

Inżynieria bioprocessowa

Krzysztof W. Szewczyk

Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej,
Politechnika Warszawska, Warszawa

Bioprocess engineering

Summary

The role, basic concepts and development of bioprocess engineering have been presented. Biochemical engineers have always served as a bridge between discoveries involving enzymes, cells and biomass at the lab scale to implementation of valuable bioproducts on the commercial scale. Biochemical engineering discipline was initiated focusing on problems concerning bioreactor design and the optimisation and the purification of natural products. Nowadays, this discipline is a field undergoing a rapid change and diversification. Key concepts in transport phenomena, kinetics and thermodynamics, as well as proficiency in the application of mathematical tools in process modelling are used to bridge the gap between the intellectual potential of the gene to the manufacturing of industrial products.

Key words

bioprocess engineering, bioreactors, bioprocess modelling.

1. Wstęp

Zgodnie z definicją zaproponowaną przez Europejską Federację Biotechnologii, biotechnologia to: „zintegrowane zastosowanie biochemii, mikrobiologii i inżynierii procesowej w celu technicznego wykorzystania zdolności drobnoustrojów, kultur tkankowych i/lub ich części”. Inżynieria bioprocessowa jest tą częścią nauk technicznych, która zajmuje się techniczną realizacją procesów biotechnologicznych. Wywodzi się ona bezpośrednio z inżynierii procesowej (chemicznej), ale stanowi odrębną dziedzinę (1-5). O odrębności inżynierii bioprocessowej decyduje przede wszystkim charakter procesów biotechnologicznych, od-

Adres do korespondencji

Krzysztof W. Szewczyk,
Wydział Inżynierii
Chemicznej i Procesowej,
Politechnika Warszawska,
ul. Waryńskiego 1,
Warszawa.

mienny od klasycznych procesów chemicznych. Te szczególne cechy procesów biotechnologicznych to:

- złożoność materiału biologicznego, jego zmienność w czasie i wrażliwość na czynniki zewnętrzne,
- znaczna rozpiętość skali w poszczególnych etapach procesu technologicznego (od dm^3 do setek m^3 czynnej objętości aparatów),
- szczególne wymagania procesowe, zwłaszcza sterylność.

W języku angielskim obok określenia „inżynieria bioprocessowa” można ostatnio spotkać określenie „inżynieria biochemiczna”. Jest to związane z powołaniem przez Europejską Federację Biotechnologii w 1995 r. Sekcji Inżynierii Biochemicznej. W sekcji tej połączono istniejące wcześniej grupy robocze: inżynierii bioreaktorów, pomiarów i kontroli bioprocessów, procesów wydzielania i oczyszczania bioproduktów oraz inżynierii metabolicznej i fizjologicznej. W Polsce, w ramach Komitetu Inżynierii Chemicznej i Procesowej istnieje Sekcja Inżynierii Bioprocessowej.

2. Tematyka badawcza inżynierii bioprocessowej

Podstawowym zadaniem inżynierskim w przemyśle jest projektowanie i wdrażanie kompletnych systemów. Kompletny system oznacza zarówno procesy i instalacje do otrzymywania konkretnego produktu, jak i połączenie poszczególnych procesów w ogólny system produkcyjny, uwzględniający aspekty ekonomiczne, energetyczne, ekologiczne i logistyczne.

Jeden z najbardziej zasłużonych dla inżynierii chemicznej naukowców Paul V. Danckwerts twierdził, że „naukowcy rozwiązują problemy, które potrafią, inżynierowie rozwiązują problemy, które muszą” (6). Inżynieria chemiczna jest to dziedzina zajmująca się złożonymi procesami przetwórczymi. Wykształcono w niej specyficzną technikę rozwiązywania problemów. Polega ona na podziale złożonego systemu produkcyjnego lub procesu na mniejsze, prostsze podsystemy (operacje jednostkowe, elementarne zjawiska transportu masy i energii), które można opisać ilościowo za pomocą odpowiednich modeli matematycznych. Z tego punktu widzenia inżynieria procesowa nie różni się od nauk podstawowych takich jak fizyka czy chemia. Rozwiązanie konkretnych zagadnień technologicznych wymaga z kolei syntezy opisów poszczególnych elementarnych zjawisk w celu optymalnego zaprojektowania rzeczywistego procesu. Zarówno analiza jak i synteza procesów technologicznych może dotyczyć różnego stopnia szczegółowości. W tabeli 1 zestawiono podstawowe zakresy skali analizy procesu technologicznego (7). Na poszczególnych poziomach analizy występują charakterystyczne obiekty i procesy będące jej przedmiotem. Typowe zagadnienia inżynierii bioprocessowej dotyczą mikroskali, a zatem analizy przemian chemicznych i biochemicznych oraz towarzyszących im zjawisk transportu masy, energii i pędu oraz mezoskali, tzn. analizy typowych procesów przetwórczych i aparatów w których są one prowadzone. Zagadnienia analizy,

a szczególnie syntezy w makroskali, są obiektem zainteresowań inżynierii systemów.

Tabela 1

Skale analizy procesów technologicznych

Skala	Nanoskala	Mikroskala	Mezoscala	Makroskala	Megaskala
obiekty	molekuły	cząsteczki, krople, pęcherze gazowe	operacje jednostkowe	instalacje produkcyjne	rynek, środowisko
procesy	procesy molekularne	sprzężenia: reakcja + transport masy, energii, pędu	sprzężenia procesy – aparaty	integracja: procesy jednostkowe – instalacja instalacje – fabryka	oddziaływania: sprzedaż, logistyka, surowce

Metodyka rozwinięta dla potrzeb procesów chemicznych okazała się niezwykle użyteczna i z powodzeniem jest wykorzystywana nie tylko w innych branżach przemysłu przetwórczego takich jak przemysł spożywczy, ochrona środowiska, ale i innych obszarach nauki i techniki, takich jak dla przykładu inżynieria biomedyczna (8). Metodyka ta stanowi też podstawę naukową inżynierii bioprosesowej.

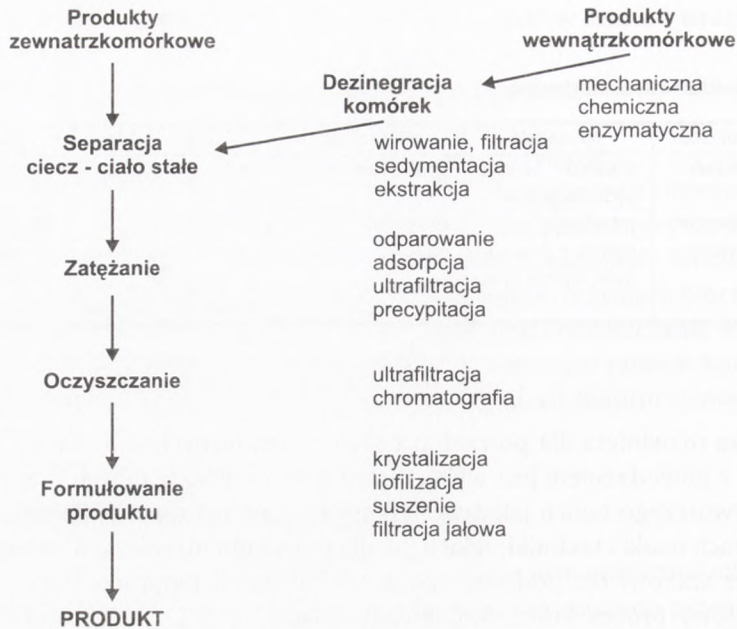
Przemysłowy proces biotechnologiczny składa się z kilku typowych operacji: przygotowanie materiału biologicznego (inokulum, preparacja biokatalizatorów), przygotowanie substratów (przekształcenie chemiczne lub enzymatyczne produktów, zwykle pochodzenia naturalnego, sterylizacja), przeprowadzenie właściwego procesu biochemicznego (hodowla w reaktorze bądź reakcja enzymatyczna), wydzielanie i oczyszczenie produktów. To wyróżnienie odpowiada głównym obszarom zainteresowań inżynierii bioprosesowej (9). Jej zasadniczą częścią jest inżynieria bioreaktorów obejmująca badanie warunków pracy bioreaktorów, opracowanie konstrukcji bioreaktorów oraz metod sterowania ich pracą.

Główne obszary badawcze inżynierii bioreaktorowej obejmują:

- badanie kinetyki wzrostu drobnoustrojów i wydzielania produktów metabolizmu,
- badanie kinetyki wymiany masy, zwłaszcza wewnątrz nośników porowatych oraz struktur wielokomórkowych i tkankowych,
- nowe rozwiązania konstrukcyjne bioreaktorów, zwłaszcza procesów zintegrowanych, w których przemiany biochemiczne połączone są z procesami rozdzielania bioproduktów,
- opracowanie metod sterowania i kontroli procesów bioreaktorowych,
- opracowanie nowych metod i czujników pomiarowych.

Proces biochemiczny stanowi jedynie fragment całości procesu produkcyjnego. Ocenia się, że od 60 do 90% kosztów przemysłowych procesów biotechnologicznych stanowią koszty przygotowania surowców oraz wydzielania i oczyszczania produktów. Cechy szczególne procesów rozdzielania w biotechnologii wynikają z:

HODOWLA



Rys. 1. Typowe operacje rozdzielania stosowane w biotechnologii.

- wrażliwości materiału,
- częstego występowaniu mieszanin o nieokreślonym składzie i/lub właściwościach,
- niskiego stężenia pożądaných produktów w mieszaninie,
- zbliżonych właściwości rozdzielanych substancji.

W zakresie metod rozdzielania i oczyszczania główne problemy badawcze to dostosowanie klasycznych technik do specyficznych wymagań, stawianych przez materiał biologiczny oraz opracowanie nowych metod charakterystycznych dla inżynierii bioprocessowej. W tym ostatnim obszarze szczególne znaczenie mają metody membranowe oraz metody chromatograficzne. Typowe operacje stosowane w procesach rozdzielania w biotechnologii przedstawiono na rysunku 1.

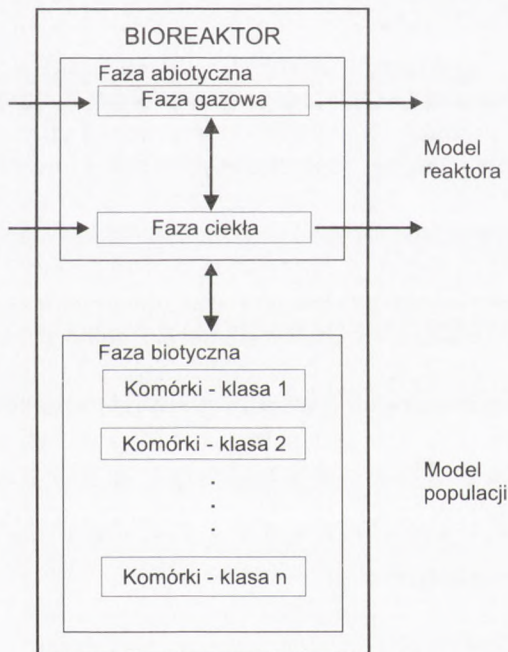
3. Rozwój inżynierii bioprocessowej

Wymienione główne obszary zainteresowań inżynierii bioprocessowej są przedmiotem intensywnych badań. Znaczący postęp w wielu dziedzinach dokonywany jest dzięki wykorzystaniu podstawowych metod inżynierii procesowej i ścisłej

współpracy z innymi dyscyplinami: matematyką, naukami biologicznymi i inżynierią materiałową. Zarys głównych zagadnień współczesnej inżynierii bioprosesowej przedstawiono w postaci skrótowej.

3.1. Inżynieria bioreaktorów

Analiza procesów bioreaktorowych musi uwzględniać dwa zasadnicze aspekty: po pierwsze, procesy biochemiczne przebiegające w komórkach drobnoustrojów, po drugie, liczne procesy chemiczne i fizyczne towarzyszące przemianom mikrobiologicznym (10). Należą do nich zjawiska przenoszenia masy związane z dostarczaniem drobnoustrojom substancji odżywczych, zjawiska mechanicznego oddziaływania pomiędzy komórkami drobnoustrojów a środowiskiem, w którym wzrastają, wymiana masy i ciepła pomiędzy środowiskiem, w którym rosną drobnoustroje a otoczeniem. Na rysunku 2 przedstawiono schematycznie podstawowe elementy modelu procesu bioreaktorowego (11). Ilościowy opis procesu bioreaktorowego zawiera bilanse masowe i energetyczne dla fazy abiotycznej i populacji drobnoustrojów, rozkłady stężeń wynikające z charakterystyki przepływu fazy ciekłej i gazowej oraz relacje określające zależność szybkości poszczególnych procesów od warunków środowiska.



Rys. 2. Model procesu bioreaktorowego.

Liczba znanych konstrukcji bioreaktorów jest bardzo duża. We wszystkich typach reaktorów występują jednak podobne problemy. Do najważniejszych należą zagadnienia związane z hydrodynamiką. Obejmują one (12):

- zużycie mocy,
- warunki cyrkulacji cieczy,
- warunki mieszania,
- warunki unoszenia cząstek zawiesiny,
- warunki napowietrzania (zatrzymanie gazu, średnica pęcherzy),
- warunki wymiany masy między gazem i cieczą,
- warunki wymiany masy między cieczą i fazą biologiczną,
- warunki wymiany ciepła,
- możliwość uszkodzenia komórek.

Problemom hydrodynamiki bioreaktorów poświęca się dużo uwagi w literaturze przedmiotu (13,14). Najciekawszymi aktualnymi zagadnieniami badawczymi są:

- zastosowanie komputerowej dynamiki płynów (CDF – *Computer Fluid Dynamics*) do modelowania przepływów wielofazowych w bioreaktorach,
- zastosowanie multifraktalnej teorii burzliwości do opisu wpływu naprężeń hydrodynamicznych na komórki,
- możliwości uszkodzania komórek w obszarze pękania pęcherzy gazowych.

Opis procesów biochemicznych przebiegających w bioreaktorach jest zagadnieniem złożonym. W inżynierii bioprosesowej rozwinięto specyficzne metody opisu kinetyki wzrostu drobnoustrojów (15). Podstawą obliczeń jest bilans elementarny. Pozwala on określić podstawowe zależności ilościowe pomiędzy przyrostem biomasy drobnoustrojów, ilością asymilowanych substratów i ilością wydzielanych produktów metabolizmu. Coraz szerzej wykorzystuje się modele strukturalne uwzględniające zasadnicze przemiany wewnątrzkomórkowe, co pozwala na uwzględnienie relacji pomiędzy wytwarzaniem poszczególnych produktów. Metody bilansowe pozwalają także na określenie ograniczeń termodynamicznych wydajności procesów mikrobiologicznych (16). Modele strukturalne wykorzystywane są także do opisu kinetyki wzrostu mikroorganizmów i wytwarzania produktów. Trwałą tendencją w inżynierii bioprosesowej jest coraz dokładniejsze opisywanie za pomocą matematyki złożonych procesów biologicznych. Przedmiotem analizy jest nie tylko kinetyka wzrostu, ale także morfologia. W ostatniej dekadzie coraz więcej uwagi poświęcono matematycznemu modelowaniu wzrostu grzybów strzępkowych i relacji pomiędzy morfologią i wytwarzaniem produktu. Zastosowanie cyfrowej analizy obrazów mikroskopowych pozwoliło na znaczny postęp w tej dziedzinie (17,18).

3.2. Inżynieria metabolizmu

Każda komórka jest swoistym bioreaktorem, w którym zachodzi wiele, złożonych reakcji biochemicznych połączonych wzajemnie skomplikowaną siecią oddzia-

tywań. Możliwe jest zastosowanie metod inżynierii reakcji chemicznych do opisu tego złożonego systemu reakcyjnego. Użyteczną metodą badawczą jest analiza strumieni metabolicznych (MFA – *Metabolic Flux Analysis*) (19-23). W ujęciu matematycznym przemiany wewnątrzkomórkowe przedstawiane są jako zespół reakcji charakteryzowanych przez macierz współczynników stechiometrycznych. Końcowym wynikiem analizy jest mapa strumieni metabolicznych, pokazująca schemat przemian wraz z ilościowym oznakowaniem poszczególnych szlaków. Wartości poszczególnych strumieni wyznaczone są za pomocą techniki znakowania poszczególnych metabolitów węglem ^{13}C i spektrometrii ^{13}C -NMR (21,24).

Mapa strumieni metabolicznych dostarcza istotnych informacji o fizjologii komórki oraz o możliwościach ich modyfikacji. Metoda MFA wykorzystująca do opisu procesów metabolicznych narzędzia matematyczne, rozwinięte na potrzeby inżynierii reakcji chemicznych, zmienia sposób analizy systemów biologicznych. W tradycyjnej biochemii posługiwano się podejściem redukcjonistycznym, analizując poszczególne przemiany. Metoda MFA umożliwia natomiast ujęcie holistyczne i opis złożonych zależności wielu reakcji i szlaków metabolicznych.

Technika, która pozwala ilościowo opisać wpływ poszczególnych czynników na przemiany wewnątrzkomórkowe jest określana mianem analizy regulacji metabolicznej (MCA – *Metabolic Control Analysis*) (25,26). Jej istota polega na wyznaczeniu reakcji limitujących szybkość poszczególnych szlaków metabolicznych oraz określeniu wrażliwości poszczególnych strumieni metabolicznych na zmiany parametrów (aktywność enzymów, stężenie metabolitów). Wyniki takiej analizy pozwalają na wybranie najbardziej efektywnych metod modyfikacji szlaków metabolicznych, np. w celu zwiększenia wydajności wytwarzania pożądaných produktów.

Inżynieria metabolizmu jest dziedziną interdyscyplinarną, wykorzystującą metody inżynierii chemicznej, nowoczesnych technik obliczeniowych, biochemii i biologii molekularnej (27). Zainteresowanie tą dziedziną związane jest dużymi możliwościami aplikacyjnymi, ukierunkowanymi na zwiększenie efektywności procesów biotechnologicznych i rozszerzenie spektrum produktów wytwarzanych tymi metodami (28,29).

3.3. Procesy rozdzielania

Procesy membranowe od dawna stanowiły ważną technikę w biotechnologii wykorzystywaną zarówno w pracach laboratoryjnych jak i w procesach przemysłowych (30). Powszechnie są używane do jałowienia płynów, oczyszczania roztworów (np. buforów) oraz zatężania roztworów białek. Tradycyjnie techniki membranowe (mikrofiltracja, ultrafiltracja) były używane do procesów rozdzielania związków znacznie różniących się masą cząsteczkową, a także w procesach nie wymagających wysokiej rozdzielczości. Pojawiają się nowe rozwiązania procesowe pozwalające na zwiększenie z jednej strony wydajności modułów ultrafiltracyjnych, a z drugiej na zwiększenie zdolności rozdzielczych membran. Większe natężenia przepływu uzyskuje

się przez zastosowanie obrotowych tarcz filtracyjnych lub specjalnie ukształtowanych przepływów spiralnych. Badania nad mechanizmem blokowania i zapychania membran (*fouling*) pozwalają na zmniejszenie skutków tych niekorzystnych zjawisk.

Postęp w dziedzinie technik membranowych związany jest nierozłącznie z rozwojem inżynierii materiałowej i otrzymywaniem nowych, złożonych materiałów do produkcji membran. Główne prace badawcze koncentrują się obecnie na wykorzystaniu nowych membran w procesach o wysokiej rozdzielczości, pozwalających na rozdzielanie związków o zbliżonych właściwościach. Za przykład może służyć m.in. rozdzielanie białek i wirusów lub usuwanie wirusów z hodowli komórek zwierzęcych (30).

Szczególne znaczenie zyskują techniki ze stycznym przepływem płynu względem membrany. Określane mianem HPTFF (*high-performane tangential flow filtration*) są wykorzystywane do oczyszczenia białek (31). Pozwalają na uzyskanie wysokich natężeń przepływu permeatu oraz zmniejszenia zjawisk zapychania i blokowania membran w stosunku do klasycznych technik filtracji okresowej typu *dead-end*. Dodatkowe zwiększenie efektywności rozdziału uzyskuje się dzięki zastosowaniu membran obdarzonych ładunkiem elektrycznym (32). Interesujący przegląd najnowszych tendencji w zastosowaniu technik membranowych w biotechnologii znaleźć można w artykule van Reisa i Zydneya (30).

Wykorzystanie membran w technikach chromatograficznych znane było od dawna, jednak dopiero w ostatnich latach, dzięki istotnemu postępowi dokonaniem w zakresie wytwarzania membran chromatograficznych, znacznie wzrosło praktyczne zastosowanie tej techniki (33). W odróżnieniu od klasycznej chromatografii wykorzystującej sorbent w postaci złoża nieruchomego, membrany sorpcyjne pozwalają uniknąć trudności i ograniczeń związanych z oporami dyfuzyjnymi transportu masy w złożu. Zdolność wiążąca membrany nie zależy zatem od natężenia przepływu płynu. Głównym dążeniem jest uzyskanie pojemności sorpcyjnej membran zbliżonej do pojemności typowych złóż chromatograficznych. Struktura porowata membrany odgrywa jak zwykle podstawową rolę. Duża powierzchnia właściwa związana jest z występowaniem małych porów, w których transport substancji ma charakter dyfuzyjny. Znacznie większe przepływy uzyskuje się dzięki transportowi konwekcyjnemu przez duże pory, ale oznacza to zmniejszenie powierzchni sorpcyjnej. Polepszenia właściwości membran chromatograficznych uzyskano poprzez optymalizację rozmiaru porów, wprowadzenie nowych materiałów i osadzanie na matrycy polimerów odpowiednich ligandów oraz wykorzystanie membran wielowarstwowych (34). Głównym obszarem zastosowań membran chromatograficznych jest oczyszczanie bioproduktów: usuwanie niewielkich ilości zanieczyszczeń z dużą sprawnością i wydajnością uzyskaną dzięki ciągłemu przepływowi medium przez aparat (35). Koszty rozdzielania obniżane są także w wyniku zastosowania membran chromatograficznych jednorazowego użytku. Eliminuje się koszty związane z konserwacją membran (płukanie itp.).

Metody chromatograficzne coraz częściej stają się konkurencyjne względem tradycyjnych technik rozdzielania takich jak precypitacja, krystalizacja czy ekstrakcja

(36). Z uwagi na zachowawcze warunki prowadzenia rozdzielania metody chromatograficzne są szczególnie wartościowe w przypadku produktów aktywnych biologicznie. Głównym czynnikiem ograniczającym wykorzystanie technik chromatograficznych w produkcji przemysłowej są koszty – zarówno inwestycyjne związane z zakupem aparatury jak i operacyjne wiążące się głównie z kosztami odczynników zużywanych w procesie produkcyjnym i w konserwacji układu chromatograficznego. Rozwiązań poszukuje się z jednej strony przez wprowadzanie nowych materiałów, a z drugiej przez doskonalenie technik procesowych. Dzięki nowym sorbentom wykorzystującym wysokoselektywne ligandy oraz wykorzystaniu wysokoporowatych polimerów znacznie rozszerzono zakres wykorzystania technik chromatograficznych. Nowe materiały umożliwiają bezpośrednie wydzielanie pożądaných produktów z nieklarowanych płynów pochodowlanych, co znacznie obniża koszty produkcji. Znaczącym przełomem w technikach chromatograficznych było wprowadzenie w ostatniej dekadzie ziół fluidalnych (ekspandowanych). Technika ta znana, i z powodzeniem stosowana w inżynierii chemicznej od ponad sześćdziesięciu lat okazała się bardzo przydatna w procesach wydzielania bioproduktów i zwiększyła atrakcyjność metod chromatograficznych (36).

3.4. Procesy zintegrowane

Zwiększenie wydajności niektórych procesów biotechnologicznych można uzyskać poprzez usuwanie z bioreaktora produktów przemian metabolicznych, hamujących rozwój drobnoustrojów. Typowymi przykładami są fermentacja etanolowa i produkcja kwasów organicznych. Szczególnym zainteresowaniem cieszą się w ostatnich latach tzw. procesy zintegrowane, w których przemiana biochemiczna połączona jest z procesem rozdzielania (37). Wykorzystywane są różnorodne techniki separacji: destylacja, ekstrakcja, sorpcja. Szczególnie efektywne okazało się wykorzystanie technik membranowych. Ekstrakcja membranowa lub destylacja membranowa pozwalają na efektywne usunięcie produktu z płynu hodowlanego bez narażania drobnoustrojów na działanie szkodliwych czynników, takich jak rozpuszczalniki organiczne czy podwyższona temperatura. W przypadku niektórych technologii (wydzielanie kwasu mlekowego przez elektrodializę, ekstrakcja etanolu z brzezki fermentacyjnej) procesy zintegrowane okazały się ekonomicznie efektywniejsze od tradycyjnych rozwiązań. Prowadzone są intensywne badania nad zastosowaniem procesów zintegrowanych w produkcji antybiotyków, aminokwasów i białek (38).

3.5. Sterowanie procesami biotechnologicznymi

Sterowanie i automatyczna kontrola procesów są integralną częścią instalacji przemysłowych. Również w procesach biotechnologicznych odgrywają bardzo istot-

ną rolę. Umożliwiają utrzymanie właściwych warunków prowadzenia procesów (temperatura, pH, dopływ pożywki) niezbędnych dla uzyskania wysokiej produktywności i obniżenia kosztów wytwarzania. Komputerowe sterowanie procesami technologicznymi jest obecnie standardem obejmującym wszystkie dziedziny produkcji. Interesujące omówienie rozwoju metod kontroli i sterowania procesami bioreaktorowymi zawiera artykuł Schügerla (39).

Zagadnienia związane ze sterowaniem procesami technologicznymi zawierają dwa podstawowe elementy. Jednym z nich są pomiary pozwalające na uzyskanie informacji o aktualnym stanie procesu. Drugim równie istotnym elementem jest model procesu, pozwalający na dynamiczną interpretację danych i podejmowanie działań regulacyjnych (sterowanie).

Procesy bioreaktorowe wymagają zastosowania bardzo dokładnych technik pomiarowych (40). Komórki drobnoustrojów mogą oblepiać czujniki i zakłócać pomiary. Płyny hodowlane mają często złożony i/lub słabo zdefiniowany skład, co może powodować interferencje i zafałszowanie odczytów. Wymaga się aby sensory nie zanieczyszczały płynów hodowlanych oraz by można je było sterylizować. Ważnym wymaganiem jest by czujniki pracowały efektywnie przez dłuższy czas (hodowle mogą trwać i kilka dni) bez kalibracji. Klasyczne pomiary w bioreaktorach ograniczały się do pomiaru temperatury, pH, stężenia rozpuszczonego tlenu i potencjału redoks. Rozwój elektroniki i mikrooptyki doprowadził do powstania nowych czujników i rozszerzył spektrum mierzonych parametrów. Czujniki mierzące różnorodne parametry elektryczne brzeczek są wykorzystywane do oznaczania biomasy drobnoustrojów. Najwięcej jednak nadziei wiąże się z czujnikami optycznymi. Dostępne są już komercyjne wersje optycznych czujników pH, rozpuszczonego tlenu i dwutlenku węgla. Spodziewać się można, że w najbliższej przyszłości dzięki mikrospektroskopii znacznie powiększy się zakres mierzonych parametrów w bioreaktorach (41). W wielu przypadkach zamiast bezpośredniego pomiaru wielkości stosuje się oznaczenia pośrednie poprzez obliczanie poszukiwanych wartości parametrów na podstawie modeli matematycznych procesu (41).

Modele oparte na matematycznym opisie elementarnych zjawisk pozwalają na ekstrapolację danych doświadczalnych, co ma szczególne znaczenie w przypadku powiększania skali procesów i interpretacji danych doświadczalnych. Interesujący przegląd zagadnień dotyczących tworzenia modeli w inżynierii bioprocusowej zawiera artykuł Baileya (11). Złożoność procesów przebiegających w bioreaktorach i ograniczona wiedza o tych procesach, zwłaszcza przebiegających wewnątrz komórek, sprawiają, że nie zawsze jest możliwe opracowanie ścisłego matematycznego modelu procesu. W zadaniach optymalizacji i sterowania procesami możliwe jest wykorzystanie modeli interpolacyjnych, w których wykorzystuje się czysto formalne, matematyczne metody interpolacji danych doświadczalnych. Szczególne zainteresowanie budzi wykorzystanie sztucznych sieci neuralnych (SNN) do tworzenia korelacyjnych modeli procesów. Modele, w których wykorzystuje się sztuczne sieci neuralne umożliwiają szybkie uzyskanie ilościowego, interpolacyjnego opisu do-

stępnych danych doświadczalnych. Zwięzły przegląd wykorzystania sztucznych sieci neuralnych w optymalizacji procesów biotechnologicznych znaleźć można w pracy Kovara i in. (42). Na podstawie dostępnych danych wskazuje się, że największe firmy biotechnologiczne z powodzeniem stosują metodę SNN do optymalizacji składu pożywki, maksymalizacji wytwarzania różnorodnych produktów metabolizmu oraz do bezpośredniego (tzw. adaptacyjnego) sterowania procesami technologicznymi. Metoda SNN jako metoda korelacyjna nie pozwala na ekstrapolacje danych i powiększanie skali lub przewidywanie efektów wprowadzania zmian w sposobie prowadzenia procesu. Możliwe jest jednak połączenie efektywności interpolacyjnej SNN z opisem uwzględniającym mechanizmy zjawisk konstruuując tzw. modele hybrydowe. Obok zależności korelacyjnych (opisujących, np. kinetykę wytwarzania metabolitu) obliczanych za pomocą sztucznej sieci neuralnej wykorzystuje się tradycyjne równania bilansowe reaktora oraz matematyczne opisy wymiany masy i ciepła (43).

4. Inżynieria bioprocessowa w Polsce

Inżynieria bioprocessowa rozwijana jest w Polsce w wielu ośrodkach. Zlokalizowane są one głównie na politechnikach (wywodzą się z zespołów zajmujących się inżynierią procesową) oraz na akademiach rolniczo-technicznych (powiązanych przede wszystkim z technologią żywności). Przegląd najważniejszych ośrodków akademickich oraz charakterystykę ich dorobku naukowego i dydaktycznego przedstawiono na I Krajowym Kongresie Biotechnologii we Wrocławiu (44).

Główna tematyka badań obejmuje: modelowanie i kinetykę bioprocessów, przeniesienie pędu masy i ciepła w bioreaktorach, bioreaktory membranowe, bioprocessy w ochronie środowiska oraz procesy wydzielania i oczyszczania bioproduktów. Odpowiada to obszarowi zainteresowań klasycznej inżynierii bioprocessowej (45). W stosunku do tendencji światowych można zauważyć brak prac z zakresu modelowania metabolizmu i zaawansowanych technik rozdzielania. Słabo zarysowana jest współpraca interdyscyplinarna, zwłaszcza pomiędzy inżynierią bioprocessowej a biochemią i genetyką.

5. Inżynieria bioprocessowa na łamach „Biotechnologii”

W kwartalniku „Biotechnologia” prezentuje się szerokie spektrum prac obejmujących różne aspekty biotechnologii. Jednakże tematyka związana z praktycznymi realizacjami procesów mikrobiologicznych niezbyt często pojawia się na jego łamach. W ciągu ostatnich 10 lat (od 1993 r.) na 566 artykułów opublikowanych w „Biotechnologii” zaledwie 106 dotyczyło różnych aspektów technicznych i technologicznych wykorzystania materiału biologicznego.

Szczególnie cenione są prace przeglądowe publikowane w „Biotechnologii”. W omawianym okresie ukazało się ich 279, z czego zagadnieniom technologiczno-inżynier-

skim poświęconych było jedynie 32. Nie wszystkie prace związane z praktycznymi aspektami procesów biotechnologicznych można zaliczyć do inżynierii bioprosesowej. Trzymając się przedstawionej charakterystyki inżynierii bioprosesowej i jej specyficznych metod można do tej dziedziny zaliczyć 22 prace. Pozostałe publikacje mają charakter technologiczno-pomiarowy bez elementów uogólniania czy opisu matematycznego. Artykuły przeglądowe mają duże znaczenie edukacyjne, ułatwiają wzajemne zrozumienie przedstawicieli różnych dyscyplin. Jednakże, jak się wydaje, udział artykułów przeglądowych dotyczących inżynierii bioprosesowej jest zbyt mały i zagadnienia związane z tą dyscypliną powinny częściej gościć na łamach „Biotechnologii”. Inaczej wygląda sytuacja wśród prac eksperymentalnych. Na ogólną liczbę 233 publikacji zagadnieniom inżynierijno-technologicznym poświęcono 74 prace (ok. 32%). Zdecydowaną większość tych publikacji bo 62 (83%) stanowiły prace z zakresu inżynierii bioprosesowej.

Tabela 2

Tematyka artykułów z zakresu inżynierii bioprosesowej „Biotechnologia” 1993–2002

Tematyka	Liczba publikacji przeglądowych	Liczba prac eksperymentalnych
hydrodynamika bioreaktorów i procesy transportu masy i ciepła	1	5
bioreaktory w ochronie środowiska	2	17
projektowanie i dobór bioreaktorów	3	7
hodowla komórek roślinnych i zwierzęcych w bioreaktorach	4	2
bioreaktory membranowe i z unieruchomionym materiałem biologicznym	5	11
procesy enzymatyczne	1	10
modelowanie i optymalizacja procesów bioreaktorowych	2	4
przygotowanie pożywek (sterylizacja)	1	4
pomiary	2	1
procesy rozdzielania i oczyszczania	1	5
Razem	22	62

W tabeli 2 zestawiono tematykę prac z zakresu inżynierii bioprosesowej publikowanych na łamach „Biotechnologii”. W zasadzie pokrywa ona zasadnicze obszary inżynierii bioprosesowej. Najwięcej prac poświęconych jest różnym aspektom inżynierii bioreaktorowej. Dużo prac poświęcono zagadnieniom związanym z ochroną środowiska. Za to bardzo mało jest prac poświęconych procesom wydzielania i oczyszczania bioproduktów i modelowaniu bioprosesów. Zupełnie brak jest prac poświęconych inżynierii metabolizmu. Można odnieść wrażenie, że inżynieria bioprosesowa w Polsce zatrzymała się w obrębie tradycyjnej tematyki i nie uczestniczy w rozwoju tej dyscypliny. Wśród przyczyn tego stanu można wymienić wątplą współpracę specjalistów zajmujących się inżynierią bioprosesową z biochemikami, mikrobiologami i genetykami. Daleko idąca wstrzeźliwość przedstawicieli nauk biologicznych w stosowaniu narzędzi matematycznych, jak się wydaje, nie sprzyja współpra-

cy i porozumieniu. Należy także zwrócić uwagę na słabość krajowego przemysłu biotechnologicznego. To powoduje ograniczony dopływ środków do zespołów badawczych i brak stymulacji nowej tematyki badawczej.

6. Podsumowanie

Tak jak rozwój inżynierii chemicznej był ściśle związany z dynamicznym rozwojem przemysłu chemicznego w latach pięćdziesiątych i sześćdziesiątych ubiegłego wieku tak rozwój inżynierii bioprosesowej jest odpowiedzią na ogromny postęp w naukach biologicznych jaki dokonał się w ostatnich dekadach XX w.

Inżynieria bioprosesowa przez długi czas utożsamiana była jedynie z rozwojem bioprosesów, powiększaniem skali i wdrażaniem procesów biotechnologicznych do praktyki przemysłowej. Te zadania są nadal aktualne i ważne. Jednak znaczenie inżynierii bioprosesowej wykroczyło poza te klasyczne ramy. Okazało się, że metoda ilościowego opisu zjawisk wypracowana w ramach inżynierii procesowej może mieć znacznie szersze zastosowanie. W ostatnich latach obserwować można rozszerzenie pola zainteresowań i zastosowań inżynierii bioprosesowej. Poza tradycyjnymi obszarami takimi jak projektowanie i optymalizacja procesów bioreaktorowych oraz wydzielanie i oczyszczanie produktów metody inżynierii bioprosesowej wykorzystywane są w analizie przemian wewnątrzkomórkowych, projektowaniu nowych produktów zwłaszcza farmaceutyków oraz nowych technik ich otrzymywania, oczyszczania i formowania.

Podstawowe idee inżynierii bioprosesowej związane ze zjawiskami transportu, kinetyką procesów i ich termodynamiką są dobrą podstawą naukową do włączenia osiągnięć biochemii, biologii molekularnej i genetyki do praktyki przemysłowej.

Literatura

1. Aiba S., Humphrey A. E., Mills N. F., (1964), *Biochemical engineering*, Academic Press, New York, tłumaczenie polskie WNT (1977).
2. Bailey J. E., Ollis D. F., (1977), *Biochemical Engineering Fundamentals*, McFraw Hill.
3. Shuler M. L., Kargi F., (1992), *Bioprocess Engineering Basic Concepts*, Prentice Hall.
4. Blanch H. W., Clark D. S., (1996), *Biochemical Engineering*, Marcel Dekker.
5. *Bioreaction Engineering*, (2000), Eds. Schügerl K., Bellgardt H., Springer-Verlag, Berlin.
6. Sargent R. W. H., (2002), *Chem. Eng. Sci.*, 57, 1075-1077.
7. Amundson N. R., (1988), *Frontiers in chemical engineering. Research needs and opportunities*, National Academy Press, Washington D.C.
8. Gradoń L., (2001), *Inż. Chem. Proc.*, 22, 49-53.
9. Ledakowicz S., (2001), *Inż. Chem. Proc.*, 23, 3A, 65-74.
10. Liden G., (2002), *Bioprocess Biosystem Eng.*, 24, 273-279.
11. Bailey J. E., (1998), *Biotechnol. Prog.*, 14, 8-20.
12. Pohorecki R., (2002), *Inż. Ap. Chem.*, 3, 118-120.
13. Pohorecki R., (Ed.), (1998), *Appl. Mechanics Rev.*, 51, 1, Special issue.

14. Pohorecki R., (2002), *Biotechnologia*, 57, 60-77.
15. Szewczyk K. W., (2000), *Bilansowanie i kinetyka procesów biochemicznych*, Oficyna Wydawnicza PW, Warszawa.
16. Szewczyk K. W., (2002), *Biotechnologia*, 57, 15-32.
17. Birol G., Ündey C., Parulekar S. J., Çnar A., (2002), *Biotechnol. Bioeng.*, 77, 538-552.
18. Paull G. C., Priede M. A., Thomas C. R., (1999), *Biochem. Engng. J.*, 3, 121-129.
19. Stephanopoulos G. N., Aristidou A. A., Nielsen J., (1998), *Metabolic engineering principles and methodology*, Academic Press, New York.
20. Stephanopoulos G., (1999), *Metabolic Engineering*, 1, 1-11.
21. Yang Y-T., Bennett G. N., San K-Y., (1998), *Electronic J. Biotechnol.*, 1(3).
22. Verner J., Ramkrishna D., (1999), *Current Opinion in Biotechnol.*, 10, 146-150.
23. Gombert A. K., Nielsen J., (2000), *Current Opinion in Biotechnol.*, 11, 180-186.
24. Dauner M., Bailey J. E., Sauer U., (2001), *Biotechnol. Bioeng.*, 76, 144-156.
25. Kacser H., Burns J. A., (1973), *Symposium of the Society of Experimental Biology*, 27, 65-104.
26. Heidrich R., Rapoport S. M., (1997), in: *Progres in Biophysics and Molecular Biology*, vol 32, Eds. Butler J. A. V., Noble D., Pergamon Press, Oxford, 1-82.
27. Wiechert W., (2002), *J. Biotechnol.*, 94, 37-63.
28. Weckwerth W., Fiehn O., (2002), *Current Opinion in Biotechnol.*, 13, 156-160.
29. Zhao H., Chockalingam K., Chen Z., (2002), *Current Opinion in Biotechnol.*, 13, 104-110.
30. van Reis R., Zydney A., (2001), *Current Opinion in Biotechnol.*, 12, 208-211.
31. Zydney A. L., van Reis R., (2001), *High performance tangential flow filtration*, in: *Membrane Separation in Biotechnology*, Ed. Wang W. K., 2nd ed, Marcel Dekker, New York, 277-298.
32. van Reis R., Brake J. M., Charkoudian J., Burns D. B., Zydney A. L., (1999), *J. Membr. Sci.*, 159, 133-142.
33. Klein E., (2000), *J. Membr. Sci.*, 179, 1-27.
34. Tejada A., Ortega J., Magana I., Guzman R., (1999), *J. Chromatogr. A*, 830, 293-300.
35. Zeng X., Ruckenstein E., (2000), *Biotechnol. Progress*, 15, 1003-1019.
36. Lyddiatt A., (2002), *Current Opinion in Biotechnol.*, 13, 95-103.
37. Noworyta A., (2001), *Inż. Chem. Proc.*, 22, 85-96.
38. Schügerl K., (2000), *Biotechnol. Advances*, 18, 581-599.
39. Schügerl K., (2001), *J. Biotechnol.*, 85, 187-212.
40. Lübert A., Jørgensen S. B., (2001), *J. Biotechnol.*, 85, 187-212.
41. Harms P., Kostov Y., Rao G., (2002), *Current Opinion in Biotechnol.*, 13, 124-127.
42. Kovar K., Kunze A., Gehlen S., (1999), *Chimia*, 53, 533-535.
43. Chen L., Bernard O., Bastin G., Angelov P., (2000), *Control Engineering Practice*, 8, 821-827.
44. Pohorecki R., Szewczyk K. W., (2000), *Biotechnologia*, 48, 34-39.
45. Ledakowicz S., (1999), *Zeszyty Naukowe PŁ*, 822, *Inż. Chem. Proc.*, 26, 7-9.