

Warszawa, dnia 1 grudnia 2025 r.

mgr. inż. Mateusz Bartczak
Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej
Zakład Biotechnologii i Inżynierii Bioprocessowej
Politechnika Warszawska

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ
pt. „Intensyfikacja wymiany masy w bioreaktorze z mieszaniem typu wave”

promotor: dr hab. inż. Maciej Pilarek, prof. uczelni

Bioreaktory *single-use* z mieszaniem typu *wave* wyróżniają się na tle klasycznych bioreaktorów, jak i innych aparatów typu *single-use*, zastosowanym mechanizmem wzbudzania przepływu fazy ciekłej, który wymuszany jest oscylacyjnymi wychyleniami zużywalnego polimerowego zbiornika mocowanego do dedykowanej platformy. Polimerowe zbiorniki bioreaktorów *single-use* z mieszaniem typu *wave* są wykonane ze zgrzewanych płatów folii, a faza ciekła wypełnia je tylko częściowo, tak by zapewnić możliwość stałego lub okresowego przepływu strumienia fazy gazowej nad falującą cieczą. Pomimo stosunkowo krótkiego okresu dostępności na rynku oferowanej komercyjnie aparatury, a co za tym idzie niedługiego czasu rutynowej eksploatacji w przemyśle, bioreaktory z mieszaniem typu *wave* są szeroko wykorzystywane w nowoczesnych obszarach przemysłu biofarmaceutycznego. Okazuje się, że wydajności mieszania oraz wnikania masy charakteryzujące mechanizm wzbudzania przepływu cieczy zastosowany w urządzeniach tego typu są wielokrotnie mniejsze w porównaniu do klasycznych bioreaktorów. Z tego powodu aplikacyjność bioreaktorów z mieszaniem typu *wave* jest obecnie ograniczona do realizacji bioprocessów z wykorzystaniem biomasy charakteryzującej się umiarkowanym tempem proliferacji i umiarkowaną szybkością asymilacji tlenu.

Celem badań było opracowanie prototypu oraz bioprocessowa walidacja modyfikacji intensyfikujących wymianę masy w polimerowych zbiornikach Cellbag™ bioreaktora *ReadyToProcess WAVE™ 25*. Zakres podjętych badań eksperymentalnych dotyczył: opracowania charakterystyki wydajności mieszania w fazie ciekłej poddawanej oscylacyjnym wychyleniom w zależności od parametrów operacyjnych pracy bioreaktora, zbadania wpływu zmian wybranych właściwości fazy ciekłej na wydajność wnikania masy, opracowania autorskiej adaptacji metody kolorymetrycznej do pomiaru czasu mieszania w układzie i analizy struktury falującej powierzchni międzyfazowej gaz-ciecz, oraz bioprocessowej walidacji prototypowych modyfikacji polimerowych zbiorników podczas serii wgłębnych okresowych hodowli komórek *Nicotiana tabacum* linii BY-2.

Zbadano wpływ składu fazy ciekłej i dodatku środka przeciwpiennego oraz lepkości fazy ciekłej na wydajność wnikania masy przez falującą powierzchnię międzyfazową gaz-ciecz. Wykazano, że wzrost lepkości fazy ciekłej w badanym polimerowym zbiorniku powodował spadek wydajności wnikania masy, określony ilościowo poprzez pomiary współczynnika $k_L a$ przy zastosowaniu metody odgazowywania. Na podstawie wyników eksperymentów wnioskowano, że obecność środka przeciwpiennego i zmiana składu fazy ciekłej łącznie wpłynęły na zmianę stosunku współczynnika wnikania k_L i powierzchni właściwej a , powodując w badanym układzie spadek wydajności wnikania masy.

Wyznaczono wartości czasu mieszania dla pełnego zakresu parametrów operacyjnych bioreaktora z mieszaniem typu *wave*. Przyjmując metodykę planowania eksperymentu DoE, zidentyfikowano istotny statystycznie wpływ amplitudy α i częstotliwości ω wychyleń platformy bioreaktora (najsilniejszy wpływ) oraz stopnia napełnienia zbiornika fl na wartości czasu mieszania, oraz stwierdzono brak istotnego wpływu parametru acc . Zaproponowano równania korelacyjne do szacowania wartości czasu mieszania w zależności od wartości parametrów operacyjnych bioreaktora w zbiornikach Cellbag™ o dwóch różnych objętościach nominalnych oraz umożliwiające szacowanie wartości parametrów operacyjnych, przy których wartości czasu mieszania w porównanych zbiornikach były zbliżone. W celu wydajnego i dokładnego pomiaru czasu mieszania w układzie bioreaktora z mieszaniem typu *wave* opracowano adaptację metody kolorymetrycznej bazującą na zaprojektowanym na potrzeby badań układzie do rejestracji materiału filmowego oraz autorskim algorytmie do przetwarzania i analizy obrazu.

Opracowano prototypy polimerowych zbiorników Cellbag™ zmodyfikowanych strukturalnie w celu zwiększenia wydajności mieszania i wnikania masy poprzez umieszczenie na dolnej powierzchni wewnątrz zbiornika półkulistych wypustek. Dobór geometrii modyfikacji zweryfikowano na podstawie wyników symulacji CFD przepływu cieczy wewnątrz zbiornika dla trzech wariantów modyfikacji. Następnie wybrany wariant scharakteryzowano ilościowo pod kątem wpływu na wartości czasu mieszania i współczynnika $k_L a$, identyfikując istotne statystycznie zmiany wartości parametrów wskazujące na pożądane zwiększenie intensywności mieszania i wnikania masy w zmodyfikowanym polimerowym zbiorniku.

Na końcowym etapie badań doświadczalnych przeprowadzono bioprosesową walidację aplikacyjności wybranego wariantu modyfikacji poprzez porównanie wartości parametrów charakteryzujących przebieg hodowli komórek *Nicotiana tabacum* linii BY-2 przeprowadzonych w niezmodyfikowanych i zmodyfikowanych zbiornikach. W przypadku hodowli w zmodyfikowanych zbiornikach zaobserwowano wymierne zmiany przebiegu hodowli: około jednodniowe korzystne przedłużenie okresu dostępności tlenu rozpuszczonego w medium hodowlanym, przy jednoczesnym spowolnieniu tempa spadku stężenia tlenu w stosunku do hodowli kontrolnej, przesunięcie maksimum aktywności metabolicznej hodowanych komórek o około jeden dzień wcześniej w porównaniu do hodowli kontrolnej, zwiększenie końcowej wydajności hodowli oraz zmiany w rozkładzie stężenia cukrów w medium hodowlanym w trakcie hodowli, wskazujące na zwiększenie szybkości przemian metabolicznych zachodzących w komórkach hodowanych w zbiorniku, w którym burzliwość przepływu była zwiększona dzięki zastosowaniu wypustek.

Słowa kluczowe: bioreaktor z mieszaniem typu *wave*, czas mieszania, współczynnik $k_L a$, metoda kolorymetryczna, komórki *Nicotiana tabacum* BY-2, intensyfikacja wymiany masy, ReadyToProcess WAVE™ 25.