



دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، گروه زیست‌شناسی
سلولی و مولکولی، آزمایشگاه میکروبیولوژی

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

آزمایشگاه میکروب شناسی صنعتی (بیوتکنولوژی میکروبی)

آشنایی با فرمانتور

دکتر سهیلا عباسی

فرمانتور

فرمانتور دستگاهی برای به وجود آوردن محلی مناسب جهت پرورش و رشد بهتر میکرو ارگانیسم مانند مخمر، باکتری و قارچ ها است. اکثر میکرو ارگانیسم ها در شرایط خاص معمولا شرایط رشد بهتری خواهند داشت.

فرمانتور جهت کشت دادن و ایجاد رشد نمو بیشتر به میکرو ارگانیسم ها مورد استفاده قرار می گیرد و میکرو ارگانیسم ها در آن قابلیت رشد ۸ تا ۱۲ نسل را دارا می باشند .

به کمک دستگاه فرمانتور میتوان محل کشت و رشد را از نظر PH و دما کنترل نمود . قابلیت اتوماتیک کردن محل کشت در دستگاه فرمانتور امکان پذیر می باشد.

دستگاههای فرمانتور بسته به نوع مورد استفاده دارای طراحی ها، ظرفیت ها، متریال مصرفی و کنترلر های متفاوت می باشند.

فرمانتور ها به طور کلی به دو دسته تقسیم می شوند:

فرمانتورهای آزمایشگاهی



فرمانتورهای صنعتی



اجزای فرمانتور

اجزای اصلی فرمانتور شامل موارد زیر است:

- وسل (Vessel)
- هیتر
- موتور
- پانل (panel)
- ترنس میتر (Transmitter)
- صفحه ی نمایش (Monitor)

اجزای فرمانتور

اجزای تشکیل دهنده فرمانتور آزمایشگاهی به نام Minifor :

- پایه صفحه تنظیم و اندازه گیری (panel)
- ظرف تخمیر همزن
- کنترل کننده دما کنترل کننده و اندازه گیری pH
- تنظیم کننده و اندازه گیری ورودی هوا
- خروجی هوا تلقیح و مجرای نمونه برداری
- پمپ Peristaltic و برنامه نرم افزاری کامپیوتر جهت کنترل فرایند تخمیر

کاربردهای فرمانتور

- ✓ تولید مواد اکتیو , انواع داروها و واکسن ها برای دستیابی به درمان بسیاری از انواع بیماری ها (به خصوص هیپاتیت, ایدز و سرطان)
- ✓ تولید انواع سرمهای مختلف
- ✓ تولید سموم (مثال : زهر دیفتری به روش کشت معلق در فرمانتور)

استفاده از فرمانتور در پروژه های تحقیقاتی نظیر:

- ✓ تولید DNA پلاسمیدی جهت ایمن سازی با واکسن نی در فرمانتور به روش تخمیر پیوسته با کنترل میزان اکسیژن حل شده و pH
- ✓ مقایسه تولید بتاکاروتن توسط کپک (*Blakeslea trispora*) در فرمانتورهای پانزده لیتری همزن دار و هفتاد و پنج لیتری ایرلیفت
- ✓ دست یابی به روش تولید انبوه واکسن شاربن علامتی در فرمانتور

تجهیزات فرمانتور / بیوراکتور چیست؟

فرمانتور یا بیوراکتور مجموعه ای متشکل از تجهیزات و قطعات مختلفی است که شرایط محیطی کنترل شده را برای رشد میکروبها و یا تولید متابولیت های خاص در محیط کشت مایع یا جامد را تحت شرایط استریل فراهم می کند. یک فرمانتور نیمه صنعتی مرسوم شامل این تجهیزات می باشد :

- ✓ اجزاء اساسی شامل موتور همزن, گرمکن, پمپ ها, سیستم کنترل گاز و...
- ✓ ظروف و قطعات پدکی
- ✓ تجهیزات جانبی شامل بطری معرف ها
- ✓ ابزار دقیق و سنسورها

مجموعه تجهیزات اشاره شده موارد زیر را انجام می دهند :

1. اجرای عملیات تحت شرایط استریل
2. ثابت نگه داشتن دما (حفظ یک دمای خاص) با اندازه گیری و کنترل دما
3. فراهم نمودن اختلاط و هوادهی کافی
4. اندازه گیری و کنترل pH محیط داخل فرمنتور
5. سنجش و کنترل مداوم غلظت اکسیژن محلول
6. فراهم کردن امکان خوراک دهی محلول های خوراکی و معرف ها تحت شرایط استریل
7. فراهم کردن امکان دستیابی به نقاط زمانی مشخص برای تلقیح و نمونه گیری
8. استفاده از شکل هندسی مناسب برای افزایش مقیاس
9. حداقل (کمینه کردن) نمودن اتلاف آب از ظرف
10. تسهیل شرایط رشد برای طیف وسیعی از ارگانیسم ها

استریلیزاسیون فرمانتور

● بطور معمول در همه انواع فرمانتورها موارد فوق الذکر قابل انجام است. البته با رشد روزافزون علم و تکنولوژی و امکان ساخت تجهیزات پیشرفت امکان اندازه گیری و سنجش مداوم متغیرها و پارامترهای مهم دیگری که مثل غلظت گلوکز، دانسیته سلولی (برای کشت های باکتریایی) غلظت و ترکیب گازهای خروجی و برای کاربردهای خاص فراهم شده است.

● مواردی که در ادامه بحث می شود کوچکترین فرمنتور معمول در مقیاس های نیمه صنعتی است که قابل استریل کردن در **اتوکلاو** است. البته برای مقیاس های بالاتر نیز هم موارد اشاره شده وجود دارد ولی با این تفاوت که با افزایش مقیاس امکان استریل کردن آن با اتوکلاو وجود ندارد در این حالت استریلیزاسیون فرمنتور بصورت درجا با **جریان بخار تحت فشار** در جداره یا داخل ظرف فرمنتور انجام می شود



ظرف فرمانتور معمولا یک استوانه شیشه ای یک جداره یا دو جداره از جنس بورو سیلیکات با ته مدور می باشد. صفحه بالایی از جنس استیل ۳۱۶ L ساخته می شود که از طریق فلنج ها و گیره های مناسب روی ظرف فرمانتور محکم می شود. یک اورینگ سیلیکونی صفحه بالایی را از ظرف جدا می کند، دریچه های مناسب با اندازه های مختلف روی صفحه بالایی جهت قرار دادن سنسورهای مختلف، کندانسور، لوله های نمونه گیری، لوله های ورودی اسید و باز (جهت کنترل pH)، ضد کف (جهت کنترل کف) و خوراک و... تعبیه شده است. یک دریچه ویژه افزودن مایه تلقیح قرار داده شده که با قرار گرفتن یک غشاء سیلیکونی امکان افزودن استریل مایه تلقیح را فراهم می کند.

● **محیط کشت** از طریق لوله نمونه گیری که از طریق یکی از دریچه های صفحه بالایی در داخل محیط کشت قرار گرفته تحت شرایط استریل می تواند به ظرف نمونه گیری منتقل شود. توزیع کننده گاز از یک لوله استیل ۳۱۶ L تشکیل شده است که از یک طرف در یکی از دریچه های صفحه بالایی محکم شده و از طرف دیگر با انتهای خمیده (شبهه ثلث دایره) حاوی سوراخ های ریزی است که امکان پراکندن مناسب حباب های هوا را به داخل محیط کشت فراهم می کند. تیغه های همزن معمولاً از نوع راشتون می باشد روک شفتی که دقیقاً در وسط صفحه بالایی قرار گرفته محکم شده و توسط نیرو موتور برقی قرار گرفته روی شفت با سرعت قابل تنظیم می چرخد.

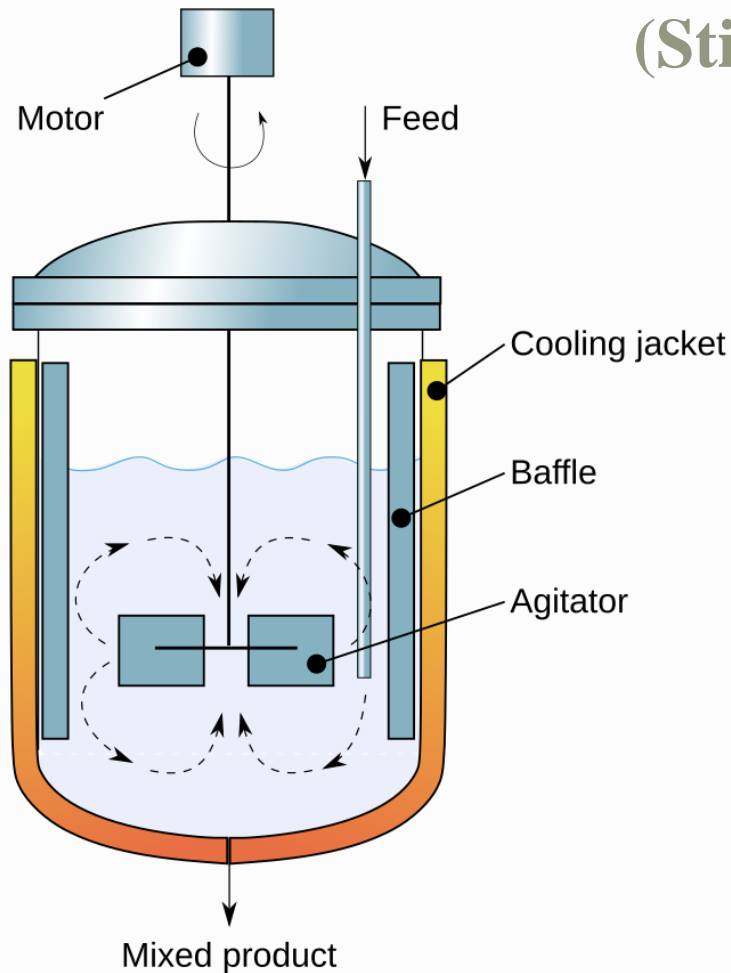
● از **کندانسور** برای حذف **رطوبت** همراه هوای خروجی از فرمنتور و بالطبع جلوگیری از اتلاف مایع در طی فرایند تخمیر و همچنین مرطوب شدن و گرفتگی فیلتر هوای خروجی استفاده می شود. سنسور دما یک مقاومت پلاتینی باریک (PT- ۱۰۰) است که با تغییر مقدار مقاومت الکتریکی دمای محیط کشت داخل ظرف فرمنتور را نشان می دهد.

کنترل دمای فرمنتور با گرمایش مستقیم توسط یک بالشتک گرمکن (معمولا در مقیاس آزمایشگاهی) برای ظرف فرمنتور یک جداره و یا گردش آب با دمای قابل تنظیم داخل ژاکت ظرف دو جداره انجام می شود. برای حالت اول جهت خنک کردن و یا کاهش دمای فرمنتور از کویل که می تواند از طریق یکی از دریچه های صفحه بالایی وارد محیط کشت شود با لوله های ورودی و خروجی آب استفاده می شود.

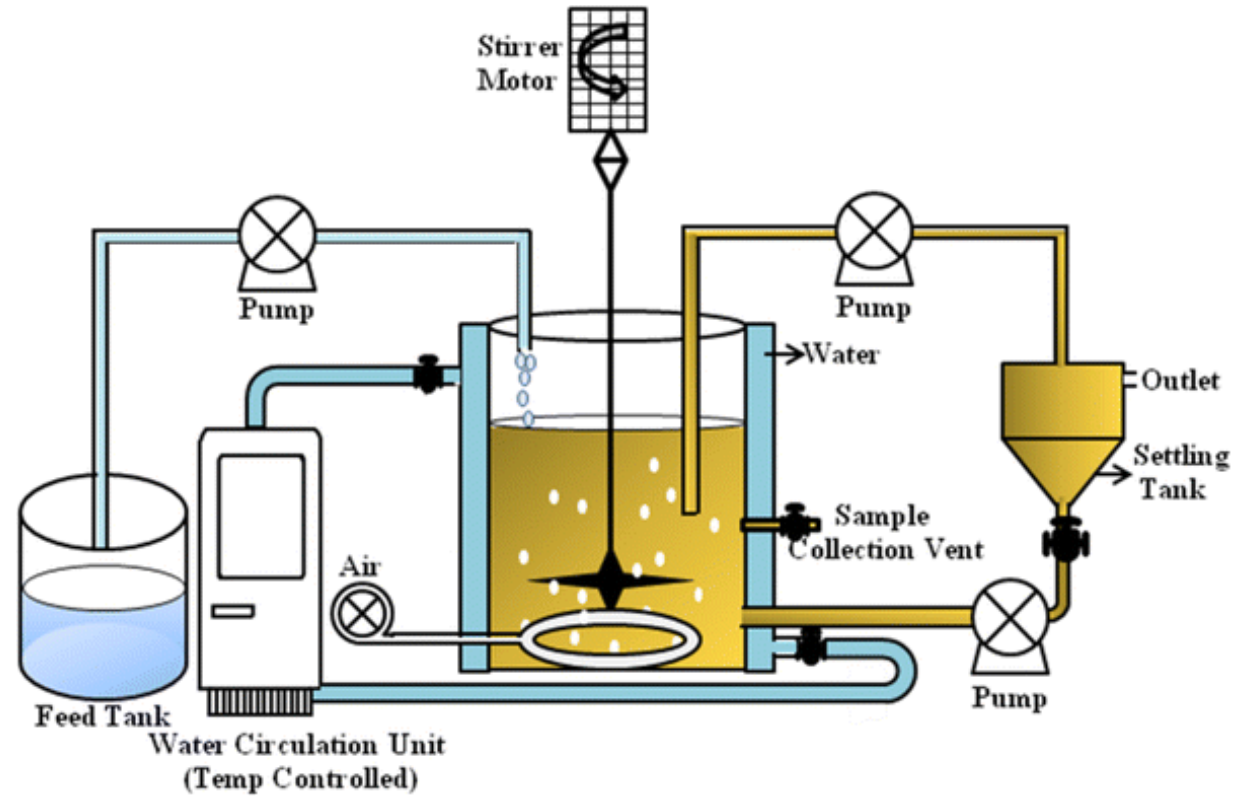
سنسورهای pH و اکسیژن که برای پایش مداوم و بدون وقفه ام اکسیژن محلول و شدت کف استفاده می شود از طریق دریچه های تعبیه شده در بالای فرمنتور (برای فرمنتورهای آزمایشگاهی) و یا در دیواره (برای فرمنتورهای نیمه صنعتی و صنعتی جهت pH و اکسیژن محلول) و اتصالات مناسب در جاهای ویژه خود روی ظرف فرمنتور محکم می شوند، سنسور کف برای سنجش مداوم و بلادرنگ کف استفاده شده و از طریق اتصالات مناسب در جای ویژه خود روی صفحه بالایی محکم می شود ارتفاع آن قابل تغییر بوده و بر اساس ارتفاع محیط کشت داخل ظرف فرمنتور تنظیم می شود.

انواع بیوراکتورها

بیوراکتورهای همزن دار (Stirred Tank Reaction)



این نوع بیوراکتور به طور گسترده ای در **صنعت** استفاده می شود که با عبارت **STR** به صورت مخفف نشان می دهند. از دو کلمه **Stirred tank reaction** و **Stirred tank bioreactor** می توانند به جای همدیگر استفاده کرد و مرز قابل تشخیصی بین آن ها وجود ندارد برای همین عبارت **STR** هم می تواند دلالت بر **Stirred tank bioreactor** داشته باشد. از این بیوراکتورها برای مایع های ویسکوز، آبی، کشت های با جریان هوای کم و حجم بزرگ بکار می رود. این نوع به ویژه برای تخمیرهایی که **ریسه های قارچی** فراوان در آن شرکت دارند و برای تولید **بیوپلیمرهایی** که چسبناکی بالایی ایجاد می کنند، کاربرد دارد.



انواع بیوراکتورها

بیوراکتورهای نوری (فوتو بیوراکتور)

یک فوتو بیوراکتور (PBR)، بیوراکتوری است که یک منبع نوری استفاده می کند (که می تواند نور طبیعی خورشید یا نور مصنوعی باشد). تقریباً هر ظرف شفاف می تواند یک بیوراکتور نوری خوانده شود با این حال این اصطلاح بیشتر برای توصیف یک سیستم بسته استفاده می شود و کمتر در مورد مخازن یا حوضچه های باز مورد استفاده قرار می گیرند. بیوراکتورهای نوری برای رشد موجودات کوچک فوتوگرافیک (نوپرورد) مثل سیانوباکتری ها، جلبک ها یا گیاهان خزه مورد استفاده می شوند. این موجودات نور را به عنوان منبع انرژی خود استفاده کرده و نیازی به قندها یا چربی ها به عنوان منبع انرژی ندارند. در نتیجه؛ خطر آلودگی با موجودات دیگر مانند باکتری ها یا قارچ ها در بیوراکتورهای نوری در مقایسه با بیوراکتورهای دارای موجودات هتروتروف (همه چیزخوار) کمتر است.





انواع بیوراکتورها

بیوراکتورهای شخصی

یک بیوراکتور پیوسته ساده که برای اشخاص غیر حرفه ای طراحی شده است و آن ها را قادر می سازد تا باکتری های *E.coli* را تحت شرایط هوازی یا بی هوازی رشد دهند این بیوراکتورها توانایی اتوکلاو شدن نداشته و برای استفاده مجدد وابسته به غیر فعالسازی شیمیایی هستند، این بیوراکتورهای شخصی برای رشد باکتری ها و محیط های کشت مناسب هستند.

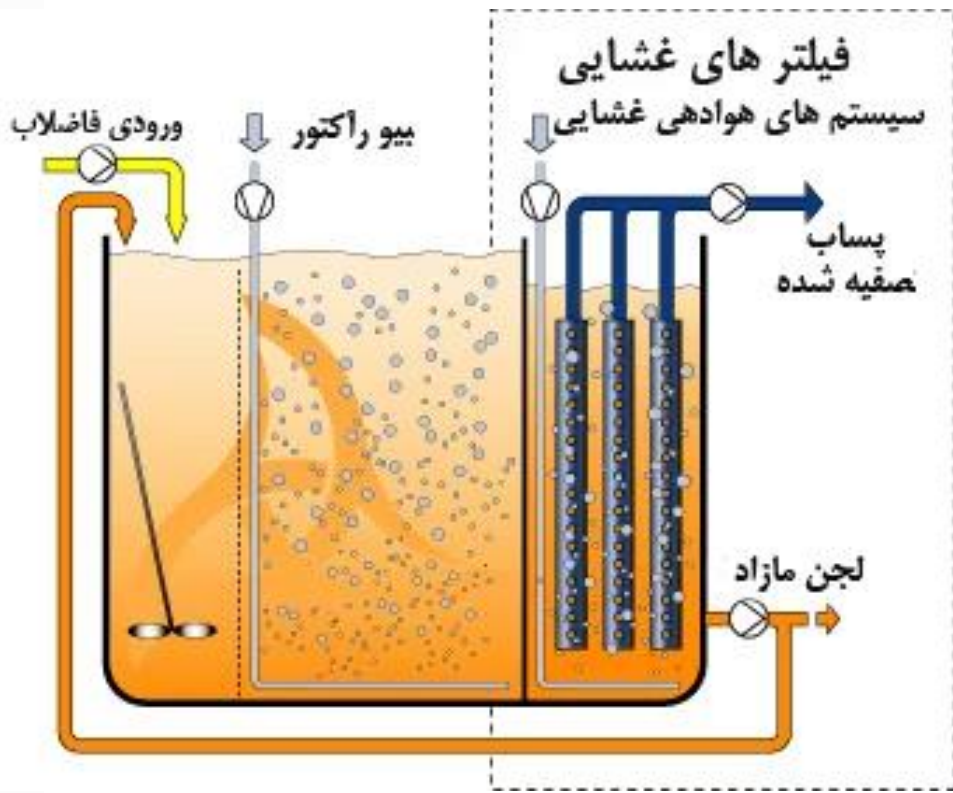


انواع بیوراکتورها

بیوراکتورهای تصفیه فاضلاب

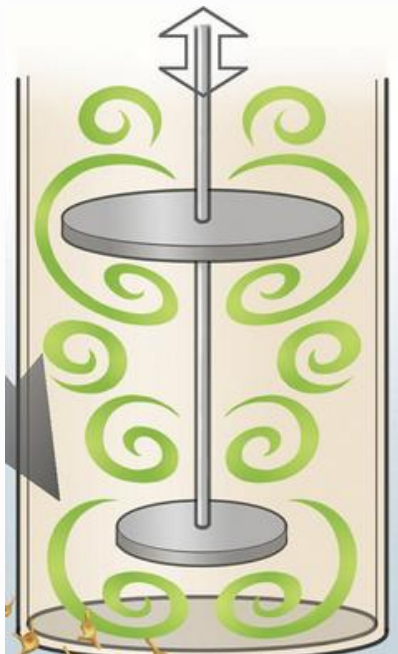
این بیوراکتورها برای **تصفیه فاضلاب و پساب** ها طراحی شده اند. در کارآمدترین این سیستم ها، ذخیره ای از یک محیط کشت شیمیایی بی اثر با **جریان آزاد** وجود دارد که به عنوان بستری برای باکتری هایی که فاضلاب خام را تجزیه می کنند عمل می کند. دستگاه های هوادهی، اکسیژن را برای فاضلاب و محیط کشت تأمین می کنند که منجر به بیشتر شدن سرعت تجزیه می شود. مخلوط کن های قابل فرورفتن در آب در بیوراکتورهای اکسیژنی تلاطم را برای نگه داشتن مواد جامد در سوسپانسیون ایجاد می کنند و در نتیجه اطمینان حاصل می شود که باکتری ها و مواد آلی **«با یکدیگر برخورد کنند»**

از آن جا که میکروارگانیسم ها موتور تصفیه فاضلاب های بیولوژیکی را پیش می برند. نظارت کمیت و کیفیت میکروارگانیسم ها در بیوراکتورها بسیار مهم است. یکی از این روش ها **آزمون ATP** نسل دوم است.



انواع بیوراکتورها

بیوراکتور متلاطم بالا و پایین



همزدن های بالا و پایین که در این نوع بیوراکتور وجود دارد برای جلوگیری از استرس تیغه در سلول ها مفید می باشند. این کار بدون نیاز به روش سنتی پروانه همزن دار که نیاز به یک موتور گران و کویلینگ های (اتصالات) مقناطیسی دارند؛ انجام می شود. حرکت عمودی بالا و پایین در این بیوراکتورها بوسیله یک موتور به همراه یک غشای ارزان ایجاد می شود که استریل بودن را کاملاً حفظ کرده و مخلوطی کارآمد، بدون تشکیل گرداب را تولید می کند (هیچ تیغه ای مورد نیاز نیست). همچنین این نوع اختلاط با سلول ها ملایم تر بوده و کف کمتری تولید می کند. صفحه های تکان دهنده جدیدی که با الهام حرکت دم ماهی ها ساخته شده اند و دم ماهی نام دارند؛ حداکثر بهره وری مخلوط کردن بدون لبه های برشی را در این بیوراکتورها ارائه می دهند.

انواع بیوراکتورها

بیوراکتور شبیه سازی شده بافت ناسا (NASA)

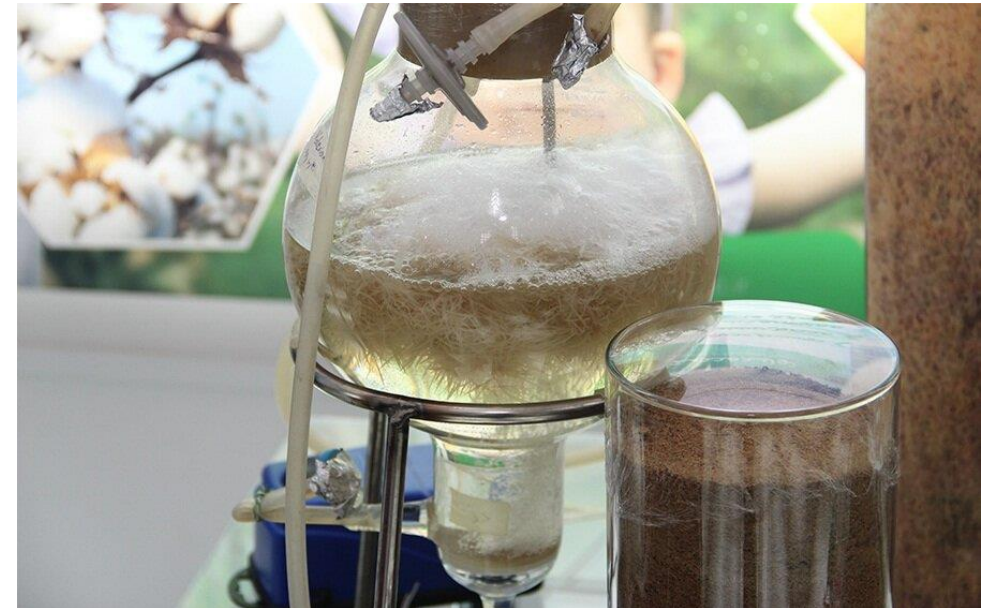


طراحی بیوراکتورهایی که هدف آن ها **رشد سلول ها** یا **بافت ها** برای اهداف آزمایشگاهی یا درمانی می باشد تفاوت بسیاری با بیوراکتورهای صنعتی دارد. بسیاری از سلول ها و بافت ها، به خصوص در پستانداران، باید یک سطح یا ساختار حمایتی دیگری برای رشد داشته باشند و اغلب، محیطهای آشفته برای این نوع از سلول ها و بافت ها مخربندهء موجودات عالی تر که **آگزوتروفیک** اند (auxotrophic). نیز به محیطهای رشد بسیار تخصصی نیاز دارند، ناسا نوع جدیدی از بیوراکتور را که به طور مصنوعی بافت ها را در محیط کشت سلولی رشد می دهد. تولید کرده است. بیوراکتور بافت ناسا می تواند بافت قلبی، بافت عضلانی، رباطها، بافت سرطانی و انواع دیگر بافت ها را برای مطالعه کشت دهد.

انواع بیوراکتورها

بیوراکتورهای مهندسی بافت

به وسیله ای که در آن یک فرآیند زیستی یا بیوشیمیایی در شرایط کاملاً کنترل شده (از نظر pH، دما، فشار، تامین مواد غذایی و حذف مواد زائد) توسعه می یابد و به دقت پایش می شود **بیوراکتور** می گویند. از ویژگی های مهم بیوراکتورها **تکرارپذیری** بالای آنها، کنترل و هدایت خودکار برای یک فرآیند زیستی خاص است تا بتوان از کارکرد آنها برای **افزایش** مقیاس استفاده کرد. بیوراکتورها در فرآیندهای تخمیر صنعتی، تصفیه پساب، فرآوری مواد غذایی و تولید ترکیبات دارویی و پروتئین های نو ترکیب (مثل آنتی بادی، فاکتور رشد؛ واکسن ها و آنتی بیوتیک ها) استفاده می شوند. مهندسی بافت علمی است که از کاربرد مفاهیم و روش های مهندسی و علوم زیستی برای توسعه محصولات زیستی برای ترمیم، پشتیبانی و بهبود عملکرد بافت استفاده می کند. در یکی از کاربردهای معمول، از اجتماع و پیوستگی سلولها بر روی یک داربست (Scaffold) متخلخل، بافت با ساختار سه بعدی بوجود می آید که این داربست می تواند برای توسعه یک بافت استفاده شود و یا با سرعتی مشخص جذب و یا تجزیه شود. مهم ترین فاکتورهایی که در کشت بافت اثر گذار است تامین مواد غذایی و نیروهای مکانیکی وارد بر سلول های بافت است که تعیین کننده نوع بیوراکتور کشت بافت است.







با تشکر از توجه شما
با آرزوی سلامتی و موفقیت

