

Masterarbeit

Masterarbeit zur Erlangung des akademischen Grades eines Diplom-Ingenieurs
der Studienrichtung Chemical and Pharmaceutical Engineering
an der Technischen Universität Graz

Scale up eines Fermentationsprozesses zur Herstellung von Polyhydroxyalkanoaten

Sobitsch Matthias, BSc

Betreuer:

Ao.Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn. Michael Narodoslawsky

Graz, August 2013

Deutsche Fassung: Beschluss der Curricula-Kommission für Bachelor-, Master- und Diplomstudien vom 10.11.2008
Genehmigung des Senates am 1.12.2008

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst, andere als die angegebenen Quellen/Hilfsmittel nicht benutzt, und die den benutzten Quellen wörtlich und inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am

(Unterschrift)

Englische Fassung:

STATUTORY DECLARATION

I declare that I have authored this thesis independently, that I have not used other than the declared sources / resources, and that I have explicitly marked all material which has been quoted either literally or by content from the used sources.

date

(signature)

Danksagung

Mein Dank gebührt allen, die mir bei dieser Arbeit und im Laufe meines Studiums mit Rat und Tat zur Seite gestanden sind.

Zu allererst möchte ich mich bei meinem Betreuer Univ-Prof. Dr. Michael Narodoslawksy für seine Betreuung, Unterstützung und Begutachtung meiner Arbeit recht herzlich bedanken.

Des weiteren möchte ich mich bei Dr. Martin Koller, vom Institut für Biotechnologie und Bioprozesstechnik, für seine fachlich kompetente Hilfestellung bei der Beschreibung und Erarbeitung des biotechnologischen Aspekts der Arbeit bedanken.

Ein großer Dank gebührt auch meiner Freundin Katrin, die mir den Rückhalt und die notwendige Zeit, nicht nur bei der Erstellung dieser Arbeit, sondern auch während meines Studiums, gegeben hat. Ohne sie und ihr Verständnis für lernintensive Zeiten wäre eine so zügige Fertigstellung der Arbeit und Beendigung meines Studiums sicher nicht möglich gewesen.

Bedanken möchte ich mich auch bei meiner Familie für die Unterstützung im Laufe der vergangenen Jahre. Auch wenn für viele mein Studium ein böhmisches Dorf bleibt, sind sie immer hinter mir gestanden und haben mir die notwendige Unterstützung gegeben.

„Commit your blunder on a small scale and make your profits on a large scale“

L.H. Baekeland 1916

Für Katrin

Kurzfassung

Der weltweite Bedarf an Verpackungsmaterialien und die damit verbundenen Entsorgungsprobleme sind eine Herausforderung für Mensch und Umwelt. Aus diesem Grund wurden von der EU 2010 das ANIMPOL Projekt (Biotechnological conversion of carbon-containing wastes for economic efficient production of high added value products) mit einem Fördervolumen von 3 Millionen Euro ins Leben gerufen. Im Rahmen dieses Projekts sollte die Verwertbarkeit von alternativen Rohstoffquellen, wie etwa Fleischabfällen oder überschüssiger Molke, die ansonsten entsorgt werden müssten, als Ausgangsstoff für die Erzeugung von biologisch abbaubaren und bioverträglichem Kunststoff aus der Familie der Polyhydroxyalkanoate erforscht werden.

Diese Arbeit beschäftigt sich mit dem Scale up, einer Maßstabsvergrößerung, eines Fermentationsprozesses der aus diesem Projekt heraus entwickelt wurde. Die Daten der Laborversuche wurden vom Leiter des ANIMPOL Projekts, Dr. Martin Koller vom Institut für Biotechnologie und Bioprozesstechnik, TU Graz, zur Verfügung gestellt

Aus diesen Laborversuchen wurde ein $k_L a$ -Wert von $4,08 \text{ h}^{-1}$ ausgewählt um ein Scale up durchzuführen. Dieser $k_L a$ -Wert wurde bei einem spezifischem Leistungseintrag von 778 W/m^3 (Drehzahl 1000 min^{-1}), einem H/D Verhältnis von 1,45 und einer Begasungsrate von 6,7 vvm erreicht.

Für das Scale up wurde ein Pilotfermenter mit einem Nettovolumen vom 500 L gewählt. Das entsprechende H/D Verhältnis wurde durch ein Füllvolumen von 255 L realisiert. Um den gewählten $k_L a$ -Wert von $4,08 \text{ h}^{-1}$ im Pilotfermenter zu realisieren, wurde durch Variation einer recherchierten Korrelation zwischen $k_L a$ -Wert, Begasungsrate und Leistungseintrag mit Hilfe des Solvers in Microsoft Excel ein Betriebspunkt gefunden. In diesem Betriebspunkt verringerte sich der Leistungseintrag auf $329,5 \text{ W/m}^3$ (Drehzahl 262 min^{-1}) und die Begasungsrate auf 3,2 vvm.

Die errechnete Produktionsleistung des Pilotfermentes bei maximal möglichem Füllstand und dem Einsatz von Silagesäfte, als komplexe Stickstoffquelle für verkürzte Batchzeiten, beträgt $1397,9 \text{ kg/a}$.

Abstract

The worldwide need of packaging materials and the attended waste removal problems are a challenge for man and environment. For this reason, in 2010, the EU started the ANIMPOL project (Biotechnological conversion of carbon-containing wastes for economic efficient production of high added value products) with a displacement volume of 3 million euros. Goal of this project was, to investigate the usability of alternative resources, such as meat and bone meal or excessive whey, which would be otherwise dumped, as a substrate for biodegradable and biocompatible plastics, like polyhydroxyalkanoates.

This work deals with the scale up of a fermentation process resulting from this project. The based data was supplied by the project leader, Dr. Martin Koller from the institute of biotechnology and biochemical engineering, TU Graz.

From the laboratory experiments, a $k_L a$ value of $4,08 \text{ h}^{-1}$ was chosen as a scale up criteria. This $k_L a$ value was realized at a specific power input of 778 W/m^3 (at 1000 rpm), a H/D ratio of 1,45 and a gassing rate of 6,7 vvm.

As a scale up criteria a 500 L pilot plant fermenter was chosen. The H/D ratio was realized by a filling volume of 255 L. To realize a $k_L a$ value of $4,08 \text{ h}^{-1}$, the gassing rate and the power input were varied by Microsoft Excel Solver according to a researched correlation. Thereby, a operation point with a specific power input of $329,5 \text{ W/m}^3$ (at 262 rpm) and a gassing rate of 3,2 vvm was found.

The productive capacity, at maximum filling volume and the use of silage juices as a complex nitrogen source for batch time shortening, was calculated as 2070 kg/a.

Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Erklärung	II
Danksagung	III
Kurzfassung	VI
Inhaltsverzeichnis	VIII
Abbildungsverzeichnis	X
Tabellenverzeichnis	XII
Symbolverzeichnis	XIII
1. Einleitung	1
2. Polyhydroxyalkanoate	3
2.1. Eigenschaften	3
2.2. Verwertbare Abfallströme und ökonomische Betrachtungen	7
2.2.1. PHA Produktion aus Lipiden	8
2.2.2. PHA Produktion aus Biodiesel	9
2.2.3. PHA Produktion aus Molke	9
2.2.4. PHA Produktion aus Lignozellulose	9
2.2.5. PHA Produktion aus Molasse	10
2.2.6. PHA Produktion aus Abwasser	11
2.2.7. Stickstoff als Co-Substrat	11
3. Scale up	13
3.1. Einleitung	13
3.2. Einführung Rührtechnik	16
3.2.1. Mischen und Rühren	16
3.2.2. Rührleistung	19
3.2.3. Begasung	22
3.3. Scale up mit CFD Unterstützung	25
3.4. Scale up mit Dimensionsanalyse	29
3.4.1. Grundlagen der Dimensionsanalyse	29
3.4.2. Grundlagen der Modellübertragung - Ähnlichkeit	31
3.4.3. Das Pi-Theorem (Buckingham- Theorem)	32
3.4.4. Erarbeiten von Pi-Sätzen mittels Matrizenumformung	33
3.4.5. Anwendbarkeit der Dimensionsanalyse	37
3.5. Scale up mit Rule of thumb	38
3.5.1. Geometrische Ähnlichkeit	39

3.5.2.	Begasungsrate.....	39
3.5.3.	$k_L a$ -Wert	40
3.5.4.	Mischzeit.....	45
3.5.5.	P/V.....	46
3.5.6.	Rührerdrehzahl	46
3.5.7.	Scherrate	47
4.	Scale up Anwendung.....	48
4.1.	Scale up Anwendung mit Dimensionanalyse.....	54
4.2.	Scale up Anwendung mit Rule of thumb	55
4.3.	Zusammenfassung	59
5.	Ausblick.....	60
6.	Anhang	63
7.	Literaturverzeichnis	64

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1-1 Lebenszyklus von Polyhydroxyalkanoaten (Verlinden et al. 2007).....	2
Abbildung 2-1: Allgemeine chemische Struktur von PHA; * kennzeichnet ein chirales Zentrum; für natürliche PHAs ist n zwischen 100 und 10000 (Martin Koller et al. 2013)	4
Abbildung 2-2: Übersicht über verschiedene Hydroxyalkanoat-Bausteine, isoliert aus Mikroorganismen. (Steinbüchel and Valentin 1995).....	5
Abbildung 2-3: Schema der enantiomerenreinen Biosynthese von (S)-3HB und (R)-3HB aus E.coli (Tseng et al. 2009)	6
Abbildung 2-4: Intrazelluläre Einlagerung von PHA bei a) 1/20000facher, b) 1/72000facher, c) 1/70000facher und d) 1/150000facher Vergrößerung (Martin Koller, Salerno, and Dias 2010).....	7
Abbildung 2-5: Ein Beispiel der Abfallstromverwertung (Martin Koller 2010).....	8
Abbildung 2-6: Verwertung von Lignozellulose zu Biopolyestern (Martin Koller et al. 2010).....	10
Abbildung 2-7: Übersicht und Verknüpfungen der Abfallströme zur PHA Produktion (Du et al. 2012).....	12
Abbildung 3-1: Schematische Darstellung möglicher Konzentrationsgradienten (Davidson et al. 2003). a) Wenn durch unzureichende Durchmischung das Substrat in der Zugaberegion schneller verbraucht wird als verteilt. b) Durch eine hohe Viskosität erfolgt der Sauerstofftransfer nur im Bereich des Rührwerks.	17
Abbildung 3-2: Veranschaulichung einer Flüssigkeitsstrombe. Ausschnitt aus (Kraume 2012, 559)	17
Abbildung 3-3: Strömungsbild eines axialen und eines radialen Rührers (Stieß 2009, 383).....	18
Abbildung 3-4: Leistungscharakteristiken verschiedener Rührertypen (Zlokarnik 1999, 77)	20
Abbildung 3-5: Typische Strömungsformen (bei gleichbleibender Drehzahl n) in begasteten Rührkesseln (Kraume 2012, 577).....	20
Abbildung 3-6: Leistungscharakteristik eines Scheibenrührers im System Luft/Wasser (Zlokarnik 1999, 82).....	21
Abbildung 3-7: Ne in Abhängigkeit von Q (Zlokarnik 1999, 83).....	22
Abbildung 3-8: Gasblasenverteilung bei Rührerdrehzahl und Gasstromvarianz (Paglianti, Pintus, and Giona 2000)	22
Abbildung 3-9: Vorausberechneter Gas hold-up bei 0,5 vvm Begasungsrate a) Längsschnitt b) Rührerebene (Ahmed et al. 2010).....	27
Abbildung 3-10: Gasblasengrößenverteilung eines 20L Bioreaktors mit 3 Scheibenrührer (Zhang et al. 2010).....	27

Abbildung 3-11: Geschwindigkeitsprofil bei 0,5 vvm Begasungsrate für A) 250U/min B) 350 U/min und C) 450 U/min (Ahmed et al. 2010)..... 28

Abbildung 3-12: Sorbtionscharakteristik im System Wasser/Luft. $B=(\pi/4)v^*$ 36

Abbildung 3-13: Skizze zur Geometrie eines Rührkessels (Zlokarnik 1999, 64) 39

Abbildung 3-14: Zusammenhang zwischen k_La -Wert und Begasungsrate (links) und Rührerdrehzahl (rechts) für *Enterobacter cloacae* WD7 in einem 5L Fermenter (Bandaiphet and Prasertsan 2006)..... 40

Abbildung 3-15: Zusammenhang zwischen k_La -Wert und Begasungsrate bei unterschiedlichen Rührerdrehzahlen für *Enterobacter cloacae* WD7 in einem 72L Fermenter (Bandaiphet and Prasertsan 2006)..... 41

Abbildung 3-16: Zusammenhang zwischen dem k_La -Wert und dem spezifischen Leistungseintrag P/V für *Xanthomonas campestris* in einem 1500L Fermenter (Herbst, Schumpe, and Deckwer 1992)..... 42

Abbildung 3-17: Zusammenhang zwischen dem k_La -Wert und der effektiven Viskosität für *Xanthomonas campestris* in einem 1500L Fermenter (Herbst, Schumpe, and Deckwer 1992) . 42

Abbildung 3-18: Zusammenhang zwischen dem k_La -Wert und dem spezifischen Leistungseintrag P/V für *Saccharomyces cerevisiae* in einem 5L Fermenter. a) System Luft-Wasser b) Fermentationsbrühe Wachstumsphase c) Fermentationsbrühe während Biotransformation (Shukla et al. 2001) 43

Abbildung 3-19: Vergleich zwischen experimentellen und berechneten k_La -Werten (Garcia-Ochoa and Gomez 2009)..... 44

Abbildung 3-20: Experimentelle Daten für die k_La -Wert Bestimmung nach unterschiedlichen Methoden (Garcia-Ochoa and Gomez 2009)..... 45

Abbildung 3-21: Mischzeitcharakteristik (Storhas 1994, 31) 46

Abbildung 4-1: Experimentelle k_La -Werte in Abhängigkeit von P_g/V_L (Daten sind in Tabelle 4-3 dargestellt)..... 50

Abbildung 4-2: Experimentelle k_La -Werte in Abhängigkeit der skalierungsunabhängigen Begasungsrate (Daten sind in Tabelle 4-3 dargestellt) 50

Abbildung 4-3: Experimentelle k_La -Werte in Abhängigkeit des H/D Verhältnisses bei gegebenen Füllstand (Daten sind in Tabelle 4-3 dargestellt) 51

Abbildung 4-5: Berechnete k_La -Werte in Abhängigkeit von P_g/V_L 56

Abbildung 4-6: Berechnete k_La -Werte in Abhängigkeit der skalierungsunabhängigen Begasungsrate..... 56

Abbildung 5-1: Aufbau einer Fermentationseinheit (Storhas 1994, 327) 61

Tabellenverzeichnis

Tabelle 2-1: Eigenschaften verschiedener PHAs und PP (Tsuge 2002; Verlinden et al. 2007; Lendlein and Sisson 2011)	3
Tabelle 2-2 Beispiele für PHA Seitengruppen (Verlinden et al. 2007).....	4
Tabelle 3-1: Auflistung möglicher Scale up Kriterien.....	14
Tabelle 3-2: Merkmale und Einsatzgebiete gängiger Rührorgane (Kraume 2012, 560)	18
Tabelle 3-3: Vergleich LES und DNS (Sommerfeld and Decker 2004)	26
Tabelle 3-4: Vergleich experimenteller Daten mit CFD Berechnungen (DNS) (Ahmed et al. 2010)	26
Tabelle 3-5: SI-Einheiten (Halliday, Resnick, and Walker 2001, 2ff)	29
Tabelle 3-6: Sekundäre Größenarten und deren Dimensionen (Zlokarnik 2005, 5f).....	29
Tabelle 3-7: Betriebsparameter bekannter Fermentationsprozesse (Storhas 1994, 58).....	39
Tabelle 4-1: Ergebnisse der experimentellen $k_L a$ -Wert Bestimmung	49
Tabelle 4-2: Ausgewählter Betriebspunkt des Modellmaßstabs	52
Tabelle 4-3: Berechnungsergebnisse resultierend aus der experimentellen $k_L a$ -Wert Bestimmung	55
Tabelle 4-4: Geometrische Abmessungen der einzelnen Fermenter.....	56
Tabelle 4-5: Berechnungsergebnisse für $k_L a = 4,08 \text{ h}^{-1}$	57

Symbolverzeichnis

A	Fläche	m^2
a	volumenbezogene Phasengrenzfläche $a=A/V$	$1/m$
c	Konzentration	mol/m^3
c^*	Gleichgewichtskonzentration	mol/m^3
d	Rührerdurchmesser	m
D	Durchmesser	m
d_B	Blasendurchmesser	m
d_H	Durchmesser Hauptmaßstab	m
d_M	Durchmesser Modellmaßstab	m
E	Ereignisziffer	-
g	Erdbeschleunigung	m/s^2
G	Stoffstrom	mol/s
H	Höhe	m
H_b	begaste Höhe	m
ISF	integrated shear faktor	s^{-1}
j_m	Stoffstromdichte	mol/m^2s
k_G	Stoffübergangskoeffizient gasseitig	m/s
k_L	Stoffübergangskoeffizient flüssigseitig	m/s
$k_L a$	volumenbezogener Stoffübergangskoeffizient flüssigseitig	$1/s$
L_H	Länge Hauptmaßstab	m
L_M	Länge Modellmaßstab	m
n	Rührerdrehzahl	$1/s$
n	Molenstrom	mol/s
n_c	Produktionszyklen pro Jahr	Chargen/a
Ne_0	Newtonzahl unbegast	-
Ne_g	Newtonzahl begast	-
n_H	Rührerdrehzahl Hauptmaßstab	$1/s$
n_M	Rührerdrehzahl Modellmaßstab	$1/s$
p	Druck	bar
P	Leistung	W
p^*	Sättigungsdampfdruck	bar
P_0	Leistung in unbegasten Systemen	W
P_g	Leistung in begasten Systemen	
p_n	Normaldruck 1013 mbar	mbar
Pr	Prandtl Zahl	-
q	Gasdurchsatz	m^3/s
Q	Gasfluss	m^3/s
Q_H	Gasfluss Hauptmaßstab	m^3/s
Q_M	Gasfluss Modellmaßstab	m^3/s
t_B	mittlere Verweilzeit	s
t_c	Batch Zeit	h

T_n	normal Temperatur 273K	K
V	Volumen	m^3
V_F	Flüssigkeitsvolumen	m^3
V_G	Gasvolumen	m^3
v_g	Gasleerohrgeschwindigkeit $v_g = Q/A$	m/s
V_R	Fermenter Reaktionsvolumen	m^3
w	Geschwindigkeit	m/s
w_B	Aufstiegsgeschwindigkeit Gasblase	m/s
w_{tip}	Rührerspitzen-geschwindigkeit	m/s
z	Anzahl Röhrelemente	-
ε	Gas hold-up	-
η	dynamische Viskosität	$kg/(ms)$
Θ	Mischzeit	s
ϑ	Temperatur	$^{\circ}C$
μ	Maßstabs- oder Vergrößerungsfaktor	-
ν	kinematische Viskosität	m^2/s
ξ	Dichtedifferenz	kg/m^3
ρ	Dichte	kg/m^3
ρ_f	Dichte Flüssigkeit	kg/m^3
σ	Oberflächenspannung	N/m
τ	Scherung	s^{-1}
Y	Scherrate	s^{-1}

1. Einleitung

Der weltweite Bedarf an fossilen Rohstoffen und der damit verbundene erhöhte Ausstoß von CO₂ in die Atmosphäre steigt, trotz aller politischen Interventionen, weiter an. Eine Möglichkeit diesen Ausstoß zu verringern ist die Suche nach sogenannten „grünen“ Kunststoffen aus nicht-fossilen Quellen mit möglichst vollständiger Zersetzung („biodegradable“).

Aus diesem Grund erfolgte im Jahr 2010 der Start zum 3-jährigen EU Projekt ANIMPOL (Biotechnological conversion of carbon-containing wastes for economic efficient production of high added value products) (Martin Koller 2012). Einer der Grundsätze dieses Forschungsprojekts ist, dass die verwendeten Ausgangsmaterialien nicht mit der Nahrungsmittelproduktion konkurrieren dürfen. Bei der Suche nach geeigneten Rohmaterialien stieß man zum Einen auf über 40 000 000 Tonnen überschüssige Molke, die pro Jahr in der EU bei der Käseproduktion anfallen (Martin Koller et al. 2005). Da diese Molke keiner weiteren Wertschöpfung unterliegt, wird sie entsorgt. So werden zum Beispiel in Oberitalien pro Tag 1 Million Liter Molke ins Meer geschüttet. Dabei würde 1 Liter dieser Molke 40 bis 50 Gramm Laktose enthalten, welche sich als Substrat für biotechnologische Verfahren eignen würde (Lendlein and Sisson 2011). Zum Anderen stieß man im Rahmen des Projekts auf 500 000 Tonnen tierische Lipide, die pro Jahr in tierischen Schlachtprozessen und Tierkörperverwertungen anfallen. Diese tierischen Fette können als Ausgangsstoff für die Erzeugung von Biodiesel (Fettsäuremethylester, FAME) verwendet werden. Aufgrund der Zusammensetzung der Ausgangsstoffe fällt hier eine gesättigte (enthält keine Kohlenstoff-Kohlenstoff Mehrfachbindungen) und eine ungesättigte (enthält Kohlenstoff-Kohlenstoff Mehrfachbindungen) Fraktion an. Da die gesättigte Phase aufgrund ihrer physikalischen Eigenschaften, die sie unter Raumtemperatur zu stocken beginnen lassen, für die Biodieselproduktion ungeeignet ist, fällt hier ein Strom an Lipiden an, welcher sich aufgrund seiner Zusammensetzung hervorragend als Ausgangsstoff für die Erzeugung von Biokunststoff eignen würde (Titz et al. 2010). Als eine Gruppe von Biokunststoffen hat sich in der Literatur (Khardenavis et al. 2007; Braunegg, Lefebvre, and Genser 1998; Steinbüchel and Lütke-Eversloh 2003; Muhr et al. 2013) die Familie der Polyhydroxyalkanoate (PHA) als vielversprechend herausgestellt. Diese PHAs genießen gegenüber den Kunststoffen auf Erdölbasis mehrere Vorteile (Martin Koller et al. 2010; Nanda et al. 2009):

Biologisch abbaubar: Da sich Kunststoffe aus PHA vollständig abbauen, müssen sie nicht auf Müllhalden gelagert werden.

Biologische Herkunft: Kunststoffe aus PHA werden aus erneuerbaren Ressourcen hergestellt und sind damit unabhängig von fossilen Rohstoffen.

Geschlossener CO₂ Kreislauf: Die Menge an CO₂, welche beim Abbau freigesetzt wird, wird von den Pflanzen durch photosynthetische Fixierung zur Gänze wieder aufgenommen. Da das CO₂ aus natürlichen Quellen kommt, ist der Kreislauf geschlossen. Somit tragen Kunststoffe aus PHA nicht zum Treibhauseffekt bei.

Biologische Verträglichkeit: Einer der Hauptbausteine der PHA ist 3-Hydroxybutyrat, ein Stoffwechselbaustein. Das erklärt die hohe Verträglichkeit gegenüber Säugetierzellen. Abbildung 1-1 zeigt den Lebenszyklus von PHAs.

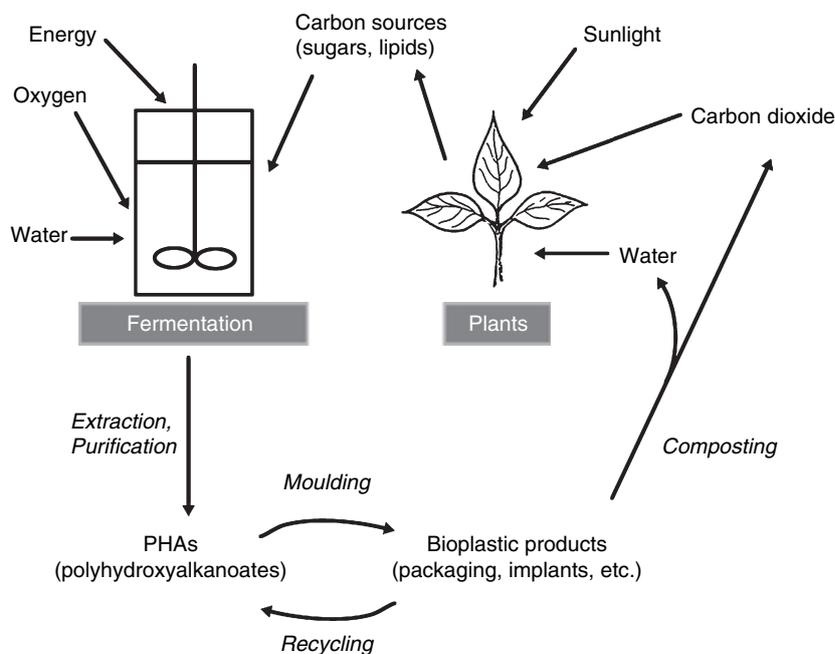


Abbildung 1-1 Lebenszyklus von Polyhydroxyalkanoaten (Verlinden et al. 2007)

2. Polyhydroxyalkanoate

2.1. Eigenschaften

Polyhydroxyalkanoate (PHA) sind hetero- oder homo- Polyester die von verschiedenen Prokaryonten synthetisiert und intrazellulär gespeichert werden (Braunegg, Lefebvre, and Genser 1998). Sie ähneln in ihren Eigenschaften Polypropylen (PP), was sie vielseitig einsetzbar macht (Tsuge 2002; Verlinden et al. 2007). Tabelle 2-1 zeigt wesentliche Eigenschaften verschiedener PHAs und vergleicht sie mit PP. Abbildung 2-1 und Tabelle 2-2 zeigen die Struktur von PHAs.

Tabelle 2-1: Eigenschaften verschiedener PHAs und PP (Tsuge 2002; Verlinden et al. 2007; Lendlein and Sisson 2011)

Parameter	PHB	PHBV	PHB4B	PHBHx	PP	LDPP
Schmelztemperatur °C	177	145	150	147	176	130
Glasübergangstemperatur °C	2	-1	-7	-1	-10	-36
Kristallinität %	60	56	45	34	50-70	20-50
Zugsteifigkeit MPa	43	20	26	21	38	10
Höchstzugkraft-Dehnung %	5	50	444	400	400	620

PHB...Poly(3-hydroxybutyrat)

PHBV...Poly(3-hydroxybutyrat-co-3-hydroxyvalerat)

PHB4B...Poly(3-hydroxybutyrat-co-4-hydroxybutyrat)

PHBHx...Poly(3-hydroxybutyrat-co-3hydroxyhexanoat)

PP...Polypropylen

LDPP...Low Density Polypropylen

PHAs wurden zum ersten Mal von Lemoigne 1925 aus Bakterien isoliert (Chee et al. 2010). Bis heute sind mehr als 150 verschiedene Monomerbausteine der PHAs bekannt. Diese können von mehr als 250 verschiedenen natürlichen Organismen synthetisiert werden, wovon aber nur einige wenige Bakterien für die Biosynthese eingesetzt werden (Chee et al. 2010). Dass PHAs natürlich vorkommen zeigen Proben aus Abwasserschlamm, die geringe Mengen PHAs mit verschiedenen Hydroxyalkanoaten (HA) enthielten (Steinbüchel and Valentin 1995). Es wurde daher auch erfolgreich versucht, mit sogenannten open mixed microbial communities (MMC) aus Klärschlamm und Glycerol aus der Biodiesel Erzeugung als Substrat, eine Biosynthese durchzuführen (Moralejo-Gárate et al. 2011). PHA wird von den Bakterien als Kohlenstoff- und Energiespeicher intrazellulär bei ungleicher Substratzusammensetzung eingelagert. Das geschieht bei einem Mangel an Stickstoff,

Phosphor oder Sauerstoff jedoch bei gleichzeitigem Kohlenstoffüberschuss (Verlinden et al. 2007; Lee and Choi 1999). Diese Tatsache ist der Grundstein für die zweistufige Biosynthese, wo im ersten Schritt eine möglichst hohe Anzahl an Zellen gezüchtet wird um im zweiten Schritt bei gezieltem Substratmangel die PHA Einlagerung der Bakterien zu erzwingen (Moralejo-Gárate et al. 2011).

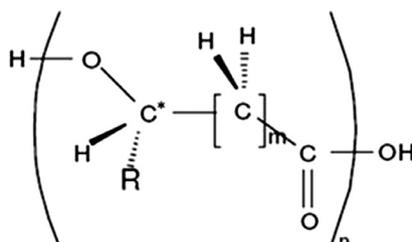


Abbildung 2-1: Allgemeine chemische Struktur von PHA; * kennzeichnet ein chirales Zentrum; für natürliche PHAs ist n zwischen 100 und 10000 (Martin Koller et al. 2013)

Tabelle 2-2 Beispiele für PHA Seitengruppen (Verlinden et al. 2007)

R-Gruppe	Name	Kurzformel
CH ₃	Poly(3-hydroxybutyrat)	PHB
CH ₂ CH ₃	Poly(3-hydroxyvalerat)	PHV
CH ₂ CH ₂ CH ₃	Poly(3-hydroxyhexanoat)	PHHx

PHA werden nach der Anzahl ihrer C-Atome in der Seitenkette in 2 Gruppen unterteilt (Lee and Choi 1999). Kurzkettige PHAs (short-chain-length PHA, SCL-PHAs) enthalten 3 bis 5 C-Atome, mittelkettige PHAs (medium-chain-length PHA, MCL-PHA) mit 6 bis 14 C-Atomen (Muhr et al. 2013) und langkettige PHAs (long-chain-length PHA, LCL-PHA) mit mehr als 15 C-Atomen. LCL-PHAs konnten bisher nur *in vitro* erzeugt werden und wurden in natürlicher Umgebung noch nicht nachgewiesen (Martin Koller, Salerno, and Dias 2010).

In den 1980er Jahren begann durch Imperial Chemical Industries (ICI) mit Poly(3-hydroxybutyrat-3-hydroxyvalerat) (PHBV) unter dem Handelsnamen „Biopol“ die kommerzielle Vermarktung. Da jedoch die Herstellungskosten im Vergleich zu erdölbasierten Kunststoffen erheblich höher waren, wurden PHAs nach wenigen Jahren wieder vom Markt genommen. Hauptgründe für die hohen Produktionskosten waren das verwendete Substratmaterial (reine Glukose), die hohen Aufarbeitungskosten sowie eine geringe Ausbeute (Du et al. 2012). Erst in den letzten Jahren hat man damit begonnen, alternative Substrate aus Abfallströmen der Industrie auf ihre Tauglichkeit zur Biosynthese von PHAs zu untersuchen (Nanda et al. 2009).

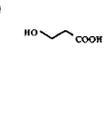
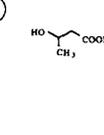
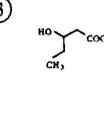
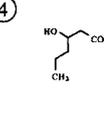
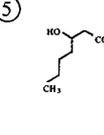
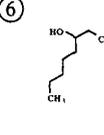
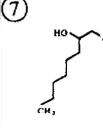
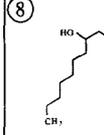
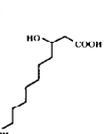
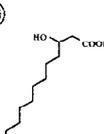
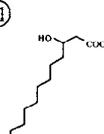
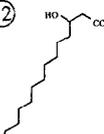
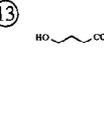
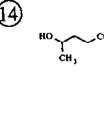
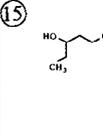
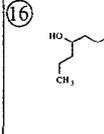
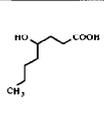
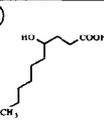
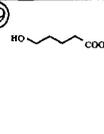
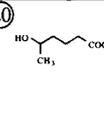
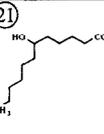
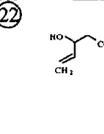
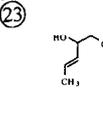
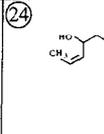
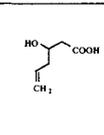
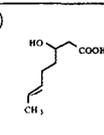
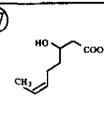
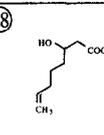
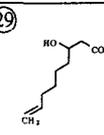
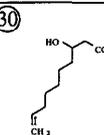
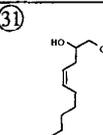
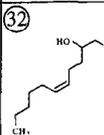
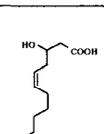
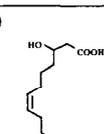
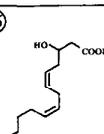
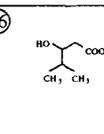
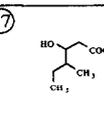
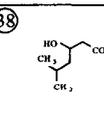
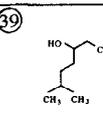
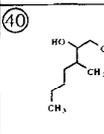
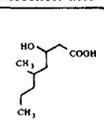
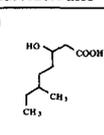
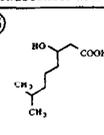
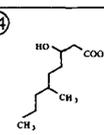
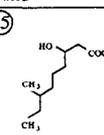
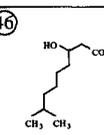
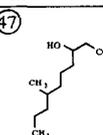
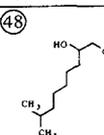
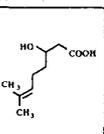
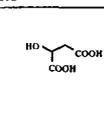
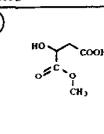
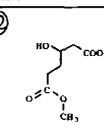
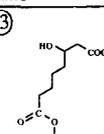
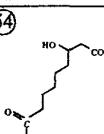
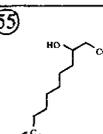
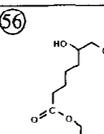
①  3-Hydroxypropionic acid	②  3-Hydroxybutyric acid	③  3-Hydroxyvaleric acid	④  3-Hydroxyhexanoic acid	⑤  3-Hydroxyheptanoic acid	⑥  3-Hydroxyoctanoic acid	⑦  3-Hydroxynonanoic acid	⑧  3-Hydroxydecanoic acid
⑨  3-Hydroxyundecanoic acid	⑩  3-Hydroxydodecanoic acid	⑪  3-Hydroxytetradecanoic acid	⑫  3-Hydroxyhexadecanoic acid	⑬  4-Hydroxybutyric acid	⑭  4-Hydroxyvaleric acid	⑮  4-Hydroxyhexanoic acid	⑯  4-Hydroxyheptanoic acid
⑰  4-Hydroxyoctanoic acid	⑱  4-Hydroxydecanoic acid	⑲  5-Hydroxyvaleric acid	⑳  5-Hydroxyhexanoic acid	㉑  6-Hydroxydodecanoic acid	㉒  3-Hydroxy-4-pentenoic acid	㉓  3-Hydroxy-4- <i>trans</i> -hexenoic acid	㉔  3-Hydroxy-4- <i>cis</i> -hexenoic acid
㉕  3-Hydroxy-5-hexenoic acid	㉖  3-Hydroxy-6- <i>trans</i> -octenoic acid	㉗  3-Hydroxy-6- <i>cis</i> -octenoic acid	㉘  3-Hydroxy-7-octenoic acid	㉙  3-Hydroxy-8-nonenoic acid	㉚  3-Hydroxy-9-decenoic acid	㉛  3-Hydroxy-5- <i>cis</i> -dodecenoic acid	㉜  3-Hydroxy-6- <i>cis</i> -dodecenoic acid
㉝  3-Hydroxy-5- <i>cis</i> -tetradecenoic acid	㉞  3-Hydroxy-7- <i>cis</i> -tetradecenoic acid	㉟  3-Hydroxy-5,8- <i>cis-cis</i> -tetradecenoic acid	㊱  3-Hydroxy-4-methylvaleric acid	㊲  3-Hydroxy-4-methylhexanoic acid	㊳  3-Hydroxy-5-methylhexanoic acid	㊴  3-Hydroxy-6-methylheptanoic acid	㊵  3-Hydroxy-4-methyloctanoic acid
㊶  3-Hydroxy-5-methyloctanoic acid	㊷  3-Hydroxy-6-methyloctanoic acid	㊸  3-Hydroxy-7-methyloctanoic acid	㊹  3-Hydroxy-6-methylnonanoic acid	㊺  3-Hydroxy-7-methylnonanoic acid	㊻  3-Hydroxy-8-methylnonanoic acid	㊼  3-Hydroxy-7-methyldecanoic acid	㊽  3-Hydroxy-9-methyldecanoic acid
㊾  3-Hydroxy-7-methyl-6-octenoic acid	㊿  Malic acid	51  3-Hydroxysuccinic acid-methyl ester	52  3-Hydroxyadipinic acid-methyl ester	53  3-Hydroxysebacic acid-methyl ester	54  3-Hydroxyazelaic acid-methyl ester	55  3-Hydroxysebacic acid-methyl ester	56  3-Hydroxysebacic acid-ethyl ester

Abbildung 2-2: Übersicht über verschiedene Hydroxyalkanoat-Bausteine, isoliert aus Mikroorganismen. (Steinbüchel and Valentin 1995)

Das in Abbildung 2-1 gezeigte chirale Zentrum, bildet ein weiteres wichtiges Anwendungsgebiet, nämlich das der enantiomerreinen Biosynthese von Molekülen. Diese sind für die pharmazeutische Industrie von besonderem Interesse, denn aus ihnen lassen sich stereoselektive Wirkstoffe und hoch wertgeschöpfte Produkte herstellen. Stereoselektive Synthesen sind ein erheblicher Kostenfaktor, denn sie benötigen einen chiralen Katalysator

und extreme Reaktionsbedingungen (Druck, Temperatur, Lösungsmittel). Des weiteren fallen erhebliche Mengen unerwünschter, teils giftiger Nebenprodukte an (Tseng et al. 2009).

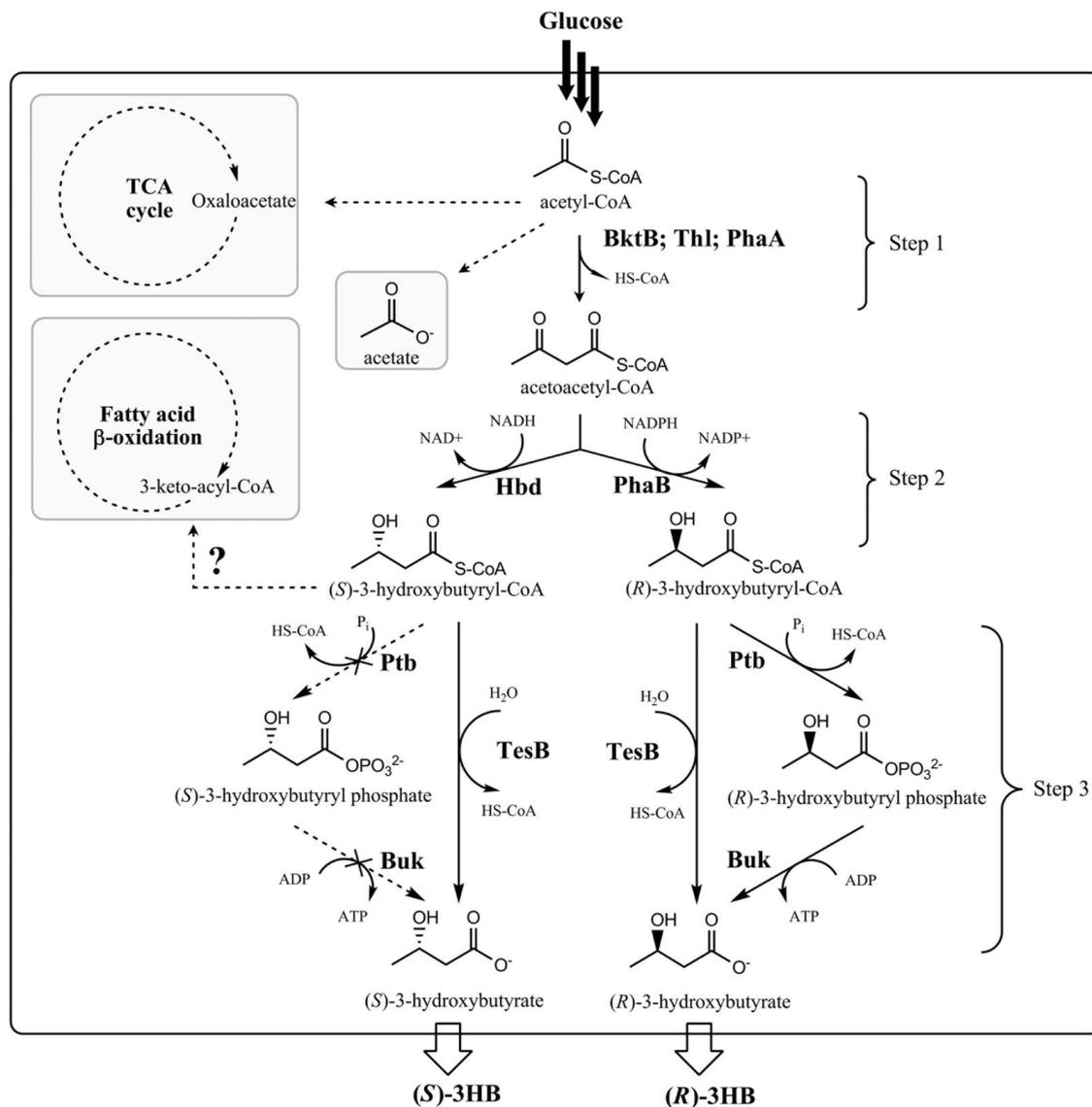


Abbildung 2-3: Schema der enantiomerenreinen Biosynthese von (S)-3HB und (R)-3HB aus *E.coli* (Tseng et al. 2009)

3-Hydroxybutyrat, ein chirales Molekül mit einer Hydroxy- und einer Carboxylgruppe, kann als Grundbaustein für Feinchemikalien, Antibiotika, Vitamine, oder Pheromone eingesetzt werden, und wird somit zu einer vielseitigen und hoch-wertgeschöpften Verbindung (Seebach et al. 1986; Patel 2001). Abbildung 2-4 zeigt die intrazelluläre Einlagerung von PHA.

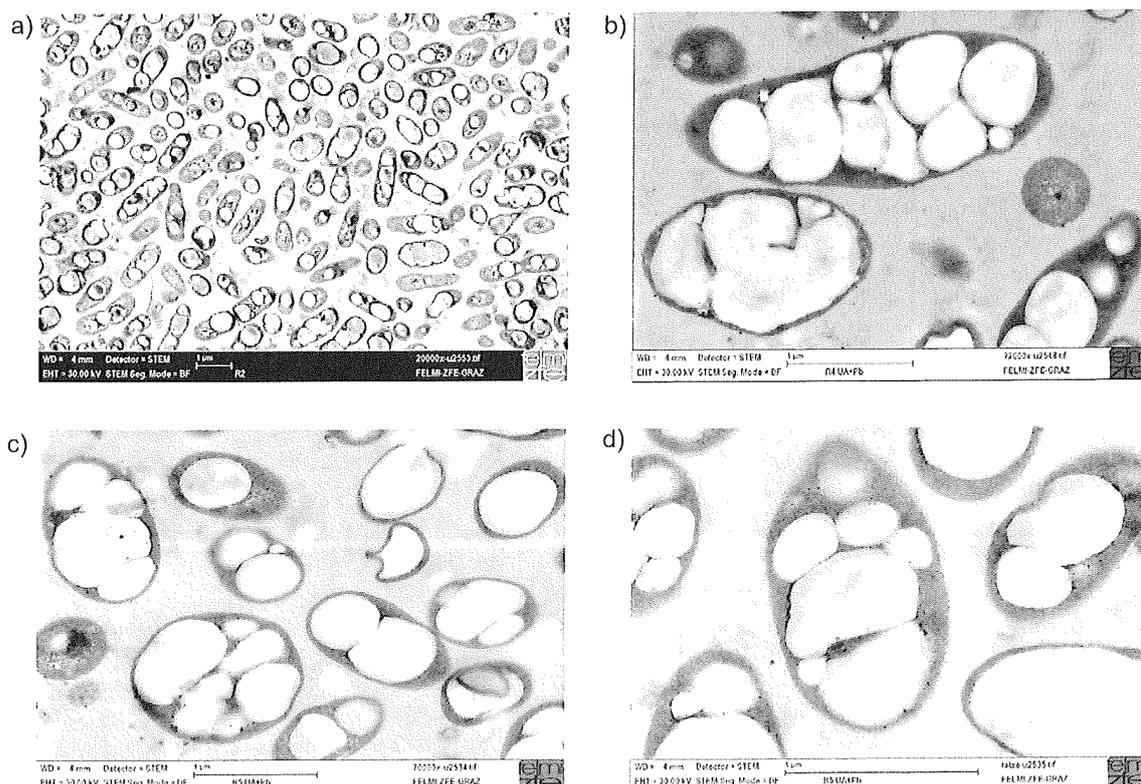


Abbildung 2-4: Intrazelluläre Einlagerung von PHA bei a) 1/20000facher, b) 1/72000facher, c) 1/70000facher und d) 1/150000facher Vergrößerung (Martin Koller, Salerno, and Dias 2010)

2.2. Verwertbare Abfallströme und ökonomische Betrachtungen

Die Verfügbarkeit und die Zusammensetzung des Rohmaterials sind wesentliche Kostenfaktoren im Herstellungsprozess von PHAs. Die Kosten der Kohlenstoffquelle betragen bis zu 38% der Gesamtkosten (Choi and Lee 1999). Ein Grund dafür ist, dass die PHA Akkumulierung in den Zellen unter aeroben Bedingungen stattfindet. Dadurch entstehen bis zu 50% Verlust an Kohlenstoffsubstrat durch intrazelluläre Veratmung zu CO_2 (Martin Koller, Salerno, and Dias 2010). Somit war es nur eine Frage der Zeit, bis man bei der Suche von Substratquellen auf alternative Quellen (Lendlein and Sisson 2011) in fleischverarbeitenden Betrieben (Titz et al. 2010), der Lebensmittelerzeugung (Martin Koller et al. 2005), der Zuckerproduktion (Nonato, Mantelatto, and Rossell 2001), im Abwasser (Khardenavis et al. 2007) oder in Altöl (Chee et al. 2010) stoßen würde. Dabei stieß man jedoch auch auf das Problem, dass eventuell enthaltene Verbindungen wie Phenole, Aldehyde, Schwermetalle oder Reste von Methanol aus der Biodieselerzeugung das Zellwachstum stören oder behindern können. Das würde eine Substrataufbereitung notwendig machen (Martin Koller et al. 2010). Durch die Verwertung von Abfallströmen ergab sich neben der Erzeugung von biologisch abbaubarem Kunststoff noch eine weitere Vorteil: Die Abfallprobleme und

damit einhergehende Umweltverschmutzungen in den jeweiligen Branchen würden sich verringern (Lee and Choi 1999; Lendlein and Sisson 2011).

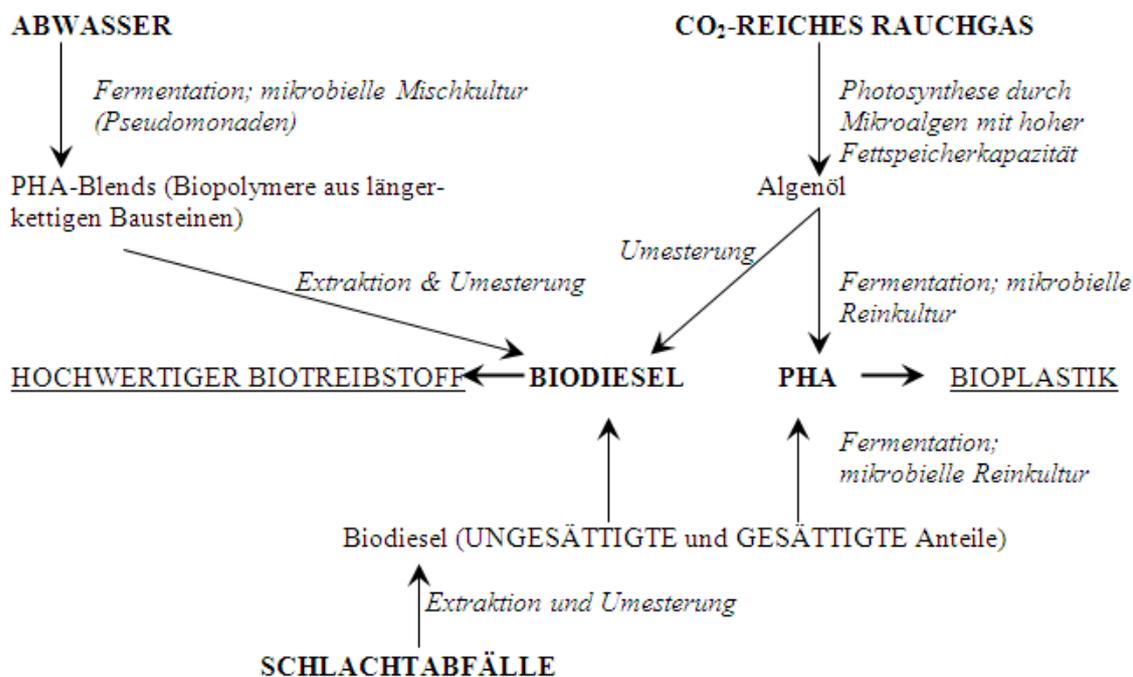


Abbildung 2-5: Ein Beispiel der Abfallstromverwertung (Martin Koller 2010)

2.2.1. PHA Produktion aus Lipiden

Viele Lipide unterschiedlicher Herkunft eignen sich als Ausgangsmaterial für die PHA Produktion. Rindertalg ist eine der billigsten Quellen für Lipide und in großen Mengen verfügbar. Trotz der guten Ausgangssituation ist die Anwendung durch die geringe Ausbeute von 15% der Trockenzellmasse wirtschaftlich nicht profitabel (Cromwick, Foglia, and Lenz 1996). Als gut geeignet haben sich jedoch Altspeiseöle, Pflanzenöle (Palmöl, Sesamöl, Olivenöl, Rapsöl, Sojaöl) mit Ausbeuten bis zu 80% der Zelltrockenmasse erwiesen (Martin Koller et al. 2010). Fermentationen mit altem Frittieröl (1 Woche bei 180°C) lieferten bessere Ergebnisse in der PHA Produktion, als Fermentationen mit reinem, frischem Pflanzenöl (Verlinden et al. 2011).

2.2.2. PHA Produktion aus Biodiesel

Biodiesel wird durch die Veresterung von Fettsäuren mit kurzkettigen Alkoholen (meist Methanol oder Ethanol) hergestellt. Dabei werden Triglyceride zu Fettsäuremethylestern (*FAME*) umgewandelt. Dabei ist Glycerol das hauptsächliche Nebenprodukt (Vasudevan and Briggs 2008). In der EU fielen bei der Biodieselherstellung 2009 in etwa 1,000,000 m³ Biodiesel an, was in etwa 100,000 m³ Glycerol abwirft. (Du et al. 2012). Die Fette und Öle für die Biodieselerzeugung können native Öle, Altöle, ungenießbare Öle, Algenfette (Vasudevan and Briggs 2008) oder, wie eingangs erwähnt, Fette die in Schlachthäusern oder bei der Tierkörperverwertung anfallen, sein. Es sind bereits Bakterienstämme bekannt, die keine Substrataufbereitung benötigen. Die Ausbeute liegt hier in etwa bei 33% bezogen auf die C-Bilanz (Martin Koller et al. 2010).

2.2.3. PHA Produktion aus Molke

Molke ist das hauptsächliche Nebenprodukt bei der Käseherstellung. Schätzungen über anfallende Mengen belaufen sich, wie eingangs erwähnt, auf über 40 Millionen Tonnen jährlich in der EU. Der Hauptwertbestandteil der Molke mit 70% der Trockenmasse ist Laktose (Du et al. 2012). Laktose wird in zahlreichen biotechnologischen Prozesse zur Ethanol-, Antibiotika-, Hefeextrakt- und Biopolymerproduktion eingesetzt. Auch wenn die Anzahl der Mikroorganismen, welche PHA direkt aus Laktose erzeugen begrenzt ist, konnte mit einigen Stämmen eine hohe Ausbeute erzielt werden. Ein Problem bei der Verarbeitung von Molke sind hohe Salzlasten der Seitenströme, die bei der Aufarbeitung entstehen, an deren Recycling noch gearbeitet werden muss (Martin Koller et al. 2010).

2.2.4. PHA Produktion aus Lignozellulose

Lignozellulose stellt den weltweit mengenmäßig größten nachwachsenden Rohstoff dar. Sie fällt in der Landwirtschaft, holzverarbeitenden Industrie und der Papierindustrie an. Sie besteht zu 15-35% aus Lignin, zu 20-50% aus Hemizellulose und zu 30-50% aus Zellulose. Der Fokus hierbei liegt auf der Zerlegung und direkten Verwertung der Hemizellulose in Zuckermonomere wie Xylose, Arabinose, Mannose oder Galactose. In diesem Fall würde

nämlich die basische Extraktion der Zellulose entfallen (Du et al. 2012). Abbildung 2-6 zeigt ein Übersichtsschema über den Prozess.

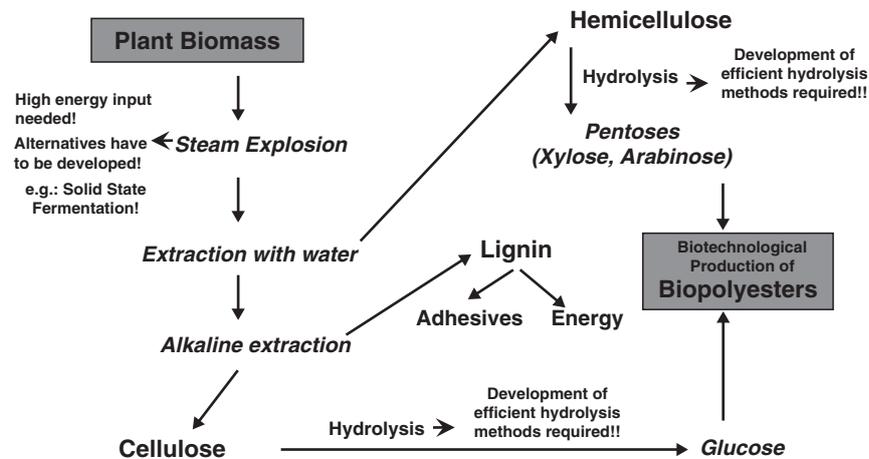


Abbildung 2-6: Verwertung von Lignozellulose zu Biopolyestern (Martin Koller et al. 2010)

Ein Problem hierbei stellt hier der nicht idente Verbrauch (bezogen auf Zeit und Menge) verschiedener Zuckerarten dar. Wenn manche Zuckerarten nur langsam oder gar nicht metabolisiert werden, führt das zu einer Anreicherung im Reaktor und einer Inhibierung des Prozesses. Die Anzahl der Bakterienstämme für diese Anwendung ist daher beschränkt. Der Einsatz der PHA Produktion aus Lignozellulose würde sich, aufgrund der Zusammensetzung der Hölzer, am besten in tropischen und subtropischen Regionen eignen (Martin Koller et al. 2010).

2.2.5. PHA Produktion aus Molasse

Molasse bezeichnet ein zuckerreiches Nebenprodukt der zuckerverarbeitenden Industrie. Die Molasse muss einer Vorfermentation zu organischen Säuren unterzogen werden, bevor sie zur PHA Produktion eingesetzt werden kann. Ausbeuten zwischen 47% und 66% bezogen auf die C-Bilanz und jährlich anfallenden Mengen von über 50 Millionen Tonnen Molasse (2004) sprechen klar für eine wirtschaftliche Nutzung (Du et al. 2012). In Sao Paulo, Brasilien, wurde eine Pilotanlage zur PHB Produktion von der Firma PHB Industrial in eine Zuckerrohr verarbeitende Fabrik integriert. Dies hat einige entscheidende Vorteile. Die notwendige Energie für Strom, Hoch- und Niederdruckwasserdampf wird durch das Verbrennen von Bagasse erzeugt, ebenfalls ein Abfallprodukt der Zuckerrohrverarbeitung. Ein weiteres Abfallprodukt der Anlage sind Fuselalkohole. Das hier anfallende Isopentanol wird als Extraktionsmittel für die Aufarbeitung der Fermentationsbrühe verwendet (Nonato,

Mantelatto, and Rossell 2001). Das alles und die Tatsache der nachweislich neutralen CO₂ Bilanz (Seabra and Macedo 2011) hat dazu beigetragen, dass PHB aus dem „Brazilian process“ der Produktion von Polypropylen und Polyethylen aus fossilen Brennstoffen in fast allen wichtigen Punkten, außer dem Preis, überlegen ist. (Harding et al. 2007).

2.2.6. PHA Produktion aus Abwasser

Die PHA Produktion aus Abwasser ist ein 3-stufiger Prozess. Im ersten Schritt wird das Abwasser angesäuert (zB. mit NH₄Cl) und anschließend mittels Ultrafiltration von der Biomasse getrennt. Die Ansäuerung kann im Batch- oder im kontinuierlichen Verfahren betrieben werden (Bengtsson et al. 2008). Die folgenden Schritte des Prozesses wurden bereits in Kapitel 2.1. beschrieben. Die Ausbeute bei der PHA Produktion aus Abwasser betragen zwischen 42 und 67 gew.% (Khardenavis et al. 2007) bzw. bis zu 77% der Zelltrockenmasse (Jiang et al. 2012). Es gibt zwar noch einige Herausforderungen bei der industriellen Implementierung, jedoch gilt die PHA Produktion aus Abwasser als vielversprechend (Jiang et al. 2012; Bengtsson et al. 2008).

2.2.7. Stickstoff als Co-Substrat

Ein großer Kostenfaktor in der PHA Biosynthese durch Phosphatlimitierung ist die Bereitstellung einer komplexen und billigen Stickstoffquelle. Der große Vorteil beim Einsatz komplexer Stickstoffquellen ist die Verkürzung der *lag*-Phase¹. Das erhöht die Produktivität durch Verkürzung der Batchzeiten (Martin Koller et al. 2010). Als billig und sehr gut geeignet, haben sich Silagesäfte, sogenannte *green grass juices* (M. Koller et al. 2005a) oder Tiermehl (*meat and bone meal*, MBM) herausgestellt. Die Werte für den Anteil an PHA in der Biomasse, die Produktivität und die Ausbeute waren mit jenen der Fermentation mit teuren Stickstoffquellen, vergleichbar (Martin Koller et al. 2005b).

¹ Die *lag*-Phase beschreibt jene Phase des mikrobiellen Wachstums indem eine Anpassung der Mikroorganismen an das Medium geschieht. In dieser Zeit findet keine Zellteilung statt (<http://www.wissenschaft-online.de/abo/lexikon/biok/7597> zuletzt abgerufen am 6.6.2013)

Abbildung 2-7 zeigt eine Übersicht über verwertbare Abfallströme und mögliche Anwendungen und deren Verknüpfungen.

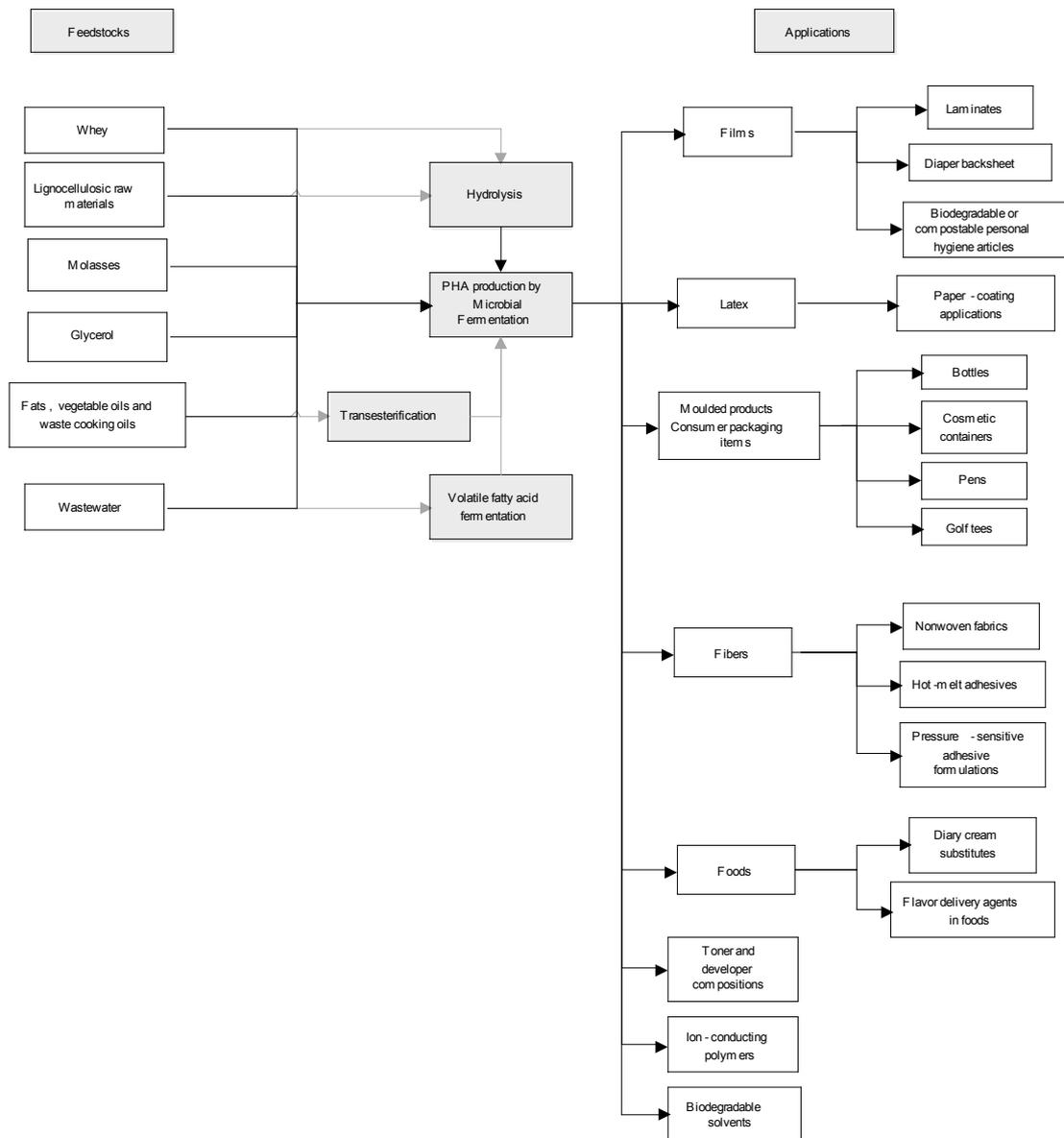


Abbildung 2-7: Übersicht und Verknüpfungen der Abfallströme zur PHA Produktion (Du et al. 2012)

Das Ziel dieser Arbeit ist es nun, einen Versuch im Labormaßstab, der im Rahmen des ANIMPOL Projekts entwickelt wurde, in einen größeren Maßstab überzuführen (Scale up). Der Grund warum das geschieht, ist die zumeist höhere Rentabilität größerer Anlagen. In den nachfolgenden Kapiteln werden die dazu notwendigen Werkzeuge und Algorithmen vorgestellt. Mit diesen soll dann ein mögliches Betriebsszenario entwickelt werden, welches sich eignen würde, den eingangs vorgestellten Prozess im größeren Maßstab abzubilden. Als Maßstab wird ein Bioreaktor mit einem Nennvolumen von 500 L gewählt.

3. Scale up

3.1. Einleitung

Der Verfahrensingenieur hat es in der Regel mit der technischen Realisierung von Verfahren zu tun, bei denen chemische und mikrobiologische Stoffumwandlung mit dem Stoff- Wärme- und Impulsaustausch gekoppelt sind und sich daher im Kleinen (Labor-/Technikumsmaßstab) anders verhalten als im Großen (Betriebsmaßstab). Diese Vorgänge sind maßstabsabhängig.

(Zlokarnik 1983)

Dieses Zitat zeigt, dass die Modellübertragung in der Verfahrenstechnik alles andere als trivial ist. Es ist daher nicht zielführend, alle Parameter um den jeweiligen Scale up Faktor zu erhöhen. Speziell im Bereich des biotechnologischen Scale ups sind eine genaue Kenntnis der regulatorischen Mechanismen, Zellphysiologie und Biochemie erfolgsentscheidend. Aufgrund der Komplexität biologischer Systeme und der geringen Produktkonzentrationen kann ein Scale up in diesem Bereich sehr schnell zu einer echten Herausforderung werden (Junker and Wang 2006). Ziel eines Scale ups in der Bioverfahrenstechnik ist es, ein Laborverfahren in den Betriebsmaßstab zu überführen. Damit soll eine gewünschte Zielmenge (Produkt pro Zeit, Umsatz pro Jahr, Spritzen/Tabletten/Vials pro Batch...) erreicht werden. Die eigentlichen Batch- und Baugrößen (Geometrie, Betriebsparameter) der Up- und Downstreamprozesse sowie des Fermenters resultieren daraus (Levin 2001). Das Scale up für Fermentationsprozesse im Batch-Verfahren lehnt sich stark an das Scale up der chemischen Industrie an. Grund hierfür sind die Verfahrensschritte Rühren/Mischen und Begasen, die Funktionsparameter wesentlich bestimmen. Bei biotechnologischen Prozessen kommt jedoch noch hinzu, dass bedingt durch Scherstress, Aufnahme- und Stoffübergangskoeffizienten der Zellen den Betriebsparametern (oftmals enge) Grenzen gesteckt sind. Ob ein Scale up erfolgreich war, kann zumeist erst im Betriebsmaßstab festgestellt werden (Levin 2001).

Der Modellübertragung in der Verfahrenstechnik gehen grundsätzliche Fragen voraus. (Zlokarnik 2005, 1):

- Wie klein darf das Modell sein? Genügt ein einziges Modell oder sind verschieden große Modelle notwendig?
- Welche stofflichen Parameter dürfen/können variiert werden? Muss das im originalen Stoffsystem passieren?

- Nach welchen Gesetzmäßigkeiten werden die Prozessparameter an die Großausführung angepasst?
- Ist eine vollständige Ähnlichkeit zwischen den einzelnen Maßstäben überhaupt möglich? Wenn nicht, welche Kompromisse kann/darf/muss ich eingehen?

Aufgrund der sich ändernden Geometrie und Prozessparameter, verändern sich für den Prozess wesentliche Dinge:

- Wärmeaustausch (Oberfläche-zu-Volumen Verhältnis)
- Durchmischungsqualität
- Scherkräfte
- Leerrohrgeschwindigkeit
- Zeit für den Inokulumtransfer
- Zeit für den Fermentationsstart
- Alter und Stabilität der Kultur
- Wahl von kostengünstigerem Medium bei größeren Maßstäben kann zu metabolischen Änderungen führen

Das außer Acht lassen oder die Vernachlässigung eines der angeführten Prozessparameter, kann zu einem fehlerhaften oder fehlgeschlagenem Scale up führen (Humphrey 1998). Tabelle 3-1 listet einige Scale up Kriterien auf.

Tabelle 3-1: Auflistung möglicher Scale up Kriterien

Scale up Parameter	Abhängigkeit	Quelle
volumetrischer Energieeintrag (P/V)	Rührparameter	(Wernersson and Trägårdh 1999)
Rührer-Reynoldszahl (Re)	Rührparameter, Geometrie	(Wernersson and Trägårdh 1999)
Rührspitzen Geschwindigkeit (impeller tip speed, ITS)	Rührparameter, Geometrie	(Wernersson and Trägårdh 1999)
Umwälzrate	Rührparameter, Geometrie	(Wernersson and Trägårdh 1999)
Sauerstofftransferrate (OTR)	Geometrie, physik. Eigenschaften der Brühe, Betriebsparameter	(Garcia-Ochoa and Gomez 2009)
Volumetrischer Massentransferkoeffizient ($k_L a$)	Geometrie, physik. Eigenschaften der Brühe, Betriebsparameter	(Garcia-Ochoa and Gomez 2009)
Gelöstsauerstoff (DO)	Rührparameter, Begasungsrate	(Junker 2004)
konstante Gasflusszahl	Begasungsrate	(Junker 2004)
Leerrohrgeschwindigkeit	Begasungsrate	(Junker 2004)
Mischzeit	Zeit, Volumen	(Junker 2004)

Dimensionalanalyse, Ähnlichkeit	dimensionslose Kennzahlen	(Zlokarnik 2003)
Simulation	math. Modell, exp. Daten	(Sommerfeld and Decker 2004)
konstanter pO_2	Rührparameter, Begasungsrate	(Schmidt 2005)
Gas hold-up (τ)	V_{Ferm}/V_{gas}	(Schmidt 2005)

Der in der Industrie gern benutzte Ansatz des konstanten $k_L a$ Werts als Scale up Kriterium ist nicht immer unproblematisch. So wird in der Literatur (Junker 2004) ein $k_L a$ basiertes Scale up für die Penicilin und Bialaphos Herstellung mit erheblichen Abweichungen im Betriebsmaßstab vom Labormaßstab beschrieben. Generell ist das Verwenden von nur einem Parameter in der Regel nicht zielführend. Besser geeignet ist die Kombination von zwei oder mehr Parameter unter gegenseitiger Abhängigkeit zB. P/V und $k_L a$ (Methode nach Hubbard), $k_L a$ und ITS (Methode nach Wang et al.), OTR, Begasungsrate und IST (Methode nach Ju et al.). Welche Kombination gewählt wird, ist von Prozess zu Prozess unterschiedlich und kann nicht verallgemeinert werden. (Junker 2004; Schmidt 2005).

Eine besondere Stellung nimmt hierbei die Durchmischungsqualität ein. In der Regel erfolgt die Substratzufuhr in einen Fermenter von oben und die Begasung submers. Zellen im oberen Bereich des Fermenters werden einem Substratüberschuss (zB. Glukose) und einem Sauerstoffmangel ausgesetzt, während genau das Gegenteil für Zellen in Bodennähe gilt. Das kann zu regionalen Änderungen des Metabolismus (overflow metabolism) und/oder zur Ausscheidung von Nebenprodukten führen, welche die Produktqualität und/oder die Ausbeute negativ beeinflussen. Wird nun der Maßstab vergrößert, verschärft sich diese Problematik durch:

- längere Distanzen zw. Substrat- und Sauerstoffzugabe. Das kann zu größeren Verarmungs- und Überschusszonen führen.
- längere Mischzeiten. Durch das größere Volumen erhöht sich Dauer der Durchmischung.
- höheren hydraulischen Druck. Der hydraulische Druck beeinflusst direkt die Sauerstofftransferrate (OTR).

Des weiteren sind lokale Überhitzung, Übersäuerung und generell erhöhte Stressbedingungen direkt von der Durchmischungsqualität abhängig. Stressbedingungen führen bei Zellen zu metabolischen Verschiebungen oder gar zum Zelltod. Eine Möglichkeit schlecht durchmischte Zonen vorherzusagen und damit zu verhindern ist die Scale up Unterstützung mit *computational fluid dynamics* (CFD) (Schmidt 2005).

3.2. Einführung Rührtechnik

Vor dem Einstieg in die Scale up Thematik, soll hier ein kurzer Überblick über das in diesem Zusammenhang sehr wichtige Thema der Rührtechnik im Allgemeinen und von begasten Bioreaktoren im Speziellen gegeben werden.

3.2.1. Mischen und Rühren

Man kann Mischen als eine Stoffvereinigung verschiedener Komponenten betrachten. Eine gute Mischung zeichnet sich dadurch aus, dass die Zusammensetzung von gezogenen Proben mit der Gesamtzusammensetzung weitgehend übereinstimmt (Stieß 2009, 331). Es wird zwischen Mikro- und Makromischung unterschieden. Während die Makromischung maßstabsabhängig ist und durch eine Überlagerung von Turbulenzwirbel beschrieben wird, ist die Mikromischung maßstabsunabhängig und bezeichnet die Durchmischung auf molekularer Ebene. Von der Mischoperation Rühren spricht man, wenn die Mehrheitskomponente flüssig ist. Im wesentlichen lassen sich 5 Rühraufgaben definieren (Zlokarnik 1999, 1):

- Ausgleichen von Konzentrations- und Temperaturunterschieden
- Intensivierung des Stoffaustausches
- Aufwirbeln (ev. Lösen) eines Feststoffes in einer Flüssigkeit
- Dispergieren nicht ineinander löslicher Flüssigkeiten
- Dispergieren (Zerteilen) eines Gases in der Flüssigkeit

In Abbildung 3-1 sei ein Beispiel für die Notwendigkeit der guten Durchmischung in einem begastem Bioreaktor gezeigt.

Wird in einem Behälter ohne Einbauten ein zentrischer Rührer montiert, kommt es in Folge der Flüssigkeitsbewegung zu einer Trombenbildung. Die Trombe kann das Rührorgang erreichen und so zur Beschädigung oder Zerstörung des Rührorgangs, durch fehlende „Flüssigkeitslagerung“, führen. Des weiteren kann es zu unerwünschter „Trombenbegasung“ kommen. Auch wenn die Trombenbildung ausbleibt, ist die Rotation der Flüssigkeit im Behälter zu vermeiden. Die auftretenden Zentrifugalkräfte bewirken im Zweiphasensystem aufgrund des Dichteunterschieds eine Entmischung. Das lässt sich durch den Einsatz von Strombrechern (Trombenbrecher, Stromstörer) vermeiden. Dabei handelt es sich (meist) um 4 senkrecht an der Behälterinnenwand montierte Leisten (Zlokarnik 1999, 33ff).

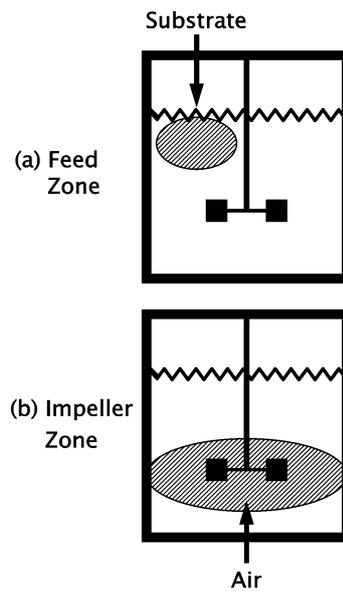


Abbildung 3-1: Schematische Darstellung möglicher Konzentrationsgradienten (Davidson et al. 2003). a) Wenn durch unzureichende Durchmischung das Substrat in der Zugaberegion schneller verbraucht wird als verteilt. b) Durch eine hohe Viskosität erfolgt der Sauerstofftransfer nur im Bereich des Rührwerks.

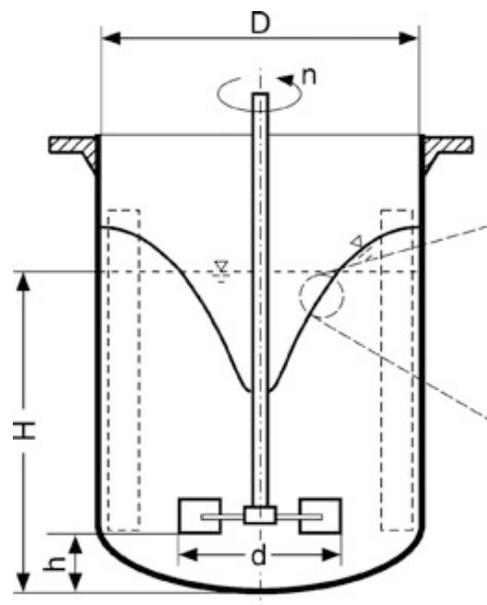


Abbildung 3-2: Veranschaulichung einer Flüssigkeitsströmung. Ausschnitt aus (Kraume 2012, 559)

Für unterschiedliche Rühraufgaben werden unterschiedliche Rührertypen angeboten. Grundsätzlich wird zwischen Axial-, Radial und Tangentialrührern unterschieden (Stieß 2009, 381).

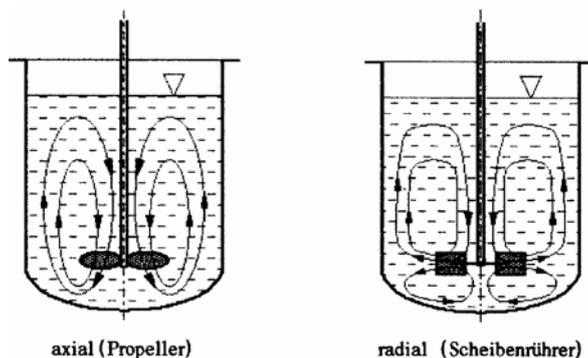


Abbildung 3-3: Strömungsbild eines axialen und eines radialen Rührers (Stieß 2009, 383)

Tabelle 3-2 gibt einen Überblick über axiale und radiale Rührorgane.

Tabelle 3-2: Merkmale und Einsatzgebiete gängiger Rührorgane (Kraume 2012, 560)

Position	wandfern			Wandnah		
Förderrichtung	axial	radial		axial/radial	radial	Axial
Fördermenge		hoch	niedrig			
Typische Rührorgane	Propeller	Scheibenrührer	Zahnscheibe	Schrägblattrührer	Ankerührer	Wendelrührer
bez. Rührerdurchmesser d/D	0,1–0,5	0,2–0,5	0,2–0,5	0,2–0,5	0,9–0,98	0,9–0,98
bez. Rührerbodenabstand h/d	0,3–3	0,3–3	0,3–3	0,3–3		
w_{up} [m/s]	3–15	3–7	8–30	3–15	bis 2	bis 2
η [mPa·s]	bis 8 000	bis 10^4	bis 10^4	bis $2 \cdot 10^4$	bis 10^6	bis 10^6
Strömungszustand	turbulent $Re > 10\,000$			Übergang $Re > 50$		laminar $Re < 50$
Blattanzahl	3	6	-	4/6	-	-
Stufenzahl	1	1	1	1	-	-
Stromstöreranzahl	3/4	2/(4)	(0)/2/(4)	2/3/4	1/2	-
Rührtaufgabe:						
Homogenisieren	•			•	•	•
Suspendieren	•					
Begasen		•				
Emulgieren		•	•			
Desagglomerieren			•			
Wärmeübergang				•	•	•

3.2.2. Rührleistung

Die Rührleistung ist einer der wichtigsten Prozessparameter im Betrieb und im Scale up. Die Rührerleistung für unbegaste Flüssigkeiten hängt vom Rührerdurchmesser d , den Stoffwerten ρ und ν der Flüssigkeit und der Rührerdrehzahl n ab. Für begaste Flüssigkeiten kommt noch der Gasdurchsatz q und die Erdbeschleunigung g hinzu. Die Stoffwerte der Gasphase sind hier vernachlässigbar (Zlokarnik 1999, 73ff). Der Leistungseintrag ist proportional zur Widerstandskraft (Kraume 2012, 563):

$$F_w = \xi \frac{\rho w^2}{2} A \quad (1)$$

Da die Relativgeschwindigkeit w zwischen Flüssigkeit und Rührorgan nicht exakt wiedergegeben werden kann, wird hier zumeist die Rührerspitzen Geschwindigkeit w_{tip} verwendet.

$$w \sim w_{tip} = \pi n d \quad (2)$$

Die in Gl.(1) beschriebene Fläche A entspricht der vom Rührer beschriebenen Kreisfläche. Mit

$$P = F_w w \quad (3)$$

ergibt sich die Newton Zahl Ne (oder auch Leistungskennzahl) zu (Zlokarnik 1999, 74)

$$Ne = \frac{P}{\rho n^3 d^5} \quad (4)$$

Ne ist eine dimensionslose Kennzahl die von der Geometrie und der Reynoldszahl Re abhängt (Kraume 2012, 568; Zlokarnik 1999, 74).

$$Re = \frac{n d^2 \rho}{\eta} = \frac{n d^2}{\nu} \quad (5)$$

Die gegenseitige Abhängigkeit von Ne und Re wurde für verschiedene Rührertypen bestimmt. Bei der in Abbildung 3-4 gezeigten Grafik fällt auf, dass sich ab einer gewissen Turbulenz $Ne = \text{konstant}$ einstellt. Der Vollständigkeit halber seien hier noch 3 weitere dimensionslose Rührer Kennzahlen eingeführt (Zlokarnik 1999, 81). Die Durchsatzkennzahl Q :

$$Q = \frac{q}{n d^3} \quad (6)$$

die Froude Kennzahl Fr :

$$Fr = \frac{n^2 d \rho}{g \Delta \rho} \quad (7)$$

und die Weber Kennzahl We

$$We = \frac{n^2 d^3 \rho}{\sigma} \quad (8)$$

Beim Rühren in begasten Rührkesseln ist es eine der Rühraufgaben, den Gasdurchsatz in möglichst kleine Blasen zu dispergieren. Dabei ist wieder zu beachten, dass der Begasungsrate aufgrund einer eventuellen Scherempfindlichkeit der Organismen (welche die Rührerdrehzahl beschränken) nach oben hin Grenzen gesetzt sind. Damit verbundene Probleme (Überflutung) sind in Abbildung 3-5 dargestellt (Kraume 2012, 564).

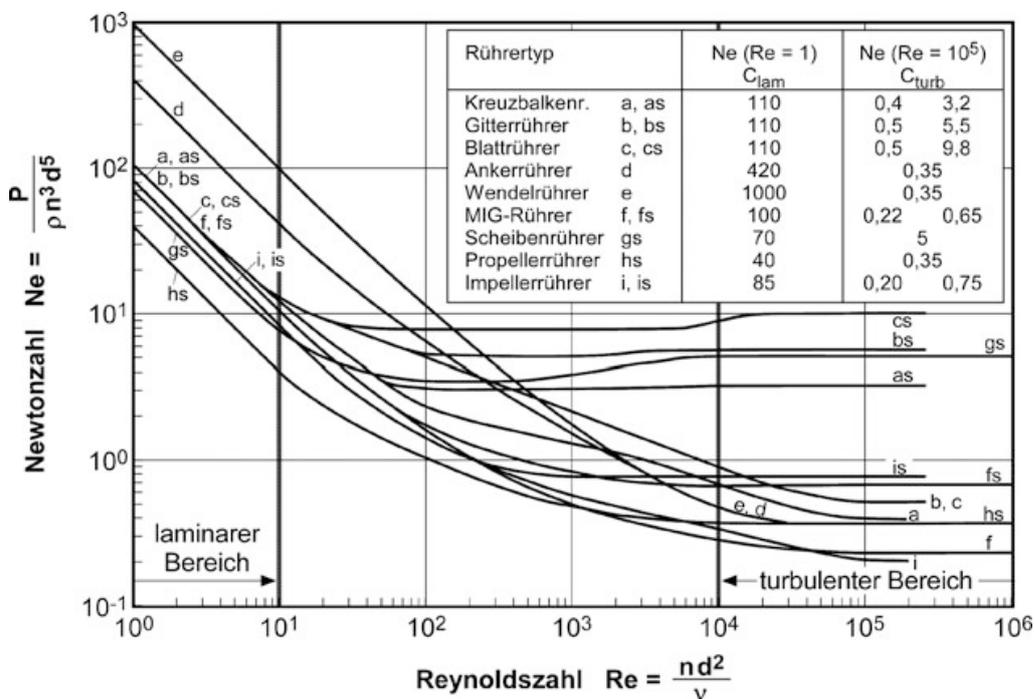


Abbildung 3-4: Leistungscharakteristiken verschiedener Rührertypen (Zlokarnik 1999, 77)

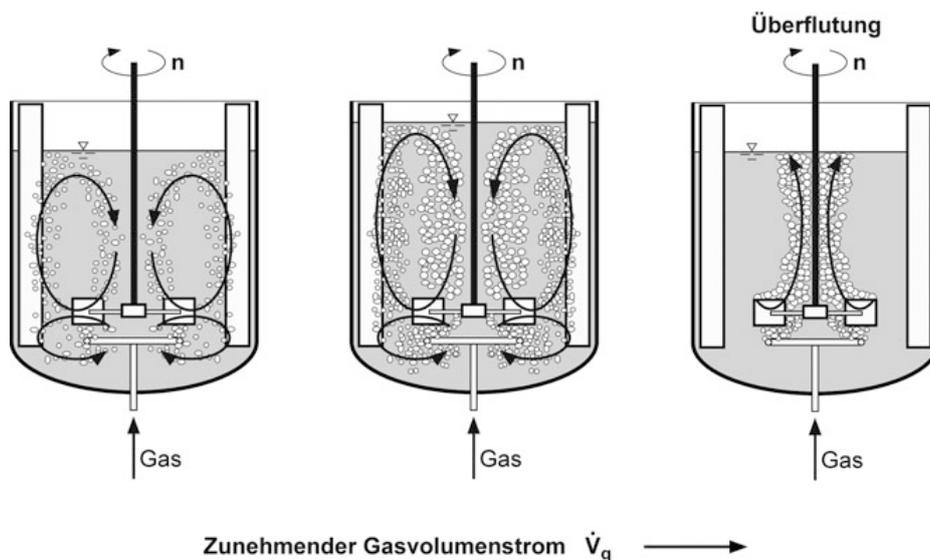


Abbildung 3-5: Typische Strömungsformen (bei gleichbleibender Drehzahl n) in begasten Rührkesseln (Kraume 2012, 577)

Für den in mikrobiellen Fermentationen gerne verwendeten Scheibenrührer zeigt Abbildung 3-6 eine Leistungskurve und Abbildung 3-8 zeigt 3 verschiedene Zustände für begaste Rührkesseln.

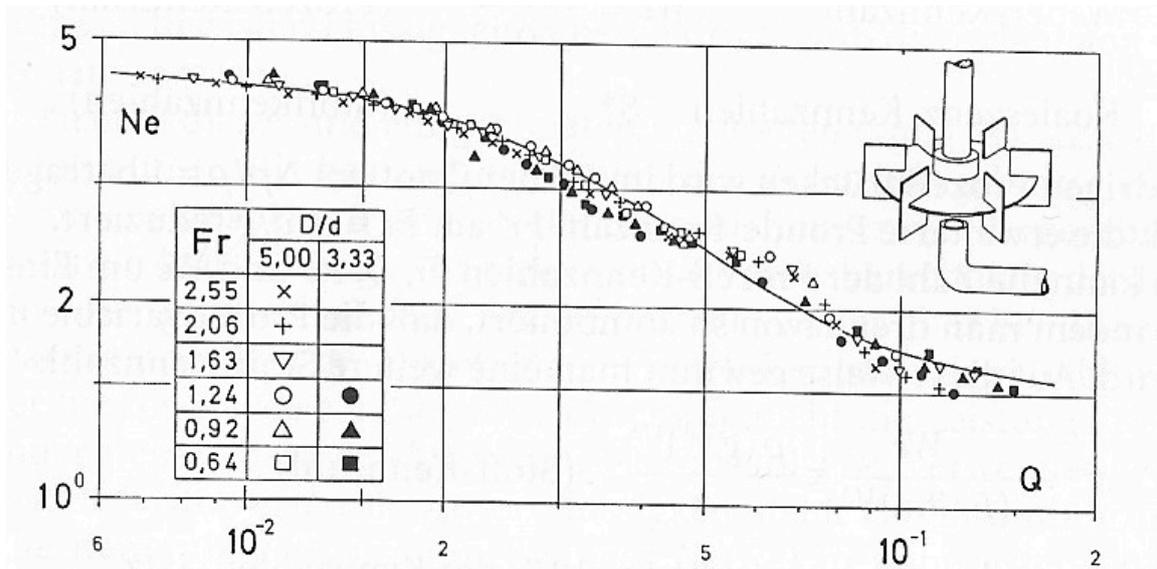


Abbildung 3-6: Leistungskarakteristik eines Scheibenrührers im System Luft/Wasser (Zlokarnik 1999, 82)

Die aus Abbildung 3-6 ausgezogene Kurve entspricht:

$$Ne_g = 1,5 + \frac{1}{0,5 * Q^{0,075} + 1600 * Q^{2,6}} \quad (9)$$

und hat den Geltungsbereich $Q \leq 0,15$, $Fr \geq 0,65$ und $Re \geq 104$ und $D/d \geq 3,3$ (Zlokarnik 1999, 82).

Eine Korrelation mit einem etwas breiteren Einsatzbereich ($Ne_0 \approx 4,9$, $Fr \leq 0,07(D/d)^{1,53}$, $d/D = 0,2-0,42$, $Re > 10^4$, $\Delta h/D > 0,75$) liefert Gl. (10) (Zlokarnik 1999, 83):

$$Ne_g = \frac{z}{\left(Ne_0 + 187 * G * Fr^{-0,32} * \left(\frac{d}{D} \right)^{1,53} - 4,6 * Q^{1,25} \right) * \left(1 + 136 * Q * \left(\frac{d}{D} \right)^{1,14} \right)} \quad (10)$$

Für verschiedene Rührertypen kann Ne_g in Abhängigkeit von Q nach Abbildung 3-7 bestimmt werden.

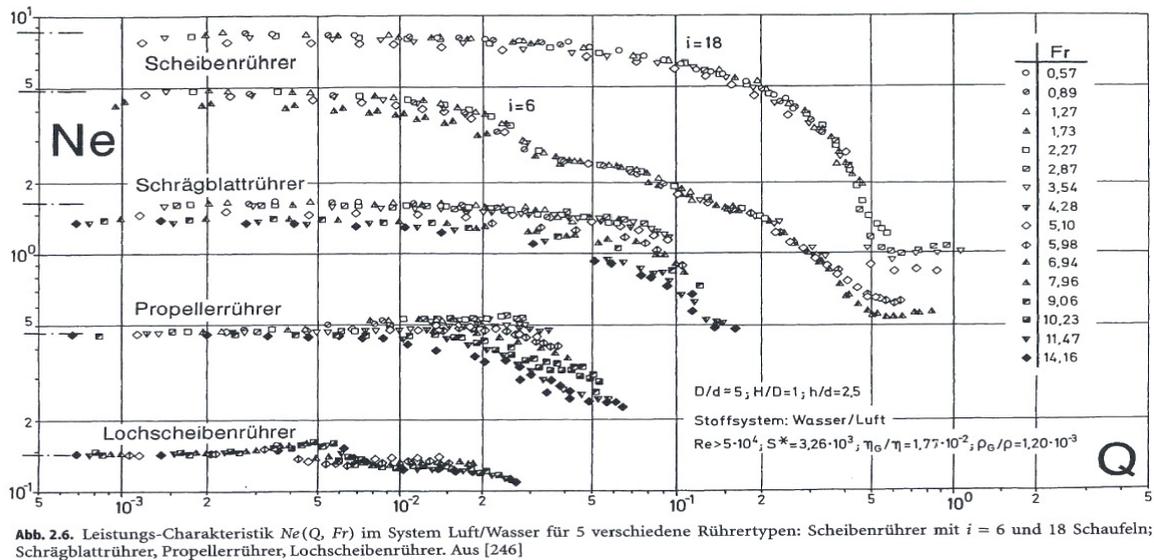


Abbildung 3-7: Ne in Abhängigkeit von Q (Zlokarnik 1999, 83)

Als eine weitere wichtige Kenngröße sei hier die Rührleistung P/V , welche ausschlaggebend für den Stofftransport ist, genannt, da sie die volumenbezogene Phasengrenzfläche a bestimmt, (Zlokarnik 1999, 80; Kraume 2012, 580f).

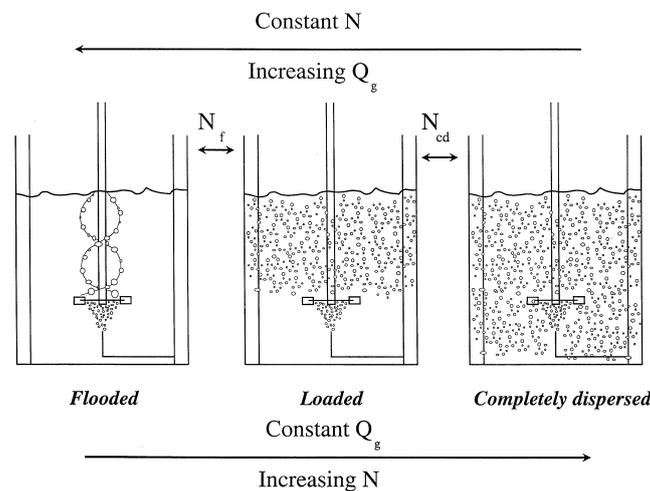


Abbildung 3-8: Gasblasenverteilung bei Rührerdrehzahl und Gasstromvarianz (Paglianti, Pintus, and Giona 2000)

3.2.3. Begasung

Das Ziel der Operation Begasung, ist eine Vergrößerung der Phasengrenzfläche zwischen Gas und Flüssigkeit. Die Zielgröße bei dieser Operation ist die Absorbtionsgeschwindigkeit (Zlokarnik 1999, 120). Basierend auf der Zweifilmtheorie von Lewis und Whiteman und dem

Henry'schem Gesetz sei, ohne weitere Ausführungen, die Stoffdurchgangsgleichung eingeführt (Zlokarnik 1999, 121):

$$j_m = \frac{G}{A} = k_G(p - p^*) = k_L(c^* - c) \quad (11)$$

Da der Widerstand des Stoffübergangs im vorliegenden Fall fast ausschließlich auf der Flüssigseite liegt, vereinfacht sich Gl. (11) zu

$$G = k_L A \Delta c \quad (12)$$

Da die Stoffaustauschfläche A und k_L unbekannt und prozessabhängig sind, werden sie zu einer Zielgröße (Oberflächenbegasung) zusammengefasst:

$$k_L A = \frac{G}{\Delta c} \quad (13)$$

Für die Volumenbegasung wird der Stoffstrom auf das Flüssigkeitsvolumen V bezogen und ergibt:

$$\frac{G}{V} = k_L a \Delta c \quad (14)$$

bzw.

$$k_L a = \frac{G}{V \Delta c} \quad (15)$$

Der $k_L a$ -Wert ist temperaturabhängig. Die Abweichung beträgt 17-21% pro 10°C. Eine vorgeschlagene ϑ -Korrektur lautet (Zlokarnik 1999, 123):

$$k_L a_{(20^\circ C)} = (k_L a)_\vartheta * 1,024^{20-\vartheta} \quad (16)$$

Für biotechnologische Prozesse leistet der Stoffübergang (insbesondere der von Sauerstoff) einen entscheidenden Beitrag bezüglich Ausbeute und Kapazität. Aus diesem Grund wird der $k_L a$ Wert sehr häufig als Hauptkriterium für Scale up verwendet (Garcia-Ochoa and Gomez 2009).

Für a finden sich verschiedene Korrelationen in der Literatur (Kraume 2012, 580). Die meist verwendete stammt von (Calderbank 1958):

$$a = 1,44 \left(\frac{\left(\frac{P}{V} \right)^{0,4} \rho_f^{0,2}}{\sigma^{0,6}} \right) \left(\frac{v_g}{w_B} \right)^{0,5} \quad (17)$$

w_B wird für Blasen zwischen 2 und 5mm mit 0,265 m/s angegeben. Allgemein beträgt die Aufstiegsgeschwindigkeit einer Blase in einer Flüssigkeit (Kraume 2012, 196):

$$w_B = \sqrt{\frac{4 \Delta \rho}{3 \rho_F} g d_B} \quad (18)$$

Die mittlere Verweilzeit t_B einer Gasblase im Rührbehälter lautet (Stieß 2009, 412):

$$\bar{t}_B = \frac{V_G}{\dot{V}_G} \quad (19)$$

Sie ist umso größer, je kleiner die Blasen sind, da sie eine kleinere Aufstiegs geschwindigkeit haben (siehe Gl. (18)). Das hat zur Folge, dass bei gleichem Gas hold-up der Gasvolumenstrom kleiner wird.

Durch die in der Flüssigkeit vorhandene Gasmenge erhöht sich zum Einen der Flüssigkeitsspiegel, was als Gas hold-up ε bezeichnet wird und zum Anderen reduziert sich die Dichte, was zu einer Erniedrigung des Leistungsverbrauchs führt (Garcia-Ochoa and Gomez 2009). Der Gas hold-up ist definiert als Gasanteil in einer begasten Flüssigkeit (Schmidt 2005; Zlokarnik 1999, 147; Stieß 2009, 412):

$$\varepsilon = \frac{V_G}{V_G + V_F} = \frac{V_G}{V_R} = \frac{H_b - H}{H} \quad (20)$$

Im Fall von begasten Rührkesseln muss die Leistung P zu P_g mit Ne_g korrigiert werden.

3.3. Scale up mit CFD Unterstützung

Computational fluid dynamics (CFD) hat sich mittlerweile zu einem weitverbreitetem Tool zur Analyse, Entwicklung, Optimierung und Design von Mischprozessen in Rührkesseln entwickelt. Der Rührer und seine Rührelemente induzieren ein periodisches Flussfeld. Es entstehen Ablösungen und Wirbel die in die Bulkphase durch Konvektion und Turbulenz eingetragen werden. Das führt oft schon bei der Berechnung von Einphasensystem zu großer Komplexität und Unsicherheiten. Bei biotechnologischen Prozessen handelt es sich in der Regel um Zwei- oder Mehrphasenströmungen (Sommerfeld and Decker 2004).

CFD Modelle werden dazu verwendet Strömungsfelder, Scherstress, Sauerstoffprofile (Williams, Saini, and Wick 2002) oder Mischzeitverteilungen (Davidson et al. 2003) zu berechnen. Die Makromischung ist hierbei der interessanteste Teil im Scale up, da sie die Rührleistung und die Stoff- und Massentransfer Eigenschaften im Reaktor wesentlich beeinflusst und im Gegensatz zur Mikromischung maßstabsabhängig ist (Li et al. 2005).

Es gibt verschiedene Ansätze, die im wesentlichen auf den Navier-Stokes Gleichungen als Erhaltungssätze für Masse und Impuls beruhen (Williams, Saini, and Wick 2002; Davidson et al. 2003; Dhanasekharan et al. 2005). Eine besondere Herausforderung stellen hierbei Rührkessel mit Strömungsbrechern dar. Eine komplette simultane Simulation ist nicht mehr trivial und benötigt hohe Rechenleistungen (Brucato et al. 1998).

In der direkten numerischen Simulation (DNS) werden sowohl Mikro- als auch Makroturbulenz berücksichtigt und die zeitabhängigen, dreidimensionalen Erhaltungsgleichungen gelöst. Dafür wird der Rührkessel in sehr kleine Kontrollvolumina unterteilt. Für einen Rührkessel mit $d=150\text{mm}$ und $Re=8000$ betragen die Abmessungen dieser „grids“ (oder „mesh“) $100\ \mu\text{m}$. Das führt zwangsläufig zu einer sehr großen Anzahl an Kontrollvolumina.

Auf der anderen Seite erlaubt es die Large Eddy Simulation (LES) ein grobmaschiges Netz zu verwenden, da hier nur Makromischung und große Turbulenz betrachtet werden. Damit eignet sich die LES für die Bestimmung der Hydrodynamik und Turbulenzstrukturen in Rührkessel. (Sommerfeld and Decker 2004).

Tabelle 3-3 zeigt einen Vergleich der Rechenzeit und Ergebnisse für eine DNS und LES Simulation in einem Rührkessel mit einem Scheibenrührer.

Tabelle 3-3: Vergleich LES und DNS (Sommerfeld and Decker 2004)

	Anzahl Kontrollvolumina	Zeitschritte	Anzahl Prozessoren	Rechenzeit	Speicherplatz	Ne- Zahl
LES	248,020	480	1	1,1 Tage	0,35 GB	3,8
LES	1,984,160	960	4	8,1 Tage	2,7 GB	4,2
DNS	15,873,280	1920	8	83,6 Tage	17,4 GB	4,3

Die Dauer von fast 3 Monaten Rechenzeit und die hohen Kosten machen die DNS für den industriellen Einsatz uninteressant (Sommerfeld and Decker 2004).

Ein weiterer Berechnungsansatz ist die Reynolds-averaged Navier Stokes (RANS) Methode. Dabei werden die momentanen Eigenschaften (Dichte, Geschwindigkeit, Konzentration...) durch Mittelwerte mit einem Fluktuationsterm beschrieben. Dadurch werden alle Unsicherheiten, die durch Eddy-Turbulenz hervorgerufen werden, beseitigt (Sommerfeld and Decker 2004).

Tabelle 3-4 soll verdeutlichen, dass die mittels CFD ermittelten Daten im wesentliche sehr gut mit den experimentell ermittelten übereinstimmen.

Tabelle 3-4: Vergleich experimenteller Daten mit CFD Berechnungen (DNS) (Ahmed et al. 2010)

Rührerdrehzahl [U/min]	Gas hold up gesamt		Ne_g/Ne_0		Mischzeit [s]	
	Experiment	CFD	Experiment	CFD	Experiment	CFD
250	0,026	0,025	0,8	0,91	9,5	11,5
350	0,038	0,043	0,97	0,85	7,8	10,6
450	0,051	0,075	0,66	0,83	6,3	6,4

Abbildung 3-9 zeigt das Ergebnis einer CFD Simulation als Grafik für den Gas hold-up eines Rührbehälters mit 2 Scheibenrührern bei 450 U/min.

Die Abbildung 3-9 bis Abbildung 3-11 sollen zeigen, welche Ergebnisse mittels CFD gewonnen werden können.

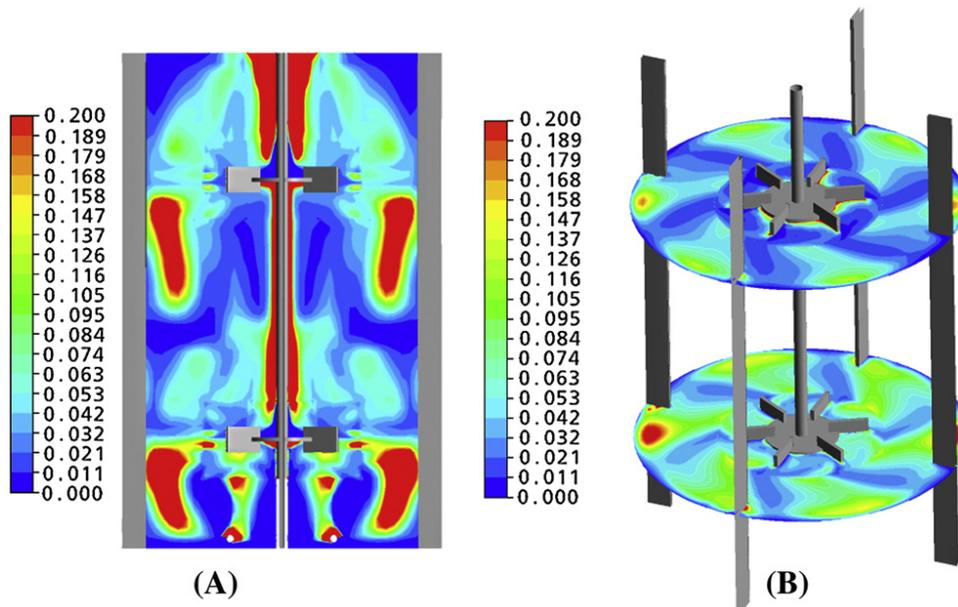


Abbildung 3-9: Vorausberechneter Gas hold-up bei 0,5 vvm Begasungsrate a) Längsschnitt b) Rührerebene (Ahmed et al. 2010)

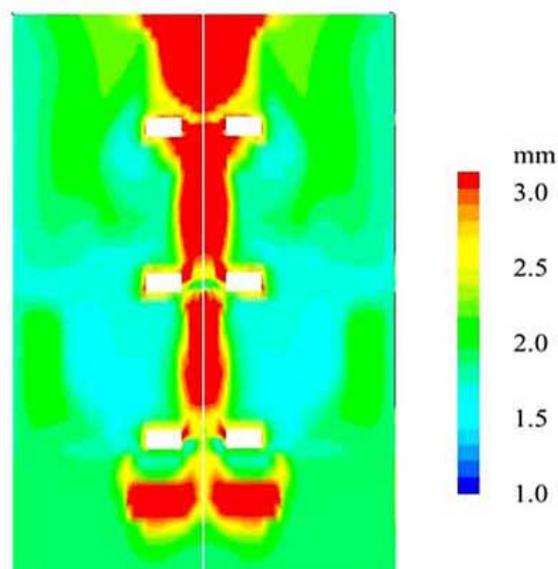


Abbildung 3-10: Gasblasengrößenverteilung eines 20L Bioreaktors mit 3 Scheibenrührern (Zhang et al. 2010)

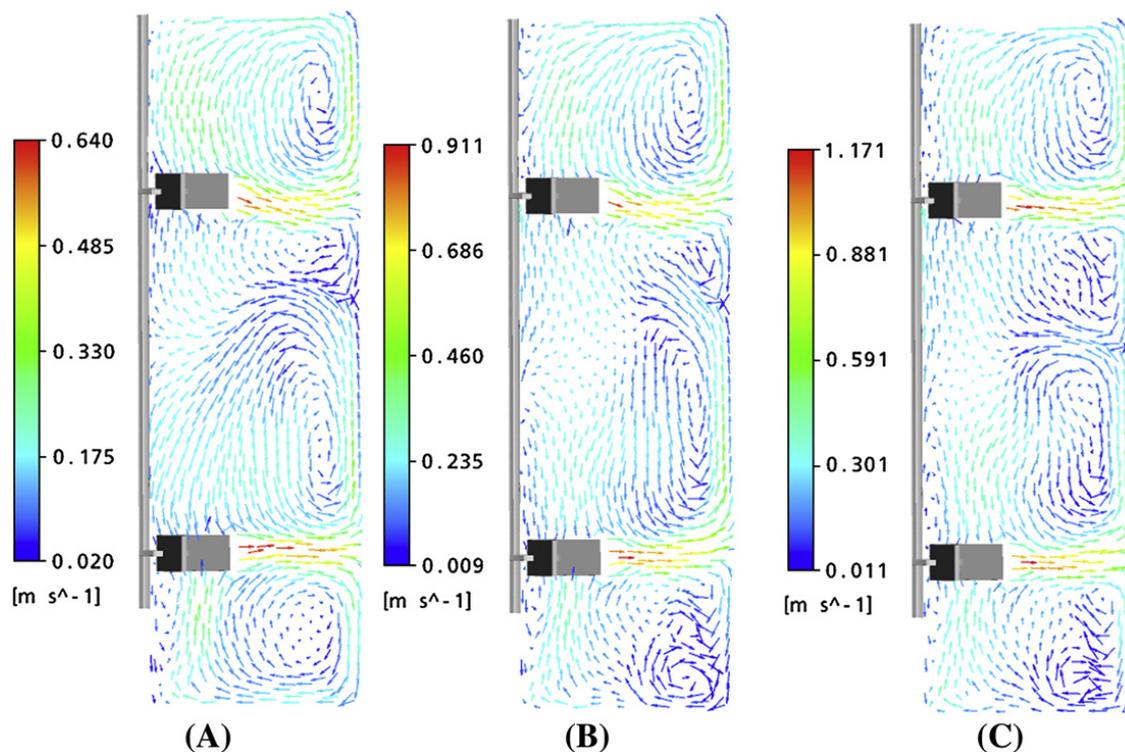


Abbildung 3-11: Geschwindigkeitsprofil bei 0,5 vvm Begasungsrate für A) 250U/min B) 350 U/min und C) 450 U/min (Ahmed et al. 2010)

CFD Simulationen sind deswegen eine sinnvolle Ergänzung im Scale up, da sich nach Gl. (5) Re mit d^2 ändert. Wird nun mit dem selben Stoffsystem wie im Betriebsmaßstab gearbeitet, landet man bei kleinen Versuchsaufbauten im laminaren Bereich. Um das zu verhindern wird für Untersuchungen im Labormaßstab oftmals das Medium gewechselt, zumeist auf Wasser. Wasser besitzt eine geringere Viskosität, wodurch nicht so hohe Rührerdrehzahlen notwendig sind um in den turbulenten Strömungsbereich zu kommen. Das hat jedoch zur Folge, dass keine Aussagen über Mischzeit, Turbulenz, Totzonen etc. getroffen werden können. In diesem Fall ist man an die Grenzen der Ähnlichkeit gestoßen. Hier es notwendig, die Messungen in verschieden großen Modellen im originalen Stoffsystem durchzuführen und die gewonnenen Daten zur Extrapolation auf die gewünschte Größe heranzuziehen (siehe hierzu Kapitel 3.4.2). CFD Simulationen würden an dieser Stelle den experimentellen Aufwand erheblich verringern.

3.4. Scale up mit Dimensionsanalyse

3.4.1. Grundlagen der Dimensionsanalyse

Als Grundlage der Dimensionsanalyse dient eine dimensionshomogen formulierte, mathematische Beziehung. Das bedeutet, dass man ein (verfahrens)technisches Problem formuliert, indem man alle Einflussgrößen und die Zielgröße auflistet. Die vorkommenden Größen werden dann auf gegenseitige Abhängigkeit anhand ihrer Dimensionen geprüft, denn nicht selten haben verschiedene physikalische Größen dieselbe Dimension. (Zlokarnik 2005, 3)
Eine physikalische Größe ist per Definition:

$$\text{Physikalische Größe} = \text{Zahlenwert} \times \text{Einheit (Dimension)}$$

Diese einfache Formulierung zeigt, dass für einen sinnvollen Zusammenhang zwischen physikalischen Größen Dimensionshomogenität gegeben sein muss, wenn diese allgemein gültig sein soll (Stieß 2009, 100f). Diese Zusammenhänge lassen sich durch dimensionslose Kennzahlen (siehe Gl. (4)-(8)) darstellen. Als Basis hierfür dienen die 7 Grundgrößenarten nach dem Système International d'Unités (SI). Aus ihnen lassen sich dann weitere Basisgrößen und Basiseinheiten bilden (Halliday, Resnick, and Walker 2001, 2f).

Tabelle 3-5: SI-Einheiten (Halliday, Resnick, and Walker 2001, 2ff)

Grundgröße	Dimension	Einheit	
Länge	L	m	Meter
Masse	M	kg	Kilogramm
Zeit	T	s	Sekunde
Temperatur	Θ	K	Kelvin
Stoffmenge	N	mol	Mol
elektr. Stromstärke	I	A	Ampère
Lichtstärke	Iv	cd	Candela

Tabelle 3-6 soll einen Überblick über wichtige und viel verwendete sekundäre Größen und deren Dimensionen geben.

Tabelle 3-6: Sekundäre Größenarten und deren Dimensionen (Zlokarnik 2005, 5f)

Größenart	Dimension	Einheit
Fläche	L^2	m^2
Volumen	L^3	m^3
Geschwindigkeit	$L T^{-1}$	$m s^{-1}$
Dichte	$M L^{-3}$	$kg m^{-3}$

Wärmeleitfähigkeit	$M L T^{-3} \Theta^{-1}$	$kg m s^{-3} K^{-1}$	
Wärmeübergangskoeffizient	$M T^{-3} \Theta^{-1}$	$kg s^{-3} K^{-1}$	
Kraft	$M L T^{-2}$	$kg m s^{-2}$	Newton
Druck	$M L^{-1} T^{-2}$	$kg m^{-1} s^{-2}$	Pascal
Energie	$M L^2 T^{-2}$	$kg m^2 s^{-2}$	Joule
Leistung	$M L^2 T^{-3}$	$kg m^2 s^{-3}$	Watt

Die Aufgabe der Dimensionsanalyse ist es nun zu überprüfen, ob ein Zusammenhang dimensionshomogen formuliert werden kann. Um das zu erreichen werden 2 Schritte durchgeführt (Zlokarnik 2005, 7):

- Erstellen einer Relevanzliste. Hierbei werden alle Parameter aufgelistet, welche das Problem beschreiben (Einflussgrößen und Zielgrößen). Die Zielgröße stellt dabei die einzige abhängige Größe während die Einflussgrößen untereinander linear unabhängig sein sollen.
- Überprüfen auf Dimensionshomogenität. Der Zusammenhang der Einflussgrößen wird dimensionslos formuliert. Als Grundlage hierfür gilt das Pi-Theorem (siehe auch Kapitel 3.4.3).

Beim Erstellen der Relevanzliste müssen einige Dinge beachtet werden (Zlokarnik 1983):

- Jede Zielgröße benötigt eine eigene Relevanzliste
- Geometrische Parameter würden die Liste überladen. Oft reicht eine charakteristische Länge aus, um Dimensionslosigkeit zu erreichen
- Die Variablen müssen von einander unabhängig und messbar sein
- Naturkonstanten sind ebenfalls zu berücksichtigen (sofern relevant)

Die Dimensionsanalyse liefert uns bei richtiger Anwendung 4 Vorteile (Zlokarnik 2005, 49f):

- Verminderung der Anzahl der Parameter durch das Pi-Theorem
- Gesicherte Modellübertragung durch die Maßstabsinvarianz des Pi-Raumes
- Widergabe und Veranschaulichung von Versuchsergebnissen durch Kennzahlen
- Gesicherte Extrapolierbarkeit innerhalb des erfassten Bereiches

3.4.2. Grundlagen der Modellübertragung - Ähnlichkeit

Sind nun Modell-Stoffsysteme nicht verfügbar oder können gewisse Betriebsbedingungen im Labormaßstab nicht realisiert werden, stößt man an die Grenzen der Dimensionsanalyse. Partielle oder vollständige Ähnlichkeit herzustellen kann hier aushelfen (Zlokarnik 2005, 41). Dabei kann man sich zum Einen geometrischer und physikalischer Ähnlichkeit bedienen oder zum Anderen, Maßstabsübertragungen im Prozesspunkt durchführen. Auf beides sei an dieser Stelle genauer eingegangen:

Bei der geometrischen Ähnlichkeit geht es darum, dass alle Längenmaße im gleichen konstanten Verhältnis, dem Maßstabs- oder Vergrößerungsfaktor μ , stehen.

So soll zum Beispiel (Stieß 2009, 98)

$$\frac{L_H}{L_M} = \frac{d_H}{d_M} = \mu = const \quad (21)$$

sein. Während geometrische Ähnlichkeit recht einfach einzuhalten ist, wird es bei der physikalischen Ähnlichkeit komplizierter. So soll zum Beispiel für eine Strömungsform gelten:

$$Re_M = Re_H \quad (22)$$

In der Re-Kennzahl sind nach Gl. (5) v (bzw. ρ und η), n (und damit w) und d^2 enthalten. Meist wird versucht mit dem gleichen Stoff im Modell wie im Hauptmaßstab zu arbeiten. Ist das aus irgendeinem Grund nicht möglich, müssen die anderen Parameter (hier n und d) angepasst werden. Ist jedoch nur eine fixe Abmessung für d (zB. Rührerdurchmesser in einem Reaktor) verfügbar, kann es sein dass das Einstellen von Re_M durch die Rührerdrehzahl allein nicht möglich ist. (Stieß 2009, 98).

Ist zum Beispiel, wie hier, eine bestimmte Re_H gefordert/bekannt und lässt sie sich im Modellmaßstab realisieren, lassen sich über ein sogenanntes Scale Down die dazugehörigen Betriebsparameter im Modell bestimmen. Man spricht dann von einer Maßstabsübertragung im Prozesspunkt. Diese ist immer dann von großem Interesse, wenn die Prozessdaten bekannt sind und ich für deren Realisierung die Betriebspunkte wissen möchte. So lässt sich zum Beispiel der Druckverlust einer Rohrleitung bei gleicher Re Zahl und Geschwindigkeit im Modell bestimmen und auf eine beliebige Rohrgröße unter gleichen Bedingungen umlegen (Zlokarnik 2005, 26f).

Wenn man von vollständiger Ähnlichkeit spricht, gilt diese nur für den Teilbereich der Problemstellung, der von der Pi-Beziehung erfasst wird. So wird zum Beispiel $Re_H=Re_M$ realisiert, bedeutet das nicht, dass zwangsläufig der Wärmeübergang und damit $Pr_H=Pr_M$ gleich bleibt. Grundsätzlich gilt, je umfassendere Ähnlichkeit gefordert ist und je größer der

Übertragungsfaktor ist, desto schwieriger wird die Modellübertragung. Das Einhalten von mehr als zwei Ähnlichkeitsbedingungen gleichzeitig ist meist nicht möglich. Man müsste dann, so wie im oben genannten Fall Kompromisse eingehen (Zlokarnik 2005, 26f).

Die in Kapitel 3.1 gestellte Frage: Genügt ein einziges Modell oder sind verschieden große Modelle notwendig, soll an dieser Stelle beantwortet werden.

Man kommt in der Tat mit einem Modellapparat aus, wenn sich alle Zahlenwerte der Kennzahlen, die gefordert sind, einstellen lassen. Wenn dem nicht so ist, ist es notwendig den Prozess und seine Charakteristik in verschiedenen großen Maßstäben zu erarbeiten und anschließend zu extrapolieren. Das ist zum Beispiel bei Nichtverfügbarkeit des Stoffsystems der Falls (zB. nicht Newton'sche Fluide) oder Unkenntnis gewisser Stoffparameter (zB. Koaleszionsverhalten von Schäumen) notwendig. (Zlokarnik 2005, 37).

Die Dimensionsanalyse sollte möglichst vor dem Versuch durchgeführt werden. Dazu wird eine Relevanzliste aufgestellt, die möglichst alle Parameter enthält, und mittels Pi-Theorem komprimiert. Für die Wahl der Größe der Versuchsanordnung ist es entscheidend, welche Messgenauigkeit vorhanden ist und welche Sensitivität die Zielgröße hat. Je geringer beides ist, desto größer sollte das Modell sein (Zlokarnik 2005, 111).

3.4.3. Das Pi-Theorem (Buckingham- Theorem)

Der Name leitet sich von Π , dem mathematischen Zeichen für ein Produkt ab. Das Pi-Theorem besagt, dass sich jede physikalische Beziehung zwischen n dimensionsbehafteten Parameter sich auf

$$m = n - r \quad (23)$$

Pi-Größen reduzieren lässt. Wobei r die Anzahl der in ihren Grunddimensionen vorkommenden (sekundären) Dimensionen ist (Rang der Dimensionsmatrix) (Zlokarnik 2005, 15; Zlokarnik 2003; Stieß 2009, 101). Der Zusammenhang zwischen n dimensionsbehafteten Parameter lässt sich durch die Funktion

$$F(\Pi_1, \Pi_2, \dots, \Pi_n) = 0 \quad (24)$$

darstellen, wobei Π_n dimensionslose Kennzahlen sind (Stieß 2009, 101).

Bei allen Zusammenhängen ist eine vollständige und zutreffende Relevanzliste erforderlich. Bei unbekanntem Zusammenhängen im Speziellen, muss man daher schon vorher wissen oder vermuten, ob und welchen Einfluss die einzelnen Größen auf die Zielgröße haben (Stieß 2009, 101).

Das Pi-Theorem liefert zwei große Vorteile für das Scale up (Zlokarnik 2003):

- Eine Komprimierung der Aussage. Die Anzahl der gebildeten Kennzahlen ist kleiner als die der sie bildenden Größen, bei gleichbleibender Vollständigkeit
- Maßstabsinvarianz. Der erstellte dimensionslose Π -Raum ist unabhängig von den verwendeten Dimensionen (auch von der Dimension der Länge) und damit die Basis für ein erfolgreiches Scale up.

Dabei ist es wichtig zu beachten, dass das Pi-Theorem nur Anzahl der dimensionslosen Kennzahlen festlegt und nicht deren Form. Die Form der Kennzahlen ist von der Physik des Problems abhängig. Sollten nun mehrere Π -Sätze aus der gleichen Relevanzliste hervorgehen, sind diese äquivalent und ineinander überführbar (Zlokarnik 2005, 20).

3.4.4. Erarbeiten von Pi-Sätzen mittels Matrizenumformung

Pi-Sätze sind eine Möglichkeit dimensionslose Kennzahlen zu erstellen. Da in der Regel mehrere Kennzahlen notwendig sind um eine Aufgabenstellung oder eine Problem zu beschreiben, muss ein Algorithmus eingeführt werden mit dem es möglich ist das Pi-Theorem anzuwenden.

Aufstellen der Matrix (Zlokarnik 2005, 17ff)

Sämtliche, in der Relevanzliste vorkommenden Grunddimensionen bilden die Zeilen der Matrix. Die Spalten bilden die Exponenten, mit denen die Grunddimension in der jeweiligen Größe auftreten. Anschließend wird eine quadratische Kernmatrix und eine Restmatrix gebildet. Der Rang der Kernmatrix wird von der Anzahl der vorkommenden Grunddimensionen bestimmt.

	ρ	d	n	P	v
M	1	0	0	1	0
L	-3	1	0	2	2
T	0	0	-1	-3	-1
	Kernmatrix			Restmatrix	

Nun werden Lineartransformation durchgeführt, bis die Kernmatrix eine Einheitsmatrix darstellt (Gauss'scher Algorithmus).

	ρ	d	n	P	v
M	1	0	0	1	0
L+3M	0	1	0	5	2
-T	0	0	1	3	1
	Einheitsmatrix			Restmatrix	

Die Reihenfolgen der Zeilen und Spalten der Matrix ist frei zu wählen. Sie sollte allerdings so gewählt werden, dass die Anzahl der notwendigen Lineartransformationen minimal ist.

Zur Bildung der Kennzahlen bildet jedes Element der Restmatrix den Zähler und die Elemente der Einheitsmatrix den Nenner. Ihnen wird dabei die zugehörige Zahl als Exponent zugeordnet.

Das soll anhand von zwei Beispielen verdeutlicht werden:

Beispiel 1 (aus Zlokarnik 2003)

Leistungscharakteristik eines Rührers in homogener Flüssigkeit

Die Leistung eines Rührers hängt von folgenden Einflussgrößen ab:

Rührerdurchmesser d

Dichte ρ

Kinematische Viskosität ν_f

Rührerdrehzahl n

Die Relevanzliste lautet daher $\{P; d; \rho; \nu; n\}$ und liefert uns folgende Matrix:

	ρ	d	n	P	v
M	1	0	0	1	0
L	-3	1	0	2	2
T	0	0	-1	-3	-1

Das bedeutet dass sich hier nach Gl. (23) $5-3=2$ Kennzahlen ergeben sollten. Anwendung des Gauss' Algorithmus liefert uns

	ρ	d	n	P	v
Z_1	1	0	0	1	0
Z_2	0	1	0	5	2
Z_3	0	0	1	3	1

$$\Pi_1 = \frac{P}{\rho d^5 n^3} \quad (25)$$

$$\Pi_2 = \frac{v}{d^2 n} \quad (26)$$

Gl. (25) liefert uns die in Gl. (4) eingeführte Ne-Kennzahl und Gl. (26) liefert uns den Kehrwert der in Gl. (5) eingeführte Re-Kennzahl. Die Dimensionsanalyse gibt uns hier den Raum der Abhängigkeit vor. Der genaue Zusammenhang $Ne=f(Re)$ muss experimentell gefunden werden und ist in Abbildung 3-4 dargestellt.

Beispiel 2 (aus Zlokarnik 2005, 193ff)

Stofftransport gas/flüssig bei Flüssigkeitsbegasung in Rührkessel

Die Zielgröße (oder Zielkennzahl) ist in diesem Fall der in Kapitel 3.2.3 vorgestellte $k_L a$ -Wert.

Die Relevanzliste besteht aus:

Dichte ρ

Dynamische Viskosität η

Diffusionskoeffizient D

Volumenbezogene Rührleistung P/V

Leerrohrgeschwindigkeit v

Erdbeschleunigung g

und lautet $\{k_L a; \rho; \eta; D; S; P/V; v; g;\}$

Wir erhalten folgende Matrix:

	ρ	d	g	$k_L a$	P/V	v	D
M	1	1	0	0	1	0	0
L	-3	-1	1	0	-1	1	2
T	0	-1	-2	-1	-3	-1	-1

Somit sollten dich $7-3=4$ Kennzahlen ergeben.

	ρ	d	g	$k_L a$	P/V	v	D
Z_1	1	0	0	1/3	2/3	-1/3	-1
Z_2	0	1	0	-1/3	1/3	1/3	1
Z_3	0	0	1	-2/3	4/3	1/3	0

$$\Pi_1 = k_L a \left(\frac{\eta}{\rho g^2} \right)^{\frac{1}{3}} = k_L a \left(\frac{v}{g^2} \right)^{\frac{1}{3}} = k_L a^* \quad (27)$$

$$\Pi_2 = \frac{P/V}{(\rho^2 \eta g^4)^{\frac{1}{3}}} = \frac{P/V}{\rho (v g^4)^{\frac{1}{3}}} = P/V^* \quad (28)$$

$$\Pi_3 = \frac{v \rho}{(\eta g)^{\frac{1}{3}}} = \frac{v}{(v g)^{\frac{1}{3}}} = v^* \quad (29)$$

$$\Pi_4 = \frac{D \rho}{\eta} = \frac{D}{v} = \frac{1}{Sc} \quad (30)$$

Mit Hilfe der in Abbildung 3-12 gezeigten Sorbtionscharakteristik des koaleszenzträchtigen Systems Wasser/Luft bei Einsatz eines Scheibenrührers, ist es möglich 3 dieser Kennzahlen in gegenseitiger Abhängigkeit in einer Grafik abzubilden.

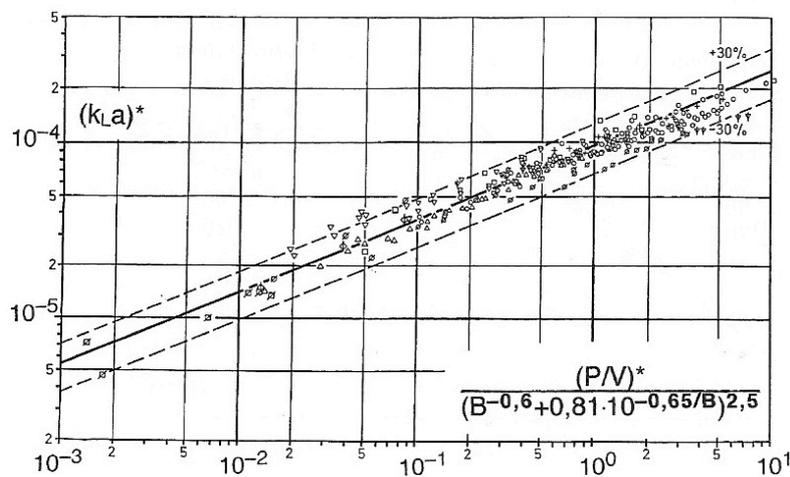


Abbildung 3-12: Sorbtionscharakteristik im System Wasser/Luft. $B = (\pi/4)v^*$

3.4.5. Anwendbarkeit der Dimensionsanalyse

Da alle wesentlichen Größen, die den Prozess oder ein Problem beschreiben, bekannt sein müssen, ist die Anwendung der Dimensionsanalyse stark vom vorhandenen Wissensstand abhängig (Zlokarnik 1999, 72). Der Wissensstand und die Anwendbarkeit der Dimensionsanalyse werden in 5 Stufen unterteilt (Zlokarnik 2005, 51):

1. Physik der Grundphänomene unbekannt
 - Die Dimensionsanalyse ist nicht anwendbar
2. Physik der Grundphänomene soweit bekannt, dass ein Relevanzliste erstellt werden kann
 - Der gewonnene Pi-Satz ist unsicher
3. Alle relevanten physikalischen Größen sind bekannt
 - Die Dimensionsanalyse ist problemlos anwendbar
4. Das Problem ist mathematisch formulierbar
 - Tiefere Einsicht in die Pi-Beziehung sind möglich und eventuelle Reduktionen zulässig
5. Das Problem besitzt eine mathematische Lösung
 - Die Dimensionsanalyse ist überflüssig

3.5. Scale up mit Rule of thumb

„Rule of thumb“ bezeichnet im Deutschen eine „Faustregel“, die sich einfacher mathematischer Zusammenhänge bedient. Sie ist durch ihren heuristischen Ansatz ein beliebter Ansatz unter Ingenieuren zur Lösung von verfahrenstechnischen Fragestellungen. Diese Faustregeln kommen im wesentlichen aus empirischen Erfahrungen, die bei bereits existierenden Anlagen gewonnen wurden. Sie werden nicht selten über das „Trial and Error“ Prinzip aufgestellt. Das bedeutet, dass mit Hilfe der Faustregeln Extrapolationen aufgestellt werden, die nach erfolgtem Bau des Großmaßstabs um eventuell aufgetretene Fehler korrigiert werden. Während manche Faustregeln seit Jahrzehnten Gültigkeit besitzen, sind für manche Aufgabenstellungen bis heute keine zufriedenstellenden Zusammenhänge gefunden worden. Viele Wissenschaftler und Techniker weltweit versuchen die Faustregeln um experimentell gefundene Daten zu erweitern und zu verbessern.

In der Bioverfahrenstechnik sind solche Faustregeln besonders fehleranfällig, da meist mit Mikroorganismen oder Säugetierzellen gearbeitet wird. Die Tatsache dass Experimente, insbesondere bei Einbeziehung von lebenden Organismen, nur in den seltensten Fällen die exakt gleichen Ergebnisse liefern, erklärt die Vielzahl an unterschiedlichen Lösungs- und Rechenwegen für ein und dieselbe Aufgabenstellung. Oft führen schon die verschiedenen Definitionen der einzelnen Kennzahlen zu unterschiedlichen Werten. Garcia-Ochoa und Gomez, 2009 führen 20(!) verschiedene Definitionen, zum Teil empirisch, zum Teil theoretisch, des k_L -Wertes an. Storhas, 1994 führt 9 Korrelationsgleichungen für den k_{La} -Wert an (Storhas 1994, 50).

Die „rules of thumb“ sind eine gute Ergänzung zur Dimensionsanalyse oder können diese in speziellen Fällen sogar überflüssig machen. Wenn zum Beispiel mit dem original Medium Modellversuche gemacht werden, kann mit Hilfe der Faustregeln eine Extrapolation gemacht werden, welche die Dimensionsanalyse gänzlich ersetzt. Voraussetzung hierfür ist geometrische Ähnlichkeit. Kapitel 4 zeigt den Fall, wo die Dimensionsanalyse ein Abhängigkeit von Parameter vorgibt, welche durch eine Faustregel gelöst werden kann.

Die folgende Auflistung soll auf einzelne Faustregeln genauer eingehen und eventuelle Anwendungsfälle sowie Berechnungsmöglichkeiten zeigen.

3.5.1. Geometrische Ähnlichkeit

Wie in Kapitel 3.4.2 beschrieben ist die geometrische Ähnlichkeit Voraussetzung für die Anwendung der Faustregeln. Im Scale up von Rührkesseln wird sie durch ein konstantes H/D sichergestellt. Dieses beträgt für Pilz- und Bakterien Fermentationen 3:1 und für Säugetierzellen Fermentationen 2:1 (Eibl et al. 2009, 179). Hier ist H die Füllhöhe der Flüssigkeit im Behälter und D der Innendurchmesser des Fermenters. Auch die Abmessungen des Rührwerks erfolgen nach fixen d/D Verhältnissen. So beträgt dieses für einen Scheibenrührer 1:3 (Storhas 1994, 102; Zlokarnik 1999, 76).

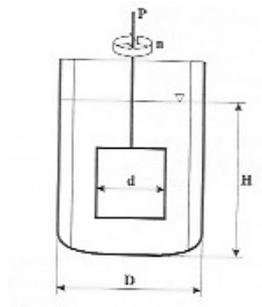


Abbildung 3-13: Skizze zur Geometrie eines Rührkessels (Zlokarnik 1999, 64)

Ein Vorteil der sich aus diesen fixen Verhältnissen ergibt, ist der, dass eine Scale up Variable weniger zu berücksichtigen ist. Das H/D Verhältnis wird aus dem Modellversuch in den Hauptmaßstab übernommen und dort durch entsprechenden Füllstand realisiert.

3.5.2. Begasungsrate

Die Begasung eines Fermentationsprozesses wird in der Regel in vvm (Luftvolumen-Reaktionsvolumen pro Minute) angegeben. Da sich diese Größe auf das jeweilige Flüssigkeitsvolumen bezieht, ist diese Größe maßstabsunabhängig. Sie dient als späterer Anhaltspunkt für etwaige Optimierungen im Hauptmaßstab. Tabelle 3-7 zeigt Begasungsraten für verschiedene Fermentationsprozesse.

Tabelle 3-7: Betriebsparameter bekannter Fermentationsprozesse (Storhas 1994, 58)

Produkt	Belüftung [vvm]	P/V [kW/m ³]	Temperatur [°C]	Wärme [MJ]/(h*m ³)	Dauer [h]
Penicillin G	0,5	4	25	40	180
Penicillin V	0,5	4	25	40	180
Streptomycin	0,5	4	28	37	240
Erythromycin	0,66	4	34	34	150

Tetracyclin	0,83	2	25-28	34	170
Vitamin B ₁₂	0,16	1		25	98
Amylase	0,32	2	30-37	30	160
SCP	1	2,5	40	150	kont.

3.5.3. $k_L a$ -Wert

Im folgenden sollen Scale up Beispiele anhand des $k_L a$ -Wertes aus der Literatur angeführt werden. Bandaiphet und Prasertsan haben $k_L a$ -Werte im Scale up einer aeroben Fermentation von Biopolymeren beobachtet und verglichen. Diese Scale up Anwendung zeigt, dass im größeren Maßstab Anpassungen sinnvoll sind oder sogar notwendig sein können (Bandaiphet and Prasertsan 2006).

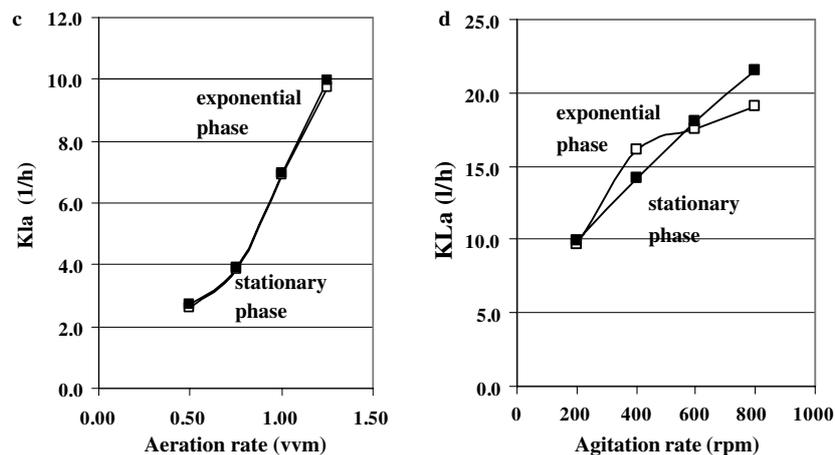


Abbildung 3-14: Zusammenhang zwischen $k_L a$ -Wert und Begasungsrate (links) und Rührerdrehzahl (rechts) für *Enterobacter cloacae* WD7 in einem 5L Fermenter (Bandaiphet and Prasertsan 2006)

Die genauen Werte der $k_L a$ -Werte aus Abbildung 3-14 (links) betragen 2,63–9,72h⁻¹ für die exponentielle Phase und 2,71–9,97 h⁻¹ für die stationäre Phase. Sie sind somit fast ident, wie die annähernd deckungsgleichen Kurven zeigen (Bandaiphet and Prasertsan 2006).

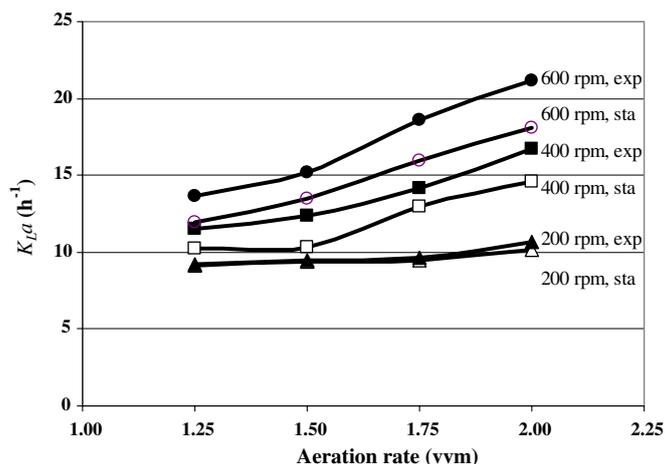


Abbildung 3-15: Zusammenhang zwischen $k_{L,a}$ -Wert und Begasungsrate bei unterschiedlichen Rührerdrehzahlen für *Enterobacter cloacae* WD7 in einem 72L Fermenter (Bandaiphet and Prasertsan 2006)

Die genauen Werte der $k_{L,a}$ -Werte aus Abbildung 3-15 betragen für 200 min^{-1} 9,25 -10,67 h^{-1} (exp. Phase) und 9,09-10,18 h^{-1} (stat. Phase), für 400 min^{-1} 11,51-16,75 h^{-1} (exp. Phase) und 10,21-14,57 h^{-1} (stat. Phase). Der maximale $k_{L,a}$ -Wert wurde bei 600 min^{-1} und 2 vvm mit 21,16 h^{-1} (exp. Phase) und 18,11 h^{-1} (stat. Phase) gefunden.

Für den Labormaßstab wurde ein optimaler $k_{L,a}$ -Wert für eine maximale Ausbeute bei 1,25 vvm und 200 min^{-1} mit 9,97 h^{-1} (exp. Phase) bzw. 9,72 h^{-1} (stat. Phase) gefunden. Im Pilotmaßstab stellte sich bei gleichen Betriebsparametern mit 9,25 h^{-1} (exp. Phase) bzw. 9,09 h^{-1} (stat. Phase) ein geringerer $k_{L,a}$ -Wert ein. Aus diesem Grund wurde für den Pilotmaßstab eine höhere Begasungsrate von 1,75 vvm (bei 200 min^{-1}) gewählt um mit 9,68 h^{-1} (exp. Phase) bzw. 9,50 h^{-1} (stat. Phase) annähernd die Werte aus dem Labormaßstab zu erreichen. Damit konnte eine um etwa 10% erhöhte Ausbeute im Pilotmaßstab erzielt werden (Bandaiphet and Prasertsan 2006). Das zeigt auch, wie eng der $k_{L,a}$ -Wert mit der Ausbeute einer Fermentation verbunden ist. Es wird davon ausgegangen, dass ein Betriebspunkt im Modell experimentell ermittelt wird und unter der Annahme, dass er im Hauptmaßstab gleich ist, ebendort realisiert.

Herbst, Schumpe und Deckwer verwendeten die Methode nach Hubbard ($k_{L,a}$ -Wert und P/V) für das Scale up einer Xanthan Produktion. Die Fermentationsbrühe zeigt ein pseudoplastisches (scherverdünnendes) Fließverhalten, weshalb der $k_{L,a}$ -Werte bei gleichbleibendem spezifischen Leistungseintrag zunimmt, da sich die Viskosität verringert und die Durchmischungsqualität zunimmt.

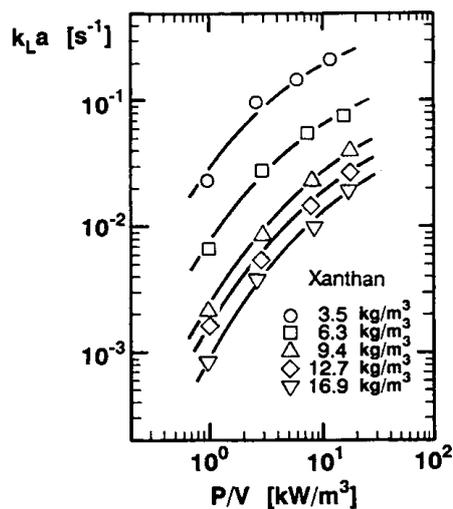


Abbildung 3-16: Zusammenhang zwischen dem $k_L a$ -Wert und dem spezifischen Leistungseintrag P/V für *Xanthomonas campestris* in einem 1500L Fermenter (Herbst, Schumpe, and Deckwer 1992)

Im Gegenzug zeigt Abbildung 3-17 den negativen Einfluss der Viskosität auf den $k_L a$ -Wert.

Shukla et al. führten ebenfalls ein Scale up mit der Methode nach Hubbard für die Fermentation von Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*). Hierbei handelte es sich bei der Fermentationsbrühe um ein Newton'sches Fluid.

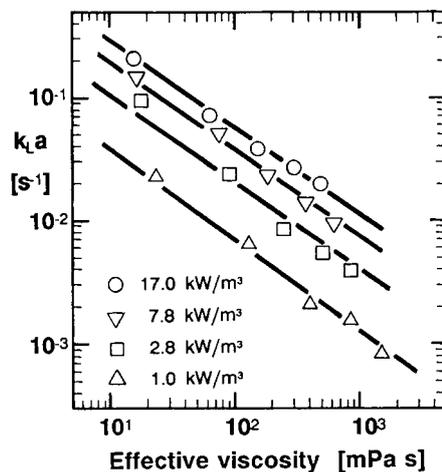


Abbildung 3-17: Zusammenhang zwischen dem $k_L a$ -Wert und der effektiven Viskosität für *Xanthomonas campestris* in einem 1500L Fermenter (Herbst, Schumpe, and Deckwer 1992)

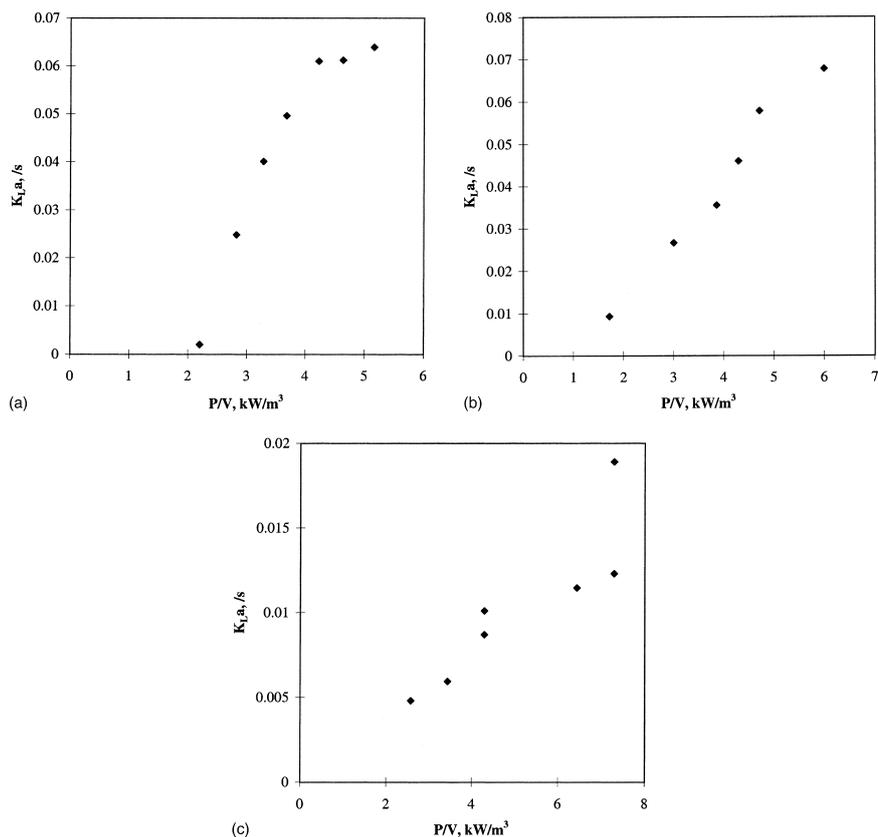


Abbildung 3-18: Zusammenhang zwischen dem k_{La} -Wert und dem spezifischen Leistungseintrag P/V für *Saccharomyces cerevisiae* in einem 5L Fermenter. a) System Luft-Wasser b) Fermentationsbrühe Wachstumsphase c) Fermentationsbrühe während Biotransformation (Shukla et al. 2001)

In einer sehr umfangreichen Arbeit weisen Garcia-Ochoa und Gomez darauf hin, dass nicht nur die Fülle an empirischen Korrelationen für den k_{La} -Wert sondern auch dessen Werte Probleme bereiten können. Die Autoren führen das zum Einen auf den Umstand zurück, dass Korrelationen für wässrige Systeme auf reale Fermentationsbrühen angewandt werden und zum Anderen auf die unterschiedlichen Versuchsaufbauten, Betriebsparameter oder Messmethoden zurück. Des weiteren führen die Autoren an, dass der k_{La} -Wert mit steigender Viskosität und Temperatur sowie mit der Zugabe von Antischaummittel oder oberflächenaktiven Substanzen, verglichen mit Wasser, sinkt (Garcia-Ochoa and Gomez 2009).

Garcia-Ochoa und Gomez haben in ihrer Arbeit verschiedene Korrelationen kombiniert und mit in der Literatur verfügbaren experimentellen Daten verglichen. Sie fanden heraus, dass über einen sehr weiten Bereich von 0,012 m bis 1,5 m Fermenterrinnendurchmesser die Abweichungen zwischen experimentellen und berechneten Werten unter 15% bleiben.

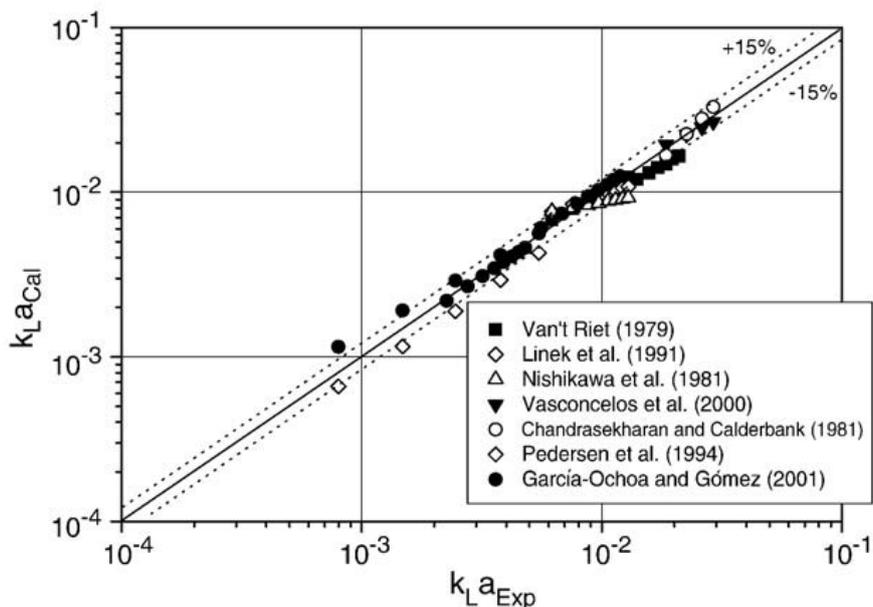


Abbildung 3-19: Vergleich zwischen experimentellen und berechneten $k_L a$ -Werten (Garcia-Ochoa and Gomez 2009)

An dieser Stelle sei eine Berechnungsmöglichkeit für den $k_L a$ -Wert eingeführt. Nach (Storhas 1994, 55) ist

$$k_L a = 0,01 \left(\frac{P}{V_F} \right)^{0,55} * v_g^{0,43} \quad (31)$$

mit

$$v_g = \frac{q}{A} = \frac{q}{\frac{D^2}{4} \pi} \quad (32)$$

Die Form von Gl. (31) deckt sich mit dem der von Zlokarnik vorgeschlagenen Abhängigkeit für koaleszierende Stoffsysteme (Zlokarnik 2005, 195).

Verglichen mit den in Abbildung 3-20 gezeigten Daten ergibt sich nach Gl. (31):

$$k_L a = 0,01 * 1000^{0,55} * 0,001^{0,43} = 2,29 * 10^{-2} \quad (33)$$

Dieser Wert deckt sich sehr gut mit den experimentellen Werten in Abbildung 3-20 und Gl. (31) kann somit als hinreichend genau für ein Scale up verwendet werden.

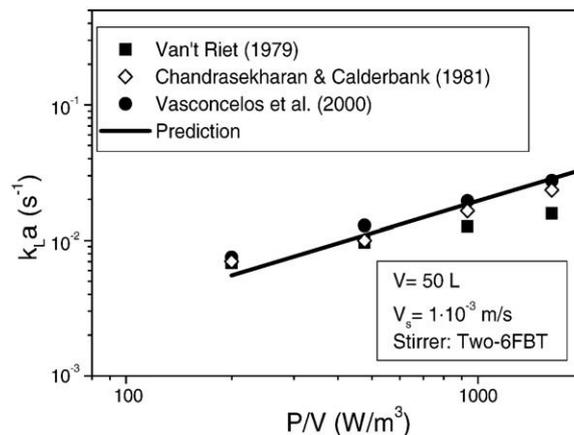


Abbildung 3-20: Experimentelle Daten für die k_{La} -Wert Bestimmung nach unterschiedlichen Methoden (Garcia-Ochoa and Gomez 2009)

3.5.4. Mischzeit

Die Zeit die benötigt wird, um eine gewünschte Durchmischungsqualität (Homogenität) zu erreichen, ist sinnvollerweise immer mit dem Grad der Homogenität anzugeben. Hierbei wird häufig die 95% Mischgüte verwendet, die angibt, dass in der angegeben Zeit 95% der erwarteten Mischgüte erreicht sind (Storhas 1994, 28). Die Mischzeit Θ für den technisch relevante Bereich $Re > 10^5$ ist proportional d^2 und damit stark maßstabsabhängig (Zlokarnik 1999, 100). Oftmals wird die Mischzeit auch als dimensionslose Mischzeitcharakteristik oder Durchmischungskennzahl $(n\Theta)_x$ dargestellt. Mit der Rührerdrehzahl n und dem Index X als Mischgüte. Die Durchmischungskennzahl ist im turbulenten Bereich konstant, wie Abbildung 3-21 zeigt. (Storhas 1994, 29; Zlokarnik 1999, 101f). Zur Berechnung von $n\Theta$ liegen folgende empirischen Gleichungen vor (Storhas 1994, 29):

unbegast:

$$n\theta = 0,76 * \left(\frac{H}{D}\right)^{0,6} * \left(\frac{D}{d}\right)^{2,7} \quad (34)$$

begast:

$$n\theta = 0,76 * Ne_b^{-0,45} \left(\frac{H}{D}\right)^{0,6} * \left(\frac{D}{d}\right)^{2,7} \quad (35)$$

Wobei Ne_b die Newton Zahl bei Begasung mit der Leistung P_g bei Begasung nach Gl. (9) oder Gl. (10) ist. Junker schlägt für Bioreaktoren (10 L-60000 L) mit *E.Coli* als Mikroorganismus folgende Berechnungsmöglichkeit vor (Junker 2004):

$$T_{mix} = 17,5 * \log_{10} V_L - 19,4 \quad (36)$$

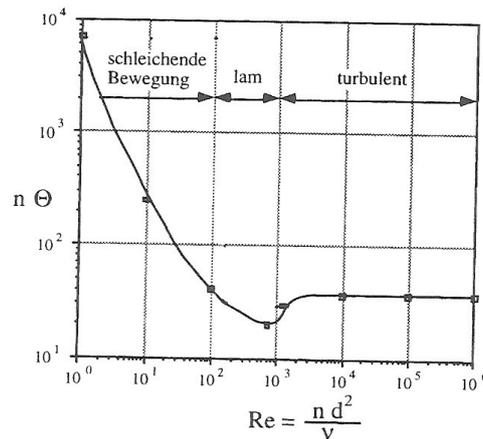


Abbildung 3-21: Mischzeitcharakteristik (Storhas 1994, 31)

3.5.5. P/V

Bei dem Verhältnis P/V handelt es um die spezifische Leistungsdichte in $[\text{kW}/\text{m}^3]$. Sie beschreibt im wesentlichen den Leistungseintrag in einen Rührkessel durch das Rührwerk, bezogen auf das Reaktionsvolumen. Das macht die Leistungsdichte maßstabsunabhängig. Die eingetragene Leistung P errechnet sich aus der umgeformten Gl. (4) P zu

$$P = Ne * \rho * n^3 d^5 \quad (37)$$

Für den Fall das eine Begasung stattfindet, muss P mit Ne_g korrigiert werden. Bei der spezifischen Leistungsdichte handelt es sich um einen sehr wichtigen Scale up Parameter, da diese direkt den $k_L a$ -Wert und die Scherrate (siehe 3.5.7) beeinflusst.

3.5.6. Rührerdrehzahl

Die Rührerdrehzahl ist der entscheidende Parameter eines begasteten Rührkessels. Sie beeinflusst fast alle wichtigen Prozesskennzahlen direkt oder indirekt. Sie ist auch die Stellschraube für die optimale Einstellung eines upgescaleten Prozesses. Wolf schlägt in seinem Buch vor die Rührerdrehzahl des Großmaßstabes durch folgende Gleichung zu berechnen (Wolf 1991, 231):

$$n_H = n_M * \left(\frac{d_H}{d_M}\right)^{\frac{2}{3}} * \frac{Q_H d_M^3}{Q_M d_H^3} \quad (38)$$

Steigert man die Rührerdrehzahl, erhöht sich nach Gl. (3) die eingebrachte Leistung. Das hat zur Folge, dass die dispergierten Blasen kleiner werden und damit die volumenbezogene Phasengrenzfläche a nach Gl. (17) steigt.

3.5.7. Scherrate

Hinter der Scherrate steht im wesentlichen der Versuch, den mechanischen Einfluss auf die Zellen zu quantifizieren. Der mechanische Stress findet statt, wenn ein Rührer Energie in Form von Bewegung in die Fermentationsbrühe einbringt, um die Versorgung mit Nährstoffen und Sauerstoff sicherzustellen, sowie die notwendigen Stoffübergangskoeffizienten zu erreichen. Wird die mechanische Belastung auf die Zelle zu groß, reagiert diese unter Umständen negativ darauf, wird beschädigt oder gar zerstört. Scherstress ist oftmals einer der Hauptgründe warum ein Scale up nicht oder minder erfolgreich ist (Storhas 1994, 61). Es gibt verschiedene Möglichkeiten die Scherrate zu berechnen.

Herbst, Schumpe und Deckwer schlagen verschiedene Möglichkeiten vor, die Scherrate zu berechnen (Herbst, Schumpe, and Deckwer 1992). Ein empirischer Ansatz lautet:

$$\dot{\gamma}_{eff} = A * N \quad (39)$$

Mit $A = 11,5$ für einen Scheibenrührer bzw. 15 für einen INTERMIG Rührer.

Ein weiterer Ansatz aus der Dimensionsanalyse heraus lautet:

$$\dot{\gamma}_{eff} = \left(\frac{P/V}{\mu_{eff}} \right)^{0,5} \quad (40)$$

Maranga et al. schlagen zur Berechnung die Beziehung

$$\tau = \left(\frac{Ne * n * D_i^2}{\nu} \right)^{0,5} * \mu \quad (41)$$

vor (Maranga et al. 2004) während Chen et al. in ihrer Arbeit den *integrated shear factor* ISF verwenden (Chen, Latz, and Frangos 2003).

$$ISF = \frac{2\pi * n * d}{D} = \frac{2 * w_{tip}}{D} \quad (42)$$

Wobei D hier für den Abstand Rührerspitze-Behälterwand steht.

Es soll noch erwähnt sein, dass der Scherstress nur in unmittelbarer Rührernähe auftritt. Bei radial fördernden Rührer spielt der Zufall eine große Rolle, ob eine Zelle dem Scherstress ausgesetzt ist oder nicht. So kann es sein dass einige Zellen sehr häufig dem Stress ausgesetzt sind, andere hingegen nie (Storhas 1994, 73).

4. Scale up Anwendung

Die im Kapitel 3 vorgestellten Scale up Vorgehensweisen sollen hier anhand eines konkreten Beispiels angewendet werden.

Bei dem Anwendungsfall handelt es sich um eine aerobe Fermentation zur PHA Synthese (siehe Kapitel 2) mit *Cupriavidus necator* DSM 545 (früher auch *Wautersia eutropha*, *Ralstonia eutropha*, *Alcanigenes eutrophus*, *Hydrogenomonas eutropha* (Atlić et al. 2011)) als Mikroorganismus. Bei diesem Stamm handelt es sich um einen sehr robusten Wildtyp. Dieser ist kurzzeitig resistent gegen Scherstress und kurzzeitiger Unterversorgung mit Substrat oder O₂.

Diese Fermentation wurde zum Einem in einem 3,6 L Laborfermenter mit 2 axial Rührern (Propellerrührer) bei einer Begasungsrate von 5-20 L/min durchgeführt. Das Reaktionsvolumen betrug zwischen 1 und 2 L und die Drehzahl wurde zwischen 500 und 1000 min⁻¹ variiert um eine konstante Gelöstsauerstoffsättigung >40% zu erhalten. Als Substrat wurde hier Glukose eingesetzt (M. Koller et al. 2005).

Zum anderen wurde ein 7,2 L Laborfermenter mit 2 axial Rührern (Propellerrührer) bei einer Begasungsrate von 10-20 L/min verwendet. Das Reaktionsvolumen betrug zwischen 1 und 5 L und die Drehzahl wurde zwischen 500 und 1000 min⁻¹ variiert.

In Zusammenarbeit mit dem Autor verschiedener Publikationen auf diesem Gebiet ((u.a.: Martin Koller et al. 2006; Martin Koller et al. 2010; Martin Koller et al. 2008; Martin Koller, Salerno, and Dias 2010) wurde ein Ishikawa (Fischgräten) Diagramm² erstellt, um herauszufinden welche Parameter als kritisch für ein erfolgreiches Scale up zu betrachten sind. Das Ergebnis ist in Abbildung 4-4 dargestellt. Des weiteren stellte der Autor Daten der experimentellen k_La-Wert Bestimmung zur Verfügung. Diese sind in Tabelle 4-1 tabelliert, sowie in Abbildung 4-1 bis Abbildung 4-3 grafisch dargestellt.

Für eine erfolgreiche Fermentation mit *C.necator* ist die Menge der Biomasse entscheidend. Diese sollte eine PHA-freie Mindestrestbiomasse (residuale Biomasse) von 20-30 g/L besitzen und die Gesamtbio­masse sollte 200 g/L übersteigen (persönliche Kommunikation Martin Koller, 29.5.2013). Für das Wachstum der Biomasse in der ersten Phase der Fermentation ist die Gelöstsauerstoffkonzentration entscheidend und damit auch der k_La-Wert als

² Beim Ishikawa Diagramm handelt es sich um ein Ursache-Wirkungs Diagramm, benannt nach dem Japaner Kaoru Ishikawa (1915-1989). Bei einem Ursache-Wirkungs Diagramm geht es um die grafische Darstellung von Ursachen und daraus folgenden Ereignissen. Das Ishikawa Diagramm ist ein qualitatives Werkzeug um logische Zusammenhänge zwischen Fehlern und daraus resultierenden Folgen abzuleiten. (<http://www.gbt.ch/Lexikon/1/Ishikawa-Diagramm.html>; zuletzt abgerufen am 20.6.2013)

Stoffübergangskoeffizient. Allerdings muss hier beachtet werden, dass der Wert für Gelöstsauerstoff nicht zu groß wird, da es sonst zu einem „Luxusstoffwechsel“ kommt, wo durch Ausscheidung von Nebenprodukten die Produktivität negativ beeinflusst wird.

Stress durch Scherung oder kurzzeitige Substratunterversorgung ist hingegen bei dem sehr robusten Wildtyp *C.necator* keine relevante Prozessgröße. Die Stoffdaten der Fermentationsbrühe von *C.necator* sind mit denen von *E.coli*, worüber mehr Daten verfügbar sind, vergleichbar (persönliche Kommunikation Martin Koller, 29.5.2013). Diese werden für die nachfolgenden Berechnungen mit $\rho=1000 \text{ kg/m}^3$, $\mu=10^{-2} \text{ Pas}$, $\mu/\rho= \nu=10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$ angenommen (Müller 2012).

Für eine eventuell später folgende kommerzielle Nutzung des diskontinuierlichen Prozesses, sollte der Einsatz von Silagesäften oder *green grass juices* überdacht werden, da sich so die Batchzeiten durch Reduktion der *lag*-Phase erheblich verringern lassen (M. Koller et al. 2005).

Tabelle 4-1: Ergebnisse der experimentellen $k_{L,a}$ -Wert Bestimmung

	V_L [L]	n [min^{-1}]	Anzahl Rührelemente	q [L/min]	q [m^3/h]	q [vvm]	$k_{L,a}$ [s^{-1}]	$k_{L,a}$ [h^{-1}]	H/D
Labfors 3.6 L	1	1000	1	5	0,3	5	0,085	5,1	1,33
	2	1000	2	5	0,3	2,5	0,084	5,04	2,61
Labfors 7.5 L	1	500	1	20	1,2	20	0,043	2,58	0,53
	2	500	1	10	0,6	5	0,03	1,8	1
	2	500	1	20	1,2	10	0,038	2,28	1
	1	1000	1	20	1,2	20	0,056	3,36	0,53
	2	1000	1	20	1,2	10	0,064	3,84	1
	3	1000	2	20	1,2	6,7	0,068	4,08	1,45
	4	1000	2	20	1,2	5	0,066	3,96	2
	5	1000	2	20	1,2	4	0,065	3,9	2,38

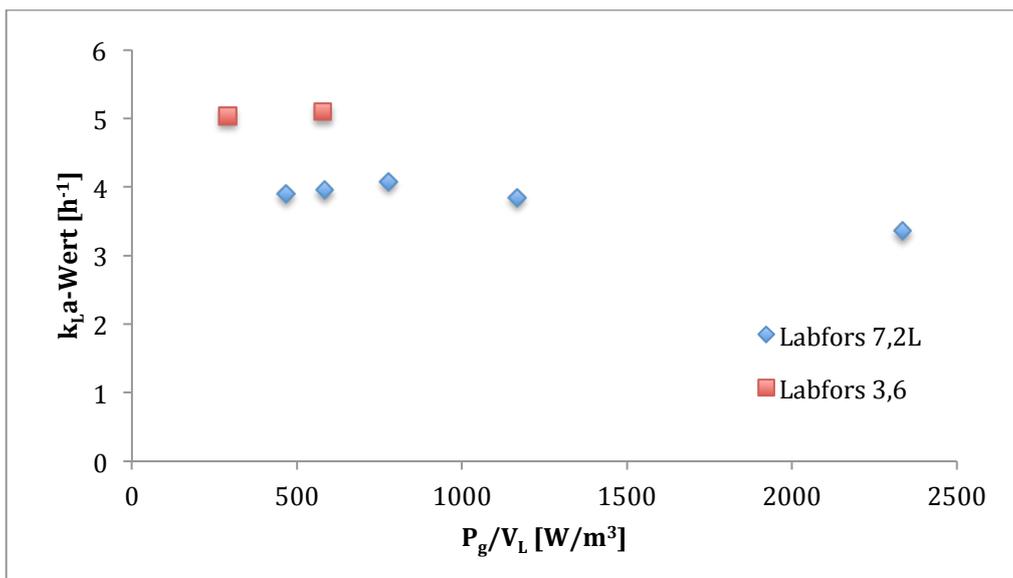


Abbildung 4-1: Experimentelle $k_{L,a}$ -Werte in Abhängigkeit von P_g/V_L (Daten sind in Tabelle 4-3 dargestellt)

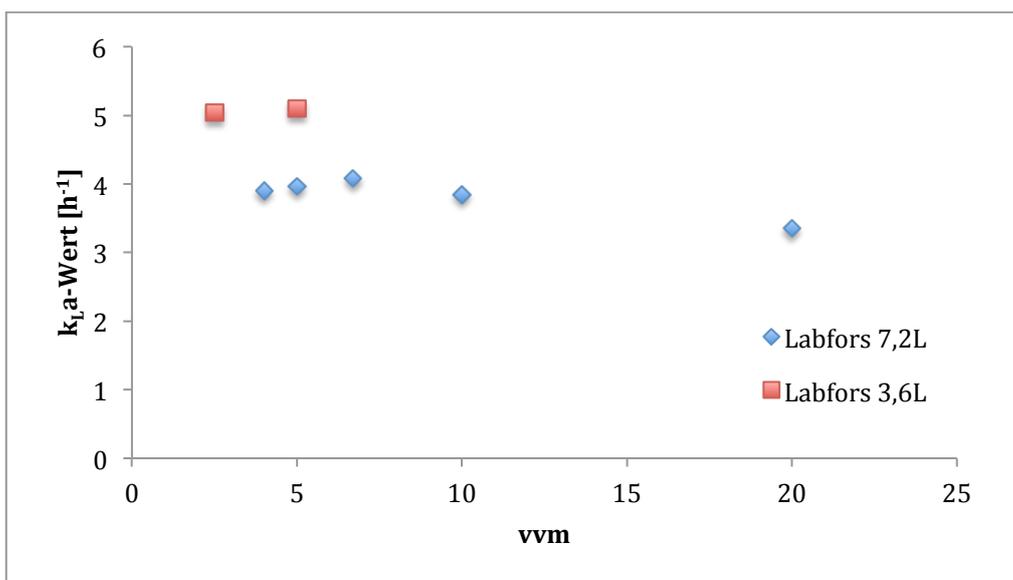


Abbildung 4-2: Experimentelle $k_{L,a}$ -Werte in Abhängigkeit der skalierungsunabhängigen Begasungsrate (Daten sind in Tabelle 4-3 dargestellt)

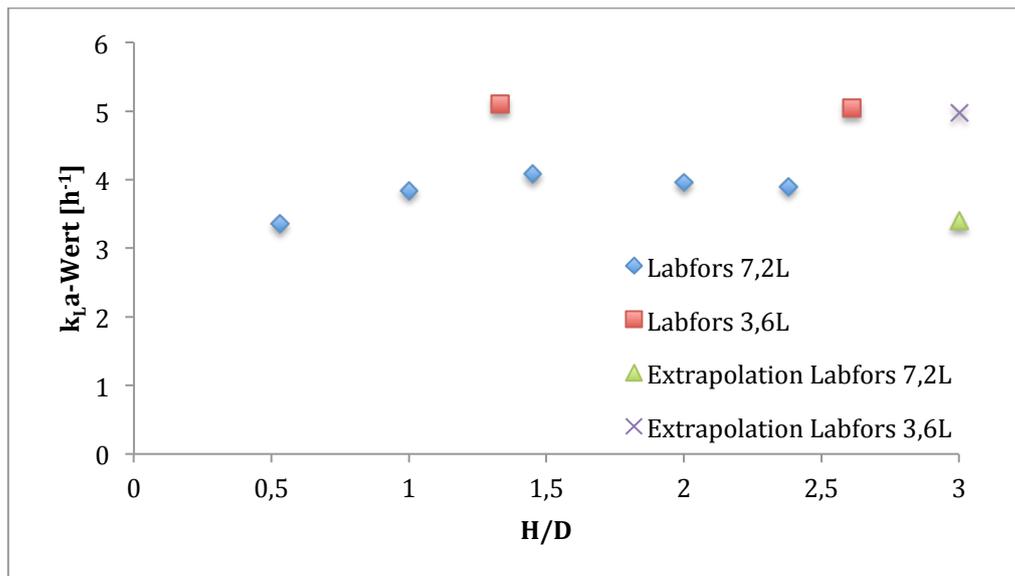


Abbildung 4-3: Experimentelle $k_{L,a}$ -Werte in Abhängigkeit des H/D Verhältnisses bei gegebenem Füllstand (Daten sind in Tabelle 4-3 dargestellt)

Um im Pilotmaßstab eine möglichst hohe Biomassekonzentration zu erzielen, wird für die Scale up Berechnung der maximal erzielte $k_{L,a}$ -Wert des Labfors 7,2 L von $4,08 \text{ h}^{-1}$ gewählt. Die Gasleerrohrgeschwindigkeit für diesen Fall beträgt nach Gl. (32) $0,0216 \text{ m/s}$. Über die Fermentationstemperatur bei der der $k_{L,a}$ -Wert gemessen wurde, kann leider keine Angabe gemacht werden, da hierzu die notwendigen Aufzeichnungen fehlen.

Des weiteren zeigt sich, dass die Begasungsrate im Bereich von 6,7 vvm ein Maximum besitzt. Das könnte zum Einem daran liegen, dass hier die Sauerstoffabbaurate besonders hoch ist und zum Anderen, dass der Fermenter bei dieser Gasleerrohrgeschwindigkeit eventuell zu fluten³ beginnen könnte (siehe Abbildung 3-5 und Kraume 2012, 574f). Diese Begasungsrate liegt deutlich über den in Tabelle 3-7 gezeigten Werten, stellt jedoch einen prozessspezifischen Wert dar.

Für das für mikrobielle Fermentationen typische H/D Verhältnis von 3:1 wurde eine Extrapolation durchgeführt um zu zeigen, dass ein höheres H/D Verhältnis (und damit höherer Füllstand im Reaktor) nur einen geringen Einfluss auf den $k_{L,a}$ -Wert besitzt. (siehe Abbildung 4-3). Das lässt die Möglichkeit offen, für spätere Fermentationen das volle Reaktionsvolumen des Pilotfermenters auszunutzen, um so die Produktivität zu steigern (siehe Kapitel 5).

³ Übersteigt die Gasbelastung einen Grenzwert (Überflutungspunkt), bricht das Gas in Form großer Blasen im Bereich der Rührerwelle durch. Ein gleichmäßiges Dispergieren ist dann nicht mehr möglich. Dieser Zustand wird als „geflutet“ bezeichnet. (Kraume 2012, 577)

Somit wird aus den Modellversuchen folgender Betriebspunkt gewählt:

Tabelle 4-2: Ausgewählter Betriebspunkt des Modellmaßstabs

	V [L]	q [vvm]	P/V [W/m ³]	v [m/s]	n [min ⁻¹]	k _L a [h ⁻¹]
Labfors 7,2L	3	6,7	778	0,0216	1000	4,08

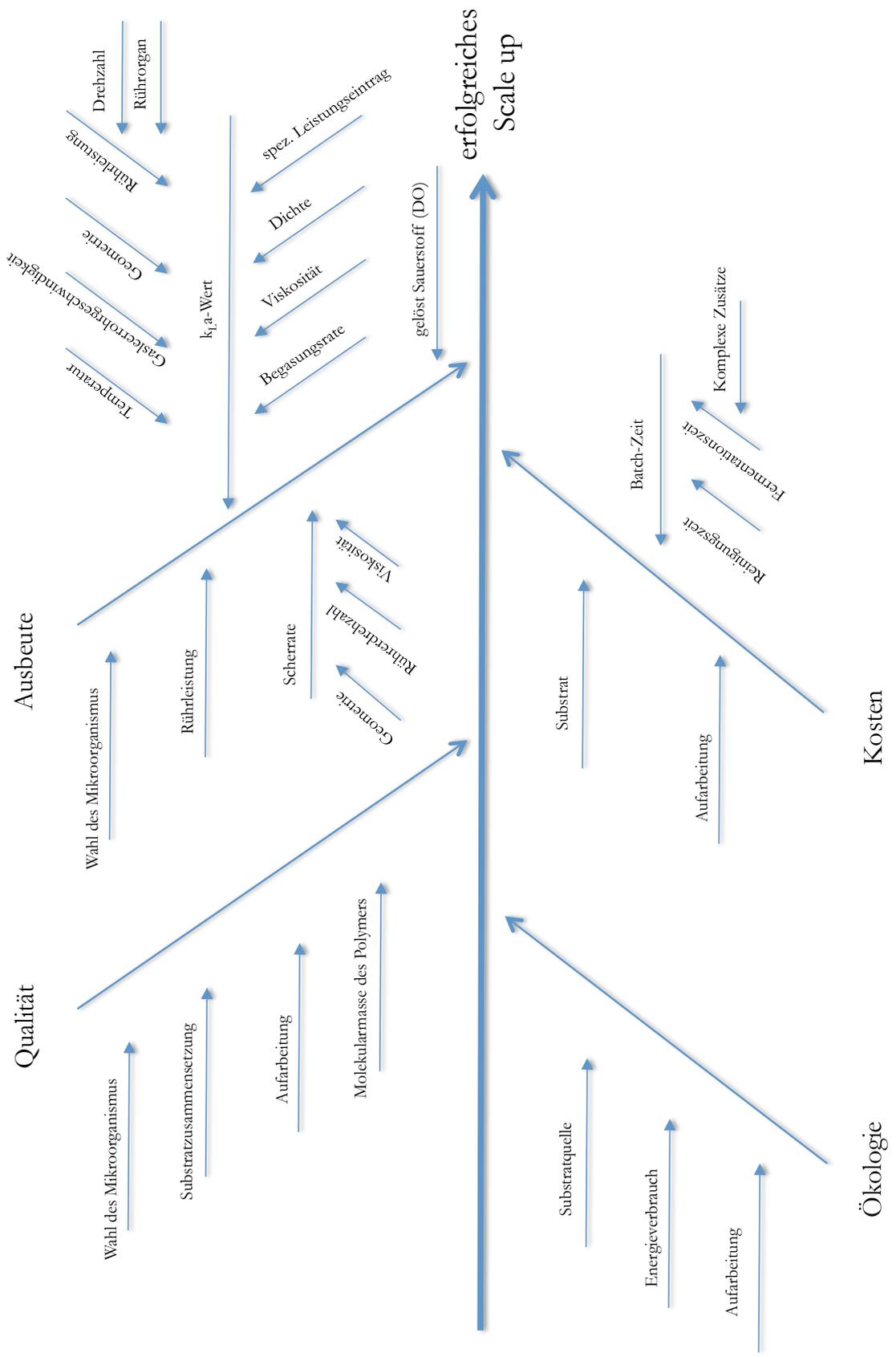


Abbildung 4-4: Ishikawa-Diagramm für das Scale up einer PHA Fermentation

4.1. Scale up Anwendung mit Dimensionanalyse

Da der $k_L a$ -Wert der entscheidende Faktor für ein erfolgreiches Scale up in diesem Anwendungsfall ist, kann die dimensionsanalytische Betrachtung der *Beispiele 1* und *2* aus Kapitel 3.4.4 herangezogen werden. Es ergeben sich analog *Beispiel 2* folgende dimensionslose Kennzahlen:

$$\Pi_1 = k_L a \left(\frac{\eta}{\rho g^2} \right)^{\frac{1}{3}} = k_L a \left(\frac{v}{g^2} \right)^{\frac{1}{3}} = k_L a^* \quad (43)$$

$$\Pi_2 = \frac{P/V}{(\rho^2 \eta g^4)^{\frac{1}{3}}} = \frac{P/V}{\rho (v g^4)^{\frac{1}{3}}} = P/V^* \quad (44)$$

$$\Pi_3 = \frac{v \rho}{(\eta g)^{\frac{1}{3}}} = \frac{v}{(v g)^{\frac{1}{3}}} = v^* \quad (45)$$

$$\Pi_4 = \frac{D \rho}{\eta} = \frac{D}{v} = \frac{1}{Sc} \quad (46)$$

Π_4 wird aufgrund der mangelnden experimentellen Daten nicht für dieses Scale up berücksichtigt. Für die Kennzahlen Π_1 bis Π_3 ist folgender Zusammenhang zu finden (Zlokarnik 2005, 195):

$$k_L a^* \sim \left(\frac{P}{V} \right)^{*0,44} * v^{*0,5} \quad (47)$$

Damit ist der $k_L a$ -Wert von P/V , q und D^2 abhängig. Eine Korrelation sehr ähnlicher Form wurde mit Gl. (32) bereits eingeführt.

Eine Anwendung der Dimensionsanalyse würde in diesem Fall einen erheblichen Mehraufwand bedeuten, der in diesem Fall nicht gerechtfertigt wäre. Wie in Kapitel 3.4.5 beschrieben, ist eine Anwendung der Dimensionsanalyse dann überflüssig, wenn eine mathematische Lösung für das Problem bekannt ist. Durch die gefundenen Korrelationen für den $k_L a$ -Wert und weil die Modellversuche mit dem originale Stoffsystem durchgeführt wurden, kann diese Aufgabenstellung mit der in Kapitel 3.5 vorgestellten rule of thumb gelöst werden kann.

4.2. Scale up Anwendung mit Rule of thumb

Mit der im Kapitel 3.5 vorgestellten Methode und den in Tabelle 4-1 präsentierten Daten konnten die für ein Scale up notwendigen Kennzahlen berechnet werden. Die Werte für den in Tabelle 4-2 ausgewählten Betriebspunkt sind zur besseren Übersicht fett markiert.

Tabelle 4-3: Berechnungsergebnisse resultierend aus der experimentellen k_{La} -Wert Bestimmung

	V_L [L]	n [min ⁻¹]	Re	Ne_0 (nach Abbildung 3-4)	P_0 [W]	Q	Ne_g (nach Abbildung 3-7)	P_g [W]	P_g/V_L [W/m ³]	k_{La} (nach Gl.(31)) [h ⁻¹]
Labfors 3.6 L	1	1000	1,67E+05	0,35	0,51	0,040	0,4	0,6	579	2,8
	2	1000	1,67E+05	0,35	0,51	0,040	0,4	0,6	289	1,9
Labfors 7.5 L	1	500	1,63E+05	0,35	0,34	0,117	0,2	0,2	195	2,1
	2	500	1,63E+05	0,35	0,34	0,058	0,3	0,3	146	1,3
	2	500	1,63E+05	0,35	0,34	0,117	0,2	0,2	97	1,4
	1	1000	3,27E+05	0,35	2,72	0,058	0,3	2,3	2334	8,2
	2	1000	3,27E+05	0,35	2,72	0,058	0,3	2,3	1167	5,6
	3	1000	3,27E+05	0,35	2,72	0,058	0,3	2,3	778	4,5
	4	1000	3,27E+05	0,35	2,72	0,058	0,3	2,3	584	3,8
5	1000	3,27E+05	0,35	2,72	0,058	0,3	2,3	467	3,4	

Zwischen dem experimentell ermittelten und dem errechneten k_{La} -Wert ergibt sich eine Abweichung von

$$\frac{4,08}{4,5} * 100\% = 9,33\% \quad (48)$$

Das liegt innerhalb der von Garcia-Ochoa und Gomez (siehe Kapitel 3.5.3) gefundenen 15%igen Abweichung zwischen experimentellen und errechneten Daten. Die errechneten k_{La} -Werte sind in Abbildung 4-5 und Abbildung 4-6 gegen P_g/V_L und v_{vm} aufgetragen. Es zeigt sich ein linearer Anstieg des k_{La} -Werts mit dem spezifischen Leistungseintrag und der Begasungsrate. Der Verlauf deckt sich mit dem in Kapitel 3.5.3 vorgestellten, da in diese Berechnung des k_{La} -Werts keinerlei biologische-oder zellrelevante Parameter einfließen. Des weiteren wird auch keine Flutung des Fermenters berücksichtigt. Wie Abbildung 4-1 und Abbildung 4-2 zeigen, besitzt der Prozess für ein gegebenes H/D Verhältnis ein Maximum, da die Sauerstoffaufnahme durch die Zellmembran nicht beliebig erhöht werden kann und zu starke Begasung sich negativ auf die Fermentation auswirkt (Kraume 2012, 574).

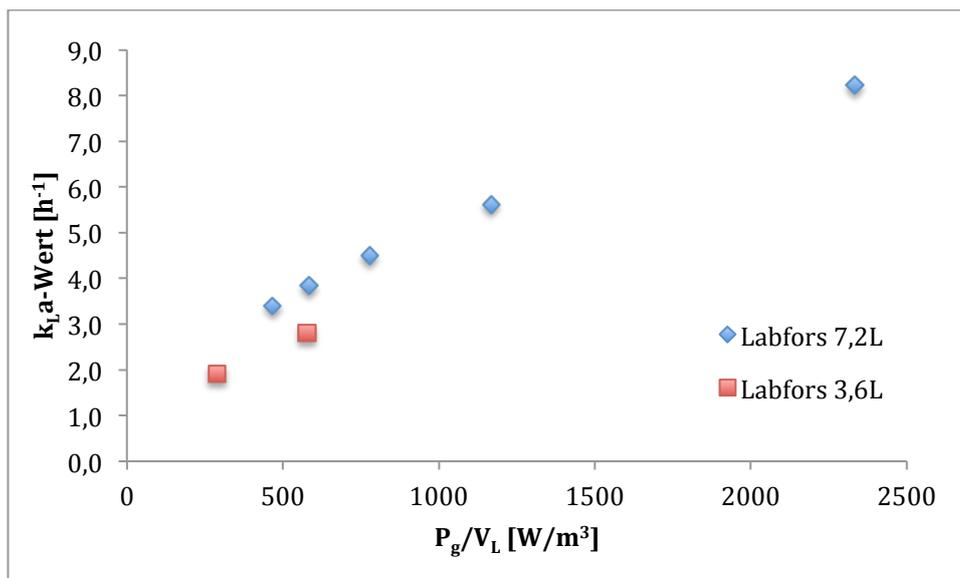


Abbildung 4-5: Berechnete k_{La} -Werte in Abhängigkeit von P_g/V_L

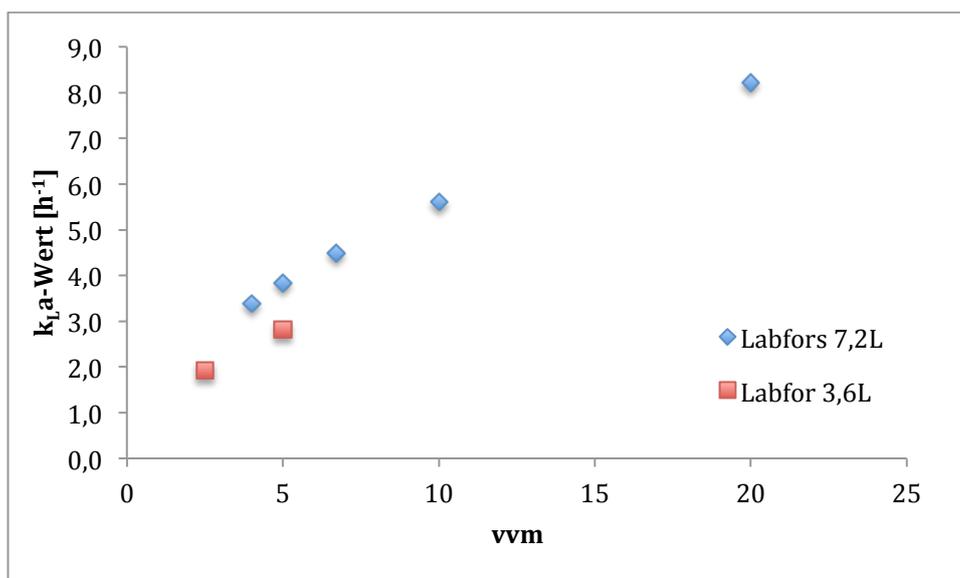


Abbildung 4-6: Berechnete k_{La} -Werte in Abhängigkeit der skalierungsunabhängigen Begasungsrate

Für die weitere Vorgehensweise ist die Kenntnis der Behältergeometrien notwendig. Tabelle 4-4 listet die Abmessungen des Laborfors 7,2 L Fermenters, sowie die vorgeschlagene Geometrie für den Pilotfermenter mit entsprechendem Füllstand zur Realisierung eines möglichst gleichen H/D Verhältnisses auf.

Tabelle 4-4: Geometrische Abmessungen der einzelnen Fermenter

	D [m]	d [m]	H_{zvl} [m]	H/D bei ([L])
Labfors 7,2L	0,14	0,07	450	1,45 (3)
Pilotfermenter 500L	0,615	0,307	2000	1,46 (255)

Wie aus Tabelle 4-1 ersichtlich, wird als Referenzdrehzahl 1000 min^{-1} gewählt. Als Begasungsrate wird in nach Abbildung 4-2 6,7 vvm gewählt.

Um das beschriebene Prozessmaximum rechnerisch zu ermitteln, wurde mit Hilfe des Solvers in Microsoft Excel Gl. (31) durch Variation von Drehzahl und Begasung in den Bereichen $1 \leq n \leq 2000$ und $0,1 \leq \text{vvm} \leq 20$ versucht, einen möglichst genauen $k_L a$ -Wert von $4,08 \text{ h}^{-1}$ einzustellen.

Tabelle 4-5: Berechnungsergebnisse für $k_L a = 4,08 \text{ h}^{-1}$

	V [L]	q [vvm]	P/V [W/m^3]	v [m/s]	n [min^{-1}]	$k_L a$ [h^{-1}]
Labfors 7,2L experimentell	3	6,7	778	0,0216	1000	4,08
Pilotfermenter 500L	255	3,24	329,5	0,0516	262,1	4,08

Würde man die errechneten Werte aus Tabelle 4-5 in Gl. (38) einsetzen, würde sich für den Pilotfermenter eine Drehzahl von

$$n_H = 1000 \text{ min}^{-1} * \left(\frac{0,07 \text{ m}}{0,307 \text{ m}} \right)^{\frac{2}{3}} * \frac{49,7 \frac{\text{m}^3}{\text{h}} * 0,07^3 \text{ m}}{1,2 \frac{\text{m}^3}{\text{h}} * 0,307^3 \text{ m}} = 183 \text{ min}^{-1} \quad (49)$$

ergeben.

Der Unterschied zwischen den beiden Ergebnissen der Drehzahlbestimmung erklärt sich dadurch, dass Gl. (38) streng geometrisch vorgeht und als Prozessparameter nur die Drehzahl berücksichtigt. Gl.(31) jedoch enthält den spezifischen Leistungseintrag, der sowohl die Drehzahl als auch die vorherrschenden Strömungsbedingungen berücksichtigt. Aus diesem Grund wird die tatsächliche Drehzahl sich in der Nähe von 262 min^{-1} einstellen.

Zur Kontrolle sei hier noch einmal der $k_L a$ -Wert mit denen vom Solver berechneten Werten nach Gl. (31) nachgerechnet:

$$k_L a = 0,01 * 329,5^{0,55} * 0,0516^{0,43} = 4,068 \text{ h}^{-1} \quad (50)$$

Bei einem Volumen von 255 L würde sich nach Gl. (36) eine 95% Mischzeit von

$$T_{mix} = 17,5 * \log_{10} 255 - 19,4 = 22,7s \quad (51)$$

ergeben:

Der Scherstress als ISF bemessen würde sich im Scale up von

$$ISF_M = \frac{2 * 3,67 \frac{m}{s}}{0,035m} = 209,4s^{-1} \quad (52)$$

auf

$$ISF_H = \frac{2 * 4,22 \frac{m}{s}}{0,15375m} = 54,9s^{-1} \quad (53)$$

verringern.

4.3. Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, das Scale up eines Fermentationsprozess anhand der von Zlokarnik vorgeschlagenen Methode der Dimensionsanalyse durchzuführen. Bei dem ausgewählten Prozess der PHA Biosynthese durch *Cupriavidus necator* stellte sich jedoch im Zuge der Arbeit heraus, dass durch die gefundenen Korrelationen einerseits und die damit verknüpfbaren und vorhandenen experimentellen Daten andererseits, die Anwendung der Dimensionsanalyse nicht notwendig ist. Aus diesem Grund wurde mit der „rule of thumb“, einer heuristischen Faustregel, eine Möglichkeit vorgestellt, die in diesem speziellen Fall das Scale up ermöglicht. Um die notwendigen Grundlagen für die Anwendung der „rule of thumb“ zu haben, wurde auch eine Einführung in die Rührtechnik gegeben, da ihr wesentliche Aspekte dieser Scale up Variante zu Grunde liegen.

Das Scale up wurde anhand des $k_L a$ -Wertes durchgeführt, da dieser entscheidend für Biomassewachstum und Ausbeute ist. Scherstress und kurzzeitige Unterversorgung mit Substrat oder Sauerstoff sind bei dem robusten Wildtyp *Cupriavidus necator* kein relevanter Scale up Parameter und wurden deshalb auch nicht berücksichtigt. Um den $k_L a$ -Wert im Scale up konstant zu halten, wurde ein konstantes H/D Verhältnis eingestellt, sowie die Drehzahl und der spezifische Leistungseintrag verringert. Die Anwendung der „rule of thumb“ hat ergeben, dass die im Labor bestimmten Werte sich ohne Probleme im Pilotmaßstab realisieren lassen.

Ziel sollte es nun sein, die in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse in einem Pilotfermenter zu validieren, um so neue Erkenntnisse für weitere Maßstabsvergrößerungen zu erlangen.

5. Ausblick

Da für einen eventuell später erfolgenden Bau des Pilotfermenters der wirtschaftliche Aspekt eine große Rolle spielt, sei an dieser Stelle mit der von Koller et al. publizierten Methode das Produktionsvermögen des Pilotfermenters errechnet (M. Koller et al. 2005). Um die maximale Produktivität der Pilotanlage zu verdeutlichen, wird mit dem maximal möglichen Reaktionsvolumen von 500 L (Bruttovolumen 640 L) bei gleichzeitigem Einsatz von Silagesäften gerechnet. Es wird hier eine Anzahl von 5823 jährlichen Arbeitsstunden (243 Tage im Jahr, 2 Tage Fermentation, 1 Tag Regeneration) als Berechnungsbasis angenommen. Für das Errechnen der Anzahl an jährlichen Batches wurde eine Batchzeit von 45,1 h angenommen. Hierbei ist eine Regenerationszeit von 12 h für Reinigung Fermenters und Vorbereitung der nächsten Charge eingerechnet (M. Koller et al. 2005). Das ergibt eine jährliche Anzahl von

$$n_c = \frac{5823 \frac{h}{a}}{45,1 \frac{h}{Ch}} = 129,3 \frac{Ch}{a} \quad (54)$$

Chargen pro Jahr.

Die Produktionsleistung errechnet sich aus

$$m_{PHA} = \frac{V * n_c * c}{1,3} \quad (55)$$

bzw. bei bekanntem Reaktionsvolumen

$$m_{PHA} = V_R * n_c * c \quad (56)$$

V_R = Reaktionsvolumen [m^3]

V = Reaktorvolumen [m^3]

n_c = Anzahl der Produktionszyklen pro Jahr

c = finale Konzentration der residualen Biomasse (hier: 21,62 g/L)

1,3 Faktor für den Füllstand des Reaktionsvolumens zu Bruttovolumen

Somit ergibt sich eine jährliche Produktionsleistung von

$$m_{PHA} = 0,5 m^3 * 129,3 \frac{1}{a} * 21,62 \frac{kg}{m^3} = 1397,9 \frac{kg}{a} \quad (57)$$

Dieser Arbeit wird ein Rohrleitungs- und Instrumentierungs Schema (R&I) beigelegt. Dieses soll als Anhaltspunkt für eine Realisierung der Anlage dienen. Ein moderner Bioreaktor sollte folgendes grundsätzliche Equipment beinhalten (Junker et al. 2003; Storhas 1994, 145ff):

- Behälter mit Temperatureinheit, Sonden und Probenahmestelle
- Zuluftsektion mit Durchflusskontrolle und Filter
- Abluftsektion mit Ablufterhitzer/kühler und Filter
- Medienzugaben (Säure, Lauge, Antischaum, Inokulum)

Des weiteren benötigt eine Anlage dieser Größe eine Möglichkeit für „clean-in-place“ (CIP) und „sanitation-in-place“ (SIP). Dafür müssen Reindampf und Reinigungslösung und die notwendige Verrohrung vorhanden sein. Abbildung 5-1 zeigt einen möglichen Aufbau einer solchen Anlage.

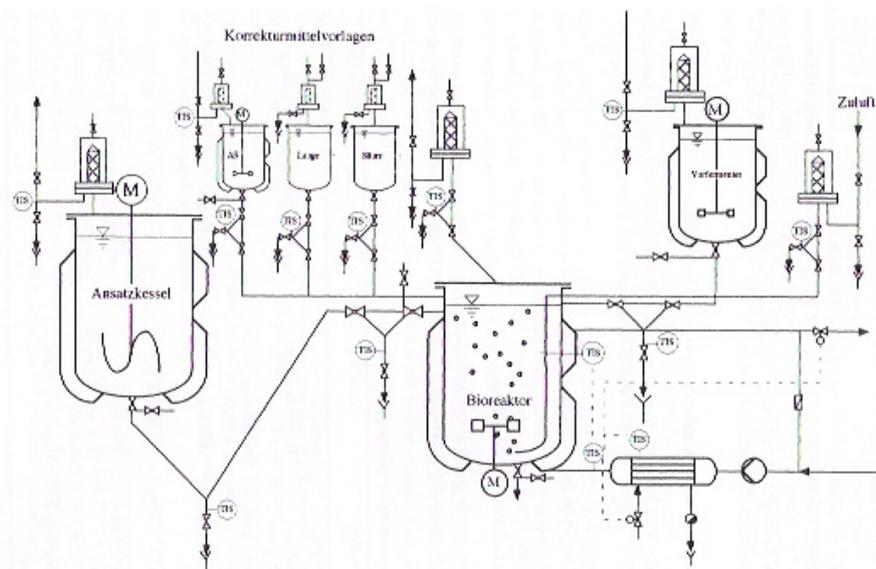


Abbildung 5-1: Aufbau einer Fermentationseinheit (Storhas 1994, 327)

Zusätzlich zu dem hier vorgestellten (Fed-) Batch Verfahren wurde in der Literatur auch ein kontinuierliches Verfahren für den vorgestellten Prozess beschrieben (Atlić et al. 2011). Dabei handelt es sich um eine 5-stufige Rührkesselkaskade, mit der die 2-stufige PHA Synthese nicht zeitlich sondern räumlich getrennt wurden. Es wurden dabei spezifische Produktionsraten erzielt, die 3-mal so hoch waren, wie jene aus industriellen Fed-Batch Fermentationen, die in der Literatur beschrieben wurden. Dieses Verfahren ist jedoch nicht Gegenstand dieser Arbeit. Es

soll lediglich aufgezeigt werden, dass die Möglichkeiten die dieser Prozess liefert sehr vielseitig sind. Auch wenn noch weitere Vergleiche und größere Versuchsmaßstäbe offen sind, sollte die Möglichkeit eines kontinuierlichen Prozesses in jedem Fall unter dem Aspekt der Wirtschaftlichkeit diskutiert werden.

6. Anhang

R&I Schema eines 500 L Fermenters mit notwendigem Equipment und Verrohrung (DIN A3) in der rückseitigen Umschlagtasche.

7. Literaturverzeichnis

- Ahmed, Syed Ubaid, Panneerselvam Ranganathan, Ashok Pandey, and Savithri Sivaraman. 2010. "Computational Fluid Dynamics Modeling of Gas Dispersion in Multi Impeller Bioreactor." *Journal of Bioscience and Bioengineering* 109 (6) (June): 588–97. doi:10.1016/j.jbiosc.2009.11.014. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20471599>.
- Atlić, Aid, Martin Koller, Dietrich Scherzer, Christoph Kutschera, Elizabeth Grillo-Fernandes, Predrag Horvat, Emo Chiellini, and Gerhart Brauneegg. 2011. "Continuous Production of poly([R]-3-hydroxybutyrate) by *Cupriavidus Necator* in a Multistage Bioreactor Cascade." *Applied Microbiology and Biotechnology* 91 (2) (July): 295–304. doi:10.1007/s00253-011-3260-0. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21503760>.
- Bandaiphet, C., and P. Prasertsan. 2006. "Effect of Aeration and Agitation Rates and Scale-up on Oxygen Transfer Coefficient, k_La in Exopolysaccharide Production from *Enterobacter Cloacae* WD7." *Carbohydrate Polymers* 66 (2) (October): 216–228. doi:10.1016/j.carbpol.2006.03.004. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861706001214>.
- Bengtsson, Simon, Alan Werker, Magnus Christensson, and Thomas Welander. 2008. "Production of Polyhydroxyalkanoates by Activated Sludge Treating a Paper Mill Wastewater." *Bioresource Technology* 99 (3) (February): 509–16. doi:10.1016/j.biortech.2007.01.020. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17360180>.
- Brauneegg, G, G Lefebvre, and K F Genser. 1998. "Polyhydroxyalkanoates, Biopolyesters from Renewable Resources: Physiological and Engineering Aspects." *Journal of Biotechnology* 65 (2-3) (October 27): 127–161.
- Brucato, Alberto, Michele Ciofalo, Franco Grisafi, and Giorgio Micale. 1998. "Numerical Prediction of Flow Fields in Baffled Stirred Vessels: A Comparison of Alternative Modelling Approaches." *Chemical Engineering Science* 53 (21): 3653–3684. http://www.din.unipa.it/Struttura/Personale/Profili/ciofalo_allegati/Paper_CES98.pdf.
- Calderbank, P H. 1958. "The Interfacial Area in Gas–liquid Contacting with Mechanical Agitation." *Transactions of Institute of Chemical Engineering* 37: 173–85.
- Chee, Jiun-ye, Sugama-salim Yoga, Nyok-sean Lau, Siew-chen Ling, and Raed M M Abed. 2010. "Bacterially Produced Polyhydroxyalkanoate (PHA): Converting Renewable Resources into Bioplastics." *Current Research, Technology and Education in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*: 1395–1404.
- Chen, Antony K, Michael I Latz, and John a Frangos. 2003. "The Use of Dinoflagellate Bioluminescence to Characterize Cell Stimulation in Bioreactors." *Biotechnology and Bioengineering* 83 (1) (July 5): 93–103. doi:10.1002/bit.10647. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12740936>.
- Choi, J., and S. Y. Lee. 1999. "Factors Affecting the Economics of Polyhydroxyalkanoate Production by Bacterial Fermentation." *Applied Microbiology and Biotechnology* 51 (1) (January

- 27): 13–21. doi:10.1007/s002530051357.
<http://www.springerlink.com/openurl.asp?genre=article&id=doi:10.1007/s002530051357>.
- Cromwick, A.M., T. Foglia, and R.W. Lenz. 1996. “The Microbial Production of Poly(hydroxyalkanoates) from Tallow.” *Applied Microbiology and Biotechnology* 46: 464–469.
- Davidson, Kyle M, Shrinivasan Sushil, Charles D Eggleton, and Mark R Marten. 2003. “Using Computational Fluid Dynamics Software to Estimate Circulation Time Distributions in Bioreactors”: 1480–1486.
- Dhanasekharan, Kumar M., Jay Sanyal, Anupam Jain, and Ahmad Haidari. 2005. “A Generalized Approach to Model Oxygen Transfer in Bioreactors Using Population Balances and Computational Fluid Dynamics.” *Chemical Engineering Science* 60 (1) (January): 213–218. doi:10.1016/j.ces.2004.07.118.
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009250904005810>.
- Du, Chenyu, Julia Sabirova, Wim Soetaert, Sze Ki, and Carol Lin. 2012. “Polyhydroxyalkanoates Production From Low-cost Sustainable Raw Materials.” *Current Chemical Biology* 6: 14–25.
- Eibl, Regine, Dieter Eibl, Ralf Pörtner, Gerardo Catapano, and Peter Czermak. 2009. *Cell and Tissue Reaction Engineering*. Springer.
- Garcia-Ochoa, Felix, and Emilio Gomez. 2009. “Bioreactor Scale-up and Oxygen Transfer Rate in Microbial Processes: An Overview.” *Biotechnology Advances* 27 (2): 153–76.
- Halliday, David, Robert Resnick, and Jearl Walker. 2001. *Physik*. 6. erweite. Wiley-VCH.
- Harding, K G, J S Dennis, H von Blottnitz, and S T L Harrison. 2007. “Environmental Analysis of Plastic Production Processes: Comparing Petroleum-based Polypropylene and Polyethylene with Biologically-based Poly-beta-hydroxybutyric Acid Using Life Cycle Analysis.” *Journal of Biotechnology* 130 (1) (May 31): 57–66. doi:10.1016/j.jbiotec.2007.02.012.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17400318>.
- Herbst, Holger, Adrian Schumpe, and Wolf-Dieter Deckwer. 1992. “Xanthan Production in Stirred Tank Fermenters: Oxygen Transfer and Scale-up.” *Chemical Engineering & Technology* 15 (6) (December): 425–434. doi:10.1002/ceat.270150610.
<http://doi.wiley.com/10.1002/ceat.270150610>.
- Humphrey, Arthur. 1998. “Shake Flask to Fermentor : What Have We Learned ?” *Biotechnology Progress* 14: 3–7.
- Jiang, Yang, Leonie Marang, Jelmer Tamis, Mark C M van Loosdrecht, Henk Dijkman, and Robbert Kleerebezem. 2012. “Waste to Resource: Converting Paper Mill Wastewater to Bioplastic.” *Water Research* 46 (17) (November 1): 5517–5530. doi:10.1016/j.watres.2012.07.028. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22921584>.
- Junker, B H. 2004. “Scale-up Methodologies for Escherichia Coli and Yeast Fermentation Processes.” *Journal of Bioscience and Bioengineering* 97 (6) (January): 347–64. doi:10.1016/S1389-1723(04)70218-2. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16233642>.

- Junker, B H, and H Y Wang. 2006. "Bioprocess Monitoring and Computer Control : Key Roots of the Current PAT Initiative." *Biotechnology and Bioengineering* 95 (2): 226–261. doi:10.1002/bit.
- Junker, T Brix, M Lester, P Kardos, J Adamca, J Lynch, J Schmitt, and P Salmon. 2003. "Design and Installation of a Next Generation Pilot Scale Fermentation System." *Biotechnology Progress* 19 (3): 693–705. doi:10.1021/bp020041u. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12790627>.
- Khardenavis, Anshuman a, M Suresh Kumar, Sandeep N Mudliar, and Tapan Chakrabarti. 2007. "Biotechnological Conversion of Agro-industrial Wastewaters into Biodegradable Plastic, Poly Beta-hydroxybutyrate." *Bioresource Technology* 98 (18) (December): 3579–3584.
- Koller, M., R. Bona, C. Hermann, P. Horvat, J. Martinz, J. Neto, L. Pereira, P. Varila, and G. Braunegg. 2005. "Biotechnological Production of Poly(3-hydroxybutyrate) with *Wautersia Eutropha* by Application of Green Grass Juice and Silage Juice as Additional Complex Substrates." *Biocatalysis and Biotransformation* 23 (5) (January): 329–337. doi:10.1080/10242420500292252. <http://informahealthcare.com/doi/abs/10.1080/10242420500292252>.
- Koller, Martin. 2010. *Nachwachsende Rohstoffe- Mitteilungen Der Fachbereichsarbeitsgruppen. Nachwachsende Rohstoffe*.
- . 2012. "From Meat Waste to Bioplastics." *Bioplastics Magazine*.
- Koller, Martin, Aid Atlić, Miguel Dias, Angelika Reiterer, and Gerhart Braunegg. 2010. "Microbial PHA Production from Waste Raw Materials." *Microbiology Monographs* 14: 86–114. doi:10.1007/978-3-642-03287.
- Koller, Martin, Rodolfo Bona, Gerhart Braunegg, Carmen Hermann, Predrag Horvat, Markus Kroutil, Julia Martinz, Jose Neto, Luis Pereira, and Paula Varila. 2005. "Production of Polyhydroxyalkanoates from Agricultural Waste and Surplus Materials." *Biomacromolecules* 6 (2): 561–565.
- Koller, Martin, Rodolfo Bona, Emo Chiellini, Elizabeth Grillo Fernandes, Predrag Horvat, Christoph Kutschera, Paula Hesse, and Gerhart Braunegg. 2008. "Polyhydroxyalkanoate Production from Whey by *Pseudomonas Hydrogenovora*." *Bioresource Technology* 99 (11) (July): 4854–63. doi:10.1016/j.biortech.2007.09.049. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18053709>.
- Koller, Martin, Predrag Horvat, Paula Hesse, Rodolfo Bona, Christoph Kutschera, Aid Atlić, and Gerhart Braunegg. 2006. "Assessment of Formal and Low Structured Kinetic Modeling of Polyhydroxyalkanoate Synthesis from Complex Substrates." *Bioprocess and Biosystems Engineering* 29 (5-6) (December): 367–77. doi:10.1007/s00449-006-0084-x. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17031672>.
- Koller, Martin, A Salerno, and M Dias. 2010. "Modern Biotechnological Polymer Synthesis: a Review." *Food Technol. Biotechnol.* 48 (3): 255–269. http://hrcaj.srce.hr/index.php?show=clanak&id_clanak_jezik=87204.

- Koller, Martin, Anna Salerno, Alexander Muhr, Angelika Reiterer, and Gerhart Braunegg. 2013. "Polyhydroxyalkanoates: Biodegradable Polymers and Plastics from Renewable Resources." *Materials and Technology* 47 (1): 5–12.
- Kraume, Matthias. 2012. *Transportvorgänge in Der Verfahrenstechnik*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. doi:10.1007/978-3-642-25149-8. <http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-3-642-25149-8>.
- Lee, Sang Yup, and Jong-il Choi. 1999. "Production and Degradation of Polyhydroxyalkanoates in Waste Environment." *Waste Management* 19 (2) (April): 133–139. doi:10.1016/S0956-053X(99)00005-7. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X99000057>.
- Lendlein, Andreas, and Adam Sisson. 2011. "Biotechnologically Produced Biodegradable Polyesters." In *Handbook of Biodegradable Polymers- Synthesis, Characterization and Application*, 23–44. Wiley-VCH.
- Levin, Michael. 2001. *Pharmaceutical Process Scale-Up*. Marcel Dekker, Inc.
- Li, Mingzhong, Graeme White, Derek Wilkinson, and Kevin J Roberts. 2005. "Scale up Study of Retreat Curve Impeller Stirred Tanks Using LDA Measurements and CFD Simulation." *Chemical Engineering Journal* 108: 81–90. doi:10.1016/j.cej.2005.01.005.
- Maranga, Luis, António Cunha, João Clemente, Pedro Cruz, and Manuel J.T. Carrondo. 2004. "Scale-up of Virus-like Particles Production: Effects of Sparging, Agitation and Bioreactor Scale on Cell Growth, Infection Kinetics and Productivity." *Journal of Biotechnology* 107 (1) (January): 55–64. doi:10.1016/j.jbiotec.2003.09.012. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168165603002542>.
- Moralejo-Gárate, Helena, Emily Mar'atusalihat, Robbert Kleerebezem, and Mark C M van Loosdrecht. 2011. "Microbial Community Engineering for Biopolymer Production from Glycerol." *Applied Microbiology and Biotechnology* 92 (3) (November): 631–9. doi:10.1007/s00253-011-3359-3. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21674168>.
- Muhr, Alexander, Eva Maria Rechberger, Anna Salerno, Angelika Reiterer, Karin Malli, Katharina Strohmeier, Sigurd Schober, Martin Mittelbach, and Martin Koller. 2013. "Novel Description of mcl-PHA Biosynthesis by Pseudomonas Chlororaphis from Animal-derived Waste." *Journal of Biotechnology* (March 4): 1–7. doi:10.1016/j.jbiotec.2013.02.003. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23467001>.
- Müller, Dethard. 2012. "Grundlagen Der Bioprozesstechnik (III)."
- Nanda, Rajashree, Abhisek Sasmal, Jayashree Panigrahi, and P L Nayak. 2009. "Plastics from Bacteria : A New Technology for the Twenty First Century." *Popular Plastics & Packaging* (27): 21–29.
- Nonato, R.V., P.E Mantelatto, and C.E.V Rossell. 2001. "Integrated Production of Biodegradable Plastic , Sugar and Ethanol." *Applied Microbiology and Biotechnology* 57: 1–5. doi:10.1007/s002530100732.
- Paglianti, Alessandro, Sandro Pintus, and Massimiliano Giona. 2000. "Time-series Analysis Approach for the Identifi- cation of # Ooding / Loading Transition in Gas } Liquid Stirred Tank Reactors" 55.

- Patel, Ramesh N. 2001. "Biocatalytic Synthesis of Intermediates for the Synthesis of Chiral Drug Substances." *Chemical Biotechnology*: 587–604.
- Schmidt, F R. 2005. "Optimization and Scale up of Industrial Fermentation Processes." *Applied Microbiology and Biotechnology* 68 (4) (September): 425–35. doi:10.1007/s00253-005-0003-0. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16001256>.
- Seabra, Joaquim E.a., and Isaias C. Macedo. 2011. "Comparative Analysis for Power Generation and Ethanol Production from Sugarcane Residual Biomass in Brazil." *Energy Policy* 39 (1) (January): 421–428. doi:10.1016/j.enpol.2010.10.019. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301421510007706>.
- Seebach, D, Dieter Seebach, Hak-fun Chow, and Richard F W Jackson. 1986. "(+)-11,11'-Di-O-methylelaiophylidene - Preparation from Elaiophylin and Total Synthesis from (R)-3-Hydroxybutyrate and (S)-Malate." *Liebigs Annalen Der Chemie*: 1281–1308.
- Shukla, V B., U Parasu Veera, P R. Kulkarni, and a B. Pandit. 2001. "Scale-up of Biotransformation Process in Stirred Tank Reactor Using Dual Impeller Bioreactor." *Biochemical Engineering Journal* 8 (1) (July): 19–29. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11356367>.
- Sommerfeld, M., and S. Decker. 2004. "State of the Art and Future Trends in CFD Simulation of Stirred Vessel Hydrodynamics." *Chemical Engineering & Technology* 27 (3) (March 5): 215–224. doi:10.1002/ceat.200402007. <http://doi.wiley.com/10.1002/ceat.200402007>.
- Steinbüchel, Alexander, and Tina Lütke-Eversloh. 2003. "Metabolic Engineering and Pathway Construction for Biotechnological Production of Relevant Polyhydroxyalkanoates in Microorganisms." *Biochemical Engineering Journal* 16 (2) (November): 81–96.
- Steinbüchel, Alexander, and Henry E Valentin. 1995. "Diversity of Bacterial Polyhydroxyalkanoic Acids." *FEMS Microbiology Letters* 128: 219–228.
- Stieß, Matthias. 2009. *Mechanische Verfahrenstechnik - Partikeltechnologie 1. 3.*, vollst. Springer Berlin Heidelberg. doi:10.1007/978/3-540-32552-9. <http://www.springerlink.com/index/10.1007/978/3-540-32552-9>.
- Storhas, Winfried. 1994. *Bioreaktoren Und Periphere Einrichtungen*. vieweg Lehrbuch.
- Titz, Michaela, KH Kettl, Khurram Shahzad, Martin Koller, Hans Schnitzer, and Michael Narodoslawsky. 2010. "Process Optimization for Efficient Biomediated PHA Production from Animal-based Waste Streams." *Clean Technologies and Environmental Policy* 1 (1).
- Tseng, Hsien-Chung, Collin H Martin, David R Nielsen, and Kristala L Jones Prather. 2009. "Metabolic Engineering of Escherichia Coli for Enhanced Production of (R)- and (S)-3-hydroxybutyrate." *Applied and Environmental Microbiology* 75 (10) (May): 3137–3145.
- Tsuge, Takeharu. 2002. "Metabolic Improvements and Use of Inexpensive Carbon Sources in Microbial Production of Polyhydroxyalkanoates." *Journal of Bioscience and Bioengineering* 94 (6): 579–584.

- Vasudevan, Palligarnai T, and Michael Briggs. 2008. "Biodiesel Production--current State of the Art and Challenges." *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 35 (5) (May): 421–30. doi:10.1007/s10295-008-0312-2. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18205018>.
- Verlinden, Rob Aj, D J Hill, M a Kenward, C D Williams, and I Radecka. 2007. "Bacterial Synthesis of Biodegradable Polyhydroxyalkanoates." *Journal of Applied Microbiology* 102 (6) (June): 1437–1449. doi:10.1111/j.1365-2672.2007.03335.x. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17578408>.
- Verlinden, Rob Aj, David J Hill, Melvin a Kenward, Craig D Williams, Zofia Piotrowska-Seget, and Iza K Radecka. 2011. "Production of Polyhydroxyalkanoates from Waste Frying Oil by *Cupriavidus Necator*." *AMB Express* 1 (1) (January): 11. doi:10.1186/2191-0855-1-11. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3222315&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Williams, Kenneth a, Sunil Saini, and Timothy M Wick. 2002. "Computational Fluid Dynamics Modeling of Steady-state Momentum and Mass Transport in a Bioreactor for Cartilage Tissue Engineering." *Biotechnology Progress* 18 (5): 951–63. doi:10.1021/bp020087n. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12363345>.
- Wolf, Karl-Heinz. 1991. *Berechnungsbeispiele in Der Bioverfahrenstechnik*. Behr's Verlag.
- Zhang, Hu, Weixiang Wang, Chunshan Quan, and Shengdi Fan. 2010. "Engineering Considerations for Process Development in Mammalian Cell Cultivation." *Current Pharmaceutical Biotechnology* 11 (1) (January): 103–12. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19929819>.
- Zlokarnik, Marko. 1983. "Modellübertragung in Der Verfahrenstechnik." *Chemical Engineering & Technology* 55 (5): 363–372.
- . 1999. *Rührtechnik-Theorie Und Praxis*. Springer.
- . 2003. "Scale-up Und Miniplants." *Chemie Ingenieur Technik* 75 (4): 370–375.
- . 2005. *Scale-up Modellübertragung in Der Verfahrenstechnik*. 2.vollst.ü ed. Wiley-VCH.