

УДК 636.631.223.018

Мельник Вікторія Миколаївна

доктор технічних наук, професор,

завідувач кафедри біотехніки та інженерії

Національний технічний університет України

«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

Мельник Виктория Николаевна

доктор технических наук, профессор,

заведующий кафедры биотехники и инженерии

Национальный технический университет Украины

«Киевский политехнический институт имени Игоря Сикорского»

Mel'nick Victoria

Doctor of Technical Sciences, Professor,

Head of the Department of Bioengineering and Biotechnics

National Technical University of Ukraine

«Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute»

МАСООБМІН В АПАРАТІ ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ ЗА ДОПОМОГОЮ КІНЕМАТИЧНОЇ ПАРИ

МАССОБМЕН В АППАРАТЕ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ С ПОМОЩЬЮ КИНЕМАТИЧЕСКОЙ ПАРЫ

MASS-EXCHANGE IN THE APPARATUS FOR CULTIVATION BY KINEMATIC PAIR

Анотація. Розглядається можливість активізування центральної зони робочого об'єму корпусу апарату та інтенсифікування процесу перемішування всієї біомаси без ризику пошкодження клітин за допомогою модифікації форми і руху перемішуючого елемента.

Ключові слова: апарат для культивування клітин, перемішуючий елемент, диск, біомаса.

Аннотация. Рассматривается возможность активизирования центральной зоны рабочего объема корпуса аппарата и интенсификации процесса перемешивания всей биомассы без риска повреждения клеток с помощью модификации формы и движения перемешивающего элемента.

Ключевые слова: аппарат для культивирования клеток, перемешивающий элемент, диск, биомасса.

Summary. It is considered the possibility of activating the central zone of the working volume of the body of the apparatus and intensifying the process of mixing the whole biomass without the risk of cell damage by modifying the shape and movement of the intermixing element.

Key words: cell culture device, mixing element, disk, biomass.

Вступ. Для вирощування бактерій в лабораторних умовах, дослідження їх різноманітних властивостей, тривалого зберігання використовують живильні середовища. Вони повинні відповідати певним стандартам, створюючи оптимальні умови для росту, розмноження й життєдіяльності мікроорганізмів.

В першу чергу бактерії потребують азоту, вуглецю та водню для побудови власних білків. Водень

і кисень для клітин постачає вода. Джерелом азоту виступають численні речовини, в основному, тваринного походження (м'ясо яловиче, риба, м'ясо-кісткова мука, казеїн), а також білкові гідролізати, пептиди, пептони. Можна використовувати й заміники м'яса — плаценту, кров'яні згустки, дріжджі. Отже, до складу середовищ повинні бути введені джерела живильних речовин і води, а також ростові

фактори (вітаміни, ферменти). Універсальним джерелом їх служать екстракти з білків тваринного й рослинного походження, білкові гідролізати. Для мікробів з більш складними харчовими потребами до складу середовищ включають нативні субстрати — кров, сироватку, асцитичну рідину, яєчний жовток, кусочки печінки, нирок, мозкової тканини та ін.

Середовища повинні бути збалансованими за мікроелементним складом і містити іони заліза, міді, марганцю, цинку, кальцію, натрію, калію, мати у своєму складі неорганічні фосфати.

Численні потреби мікроорганізмів зумовлюють велике розмаїття живильних середовищ, а для окремих видів бактерій існують спеціальні середовища. Частина їх готують у лабораторіях безпосередньо перед посівом, але з кожним роком з'являються все нові й нові середовища заводського виготовлення (сухі), які здатні задовільнити найвибагливіші потреби мікробіологів. Вони зберігаються тривалий час, мають стандартний склад.

Бактерії є складними живими організмами, в яких відбуваються різноманітні біохімічні перетворення. Вони зумовлюють ріст, розмноження, продукцію ферментів, токсинів та інших біологічно активних речовин, відповідають за регуляцію функціональної активності клітин, їх високу пластичність і здатність адаптуватись до умов зовнішнього середовища.

Усі біосинтетичні процеси та інші метаболічні перетворення в клітині відбуваються за участю особливих високоактивних біологічних каталізаторів, які називаються ферментами.

Роль ферментативної діяльності мікроорганізмів важко переоцінити. Вони мають загальнобіологічне значення. Відома участь бактерій у кругообізі речовин у природі, формуванні родовищ корисних копалин (нафта, вугілля, поклади сірки). Мікроорганізми — прекрасні санітари довкілля. Вони здатні біодеградувати практично будь-які речовини, що забруднюють навколишнє середовище.

Людина поставила мікробні ферменти собі на службу. Їх широко використовують у різних галузях хімічної, харчової, фармацевтичної, парфумерної промисловостей, сільському господарстві, медицині.

Ферменти, що забезпечують бродіння, використовуються для одержання бутанолу, ацетону, необхідних для проведення хроматографічних досліджень, етилового спирту, масляної кислоти. Кисломолочні продукти — кефір, йогурт, кисляк, кумис — також продукти діяльності бактерій бродіння.

Мікроорганізми використовуються у виноробстві, виробництві пива, при виготовленні вершкового масла, силосуванні кормів, квашенні овочів. Із дріжджів одержують білково-кормові добавки для годівництва худоби. Як живильне середовище використовують парафіни — відходи нафти. За допомогою мікроорганізмів та їх ферментних систем в медичній промисловості одержують гормони гідрокортизон, преднізолон, різноманітні алкалоїди.

Пропіонібактерії, актиноміцети синтезують вітаміни (B_{12}). Зі стрептококів одержано фібринолізин, стрептодорназу і стрептокіназу, які руйнують тромби в кровоносних судинах.

Оскільки здатність утворювати ферменти певної специфічності притаманна всім мікроорганізмам, це широко використовується в лабораторній практиці для ідентифікації бактерій. Її проводять за комплексом цукролітичних, протеолітичних, пептолітичних, ліполітичних та інших ферментів.

Для культивування рослинних клітин використовують також спеціальні металеві або скляні ферментатори різної конструкції (з мішалками або барботажного типу). Режим ферментації періодичний або безперервний, головним чином хе-мостатний [1].

Біосинтез проводять в апараті об'ємом від 0,1 до 63 м^3 і більше. При управлінні процесом вирощування клітин важливо мати гомогенну систему.

Аерацію культуральної біомаси здійснюють стерильним повітрям через барботер. Повітря стерилізують, як правило, фільтрацією на двох-трьох послідовно встановлених фільтрах. При культивуванні клітин рослини регулюють температуру ($25\text{--}37^\circ\text{C}$), рНі окисно-відновний потенціал.

Процес культивування ведуть доти, поки йде інтенсивний синтез цільового продукту та у середовищі не будуть вичерпані поживні речовини. При визначенні кінця культивування необхідно враховувати дані мікроскопічного контролю стану культури, відсутність сторонньої мікрофлори, концентрацію основних поживних речовин, біомаси, цільового продукту, рН.

Необхідно відмітити, що рослинні клітини ростуть і розмножуються значно повільніше, ніж клітина мікроорганізмів. Час їх подвоєння 1–3 доби. Процес культивування рослинних клітин триває 2–3 тижні, це посилює вимоги до забезпечення асептичних умов.

Нині при культивуванні клітин у промислових умовах отримують речовини вторинного метаболізму. Цінними є алкалоїди, глікозиди, полісахариди, терпеноїди, поліфеноли, ефірні масла, пігменти та ін.

Аналіз літературних даних та постановка проблеми. Пропоноване технічне рішення відноситься до біотехнології і може бути використана в мікробіологічній, харчовій промисловостях, а також для потреб медицини і клінічних досліджень для культивування клітин або тканин.

Відома установка для культивування мікроорганізмів, яка містить з'єднані між собою в нижній частині еластичним трубопроводом дві камери з повітряними фільтрами і реверсивний привод для зворотно-поступального переміщення камер в вертикальній площині [2]. Недоліком можна вважати великі габарити, що обумовлено необхідністю переміщення камер у вертикальній площині.

Відомий також апарат для культивування клітин (АК), який містить корпус з технологічними

патрубками і розміщений по осі корпусу пустотілий вал імпульсного привода з втулкою, до якої приєднаний перемішувачий елемент у формі чотирихланцюгового шарніра з лопатками на кінцях, з'єднаний з порожниною вала і рухомою втулкою шарніра фільтруючий елемент, а також аератор [3]. Недолік такого апарату для культивування є низька продуктивності. Зазначений недолік обумовлений тим, що при зменшенні числа обертів вала знижується інтенсивність перемішування і клітини не забезпечуються у достатній кількості киснем, що уповільнює їх розвиток, а, отже, знижує продуктивність, а при збільшенні числа обертів вала — перемішувачий елемент руйнує їх оболонки, що також обмежує зростання продуктивності. Крім цього, він має складну конструкцію, що є іншим його недоліком.

Задачі досліджень. В основу запропонованого технічного рішення покладена задача вдосконалення апарату для культивування, в якому шляхом модифікації форми і руху перемішувачого елемента забезпечується більш активне перемішування без ризику пошкодження клітин, що приводить до зростання продуктивності при одночасному спрощенні конструкції.

Опис конструкції. Поставлена задача вирішується тим, що в АК, який містить циліндричний корпус з технологічними патрубками, розміщений вздовж осі корпусу вал з втулкою, до якої приєднаний перемішувачий елемент, аератор і реверсивний привод, а контактуючі між собою поверхні вала і втулки виконано у вигляді гвинтової пари, перемішувачий

елемент має форму дискретно-неперервно перфорованого коловими отворами диска, який убезпечено від обертання вертикальною напрямною.

Вказана відмінність дозволяє активізувати центральну зону робочого об'єму корпусу 1 і інтенсифікувати процес перемішування всієї біомаси без ризику пошкодження клітин, що підвищує продуктивність культивування, тобто збільшує вихід пробіотиків до складу котрих входять живі клітини продуцентів. Одночасно з цим спрощується конструкція, оскільки перемішувачий елемент має просту і надійну в роботі геометричну форму.

На рисунках схематично зображений пропонуєний АК в поздовжньому перерізі (рис. 1) і поперечному перерізі А-А (рис. 2).

АК містить циліндричний корпус 1 з патрубком 2 для введення живильної рідини і посівного матеріалу, патрубком 3 з аератором 4, патрубком 5 для видалення культуральної рідини і патрубком 6 для відведення відпрацьованого газу. Вздовж осі корпусу 1 розташований приєднаний до мотор-редуктора 7 з командним реверсуючим пристроєм 8 вал 9 з втулкою 10, на якій розташований перемішувачий елемент у формі встановленого із зазором « » відносно стінок корпусу 1 диска 11 з дискретно-неперервно перфорованою коловими отворами 12 поверхню. Контактуючі між собою поверхні вала 9 і втулки 10 виконані у вигляді гвинтової пари, а диск 11 має закріплену в корпусі 1 вертикальну напрямну 13.

Робота апарату для культивування відбувається наступним чином. В попередньо простерилізований АК до корпусу 1 вводять через патрубок 2 живильну рідину і посівний матеріал (інокулят), після чого в аератор 4 подають газ для аерації культурального середовища і включають командний пристрій 8, за сигналом якого приходить в дію мотор-редуктор 7 і вал 9, який в межах заданого командним пристроєм

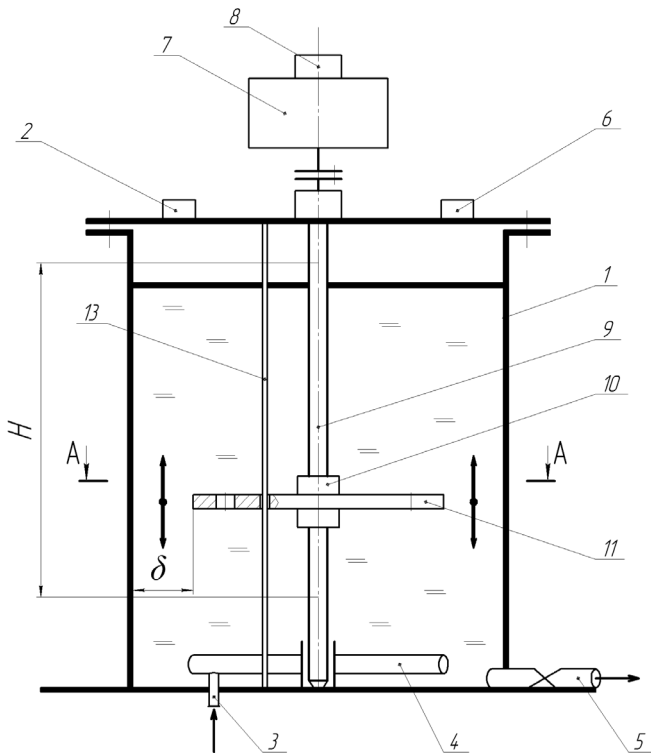


Рис. 1

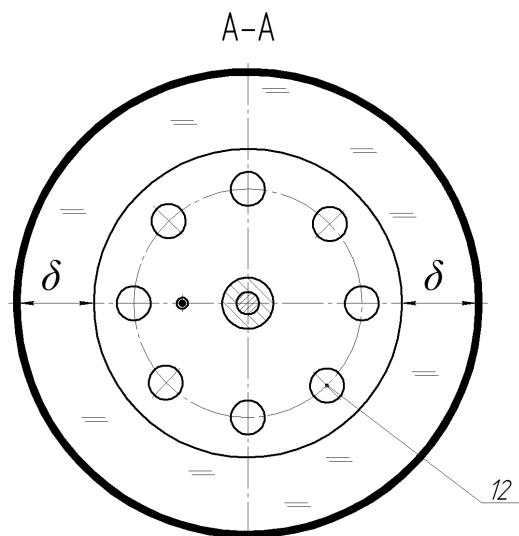


Рис. 2

8 ходу «Н» приводить в зворотно-поступальний рух втулку 10 і, приєднаний до неї, і убезпечений напрямною 13 від обертання, перфорований диск 11. Рухаючись вздовж вала 9, дискретно-перфорований диск 11 спричиняє перетіканню біомаси крізь зазор «δ» в периферійній частині корпусу 1 і додатково перетіканню біомаси крізь перфорацію 12 в центральній його частині, активізуючи, тим самим, робочу рідину по всьому об'єму, внаслідок чого інтенсифікується процес перемішування завдяки

підвищеній турбулізації і зростає продуктивність культивування клітин при повній відсутності ризику їх пошкодження.

Зменшенню ризику пошкодження клітин сприяє також відсутність обертального руху диска 11, що має місце в прототипі, а його проста форма призводить до спрощення конструкції. По закінченні процесу культивування зупиняють мотор-редуктор 7, а готовий для подальшого використання продукт зливають крізь патрубок 5.

Література

1. Karachun V. V., Trivailo M. S., Mel'nick V. N. Mass-Exchange and Aeration in Bioreactors. — К.: «ППІ Корнійчук», 2012. — 128 р.
2. А.с. 1131899 А СССР, С12М1/00. Установка для культивирования микроорганизмов [Текст] / А. Н. Данилина, А. В. Данилов, И. В. Александрова, А. А. Складнев, В. С. Ромазанов, И. А. Туков (СССР). — № 3226238/30-15; заявл. 25.12.80; опубл. 30.12.84, Бюл. № 48. — 1 с.
3. Сенько Е. Ф., Лукина В. А. Устройство для культивирования клеточных и вирусных культур. А.С. № 499293. МПК: С12В1/10. Заявл. 04.06.1974, номер заявки 2032252. Опубл. 15.01.1976, бюл. № 2.