom i prikazane na slici 4.2.5.

Na slici 4.2.5. se može videti da je koncentracija intermedijera *ELac* veoma mala i konstantna u toku eksperimenta, što je u skladu sa rezultatima prikazanim u tabeli 4.2.1. Sa druge strane, kompleks *EGal* vrlo sporo nastaje u sistemu i prisutan je do kraja eksperimenta, što donekle nije uobičajen, tj. očekivan rezultat.

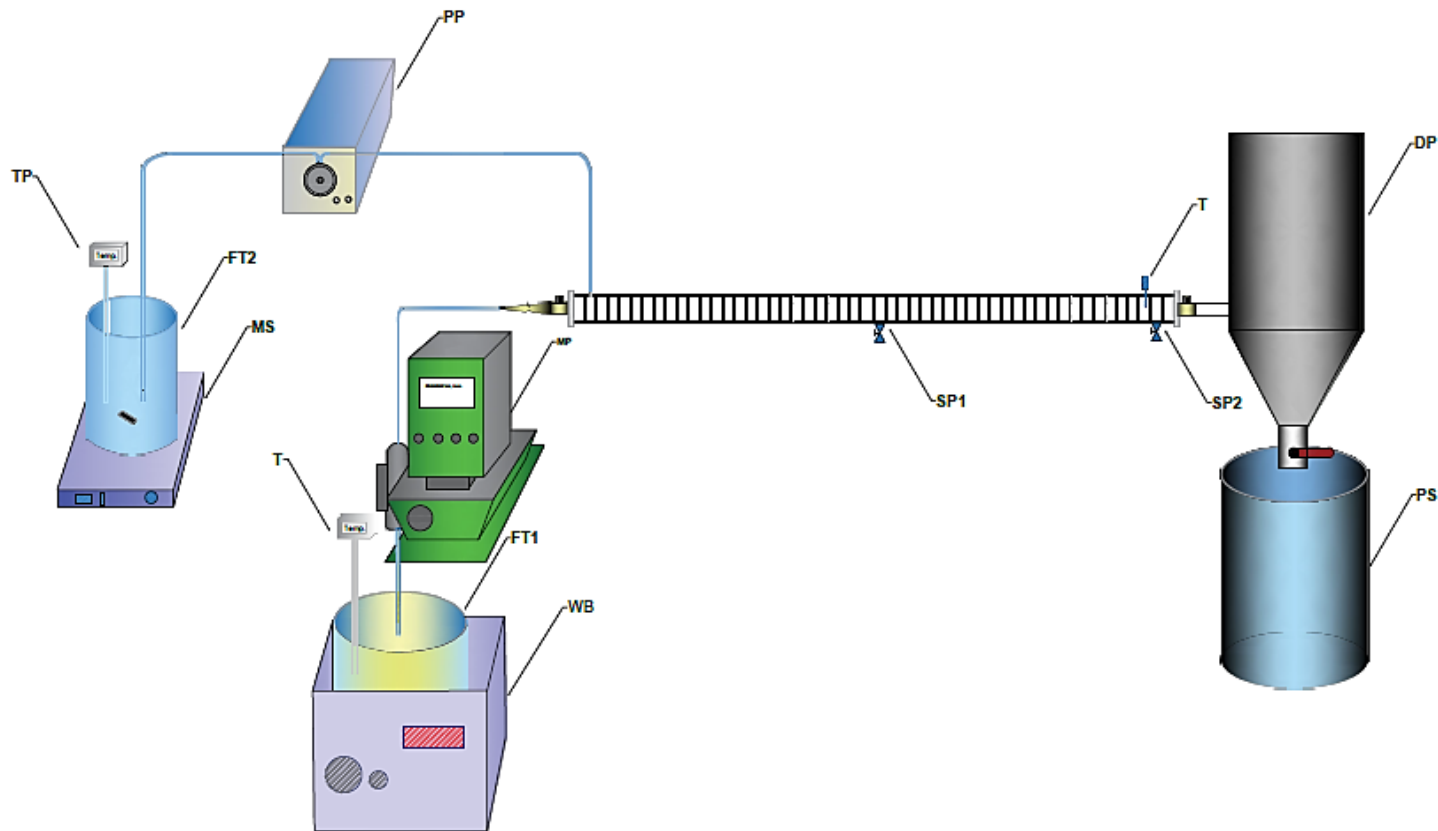


Slika 4.2.5 Promene koncentracija enzima i intermedijera sa vremenom određene primenom modela

4.3 REAKCIJA SINTEZE GALAKTOOLIGOSAHARIDA U ROT POMOĆU SLOBODNIH ENZIMA

4.3.1 EKSPERIMENTI SA SLOBODNIM ENZIMIMA

Kao što je ranije navedeno, jedan od ciljeva ove doktorske disertacije je i ispitivanje mogućnosti intenzifikacije reakcije sinteze galaktooligosaharida (reakcija transgalaktozilacije) iz rastvora laktoze, primenom kontinualnog reaktora sa oscilatornim tokom (ROT), pomoću enzima β – galaktozidaze iz *A. oryzae* u slobodnom obliku. Eksperimenti su izvedeni u aparaturi prikazanoj na slici 4.3.1. Budući da sastavni deo primenjene aparature čine ROT (unutrašnjeg prečnika 26 mm), membranska pumpa i peristaltička pumpa koji su korišćeni i u eksperimentima sprovedenim radi utvrđivanja dinamike strujanja tečnosti i čvrste faze, dimenzije reaktora i karakteristike pumpi se mogu naći u poglavlju II. DINAMIKA STRUJANJA TEČNOSTI U ROT.



Slika 4.3.1. Shematski prikaz korišćene aparature. FT1 – napojni sud za rastvor laktoze, FT2 – napojni sud za rastvor enzima, WB –vodeno kupatilo, MP – membranska pumpa, PP – peristaltička pumpa, MS – magnetna mešalica, TP – termo par, T – termometar, DP – damper posuda, PP – prihvatna posuda, SP1,2 – mesta uzorkovanja

Materijali, metode i uslovi

Materijali korišćeni prilikom izvođenja eksperimenata su sledeći:

- Destilovana voda
- Laktoza monohidrat 450M (Meggle)
- Komercijalni enzim β – galaktozidaza (≥ 8 jedinica/mg, Sigma Chemical Co., SAD)
- Natrijum – acetat (Centrohem, Srbija)
- Glacijalna sirćetna kiselina (Lach – Ner, Češka)

Rastvor laktoze koncentracije 4,5 % (mas.), kao i rastvor enzima se pripremaju neposredno pre samog izvođenja eksperimenata.

Rastvor laktoze se priprema tako što se odgovarajuća masa laktoze u prahu rastvori u zapremini destilovane vode koja je prethodno zagrejana na 45 °C. Temperatura rastvora laktoze se održava konstantnom u toku izvođenja eksperimenta primenom vodenog kupatila (videti sliku 4.3.1.).

Od natrijum – acetata i glacijalne sirćetne kiseline priprema se pufer koji se dodaje u već pripremljeni rastvor laktoze sa ciljem održavanja pH vrednosti u sistemu na 4,5.

Rastvor enzima se priprema na sličan način kao i rastvor laktoze: odgovarajuća masa enzima se rastvori u zapremini destilovane vode. Tako pripremljeni rastvor enzima se u toku eksperimenta meša pomoću magnetne mešalice (IKA® C – MAG HS – 7) na 200 o min⁻¹.

Eksperimenti se odvijaju tako što se sistem najpre napuni toplom vodom temperature od oko 50 °C. Sistem se prvo puni toplom vodom kako bi potrošnja rastvora laktoze bila što racionalnija. Kada se sistem napuni toplom vodom, u reaktor se uvodi rastvor laktoze pomoću membranske pumpe odgovarajućim protokom, odnosno pri odgovarajućim vrednostima frekvencije i amplitude za dati eksperiment. Istovremeno sa uvođenjem rastvora laktoze, u drugu ćeliju reaktora počinje da se uvodi rastvor enzima odgovarajućim/izabranim protokom pomoću peristaltičke pumpe. Vreme kada rastvor enzima počne da se uvodi u reaktor uzima se kao početno vreme, t_0 . Uzorkovanje se vrši od vremena t_0 , u određenim vremenskim intervalima na pozicijama SP1 i SP2 (slika 4.3.1.). Postupak zaustavljanja reakcije u uzetim uzorcima, priprema i analiza uzoraka opisana je u podpoglavlju 4.2.

4.3.2 MATEMATIČKI MODEL SISTEMA SA SLOBODNIM ENZIMIMA

Promena koncentracije učesnika reakcije sinteze GOS pomoću slobodnih enzima se može opisati matematičkim modelom koji se zasniva na modelu klipnog strujanja sa aksijalnom disperzijom. Model sistema se može prikazati jednačinama (4.3.1 do 4.3.7):

$$\frac{\partial C_{Lac}}{\partial t} = D_l \frac{\partial^2 C_{Lac}}{\partial x^2} - u_l \frac{\partial C_{Lac}}{\partial x} + r_{Lac} \quad (4.3.1)$$

$$\frac{\partial C_{ELac}}{\partial t} = D_l \frac{\partial^2 C_{ELac}}{\partial x^2} - u_l \frac{\partial C_{ELac}}{\partial x} + r_{ELac} \quad (4.3.2)$$

$$\frac{\partial C_{EGal}}{\partial t} = D_l \frac{\partial^2 C_{EGal}}{\partial x^2} - u_l \frac{\partial C_{EGal}}{\partial x} + r_{EGal} \quad (4.3.3)$$

$$\frac{\partial C_{Glc}}{\partial t} = D_l \frac{\partial^2 C_{Glc}}{\partial x^2} - u_l \frac{\partial C_{Glc}}{\partial x} + r_{Glc} \quad (4.3.4)$$

$$\frac{\partial C_{Gal}}{\partial t} = D_l \frac{\partial^2 C_{Gal}}{\partial x^2} - u_l \frac{\partial C_{Gal}}{\partial x} + r_{Gal} \quad (4.3.5)$$

$$\frac{\partial C_{GOS}}{\partial t} = D_l \frac{\partial^2 C_{GOS}}{\partial x^2} - u_l \frac{\partial C_{GOS}}{\partial x} + r_{GOS} \quad (4.3.6)$$

$$C_E = C_{E0} - C_{ELac} - C_{EGal} \quad (4.3.7)$$

gde su r_{Lac} , r_{ELac} , r_{EGal} , r_{Glc} , r_{Gal} i r_{GOS} brzine reakcija definisane jednačinama 4.2.4 – 9., C_{E0} koncentracija enzima na ulazu, a D_l predstavlja koeficijent aksijalne disperzije tečnosti i određuje se primenom jednačine:

$$D_l = \frac{u_l L}{Pe_l} \quad (4.3.8)$$

pri čemu se bezdimenzioni Pekleov broj, Pe_l , izračunava po ranije razvijenoj korelaciji za tečnu fazu (videti poglavlje 2. DINAMIKA STRUJANJA TEČNOSTI U ROT):

$$\frac{1}{Pe_l} = 0,12 Re_o^{-0,31} Str^{0,47} \psi^{0,25} \quad (4.3.9)$$

Brzina strujanja tečnosti (površinska brzina) se izračunava iz odnosa zapreminskog protoka, Q i površine poprečnog preseka A :

$$u_l = \frac{Q}{A} \quad (4.3.10).$$

Kako bi sistem diferencijalnih jednačina mogao da se reši, neophodno je postaviti odgovarajuće granične uslove, odnosno početne uslove. Najčešće se u rešavanju modela aksijalne disperzije primenjuju Danewerts – ovi granični uslovi, o čemu je bilo reči i u prethodnim poglavljima:

$$x = 0 \quad u_l C_{0-} = u_l C_{0+} - D_l \frac{\partial C}{\partial x} \quad (4.3.11)$$

$$x = L \quad \frac{\partial C}{\partial x} = 0 \quad (4.3.12).$$

Odgovarajući početni uslov je oblika:

$$t = 0 \quad C = 0 \quad (4.3.13).$$

Početni uslov definisan na ovaj način podrazumeva da je pre uvođenja rastvora enzima koncentracija laktoze i proizvoda reakcije jednaka nuli, što je u skladu sa eksperimentalnom procedurom opisanom u prethodnom delu. U jednačinama 4.3.11 – 13, C predstavlja koncentraciju učesnika reakcije.

Za rešavanje parcijalnih diferencijalnih jednačina u programskom paketu MATLAB primenjena je naredba *pdpe*.

Početni i granični uslovi se postavljaju za svaku komponentu – učesnika reakcije sinteze GOS, pojedinačno. Simulacija se zasniva na rešavanju jednačina (4.3.1. do 7.) uz početne uslove date sledećim jednačinama:

$$C_{Lac}(x, t_0) = 0 \quad (4.3.14)$$

$$C_{Gal}(x, t_0) = 0 \quad (4.3.15)$$

$$C_{Glc}(x, t_0) = 0 \quad (4.3.16)$$

$$C_{GOS}(x, t_0) = 0 \quad (4.3.17)$$

$$C_{ELac}(x, t_0) = 0 \quad (4.3.18)$$

$$C_{EGal}(x, t_0) = 0 \quad (4.3.19)$$

i granične uslove definisane jednačinama iz tabele 4.3.1:

Tabela 4.3.1. Granični uslovi

$x=0$	$x=L$
$u_l C_{Lac0} = u_l C_{Lac} - D_l \frac{\partial C_{Lac}}{\partial x}$	$\frac{\partial C_{Lac}}{\partial x} = 0$
$C_{GOS} = 0$	$\frac{\partial C_{GOS}}{\partial x} = 0$
$C_{Gal} = 0$	$\frac{\partial C_{Gal}}{\partial x} = 0$
$C_{Glc} = 0$	$\frac{\partial C_{Glc}}{\partial x} = 0$
$C_{ELac} = 0$	$\frac{\partial C_{ELac}}{\partial x} = 0$
$C_{EGal} = 0$	$\frac{\partial C_{EGal}}{\partial x} = 0$

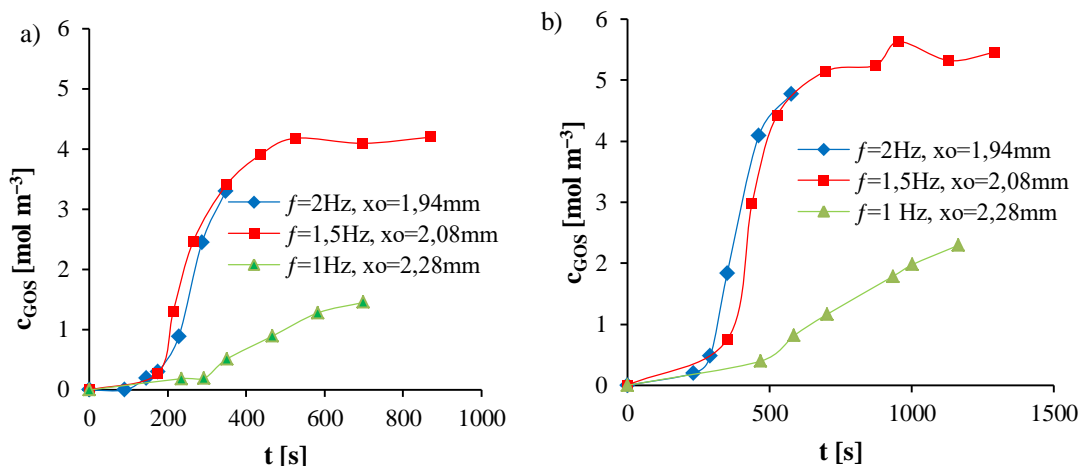
4.3.3 REZULTATI I DISKUSIJA

Radi utvrđivanja mogućnosti intenzifikacije reakcije sinteze GOS iz 4,5 % (mas.) rastvora laktoze sa slobodnom β – galaktozidazom iz *A. oryzae* izvedena su tri eksperimenta. Operativni uslovi pri kojima su eksperimenti izvedeni dati su u tabeli 4.3.2.

Tabela 4.3.2. Operativni uslovi u eksperimentima sa slobodnim enzimima

f , Hz	x_0 , mm	Q_{o_s} , Lh ⁻¹	Q_{s_s} , Lh ⁻¹	Re_o	Re_n	ψ	Str	SVZ, s (uzorkovanje na SP1)	SVZ, s (uzorkovanje na SP2)
2	1,94	9,9	1,2	609	145	4,19	1,071	205	341
1,5	2,08	7,9	0,9	490	115	4,26	0,995	256	427
1	2,28	5,8	0,7	358	85	4,22	0,908	344	573

Na slici 4.3.2. su prikazane koncentracije GOS izmerene u uzorcima uzetim na mestu uzorkovanja SP1 (pod a)) i mestu uzimanja uzoraka SP2 (pod b)), a koje nastaju u reakciji iz 4,5 % (mas.) rastvora laktoze u ROT pri različitim operativnim uslovima.



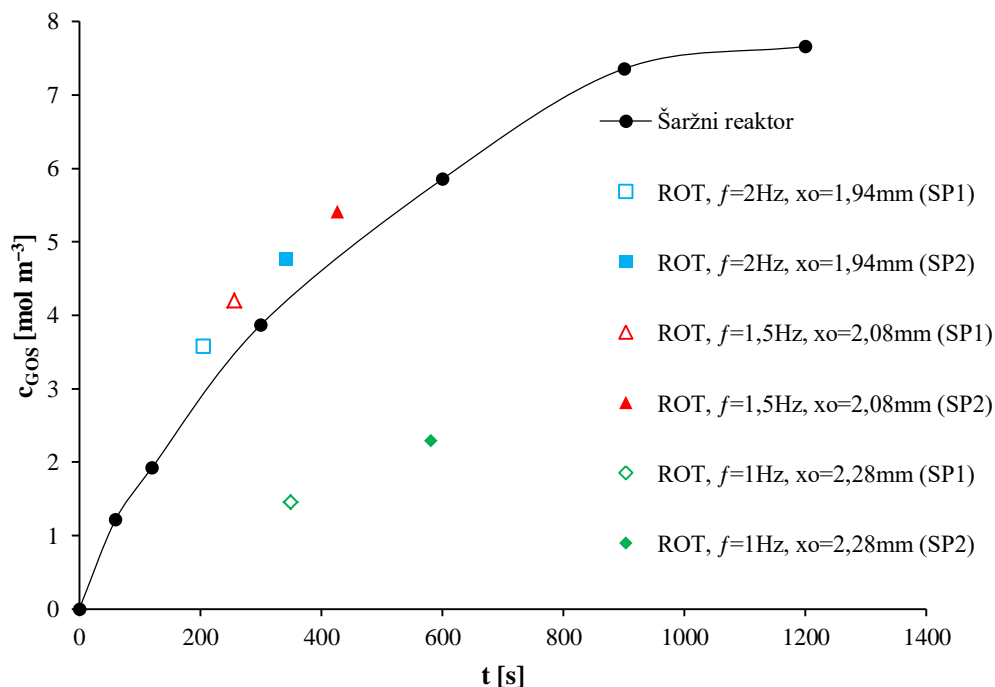
Slika 4.3.2. Promena koncentracije GOS u ROT sa vremenom pri različitim operativnim uslovima: a) uzorkovanje na mestu SP1 i b) uzorkovanje na mestu SP2

Kao što se može videti na slici 4.3.2, koncentracija GOS raste sa vremenom na izlazu iz reaktora sve do određenog trenutka kada se uspostavlja stacionarno stanje. Može se videti da se konstantna vrednost uspostavlja nakon $\sim 1,5$ SVZ tečnosti, što je u skladu sa očekivanjima i rezultatima predstavljenim u poglavlju II, za strujanje blisko klipnom, sa određenom aksijalnom disperzijom.

Na slici 4.3.2 se takođe može uočiti da je koncentracija GOS za operativne uslove $f = 1$ Hz i $x_0 = 2,28$ mm niža nego pri drugim operativnim uslovima, bez obzira što je srednje vreme zadržavanja reakcione smeše bilo najveće (344 s odnosno 573 s,

respektivno za mesto uzorkovanja SP1 i SP2). Ovo može biti posledica eksperimentalne greške, nedovoljnog intenziteta mešanja ili pak pada aktivnosti enzima. Po izračunatoj vrednosti Pe broja (jed. 4.3.9) od 37, ne zaključuje se da je velika aksijalna disperzija.

Kako bi se utvrdilo da li se reakcija sinteze GOS može intenzifikovati primenom ROT, dobijena koncentracija GOS u ROT je upoređena sa koncentracijom GOS postignutim u šaržnom reaktoru (eksperiment izveden paralelno sa eksperimentima u ROT pri identičnim operativnim uslovima, pri čemu je korišćen isti supstrat i rastvor enzima). Poređenje koncentracije GOS u ROT i u šaržnom reaktoru se može videti na slici 4.3.3. Za ROT je izračunata srednja vrednost koncentracija na izlazu iz reaktora za vremena kad je uspostavljeno stacionarno stanje – nakon $\sim 1,5$ SVZ (vidi sliku 4.3.2 i poslednje tačke). Za uporednu analizu, srednje vreme zadržavanja reakcione smeše u ROT može se uporediti sa istim reakcionim vremenom u šaržnom reaktoru. Temperatura, pH, koncentracija enzima i supstrata u šaržnom reaktoru odgovaraju uslovima u ROT.



Slika 4.3.3. Poređenje koncentracije GOS postignute u ROT i u šaržnom reaktoru za isto kontaktno vreme

Na slici 4.3.3. se može uočiti da je koncentracija GOS u ROT pri operativnim parametrima $f=2$ Hz i $x_0=1,94$ mm, odnosno $f=1,5$ Hz i $x_0=2,08$ mm nešto veća od koncentracije koja se ostvari u šaržnom reaktoru za reakciono vreme koje odgovara SVZ u ROT. Pri operativnim uslovima sa srednjom i visokom frekvencijom ostvaruje se dobro mešanje (posledica stvaranja vrtloga u ćelijama između pregrada ROT), pri čemu je vrednost smicajnih napona mala, što za posledicu ima veći prinos reakcije, bez obzira što se u ROT javlja izvesna aksijalna disperzija koja inače negativno deluje na prinos reakcije. Pored toga, na slici 4.3.3. se može videti da je koncentracija GOS koja se postigne pri operativnim uslovima $f=1$ Hz i $x_0= 2,28$ mm niža od koncentracije u šaržnom reaktoru.

U tabelama 4.3.3 i 4.3.4 prikazane su eksperimentalne vrednosti, kao i vrednosti dobijene simulacijom modela ROT i modela za šaržni reaktor, koncentracije GOS i glukoze. Reakciono vreme (vreme kontakta, tj. srednje vreme zadržavanja) u ROT, za koje je postignuta koncentracija proizvoda prikazana u tabelama, odgovara reakcionom vremenu u šaržnom reaktoru.

U tabeli 4.3.3 su, pored eksperimentalnih, upoređene vrednosti koncentracija u ROT i u šaržnom reaktoru dobijene simulacijom modela koji uključuje kinetičke parametre određene na osnovu 5 eksperimenata. U tabeli 4.3.3 se može videti da je koncentracija GOS dobijena simulacijom modela niža od koncentracije ostvarene u eksperimentima i za šaržni i za reaktor sa oscilatornim tokom fluida. Odstupanja od eksperimentalnih vrednosti u ROT su između 25 i 40 % za glukozu, odnosno između 39 i 50 % za GOS. Manje odstupanje modela i eksperimentalnih vrednosti je za uzorke uzete na SP2.

Ovako značajno odstupanje modela od eksperimentalnih vrednosti može biti posledica i korišćenih kinetičkih parametara. Naime, odstupanje kinetičkih modela od eksperimenta sa početnom koncentracijom od 4,5 % je 37,3 % za GOS i 24,8 % za glukozu.

Tabela 4.3.3. Koncentracije GOS i glukoze u ROT i u šaržnom reaktoru za isto vreme kontakta

Tip reaktora	Vreme kontakta, s	EKSPERIMENTI		SIMULACIJA		RELATIVNA GREŠKA (eksperiment nasuprot modela), %	
		GOS, molm ⁻³	Glukoza, molm ⁻³	GOS, molm ⁻³	Glukoza, molm ⁻³	GOS	Glukoza
Šaržni reaktor	205	2,9	12,1	2,0	5,9	31,0	51,2
ROT		3,4	8,4	1,8	5,3	47,1	36,9
Šaržni reaktor	256	3,5	13,3	2,4	7,1	31,4	46,6
ROT		4,1	10,7	2,2	6,5	46,3	39,3
Šaržni reaktor	341	4,2	14,7	3,0	9,0	28,6	38,8
ROT		4,4	10,9	2,7	8,1	38,6	25,7
Šaržni reaktor	427	4,8	16,1	3,5	10,7	27,1	33,5
ROT		5,5	15,2	3,2	9,7	41,8	36,2

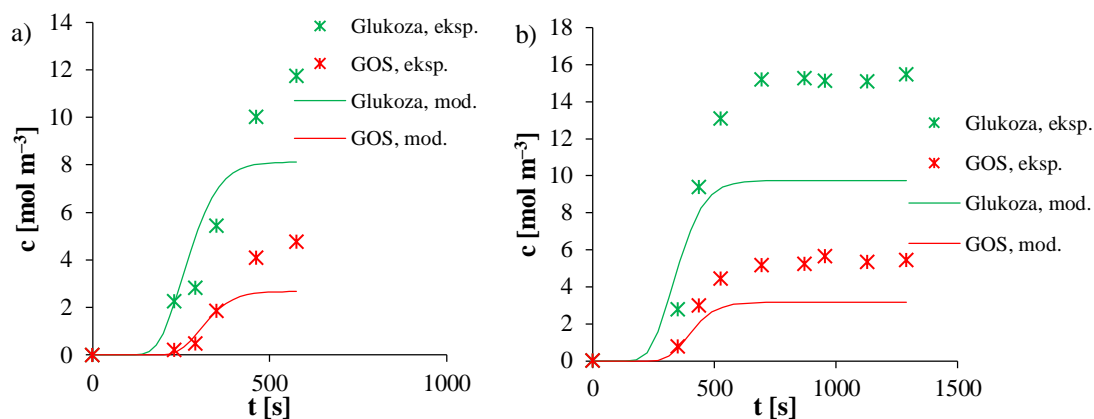
U tabeli 4.3.4 su upoređene vrednosti koncentracija u ROT i u šaržnom reaktoru kako eksperimentalne, tako i dobijene simulacijom modela koji uključuje kinetičke parametre određene na osnovu eksperimenata sa niskom vrednošću početne koncentracije laktoze. Kao što se može videti u tabeli, slaganje modela za ROT sa eksperimentalnim vrednostima je dobro, značajno bolje od rezultata prikazanih u prethodnoj tabeli. Odstupanje za GOS je u opsegu od 5,9 do 18,2 %, a za glukozu od 2,0 do 27,5 %.

Dobro slaganje modela i eksperimenata je posledica primene kinetičkih parametara određenih na osnovu eksperimenata sa malim vrednostima početne koncentracije laktoze. Naime odstupanje kinetičkog modela od eksperimenata je 11 % za glukozu i 24,8 % za GOS.

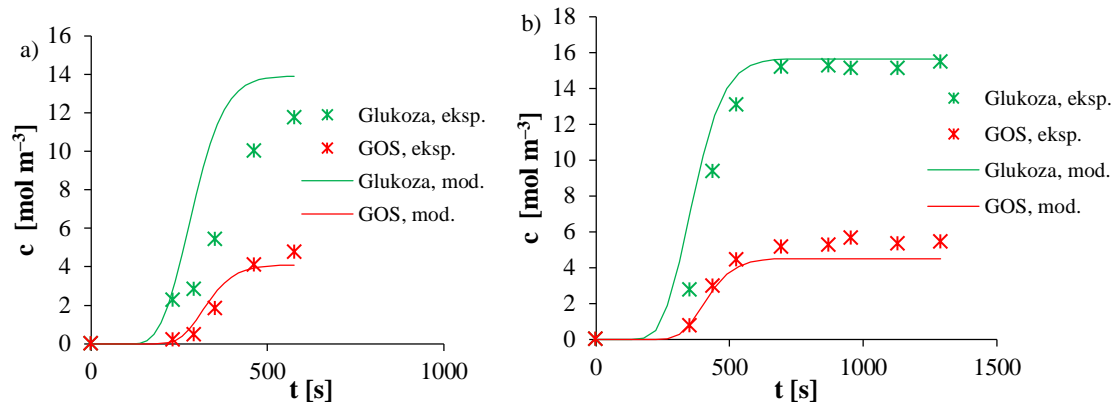
Tabela 4.3.4. Koncentracije GOS i glukoze u ROT i u šaržnom reaktoru za isto vreme kontakta

Tip reaktora	Vreme kontakta, s	EKSPERIMENTI		SIMULACIJA		RELATIVNA GREŠKA, %	
		GOS, molm ⁻³	Glukoza, molm ⁻³	GOS, molm ⁻³	Glukoza, molm ⁻³	GOS	Glukoza
Šaržni reaktor	205	2,9	12,1	3,6	11,6	24,1	4,1
ROT		3,4	8,4	3,2	9,4	5,9	11,9
Šaržni reaktor	256	3,5	13,3	4,0	13,2	14,3	0,75
ROT		4,1	10,7	3,6	12,0	12,2	12,1
Šaržni reaktor	341	4,2	14,7	4,6	15,4	9,5	4,8
ROT		4,4	10,9	4,1	13,9	6,8	27,5
Šaržni reaktor	427	4,8	16,1	5,2	17,6	8,3	9,3
ROT		5,5	15,2	4,5	15,5	18,2	2,0

Na slici 4.3.4 i 4.3.5 upoređene su krive promene koncentracije proizvoda reakcije transgalaktozilacije dobijene simulacijom sa eksperimentalnim vrednostima. Kao što se može videti krive promene koncentracije GOS i glukoze dobijene simulacijom modela za ROT prate trend eksperimentalnih vrednosti, a posebno u slučaju kad je korišćen kinetički model dobijen za manje koncentracije laktoze.



Slika 4.3.4. Poređenje modela (linije) sa eksperimentalnim vrednostima (simboli), kinetički parametri određeni za sve eksperimente: a) $f = 2$ Hz i $x_0 = 1,94$ mm i b) $f = 1,5$ Hz i $x_0 = 2,08$ mm



Slika 4.3.5. Poređenje modela (linije) sa eksperimentalnim vrednostima (simboli), kinetički parametri određeni za 2 eksperimenta: a) $f = 2$ Hz i $x_0 = 1,94$ mm i b) $f = 1,5$ Hz i $x_0 = 2,08$ mm

4.4 REAKCIJA SINTEZE GALAKTOOLIGOSAHARIDA U ROT POMOĆU IMOBILISANIH ENZIMA

U ovom poglavlju doktorske disertacije opisani su eksperimenti u kojima je ispitivana mogućnost izvođenja reakcije sinteze GOS katalizovana imobilisanim enzimima u kontinualnom ROT.

Pre eksperimenata koji uključuju reakciju sinteze GOS izvedeni su i eksperimenti sa inertnim česticama u kojima su optimizovani operativni uslovi – temperatura, udeo čestica u suspenziji na ulazu u reaktor i amplituda, pri kojima je kasnije ispitivana reakcija. Pored toga, u eksperimentima sa inertnim česticama utvrđen je način strujanja čestica i tečnosti i kvantifikovan pomoću parametara AD modela, kako bi se sistem što pouzdanije opisao ukupnim matematičkim modelom koji obuhvata i kinetičke parametre prikazane u delu 4.2.2.

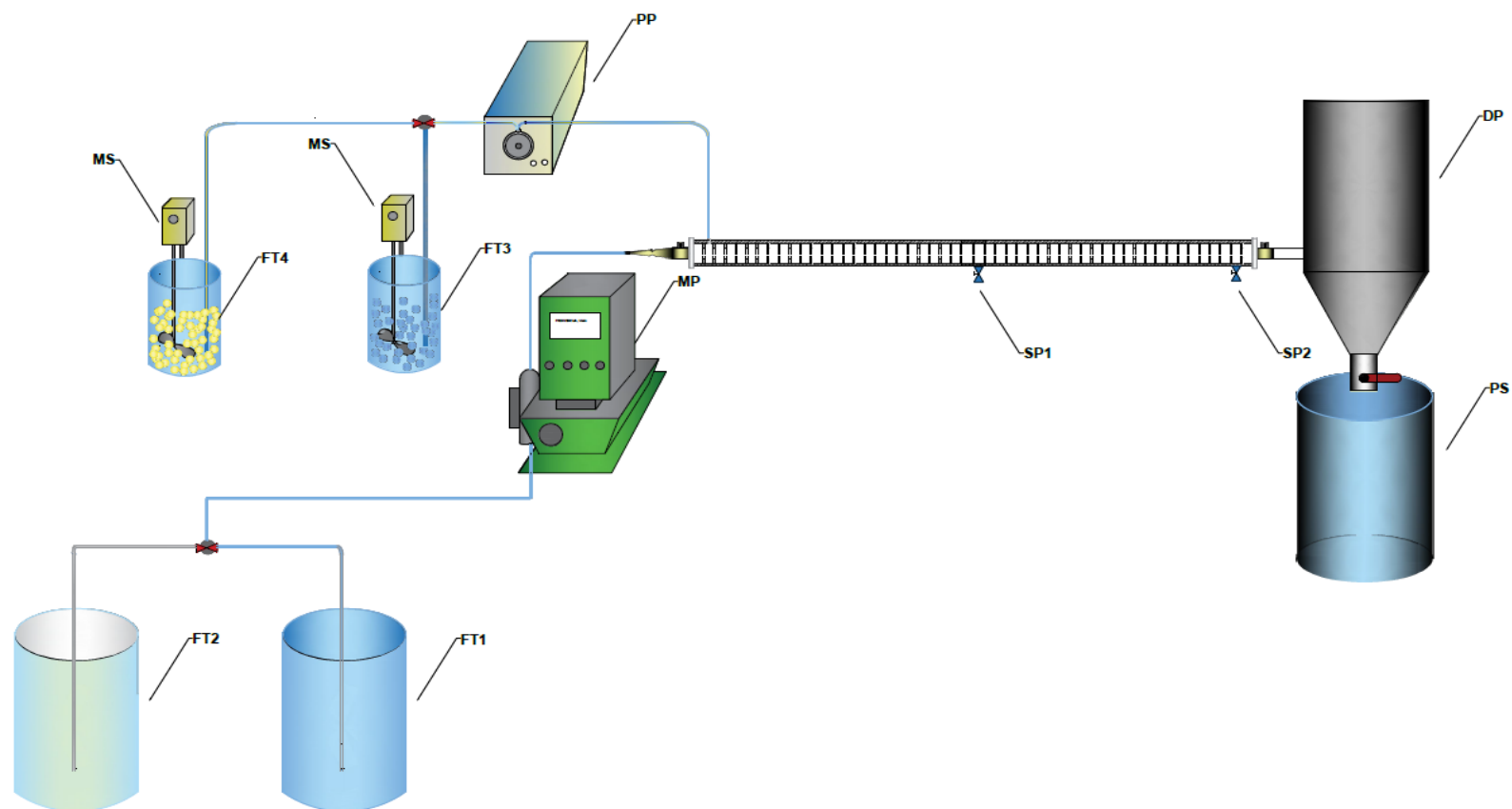
4.4.1 EKSPERIMENTI SA INERTNIM ČESTICAMA

Cilj eksperimenata sa inertnim česticama je određivanje povoljnih vrednosti amplitude oscilatornog toka rastvora laktoze koncentracije 20 % (mas.) pri kojim čestice jonoizmenjivačke smole mogu da se kreću, a da se pri tim uslovima ostvari odgovarajući režim strujanja čestica i što je moguće duže vreme zadržavanja kako tečne, tako i čvrste faze. Frekvencija oscilatornog toka rastvora laktoze se ne menja u toku eksperimenata pošto je u prethodnim istraživanjima utvrđeno da amplituda ima dominantan uticaj na ponašanje čestica i tečnosti u reaktoru (poglavlje II i III). Kako je za sintezu GOS u ROT potrebno ostvariti što duže vreme zadržavanja tečnosti u reaktoru, izabrano je da frekvencija bude 0,50 Hz – najmanja vrednost frekvencije pri kojoj se može ostvariti oscilatoran tok fluida koji omogućava da čestice budu dovoljno dugo suspendovane.

Pored „optimizovanja“ operativnih parametara, cilj eksperimenata sa inertnim česticama je i utvrđivanje načina proticanja tečnosti i čestica primenom metode praćenja odziva sistema na stepenastu promenu, kako bi se kvantifikovalo kretanje čestica, pomoću Pe broja u AD modelu. Osim ispitivanja načina strujanja čestica, ispitivana je i zavisnost količine čestica (zadržavanja, eng. *holdup*) u ROT od operativnih uslova (amplituda i udeo čestica u suspenziji na ulazu u reaktor).

Budući da reaktor nije termoizolovan, najpre je ispitano kako se temperatura menja duž reaktora, odnosno za koliko stepeni Celzijusa se promeni/smanji temperatura na izlazu iz reaktora u odnosu na ulaz. Eksperimentima je utvrđeno da se temperatura smanji za 3 – 5 °C. Kako se reakcija transgalaktozilacije uobičajeno odvija na temperaturi od oko 40 °C do 60 °C, usvojeno je da se eksperimenti u ROT, sprovedu pri temperaturi rastvora laktoze od oko 45 °C (na ulazu), kako temperatura na izlazu iz reaktora ne bi bila niža od 40 °C.

Eksperimenti nisu izvođeni pri višim temperaturama iz tehničkih razloga – maksimalna radna temperatura membranske pumpe (membrane) je do 50 °C. Šematski prikaz aparature može se videti na slici 4.4.1. Kako se u ovim eksperimentima koristi postojeća oprema: reaktor, membranska pumpa i peristaltička pumpa, odnosno oprema koja se koristila u prethodnim eksperimentima, karakteristike ovih uređaja mogu videti u poglavlju II, i neće biti prikazane ovde.



Slika 4.4.1. Shematski prikaz korišćene aparature. FT1 – napojni sud za obojeni rastvor laktoze, FT 2 – napojni sud za neobojeni rastvor laktoze, FT3 – napojni sud sa suspenzijom plavih čestica, FT4 – napojni sud sa suspenzijom belih čestica MP – membranska pumpa, PP – peristaltička pumpa, MS – mehanička mešalica, DP – damper posuda, PS – prihvatna posuda, SP1,2 – mesta uzorkovanja

Materijali, metode i uslovi

Materijali korišćeni u toku izvođenja ovih eksperimenata su sledeći:

- Laktoza u prahu (Meggle)
- Voda iz vodovoda
- Metilensko plavo u prahu
- Čestice jonoizmenjivačke smole Purolite® A – 109
- Boja na bazi fenola

Kao radni fluid u eksperimentima određivanja optimalnih operativnih uslova za izvođenje reakcije sinteze GOS se koristi 20 % (mas.) rastvor laktoze temperature oko 45 °C. Temperatura rastvora se održava konstantnom pomoću vodenog kupatila. Temperatura grejnog fluida u vodenom kupatilu je oko 56 °C. Kao čvrsta faza u eksperimentima korišćene su inertne čestice slabo – bazne jonoizmenjivačke smole Purolite® A –109 koje su kasnije korišćene i u eksperimentima sa imobilisanim enzimima (u reakciji sinteze GOS). Karakteristike 20 % (mas.) rastvora laktoze i čestica jonoizmenjivačke smole date su u tabeli 4.4.1.

Tabela 4.4.1. Karakteristike rastvora laktoze i čestica jonoizmenjivačke smole

20 % RASTVOR LAKTOZE (@40°C)	
Gustina	1078 kg m ⁻³
Viskozitet	0,00195Pa s
JONOIZMENJIVAČKA SMOLA PUROLITE® A-109	
Polimerna struktura	Makroporozni polistiren umrežen divinilbenzenom
Funkcionalna grupa	Primarni amini
Veličina sfernih čestica	425 – 1000µm
Gustina čestica	1060 kg m ⁻³

Od laktoze u prahu i tople vode se priprema supstrat određene masene koncentracije. Rastvor laktoze se u ROT uvodi membranskom pumpom, a suspenzija čestica peristaltičkom pumpom. Kako suspenziju čestica čine voda i čestice, maseni udeo laktoze u rastvoru je podešavan u zavisnosti od protoka membranske i peristaltičke pumpe, odnosno njihovog odnosa kako bi rastvor na ulazu u reaktor imao koncentraciju od 20 % mas. Rastvor laktoze se nalazio u sudovima FT1 i FT2 (slika 4.4.1). U sud FT1 je dodavana određena količina metilenskog plavog kako bi se postiglo obojenje rastvora laktoze. Pripremljeni rastvori laktoze se postavljaju u vodeno kupatilo i tamo drže do

kraja eksperimenta kako ne bi došlo do promene temperature na ulazu u ROT sa vremenom.

U skladu sa primenjenom metodom praćenja odziva sistema na stepenastu promenu, deo čestica jonoizmenjivačke smole (koje su originalno bele boje) je obojen plavom bojom na bazi fenola kako bi se mogao pratiti i analizirati tok čestica u ROT i odziv sistema na stepenastu ulaznu promenu. Za potrebe eksperimenata su pripremane suspenzije čestica u vodi sa masenim udelima od 0,05 i 0,08. Suspenzije čestica su se nalazile u sudovima FT3 i FT4.

Nakon pripreme rastvora laktoze i suspenzije čestica, sistem se napuni toplom vodom i podese se vrednosti frekvencije i amplitude membranske pumpe. Nakon toga započinje se sa izvođenjem eksperimenta. U ROT se najpre membranskom pumpom uvodi nebojeni rastvor laktoze (iz FT2) u trajanju od 2 – 3 SVZ. Kada se ustali tok rastvora nebojene laktoze, uključuje se peristaltička pumpa i započinje se sa uvođenjem plavih čestica jonoizmenjivačke smole (iz FT3). U toku eksperimenta prati se temperatura na ulazu i izlazu iz reaktora. Kada se reaktor napuni plavim česticama, odnosno uspostavi se ravnomerna raspodela plavih čestica duž reaktora (utvrđuje se vizuelno), zaustavlja se dotok plavih čestica i omogućava dotok nebojenih (belih) čestica u reaktor (podešavanje položaja trokrakog ventila, slika 4.4.1). Od trenutka u kome se prve bele čestice nađu u reaktoru, započinje se sa merenjem vremena i uzima se prvi uzorak (nulto vreme). Dalje se uzorci uzimaju u određenim vremenskim intervalima. Uzorci se uzimaju sve dok bele čestice ne zamene sve plave čestice u reaktoru, odnosno nakon nekoliko vremena zadržavanja čestica (oko 3 SVZ).

Kako bi se pratio i utvrdio uticaj promene operativnih uslova na količinu čestica u ROT, nakon uzimanja poslednjeg uzorka čestica preostale čestice u reaktoru se prikupljaju pomoću toka rastvora laktoze pri većem protoku membranske pumpe. Ovim se završava deo eksperimenta kojim se ispituje način kretanja čestica kroz ROT.

Kako bi se uradio drugi deo eksperimenta i utvrdio način kretanja tečnosti, ROT se najpre napuni belim česticama (reaktor je pun rastvora laktoze). Nakon toga se zatvara dotok nebojene laktoze iz FT2 i u reaktor počinje da se uvodi obojeni rastvor laktoze iz FT1 (trokraki ventila na liniji između FT1 i FT2 se postavlja u odgovarajući položaj, slika 4.4.1). Od trenutka kada obojeni rastvor laktoze počne da ulazi u reaktor započinje se sa merenjem vremena (nulto vreme) i uzimanjem uzoraka. Uzorci se

uzimaju na izlazu iz reaktora u određenim vremenskim intervalima sve dok se boja rastvora laktoze duž reaktora ne ujednači (oko 3 SZV tečnosti). Kada se uzme poslednji uzorak, završava se sa eksperimentom, a reaktor se prazni i ispira vodom.

Uzorci tečnosti uzeti radi ispitivanja kumulativne RVZ tečnosti se analiziraju na spektrofotometru (UV – VIS Spectrophotometer MAPADA) pri talasnoj dužini od 662 nm, odnosno meri se absorbanca uzoraka. Postupak određivanja koncentracije metilenskog plavog u uzetim uzorcima je identičan sa postupkom koji je opisan u poglavlju II.

Uzorci uzeti radi ispitivanja kumulativne RVZ čestica se pripremaju na način koji je opisan u poglavlju III. Postupak analize pripremljenih uzoraka je veoma sličan postupku opisanom u pomenutom poglavlju, s tom razlikom da je u ovom slučaju bilo neophodno raditi dva prebrojavanja (određivan je ukupan broj čestica i broj plavih čestica u uzorku). S obzirom da uzeti uzorci sadrže mali broj čestica, odnosno masa uzoraka je veoma mala, nije bilo moguće pouzdano odrediti broj čestica na osnovu mase, poznate gustine i prosečnog prečnika, kako je to rađeno u ranijim eksperimentima (videti poglavlje III DINAMIKA STRUJANJA ČESTICA U ROT).

Kao što je već ranije pomenuto, amplituda membranske pumpe i koncentracija čestica u suspenziji su parametri čiji se uticaj na sistem ispitivao u eksperimentima. Dotok čestica odnosno suspenzije čestica u reaktor je konstantan u svim eksperimentima i iznosi $1,6 \text{ Lh}^{-1}$. Frekvencija membranske pumpe je $0,50 \text{ Hz}$. Temperatura vodenog kupatila je $56 \text{ }^\circ\text{C}$.

Operativni uslovi pri kojima su izvedeni eksperimenti prikazani su u tabeli 4.4.2.

Tabela 4.4.2. Operativni uslovi u eksperimentima

$f, \text{ Hz}$	$x_0, \text{ mm}$	$Q_o, \text{ Lh}^{-1}$	Re_o	Re_n	ψ	Str
0,5	9,50	12,1	237	165	1,44	0,22
0,5	11,31	14,4	283	196	1,44	0,18

4.4.1.1 REZULTATI I DISKUSIJA

Kao što je već rečeno, nakon svakog eksperimenta koji je imao za cilj određivanje odziva na stepenastu promenu, prikupljane su čestice koje su ostale u reaktoru i merena je njihova masa. U tabeli 4.4.3 su date vrednosti zapreminskog udela čestica u ROT izračunate na osnovu izmerene mase i poznate gustine čestica, kao i zapremine reaktora na osnovu jednačine:

$$\beta = \frac{V_S}{V_R} = \frac{m_s/\rho_s}{V_R} \quad (4.4.1)$$

gde je m_s – masa čestica ; ρ_s – gustina čestica ; V_R – zapremina reaktora ; V_S – zapremina čestica .

Tabela 4.4.3. Zapreminski udeo čestica u reaktoru u zavisnosti od vremena

Eksperiment	Amplituda, mm	Koncentracija čestica u suspenziji (ω), %	Vreme, s	Zapreminski udeo čestica u reaktoru (β), %
1	9,50	5	1193	0,36
			302	0,46
			600	0,49
			1683	0,42
2	11,31	8	241	0,87
			780	0,93
3		5	1094	0,43

Kao što se u tabeli 4.4.3 može videti, kada je koncentracija čestica u suspenziji na ulazu u ROT 5 % mas., prosečni zapreminski udeo čestica u reaktoru iznosi 0,43 %. U slučajevima suspenzije sa 8 % mas. čestica, prosečni zapreminski udeo čestica u ROT iznosi 0,91 %,

Vrednosti F – krive predstavljaju odnos broja obojenih čestica i ukupnog broja čestica u uzorku, odnosno odnos koncentracije metilensko plavog u uzorku i maksimalne koncentracije metilenskog plavog u rastvoru laktoze, u slučaju određivanja kumulativne RVZ čestica i tečnosti, respektivno. Srednje vreme zadržavanja čestica i tečnosti u ROT se izračunava primenom jednačine [51]:

$$\bar{t} = \sum_{i=1}^n (1 - \frac{c_i}{c_0}) \Delta t_i \quad (4.4.2)$$

gde je n broj merenja, c_0 koncentracija obeležene komponente na ulazu u reaktor, Δt_i razlika vremena uzorkovanja (s), c_i koncentracija obeležene komponente na izlazu iz reaktora u vremenu.

Bezdimenziono vreme se izračunava kao odnos vremena uzorkovanja i SVZ čestica, odnosno tečnosti [51]:

$$\theta_i = \frac{t_i}{\bar{t}} \quad (4.4.3)$$

gde je θ_i bezdimenziono vreme; t_i vreme uzimanja uzorka i \bar{t} – srednje vreme zadržavanja .

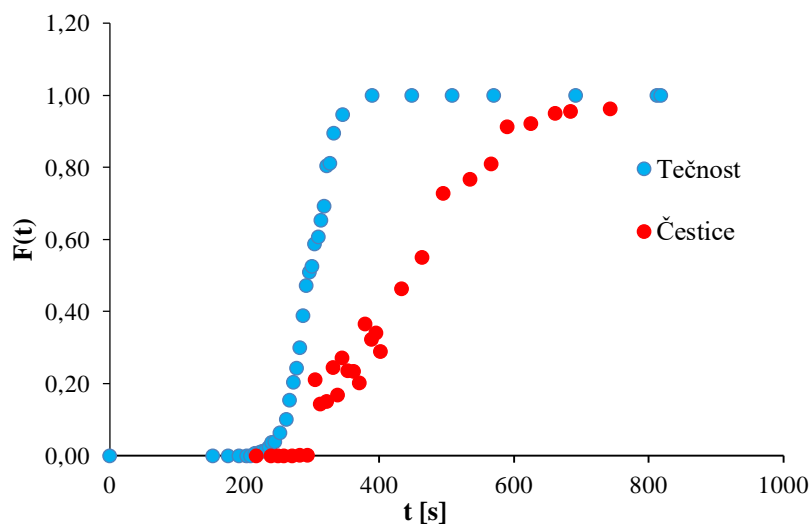
Na osnovu eksperimentalnih vrednosti i primenom jednačine (4.4.2) izračunato je srednje vreme zadržavanja tečnosti i čestica za eksperiment sa manjim protokom odnosno sa većim SVZ tečnosti i čestica. Izračunate vrednosti srednjeg vremena zadržavanja tečnosti i čestica se mogu videti u tabeli 4.4.4.

Tabela 4.4.4. Srednje vreme zadržavanja tečnosti i čestica

f , Hz	x_0 , mm	ω , %	\bar{t}_l , s	\bar{t}_s , s	\bar{t}_s/\bar{t}_l
0,50	9,50	5	294	439	1,49

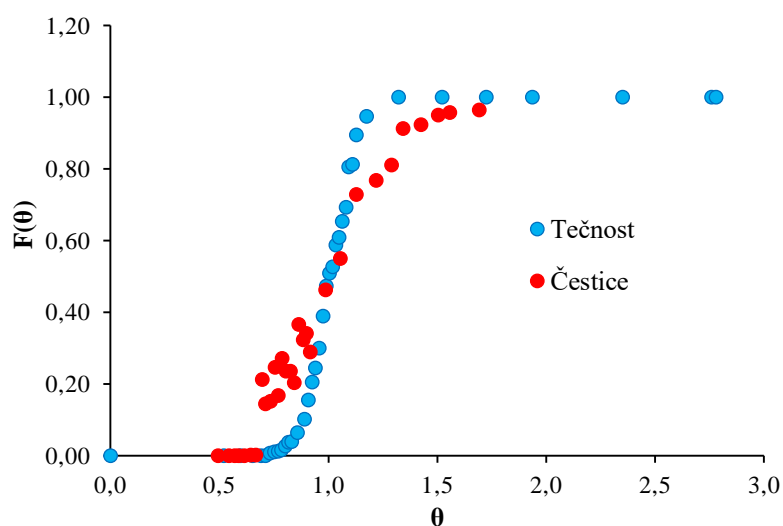
Na slici 4.4.2. su prikazane promene F – krive tečnosti i čestica u vremenu, pri navedenim operativnim uslovima. Kao što se može videti, čestice se značajno duže zadržavaju u odnosu na tečnost. Odnos srednjeg vremena zadržavanja tečnosti i čestica je 1,49.

Kako je cilj ovih eksperimenata određivanje optimalnih operativnih parametara: što duže SVZ tečnosti i čestica, ovakvo ponašanje sistema pri navedenim operativnim uslovima je odgovarajuće.



Slika 4.4.2. F – krive koje odgovaraju uslovima $Q_o = 12,1 \text{ Lh}^{-1}$, $x_0 = 9,50 \text{ mm}$, $SVZt=294 \text{ s}$ i $SVZ\check{c}=439 \text{ s}$

U bezdimenzionom obliku, F – krive imaju oblik prikazan na slici 4.4.3.



Slika 4.4.3. F – krive za tečnu i čvrstu fazu u bezdimenzionom obliku za $Q_o = 12,1 \text{ Lh}^{-1}$, $x_0 = 9,50 \text{ mm}$, $SVZt=294 \text{ s}$ i $SVZ\check{c}=439 \text{ s}$

Kao što se može videti na slici 4.4.2 oblik F – krive tečne faze (rastvor laktoze) je približniji obliku F – krive idealnog klipnog strujanja nego oblik F – krive čestica.

Razvučeni oblik F – krive čestica ukazuje na značajnije odstupanje od idealnog klipnog strujanja, odnosno ukazuje na to da se pri ovim operativnim uslovima javlja značajna aksijalna disperzija čestica. Primenom modela klipnog strujanja sa aksijalnom disperzijom (jednačine 2.3.1, poglavlje II) izračunata je vrednost Pe broja za čestice, a koji predstavlja meru aksijalne disperzije i iznosi 28,94. Pe broj za tečnu fazu određen je primenom korelacije koja je razvijena u prethodnom istraživanju dinamike strujanja tečnosti (jednačina 4.3.9) i iznosi 71,18.

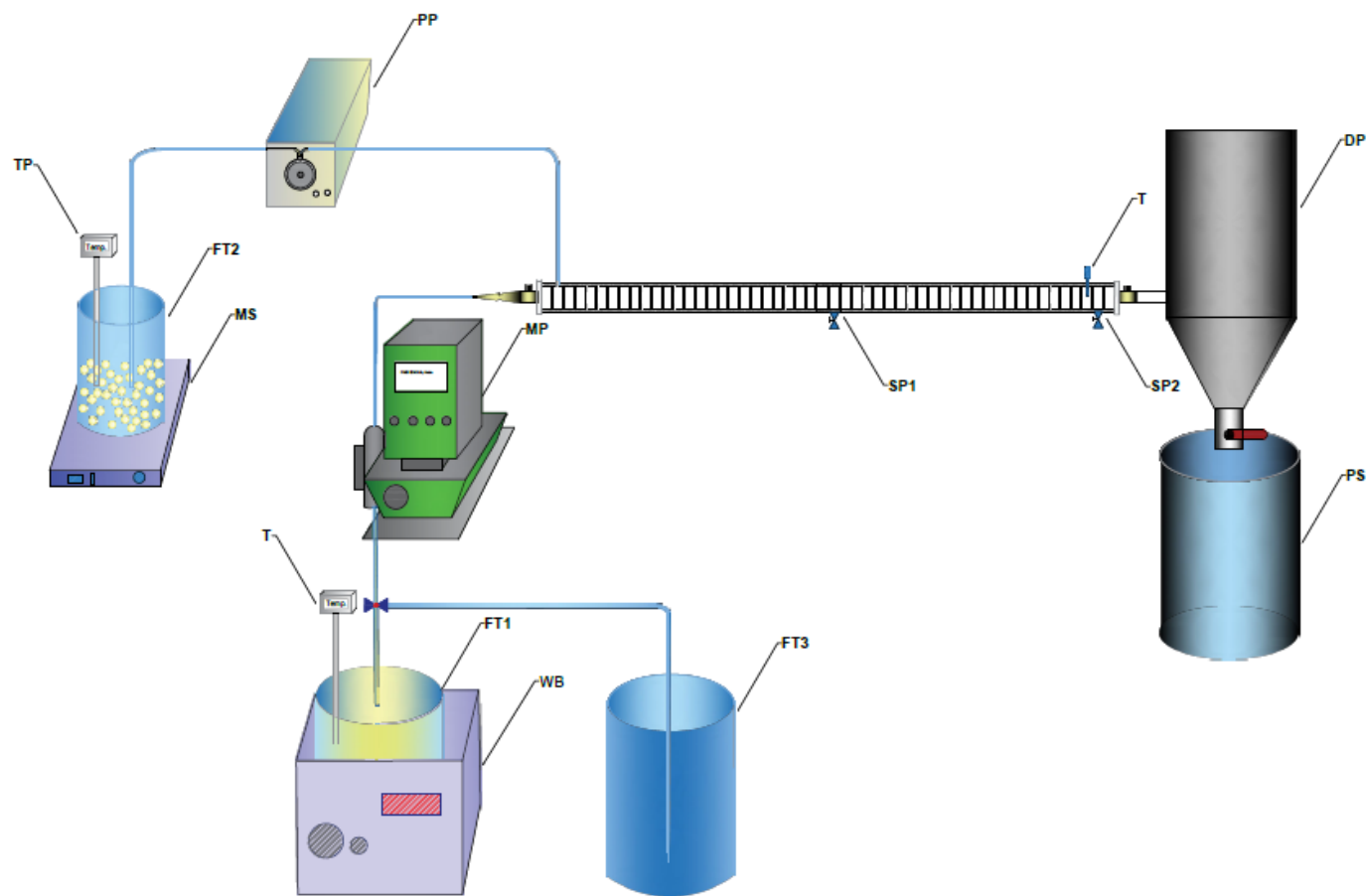
Na osnovu analize rezultata izvedenih eksperimenata, zaključuje se da se pri operativnim uslovima: $f=0,50$ Hz, $x_0= 9,50$ mm, $Q_0=12,1$ Lh⁻¹ i $\omega= 5$ % ostvaruje SVZ od 294 s i 439 s, za tečnost, odnosno čestice, respektivno, kao i odgovarajući režim strujanja čestica, te se ovi operativni uslovi mogu smatrati odgovarajućim za izvođenje reakcije sinteze GOS u ROT.

Detaljnije o eksperimentima sa inertnim česticama može se videti u Završnom radu Đ. Marića [134].

4.4.2 EKSPERIMENTI SA IMOBILISANIM ENZIMIMA

U ovom poglavlju doktorske disertacije predstavljeni su rezultati eksperimenata sinteze GOS uz pomoć enzima β – galaktozidaza koji je imobilisan na česticama jonoizmenjivačke smole Purolite[®] A-109 u kontinualnom ROT, kao i rezultati razvijenog matematičkog modela,

Šema primenjene eksperimentalne aparature prikazana je na slici 4.4.4.



Slika 4.4.4. Shematski prikaz korišćene aparature, FT1 – napojni sud za rastvor laktoze, FT3 – napojni sud za destilovanu vodu, FT2 – napojni sud za suspenziju imobilisanih enzima, WB – vodeno kupatilo, MP – membranska pumpa, PP – peristaltička pumpa, MS – magnetna mešalica, TP – termo par, T – termometar, DP – damper posuda, PS – prihvatna posuda, SP1,2 – mesta uzorkovanja

Materijali, metode i uslovi

Materijali korišćeni prilikom izvođenja eksperimenata su sledeći:

- Destilovana voda
- Laktoza monohidrat 450M (Meggle)
- Čestice jonoizmenjivačke smole Purolite[®] A – 109 (Purolite, USA)
- Komercijalni enzim β – galaktozidaza (≥ 8 jedinica/mg, Sigma Chemical Co, SAD)
- Natrijum – acetat (Centrohem, Srbija)
- Glacijalna sirćetna kiselina (Lach – Ner, Češka)

Kao i u slučaju eksperimenata sa slobodnim enzimima, od natrijum–acetata i glacijalne sirćetne kiseline priprema se pufer koji se koristi pri imobilizaciji, pripremi rastvora laktoze, kao i suspenzije čestica sa ciljem održavanja pH vrednosti u sistemu na vrednost od 4,5. Purolite[®] A – 109 je makroporozna polistirenska jonoizmenjivačka smola karakteristika navedenih u tabeli 4.4.1. Ova jonoizmenjivačka smola je biokompatibilna i netoksična i kao takva može se koristiti kao nosač na koji se imobilise enzim. Pored toga, čestice ove smole pokazuju otpornost prema usitnjavanju i osmotskom šoku, kao i dobru temperaturnu i hemijsku stabilnost i zbog toga su veoma pogodne za primenu u različitim reaktorskim sistemima.

Čestice jonoizmenjivačke smole – nosači se pre imobilizacije čiste i pripremaju, a enzim modifikuje na način koji je opisan u podpoglavlju 4.2.

Nakon postavljanja aparature, pripremaju se supstrat – rastvor laktoze i suspenzija čestica sa imobilisanim enzimima. Rastvor laktoze priprema se tako što se odgovarajuća masa laktoze u prahu rastvori u toploj destilovanoj vodi. Suspenzija čestica koncentracije 5 % (mas.) se priprema tako što se odgovarajuća masa čestica pomeša sa odgovarajućom zapreminom destilovane vode. U jednom od eksperimenata korišćena je suspenzija sa sadržajem čestica od 3 % (mas.).

Pre početka eksperimenta, reaktor se napuni toplom destilovanom vodom i podese odgovarajuće vrednosti frekvencije i amplitude. Nakon toga membranska pumpa (kojom se laktoza uvodi u reaktor) se pušta u rad. Temperatura rastvora laktoze od 46

°C se održava konstantnom pomoću vodenog kupatila temperature od 56 °C. Temperatura rastvora laktoze se u toku eksperimenta prati pomoću termometara (videti sliku 4.4.4). Nakon uspostavljanja stabilnog toka membranske pumpe (približno 2 SVZ tečne faze rastvora laktoze) pušta se u rad peristaltička pumpa i započinje se sa uvođenjem suspenzije čestica iz suda FT2 u ROT. Vreme kada prve čestice uđu u reaktor se smatra početnim vremenom i od tog trenutka se počinje sa merenjem vremena i uzimanjem uzoraka za analizu. Uzorci se uzimaju na mestima SP1 i SP2, koja su pozicionirani na 0,97 m i 1,80 m od mesta ulaza suspenzije u reaktor, respektivno. Uzorci se uzimaju u određenim vremenskim intervalima (u zavisnosti od srednjeg vremena zadržavanja). Nakon poslednjeg uzetog uzorka zaustavlja se rad membranske i peristaltičke pumpe.

Kao i u slučaju eksperimenata sa slobodnim enzimima, reakcija se u uzorcima zaustavlja metodom termičkog šoka. Nakon toga, uzorci se pripremaju i analiziraju na način kako je to opisano u podpoglavlju 4.2.

Čestice koje su ostale u reaktoru nakon poslednjeg uzetog uzorka (završetka eksperimenta) se prikupljaju destilovanom vodom iz suda FT3 pomoću membranske pumpe pri maksimalnom protoku. Nakon prikupljanja, čestice se cede i meri se njihova masa. U ranijim istraživanjima eksperimentalno je utvrđeno da 21% mase uzorka mokrih čestica odgovara masi suvih čestica.

Pored toga, na osnovu mase suvih čestica izračunat je zapreminski udeo čestica u reaktoru prema jednačini (4.4.1).

Kako bi se utvrdilo da li dolazi do smanjenja aktivnosti enzima usled izlaganja uslovima u reaktoru, odnosno pri prolasku kroz reaktor, nakon svakog izvedenog eksperimenta određena je aktivnost enzima na uzorcima čestica iz suda sa suspenzijom čestica (na ulazu u reaktor – sud FT2) i čestica iz reaktora. Postupak pri ispitivanju aktivnosti enzima u uzorcima opisan je u podpoglavlju 4.2.

Eksperimenti sinteze galakto – oligosaharida izvedeni su pri operativnim uslovima za koje je u prethodnim istraživanjima utvrđeno da su optimalni i prikazani su u tabeli 4.4.5. U toku eksperimenata temperatura rastvora laktoze, odnosno reakcione smeše iznosila je oko 44 – 45 °C odnosno 42 °C, na ulazu i izlazu iz reaktora,

respektivno, što je u opsegu preporučenih vrednosti temperature za reakciju sinteze GOS.

Tabela 4.4.5. Operativni uslovi eksperimenata

f , Hz	x_0 , mm	Q_o , Lh ⁻¹	Q_s , Lh ⁻¹	β , %	SVZ _t , s	SVZ _č , s	ω , %
0,5	9,50	12,1	1,6	1,53	294	439	5
0,5	9,50	12,1	1,6	0,87	294	439	5
0,5	9,50	12,1	1,6	1,10	294	439	5
0,5	9,50	12,1	1,6	0,69	294	439	3
0,5	11,31	14,4	1,6	0,81	250	—*	5
0,5	11,31	14,4	1,6	0,95	250	—*	5

* za navedene operativne parametre nisu eksperimentalno određena SVZ čestica

4.4.2.1 MATEMATIČKI MODEL SISTEMA SA IMOBILISANIM ENZIMIMA

Matematički model sistema sa imobilisanim enzimima se zasniva na modelu klipnog strujanja sa aksijalnom disperzijom koji se u ovom slučaju primenjuje na:

- čvrstu fazu (udeo čestica se menja od nultog vremena do uspostavljanja stacionarnog stanja za kretanje čestica)
- na supstrat i proizvode reakcije: laktozu, glukozu, galaktozu i GOS koji se nalaze u tečnoj fazi i
- na enzim i međuproizvode (komplekse): enzim – laktoza i enzim – galaktoza za koje se pretpostavlja da se nalaze na površini čvrste faze.

Dinamički model reaktora sa oscilatornim tokom fluida može se predstaviti sistemom parcijalnih diferencijalnih jednačina i obuhvata:

- jednačine materijalnog bilansa
- početne uslove i
- granične uslove.

Jednačine materijalnog bilansa

Za razliku do materijalnog bilansa za reakciju sa slobodnim enzimima gde je jednačina bilansa za enzim primenjena u algebarskom obliku, u slučaju reakcije sa imobilisanim enzimima materijalni bilans je primenjen u diferencijalnom obliku.

$$\frac{\partial \beta}{\partial t} = D_s \frac{\partial^2 \beta}{\partial x^2} - u_s \frac{\partial \beta}{\partial x} \quad (4.4.5)$$

$$\beta \frac{\partial C_E}{\partial t} = \beta D_s \frac{\partial^2 C_E}{\partial x^2} - \beta u_s \frac{\partial C_E}{\partial x} + r_E \quad (4.4.6)$$

$$(1 - \beta) \frac{\partial C_{Lac}}{\partial t} = (1 - \beta) D_l \frac{\partial^2 C_{Lac}}{\partial x^2} - (1 - \beta) u_l \frac{\partial C_{Lac}}{\partial x} + r_{Lac} \quad (4.4.7)$$

$$(1 - \beta) \frac{\partial C_{Gal}}{\partial t} = (1 - \beta) D_l \frac{\partial^2 C_{Gal}}{\partial x^2} - (1 - \beta) u_l \frac{\partial C_{Gal}}{\partial x} + r_{EGal} \quad (4.4.8)$$

$$(1 - \beta) \frac{\partial C_{Glc}}{\partial t} = (1 - \beta) D_l \frac{\partial^2 C_{Glc}}{\partial x^2} - (1 - \beta) u_l \frac{\partial C_{Glc}}{\partial x} + r_{Glc} \quad (4.4.9)$$

$$(1 - \beta) \frac{\partial C_{GOS}}{\partial t} = (1 - \beta) D_l \frac{\partial^2 C_{GOS}}{\partial x^2} - (1 - \beta) u_l \frac{\partial C_{GOS}}{\partial x} + r_{GOS} \quad (4.4.10)$$

$$\beta \frac{\partial C_{EGal}}{\partial t} = \beta D_s \frac{\partial^2 C_{EGal}}{\partial x^2} - \beta u_s \frac{\partial C_{EGal}}{\partial x} + r_{EGal} \quad (4.4.11)$$

$$\beta \frac{\partial C_{ELac}}{\partial t} = \beta D_s \frac{\partial^2 C_{ELac}}{\partial x^2} - \beta u_s \frac{\partial C_{ELac}}{\partial x} + r_{ELac} \quad (4.4.12)$$

gde β predstavlja zapreminski udeo čestica u reaktoru, $(1 - \beta)$ zapreminski udeo tečnosti u reaktoru, D_l i D_s koeficijent aksijalne disperzije za tečnost, odnosno čestice respektivno, u_l i u_s srednju površinsku brzinu tečnosti i čestica i r_{Lac} , r_E , r_{ELac} , r_{EGal} , r_{Glc} , r_{Gal} i r_{GOS} predstavljaju brzine reakcija za učesnike reakcije definisane jednačinama 4.2.11 – 17. Treba naglasiti da su jednačine 4.4.6 do 4.4.12 pojednostavljene, jer su članovi parcijalnih izvoda β i $(1 - \beta)$ po vremenu i dužini zanemareni, odnosno uzeto je da su jednaki nuli. U preciznom modelu ove veličine bi stajale pod difrencijalom množeći koncentracije, jer su udeli čestica promenjive u reaktorskom sistemu, pa bi jednačine sadržale izvode proizvoda (te pri razvoju dva člana uz svaki izvod). Međutim,

s obzirom da se udeo čestica menja od 0 do maksimalnih 0,008, gradijenti su mali, te su uzeti da su nula.

Početni uslovi

$$\beta(x, t_0) = 0 \quad (4.4.13)$$

$$(1 - \beta)C_{Lac}(x, t_0) = 809 \text{ mol m}^{-3} \quad (4.4.14)$$

$$(1 - \beta)C_{Gal}(x, t_0) = 0 \quad (4.4.15)$$

$$(1 - \beta)C_{Glc}(x, t_0) = 0 \quad (4.4.16)$$

$$(1 - \beta)C_{GOS}(x, t_0) = 0 \quad (4.4.17)$$

$$\beta C_{ELac}(x, t_0) = 0 \quad (4.4.18)$$

$$\beta C_{EGal}(x, t_0) = 0 \quad (4.4.19)$$

$$\beta C_E(x, t_0) = 0 \quad (4.4.20).$$

Granični uslovi

Tabela 4.4.6. Granični uslovi

$x=0$	$x=L$
$u_s\beta_0 = u_s\beta - D_s \frac{\partial\beta}{\partial x}$	$\frac{\partial\beta}{\partial x} = 0$
$(1 - \beta)u_l C_{Lac0} = (1 - \beta)u_l C_{Lac} - (1 - \beta)D_l \frac{\partial C_{Lac}}{\partial x}$ gde je $C_{Lac0} = 809 \text{ molm}^{-3}$	$(1 - \beta) \frac{\partial C_{Lac}}{\partial x} = 0$
$(1 - \beta)C_{GOS} = 0$	$(1 - \beta) \frac{\partial C_{GOS}}{\partial x} = 0$
$(1 - \beta)C_{Gal} = 0$	$(1 - \beta) \frac{\partial C_{Gal}}{\partial x} = 0$
$(1 - \beta)C_{Glc} = 0$	$(1 - \beta) \frac{\partial C_{Glc}}{\partial x} = 0$
$\beta C_{ELac} = 0$	$\beta \frac{\partial C_{ELac}}{\partial x} = 0$
$\beta C_{EGal} = 0$	$\beta \frac{\partial C_{EGal}}{\partial x} = 0$
$\beta C_E = 0,00083 \text{ mol m}^{-3}$ gde je $\beta = 0,008$, a $C_E = 0,0954 \text{ molm}_{\text{čestica}}^{-3}$	$\beta \frac{\partial C_E}{\partial x} = 0$

Sistem diferencijalnih jednačina rešava se u programskom paketu MATLAB na sličan način kao i u slučaju rešavanja matematičkog modela za sistem sa slobodnim enzimima. Konstante brzine reakcija koje figurišu u materijalnom bilansu su date u tabeli 4.2.1 (podpoglavlje 4.2.2.).

Kao što je ranije pomenuto Pe broj tečne faze u reaktoru sa oscilatornim tokom izračunava se indirektno iz korelacije [84] :

$$\frac{1}{Pe_l} = 0,12Reo^{-0,31} Str^{0,47} \psi^{0,25} \quad (4.3.9).$$

Iz izračunatog Pe_l broja i površinske brzine tečnosti (jedn. 4.3.10) sledi da je koeficijent aksijalne disperzije za tečnu fazu, kao i u slučaju eksperimenata sa slobodnim enzimima:

$$D_l = \frac{L u_l}{Pe_l} \quad (4.3.8).$$

Brzina strujanja čestica jonoizmenjivačke smole se izračunava na osnovu poznate dužine reaktora i srednjeg vremena zadržavanja (SVZ je izračunato iz eksperimentalnih rezultata – tabela 4.4.4):

$$u_s = \frac{L}{\bar{t}} \quad (4.4.21)$$

Analogno koeficijentu aksijalne disperzije tečnosti, izračunava se koeficijent aksijalne disperzije za čestice primenom sledeće jednačine:

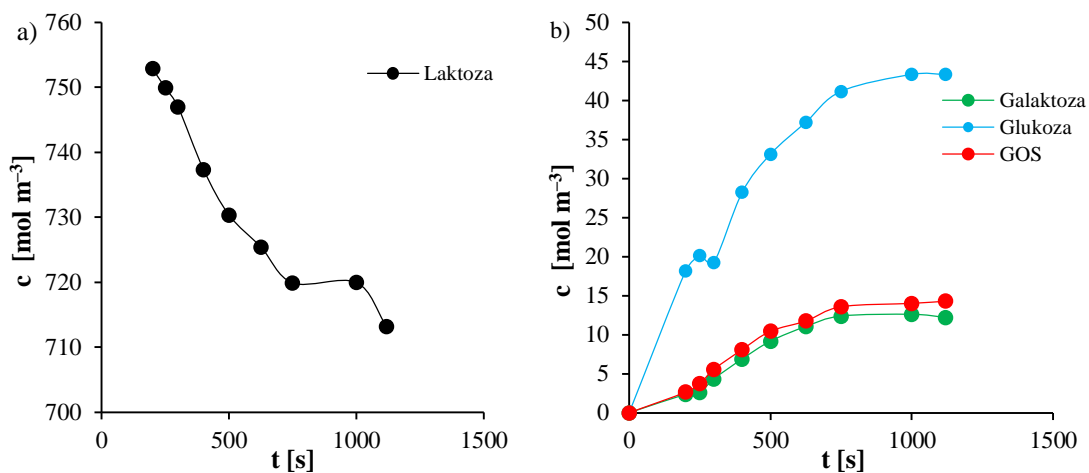
$$D_s = \frac{L u_s}{Pe_s} \quad (4.4.22)$$

pri čemu je Pe_s izračunat iz eksperimentalnih vrednosti primenom modela klipnog strujanja sa aksijalnom disperzijom (AD model), a na osnovu vrednosti iz eksperimenata sa inertnim česticama (videti podpoglavlje 4.4.1).

4.4.2.2 REZULTATI I DISKUSIJA

Na slici 4.4.5. prikazana je promena koncentracije supstrata i proizvoda reakcije transgalaktozilacije na izlazu iz ROT, za eksperiment u kojem je ostvaren najveći prinos reakcije. Sa vremenom, koncentracija laktoze pada, a koncentracija proizvoda raste sve do uspostavljanja stacionarnog stanja (na oko 800 s), odnosno nakon $\sim 2SVZ$ čestica u reaktoru. Ovo je očekivano, pošto koncentracije nastalih proizvoda zavise od

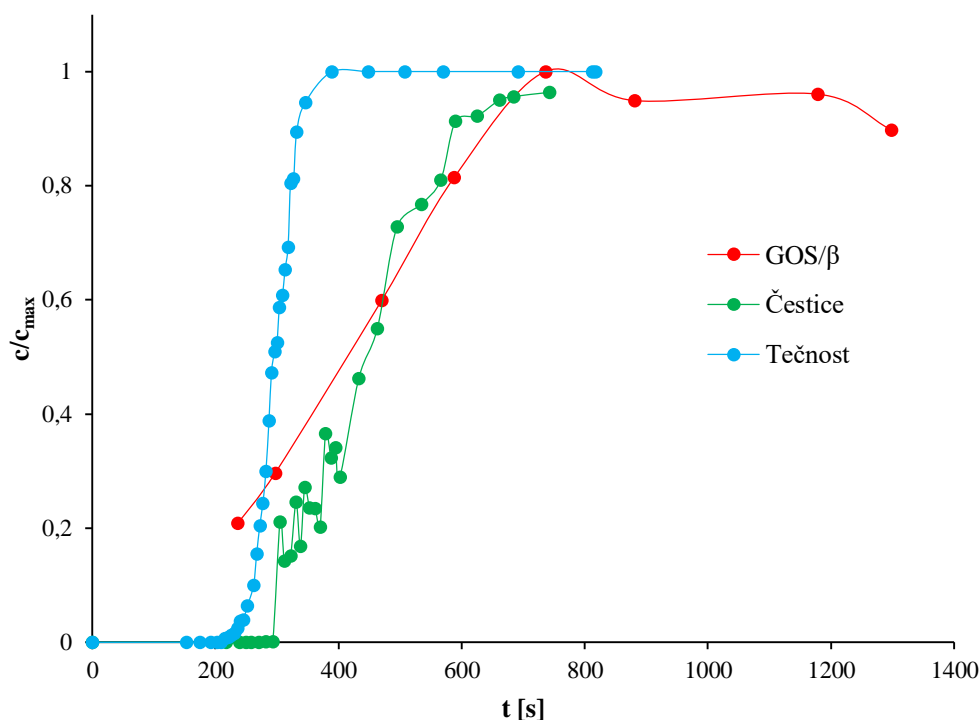
koncentracije enzima u ROT koji su imobilisani na česticama koje se uvode u reaktor u trenutku nula, a kreću se sporije od tečnosti, uz veću aksijalnu disperziju.



Slika 4.4.5. Promena koncentracija u reakciji sinteze GOS u vremenu: a) laktoze i b) proizvoda reakcije, pri operativnim uslovima: $f=0,5$ Hz, $x_0=9,50$ mm i $\beta=0,87$ %

Na slici 4.4.6 upoređene su koncentracije GOS sa koncentracijama laktoze i čestica (koje su rezultat eksperimenata sa inertnim česticama), u bezdimenzionom obliku.

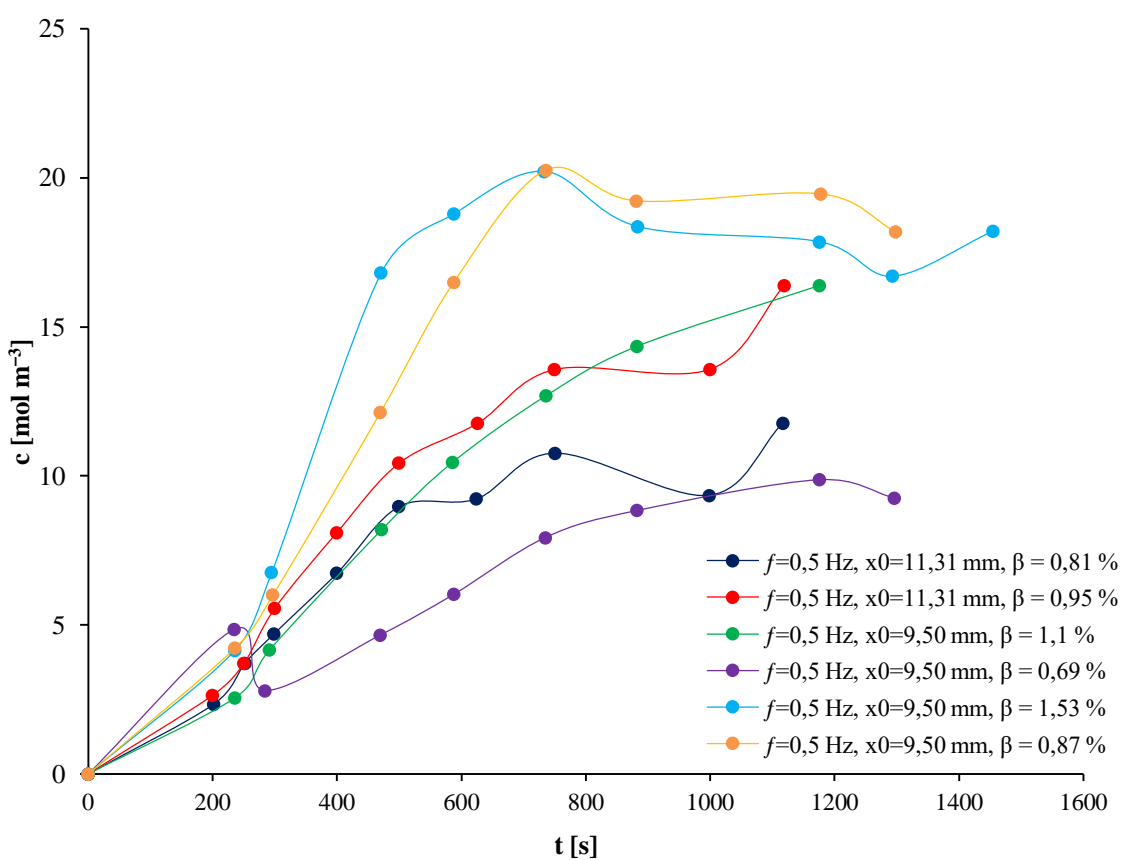
Na slici 4.4.6 se može uočiti da profili koncentracije GOS više prati profil čestica, što je i očekivano, s obzirom da se na česticama nalaze enzimi, a da se one sporije kreću kroz reaktor.



Slika 4.4.6. Poređenje bezdimenzionih koncentracija GOS sa bezdimenzionim koncentracijama laktoze (tečnosti) i čestica u funkciji vremena, pri operativnim uslovima: $f=0,5$ Hz, $x_0=9,50$ mm i $\beta=0,87$ %

Promene koncentracije GOS nastalih u reakciji sinteze u ROT sa vremenom za sve izvedene eksperimente, prikazane su na slici 4.4.7. Kako zapreminski udeo čestica u reaktoru u stacionarnom stanju nije bio isti u svim eksperimentima, ne može se sa tačnošću govoriti o prinosu reakcije na osnovu onoga što je prikazano na slici 4.4.7. Kao što je ranije pomenuto od udela čestica zavisi koncentracija enzima u sistemu, a to direktno utiče na koncentracije proizvoda reakcije. U tabeli 4.4.7 su prikazane koncentracije proizvoda po zapreminskom udelu čestica u stacionarnom stanju, te se na osnovu ovih vrednosti mogu izvesti relevantniji zaključci o prinosu reakcije. Kada se uporede vrednosti na slici 4.4.7 sa vrednostima u tabeli 4.4.7 uočava se da razlika u ostvarenim koncentracijama nije velika, osim za eksperiment gde je $\beta=0,87$ %, gde je prinos najveći. Ovo odstupanje može biti posledica povoljnije orijentacije enzima u eksperimentu nakon početnog pada aktivnosti u prvom eksperimentu i eventualne stabilizacije enzima supstratom. Na osnovu slike 4.4.7 i tabele 4.4.7 može se zaključiti

da se u ROT reakcija sinteze može izvoditi uspješno, sa dobrim prinosom, i to sa malom količinom čestica, odnosno enzima. Za datu reakciju i veće prinose, potrebno je duže vreme zadržavanja reaktanata i enzima, što bi se moglo ostvariti u dužem reaktoru. Pored toga, uočava se da koncentracija GOS raste u dužem vremenskom intervalu, dužem nekoliko puta od srednjeg vremena zadržavanja tečnosti, što je i bilo očekivano na osnovu rezultata o načinu kretanja čestica (koje je sporije), predstavljenom u podpoglavlju 4.4.1 i delu 4.4.1.1. ovog poglavlja.

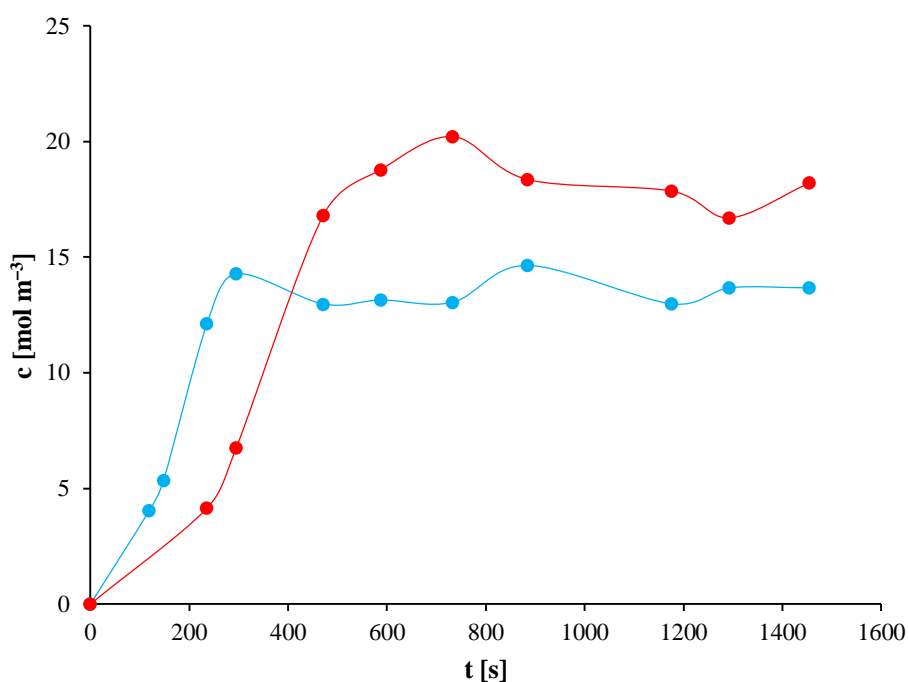


Slika 4.4.7. Koncentracija GOS na izlazu iz ROT pri različitim operativnim uslovima

Tabela 4.4.7. Koncentracija GOS na izlazu iz ROT nakon uspostavljanja stacionarnog stanja

f , Hz	x_o , mm	β , %	c , mol m ⁻³ /β
0,5	11,31	0,81	12,4
0,5	11,31	0,95	13,8
0,5	9,50	0,69	13,0
0,5	9,50	0,87	22,2
0,5	9,50	1,1	12,9
0,5	9,50	1,53	11,6

Kako dužina reakcionog vremena, odnosno srednjeg vremena zadržavanja utiče na prinos reakcije GOS u ROT može se videti na slici 4.4.8. gde su prikazane koncentracije GOS u uzorcima uzetim na ~60 % ukupne dužine (mesto uzorkovanja SP1) i u uzorcima uzetim na izlazu iz reaktora (mesto uzorkovanja SP2), pri istim operativnim uslovima – temperatura, pH i udeo čestica u reaktoru (u toku jednog eksperimenta). Koncentracija GOS u uzorcima na prvom mestu uzorkovanja (SP1) je približno jednaka 60 % od koncentracije na izlazu iz reaktora (SP2), što je u skladu sa odnosom rastojanja na kojima se nalaze mesta uzimanja uzoraka SP1 i SP2. Ovaj linearan odnos je očekivan, jer je reakcija dobijanja GOS u inicijalnoj fazi, gde važi približno linearna zavisnost. Kao što se na slici može videti, koncentracija GOS se ustaljuje oko 400 s, za uzorkovanje na SP1, a na izlazu na oko 700 – 800 s, što je približno jednako 2 SVZ čestica. Ovi rezultati sa dinamičkim eksperimentima, su značajni za projektovanje ROT, sistema doziranja, upravljanja i puštanja reaktora u rad.



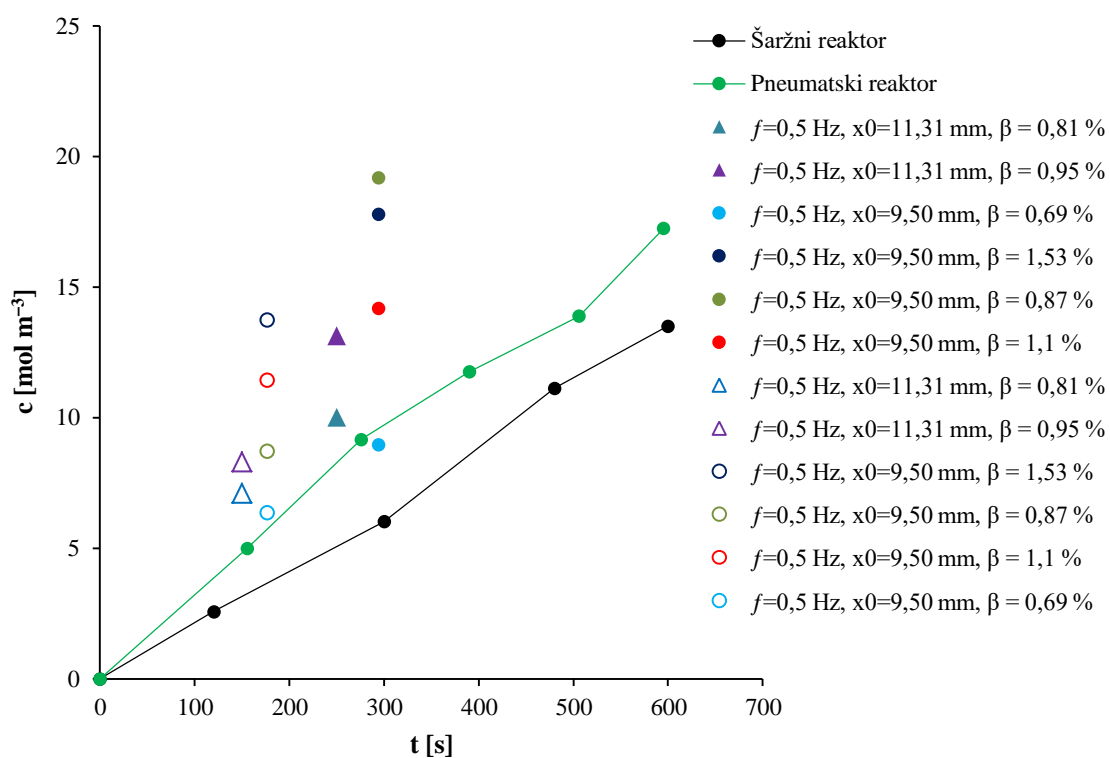
Slika 4.4.8. Koncentracija GOS na ~60 % od ukupne dužine reaktora (SP1 – plava) i na izlazu iz reaktora (SP2 – crvena) pri operativnim uslovima: $f=0,5$ Hz, $x_0=9,50$ mm i $\beta=1,53$ %

Više o eksperimentima sa imobilisanim enzimima u ROT može se videti u Master radu T. Petrović [135].

Poređenje produktivnosti reaktora sa oscilatornim tokom sa šaržnim reaktorom i šaržnim pneumatskim reaktorom sa spoljašnjom recirkulacijom

Na slici 4.4.9 su prikazane koncentracije galakto – oligosaharida u stacionarnom stanju na oko 60 % od ukupne dužine reaktora (SP1) i na izlazu iz reaktora sa oscilatornim tokom (SP2). Koncentracije GOS u (približno) stacionarnom stanju su određene kao srednja vrednost poslednje 4 eksperimentalne vrednosti u vremenu. Koncentracije GOS postignute u ROT su upoređene sa vrednostima koncentracije iz šaržnog reaktora u kojem je udeo čestica $\beta=0,75$ % i rezultatima iz šaržnog pneumatskog reaktora sa spoljašnjom recirkulacijom (*eng. airlift reactor*), sa udelom

čestica od $\beta = 0,8 \%$ (slika 4.4.9). Veće razlike u koncentraciji proizvoda pri istim operativnim uslovima posledica su razlike u količini čestica prisutnoj u reaktoru, koja je srazmerna količini enzima koja učestvuje u reakciji. Ovo se jasno vidi za eksperiment u kome je $\beta = 1,53 \%$, što je najveća vrednost (tamno plavi krug na slici 4.4.9), a gde je prinos GOS najveći (ukoliko se eksperiment sa $\beta = 0,87 \%$ ne uzme u obzir). Ono što je značajno je da su koncentracije proizvoda iz reaktora sa oscilatornim tokom veće od koncentracija iz šaržnog reaktora, pri približno istoj koncentraciji čestica, odnosno enzima u reaktoru, i za isto reakciono vreme. Koncentracija GOS koja se postigne u ROT pri približno istom udelu čestica (koncentraciji enzima) za isto reakciono vreme je približna vrednostima koncentracije GOS koja se postigne u šaržnom pneumatskom reaktoru sa spoljašnjom recirkulacijom, što je upoređeno na narednoj slici.

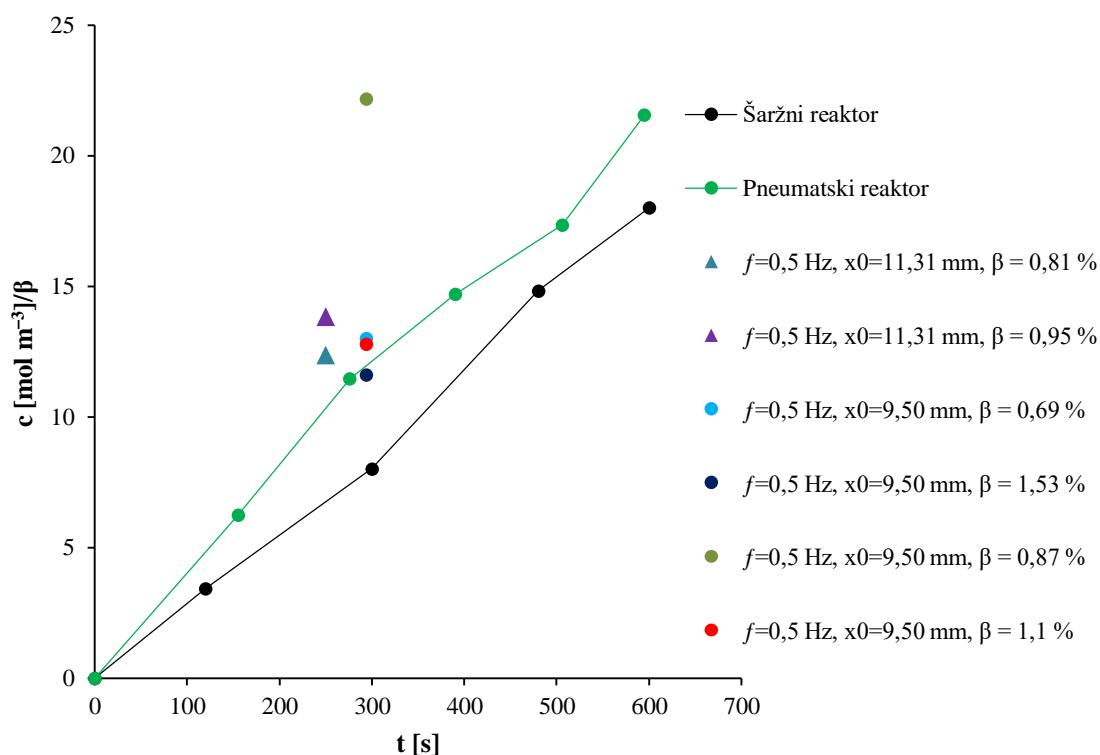


Slika 4.4.9. Poređenje koncentracije GOS postignute u ROT sa koncentracijama u šaržnom reaktoru i šaržnom pneumatskom reaktoru sa spoljašnjom recirkulacijom

Promene koncentracije GOS u reakcionom vremenu po zapreminskom udelu čestica u stacionarnom stanju mogu se videti na slici 4.4.10. Na osnovu zavisnosti koja je prikazana na ovoj slici se može sa većom sigurnošću zaključiti da više proizvoda nastaje u reaktoru sa oscilatornim tokom nego u šaržnom reaktoru, a da je koncentracija GOS u ROT i u šaržnom pneumatskom reaktoru približno jednakih vrednosti, za isto reakciono vreme. Na slici se takođe uočava da veća količina čestica, tj. enzima ne daju optimalnu proizvodnost (i ekonomski gledajući), jer se po jedinici mase čestica dobija veći prinos za udele manje od 1 %. Ovo se jasno uočava na slici 4.4.10 za tamno plavi kružić ($\beta = 1,53 \%$), koji sada daje najmanju vrednost koncentracije GOS po udelu čestica, nasuprot slici 4.4.9, gde su za ovaj eksperiment apsolutne koncentracije najviše. Ovo potvrđuje da je u ROT moguće dobiti zadovoljavajući prinos GOS, sa manjom koncentracijom imobilisanih čestica, u opsegu 0,8 do 1 %.

Prikazani rezultati ukazuju na to da se reakcija sinteze GOS može intenzifikovati u ROT u odnosu na šaržni reaktor. Veća koncentracija GOS je posledica efektivnijeg mešanja u ROT nego u šaržnom reaktoru, kao i nižih vrednosti smicajnih napona, što može da pogoduje odvijanju ove heterogeno katalizovane enzimske reakcije. U svakom slučaju, za preciznije zaključke o povećanom prinosu u ROT, neophodno je izvesti eksperimente sa većim vremenom zadržavanja u ROT (duži reaktor) i uporediti sa šaržnim reaktorom, za taj deo reakcije.

Poznato je da se u pneumatskim reaktorima ostvaruje veoma intenzivno mešanje uz niske vrednosti smicajnih napona i da su ovi reaktori zbog toga veoma pogodni za biohemijske reakcije koje uključuju enzime. Kako je prinos GOS u ROT, za istu količinu enzima, i u pneumatskom reaktoru približno jednak, može se sa većom sigurnošću tvrditi da se reakcija sinteze GOS može uspešno intenzifikovati primenom ROT.

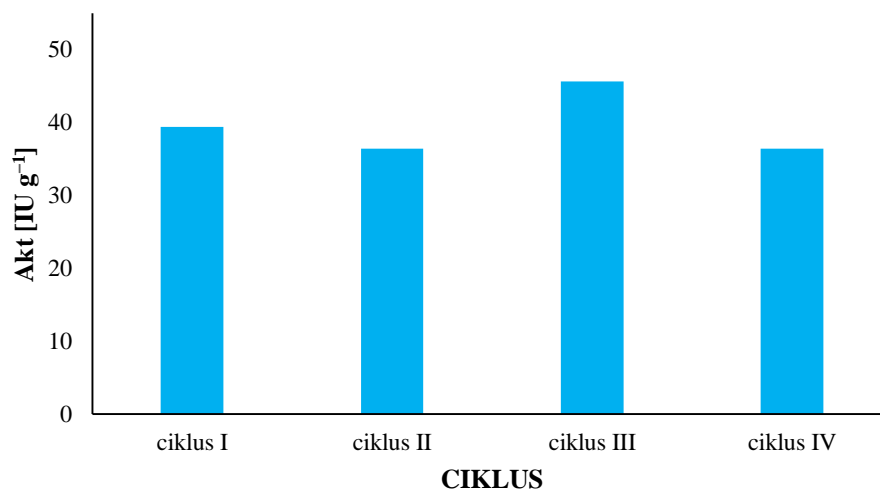


Slika 4.4.10. Poređenje koncentracije GOS na izlazu iz ROT sa koncentracijama u šaržnom i šaržnom pneumatskom reaktoru sa spoljašnjom recirkulacijom datim po zapreminskom udelu čestica

Aktivnost Enzima

Pre početka prvog eksperimenata sa imobilisanim enzimima, izmerena je aktivnost enzima od približno 51 IU (suspenzija čestica u sudu FT2). Nakon prvog eksperimenata/ciklusa, aktivnost enzima je pala na vrednost od oko 41 IU. Sa daljim/ponovnim korišćenjem enzima nije uočen značajan pad aktivnosti enzima. Približne vrednosti aktivnosti (oko 40 IU) merene su u uzorcima čestica i iz suspenzije u sudu FT2 i čestica sakupljenih iz reaktora. Kako ne dolazi do pada aktivnosti, može se zaključiti da se u ROT ostvaruje pogodno mikrokruženje s niskim vrednostima smicajnih napona. Mogući razlog prvog pada aktivnosti je brzo desorbovanje enzima imobilisanih slabijim međumolekulskim interakcijama. Na slici se može uočiti da u

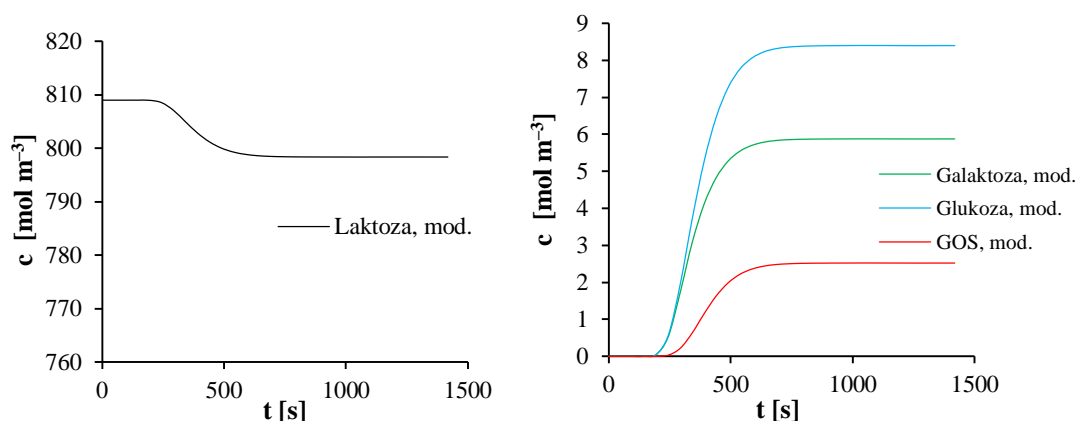
ciklusu III dolazi do blagog povećanja aktivnosti što je posledica eksperimentalne greške – greška prilikom određivanja aktivnosti.



Slika 4.4.11. Aktivnost enzima u eksperimentima pri: $f=0,5$ Hz i $x_0=11,31$ mm

Dinamička simulacija sistema sa imobilisanim enzimima

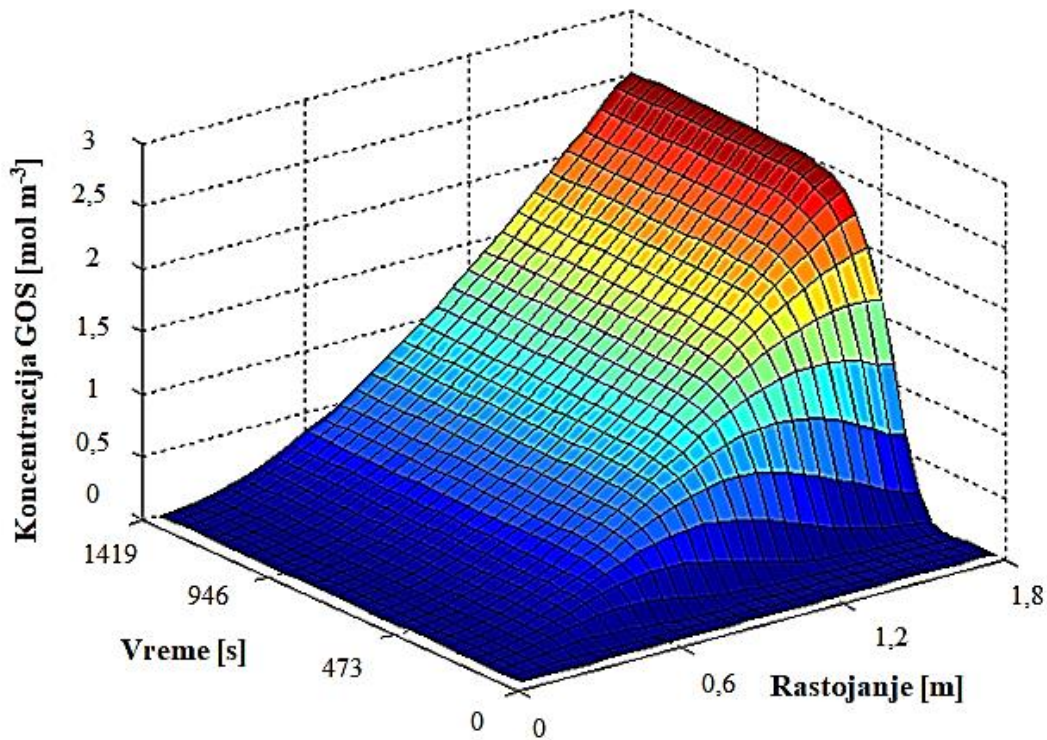
Na slici 4.4.12. je prikazana promena koncentracije laktoze i proizvoda reakcije sa vremenom, a koju predviđa predloženi dinamički model reaktora sa oscilatornim tokom fluida.



Slika 4.4.12. Promena koncentracije učesnika reakcije sa vremenom – rezultat simulacije dinamičkog modela

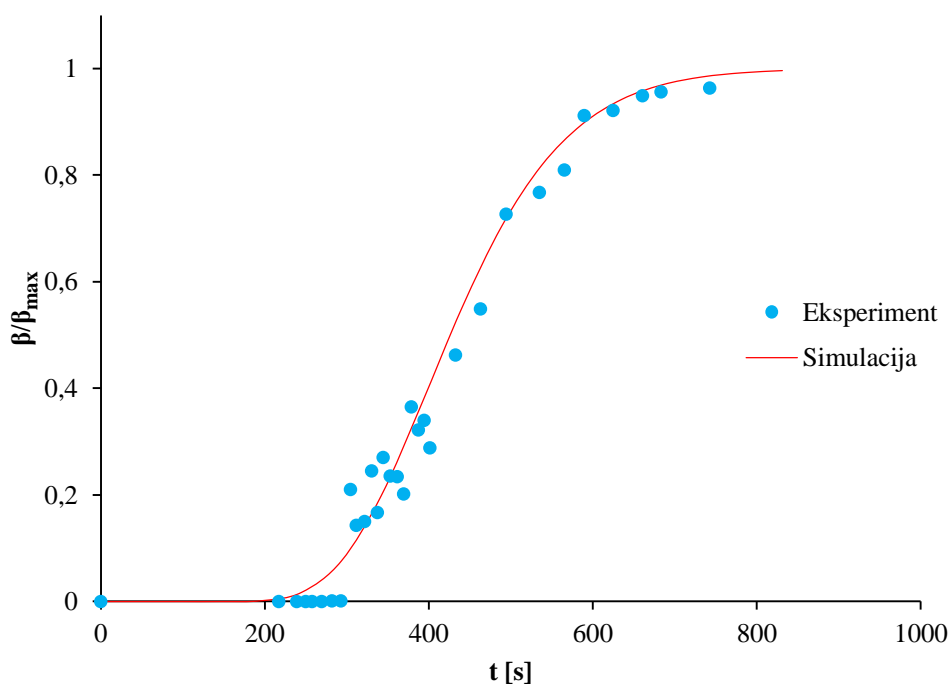
Na slici pod a) se može videti da predloženi model predviđa veoma malu konverziju laktoze u toku vremena i da veliki deo nepromenjene laktoze napušta reaktor. Koncentracija laktoze kao i koncentracija proizvoda dostiže stacionarnu vrednost nakon vremena od oko 800 s, što odgovara ~ 2 SVZ čestica, što je u skladu sa eksperimentalnim vrednostima (podpoglavlje 4.4.2.1). Na slici se vidi i da u reakciji najviše nastaje glukoze zatim galaktoze, a najmanje GOS, što nije u potpunosti u skladu sa eksperimentima (slika 4.4.5). U eksperimentima, kao i po modelu najviše nastaje glukoze, ali je prinos galaktoze sličan kao prinos GOS, dok je u modelu prinos galaktoze veći. Ovo neslaganje sa eksperimentalnim trendom može biti posledica primene neadekvatnih vrednosti kinetičkih parametara.

Na slici 4.4.13 može se videti prostorno – vremenska promena koncentracije GOS u reaktoru sa oscilatornim tokom fluida na kojem se jasno može videti kako koncentracija GOS raste sa vremenom duž reaktora.



Slika 4.4.13. Trodimenzionalni prikaz promene koncentracije galakto – oligosaharida u ROT

Na slici 4.4.14. je prikazano slaganje simulacije dinamičkog modela za promenu udela čestica u ROT sa vremenom sa eksperimentalnim vrednostima. Kao što se na slici može videti, slaganje modela sa eksperimentom je veoma dobro. Kriva promene udela čestica u ROT sa vremenom dobijena simulacijom prati trend eksperimentalnih vrednosti. Rezultati simulacije dinamičkog modela ROT pokazuju da sa vremenom udeo čestica u reaktoru raste sve do uspostavljanja stacionarnog stanja, na oko 800 s što odgovara ~ 2 SVZ čestica, što je u skladu sa eksperimentom.

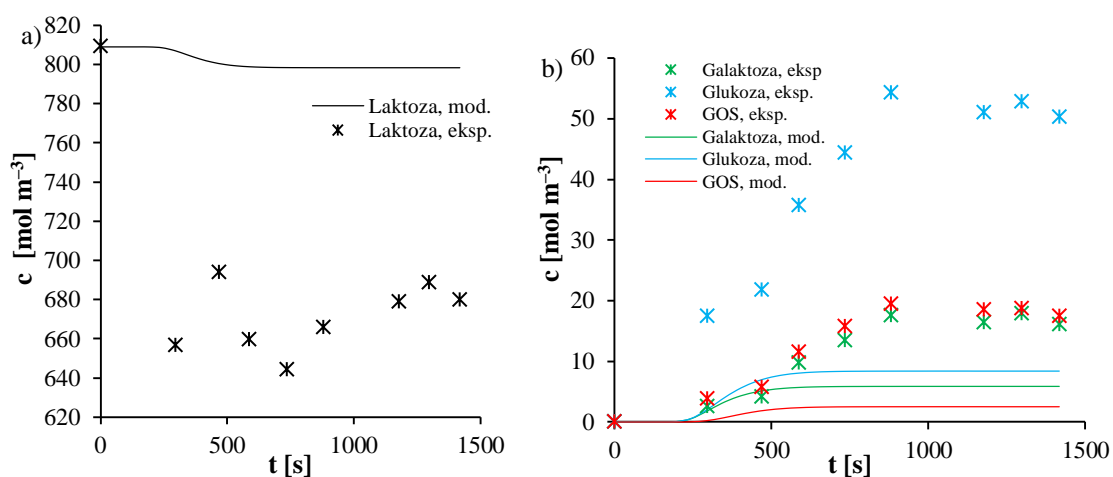


Slika 4.4.14. Udeo čvrste faze u zavisnosti od vremena na izlazu iz ROT

Na slici 4.4.15. je prikazano slaganje rezultata dinamičkog modela sa eksperimentalnim vrednostima. Kada se uporede krive promene koncentracija reaktanta i proizvoda reakcije uočava se da krive dobijene simulacijom i eksperimentalne krive imaju sličan trend porasta koncentracije sa vremenom, s tim da se simulacijom dobija manja koncentracija GOS u odnosu na galaktozu, za razliku od eksperimenta gde ove dve komponente imaju približno iste vrednosti (za posmatrani eksperiment). Koncentracija laktoze na izlazu iz reaktora u odnosu na eksperiment je značajno veća, tj. konverzija je niža po modelu. Budući da je konverzija laktoze niža (dobijeno simulacijom), posledično je da je koncentracija proizvoda na izlazu iz reaktora niža u odnosu na koncentraciju proizvoda ostvarenu u eksperimentu.

Razlog ovog odstupanja simulacije od eksperimenta, odnosno lošeg slaganja modela sa eksperimentima može biti:

1. Kinetika reakcije korišćena u ROT je određena na osnovu jednog eksperimenta izvedenog u šaržnom reaktoru gde se ne ostvaruje isto mešanje i kontakt između faza.
2. Kinetički parametri koji figurišu u modelu dobijeni su iz eksperimentalnih vrednosti jednog eksperimenta sa relativno malim brojem tačaka. Kinetički model sadrži veliki broj parametara (7 konstanti brzine reakcija), što statistički zahteva veći broj eksperimentalnih tačaka, te je upitna pouzdanost kinetičkog modela (možda nije jedinstveno rešenje optimizacije).



Slika 4.4.15. Slaganje modela sa eksperimentalnim vrednostima

U svakom slučaju, razvijeni dinamički model za dvofazni ROT predstavlja dobru osnovu za dalju analizu i unapredjenje modela, a u cilju predviđanja dinamičkog ponašanja, što je značajno za projektovanje, upravljanje i puštanje reaktora u rad.

4.5 ZAKLJUČCI

Na osnovu rezultata eksperimenata izvedenih u okviru ovog istraživanja utvrđeno je da se reakcija transgalaktozilacije može uspešno izvoditi u kontinualnom reaktoru sa oscilatornim tokom fluida. Usled povoljnog mikrookruženja (intenzivno mešanje i niske vrednosti smicajnih napona) koje vlada u ROT, u kratkom reakcionom vremenu, postiže se veći stepen konverzije u odnosu na stepen konverzije reakcije koja se izvodi u konvencionalnom šaržnom reaktoru, kako u slučaju primene enzima u slobodnom obliku tako i u slučaju primene imobilisanih enzima. Međutim, za pouzdaniju tvrdnju o povećanom prinosu u ROT, neophodno je izvesti eksperimente sa većim vremenom zadržavanja u ROT i uporediti sa šaržnim, za duža vremena reakcije. Pokazano je da je u ROT ekonomski "optimalna" mala količina imobilisanih čestica, ispod 1 %, koja daje zadovoljavajuće prinose GOS (za dato vreme zadržavanja).

Stepen konverzije u reakciji sa imobilisanim enzimima u ROT je približno jednak kao i u šaržnom pneumatskom reaktoru sa spoljašnjom recirkulacijom. Kao što je poznato, pneumatski reaktori predstavljaju jedan od primera sistema u kojima se ostvaruje značajna intenzifikacija biohemijskih procesa zbog intenzivnog mešanja i malih smicajnih napona. Eksperimentalni rezultati koji govore da je stepen konverzije reakcije u ROT i u pneumatskom reaktoru približno isti, indirektno navode na zaključak da se primenom ROT biohemijska reakcija transgalaktozilacije može kontinualno izvoditi sa visokim prinosom.

Pored toga, eksperimentalno je pokazano da ne dolazi do smanjenja aktivnosti imobilisanih enzima u ROT i da se oni mogu koristiti u više uzastopnih ciklusa što je posledica dobre stabilnosti imobilisanih enzima i pogodnog mikrookruženja sa niskim vrednostima smicajnih napona.

Pored eksperimenata koji su imali za cilj ispitivanje mogućnosti primene ROT u sintezi galaktooligosaharida, u ovom delu disertacije određeni su kinetički parametri – konstante brzine reakcija i sa slobodnim i sa imobilisanim enzimima – na osnovu eksperimenata izvedenih u šaržnom reaktoru. Za kinetički model sa slobodnim enzimima, odstupanje modela od eksperimentalnih vrednosti je veće u slučajevima nižih početnih koncentracija laktoze (estimacija parametara za eksperimente sa slobodnim enzimima pri početnoj koncentraciji laktoze od 4,5 do 40 % mas.). Manje odstupanje se,

logično, javlja kada se za određivanje kinetičkih parametra koriste samo eksperimenti sa niskim vrednostima početnih koncentracija laktoze (4,5 i 7 %). Slaganje modela sa eksperimentom u slučaju reakcije sa imobilisanim enzimima je veoma dobro, ali je u ovom slučaju izveden samo jedan eksperiment, sa početnom koncentracijom laktoze od 20 %.

U radu su razvijeni matematički modeli kojima se može opisati dinamičko ponašanje ROT. Model za reakciju sinteze GOS u ROT sa slobodnim enzimima pokazuje dobro slaganje sa eksperimentalnim rezultatima kada se u model uvrste konstante brzine reakcije određene za niske vrednosti početne koncentracije laktoze. Lošije slaganje sa eksperimentima je uočeno kada u simulaciji dinamičkog modela učestvuju konstante određene na osnovu svih 5 eksperimenata (do 50 % za GOS i 40 % za glukozu), što je i očekivano.

Dinamički model sistema sa imobilisanim enzimima je pokazao loše slaganje sa eksperimentalnim vrednostima dobijenim u ROT, bez obzira što je slaganje kinetičkog modela sa eksperimentom u šaržnom reaktoru bilo veoma dobro. Pošto model daje dobro slaganje sa eksperimentalnim rezultatima za kretanje i tečnosti i čestica u ROT, ovo neslaganje je najverovatnije posledica neadekvatnih (nepouzdanih) kinetičkih parametara koji figurišu u modelu. Kinetički parametri su određeni na osnovu jednog eksperimenta sa malim brojem tačaka, i to izvedenog u šaržnom reaktoru. Dinamički modeli se mogu unaprediti pomoću novih vrednosti kinetičkih parametara dobijenih u više eksperimenata, poželjno izvedenih u kontinualnom sistemu sa sličnim karakteristikama kao ROT. Nakon verifikacije, dinamički modeli mogu poslužiti za projektovanje ROT za sintezu GOS, kao i njegovog sistema upravljanja i strategije za puštanje sistema u rad.

SPISAK UPOTREBLJENIH OZNAKA

GOS – galakto – oligosaharidi

E – enzim

Lac – laktoza

ELac – kompleks enzim – laktoza

Gal – galaktoza

Glc – glukoza

EGal – kompleks enzim – galaktoza

r – brzina reakcije

k – konstanta brzine reakcije

n – broj eksperimentalnih tačaka

SVZ – srednje vreme zadržavanja (s)

Re_n – Rejnoldsov broj

Re_o – Oscilatorni Rejnoldsov broj

Str – Strauhalov broj

Pe_l – Pekleov broj za tečnu fazu

Pe_s – Pekleov broj za čvrstu fazu

L – dužina reaktora (m)

A – površina poprečnog preseka reaktora (m^2)

Q – ukupni protok ($L h^{-1}$)

Q_s – protok sekundarnog toka, protok peristaltičke pumpe ($L h^{-1}$)

Q_o – protok oscilatornog toka, protok membranske pumpe ($L h^{-1}$)

F – kumulativna kriva raspodele vremena zadržavanja

V_s – zapremina čestica u zapremini reaktora (m^3)

V_R – zapremina reaktora (m^3)

m_s – ukupna masa čestica u reaktoru (mg)

x_0 – amplituda (mm)

u_l – površinska brzina strujanja tečnosti (m s^{-1})

u_s – površinska brzina strujanja čestica (m s^{-1})

c – koncentracija (mol m^{-3})

t – vreme (s)

D_l – koeficijent aksijalne disperzije tečnosti ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$)

D_s – koeficijent aksijalne disperzije čestica ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$)

\bar{t} – srednje vreme zadržavanja (s)

Grčki simboli

δ – srednja relativna greška (%)

β – zapreminski udeo čestica u reaktoru (v/v)

$(1-\beta)$ – zapreminski udeo tečnosti u reaktoru

ρ_s – gustina čestica (kg m^{-3})

ω – zapreminska koncentracija čestica u ulaznoj suspenziji (% v/v)

f – frekvencija (Hz)

ψ – odnos brzina oscilatornog i neto protoka

θ – bezdimenziono vreme

ZAKLJUČCI

ZAKLJUČCI

A) ZAKLJUČCI TEZE

Na osnovu istraživanja sprovedenog u okviru ove doktorske disertacije i zaključaka koji su izvedeni u poglavljima teze, mogu se izvesti sledeći glavni zaključci:

1. Strujanje tečnosti i čestica u reaktoru sa oscilatornim tokom fluida (ROT) je približno klipnom strujanju, ali sa izvesnim odstupanjem. Veće odstupanje od klipnog strujanja javlja se u slučaju strujanja čestica. Aksijalna disperzija tečnosti i čestica je izraženija pri manjim protocima tečnosti.
2. Operativni uslovi oscilatornog toka fluida imaju značajan uticaj na aksijalnu disperziju kako tečnosti, tako i čestica. Sa povećanjem vrednosti frekvencije i/ili amplitude aksijalna disperzija opada. Uočeno je da amplituda ima dominantniji uticaj na aksijalnu disperziju od frekvencije.
3. Kada se u reaktor uvodi sekundarni, neoscilatorni tok, ovaj tok tečnosti utiče na smanjenje aksijalne disperzije, ali samo u slučaju kada je protok oscilatornog toka veći od protoka sekundarnog toka.
4. Primenom razvijene korelacije za izračunavanje Pekleovog broja uspešno se može predvideti koeficijent aksijalne disperzije, odnosno odstupanje strujanja tečnosti od idealnog klipnog strujanja na osnovu izabраних operativnih uslova.
5. U višefaznom sistemu tečnost – čestice, količina čestica koja se uvodi u reaktor ima značajan uticaj na kretanje čestica kroz reaktor. Sa povećanjem količine čestica na ulazu u reaktor smanjuje se vreme zadržavanja čestica u reaktoru usled njihovog stešnjenog kretanja. Sa druge strane, količina čestica ne utiče na koeficijent aksijalne disperzije čestica.
6. Kretanje čestica kroz reaktor sa oscilatornim tokom fluida može se uspešno opisati modelom klipnog strujanja sa aksijalnom disperzijom.
7. Oscilatorna brzina tečnosti mora biti veća od brzine taloženja čestica kako bi se čestice kretale kroz reaktor.
8. Identifikovana su četiri režima strujanja čestica u zavisnosti od operativnih uslova: puzajući režim strujanja, zgušnjeno strujanje, razblaženi tok čestica i odnošenje čestica.

9. Prinos reakcije sinteze GOS pomoću slobodnih i imobilisanih enzima je veći u odnosu na prinos ove reakcije u šaržnom reaktoru usled veoma dobrog mešanja i niskih vrednosti smicajnih napona u reaktoru sa oscilatornim tokom fluida. U odnosu na šaržni pneumatski reaktor sa spoljašnjom recirkulacijom, prinos reakcije u ROT je približno isti. Na osnovu prikazanih rezultata se zaključuje da se reakcija sinteze GOS može intenzifikovati primenom kontinualnog reaktora sa oscilatornim tokom fluida. Za precizniji zaključak i kvantifikaciju povećanja prinosa potrebno je izvesti više eksperimenata, za duža vremena zadržavanja tečnosti (i čestica).
10. Mehanizam reakcija sinteze GOS je složen. Predloženi mehanizam reakcije se bazira na sedećem: a) javljaju se dva međuproizvoda: enzim – laktoza i enzim – galaktoza, b) tri – i tetra – galaktooligosaharidi predstavljaju jedinstvenu formu – GOS i c) mehanizam reakcije ne uključuje inhibiciju proizvodom. Kinetički parametri – konstante brzine reakcija se razlikuju za reakciju sa slobodnim i imobilisanim enzimima. Parametri su za reakcije sa slobodnim enzimima određeni na osnovu 5 eksperimenata sa različitim početnim koncentracijama laktoze (4,5 – 40 %), a za reakciju sa imobilisanim enzimima na osnovu jednog eksperimenta sa inicijalnom koncentracijom laktoze od 20 % mas. Slaganje modela sa eksperimentima je dobro.
11. Sistem ROT u kojem se odvija reakcija sinteze GOS katalizovana slobodnim enzimima se može vrlo dobro opisati predloženim matematičkim modelom koji se zasniva na modelu klipnog strujanja sa aksijalnom disperzijom i kinetičkom modelu. Model uključuje korelaciju za određivanje koeficijenta aksijalne disperzije (Pe) određenu u okviru ove disertacije i kinetičke parametre čije određivanje je takođe bilo sastavni deo disertacije.
12. Razvijeni matematički model sistema ROT u kojem se odvija reakcija sinteze GOS pomoću imobilisanih enzima se ne slaže dobro sa eksperimentalnim vrednostima, što može biti posledica korišćenja neadekvatnih kinetičkih parametara. Naime, kinetički parametri za reakciju sinteze GOS su određeni na osnovu jednog eksperimenta izvedenog u šaržnom reaktoru gde su prisutni drugačiji hidrodinamički uslovi. Pored toga, moguće je da određeni kinetički

parametri ne predstavljaju jedinstveno rešenje pretpostavljenog kinetičkog modela, zbog velikog broja parametara dobijenih na osnovu malog broja eksperimentalnih tačaka

B) PRAKTIČNE SMERNICE

Na osnovu rezultata prikazanih u ovoj tezi i rezultata istraživanja drugih autora prikazanih u literaturi mogu se dati praktične preporuke i opšte smernice za podešavanje radnih uslova u cilju postizanja što poželjnijeg kretanja tečnosti i čestica kroz reaktor sa oscilatornim tokom fluida.

1. Sve reakcije/procesi u reaktorima sa oscilatornim tokom fluida koji se generiše membranskom pumpom treba voditi pri frekvenciji $\geq 0,5$ Hz kako bi se obezbedilo dobro mešanje i približno klipno strujanje.
2. Za sisteme tečno – tečno npr. reakcija koja uključuje dva reaktanta u tečnoj fazi, reaktant koji se dozira u većim količinama, u reaktor treba uvoditi pomoću membranske pumpe (izvor oscilacija), a reaktant koji se dozira u manjim količinama se u reaktor može uvoditi pomoću peristaltičke pumpe ili nekom drugom vrstom pumpe koja obezbeđuje kontinualni tok (npr. centrifugalna pumpa).
3. Kada je potrebno obezbediti što duže reakciono vreme u sistemu tečno – tečno i kada je količina reaktanta koji učestvuju u reakciji približno ista, preporuka je da se reaktanti uvode pomoću membranskih pumpi, sa usaglašenim oscilacijama. Naime, veće reakciono vreme je moguće ostvariti pri manjim protocima membranske pumpe. Veći protok peristaltičke pumpe kojom bi se uvodio drugi reaktant bi prigušio oscilatorni tok membranske pumpe, pa se u reaktoru ne bi ostvarilo približno klipno, već laminarno strujanje.
4. U višefaznim sistemima čestice – tečnost u kojima je potrebno da čestice ostanu što duže u reaktoru npr. adsorpcija, ili reakcije koje uključuju čvrst katalizator, potrebno je da se tečnost uvodi pri nižim amplitudama kako bi se čestice sporije kretale kroz reaktor. Frekvencija pak, treba da bude veća od 0,5 Hz, kako ne bi došlo do značajnog taloženja čestica.

5. Kada je u sistemu čestice – tečnost potrebno da se čestice brzo kreću kroz reaktor, npr. reakcije u kojima nastaje čvrst proizvod koji je potrebno brzo uklanjati iz sistema, vrednosti frekvencije i amplitude bi trebalo da budu više kako bi čestice bile odnošene tokom tečnosti.
6. Reakcije polimerizacije koje za cilj imaju nastajanje čestica, operativni uslovi bi trebali da budu takvi da se zadovolji potrebno reakciono vreme, a da mešanje bude što intenzivnije, kako bi se dobila što uniformnija raspodela veličine nastalih čestica. Isto važi i za kristalizaciju.

C) PREDLOG UNAPREĐENJA POSTOJEĆE APARATURE

Aparatura korišćena u ovoj disertaciji mogla bi da se unapredi na taj način što bi se umesto membranske pumpe koristio injektor kao izvor oscilatornog kretanja tečnosti. Primena injektora bi omogućila da se fluid uvodi u reaktor pri većim vrednostima frekvencije. Budući da injektori ne sadrže membranu, aparatura bi mogla da ima širu primenu, npr. reakcije koje se odvijaju pri višoj temperaturi. Injektorom bi mogla da se uvodi i suspenzija čestica, pri čemu bi udeo čestica u suspenziji bio ograničen, odnosno udeo čestica u suspenziji treba da bude takav da ne dođe do zagušenja u injektoru.

LITERATURA

- [1] D. Slavnić, B. Bugarski, N. Nikačević, Hemijski reaktori sa oscilirajućim tokom fluida, *Hem. Ind.*, 68 (3): 363 – 379 (2014).
- [2] N. Nikačević, A. Huesman, P. Van den Hof, A. Stankiewicz, Opportunities and challenges for process control in process intensification, *Chem. Eng. Process.: Process Intensif.*, 52: 1 – 15 (2012).
- [3] M. Dudukovic, *Frontiers in reactor engineering*, Science, 325: 698 – 701 (2009).
- [4] X. Ni, N. Pereira, Parameters affecting fluid dispersion in a continuous oscillatory baffled tube, *AIChE J.*, 46 (1): 37 – 45 (2000).
- [5] X. Ni, M. Mackley, A. Harvey, P. Stonestreet, M. Baird, N. Rama Rao, Mixing through oscillations and pulsations – a guide to achieving process enhancements in the chemical and process industries, *Chem. Eng. Res. Des.*, 81 (A): 373 – 383 (2003).
- [6] M. Zheng, M. Mackley, The axial dispersion performance of an oscillatory flow meso – reactor with relevance to continuous flow operation, *Chem. Eng. Sci.*, 63: 1788 – 1799 (2008).
- [7] A. Hamzah, N. Hasan, M. Takriff, S. Kamarudin, J. Abdullah, I. Tan, W. Sern, Effect of oscillation amplitude on velocity distributions in an oscillatory baffled column (OBC), *Chem. Eng. Res. Des.*, 90 (8): 1038 – 1044 (2012).
- [8] X. Ni, H. Jian, A. Fitch, Evaluation of turbulent integral length scale in an oscillatory baffled column using large eddy simulation and digital particle image velocimetry, *Chem. Eng. Res. Des.*, 81 (8): 842 – 853 (2003).
- [9] K. Smith, *The Scale – Up of Oscillatory Flow Mixing*, PhD thesis, Christ's College Cambridge, UK (1999).
- [10] G. Vilar, R. Williams, M. Wang, R. Tweedie, On line analysis of structure of dispersions in an oscillatory baffled reactor using electrical impedance tomography, *Chem. Eng. J.*, 141: 58 – 66 (2008).

- [11] European roadmap of process intensification, Creative Energie – Energie Transitie, http://www.agentschapnl.nl/sites/default/files/bijlagen/4.1.1_tr_oscillatory_baffled_reactors.pdf, (2007).
- [12] K. Smith, M. Mackley, An experimental investigation into the scale – up of oscillatory flow mixing in baffled tubes, *Chem. Eng. Res. Des.*, 84 (11): 1001 – 1011 (2006).
- [13] C. Brunold, J. Hunns, M. Mackley, J. Thompson, Experimental – observations on flow patterns and energy – losses for oscillatory flow in ducts containing sharp edges, *Chem. Eng. Sci.*, 44 (5): 1227 - 1244 (1989).
- [14] T. Howes, On the dispersion of unsteady flow in baffled tubes, PhD Thesis, University of Cambridge, UK (1988).
- [15] M. Abbott, A. Harvey, G. Valente Perez, M. Theodorou, Biological processing in oscillatory baffled reactors: operation, advantages and potential, *Interface Focus* 3 (1): 1–13 (2013).
- [16] M. Mackley, X. Ni, Mixing and dispersion in a baffled tube for steady laminar and pulsatile flow, *Chem. Eng. Sci.*, 46 (12): 3139 – 3151 (1991).
- [17] P. Stonestreet, P. Harvey, A mixing – based design methodology for continuous oscillatory flow reactors, *Chem. Eng. Res. Des.*, 80 (1): 31 – 44 (2002).
- [18] H. Gaidhani, B. McNeil, X. Ni, Fermentation of pullulan using an oscillatory baffled fermenter, *Chem. Eng. Res. Des.* 83 (6): 640 – 645 (2005).
- [19] S. Harrison, M. Mackley, A pulsatile flow bioreactor, *Chem. Eng. Sci.*, 47 (2): 490 – 493 (1992).
- [20] X. Ni, J. Cosgrove, A. Arnott, C. Greated, R. Cumming, On the measurement of strain rate in an oscillatory baffled column using particle image velocimetry, *Chem. Eng. Sci.*, 55 (16): 3195 – 3208 (2000).
- [21] S. Mongeon, D. Roberge, M. Bittel, P. Elsner, A. Macchi, Liquid – liquid mass transfer in an oscillatory – flow mesoscale coil reactor without baffles, *Org. Process Res. Dev.*, 20 (4): 733 – 741 (2016).

- [22] X. Ni, S. Gao, R. Cumming, D. Pritchard, A comparative study of mass transfer in yeast for a batch pulsed baffled bioreactor and a stirred tank fermenter, *Chem. Eng. Sci.*, 50 (13): 2127 – 2136 (**1995**).
- [23] M. Mackley, P. Stonestreet, Heat transfer and associated energy dissipation for oscillatory flow in baffled tubes, *Chem. Eng. Sci.*, 50 (14): 2211 – 2224 (**1995**).
- [24] C. Lee, M. Mackley, P. Stonestreet, A. Middelberg, Protein refolding in an oscillatory flow reactor, *Biotechnol. Lett.*, 23 (22): 1899 – 1901 (**2001**).
- [25] A. Harvey, M. Mackley, P. Stonestreet, Operation and optimization of an oscillatory flow continuous reactor, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 40: 5371 – 5377 (**2001**).
- [26] A. Vicente, Oscillatory reactors for biotechnological applications, 32nd International Conference of SSCHE, Tatranské Matliare, Slovakia (**2005**).
- [27] N. Reis, P. Mena, A. Vicente, J. Teixeira, F. Rocha, The intensification of gas – liquid flows with a periodic, constricted oscillatory meso tube, *Chem. Eng. Sci.*, 62: 7454 – 7462 (**2007**).
- [28] A. Ghaci, M. Resul, R. Yunus, T. Yaw, Preliminary design of oscillatory flow biodiesel reactor for continuous biodiesel production from jatropha triglycerides, *J. Eng. Sci. Technol.*, 3 (2): 138–145 (**2008**).
- [29] N. Reis, Novel oscillatory flow reactors for biotechnological applications, PhD dissertation, Universidade do Minho, Portugal (**2006**).
- [30] X. Ni, P. Gough, On the discussion of the dimensionless groups governing oscillatory flow in a baffled tube, *Chem. Eng. Sci.*, 52 (18): 3209 – 3212 (**1997**).
- [31] X. Ni, S. Gao, D. Pritchard, Study of mass – transfer in yeast in a pulsed baffled bioreactor, *Biotechnol. Bioeng.*, 45 (2): 165 – 175 (**1995**).
- [32] X. Ni, H. Jian, A.W. Fitch, Computational fluid dynamic modelling of flow patterns in an oscillatory baffled column, *Chem. Eng. Sci.*, 57 (14): 2849 – 2862 (**2002**).
- [33] N. Reis, A. Harvey, M. Mackley, A. Vicente, J. Teixeira, Fluid mechanics and design aspects of a novel oscillatory flow screening mesoreactor, *Chem. Eng. Res. Des.*, 83 (4): 357 – 371 (**2005**).
-

- [34] M. Fabiyi, R. Skelton, Photocatalytic mineralisation of methylene blue using buoyant TiO₂ – coated polystyrene beads, *J. Photochem. Photobiol., A* 132 (1 – 2): 121 – 128 (2000).
- [35] R. Neves – Saraiva, The characterization of mixing for oscillatory flow within baffled tubes, PhD Thesis, University of Cambridge, UK (1998).
- [36] P. Stonestreet, P. Van Der Veecken, The effects of oscillatory flow and bulk flow components on residence time distribution in baffled tube reactors, *Chem. Eng. Res. Des.*, 77 (8): 671 – 684 (1999).
- [37] X. Ni, S. Gao, Scale – up for mass transfer coefficients in pulsed baffled reactor, *Chem. Eng. J.*, 63 (3): 157 – 166 (1996).
- [38] M. Oliveira, X. Ni, Effect of hydrodynamics on mass transfer in a gas – liquid oscillatory baffled column, *Chem. Eng. J.*, 99 (1): 59 – 68 (2004).
- [39] N. Reis, R. Pereira, A. Vicente, J. Teixeira, Enhanced gas – liquid mass transfer of an oscillatory constricted – tubular reactor, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 47: 7190 – 7201 (2008).
- [40] S. Ahmed, A. Phan, A. Harvey, Mass transfer enhancement as a function of oscillatory baffled reactor design, *Chem. Eng. Process.: Process Intensif.*, 130: 229 – 239, (2018).
- [41] A. Ferreira, P. Adesite, J. Teixeira, F. Rocha, Effect of solids on O₂ mass transfer in an oscillatory flow reactor provided with smooth periodic constrictions, *Chem. Eng. Sci.*, 170: 400 – 409 (2017).
- [42] R. Law, S. Ahmed, N. Tang, A. Phan, A. Harvey, Development of a more robust correlation for predicting heat transfer performance in oscillatory baffled reactors, *Chem. Eng. Process.: Process Intensif.*, 125: 133 – 138 (2018).
- [43] S. Ahmed, R. Law, A. Phan, A. Harvey, Thermal performance of meso – scale oscillatory baffled reactors, *Chem. Eng. Process.: Process Intensif.*, 132: 25 – 33 (2018).

-
- [44] J. Muñoz – Cámara, D. Crespi – Llorens, J. Solano, P. Vicente, Experimental analysis of flow pattern and heat transfer in circular – orifice baffled tubes, *Int. J. Heat Mass Transfer*, 147: DOI:10.1016/j.ijheatmasstransfer.2019.118914 (2020).
- [45] J. Ikwebe, A. Harvey, Fuel ethanol production from cassava (*Manihot esculenta Crantz*) in an oscillatory baffled reactor, *Biofuels*, DOI: 10.1080/17597269.2017.1370886 (2017).
- [46] J. Ikwebe, A. Harvey, Enzymatic saccharification of cellulose: a study of mixing and agitation in an oscillatory baffled reactor and a stirred tank reactor, *Biofuels*, 6 (3 – 4):203 – 208 (2015).
- [47] J. Ikwebe, A. Harvey, Kinetics of cellulose hydrolysis in an oscillatory baffled reactor, *Am. J. Biomass Bioenergy*, 5 (3): 130 – 145 (2016).
- [48] X. Ni, Y. De Gélécourt, M. Baird, N. Rama Rao, Scale – up of single phase axial dispersion coefficients in batch and continuous oscillatory baffled tubes, *Can. J. Chem. Eng.*, 79 (3): 444 – 448 (2001).
- [49] A. Kolmogorov, The local structure of turbulence in incompressible viscous fluid for very large Reynolds numbers, *Dokl. Akad. Nauk. S.S.S.R.*, 30: 301 – 305 (1941).
- [50] B. Crittenden, R. Field, M. Pervez, Oscillatory flow in packed beds and baffled tubes. A unifying approach to the interpretation of experimental data, *Chem. Eng. Sci.*, 50 (23): 3839 – 3845 (1995).
- [51] O. Levenspiel, *Chemical Reaction Engineering*, 2nd Ed., John Wiley & Sons, New York, (1972).
- [52] N. Reis, A. Vicente, J. Teixeira, Liquid backmixing in oscillatory flow through a periodically constricted meso – tube, *Chem. Eng. Process.*, 49(7): 793 – 803 (2010).
- [53] T. Howes, M. Mackley, Experimental axial dispersion for oscillatory flow through a baffled tube, *Chem. Eng. Sci.*, 45(5): 1349 – 1358 (1990).
- [54] M. Takriff, Z. Masyithah, Interstage backmixing in oscillatory flow in a baffled column, *Chem. Eng. Comm.*, 189 (12):1640 – 1652 (2002).
-

- [55] A. Dickens, M. Mackley, H. Williams, Experimental residence time distribution measurements for unsteady flow in baffled tubes, *Chem. Eng. Sci.*, 44(7); 1471 – 1479 (1989).
- [56] J. Oliva, K. Pal, A. Barton, P. Firth, Z. Nagy, Experimental investigation of the effect of scale – up on mixing efficiency in oscillatory flow baffled reactors (OFBR) using principal component based image analysis as a novel noninvasive residence time distribution measurement approach, *Chem. Eng. J.*, 351: 498 – 505 (2018).
- [57] N. Nikacevic, M. Dudukovic, Solids flow models for gas flowing solids fixed bed contactors, *Int. J. Chem. React. Eng.*, 8 art. No. A55 (2010).
- [58] N. Nikačević, M. Petkovska, M. Duduković, Solids flow pattern in gas – flowing solids – fixed bed contactors. Part II. Mathematical modeling. *Chem. Eng. Sci.*, 64 (10): 2491 – 2500 (2009).
- [59] M. Mackley, K. Smith, N. Wise, Mixing and separation of particle suspensions using oscillatory flow in baffled tubes, *Chem. Eng. Res. Des.*, 71 (A): 649 – 656 (1993).
- [60] L. Ejim, S. Yerdelen, T. McGlone, I. Onyemelukwe, B. Johnston, A. Florence, N. Reis, A factorial approach to understanding the effect of inner geometry of baffled meso – scale tubes on solids suspension and axial dispersion in continuous, oscillatory liquid – solid plug flows, *Chem. Eng. J.*, 308: 669 – 682 (2017).
- [61] R. Kacker, S. Regensburg, H. Kramer, Residence time distribution of dispersed liquid and solid phase in a continuous oscillatory flow baffled crystallizer, *Chem. Eng. J.*, 317: 413 – 423 (2017).
- [62] I. Onyemelukwe, Z. Nagy, C. Rielly, Solid – liquid axial dispersion performance of a mesoscale continuous oscillatoryflow crystalliser with smooth periodic constrictions using a noninvasive dual backlit imaging technique, *Chem. Eng. J.*, 382: DOI: 10.1016/j.cej.2019.122862, (2020).
- [63] M. Abbott, C. Brain, A. Harvey, M. Morrison, G. Valente Perez, Liquid culture of microalgae in a photobioreactor (PBR) based on oscillatory baffled reactor (OBR) technology – A feasibility study, *Chem. Eng. Sci.*, 138: 315 – 323 (2015).

- [64] C. Lee, A. Buswell, A. Middelberg, The influence of mixing on lysozyme renaturation during refolding in an oscillatory flow and a stirred – tank reactor, *Chem. Eng. Sci.*, 57 (10): 1679 – 1684 (2002).
- [65] R. Ristic, Oscillatory mixing for crystallization of high crystal perfection pharmaceuticals, *Chem. Eng. Res. Des.*, 85 (7): 937 – 944 (2007).
- [66] X. Ni, A. Liao, Effects of mixing, seeding, material of baffles and final temperature on solution crystallization of L – glutamic acid in an oscillatory baffled crystallizer, *Chem. Eng. J.*, 156 (1): 226 – 233 (2010).
- [67] H. Zheng, Z. Yan, S. Chu, J. Chen, Continuous synthesis of isobornyl acetate catalyzed by a strong acid cation exchange resin in an oscillatory flow reactor, *Chem. Eng. Process. Process Intensif.*, 134: 1 – 8 (2018).
- [68] M. Jiang, X. Ni, Reactive crystallization of paracetamol in a continuous oscillatory baffled reactor, *Org. Process Res. Dev.*, 23 (5): 882 – 890 (2019).
- [69] H. Siddique, C. Brown, I. Houson, A. Florence, Establishment of a continuous sonocrystallization process for lactose in an oscillatory baffled crystallizer, *Org. Process Res. Dev.*, 19 (12): 1871 – 1881 (2015).
- [70] H. McLachlan, X. Ni, An investigation into parameters affecting crystal purity of urea in a stirred tank and an oscillatory baffled crystallizer, *Chem. Eng. Commun.*, 203 (9): 1189 – 1197 (2016).
- [71] J. Ikwebe, A. Harvey, Intensification of bioethanol production by simultaneous saccharification and fermentation (SSF) in an oscillatory baffled reactor (OBR), *World Renewable Energy Congress, Sweden* (2011).
- [72] A. Harvey, M. Mackley, T. Seliger, Process intensification of biodiesel production using a continuous oscillatory flow reactor, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 78: 338 – 341 (2003).
- [73] V. Eze, A. Harvey, Continuous reactive coupling of glycerol and acetone – A strategy for triglyceride transesterification and in – situ valorisation of glycerol, *Chem. Eng. J.*, 347: 41 – 51 (2018).

- [74] N. Masngut, A. Harvey, Intensification of biobutanol production in batch oscillatory baffled bioreactor, *Procedia Eng.*, 42: 1079 – 1087 (2012).
- [75] X. Ni, K. Murray, Y. Zhang, D. Bennett, T. Howes, Polymer product engineering utilising oscillatory baffled reactors, *Powder Technol.*, 124: 281 – 286 (2002).
- [76] X. Ni, Y. Zhang, I. Mustafa, Correlation of polymer particle size with droplet size in suspension polymerisation of methylmethacrylate in a batch oscillatory – baffled reactor, *Chem. Eng. Sci.*, 54: 841 - 850 (1999).
- [77] A. Harvey, M. Mackley, N. Reis, J. Teixeira, A. Vicente, Fluid mixing and particle suspension in a novel microreactor, 30th Conference SSCHE, Tatranské Matliare, (2003).
- [78] B. Wilson, X. Ni, D. Sherrington, On the investigation of a phase – transfer catalysis reaction in an oscillatory baffled reactor, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 40: 5300 – 5304 (2001).
- [79] B. Wilson, X. Ni, D. Sherrington, A study of a phase transfer catalytic reaction between n – butylbromide and sodium phenolate in an oscillatory baffled reactor, *Stud. Surf. Sci. Catal.*, 133: 481 – 487 (2001).
- [80] X. Ni, J. Cosgrove, R. Cumming, C. Greated, K. Murray, P. Norman, Experimental study of flocculation of bentonite and *alcaligenes eutrophus* in a batch oscillatory baffled flocculator, *Chem. Eng. Res. Des.*, 79 (A): 33 – 40 (2001).
- [81] M. Lucas, N. Reis, G. Li Puma, Intensification of ozonation processes in a novel, compact, multi-orifice oscillatory baffled column, *Chem. Eng. J.*, 296: 335 – 339 (2016).
- [82] M. Fabiyi, R. Skelton, The application of oscillatory flow mixing to photocatalytic wet oxidation, *J. Photochem. Photobiol.*, A 129: 17 – 24 (1999).
- [83] A. Lau, B. Crittenden, R. Field, Enhancement of liquid phase adsorption column performance by means of oscillatory flow: an experimental study, *Sep. Purif. Technol.*, 35: 113 – 124 (2004).

- [84] D. Slavnić, L. Živković, A. Bjelić, B. Bugarski, N. Nikačević, Residence time distribution and Peclet number correlation for continuous oscillatory flow reactors, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 92: 2178 – 2188 (2017).
- [85] F. Castro, A. Ferreira, J. Teixeira, F. Rocha, Influence of Mixing Intensity on Lysozyme Crystallization in a Meso Oscillatory Flow Reactor, *Cryst. Growth Des.*, 18 (10): 5940-5946 (2018).
- [86] X. Ni, Y. Zhangt, I. Mustafa, An investigation of droplet size and size distribution in methylmethacrylate suspensions in a batch oscillatory – baffled reactor, *Chem. Eng. Sci.*, 53(16): 2903 – 2919 (1998).
- [87] T. Howes, M. Mackley, E. Roberts, The simulation of chaotic mixing and dispersion for periodic flows in baffled channels, *Chem. Eng. Sci.*, 46(7): 1669 – 1677 (1991).
- [88] P. Danckwerts, Continuous flow systems. Distribution of residence time, *Chem. Eng. Sci.*, 2(1): 1 – 13 (1953).
- [89] M. Mackley, X. Ni, Experimental fluid dispersion measurements in periodic baffled tube arrays, *Chem. Eng.Sci.*, 48 (18): 3293 – 3305 (1993).
- [90] J. Mecklenburgh, S. Hartland, *The Theory of Backmixing*, JohanWiley&Sons Publishers, London, (1975).
- [91] D. Slavnić, B. Bugarski, N. Nikačević, Solids flow pattern in continuous oscillatorybaffled reactor, *Chem. Eng. Process.: Process Intensif.*, 135: 108 – 119 (2019).
- [92] M. Palma, R. Giudici, Analysis of axial dispersion in an oscillatory – flow continuous reactor, *Chem. Eng. J.*, 94: 189 – 198 (2003).
- [93] X. Ni, J. Johnstone, K. Symes, B. Grey, D. Bennett, Suspension polymerization acrylamide in an oscillatory baffled reactor: from drops to particles, *AIChE J.*, 47 (8): 1746 – 1757 (2001b).
- [94] M. Oliveira, X. Ni, Gas holdup and bubble diameters in a gassed oscillatory baffled column, *Chem. Eng. Sci.*, 56 (21–22): 6143 – 6148 (2001).

- [95] E. Lobry, T. Lasuye, C. Gourdon, C. Xuereb, Liquid – liquid dispersion in a continuous oscillatory baffled reactor – Application to suspension polymerization, *Chem. Eng. J.*, 259: 505 – 518 (2015).
- [96] C. Chew, R. Ristic, R. Dennehy, J. De Yoreo, Crystallization of paracetamol under oscillatory flow mixing conditions, *Cryst. Growth Des.*, 4 (5): 1045 – 1052 (2004).
- [97] N. Cheng, Comparison of formulas for drag coefficient and settling velocity of spherical particles, *Powder Technol.*, 189: 395 – 398 (2009).
- [98] C. J. Geankoplis, Transport Processes and separation process principles, 3th ed., Prentice – Hall Inc., New Jersey (1993).
- [99] R. Perry, D. Green, J. Maloney, Perry's Chemical Engineers' Handbook, 7th ed., McGraw – Hill: New York (1997).
- [100] X. Gao, J. Wu, D. Wu, Rational design of the beta-galactosidase from *Aspergillus oryzae* to improve galactooligosaccharide production, 286: 362 – 367 (2019).
- [101] G. Tzortzis, J. Vulevic, Galacto – Oligosaccharide Prebiotics. In: Charalampopoulos D., Rastall R.A. (eds) Prebiotics and Probiotics Science and Technology, Springer, New York, NY, 207 – 244 (2009).
- [102] D. Silk, A. Davis, J. Vulevic, G. Tzortzis, G. Gibson, Clinical trial: The effects of a trans – galactooligosaccharide prebiotic on faecal microbiota and symptoms in irritable bowel syndrome, *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 29 (5): 508 – 518 (2009).
- [103] J. Vulevic, A. Juric, G. Tzortzis, G. R. Gibson, A mixture of trans – galactooligosaccharides reduces markers of metabolic syndrome and modulates the fecal microbiota and immune function of overweight adults. *J. Nutr.*, 143 (3): 324 – 331 (2013).
- [104] N. Albayrak, S. Yang, Production of galacto – oligosaccharides from lactose by *Aspergillus oryzae* beta – galactosidase immobilized on cotton cloth, *Biotechnol. Bioeng.*, 77 (1): 8 – 19 (2002).

- [105] C. Guerrero, C. Vera, F. Plou, A. Illanes, Influence of reaction conditions on the selectivity of the synthesis of lactulose with microbial β – galactosidases, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 72 (3): 206 – 212 (2014).
- [106] C. Vera, C. Guerrero, A. Illanes, Determination of the transgalactosylation activity of *Aspergillus oryzae* β – galactosidase: Effect of pH, temperature, and galactose and glucose concentrations, *Carbohydr. Res.*, 346 (6): 745 – 752 (2011).
- [107] A. Gosling, G. Stevens, A. Barber, S. Kentish, S. Gras, Effect of the substrate concentration and water activity on the yield and rate of the transfer reaction of β – galactosidase from *Bacillus circulans*. *J. Agric. Food. Chem.*, 59 (7), 3366 – 3372 (2011).
- [108] C. Martínez – Villaluenga, A. Cardelle – Cobas, N. Corzo, A. Olano, M. Villamiel, Optimization of conditions for galactooligosaccharide synthesis during lactose hydrolysis by β – galactosidase from *Kluyveromyces lactis* (Lactozym 3000 L HP G), *Food Chem.*, 107 (1): 258 – 264 (2008).
- [109] P. Adlercreutz, Comparison of lipases and glycoside hydrolases as catalysts in synthesis reactions, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 101(2), 513 – 519 (2017).
- [110] N. Brás, P. Fernandes, M. Ramos, Qm/Mm studies on the β -galactosidase catalytic mechanism: hydrolysis and transglycosylation reactions, *J. Chem. Theory Comput.*, 6 (2): 421 – 433 (2010).
- [111] K. Iwasaki, M. Nakajima, S. Nakao, Galacto – oligosaccharide production from lactose by an enzymic batch reaction using betagalactosidase, *Process Biochem.*, 31 (1): 69 – 76 (1996).
- [112] H. Eskandarloo, A. Abbaspourrad, Production of galacto –oligosaccharides from whey permeate using β – galactosidase immobilized on functionalized glass beads, *Food Chem.*, 251: 115 – 124 (2018).
- [113] M. Hartmann, X. Kostrov, Immobilization of enzymes on porous silicas – benefits and challenges, *Chem. Soc. Rev.*, 42: 6277 – 6289 (2013).

- [114] J. Long, Y. Fu, Y. Zu, J. Li, W. Wang, C. Gu, M. Luo, Ultrasound assisted extraction of flaxseed oil using immobilized enzymes, *Bioresour. Technol.*, 102, 9991 – 9996 (2011).
- [115] T. Palai, A. Singh, P. Bhattacharya, Enzyme, β – galactosidase immobilized on membrane surface for galacto – oligosaccharides formation from lactose: Kinetic study with feed flow under recirculation loop, *Biochem. Eng. J.*, 88, 68 – 76 (2014).
- [116] M. Carevic, M. Corovic, M. Mihailovic, K. Banjanac, A. Milisavljevic, D. Velickovic, D. Bezbradica, Galacto – oligosaccharide synthesis using chemically modified β – galactosidase from *Aspergillus oryzae* immobilised onto macroporous amino resin, *Int. Dairy J.* 54: 50 – 57 (2016).
- [117] R. Gaur, H. Pant, R. Jain, S.K. Khare, Galacto-oligosaccharide synthesis by immobilized *Aspergillus oryzae* β – galactosidase, *Food Chem.*, 97: 426 – 430 (2006).
- [118] D. Sheu, S. Li, K. Duan, C. Chen, Production of galactooligosaccharides by β – galactosidase immobilized on glutaraldehyde – treated chitosan beads, *Biotechnol. Tech.*, 12 (4): 273 – 276 (1998).
- [119] H. Güleç, S. Gürdaş, N. Albayrak, M. Mutlu, Immobilization of *Aspergillus oryzae* β – Galactosidase on low pressure plasma – modified cellulose acetate membrane using polyethyleneimine for production of galactooligosaccharide, *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, 15: 1006 – 1015 (2010).
- [120] B. Splechna, T. Nguyen, D. Haltrich, Comparison between discontinuous and continuous lactose conversion processes for the production of prebiotic galacto – oligosaccharides using β – galactosidase from *Lactobacillus reuteri*, *J. Agric. Food. Chem.* 55, 6772 – 6777 (2007a).
- [121] M. Boon, A. Janssen, K. van't Riet, Effect of temperature and enzyme origin on the enzymatic synthesis of oligosaccharides, *Enzyme Microb. Technol.* 26: 271 – 281 (2000b.)

- [122] C. Kim, E. Ji, D. Oh, A new kinetic model of recombinant β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis* for both hydrolysis and transgalactosylation reactions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 316:738 – 743 (2004a).
- [123] C. Vera, C. Guerrero, R. Conejeros, A. Illanes, Synthesis of galacto – oligosaccharides by β – galactosidase from *Aspergillus oryzae* using partially dissolved and supersaturated solution of lactose, *Enzyme Microb. Technol.*, 50: 188 – 194 (2012).
- [124] T. Palai, P. Bhattacharya, Kinetics of lactose conversion to galacto – oligosaccharides by β – galactosidase immobilized on PVDF membrane, *J. Biosci. Bioeng.*, 115: 668 – 673 (2013).
- [125] A. Gosling, G. Stevens, A. Barber, S. Kentish, S. Gras, Recent advances refining galactooligosaccharide production from lactose. *Food Chem.*, 121: 307 – 318 (2010).
- [126] C. Chen, C. Hsu, B. Chiang, Optimization of the enzymic process for manufacturing low – lactose milk containing oligosaccharides. *Process Biochem.*, 38: 801 – 808 (2002).
- [127] C. Lisboa, L. de Simoni Martinez, R. Trindade, F. de Almeida Costa, J. de Medeiros Burkert, C. Veiga Burkert, Response surface methodology applied to the enzymatic synthesis of galacto – oligosaccharides from cheese whey. *Food Sci. Biotechnol.*, 21: 1519 – 1524 (2012).
- [128] A. Osman, G. Tzortzis, R. Rastall, D. Charalampopoulos, A comprehensive investigation of the synthesis of prebiotic galactooligosaccharides by whole cells of *Bifidobacterium bifidum* NCIMB 41171. *J. Biotechnol.*, 150: 140 – 148 (2010).
- [129] D. Roy, L. Daoudi, A. Azaola, Optimization of galacto-oligosaccharide production by *Bifidobacterium infantis* RW–8120 using response surface methodology. *Journal of Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 29: 281 – 285 (2002).
- [130] N. Pham, Modeling of enzyme – catalysed processes: galacto – oligosaccharide formation and NAD(P)H oxidation as examples, Beč, University of Natural Resources and Life Sciences, (2015).

- [131] Q. Zhou, X. Chen, X. Li, Kinetics of lactose hydrolysis by betagalactosidase of *Kluyveromyces lactis* immobilized on cotton fabric, *Biotechnol. Bioeng.*, 81 (2): 127 – 33 (2003).
- [132] M. Bogdanović, Određivanje parametara kinetičkog modela enzimske transgalaktozilacije laktoze, Završni rad, TMF, Univerzitet u Beogradu (2019).
- [133] M. Mihailović, M. Stojanović, K. Banjanac, M. Carević, N. Prlainović, N. Milosavić, D. Bezbradica, Immobilization of lipase on epoxy – activated Purolite® A109 and its post – immobilization stabilization, *Process Biochem.*, 49 (4): 637 – 646 (2014).
- [134] Đ. Marić, Dinamika kretanja čestica jonoizmenjivačke smole u struji rastvora laktoze u reaktoru sa oscilatornim tokom, Završni rad, TMF, Univerzitet u Beogradu (2017).
- [135] T. Petrović, Sinteza galakto – oligosaharida imobilisanim enzimom u reaktoru sa oscilatornim tokom fluida, Master rad, TMF, Univerzitet u Beogradu (2017).

PRILOZI

Tabela A. 1. Operativni uslovi za eksperimente izvedene u ROT1 (Dinamika strujanja tečnosti)

<i>Eksperiment</i>	<i>f</i> , Hz	<i>x</i> ₀ , mm	<i>Q</i> _s , L h ⁻¹	<i>Q</i> _o , L h ⁻¹	<i>Q</i> , L h ⁻¹	<i>Re</i> _n	<i>Re</i> _o	<i>Str</i>	<i>ψ</i>	<i>t̄</i> , s
1	2,00	1,50	18,8	21,9	40,7	326	826	2,33	2,53	241
2	0,83	3,32	23,8	20,2	44,0	352	762	1,05	2,16	223
3	1,67	2,44	11,7	29,7	41,4	332	1121	1,43	3,38	237
4	1,67	2,48	23,3	30,1	53,4	428	1136	1,42	2,65	184
5	2,00	4,28	7,5	62,5	70,0	561	2358	0,82	4,21	140
6	1,00	1,65	7,6	24,1	31,7	254	909	2,12	3,58	310
7	2,00	4,52	0,0	65,9	65,9	528	2486	0,78	4,71	149
8	1,67	3,96	24,7	48,2	72,9	584	1818	0,88	3,11	135
9	1,67	4,01	12,9	48,7	61,6	493	1837	0,87	3,72	160
10	0,83	4,26	11,9	25,9	37,8	303	977	0,82	3,23	260
11	0,50	3,81	0,0	13,9	13,9	111	524	0,92	4,71	707
12	0,60	4,57	0,0	20,0	20,0	160	755	0,77	4,71	491
13	0,50	1,56	8,5	5,7	14,2	114	215	2,24	1,89	692

14	0,50	1,56	23,6	5,7	29,3	235	215	2,24	0,92	335
15	0,50	1,78	27,5	6,5	34,0	272	245	1,97	0,90	289
16	0,50	2,71	28,2	9,9	38,1	305	374	1,29	1,22	258
17	0,50	4,61	27,8	16,8	44,6	357	634	0,76	1,77	220
18	1,93	1,78	0,0	25,1	25,1	201	947	1,97	4,71	392
19	1,53	4,07	0,0	45,5	45,5	364	1717	0,86	4,71	216
20	1,67	4,47	0,0	54,4	54,4	436	2052	0,78	4,71	181
21	0,50	3,51	27,9	12,8	40,7	326	483	1,00	1,48	241
22	0,73	4,54	28,2	24,3	52,5	421	917	0,77	2,18	187
23	1,08	4,45	28,3	35,2	63,5	509	1328	0,79	2,61	155
24	1,98	1,91	0,0	27,6	27,6	221	1041	1,84	4,71	356
25	1,98	3,22	0,0	46,6	46,6	373	1758	1,09	4,71	211
26	1,98	4,22	0,0	61,1	61,1	489	2305	0,83	4,71	161
27	0,50	3,21	28,1	11,7	39,8	319	441	1,09	1,38	247
28	1,98	3,91	0,0	56,5	56,5	453	2132	0,90	4,71	174
29	2,00	4,52	3,3	66,0	69,3	555	2490	0,77	4,49	142

30	1,12	2,49	27,8	20,3	48,1	385	766	1,41	1,99	204
31	1,47	3,51	27,9	37,6	65,5	525	1419	1,00	2,70	150
32	1,63	4,27	27,8	50,9	78,7	630	1920	0,82	3,05	125
33	1,50	2,94	24,3	32,2	56,5	453	1215	1,19	2,68	174
34	1,50	2,97	0,0	32,5	32,5	260	1226	1,18	4,71	302
35	1,67	2,80	12,4	34,0	46,4	372	1283	1,25	3,45	212
36	0,83	4,39	12,3	26,7	39,0	312	1007	0,80	3,22	252
37	1,00	3,36	7,8	24,5	32,3	259	924	1,04	3,57	304
38	2,00	1,62	7,5	23,6	31,1	249	890	2,17	3,57	316
39	2,00	1,61	25,6	23,5	49,1	393	887	2,17	2,25	200
40	0,50	1,40	15,0	5,1	20,1	161	192	2,51	1,20	489
41	2,00	4,52	21,3	65,9	87,2	698	2486	0,78	3,56	113
42	0,00	0,00	16,7	0,0	16,7	134	0	0,00	0,00	589

Tabela A. 2. Operativni uslovi za eksperimente izvedene u ROT2 (Dinamika strujanja tečnosti)

<i>Eksperiment</i>	<i>f</i> , Hz	<i>x</i> ₀ , mm	<i>Q</i> _s , L h ⁻¹	<i>Q</i> _o , L h ⁻¹	<i>Q</i> , L h ⁻¹	<i>Re</i> _n	<i>Re</i> _o	<i>Str</i>	<i>ψ</i>	\bar{t} , s
1	2,00	4,91	0,0	25,0	25,0	339	1596	0,42	4,71	136
2	1,50	3,06	0,0	11,7	11,7	159	747	0,68	4,71	291
3	1,00	11,74	0,0	29,9	29,9	405	1909	0,18	4,71	114
4	1,50	8,43	0,0	32,2	32,2	436	2056	0,25	4,71	106
5	0,50	9,34	0,0	11,9	11,9	161	760	0,22	4,71	286
6	0,50	11,86	0,0	15,1	15,1	205	964	0,17	4,71	226
7	0,50	11,86	7,0	15,1	22,1	300	964	0,17	3,22	154
8	0,50	12,41	26,6	15,8	42,4	575	1009	0,17	1,76	80
9	1,00	8,64	0,0	22	22,0	298	1405	0,24	4,71	155
10	1,00	9,30	7,4	23,7	31,1	422	1513	0,22	3,59	110
11	1,00	9,42	27,6	24	51,6	699	1532	0,22	2,19	66
12	1,50	3,11	0,0	11,9	11,9	161	760	0,66	4,71	286
13	1,00	12,72	0,0	32,4	32,4	439	2069	0,16	4,71	105
14	1,75	5,16	0,0	23	23,0	312	1468	0,40	4,71	148

15	1,25	6,66	0,0	21,2	21,2	287	1354	0,31	4,71	161
16	1,25	6,88	16,1	21,9	38,0	515	1398	0,30	2,71	90
17	1,25	6,85	21,3	21,8	43,1	584	1392	0,30	2,38	79
18	0,83	7,35	0,0	15,6	15,6	211	996	0,28	4,71	219
19	1,75	6,44	0,0	28,7	28,7	389	1832	0,32	4,71	119
20	1,75	12,14	0,0	54,1	54,1	733	3454	0,17	4,71	63
21	1,13	10,43	10,4	30,1	40,5	549	1922	0,20	3,50	84
22	1,38	8,29	5,1	29,2	34,3	465	1864	0,25	4,01	99
23	0,75	13,30	4,3	25,4	29,7	403	1622	0,16	4,03	115
24	1,17	9,99	6,7	29,7	36,4	493	1896	0,21	3,84	94
25	1,58	5,48	10,7	22,1	32,8	445	1411	0,38	3,17	104
26	0,93	11,19	18,5	26,6	45,1	611	1698	0,19	2,78	76
27	1,83	5,18	15,3	24,2	39,5	535	1545	0,40	2,89	86
28	0,00	0,00	26,2	0,0	26,2	355	0	0,00	0,00	130

BIOGRAFIJA

Danijela Slavnić, diplomirani inženjer tehnologije, rođena je Pirotu 1981. godine. Osnovnu školu i Gimnaziju završila je u Babušnici. Godine 2008. diplomirala je na Tehnološko – metalurškom fakultetu, Univerziteta u Beogradu, profil Hemijsko inženjerstvo. Doktorske studije na istom fakultetu i katedri upisala je prvi put školske 2009/2010 godine. U skladu sa Zakonom o visokom obrazovanju, školske 2016/2017 godine upisala je po drugi put doktorske studije (III godinu), na profilu Hemijsko inženjerstvo.

Od 2011. do 2019. godine Danijela Slavnić je bila angažovana na projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja pod nazivom "Razvoj i primena novih i tradicionalnih tehnologija u proizvodnji konkurentnih prehrambenih proizvoda sa dodatom vrednošću za evropsko i svetsko tržište – STVORIMO BOGATSVO IZ BOGATSTVA SRBIJE" broj III46001. Takođe, učesnik je u realizaciji Inovacionih projekta finansiranih od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja pod nazivom: „Nova ekološki održiva tehnologija dobijanja biogasa iz agro – otpada“ u periodu 2014 – 2015. godine i „Novi biotehnološki postupci za proizvodnju biopreparata na bazi vermikomposta“ u periodu 2018 – 2019 godine.

Od 2019. godine zaposlena je u preduzeću Proces Projekt Inženjering d.o.o kao odgovorni projektant tehnoloških procesa.

Danijela Slavnić je autor tri rada publikovana u međunarodnim časopisima, četiri rada saopštena na međunarodnim skupovima i jednog rada saopštenog na nacionalnom skupu. Pored toga, koautor je dva rada publikovana u međunarodnim časopisima i jednog rada saopštenog na međunarodnom skupu.

Danijela Slavnić se aktivno služi engleskim jezikom i ima srednje i osnovno znanje ruskog i nemačkog jezika.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Данијела С. Славнић

Број индекса 4032/2016

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

ДИНАМИКА СТРУЈАЊА ТЕЧНОСТИ И ЧЕСТИЦА У РЕАКТОРИМА СА
ОСЦИЛАТОРНИМ ТОКОМ И ПРИМЕНА НА БИОХЕМИЈСКУ РЕАКЦИЈУ УЗ
УПОТРЕБУ ИМОБИЛИСАНИХ ЕНЗИМА

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 20.05.2020.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора: Данијела С. Славнић

Број индекса: 4032/2016

Студијски програм: Хемијско инжењерство

Наслов рада: ДИНАМИКА СТРУЈАЊА ТЕЧНОСТИ И ЧЕСТИЦА У РЕАКТОРИМА
СА ОСЦИЛАТОРНИМ ТОКОМ И ПРИМЕНА НА БИОХЕМИЈСКУ РЕАКЦИЈУ УЗ
УПОТРЕБУ ИМОБИЛИСАНИХ ЕНЗИМА

Ментор : Проф. др Никола Никачевић, редовни професор Универзитета у
Београду, Технолошко-металуршког факултета

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској
верзији коју сам предао/ла ради похрањена у **Дигиталном репозиторијуму
Универзитета у Београду.**

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског
назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум
одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне
библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 20.05.2020.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

ДИНАМИКА СТРУЈАЊА ТЕЧНОСТИ И ЧЕСТИЦА У РЕАКТОРИМА СА ОСЦИЛАТОРНИМ ТОКОМ И ПРИМЕНА НА БИОХЕМИЈСКУ РЕАКЦИЈУ УЗ УПОТРЕБУ ИМОБИЛИСАНИХ ЕНЗИМА

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
- 3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)**
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.

Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 20.05.2020.

1. Ауторство. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство – некомерцијално – без прерада. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прерада. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.

ОЦЕНА ИЗВЕШТАЈА О ПРОВЕРИ ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација на Универзитету у Београду и налаза у извештају генерисаном од стране софтвера IThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације „Динамика струјања течности и честица у реакторима са осцилаторним током и примена на биохемијску реакцију са употребом имобилисаних ензима“ ауторке и кандидаткиње **Данијеле Славнић**, констатујем да подударње текста износи 22%. Од тога већина подударности (око 16%) долази од предходно публикованих резултата докторанткиње, проистеклих из саме дисертације, што је у складу са чланом 9. Правилника. Остале подударности (око 6%) простичу у највећој мери из научних радова коју су представљени у прегледу литературе, а мањим делом из других поглавља, где су анализирани резултати. Сви научни радови из извештаја су адекватно цитирани и наведени у списку литературе. За велику већину радова из литературе подударност је до 50 речи, осим за неколицину научних радова где подударност не прелази 200 речи.

На основу анализе и свега изнетог, а у складу са чланом 8. Став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, изјављујем да извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Београд, 04.05.2020

Ментор



Др Никола Никачевић, редовни професор

Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет