

## Wspomagany magnetycznie bioreaktor

Przedmiotem wynalazku jest wspomagany magnetycznie bioreaktor kolumnowy typu air-lift z zewnętrzną rurą cyrkulacyjną, który może być stosowany w procesach biotechnologicznych realizowanych przy udziale mikroorganizmów.

Gwałtowny rozwój biotechnologii zaowocował poszukiwaniem nowych typów aparatów umożliwiających wydajniejsze prowadzenie procesów z udziałem mikroorganizmów. W wielu przypadkach procesy tego typu realizowane są przy zastosowaniu natlenienia środowiska reakcji. W tym celu stosuje się różnego typu reaktory barbotażowe typu air-lift, mające za zadanie zintensyfikować transfer masy w układach typu gaz-ciecz. Do zalet tego typu urządzeń należą: prosta budowa, eliminacja mieszania mechanicznego i innych ruchomych elementów, łatwość w eksploatacji i utrzymanie bioreaktora w czystości, możliwość kontrolowania przepływu płynu w reaktorze poprzez ilość włączanego gazu, mniejsza energochłonność w porównaniu do bioreaktorów z mieszadłami mechanicznymi. Główną wadą reaktorów barbotażowych jest brak jednorodnego wymieszania medium hodowlanego, co może znacząco wpływać na jakość i ilość otrzymywanego produktu. Problem ten jest szczególnie widoczny przy stosowaniu kolumny air-lift, w której płyn hodowlany cechuje się wysoką gęstością i/lub lepkością. Dodatkowo do wad tego typu rozwiązań konstrukcyjnych należy zaliczyć stosunkowo krótki czas przebywania fazy gazowej w strefie wznoszenia.

Alternatywą do prowadzenia procesów z użyciem kolumn barbotażowych jest zastosowanie układów wyposażonych w mieszadła mechaniczne. Zastosowanie mieszalników z mieszadłami mechanicznymi do układów z mikroorganizmami może powodować dezintegrację struktur komórkowych. Reaktory kolumnowe typu air-lift umożliwiają realizację procesu mieszania środowiska reakcyjnego poprzez zastosowanie powietrza. Dodatkową korzyścią zastosowania tego typu reaktorów jest zapewnienie odpowiedniego poziomu natlenienia oraz wyeliminowanie mieszadeł, które mogą przyczyniać się do zakażenia środowiska reakcyjnego. Zastosowanie w reaktorach kolumnowych cyrkulacji wewnętrznej lub zewnętrznej mediów wewnątrz aparatu umożliwia również zapewnienie odpowiedniego czasu przebywania cieczy wewnątrz aparatu.

Wymienione powyżej zalety bioreaktora typu air-lift pozwoliły na zastosowanie tego typu aparatów w wielu procesach produkcyjnych. Obecnie trwają intensywne prace nad modyfikacjami konstrukcji tego typu urządzeń przy zastosowaniu różnego typu oddziaływań, w celu zintensyfikowania mieszania medium procesowego przy jednoczesnym zapewnieniu napowietrzenia mieszaniny reakcyjnych oraz obniżeniu kosztów eksploatacyjnych urządzenia.

Przedstawiony w opisie wynalazku US5342781 bioreaktor air-lift z zewnętrzną rurą cyrkulacyjną cechuje się wyodrębnioną w górnej strefie aparatu komorą umożliwiającą separację bioproduktu od medium hodowlanego. Opis wynalazku CN102166501 przedstawia bioreaktor typu air-lift z wewnętrzną rurą cyrkulacyjną, na której wykonano wycięcia. Pierwsze wycięcie umiejscowiono w połowie wysokości aparatu, w ten sposób, że wewnętrzna rura cyrkulacyjna została podzielona na dwie części. Dodatkowo tego typu wycięcie wykonano na połowie wysokości górnego odcinka wewnętrznej rury cyrkulacyjnej. W dolnej strefie aparatu (w wewnętrznej rurze cyrkulacyjnej) umieszczono bełkotkę w celu doprowadzenia gazu i wywołania przepływu w mieszanym medium. Dodatkowa bełkotka została wprowadzona do pierwszego wycięcia. Opis wynalazku US2009030829 dotyczy urządzenia typu bioreaktor air-lift, przy czym wewnętrzną cylindryczną rurę umieszczano w zewnętrznym prostopadłościennym przewodzie. Na ściankach tego przewodu umieszczono system króćców w celu dostarczenia medium hodowlanego do wnętrza aparatu. Na wewnętrznym przewodzie cylindrycznym wykonano system perforacji w celu lepszego rozprowadzenia gazu w bioreaktorze. Przedstawiony w opisie wynalazku CN101130744 bioreaktor air-lift z zewnętrzną rurą cyrkulacyjną zaopatrzone w dodatkowy zbiornik, służący do magazynowania produktów bioprocessów. Zbiornik ten, może być zastosowany również do realizacji procesu separacji uzyskanej biomasy. W patencie US6220822 omówiono reaktor typu air-lift, który składa się z rury zakończonej komorą odpowietrzającą w kształcie prostopadłościanu, w której pod kątem  $45^\circ$  (względem dna) umieszczono przegrodę. W dolnej części przewodu rurowego umieszczono bełkotkę. Zastosowanie tego typu rozwiązania eliminuje konieczność stosowania drugiego przewodu rurowego oraz zapewnia właściwą hydrodynamikę przepływu w napowietrzonym medium hodowlanym. W zgłoszeniu wynalazku SU1634309 opisano usprawnienie kolumny barbotażowej, polegające na wprowadzeniu do przewodu aparatu trzech, różnej długości przegród. Umieszczone w osi symetrii aparatu przegrody rozmieszczone są w taki sposób aby pomiędzy wierzchołkiem

jednej przegrody a końcem drugiej znajdowała się przerwa, umożliwiająca pomiędzy nimi przepływ płynu. Rozmieszczenie w ten sposób przegród wywołuje dodatkowe pętle cyrkulacyjne w mieszanym płynie, co korzystnie wpływa na stopień zatrzymania gazu w medium. W opisie wynalazku EP1170054 zamieszczono opis mieszalnika stosowanego do mieszania gazów i cieczy newtonowskich. W cylindrycznym przewodzie umieszczono system przegród, przymocowanych pod kątem do ścianki zbiornika, w celu zwiększenia stopnia zatrzymania gazu w cieczy oraz polepszenia wymiany masy w układzie ciecz-gaz. Znane jest rozwiązanie z opisu UA55792 przedstawiające aparat do mieszania płynów wykazujących przewodność elektryczną. Mieszalnik wyposażony jest w zewnętrzny generator pola magnetycznego oraz zbiornik wykonany z materiału niemagnetycznego. W objętości roboczej mieszalnika są umieszczone ferromagnetyczne elementy, które w wyniku oddziaływania zewnętrznie przyłożonego stacjonarnego pola magnetycznego ustawiają się zgodnie z kierunkiem działania wektora indukcji magnetycznej. Wytworzony w ten sposób przestrzenny system kanałów umożliwia mieszanie płynu, którego ruch wywołany jest przez zewnętrzne pole magnetyczne. Przedstawiony w opisie wynalazku WO 2007/032472 mieszalnik elektromagnetyczny składa się z trzech uzwojeń umieszczonych wokół cylindrycznego zbiornika mieszalnika. Wirujące pole magnetyczne jest wywoływane przez prąd elektryczny przepływający uzwojeniami. Znany z opisu wynalazku US2010309746(A1) aparat wyposażono w mieszadło mechaniczne w postaci kopuły z wystającymi łopatkami. Kopułę, zaopatrzoną od wewnątrz w magnesy, nakłada się na wystający czop wewnątrz zbiornika mieszalnika. Czop zaopatrzony jest w obracające się magnesy, które sprzęgają się magnetycznie z kopułą mieszającą. Rozwiązanie to ułatwia utrzymanie zbiornika w czystości oraz łatwą zmianę konfiguracji geometrycznej łopatek w kopule w zależności od potrzeb realizowanego procesu. Znane jest również z opisu patentowego LV14032B mieszadło magnetyczne, które znajduje zastosowanie w laboratoriach. Rozwiązanie to polega na wprowadzeniu na dno zbiornika smukłego magnesu stałego, oraz ustawieniu tego zbiornika nad drugim magnesem stałym przymocowanym do powierzchni wału silnika. Ruch obrotowy jednego magnesu powoduje wirowanie sprzężonego magnetycznie drugiego magnesu w zbiorniku. Znany z opisu wynalazku DE102004044635 mieszalnik przeznaczony do mieszania płynów przewodzących prąd elektryczny posiada katodę i anodę; elektrody są otoczone cewkami magnetycznymi. Pole magnetyczne, generowane przez przepływ prądu, wywołuje ruch płynu. Opis zgłoszeniowy wzoru użytkowego CN202157075 dotyczy

bioreaktora typu air-lift z zastosowanym, zewnętrznym generatorem pola magnetycznego. Urządzenie składa się z przepływowego bioreaktora z wewnętrzną cyrkulacją płynu fermentacyjnego, wyposażonego w króćce wlotowy i wylotowy. Króciec wylotowy podłączony jest do rurociągu, na którym zamontowano kolejno generator pola magnetycznego, wymiennik ciepła (w celu kondycjonowania temperaturowego pożywki hodowlanej) oraz pompę cyrkulacyjną. Zastosowanie stacjonarnego lub zmiennego pola magnetycznego umożliwia poprawę rozpuszczania tlenu w medium hodowlanym w celu poprawienia warunków procesowych w zbiorniku bioreaktora.

Tradycyjna konstrukcja reaktora typu air-lift składa się z dwóch, wzajemnie połączonych części (strefa wznoszenia i opadania). Wprowadzenie do strefy wznoszenia gazu, powoduje zmianę w gęstości oraz wywołuje cyrkulację w mieszanym płynie. W tego typu reaktorach rurowych mamy zazwyczaj do czynienia z mieszaniem wzdłużnym (lub dyspersją wzdłużną), polegające na mieszaniu płynu w kierunku zgodnym z masowym przepływem płynu. W aparatach rurowych korzystnym jest zintensyfikowanie przepływu w kierunku promieniowym, co wpłynęłoby bezpośrednio na transfer masy w układzie gaz-ciecz. Można to osiągnąć poprzez zastosowanie zewnętrznych oddziaływań w postaci pola magnetycznego.

Powyższe rozwiązania nie zapewniają wytworzenia odpowiedniego poziomu burzliwości w mieszanym płynie, zwłaszcza w kierunku promieniowym. Zwiększenie efektywności mieszania w bioreaktorze typu air-lift może zostać osiągnięte poprzez zastosowanie odpowiednio skonfigurowanej przegrody. Dodatkowo ukierunkowanie przepływającego płynu w kierunku promieniowym można osiągnąć poprzez zastosowanie generatorów wirującego pola magnetycznego, zapewniającego dodatkowy efekt mieszania. Intensyfikację procesów transportu można osiągnąć poprzez synergię efektów zewnętrznie zastosowanego wirującego pola magnetycznego i wyprofilowanej przegrody.

Wspomagany magnetycznie bioreaktor, według wynalazku, zawierający reaktor air-lift z generatorem pola magnetycznego, charakteryzuje się tym, że ma wznoszącą kolumnę i opadającą kolumnę, połączone od góry z komorą (pełni rolę zbiornika odpowietrzającego), a od dołu z łącznikiem (korzystnie poziomym przewodem rurowym). Korzystnie komora ma postać prostopadłościanu. Obie kolumny umieszczone są w obudowie i każda połączona jest odpowiednio z generatorem wirującego pola magnetycznego. Wznosząca kolumna wyposażona jest w bełkotkę połączoną z pionową przegrodą. Bełkotka pozwala na

wprowadzenie czynnika gazowego do objętości roboczej reaktora . Zarówno bełkotka jak i przegroda umieszczone są tak, że znajdują się w obszarze oddziaływania generatora pola magnetycznego. Wskazane jest, aby w bioreaktorze medium cechowało się przewodnością elektryczną większą od przewodności elektrycznej wody.

Korzystnie łącznik składa się z rurowej części środkowej i dwóch bocznych trójkątów.

Korzystnie wewnątrz łącznika bioreaktora znajduje się zasuwa, umożliwiająca regulację stopnia cyrkulacji medium hodowlanego.

Korzystnie stosunek przekroju poprzecznego wznoszącej kolumny do opadającej kolumny jest nie większy niż 1.

Korzystnie wznosząca kolumna i opadająca kolumna wykonane są z materiału (np. silikon) nie wykazującego właściwości magnetycznych oraz nie tłumiącego zewnętrznie przyłożonego pola magnetycznego.

Korzystnie generator wirującego pola magnetycznego ma postać statora indukcyjnego silnika klatkowego.

Korzystnie uzwojenie generatora pola magnetycznego jest zasilane prądem trójfazowym. Przepływ prądu przemiennego przez trójfazowe uzwojenie wywołuje wewnątrz statora wirujące pole magnetyczne. Podane temu oddziaływaniu medium, które przepływa przez wznoszącą kolumnę, ukierunkowane jest promieniowo ku ściankom przewodu. Dodatkowym efektem stosowania wirującego pola magnetycznego jest ruch płynu w kierunku obwodowym, co wpływa na czas jego przebywania w obszarze roboczym.

Obudowa generatorów jest szczelna oraz wypełniona czynnikiem służącym do stabilizacji temperaturowej generatorów pola magnetycznego. Korzystnie obudowa ma wlotowy króciec i wylotowy króciec czynnika termicznego, umożliwiające podłączenie zewnętrznej pompy cyrkulacyjnej oraz wywołanie obiegu płynu termostatującego aparat.

Korzystnie bełkotka ma kształt łuku, którego końce połączone są cięciwą.

Korzystnie przegroda połączona jest z bełkotką na jej odcinku prostoliniowym.

Korzystnie górna i dolna część przegrody są odgięte w kierunku ścianki opadającej kolumny.

Korzystnie przegroda ma taką szerokość, że jej pionowe krawędzie stykają się ze ściankami wznoszącej kolumny, tak, że przestrzeń wewnątrz tej kolumny jest podzielona na dwie części.

Korzystnie dolne odgięcie przegrody jest poniżej bełkotki.

Wspomagany magnetycznie bioreaktor kolumnowy typu air-lift z przegrodą pracuje w sposób okresowy. Do wnętrza reaktora wprowadza się sterylne medium hodowlane oraz

w przypadku realizacji bioprocesu zaszczepia odpowiednim inokulum. Cyrkulacja płynu wewnątrz bioreaktora wywoływana jest poprzez wprowadzenie do niego przez bełkotkę strumienia gazu o żądanym strumieniu objętościowym. Wywołana w ten sposób różnica gęstości w płynie powoduje jego ruch, który jest uprzywilejowany w kierunku wzdłużnym. Wywołany w ten sposób przepływ medium kieruje je poprzez wznoszącą kolumnę, strefę oddziaływania magnetycznego we wznoszącej kolumnie, komorę, opadającą kolumnę oraz strefę oddziaływania magnetycznego w opadającej kolumnie. Następnie medium powraca do kolumny wznoszącej poprzez poziomy łącznik pomiędzy obiema kolumnami oraz zasilane jest nową porcją gazu. W strefie oddziaływania magnetycznego, dzięki umieszczonej przegrodzie (we wznoszącej kolumnie) z jednej strony przegrody przepływa układ ciecz-gaz (wznoszenie, natomiast po drugiej stronie przegrody przepływa wyłącznie ciecz w przeciwnym kierunku opada). Opadająca ciecz zostaje ponownie zassana przez układ ciecz-gaz powodując, że ciecz wznosząca dzieli się na ciecz porwaną przez wznoszące się pęcherzyki i na ciecz w lokalnej pętli cyrkulacyjnej w obszarze generowanego pola elektromagnetycznego. W przypadku płynu cechującego się przewodnością elektryczną, obecność gradientu pola magnetycznego wywoła ruch płynu w kierunku promieniowym („przyciągnie” cząstki płynu do ścianki aparatu), a następnie w kierunku obwodowym. Przepływający płyn „ślizga” się również po przegrodzie, a wygięty koniec spowoduje jego ukierunkowanie ku ściance kolumny i zderzenie się z „nową” porcją płynu wypływającą z części przewodu do której nie doprowadzono gazu. Wygięty koniec powoduje również możliwość wywołania w przepływającym płynie strumieni przepływających w kierunku przeciwnym do głównego nurtu, które zwracają i są wprowadzane przed bełkotkę. Dodatkowo strumienie te znajdują się w strefie intensywnego oddziaływania pola magnetycznego, co wpływa na intensyfikację burzliwości mieszanego płynu. Płyn po opuszczeniu strefy oddziaływania magnetycznego przepływa przez prostopadłościenną komorę, opadającą kolumnę oraz strefę oddziaływania magnetycznego w opadającej kolumnie. Następnie medium powraca do wznoszącej kolumny poprzez poziomy łącznik pomiędzy obiema kolumnami oraz zasilane jest nową porcją gazu. Prostopadłościenna komora, oprócz funkcji odpowietrzającej, może służyć do gromadzenia produktu w postaci membrany gromadzącej się na powierzchni swobodnej medium hodowlanego (np. proces produkcji celulozy bakteryjnej). Korzystnie, w celu uniknięcia zakażenia, komora wyposażona jest w pokrywę oraz zestaw zaworów, koniecznych do

właściwego prowadzenia bioprocessu. Duża kubatura komory pozwala również na łagodne wyhamowywanie strumienia wypływającego z kolumny wznoszącej oraz uniknięcie w tej objętości gwałtownego mieszania, niekorzystnego w przypadku produkcji biomasy.

Bioreaktor, według wynalazku w znaczący sposób poprawia efektywność procesu mieszania, zapewnia odpowiednią intensywność mieszania w całej objętości aparatu oraz niweluje dominujący efekt mieszania wzdłużnego i promuje mieszanie promieniowe, zwłaszcza w objętości przepływającego płynu poddawanego oddziaływaniom wirującego pola magnetycznego. Regulacja natężenia pól magnetycznych pozwala wywołać odpowiednią cyrkulację mieszanego medium oraz wymagany stopień burzliwości. Zapewnia to właściwy przebieg procesów kinetycznych, jak również otrzymanie produktu o żądanej jakości i ilości. Wspomagany magnetycznie bioreaktor według wynalazku przedstawiony jest w przykładach wykonania oraz na rysunku, na którym Fig. 1 przedstawia wspomagany magnetycznie bioreaktor w przekroju wzdłużnym (widok z przodu), Fig. 2 przedstawia wspomagany magnetycznie bioreaktor w przekroju wzdłużnym (widok z boku), Fig. 3 przedstawia generator wirującego pola magnetycznego umieszczony na wznoszącej kolumnie w przekroju wzdłużnym, Fig. 4 przedstawia generator z Fig. 3 w przekroju wzdłużnym (widok z boku), Fig. 5 przedstawia wznoszącą kolumnę w przekroju poprzecznym, Fig. 6. przedstawia bełkotkę z przegrodą w widoku ogólnym.

#### Przykład I

Wspomagany magnetycznie bioreaktor ma wznoszącą kolumnę 1 i opadającą kolumnę 2, wykonane z materiału niewykazującego właściwości magnetycznych. Dolnymi końcami odpowiednio kolumny 1, 2 połączone są z łącznikiem 3. Łącznik 3 ma postać rurowej części środkowej i dwóch bocznych trójkątów 4 i 4', które zaopatrzone w króćce, niezbędne do poprawnej realizacji procesu hodowlanego. W górnej części bioreaktora znajduje się prostopadłościenna komora 5. Pomiędzy trójkątami 4 i 4' oraz komorą 5 umieszczono obudowę 6, w której umieszczono, osadzone na kolumnach 1 i 2, generatory wirującego pola magnetycznego 7 i 7'. W dolnej części wznoszącej kolumny 1 (na ścianie) umieszczono króciec, przez który do wnętrza wznoszącej kolumny 1 wprowadzono przewód 8, służący do doprowadzenia gazu dla bełkotki 9, do której została przymocowana przegroda 10. Bełkotka 9 ma kształt łuku, którego końce połączone są cięciwą- odcinkiem prostoliniowym, do którego przymocowana jest przegroda 10.

Zasada działania opiera się na wywołaniu cyrkulacji, w znajdującej się wewnątrz bioreaktora cieczy, poprzez wprowadzenie gazu przez zamocowaną na końcu przewodu 8 bełkotkę 9, do której przytwierdzono przegrodę 10. Wprowadzony do wznoszącej kolumny 1 gaz wywołuje ruch cieczy, następnie w komorze 5 następuje rozdzielanie cieczy od gazu. Ciecz powraca do wznoszącej kolumny 1 poprzez opadającą kolumnę 2 i łącznik 3. Na kolumnach wznoszącej 1 i opadającej 2, w obudowie 6, umieszczono odpowiednio generatory wirującego pola magnetycznego 7 i 7'. Bełkotka 9 z przegrodą 10 znajduje się w strefie oddziaływania generatora 7. Powracający z opadającej kolumny 2 do wznoszącej kolumny 1 płyn zostaje rozdzielony przez przegrodę 10 na dwa strumienie oraz zasilony nową porcją gazu.

We wznoszącej kolumnie 1, mieszanina ciecz-gaz przepływa przez strefę oddziaływania generatora 7, natomiast w opadającej kolumnie 2 przez strefę oddziaływania generatora 7' przepływa tylko ciecz.

Dodatkowa cyrkulacja cieczy jaka ma miejsce części wznoszącej kolumny 1 znajdującej się w generatorze wirującego pola magnetycznego 7 wynika z tego, że bełkotka 9 znajduje się tylko z jednej strony przegrody 10. W wyniku doprowadzenia gazu do bełkotki następuje wznoszenie układu ciecz-gaz z jednej strony przegrody przy jednoczesnym ruchu cieczy po drugiej stronie przegrody w przeciwnym kierunku.

#### Przykład II

Bioreaktor wykonany analogicznie jak w przykładzie I, przy czym, w części środkowej łącznika 3 ma zasuwę 10, dzięki której można regulować przepływ cieczy pomiędzy kolumnami 1,2. Generatory 7, 7' wirującego pola magnetycznego mają postać statorów indukcyjnych silników klatkowych. Obudowa 6 ma króćce wlotowy i wylotowy czynnika termicznego. Górna i dolna część przegrody 10 są odgięte w kierunku ścianki opadającej kolumny 2. Przegroda 10 ma taką szerokość, że jej pionowe krawędzie stykają się ze ściankami wznoszącej kolumny 1. Dolne odgięcie przegrody 10 jest poniżej bełkotki 9.