



(12) Wirtschaftspatent

Teilweise bestätigt gemäß § 18
Absatz 1 Patentgesetz der DDR
vom 27. 10. 1983

in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) C 12 M 1/34

DEUTSCHES PATENTAMT

(21) DD C 12 M / 310 673 4

(22) 18. 12. 87

(45) 29. 05. 91

(44) 21. 06. 89

(71) Zentrum für wissenschaftlichen Gerätebau, Rudower Chaussee 6, O - 1199 Berlin, DE

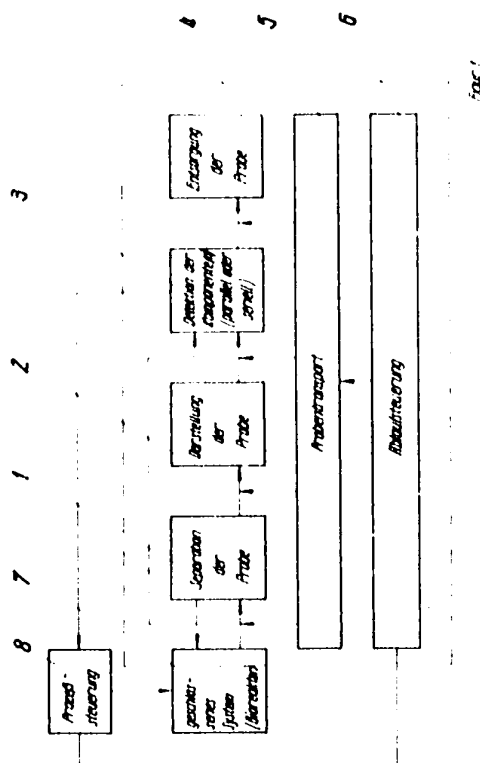
(72) Apel, Ludwig, Dr.-Ing.; Beckmann, Dieter, Dipl.-Phys.; Lauckner, Gerald, Dr.-Ing.; Metze, Josef, Dipl.-Ing.;
Preiß, Willi, Dipl.-Ing., DE

(54) Anordnung zur on-line-Erfassung physikalischer, chemischer und biologischer Prozeßgrößen

(55) Biotechnologie; Bioreaktor, steril; Entnahme;
biologisches Material; Separationsbaugruppe;
Darstellung; Probe; Umweltschutz; Medizin;
Landwirtschaft; Optimierung

(57) Die Erfindung bezieht sich auf die Erfassung von
Prozeßgrößen in komplexen flüssigen Medien und ist in der
Biotechnologie, Medizin, Landwirtschaft und im
Umweltschutz anwendbar. Ziel der Erfindung ist es, den in
einem biologischen System, z. B. in einem Bioreaktor,
ablaufenden Prozeß vollständiger zu erfassen als bisher
und Voraussetzungen für eine weitgehende
Automatisierung und Optimierung nach biologischen
Zielgrößen des Prozesses zu schaffen. Erfindungsgemäß
wird das dadurch erreicht, daß Mittel für die sterile
meßtechnische Erfassung der Probe vorgesehen sind.

Fig. 1



Patentansprüche:

1. Anordnung zur on-line-Erfassung physikalischer, chemischer und biologischer Prozeßgrößen in geschlossenen, sterilen biologischen Systemen, insbesondere in Bioreaktoren, unter Verwendung von außerhalb des biologischen System angeordneten Vorrichtungen zur sterilen Entnahme von biologischem Material in flüssiger oder gasförmiger Form und Trennung von Biomasse und Filtrat, mit Mitteln für die parallele bzw. serielle meßtechnische Erfassung der Proben und der notwendigen Darstellungsmittel, einem Modul für die Darstellung der Probe, mit Mitteln für die nichtsterile meßtechnische Erfassung der Probe hinter dem Modul, **dadurch gekennzeichnet**, daß Mittel für die sterile meßtechnische Erfassung der Probe vor dem Modul vorgesehen sind.
2. Anordnung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Anordnung Mittel für die Entsorgung der Proben zugeordnet sind.
3. Anordnung nach Anspruch 1 und 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Biologische System ein Bioreaktor (9) ist, dem ein Grobfilter (10) zugeordnet ist und mit diesem eine Baugruppe bildet, daß dem Grobfilter (10) ein Separationsbaustein (11) zur Trennung von Biomasse (14) und Filtrat nachgeordnet ist, dem ein Entgasungsmodul (12), ein Zwischenspeicher für Biomasse (13) und eine Meßzelle für Biomasse zugeordnet ist, und daß die genannten Baugruppen sterilisierbar und steril betreibbar sind.
4. Anordnung nach Anspruch 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß zur Darstellung der Proben an den nichtsterilen Bereich des Separationsbausteins (11) eine Pumpe (16) angeschlossen ist, der über Ventile Vorratsbehälter für Wasser (19), Pufferlösungen (20), Marker (21), und Reagenzien (22) zugeordnet sind, und daß die Pumpe über weitere Ventile mit den Mitteln für die nichtsterile meßtechnische Erfassung der Proben (15, 18), mit einem Zwischenspeicher für Filtrat (17) und mit einem Auslaß verbunden ist.

Hierzu 2 Seiten Zeichnungen

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung bezieht sich auf die Erfassung von Prozeßgrößen in komplexen flüssigen Medien und ist in der Biotechnologie, Medizin, Landwirtschaft und im Umweltschutz anwendbar.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Bekannt sind off-line-Verfahren, bei denen aus dem geschlossenen System, z. B. aus einem Bioreaktor biologisches Material entnommen wird und in einem Labor auf die gewünschten Eigenschaften hin untersucht wird. Der Nachteil des off-line-Verfahrens besteht in einer zeitlichen und räumlichen Trennung und somit in der verzögerten Rückwirkung auf den Prozeß. Dadurch ist eine durchgehende Automatisierung der Prozeßsteuerung ausgeschlossen.

Weiterhin ist es bekannt, die Erfassung on-line vorzunehmen. So ist aus der DE-OS 3516080 eine Anordnung bekannt, bei der eine in einem Bioreaktor angeordnete Probeentnahmesonde on-line an ein Meß- bzw. Steuersystem angekoppelt ist. Der Nachteil dieser Anordnung besteht darin, daß Probeentnahmesonden durch den sogenannten Fouling-Effekt relativ schnell unbrauchbar werden, d. h. die Sonden sind häufig auszuwechseln. Da sich die Probensonden im Bioreaktor befinden, ist die Folge davon die Störung bzw. Unterbrechung des Prozesses. Damit ist ebenfalls die Sterilität des Prozesses nicht mehr aufrechtzuerhalten.

Ein weiterer Nachteil bei dieser on-line-Messung besteht darin, daß bei der Messung Interferenzen auftreten, d. h., daß die zu messende Größe durch unerwünschte Nebeneffekte beeinflusst wird, wodurch mehr oder weniger stark verfälschte Meßergebnisse erzielt werden.

Aufgrund dieser Nachteile ist der in einem biologischen System, z. B. in einem Bioreaktor ablaufende Prozeß nur unvollkommen steuerbar und nur bedingt oder nicht automatisierbar.

Aus Dincer, A. K. et al. „Continuous on-line-Monitoring of Fermentation Processes“ in Developm. Industr. Microbiology, vol. 25, ch. 53, pp. 603–611 (1984) ist eine on-line-Anordnung bekannt, bei der eine sterile Entnahme außerhalb des biologischen Systems erfolgt und die Trennung von Biomasse und Filtrat durch einen Filtrationsmodul erreicht wird. Dem Filtrationsmodul sind Mittel für die meßtechnische Erfassung der Probe nachgeordnet. Für den Proben-Transport und den Transport der Analysenmittel ist der Anordnung ein Transportsystem mit Pumpen zugeordnet. Hierdurch soll u. a. der Fouling-Effekt vermieden werden.

Diese Anordnung hat den Nachteil, daß die gesamte meßtechnische Erfassung unter nichtsterilen Bedingungen erfolgt. Dabei wird nur das Filtrat untersucht, während die davon abgesonderte Biomasse unter sterilen Bedingungen wieder in den Fermentor zurücktransportiert wird.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist es, den in einem biologischen System ablaufenden Prozeß vollständiger zu erfassen als bisher und Voraussetzungen für eine durchgehende Automatisierung und Optimierung nach biologischen Zielgrößen des Prozesses zu schaffen.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine on-line-Meßwerterfassung durchzuführen, ohne daß Rückwirkungen auf das sterile biologische System auftreten, z. B. durch Auswechseln von Probenahmesonden, und bei der mehrere Prozeßgrößen seriell oder parallel gemessen werden können, wobei Interferenzen auszuschließen sind.

Erfindungsgemäß wird das bei einer Anordnung zur on-line-Erfassung physikalischer, chemischer und biologischer Prozeßgrößen in geschlossenen, sterilen biologischen Systemen, insbesondere in Bioreaktoren, unter Verwendung von außerhalb des biologischen Systems angeordneten Vorrichtungen zur sterilen Entnahme von biologischem Material in flüssiger oder gasförmiger Form und Trennung von Biomasse und Filtrat, mit Mitteln für die parallele bzw. serielle meßtechnische Erfassung der Proben, einem Transportsystem zum Transport der Proben und der notwendigen Darstellungsmittel, einem Modul für die Darstellung der Probe, mit Mitteln für die nichtsterile meßtechnische Erfassung der Probe hinter dem Modul, dadurch erreicht, daß Mittel für die sterile meßtechnische Erfassung der Probe vor dem Modul vorgesehen sind.

Der Anordnung sollten Mittel für die Entsorgung der Proben zugeordnet sein.

Das Biologische System kann ein Bioreaktor sein, dem ein Grobfilter zugeordnet ist und mit diesem eine Baugruppe bildet, wobei dem Grobfilter ein Separationsbaustein zur Trennung von Biomasse und Filtrat nachgeordnet ist, dem ein Entgasungsmodul, ein Zwischenspeicher für Biomasse und eine Meßzelle für Biomasse zugeordnet ist, wobei die genannten Baugruppen sterilisierbar sind und steril betrieben werden können.

Zur Darstellung der Proben ist an den nichtsterilen Bereich des Separationsbausteins eine Pumpe angeschlossen, der über Ventile Vorratsbehälter für Wasser, Pufferlösungen, Marker und Reagenzien zugeordnet sind, wobei die Pumpe über weitere Ventile mit den Mitteln für die nichtsterile meßtechnische Erfassung der Proben, mit einem Zwischenspeicher für Filtrat und mit einem Auslaß verbunden ist.

Mit dieser Anordnung ist es möglich, eine on-line-Messung durchzuführen, ohne daß in das biologische System, z. B. durch Probenahmesonden, eingegriffen werden muß. So kann z. B. ein Bioreaktor kontinuierlich steril weiter betrieben werden, auch wenn es erforderlich ist, im Probenahmemodul Baugruppen auszuwechseln.

Die Anordnung ermöglicht ebenfalls den Separationsbaustein durch Rückspülung freizuspülen, um den Fouling-Effekt zu vermeiden. Durch die erfindungsgemäße Anordnung bleibt dabei dennoch die Sterilität erhalten.

Es wird weiterhin erstmalig möglich, seriell oder parallel mehrere Proben zu erfassen und für unterschiedliche Messungen darzustellen, d. h. so aufzubereiten, daß mit diesen bei dem vorgesehenen Meßverfahren optimale Einsatzbedingungen für die Detektionssysteme erzielt werden.

Aufgrund des Vorliegens von mehreren Meßwerten kurze Zeit nach der Probenahme wird eine verbesserte automatische Prozeßsteuerung möglich. Aber auch für die manuelle Steuerung des Prozesses ergeben sich bessere Möglichkeiten: für die Prozeßoptimierung.

Erstmals wird mit dieser Anordnung die Voraussetzung für den Übergang von der diskontinuierlichen zur kontinuierlichen Prozeßführung mit biologischen Parametern als Führungsgrößen möglich.

Ein weiterer entscheidender Vorteil besteht darin, daß es möglich ist, ohne Beeinflussung des sterilen Prozesses im biologischen System, nicht sterilisierbare Detektoren in der on-line-Messung einzusetzen.

Ausführungsbeispiel

Die Erfindung soll in einem Ausführungsbeispiel anhand von Zeichnungen näher erläutert werden. Es zeigen

Fig. 1: den prinzipiellen Aufbau der erfindungsgemäßen Anordnung in einer schematischen Darstellung

Fig. 2: den detaillierten Aufbau einer erfindungsgemäßen Anordnung.

Aus einem geschlossenen System 7, z. B. aus einem Bioreaktor, wird eine repräsentative Probe unter sterilen Bedingungen in einer Separationsbaugruppe 1 separiert bzw. so aufbereitet, daß die Randbedingungen für eine Detektion im geschlossenen Kreis erfüllt werden, z. B. zwischen den Baugruppen 7-1 bzw. 1-7. Für im geschlossenen Kreis nicht einsetzbare Detektionssysteme erfolgt in einer zweiten Baugruppe 2 die Darstellung der Probe, wodurch die für die Detektion erforderlichen Randbedingungen, d. h. die physikalisch-chemischen Parameter der Probe, wie Temperatur, Druck, pH-Wert, Konzentration, Zugabe von Reagenzien und Markern, definiert realisiert werden. Der Baugruppe 2 für die Darstellung der Probe schließt sich eine Detektionsbaugruppe 3 für die Detektion der Komponenten der Probe an. Dabei können ein Detektionssystem oder mehrere parallel oder seriell angeordnet sein, z. B. für chemische, physikalische und biologische Parameter. Dem Detektionssystem schließt sich noch eine Baugruppe 4 zur Entsorgung der Probe an. In dieser kann z. B. die Neutralisation gefährlicher Substanzen, Desinfektion und Speicherung der Probe erfolgen.

Der Transport der Probe und der Medien zwischen den genannten Baugruppen erfolgt mit Hilfe eines Transportsystems 5. Alle diese Baugruppen werden von einem Steuerungssystem 6 zentral gesteuert. Eine Beeinflussung des Prozesses im geschlossenen System 7 ist über eine Prozeßsteuerung 8 im Zusammenwirken mit der Detektionsbaugruppe 3 und/oder mit dem Steuerungssystem 6 möglich.

Die Realisierung der in Fig. 1 dargestellten Baugruppen ist z. B. mit den in der Fig. 2 aufgeführten Gerätetechnik möglich. Das geschlossene System 7 besteht im vorliegenden Fall aus einem sterilen Bioreaktor 9 und einem Grobfilter 10. Das geschlossene System könnte auch ein natürlicher biologischer Kreislauf sein. Der sterile Bioreaktor schließt das Reaktorgefäß mit allen Einbauten, Rohrleitungen, Ventilen bis zu den Sterilfiltern sowie die Leitungen für den Probentransport zur und von der Separationsbaugruppe ein.

Die Separationsbaugruppe 1 besteht im vorliegenden Fall aus einem Separationsbaustein 11 und einem Entgasungsmodul 12 einschließlich der erforderlichen Rohrleitungen und Ventile. Im Separationsbaustein erfolgt die sterile Trennung der Biomasse und des Filtrates, wobei die mit dem geschlossenen System verbundene Eintrittsseite des Separationsbausteines zum sterilen Bereich gehört, während die Austrittsseite nicht steril ist. Zur Separation der Probe können z. B. tangential überströmte Filter unterschiedlicher Materialien mit und ohne Mischsystem zur Vermeidung der Konzentrationspolarisation, Dialysebausteine, statische Filtrationseinheiten unterschiedlicher Materialien mit und ohne Mischsystem und Hohlfasern eingesetzt werden. An der sterilen Seite des Separationsbausteins 11 ist ein Zwischenspeicher 13 für die Biomasse angeordnet, dem sich eine Meßzelle 14 für die Biomasse anschließt.

Alle genannten Baugruppen bilden den Sterilbereich.

Dem Entgasungsmodul 12 ist im nichtsterilen Bereich eine Meßzelle 15 für Gase, z. B. ein Gaschromatograph zugeordnet.

An den nichtsterilen Ausgang des Separationsbausteins 11 ist eine Pumpe 16 angeschlossen, die zusammen mit Ventilen Bestandteil des Transportsystems 5 ist. Die Pumpe 16 ist über die entsprechenden Ventile sowohl mit einem

Zwischenspeicher 17 für das Filtrat als auch mit einer Meßzelle 18 für das Filtrat verbunden. Als Pumpen können herkömmliche Dosierpumpen oder Spezialpumpen mit vorwählbarer Frequenz und vorwählbarem Hubvolumen verwendet werden.

Der Pumpe 16 ist die Baugruppe 2 zur Darstellung der Probe zugeordnet. Diese Baugruppe kann z. B. Vorratsbehälter für Wasser 19, Pufferlösungen 20, Marker 21 und Reagenzien 22 haben. Diese bieten die Möglichkeit die Probe darzustellen, d. h. die Probe optimal für das jeweilige sich anschließende Meßverfahren aufzubereiten.

Die Meßzellen 14, 15 und 18 bilden die Detektionsbaugruppe 3. Die Meßzellen sind infolge des modularen Aufbaus der Anordnung austauschbar. Als Meßzellen werden sowohl Detektoren zur direkten Bestimmung biologischer, chemischer und physikalischer Größen im geschlossenen System im sterilen Bereich der Anordnung verwendet, die hohen dynamischen Anforderungen genügen, als auch Detektoren zur Erfassung biologischer, chemischer und physikalischer Größen im unsterilen Bereich. Diese sind nach Darstellung der Probe an den Prozeß angekoppelt. Als solche Detektoren können neben den genannten z. B. Gaschromatographen, optische und Hochfrequenzspektrometer verwendet werden, denen die Proben in aufbereiteter Form zugeführt werden.

Bei dieser Anordnung werden die im Bioreaktor 9 erzeugten biologischen Materialien zunächst einem Grobfilter zugeführt. Von diesem gelangen die Materialien über ein Ventil in den Separationsbaustein 11, in dem eine Trennung in Biomasse und Filtrat erfolgt. Die Biomasse kann anschließend durch den Entgasungsmodul 12 entgast werden und dann in den Zwischenspeicher 13 gepumpt werden. Dieser Vorgang wird nach Entfernung des Filtrats aus dem Separationsbaustein 11 und Abpumpen in den Zwischenspeicher 17 bei entsprechender Ventilstellung durch die Pumpe 16 vorgenommen. Nach Entleerung des Separationsbausteins 11 ist bei entsprechender Ventilstellung bereits die nächste Probenahme möglich, während gleichzeitig die Biomasse und das Filtrat aus der vorhergehenden Probe dem Detektionssystem zugeführt werden, bzw. aufbereitet werden.

So ist es möglich, die Biomasse einer Trübungsmessung zu unterziehen. Durch die vorhergehende Grobfilterung und Entgasung wird hierbei eine hohe Meßgenauigkeit erzielt. Bisher mußte diese Messung direkt am oder im Reaktor vorgenommen werden, wobei Gasblasen und Verunreinigungen nur unvollkommen beseitigt werden konnten. Trotz der Versuche, die Fehler zu eliminieren, wurde keine große Meßgenauigkeit erzielt.

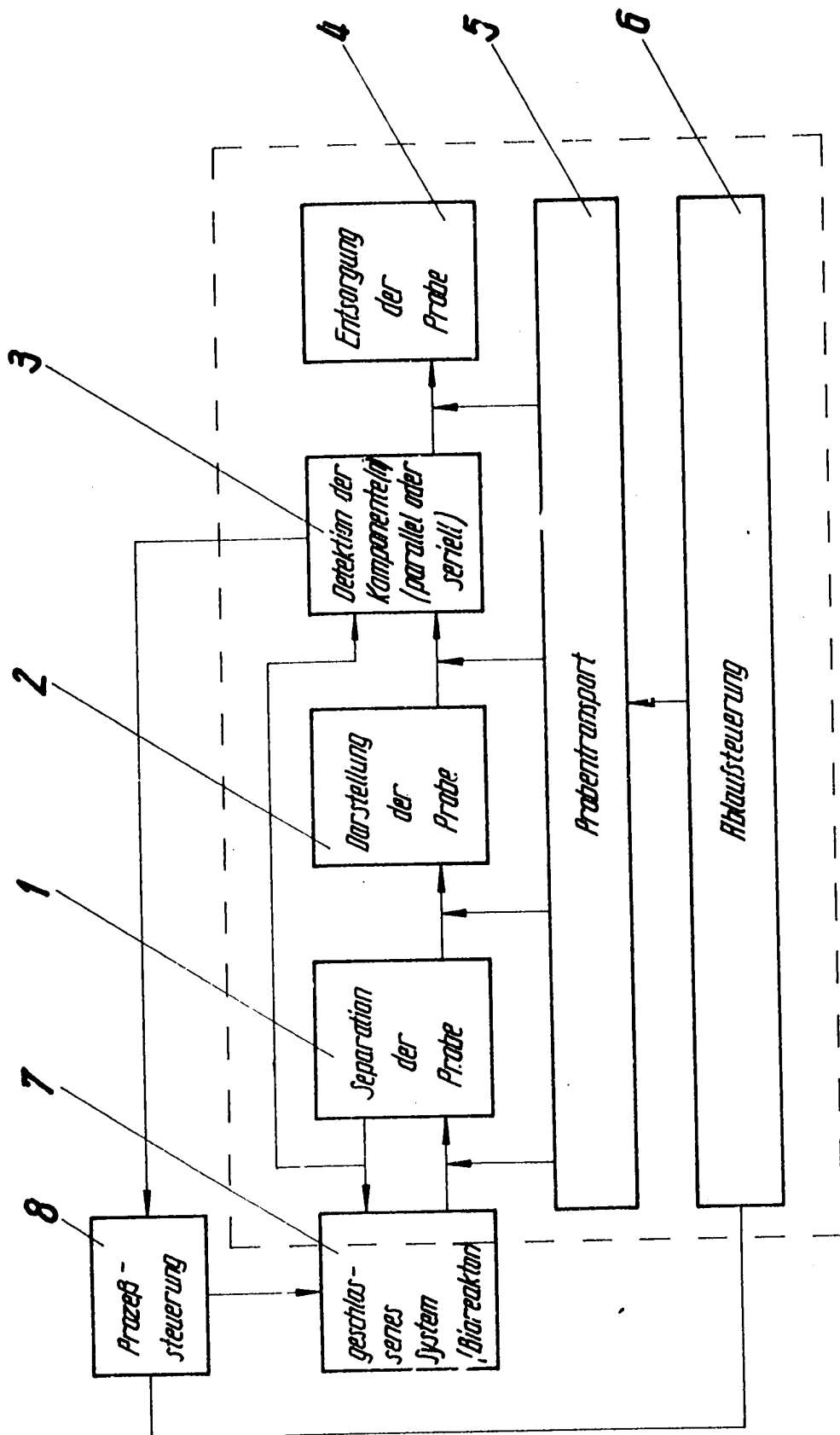
Da sich die Meßzelle 14 für die Biomasse im Sterilbereich befindet, kann nach Durchführung der Messung die Biomasse wieder in den Bioreaktor 9 zurückgeführt werden.

Die separierten Gase können aus dem Entgasungsmodul 12 der Meßzelle 15, z. B. einem Gaschromatographen, zugeführt werden und können so eine zusätzliche Information über den Prozeß im Bioreaktor liefern, die bei bisher bekannten Anordnungen nicht erzielbar war.

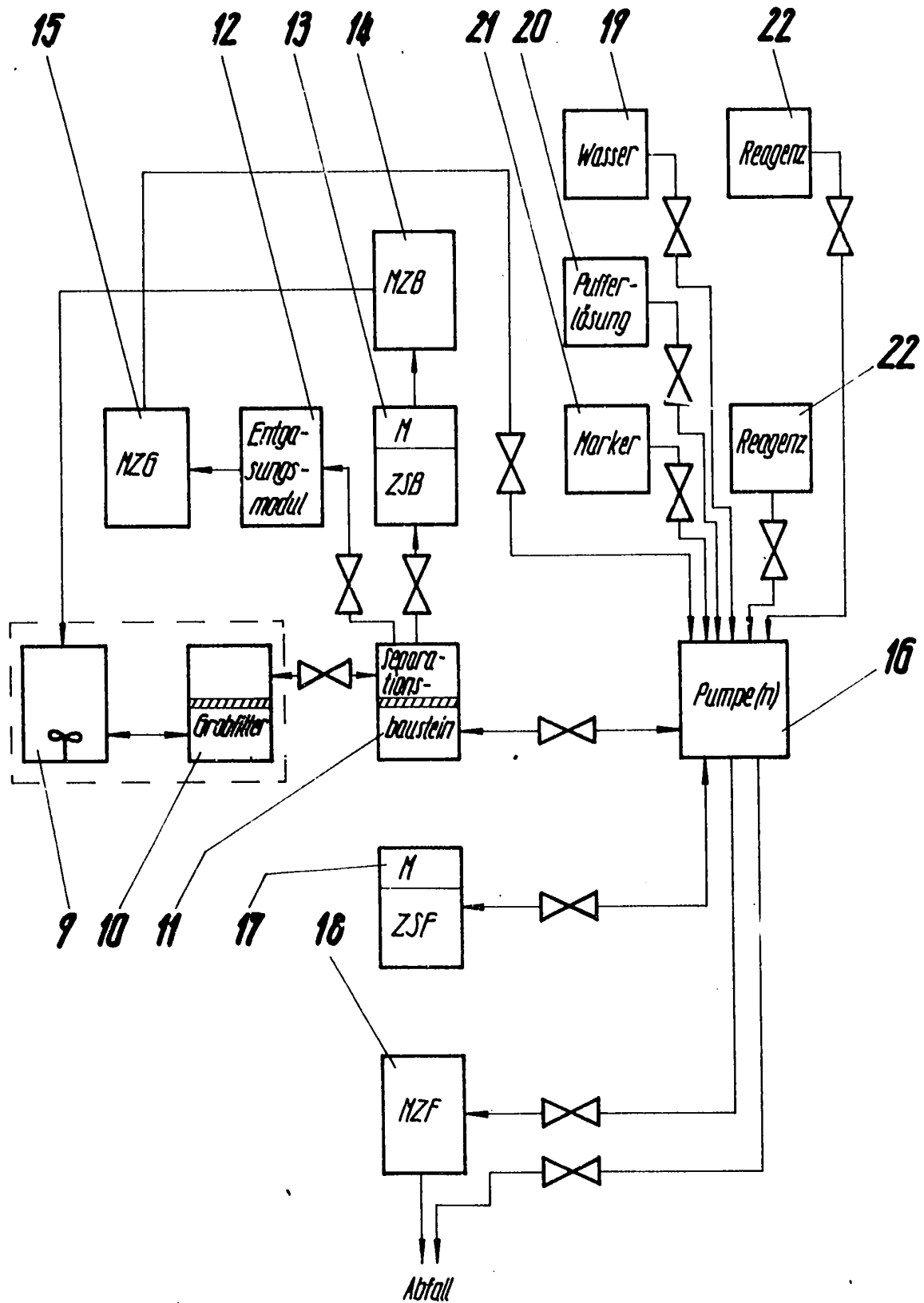
Das Filtrat kann durch die Pumpe 16 aus dem Zwischenspeicher abgepumpt werden und mit Hilfe der Baugruppen 19 bis 22 aufbereitet werden, und dabei optimal an das sich anschließende Meßverfahren angepaßt werden.

Die Modulbauweise gestattet es, in kurzen Zeitabständen Proben zu entnehmen und diese unterschiedlich darzustellen, d. h. sie an unterschiedliche Meßverfahren optimal anzupassen. Dadurch erhält man wesentlich mehr und bessere Meßergebnisse als bisher.

Da der Bioreaktor keine Einbauten zur Probenahme erfordert, weil die Probenahme außerhalb des Reaktors erfolgt, ist nunmehr ein wesentlich effektiverer kontinuierlicher Betrieb des Bioreaktors möglich.



Figur 1



Figur 2