

ČESKÉ VÝSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ

FAKULTA STROJNÍ

Ústav procesní a zpracovatelské techniky

**ZÁSADY KONSTRUOVÁNÍ  
BIOREAKTORŮ V TECHNOLOGIÍCH  
VÝROBY POKROČILÝCH BIOPALIV**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2016

Jan BAUER

# PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a uvedl jsem všechny použité podklady a literaturu.

V Praze dne .....

.....

Jméno a Příjmení

# PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych chtěl vyjádřit poděkování vedoucímu bakalářské práce Ing. Lukášovi Krátkému, Ph.D. za odborné rady a pomoc při vypracování bakalářské práce.

# Anotační list

<b>Jméno autora:</b>	Jan
<b>Příjmení autora:</b>	Bauer
<b>Název práce česky:</b>	Zásady konstruování bioreaktorů v technologiích výroby pokročilých biopaliv
<b>Název práce anglicky:</b>	Fundamentals of bioreactor design for advanced biofuel technologies
<b>Rozsah práce:</b>	počet stran: 55  počet obrázků: 24  počet tabulek: 6  počet příloh: 0
<b>Akademický rok:</b>	2015/2016
<b>Jazyk práce:</b>	český
<b>Ústav:</b>	Ústav procesní a zpracovatelské techniky
<b>Studijní program:</b>	B2342 Teoretický základ strojního inženýrství
<b>Vedoucí práce:</b>	Ing. Lukáš Krátký, Ph.D.
<b>Oponent:</b>	
<b>Konzultant práce:</b>	
<b>Zadavatel:</b>	ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav procesní a zpracovatelské techniky
<b>Využití:</b>	Podklad pro návrh konstrukce bioreaktoru pro výrobu moderních biopaliv

**Anotace česky:**

Bakalářská práce je zaměřena na problematiku zásad konstruování bioreaktorů v technologiích výroby biopaliv z odpadů s lignocelulózovým materiálem. Cílem této práce je definovat požadavky na zařízení z hlediska procesu, používání, čištění, citlivosti mikroorganismů a provést rozbor základního konstrukčního uspořádání bioreaktorů v závislosti na umístění a objemu vsádky. V další části bakalářské práce je proveden rozbor konstrukce bioreaktorů z hlediska volby materiálu, konstrukce nádoby, míchacího systému, temperačního systému, utěšňování pohyblivých a nepohyblivých spojů. Ve třetí části je navrženo vlastní konstrukční schéma bioreaktoru na výrobu bioetanolu 2. generace z lignocelulózové biomasy.

**Klíčová slova:**

*bioreaktor, biopaliva, konstrukce fermentoru, lignocelulózová biomasa*

**Anotace anglicky:**

Bachelor thesis is focused on the fundamentals of bioreactor design for advanced biofuel production technologies from lignocellulosic materials. The aim of this work is to define requirements for the fermentation unit in terms of the process, usage, cleaning, sensitivity of microorganisms and to analyze the basic structural design of bioreactors, depending on the location and volume of the batch. In the second part of the thesis is made an analysis of the construction of bioreactors in terms of material selection, vessel construction, mixing system, tempering system and sealing movable or immovable joints. In the third part of the thesis the custom design scheme of bioreactor for the production of second generation bioethanol from lignocellulosic biomass is made.

**Key words:**

*bioreactor, biofuels, fermenter design, lignocellulosic biomass*

# Obsah

<b>1.</b>	<b>Teoretický úvod</b> .....	7
1.1	Biopaliva 1. generace.....	8
1.1.1	Suroviny pro výrobu biopaliv 1. generace.....	8
1.2	Biopaliva 2. generace.....	9
1.2.1	Suroviny pro výrobu biopaliv 2. generace.....	9
1.3	Technologie výroby bioetanolu 2. generace .....	12
<b>2.</b>	<b>Cíle práce</b> .....	17
<b>3.</b>	<b>Zásady konstruování aerobních a anaerobních bioreaktorů</b> .....	18
3.1	Klasifikace bioreaktorů a jejich základní konstrukční uspořádání .....	18
3.2	Požadavky na návrh a provoz bioreaktoru.....	22
3.2.1	Klíčové problémy při návrhu a provozu.....	22
3.2.2	Citlivost mikroorganismů .....	23
3.3	Volba vhodného materiálu .....	27
3.4	Možnosti konstrukce nádoby a míchacího systému .....	28
3.4.1	Mechanicky míchané nádoby .....	28
3.4.2	Hydraulicky míchané nádoby .....	36
3.4.3	Pneumatikly míchané nádoby.....	37
3.5	Možnosti konstrukce teplosměnných ploch .....	40
3.6	Možnosti utěšňování součástí.....	44
3.6.1	Utěšňování nepohyblivých spojů .....	44
3.6.2	Utěšňování pohyblivých spojů .....	46
<b>4.</b>	<b>Návrh základního konstrukčního uspořádání bioreaktoru pro technologii výroby bioetanolu</b> .....	50
<b>5.</b>	<b>Závěr</b> .....	52
<b>6.</b>	<b>Seznam literatury</b> .....	53

# 1. Teoretický úvod

Pojem globální oteplování a hrozba s tímto termínem spojená zaměstnává rozsáhlou část světové výzkumné kapacity. Zejména snaha redukovat produkci skleníkových plynů, které jsou z 73% způsobeny spalováním fosilních paliv.

Spalováním fosilních paliv vzniká CO<sub>2</sub>, neboli oxid uhličitý a další škodlivé látky. Největší potenciál v poklesu produkce CO<sub>2</sub> představuje náhrada fosilních paliv biopalivy. Jako jedno z nejperspektivnějších paliv, snižující produkci skleníkových plynů, je považován bioetanol.

Celosvětový nástup biopaliv na ekonomický trh způsobil v 70. letech minulého století ropnou krizi. V roce 1970 zavedla svůj první bioetanolový program (s názvem PRÓALCOOL) Brazílie s myšlenkou nahradit automobilový benzin bioetanolem. Tento krok významně přispěl k dalšímu rozvoji celosvětové problematiky.

V současné době se s biopalivy setkáme v téměř každé zemi. Největším producentem bioetanolu je USA, těsně následované Brazílií. Společně dohromady tvoří přibližně 80% celosvětové produkce. Pouhá 3 % produkuje Evropská Unie. Z toho vyplývá, že by se EU měla více snažit podporovat a soustředit se na výrobu a vývoj bioetanolu, aby dohnala, nebo se alespoň pokusila dohnat, časový deficit způsobený pozdějším zareagováním na danou problematiku. [1]

V České republice představují vhodná paliva bioetanol a metylester řepkového oleje. Pro zážehové motory se jako substituční palivo používá bioetanol a pro vznětový motor metylester řepkového oleje (v zahraničí označován jako biodiesel). Metylestery olejů představují 85% všech vyrobených biopaliv. Z tohoto hlediska je na místě zvýšit produkci bioetanolu a to především kvůli nižší produkci CO<sub>2</sub> vůči metylesterům.

Celkový vývoj potenciálního využití biopaliv a jejich zdrojů pro výrobu prochází v současné době inovačním až bouřlivým procesem. Na problematice nových postupů a technologií se intenzivně pracuje a v nejbližší budoucnosti se očekává pokrok v efektivnosti a větší ekologičnosti celého procesu výroby. [3]

## 1.1. Biopaliva 1. generace

V dopravě je nutno biopaliva považovat jako významný potenciální zdroj energie v dlouhodobém horizontu. V současné době jsou nejvíce uplatňována biopaliva první generace, kterými jsou především bioetanol vyráběný z cukerných a škrobnatých plodin (obilí, cukrové řepy, cukrové třtiny, brambor) a metylestery vyšších mastných kyselin (FAME z anglického jazyka – Fatty Acid Methyl Ester) vyráběný z řepkového oleje či z palmového, slunečnicového nebo sójového.

Bohužel biopaliva první generace s sebou přináší i značná negativa. Řada nevládních a ekologických organizací poukazuje na tyto konkrétní problémy:

- v některých chudých agrárních zemích (např. Brazílie) se výrobou biopaliv nahrazuje výroba potravin
- produkce biopaliv spotřebovává více energie, než kolik ji biopaliva obsahují
- některé z používaných chemikálií při pěstování biomasy jsou zdraví škodlivé a životnímu prostředí nebezpečné
- budování potřebné infrastruktury pro výrobu způsobuje negativní ekologický dopad

Proto je třeba zmínit fakt, že každý stát by při aplikaci biopaliv měl vycházet ze specifických možností, a to jak z pohledu klimatických podmínek, tak z dostupnosti půdního fondu pro pěstování biopaliv. [3]

### 1.1.1. Suroviny pro výrobu biopaliv 1. generace

Pro výrobu bioetanolu 1. generace je určena biomasa obsahující jednoduché cukry, nebo biomasa, jejíž složení je možno přeměnit na jednoduché cukry jako je škrob a celulóza.

Biomasu lze tedy rozdělit do 2 skupin:

- obsahující jednoduché cukry (cukrová řepa, cukrová třtina)
- obsahující škrob (brambory, obiloviny, kukuřice)



Surovina	Produkční potenciál bioetanolu (l.t <sup>-1</sup> )	Surovina	Produkční potenciál bioetanolu (l.t <sup>-1</sup> )
Cukrová třtina	70	Kukuřice	360
Cukrová řepa	110	Rýže	430
Batata	125	Ječmen	250
Brambory	110	Pšenice	340
Cassava	180	Sladký čirok	60
Lignocelulózová biomasa			280

Tab. I. Produkční potenciál výroby bioetanolu pro různé suroviny [1]

## 1.2. Biopaliva 2. generace

### 1.2.1. Suroviny pro výrobu biopaliv 2. generace

Pro výrobu biopaliv druhé generace se používá lignocelulózová biomasa, která se skládá z ligninu, celulózy, pektinu a dalších komponentů (Tab. II.).

Složky	Tvrdá dřevina [% hm]	Měkká dřevina [% hm]
Celulóza	40 – 50	40 – 50
Hemicelulóza	25 – 35	25 – 30
Lignin	20 - 25	25 – 35
Pektin	1 – 2	1 – 2
Škrob	stopy	stopy

Tab. II. Chemické složení lignocelulózové biomasy [4]

**Celulóza** je základní součástí lignocelulózové biomasy a její koncentrace se pohybuje od 40 do 50 [% hm] sušiny. Je to homopolysacharid složený z opakujících se  $\beta$ -D-glukopyranosových jednotek. Stupeň polymerace a krystalizace se liší druh od druhu, a je prokázáno, že mají významný vliv na hydrolytický proces (kyselý a enzymatický).

**Hemicelulóza** je menší částí celku. Její koncentrace v lignocelulózové biomase se pohybuje od 25 do 35 [% hm] a je snadno hydrolyzovatelná na zkvasitelné cukry. Hemicelulóza je polysacharid složený z pentózy a hexózy a cukerných kyselin. „Měkké dřeviny“ převážně obsahují manózu, zatímco „tvrdé dřeviny“ převážně xylany.

**Lignin** je třetí hlavní složkou lignocelulózové biomasy. Jeho koncentrace se pohybuje v rozmezí 20 – 35 [% hm]. Je to komplex polymerů tvořený fenylypropanem. Lignin působí jako stmelovací činidlo a tvoří nepropustnou bariéru pro enzymatické napadení rostliny. Dále poskytuje odolnost vůči mikrobiologickému napadení a oxidačnímu ohrožení. Z těchto vlastností vyplývá amorfní charakter a rozpustnost ve vodě. Díky těmto vlastnostem je těžké lignin degradovat. [4]

Lignocelulózová biomasa představuje velice pestrý zdroj celosvětového biologického odpadu pro výrobu bioetanolu. Na zemi je ho v hojném počtu, jako například: zemědělské zbytky (zejména sláma), dřevo a dřevní odpad, energetické plody, papírový odpad atd. Je třeba zmínit, že jedním z největších zástupců této biomasy je právě rýžová sláma, která je k dispozici po celém světě (Afrika 20,9 mil. t., Asie 667,6 mil. t., Evropa 3,9 mil. t., Amerika 37,2 mil. t., Oceánie 1,7 mil. t.). Takové množství rýžové slámy může produkovat až 205 mld. litrů bioetanolu ročně, čímž by se stala největším zdrojem pro výrobu.

V současné době je produkce bioetanolu 16x nižší než je potencionální výroba.

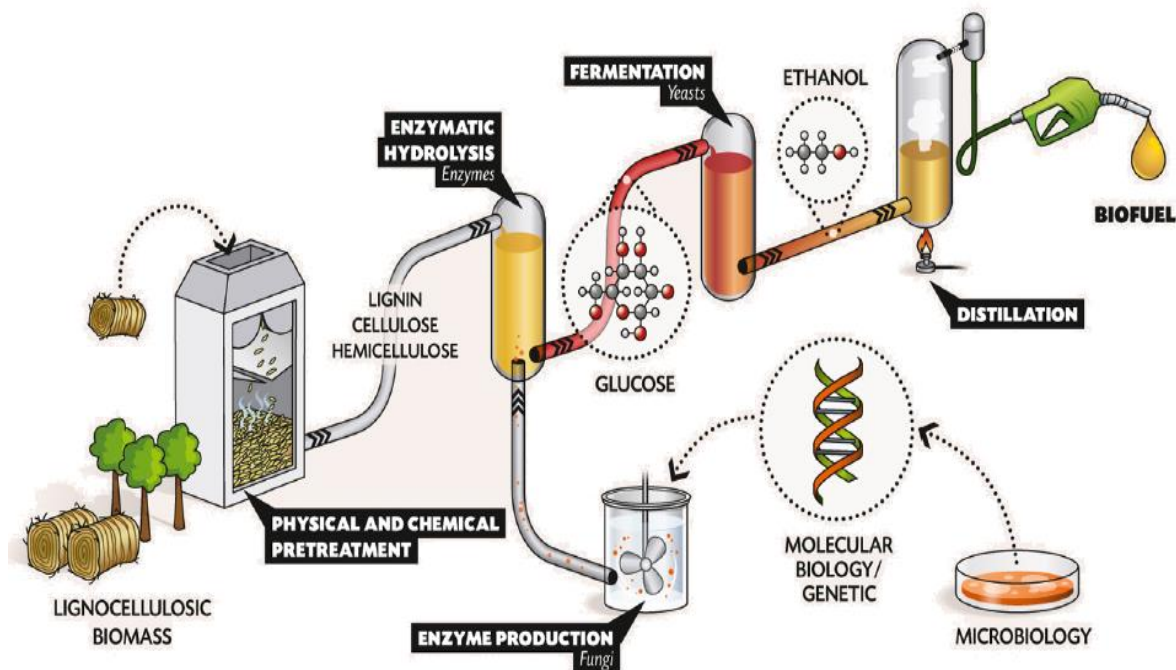
V následující tabulce (Tab. III.) je uvedeno chemické složení některých vhodných výchozích produktů na sušinu. [1]

<b>Lignocelulózový materiál</b>	<b>Celulóza [% hm]</b>	<b>Hemicelulóza [% hm]</b>	<b>Lignin [% hm]</b>
Lodyha tvrdého dřeva	40 - 55	24 - 40	18 – 25
Lodyha měkkého dřeva	45 – 50	25 – 35	25 – 35
Ořechové skořápky	25 – 30	25 – 30	30 - 40
Kukuřičné klasy	45	35	15
Traviny	25 – 40	35 – 50	10 – 30
Papír	85 – 99	0	0 – 15
Pšeničné slámy	30	50	15
Tříděný odpad	60	20	20
Listy	15 – 20	80 – 85	0
Vlasy bavlněného semena	80 – 95	5 – 20	0
Noviny	40 – 55	25 – 40	18 – 30
Papírové odpady z buničiny	60 – 70	10 – 20	5 – 10
Primární sušiny z odpadních vod	8 – 15	NA	24 – 29
Odpad od prasat	6	28	NA
Pevný dobytčí hnůj	1,6 – 4,7	1,4 – 3,3	2,7 – 5,7
Pobřežní bermudské traviny	25	35,7	6,4
Proso prutnaté (switchgrass)	45	31,4	12

Tab. III. Chemické složení vhodných výchozích produktů na sušinu [5]

### 1.3. Technologie výroby bioetanolu 2. generace

Obecně je technologie výroby bioetanolu 2. generace výrazně náročnější a zdlouhavější oproti 1. generaci. Na obr. 1 je schematicky znázorněn celkový proces výroby, který je pod ním podrobněji rozepsán.



Obr. 1. Technologické schéma výroby bioetanolu z lignocelulózové biomasy [18]

Vstupní surovinou je biomasa s lignocelulózovým základem.

V *první fázi* technologie výroby se jedná o tzv. předúpravu lignocelulózové biomasy. Jeden z důležitých důvodů pro předúpravu biomasy je porušení lignin-hemicelulóza-pektinového komplexu, narušení krystalické struktury celulózy a zvýšení porozivity biomasy. Tyto změny ve struktuře umožňují lehčí enzymatické zcukernatění (hydrolýzu) a výsledkem je větší množství zkvasitelných cukrů, které mají významný vliv na celkový proces. Ideální předúpravný proces by měl přinést vysoké množství pentózy. Hydrolyzáty nebudou potřebovat žádné inhibitory a tím je celkový proces finančně méně náročný.

V praxi současné metody zahrnují mechanické, chemické a biologické procesy.

**Mechanická metoda** zahrnuje redukci velikosti částic, která je často zapotřebí pro lehčí manipulaci s materiálem a tedy zmenšení celkového objemu materiálu. Používají se různé druhy drtičů a mlýnů. Další metodou, která je ovšem pouze zkoumána v laboratorním měřítku, je redukce objemu za pomoci ultrazvuku. Experimentální výsledky ukazují, že když je suspenze (heterogenní směs) obohacena ozářením, reakční rychlost enzymatické hydrolýzy je navýšena o 200%. [4] [5]

**Chemická metoda** procesu předúpravy využívá kyseliny, alkalická a organická rozpouštědla.

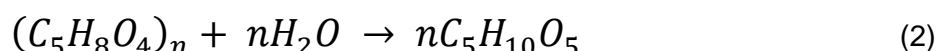
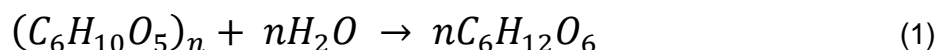
Rozložení lignocelulózové biomasy pomocí kyseliny se provádí pomocí inkubace se středně zředěnou kyselinou sírovou (0,5 až 1,5 [% hm]  $H_2SO_4$ ) při 100-200°C. Nejpříznivější podmínky pro tento proces jsou takové, aby byl materiál inkubován s 0,5 [% hm]  $H_2SO_4$  při teplotě 200°C na 4-8 minut. Při tomto procesu je hemicelulóza hydrolyzována na sacharidové monomery, které se získají z kapalné frakce po filtraci. Při použití vyšších koncentrací kyseliny sírové a vyšších teplot se získá větší množství jednoduchých cukrů (90%), nicméně se zvyšují nároky na zařízení, která musí být daleko více odolná vůči korozi (finanční náročnost). Konečný hydrolyzáát musí být navíc před fermentací neutralizován přídavkem vápna a nečistoty odstraněny pomocí aktivního uhlí.

Nejčastějším způsobem předúpravy je alkalická metoda. Za použití NaOH (hydroxidu sodného) a  $Ca(OH)_2$  (hydroxidu vápenatého) je výsledkem odstranění veškerého ligninu a části hemicelulózy. Dále stoupá reaktivita celulózy v dalším důležitém kroku hydrolýzy, konkrétně enzymatické hydrolýzy. Efektivní odstranění ligninu minimalizuje adsorpci enzymu na lignin, proto je tedy i efektivnější interakce s celulózou. Předúprava pomocí alkálie snižuje celkovou degradaci cukru. [4]

**Hydrolýza** je dalším významným krokem celé výroby. Cílem tohoto procesu je vytvářet z kvasitelné jednoduché cukry z hemicelulózy a celulózy. To může být provedeno dvěma různými procesy - enzymatickou hydrolýzou, nebo kyselou hydrolýzou. V praxi je častější enzymatický hydrolýza, do které jsou zapojeny 3 hlavní skupiny enzymů. Většinou jsou tyto enzymy označovány jako endoglukanáza, exoglukanáza a celobiáza.

Endoglukanázy útočí náhodně a rozštěpují celulóзовé řetězce za vzniku glukózy, celobiózy a celotriózy. Exoglukanázy útočí na neredukující se celulózy a tvoří celobiázové jednotky. Nakonec celobiázy přeměňují celobiózu na D-glukózu. [4]

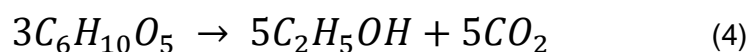
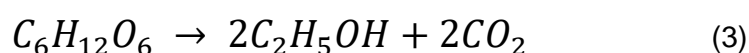
Přeměnu celulózy a hemicelulózy lze popsat reakcí glukánu (hexóza) a xylánu (pentóza) s vodou, viz.(1) (2). [10]



Ve *druhé fázi* se odehrává stěžejní proces celé výroby, tj. **fermentace**. Fermentace probíhá v zařízení zvaném fermentor nebo také bioreaktor. Výběr specifických mikroorganismů pro fermentační proces má přímý vliv na konstrukci bioreaktoru. Předběžné zpracování a hydrolyza jsou procesy navržené tak, aby optimalizovaly proces fermentace. Tento přírodní a biologický krok, závislý na podmínkách a použitých surovinách, vyžaduje přítomnost mikroorganismů k fermentaci cukru na alkohol, kyselinu mléčnou, a dalších konečných produktů. [7]

V průběhu tohoto procesu jsou obě hlavní složky - pentóza (fruktóza) a hexóza (glukóza), fermentovány na etanol za aerobních či anaerobních podmínek. [4]

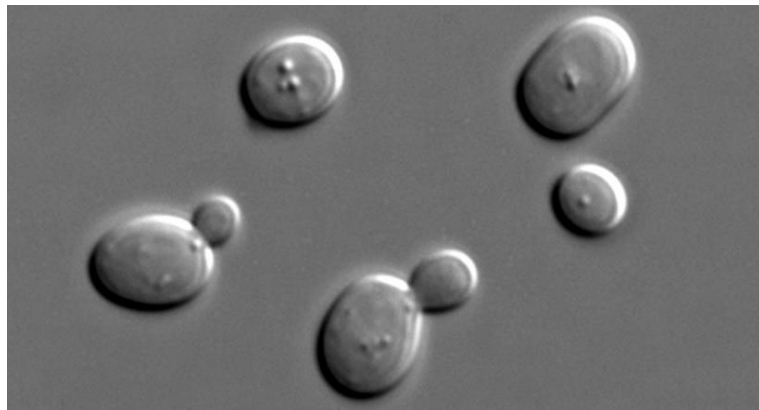
Reakce, která přeměňuje hexózu (C6) a pentózu (C5) lze popsat reakcemi (3) a (4). [10]



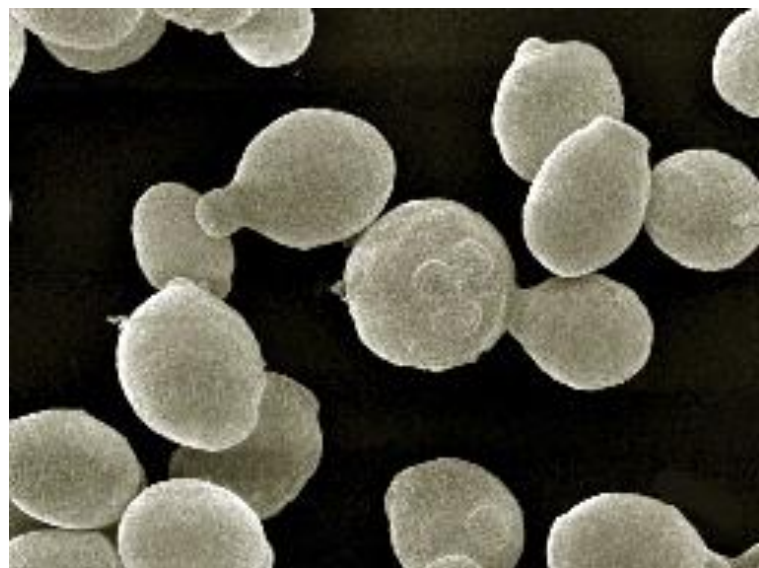
**Saccharomyces cerevisiae** je druh kvasinek nejvíce využívaný pro výrobu etanolu z hexózy.

*Mimoto byl tento druh průmyslových kvasinek používán při výrobě alkoholu v pivovaru nebo ve vinařském odvětví po tisíce let. Dále se tento rod používal pro výrobu biopaliv z kukuřice.*

Další druhy kvasinek např. *Pichia stipitis* a *Candida shehatae* jsou schopny fermentovat na etanol oba hlavní cukry pentózu i hexózu. [4]



Obr. 2. *Saccharomyces cerevisiae* [8]

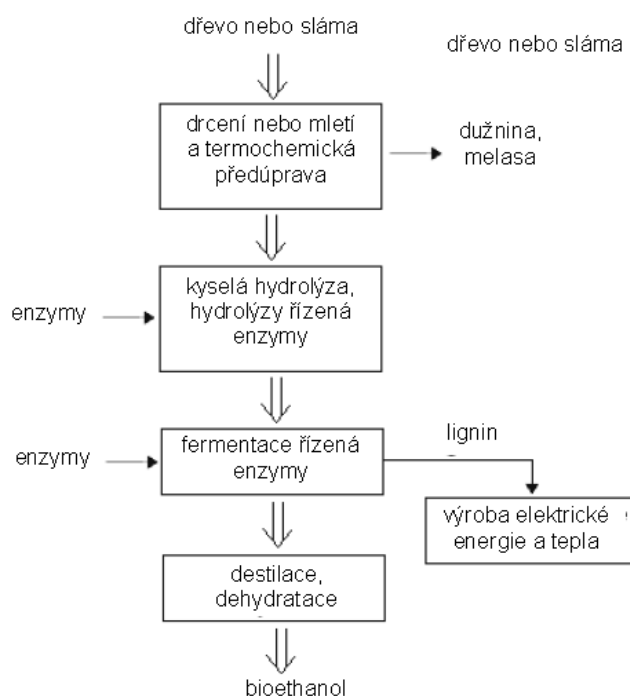


Obr. 3. *Pichia stipitis* [9]

Cukry se míchají s vodou a vytváří tzv. *bujón*. Během procesu *S. cerevisiae* fermentuje v bioreaktoru glukózu na etanol za anaerobních podmínek, vše řízeno teplotou. Kvasinková fermentace je vždy doprovázena tvorbou vedlejších produktů za přítomnosti CO<sub>2</sub> a celá tato operace může být umocňována přidávkem dusíku.

Optimální podmínky pro průběh kvašení pomocí *S.cerevisiae* jsou teploty okolo 30 [°C] a hodnoty pH cca 4.0. [4]

Ve *třetí fázi* probíhá **destilace**. Bioetanol získaný z fermentační přeměny je zapotřebí ještě dále separovat a vyčistit od vody právě destilačním procesem. Frakční destilace je realizována na základě rozdílné těkavosti vody a etanolu. Tento proces se skládá pouze z vroucí směsi etanolu a vody. Jelikož je bod varu vody (100 °C) vyšší než bod varu etanolu (78,3 °C), bude se etanol přeměňovat na páru dříve. Proto může být voda oddělena pomocí kondenzačního postupu a destilát etanolu je zachycen v koncentraci 95%.



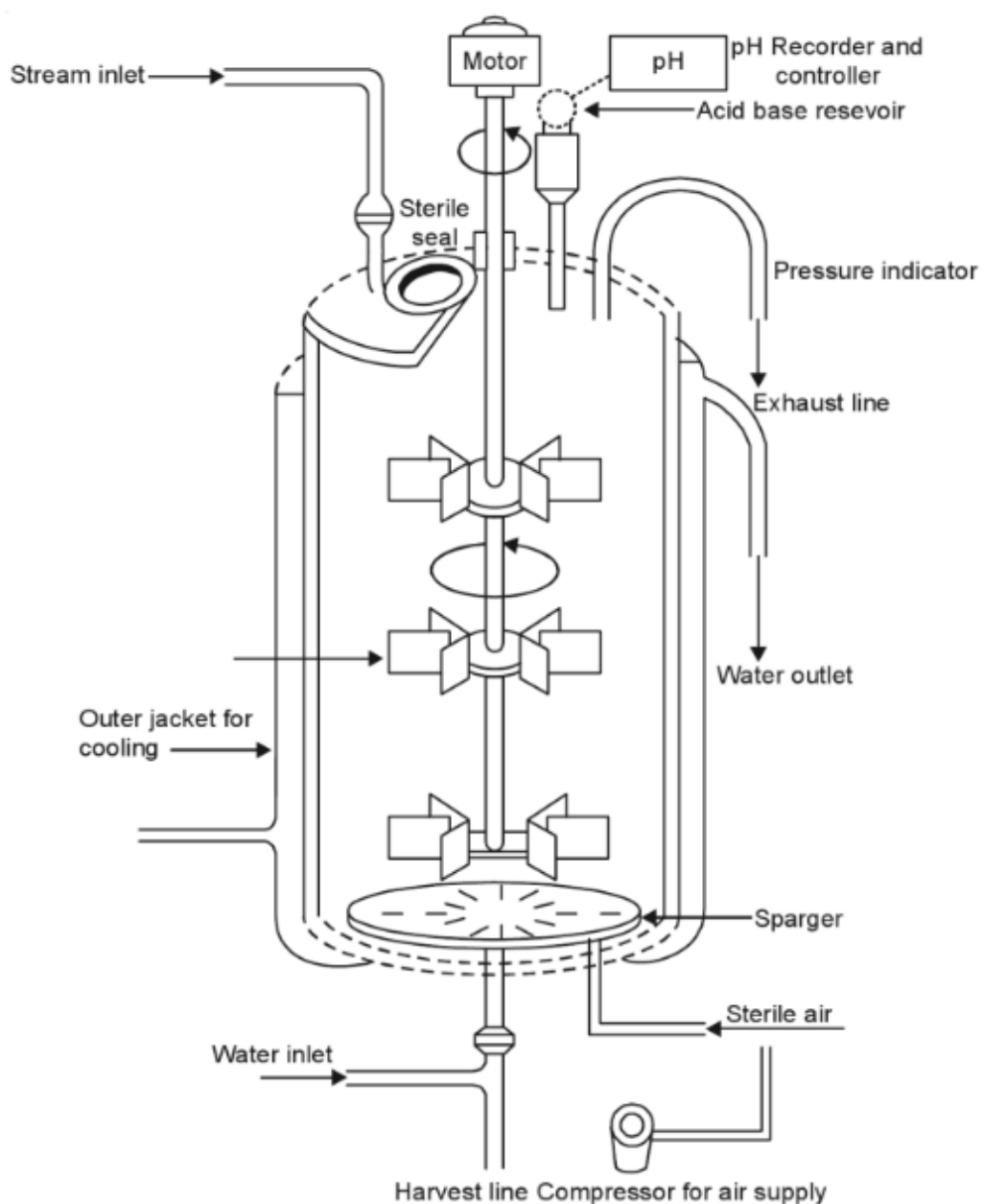
Obr. 4. Blokové schéma výroby bioetanolu z lignocelulózové biomasy [2]



## 2. Cíle práce

Fermentor je naprosto klíčovým zařízením celé technologie výroby perspektivních biopaliv a je považován za „srdce výrobní linky“. Proto je cílem mé bakalářské práce provést rozbor základního konstrukčního uspořádání bioreaktorů v závislosti na objemu vsádky a umístění (uvnitř, venku) a definovat požadavky na zařízení (požadavky z hlediska procesu, používání, čištění, citlivosti mikroorganismů).

Na obr. 5 je znázorněno schematické zobrazení typického bioreaktoru.



Obr. 5 Zobrazení typického bioreaktoru [13]

## 3. Zásady konstruování aerobních a anaerobních bioreaktorů

Pojmy fermentor a bioreaktor jsou oprávněně používány zaměnitelně. Zpravidla existují dva druhy bioreaktorů: aerobní (s přístupem vzduchu) a anaerobní (bez přístupu vzduchu). Při anaerobní fermentaci mikroorganismy rostou a vytvářejí bioetanol s absencí nebo s téměř plnohodnotnou absencí vzduchu. Aerobní fermentace probíhá za přítomnosti vzduchu, jenž mikroorganismy spotřebovávají pro svůj růst a pro požadovaný produkt. [6]

### 3.1. Klasifikace bioreaktorů a jejich konstrukční uspořádání

Bioreaktory jsou používány pro široké spektrum použití, nicméně principiálně fungují na podobné bázi. Existuje několik různých hledisek, podle kterých je můžeme rozdělit. [19]

Podle **způsobu provádění procesu**:

- a) vsádkové (batch) reaktory pracující jako uzavřený systém
- b) vsádkové reaktory pracující jako částečně otevřený systém (s postupným živením neboli fed-batch)
- c) reaktory pracující semikontinuálním způsobem (částečně otevřený systém)
- d) kontinuální reaktory pracující v podmínkách ustáleného stavu – chemostat (otevřený systém)
- e) kontinuální reaktory pracující v podmínkách ustáleného stavu s částečným recyklem mikroorganismů (otevřený systém)

## Podle **typu reaktoru**:

### *a) Vsádkový míchaný reaktor*

Koncentrace živin, buněk i metabolických produktů se mění s časem, ale nikoli v jednotlivých místech reaktoru (homogenní systém, dobré míchání). Náročné na obsluhu, nejčastěji průmyslově používané.

### *b) Kontinuální míchaný reaktor (v ustáleném stavu)*

Koncentrace všech složek se nemění s časem ani s polohou v reaktoru – je konstantní (homogenní systém, dobré míchání). Průtok reaktorem je limitován vyplavením buněk ze systému. Průmyslová aplikace pro produkci mikrobiální biomasy a zpracování odpadních vod.

### *c) Tubulární reaktor*

Koncentrace všech složek se postupně mění s polohou v systému od vstupu do výstupu, na čase je však nezávislá (heterogenní systém, snaha o pístový tok). Koncentrace všech složek časově nezávislá. Nutná trvalá konstantní inokulace buď částečnou recyklací buněk, nebo kombinací s kontinuálním míchaným reaktorem – chemostatem.

### *d) Filmový reaktor*

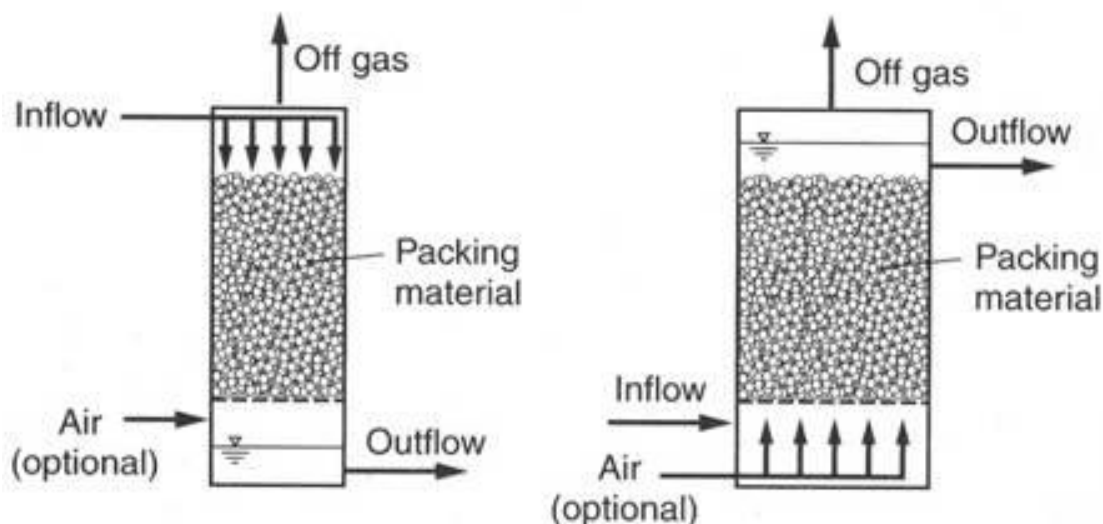
Koncentrace buněk příliš nezávisí na poloze v systému, naopak koncentrace živin a metabolických produktů závisí na této poloze (heterogenní systém). Koncentrace všech složek by neměly být časově závislé. Obtížná regulace množství biomasy v systému. Průmyslová aplikace pro výrobu octa a zpracování odpadních vod.

### *e) Reaktor s fluidní vrstvou*

Koncentrace buněk, živin i metabolických produktů se mění s polohou v systému, ale i časově je závislá (heterogenní systém). Průtok reaktorem je limitován vyplavením buněk ze systému. Průmyslová aplikace pro výrobu piva, octa a čištění odpadních vod.

Tento typ reaktoru je zejména v přírodě velmi „prostou“ metodou a zásadně se liší od předchozích výše uvedených typů míchacích nádob.

Reaktor se skládá z trubicovité trubky, naplněné částicemi biokatalyzátoru. Může být provozován v režimech spádově protékaného (obr. 6a) nebo vzestupně protékaného (obr. 6b). To znamená, že reakční směs je zavedena buďto do horní nebo spodní části reaktoru. [11]



Obr. 6a,b. Schématické zobrazení bioreaktoru s pevným nebo fluidním ložem [12]

Podle **objemu vsádky**:

- a) laboratorní (přibližně do 30 dm<sup>3</sup>)
- b) čtvrtprovozní (30 – 100 dm<sup>3</sup>)
- c) poloprovozní (100 – 5000 dm<sup>3</sup>)
- d) provozní (větší než 5000 dm<sup>3</sup>)

Toto rozdělení se týká tzv. velkotonážní výroby (mikrobiální biomasa, etanol, pivo, pekařské droždí, ocet, bioplyn, antibiotika, čištění odpadních vod). Velkotonážní výroba je finančně relativně nenáročná a výnosnost procesu v podstatě závisí na velikosti použitého reaktoru. V Tab. IV. je uveden přehled velkotonážních bioreaktorů používaných ve světě. [19]

<b>Produkt</b>	<b>Maximální objem [m<sup>3</sup>]</b>
Zpracování odpadních vod (aktivovaný kal) *	27 000
Mikrobiální biomasa *	1 500
Pivo	1 250
Kyselina citrónová	240
Pekařské droždí	200
Antibiotika	200
Tvaroh	20
Jogurt	10
Chléb	1

\*převážně kontinuální proces

Tab. IV. Přehled velikostí používaných bioreaktorů [19]

Podle **způsobu míchání:**

- a) mechanicky míchané nádoby
- b) hydraulicky
- c) pneumaticky (vzduchové bubliny, typ airlift)

Podrobnější popis míchacích způsobů fermentačních nádrží je podrobněji popsán v kapitole 3.4.

## 3.2. Požadavky na návrh a provoz bioreaktoru

### 3.2.1. Klíčové problémy při návrhu a provozu

Klíčem k účinnému bioreaktoru je kontrolovat a pozitivně ovlivňovat biologickou reakci. Aby se toho dosáhlo, je třeba vzít v úvahu dvě oblasti. První z oblastí jsou vhodné parametry bioreaktoru požadované pro biologické, chemické a fyzikální (makrokinetické) systémy. Makrokinetický systém zahrnuje růst mikroorganismů produkci metabolitů.

Velký význam v konstrukci bioreaktoru má druhá oblast, zahrnující řešení problematiky ohledně parametrů bioreaktoru, jako například:

- a) Kontrolování teploty
- b) Optimální hladina pH
- c) Dostupnost vody
- d) Soli pro výživu
- e) Vitamíny
- f) Kyslík (převážně pro aerobní proces)
- g) Uvolňování plynu
- h) Odstranění produktu a vedlejšího produktu

Zvládnutí určení těchto parametrů je nezbytné. Nicméně je důležité bioreaktor zkonstruovat tak, aby podporoval tvorbu optimální morfologie organismu a odstraňoval nebo snižoval kontaminaci nežádoucími organismy nebo mutaci organismů.

Samotná konstrukce bioreaktoru je jedním z hlavních kroků kvasného průmyslu. Stanbury a Whitaker v roce 1995 navrhli některé nápady pro stavbu bioreaktoru, které jsou aktuální dodnes:

- Bioreaktor musí mít dostatečnou kapacitu pro zpracování po relativně dlouhou dobu.
- Měl by být dostatečně velký pro umožnění fermentace v průmyslovém měřítku.
- Bioreaktor by měl být navržen tak, aby byl zabezpečený proti vniknutí kontaminujících organismů.
- Úroveň rozpuštěného kyslíku se musí udržovat v nadkritické hladině pro provzdušňování a pro míchání kultury (platí pro aerobní organismy)
- Fermentor musí zahrnovat i zařízení pro regulaci teploty a míchání.
- Fermentor musí také obsahovat systém pro sledování a regulaci úrovně hladiny pH média během kultivačního procesu.
- Je žádoucí, aby reaktor konzumoval co nejméně energie.
- Musí poskytovat, jak přívod média a inokul (očkovadel), tak udržování konstantního objemu kultury v nádobě.
- Vypařování média uvnitř nádoby by mělo být co nejmenší.
- Bioreaktor je navržen tak, aby byly náklady na pracovní síly co možná nejmenší.
- Bioreaktor je konstruován takovým způsobem, aby mohl využít i těch nejlevnějších zdrojů živin.
- Vnitřní povrch reaktoru musí být hladký. [13]

### 3.2.2. Citlivost mikroorganismů

Ve snaze shrnout relevantní výhody, významná omezení a citlivost mikrobiálních kvasinkových druhů, porovnává Tab. V. potencionální mikroorganismy pro fermentaci lignocelulózově založených biopaliv.

*V současné době jsou potencionálními pomocníky pro fermentaci i bakterie a houby. V Tab. V. je zmíněn alespoň 1 zástupce od každého. [7]*

<b>Druh</b>	<b>Charakteristika</b>	<b>Výhody</b>	<b>Nedostatky</b>
Saccharomyces cerevisiae	fakultativně (nezávisle) anaerobní kvasinka	<ul style="list-style-type: none"> <li>– přirozeně přizpůsobená na etanolovou fermentaci</li> <li>– vysoké výnosy alkoholu (90%)</li> <li>– vysoká tolerance vůči etanolu a chemickým inhibitorům</li> <li>– přístupná genetickým modifikacím</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– není schopna fermentovat pentózu a aldopentózu</li> <li>– není schopna přežít vysoké teploty enzymatické hydrolýzy</li> </ul>
Candida shehatae	mikroaerofilní kvasinka	<ul style="list-style-type: none"> <li>– fermentuje pentózu</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– nízká tolerance vůči etanolu</li> <li>– nízká výtěžitelnost etanolu</li> <li>– vyžaduje mikroaerofilní podmínky</li> <li>– za nízkých hodnot pH nefermentuje pentózu</li> </ul>
Pichia stipitis	fakultativně (nezávisle) anaerobní kvasinka	<ul style="list-style-type: none"> <li>– nejlépe fermentuje pentózu</li> <li>– vysoké výnosy alkoholu (82%)</li> <li>– schopna fermentovat většinu celulóзовého materiálu včetně glukózy, galaktózy a celobiázy</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– nesnášenlivá k vysokým koncentracím etanolu (cca 40 g/L)</li> <li>– za nízkých hodnot pH nefermentuje pentózu</li> <li>– citlivá na chemické inhibitory</li> <li>– požaduje mikroaerofilní podmínky k dosažení perfektního výkonu</li> </ul>



Pachysolen tannophilus	aerobní houba	– fermentuje pentózu	– nízká výtěžitelnost etanolu – požaduje mikroaerofilní podmínky – za nízkých hodnot pH nefermentuje pentózu
Esherichia coli	mezofilní gramnegativní bakterie	– schopnost využívat jak pentózu tak hexózu – přístupná genetickým modifikacím	– limitovaná tolerance vůči etanolu a inhibitorům – úzký rozsah hodnot pH a teplot pro růst – produkuje organické kyseliny – dosud nepotvrzena genetická stabilita

Tab. V. Příklady zástupců kvasinek, bakterií a hub pro fermentaci [7]

### 3.2.3. Čištění a sterilizace bioreaktoru

Většina fermentačních procesů je mono-kulturních. Vytvořit a udržovat sterilní podmínky je klíčové pro úspěch samotného fermentačního procesu. Proto musí být nádrž sterilizovaná ještě před inokulací a musí být zabráněno jakékoliv kontaminace v průběhu procesu. [15]

Schopnost procesního zařízení „být vyčištěno“ je rozhodující pro jeho správné provedení a konstrukci. Potrubí, vstupní a výstupní porty, ventily, senzory, regulátory a další komponenty musí být navrženy tak, aby se v prostoru eliminovaly tzv. mrtvé prostory, hřbety a štěrby, kde se může hromadit materiál. Proces čištění začíná právě tehdy, když je fermentor vyprázdněn po ukončení kultivačního běhu.

Terminologie udává názvy „CIP“ (clean-in-place) a „SIP“ (sterilize-in-place) systémy, které obecně minimalizují dobu pro demontáž a prostoje při čištění. Zařízení musí splňovat určité hygienické protokoly, pokud je nesplňuje, tak nemůže pracovat. [16]

Prostředky sterilizace:

- i. *TEPLO*: Teplo je nejvíce rozšířený druh sterilizace a používá se jak pro médium, tak pro sterilizovatelné části bioreaktoru. Může být použito buď jako suché nebo vlhké (pára) teplo. Vlhké teplo je pro sterilizaci efektivnější a to z toho důvodu, že bakteriální tepelná odolnost je větší v suchém stavu, což má za následek „mrtvou“ kinetiku, která je výrazně nižší pro suché buňky než pro vlhké. Vedení tepla je také pomalejší v suchém vzduchu než v páře což znamená, že suché teplo se spíše používá na sterilizaci skla a dalších pevných ohřivatelných materiálů. Teplota páry se může významně zvýšit nad bod varu vody, pokud je pod tlakem. Laboratorní podmínky jsou většinou okolo hodnot tlaku 200 [Kpa] a teplot 121 [°C].
- ii. *UV ZÁŘENÍ*: UV záření je absorbováno buňkami, způsobuje zničení struktury DNA a způsobuje smrt buněk. Nejlepší bakteriocidní účinnost je při vlnových délkách kolem 265 [nm].
- iii. *ULTRAZVUK*
- iv. *ULTRAFILTRACE*

Sterilizace uvnitř fermentoru je provedena v dávkovém režimu. To je provedeno vstříkáním páry pomocí elektrického ohříváče. Další možností je napustit do nádoby páru o konstantním tlaku. Sterilizační cykly se skládají z vytápění, držení teploty a tlaku, chladící fáze. [16]

Ke sterilizaci je použita nasycená čistá pára. V prvním kroku se vyčistí přívod a odvod vzduchu a v druhém kroku samotný bioreaktor. Celý systém je zkonstruovaný tak, že filtry, ventily a připojená potrubí dosáhnou velmi rychle (1 min) sterilizační teploty 121 [°C] a v tomto stavu jsou udržovány po dobu 25-30 minut. [15]

### 3.3. Volba vhodného materiálu

Konstrukční materiál musí mít schopnost pevnostně odolat vysokým hodnotám teplot a tlaků. Všechny materiály přicházející do styku s procesním roztokem, musí být odolné vůči korozi, aby se zabránilo stopové a kovové kontaminaci během procesu. Materiál musí být také netoxický vůči kultuře. Uvnitř reaktoru by měl být povrch hladký, zejména pro snadnější čištění a sterilizaci prostředí. Materiál je navržen tak, aby vydržel opakovanou sterilizaci pomocí vysokotlaké páry.

V závislosti na typu konstrukce je pro výrobu bioreaktoru použita ocel, sklo, kov nebo jejich kombinace. Obecně se pro fermentory malých rozměrů (1-30 litrů) používá sklo a pro konstrukci velkých rozměrů se používá **austenitická nerezová ocel**. [13]

Nádoba jako taková je vyrobena z nerezové oceli typu 316L, zatímco levnější typ oceli 304L je využíván na konstrukci izolačního pláště a dalších vybavení, které nepříjdou do styku s vnitřním médiem. Označení oceli „L“ znamená, že nerezová ocel obsahuje méně než 0,03% uhlíku, což snižuje tvorbu karbidu chromu v průběhu svařování a u svaru snižuje potenciál pro pozdější mezikrystalovou korozi. Ve srovnání s typem 304L, je ocel 316L podstatně odolnější vůči chloridům, způsobujícím šterbinovou a důlkovou korozi. Bezpečné množství chloridu pro trvalý kontinuální styk s ocelí typu 316L je přibližně 150 ppm (parts-per-million) a to hlavně při vysokých teplotách, ke kterým by mohlo dojít v průběhu sterilizace nádoby. [14] Bioreaktory velkých rozměrů jsou kompletně vyrobeny z nerezové oceli, která má více než 4% obsah chrómu. Navíc kromě chrómu obsahuje ocel 316L i určité množství niklu a molybdenu. Ty tvoří hydratovaný oxidový plášť na povrchu, který je neporézní, hladký a nerozpustný v roztoku média.

Běžně se tedy využívá nerezová ocel typu 316L, která obsahuje 18% chromu, 10% niklu a 2-2,5% molybdenu.

Další materiály, které se používají pro výrobu fermentů je bóro-křemičitanové sklo, zejména používané na nahlížecí okna nebo na výrobu malých bioreaktorů. [13]

Bioreaktory malých rozměrů se rozdělují na dva typy: a) *Skleněné nádoby*, b) *skleněné válce*

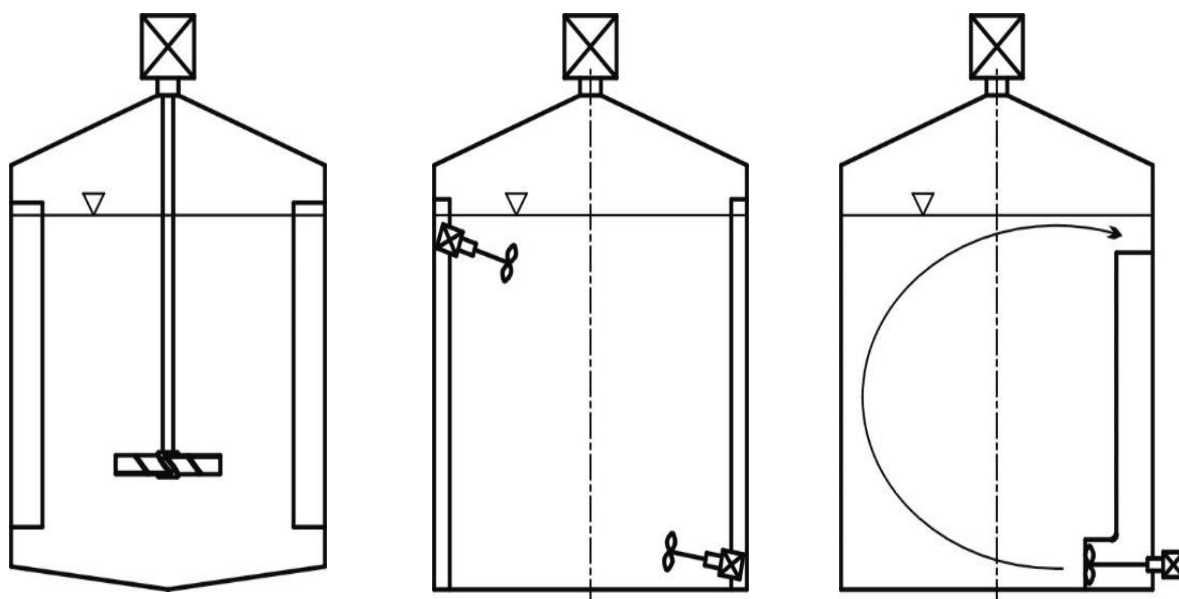
- a) *Skleněné nádoby:* Jsou kompletně tvořené ze skla a mají buďto ploché nebo kulaté dno. Zde se sterilizace nádoby zajišťuje pomocí tzv. autoclavingu (způsob využívající vysokotlakou páru o teplotě 121 [°C] po dobu 15-20 minut).
- b) *Skleněné válce:* Tento druh nádoby je tvořen ze dvou částí. První válcová část je tvořena ze skla, zatímco horní a spodní desky válce jsou vyrobeny z nerezové oceli. Sterilizace je provedena tzv. in-situ (přímo na místě) metodou. [13]

### 3.4. Možnosti konstrukce nádoby a míchacího systému

#### 3.4.1. Mechanicky míchané nádoby

Mechanické míchání nádoby je nejčastěji používaným způsobem míchání. Velikost a geometrie nádoby závisí jak na typu použitého míchadla, tak na fyzikálních vlastnostech vsádky resp. substrátu.

V praxi se lze setkat zpravidla setkat se třemi základními typy konstrukčního uspořádání. Cirkulace vsádky je většinou zajištěna rychloběžnými axiálními míchadly, která mohou být umístěna na centrálním hřídeli (obr. 7a). Pro velkoobjemová zařízení se také používají jejich boční konfigurace (obr. 7b). Třetím méně častým typem míchání je použití míchadla s difuzorem, které slouží jako cirkulační čerpadlo (obr. 7c). [20]



Obr. 7a,b,c. Konstrukční uspořádání mechanicky míchaných nádob [20]

Nicméně z různých experimentálních výsledků vyšlo najevo, že pro míchání reálných substrátů (kejda, sláma s vodou, atp.) je z energetického hlediska výhodné použít axiální míchadlo čerpající směrem ke dnu nádoby.

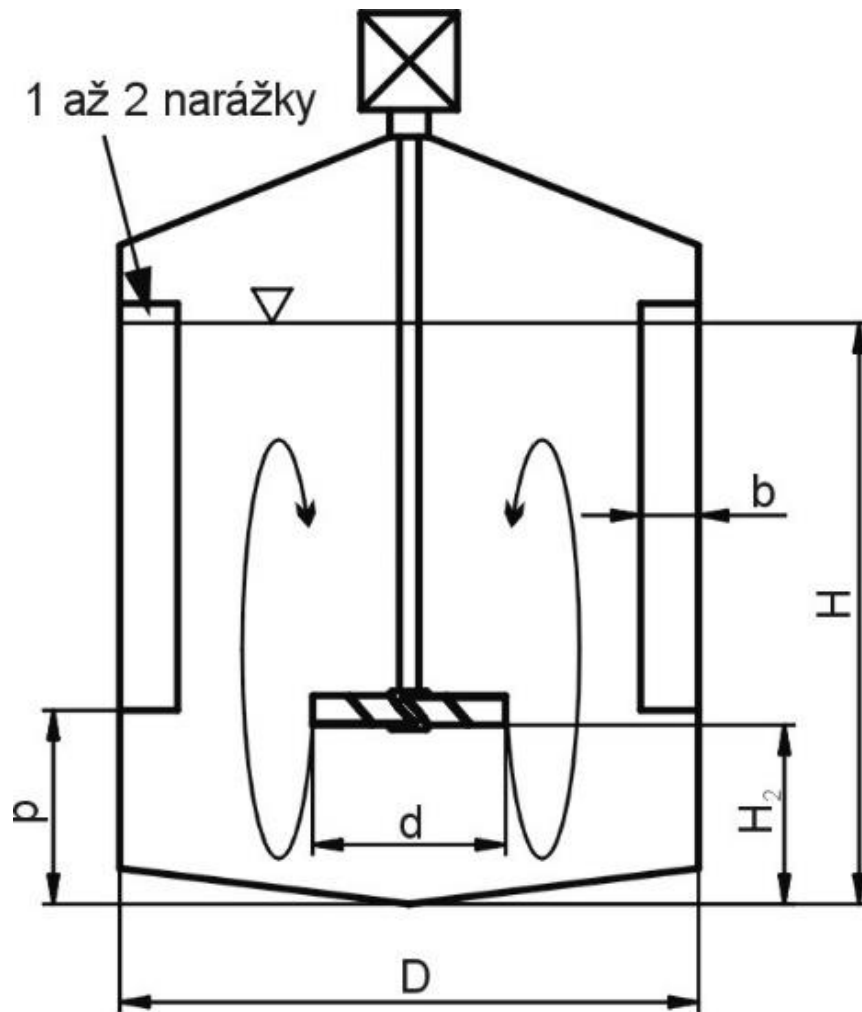
### **Axiální provedení**

Nádoba je vybavena míchadlem ve spodní části hřídele. Toto míchadlo je upevněno blízko dna, většinou ve vzdálenosti od dna rovné průměru míchadla. V nižší poloze na sebe míchadlo a dno nádoby vzájemně působí, což vede ke snížení spotřeby.

Ve vyšších pozicích může dojít k cirkulačním problémům kapaliny a to z důvodu provzdušňování, kdy bubliny nejsou recirkulovány ve spodní části.

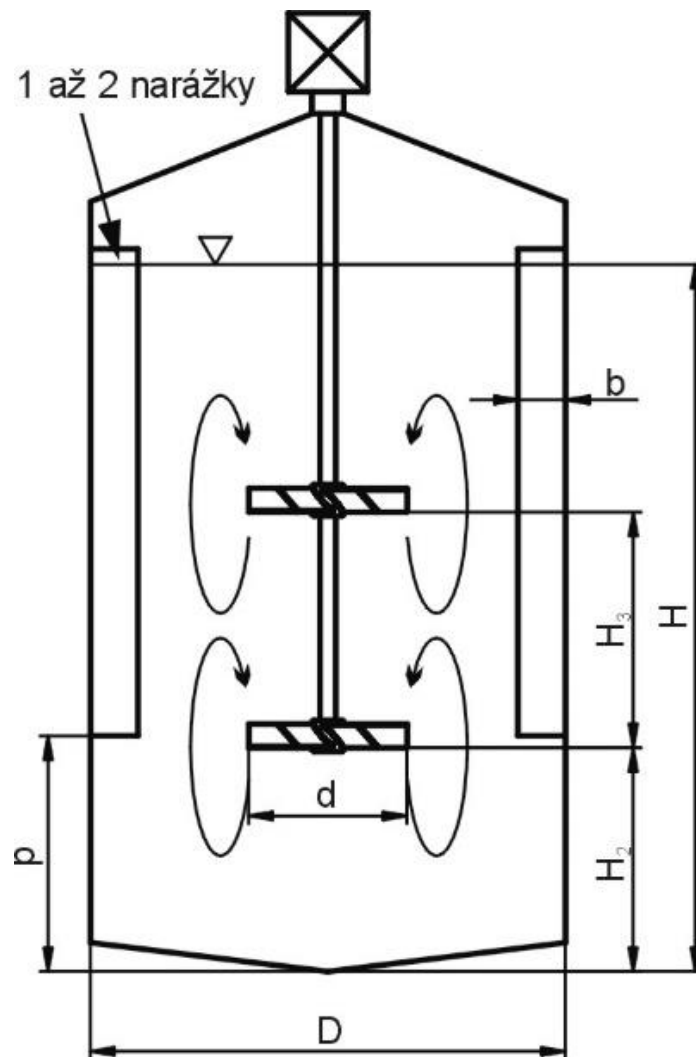
Nádoba je vybavena rozrážeči (přepážkami), aby se zabránilo rotaci vsádky uvnitř nádoby. Pro provzdušnění je pod spodním míchadlem namontován rozprašovač vzduchu. Jedním z hlavních kritérií pro tento typ míchání jsou sterilizace a možnost vyčištění celé nádoby. [11]

Doporučená geometrická konfigurace reaktoru je uvedena na obr. 8., kde je doporučeno dodržet tyto konstrukční zásady: (a)  $D/d = 3$ , (b)  $H_2/d = 1$ , (c)  $p/d = 1$ , (d)  $b/D = 0,1$ . [20]



Obr. 8. Obecná geometrická konfigurace fermentoru s axiálním míchadlem [20]

Pro štíhlejší vyhnívací nádoby, kde poměr výšky hladiny  $H$  k průměru nádoby  $D$  je vyšší jak 1,5, je výhodné použít etážové míchadlo (obr. 9.). Etážové míchadlo znamená použití více rychloběžných axiálních míchadel umístěných na společné hřídeli, přičemž umístění jednotlivých míchadel je dáno tak, že musí svými čerpajícími účinky pokrýt celou nádobu. [20]

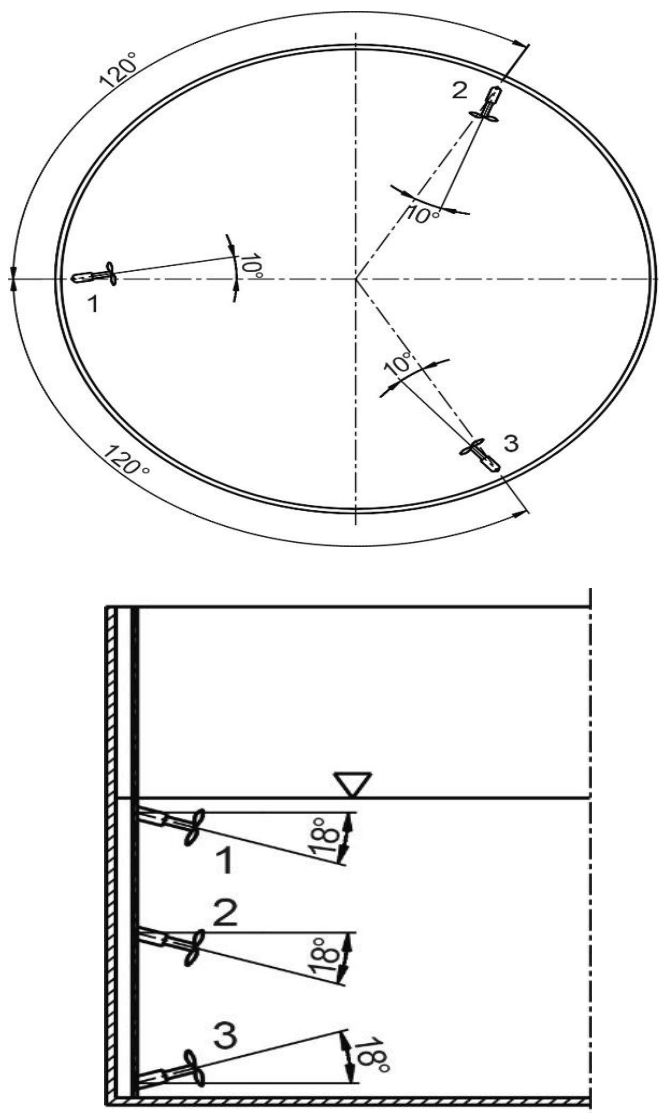


Obr. 9. Obecná geometrická konfigurace fermentoru s etážovým míchadlem [20]

U fermentačních zařízení, kde výška hladiny substrátu  $H$  nedosahuje průměru nádoby  $D$ , je výhodné použít excentricky umístěné axiální míchadlo. [20]

## Boční provedení

Pro míchání velkoobjemových fermentorů (cca nad 1000 m<sup>3</sup>) se používají konfigurace rychloběžných axiálních míchadel převážně v bočním provedení. Z hlediska optimalizace homogenity vsádky při míchání byla experimentálně zjištěna vhodná konfigurace míchacího ústrojí (obr. 10a,b.)



Obr. 10a,b. Optimální konfigurace uspořádání míchadel ve velkoobjemovém fermentoru [20]

Při míchání takovýchto nádrží je nutné zajistit, aby míchadlo umístěné nejbližší k hladině, dodávalo dostatečný příkon potřebný k strhávání plouvoucích částic. Je třeba dosáhnout měrného příkonu alespoň 40 W/m<sup>3</sup>, přičemž pro promíchání vsádky pak postačí příkon menší. [20]



## Míchání a provzdušňování

Řízení míchání a provzdušňování může být v průběhu fermentace ovlivněno použitím tří v podstatě různých variant:

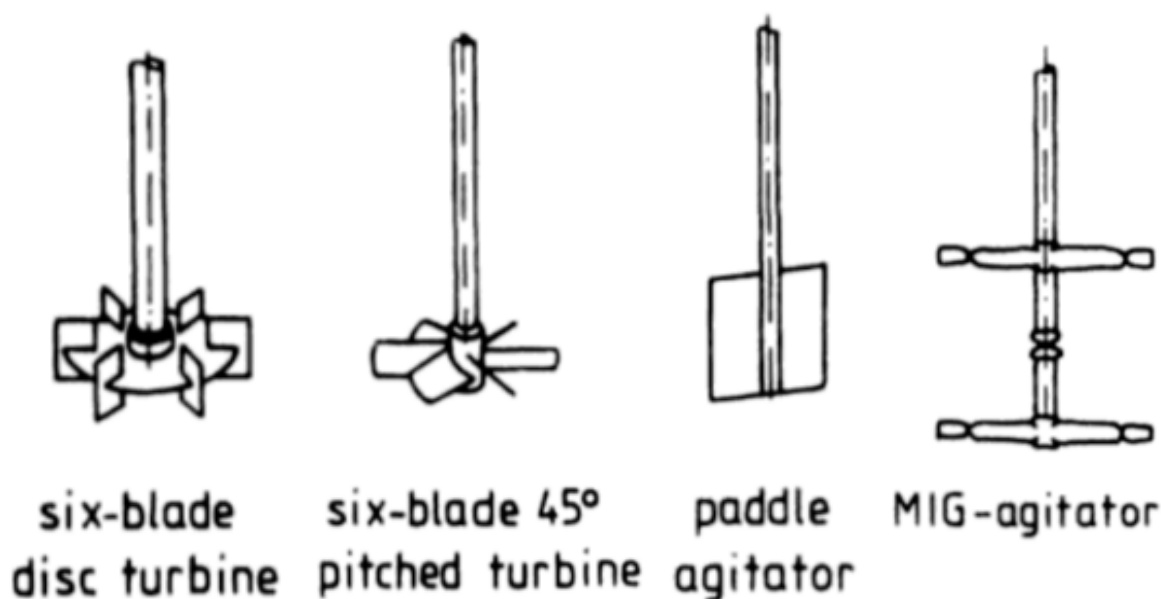
- (i) Kontrola předem stanovených podmínek pro míchání a provzdušňování. Toho může být dosaženo pomocí změny ohledně kvality vstupujících surovin a inokula, pomocí změn reologických (deformačních) vlastností fermentačního média nebo pomocí změny rychlosti rozpouštění a spotřeby kyslíku. Obecně platí, že provoz daný touto variantou není optimální pro antibiotické biosyntetické procesy, které se vyznačují nízkou reprodukovatelností.
- (ii) Řízení určitých fyzikálně-chemických parametrů charakterizujících účinnost míchání a provzdušňování s ohledem na jejich působení na proces. Typickým příkladem je řízení koncentrace rozpuštěného kyslíku. Výhodným příkladem pro řízení koncentrace rozpuštěného kyslíku je ovlivňovat (utlumovat) poskytnutý produkující organismus nebo ovlivňovat biosyntetický chod. Ve všech ostatních případech je postačující, udržovat koncentraci kyslíku v nadlimitní úrovni.
- (iii) Řízení určitých biochemických parametrů charakterizujících výsledek procesu. Například měřením ovládat intenzitu dýchání kultury za pomoci automatických přístrojů. Reakce kultury reagující na změnu parametrů během fermentace je dostatečně rychlá a reverzibilní na krátkodobé poruchy.

Míchání a provzdušňování je ovlivněno: (a) *Pohaněčem nebo míchadlem*, (b) *Přepážkami* a (c) *Rozprašovačem*.

(a) *Poháněč nebo míchadlo*

Skládá se z hřídele, na kterém je 4 až 6 čepelí, a z motoru pro pohon. Hřídel by měla mít dvojité těsnění, aby se zabránilo jakémukoliv úniku obsahu uvnitř fermentoru. Poháněč napomáhá homogennímu míchání živin a vzduchu i přenosu kyslíku. Vzduchové bubliny narážejí do míchadla a poté jsou náležitě distribuovány do média.

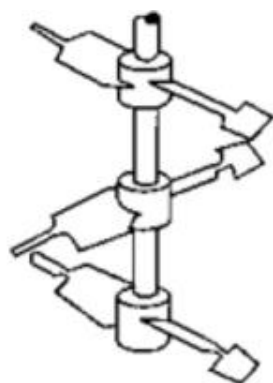
Na obr. 11. jsou ukázány druhy míchadel, které jsou běžně používány.



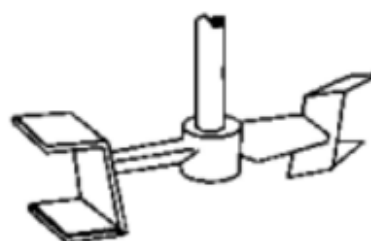
Obr. 11. Používané druhy míchadel [11]

Standardní disková turbína je nejvíce rozšířeným typem poháněče. Její průměr  $d$  je  $1/2$  až  $1/3$  (většinou  $1/3$ ) průměru nádoby. Tato turbína je typickým generátorem radiálního toku se 4 až 6 ostřími (lopatkami). V ose mixéru (hřídele) jsou ve většině případů použity 2 až 3 turbínové míchadla. Daný mixér zajišťuje nejvyšší příkon při pevných hodnotách rotační rychlosti mixéru (index výkonu  $K_N = 5-7$ ). Tento míchací systém zajišťuje dostatečný chod míchací intenzity, rozptyl bublin a další míchací činnosti. Navíc v porovnání s ostatními typy tento míchací systém zabezpečuje nejvyšší zahajovací výkon při konstantních rotační rychlosti.

Nicméně existují i takové kultivační postupy mikroorganismů, že aplikace standartního turbínového mixéru neposkytuje při jejich fermentaci optimální kultivační podmínky a může nastat nezvratné poškození buněk mikroorganismů, jako tomu je u myceliálních organismů. Pro míchání mechanicky citlivých myceliálních organismů je doporučen takový míchací systém, který převážně generuje axiální toky a tím zajištěné rovnoměrnější promíchání celého objemu reaktoru. V těchto případech patří mezi nejrozšířenější míchadla Ekato Intermig (obr. 12.), tzv. míchací systém s vratným tokem. V tomto případě musí v nádobě být zcela laminární míchací režim. [3]



Ekato MIG



Ekato INTERMIG

Obr. 12. Ekato Intermig – míchací systém s vratným tokem [17]

(b) *Přepážky*

Přepážky jsou zásadně vertikálně umístěné desky (jejich šířka je asi 10% z průměru nádoby bioreaktoru). Obvykle jsou v nádobě 3 až 4 takové desky. Přepážky jsou pro míchání nepostradatelné hlavně v tom ohledu, že zvyšují efektivitu provzdušňování a zabraňují víření. Přepážky navíc pomáhají tvorbě turbulentního charakteru proudění uvnitř bioreaktoru. Společně s míchadlem vytvářejí v nádobě axiální nebo radiální způsob míchání v reaktoru. K přepážkám mohou být taktéž upevněny chladičí cívky, aby se snížilo vytváření tepla, nicméně použití přepážek zvyšuje spotřebu elektrické energie o 20% při stejné rychlosti míchání.

(c) *Rozprašovač*

Rozprašovače jsou zařízení, které bioreaktoru poskytují filtrovaný vzduch skrze dno. Filtrovaný vzduch je do nádoby přiveden ve formě malých vzduchových bublinek pro zajištění řádného provzdušnění a míchání. Nejrozšířenějším konstrukčním řešením je smyčka trubek s malými dírkami ve spodní části (průměr dírek je 0,05 – 0,15 mm).

Pro fermentaci myceliální kultury se používá smyčkový rozstřikovač s kuželovitým výstupním kanálem. Tato konstrukce zabraňuje možnému narůstání trhlin, protože v tomto případě je průměr výstupu trubky větší (stejně jako tlak), jelikož není rozdělen mezi několik trubek.

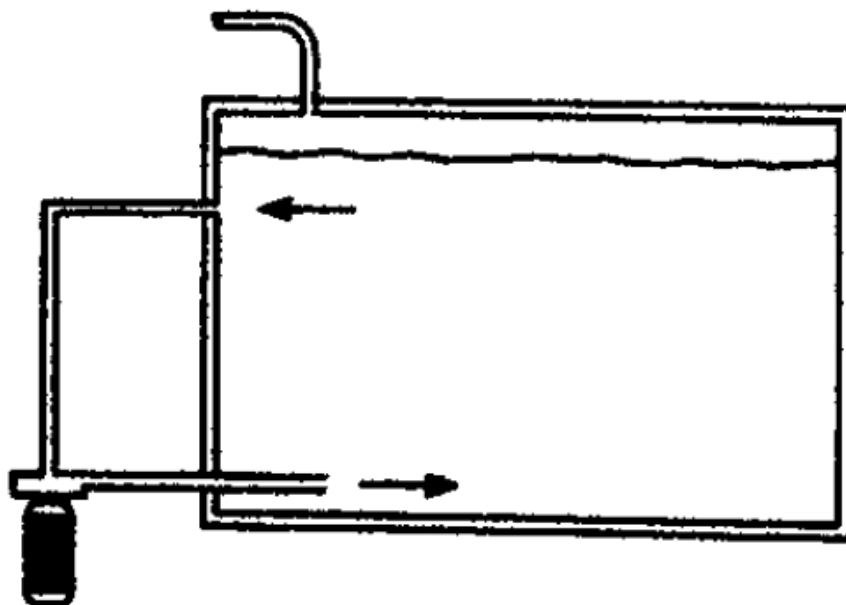
*Kombinace míchadla a rozprašovače*

Někdy se vzduch přivádí skrze míchací hřídel a míchání jako takové je v médiu zajištěno pomocí děr v míchacích čepelích.

### 3.4.2. Hydraulicky míchané nádoby

K hydraulickému míchání se většinou užívá výkonné čerpadlo, které zároveň může sloužit k přečerpávání substrátu z přípravné nádrže do fermentoru a vyhnílého substrátu ze skladovací nádrže do cisterny. Nasávání substrátu a plnění fermentoru musí probíhat tak, aby se obsah vyhnívací nádrže rovnoměrně promíchával v celém jejím objemu. K tomuto účelu se nejčastěji používají **míchací trysky**, které se dají natáčet jak ve vodorovné, tak i ve svislé rovině.

Hydraulické míchání má tu výhodu, že uvnitř fermentoru nejsou umístěny žádné pohyblivé části a jelikož se nachází mimo prostor vyhnívací nádrže, tak jsou i snadno přístupné. Použití hydraulického míchání se však omezuje na velmi řídké substráty, které nejsou náchylné k tvorbě usazenin a plovoucího koláče, takže se především využívají v odvětví čištění odpadních vod. Dalším negativem je pro velkoobjemové nádrže nutnost použití obrovských čerpadel, kdy uvnitř čerpadel vznikají velká smyková napětí, která pak způsobují destrukci namnožených mikroorganismů.

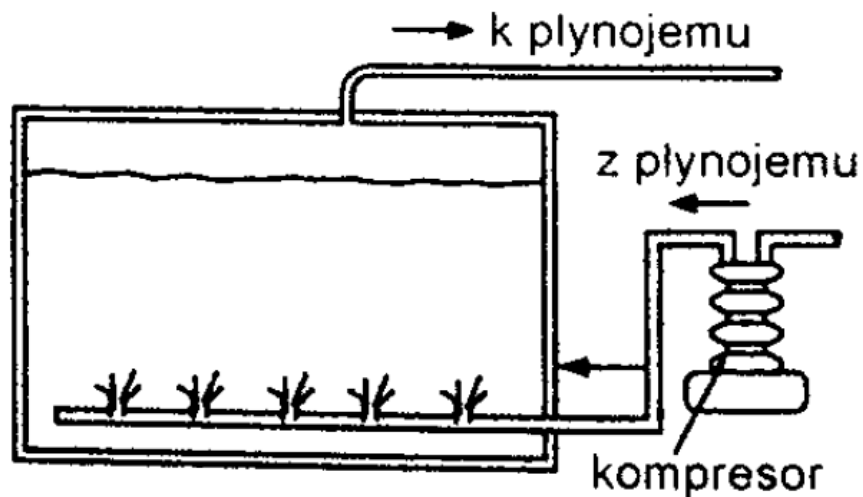


Obr. 13. Schématické zobrazení hydraulicky míchaného fermentoru [20]

### 3.4.3. Pneumaticky míchané nádoby

Metoda míchání stlačeným plynem spočívá ve využití vznikajícího bioplynu. Vznikající bioplynové bubliny vyvolávají v substrátu vertikální pohyb, nikoliv však horizontální, tudíž fermentor není promícháván v plném rozsahu. U tohoto systému míchání nedochází k oděru mechanických částí, jako je tomu např. u rotačního axiálního míchadla a není spotřebována ani energie na jeho pohon. Pořizovací náklady tohoto zařízení jsou ale dosti vysoké a kvůli relativně vysokým hodnotám tlaku plynu je nutné dokonalé utěsnění fermentoru. Další omezení představuje i samotná produkce bioplynu, poněvadž za den se zhruba vyprodukuje takové množství bioplynu jako je objem nádrže a tudíž je ho pro míchání málo.

Obecné schéma pneumaticky míchané nádoby je zobrazeno na obr. 14. [20]



Obr. 14. Obecné schéma pneumaticky míchané nádoby [20]

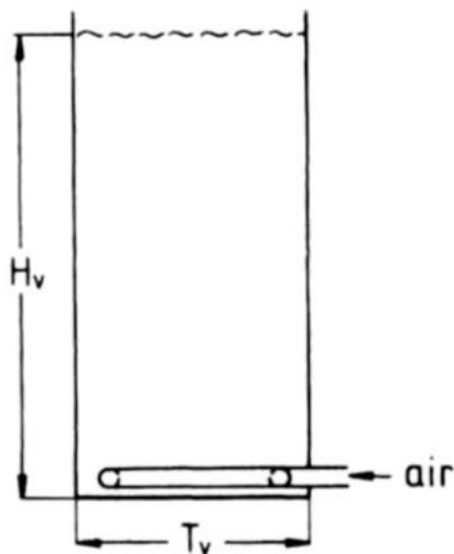
Z hlediska konstrukce pneumatického promíchávání existují různé druhy nádoby, jako například: (i) Nádoba se vzduchovými bublinami, (ii) Nádoba s cirkulací plynu.

### **Nádoba s plynovými bublinami**

Ve většině případů je výška  $H_v \geq 2T_v$ . Na dně je namontovaný rozvodný prstenec plynu. Aby se zabránilo příliš heterogennímu proudění substrátu ve spodní části, rozprašovací trysky musí rozděleny po průřezu dna.

Nejvíce používaná konstrukční uspořádání jsou například uspořádání do prstence, několik paralelních trubek, nebo konstrukce trubek do hvězdy. Do zmíněných trubek jsou vyvrtány díry. [11]

*Okruh vědy zvaný přenos hmoty ukazuje, že příliš komplikované rozprašovače nebo malé díry v trubkách jen znevýhodňují veškerou aplikaci rozprašovačů. [11]*

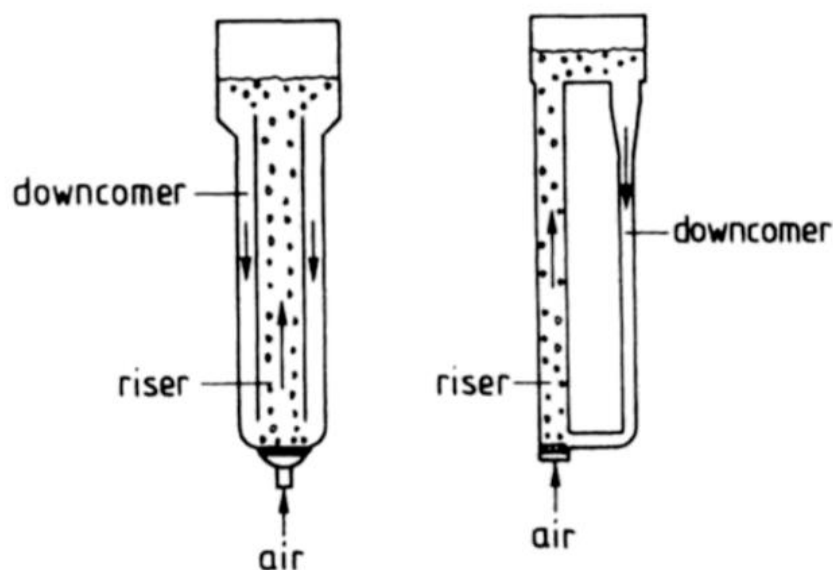


Obr. 15. Schématické zobrazení bublinkového fermentoru [11]

### Nádoba s cirkulací vzduchu (air-lift)

Tento reaktor se skládá ze dvou trubek, které jsou propojené v horní a spodní části nádoby. V jedné z trubek, tzv. stoupací trubka, je vzduch probubláván v její spodní části (dno). Vzduch stoupá a uniká do horní části. Proto ve většině případů v druhém potrubí, tzv. klesající trubka, není přítomen žádný vzduch. Rozdíl hustot v těchto dvou potrubích (stoupající a klesající) způsobuje intenzivní cirkulaci kapaliny.

Mohou být použity dvě konstrukční uspořádání: (i) reaktor vnitřní cirkulační smyčky (obr. 16a) a (ii) reaktor vnější cirkulační smyčky (obr. 16b). [11]



Obr. 16a,b. Schématické zobrazení pneumatické nádoby typu air-lift [11]

### 3.5. Možnosti konstrukce teplosměnných ploch

Sdílení tepla má pro energetickou bilanci procesu tvorby biopaliv zásadní vliv. [21] Požadavky na přenos tepla se liší podle druhu reaktoru a podle náročnosti typu fermentace.

Anaerobní fermentory a jejich buněčná kultura se promíchávají pouze v určité časové periodě. Například u fermentorů pro bioplyn probíhá promíchávání pouze 5 – 10 minut za hodinu, po zbytek času nastává *volná konvekce*. Pro tento proces je typický nízký součinitel přestupu tepla a celkový přenos tepla je také nízký.

Aerobní fermentory se na druhou stranu promíchávají kontinuálně z důvodu neustálé nutné distribuce plynu do vsádky. V aerobní fermentaci tedy nastává *nucená konvekce*. Pro tento proces je typický vyšší součinitel přestupu tepla a celkový přenos tepla je vyšší vůči anaerobnímu systému. Obecně se do celkové bilance přenosu tepla započítává teplo od míchání a od sil vzduchové rozpínivosti, zatímco teplo od odpařující se vody (díky proudu plynu) se odečítá od celkové bilance přenosu tepla.

Obecně je celkové tepelné zatížení zpravidla mnohem menší oproti většině chemických reakcí. Nicméně odstranění této tepelné zátěže je poněkud více komplikované právě kvůli nízkým provozním teplotám, které se pohybují přibližně okolo 30-40 [°C]. [6]

Mezofilní a zvláště pak termofilní mikroorganismy vyžadují přehřívání, resp. ochlazování substrátu, jelikož biologický růst bakterií je exotermický. Je také zapotřebí, aby se minimalizovaly tepelné ztráty do okolí.

Podstatou **optimálního fermentačního procesu** je dlouhodobě vyrovnaná teplota uvnitř fermentoru. V zásadě platí to, že čím vyšší je teplota fermentačního procesu, tím jsou mikroorganismy náchylnější k teplotním výkyvům, zejména jsou-li krátkodobé. Zatímco u mezofilních mikroorganismů je oblast kolísání fermentačních teplot v rozmezí 2 - 3 [°C], tak u termofilních mikroorganismů by neměla hodnota kolísání kolem střední teploty být vyšší než 1 [°C]. Pokud se nedodrží tato teplotní rozmezí, může dojít k odumírání organismů, čili brždění fermentačního procesu nebo v nejhorším případě i k jeho naprostému zastavení. [21]



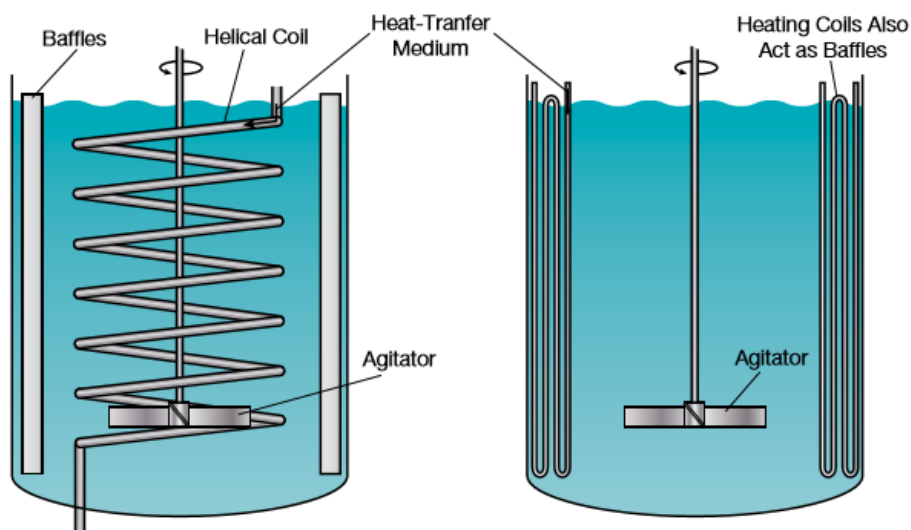
### Příčiny kolizí teplot:

- dávkování příliš studeného čerstvého substrátu
- tvorba teplotních zón na základě izolace, neefektivní nebo chybě nadimenzované topení, nedostatečné promísení, poloha topení
- extrémní vnější teploty v létě a v zimě
- výpadek kogenerační jednotky

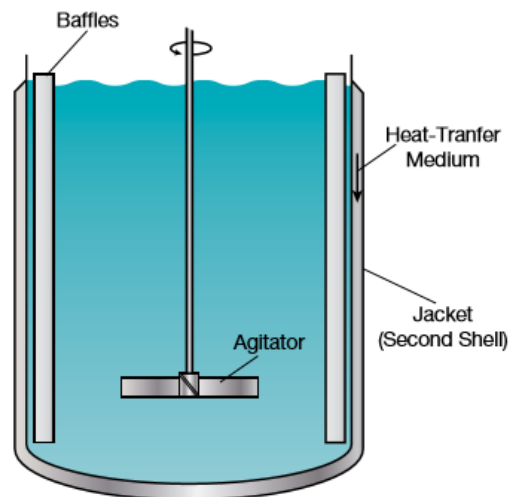
Teplo vzniklé v nádobě může být odstraněno buďto pomocí externí tepelné smyčky (výměník), pomocí vnitřního otopu s duplikátorovými stěnami, nebo pomocí složených „topných hadů“.

Externí tepelné smyčky (výměníky) jsou nejčastějším provedením. Můžou být navrženy pro téměř jakoukoli potřebnou kapacitu. Externí výměníky mají integrované topení a jsou instalovány vně reaktorů. Na druhou stranu může vystavit organismy teplotním šokům a kritickému nedostatku kyslíku. Systém interního otopu s duplikátorovými stěnami nebo se složenými topnými hady se používají pouze zřídka z důvodu obtížného čištění. Pro duplikátorové stěny platí nízké hodnoty koeficientu přestupu tepla. [6, 21]

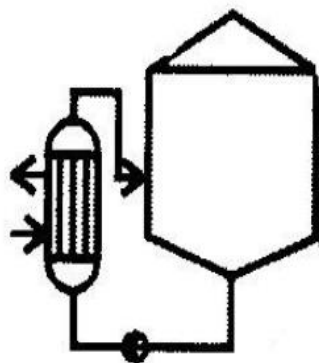
Na obr. 17a,b,c,d,e. jsou znázorněny různé způsoby ohřevu nádrží.



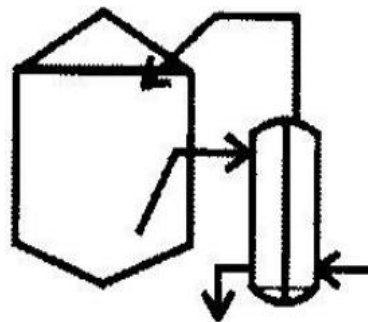
Obr. 17a,b. Vnitřní výměník [6]  
pozn.: na obr. 17b. jsou ohřevné trubky využívány jako míchací přepážky



Obr. 17c. Duplikátorový plášť [6]



Obr. 17d. Externí výměník [21]



Obr. 17e. Rekuperační výměník [21]

### Izolace nádrže

Tepelná izolace je pro fermentory zcela zásadní a to hlavně z důvodu zamezení tepelných ztrát do okolí. Pro tento účel se osvědčily materiály jako minerální vata, desky a rohože z minerálního vlákna, pěnové hmoty, desky z extrudovaného pěnového polystyrénu, polyuretanová pěna nebo různé organické izolační materiály. Nejvíce používané jsou desky nebo rohože z minerálního vlákna, které jsou kryté trapézovým plechem nebo dřevem.

V tab. VI. jsou uvedeny charakteristiky potřebných izolačních materiálů. [21]

<p><b>Obecná charakteristika</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– <i>materiál ve fermentoru nebo pod povrchem země:</i> látky s uzavřenými póry jako PU (polyuretan) tvrzená pěna a pěnové sklo, které zabraňují pronikání tekutin</li> <li>– <i>materiál nad zemským povrchem:</i> minerální vlna, rohože z minerálních vláken, rohože z tvrzené pěny, extrudovaná pěna, polystyren</li> <li>– <i>tloušťka izolace:</i> používá se 6 – 10 cm, doporučeno je však až 20 cm</li> <li>– <i>k-hodnoty:</i> rozmezí od 0,03 – 0,05 W.m<sup>-2</sup>.K<sup>-1</sup></li> <li>– izolační materiál na dně musí unést tlak kapaliny naplněného fermentoru</li> </ul>
<p><b>Technické provedení</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– izolace může být vestavěna uvnitř nebo vně, pozn.: obě provedení jsou rovnocenné</li> </ul>
<p><b>Zvláštnosti</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– všechny izolační materiály musejí být pevné vůči ohlodání</li> </ul>

Tab. VI. Charakteristické znaky izolačních látek [21]

### **Tloušťka izolace**

Tloušťka izolačního materiálu je ovlivněna především tvarem a velikostí vyhnívajícího prostoru, teplotním rozdílem mezi obsahem nádrže a okolním prostředím (vzduch nebo půda) a samozřejmě cenou materiálu. [21]

### 3.6. Možnosti utěsňování součástí

#### 3.6.1. Utěsňování nepohyblivých spojů

Jednou z hlavních kvalitativních srovnávacích vlastností různých bioreaktorů je jejich schopnost zajistit sterilní prostředí pro fermentaci. Aby se zabránilo kontaminaci, využívá se sterilní těsnění.

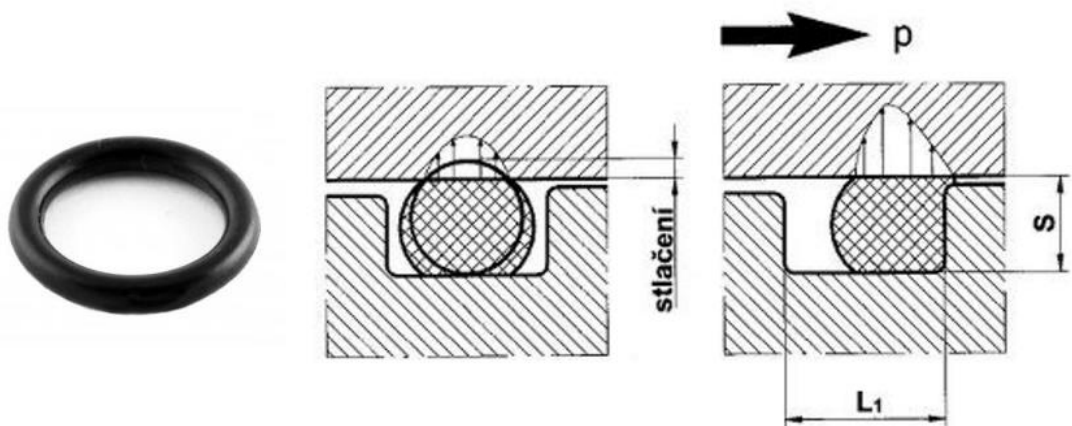
Nejčastěji se využívají 3 základní typy těsnění: a) *těsnění SKLO-SKLO*, b) *těsnění SKLO-KOV*, c) *těsnění KOV-KOV*. [13]

#### Metody těsnění:

- Stlačitelné těsnění (obr. 18.)
- Těsnění pomocí 'o' kroužků (obr. 19a,b.)
- Přírubové těsnění (obr. 20a,b,c.)



Obr. 18. Různé tvary stlačitelných těsnění [24]



Obr. 19a,b. Těsnění pomocí 'o' kroužků [25, 26]

V případě typu *KOV-KOV* se využívá pouze metoda těsnění pomocí o-kroužků. Pro další dva typy (*SKLO-SKLO*, *SKLO-KOV*) se využívá jakákoli z 3 výše uvedených metod těsnění.

O-kroužky jsou nejčastěji používanou metodou těsnění v konstrukci bioreaktoru. Zpravidla jsou finančně nenáročné, snadno vyrobitelné, spolehlivé a mají jednoduché požadavky na montáž.

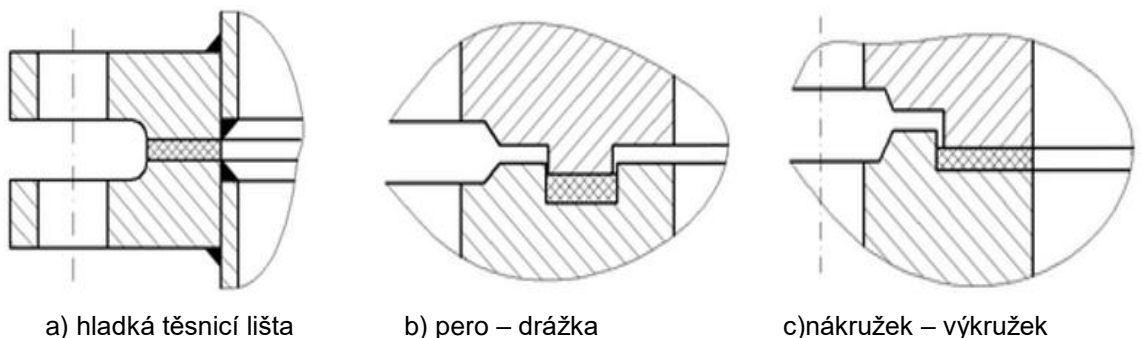
O-kroužky patří do skupiny mechanických těsnění. Skládají se ze smyčky elastomerů s průřezem ve tvaru disku. Jsou navrženy tak, aby byly usazeny v drážce; lisuje se při montáži mezi dvě nebo více částí a na rozhraní vytvářejí utěsnění. [13]

### Přírubové spoje

Zásadní součástí fermentační nádrže jsou hrdla. Ve většině případů se vyskytují *závitová hrdla* nebo *přírubová hrdla*. Doporučuje se použít plochá bezazbestová vláknito-pryžová těsnění. Nejjednodušší konstrukční variantou je utěsnění přes hladkou nebo hrubou těsnicí lištu.

Hladká těsnicí lišta, tj. lišta s drsností 1,6 – 3,2 [μm] se používá pro tvrdá a tenčí těsnění. Hrubá těsnicí lišta, tj. lišta s drsností 25 – 100 [μm] se používá pro měkká a silnější těsnění (obr. 20a.)

V konstrukčním uspořádání přírubového těsnění *pero – drážka* (obr. 20b.) a *nákrůžek – výkružek* (obr. 20c.) je těsnění více chráněno před účinky těsněného prostředí a v případě poškození je vytlačeno ven. Toto konstrukční uspořádání proto nalézají svá uplatnění při provozech za vyšších pracovních tlaků. [27]



Obr. 20a,b,c. Zobrazení 3 základních typů utěsnění přírubových spojů [27]

### 3.6.2. Utěsňování pohyblivých spojů

Problematika utěsňování pohyblivých spojů je zcela zásadní a více komplikovaná než je tomu u nepohyblivých spojů. Jedná se tedy hlavně o ochranu proti vniknutí nečistot při **otáčení hřídele**.

Vyjma použití správného druhu těsnění je také důležité použít *mazadlo* a také ho správně nanést. Při uvedení fermentoru do provozu plní mazadlo významnou funkci při ochraně před vniknutím nečistot do útrobu strojů.

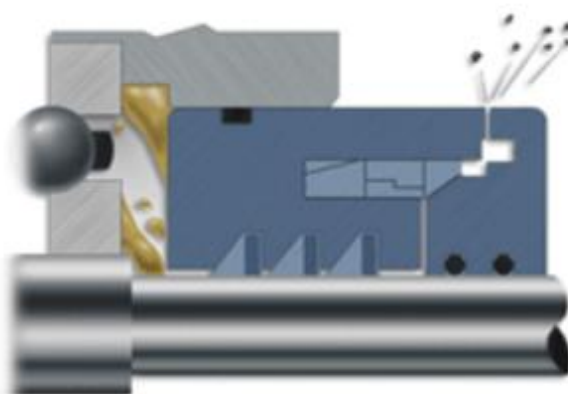
Těsnění pohyblivých spojů plní hned několik funkcí. Je instalováno za účelem zabránění vniku prachu a nečistot, ale také musí udržet substrát uvnitř stroje. [22]

V praxi se můžeme setkat převážně se třemi druhy utěsňování pohyblivých spojů: (i) labyrintové těsnění, (ii) mechanické ucpávky, (iii) stlačované ucpávky.

#### **Labyrintové těsnění**

Tento typ těsnění je bezkontaktní, čili nemůže dojít k opotřebení otěrem. Proto je jejich životnost výrazně delší oproti mechanickým nebo břitovým těsněním. Patříčná nevýhoda labyrintového těsnění je snad jenom jeho značně vyšší pořizovací cena. [22]

Na obr. 21 je zobrazeno typické labyrintové těsnění.



Obr. 21. Labyrintové těsnění [22]

*Základní popis:* Labyrintové těsnění se skládá ze dvou dílů, statorová a rotorová část. Statorová část se připevňuje k zařízení, rotorová část je připojena k hřídeli a rotuje společně s ním. Tyto dva díly do sebe zapadají a zajišťují tak efektivní utěsnění. Rotor a stator dělí velice malá mezera (0,08 mm). Kontaminanty musí před proniknutím k ložiskům projít „bludištěm“ (labyrintem) v těsnění, který sestává z mnoha překážek v podobě zatáček a úhlů. Při cestě labyrintem jsou částice vystaveny působení odstředivé síly (rotační pohyb hřídele), takže přes celé těsnění neprojde téměř žádná nečistota. [22]

### **Mechanické ucpávky**

Mechanické ucpávky jsou zařízení, které slouží stejně jako labyrintové těsnění ke kontrole úniku substrátu a k zábraně vniku nečistot.

Mechanická ucpávka také sestává ze dvou základních částí. První částí je stacionární, druhá část je rotační. Druhá část rotuje vůči stacionární části a tím umožňuje vytvořit požadovaný těsnicí efekt.

Konstrukce mechanických ucpávek, uspořádání jednotlivých součástí a kvalita použitých materiálů jsou v zásadě určovány dle aplikace, tzn. v závislosti na tlaku, teplotě a rychlosti otáčení (hřídele). [23]

Existuje mnoho typů mechanických ucpávek a můžeme je dělit na:

- tlakově odlehčené (balanced seal) a neodlehčené (unbalanced seal)
- kazetové (cartridge) a jednoduché
- jednoduché, jednoduché s proplachem za ucpávkou, dvojitě s netlakovou bariérou, dvojitě s tlakovou bariérou

Na obr. 22a,b,c,d,e. jsou zobrazeny některé ze základních typů mechanických ucpávek.



Obr. 22a. Mechanická ucpávka typu 06G [23]



Obr. 22b. Mechanická ucpávka typu 195 [23]



Obr. 22c. Mechanická ucpávka typu 1662 [23]



Obr. 22d. Mechanická ucpávka typu 1724 [23]



Obr. 22e. Mechanická ucpávka typu 05 [23]

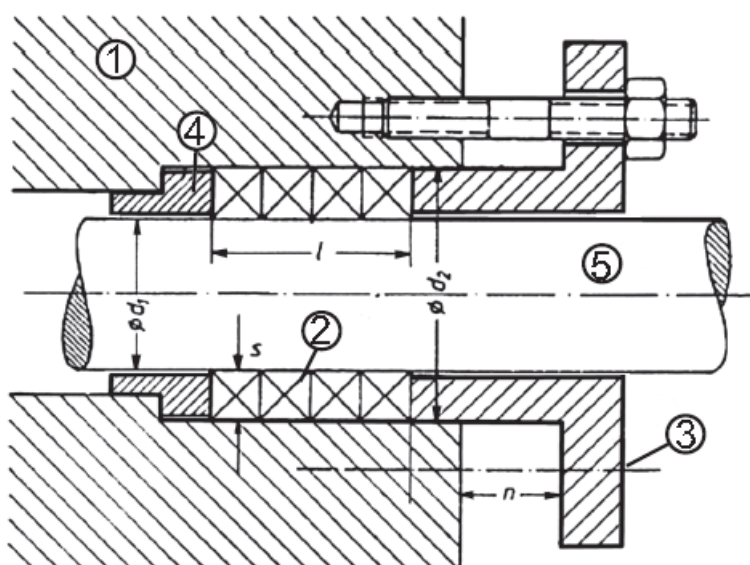


*Základní popis:* Mechanická ucpávka je obecně složena z 5 základních částí.

1. Stacionární část (stacionární kroužek, sedlo) – bývá vyrobeno z karbidu uhlíku (může být sycen nebo impregnován antimonem, pryskyřicí), různých variant karbidu křemíku, keramiky, korozivzdorné oceli.
2. Rotační část (rotační kroužek, dynamický kroužek) – volba materiálu je stejná jako u stacionární části.
3. Sekundární těsnící elementy – O-kroužky rotační a stacionární části, PTFE klín, pryžový vlnovec, ploché těsnění.
4. Vlastní tělo ucpávky popř. unášecí kroužek – z korozivzdorné oceli.
5. Pružící elementy (vlnová pružina, masivní jednopružina, sada pružin, kovový vlnovec, apod.) – bývá vyrobeno z korozivzdorné oceli. [23]

### **Stlačované ucpávky**

Dalším způsobem je těsnění po stlačovaných ucpávkách. Ucpávková těsnění se skládají z určitého počtu kroužků, které jsou vsazeny mezi rotující hřídel a těleso ucpávky. Utažením objímky axiální silou proti nejbližšímu těsnicímu kroužku je vyvolán radiální tlak, který stlačuje ucpávkové kroužky proti stranám tělesa ucpávky a hřídele, a tím dojde k utěsnění. Stlačovanou ucpávkou lze utěsnit tlak pracovního média až 10 [MPa]. Hlavní výhodou je jednoduchá konstrukce, údržba, oprava a především nízká cena. Naopak nevýhodami je značný průsak těsnicího média a velká ztráta na výkonu vlivem tření. [27]



Obr. 23.

Utěsnění hřídele pomocí stlačované ucpávky [28]  
pozn.:

- 1 – ucpávková komora,
- 2 – ucpávka,
- 3 – víko (brýle),
- 4 – opěrný kroužek,
- 5 – hřídel

## 4. Návrh základního konstrukčního uspořádání bioreaktoru pro technologii výroby bioetanolu

*Poslední kapitola mé bakalářské práce se týká navrhnutí konstrukčního uspořádání bioreaktoru pro technologii výroby bioetanolu na základě poznatků, které jsem během svého vypracovávání bakalářské práce získal.*

Předpokladem pro úspěšnou fermentaci je řádně předupravený vstupní materiál (lignocelulózová biomasa). V dalších krocích se budu věnovat pouze konstrukci samotného poloprovozního fermentoru v rozmezí objemů 100 – 5000 litrů.

### **Fermentační nádrž**

Na obr. 24 jsem zobrazil náčrt anaerobního fermentoru pro výrobu bioetanolu.

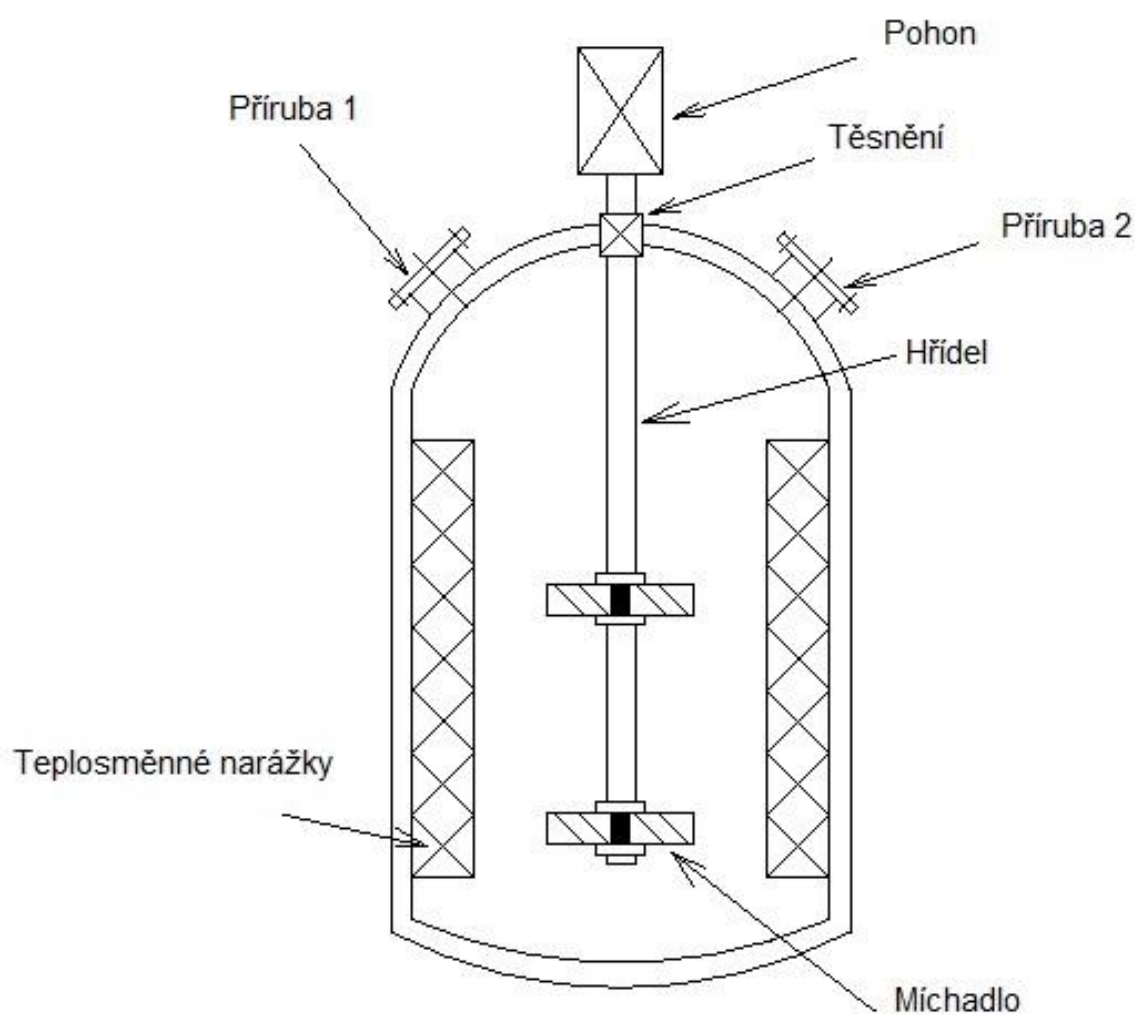
Pro celou konstrukci je použita austenitická nerezová ocel typu 316L.

Na základě získaných poznatků jsem usoudil, že z hlediska konstrukce je velmi důležité, aby nádrž byla co nejlépe čistitelná. Dle mého úsudku je vhodné použít narážky, aby se při míchání zabránilo rotaci objemu. Nicméně jako narážky jsem rovnou použil teplosměnné plochy, tudíž se tímto konstrukčním řešením vyřešily 2 zásadní problematiky najednou.

Pro izolaci nádrže jsou použity rohože z minerálních vláken při tloušťce 20 [cm].

V náčrtu jsem schematicky zobrazil i vstupní a výstupní hrdlo (příruba). Pro utěsnění těchto hrdel jsem použil plochá bezazbestová vláknito-pryžová těsnění přes hladkou lištu.

Pro utěsnění jediného pohyblivého spoje (hřídel) jsem zvolil labyrintové těsnění. Je to dle mého úsudku nejspolehlivější a nejbezpečnější provedení, ačkoliv je nejdražší.



Obr. 24. Náčrt anaerobního fermentoru pro výrobu bioetanolu

## 5. Závěr

Cílem mé bakalářské práce bylo seznámit se s technologiemi výroby moderních biopaliv z lignocelulózové biomasy a hlavně se tedy obeznámit s konstrukčními možnostmi hlavního zařízení celého procesu a to fermentoru.

Konstrukce nádrže je v celkovém pohledu poměrně nenáročná, ačkoliv se musí dodržovat striktní konstrukční postupy, bez kterých je fermentace naprosto neproveditelná. Jedná se zejména o procesní a kultivační podmínky, na jejichž výkyvy jsou mikroorganismy hodně citlivé.

Další problematika je konstrukce jako taková. Konstrukční zásady se liší reaktor od reaktoru, hlavně tedy jedná-li se o reaktor aerobní či anaerobní. Je třeba vyřešit čištění, míchání, utěsňování a konstrukci teplosměnných ploch.

Ve své práci jsem se zabýval i postupnými fázemi předúprav lignocelulózové biomasy, než mohla začít samotná fermentace. Nejdříve se musí vše nadrtit, tepelně zpracovat, hydrolyzovat a až poté je substrát připraven na kvašení.

Dle mého názoru je celá problematika ohledně vědeckých znalostí jak technologií, tak i samotné konstrukce bioreaktorů na dobré cestě k dalšímu rozvoji. Na druhou stranu je zjevné, že aby se biopaliva mohla stát nedílnou součástí společnosti v širším měřítku, je zapotřebí ještě velkého úsilí a hlavně finančních prostředků.

## 6. Seznam literatury

- [1] Jan HROMÁDKO, Jiří HROMÁDKO, Petr MILER, Vladimír HÖNIG, Pavel ŠTĚRBA. Výroba bioethanolu. Praha: Technická fakulta, Česká zemědělská univerzita v Praze, 2009.
- [2] Jan HROMÁDKO, Jiří HROMÁDKO, Petr MILER, Vladimír HÖNIG, Pavel ŠTĚRBA. Využití bioethanolu jako paliva ve spalovacích motorech. Praha: Technická fakulta, Česká zemědělská univerzita v Praze, 2009.
- [3] <http://www.biom.cz> [online]. CZ Biom – České sdružení pro biomasu, z.s. [2008]. Dostupné z: [http://biom.cz/upload/6e01d6d4c4835ec93cda508772f3bf6e/motorova\\_paliva\\_a\\_biopaliva.pdf](http://biom.cz/upload/6e01d6d4c4835ec93cda508772f3bf6e/motorova_paliva_a_biopaliva.pdf)
- [4] Bishnu JOSHI, Megh Raj BHATT, Dinita SHARMA, Jarina JOSHI, Rajani MALLA, Lakshmaiah SREERAMA. Biotechnology and Molecular Biology Review Vol.6. Academicjournals [online]. ISSN 1538-2273 ©2011 Academic Journals, 2011. Dostupné z: <http://www.academicjournals.org/BMBR>
- [5] P.F.H.Harmsen, W.J.J. Huijgen, L.M. Bermúdez López, R.R.R Bakker. Literature Review of Physical and Chemical Pretreatment Processes for Lignocellulosic Biomass. BioSynergy project (2007-2010). ECN-E—10-013. September 2010.
- [6] Gregory T. BENZ. Bioreactor design for Chemical Engineers. CEP Magazine [online]. August, 2011. Dostupné z: <http://d.umn.edu/~rdavis/courses/che4601/notes/BioreactorDesignForChEs.pdf>
- [7] Alya LIMAYEM, Steven C. RICKE. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. Progress in Energy and Combustion Science. Volume 38. Department of Food Science, University of Arkansas, August 2012. Strany 449-467. Dostupné z: <http://80.www.sciencedirect.com/dialog.cvut.cz/science/article/pii/S0360128512000172>
- [8] Tina Hesman SAEY. *Saccharomyces cerevisiae* [fotografie z mikroskopu]. Science news. Dostupné z: <https://www.sciencenews.org/article/first-chromosome-made-synthetically-yeast?mode=topic&context=87>
- [9] Genome sequence of the lignocellulose-bioconverting and xylose-fermenting yeast *Pichia stipitis*, Nature Biotech. *Pichia stipitis*. DOE Joint Genome Institute – JGI MycoCosm. Dostupné z: <http://genome.jgi.doe.gov/Picst3/Picst3.home.html>
- [10] Qian KANG, Lise APPELS, Tianwei TAN, Raf DEWIL. Bioethanol from Lignocellulosic Biomass: Current Findings Determine Research Priorities. The Scientific World Journal. Volume 2014, Article ID 298153, 13 pages. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/298153>

- [11] Klaas van't Riet, Johannes TRAMPER. Basic Bioreactor design. New York: Marcel Dekker, INC, 1991. ISBN: 0-8247-8446—4. Dostupné z: [https://books.google.cz/books?hl=cs&lr&id=vlaTY3v4hXUC&oi=fnd&pg=PP7&dq=fermenter%20design&ots=1fguFDEQKm&sig=ZHR0yAWcZ0QFiCUN\\_3Z\\_en04TrM&redir\\_esc=y#v=onepage&q=fermenter%20design&f=false](https://books.google.cz/books?hl=cs&lr&id=vlaTY3v4hXUC&oi=fnd&pg=PP7&dq=fermenter%20design&ots=1fguFDEQKm&sig=ZHR0yAWcZ0QFiCUN_3Z_en04TrM&redir_esc=y#v=onepage&q=fermenter%20design&f=false)
- [12] P. F. STANBURY, A. WHITAKER, S. J. HALL. Principles of Fermentation Technology. Druhé vydání. Great Britain: Elsevier, 2013. ISBN 1483292916. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=CW8vBQAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=cs#v=onepage&q&f=false>
- [13] P.K. SIVAKUMAAR, M.M. JOE, K. SUKESH. An Introduction to Industrial Microbiology [online]. Ram Nagar, New Delhi-110 055: S. Chand Publishing, 2010. ISBN 8121935199. Dostupné z: [https://books.google.cz/books?id=A50rDAAAQBAJ&pg=PA49&dq=bioreactor+material&hl=cs&sa=X&redir\\_esc=y#v=onepage&q=bioreactor%20material&f=false](https://books.google.cz/books?id=A50rDAAAQBAJ&pg=PA49&dq=bioreactor+material&hl=cs&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=bioreactor%20material&f=false)
- [14] Yusuf CHISTI. Build Better Industrial Bioreactors. Massey University, University of New Zealand [online]. Massey University, January 1992. Dostupné z: <http://www.massey.ac.nz/~ychisti/BuildBet.pdf>
- [15] Colin RATLEDGE, Bjorn KRISTIANSEN. Basic Biotechnology [online]. 2.vydání. United Kingdom, Cambridge: Cambridge University Press, 2001. ISBN 0521779170. Dostupné z: [https://books.google.cz/books?id=x-N-DsC-7AEC&pg=PA161&dq=bioreactor+CIP&hl=cs&sa=X&redir\\_esc=y#v=onepage&q=bioreactor%20CIP&f=false](https://books.google.cz/books?id=x-N-DsC-7AEC&pg=PA161&dq=bioreactor+CIP&hl=cs&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=bioreactor%20CIP&f=false)
- [16] William L. HOCHFELD. Producing Biomolecular Substances with Fermenters, Bioreactors, and Biomolecular Synthesizers. Boca Raton: CRC Press, 2006. ISBN 1420021311. Dostupné z: [https://books.google.cz/books?id=9-zKBQAAQBAJ&pg=PA168&dq=bioreactor+CIP&hl=cs&sa=X&redir\\_esc=y#v=onepage&q=bioreactor%20CIP&f=false](https://books.google.cz/books?id=9-zKBQAAQBAJ&pg=PA168&dq=bioreactor+CIP&hl=cs&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=bioreactor%20CIP&f=false)
- [17] Edward L. PAUL, Victor A. ATIEMO-OBENG, Suzanne M. KRESTA. Handbook of Industrial Mixing [online]. New Jersey, Hoboken: John Wiley & Sons, 2004. ISBN 0471451444, 9780471451440. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=s4SsrmvEc7QC&pg=PA354&dq=ekato+intermig&hl=cs&sa=X&ved=0ahUKEwj5vZHL8LHOAhUBOywKHdsWATwQ6AEINTAA#v=onepage&q=ekato%20intermig&f=false>
- [18] Biocatalysed-production of fuel ethanol from lignocellulosic biomass. IFP Energies nouvelles [online] © 2016 IFP Energies nouvelles. Dostupné z: <http://www.ifpenergiesnouvelles.com/Research-themes/New-energies/Producing-fuels-from-biomass/Biocatalysts-one-of-IFPEN-s-expertise-field-Questions-to-Frederic-Monot-Head-of-the-Biotechnology-Department-at-IFPEN>
- [19] Jan PÁČA. Bioreaktory, I. Rozdělení reaktorů. Kvasný průmysl 33. Ročník 1987, číslo 1, strany 20 – 21.

- [20] Lukáš KRÁTKÝ. Fermentor na přípravu biopaliv. Konference Studentské Tvůrčí Činnosti. Praha: ČVUT v Praze, Fakulta strojní, 2009. Strany 3 – 8.
- [21] Jan SKOČILAS, Lukáš KRÁTKÝ, Tomáš JIROUT. Ohřev biomasy o rozměrech menších než 5 mm a obsahu vody v rozmezí 10 až 80 %. Praha: České vysoké učení technické v Praze, 2011, 15.březen.
- [22] Labyrintové těsnění [online]. E – konstruktér, Portál pro strojní konstruktéry. Provozovatel: Petr Filip. [vid. 18.05.2014, © 2013 - E-konstruktér). Dostupné z: <http://e-konstrukter.cz/novinka/labyrintove-tesneni>
- [23] Mechanické ucpávky [online]. Pokorný, spol. s.r.o., © 2016. Dostupné z: <http://www.tesneni.cz/katalog-produktu/tesneni-rotacnich-stoju/mechanicke-ucpavky>
- [24] Gaskets. Design world [online]. Copyright © 2016 WTWH Media. [vid. February 15, 2012]. Dostupné z: <http://www.designworldonline.com/selecting-ideal-gasket-materials/>
- [25] tesneni-o-krouzek-10x14x2mm. FUNtown [online]. © 2012 FUNtown. Dostupné z: <http://funtown.cz/cs/trial-brzdy/1099-tesneni-o-krouzek-10x14x2mm.html>
- [26] stlacení. SITTECH Specialisté na těsnění [online]. © SITTECH CZ s.r.o.. Dostupné z: <http://sittech.cz/o-krouzky>
- [27] Lukáš KRÁTKÝ, Tomáš JIROUT. Moderní trendy předúprav biomasy pro intenzifikaci výroby biopaliv 2. generace. Praha: České vysoké učení technické v Praze, 2015. 190 stran. ISBN 978-80-01-05720-9.
- [28] HENNLICH INDUSTRIETECHNIK, spol. s r.o. [online]. Ucpávkové těsnicí šňůry – Konstrukční údaje. 2009. Dostupné z: <https://www.hennlich.cz/>