

Fermentory firmy Bioengineering (75 l)

579 663

Ing. FRANTIŠEK KOLÍN, Ing. PAVEL HOLLER, MILAN ŠVOJGR,
Mikrobiologický ústav ČSAV, Praha

Klíčová slova: fermentor, sterilace, kultivace, měření, regulace, pneumatický ventil, Bioengineering.

V Mikrobiologickém ústavu ČSAV Praha byla 6. 5. 1987 otevřena nová biotechnologická hala. Hlavním vybavením poloproduční haly je 7 fermentačních jednotek firmy Bioengineering AG, Wald ZH, Švýcarsko. Čtyři fermentory mají objem 75 l, dva mají objem 300 l a jeden 1500 l. Všechny tyto fermentory jsou konstrukčně, až na malé rozdíly, v podstatě stejné. Ze zařízení jsou nejvíce využívány fermentory o objemu 75 l, proto je také popisujeme. Pomocným zařízením jsou také dva mobilní míchané zásobníky o pracovním objemu 150 l, s automatickou sterilací a regulací teploty, určené ke kontinuálním kultivacím.

FERMENTOR TYP P 351 (75 l)

Fermentor je tvořen válcovou nádobou z nerezavějící oceli o vnitřním průměru 348 mm a výšce 810 mm. Plášť fermentoru je opatřen duplikátorem pro vyhřívání jeho obsahu při sterilaci a pro regulaci teploty během kultivace. Plášť fermentoru je vybaven 8 tubusy o průměru 25 mm, ve kterých jsou umístěny teploměrná sonda, elektrody pro měření rozpuštěného kyslíku, pH a rozpuštěného oxidu uhličitého, dále je zde přívod vzduchu, který se větví a je veden buď pod míchadlo, nebo nad hladinu kapaliny. V tubusu je umístěno i zařízení na odběr vzorku, které lze blokovat párou. Na přední straně pláště je průzor pro vizuální pozorování. Fermentační nádoba má vyduté dno s vypouštěcím ventilem v nejnižší části (který lze ovládat ručně) nebo menší automaticky ovládaný ventil pro kontinuální kultivaci. Fermentor je uzavřen rovným víkem, v jehož středu je umístěn mechanický odpěňovač Foam kill, dále je zde 8 uzavíratelných otvorů o průměru 19 mm, které se používají pro tlakovou sondu, odpěňovací sondu, manometr upravený pro sterilní prostředí, přívod živin, odpěňování a udržování pH média. Je zde tubusový otvor pro inokulaci a průzor s lampou pro osvětlení vnitřku fermentoru při vizuálním pozorování. Na vnitřní stěně fermentační nádoby jsou umístěny 4 nárazky ve standardním uspořádání, z nichž jednu jsme opatřili kalibrační stupnicí.

Míchání

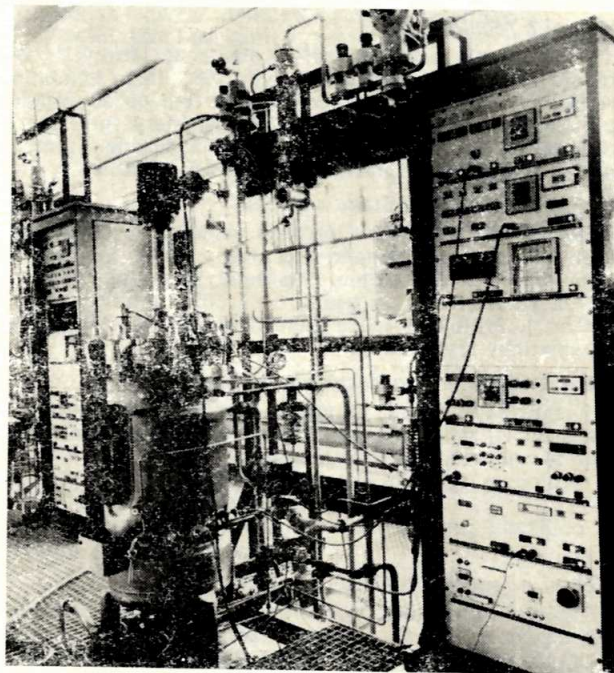
K docílení žádaného promíchávání je fermentor vybaven třemi odnímatelnými a na hřídeli posuvitelnými otevřenými šlopatkovými turbínami. Hřídel je poháněn elektromotorem (2,2 kW). Přenos z motoru na řemenici je řemenem. Otáčky míchadla jsou plynule regulovatelné od 0 do 16 s⁻¹ (0–360 min⁻¹).

Vzdušnění

Stlačený vzduch je veden přes redukční ventil, rotační metr, automaticky regulovaný pneumatický ventil a vstupní filtr (Emflon filtr firmy PALL typ MCY 4463 FRP). Emflon filtr je polytetrafluorethylen zalisovaný do pouzdra z plastické hmoty. Tento filtr se steriluje přímo procházející párou až do 140 °C. Filtrační plocha u zmíněného typu je 0,32 m² a jsou zadržovány částice větší než 0,2 μm.

Vzduch před vstupem do fermentoru je rozdělen na vzduch vhaněný přímo přes vzdušnici venec pod míchadlo a vzduch vedený nad hladinu média. Tato větev se používá pouze pro získání přetlaku ve fermentoru po ukončení sterilace, aniž je vzduch proháněn fermentační pūdou. Brání se tak vzniku nadměrného pění. Přívody vzduchu jsou ovládány automaticky pneumatickým ventilem.

Plyny odcházející z fermentoru jsou odváděny přes mechanický odpěňovač, vodní trubkový chladič, výstupní filtr (Emflon filtr) a pneumatický ventil, který udržuje přetlak ve fermentoru na nastavené hodnotě.



Obr. 1 Fermentor firmy Bioengineering (75 l)
snímek M. Růžicková

Sterilace

V podstatě se dělí na sterilaci vlastního obsahu fermentační nádoby, včetně fermentoru přilehlé části potrubí pro přívod vzduchu, a na sterilaci pomocných částí aparatury, tj. sterilaci prostoru mezi dvěma ucpávkami hřídele, vstupního a výstupního vzduchového filtru. K sterilaci se používá pára z centrálního rozvodu o tlaku 0,3 až 0,4 MPa a redukováná na 0,15 MPa. Sterilace všech částí fermentační aparatury se děje automaticky. Doba sterilace pomocných částí aparatury je volitelná, pro sterilaci obsahu fermentoru lze volit kromě času i teplotu. Po sterilaci prostoru mezi ucpávkami hřídele je ještě zařazena časová prodleva pro nahromadění potřebného množství kondenzátu, který slouží k mazání zejména spodní ucpávky. Vstupní a výstupní filtry se sterilují přímo párou. Vlastní fermentor se steriluje po ukončení všech pomocných sterilací duplikátorem. Vzduchové potrubí mezi vstupním filtrem, fermentační nádobou a výstupním filtrem se steriluje párou vyvinutou z kultivačního média během sterilace.

Potřebný přetlak zajišťují kondenzační nádoby na příslušných potrubních spojích. Po ukončení sterilace se ve fermentoru automaticky vytvoří přetlak sterilního vzduchu (asi 0,15 MPa) a současně se obsah fermentačního tanku chladí až na nastavenou kultivační teplotu. Příslušné elektrody (pH, pO₂, pCO₂) se sterilují současně s živnou pūdou.

Topení, chlazení

K teplotě fermentoru během kultivace lze volit páru nebo teplou vodu. Jako chladicí kapalina se používá studená voda. Chlazení a topení je ovládáno solenoidovými ventily, které jsou automaticky regulovány podle hodnot naměřených teplotní sondou. Cirkulaci topného a chladicího média pláštěm zajišťuje cirkulační čerpadlo.

Odpěňování

Mechanický odpěňovač Foam kill typ AA je konstrukcí firmy Bioengineering. Je poháněn elektromotorem (0,55 kW) s konstantními otáčkami ($n = 3000 \text{ min}^{-1}$). Elektromotor pohání míchadlo, které rozráží pěnu. Při nedostatečném rozrážení pěny je zapojeno i chemické odpěňování.

Měření a regulace**Měření a regulace pH**

K měření pH je použita pH — elektroda (firmy Dr. W. Ingold AG, Zürich, Švýcarsko, typ 2293). Je to kombinovaná sterilovatelná elektroda. K udržování požadovaného pH slouží pH-regulátor typ M 7832 N, který intervalově řídí dávkovací čerpadlo na kyselinu a zásadu. Interval dávky a prodlevy je nastavitelný od 0,5 do 20 s.

Měření a regulace průtoku vzduchu

Jako sonda pro měření průtoku vzduchu je použit tepelný hmotový průtokoměr. Hodnota v $\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$ je zobrazena digitálně na panelu. Současně je průtok vzduchu měřen rotametrem v rozsahu 0 až $200 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$ ($0-3,33 \text{ dm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$). Průtok se může nastavit ručně nebo udržovat automaticky regulátorem.

Měření a regulace rozpuštěného kyslíku

Rozpuštěný kyslík je měřen sondou firmy Ingold. Množství O_2 může být udržováno regulátorem na konstantní hodnotě, a to dvěma způsoby:

1. průtokem vzduchu — dvoustavová regulace přepíná v nastavených mezích,
2. otáčkami míchadla — dvoustavová regulace přepíná otáčky v nastavených mezích.

Měření a regulace teploty

Teplota fermentoru je měřena Pt-sondou a digitálně zobrazena na panelu. Teplotu lze regulovat v rozmezí 0 až 150°C , s přesností $\pm 0,1$ až $0,5^\circ\text{C}$, podle použitého temperačního média.

Měření a regulace otáček

Otáčky míchadla jsou plynule měnitelné v rozsahu 0 až 16 s^{-1} . Hodnota je digitálně zobrazena na panelu.

Měření a regulace přetlaku

Tlak ve fermentoru je snímán tlakovou sondou a zobrazen digitálně na panelu. Tlak je nastavován pneumatickým výstupním ventilem, ovládaným buď automaticky regulátorem, nebo pouze ručním nastavením.

Měření a regulace hmotnosti náplně fermentoru (například při průtokové kultivaci)

Fermentační nádoba je umístěna na třech tenzometrických čidlech. Hodnoty z nich jsou zpracovány ve váze řízené procesorem. Váha umožňuje registraci přírůstku hmotnosti média u přítokové kultivace, nebo umožňuje zachování konstantní hmotnosti náplně při průtokové kultivaci.

Regulace pění (odpěňování)

Na odpěňovací zařízení lze nastavit citlivost sondy (podle elektrické vodivosti pěny) a dále dávku a prodlevu dávkování chemického odpěňovače v intervalu 0 až 99 s.

Měření doby dávkování dávkovacího čerpadla

Při fermentaci je možno pro dvě dávkovací čerpadla použít integrátor, který počítá intervaly dávek zapojených čerpadel. Pro dávkování se používají dva druhy peristaltických čerpadel: PM-3, Watson Marlow 501 U-60R. Dávka se řídí otáčkami čerpadla a průměrem silikónové hadičky.

Registrace naměřených veličin

Naměřené veličiny jsou zaznamenávány šestikanálovým zapisovačem (Chesell-306, Velká Británie). Zapisovač je řízen procesorem. Zakresluje hodnoty: teplota, pH, pO_2 , tlak, otáčky a variabilní veličinu (pCO_2 , vzdušnost, hmotnost), dále průběžně zapisuje čas, datum a v příslušné barvě veličinu, měřítka a jednotku veličiny. Ze zapisovače je vyveden výstup ($0-20 \text{ mA}$) pro počítač (Macsym

Analog Devices, USA), který hodnoty dále zpracovává na grafy a provádí kontrolu celého procesu fermentoru.

ZKUŠENOSTI Z PROVOZU FERMENTORU

Fermentory jsou v provozu od září roku 1985. Za tuto dobu můžeme zhodnotit klady i nedostatky tohoto zařízení. Fermentory jsou natolik univerzální, že je využíváme ke kultivaci různých druhů mikroorganismů. Při dodržování určených požadavků byl provoz fermentační jednotky spolehlivý, nevyskytly se vážnější mechanické poruchy. U složitější měřicí a regulační techniky se vyskytly některé závady odstranitelné odbornou údržbou.

Vzhledem k jemnosti armatur a citlivosti regulační techniky je nezbytně nutné, aby vzduch, pára a voda byly naprosto čisté, zbavené veškerých mechanických nečistot, jinak dochází k různým poruchám při provozu fermentoru. Nutné je, aby používaná pomocná média (pára, voda, vzduch) měla požadované parametry. U kultivačních médií, která mají tendenci pění, je důležité dbát na to, aby nedošlo k přepěnění a pak k následnému zanesení kondenzačních nádobek a výstupního filtru.

Používaný typ odpěňovací sondy není dosti účinný proti zarůstání, zvláště při kultivaci vláknitých mikroorganismů (např. *Aspergillus niger*). Vzniklou závadou dochází pak k trvalému zapojení odpěňovacího zařízení. Při kontinuálním provozu se velmi osvědčily mobilní zásobníky.

Závěrem lze říci, že fermentační jednotka pracuje na vysoké úrovni a spolehlivě.

Lektoroval Ing. František Machek, CSc.

Kolín, F. — Holler, P. — Švojgr, M.: Fermentory firmy Bioengineering (75 l). Kvas. prům., 34, 1988, č. 10, s. 301—302.

V článku je popsán 75 l fermentor firmy Bioengineering, včetně měřicích a regulačních zařízení. Kromě zapisovače je zde možnost registrace a regulace naměřených veličin počítačem Macsym Analog Devices a zobrazení průběhu fermentace.

V závěru jsou popsány zkušenosti z provozu fermentačního zařízení.

Колін, Ф. — Голлер, П. — Швойгр, М.: Ферменторы фирмы Bioengineering (75 л). Квас. прум., 34, 1988, стр. 301—302.

В статье описан 75 л ферментор фирмы Bioengineering, включая измерительное и регуляционное оснащение. Кроме записчика здесь имеется возможность регистрации и регулирования измеренных величин при помощи ЭВМ Macsym Analog Devices и изображение хода ферментации.

В заключение описан опыт по эксплуатации ферментационной установки.

Kolín, F. — Holler, P. — Švojgr, M.: Bioengineering Fermentors (75 l). Kvas. prům., 34, 1988, No. 10, pp. 301—302.

A description of the fermentor with the volume of 75 l from Bioengineering firm including measurement and control systems is performed. In addition to the recorder further registration and control of measured parameters including the plotting of the fermentation course permits the computer Macsym Analog Devices. At the end experiences from the operation of this equipment are described.

Kolín, F. — Holler, P. — Švojgr, M.: Fermentoren der Firma Bioengineering (75 l). Kvas. prům., 34, 1988, Nr. 10, S. 301—302.

In dem Artikel wird der 75-l-Fermentor der Firma Bioengineering samt der Meß- und Regulationstechnik beschrieben. Neben dem Schreibgerät ist hier die Möglichkeit der Registration und Regulation der Meßgrößen mittels Computer Macsym Analog Devices und auch die Möglichkeit der bildlichen Darstellung des Fermentationsverlaufs gegeben.

Zum Schluß werden die Erfahrungen aus dem Betrieb der Fermentationsanlage beschrieben.