

ПІЛОТНІ ФЕРМЕНТЕРИ ЄМНІСНОГО ТИПУ

Ю. І. СИДОРОВ

Національний університет «Львівська політехніка»

E-mail: sydorowy@rambler.ru

Отримано 27.09.2011

Подано доступну інформацію про сучасну пілотну ферментаційну апаратуру в стерильному варіанті виконання від провідних світових фірм (Bioengineering AG, B. Braun Biotech, Sartorius BBI Systems, Biotron, Solaris biotechnology, Luxun International Group), а також російської фірми «Биотехника», що її використовують для масштабування процесів культивування мікроорганізмів, рослинних і тваринних клітин. Особливу увагу приділено інноваційним газовихровим біореакторам, які мають низку переваг порівняно з традиційними ферментерами з механічними перемішувальними пристроями.

Ключові слова: пілотний ферментер, біореактор.

Пілотні ферментери (біореактори) використовують на стадії дослідно-технологічної роботи (ДТР) для відпрацювання біотехнологій для переходу на стадію серійного промислового випуску комерційної продукції (англ. *pilot* — дослідний, експериментальний). Робочі об'єми пілотних ферментерів — від 5 до 1 000 л. Іноді таких об'ємів достатньо для випуску серійної продукції, зокрема для одержання фармацевтичних субстанцій, тому ці ферментери можна віднести і до біореакторів промислового (індустріального) класу.

Російсько- і україномовна література, що присвячена промисловій ферментаційній апаратурі або містить відповідні розділи, є достатньо численною [1–15], однак випуск її датований, в основному, другою половиною ХХ ст. Відомості щодо сучасного обладнання, зокрема пілотних ферментерів, практично відсутні. Тому подання інформації в цьому аспекті є актуальним завданням.

Пілотні ферментери випускають багато фірм, провідними з яких вважають Bioengineering AG (Швейцарія), B. Braun Biotech (США), Sartorius BBI Systems (Німеччина), Schwarte Logistic GmbH (Німеччина), Biotron (Південна Корея), ДІ ЗАТ «Биотехника» (Росія), Solaris Biotechnology (Італія), Luxun International Group (Китай, Гонконг). Пілотні ферментери виробляють також ВО «Зерномаш», Гіпромедпром та ВНДІПрБ (Росія), однак вони не відповідають сучасним вимогам якості за GMP, проте в разі потреби їх можна використовувати для одержання препаратів немедичного призначення [14].

Пілотні ферментери Bioengineering AG

Laboratory Pilot Fermenter LP351

Пілотний ферментер *Laboratory Pilot Fermenter LP351* (об'єм 42, 50 або 75 л) застосовують як для масштабування, так й у виробничих процесах (рис. 1).

Модульна конструкція установки у поєднанні з широким набором аксесуарів уможливує проведення різноманітних біотехнологічних процесів із прокаріотами, евкаріотами, мікрогрибами, водоростями, рослинними і тваринними клітинами.

Устаткування повністю відповідає як національним, так і cGMP/FDA-нормам (у тому числі IQ- і OQ-документації).

Загальні технічні характеристики: максимальна робоча температура +150 °С, потужність двигунів 2,2 і 3 кВт, максимальна швидкість обертання перемішувального пристрою — 750 хв⁻¹. Максимальні габарити 800×800×1430. Детальніші технічні відомості можна знайти на сайті www.lavallab.com/fermenter-bioreactor/?pilot-fermenter.htm

Мішалки обертаються за допомогою пасового приводу, що дозволяє зменшити висоту ферментера і легко відділити мотор від ємності. Вал виймається зверху, а підшипник з подвійними торцевими ущільнювачами легко відділяється від корпусу. Передачу зусилля від мотора на вал перемішувального пристрою можна здійснювати і магнітним способом (рис. 2).

Ферментер аерують через фільтр *Autosterile* (Bioengineering). Без складних периферійних конструкцій цей фільтр стерилізується *in situ* разом із ферментером.



Рис. 1. Пілотний ферментер Laboratory Pilot Fermenter LP351

Пілотний ферментер Pilot Fermenter P

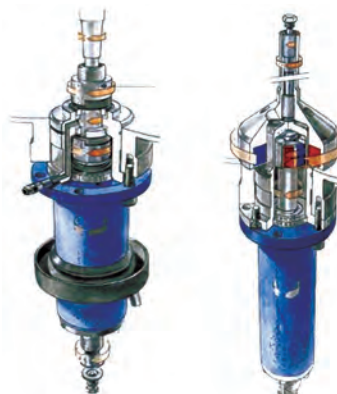
Об'єм — від 100 до 1 000 л. Галузі застосування та конструкція ферментера Pilot Fermenter P такі самі, як і для ферментера Laboratory Pilot Fermenter LP351.

На рис. 3 показано зовнішній вигляд Pilot Fermenter P.

Загальні технічні характеристики: максимальна робоча температура +150 °С, потужність двигунів — від 3 до 15 кВт, максимальна швидкість обертання перемішувального пристрою — 1 000 хв⁻¹. Максимальні габарити 1500×1380×2180. Детальніші технічні відомості — на сайті www.fermenter.ru/content/page_54_0.html



Рис. 3. Пілотний ферментер Pilot Fermenter P



З подвійним торцевим ущільненням

З магнітним приводом мішалки

Рис. 2. Способи ущільнення вала перемішувального пристрою пілотного ферментера Laboratory Pilot Fermenter LP351

На рис. 4, 5 показано обидва пілотні ферментери у складі ферментаційних установок.

Спільно із сервісною компанією Rentschler Biotechnologie GmbH, що також має світове визнання, фірма Bioengineering AG зі своїм обладнанням брала участь у створенні восьми незалежних заводів, що відповідають нормам GMP, розташованих на площі 4 500 м². Вони надають підтримку невеликим проектам, а також випускають продукцію у промисловому масштабі, що відповідає вимогам GMP. У 2008 р. виробничі потужності були значно збільшено, зокрема створено нові лінії з культивування клітин.



Рис. 4. Багатоцільова пілотна установка фірми Bioengineering AG для GMP-ферментації в чистій кімнаті (варіант 1)



Рис. 5. Багатоцільова пілотна установка фірми Bioengineering AG для GMP-ферментації в чистій кімнаті (варіант 2)

У цьому контексті слід згадати й менш відому фірму Chemar Alfa-Laval AG, яка також випускає лабораторні й пілотні ферментери традиційного типу, що відзначаються високою якістю, характерною для швейцарської продукції (рис. 6).

Пілотні установки фірм Sartorius Stedim Biotech — B. Braun Biotech

Зазначені фірми випускають ферментаційні системи для виробництва пілотних партій продукту Biostat® D 50/D 100 (з реакторами об'ємом 50 та 100 л) (рис. 7), Biostat® D 300/D 500 (з реакторами об'ємом 300 та 500 л) (рис. 8).

Установки спроектовано за модульною технологією у складі монтажного блоку, реакторів і блоку керування.



Рис. 6. Пілотний ферментер об'ємом 95 л компанії Chemar Alfa-Laval AG



Рис. 7. Пілотна установка Biostat® D 50/D 100

Реактори з кожухом виготовлено з нержавіючої сталі, вони мають спіральний нагрівальний елемент, призначений для ефективного і рівномірного нагрівання. Відношення висоти ємності до її діаметра становить 3:1. Потужні двигуни в комбінації з трьома турбінами забезпечують ефективне змішування і дисперсію газових пухирців з високим ступенем аерації. Стандартне спорядження містить систему стерилізації реактора, до складу якої входять впускні й випускні повітряні фільтри.

Апаратуру постачають із цифровою системою вимірювання та управління параметрами процесу, датчиками температури, рН, pO_2 , піни і чотирма вбудованими перистальтичними насосами. Апаратні засоби керування ґрунтуються на системі DFC (цифрове керування ферментером). До складу системи DFC входять підсилювачі сигналів з вимірювальних датчиків і перетворювачі вихідних сигналів. Використання цієї системи дає змогу досягти більш високої надійності роботи системи. Мультифазовий ступінчастий контролер розчиненого кисню, контролер субстрату за декількома опірними точками і температурне блокування з виключенням



Рис. 8. Пілотна установка Biostat® D 300/D 500

нагрівача є додатковими можливостями програмного забезпечення ферментера. Програмне забезпечення було розроблено відповідно до основ GMP.

За допомогою установок можна проводити як безперервні, так і періодичні процеси з подаванням живильного середовища.

На рис. 9 наведено приклади застосування ферментаційної апаратури В. Braun Biotech і Sartorius BBI Systems у складі промислових установок.

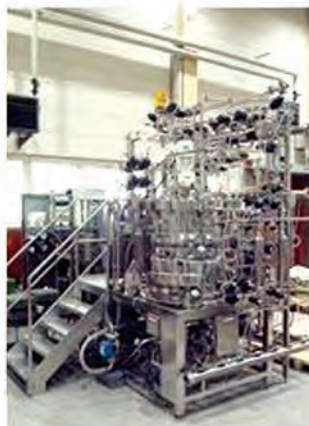
Ферментер BIOSTAT® C-DCU і Biostat D-DCU

Пілотні компактні ферментери BIOSTAT® C-DCU, які стерилізують на місці (SIP), мають об'єм від 10 до 30 л і призначені для культивування як мікробних, так і клітин-



А

Б



В

Рис. 9. А — автоматизована лінія, що складається з біореакторів об'ємом 120–1 200 л, системи підготовки середовища, системи проточної стерилізації середовища, інактивзації культуральної рідини для одержання Human Growth Hormone (гормону росту людини); Б — промислова лінія, що складається з 300-літрового основного ферментера і 20-літрового посівного апарата; В — система для роботи з культурами клітин, що має у складі 900-літровий біореактор; повністю відповідає вимогам GMP і має пакет валідаційних документів

них культур. Цей ферментер (об'єм 30 л) став основою установки BIOSTAT C XFLOW, в якій реалізовано промислову технологію одержання протеїну, що має використання у фармацевтичному виробництві (рис. 10).



Рис. 10. Інтегрована установка BIOSTAT® C X-FLOW у складі ферментаційної системи для одержання рекомбінантного протеїну під час культивування *Pichia pastoris*

BIOSTAT D-DCU — пілотні установки з ємностями від 50 до 500 л. Установки споряджені готовою до експлуатації системою виробничого масштабування та автоматичною системою стерилізації «на місці».

Пілотні ферментери фірми Schwarte Logistic GmbH

Фірма Schwarte Logistic GmbH спеціалізується на випуску ємнісного й апаратного обладнання для молочної, фармакологічної, хімічної та харчової промисловості. Випуск малих інокуляторів і малогабаритних ферментерів — один з видів виробництва в асортименті продуктів цієї фірми (рис. 11, 12).

Ємності не споряджено системами контролю, автоматики тощо. Це можна розглядати як позитив, оскільки такі інокулятори порівняно з продукцією «під ключ» є набагато дешевшими (у 2–3 рази), однак це можливо лише за умови наявності у споживача певного інфраструктурного обладнання.



Рис. 11. Мобільні інокулятори Schwarte Logistic



Рис. 12. Пілотні ферментери фірми Schwarte Logistic GmbH у складі виробничої лінії

Пілотні ферментери НДІ ЗАТ «Биотехника»

Зазначена організація розробляє обладнання для хіміко-фармацевтичної промисловості, для технологічних ліній з виробництва біологічно активних сполук, для реалізації технологій з виробництва продуктів з різноманітної рослинної сировини, ферментаційне обладнання (біореактори лабораторні та пілотні) тощо.

На рис. 13, 14 подано зовнішній вигляд 10-літрових і 100-літрових пілотних ферментерів, а на рис. 15 — зовнішній вигляд технологічних ліній, в яких використано ферментери НДІ ЗАТ «Биотехника».

Російські біореактори, на відміну від західноєвропейських і американських, за формою подібні до звичайних хімічних реакторів, а американо-європейські ферментери мають більш витягнуту, подовжену форму.

Важливою перевагою пілотних ферментерів «Биотехника» для українських дослідників і виробників є достатньо просте вирішення валютної проблеми для придбання обладнання, оскільки Україна є асоційованим членом СНД.



Рис. 13. Пілотний ферментер об'ємом 10 л НДІ ЗАТ «Биотехника»



Рис. 14. Пілотний ферментер об'ємом 100 л НДІ ЗАТ «Биотехника»



Рис. 15. Пілотні ферментери НДІ ЗАТ «Биотехника» у складі технологічних ліній

Пілотні ферментери фірми Biotron

Корейська фірма Biotron є біотехнологічною компанією, що розвивається у світі найдинамічніше. Фірма випускає лабораторні ферментери Value Bio Reactor, BioG-Micom, BioG-M, BioG-M Plus, а також ферментери пілотні Bio Lite і Bio S (рис. 16) та серію промислових ферментерів Bio P.

Повна ємність ферментерів Bio Lite становить від 5 до 40 л, ферментерів Bio S — від 30 до 500 л, промислових ферментерів Bio P — від 2 до 30 м³.

Ферментери прості в обслуговуванні. Стерилізацію можна проводити в автоматичному і ручному режимах, використовуючи внутрішній нагрівач. Можна застосовувати спеціальні опції для культивування рослинних і тваринних клітин (рис. 17).

Пілотні ферментери фірми Solaris biotechnology

Фірма випускає пілотні біореактори серій SB, SBS для вирішення проблем, пов'язаних



Bio S



Bio Lite

Рис. 16. Пілотні ферментери фірми Biotron



Рис. 17. Ферментер Bio S об'ємом 70 л для культивування тваринних клітин у дослідницькому центрі Bangladesh Science House

із масштабуванням процесу від лабораторних стадій до промислових. Контроль здійснюється за всіма параметрами, які потрібні для проведення ферментаційних процесів: рН, концентрації кисню, CO_2 тощо. В апаратах можна проводити як аеробні, так і анаеробні процеси, у періодичному або безперервному режимах. Перемішування можливе за допомогою традиційних механічних мішалок або магнітним способом (рис. 18).



Рис. 18. Пілотні ферментери фірми Solaris biotechnology

Пілотні ферментери фірми Luxun International Group (Китай, Гонконг)

На сьогодні компанія LUXUN є провідним постачальником устаткування для фармацевтичної і косметичної промисловості з Китаю в країни СНД (Росію, Білорусь, Україну, Узбекистан, Казахстан та ін.). В асортимент продукції входить ферментаційна апаратура ємністю від 5 л до 200 м³. Як пілотні ферментери фірма випускає апаратуру традиційного типу з механічними мішалками RTU-MS з повним об'ємом від 5 до 70 л; з магнітним приводом RTU-C (30–200 л); батарею ферментерів RTU-Z (5, 10, 15 л), в якій можна одночасно проводити ферментацію; батарею ферментерів для вирощування рослинних і тваринних клітин RTU-X (10–70 л); комбіновані ферментери серії RTU-MZ з двома різними за ємністю апаратами, що можуть працювати паралельно (10/100, 20/200, 30/300, 50/500, 80/800, 100/1000 л) (рис. 19).

На особливу увагу заслуговує серія ферментерів RTU-Q об'ємом від 100 л до 200 м³, в яких перемішування відбувається за рахунок імпульсної подачі повітря. Ці енергозберігальні біореактори особливо придатні для вирощування рослинних клітин, оскільки цикли ферментації тривають до 2 місяців відповідно за низької швидкості споживання кисню (рис. 20).

Подібний спосіб перемішування застосовували у ферментаційній модульній установці «Пневмолюкс» (Інститут біологічного приладобудування РАН).

Детальніші технічні відомості про ферментери фірми Luxun I. G. можна знайти на сайті <http://lxn.ru/index.php?id=307>.

Газовихрові біореактори

Інноваційні газовихрові біореактори відрізняються принципово новою системою перемішування (ЗАТ «Саяны», Новосибірськ, Росія)



Рис. 19. Пілотні ферментери фірми Luxun I. G.



Рис. 20. Ферментер з інокулятором серії RTU-Q

[16–18]. Концепція газовихрового біореактора — створення структурованого особливим чином повітряного потоку для організації інтенсивного м'якого перемішування різних рідин, у тому числі й особливо в'язких. Він працює за принципом «керованого торнадо». Оскільки апарат не має механічної мішалки, то травмування клітин виключається. На рис. 21 показано схему газовихрового біореактора.

У біореакторі перемішування суспензії бактерійних клітин здійснюють, створюючи в ній квазістаціонарний обертовий рух, що генерується аерувальним газом, який подають в ємність над поверхнею суспензії клітин з одночасним його закручуванням у потік з полем швидкості потенційного вихору на периферії ємності (зона I) і осью протитечією в приосьовій зоні (зона II). При цьому перепад тиску в потоці аерувального газу між периферією і центром вихору підтримують у межах 10–2 000 Па.

Завдяки такому закручуванню аерувального газу за рахунок тертя на межі розділу фаз і різниці тисків між периферією та центром газового вихору забезпечується рух суспензії клітин у вигляді вихрового кільця, що обертається відносно осі ємності з одночасним низхідним рухом рідини на периферії ємності (зона III) і висхідним — у приосьовій зоні (зона IV). Аерувальний газ

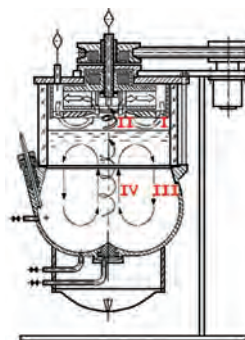


Рис. 21. Схема газовихрового біореактора

взаємодіє з клітинами тільки через вільну поверхню останніх, не змішуючись із суспензією. Унаслідок цього забезпечується інтенсифікація міжфазного масообміну завдяки збільшенню швидкості руху аерувального газу й рівномірному перемішуванню суспензії без застійних зон і піноутворення через руйнівну дію газового вихору на піну.

Газовихровий біореактор дає змогу розпочинати культивування за мінімального заповнення (10–15%) і шляхом безперервного додавання середовища в процесі культивування завершити його за максимального заповнення (90%). Ця властивість апарата дає змогу скоротити, а в деяких випадках виключити лінію біореакторів меншого об'єму для запуску апарата більшого об'єму.

Першим кроком на шляху створення газовихрових біореакторів стало розроблення лабораторного ферментера «Біок» [16]. Уже на цьому етапі було виявлено, що питома потужність на перемішування у 12–16 разів нижча, ніж у біореакторах з мішалкою фірми «Хемап». На сьогодні проведено дослідно-промислові випробування пілотного газовихрового біореактора об'ємом 100 л. Випущено і передано на НВО «Віріон» промисловий газовихровий біореактор ємністю 300 л для виробництва вакцин та інтерферону (рис. 22).

Проте відомі й негативні результати випробувань, зокрема на тому самому НВО «Віріон» та в інших організаціях встановлено, що великі апарати не мають таких значних коефіцієнтів масообміну за киснем, що їх гарантували розробники біореактора.



Рис. 22. Газовихровий біореактор об'ємом 300 л

ЛІТЕРАТУРА

1. *Аткинсон Б.* Биохимические реакторы. — М.: Пищ. пром. 1979. — 280 с.
2. *Андреев А. А., Брызгалов Л. Н.* Производство кормовых дрожжей. — М.: Лесная пром-сть, 1973. — 296 с.
3. *Виестур У. Э., Кузнецов А. М., Савенков В. В.* Системы ферментации. — Рига: Зинатне, 1986. — 174 с.
4. *Виестур У. Э., Шмите И. А., Жилевич А. В.* Биотехнология. Биотехнологические агенты, технология, аппаратура. — Рига: Зинатне, 1987. — 263 с.
5. *Винаров А. Ю., Кафаров В. В., Гордеев Л. С.* и др. Ферментеры колонного типа для микробиологических процессов. — М., 1976. — 49 с.
6. *Гапонов К. П.* Процессы и аппараты микробиологических производств. — М.: Легкая пищ. пром., 1981. — 240 с.
7. *Голгер Л. И., Калуняц К. А.* Модернизированная и новая аппаратура для производства ферментных препаратов. — М., 1970. — 72 с.
8. *Кестельман В. Н., Веселов А. И.* Оборудование для глубинного культивирования микроорганизмов в бродильной и микробиологической промышленности. Обзор. — М., 1970.
9. *Колосков С. П.* Оборудование предприятий ферментной промышленности. — М.: Пищ. пром, 1969. — 383 с.
10. *Колосков В. П., Яровенко В. Л., Стабников В. Н., Устинников Б. А.* Оборудование спиртовых заводов. — М.: Пищ. пром., 1975. — 295 с.
11. *Луканин А. В.* Модернизация промышленного ферментера АДР-900-76 для производства белковой кормовой добавки из растительного сырья // Биотехнология. — 2003. — № 6. — С. 84–88.
12. *Сидоров Ю. И., Влязло Р. Й., Новіков В. П.* Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості. — Львів: Інтелект-Захід, 2008. — 736 с.
13. *Смирнов Н. Н.* Биохимические реакторы. — Л.: Химия, 1987. — 72 с.
14. *Мертвецов Н. П., Рамазанов Ю. А., Репков А. П. и др.* Газовихревые биореакторы «Биок». Использование в современной биотехнологии. — Новосибирск: Наука, 2002. — 118 с.
15. *Кислых В. И., Рамазанов Ю. А., Косюк И. П. и др.* Безградиентные газо-вихревые биореакторы в современной биотехнологии // Интеграл. — 2005. — Т. 22, № 2. — С. 78–89.
16. *Pat. 6632657 US C12M1/04; C12M1/06; C12M3/02; C12M1/04.* Apparatus for cultivating tissue cells and microorganisms in suspension / Kislykh V. I., Ramazanov J. A., Repkov A. P. (all RU). — Filing Date: 03/19/2001; Publication Date: 10/14/2003.

ПИЛОТНЫЕ ФЕРМЕНТЕРЫ
ЕМКОСТНОГО ТИПА

Ю. И. Сидоров

Национальный университет
«Львовская политехника»

E-mail: sydorowy@rambler.ru

Приведена доступная информация о современной пилотной ферментационной аппаратуре в стерильном варианте исполнения от ведущих мировых фирм (Bioengineering AG, B. Braun Biotech, Sartorius BBI Systems, Biotron, Solaris biotechnology, Luxun International Group), а также российской фирмы «Биотехника», которую используют для масштабирования процессов культивирования микроорганизмов, растительных и животных клеток. Особое внимание уделено инновационным газовихревым биореакторам, имеющим ряд преимуществ по сравнению с традиционными ферментерами с механическими перемешивающими устройствами.

Ключевые слова: пилотный ферментер, биореактор.

PILOT FERMENTERS
OF CAPACITY TYPE

Yu. I. Sidorov

«Lviv's Polytechnica» National University

E-mail: sydorowy@rambler.ru

Basic information about modern pilot fermentation apparatus in sterile implementation used for the down-scaling of processes of cultivation of microorganisms, vegetable and animal cells, leading firms with a world fame (Bioengineering AG, B. Braun Biotech, Sartorius BBI Systems, Biotron, Solaris biotechnology, Luxun International Group) and also Russian firms «Biotechnics» is given. Special attention is given to innovative gas-vortical fermenters which have some advantages as compared to traditional ones with mechanical mixing devices.

Key words: pilot fermenter, bioreactor.