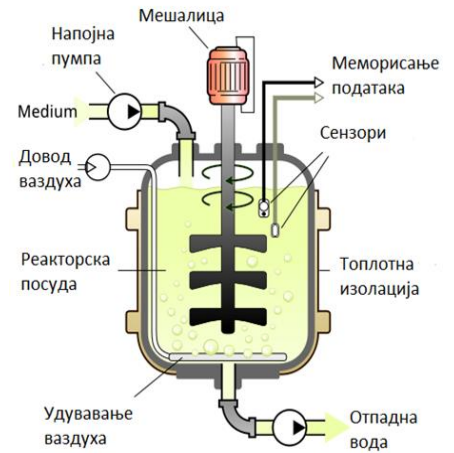


Биореактори

Извор:

https://controls.engin.umich.edu/wiki/index.php/Bacterial_Chemostat_Model

Биореактори се користе за узгој, прикупљање и одржавање одређених ћелија у жељеним условима. Ове ћелије расту и умножавају се у одговарајућој околини са одговарајућим медијумом који им обезбеђује неопходне хранљиве материје за њихов развој. Друге врсте биореактора се користе за развој различитих ћелијских култура или ткива. Управљање овим процесима мора да оптимизује производњу ћелија уз одржавање посебних услова неопходних за њихов опстанак. Ово подразумева одржавање температуре, нивоа кисеоника (за аеробне процесе), рН, одржавање подлоге на којој се одвија процес и притиска.



Процес може да буде **аеробни** (уз присуство кисеоника) или **анаеробни** (без присуства кисеоника). Према облику, биореактори су обично цилиндричне посуде различитих величина (запремине од неколико литара до више кубних метара) и најчешће су направљене од нерђајућег челика.

Према начину рада, могу да раде **континуално** или **повремено** (док не обаве реакцију са датим пуњењем). Пример за биореактор који ради континуално би био **хемостат**.

Хемостат

Хемостат је врста биореактора код кога се непрекидно доводи **медијум** док се продукти метаболизма и микроорганизми непрекидно у истој мери уклањају са циљем да се одржи стална запремина у биореактору. Променом врсте напајања хемостата лако се утиче на количину микроорганизма који се стварају.

Равнотежно стање хемостата

Једна од најважнијих карактеристика хемостата је да микроорганизми могу да се развијају у физиолошки равнотежном стању при константним условима околине. У овом равнотежном стању развој се одвија при константној брзини раста и сви параметри културе која развија остају константни (запремина, концентрација раствореног кисеоника, рН, густина ћелија). Микроорганизми који се развијају у хемостату обично достижу равнотежно стање због постојања негативне повратне спреге између степена развоја и концентрације хранљивих материја. Наиме, ако има мало ћелија у биореактору, ћелије могу да се брзо развијају пошто користе мало хранљивих материја тако да њихов развој није одређен количином хранљивих материја које се додају. На даље, што је већи број ћелија, оне користе све више хранљивих материја смањујући њихову концентрацију. Као последица настаје ситуација када се смањује број ћелија пошто се оне уклањају из система као продукти. Тиме се постиже равнотежно стање које је стабилно. Ово

омогућава да се утиче на брзину развоја микроорганизама променом брзине пумпе напајања хемостата.

Значај мешалице на рад хемостата

Важна особина хемостата као и осталих биореактора који раде континуално да се мешалицом обезбеђује хомогена средина тако да су микроорганизми равномерно распоређени.

Степен разблажења

У равнотежном стању, степен раста микроорганизама (μ) је једнак степену разблажења.

Степен разблажења се дефинише као количник протока медијума (F) и запремине културе (V) која се развија у биореактору:

$$D = \frac{F}{V}$$

Максимални степен раста и критични степен разблажења

Специфични степен раста (μ) је обрнуто пропорционалан времену потребном да се удвостручи биомаса (t_d):

$$\mu = \ln(2)/t_d$$

Стога време (t_d) постаје функција степена разблажења

у равнотежном стању:

$$t_d = \ln(2)/D$$

Сваки микроорганизам који се развија на одређеној подлози има максимални степен раста μ_{max} – степен раста који је ограничен унутрашњим ограничењима, а не количином спољних хранљивих састојака. Ако је степен разблажења изабран тако да је већи од μ_{max} ћелије не могу да расту том брзином којом се уклањају тако да култура неће моћи да опстане у биореактору већ ће бити потпуно уклоњена.

Ипак, пошто у пракси концентрација ограничавајућих хранљивих материја никад не достиже ниво засићења, степен раста је обично мало мањи од μ_{max} . Највећи специфични степен раста у крајњем случају може да одговара критичној вредности степена разблажења D_c :

$$D_c = \mu_{max} \frac{S}{K_s + S}$$

где је S подлога или концентрација хранљиве материје у хемостату и K_S је константа полу-засићења.

Примена хемостата у истраживању

Хемостат се користи у истраживањима у биологији ћелије као **извор великих количина хомогених ћелија или протеина**. Хемостат се обично употребљава за прикупљање података о **равнотежном стању** организма да би се добио **математички модел** који описује **метаболички процес**. Хемостати се такође користе за узгој специфичних врста бактерија које су **отпорне на антибиотике**.

Пројектовање биореактора

Пројектовање биореактора је озбиљан инжењерски задатак који се проучава у биохемијском инжењерству. Под оптималним условима микроорганизми или ћелије могу да се синтетишу уз ограничено стварање нечистоћа. Унутрашња средина у биореактору која зависи од температуре, концентрације хранљивих материја, рН и растворених гасова (нарочито кисеоника код аеробних ферментација) утиче на развој и продуктивност организма. **Температура** медијума који ферментише се одржава **хлађењем**. Одређени процеси који ослобађају топлоту захтевају спољње хлађење. **Хранљиве материје** могу да се континуално доводе у посуду где се одвија ферментација или да се на почетку ферментације ставе у посуду. **рН вредност** средине се мери и мења додавањем малих количина киселина или база, зависно од ферментације. Код аеробних (и неких анаеробних) ферментација гасови који учествују у ферментацији (нарочито кисеоник) се обавезно додају. Пошто је кисеоник релативно слабо растворљив у води (која је основни медијум скоро свих ферментација) ваздух (или прочишћени кисеоник) мора да се континуално додаје. Мехурићи ваздуха који се са дна дижу помажу мешању медија који ферментише и такође повлаче отпадне гасове као што је угљен диоксид. Биореактори су већином **судови под притиском** што **повећава растворљивост кисеоника** у води. Код аеробних процеса растварање кисеоника може да буде ограничавајући фактор за брзину одвијања процеса. Кисеоник је слабо растворљив у води, чак му се растворљивост смањује са порастом температуре течности која ферментише, а има га релативно мало у ваздуху – 20,95%. **Растварање кисеоника** се побољшава **мешањем** које је потребно да би ферментација била хомогена. Током рада биореактора на зидовима се скупљају насlage нечистоћа. Ова појава је нарочито изражена код размењивача топлоте биореактора. Зато је неопходно њихово често чишћење. Унутрашњи зидови биореактора су обично направљени од нерђајућег челика што олакшава њихово чишћење. Код биореактора који раде повремено чишћење се обавља између два пуњења, док се континуални посебно пројектују тако да се што више смањи стварање наслага нечистоћа. Насlage нечистоћа се овде уклањају осцилацијама.

Врсте биореактора

Фотобиореактори

Ово су биореактори код којих је укључен неки извор светлости. Користе се за узгој малих **фототропних организама** као што су бактерије, алге или маховине. Фототропни организми имају

својство да користе светлост као енергију помоћу фотосинтезе и не захтевају као извор енергије шећере или масти.



Сл.2. Фотобиореактор за узгој маховине

(извор: "Bioreaktor quer2" by Eva Decker - University Freiburg, AG Reski Ralf_Reski. Licensed under CC BY-SA 1.0 via Commons -

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bioreaktor_quer2.jpg#/media/File:Bioreaktor_quer2.jpg)

Биореактори за уклањање отпада

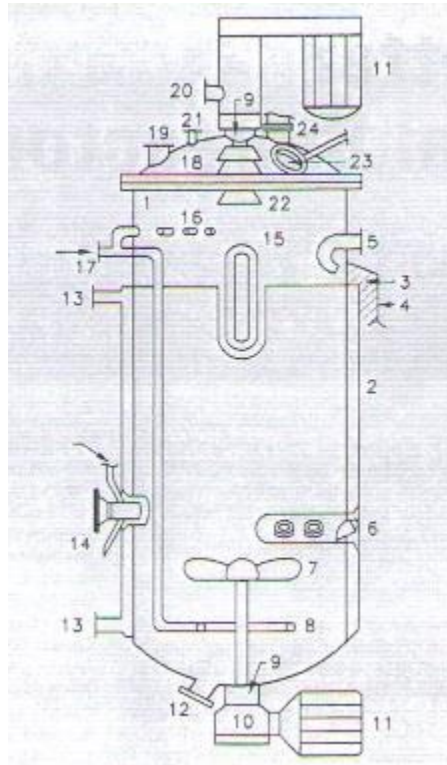
Биореактори се користе и за обраду отпада и отпадних вода. Код најефикаснијих оваквих система постоји слодобан доток хемијски инертног медијума који садржи бактерије чија је улога да разлажу отпадну воду. Ова врста биореактора се пројектује тако да се састоји од низа повезаних резервоара и механичког сепаратора који убрзава одвајање воде и чврстог биолошког отпада. У отпад се **удувава кисеоник** са циљем да се убрза разлагање отпада. Користе се и потопљене мешалице код биореактора са малим садржајем кисеоника да би одржале чврсти отпад у суспензији и на тај начин обезбедили боље мешање бактерија и органског материјала. На овај начин се обезбеђује да бактерије очисте отпадну воду до те мере да је могуће њено поновно коришћење. Чврст отпад се скупља за даљу обраду или се суши и користи као ђубриво. Најједноставнији пример биореактора за обраду отпада је септичка јама где се отпад не помера, а бактерије се најчешће не додају. У том случају бактерије се развијају саме у муљу. Септичке јаме најефикасније разлажу отпад када су изграђене на чврстој подлози и када систем није изложен плављењу. Код ових система није могуће предвидети време разлагања отпада ни ефикасност самог поступка због њихове једноставности.

Пошто биореактори за уклањање отпада раде са биолошким отпадом, изузетно је важно да се прати количина и квалитет микроорганизама.

Конструкција биореактора (извор: <http://www.massey.ac.nz/~ychisti/BuildBet.pdf>)

Индустријски биореактори за стерилну су обично конструисани као судови под притиском, било да се мешање врши помоћу мешалице, удубавањем ваздуха или флуидизацијом.

Типичан биореактор је приказан на сл.3.



Сл. 3.

Типични биореактор:

1. Суд
2. Кућиште
3. Изолација
4. Заштита
5. Прикључак за довод медијума
6. Прикључак за сензоре рН, температуре, и раствореног кисеоника
7. Мешалица
8. Удување ваздуха
9. Заптивка
10. Редуктор
11. Мотор
12. Млазница за прикупљање медијума
13. Прикључак на кућишту
14. Прикључак за прикупљање узорка паре
15. Водоказно стакло
16. Прикључак за базне, алкалне хемикалије и хемикалије за спречавање појаве пене
17. напајање ваздухом

18. Поклопац
19. Млазница за напајање
20. Одушак за ваздух
21. Прикључци за инструменте
22. Разбијање пене
23. Водоказно стакло са осветљењем и прикључак за пару

Посуда је снабдевена **нивоказним стаклом**, а у обавезну мерну опрему спадају давачи **pH**, **температуре** и **нивоа растворености кисеоника**. Конектори за мерење базности и киселости (за управљање pH), средства против стварања пене су смештени изнад нивоа течности. Прскалица снабдева смешу кисеоником (угљен диоксидом или азотом за управљање pH). На дну се налази млазница којом се прикупља обрађена култура. За мешање се обично користи вратило мале дужине да би се избегло постављање лежајева унутар посуде и омогућило лакше чишћење и стерилизација биореактора. Постављањем мешалице и мотора на дну биореактора ослобађа се горњи део за окретање или вибрирање мреже ћелијских култура што се често користи код биореактора који раде са животињским ћелијама. Вратило на механичком уређају за разбијање пене је снабдевено једноструком или двоструком механичком заптивком на улазу у реактор. При раду са биолошки опасним материјалом обавезно се користе **двоструке стерилне заптивке** које се подмазују стерилном водом. На мешалици на дну се такође користе двоструке заптивке. Реактор има или отвор на дну или покретни поклопац. Конструкција са покретним равним поклопцем кружног облика се обично користи на малим судовима. За веће судове су јефтинији поклопци елиптичног облика. Поклопац садржи део за прикупљање гасова, део за напајање реактора медијумом као и део за постављање сензора (на пр. за сигнализацију појаве пене или за мерење притиска). Уређај за смањење количине пене такође може да буде постављен на горњем поклопцу. Нивоказно стакло са осветљењем може изнутра да се чисти помоћу млаза кондензоване паре.

Биореактор може да се стерилише без транспортовања помоћу засићене паре на 110kPa. Најчешће се биореактор пројектује за максимални радни притисак од 275-310kPa и температуру 150-180°C. Не допушта се појава корозије на суду.

Посуда се хидростатички тестира на вредности од 150% од максималног радног притиска при монтажи. Посуда има кошуљицу која се пројектује да поднесе исте радне услове као и посуда. Кошуљица и биореактор су снабдевени сигурносним вентилом. Посуда може потпуно да се празни од садржаја. Биореактор не би требало да у својој унутрашњости има области где би могла да се скупља течност или талози чврста фаза. Зато се поклања велика пажња на облик жлебова заптивки у суду. Чишћење се обавља помоћу раствора за чишћење који се млазницом распршује унутар суда. Средство за чишћење треба да досегне све делове унутрашњости суда. Зато се поклања велика пажња при одређивању положаја млазница. Бољи начин за чишћење суда се постиже ако млазнице ротирају унутар суда.

Код културе која представља суспензију животињских ћелија **магнетне мешалице** су успешно коришћене до количине од 800l. Магнети су издржали стерилизацију (око 122 °C током 30min).

June 12, 1951

Filed Oct. 29, 1949

H. E. SPEARS ET AL.
MAGNETIC COUPLING DRIVE FOR HIGH-PRESSURE
STIRRED REACTORS

2,556,854

2 Sheets-Sheet 1

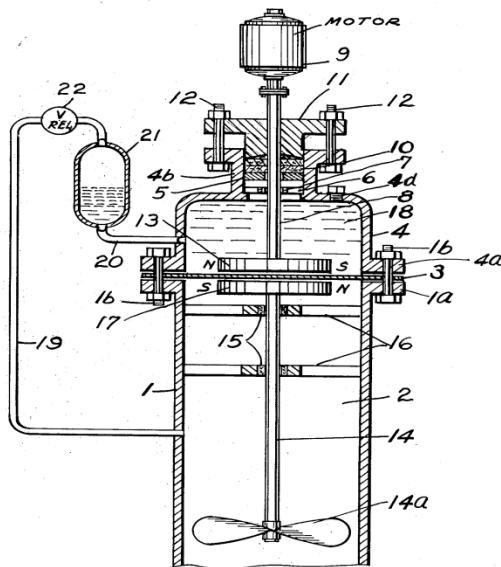


Fig. -1

Ivan Mayer Inventors
Harry C. Spears
By W. O. Kilman Attorney

Сл.4. Приказ рада магнетне мешалице

Заптивање мора да се обави помоћу материјала који не мењају својства током рада биореактора и који су безбедни при производњи хране или лекова - оптималан се показао силицијум карбид (SiC).

Материјали

Сви материјали морају да издрже физичкохемијске услове који се јављају током чишћења (на пр. високо алкалне детерџенте). Материјали који долазе у контакт са флуидима који се обрађују у биореактору не смеју да реагују са њима нити да их апсорбују. Све површине које долазе у контакт са радним флуидом морају лако да се чисте и стерилизација мора једноставно да се обави. За већину примена при конструисању биореактора користи се **нерђајући челик**.

Завршна обрада

Завршна обрада површина које долазе у додир са материјалом који се обрађује утиче на могућност **чишћења** и **стерелизације** биореактора. Завршна обрада утиче на **стабилност** и **реактивност површина** и може да утиче на **адхезију микроба** или **животињских ћелија**. Из тог разлога се нерђајући челик **полира**. Спољашње полирање биореактора се обавља шмирглом, а унутрашње **електрополирањем**.

Бактеријски биореактор

Бактеријски биореактор спада у посебну врсту биореактора који раде континуално и представљају хемостат. Једна од предности хемостата је да је уређај који ради континуално тако да се развој бактерија одржава у равнотежном стању помоћу количине хранљивих материја. Бактеријски хемостати имају велику примену.

Примена

у фармацији: користи се за изучавање различитих врста бактерија и њихова реакција на различите врсте антибиотика. Бактерије развијене у бактеријским хемостатима се користе за производњу **терапијских протеина** као што је **инсулин**.

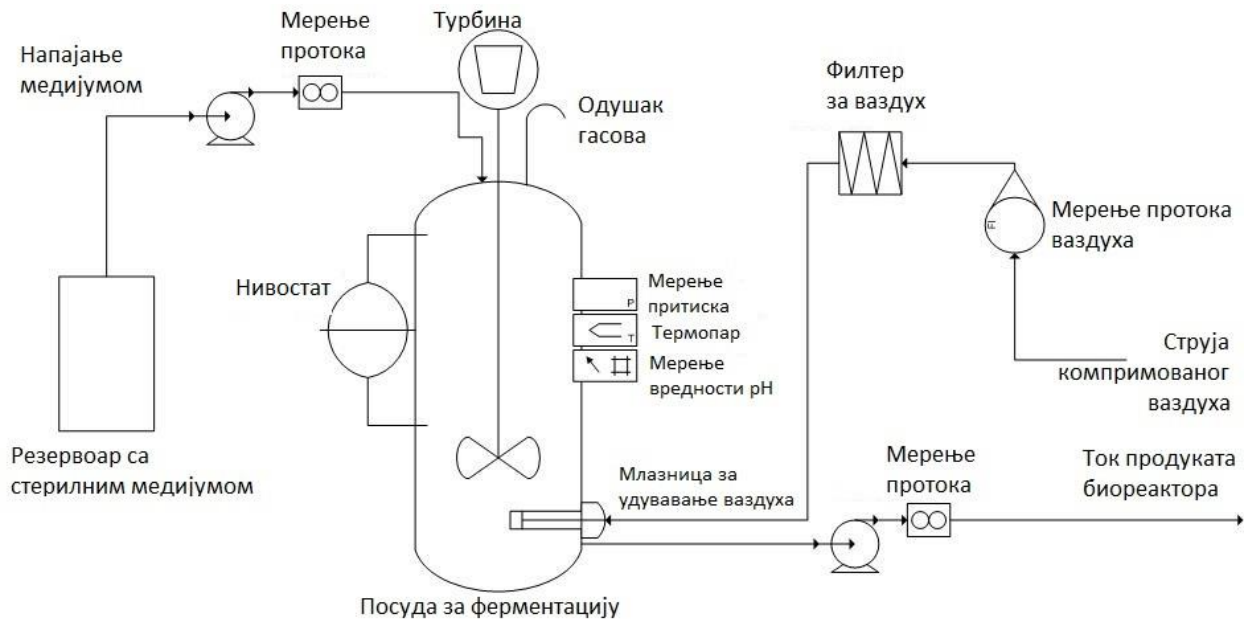
у производњи: за производњу **етанола**, у ферментацији шећера помоћу бактерија у серијски повезаним хемостатима. Такође, велики број **антибиотика** се производи у хемостатима.

у прехранбеној индустрији: користи се за производњу **ферментисане хране** као што су сиреви

у истраживању: користи се за прикљпање података који се користе за формирање **математичког модела** развоја одређених ћелија или организама.

Принцип рада бактеријског хемостата

Бактеријски хемостат је реактор са мешалицом који се користи за континуалну производњу микробне биомасе.



Сл.5

Хемостат се састоји од резервоара са стерилним медијумом повезаног са комором за узгој или реактором. Медијум се континуално пумпа у комору из резервоара. Медијум садржи одређену концентрацију хранљивих материја која обезбеђује максималну концентрацију ћелија у посуди за ферментацију. Променом **концентрације хранљивих материја** утиче се на **концентрацију ћелија** у равнотежном стању. Други начин на који се утиче на концентрацију у равнотежном стању је **доток медијума** у биореактор. Медијум се уноси у биореактор одозго да би се спречио повратни ток бактерија из биореактора према резервоару са стерилним медијумом.

Добро измешан садржај биореактора који садржи неискоришћене хранљиве материја, отпад и бактерије уклања се из посуде, а ниво у биореактору се прати помоћу нивостата да би се одржала константна запремина течности у хемостату. На проток отпадне воде се утиче радом пумпе на излазу. Пумпа на излазу мора да има максимални проток већи од протока напојне пумпе, да се не би препунила посуда за ферментацију.

У хемостату се управља температуром и притиском да би се одржали оптимални услови за развој ћелија. Процеси као што су биолошка ферментација су егзотермни (ослобађају топлоту) тако да се користи вода за хлађење за одржање температуре на оптималној вредности. Вредност притиска се одржава на жељеној вредности помоћу вентила на воду за одушак гасова.

За узгој аеробних култура прочишћен ваздух се удубава на дну посуде кроз млазницу. Тиме се обезбеђује да се довољно кисеоника раствори у медијуму. За анаеробне процесе није потребно напајање ваздухом, али мора да постоји вентил за одушак да би се спречио пораст притиска у биореактору.

Да би се спречило да продукти постану сувише кисели (ћелијском респирацијом медијум постаје кисео) или базни, што може да успори развој ћелија, уводи се управљање рН вредношћу.

Мешалица обезбеђује да су продукти добро измешани. Ако је брзина мешалице сувише **велика**, може да се уништи култура ћелија, а ако је сувише **мала** мешавина није хомогена. То може да доведе до пораста неких вредности (температуре, рН, концентрације) тако да поремете развој ћелија и спрече достизање равнотежног стања.

Други битан фактор који утиче на рад биореактора је формирање **наслага** на унутрашњим површинама. Наслаге утичу тако да **смањују ефикасност размењивача топлоте**. Тада размењивач топлоте не ради оптимално већ је ван опсега радне температуре или користи више енергије за постизање оптималне температуре. Наслаге у цевима доводе до **пораста локалног пада притиска** што може неповољно да се одрази у инсталацији. Да би се умањило стварање наслага, индустријски биореактори се обично праве цилиндричног облика запремине до 1300 m³ у увек од **нерђајућег челика**. Такав облик и материјал омогућавају једноставно чишћење.