

Paweł SOBIESZUK, Maciej PILAREK, Kamil WIERZCHOWSKI, Katarzyna DĄBKOWSKA

e-mail: pawel.sobieszuk@pw.edu.pl

Zakład Biotechnologii i Inżynierii Bioprosesowej, Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Politechnika Warszawska, Warszawa

Badanie szybkości absorpcji tlenu w bioreaktorze z mieszaniem typu wave

Wstęp

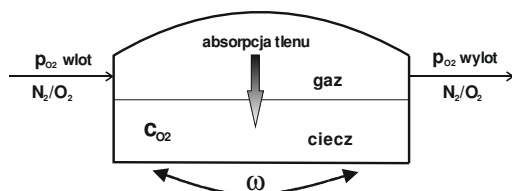
Bioreaktory typu *single-use* należą do stosowanych obecnie rozwiązań aparaturowych wypierających klasyczne reaktory szklane lub metalowe. Wykorzystują one różne rodzaje mieszania, a mianowicie: mieszanie mechaniczne, hydrauliczne lub hybrydowe. Szczególnie interesującym rozwiązaniem stosowanym coraz powszechniej do hodowli komórek zwierzęcych oraz roślinnych jest mieszanie typu *wave*, czyli wykorzystujące efekt fali, uzyskiwanej dzięki oscylacyjnym lub wahadłowym ruchom elementów układu, w którym umieszczone zostało naczynie hodowlane w postaci polimerowego worka [Eibl i in., 2009; Hillig i in., 2013]. Mieszanie tego typu pozwala na intensyfikację wymiany masy przy jednoczesnym ograniczeniu negatywnych zjawisk wynikających z nadmiernego stresu komórkowego występującego m.in. podczas mieszania mechanicznego [Merten, 2015]. Bioreaktory *single-use* z mieszaniem typu *wave* stosuje się ostatnio nie tylko do hodowli komórek zwierzęcych oraz roślinnych, ale także do hodowli węglębnej mikroorganizmów.

Wymiana masy zachodząca wewnątrz naczyń hodowlanych w trakcie mieszania indukowanego efektem fali w bioreaktorach z mieszaniem typu *wave* przebiega podczas zdefiniowanych oscylacyjnych wychyleń platformy bioreaktora, na której umieszczone jest polimerowe naczynie hodowlane. Działanie to powoduje załamanie się powierzchni międzyfazowej gaz-ciecz istniejącej między dwiema kontaktującymi się fazami (powierzchni kontaktu mieszaniny gazowej oraz medium hodowlanego/żyłki), wypełniającymi objętość polimerowego naczynia hodowlanego, prowadzące do wytworzenia fali zagarniającej fazę gazową do fazy ciekłej żyłki. Jednocześnie dzięki oscylacyjnym wychyleniom podstawy bioreaktora zachodzi intensyfikacja mieszania wewnątrz przestrzeni polimerowego naczynia hodowlanego [Eibl i Eibl, 2006].

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki pomiarów szybkości absorpcji tlenu z mieszaniny gazowej N_2/O_2 do czystej wody. Określenie warunków procesowych natleniania jest niezwykle istotne punktu widzenia przyszłych hodowli tlenowych prowadzonych w bioreaktorze. Celem pracy była identyfikacja czynników wpływających na szybkość transportu tlenu do fazy ciekłej.

Badania doświadczalne

Prowadzono nieustalony proces absorpcji tlenu z mieszaniny z azotem do wody destylowanej.

Rys. 1. Schemat nieustalonej absorpcji w bioreaktorze typu *single-use*

Materiały. Fazą ciekłą była woda dejonizowana uprzednio odfiltrowana za pomocą czystego azotu, aż do momentu całkowitego usunięcia tlenu z wody. Fazą gazową tworzył roztwór gazowy tlenu i azotu o różnych zawartościach objętościowych tlenu.

Układ badawczy stanowił Bioreaktor ReadyToProcess WAVE™25 (Healthcare Bio-Sciences AB, Szwecja). Jak przedstawiono na rys. 1 nad fazą ciekłą o stałej objętości przepływał gaz, z którego w cieczy absorbował się tlen. Ruch cieczy był wymuszony jedynie w wyniku oscylacyjnych wychyleń platformy, objętość cieczy była stała.

Metodyka. Tlen rozpuszczony w wodzie mierzono za pomocą jednostki kontrolującej ReadyToProcess CBCU pozwalającej na kontrolę DO i pH w bioreaktorze za pomocą czujników spektrofotometrycznych. Pomiaru dokonywano co 60 sekund.

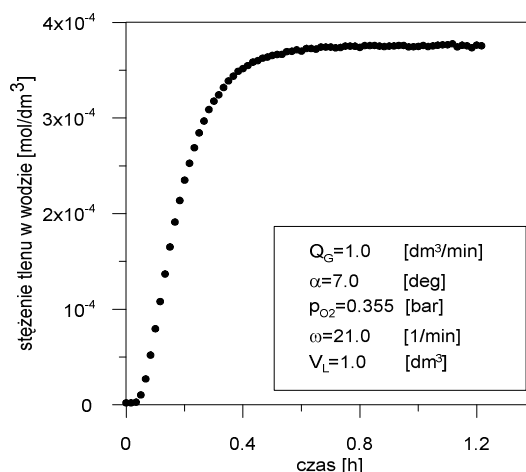
Zakres badań. Zbadano wpływ na szybkość absorpcji pięciu czynników procesowych, takich jak:

- kąt wychYLENIA platformy α (2, 7, 12 deg),
- częstotliwość wychYLENIA platformy ω (2, 21, 40 1/min),
- przepływ fazy gazowej Q_G (0,10; 0,55; 1,00 dm³/min),
- objętość cieczy V_L (0,2; 0,6; 1,0 dm³),
- prężność tlenu w fazie gazowej p_{O_2} (0,210; 0,355; 0,500 bar).

Wyniki i dyskusja

W trakcie przepływu gazu dokonywano pomiaru stężenia rozpuszczonego tlenu w wodzie (C_{O_2}). Założono doskonałe wymieszanie fazy ciekłej.

Na rys. 1 przedstawiono przykładową zależność stężenia tlenu od czasu dla następujących wartości parametrów operacyjnych: $Q_G = 1,0$ dm³/min, $\alpha = 7$ deg, $p_{O_2} = 0,355$ bar, $\omega = 21$ 1/min, $V_L = 1,0$ dm³/min

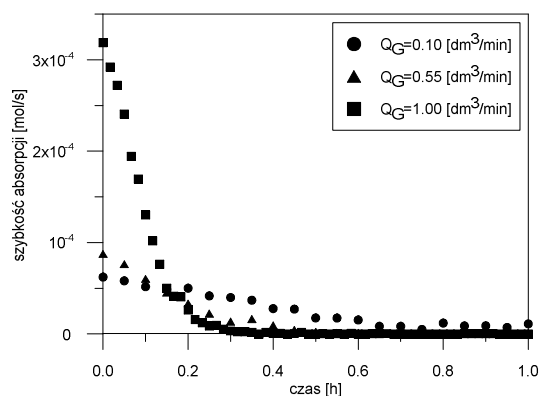


Rys. 2. Przykładowy profil stężenia tlenu w funkcji czasu

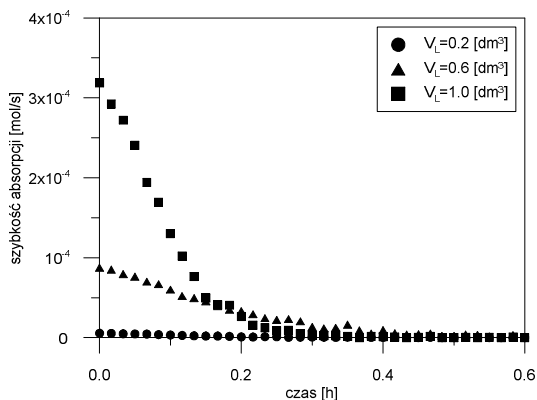
Szybkość absorpcji tlenu. Znając profile stężeń $C_{O_2}(t)$ obliczano chwilową szybkość absorpcji jako

$$N = \frac{d C_{O_2}}{dt} V_L \quad (1)$$

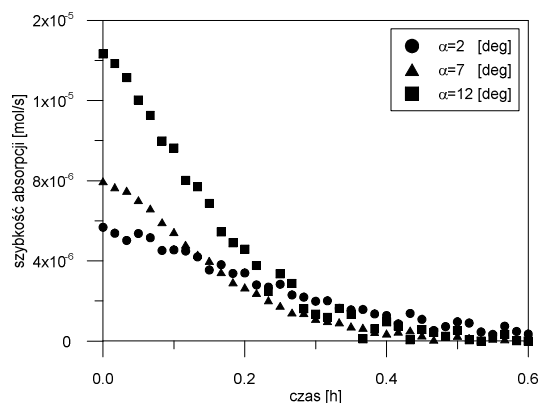
Na rys. 3-7 przedstawiono chwilową szybkość absorpcji w funkcji czasu dla trzech wartości jednego z czynników i stałej wartości pozostałych. Jak widać szybkość absorpcji we wszystkich przypadkach spadała do 0, co oznacza, że otrzymano równowagę termodynamiczną układu tlen-woda. Jednocześnie stwierdzono, że prawidłowo wybrano czynniki wpływające na szybkość absorpcji w bioreaktorze z mieszaniem typu *wave*. Szybkość absorpcji na początku procesu jest zdecydowanie większa (co jest oczywiste) przy zastosowaniu większego stężenia tlenu w gazie oraz przy większej objętości cieczy. Natomiast niezwykle interesujące jest zwiększanie się szybkości absorpcji ze wzrostem kąta wychYLENIA platformy reaktora i szybkości wychYLENIA. Są to nietypowe w inżynierii chemicznej parametry procesowe, które związane są z nowym rozwiązaniem konstrukcyjnym bioreaktora.



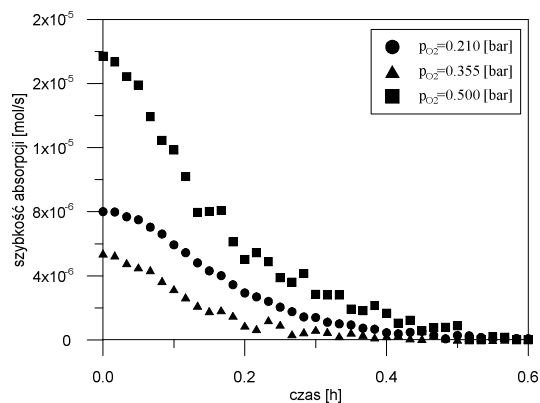
Rys. 3. Chwilowa szybkość absorpcji tlenu w czasie przy różnych szybkościach przepływu gazu nad cieczą w naczyniu hodowlanym.



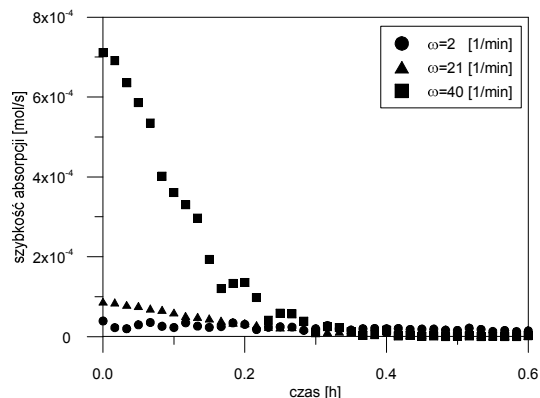
Rys. 7. Chwilowa szybkość absorpcji tlenu w czasie przy różnej objętości cieczy w naczyniu hodowlanym



Rys. 4. Chwilowa szybkość absorpcji tlenu w czasie przy różnym kącie wychyleń platformy bioreaktora.



Rys. 5. Chwilowa szybkość absorpcji tlenu w czasie przy różnej prężności tlenu w gazie przepływającym przez naczynie hodowlane.



Rys. 6. Chwilowa szybkość absorpcji tlenu w czasie przy różnej częstotliwości wychyleń platformy bioreaktora.

Na powierzchni fazy ciekłej wytwarza się fala i zapewne dlatego na rys. 3 zaobserwowano, że przepływ fazy gazowej wpływa na szybkość absorpcji tlenu w wodzie, chociaż w badanym układzie fizykochemicznym zdecydowanie dominują opory wnikania masy po stronie cieczy. Wpływ przepływu jednej fazy na współczynniki wnikania masy w drugiej fazie, w której dominują opory przenoszenia masy były również obserwowane w mikroreaktorze ze spływającą warstwą cieczy [Sobieszuk i Pohorecki, 2010].

Podsumowanie i wnioski

W pracy zbadano wpływ czynników procesowych na pracę bioreaktora z mieszanym typu *wave*. Wyniki doświadczalne wskazały, że szybkość absorpcji tlenu w wodzie wzrasta wraz ze wzrostem wartości badanych parametrów operacyjnych: kąta wychyleń platformy bioreaktora, częstotliwości jej wychyleń od poziomu, przepływu fazy gazowej, objętości cieczy i prężności tlenu w fazie gazowej.

Uzyskane wstępne wyniki wskazują, że możliwe jest prowadzenie tlenowych hodowli mikroorganizmów oraz świadome sterowanie pracą bioreaktora w celu uzyskania pożądanego w procesie biotechnologicznym wartości stężenia rozpuszczonego tlenu.

Kolejnym etapem badań będzie wyznaczenie wartości współczynników wnikania masy. Umożliwi to właściwy dobór parametrów pracy bioreaktora do hodowli komórek wrażliwych na stres mechaniczny i których wzrost jest bardzo silnie limitowany stężeniem rozpuszczonych gazów hodowlanych jak tlen i ditlenek węgla.

LITERATURA

- Eibl R., Eibl D., (2006). *Design and use of the wave bioreactor for plant cell culture* [in:] Gupta S.D., Ibaraki Y.(Eds). Plant tissue culture engineering. Springer, Holandia, 203-230
- Eibl R., Werner S., Eibl D., (2009). Bag bioreactor based on wave-induced motion: Characteristics and applications. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, 115, 55-87. DOI: 10.1007/10_2008_15
- Hillig F., Pilarek M., Junne S., Neubauer P., (2014). Cultivation of marine microorganisms in single-use systems. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, 138, 179-206. DOI: 10.1007/10_2013_219
- Merten O-W., (2015). Advances in cell culture: anchorage dependence. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 370, 20140040. DOI: 10.1098/rstb.2014.0040
- Sobieszuk P., Pohorecki R., 2010. Gas-side mass transfer coefficients in a falling film microreactor. *Chem. Eng. Process.*, 49, 820-824. DOI: 10.1016/j.cep.2010.06.010

Praca została sfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki jako grant nr DEC-2015/17/B/ST8/00631