

طراحی و ساخت راکتور زیستی لرزشی یکبار مصرف در مقیاس نیمه صنعتی

هو تن گل دوست، قاسم عموعابدینی*، حمید راشدی

تهران، دانشگاه تهران، پردیس دانشکده‌های فنی، دانشکده مهندسی شیمی

ابراهیم عموعابدینی، عماد ایمنی پور، مهدی پسران حاجی عباس

تهران، دانشگاه تهران، مرکز پژوهشی فناوری‌های نوین در مهندسی علوم زیستی، گروه بیوراکتورهای مینیاتوری و مهندسی غربالگری

چکیده: در این مقاله طراحی و ساخت راکتور زیستی لرزشی یکبار مصرف در مقیاس نیمه صنعتی مورد مطالعه قرار گرفت. ترکیب فناوری ساده و پر استفاده‌ی راکتورهای زیستی لرزشی با راکتورهای یکبار مصرف استوانه‌ای یک گزینه‌ی ایده‌آل برای کشت سلول‌های گیاهی و جانوری به منظور تولید در مقیاس نیمه صنعتی ایجاد کرد. در این مطالعه، راکتور زیستی یکبار مصرف تا حجم ۵۰ لیتر در مقیاس نیمه صنعتی طراحی و ساخته شد و به کمک سامانه اکسایش سولفیت از نظر پارامترهای مهم مهندسی افزایش مقیاس مانند اختلاط، توان مصرفی و سرعت انتقال اکسیژن با میلی‌راکتورهای زیستی مدل در مقیاس آزمایشگاهی دارای حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر مقایسه شد. بهترین بازدهی در سرعت گردش ۲۵۰ rpm و حجم عملیاتی ۲۰٪ به دست آمد. با افزایش دور لرزاننده از ۲۰۰ به ۲۵۰ rpm و در نتیجه کاهش زمان اختلاط به اندازه‌ی ۱۳٪، توان مصرفی ۵۰٪ افزایش یافت که این مسئله انتخاب شرایط مناسب برای تولید اقتصادی فرآورده را ضروری می‌کند. به منظور تأیید نهایی عملکرد راکتورهای زیستی، بیشینه و کمینه‌ی OTR_{max} در راکتورهای زیستی محاسبه شد. این مقادارها به ترتیب 0.28 mol/L/h و 0.08 (در ۲۵۰ rpm و ۱۰۰) بود. کمینه‌ی OTR_{max} به دست آمده، دو برابر بیشینه‌ی مورد نیاز گزارش شده در منابع برای رشد انواع سلول‌های گیاهی و جانوری بوده و در نتیجه قابلیت کشت این سلول‌ها را در راکتورهای زیستی جدید با عملکرد میانه‌ی آن به خوبی تأیید می‌کند.

واژه‌های کلیدی: راکتورهای زیستی یکبار مصرف، میلی‌راکتور زیستی، فناوری لرزشی، سامانه سولفیت.

KEY WORDS: Disposable Bioreactor, Millibioreactor, Shaken Technology, Sulfite System.

مقدمه

تولید پروتئین از مرحله‌ی پژوهشی تا مرحله‌ی تولید فرآورده مورد استفاده قرار گرفته است [۲،۳]. استفاده از سامانه‌های یکبار مصرف، برتری‌های زیادی از جمله صرفه جویی در زمان و هزینه‌ی سرمایه‌گذاری را به همراه دارد؛ زیرا نیازی به تمیز کردن و معتبر سازی در آن‌ها نمی‌باشد. اثبات شده است که با استفاده از

قابلیت استفاده از راکتورهای زیستی یکبار مصرف برای اولین بار در مقاله‌ای توسط Falch و Heden بیان شد که در آن از کیسه‌های تتراهدرونی به حجم ۳۰۰ میلی‌لیتر برای کشت سلول‌های میکروبی بهره جسته بودند [۱]. در سال‌های اخیر راکتورهای زیستی یکبار مصرف پلاستیکی با موفقیت برای کشت سلول‌ها به منظور

*E-mail: amoabediny@ut.ac.ir

*عهد دار مکاتبات

تا ۴۲۰ L/min وجود دارد. شکل ۱ شمایی از راکتور زیستی لرزشی یک بار مصرف ساخته شده را نشان می‌دهد.

به منظور بررسی پارامترهای افزایش مقیاس و مقایسه‌ی عملکرد راکتور زیستی نیمه‌صنعتی با مقیاس آزمایشگاهی، میلی‌راکتور زیستی پیوسته‌ی ساخته شده توسط عموآبدینی و همکاران، مطابق شرایط مورد نیاز اصلاح و بازسازی شده و به عنوان مدل در مقیاس آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گرفت. تفاوت نمونه‌ی آزمایشگاهی با دستگاه نیمه صنعتی، قابلیت انجام چهار آزمایش به صورت همزمان در مقیاس آزمایشگاهی بود. به منظور یکسان سازی شرایط برای تحلیل پارامترهای افزایش مقیاس، راکتورهای زیستی ساخته شده در مقیاس آزمایشگاهی، همانند راکتورهای زیستی در نظر گرفته شده در مقیاس نیمه صنعتی، نسبت طول به قطر همانند، برابر با ۱/۵ داشتند.

به منظور ارزیابی عملکرد دستگاه و تعیین سرعت انتقال اکسیژن (OTR) در مخازن کشت زیستی، از روش اکسایش سولفیت با حضور کاتالیست کبالت بهره جسته شد. در این روش مخزن مورد آزمایش با حجم مشخصی از محلول استاندارد ۰/۵ مولار سدیم سولفیت (سدیم سولفیت (Na₂SO₃) ۰/۵ مولار، کبالت سولفیت (CoSO₄) ۱۰^{-۷} مولار، بروموتیمول بلو (BTB) ۲/۴×۱۰^{-۵} مولار، بافر فسفات (Na₂HPO₄/NaH₂PO₄, pH = ۸) ۰/۰۱۲ مولار، سولفوریک اسید به میزانی که pH نهایی ۸ بشود) پر شد [۱۲]. مواد مورد نیاز برای آزمایش از آزمایشگاه زیست فناوری و صنایع غذایی دانشکده مهندسی شیمی دانشگاه تهران تهیه شد. در این روش سولفیت در حضور اکسیژن به سولفات که اسیدی تر است، اکسیده می‌شود که باعث کاهش pH در پایان اکسایش می‌شود. کاهش pH با تغییر رنگ بروموتیمول بلو به عنوان نشانگر pH مشخص می‌شود. مدت زمان تغییر رنگ که وابسته به پارامترهای بسیاری از جمله میزان هوادهی، دامنه‌ی نوسان، دور گردش لرزاننده و حجم محلول دارد نشان دهنده‌ی توانایی راکتور زیستی در پیش‌بری واکنش می‌باشد. اکسیژن وارد شده به محلول بی‌درنگ در واکنش اکسیداسیون سولفیت مصرف می‌شود، از این رو سرعت اکسیداسیون سولفیت برابر خواهد بود با سرعت انتقال اکسیژن (OTR_{max}) و به عبارت دیگر زمان انجام واکنش برای تبدیل تمام سولفیت به سولفات که می‌توان آن را با استفاده از معادله‌ی ۱ حساب کرد [۱۲].

$$OTR_{max} = \frac{C_{Na_2SO_3} \cdot V_{O_2}}{t_r} \quad (1)$$

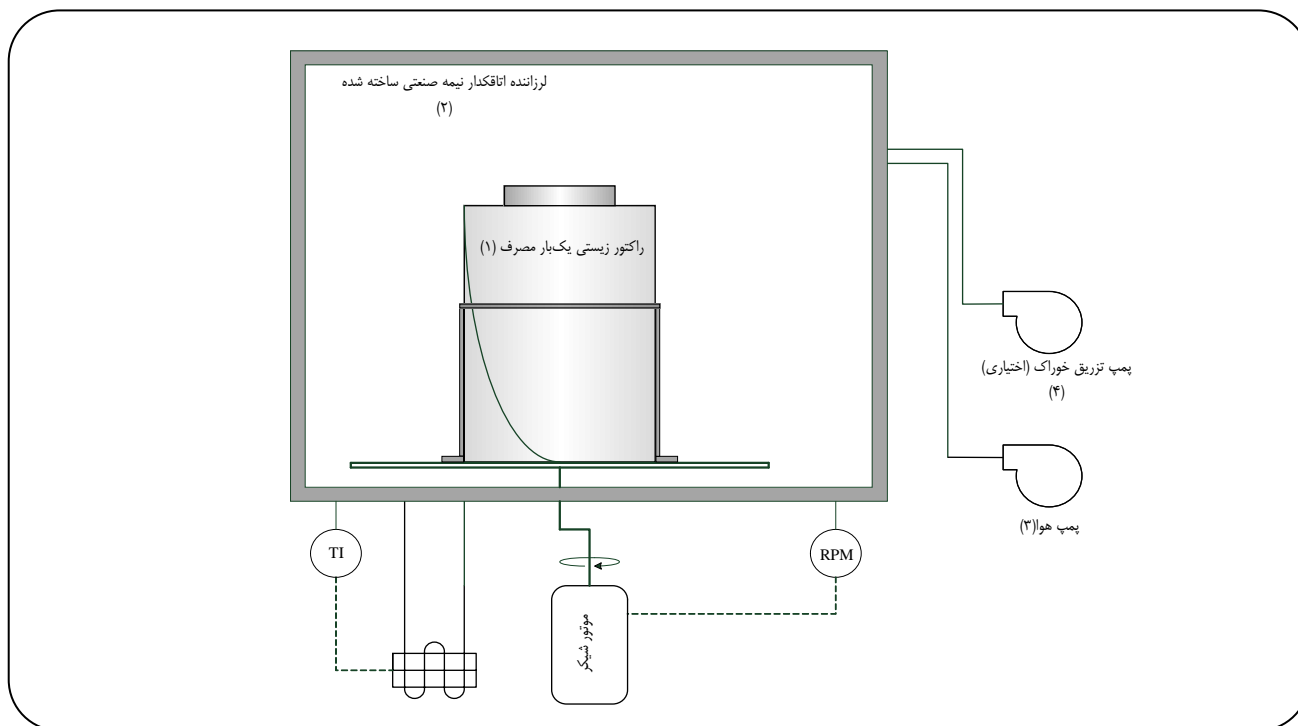
سامانه‌های یک بار مصرف می‌توان هزینه‌ی سرمایه‌گذاری اولیه را تا ۶۰٪ نسبت به فرماتورهای استاندارد از جنس استیل ضد زنگ کاهش داد [۴]. افزون بر آن، هزینه‌های تمیزکاری و استریل در محل تا ۶۶٪ کاهش می‌یابد [۵،۶].

اختلاف لرزشی به طور گسترده‌ای در مقیاس کوچک در آزمایشگاه‌های زیست‌فناوری و صنعت مورد استفاده قرار گرفته است [۲،۷،۸]. عملکرد آسان، حمل آسان و هزینه‌ی کم برخی از برتری‌های اصلی این سامانه‌ها می‌باشد. Buechs و همکاران مطالعه‌های بسیاری در مورد مخزن‌های لرزشی مخروطی (مخزن‌های ارلن مایر) تا اندازه ۵ لیتر انجام داده‌اند [۹-۱۱]. آن‌ها نشان دادند که انرژی ورودی و توان مصرفی در اختلاط لرزشی به طور یکنواخت تری نسبت به اختلاط با همزن توزیع می‌شود [۱۰]. در نتیجه کنش هیدرومکانیکی در اختلاط لرزشی نسبت به اختلاط با همزن کم‌تر می‌باشد. بنابراین راکتورهای زیستی لرزشی به‌طور عموم برای کشت سلول‌های حساس به تنش هیدرومکانیکی مانند سلول‌های گیاهی یا جانوری بسیار مناسب‌تر هستند. این موضوع توسط Liu و همکاران که انواع سلول‌های گیاهی و جانوری را در راکتورهای زیستی لرزشی استوانه‌ای در مقیاس نیمه صنعتی کشت داده‌اند، تأیید شده است [۲].

در این مقاله نوع ویژه‌ای از راکتورها زیستی لرزشی استوانه‌ای در مقیاس نیمه صنعتی بر پایه‌ی سامانه یک بار مصرف طراحی و ساخته شد. سپس عملکرد آن مورد بررسی قرار گرفته و تأیید شد.

بخش تجربی

ظرف‌های استوانه‌ای مورد استفاده از جنس پلی‌اتیلن انتخاب شده و از شرکت نکا پلاستیک خریداری شد. این ظرف‌ها به صورت مخزن‌های پیش ساخته در حجم‌های گوناگون موجود بوده و افزون بر قیمت کم، در صورت نیاز قابلیت استریل کردن را نیز دارند. قطر و ارتفاع مخزن ۵۰ لیتری مورد استفاده به ترتیب ۳۶ cm در ۵۵ cm می‌باشد. به دلیل حجم زیاد مخزن‌های مورد استفاده، به یک لرزاننده اتاقکدار نیمه صنعتی نیاز بود. به دلیل قیمت بسیار بالای لرزاننده‌های نیمه صنعتی موجود در بازارهای جهانی و همچنین تحریم‌های موجود علیه ایران، با توجه به نیاز عملیاتی، لرزاننده اتاقکدار نیمه صنعتی در داخل کشور و در شرکت فرایند پردیس سینا طراحی و ساخته شد. لرزاننده اتاقکدار نیمه صنعتی ساخته شده توانایی لرزش ۱۵۰ کیلوگرم بار از ۳۰ rpm تا ۲۰۰ rpm با دامنه‌ی نوسان ۳ یا ۵ سانتی‌متر را دارد. کمپرسور هوا از شرکت Hailea خریداری شد. توسط این کمپرسور امکان هوادهی



شکل ۱- شمایی از مجموعه‌ی راکتور زیستی لرزشی یکبار مصرف نیمه صنعتی؛ (۱): راکتور زیستی یکبار مصرف، (۲): لرزاننده اتاقکدار نیمه صنعتی ساخته شده، (۳): پمپ هوادهی به سطح سیال درون راکتور زیستی، (۴): پمپ تزریق خوراک برای سامانه نیمه پیوسته و پیوسته (در صورت نیاز).

$$Ne' = \frac{P}{\rho \cdot n^3 \cdot d^5 \cdot V_L^{1/3}} \quad (2)$$

Ne' را می‌توان به عنوان تابعی از عدد رینولدز (Re) به صورت زیر نشان داد [۱۲]،

$$Ne' = 1.5 \cdot Re^{-1} + 3.5 \cdot Re^{-0.6} \quad (3)$$

که در آن عدد رینولدز برابر خواهد بود با:

$$Re = \frac{\rho \cdot n \cdot d^2}{\eta} \quad (4)$$

در معادله‌های ۲ تا ۴ می‌توان دید که توان مصرفی تابع شرایط فیزیکی دور لرزاننده، قطر مخزن استوانه‌ای و ویژگی‌های فیزیکی سیال است.

Kato و همکاران معادله‌ی کلی بین $K_L a$ و توان مصرفی را می‌توان به صورت زیر ارائه کردند [۱۴]:

$$k_L a = a \cdot P_V^b \cdot u_g^c \quad (5)$$

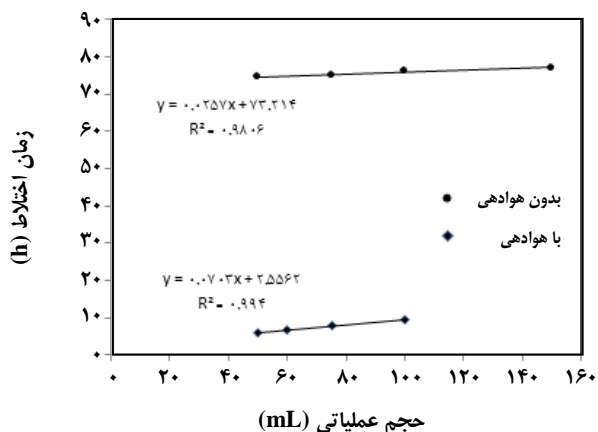
که در آن، $k_L a$ ضریب حجمی انتقال جرم (1/s)، a ، b ، c ثابت‌ها، P_V توان مصرفی در واحد حجم (W/m^3)، u_g سرعت ظاهری گاز می‌باشد. در راکتورهای زیستی لرزشی، هوای وارد شده

که در آن OTR_{max} سرعت انتقال اکسیژن [$mol/L/h$]، $C_{Na_2SO_4}$ غلظت سدیم سولفات [mol/L]، v_{O_2} ضریب استوکیومتری برای اکسیژن و t_r زمان واکنش برای اکسیداسیون کامل [h] می‌باشد.

به دلیل استفاده از بروموتیمول‌بلو، رنگ اولیه‌ی محلول سولفیت آبی رنگ بود. پس از گذشت چندین ساعت و اکسیداسیون مقدارهایی از SO_3 به SO_4 ، رنگ محلول به تدریج به سمت سبز متمایل شد. پایان واکنش اکسیداسیون با تغییر رنگ کامل محلول از سبز به زرد مشخص می‌شود. در نتیجه با ثبت زمان تغییر رنگ محلول از آبی به زرد، زمان انجام واکنش اکسیداسیون ثبت شد.

اثر پارامترهای سرعت گردش، حجم عملیاتی و هوادهی بر زمان اختلاط به صورت هم‌زمان و در شرایط یکسان برای مدل آزمایشگاهی و دستگاه نیمه‌صنعتی مورد بررسی قرار گرفت تا افزون بر تأیید عملکرد راکتور زیستی نیمه صنعتی جدید، پارامترهای مهندسی افزایش مقیاس در راکتورهای زیستی به دست آید.

براساس مقاله‌ی Büchls و همکاران [۱۳]، توان مصرفی مخزن‌های همزن‌دار را می‌توان به صورت عدد اصلاح شده‌ی نیوتون (Ne') تعریف کرد.

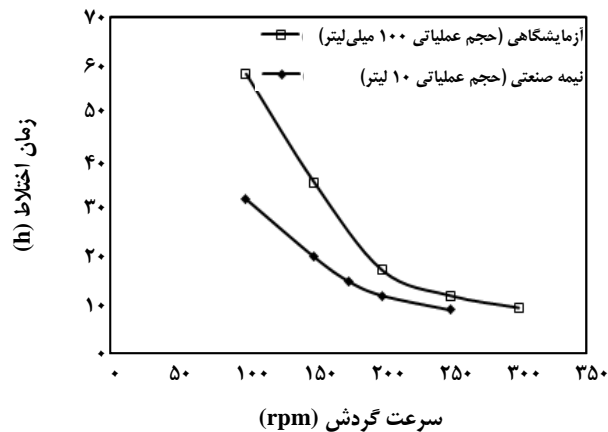


شکل ۳- زمان مورد نیاز برای پایان واکنش در سامانه سولفیت در دمای 25°C در شرایط یکسان عملیاتی در میلی‌راکتور زیستی پیوسته 500 میلی‌لیتری با و بدون هوادهی. سرعت گردش 300 rpm و قطر گردش 1 cm.

با مقایسه‌ی داده‌های آزمایشگاهی و نیمه‌صنعتی می‌توان دید که هر دو نمودار از روند همانندی پیروی می‌کنند؛ اما زمان مورد نیاز برای پایان واکنش در شرایط همانند برای راکتور زیستی نیمه‌صنعتی کم‌تر است. این به دلیل تفاوت قطر گردش لرزاننده در دو راکتور زیستی است که باعث وارد کردن اینرسی بیشتر به سیال و ایجاد نسبت سطح انتقال گرمای بزرگتری در راکتور زیستی نیمه‌صنعتی می‌شود.

یکی از مهم‌ترین پارامترها در راکتور زیستی لرزشی، شدت هوادهی به درون سامانه می‌باشد. شکل ۳ زمان مورد نیاز برای پایان واکنش در سامانه سولفیت را در شرایط یکسان عملیاتی در راکتور زیستی پیوسته با و بدون هوادهی نشان می‌دهد. کمبود هوا محدودکنندگی چشمگیری را به وجود آورده و زمان انجام واکنش یا کشت سلولی را به شدت افزایش داد.

همان‌گونه که در نمودار می‌توان دید با حذف هوادهی در شرایط یکسان عملیاتی، زمان انجام واکنش از $9.5-6$ ساعت در حالت پیش به $77-74.5$ ساعت افزایش یافت؛ یعنی زمان مورد نیاز برای انجام واکنش تا بیش از 12 برابر افزایش یافت. همچنین با مقایسه‌ی شیب خط گزارش شده در دو حالت به روشنی می‌توان دید که این مقدار به تقریب به یک سوم حالت قبل کاهش یافته است و به این معناست که با کم شدن هوا و تبدیل شدن آن به پارامتر محدود کننده، نقش پارامترهای دیگر مانند حجم عملیاتی بسیار کم‌رنگ می‌شود.



شکل ۲- مقایسه اثر سرعت گردش بر زمان اختلاط در میلی‌راکتور زیستی آزمایشگاهی 500 میلی‌لیتری با حجم عملیاتی 100 میلی‌لیتر با قطر گردش لرزاننده 1 سانتی‌متر و راکتور زیستی یک‌بارمصرف نیمه‌صنعتی 50 لیتری با حجم عملیاتی 10 لیتر با قطر گردش لرزاننده 5 سانتی‌متر برای سامانه سولفیت در دمای 25°C .

به سطح مایع به صورت حباب به درون مایع نمی‌رود. بنابراین سرعت ظاهری گاز تأثیری در k_{La} ندارد؛ از سوی دیگر قطر مخزن و حجم عملیاتی پارامترهای تأثیرگذار بر ویژگی‌های انتقال جرم هستند. با تأثیر دادن این پارامترها، معادله‌ی زیر را برای K_{La} در مخزن‌های استوانه‌ای لرزشی می‌توان بازنویسی کرد [۱۲].

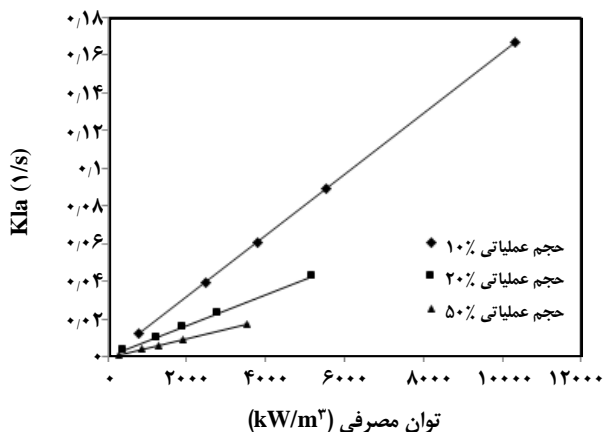
$$k_{La} = 1.75 \times 10^{-6} \times P_V^{1/2} \times d^{1.55} \times V_L^{-1/3} \quad (6)$$

که در آن، d قطر مخزن (m)، V_L حجم عملیاتی (m^3) است.

نتیجه‌ها و بحث

شکل ۲ مقایسه‌ی اثر سرعت گردش را بر زمان اختلاط در میلی‌راکتور زیستی آزمایشگاهی در حجم عملیاتی 100 میلی‌لیتر با قطر گردش لرزاننده 1 سانتی‌متر و راکتور زیستی یک‌بارمصرف نیمه‌صنعتی 50 لیتری با حجم عملیاتی 10 لیتر با قطر گردش لرزاننده 5 سانتی‌متر برای سامانه سولفیت نشان می‌دهد. دمای محیط اتاق‌دار در هر دو حالت در 25°C تنظیم شده است.

همان‌گونه که در شکل ۲ مشخص است، با کاهش دور گردش، زمان اختلاط به طور چشمگیری افزایش می‌یابد. نکته‌ی دیگری که از نمودار می‌توان برداشت کرد، شکست ایجاد شده در زمان مورد نیاز برای انجام واکنش با کاهش سرعت گردش است. این شکست در نتیجه کاهش چشمگیر در سطح هوادهی و اختلاط ضعیف می‌باشد که اهمیت اختلاط کامل و اثر سطح در معرض هوادهی را نشان می‌دهد.



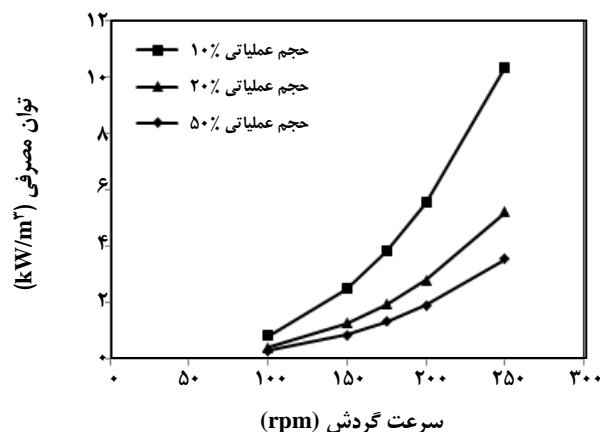
شکل ۵ - مقادیرهای K_{La} محاسبه شده بر اساس معادله‌ی (۶) بر حسب توان مصرفی در راکتور زیستی نیمه‌صنعتی ۵۰ لیتری با قطر داخلی ۳۶ سانتی‌متر ($L/D=1/37$).

در همین حال بر اساس نمودار ۳، این افزایش دور لرزاننده، افزایش توان مصرفی به اندازه‌ی ۵۰٪ را به همراه خواهد داشت. به همین دلیل انتخاب شرایط مناسب برای تولید اقتصادی فرآورده امری ناگزیر است.

به منظور ارزیابی راکتورهای زیستی در هر دو مقیاس و تأیید عملکرد آنها، بیشترین سرعت انتقال اکسیژن (OTR_{max}) در آنها با استفاده از معادله‌ی (۱) محاسبه شد. شکل ۶ مقایسه مقادیرهای به دست آمده برای OTR_{max} را برای میلی‌راکتور زیستی پیوسته ۵۰۰ میلی‌لیتری و راکتور زیستی یکبار مصرف نیمه صنعتی ۵۰ لیتری در حجم‌های عملیاتی گوناگون نشان می‌دهد.

با مقایسه‌ی داده‌های آزمایشگاهی و نیمه‌صنعتی می‌توان دریافت که روند افزایش سرعت انتقال اکسیژن با افزایش rpm در هر دو همانند است؛ اما همان‌گونه که می‌توان دید در هر سرعت گردش خاص، سرعت انتقال اکسیژن در راکتور زیستی نیمه‌صنعتی بالاتر است. این اختلاف به دلیل قطر بالاتر گردش در لرزاننده نیمه صنعتی و اعمال اینرسی بیشتر به سیال درون راکتور زیستی است که فیلم نازک‌تری را نسبت به شرایط همانند در راکتور زیستی آزمایشگاهی ایجاد می‌کند.

پیش از بررسی نهایی دستگاه، به منظور معتبرسازی و تأیید تکرارپذیری آزمایش‌های انجام شده روی میلی‌راکتور زیستی پیوسته و راکتور زیستی یکبارمصرف نیمه‌صنعتی، با دو بار تکرار هر کدام، تکرارپذیری آنها ارزیابی شد. در شکل ۷ نتیجه سه بار آزمایش برای زمان اختلاط در میلی‌راکتور زیستی پیوسته

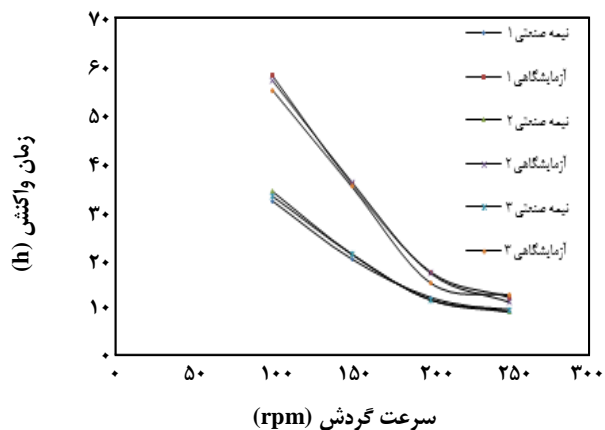


شکل ۴- توان مصرفی به دست آمده با استفاده از روش گسترش یافته‌ی ارزیابی دما در دمای ثابت در راکتور زیستی نیمه‌صنعتی ۵۰ لیتری در سرعت‌های گردش و حجم‌های عملیاتی متفاوت.

توان مصرفی در راکتورهای زیستی با استفاده از روش گسترش یافته‌ی ارزیابی دما با در نظر گرفتن ثابت ماندن دما در زمان فرایند رشد در معادله‌های (۲) تا (۴) محاسبه شد. شکل ۴ توان مصرفی را در راکتور زیستی یکبار مصرف نیمه‌صنعتی در سرعت‌های گردش و حجم‌های عملیاتی متفاوت نشان می‌دهد. همان‌گونه که انتظار می‌رود، با افزایش دور لرزاننده توان مصرفی بر واحد حجم سیال افزایش می‌یابد. با توجه به داده‌های به دست آمده باید توجه کرد که حجم عملیاتی با زمان اختلاط نسبت مستقیم و با توان مصرفی در واحد حجم نسبت عکس دارد که در زمان فرایند کشت در تعیین شرایط بهینه باید به آن توجه کرد.

شکل ۵ مقادیرهای K_{La} محاسبه شده بر اساس معادله‌ی (۶) را بر حسب توان مصرفی در راکتور زیستی یکبارمصرف نیمه‌صنعتی نشان می‌دهد. همان‌گونه که در نمودار مشخص است، با افزایش حجم عملیاتی، K_{La} به مقدار چشمگیری کاهش می‌یابد. با افزایش حجم عملیاتی از ۱۰٪ به ۲۰٪، شیب خط به نصف کاهش یافته است. که این به دلیل تشکیل فیلم نازک‌تر و انتقال جرم بهتر در حجم‌های عملیاتی پایین‌تر است.

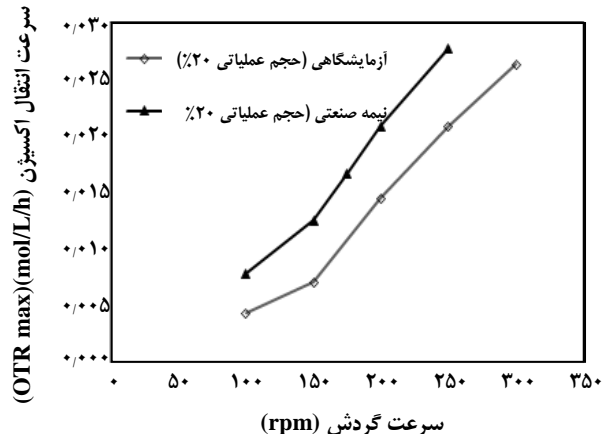
با توجه به نتیجه‌های به دست آمده، بهترین بازدهی در سرعت گردش ۲۵۰ rpm و حجم عملیاتی ۲۰٪ به دست آمد. اما با توجه به نیمه صنعتی بودن راکتور زیستی و اهمیت اقتصادی بودن فرآورده تولید شده باید به این نکته توجه کرد که با افزایش دور لرزاننده از ۲۰۰ به ۲۵۰ rpm، با توجه به شکل ۲، زمان اختلاط به اندازه‌ی ۱۳٪ کاهش می‌یابد که این گزینه‌ای دلخواه است؛ اما



شکل ۷- نتیجه سه بار آزمایش برای زمان واکنش در میلی‌راکتور زیستی پیوسته ۵۰۰ میلی‌لیتری با حجم عملیاتی ۱۰۰ میلی‌لیتر و نتیجه سه بار آزمایش برای زمان واکنش در راکتور زیستی یک‌بار مصرف نیمه‌صنعتی ۵۰ میلی‌لیتری با حجم عملیاتی ۱۰ لیتر در سامانه سولفیت در دمای ۲۵°C.

نتیجه‌گیری

راکتورهای زیستی یک‌بار مصرف گزینه‌ای جدید برای پیشرفت و گسترش در عرصه کشت سلول‌های گیاهی و جانوری می‌باشند. به همین دلیل ارزیابی فرایندی هر راکتور زیستی جدید و بررسی عامل‌های افزایش مقیاس در آن به منظور دستیابی به نتیجه‌های دلخواه در صنعت، امری گریزناپذیر است. در این مقاله یک راکتور زیستی لرزشی یک‌بار مصرف در مقیاس نیمه‌صنعتی معرفی شد. حجم راکتورهای زیستی مورد استفاده قابل تغییر و تا سقف ۵۰ لیتر بود. به منظور بررسی پارامترهای افزایش مقیاس، راکتور زیستی جدید نیمه صنعتی با یک میلی‌راکتور زیستی آزمایشگاهی در شرایط آزمایشگاهی و عملیاتی یکسان مقایسه شد. بررسی‌ها و آزمایش‌های صورت گرفته به کمک سامانه سولفیت بر این راکتور زیستی جدید، به خوبی نشان داد که قابلیت کشت انواع سلول‌های گیاهی و جانوری در این راکتور زیستی وجود دارد. با این وجود به منظور تولید در مقیاس صنعتی و ورود فراورده‌ها به بازار، نیاز به تأیید عملکرد دستگاه با استفاده از کشت میکروبی می‌باشد.



شکل ۶- مقدارهای به دست آمده برای OTR_{max} برای میلی‌راکتور زیستی پیوسته ۵۰۰ میلی‌لیتری در حجم‌های عملیاتی ۲۰٪ و قطر گردش لرزاننده ۱ سانتی‌متر و راکتور زیستی یک‌بار مصرف نیمه‌صنعتی ۵۰ لیتری با حجم عملیاتی ۲۰٪ و قطر گردش لرزاننده ۵ سانتی‌متر در سامانه سولفیت در دمای ۲۵°C.

۵۰۰ میلی‌لیتری با حجم عملیاتی ۱۰۰ میلی‌لیتر و نتیجه سه بار آزمایش برای زمان اختلاط در راکتور زیستی یک‌بار مصرف نیمه‌صنعتی ۵۰ لیتری با حجم عملیاتی ۱۰ لیتر ارائه شده است. همان‌گونه که از نمودارها می‌توان برداشت کرد، نتیجه‌های تکرار پذیری رضایت‌بخش بوده و از داده‌های به دست آمده می‌توان برای ارزیابی نهایی راکتورهای زیستی و تأیید عملکرد آن‌ها استفاده کرد. با تحلیل نتیجه‌های به دست آمده در راکتور زیستی لرزشی یک‌بار مصرف نیمه‌صنعتی ساخته شده در این پروژه می‌توان دید که بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار به دست آمده برای OTR_{max} به ترتیب برابر است با 0.028 mol/L/h (برای دور هم‌زن 250 rpm) و 0.008 mol/L/h (برای دور هم‌زن 100 rpm). کشت سلول‌های جانوری به طور معمول نیاز به تأمین اکسیژن به اندازه‌ی 0.0001 mol/h برای 10^6 سلول دارند [۱۵، ۱۶]. یکی از بیش‌ترین سرعت‌های رشد در بین سلول‌های جانوری و حشره‌ها مربوط به *Nicotiana tabacum* است که نیاز آن به اکسیژن برابر 0.008 mol/L/h است [۱۲]. مقدار واقعی OTR_{max} در محیط زیستی به طور متوسط دو برابر مقدار OTR_{max} به دست آمده در روش اکسایش سولفیت است [۱۷]. بنابراین مقدار OTR_{max} به دست آمده در راکتور زیستی یک‌بار مصرف نیمه‌صنعتی ساخته شده بسیار بیشتر از مقدار مورد نیاز برای کشت سلول‌های گیاهی و جانوری اشاره شده در بالا است؛ به همین دلیل تمامی سلول‌های گیاهی و جانوری را می‌توان به راحتی با شرط‌های عملیاتی میانه در این راکتور زیستی جدید کشت داد.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۷/۲۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱/۲۴

مراجع

- [1] Falch E.A., Heden C.G., Disposable Shaker Flasks, *Biotechnol. Bioeng.*, **5** (3): 211-220 (1963).
- [2] Liu C.M., Hong L.N., Development of a Shaking Bioreactor System for Animal Cell Cultures, *Biochem. Eng. J.*, **7** (2): 121-125 (2001).
- [3] DePalma A., Turning to Disposable Manufacturing Methods, *Genet. Eng. News*, **22** (13): 42-43 (2002).
- [4] DePalma A., Plastic Fills Niche in Bioprocess Applications, *Genet. Eng. News*, **22** (13): 40-41 (2002).
- [5] Novais J.L., Economic Comparison between Conventional and Disposable based Technology for the Production of Pharmaceuticals, *Biotechnol. Bioeng.*, **75** (2): 143-153 (2001).
- [6] Disposable, Modular Systems for Boprocess, *Genet. Eng. News*, **22** (18): 20-22 (2002).
- [7] DeJesus M.J., Bourgeois G.M., Baumgartner G., Jacko B., Amstutz H., Wurm F.M., TubeSpin Satellites: A Fast Track Approach for Process Development with Animal Cells Using Shaking Technology, *Biochem. Eng. J.*, **17** (3): 217-223 (2004).
- [8] Honda H., Hattori S., Uozumi N., Kobayashi T., Kato Y., Hiraoka S., Production of Regenerated Plantlet Using a Shaking Vessel-Type Bioreactor, *J. Chem. Eng. Jpn.*, **30**: 179-182 (1997).
- [9] Buechs J., Introduction to Advantages and Problems of Shaken Cultures, *Biochem. Eng. J.*, **7**: 91-98 (2001).
- [10] Buechs J., Evaluation of Maximum to Specific Power Consumption Ratio in Shaking Bioreactors, *J. Chem. Eng. Jpn.*: **34** (5): 647-653 (2001).
- [11] Buechs J., Maier U., Milbrandt C., Zoels B., Power Consumption in Shaking Flasks on Rotary Shaking Machines. I. Power Consumption Measurement in Unbaffled Flasks at Low Liquid Viscosity, *Biotechnol. Bioeng.*, **68**: 589-593 (2000).
- [12] Raval K., "Characterization and Application of Large Disposable Shaking Bioreactor", Institute of Biochemical Engineering, Dep. of Mech. Eng., RWTH Aachen, Thesis (2008).
- [13] Büchs J., Maier U., Milbradt C., Zoels B., Power Consumption in Shaking Flasks on Rotary Shaking Machines, II: Non-Dimensional Description of the Specific Power Consumption and Flow-Regimes in Unbaffled Flasks at Elevated Liquid Viscosity, *Biotechnology and Bioengineering*, **68**: 594-601 (2000).
- [14] Kato Y., Hiraoka S., Tada Y., Sato K., Ohishi T., Measurement of Mass Transfer Rate from Free Surface in Shaking Vessel Type Bioreactor, *Journal of Chemical Engineering of Japan*, **30**: 362-365 (1997).
- [15] Singh V., Disposable Bioreactors for Cell Culture Using Wave-Induced Agitation, *Cytotechnology*, **30**: 149-158 (1999).
- [16] Stöckmann C., Maier U., Anderlei T., Knocke C., Gellissen G., Büchs J., The Oxygen Transfer Rate as Key parameter for the Characterization of *Hansenula Polymorpha* Screening Cultures, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, **30**: 613-622 (2003).