



BIOPROCESNO INŽENIRSTVO

Polona Žnidaršič Plazl



Bioinženirstvo

- **Bioinženirstvo:** (bioengineering)
 - bioinženirji so inženirji, ki delajo na področju biotehnologije
 - širši pojem, vključuje tudi delo na področju medicine in kmetijstva
 - sodelujejo: kmetijski, elektro, strojni, okoljski in kemijski inženirji
- **Biološko inženirstvo:** (biological engineering)
 - podobno kot bioinženirstvo, le da se osredotoča na delo z rastlinami in živalmi

Biokemijsko in bioproceno inženirstvo

- **Biokemijsko inženirstvo:** (biochemical eng.)

Uporaba kemijsko inženirskih principov v sistemih z biološkimi katalizatorji

Pogosta delitev:

- bioreakcijsko inženirstvo
- bioseparacije

- **Bioproceno inženirstvo:** (bioprocess eng.)

vklučuje delo strojnih, elektro in drugih inženirjev za načrtovanje in izvedbo procesov s celotnimi celicami ali njihovimi sestavnimi deli

Biomedicinsko in biomolekularno inženirstvo

- **Biomedicinsko inženirstvo:** (biomedical eng.) uporaba inženirskih principov za razvoj biokompatibilnih vsadkov, različnih diagnostičnih in terapevtskih medicinskih naprav, merilne naprave na osnovi analize slike, proizvodnja regenerativnih tkiv, ...
- **Biomolekularno inženirstvo:** (biomolecular eng.) raziskave na meji med biologijo in kemijskim inženirstvom, ki so usmerjene na molekularni nivo

Biotehnologija

- Širši pomen: integrirana uporaba molekularno-bioloških in **inženirskih znanj** za gospodarsko uporabo organizmov, njihovih delov in proizvodov.
- Interdisciplinarna veda, ki združuje področja biologije, kemije, biokemije, **kemijskega inženirstva** itd.
- Uporablja žive organizme, celice ali njihove sestavne dele (encimi, organeli, celični lizati,...).
- Sestavni del prehrambene in farmacevtske industrije, kmetijstva, medicine, veterine in varovanja okolja.
- Ožji pomen: uporaba ali razvoj metod genetskih manipulacij za dosego družbeno relevantnih ciljev

Biotehnologija

Bela biotehnologija uporablja mikroorganizme na industrijskem nivoju, da bi proizvedli zelene produkte za najrazličnejša področja uporabe.

Tradicionalna biotehnologija uporablja mikroorganizme v proizvodnji piva, vina, kruha, mlečnih izdelkov, antibiotikov,...

Novejša biotehnologija pa uporablja genetsko spremenjene organizme za proizvodnjo encimov, sodobnih zdravil, biorazgradljive plastike, bioenergije...

Zelena biotehnologija išče okolju prijazne rešitve, ki bi nadomestile tradicionalno kmetijstvo, hortikulturo in proces vzreje živali. Primer je ustvarjanje transgenih rastlin, ki so gensko spremenjene tako, da izboljšajo okus, odpornost na pesticide in bolezni, povečajo rast ter preživijo neugodne razmere.

Biotehnologija

Rdeča biotehnologija obsega področje medicine, kjer s specifičnimi procesi in uporabo organizmov stremimo k izboljšanju zdravja ljudi in živali. Primeri so uporaba organizmov za proizvodnjo antibiotikov, cepiv, zdravil, gensko zdravljenje, uporaba v forenziki ...

Modra biotehnologija uvaja molekularno biološke aplikacije na morske organizme in organizme iz sladkih vod. Te organizme in njihove derivate uporablja v namene povečanja varnosti in oskrbe z morsko hrano, za kontrolo škodljivih organizmov v vodi, za proizvodnjo nekaterih zanimivih produktov, zdravil ...

Delitev raziskovalnih ved - klasifikacija ARRS

- 2. Tehnika

- 2.02 Kemijsko inženirstvo

- 2.02.01 Transportni pojavi
- 2.02.02 Separacijski procesi
- 2.02.03 Procesno sistemsko inž.
- 2.02.04 Kataliza in reakcijsko inž.
- 2.02.05 Polimerno inženirstvo
- 2.02.06 **Biokemijsko inženirstvo**
- 2.02.07 Anorganski produkti
- 2.02.08 Organski produkti
- 2.02.09 Tehnika za varstvo okolja

- 4. Biotehnika

- 4.06 Biotehnologija

- 4.06.01 Tehnologija rekombinantne DNA
- 4.06.02 **Bioinženirstvo**
- 4.06.03 Animalna biotehnologija
- 4.06.04 Mikrobna biotehnologija
- 4.06.05 Rastlinska biotehnologija
- 4.06.06 Zaključni procesi v biotehnologiji

Evropska klasifikacija raziskovalnih ved

CERIF- CERCs *Common European Research Classification Scheme*

Transportna tehnologija T 003

- T 280 Tehnologija cestnega prevoza
- T 290 Tehnologija železniškega prevoza
- T 300 Tehnologija vodnega prevoza
- T 310 Tehnologija zračnega prevoza
- Konstrukcijska tehnologija: glej T 002
- Motorji in pogonski sistemi: glej T 455
- T 320 Vesoljska tehnologija
- Vesoljska veda: glej P 520
- T 330 Vojaška veda in tehnologija
- T 340 Rudarstvo
- T 350 Kemijska tehnologija in inženirstvo
- **T 360 Biokemijska tehnologija**
- T 370 Kemija ogljikovih spojin, petrokemija, tehnologija goriv in eksplozivov
- Motorji in pogonski sistemi: glej T 455
- T 380 Naravna olja, tehnologija maščob in voskov
- T 390 Polimerska tehnologija, biopolimeri
- T 400 Tehnologija rafiniranih kemikalij, barve
- Agrokemija: glej B 434
- T 410 Farmaceutvska in sorodne tehnologije
- T 411 Radiofarmaceutvska tehnologija
- T 420 Agrotehnika, kmetijski stroji, gradnja kmetij
- T 430 Tehnologija hrane in pijač
- T 440 Nekovinska mineralna tehnologija
- T 450 Kovinska tehnologija, metalurgija, kovinski izdelki
- T 455 Motorji in pogonski sistemi
- T 460 Lesna, kašna in papirna tehnologija
- T 470 Tekstilna tehnologija
- T 480 Tehnologija ostalih izdelkov
- **T 490 Biotehnologija**
- T 500 Varnostna tehnologija
- T 510 Kronologija, datirne tehnike

Klasifikacija področij znanosti in tehnologije (FOS 2007)

2 TEHNIŠKE IN TEHNOLOŠKE VEDE

2.1 Gradbeništvo (Splošno (civilno) inženirstvo)

2.2 Elektrotehnika, elektronika in informacijski inženiring

2.3 Mehanika

2.4 Kemijsko inženirstvo

2.5 Materiali

2.6 Zdravstveni inženiring

2.7 Okoljsko inženirstvo

2.8 Okoljska biotehnologija

2.9 Industrijska biotehnologija

2.10 Nanotehnologija

2.11 Druge tehniške in tehnološke vede

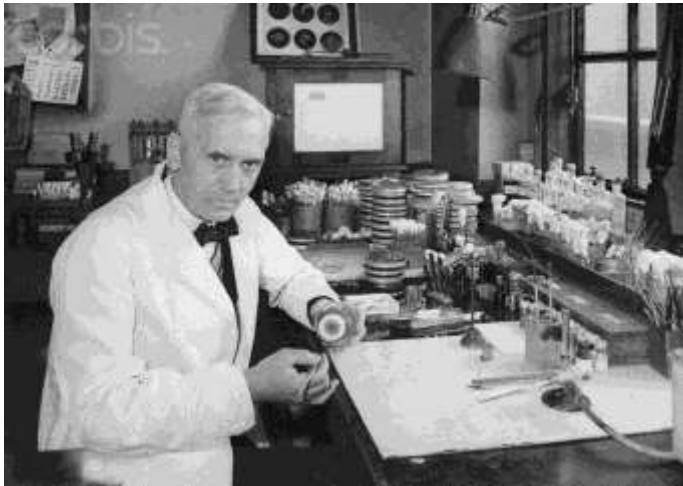
Razvoj bioprocessov

- Interdisciplinarni pristop
- Komplementarna znanja biologov in inženirjev:
 - Biologi: postavitve hipotez, načrtovanje eksperimentov, interpretacija podatkov iz kompleksnih sistemov
 - Inženirji: kvantitativni pristop, matematično modeliranje



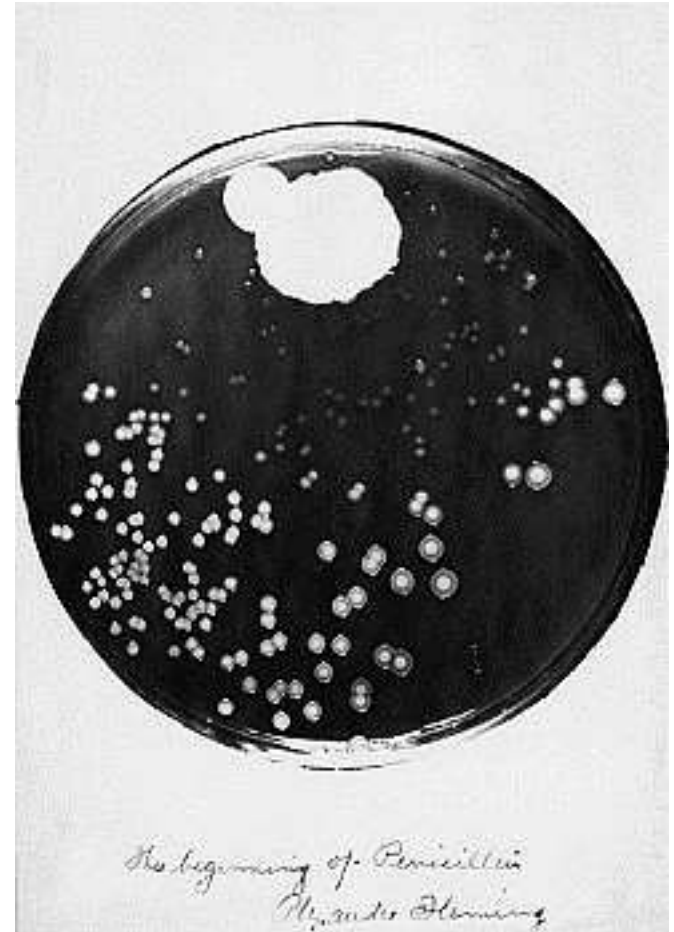
Primer razvoja bioprocesa: penicilin

- September 1928:
Alexander Fleming (St. Mary's Hospital, London) odkril inhibicijsko delovanje neznane kulture (okužba) na rast bakterije *Staphylococcus aureus*



Sir Alexander Fleming

Vir: Corbis Corporation

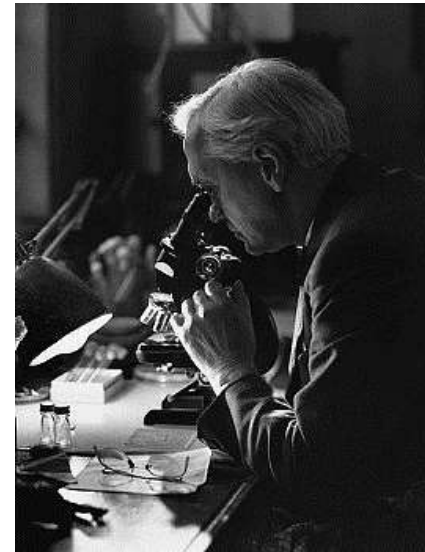


*The beginning of Penicillin
Alexander Fleming*

Vir: Corbis Corporation

Odkritje penicilina

Fleming je prepoznal, da je preprečitev rasti bakterij posledica antibakterijskega delovanja glive. Glivo je opredelil kot vrsto iz rodu *Penicillium* (kasneje identificirana kot *Penicillium notatum*).



Vir: Corbis Corporation



gliva

Penicillium notatum

Vir: Corbis Corporation

Fleming je glivo razrastel in s preprostimi metodami ekstrakcije izoliral minimalno količino izločenega materiala. Snov, ki ji je dokazal antibakterijsko delovanje, je imenoval **penicilin**.

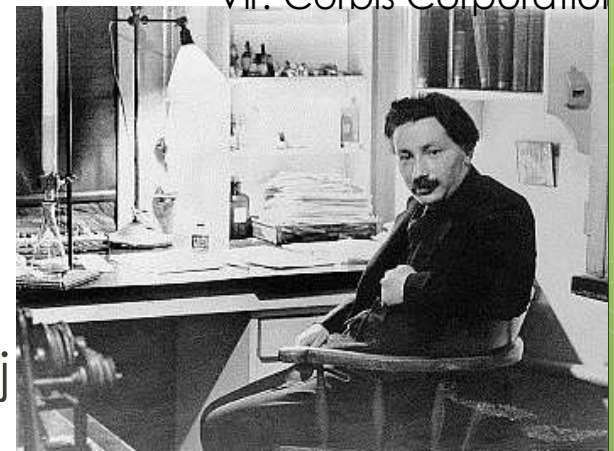
Kulturo je shranil, a odkritje je bilo pozabljeno več kot desetletje.

Nadaljnje raziskave

- 2. svetovna vojna: velike potrebe po antibiotikih
- H. Florey in E. Chain (Oxford): nadaljevanje Flemingovih raziskav
- N. Heatley proizvajal material za njune raziskave:
 - razvoj metode za sleditev količine penicilina med fermentacijo
 - razvoj gojenja glive
 - razvoj procesa povratne ekstrakcije
 - po več mesecih truda so imeli dovolj materiala za testiranje laboratorijskih živali



Sir Howard Florey
Vir: Corbis Corporation



Sir Ernst Boris Chain
Vir: Corbis Corporation

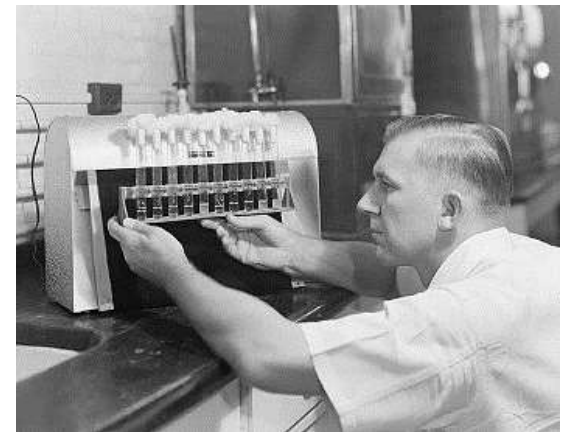
Nadaljnje raziskave

- 27 januarja 1941, 18 mesecev po začetku projekta, so začeli zdraviti londonskega stražnika z bakterijsko okužbo krvi.
- Penicilin je čudežno deloval na pacienta, ki je že skoraj ozdravel.
- Zdravila je zmanjkalo, bolezen se je povrnila in pacient je umrl.



Radcliffe Infirmary,
bolnica v Oxfordu

Vir: Corbis Corporation



Vir: Corbis Corporation

Potrebe po proizvodnji

- Zaradi vojne v Evropi je H. Florey poiskal sodelovanje za proizvodnjo v ZDA.
- Številna podjetja so v sodelovanju z univerzami sprejela izziv: Merck, Pfizer, Squibb, Lilly ter USDA Northern Regional Research Laboratory (NRRL)



Vir: Corbis Corporation

- Sprva želja po kemijski sintezi penicilina. Angažiranih več 100 kemikov, fermentacija nezaželjena. Kemijska sinteza penicilina zelo zahtevna, uspela šele l. 1950.
- L.1943 je War Production Board pooblastil A. L. Elderja, da koordinira proizvodnjo velike količine penicilina. Izbrali so **fermentacijo**, čeprav je bil to za znanstvenike „polom“.

Razvoj bioprocesa

- Osnovni problemi:
 - zelo nizka koncentracija produkta (l.1939 0,001 g/L oz. 1 ppm)
 - nizka produktivnost (količina produkta na časovno in prostorninsko enoto)
 - Zelo nestabilna molekula – otežena izolacija in čiščenje
- Znanstveniki NRRL (Peoria, IL) izboljšali proizvodnjo:
 - izbor gojišča na osnovi koruznega sirupa in laktoze (10-krat povišana produktivnost)
 - iskanje boljših produkcijskih organizmov: vrsta *Penicillium chrysogenum* (izolirali iz plesnive melone na tržnici v Peorii)
 - kasneje so odkrili še izboljšanje z dodatkom prekursorjev – npr. fenilocetna kislina



Koruzni sirup



Penicillium chrysogenum

Vir: Corbis Corporation

Razvoj bioprocesa

- Način proizvodnje
 - na površini vlažnih otrobov – ovržen zaradi problemov:
 - onemogočen nadzor T, sterilnosti,
 - velikosti opreme (gojenje v posodah (steklenicah) za mleko – potrebovali bi jih toliko, da bi lahko naredili vrsto od New Yorka do San Francisca)
 - kljub pomanjkljivostim prva proizvodnja v ploščatih steklenicah, zaprtih z vatastim zamaškom
 - submerzna proizvodnja bistveno boljša:
 - gliva raste v velikih posodah z mešali in zračenjem
 - Floreyeva kultura v tekočem gojišču proizvedla penicilin le v sledovih
 - z novim sevom *P. chrysogenum* je bila proizvodnja smiselna



Vir: Corbis Corporation



<http://www.sciencemuseum.org.uk/broughtmlife/objects/display.aspx?id=6701>

Razvoj bioprocesa

- Pilotne proizvodnje kljub pomislekom
- Februarja 1942 začela skupaj Merck in Squibb, septembra 1942 se jima pridruži Pfizer
- Marca 1942 proizvedeno dovolj penicilina za zdravljenje prve pacientke, naslednjih 10 pacientov zdravljenih do junija 1942
- Proizvodnja v 1 L steklenicah:
nekaj 100 L/teden
- Decembra 1942 se Heatley (Oxford) pridruži raziskovalni skupini v Mercku – uvedejo njihovo analizno metodo spremljanja koncentracije penicilina.



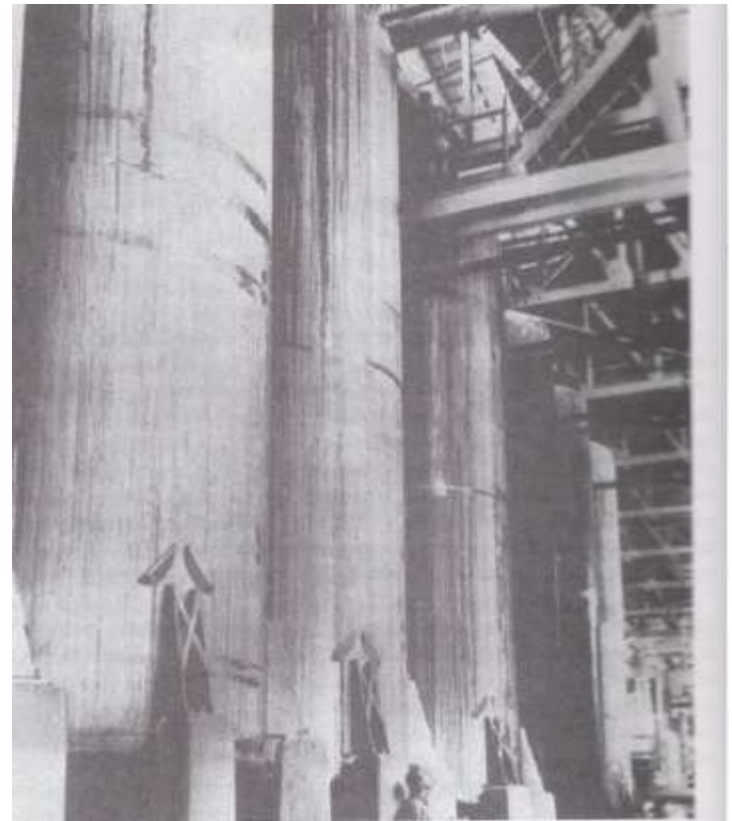
<http://www.sciencemuseum.org.uk/images/1066/10328149.aspx>



Vir: Corbis Corporation

Prenos v večje merilo (scale-up)

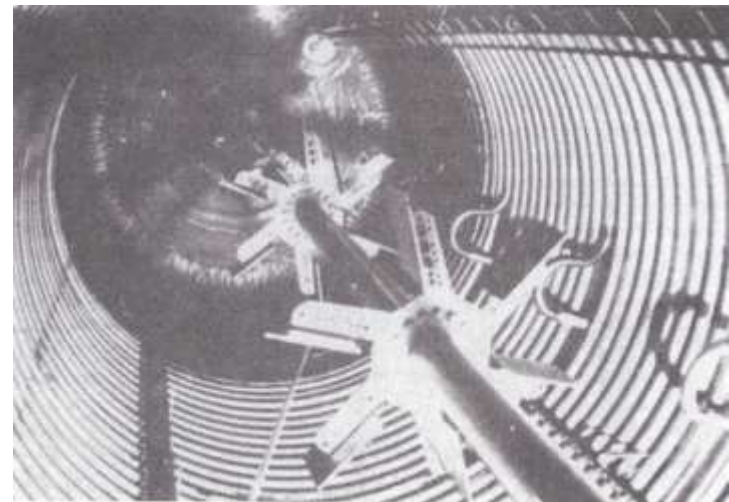
- Glavni problemi submerzne proizvodnje:
 - **Vnos kisika** (vnos sterilnega zraka, prenos kisika v kapljevino)
 - **Penjenje** (koruzni sirup se ob zračenju peni)
 - rešitev (Squibb): dodatek gliceril monoricinolata kot protipenilca
 - Načrtovanje novih **hladilnih sistemov** za odvajanje toplote



Vir: Shuler M.L., Kargi F. Bioprocess Engineering, 2nd Ed., Prentice Hall, Inc., 2002

Prenos v večje merilo (scale-up)

- Glavni problemi submerzne proizvodnje:
 - Načrtovanje novih sistemov **mešal**
 - **Izolacija**: 2/3 izgub zaradi nestabilnosti in temperaturne občutljivosti
 - Izboljšava (Lilly): ekstrakcija pri nizkih T
 - Izboljšava (Pfizer): zmrznjeno sušenje v vakuumu



Vir: Shuler M.L., Kargi F. Bioprocess Engineering, 2nd Ed., Prentice Hall, Inc., 2002

- **1. marca 1944** je v New Yorku **Pfizer** odprl prvo tovarno za submerzno proizvodnjo penicilina v velikih količinah

Začetek industrijske proizvodnje I. 1944



Vir vseh fotografij: Corbis Corporation

Začetek industrijske proizvodnje

- Pfizer I. 1944: 14 reaktorjev po 7000 galon (vsak cca 26,5 m³, skupaj cca 370 m³)
- Ob koncu 2. svetovne vojne letna proizvodnja penicilina v ZDA zadoščala za 100.000 pacientov
- Zelo razširjena uporaba za zdravljenje številnih streptokoknih, stafilokoknih in gonokoknih infekcij



Oglas za penicilin

Vir: Corbis Corporation



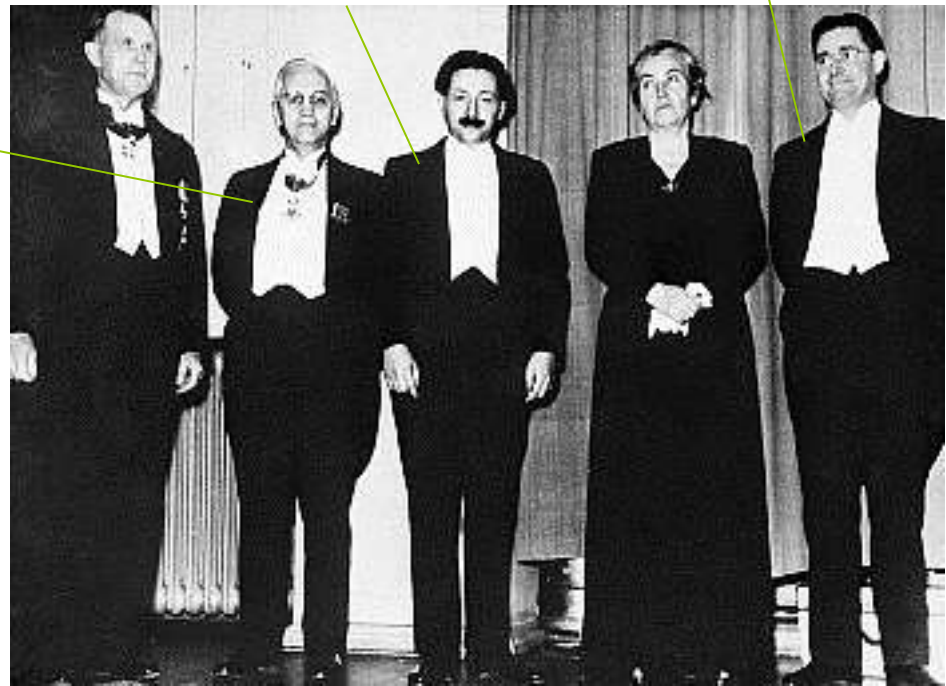
zdravljenje s penicilinom

Vir: Corbis Corporation

Nobelova nagrada za medicino I. 1945

Sir Ernst Boris Chain in Sir Howard Florey

Sir Alexander Fleming,



Vir: Corbis Corporation

Povečanje proizvodnje

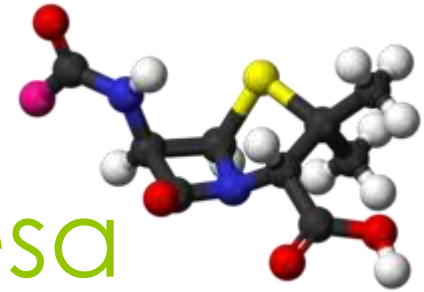
- War Production Board (WPB) je l. 1943 izbral 21 podjetij od 175 za izvedbo proizvodnje; sprva vsa proizvodnja namenjena vojnim potrebam
- Letna proizvodnja „čudežnih zdravil“ je skokovito naraščala:
 - L. 1943: 21 milijard enot; cena: 20 \$/ 100.000 enot
 - L. 1944: 1,663 bilijonov enot
 - L. 1945: 6,8 bilijonov enotPo 15. marcu 1945 distribucija do porabnikov brez omejitev
 - L. 1949: 133,229 bilijonov enot; cena: 0,1 \$/ 100.000 enot
 - Prva prodaja penicilina, proizvedenega v VB: 1. junija 1946



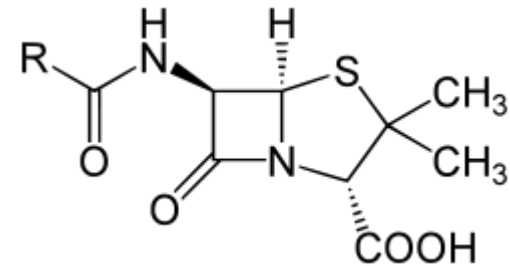
Vir: Chemical & Engineering News, 2005, Vol. 83, Iss. 25

<http://pubs.acs.org/cen/coverstory/83/8325/8325penicillin.html>

Nadaljnji razvoj procesa

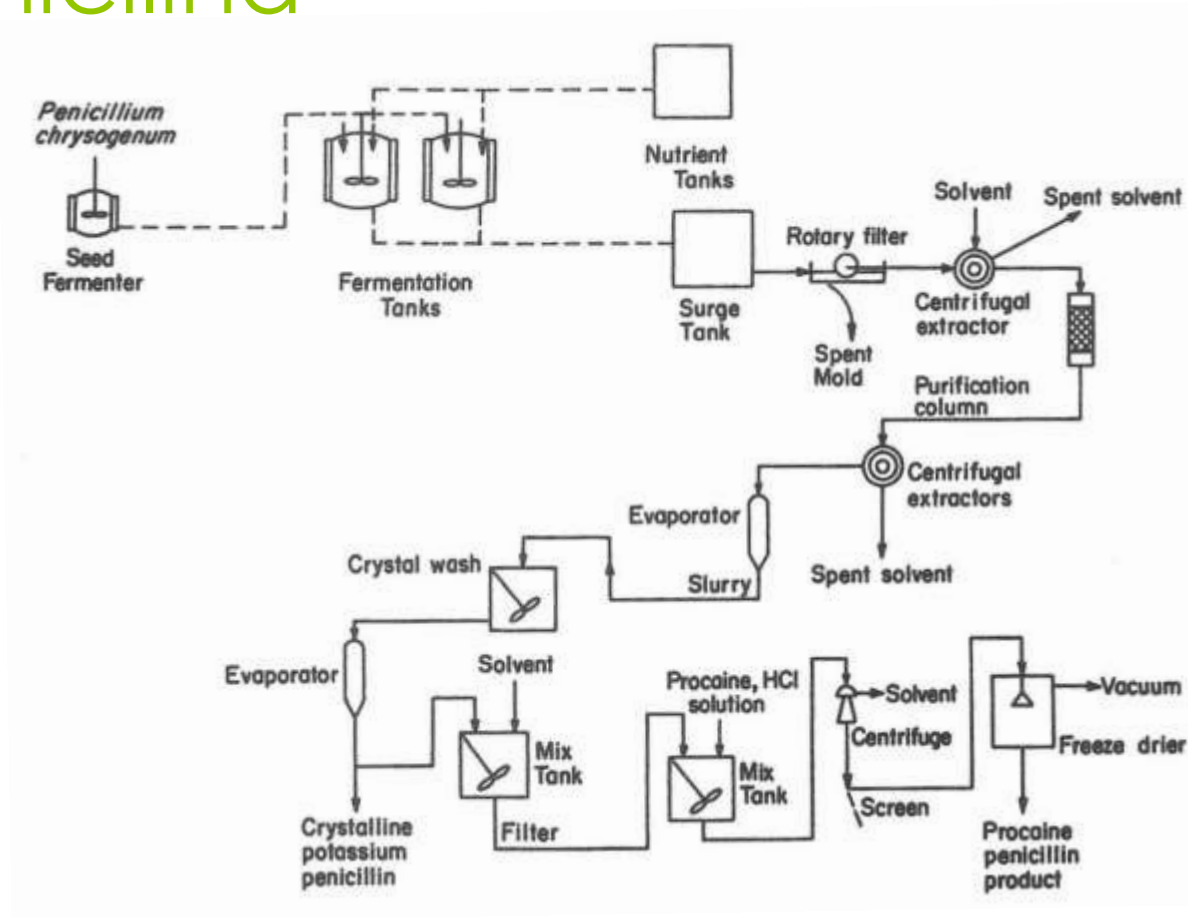


- Vsebnost penicilina
 - l. 1939: 0,001 g/L
 - po l. 2000: nad 50 g/L



- Izboljšave na osnovi:
 - Poznavanja strukture penicilina (D. Hodgkin l. 1945)
 - Razumevanja mikrobne fiziologije
 - Poznavanja metabolizma glive
 - Izboljšanje sevov (mutacije, genetski inženiring)
 - Boljši nadzor procesa
 - Načrtovanje reaktorjev
 - Načrtovanje procesa na osnovi morfoloških modelov

Shema industrijske proizvodnje penicilina



Integrirana proizvodnja penicilina

