

Информационные технологии, моделирование и управление

Оригинальная статья/Original article

УДК 004.942

DOI: <http://doi.org/10.20914/2310-1202-2016-3-82-87>

Моделирование гидродинамики потоков в полволоконном мембранном биореакторе для культивирования клеток млекопитающих

Наталья В. Меньшутина,	¹	chemcom@muctr.ru
Руслан Р. Сафаров,	²	safarov@actremed.ru
Екатерина С. Воробьева,	¹	emulsja@rambler.ru
Елена В. Гусева	¹	eguseva@rally-online.ru

¹ кафедра кибернетики химико-технологических процессов, Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева, Миусская пл., 9, г. Москва, Россия

² ООО «Клеточные Системы», ул Ферсмана, 5А, г. Москва, Россия

Реферат. Математическое моделирование в программных пакетах CFD является мощным элементом проектирования и расчёта задач любой сферы инженерной деятельности. CFD-пакет содержит в себе комплекс программ, которые позволяют на основе математических законов моделировать объекты различных областей науки. Для биотехнологических процессов, как и для других химико-технологических процессов, используется программа ANSYS Fluent, которая приспособлена для описания гидродинамики подобных систем. Поскольку одной из актуальных тем современной биотехнологии является культивирование клеток, то с помощью данного программного пакета была создана модель полволоконного мембранного биореактора. Изучаемые волокна представляют собой полые цилиндрические мембраны, предназначенные для культивирования клеток. Показателем эффективности процесса роста клеток в рассматриваемом биореакторе является увеличение численности клеток, а именно полное заполнение ими внешнего пространства мембранных волокон биореактора. С ростом клеток уменьшается проницаемость волокна, что влияет на проникновение питательной среды сквозь поры мембраны. Особенность процесса состоит в необходимости подачи такого количества жидкости, чтобы организовать доставку оптимального количества питательной среды клеткам, расположенным по всей поверхности мембраны. Для этого при различных объёмных расходах рассчитано скоростное распределение потока питания внутри мембранного волокна и в целом биореакторе с учётом законов сохранения массы и импульса, а также допущений при составлении математической модели. В работе описан анализ гидродинамики в полволоконном мембранном биореакторе с помощью созданной трёхмерной математической модели в программном комплексе ANSYS Fluent. Рассмотрены особенности построения модели для одной мембраны, а также отражены результаты моделирования гидродинамики потоков в объёме биореактора.

Ключевые слова: культивирование, моделирование, мембрана, биореактор, гидродинамика

Modeling of hydrodynamics in hollow fiber membrane bioreactor for mammalian cells cultivation

Natalia V. Menshutina,	¹	chemcom@muctr.ru
Ruslan R. Safarov,	²	safarov@actremed.ru
Ekaterina S. Vorobeve,	¹	emulsja@rambler.ru
Elena V. Guseva	¹	eguseva@rally-online.ru

¹ department of cybernetics of chemical-technological processes, D.I. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Miusskaya Sq., 9, Moscow, 125047, Russia

² Ltd. "Cell systems", Fersmana Str., 5A, Moscow, Russia

Summary. The mathematical modelling in CFD-packages are powerful instrument for design and calculation of any engineering tasks. CFD-package contains the set of programs that allow to model the different objects behavior based on the mathematical laws. ANSYS Fluent are widely used for modelling of biotechnological and chemical-technological processes. This package is convenient to describe their hydrodynamics. As cell cultivation is one of the actual scientific direction in modern biotechnology ANSYS Fluent was used to create the model of hollow fiber membrane bioreactor. The fibers are hollow cylindrical membrane to be used for cell cultivation. The criterion of process effectiveness for cell growth is full filling of the membrane surface by cells in the bioreactor. While the cell growth the fiber permeability is decreased which effects to feed flow through membrane pores. The specific feature of this process is to ensure such feed flow to deliver the optimal nutrition for the cells on the external membrane surface. The velocity distribution inside the fiber and in all bioreactor as a whole has been calculated based on mass and impulse conservation equations taking into account the mathematical model assumptions. The hydrodynamics analysis in hollow fiber membrane bioreactor is described by the three-dimensional model created in ANSYS Fluent. The specific features of one membrane model are considered and for whole bioreactor too.

Keywords: cultivation, modeling, membrane, bioreactor, hydrodynamics

Для цитирования

Меньшутина Н. В., Сафаров Р. Р., Воробьева Е. С., Гусева Е. В. Моделирование гидродинамики потоков в полволоконном мембранном биореакторе для культивирования клеток млекопитающих // Вестник ВГУИТ. 2016. № 3. С. 82-87. doi:10.20914/2310-1202-2016-3-82-87

For citation

Menshutina N. V., Safarov R.R., Vorobeve E.S., Guseva E. V. Modeling of hydrodynamics in hollow fiber membrane bioreactor for mammalian cells cultivation. *Vestnik VSUET* [Proceedings of VSUET]. 2016. no. 3. pp. 82-97. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2016-3-82-87

Введение

Культивирование клеток млекопитающих является одной из актуальных тем современной науки. Развитие экологии, медицины, пищевой и сельскохозяйственной промышленности требует постоянного усовершенствования знаний в этой сфере. Организация процесса жизнедеятельности клеток на протяжении многих лет является предметом исследований, результаты которых отражены в научной литературе [1–3]. Действенным инструментом научного исследования биотехнологических систем стало математическое моделирование.

В настоящее время для моделирования биотехнологических процессов используют программные пакеты CFD («Computational fluid dynamics» – вычислительная гидродинамика) [4–6]. CFD-пакет содержит в себе комплекс программ, подходящих для проектирования, расчётов и анализа задач любой сферы инженерной деятельности. Непосредственно для биотехнологических процессов, как и для других химико-технологических процессов, используется программа ANSYS Fluent, которая приспособлена для описания поведения подобных систем. С помощью данного программного пакета рассчитывают: гидродинамику процессов в биореакторах [4], оптимальную форму подложки для различных клеточных культур [5], напряжение сдвига [6], а также конструкционные параметры процесса культивирования [7–10].

Материалы и методы

1.1 Описание работы полволоконного мембранного биореактора

Одним из распространённых аппаратов для культивирования клеток млекопитающих является полволоконный мембранный биореактор (рисунок 1). Конструктивной особенностью данного биореактора является наличие в пластиковом корпусе пучка полых волокон. Каждое волокно является цилиндрической микрофильтрационной мембраной, которая представляет собой подложку для клеточных культур и является объектом настоящего исследования.

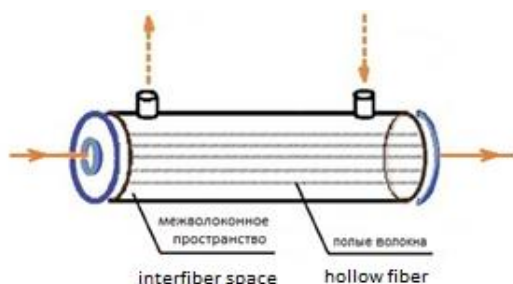


Рисунок 1. Схема полволоконного мембранного биореактора

Figure 1. The scheme of a hollow fiber bioreactor

Половолоконные мембранные биореакторы имеют ряд технологических достоинств, которые обеспечивают преимущество аппаратов данного типа. К таким достоинствам относятся: высокое отношение полезной поверхности к объёму, высокая плотность клеток, высокая объёмная производительность, низкий стресс клеток. Через боковые патрубки в межволоконное пространство биореактора помещаются клетки. Условием применения биореактора для конкретной клеточной линии является адгезивный рост клеток, а именно монослойное заполнение поверхности подложки, в результате которого слой клеток на поверхности волокна равен толщине одной клетки.

Подача питательной среды в волокна мембранного биореактора осуществляется с помощью перистальтических насосов. Проникая через поры мембранного волокна, часть питательной среды попадает непосредственно к клеткам. При допущении равномерного распределения клеток по поверхности волокна процесс деления и заполнения клетками поверхности волокна схематично изображён на рисунке 2. Смешиваясь со средой в межволоконном пространстве и продуктами метаболизма клеток, часть питательного раствора удаляется из объёма биореактора через боковые патрубки. Для своевременного отвода метаболитов организован поток среды в межволоконном пространстве.

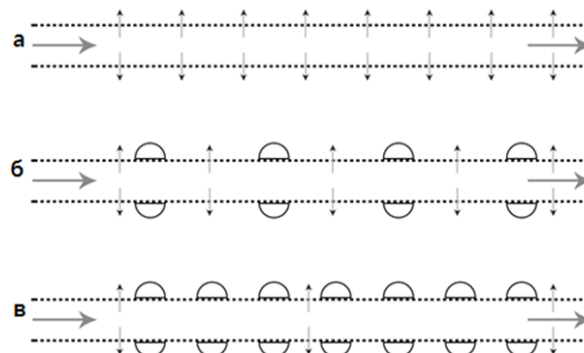


Рисунок 2. Схематичное изображение распределения потоков через поры полволоконной мембраны при различном количестве клеток: а – клетки отсутствуют, проницаемость максимальна; б – заполнение клетками поверхности мембраны, снижение проницаемости; в – полное заполнение клетками поверхности мембраны, проницаемость минимальна

Figure 2. Schematic representation of the flows distribution through the pores of the hollow fiber membrane for different numbers of cells: а – without cells, the permeability is maximal; б – filling of membrane surface by cells, reducing of the permeability; в – complete filling the membrane surface by cells, the permeability is minimal

В качестве критерия окончания процесса культивирования принимается факт полного заполнения поверхностей всех волокон клетками

1.2 Моделирование гидродинамики потоков внутри одного волокна

Волокно мембранного биореактора представляет собой полую цилиндрическую мембрану (рисунок 3), проницаемость которой зависит от количества клеток, находящихся на внешней стороне волокна. Для реализации решения было необходимо создать две геометрические области потока, поверхность между которыми представляет собой тонкую мембрану. Для данной задачи такими областями являются два цилиндра – внутренний и внешний, представляющие собой соответственно поток во внутриволоконном пространстве и поток пермеата – небольшого объема среды, проникающего сквозь мембрану из внутриволоконного пространства в межволоконное (рисунок 3).

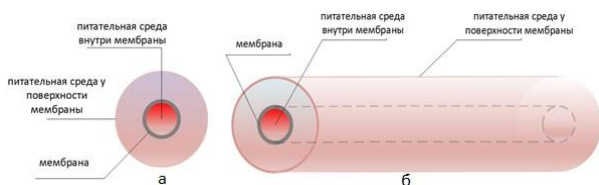


Рисунок 3. Проектирование геометрии полуволоконной мембраны: а – профильный вид; б – фронтальный вид

Figure 3. The design of the hollow fiber membrane geometry: а – profile view; б – frontal view

При математическом моделировании пространства внутри волокна были использованы следующие допущения:

- жидкость вязкая и несжимаемая;
- вязкость жидкости постоянна;
- поры мембраны расположены перпендикулярно поверхности волокна, имеют цилиндрическую форму, размеры пор одинаковы;
- поры распределены равномерно по поверхности волокна;
- проницаемость мембраны зависит только от количества пор, свободных от клеток;
- клетки заполняют поверхность мембраны равномерно;
- поток питательной среды обеспечивает клетки питательными веществами с избытком;
- отсутствует концентрационная поляризация;
- волокна параллельны друг другу;
- клетки имеют форму полусферы;
- линейные размеры всех клеток одинаковы.

В качестве основных уравнений модели непрерывной фазы выступают уравнение неразрывности (закон сохранения массы) и закон сохранения импульса. Дополнительным соотношением, учитывающим переток питательной среды через мембрану, является уравнение Хагена-Пуазейля:

$$Q = \frac{\varepsilon \cdot r_{\text{пор}}^2}{8 \cdot \eta \cdot \tau} \cdot \frac{\Delta P}{\Delta L} \quad (1)$$

где ΔP – перепад давления на мембране; ΔL – толщина мембраны; Q – объёмный поток через мембрану при движущей силе $\Delta P/\Delta L$; ε – пористость мембраны; $r_{\text{пор}}$ – радиус поры; τ – извилистость пор; для прямых цилиндрических пор $\tau = 1$; η – кинематическая вязкость, $\eta = \mu / \rho$; μ – динамическая вязкость; ρ – плотность жидкости.

1.3 Полученные результаты и их обсуждение

1.3.1 Анализ распределения скорости потока внутри одного волокна

Были рассчитаны случаи минимального и максимального расхода питательной среды. Для случая минимального расхода распределение векторов скоростей вдоль осевого сечения половолоконной мембраны показано на рисунке 4. С увеличением численности клеток увеличивается их потребность в питательной среде, поэтому растёт значение объёмного расхода пермеата, достаточного для обеспечения жизнедеятельности клеток, а также растёт сопротивление, оказываемое клеточным слоем на поток через мембрану. В связи с чем необходимо увеличивать объёмный расход питательной среды, который требуется подать на вход в биореактор.

Результаты расчётов отражены на рисунках 4–6. Анализируя скоростное распределение потока, необходимо отметить перепад скорости по длине волокна (рисунок 4 а, б).

Перепад наблюдается вследствие высокой проницаемости волокна в начальный момент времени. Питательная среда свободно проникает через максимальное количество пор, поскольку в начальный момент времени количество клеток на поверхности волокна минимально, клетки не закрывают поры, и, следовательно, слой клеток не оказывает сопротивление потоку среды через поры. В связи с этим, большое количество потока питательной среды проникает сквозь поры, не достигая середины длины волокна, поэтому скорость потока питательной среды внутри мембраны различается в несколько раз.

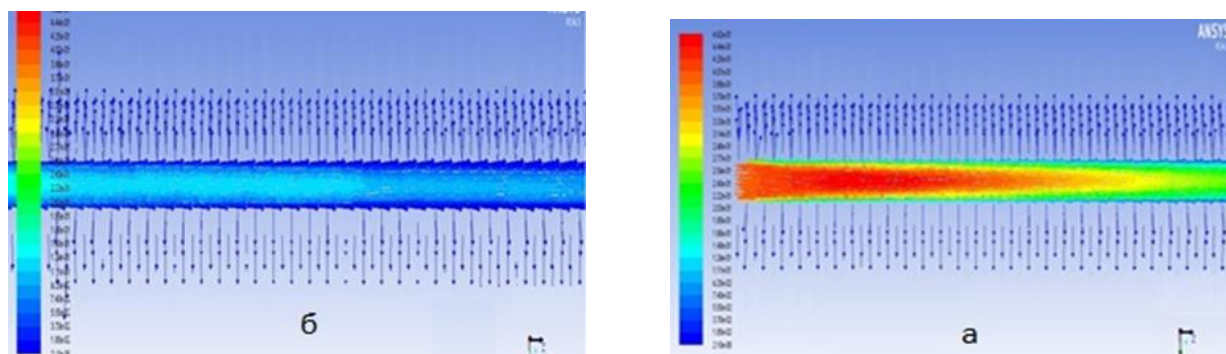


Рисунок 4. Распределение скорости потока питательной среды по длине мембранного волокна при максимальной проницаемости (течение среды слева направо): а – на входе в волокно, б – на выходе из волокна (направление основного потока – слева направо)

Figure 4. The velocity distribution of the nutrient medium flows along the length of the fiber membrane with a maximum permeability (the moving of medium is from left to right): а – at the entrance of the fiber, б – at the exit of the fiber

В результате анализа распределения скоростей установлено, что при минимальном и максимальном количестве клеток по всей длине полволоконной мембраны обеспечивается подача питательной среды к клеткам через мембрану.

Для анализа процесса с точки зрения обеспечения достаточной движущей силы течения жидкости через мембрану было рассчитано распределение давления около мембранного волокна (рисунок 5). Внутри мембраны создается область с наиболее высоким значением давления (2 атм), возле внешней поверхности находится область разряжения (1 атм).

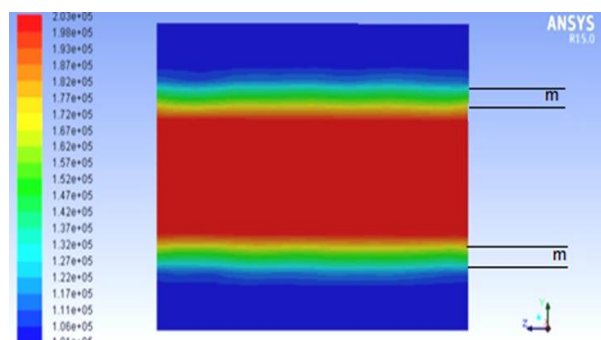


Рисунок 5. Распределение давления по продольному сечению полволоконной мембраны: m – толщина мембраны

Figure 5. The pressure distribution in the longitudinal cross-section of the hollow fiber membrane: m – thickness of membrane

Перепад давления, отражённый на рисунке 5, находится в пределах допустимых значений для случая использования микрофильтрационных мембран, а также позволяет обеспечить необходимую движущую силу для создания перетока питательной среды через мембрану.

1.3.2 Анализ распределения скорости потока внутри биореактора

Для моделирования движения потоков в объёме биореактора была создана трёхмерная модель (рисунок 6), учитывающая переток среды из внутриволоконного пространства биореактора в межволоконное пространство для каждой из 20-ти мембран.

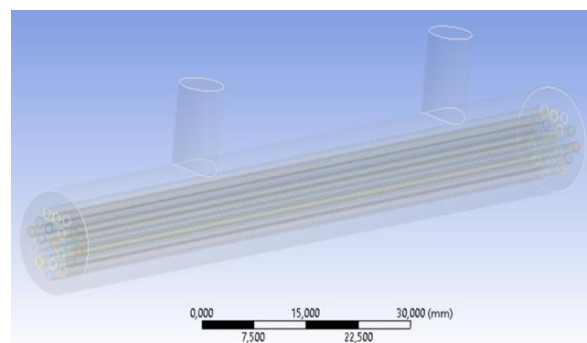


Рисунок 6. Геометрия созданной электронной модели полволоконного биореактора

Figure 6. The geometry of the created electronic model of the hollow fiber bioreactor

В связи с конструкционными особенностями проектируемого полволоконного биореактора возможны два способа подачи питательной среды в межволоконное пространство относительно основного потока внутри волокон: прямоточный и противоточный. Расчёт распределения скорости питательной среды был произведён для обоих способов организации процесса.

В случае противоточного способа подачи среды входными являются патрубки, отмеченные на рисунке 7 цифрами 1 и 3, патрубки выхода питательной среды из биореактора отмечены цифрами 2 и 4. Движение потоков также отражено на рисунке 7: красным цветом обозначено

движение потока во внутриволоконном пространстве, синим цветом – в межволоконном пространстве. В результате расчёта данного способа подачи питательной среды получено скоростное распределение движения потоков в межволоконном пространстве (рисунок 8).

Из рисунка 8 видно, что большая часть потока питательной среды выходит из межволоконного пространства через патрубок 2 и не достигает середины биореактора, поэтому можно сделать вывод о нецелесообразности ведения процесса данным способом с точки зрения отвода продуктов метаболизма. Кроме того, неравномерное скоростное распределение по длине биореактора ведёт к возможным образованиям стрессовых условий для культивируемых клеток, что неблагоприятно влияет уже на саму клеточную культуру и может привести к отрыву клеток от мембранной подложки.

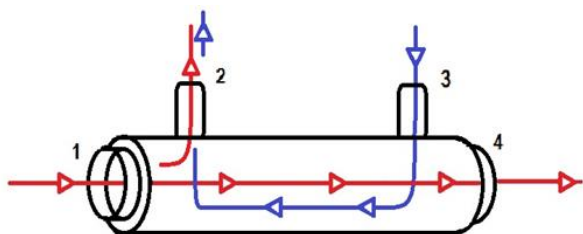


Рисунок 7. Схема движения потоков в полуволоконном биореакторе в случае противотока: красный – движение среды во внутриволоконном пространстве, синий – движение среды в межволоконном пространстве

Figure 7. Diagram of flows in a hollow fiber bioreactor in the case of counter-current: red – the medium motion in the space inside of the membrane; blue – the medium motion in the space between the membranes

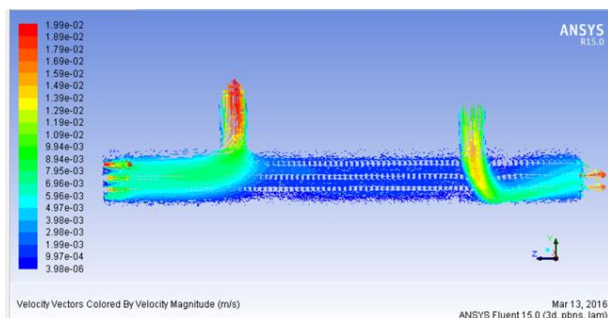


Рисунок 8. Распределение скоростей потоков в межволоконном пространстве биореактора на последнем этапе культивирования при противоточном движении потоков

Figure 8. The velocity distribution of flows in the space between the membranes of the bioreactor at the last stage of cultivation, the counter movement of flows

В случае прямоточного движения потоков входными являются соседние патрубки, обозначенные на рисунке 9 цифрами 1 и 2.

Анализируя рассчитанное скоростное распределение для данного способа подачи потоков среды (рисунок 10), можно сделать вывод о более равномерном распределении среды по длине биореактора (зеленый цвет) по сравнению с противоточным способом (рисунок 8).

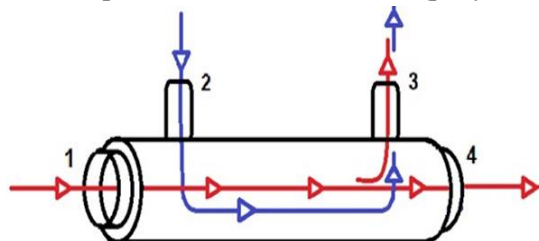


Рисунок 9. Схема движения потоков в полуволоконном биореакторе в случае прямотока: красный – движение среды во внутриволоконном пространстве, синий – движение среды в межволоконном пространстве

Figure 9. The scheme of flows motions in a hollow fiber bioreactor in the case of direct-flow: red – the medium motion in the space inside of the membrane; blue – the medium motion in the space between the membranes

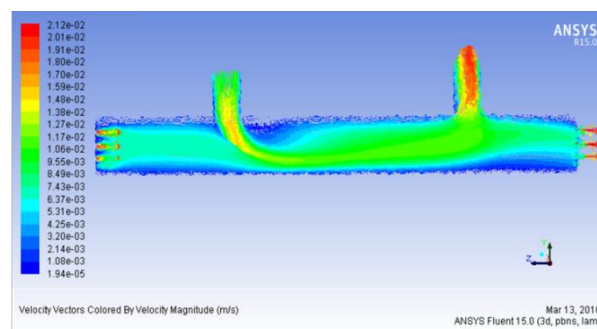


Рисунок 10. Распределение скоростей потоков в межволоконном пространстве биореактора на последнем этапе культивирования при прямоточном движении потоков

Figure 10. The velocity distribution of flows in the space between the membranes of the bioreactor at the last stage of cultivation, in the case of direct-flow

При данном способе организации процесса вероятность поддержания оптимальных условий для жизнедеятельности клеток является наиболее высокой, чем в случае противотока.

Заключение

Таким образом, с помощью программного пакета ANSYS Fluent проведено исследование гидродинамики полуволоконного мембранного биореактора. Создана трехмерная электронная модель, позволяющая проанализировать движение потоков как через мембрану, так и по объему биореактора, а также рассчитать перепад давления и скорости по длине мембранного волокна, благодаря которым оценивается расход питательной среды, поступающей к клеткам.

REFERENCES

- 1 Freshney R.I. Animal cell culture: a practical approach. Oxford, IRL press, 1986, 235 p.
- 2 Crommelin D.J.A., Sindelar R.D., Meibohm B. Pharmaceutical Biotechnology. Fundamentals and Applications. Springer Science & Business Media, 2013, 544 p.
- 3 Pattnaik P., Adams G. Expediting Clinical Batch Production of Viral-Vectored Vaccines and Gene Therapy Products. BioProcessing Journal, 2013, vol. 12, no. 3. pp. 41–45.
- 4 Delafosse A., Collignon M. – L., Calvo S. CFD-based compartment model for description of mixing in bioreactors. Chemical Engineering Science. 2014, vol. 106, pp. 76–85.
- 5 Patrachari A.R., Podichetty J.T., Madihally S.V. Application of computational fluid dynamics in tissue engineering. Journal of Bioscience and bioengineering. 2012, vol. 114, no. 2, pp. 123–132.
- 6 Pearson N.C., Waters S., Oliver M.J., Shipley R.J. Multiphase modeling of the effect of fluid shear stress on cell yield and distribution in a hollow fiber membrane bioreactor. Springer, 2014, 16 p.
- 7 Liew E.W.-T., Nandong J., Samyudia Y. Multi-scale models for the optimization of batch bioreactors. Chemical Engineering Science. 2013, vol. 95, pp. 257–266.
- 8 Sharma C., Malhotra D., Rathore A.S. Review of computational fluid dynamics applications in biotechnology process. Biotechnology programs. 2011, vol. 27, no. 6, pp. 1497–1510.
- 9 Chapman A.C., Shipley R.J., Whiteley J.P. Optimizing cell aggregate expansion in a perfused hollow fibre bioreactor via mathematical modeling. Plos one. 2014, vol. 9, 14 p.
- 10 Meier K., Carstensen F., Scheeren C. In situ product recovery of single-chain antibodies in a membrane bioreactor. Biotechnol Bioeng. 2014, vol. 111, pp. 1566–1576.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Наталья В. Меньшутина. д. т. н., профессор, кафедра кибернетики химико-технологических процессов, Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева, chemcom@muctr.ru

Руслан Р. Сафаров соискатель, кафедра кибернетики химико-технологических процессов, Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева; начальник отдела административных процедур ООО «Клеточные Системы», safarov@actremed.ru

Екатерина С. Воробьева аспирант, кафедра кибернетики химико-технологических процессов, Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева, emulsja@rambler.ru

Елена В. Гусева к. т. н., доцент, кафедра кибернетики химико-технологических процессов, Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева, eguseva@rally-online.ru

КРИТЕРИЙ АВТОРСТВА

Наталья В. Меньшутина постановка задачи, консультация в ходе исследования, обсуждение результатов

Руслан Р. Сафаров проведение вычислительного эксперимента

Екатерина С. Воробьева создание программного продукта, написала рукопись

Елена В. Гусева обзор литературных источников по исследуемой проблеме, корректировал рукопись до подачи в редакцию и несет ответственность за плагиат

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ПОСТУПИЛА 01.08.2016

ПРИНЯТА В ПЕЧАТЬ 23.08.2016

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Natalia V. Menshutina doctor of technical sciences, full professor, department of cybernetic of chemical engineering processes, Mendeleev university of chemical technology of russia, chemcom@muctr.ru

Ruslan R. Safarov Applicant, Department of Cybernetic of Chemical Technology Processes, Mendeleev University of Chemical Technology of Russia; Head of Administrative Procedures Department, safarov@actremed.ru

Ekaterina S. Vorobyeva graduate student, department of cybernetic of chemical technology processes, Mendeleev university of chemical technology of russia, e-mail: emulsja@rambler.ru

Elena V. Guseva doctor of technical sciences, associate professor, department of cybernetic of chemical engineering processes, Mendeleev university of chemical technology of russia, eguseva@rally-online.ru

CONTRIBUTION

Natalia V. Menshutina problem definition, consultation during the study, result discussion

Ruslan R. Safarov carrying out the calculation experiment

Ekaterina S. Vorobevea creation of the program, wrote the manuscript

Elena V. Guseva review of the literature on an investigated problem, correct manuscript before filing in editing and is responsible for plagiarism

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

RECEIVED 8.1.2016

ACCEPTED 8.23.2016