

Konstrukce fermentorů pro sterilní biosyntetické procesy

Ing. PETR ETTLER, CSC., Výzkumný ústav antibiotik a biotransformací, Roztoky u Prahy, Ing. JAN NUTIL, Podnik inženýrských služeb Spofa.

663.1 663.132

Klíčová slova: vybavení fermentorů, sterilace médií, ucpávka, pohon.

Rozvoj biotechnologií se významně odráží i ve vývoji aparátů a strojního zařízení, jež musí umožnit převést nové poznatky ze šlechtění a fyziologie produkčních kmenů až do průmyslového měřítka. Nová zařízení, laboratorním měřítkem počínaje, musí zabezpečovat náročné požadavky technologií spolehlivou konstrukcí aparátů i splněními požadavky na úsporu energií.

V konstrukci fermentorů pro sterilní procesy existuje ve VHI Spofa třicetileté odborné zázemí z konstrukce a provozu strojního zařízení pro biosyntézy antibiotik, aminokyselin, enzymů a jiných produktů. K dispozici jsou fermentory o brutto objemech 0,15 m³, 0,3 m³, 0,6 m³, 1,5 m³, 6 m³, 15 m³, 35 m³, 50 m³ a 150 m³ včetně laboratorních zařízení různých velikostí. VHI Spofa se zabývá i vývojem větších aparátů v souladu s trendem rozvoje biosyntetických výrob spolu se zvyšováním spolehlivosti jednotlivých funkčních elementů.

Vybavení uvedených fermentorů představuje vývoj a výrobu řady speciálních prvků pro sterilaci vsádky, pro zajištění sterility přívodu vzduchu nebo aerační směsi, zajištění sterility dávkování příkrmů, úpravu pH, spolehlivé chemické odpěňovací zařízení, sterility instalací sond s jejich odolností ke sterilizačním podmínkám, vyřešení aseptického utěsnění hřídele, mechanického odpěňovače, vybavení aparatury pro sterility filtraci vzduchu, pro sterility přenos inokula, vzorkování a vypouštění vsádky spolu s ostatní periferií tanku. Pro zajištění všech těchto náležitostí je upraven výrobní cyklus fermentační linky jak pro pokusné tak výrobní účely tak, aby každá operace související se zajištěním sterility chodu aparatury byla zakotvena do závazných pracovních instrukcí.

Podmínky vybavení aparatury pro sterility provoz [1]

- udržitelnost v trvalém sterility provozu,
- přípustná sterility odolnost,
- jistý provoz bez kontaminace,
- jednoduchá obsluha.

Laboratorní fermentory pro sterility biosyntetické výroby zaručují hospodárný způsob řešení problematiky fyziologie produkčních kmenů [2]. Pokud jsou dobře vybaveny aparaturou M+R, poskytnou první komplexní, i když hrubou informaci o technologickém procesu. Nevýhodou laboratorního zařízení bývá členitá vestavba a velká citlivost na vnější vlivy (aerace z povrchu [3], vyvzorkování). Trvalý provoz při různých tlakových a teplotních poměrech představuje pro sterility aparaturu vysoké mechanické a termické zatížení. Rozdílnost konstrukčních materiálů (ocel, sklo, pryž, speciální plastické hmoty) představuje různé pružitelnosti při různých teplotách. Zvláště citlivé jsou spoje a těsnění. Při výskytu nesterility se může kromě řady vlivů (nesterility výchozího biologického inokulačního materiálu, nesterility vstupujícího vzduchu, subjektivit lidského faktoru obsluhy) podílet i únava materiálu, zvláště v laboratorních aparátech v těsné blízkosti spojů svařů apod. Kontrola hermetičnosti aparatury představuje proto jednu z nejdůležitějších operací fermentačního cyklu. Je výhodné ji provádět za různých teplotních podmínek, kterým odpovídají i mechanické podmínky sestavy aparatury. Způsoby zajištění sterility

jsou společně pro všechna měřítka; laboratorní práce s heterogenními suspenzními půdami jsou komplikovanější, jestliže sterilace probíhá v autoklávu bez míchání a využívá se pasterace nebo tyndalizace (frakcionovaná sterilace) s časovou prodlevou pro naklíčení spor.

Při volbě poloprovozního fermentoru pro aseptický kultivační proces je zvýhodňován průmyslový pohled na technologický proces. Výhodou poloprovozních zkušeben by měla být jejich flexibilita pro koncipování dvoustupňového nebo třístupňového procesu. Poloprovoz má svou nezadatelnou důležitost u všech provozovatelů fermentačních výrob a vyžaduje velkorysost při koncepčním řešení a vybavování aparátů měření a regulace. Zde je připravován režim sterilace, při kterém by nemělo docházet k poškození složek média ani k nedokonalému prosterilování. Sterilizace a zchlazování média jsou spolu s očkovaním považovány za nejcitlivější operace určující aseptičnost výrob. Blokáda všech vstupů i výstupů z fermentoru, příprava sterility vzduchu, využití speciálních armatur na aseptický přenos inokula představují situaci, kdy vlastní reaktor tvoří pouze zlomek celé pokusné nebo výrobní linky.

Pro návrh konstrukce fermentorů pro sterility provoz existují některá obecná pravidla [1, 4, 5]: oddělení sterility a nesterility částí a sekcí aparátů (včetně výrobních prostor), minimalizace spojů přírubami, možnost nezávislé sterilace různých sekcí, zajištění vhodných typů výměníků pro kontinuální sterility média, zajištění vhodné konstrukce armatur pro udržení sterility, přetlaku ve fermentoru, pro zamezení úniku aerosolu z výstupního vzduchového potrubí. Náhrada hadů za duplikátor nebo chladicí zářezky je výhodná pro zamezení mrtvých míst při sterility vsádky. Armatura vzorkovací sekce musí zajistit sterility odběr reprezentativního vzorku i při nátokové technologii, kdy se počáteční objem vsádky liší od sklizeného množství.

V další části příspěvku se zaměříme na některé důležité aspekty konstrukce sterility fermentačních zařízení, na umístění náhonu a konstrukci ucpávky, sterilizace médií.

Pohon fermentoru

V laboratorním, čtvrtprovozním a poloprovozním měřítku nebývá instalace pohonu problémem. Existuje řada dodavatelů, kteří vyhoví zákazníkovi při umístění jednotky pohonu shora nebo zespodu fermentoru pro sterility provoz. Montáž a demontáž hřídele v těchto měřítcích nečiní komplikace. Z technologického hlediska neexistuje důvod pro preferenci toho kterého typu pohonu, pokud je dokonale strojně technické provedení ucpávky.

Kam situovat velké pohonné jednotky u provozních fermentorů? Horní náhony bývají většinou u reaktorů, které nemají stálou obsluhu na úrovni podlaží s pohonem nebo jsou situovány do prostoru, kde zvýšená hladina hluku není na obtíž. U fermentorů pro sterility biosyntetické výroby je k hornímu víku soustředěna většina obsluhy (vyčerpání média, nastavování průtoku vzduchu, přetlaku ve fermentoru, příkrmování, odpěňování, očko-

vání apod.). Při automatizaci fermentačních výrob se však snažíme řadu sekcí ventilů ovládat automaticky z velínu a tím také snížit expozici obsluhy nadměrné hladině hluku. Z technologického hlediska je též žádoucí uvolnění horního víka pro optimální možnost volby rozmístění všech vstupních otvorů a hrdel. Horní víko o průměru 4 m s plochou 12,6 m² má však dostatek prostoru pro kožík pohonu, vstupní pracovní otvor i několik hrdel pro přívod a odvod médií. Využití spodního náhonu má výhodu v tom, že víko fermentoru není zatěžováno hmotností náhonu, dynamickými silami a krouticím momentem. Československý farmaceutický průmysl zatím využíval umístění náhonů na horním víku fermentoru. Toto umístění vyplývalo jednak ze zkušenosti při sterilizaci pěnících médií, jednak z nedostatku vhodné tuzemské ucpávky pro náhon umístěný zespodu. K pohonům míchadel shora bývají navíc dodávány stojany a ucpávky blokováné kondenzátorem, popřípadě část hnacího hřídele procházejícího ucpávkou. Výhodou umístění náhonu naspodu je snadná demontáž, k níž není zapotřebí těžších mechanismů. U velkoobjemových fermentorů ovlivňuje umístění náhonu shora stavební výšku budovy.

Ucpávky hřídele

Obtížné provozní podmínky při sterilizaci heterogenních vícesložkových médií, stále rostoucí bezpečnostní požadavky na průběh sterilizace a celé kultivace, snaha o nejdelší výrobní cykly s minimálním odstavením aparatury, potřeba automatického bezporuchového chodu, to vše vytváří z ucpávky důležitou strojní součást fermentoru. Správná volba typu hřídelové ucpávky je předpokladem pro spolehlivou funkci celého fermentoru.

Pro těsnění plynů, kapalin obsahujících nebo vylučujících abrazivní částice, při těsnění kapalin se špatnou mazací schopností při zabránění průniku média do okolního prostředí je možno využít dvojistou mechanickou ucpávku nebo zahlcovanou výplňovou ucpávku [8]. Házivost, chvění a vyosení hřídele se nepříznivě projeví zejména na těsnosti výplňových ucpávek. Nesouosost hřídele a ucpávky způsobuje opotřebení sekundárního těsnění a zmenšuje přítlačnou sílu a tím i těsnost ucpávky. Konstrukce mechanických ucpávek vychází z klasického uspořádání axiálně řazených jednoduchých nebo dvojitých těsnících kroužků [4, 7, 9]. Regulace tlaku uzavírací kapaliny, volba materiálu primárního a sekundárního těsnění (odolné uhlíkgrafitové materiály, plněný teflon apod.) zlepšují kluzné vlastnosti kroužků, umožňují realizovat mechanické ucpávky i pro nejtěžší provozní podmínky. Pro spodní pohony jsou řešeny konstrukce ucpávek tak, aby možné produkty úsad a koroze byly neustále odstraňovány z prostoru ucpávky. Jedním z řešení je talířový odlučovač.

Pomocný odvod uzavírací kapaliny má udržovat tlak o 0,2 MPa vyšší než v míchací nádobě. Viskozita uzavírací kapaliny by neměla podstatně překročit viskozitu vody. Pro doplnění kapalinového okruhu je vhodné použít automaticky pracující membránové čerpadlo nebo magnetický ventil. Dvojitá ucpávka je obvykle konstruována jako kompletní jednotka, která umožňuje svou kompaktností snadnou montáž a demontáž. Tato operace je vysoce aktuální u velkoobjemových fermentorů, kde je vypouštění půdy prakticky vyloučeno.

Využití magnetické spojky je omezeno velikostí instalovaného příkonu 20 kW [6].

Sterilizace médií

Sterilizace může být prováděna termicky, chemicky, radičně nebo filtračně. Kontinuální sterilizace kultivačního média teplem je preferována v určitých typech procesů a v médiích citlivých na termickou degradaci [10]. Tato metoda je výhodná zvláště pro velké fermentační objemy, kde je médium exponováno zvýšenými teplotami po relativně krátkou dobu (140 °C, 1–2 min). V deskových výměnících je sterilováno kultivační médium nesuspenzního charakteru s 80% možnou rekuperací energie [11]. V médiu s pevnými podíly nebo viskózním charakterem se využívají spirálové výměníky s dostatečnou rychlostí průtoku pro zajištění turbulence. Ohřev média může být usnadněn přímým vstřikem páry, rekuperace tepla je však v těchto případech nižší [12]. Rozhodování mezi

vsádkovou a kontinuální sterilizací média by měla předcházet podrobná ekonomická rozvaha.

Univerzální návrh způsobu přípravy sterilního vzduchu předpokládá nasávání atmosférického vzduchu kompresorem, vyrovnání tlaku ve vzdušníku, oddělení hrubých nečistot a olejových kapének, předfiltraci, odloučení vlhkosti a vlastní sterilní filtraci na hloubkových nebo membránových filtrech [13]. Výstupní potrubí vzduchu z fermentoru je považováno za možný vstup kontaminujících zárodků a bývá opatřeno vyhřívaným kondenzátorem. U výrob, které by mohly kontaminovat své okolí, je instalován incinerátor — katalytický filtr. Jejich úspěšné nasazení pro sklizení původního objemu vsádky se zajištěním sterility procesu i okolí je podmíněno spolehlivou funkcí odpěňovacích systémů.

Úkolem inženýrských prací je vývoj provozních fermentorů s vysokou provozní technickoekonomickou efektivností výroby [14]. Pojetí tzv. optimálního fermentoru pro sterilní bioproceny představuje zajištění řady funkcí, z nichž jsou některé protichůdné [15]: zajištění vysokého přestupu hmoty bez mechanického poškození kultury, vytvoření velkého mezifázového rozhraní kapalina-plyn bez problémů s odpěňováním a s dostatečnou zádrží plynu, snaha o maximální využití objemu fermentoru při udržení sterility procesu. Sterilní výroby představují mnohdy značná hospodářská rizika, a tak předem vylučují využití některých netradičních přístupů ke konstrukci reaktoru (např. oběhový systém). Převažují ekonomická hlediska s levným spolehlivým a robustním designem.

Problémy kontaminace při sterilních biosyntetických výrobcích je třeba posuzovat z řady hledisek [2]: zvážit druh procesu a specifické vlastnosti kultury, posoudit konstrukci aparátu, armatur, periférie fermentoru a využít svařované konstrukce bez mrtvých prostor s membránovými ventily, zabývat se složením živného média a způsoby jeho sterilizace.

Lektoroval Ing. L. Chládek, CSc.

Literatura

- [1] BREUKER E., DREES U.: Forum Mikrobiologie 7, 1984, s. 12.
- [2] SIKYTA B.: Metody technické mikrobiologie SNTL Praha 1978, s. 58.
- [3] FUCHS R., RYU D. D. Y., HUMPHREY A. E.: Ind. Eng. Chem. Proc. Des. Develop. 10, 2, 1971, s. 195.
- [4] STEEL R., MILLER T. L.: Adv. in Appl. Microbiol. 12, Ed. T. K. Ghose, A. Fiechter, N. Blakebrough, 1970, s. 153.
- [5] LUNDELL R., LAIHO P.: Proc. Biochem. 4, 1976, s. 13.
- [6] Propagační materiál fy Electrolux Fermentation, Malmö, Švédsko.
- [7] MÜLLER H.: Proc. Biochem. 8, 1970, s. 51.
- [8] KRÁL E.: Směrnice pro použití hřídelových ucpávek. Konference Míchání, stavba míchacích zařízení, ucpávky, Dům techniky Brno, 1977, s. 178.
- [9] LUKAVSKÝ J.: Nové tendence v konstrukci mechanických ucpávek a uložení hřídelů míchadel. Konference Míchání, stavba míchacích zařízení, ucpávky, Dům techniky Brno, 1977, s. 189.
- [10] STARKIE L.: Chem. and Ind. 1974, s. 142.
- [11] BULL N. D., THOMA R. W., STINNETT T. E.: Adv. in Biotechnol. Proc. 1, Ed. A. R. Liss, N. York 1983, s. 1–30.
- [12] SVENSSON R.: Abs. of 184th Meeting of the Amer., Chem. Soc. 1982, s. 182.
- [13] ETTLER P., RYCHLÍK Z., LANGER J.: Kvas. prům. 29, 4, 1983, s. 83–87.
- [14] KVASNÍČKA J.: Chem. prům. 3858, 7, 1983, s. 350.
- [15] KATINGER W. D.: FEMS Symp. No 4, Ed. Meyrath, Bu'lock, Acad. Press, N. York 1977, s. 137.

Ettler, P. - Nutil, J.: Konstrukce fermentorů pro sterilní biosyntetické procesy. Kvas. prům., 32, 1986, č. 5, s. 108–110.

Úkolem inženýrských prací je vývoj provozních fermentorů s vysokou provozní technickoekonomickou efektivností výroby. Příspěvek popisuje základní vybavení fermentorů pro sterilní biosyntetické procesy, sterilizaci médií, vyřešení aseptického utěsnění hřídele pro instalaci hnací jednotky ve čtvrtprovozním, poloprovozním a provozním měřítku.

Этлер, П., Нутил, Я.: Конструирование ферменторов для стерильных биосинтетических процессов. Квас. прум. 32, 1986, № 5, стр. 108–110.

Задачей инженерных работ является разработка про-

изводственных ферменторов с высокой эксплуатационной технико-экономической эффективностью производства. Статья описывает основное оснащение ферменторов для стерильных биосинтетических процессов, стерилизацию среды, решение асептического уплотнения вала для установления приводной установки как в полупытном, так и в полупроизводственном и производственном масштабе.

Ettler, P. - Nutil, J.: Construction of Fermenters for Sterile Biosynthetic Processes. Kvas. prům. **32**, 1986, No. 5, pp. 108—110.

The task of engineering works is a development of large-scale fermenters with a high technical-economical effectivity of the production. The article describes a basic equipment of fermenters for sterile biosynthetic

processes, media sterilization, solution of the aseptic sealing of the shaft for an instalation of the driving unit on a pilot-plant as well as on a large-scale plant level.

Ettler, F. - — Nutil, J.: Konstruktion der Fermentoren für sterile biosynthetische Prozesse. Kvas. prům. **32**, 1986, Nr. 5, S. 108—110.

Die Aufgabe der ingenieur-technischen Arbeiten ist die Entwicklung von Betriebsfermentoren mit einer hohen betriebstechnischen und ökonomischen Effektivität der Produktion. In dem Beitrag beschreiben die Autoren die Grundausstattung der Fermentoren für sterile biosynthetische Prozesse, die Sterilisation der Medien, die Lösung der aseptischen Abdichtung der Welle für die Installation der Antriebseinheit sowie im kleintechnischen, als auch im Halbbetriebs- und Betriebsmaßstab.