

Biotecnología

S. Werner, Assistent Bioverfahrenstechnik,
Hochschule Wädenswil, Gröental, Schweiz, Dr. M.
Nägeli, Produktmanager Bioreaktoren, zeta AG,
Bio- und Verfahrenstechnik, Rapperswil, Schweiz

En biotecnología, los sistemas de mezcla por vibración a diferencia de los sistemas de mezcla por agitación están poco difundidos. Sin embargo estos sistemas no han sido superados en aquellas aplicaciones en las que la rotación no está indicada. Dicha aplicación es la tendencia para los reactores biológicos de un solo uso. El siguiente estudio presenta una **descripción del sistema de mezcla por vibración como el que se utiliza en los sistemas de biorreactores de un solo uso** de la gama de productos bio-t bag de la empresa zeta-Bio-and Processtechnology.

Buenas Vibraciones

Descripción de un nuevo sistema de biorreactor de un solo uso

El sistema de mezcla por vibración estudiado consiste en un elemento mezclador vertical oscilante que consta de un eje sobre el que está situado un disco perforado. El elemento mezclador está soldado a la lámina del biorreactor de un solo uso junto a su sistema de medición formando así un biorreactor completo. Gracias al movimiento vertical oscilante del disco, el líquido se pone en movimiento por los orificios cónicos del disco, formándose una corriente axial. Según la disposición de los orificios cónicos del disco se crea una corriente ascendente o descendente. La corriente se caracteriza por una mezcla completa muy buena que no precisa el empleo de trucos. La formación de vortices queda completamente inhibida. Además, el esfuerzo de corte en el recipiente debido a la corriente puede considerarse despreciable. [1].

Separación hermética

La ventaja de este sistema de mezcla consiste en la separación hermética y eficaz del entorno gracias a la lámina oscilante que forma parte del biorreactor de un solo uso.



Los acoplamientos magnéticos o las juntas deslizantes habituales en los reactores biológicos ya dejan de ser necesarias en este diseño de reactor.

En consecuencia, el innovador sistema de biorreactor desechable, cuya patente está en trámite, se construye sobre el diseño del biorreactor bio-t mini convencional. Por lo tanto, desde la unidad de control ya implantada hasta el accionamiento del motor (vibromezclador en vez de agitador) y la técnica de medición son idénticos.

Por el contrario, la estructura del biorreactor de un solo uso es nueva. La emisión de rui-

dos ha sido mejorada sin compromiso en el nuevo motor que genera el movimiento oscilante vertical. Por lo tanto, el biorreactor desechable de un solo uso puede funcionar en laboratorio sin problemas.

Un sistema de biorreactor desechable que ha sido adoptado para uso industrial también debe demostrar su capacidad de escalado. Por ello, se encargaron estudios relativos a la posibilidad de escalado industrial en la Escuela Técnica Superior Wädenswil, Suiza. La incorporación de oxígeno en un sistema resulta especialmente interesante para el cultivo de material biológico y el escalado se utiliza como un posible parámetro de semejanza. Como magnitud característica se determina el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (valor $k_L a$). Según la teoría de las dos películas, el valor $k_L a$ se compone de la superficie límite de las fases y del coeficiente de difusión K_L [2].

Máxima potencia

Para el estudio se utilizaron los dos sistemas de reactor bio-t bag más pequeños (volumen de trabajo 2 litros y 10 litros) de la



Reactor biológico bio-t bag.

Sistema de mezcla utilizado	Tasa de gasificación / vvm	coeficiente de transferencia de oxígeno / $k_L a \cdot h^{-1}$
2 l bio-t bag	0,05	26
	0,1	38
	1	82
10 l bio-t bag	0,05	11
	0,1	14
	1	55

Valores $k_L a$ del sistema de mezcla bio-t bag con la máxima captación de energía.

empresa zeta. Las pruebas se realizaron con ambos sistemas de mezcla por vibración en reactores de cristal con 1,8 litros y 10 litros de agua desionizada y a 20° C. El rendimiento del sistema de mezcla por vibración puede verse afectado por la libre elección de la amplitud (0-100 %) y de la frecuencia (0-50 Hz). Los experimentos se realizaron a máxima potencia. Se varió la tasa de aireación. A este respecto se tuvieron en cuenta la graduación biológica adecuada, tanto para los cultivos celulares de animales como de plantas así como para los microorganismos. El disco perforado utilizado generó una corriente ascendente.

Para la determinación del valor $k_L a$, el oxígeno suelto fue completamente eliminado del medio mediante nitrógeno y, a continuación, se volvió a incorporar mediante gasificación de oxígeno (método dinámico de incorporación de gas). La medición del curso se efectuó midiendo con una sonda (Mettler Toledo), asequible en el mercado, la presión parcial de oxígeno mediante un procedimiento amperimétrico (electrodo de Clark). Una regresión no lineal considerando

la inercia de la sonda en un balance de masa ampliado con un parámetro adicional [3] sirvió para la determinación del parámetro $k_L a$ buscado.

Resultados positivos

Se analizó la gasificación sumergida producida por el eje del vibromezclador para las diferentes tasas de aireación y se determinaron los valores $k_L a$ que se resumen en la tabla.

Se investigaron los datos publicados en la bibliografía relativos a los sistemas estándar y desechables para el cultivo celular estándar que pasamos a detallar a continuación. En el biorreactor Wave se obtuvieron coeficientes de transporte de oxígeno de máximo 11,2 h^{-1} [4]. En un reactor con agitación 1-1 con gasificación por membrana sin burbujas, los autores observaron valores de máximo 6,4 h^{-1} y una gasificación superficial de 3,1 h^{-1} . En un reactor de oscilación 8⁻¹ se obtuvieron valores $k_L a$ -de máximo 13 h^{-1} . Terrier et al. [5] informaron de valores $k_L a$ de hasta 10 h^{-1} en sistemas desechables con movimiento ondulante y en un nuevo tipo

de columna de burbujas hasta 17 h^{-1} en una escala de aprox. 60 l de volumen de reacción. Con todo ello, el bio-t bag se posiciona en la banda superior en cuanto a la calidad del transporte de oxígeno por encima del límite de fases. Por lo tanto, el desarrollo posterior continúa con sistemas biológicos. Los primeros estudios con diversos tipos celulares (CHO, Sf9) y microorganismos (E. coli) tuvieron éxito. Gracias a la capacidad del mezclador de variar las potencias en un amplio rango, se dan posibilidades similares a las de un reactor con agitación estándar.

Perspectivas

Con estos resultados positivos, el desarrollo posterior del bio-t bag se amplía a la siguiente escala (50 l, 250 l, 1250 l). Junto con otros parámetros físicos como los tiempos de mezcla, el enfoque se centra en los sistemas dinámicos así como en la simulación de las corrientes por ordenador.

Citas bibliográficas:

- [1] Griffiths, B.: „Scaling-up of animal cell cultures”, Masters JRW (eds), Animal cell culture: A practical approach. 2000. Oxford University Press, Oxford. p. 19-68.
- [2] Lewis, WK.; Whitman, WG.: „Principles of gas absorption”, Ind Eng Chem 16 (1924) 1215-1220.
- [3] Pérez, J.; Montesinos, JL.; Gòdia, F.: „Gas-liquid mass transfer in an up-flow cocurrent packed-bed biofilm reactor”, Biochem Eng J 31 (2006) 188-196.
- [4] Eibl, R; Eibl, D.: „Design and use of the Wave bioreactor for plant cell culture”, Dutta, S.; Ibaraki, Y. (eds), Plant tissue culture engineering, 2006. Springer, Dordrecht. p. 203-227.
- [5] Terrier, B.; Courtois, D.; Henault, N.; Cuvier, A.; Bastin, M.; Aknin, A.; Dubreuil, J.; Petiard V.: „Two new disposable bioreactors for plant cell culture: _e wave & undertow bioreactor and the slug bubble bioreactor”, Biotechnol Bioeng. 2006 Sep 27; [Epub ahead of print] BioTec 3/2007

Abreviaturas

CHO XM 111: Línea celular transfectada de ovario de hámster chino (ETHZ Fussenegger-Gruppe)

E. coli: Escherichia coli

Sf9: Spodoptera frugiperda (tipo salvaje, DMSZ)

$k_L a$: coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno

vvm: Volumen corriente de gas normalizado