

Využití bioreaktoru ve výzkumu mikrobiálních procesů

¹Kokinda J., ¹Černoušek T., ¹Vizelková K.

¹Centrum výzkumu Řež s.r.o., Hlavní 130, 250 68 Husinec-Řež, Czech Republic

Hlubinné úložiště (HÚ) bylo navrženo, jako nejbezpečnější alternativa pro vyhořelé jaderné palivo a vysokoaktivní odpad. Bezpečnost HÚ je založena na principu multi-bariérového systému, který tvoří řadu technických a přírodních bariér zajišťujících dlouhodobou izolaci radionuklidů od okolního prostředí.

Tato varianta by měla vyhovovat jak po stránce bezpečnosti a technické proveditelnosti, tak po stránce ekonomické. Porozumění vlivu mikroorganismů na multi-bariérový systém představuje jednu ze součástí výzkumně vývojových prací, která se stává nedílnou součástí hodnocení bezpečnosti HÚ. K úspěšnému řešení této problematiky byl navržen bioreaktor umožňující pracovat v chemostatickém režimu pro kultivaci anaerobních a aerobních mikroorganismů s plně automatickým čištěním a sterilizací v objemu od 50 ml do 20 l. Současně systém umožňuje dávkování plynů chemického původu (H_2S , CO_2 , CH_4), které se vyskytují v podzemních vodách pro simulování podmínek HÚ a dále také dávkování vodíku. Vodík vzniká po uzavření HÚ vlivem koroze úložného obalového souboru respektive mikrobiální aktivitou. Bioreaktor dále umožňuje vytvoření anaerobního prostředí s přesně definovanými fyzikálními a chemickými podmínkami uvnitř systému (snímač pH umožňuje plně integrovaný monitor přesnosti), jež je možné v průběhu experimentu kontrolovat a ovlivňovat. Uzavřený systém bioreaktoru umožňuje detailně popsat průběh změn chemismu prostředí a kinetiku růstu referenčních kmenů bakterií za předem stanovených podmínek. Bioreaktor je vybaven peristaltickými čerpadly (možnost nastavení variabilní nebo fixní rychlosti), aby nedošlo ke kontaminaci způsobené ruční manipulací. Celá řídicí jednotka je založena na PLC hardwaru a softwaru Scada. Součástí bioreaktoru je chemostatický režim pro kontinuální kultivaci mikroorganismů, která je vhodná pro provádění mikrobiálních korozních experimentů s otevřeným systémem, který je typický pro přírodní podmínky.

Bioreaktor pracující v chemostatickém režimu je chemostat, do kterého se přidává čerstvé médium, zatímco kultivační kapalina obsahuje živiny. Metabolické produkty a mikroorganismy jsou kontinuálně odebírány konstantně, aby se udržel konstantní objem kultur. Změnou rychlosti, kterou se přidává médium do bioreaktoru, může být rychlost růstu mikroorganismů snadno kontrolovatelná.

Jednou z nejdůležitějších vlastností je, že mikroorganismy se mohou kultivovat ve fyziologickém ustáleném stavu za konstantních podmínek prostředí (objem kultivace, koncentrace rozpuštěného kyslíku, koncentrace živin a produktů, pH, hustota buněk atd.). Dále v chemostatickém režimu může výzkumník kontrolovat environmentální podmínky. Mikroorganismy rostoucí v chemostatickém režimu dosahují zpravidla ustáleného stavu v důsledku negativní zpětné vazby mezi rychlostí růstu a spotřebou živin – pokud je v bioreaktoru přítomný malý počet buněk, mohou buňky růst rychleji než je požadována rychlost kultivace v důsledku vyšší koncentrace živin, to se reguluje přidáním dalšího média s omezenými živinami. Toto umožňuje výzkumníkovy kontrolovat specifickou rychlost růstu mikroorganismů změnou rychlosti přidávání čerstvého média do nádoby.

Bioreaktor se používá pro výzkum v buněčné biologii jako zdroj různorodých buněk nebo proteinů. Bioreaktor se často používá na sběr chemostatických údajů o organismu s cílem vytvořit matematický model týkající se jeho metabolických procesů. Bioreaktor se používá též jako mikrokosmos v ekologii

This project has received funding from the Euratom research and training programme 2014 - 2018 under grant agreement No 661880.

a evoluční biologii. Bioreaktor může být také použit na kultivaci specifických typů bakteriálních mutací v mikrobiální kultuře, jako jsou auxotrofy nebo také ty, které jsou rezistentní vůči antibiotikám nebo bakteriofágům pro další vědeckou studii. Změny v rychlosti míchání umožňují studium metabolických procesů způsobených organismy při různých rychlostech růstu.