

Biotechnologický proces

Milan Bartoš

Medicina tertii ordinis

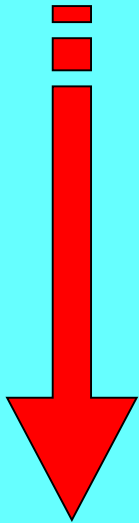
Přednáška Biotechnologie léčiv 2022

Obsah přednášky

- 1) Pojem biotechnologický proces a jeho fázování**
- 2) Suroviny pro fermentaci**
- 3) Procesy sterilizace**
- 4) Bioreaktory a fermentory**
- 5) Procesy kultivace, růstové parametry buněčných kultur**
- 6) Biotechnologický kámen mudrců**

Fáze biotechnologického procesu

SUBSTRÁT



PRODUKT

1. fáze = „upstream processing“

2. fáze = bioproces

3. fáze = „downstream processing“

Dílčí postupy biotechnologického procesu

- 1) **Předběžná úprava výchozí suroviny**
- 2) **Sterilizace látek v kultivačním prostředí**
- 3) **Vlastní biochemická přeměna**
- 4) **Dezintegrace produkčního mikroorganismu (neplatí pro secernovaný produkt)**
- 5) **Izolace produktu**
- 6) **Dodatečná úprava produktu**

Produkty biotechnologického procesu

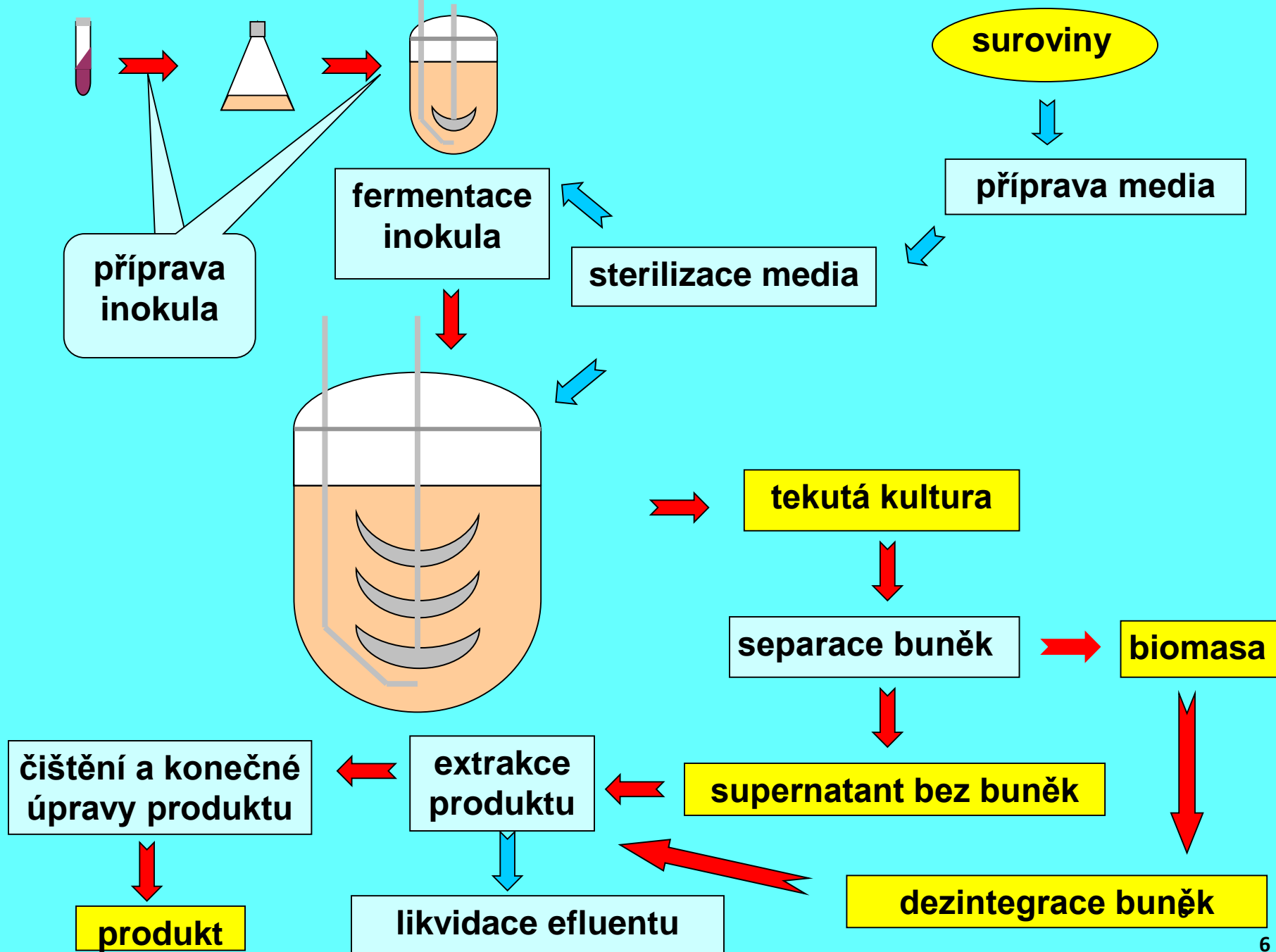
Biomasa

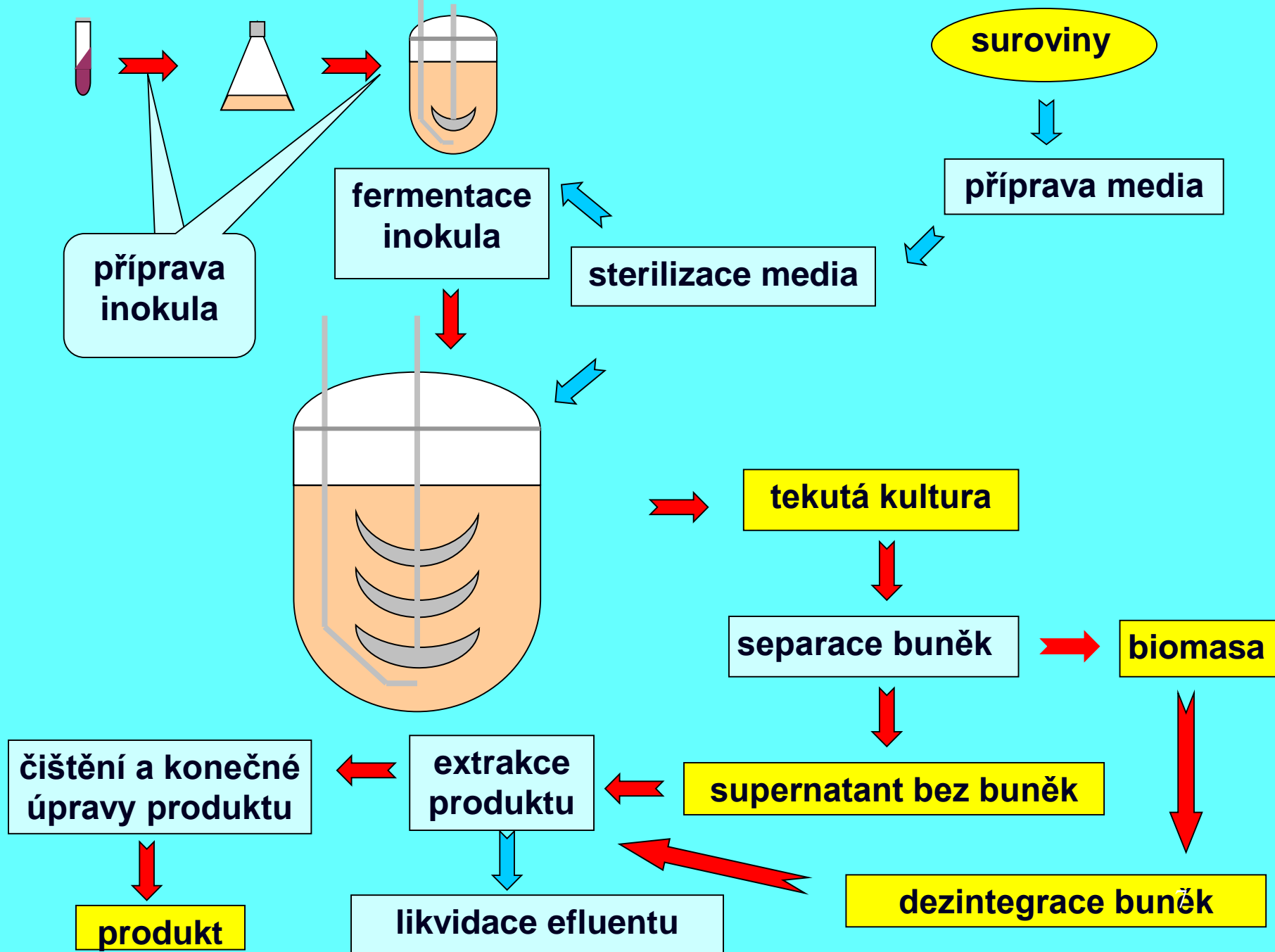
Extracelulární produkty



**Biomasa i extracelulární produkty obsahují
metabolity**

- **primární**
- **sekundární**







Suroviny pro fermentační proces

1. Voda

2. Vzduch

3. Zdroje uhlíku

➤ **Sacharidy**

➤ **Komplexní substráty**

➤ **Rostlinné oleje a živočišné tuky**

➤ **Petrochemické zdroje**

➤ **Syntetické alkoholy**

➤ **Organické kyseliny**

4. Makroelementy

5. Mikroelementy

6. Růstové faktory

7. Odpěňovací prostředky

Voda ve fermentačním procesu

Normální pitná voda upravená (deionizovaná voda)

- **příprava živných půd**
- **vypírání biomasy**

Technická voda

- **chlazení živného média**
- **na regulaci teploty kultivace**
- **mytí kultivačních zařízení**



Vzduch ve fermentačním procesu

- Většinou se jedná o aerobní procesy
- Provzdušňování - mícháním, profukováním, ...
- Provzdušňování - povrchové nebo submerzní

Některé organismy naopak v přítomnosti kyslíku nerostou a neprodukují příslušný metabolit → odstranění kyslíku probubláváním média metanem nebo CO_2



Makroelementy ve fermentačním procesu

Zdroje dusíku

- amoniak, amonné soli
- aminokyseliny, močovina
- kukuřičný výluh, mouky rostlinného původu
- pepton, kvasničný extrakt



Zdroje fosforu

- anorganický fosfor (K_3PO_4 , Na_3PO_4 , $(NH_4)_3PO_4$)
- přírodní zdroje (kukuřičný výluh, arašídová mouka, sójová mouka, odpady při zpracování masa a ryb - kosti)

Mikroelementy ve fermentačním procesu

Biogenní prvky

K, S, Ca, Mg, Na

Stopové prvky

Fe, Zn, Mn, Cu, Co, ...

Laboratorní podmínky

- **anorganické soli, nejčastěji sírany a chloridy**

Průmysl

- **kukuřičný výluh, sojová a arašídová mouka, řepná melasa, syrovátka, ...**

Růstové faktory, prekursorry, ochranné látky

Vitamíny

- **B = pekařské kvasinky**

Aminokyseliny

- **v čisté podobě nebo přírodní materiály**

Prekurzory

- **přídavek kyseliny fenylactové nebo fenylacetamidu zvyšuje výtěžek penicilinu G**

Pufry

- **udržení pH, například CaCO_3**

Antibiotika

- **pokud neinterferují s produkcí a následnou purifikací**

Odpěňovací prostředky

- pění je **typickým průvodním jevem** většiny průmyslových fermentačních pūd s vysokou koncentrací substrátů
- **struktura pěny** je ovlivněna řadou faktorů (pH, media, teplota, viskozita...)
- **každý použitý substrát** určitým způsobem ovlivňuje tvorbu pěny

- odpěňovací prostředky (přirodní rostlinné nebo živočišné a syntetické) často zároveň slouží i jako **zdroj uhlíku**
- obecně by pro ně mělo platit, aby působily již **v nízké koncentraci** a **dlouhodobě**, aby **nebyly toxické** vůči danému mikroorganismu

- používají se **přirodní oleje a tuky**, vyšší alkoholy, deriváty sorbitanu, polyethery a silikony různého složení



Sterilizace

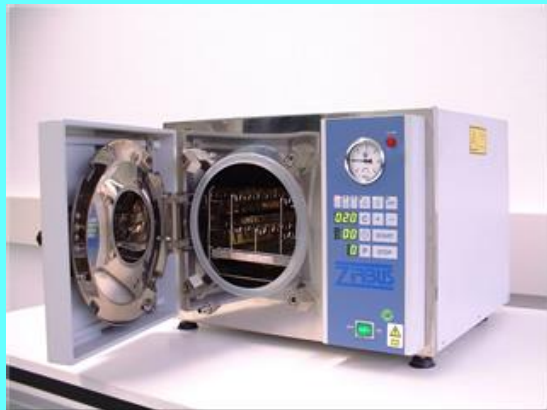
Cílem sterilizačního procesu je odstranění všech přítomných mikroorganismů

Způsoby sterilizace

- **teplem**
- **filtrací**
- **chemicky (β -propiolakton, ethylenoxid, propylenoxid a glutaraldehyd)**
- **záření (RTG, β -záření, UV-světlo a ultrazvuk)**

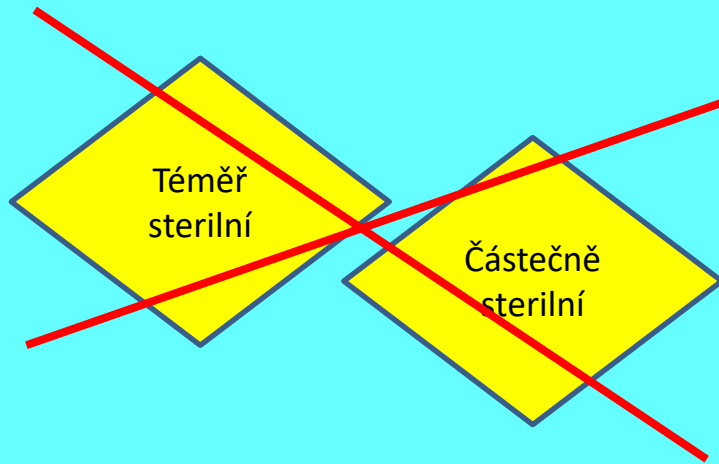


Příklady sterilizátorů



Koncept sterilizace

Sterilizace je pojem absolutní = neexistují stupně sterility



Částečně?



!!! Nelze garantovat sterilitu, jen vyjádřit pravděpodobnost sterility !!!

Pravděpodobnost sterility

Vyjadřuje se v hodnotách 10^{-6} , tedy 1 přeživší mikroorganismus z milionu

Pravděpodobnost sterility 10^{-6} znamená, že existuje možnost 1 ku milionu, že je věc pořád kontaminovaná



Pravděpodobnost sterility

Takže, když vyrobím milion ampulek léku, jedna bude kontaminovaná?



Tady jsem!

Ano, ale nedá se zjistit, která



Rychlost eliminace organismu

Hodnota D (decimální redukční čas)

= čas vyžadovaný k redukci populace na 10%

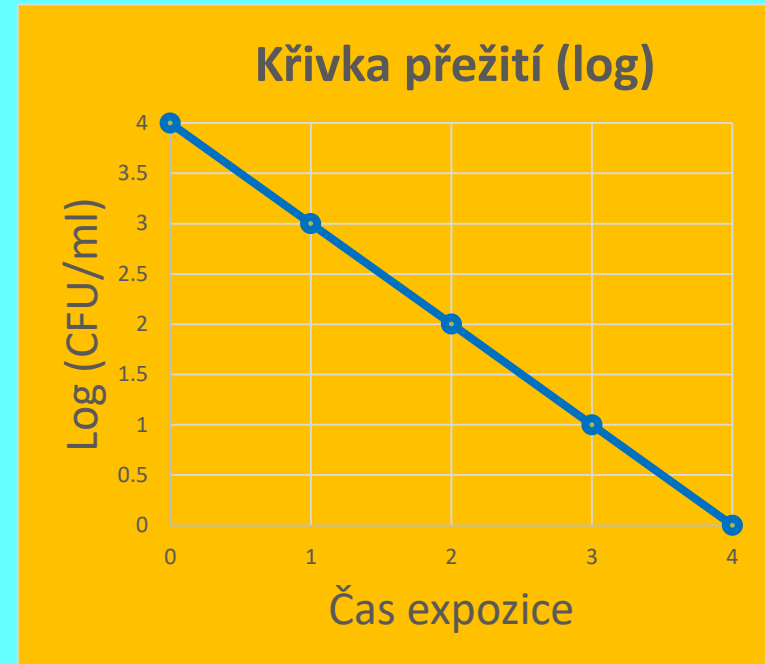
Hodnota Z

**= parametr vyjadřující vliv teploty na rychlost eliminace
(počet °C nezbytných pro změnu hodnoty D 10x)**

Hodnota F

**= určený pro srovnání efektu eliminace mezi autoklávy
(umožňuje např. změnit dobu eliminace při konstantním
nastavení teploty)**

Křivka přežití



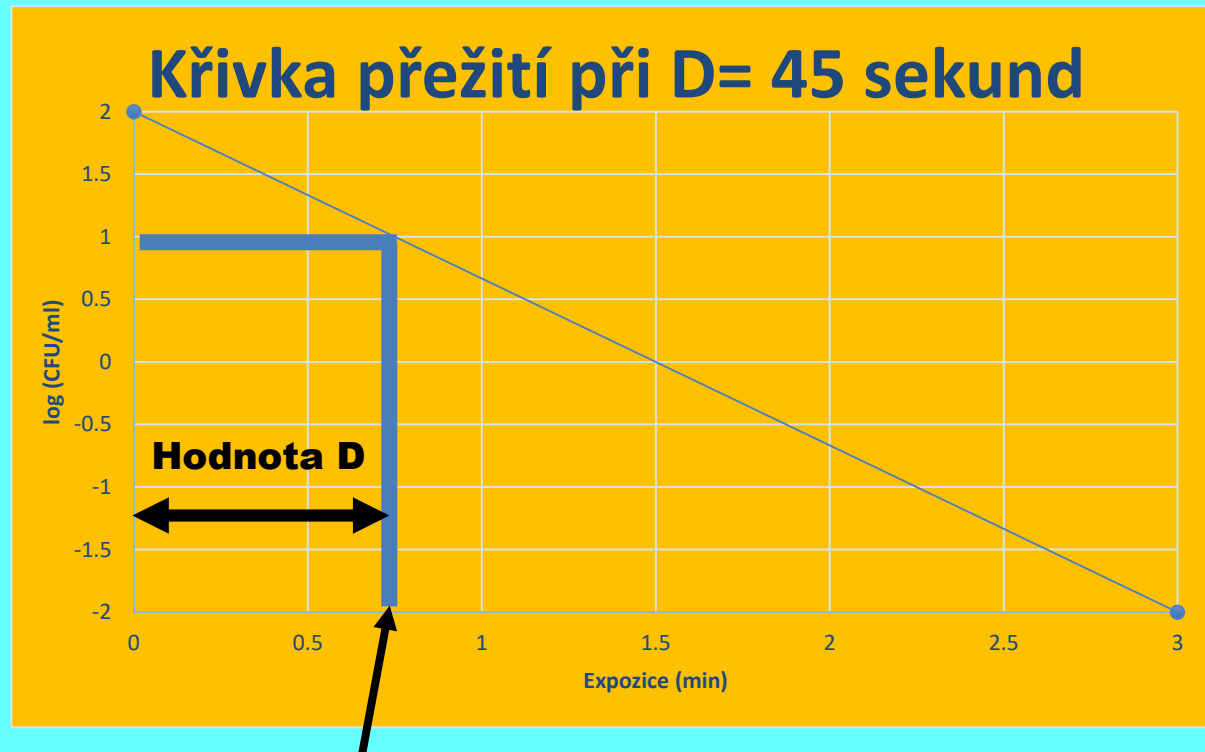
POZOR!

Graf pro 1ml ampule. Po 5 minutách přežije 0,1 cfu/ml, tedy v 10ml ampulích bude 9 sterilních a 1 nesterilní, atd...

Vysvětlení hodnoty D

= čas vyžadovaný k redukci populace na 10%

= rychlost inaktivace bakterií



D = 0,75 minuty

Inaktivační faktor IF

= kolik bakterií je inaktivováno

$$IF = N_0/N = 10^{t/D}$$

N_0 = počet bakterií na počátku, N = počet bakterií na konci,

t = čas expozice, D = hodnota D

IF (při 121°C) po dobu 15 min (při $D = 1,2\text{min}$) = $10^{15/1,2} = 10^{12,5}$

To znamená, že populace poklesne 10x ve 12,5 cyklech

Vysvětlení hodnoty Z

= udává teplotu (ve °C) při které dojde k redukci hodnoty D 10x

Teplota par (°C)	Hodnota D (min)
99	120
110	12
121	1,2

Hodnota Z se v tomto případě rovná?



11°C



Hodnoty se pohybují mezi 8-14°C, používá se proto hodnota 10

Vztah Z a D

$$Z = (T_2 - T_1) / (\log D_1 - \log D_2)$$

Stanovte hodnotu D při sterilizaci spór za teploty 121°C , jestliže víte, že při 115°C byla hodnota Z = 10,5°C a hodnota D = 9 minut.



Řešení je na dalším snímku

Vztah Z a D - řešení

$$Z = (T_2 - T_1) / (\log D_1 - \log D_2)$$



$$\log D_1 - \log D_2 = (T_2 - T_1) / Z$$

$$\log 9 - \log D_2 = (121 - 115) / 10.5 = 0,571$$

$$\log D_2 = \log 9 - 0,571$$

$$\log D_2 = 0,383$$

$$D_2 = 2,42 \text{ minuty}$$

Vysvětlení hodnoty F_0

Pro běžně používané hodnoty $Z = 10$ užíváme hodnotu F_0

$$F_0 = \Delta t \times \sum 10^{(T-121)/Z}$$

Je-li teplota 115°C udržována po dobu 1 minuty, pak

$$F_0 = 1 \times 10^{(115-121)/Z}$$

$$F_0 = 1 \times 10^{(-6/10)}$$

$$F_0 = 0,251 \text{ minut}$$

Tzn., že 1 minuta expozice při 115°C má stejný efekt jako 0,251 minuty při teplotě 121°C

Příklad

Pokud je pro sterilizační efekt nutné udržovat teplotu stabilně při 115°C po dobu 30 minut, jakou dobu bude nutné sterilizovat při teplotě 121°C?

Výsledek

Hodnota $\Delta t = 30$, tedy

$$**F_0 = 30 \times 0,251 = 7,53 \text{ minuty}**$$

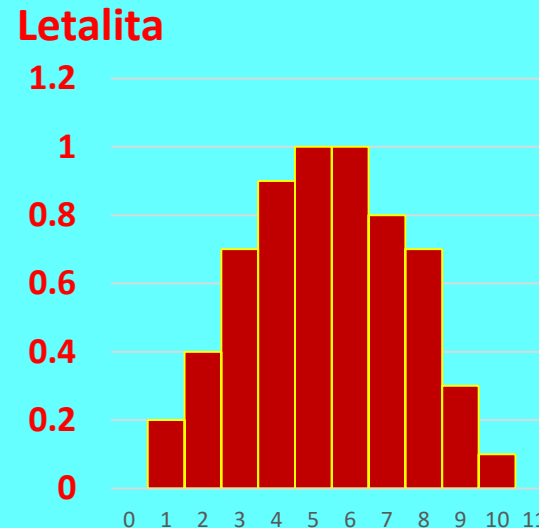
Komplikace

Autokláv se ohřívá a chladí a i tyto teploty mají vliv na sterilizaci

Proto je ve vzorci ta Σ

Parametry sterilizace se tedy počítají jako součet dílčích časů a dílčích konkrétních teplot

K tomu je možné využít softwarové nástroje, třeba tabulku v EXCEL



Sterilizace živného média a zařízení - I

Tepelná destrukce mikroorganismů

- **tepelné denaturace jednoho nebo několika enzymů základního významu**

Rychlost destrukce je ovlivněna

- **vnějším prostředím (množství vody, pH média, koncentrace rozpuštěných látek v médiu,...)**
- **fyziologickým stavem buněk**

Tepelně nejodolnější jsou spory

Sterilizace živného média a zařízení - II

Vsádková sterilizace teplem

- živné médium se ohřívá přímo v reakční nádobě
- po určité výdrži na sterilizační teplotě se opět ochlazuje
- ohřev se provádí buď přímou horkou parou nebo pomocí tepelného výměníku
- Účinnost sterilizace závisí na teplotě a době sterilizace

121 °C..... 15 min

126 °C..... 10 min

134 °C..... 3 min

Uvedené teploty odpovídají tlaku syté páry

Sterilizace živného média a zařízení - III

Kontinuální sterilizace teplem

- **velká úspora nákladů na páru a chladící vodu**
- **zkrácení celkové doby sterilizace na 5 – 8 min**
- **používají se vyšší teploty = 135 °C**
- **menší poškození termolabilních složek v médiu**
- **možnost přesnější a automatické regulace procesu**

Kontinuální sterilizace je vhodná pro komplexní média, která neobsahují tuhou fázi, ale mohou obsahovat termolabilní růstové faktory

Provedení kontinuální sterilizace

- 1) Do kapalného média se proudícího trubicou přivádí **přímá pára**, po průtoku vstupuje kapalina do expanzní nádoby, kde se prudce ochladí
- 2) Ohřev a chlazení **deskového výměníku**, perioda se zkrátí na cca 20s až 5min, vlastní výdrž při sterilizační teplotě 135°C je 2 až 3 min

Sterilizace živného média a zařízení - IV

Sterilizace média filtrací - I

- **pouze u médií, která obsahují termolabilní látky a nelze tedy provést sterilizaci teplem**
- **zároveň médium může obsahovat pouze rozpustné látky**
- **filtry o velikosti pórů 0,2 μm**



Sterilizace živného média a zařízení - V

Sterilizace média filtrací - II

- před vlastní filtrací je nutné sterilizovat i toto filtrační zařízení (často jsou dodávány ve sterilním balení již od výrobce, případně je nutná sterilizace teplem, párou, chemicky nebo UV-zářením)

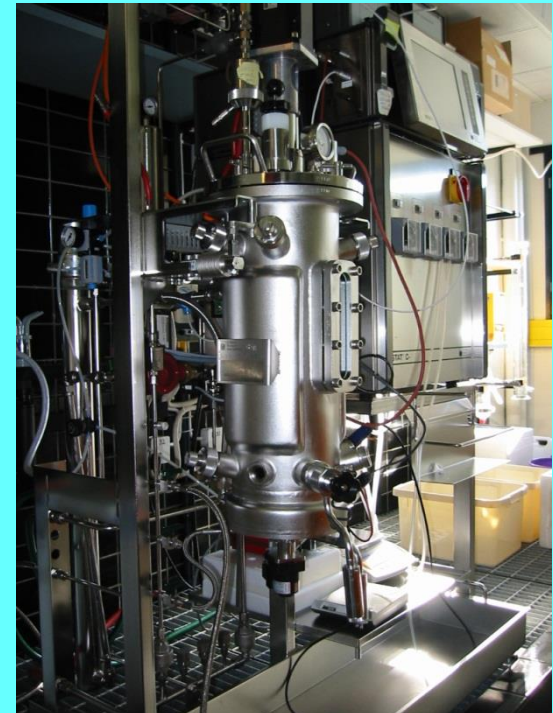


Sterilizace živného média a zařízení - VI

Sterilizace bioreaktorů

➤ pokud se používá kontinuální sterilizace média nebo sterilizace média filtrací, je nutné sterilizovat bioreaktor prázdný

- 1) horkou parou (121°C)
- 2) horkým vzduchem (150 – 180°C)
- 3) chemicky



Sterilizace vzduchu

- 1) teplem,
- 2) UV-zářením
- 3) EM-vlnami
- 4) filtrací - z ekonomického hlediska převážně v průmyslu

Hrubé předčištění vzduchu

- porézní materiál, např. práškové uhlí a koks, případně i skelná vlákna

Filtrace

- na membránách (nitrocelulóza)
- hloubková - vzduch prochází několik desítek cm silnou filtrační vrstvou (skelná vlákna, nitrátová celulóza, teflon, nylon nebo polyakryl)



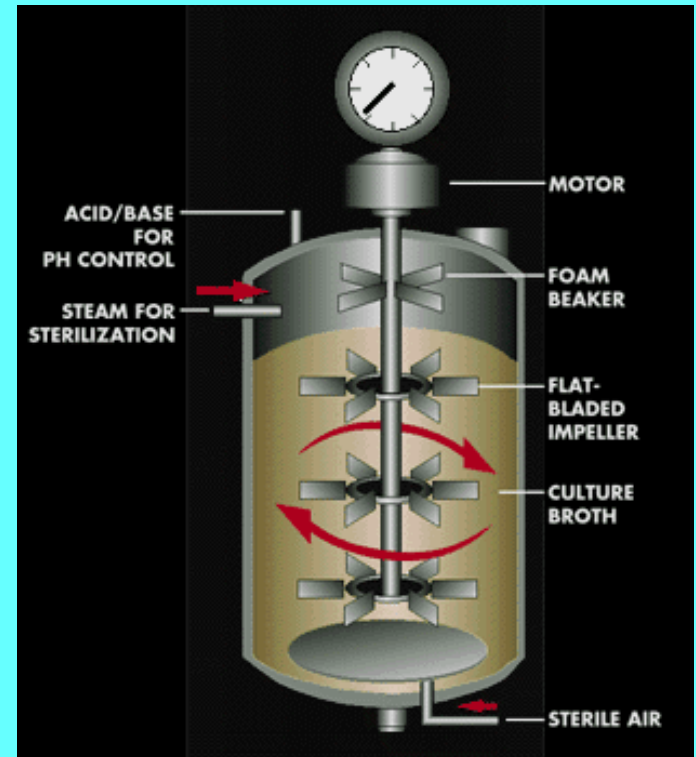
Bioreaktory a fermentory

Čím menší ústav, tím menší reaktor

Z obhajob bakalářských prací, Mikrobiologie MU 43

Bioreaktor je

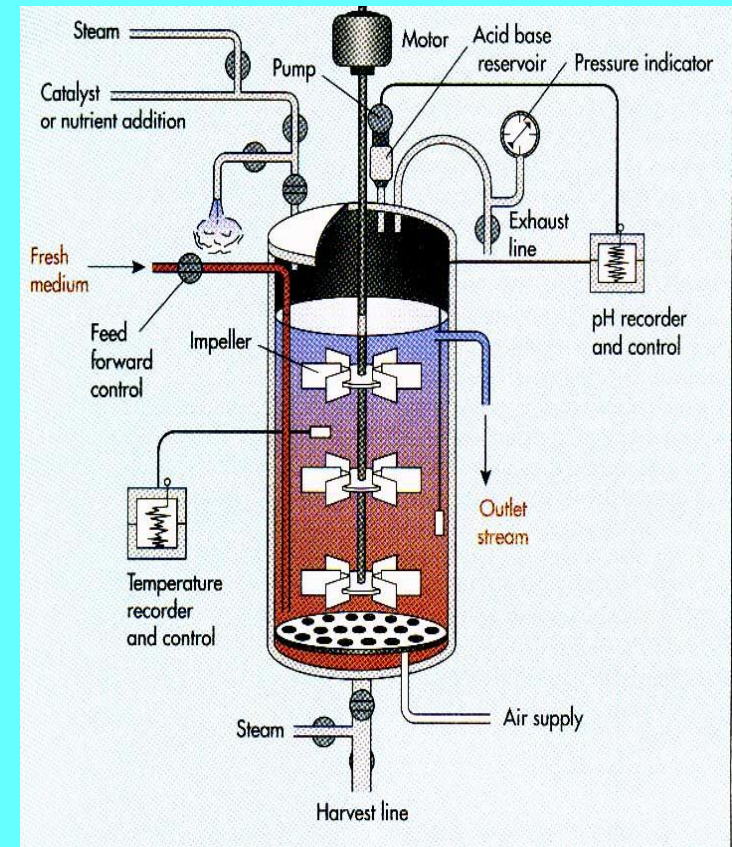
- nejdůležitější částí, srdcem výrobní linky biotechnologického procesu
- nádoba různého objemu, ve které probíhá biologický proces
- dochází zde k **růstu** buněk a **tvorbě** produktů nebo **přeměně** substrátu na jeden či více produktů



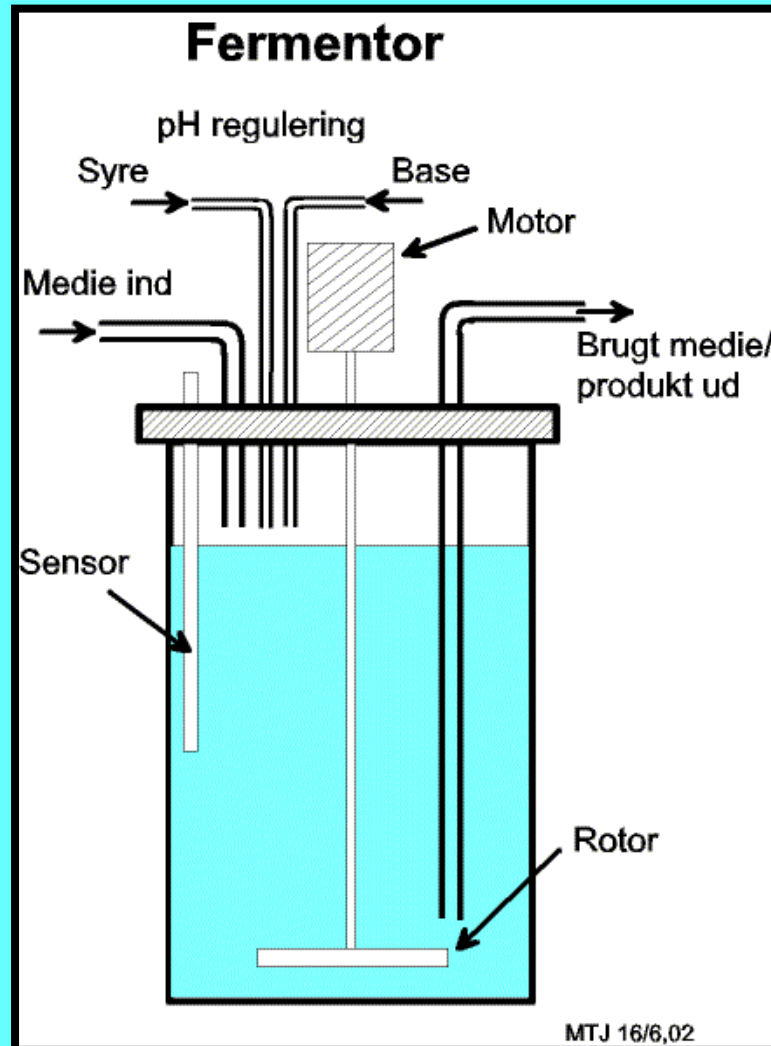
Fermentor je bioreaktor pro práci s bakteriálními buňkami

Základní části bioreaktoru

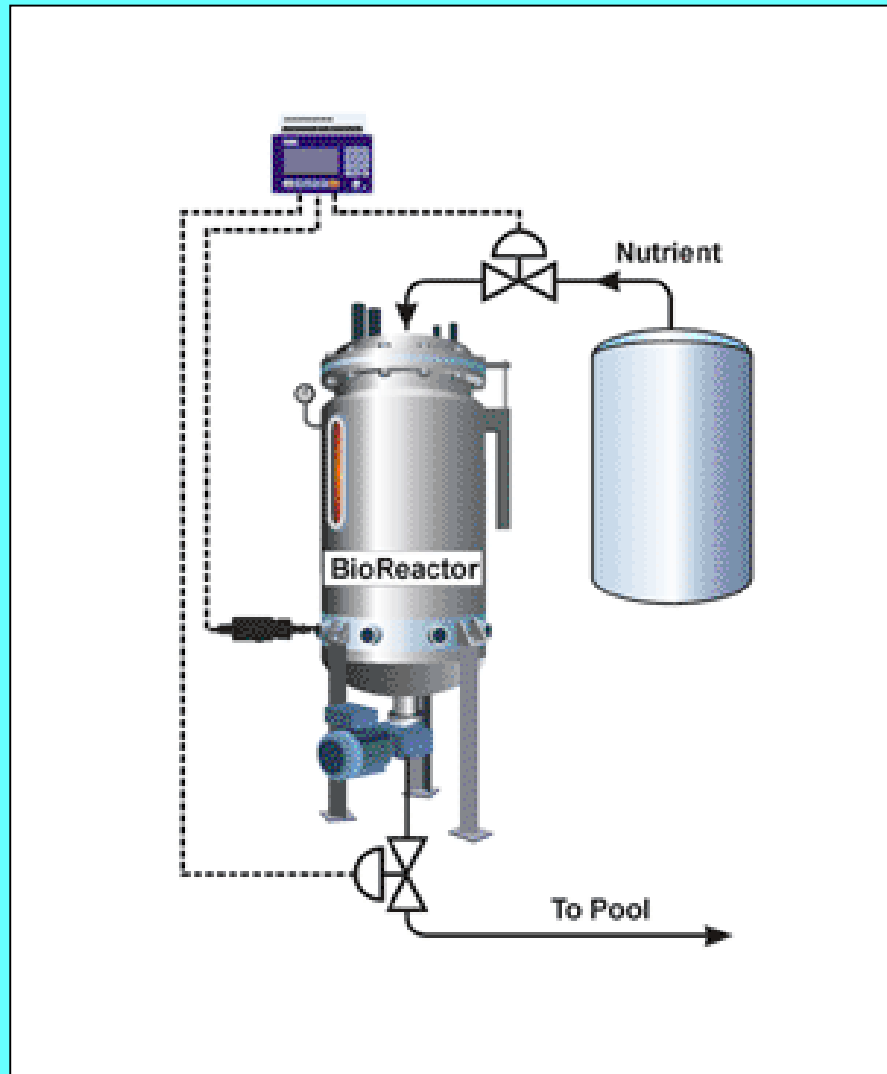
- **přívod a odvod média**
- **přívod inokula**
- **míchací zařízení s motorem**
- **ventil na přívod vzduchu**
- **zařízení na odběr vzorků**
- **vyhřívání**
- **teploměr, tlakoměr, měřicí a regulační články pH, koncentrace O₂ , CO₂, atd.**



Jednoduchý fermentor



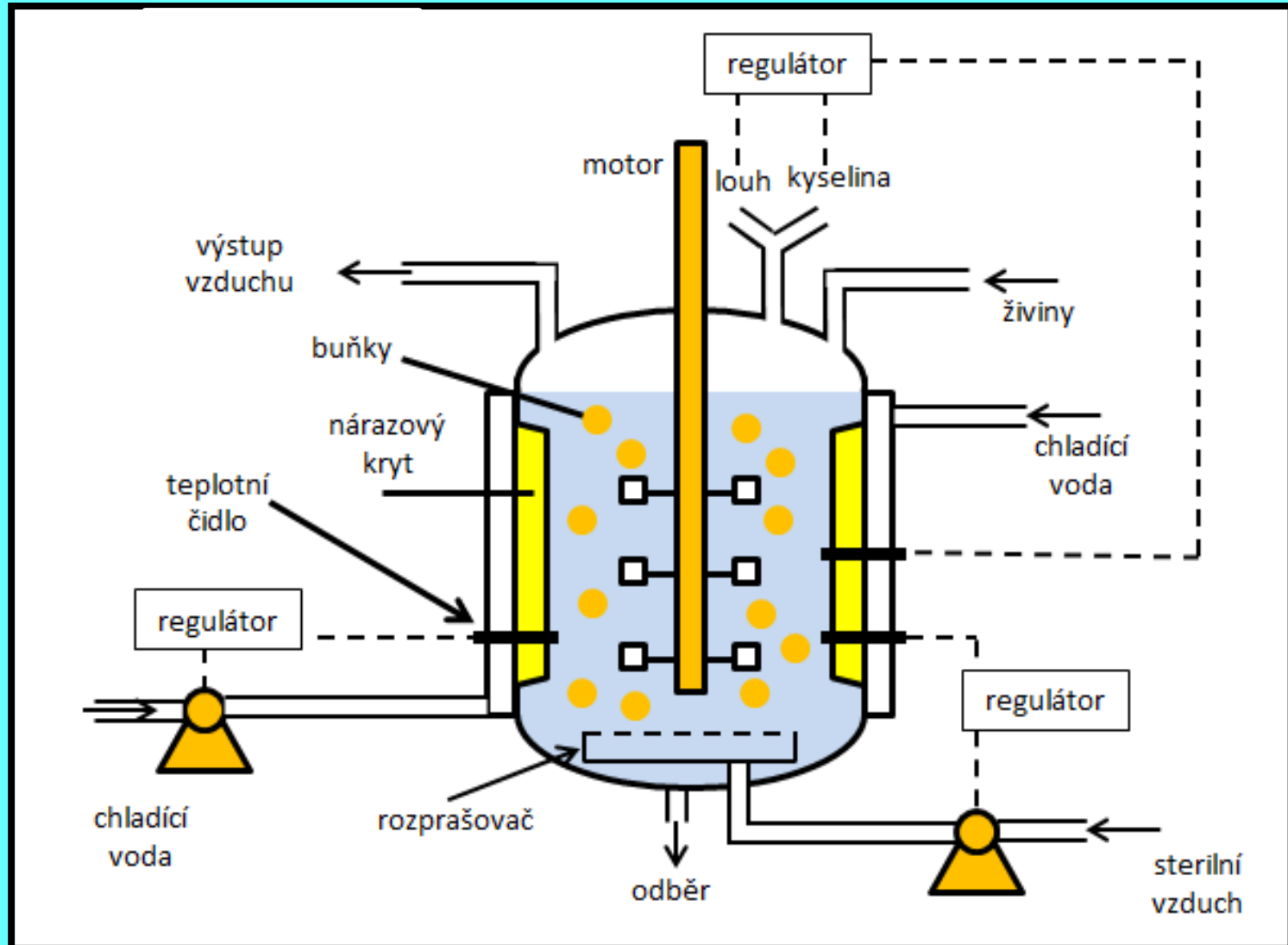
Tok materiálu v bioreaktoru



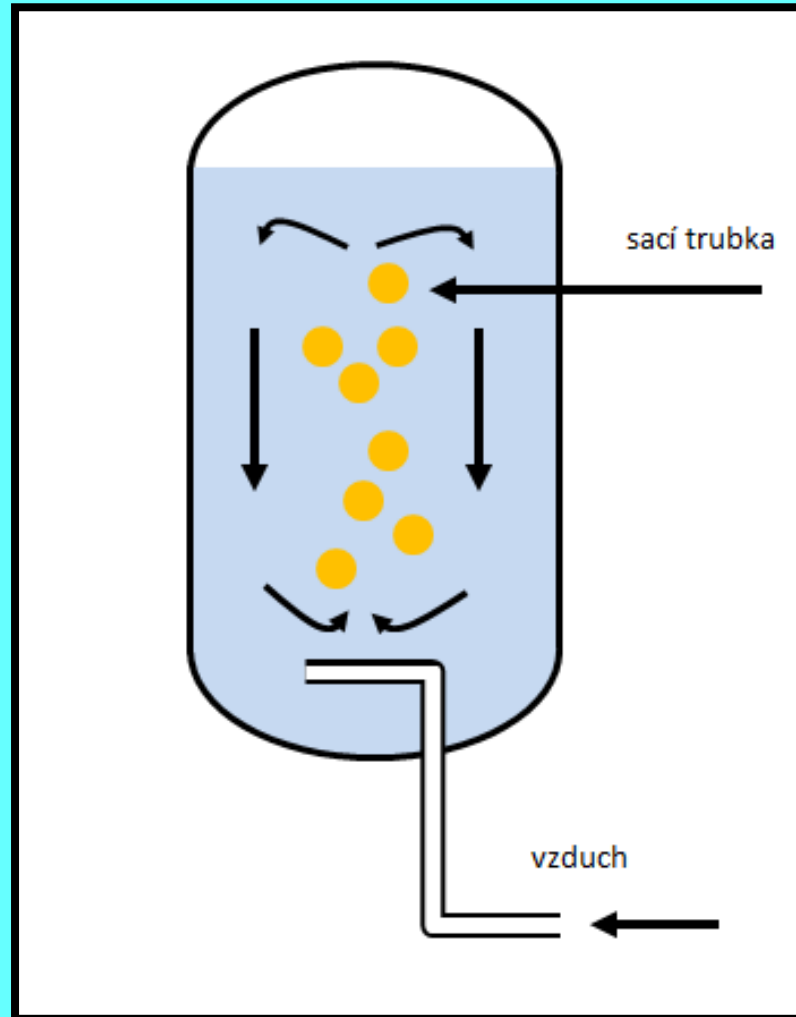
Dělení bioreaktorů podle způsobu kultivace

- **Míchací tanky (stirred-tank)**
- **Vířivé reaktory (airlift bioreactor)**
- **S pevnými nosiči (např. fixed-bed bioreactor)**
- **Membránové bioreaktory (např. hollow fiber perfusion bioreactor)**

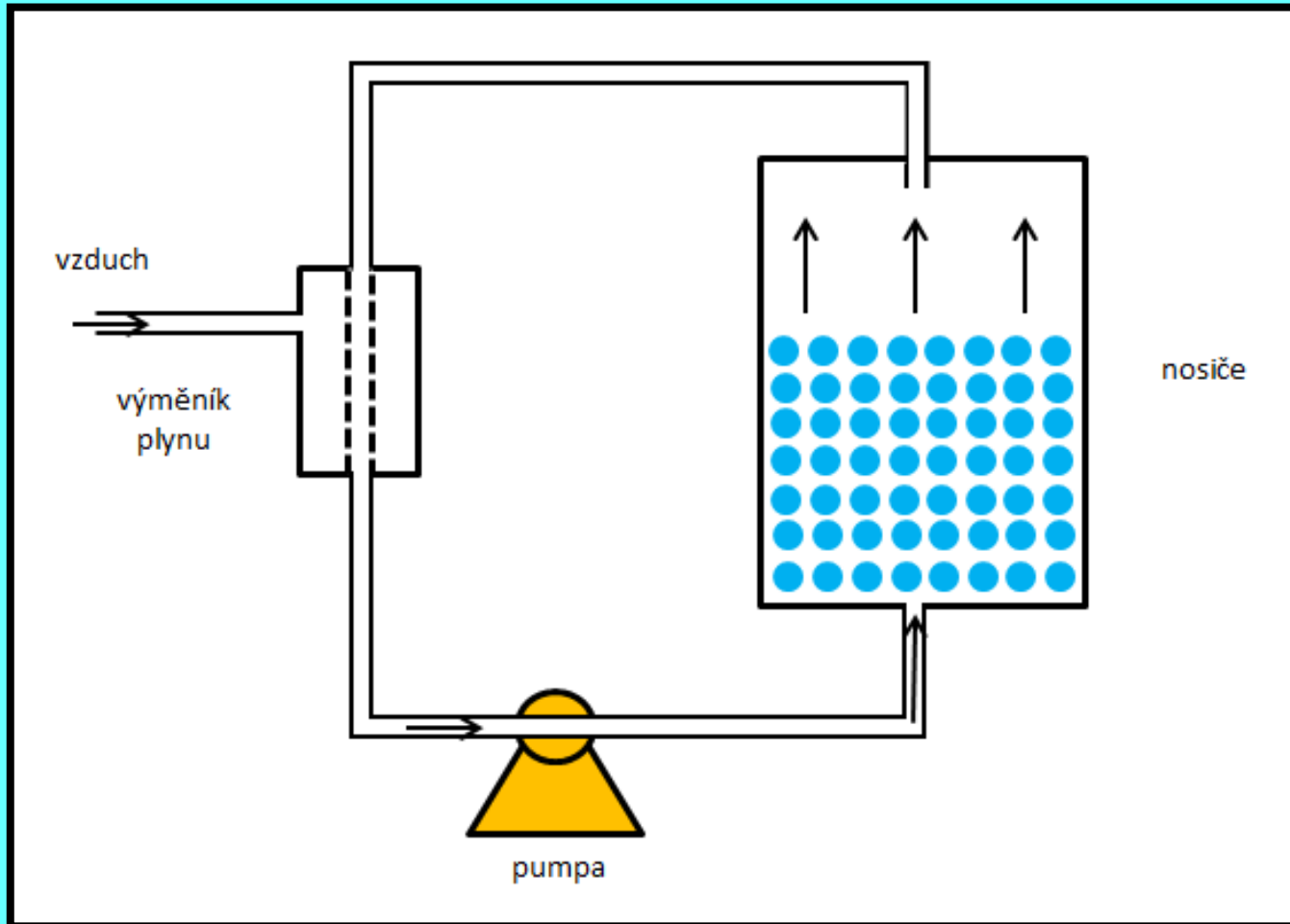
Míchací tank



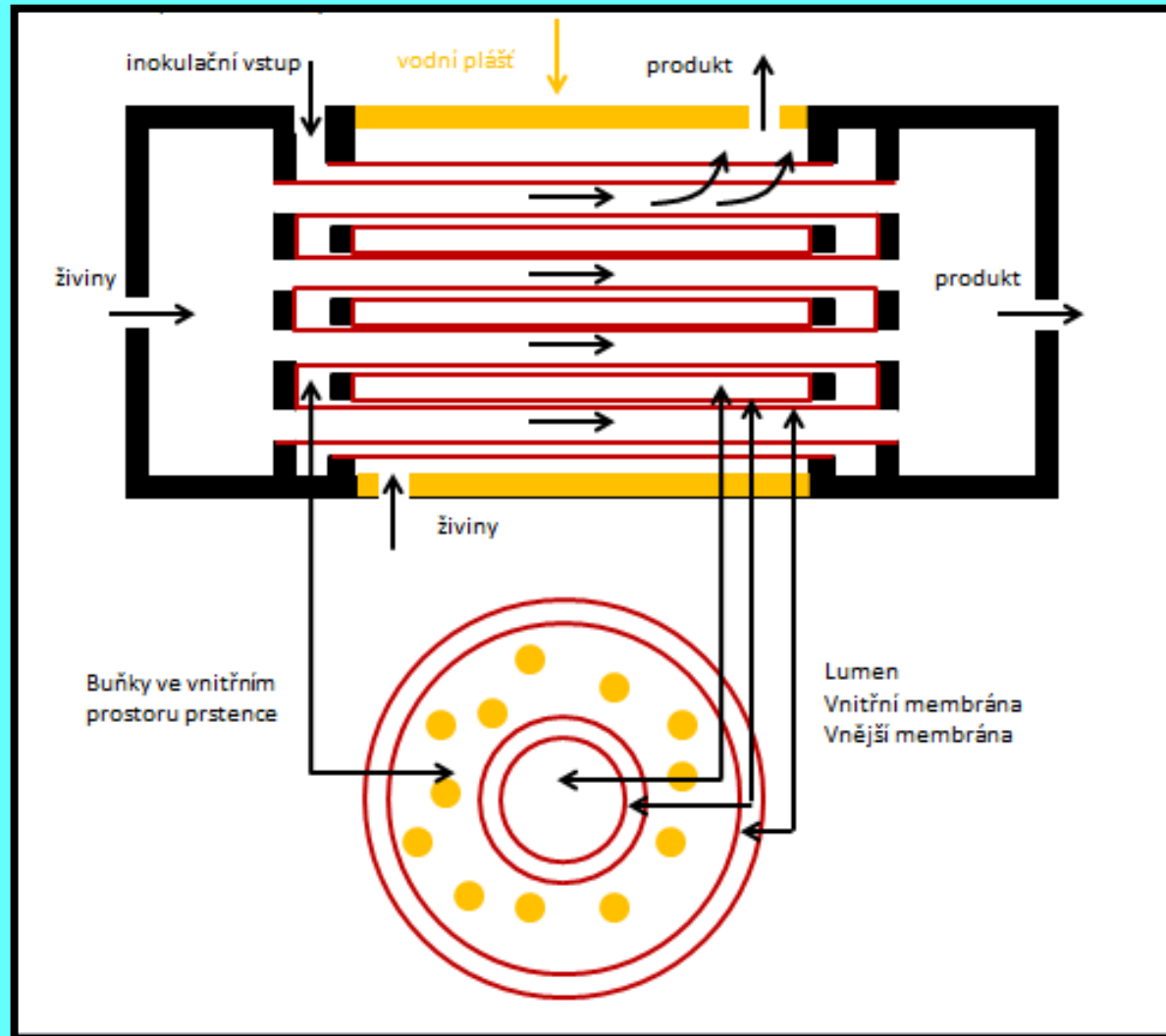
Vířivý reaktor



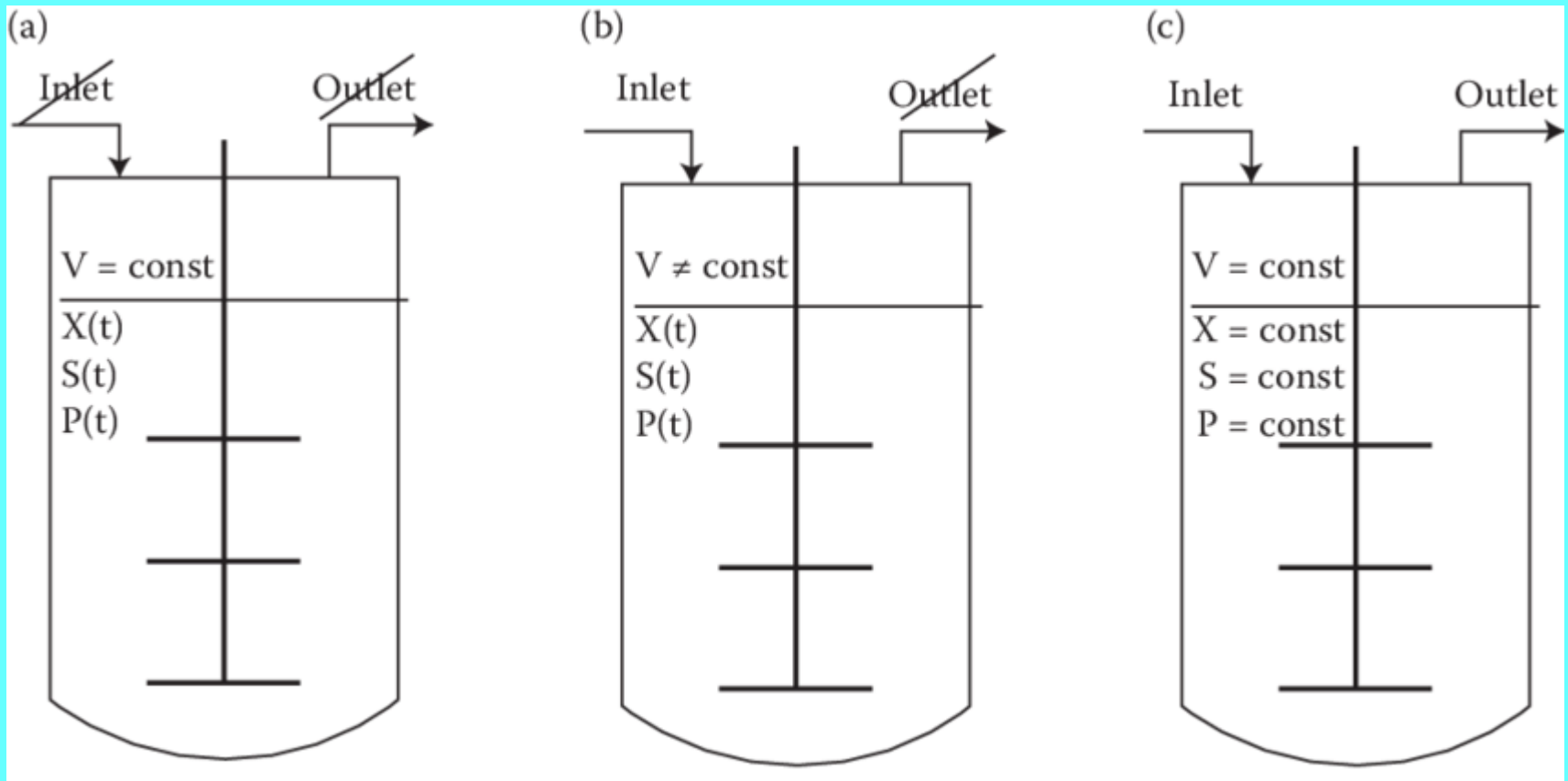
Reaktor s pevnými nosiči



Membránový reaktor



Dělení bioreaktorů podle kinetiky buněčného růstu a způsobu tvorby produktů

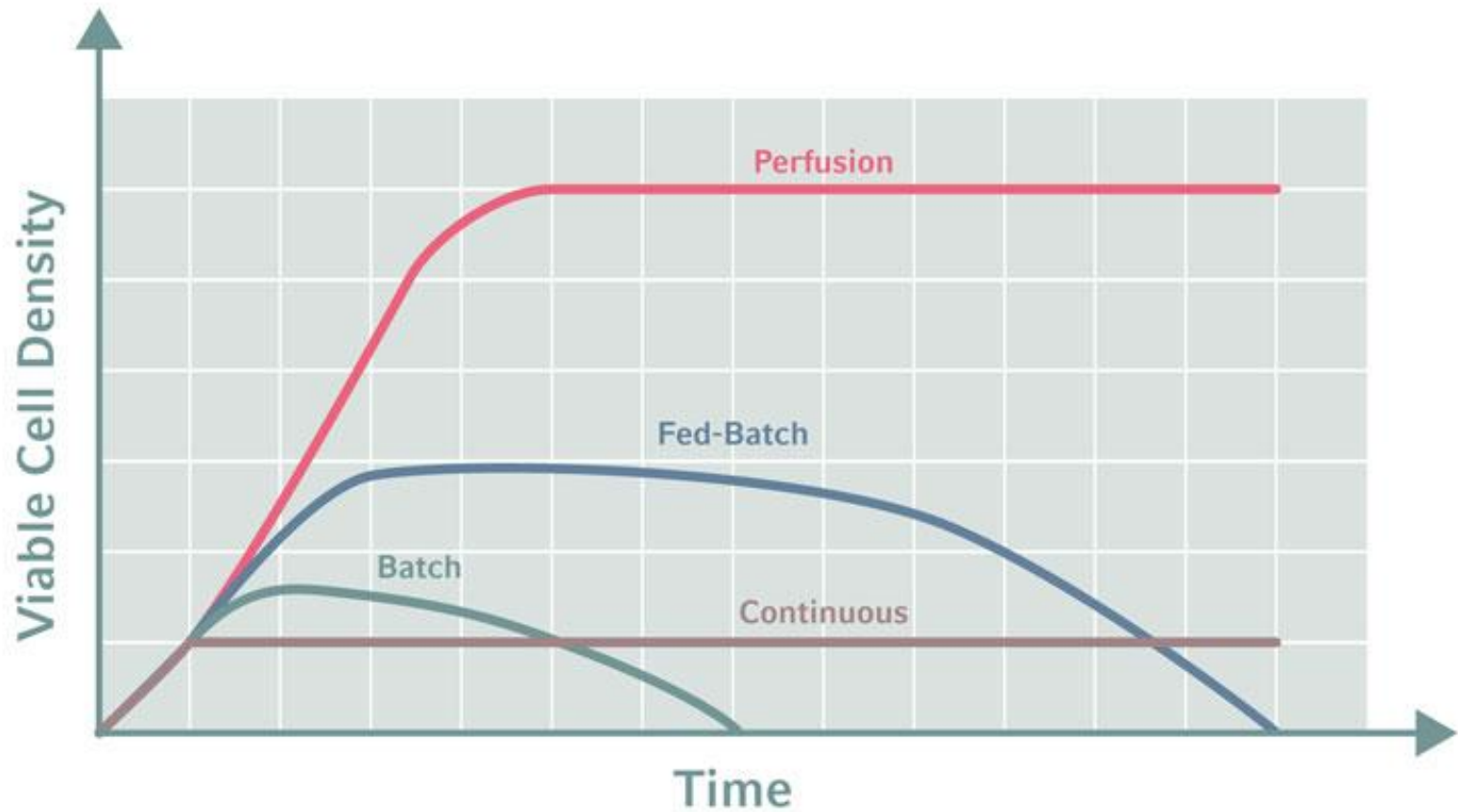


Vsádkový (batch)

Dávkovací (fed-batch)

Kontinuální

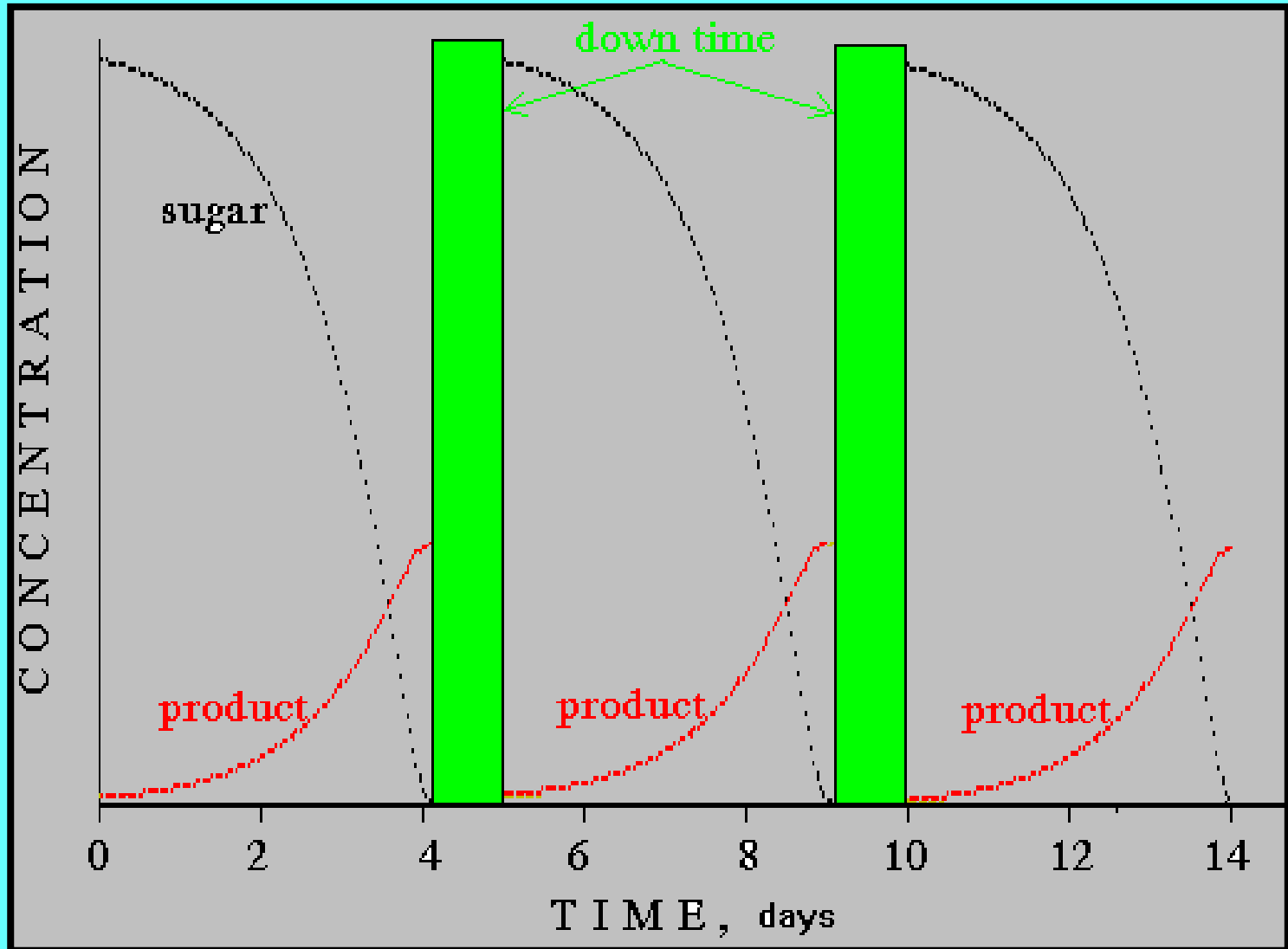
Jak potom vypadají růstové křivky



Kultivace mikroorganismů

- **Diskontinuální** (vsádková, „batch“, jednorázová)
→ vyčerpání živin, zpomalení růstu
- **Kontinuální** - prodloužení exponenční fáze →
ustálený stav (velké objemy kultivací, čištění odpadních vod)
 - chemostat
 - turbidostat
- **Semikontinuální** (dávkovací, „fed batch“)
→ periodické přidávání živin, zpomalení růstu (výroba droždí)

Kultivace semidiskontinuální



Jiné typy kultivací

- **Submerzní** = ponořené – vše doposud popsané
- **Povrchová kultivace na tekutých živných půdách** - zejména u vláknitých mikroorganismů např. *Aspergillus niger* produkující kys. citronovou
- **Povrchová kultivace na pevných médiích** - v diagnostice mikroorganismů nebo při výchozím namnožení zásobních kultur pro přípravu inokula, kultivace hub

Jiná dělení bioreaktorů

- pro kultivaci **volných** buněk, **imobilizovaných** buněk, **enzymů**
- podle velikosti: **laboratorní** (do 30l), **čtvrtprovozní** (30-100l), **poloprovozní** (100-5000l) a **provozní** (nad 5m³)
- podle tvaru: **válcové**, **s kulatým dnem**, **cirkulační**, **věžové**
- podle způsobu dodávání energie: s **mechanickým** (elektromotor), **pneumatickým** (plyn) a **hydrodynamickým** (čerpadlo) mícháním
- **nesterilní** (pivovarnictví, zpracování odpadů), **sterilní** (farmacie), **speciální** (GMO, tkáňové kultury)
- **kapalné** medium, **pevné** medium aj.
- **aerobní**, **anaerobní**

Ukázky bioreaktorů



Výběr bioreaktoru

Musí odpovídat především biologickým vlastnostem kultivovaných mikroorganismů nebo buněk. Kromě toho je ale třeba respektovat i chemické, fyzikální ale i technologické parametry.



Parametry bioreaktoru

- **Biologické vlastnosti** = velikost mikroorganismů a jejich morfologie (jednobuněčné, vláknité, mnohobuněčné, plovoucí, přisedlé, ...)
- **Charakter substrátu** = pevný, polotekutý, kapalný, plynný
- **Provzdušňování** = povrchově nebo submerzně
- **Sterilizace** = nutno vždy odstranit ostatní mikroorganismy
- **Velikost kultivačního zařízení** = přechod v rozsahu jednoho objemového řádu

Požadavky na materiály vhodné pro konstrukci fermentorů

- **odolné vůči korozi – nesmí uvolňovat do média kovy**
- **netoxické vůči populaci buněk**
- **schopné sterilizace parou o vysokém tlaku**
- **odolné vůči deformaci – míchadla, vstupní porty**
- **transparentní materiály (sklo)**



Příprava inokula

- **převedení zakonzervované buněčné kultury ve stavu klidu do živného média do produktivního stavu růstu a množení**
- **několik tisíc buněk → několik set litrů kultury**
- **transfer do produkční nádoby se provádí na konci exponenciální fáze růstu**
- **inokulum se do kultivační nádoby obvykle dodává v množství okolo 1- 5 % objemu**

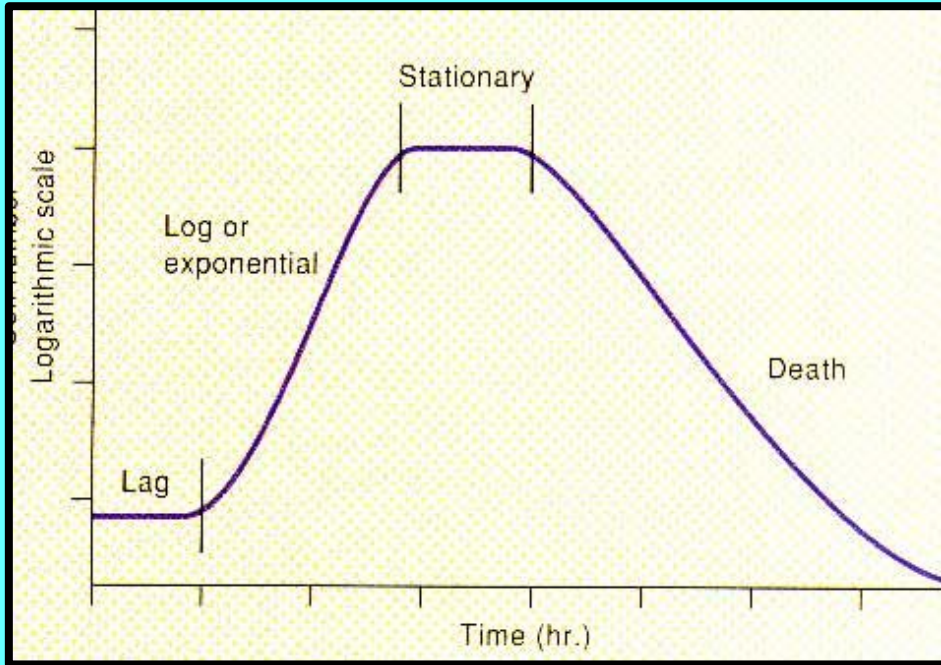
Dílčí kroky při inokulaci

- **přenést** konzervované buňky do reaktivačního média
- **zabránit** možnostem kontaminace média
- **sledovat** kvantitu a fyziologický stav buněk (zjistit růstovou křivku)

Jak monitorovat nárůst kultury

- změna pH
- spotřeba kyslíku
- změna hmotnosti buněk po centrifugaci

Růstová křivka



Exponenciální růst kultury

- z technologického hlediska nejvýhodnější
- časově omezený

- **Lag-fáze**
- **Fáze zrychleného růstu**
- **Exponenciální (logaritmická) fáze**
- **Fáze zpomalujícího růstu**
- **Stacionární fáze růstu**
- **Fáze postupného odumírání**

Růstové konstanty

- **Rychlost dělení**
- **Generační doba**
- **Doba lagu**
- **Specifická růstová rychlost**
- **Maximální růstová rychlost, saturační konstanta**

Lze je odvodit matematicky a jejich hodnoty je nutno chápat jako relativní, vycházející ze zjednodušeného pojetí růstu a množení buněk.

Rychlost dělení

Každá buňka se rozdělí na dvě, tedy

$$N = N_0 \times 2^n$$

N_0 = počet buněk na počátku

N = počet buněk na konci

Výpočet n : $\log N = \log N_0 + n \times \log 2$

Průměrná rychlost dělení (R) = počet generací (n) v závislosti na době růstu buněčné kultury

$$R = n/t = 1/\log 2 \times (\log N - \log N_0)/(t - t_0)$$

$t - t_0$ = doba růstu v hodinách

Generační doba

G = Čas potřebný k vytvoření jedné generace

➤ **Je převrácenou hodnotou průměrné rychlosti dělení**

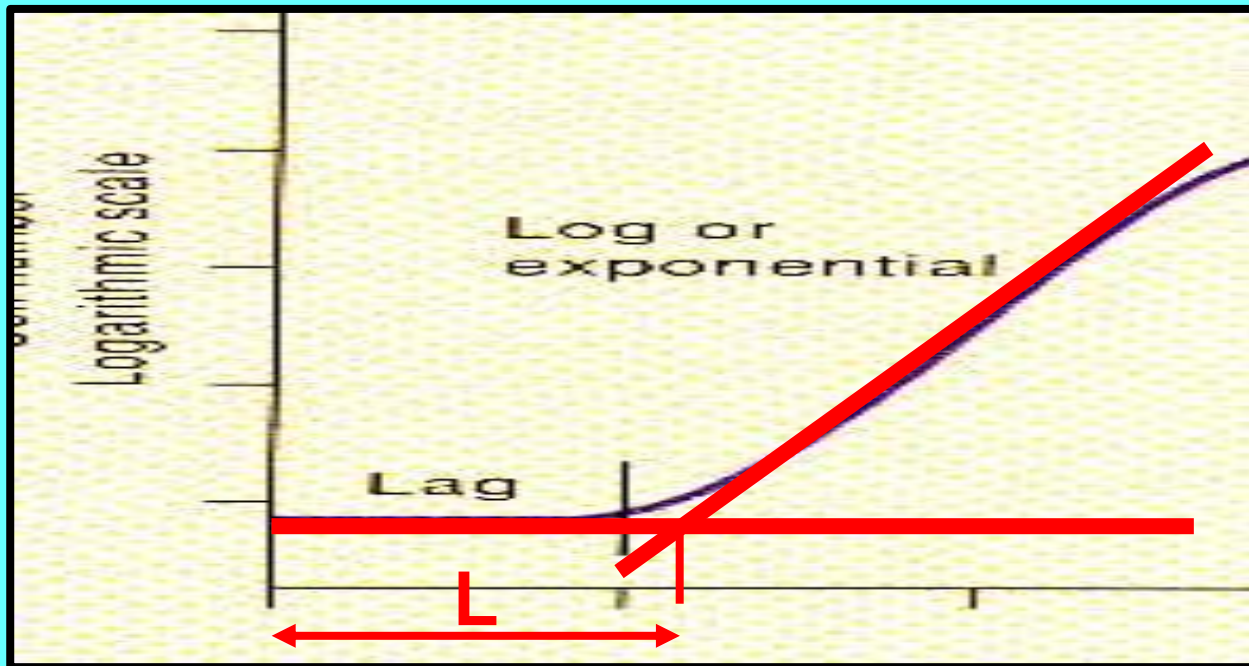
$$G = 1/R = \log_2 x (t-t_0) / (\log N - \log N_0)$$

➤ **Platí jen pro exponenciální fázi růstové křivky**

Rovněž hodnota průměrné rychlosti dělení platí jen pro exponenciální fázi růstové křivky

Doba lagu

L = Časový interval mezi začátkem inokulace a zahájením exponenciální fáze růstu



Specifická růstová rychlost

dX/dt = časový přírůstek na jednotku biomasy

$$dX/dt = \mu \times X$$

X = množství narostlé biomasy (počet buněk, OD, sušina)

μ = specifická růstová rychlost

$$\mu = (\ln X - \ln X_0) / t$$

Odvozené vztahy, pokud pracujeme s počty buněk

$$\mu = 0,693 \times R, \mu = 0,693 / G$$

Maximální růstová rychlost

Odráží skutečnost, že hodnota specifické rychlosti růstu (μ) je v exponenciální fázi závislá na koncentraci substrátu.

$$\mu = \mu_m \times [S/(K_s + S)]$$

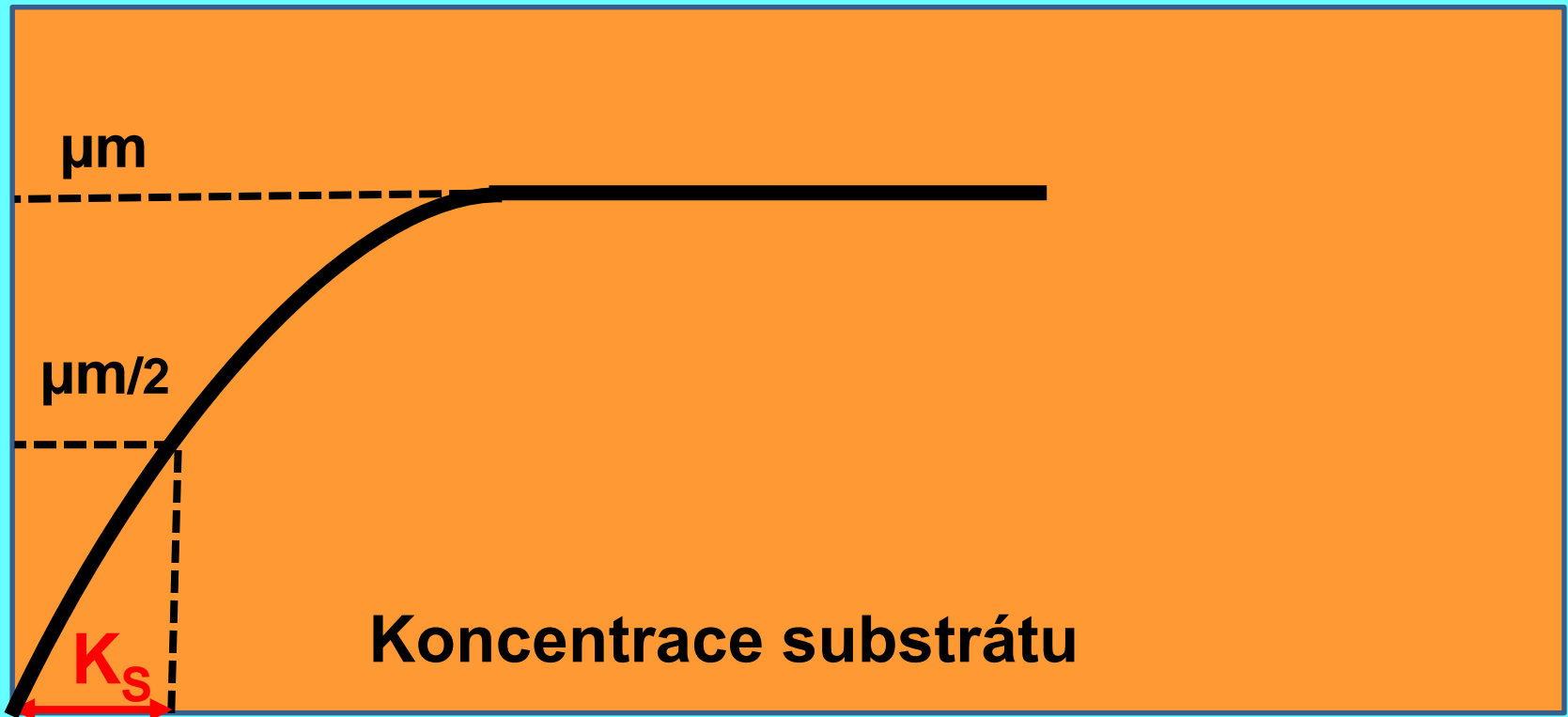
μ_m = maximální růstová rychlost

S = koncentrace substrátu (esenciální živiny)

K_s = saturační konstanta

Stanovení μ_m se využívá při studiu výživové hodnoty různých substrátů

Maximální růstová rychlost II



Saturační konstanta K_s odpovídá koncentraci substrátu, pro níž specifická růstová rychlost odpovídá poloviční hodnotě μm .

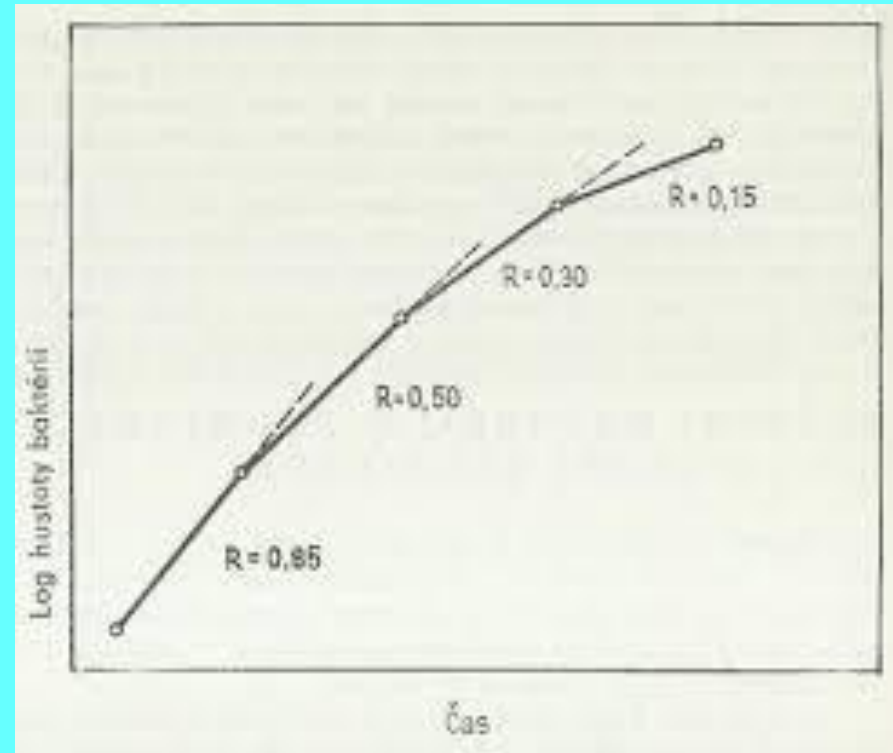
Odchylky od normální růstové křivky

**Setkáváme se s nimi při
stacionární kultivaci**



Mnohonásobná logaritmická fáze

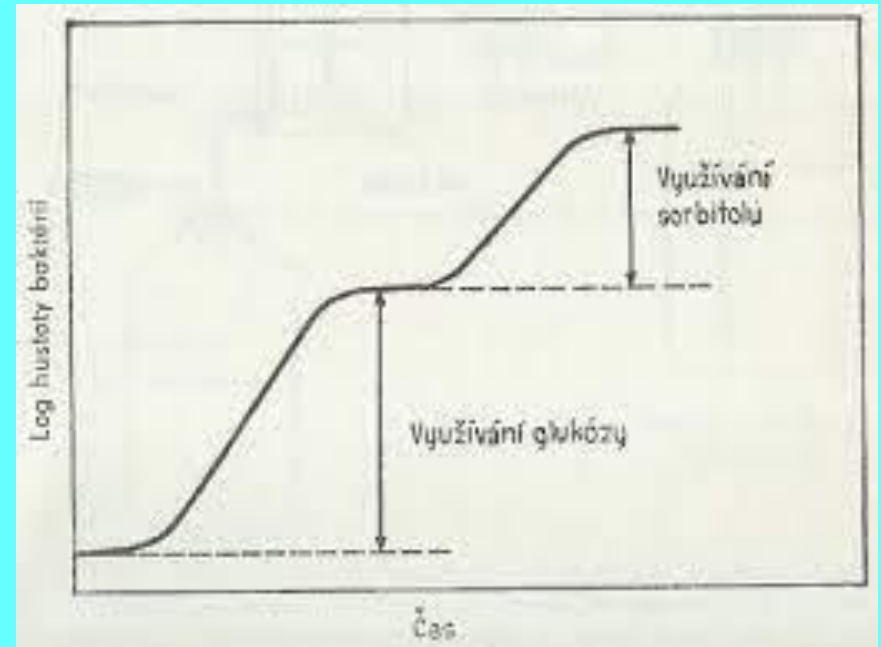
- Několik na sebe navazujících exponenciálních fází s různými hodnotami rychlosti dělení
- Vyčerpání jedné živiny a přechod na jiný substrát
- Např. kultivace *E. coli* za suboptimálních koncentrací CO_2 – umožňuje vznik karboxylovaných metabolitů, které mají povahu zásobních látek



Rosypal et al. 1981: Obecná bakteriologie

Dvojitá růstová křivka (diauxie)

- Ukončení exponenciální fáze růstu a zahájení další fáze lagu
- V prostředí, které obsahuje směs látek jako zdroj uhlíku – nejprve využití jedné látky, pak teprve druhé, jejíž využití bylo tou první inhibováno
- Např. kultivace *E. coli* za podmínek tzv. glukózového efektu



Rosypal et al. 1981: Obecná bakteriologie

Příklad

- 1) Jaká je generační doba fermentované kultury *E. coli*, jestliže v čase T1 bylo množství bakterií $5 \times 10^6/\text{ml}$ a po 2 hodinách (v čase T2) toto množství činilo $10^8/\text{ml}$.**
- 2) Z výše uvedených parametrů určete rychlost dělení bakteriální kultury**

Řešení

Generační doba G

$$= \log_2 \times [(T_2 - T_1) / (\log N_2 - \log N_1)]$$

$$= \log_2 \times [120 / (\log 10^8 - \log 5 \times 10^6)]$$

$$= \log_2 \times [120 / (8 - 6,7)]$$

$$= \log_2 \times [120 / 1,3]$$

$$= \mathbf{28 \text{ minut}}$$

Rychlost dělení R

$$= 1/G$$

$$= 1/28 = \mathbf{0,036} \dots \text{ počet rozdělení buňky za minutu}$$

Měření a regulace průběhu procesu

Fyzikální

- teplota, tlak páry, vody a stlačeného vzduchu, příkon, tvorba a množství pěny, průtok plynů a kapalin

Fyzikálně chemické

- pH, redox potenciál, množství rozpuštěného kyslíku, chemické činitele (koncentrace stimulantů a inhibitorů růstu nebo tvorby produktů - C, N, P, S, Mg, K, Na, Fe, regulátory růstu, prekursorů..., měření koncentrace NH_4^+ , Mg^{2+} , Na^+ , Ca^{2+} PO_4^{3-} atd. specifickými elektrodami)

Kontinuální kultivace

Chemostat

- Regulace závisí na změně koncentrace esenciálního substrátu, ostatní živiny jsou v nadbytku
- Změnou rychlosti průtoku média se mění koncentrace esenciálního substrátu a tím i rychlost množení buněk

Turbidostat

- Regulačním činitelem je rychlost množení buněk
- Jakmile dosáhne hustota buněk dané koncentrace, zvýší se průtok média – tím ubyde buněk vyplavením
- Pokles hustoty znamená zpomalení průtoku

Specifická růstová rychlost/rychlost zřed'ovací

- Za **ustáleného stavu** se při kontinuální kultivaci **specifická rychlost (μ) rovná tzv. rychlosti zřed'ovací D**

$$D = F/V$$

F = rychlost průtoku prostředí, V = objem

- Je-li $\mu < D$, pak se vytvoří nový ustálený stav (více substrátu, méně buněk) a to až do hodnoty $\mu_{\max} < D$, kdy dojde k vyplavení buněk z bioreaktoru

- Je-li $\mu > D$, pak se vytvoří nový ustálený stav (méně substrátu vede ke snížení specifické růstové rychlosti

Vlastnost kontinuálního spočívající ve
vyrovnání hodnot specifické růstové
rychlosti a ředící rychlosti označujeme jako
samoregulační schopnost systému



Synchronizace množení buněk

Princip

- Různá vývojová fáze buněk = dělení neprobíhá současně = nehomogenní kultura
- Synchronizace = zastavení dělení, ale ponechání schopnosti růst

Navození

- Nejčastěji chladovým šokem
- Náraz hladověním
- Inokulace buňkami stejné velikosti získané filtrací nebo centrifugací

Význam

- Homogenní kultura = fyziologickým vlastnostem jedné buňky odpovídá celá populace



Biotechnologický kámen mudrců

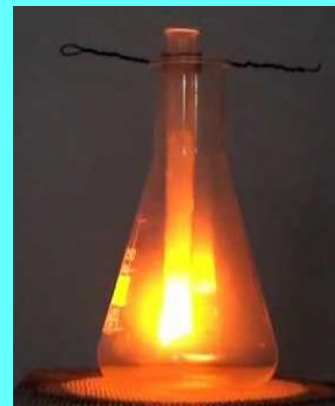


Standardní pojetí

- 1) Umí přeměňovat materiály
- 2) Umí vyrábět zlato
- 3) Přináší věčné mládí

Pojetí biotechnologa

- 1) Umí přeměňovat materiály
- 2) Vyrábí peníze
- 3) Radost z práce, ze života



Zadání

- Mějme k dispozici 30ml 12 hodinové kultury *Escherichia coli* v Erlenmeyerově baňce. Aproximujme a tvrdíme, že se jedná o kulturu v exponenciální fázi růstu o koncentraci asi 5×10^8 buněk/ml, a že se množství buněk zdvojnásobí každých 20 minut.
- Ptejme se na množství buněk, které vzniknou, pokud necháme kulturu dále růst v optimálních podmínkách po dobu 12 hodin.

Co se stane za 12 hodin?

- Každou hodinu se buňky rozdělí 3x, tedy za 12 hodin celkem $2^{36}x$ (asi 7×10^{10} nárůst)
- Množství buněk za 12 hodin bude tedy $2^{36} \times 5 \times 10^8/\text{ml}$, tedy asi $3,4 \times 10^{19}$ buněk/ml

To si ale neumím představit

Zkus se na to tedy podívat jinak



Co se stane za 12 hodin?

- Zachovejme koncentraci buněk, ale měňme objem
- Objem kultury se bude zdvojnásobovat každých 20 minut
- Za 12 hodin vzroste objem naší kultury ze 30 ml na $2^{36} \times 30 \times 10^{-3}$ litrů = asi **2,06 x 10⁹ litrů kultury**

No a ?



Srovnání

Za 12 hodin máme **$2,06 \times 10^9$** litrů kultury

Množství vytěžené ropy denně v roce 2020 bylo kolem 100 milionů barelů denně

- 1 US barel je $0,159 \text{ m}^3 = 159$ litrů
- Denně se v roce 2011 vytěžilo asi **$1,59 \times 10^{10}$** litrů ropy

Což znamená, že za 12 hodin růstu naše malá kultura za optimálních podmínek vzroste na objem něco málo přes 10% denního objemu těžené ropy!

A nechme ji růst ještě hodinu

Kdybychom kulturu nechali růst jen o hodinu déle, tedy 13 hodin, pak by objem vzrostl na $2^{39} \times 30 \times 10^{-3}$ litrů = asi $1,65 \times 10^{10}$ litrů kultury, což denní těžbu ropy pohodlně pokryje



Shrnutí přednášky

- 1) Pojem biotechnologický proces a jeho fázování**
- 2) Suroviny pro fermentaci**
- 3) Procesy sterilizace**
- 4) Bioreaktory a fermentory**
- 5) Procesy kultivace, růstové parametry buněčných kultur**
- 6) Biotechnologický kámen mudrců**