

ORBITÁLNÍ POHYB TŘEPAČKY – KTERÝ VYBRAT?

Co je to orbitální pohyb?

Orbitální pohyb třepačky je průměr kruhového pohybu použitého pro třepací desku. Někdy je nazýván zkráceně „orbit“ nebo také „amplituda“, v angličtině stejnou zkratkou nebo „shaker throw“, označován znaménkem \emptyset .

Standardně je předními výrobci třepaček nabízen 25 mm nebo 50 mm, alternativně také 12,5 mm nebo 3 mm pro mikrotitrační třepání.

Co je to „Oxygen Transfer Rate“ ?

Oxygen Transfer Rate, zkráceně „OTR“, česky lze přeložit jako „Poměr přenosu kyslíku“, je parametr popisující efektivitu přenosu kyslíku z plynné do kapalné fáze. Čím vyšší se podaří získat hodnotu OTR, tím vyšší je efektivita celého procesu.

Působení orbitu a rychlosti

Oba faktory ovlivňují míchání kapaliny v baňce. Zvýší-li se rychlost třepání, zvýší se i hodnota OTR. Výběr ideálního orbitu tak přinese s sebou i maximální nárůst buněk:

Obecně je možné používat orbitální pohyb 25 mm pro každou aplikaci, což znamená, že výběr třepačky s orbitem 25 mm není nikdy špatné rozhodnutí, protože ji lze použít pro všechno.

Z tohoto důvodu je také drtivá většina třepaček objednáвана právě s tímto orbitálním pohybem. V některých případech je však kultivace omezena vztahem přenos kyslíku/citlivost buněk a tehdy MŮŽE být dosaženo lepších výsledků vybráním orbitálního pohybu dle typu kultury:

Bakterie, kvasinky a houby

Orbit třepačky by měl být v souladu s velikostí použitých baněk, tedy pro Erlenmayerovy baňky s větším objemem je lepší vybrat i větší orbitální pohyb.

– 25 mm orbit: vhodný pro baňky od 25 ml do 2000 ml,

– 50 mm orbit: vhodný pro baňky od 2 do 5 litrů.

Pro dosažení vyšší hodnoty OTR je doporučeno třepat při rychlosti 200 a výše otáček za minutu (RPM). Baňky musí být velmi pevně uchyceny. Budou-li se v klemách pohybovat, OTR půjde drasticky dolů. Tento možný problém lze eliminovat používáním adhezivní pásky Sticky-Stuff namísto kovových klem.

Tkáňové kultury

Pro tzv. „cell kultivace“ je vždy dobré vybrat třepačku s orbitálním pohybem 50 mm a to hned ze dvou důvodů:

– je nezbytně nutné zachovat maximální

přenos kyslíku, a to při co nejnižší rychlosti třepání (= malé střižné síly působící na buňky),

– zpravidla se používají baňky s větším průměrem (Fernbachovy baňky), které vyžadují větší orbitální pohyb.

Mikrotitrační a deep-well destičky

Zde existují dvě možnosti jak získat maximálního OTR a obě vedou ke stejnému výsledku:

– použitím orbitu 50 mm při rychlosti třepání 250 RPM a vyšší,

– použitím orbitu 3 mm při rychlostech 800 až 1000 RPM.

Použitím inkubované třepačky s orbitem 25 mm, při rychlost např. 200 RPM lze dosáhnout poměrně dobrého růstu buněk, avšak bude pravděpodobně nižší výnos biomasy.

Obr. 1 – Mikrotitrační destičky v inkubované třepačce upravené až pro 999 RPM



Při výběru orbitálního pohybu nezapomente na následující:

Limitní faktory

V mnoha případech nebude výběr, byť správného, orbitálního pohybu dostačující, protože nárůst buněk závisí na více faktorech. Např. nejsou-li 2 z 10 faktorů ideální, nárůst bude limitován právě těmito faktory a to bez ohledu, jak dobrých je zbylých 8 faktorů. Toto lze přirovnat k řetězu, který je právě tak silný jako jeho nejslabší článek. Bude-li srovnáván výsledek kultivace na různých orbitálních pohybech, bude rozdílný pouze v případě, že přenos kyslíku je jediným faktorem ovlivňujícím nárůst buněk. Je-li např. vyčerpán zdroj uhlíku, buňky nedosáhnou vyšší hustoty bez ohledu na fakt, kolik kyslíku mají k dispozici.

Přenos kyslíku vs. rychlost třepání

Vliv orbitálního pohybu na OTR je vždy propojen s rychlostí třepání. Je-li rychlost třepání malá (např. 100 RPM), budou rozdíly na různých orbitech minimální. Prvním krokem pro zajištění maximálního přenosu kyslíku je nastavit třepačku na nejvyšší mož-

nou rychlost třepání, avšak třepací deska musí být pro tento test patřičně vyvážená. Ne všechny kultury budou růst, jak mají. Některé buňky mohou zabít tržné síly při vysokých otáčkách.

Vliv ostatních faktorů na OTR

Dalšími faktory, které mají vliv na přenos kyslíku jsou:

– úroveň plnění baněk. Erlenmayerovy baňky se zpravidla plní do 1/3 jejich celkového objemu, jako maximum. Pro dosažení maximálního přenosu kyslíku by však baňky neměly být naplněny z více jak 10 % celkového objemu. Nikdy nemá smysl plnit baňky na 50 % a více,

– zarážky (angl. baffles). Doposud není zřejmé, zda-li jsou výhodou, či nikoliv. Někteří uživatelé tvrdí, že ano, jiní zase ne. Patrně záleží na pracovních podmínkách.

Obr. 2 – Erlenmayerovy baňky naplněné na 10 %



Souvislost mezi orbitálním pohybem a rychlostí třepání

OTR a orbitální pohyb mají lineární závislost

Přejde-li se z orbitálního pohybu 25 mm na orbit 50 mm při zachování stejné rychlosti třepání, OTR se zvýší o faktor 2.

Příklad: Třepeme-li kultury na orbitálním pohybu 50 mm při rychlosti 200 RPM a chceme dosáhnout stejného OTR na 25 mm orbitálním pohybu, musíme nastavit otáčky na 400 RPM.

OTR a rychlost třepání mají kvadratickou závislost

Zdvojnásobí-li se rychlost třepání při stejném orbitu, zvýší se OTR na faktor 4. Ztrojnásobí-li se rychlost třepání, pak faktor OTR bude 9.

Je nutné však pamatovat, že jde o teoretické srovnání. V praxi mohou mít na kultivaci vliv i další faktory.

Autor: INFORS HT, www.infors-ht.com
Překlad: Biotrade s.r.o., www.biotrade.cz