

## БЕЗГРАДИЕНТНЫЕ ГАЗО-ВИХРЕВЫЕ БИОРЕАКТОРЫ.

Кислых В.И., Рамазанов Ю.А., Косюк И.П., Репков А.П.

ЗАО «Саяны», г. Новосибирск, Россия, [sajany@bioreactor.ru](mailto:sajany@bioreactor.ru)

Ускоренное развитие направления на создание новых лекарственных препаратов с использованием клеток млекопитающих и других чувствительных клеток диктует необходимость создания новых, эффективных аппаратов, обеспечивающих оптимальные условия микробиологического синтеза - биореакторов нового поколения. Назначением биореактора является создание наиболее оптимальных условий для жизнедеятельности культивируемых в нем клеток и микроорганизмов.

Это обеспечение: хорошего массообмена по газовой фазе - дыхания, питания – подвода питательных веществ, отвода метаболитов. При этом клетки не должны подвергаться механическим, тепловым и другим стрессовым воздействиям.

Общеизвестны и применяются два способа перемешивания:

Это перемешивание механическим устройством, находящимся в жидкой фазе, которое, вращаясь, заставляет двигаться жидкость (ложка в стакане чая).

Второй способ - перемешивание за счет продувки газовой фазы через жидкую (различные аэрлифтные и барботажные аппараты).

**I.** Недостатком биореакторов с механической мешалкой является то, что

- в процессе перемешивания образуются высоко турбулентные и застойные зоны, вследствие чего подвод питания к клеткам неравномерный;
- тоже происходит и с отводом метаболитов;
- поверхностный массообмен в аппарате по этой же причине недостаточен для многих культур клеток и микроорганизмов:
- культивируемые клетки и микроорганизмы гибнут из-за воздействия на них возникающих срезающих напряжений возле концов лопаток перемешивающего устройства.

В биореакторах с механической мешалкой почти 70% потребляемой мощности расходуется на преодоление сил сопротивления среды, при этом происходит переход механической энергии в тепловую, т. е. избыточный вредный нагрев культуральной жидкости. Возникает необходимость отведения этого избыточного тепла, что требует дополнительных затрат. При этом энергия (температура) вносится по всему объему неравномерно, что отрицательно сказывается на результатах биотехнологических процессов, требующих работы в строго ограниченном интервале температур.

**II.** Аэрлифтные биореакторы имеют хороший массообмен по газовой фазе, но неинтенсивное перемешивание. Недостатками аэрлифтных биореакторов являются:

- слабое перемешивание (т.е. подвод питания и отвод метаболитов), они не всегда пригодны для культур с активной жизнедеятельностью.
- всплывающие воздушные пузырьки при “схлопывании” губят чувствительные клетки, например эмбриональные или клетки насекомых.

Кроме того, в биореакторах данного типа происходит обильное пенообразование, что не позволяет использовать весь объем аппарата, а применение химического пеногасителя снижает качество конечного продукта и приводит к удорожанию процесса. В аэрлифтных биореакторах невозможно использовать вязкие культуральные жидкости.

В газо-вихревом безградиентном биореакторе используется иной способ перемешивания.

Перемешивание культуральной среды в биореакторе осуществляется путем создания в жидкой среде трехмерного движения типа “вращающегося вихревого кольца” (квазистационарный поток с осевым противотоком). Движение генерируется аэрирующим газовым вихрем за счет перепада давления над поверхностью и силы трения воздушного потока о поверхность суспензии.

Вследствие этого достигается мягкое, но весьма эффективное перемешивание без образования пены, гидроударов, кавитации, высокотурбулентных и застойных зон;

- Газо-вихревой биореактор имеет высокую скорость массообмена.

- Работает, не меняя своих характеристик при заполнении на 10-90% объема, что позволяет при промышленном производстве убрать промежуточные «запускные» биореакторы.

- Энергозатраты на перемешивание жидкости с вязкостью воды составляют всего 0,3вт/л, что в 10-12 раз меньше, чем у биореакторов с механической мешалкой..

- Особенности закрученных потоков обеспечивают возможность перемешивания особо вязких жидкостей в газо-вихревом биореакторе. (выше 1,27 П).

- Газовый вихрь является эффективным пеногасителем;

Указанные выше свойства газо-вихревого биореактора позволяют:

- культивировать клетки, плохо воспроизводимые в известных типах биореакторов;

- запускать однотипный биореактор большего объема при отношении его объема к малому биореактору, как 100:1 и устранить из технологической цепи биореакторы промежуточного объема;

- не использовать химический пеногаситель, существенно усложняющий и удорожающий дальнейший процесс очистки и получения конечного продукта;

- применять биореактор в процессах, использующих вязкие жидкости или получающих таковые в процессе микробиологического синтеза.

Далее приведен ряд данных по культивированию некоторых типов клеток:

**ТАБЛИЦА**

Линия клеток	Продолжительность культивирования, час	Концентрация клеток млн/мл		Доля живых клеток (%)
		в начале	в конце	
ВНК-21	60	0,46	2,9	98%
Капустная совка IZD MB-0503	72	0,4	2,2	96%
Миелома мыши Sp210-Ag 14P <sub>3</sub>	72	1,0	6,0	95%
Лимфоциты человека MT-4	96	0,52	2,2	93%

В газо-вихревом биореакторе также успешно культивировались такие линии клеток как VERO, A<sub>4</sub>C<sub>5</sub> (гибрид клеток почки и лимфоцита свиньи), клетки тимуса человека (Т-5). При загрузке в газо-вихревой биореактор посадочной нормы 800 тыс. клеток фибробластов эмбрионов курицы через 63 часа культивирования получено 27 млн.клеток.

Разработка стала победителем "Конкурса русских инноваций" и признана экспертами одной из наиболее перспективных в области высоких технологий в России. Безградиентный газо-вихревой биореактор награжден золотой медалью выставки «МИР BIOTEХНОЛОГИИ'2005». Разработка защищена патентами РФ, США, Японии, 6 Европейских стран.