

Fermentor/Bioreaktor MINIFOR.



Naším cílem bylo navrhnout menší laboratorní fermentační tančík s příslušenstvím, který by byl praktický, snadno ovladatelný, zabíral minimální plochu a i přes nízkou cenu umožňoval měření a regulaci běžných kultivačních parametrů v kvalitě dostupné jen u mnohem dražších přístrojů.

Fermentor je koncipován pro fermentace v malých objemech s možností měření a kontroly všech důležitých parametrů. Přístroj je jednoduchý, přehledný a obsluha je velmi snadná. Fermentor potřebuje minimální plochu na laboratorním stole (jen o málo větší než tento list papíru). Několik fermentorů může být přisunuto k sobě čímž vznikne souprava, ve které lze provádět několik fermentací zároveň. Toto je zvláště výhodné při optimalizaci růstových parametrů kultur, biotransformací, hledání různých enzymových aktivit atd. Každý fermentor má přitom svou vlastní elektroniku, displej a klávesnici. Každý fermentor je řízen dvěma mikroprocesory a může být individuálně programován. Všechny **šest parametrů** kultivace mikroorganismu lze jedním pohledem odečíst na displeji. Fermentor nebo i celá řada fermentorů může být připojena na PC vybavený programem FNet nebo SIAM firmy SYSMATEC (Visp, Švýcarsko). V tomto případě PC řídí fermentory a umožňuje zapisování a zpracování dat podle potřeby.

K **podstatnému snížení ceny** fermentoru došlo díky realizaci nápadů a zlepšení založených na zkušenostech dlouholeté praxe v oboru:

- nádoba fermentoru (30-250, 500, 1000, 2000, 3000 a 5000 ml) je vybavena **hrdly se závitů Pyrex** se silikonovým těsněním zaručující sterilitu a snadnou obsluhu, odpadají drahé nerezové příruby a přechod k nádobě jiného objemu je podstatně levnější
- místo klasických vrtulkových míchaček nebo slabých magnetických míchaček, byl použit nový **magnetický vibrační mixer**. Vibrace vedou k intenzivnímu míchání media a k dobrému přenosu kyslíku při maximální šetrnosti k buňkám. Membrána umístěná ve víku tančíku ho hermeticky uzavírá a plně **nahrazuje drahou magnetickou spojku**. Další výhodou je, že se netvoří vír a není potřeba zábran proti němu. Tvorba pěny je snížena.
- velkou novinkou je zavedení nového typu pružného míchacího disku **FISH-TAIL**, který napodobuje rybí ocas. Jsou **odstraněny střížné hrany a víry** na pokraji klasických míchaček, proto je tento typ míchání **velmi užitečný pro buňkové kultury**
- ohřívání a kontrola teploty je dosaženo **novým tepelným zářičem** umístěným pod nádobou. Tepelné záření je mediem rovnoměrně adsorbováno a nikde nedochází k přehřátí. Tím se zabrání připálení kultury na povrchu topných těles umístěných uvnitř media a ušetří se náklady na nádobu s dvojitým pláštěm a ohřevného vodního okruhu s termostatem. Z okolí tančíku tak zmizí původní hadice a kábl.
- namísto běžného a nákladného víka z nerezové uzavíracího fermentory je u Miniforu použito nové umělé hmoty (tato však není v přímém kontaktu s kulturou).
- průtok vzduchu je měřen **hmotovým průtokoměrem**, který ve srovnání s trubičkovým průtokoměrem dává spolehlivé průtokové údaje i při měnícím se tlaku a tím umožňuje přesné měření a regulaci rozpuštěného kyslíku **změnou průtoku vzduchu**.
- použití moderních mikroprocesorů umožnilo vyrobit fermentor/bioreaktor neuvěřitelně **malých rozměrů**, přesto, že v základní verzi se měří a reguluje až šest různých parametrů.

Technický popis:

Základní jednotka:

V základní jednotce jsou uloženy napájení, IR zářič, průtokoměr, elektronika, kabelová spojení a mechanická výztuha. Přístroj je **kvůli přehlednosti konstruován stupňovitě**. V přední části základní jednotky je umístěn ovládací panel s displejem, mikroprocesor a elektronika. Kovový kryt základní jednotky slouží jako plocha pro umístění nádoby fermentoru, pump a lahví s různými roztoky. Kvůli snadnému přístupu jsou pumpy postaveny na nerezových políčkách, které jsou libovolně nastavitelné na dvou zadních tyčích. Na zadní straně základní jednotky jsou konektory k připojení pump a síťový kabel s pojistkou. Láhve s mediem a korekčními roztoky jsou umístěny v praktických držácích s magnetem, který umožňuje bezpečné umístění na libovolném místě vyhrazené plochy. Až sedm lahví zde najde místo.



Ovládání:



Ovládací panel se sestává z čtyřřádkového, podsvíceného displeje a tastatury. Všechny veličiny (**teplota, pH, pO₂, průtok vzduchu, míchání a volitený parametr**) jsou přehledně na první pohled. Ovládání je **jednoduché a logické**. Při překročení nastavených minimálních nebo maximálních hranic parametrů zazní alarm, zmíněná hodnota na displeji je označena hvězdičkou a na společném výstupu alarmů se objeví signál sloužící k ovládání dalších zařízení (např. sběrače frakcí a pod.). Každý fermentor může být připojen na PC přes rozhraní RS 485. PC používá

fermentační program FNet nebo SIAM. Díky programu jsou možnosti zadání a zpracování dat prakticky neomezené. Počet ovládaných fermentorů též není prakticky omezen (FNet je pro 6 fermentorů, SIAM i pro 99).

Nádoba fermentoru:

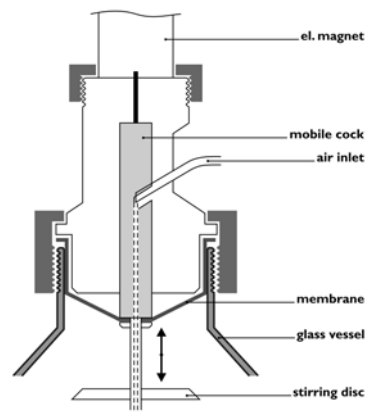


Normální velikosti dodávaných nádob jsou 500 a 1000 ml (jiné velikosti do 3 l mohou být dodány na žádost).

Nádoby jsou zhotoveny ze skla laboratorní kvality (Pyrex) a vybaveny **hrdly (6 až 9) se šroubovými uzávěry** běžně používanými u buněčných kultur. Na centrálním hrdle je přišroubován vibrační mixer. Boční hrdla jsou určena pro odvod vzduchu, pH-elektrodu s termoelementem, kyslíkovou elektrodu, dávkování korekčních roztoků (H⁺, OH⁻, živiny, odpeňovač) očkování a odběr vzorků. Trubičky jsou opatřeny Luer-Lock uzávěrem nebo speciální spojkou z PEEKU. Fermentační nádoba je odnímatelně spojena s vrchní deskou.

Míchání:

Klasické vrtulkové míchačky byly nahrazeny **vibračním mixerem**, který pro míchání v malých objemech přináší nesporné výhody. Intenzita míchání je řízena frekvencí (0-20 Hz) a amplitudou zdvihu (4 - 8 mm). Frekvence míchání je kontrolována mikroprocesorem. Mixer je poháněn elektromagnetem umístěným vertikálně nad nádobou fermentoru. Je spojen dutou osou s jedním, nebo několika míchacími disky. Vzduch je zaváděn pod spodní disk, což zaručuje optimální převod kyslíku do média. Nevzniká **žádný vír** jako je tomu u vrtulkových míchaček. Tento způsob míchání je ke kultuře **šetrnější** neboť se nevytvářejí přetlaky vznikající na hraně rychle se točící vrtulky. Ještě mnohem šetrnější je nový pružný míchací disk FISH-TAIL (viz nahore)



Regulace teploty:

K ohřívání media dochází tepelným zářením ze **zářiče se zlatým reflektorem** umístěným **pod nádobou** fermentoru, kde způsobuje přirozenou konvekci. Záření je rovnoměrně rozptýleno v mediu a nedochází k nebezpečným přehřátím a denaturaci kultury i při velmi malých objemech kultury. Vzhledem k rychlému působení a nízké tepelné kapacitě spirály zářiče je regulace teploty podstatně přesnější. Teplotní čidlo je umístěno v baničce skleněné pH elektrody a proto reaguje velmi rychle. Slouží zároveň k **automatické teplotní kompenzaci pH a pO₂**.



Měření a stabilizace pH:



Hodnota pH je měřena kombinovanou sterilizovatelnou pH elektrodou s **vestavěným teplotním čidlem**. Přidávky kyseliny nebo báze jsou kontrolovány mikroprocesorem. Rychlost přidavku je vypočítávána tak, aby nedošlo k přesažení nastavené hodnoty. Nastavování konstant jako je tomu u PID regulátoru úplně odpadá. Korekční roztoky jsou pumpovány pumpami PRECIFLOW, MULTIFLOW či Hi-FLOW. Rychlost pumpy je regulována s využitím **celého rychlostního rozsahu** pumpy 0–100 % (tento způsob **regulace je jemnější a přesnější** než obvyklé zapínání pumpy s pevně nastavenou rychlostí). Pumpy **nejsou pevně zabudovány** a lze je použít i jinde nezávisle na fermentoru.

Novinkou je možnost zpracování dat aktivity pumpy integrátorem neboť údaj spotřeby korekčních roztoků v čase pomocí integrátoru umožňuje kvantitativní vyjádření aktivity kultury a jejího růstu.

Měření a regulace rozpuštěného kyslíku:



Koncentrace kyslíku v mediu je měřena sterilizovatelnou Clarkovou kyslíkovou elektrodou s automatickou teplotní kompenzací. Použitím velké katody je dosaženo **rychlé** odpovědi elektrody i při použití **zpevněné teflonové** membrány. Zároveň je zkrácena doba polarizace. Regulaci provádí program podobný kontrole pH. Ke zvýšení koncentrace kyslíku dochází **zvýšením průtoku vzduchu** (mass flow meter a proporcionální regulátor průtoku vzduchu).

Přívod a odvod vzduchu:

Vzduch je přiváděn přes sterilní filtr. Spotřebovaný vzduch je odváděn ven z reaktoru přes podobný sterilní filtr. Na žádost je možné dodat chladič **s elektronickým chladičím elementem** (Peltier) (přívod chladičí vody není zapotřebí). Chladič zabráňuje ztrátě vody z fermentoru odpařením. Vzduch proudí přes elastický, samočisticí mikrosparger.



Přidávky a odebírání vzorků:

Přidávky kyseliny, báze, prostředku proti pění, očkování a odebírání vzorků jsou prováděny kapilárami (4) širokých injekčních jehel opatřenými uzávěrem Luer-Lock umístěnými v širším bočním hrdle. Nepoužité vývody jsou chráněny Luer-Lock krytkami. Sterilní odběrka usnadňuje odebírání vzorků.



Sterilizace:

Po oddělení kabelů a uzavření konektorů čepičkami je celý laboratorní fermentor sterilizován jako obvykle v autoklávu (120°C, 25 min.).

Rozměry:

Tak **malý půdorys fermentoru** (22 x 40 cm) nebyl dodnes ještě nikým dosažen a uspoří kromě nákladů na suroviny i drahou pracovní plochu v laboratoři. Přitom dobrý přístup ke všem částem fermentoru je zachován. Uspořádání zásobních lahví, pump a portů je řešeno tak, aby byla dobrá **přehlednost a krátké vzdálenosti**.

Pumpy:

Na zadních konzolách je místo až na čtyři pumpy (PRECIFLOW, MULTIFLOW či HI-FLOW). Jejich připojení je řešeno jedinným kabelem pro napájení a všechny signály. Pumpy jsou připojeny do odpovídajících zásuvek na zadní straně fermentoru. Tyto pumpy jsou kompaktní, **velice kvalitní a úsporné v provozu**, neboť používají levné hadičky a přesto je **průtok konstantní a životnost dlouhá**. Toto umožňuje speciální mechanika.



Měření a regulace průtoku plynů:

Nový měřič a regulátor průtoku plynů **MASSFLOW** byl navržen pro použití MINIFORU pro buněčné kultury. Umožňuje regulaci pH pomocí kysličníku uhličitého a eventuelně dusíku bez použití dalších regulačních stanic.. Lze ho ale použít i nezávisle na fermentoru.

Průtok plynu je měřen **kvalitním hmotovým průtokoměrem**. Hodnota průtoku je vyčíslena na displeji. Linearita měření je +/- 3 % z měřené hodnoty a reprodukovatelnost +/- 0,5 % hodnoty (což je mnohem lepší než běžně udávané odchylky v procentech maximální hodnoty!) Průtok plynů je regulován speciálně vyvinutým proporcionálním jehlovým ventilem kontrolovaným mikroprocesorem. Průtok plynu může být programován (50 kroků programu). Objemové signály umožňují stanovit objem protékajícího plynu. MASSFLOW lze dálkově ovládat analogově i digitálně. Velkou výhodou je možnost dokumentování prošlých objemů v závislosti na čase (kinetické informace o kultuře).

Ovládání počítačem:

K ovládání MINIFORU doporučujeme program FNET, který byl speciálně vyvinut pro tento účel a při jednoduché a logické obsluze nabízí optimální využití bioreaktoru. Až 6 fermentorů, 12 integrátorů a 6 dalších pump může být přímo ovládáno počítačem. Rozsáhlejší program SIAM je též k dispozici pro mimořádně náročná použití.

Napájení a spotřeba proudu:

MINIFOR je napájen spínaným počítačovým zdrojem (je vyráběn v obrovských sériích, což vede též ke snížení výsledné ceny).

Napájecí napětí: 100-245 V / 50-60 Hz

Spotřeba proudu: max. 400 W

Technické údaje:

<i>Rozměry:</i>	22 x 40 x 38 cm (šířka x hloubka x výška)
<i>Displej:</i>	LCD 4 x 40 čísel s podsvětlením
<i>Fermentační tančík:</i>	z chem.skla s 5-8 hrdly objem 0,25 , 1 l , 2 l , 3 l , 5 l (jiné objemy na přání)
<i>Tepelný zdroj:</i>	speciální tepelný zářič se zlaceným reflektorem 5 V/150 W
<i>Měření teploty:</i>	0 - 99,9°C po 0.1°C (Pt 100)
<i>Přesnost teploty:</i>	+/- 0,2°C (od 0 do 60°C)
<i>Rozsah regulace teploty:</i>	5°C nad teplotou místnosti do 60°C (s Peltier chladičem již od 15°C)
<i>Měření a regulace pH:</i>	0–13 po 0.01pH sterilizovatelnou kombinovanou pH elektrodou se zabudovaným termočidlem Pt 100, automatická teplotní korekce Variopin konektor, dvoubodová semiautomatická kalibrace
<i>Rozlišení:</i>	0,01 pH
<i>Přesnost:</i>	+/- 0,02 pH
<i>Měření a regulace kyslíku:</i>	sterilizovatelná elektroda typu Clark s rychlou odpovědí a zesílenou teflonovou membránou, tělo elektrody PEEK, automatická teplotní korekce, dvoubodová semiautomatická kalibrace
<i>Rozsah měření:</i>	0 - 25 mg O ₂ /l po 0,1 mg/l
<i>Měření průtoku vzduchu:</i>	0-5 l/ min. po 0.1 l/min. hmotovým průtokoměrem
<i>Tlak vzduchu:</i>	0,05 - 0,2 MPa
<i>Regulace vzduchu:</i>	proporcionálním ventilem (kov s paměťovým efektem)
<i>Míchání:</i>	elektromagnetem 0 - 20 Hz, 12 V/ 40 W, sterilita jako s magnetickou spojkou
<i>Volitelná regulace:</i>	jeden volitelný parametr se vstupem 0 - 10 V může být měřen a regulován ve volitelném směru (se stoupající nebo klesající hodnotou) (použití pro odpěňování, pCO ₂ , optickou densitu, vodivost a jiné)
<i>Odběr vzorků:</i>	4 kanyly průměr 3 mm s Luer-Lock
<i>Pumpy:</i>	konektory pro 4 pumpy Preciflow, Multiflow, HiFlow (dálkové proporcionální ovládání rychlosti 0-100%)
<i>Externí alarm:</i>	signál 12 V/1 A
<i>Pracovní teplota:</i>	0 - 40°C
<i>Pracovní vlhkost:</i>	0 - 90%
<i>Váha:</i>	7,5 kg
<i>PC ovládání:</i>	kompletní kontrola až 6ti fermentorů a zpracování dat pomocí programu FNet nebo SIAM

Další příslušenství:

- pumpy (PRECIFLOW, HiFLOW, MULTIFLOW, lineární dávkovač VIT-FIT)
- Integrátor pump (pro jednoduché získání kinetických údajů kultury, aktivity etc.)
- elektrody pH, pO₂,
- menší a větší fermentační nádoby
- elektrický chladič výstupu vzduchu princip Peltier (bez přívodu vody)
- chladičí prst pro kulturu
- fermentační nádoby s dvojitým pláštěm
- automatické odebírání vzorků (OMNICOLL)
- vzduchový redukční ventil
- adaptor pro použití fermentoru pro buněčné kultury
- zařízení k odpěňování
- air lift adaptor
- FNet s integrací aktivity pump (fermentační-program www.sysmatec.ch)
- SIAM prům. program pro fermentace s možností vlastního uspořádání podle potřeby uživatele
- náhradní součástky a spotřební materiál
- MASSFLOW měření a regulace průtoku plynů a automatické kontroly pH a pO₂ u buň. kultur
- váhový modul pro kontinuální procesy
- v přípravě opt. detektor pro turbidostat
- další zařízení a modifikace na přání klientů

Lambda
Dr.Pavel Lehky, Imfeldsteig 12
CH-8037 Zürich, Švýcarsko
Tel./Fax 0041 1450 2071
Mobil phone: 00420 603 274 677
E-mail: info@lambda-instruments.com
Web pages: www.lambda-instruments.com

Lambda CZ s.r.o.
Lozibky 1
CZ-614 00 Brno
Tel./Fax +420 545 578 643
Hot line: +420 603 274 677