



SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung beschreibt ein Verfahren und eine Durchflusszelle zur kontinuierlichen Bearbeitung von fließfähigen Zusammensetzungen mittels Ultraschall. Die Aufgabe der Erfindung, ein Verfahren und eine Durchflusszelle zur kontinuierlichen Beschallung von fließfähigen Zusammensetzungen, insbesondere von kleinen Flüssigkeits-Volumina im Durchlaufprinzip zu beschreiben, mit denen die Nachteile des Standes der Technik vermieden werden und mit denen eine effiziente Bearbeitung von Flüssigkeiten wie Dispergieren, Emulgieren, Desagglomerieren, Zellaufschluss, Extrahieren, Homogenisieren, Entgasen und dergleichen gewährleistet werden, ohne eine direkte Verbindung zwischen der metallischen Sonotrode und dem zu beschallenden Medium herzustellen, wobei die zu beschallende fließfähige Zusammensetzung während der Beschallung nach Bedarf von Umwelteinflüssen isoliert gehalten werden kann, wird durch ein Verfahren dadurch gelöst, dass die Arbeitsflüssigkeit 80 in der Durchflusszelle 4 über eine unter erhöhten Druck gesetzte Flüssigkeit 90 indirekt mit Ultraschall beschallt wird.

**Verfahren und Durchflusszelle zur kontinuierlichen
Bearbeitung von fließfähigen Zusammensetzungen mittels
Ultraschall**

5

Beschreibung

10 Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine
Durchflusszelle zur kontinuierlichen Bearbeitung von
fließfähigen Zusammensetzungen (Arbeitsflüssigkeit) mittels
Ultraschall, wobei die fließfähige Zusammensetzung während
der Beschallung nicht direkt mit dem Schallgeber in
15 Berührung kommt und von Umwelteinflüssen vollständig
isoliert werden kann, gemäß den Merkmalen der Ansprüche 1
und 15.

Die Erfindung kann zur kontinuierlichen, berührungs- und
20 kontaminationsfreien Beschallung fließfähiger Zusammenset-
zungen mit Ultraschall eingesetzt werden.

Anwendung findet das Verfahren beispielsweise in den
Bereichen der Pharmatechnologie, Lebensmitteltechnologie,
25 Biotechnologie, Zellbiologie, Kosmetik, Elektronik und
Elektrotechnik zum Zwecke der Mischung von zwei oder
mehreren Flüssigkeiten, zur Mischung von Gasen und
Flüssigkeiten, zur Emulgierung von zwei nicht oder nur
teilweise mischbaren Flüssigkeiten, zur Homogenisierung von
30 kolloidalen und grobdispersen Zubereitungen, zur
Desaggregation und Zerkleinerung von Feststoffen in einer
Flüssigkeit, zur Kontrolle von Kristallbildung
(Sonokristallisation), zur Suspendierung von Feststoffen in
Flüssigkeit, zur Desaggregation und Homogenisation von

biologischen Organteilen, zum Zellaufschluss, zur Entgasung von Flüssigkeiten, zur Steuerung insbesondere Beschleunigung chemischer Reaktionen, als Prozesszwischenstufe bei der Herstellung von Liposomen, mizellaren Systemen, Nano- und Mikroemulsionen, Nanopartikeln, Nanokapseln, Mikrosphären und Mikrokapseln und dergleichen.

Schallwellen der Frequenzen 18 bis ca. 150 kHz (Ultraschall) sind eine Energiequelle, die vielseitig in der Verfahrenstechnik zur Manipulation fließfähiger Systeme eingesetzt werden kann.

Um sich von Ultraschall höherer Frequenzen (bis viele MHz), welche vor allem für Mess- und diagnostische Zwecke Anwendung finden, abzugrenzen, spricht man auch von „Leistungsultraschall“.

Bei hinreichend guter Übertragung der Schallenergie auf das flüssige Medium sowie dem Überschreiten einer systemabhängigen Grenzamplitude, kommt es im beschallten Medium zu Kavitation. Unter Kavitation versteht man die Bildung feinsten Gasblasen, die durch fortlaufenden Druckwechsel aufgrund der in das Fluid übertragenen Schwingung in ihrer Größe wachsen und schließlich implodieren. Bei der Implosion bilden sich Mikrojets, welche zu lokal konzentrierten, extrem hohen Drücken und Temperaturen führen. Der Energieeintrag durch Kavitation kann genutzt werden, um chemische Reaktionen zu initiieren, zu beschleunigen oder in ihrer Selektivität zu beeinflussen.

Weiterhin kann die in das flüssige System eingetragene Energie zur intensiven Durchmischung und zur Dispergierung mehrphasiger Systeme verwendet werden. Bekannt ist die Verwendung von Ultraschall zur Erzeugung von Emulsionen

(z.B. DE 197 56 874 A1), zur Zerkleinerung, Desagglomeration und Dispergierung von Feststoffen in Flüssigkeiten (z.B. Vasylliv und Sakka 2001) und zum Aufschluss von biologischem Material, beispielsweise Zellen
5 (z.B. DE 42 41 154 C1).

Aus der DE 197 56 874 A1 ist eine Vorrichtung zum Herstellen von dispersen Stoffgemischen mittels Ultraschall bekannt, bei der die Abstrahlfläche der Sonotrode in
10 direktem Kontakt mit der zu bearbeitenden Flüssigkeit steht.

Aus der DE 42 41 154 C1 ist es bekannt, Zelldispersionen oder Zellsuspensionen mittels Ultraschall in einer
15 Durchflusszelle aufzuschließen, um Zellinhaltsstoffe zu gewinnen, indem die Sonotrode zu $\frac{1}{2}$ bis $\frac{2}{3}$ ihrer Länge in die Durchflusszelle hineinragt. Es werden dabei der Eintauchwinkel und die Eintauchtiefe der Sonotrode in Abhängigkeit vom Feststoffanteil des zu beschallenden
20 Mediums eingestellt.

Beschrieben ist auch die Nutzung von Ultraschall zur Erzeugung von Liposomen (Arnardóttir et al. 1995). Schliesslich findet Ultraschall zum Entgasen von Flüssigkeiten Anwendung.

25 Eine verbreitete Anwendung findet Ultraschall in der Erzeugung von Emulsionen. Im folgenden soll daher tiefer auf dieses Anwendungsgebiet eingegangen werden, ohne jedoch die beschriebene Erfindung auf dieses Gebiet beschränken zu wollen. Unter einer Emulsion versteht man ein disperses
30 System zweier oder mehrerer Flüssigkeiten, die sich nicht oder nur teilweise mischen. Bei der Herstellung von Emulsionen wird häufig von einer grobdispersen Rohemulsion ausgegangen, welche z.B. mittels eines einfachen

Rührapparates erzeugt werden kann, im allgemeinen wenig stabil ist und sich innerhalb von Minuten wieder in mehrere Phasen zerlegt. Durch Eintragen weiterer mechanischer Energie werden die groben Tropfen der Rohemulsion weiter
5 bis in den Mikro- oder Nanometer-Massstab zerteilt. Durch den Einsatz von oberflächenaktiven Substanzen und/oder Stabilisatoren kann eine Koaleszenz der Tröpfchen und ein Aufrahmen der Emulsion verhindert und diese so über Stunden, Monate oder gar Jahre stabilisiert werden.

10 Es wurde festgestellt, dass mittels Ultraschall Emulsionen von vergleichbarer Güte wie jene aus etablierten Verfahren (Hochdruckhomogenisation) erzeugt werden können (Behrend et al. 2000). Eine Steigerung der Energiedichte (eingetragene Leistung pro Volumen mal Beschallungszeit bei Batchsystemen
15 bzw. pro Volumenstrom bei kontinuierlichen Systemen) führt zu einer Verkleinerung der Tröpfchengrößen (Bechtel et al. 2000, Behrend et al. 2000). Eine Steigerung der Energiedichte kann entweder durch höheren Leistungseintrag erfolgen oder durch eine Vergrößerung der Verweilzeit der
20 Emulsion in der Zone hoher Kavitationsintensität.

Die diskontinuierliche Beschallung von flüssigen und flüssig-dispersen Stoffsystemen erfolgt im allgemeinen, indem die betreffenden Substanzen in einem geeigneten Gefäss vorgelegt und gegebenenfalls zur Erzeugung einer
25 groben Vormischung gerührt werden. In diese Flüssigkeit wird dann ein geeigneter Schallgeber eingetaucht und für eine definierte Zeit aktiviert. Häufig besteht der Schallgeber aus piezokeramischen Elementen, welche von einem HF-Generator mit einer Wechselspannung versorgt
30 werden. Die Wechselspannung, deren Frequenz jener des zu erzeugenden Schalls entspricht, erzeugt eine Verformung der Piezokeramiken, welche somit in eine mechanische Schwingung versetzt werden. An die piezokeramischen Schwingelemente

gekoppelt ist eine Sonotrode, die die Schwingungen gegebenenfalls verstärkt und in die zu beschallende Flüssigkeit überträgt, indem ihr Ende in die Flüssigkeit eingetaucht wird.

5 Ein grosser Nachteil dieses Verfahrens ist die mangelnde Möglichkeit eines Scale-Up zu grösseren Massstäben. Der von der Sonotrode intensiv beschallte Raum beschränkt sich grob auf einen sich von der Sonotrodenoberfläche aus verjüngenden Kegel, der nur wenige Zentimeter in den
10 beschallten Raum ragt. Flüssigkeit, die sich ausserhalb dieses kegelförmigen Raumes befindet, wird nur unzureichend vom Schall beeinflusst. Mit zunehmendem Volumen des zu beschallenden Gefässes wird das Verhältnis von intensiv beschalltem Raum zum weniger beeinflussten Raum drastisch
15 ungünstiger.

Vorteilhaft ist gemäss DE 197 56 874 A1 die Verwendung eines Gefässes, das im Durchmesser nur wenig grösser ist als die Abstrahlfläche der Sonotrode.

20

Weiterhin können Einbauten oder ein Rühren der Flüssigkeit das effektiv beschallte Volumen vergrössern. Generell vorteilhaft ist eine kontinuierliche Anordnung, bei der die mit Ultraschall zu beaufschlagende Flüssigkeit in einer
25 Durchflusszelle durch den intensiv beschallten Raum direkt unter der Sonotrode gezwungen wird. Die Variation der Flussgeschwindigkeit ermöglicht eine Anpassung der Verweilzeit in der Schallzone.

30 Aus der Patent- und wissenschaftlichen Literatur sind eine Reihe solcher Anordnungen bekannt.

DE 197 56 874 A1 beschreibt u.a. einen Strömungskanal vom Durchmesser der Abstrahlfläche der verwendeten Sonotroden, in den mehrere Sonotroden in Reihe eingebaut werden können.

Ebenfalls dort beschrieben ist die Hintereinanderschaltung mehrerer durchströmter Gefäße, in die Sonotroden hinein ragen.

5 DE 43 27 679 A1 beschreibt ein Verfahren zum Aufschluss von Zellmaterial mittels Ultraschall, in dem vorteilhafte Konditionen wie Winkel, Eintauchtiefen und Volumenverhältnisse für eine in eine Durchflusszelle hinein ragende Sonotrode genannt werden.

10 Bekannt sind auch Anordnungen mit durchströmten, topfähnlichen Gefäßen von geringem Volumen, in welchen die zu beschallende Flüssigkeit an einer Sonotrode vorbeigeführt wird (US 5 032 027, GB 2 250 930 A).

15 DE 28 46 462 A1 beschreibt eine kontinuierliche Emulgierung mittels einer durchströmten Kammer, in der ein schwingendes Element umströmt wird oder an deren Berandung Schallgeber installiert sind.

20 DE 39 30 052 A1 beschreibt weiterhin eine Anordnung, in der in einem durchströmten Kanal speziell gestaltete Reflexionswände den Schallgebern gegenüber angeordnet werden.

25 Gemeinsam ist all diesen Verfahren der Nachteil, dass sich der Schallgeber in direktem Kontakt mit dem beschallten Medium befindet. Durch die in der beschallten Flüssigkeit erzeugte Kavitation kommt es zur Ablösung feinsten Partikel aus dem Sonotrodenmaterial. Nach längerem Betrieb ist
30 dieses in Form von Rillen, Löchern u.ä. makroskopisch auf der Sonotrodenoberfläche sichtbar. Intensiviert wird das Problem bei der Beschallung feststoffhaltiger Suspensionen, da die Feststoffpartikel einen zusätzlichen abrasiven Effekt auf die Sonotrodenoberfläche ausüben. Die

beschriebene Abgabe von Partikeln in das beschallte Medium ist beispielsweise bei der Erzeugung von Produkten für pharmazeutische Zwecke problematisch. Die meisten handelsüblichen Ultraschallquellen sind mit Sonotroden aus metallischen Legierungen ausgestattet. Es kommt somit zum Eintrag von metallischen Feinstpartikeln und Metall-Ionen in das mit Ultraschall beaufschlagte Medium. Ist das durch das Beschallen erzeugte Produkt zur medizinischen Anwendung, insbesondere zur parenteralen Verabreichung am Mensch oder Tier, vorgesehen oder wird es zu einem medizinisch zu verabreichenden Produkt weiterverarbeitet, stellen die von der Sonotrode abgegebenen Metallpartikel oder -ionen ein Sicherheitsrisiko für Mensch oder Tier dar. Gleiches gilt für die Produktion von Arzneimitteln, die am Auge, in der Lunge, auf grossflächig verletzten Hautarealen oder in Körperhöhlen (z.B. Vagina, Uterus, Harnblase) angewendet werden. Des weiteren kann es zu einer unerwünschten Interaktion der freigesetzten Metallpartikel und -ionen mit Bestandteilen - insbesondere den Wirkstoffen - des pharmazeutischen Produktes kommen, welches somit im schlimmsten Fall inaktiviert oder zu toxischen Produkten umgewandelt werden kann. Generell führt eine Kontamination des beschallten Produktes mit aus der Sonotrode freigesetzten Substanzen dann zu Problemen, wenn es, wie am Beispiel des pharmazeutischen Produktes erläutert, zu einer unerwünschten Wechselwirkung zwischen dem aus der Sonotrode freigesetzten Material und Bestandteilen des beschallten Gutes kommt. Unerwünschte Wechselwirkungen wären beispielsweise Hydrolyse, Oxidation oder Reduktion, Komplexbildung, Aggregation, Fällung, Konformationsänderung von Bestandteilen des beschallten Gutes. Dieses kann beispielsweise auch dann auftreten, wenn Zellen zur Gewinnung von Inhaltsstoffen (z.B. Proteine, Peptide, Antikörper, etc.) aufgeschlossen werden. Weiterhin können

von der Sonotrode freigesetzte Partikel und Ionen bei einer Analyse des beschallten Produktes beeinträchtigt wirken oder diese verunmöglichen.

5 Ein weiteres bislang nicht zufriedenstellend gelöstes Problem ist eine unproblematisch durchzuführende aseptische, also keimfreie Beschallung fliessfähiger Systeme. Existierende Systeme weisen entweder keine hermetische Abdichtung gegenüber der Umgebung auf und/oder
10 sind nur schlecht in validierbarer Weise zu reinigen und zu sterilisieren.

Bedarf an aseptisch produzierten fliessfähiger Stoffsystemen besteht insbesondere im Bereich der
15 pharmazeutischen Produkte, weiterhin bei Kosmetika und Lebensmitteln. Letztere profitieren von einer aseptischen oder zumindest keimarmen Produktion, indem der Zusatz von Konservierungsstoffen verringert oder ganz vermieden werden kann. Gleiches gilt für die Herstellung von Pharmazeutika
20 für topische Anwendungen, insbesondere auf der geschädigten Haut, am Auge, in der Lunge oder in Körperhöhlen. Pharmazeutika für parenterale Verabreichung, welche also injiziert werden, oder Pharmazeutika zur Anwendung am
25 verletzten Auge, auf grossflächig geschädigten Hautarealen oder zur Spülung von Körperhöhlen müssen zwingend steril sein. Eine Endsterilisierung kann nachteilig oder auch unmöglich sein, womit eine aseptische Produktionsweise unvermeidbar ist. Beispiele für parenteral verabreichbare
30 Pharmazeutika sind Infusionslösungen zur parenteralen Regulierung des Wasser-, Elektrolyt- und Kohlehydrathaushaltes, Zubereitungen zur totalen parenteralen Ernährung, sowie arzneistoffhaltige Zubereitungen (beispielsweise wässrige oder ölige Lösungen, Emulsionen, Suspensionen, Mikroemulsionen) und Impfstoffe.

Solche parenteralen Zubereitungen werden im allgemeinen intravenös, intraarterial, intramuskulär, subkutan, intradermal, intraperitoneal, intraocular, intraarticular oder intralumbal verabreicht. Sie bestehen häufig aus dispersen Systemen oder durchlaufen im Zuge ihrer Produktion einen oder mehrere Dispergierschritte. In der Literatur gibt es Beispiele, bei denen Ultraschall zur Erzeugung solch disperser Systeme eingesetzt wurde. Bei der Verkapselung hydrophiler Wirkstoffe in biodegradierbare Mikrosphären beispielsweise wird in einem ersten Produktionsschritt häufig eine Emulsion aus wässriger Wirkstofflösung und organischer Polymerlösung erzeugt, die dann zu Mikrosphären weiterverarbeitet wird. Hier ist der Einsatz von Ultraschall eine standardmässig angewandte Methode (z.B. Cohen et al. 1991, Yang et al. 2001). Liposomen, Mikrosphären und -kapseln, Nanopartikel und -kapseln und wirkstofffreisetzende Implantate sind weitere Beispiele für Systeme, die bei ihrer Produktion Dispergierschritte durchlaufen können.

Zusammenfassend besteht somit ein grosses Potenzial für ein Ultraschallsystem, das in der Lage ist, unter aseptischen Bedingungen disperse Stoffsysteme ohne eine Kontamination durch Partikel von der Sonotrode zu erzeugen.

Aufgabe der Erfindung ist es, ein Verfahren und eine Durchflusszelle zur kontinuierlichen Beschallung von fließfähigen Zusammensetzungen, insbesondere auch von kleinen Flüssigkeits-Volumina im Durchlaufprinzip zu beschreiben, mit denen die Nachteile des Standes der Technik vermieden werden und mit denen eine effiziente Bearbeitung einer fließfähigen Zusammensetzung wie Mischen, Dispergieren, Emulgieren, Suspendieren, Sonokristallisieren, Zerkleinern, Desagglomerieren, Zellaufschluß, Extrahieren, Homogenisieren, Entgasen und

dergleichen gewährleistet werden, ohne eine direkte Verbindung zwischen der metallischen Sonotrode und der zu beschallenden fließfähigen Zusammensetzung herzustellen, wobei die zu beschallende fließfähige Zusammensetzung
5 (Arbeitsflüssigkeit) während der Beschallung nach Bedarf von Umwelteinflüssen isoliert gehalten werden kann.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch das Verfahren mit den Merkmalen des Anspruchs 1 und mit den Merkmalen der Durchflusszelle des Anspruchs 15 gelöst.

10

Das Verfahren nach der Erfindung ist dadurch gekennzeichnet, dass die Arbeitsflüssigkeit in der Durchflusszelle über eine unter erhöhten Druck gesetzte Flüssigkeit indirekt mit Ultraschall beschallt wird.

15

Die Durchflusszelle nach der Erfindung ist dadurch gekennzeichnet, dass die von der Arbeitsflüssigkeit durchströmte Durchflussstrecke von einem Druckmantel umgeben ist, an den ein Ultraschallwandler zur Schwingungsanregung angeschlossen ist, wobei sich zwischen einer Außenwandung
20 der Durchflussstrecke und dem Druckmantel zur Vermeidung von Kavitation eine unter erhöhtem Druck stehende Flüssigkeit befindet.

25

Durch die indirekte Schwingungsanregung einer Durchflussstrecke aus beispielsweise einer Glas- oder Kunststoffröhre (Durchflusszelle), in der sich die zu beschallende fließfähige Zusammensetzung (Arbeitsflüssigkeit) befindet, über eine unter Druck stehende Flüssigkeit in einem umgebenden Rohr, die gleichzeitig als Kühlung wirken kann, wird erreicht, dass keine Kontamination der zu
30 beschallenden fließfähigen Zusammensetzung mit Metallen erfolgen kann.

Der erhöhte Druck der Flüssigkeit verhindert die Kavitation in der Flüssigkeit und somit Übertragungsverluste. Der Ultraschall wirkt mit hoher Intensität auf die Durchflusszelle und auf die darin strömende 5 Arbeitsflüssigkeit ein und bewirkt die in der Arbeitsflüssigkeit erwünschte Kavitation.

Die Durchflusszelle ist leicht auswechselbar, es können variable, bei Bedarf auch kleinste Volumina im Durchfluß 10 effizient bearbeitet werden, es gibt keine schalltoten Räume (Totvolumina), die Durchflusszelle kann in bestehende Systeme einfach integriert werden.

Die Arbeitsflüssigkeit kann hermetisch abgeschlossen 15 werden.

Das System (Anordnung) kann in unterschiedlichen Abmessungen in Abhängigkeit von der Durchflussrate und der notwendigen Ultraschallenergie realisiert werden. 20

Das vorliegende Verfahren ist besonders vorteilhaft, weil es die in vielen Bereichen häufig verwendete Ultrabeschallung fliessfähiger Systeme unter Ausschluss von Kontamination ermöglicht. Insbesondere wird beim 25 erfindungsgemässen Verfahren die Schallenergie nicht, wie bei herkömmlichen Systemen üblich, durch direkten Kontakt einer schwingenden Fläche mit der zu beschallenden Flüssigkeit auf diese übertragen. Die Schallenergie wird statt dessen, wie weiter oben beschrieben, auf eine unter 30 Druck stehende Flüssigkeit übertragen und von dieser an eine Durchflusszelle weitergegeben, durch welches die mit Ultraschall zu behandelnde fliessfähige Zusammensetzung strömt.

Die beschriebene Erfindung ist weiterhin hervorragend zur Beschallung von fliessfähigen Zusammensetzungen unter aseptischen Bedingungen geeignet.

Die beschallte fliessfähige Zusammensetzung kommt
5 ausschliesslich mit dem im Druckmantel befindlichen Rohr (Durchflusszelle) in Kontakt und ist damit während der Passage der Ultraschallapparatur hermetisch von der Umgebung abgeschlossen und vor Kontamination geschützt.
Das mit der beschallten fliessfähige Zusammensetzung in
10 Kontakt stehende Rohr (Durchflusszelle) kann sehr einfach sterilisiert werden.

Die nicht mit der fliessfähigen Zusammensetzung in Kontakt stehenden Apparateteile können auf einfache Weise
15 oberflächendesinfiziert werden, beispielsweise durch Besprühen/Abreiben mit desinfizierenden Lösungen und/oder durch Behandlung mit kurzweiliger Strahlung, z.B. ultraviolettem Licht.

Der Zusammenbau der sterilisierten einzelnen Komponenten
20 der Apparatur kann unproblematisch beispielsweise in einem Laminar-Flow-Arbeitsplatz, Isolator oder Reinraum erfolgen.

Ein weiterer Vorteil der erfindungsgemässen Durchflusszelle ist die Möglichkeit, jenes Element der Apparatur, das mit der beschallten fliessfähigen Zusammensetzung in Kontakt
25 steht, nämlich das durchströmte Rohr (Durchflusszelle), nach erfolgter Beschallung auszu-tauschen. Eine gegebenenfalls der Validierung bedürftige Reinigung des Rohres beim Wechsel von einem Produkt bzw. einer Charge zur nächsten sowie eine Kontrolle auf möglichen Verschleiss
30 kann damit vermieden werden. In Abhängigkeit von dem für das Rohr verwendeten Material ist dieser Austausch mit nur geringen Kosten verbunden, die jene der Reinigung und Reinigungsvalidierung unterschreiten.

Weitere Vorteile bietet die erfindungsgemässe Durchflusszelle dadurch, dass die Temperatur des mit Ultraschall behandelten Produktes mit Hilfe einer Temperierung des den Druckmantel der Zelle durchströmenden Mediums kontrolliert werden kann. Sowohl eine Erwärmung als auch eine Kühlung des beschallten Produktes ist somit möglich. Je nach Anwendungszweck kommen dabei Temperaturen von -80 bis 200 °C in Betracht.

Im Zusammenhang mit der Durchführung von sonochemischen Reaktionen kann dieses genutzt werden, um das Reaktionsgemisch auf eine für die durchzuführende Reaktion günstige Temperatur zu erwärmen oder um durch eine exotherme Reaktion erzeugte Wärme abzuführen. Weiterhin kann über die Temperatur Einfluss auf Eigenschaften des beschallten Gutes genommen werden. So können beispielsweise Substanzen geschmolzen oder in geschmolzenem Zustand erhalten, die Festigkeit von zu zerteilenden Feststoffen beeinflusst oder thermolabile Substanzen bei Temperaturen unterhalb der Raumtemperatur beschallt werden. Auch kann durch Dissipation von Schallenergie im beschallten Gut erzeugte Wärme abgeführt werden.

Zweckmäßige Ausführungsformen der Erfindung sind in Unteransprüchen beschrieben.

Die Erfindung wird nachfolgend in mehreren Ausführungsbeispielen der Beschallung einer fliessfähigen Zusammensetzung mit Ultraschall in einer Durchflusszelle nach der Erfindung näher erläutert. In der zugehörigen zeichnung zeigen:

Fig. 1 : die schematische Schnittdarstellung der Anordnung zur kontinuierlichen Beschallung einer fliessfähigen Zusammensetzung (Durchflusszelle),

Fig. 2 : die schematische Darstellung des
Verfahrensablaufs am Beispiel der
Herstellung einer Dispersion aus
Flüssigkeiten, Feststoffen, Gasen,
wobei die Rohdispersion im Zuge der
Förderung in die Durchflusszelle
erzeugt wird und

Fig. 3 : die schematische Darstellung des
Verfahrensablaufs am Beispiel der
Herstellung einer Dispersion aus
Flüssigkeiten, Feststoffen, Gasen durch
Vorgeschaltete Erzeugung der Rohdis-
persion vor der Durchflusszelle.

Die Durchflusszelle 4 zur kontinuierlichen Beschallung
eines kleinen Flüssigkeitsvolumens besteht entsprechend der
Darstellung in der Figur 1 im wesentlichen aus einem Rohr
10, in dem ein bevorzugterweise nicht-metallisches Rohr 50
(Durchflusstrecke, Durchflusszelle) mit einer darin
durchfließenden, zu beschallenden fließfähigen Zusammen-
setzung 80 (Arbeitsflüssigkeit) über Abdichtungen 40 vom
Rohr 10 beabstandet angeordnet ist.

Mit dem Rohr 10 ist zur Ultraschallanregung eine
Ultraschallquelle 60 verbunden. Mit dem Raum zwischen dem
Rohr 10 und der Durchflusszelle 50 sind ein
Flüssigkeitszulauf 30 und ein Flüssigkeitsablauf 70
verbunden, welche durch Endmassen 20 geführt sind.

Das Rohr 10 wird durch den Ultraschallwandler 60 in
Schwingungen versetzt, die über eine Flüssigkeit 90, zum
Beispiel Wasser, auf die Durchflusszelle 50 übertragen
werden. Die Flüssigkeit 90 steht unter Druck, zum Beispiel
4 bis 10 bar, um eine Kavitation der Flüssigkeit 90 und den

frühen Verschleiß der Sonotrode des Ultraschallwandlers 60 und des Rohrs 10 zu verhindern. Gleichzeitig kann die Flüssigkeit 90 die Temperierung des Systems übernehmen.

Die Durchflusszelle 50 schwingt mit der Flüssigkeit 90 und überträgt die Schwingungen auf die in ihr befindliche Arbeitsflüssigkeit 80.

Die Endmassen 20 dienen der schwingungstechnischen Entkopplung der Abdichtungen 40 und der Anschlüsse 30 und 70 für die Flüssigkeit 90.

Ein Wechsel der Durchflusszelle 50 erfolgt sehr einfach im ausgeschalteten Zustand des Gerätes im drucklosen Kühlkreislauf durch Lösen von nicht dargestellten Klemmungen im Bereich der Abdichtungen 40.

Zur Übertragung der Schallenergie von der Sonotrode auf die mit der Arbeitsflüssigkeit 80 durchströmte Durchflusszelle 50 kommen bevorzugt folgende Flüssigkeiten in Frage: Wasser, insbesondere destilliertes und deionisiertes, gegebenenfalls mit Zusätzen zur Änderung der kolligativen Eigenschaften (Siedepunktserhöhung, Gefrierpunktssenkung); mineralische und natürliche Öle sowie Mischungen derselben; Silikonöle und Silikonöl-Mischungen, schwerflüchtige Flüssigkeiten aromatischer oder nicht-aromatischer Natur und Mischungen derselben; Quecksilber.

Als Werkstoffe für die von der zu beschallenden Arbeitsflüssigkeit 80 durchströmte Durchflusszelle 50 kommen bevorzugt folgende Materialien in Frage: Glas, zum Beispiel Glasart I, II oder III gemäss Europ. Arzneibuch, 1997; harte, abriebsfeste Kunststoffe, zum Beispiel Polycarbonat, PVC, Polyurethane, Polyamide, Polyester, jedoch auch Teflon, Polystyrol, Polyolefine; keramische Werkstoffe, Metalle und Hartmetalle (wenn eine Kontamination mit Metallpartikeln und/oder -ionen unkritisch ist).

Zur Übertragung der Schallenergie von der Sonotrode auf die mit der Arbeitsflüssigkeit 80 durchströmte Durchflusszelle 50 und Temperierung der beschallten Arbeitsflüssigkeit 80 wird die übertragende Flüssigkeit 90 erfindungsgemäss vorteilhaft unter Drücke von 2 bis 20 bar, bevorzugt 4 bis 10 bar gesetzt; dieses bei Flussraten von 0 bis 600 l/h, bevorzugt 0 bis 100 l/h und Temperaturen der Flüssigkeit von -80 bis 200 °C.

Das erfindungsgemässe Verfahren besteht darin, dass die fließfähige Zusammensetzung (Arbeitsflüssigkeit) durch die erfindungsgemässe Ultraschalldurchflusszelle 4 nach Fig. 1 hindurchgeführt wird, wobei Schallenergie der Ultraschalldurchflusszelle 4 in die Arbeitsflüssigkeit 80 eingetragen und diese dadurch in gewünschter Weise verändert wird.

Das Verfahren besteht gemäß den Darstellungen in den Fig. 2 und 3 im wesentlichen aus drei Prozessschritten:

- (1) Dosieren und/oder Vormischen der Komponenten der fließfähigen Zusammensetzung (Arbeitsflüssigkeit);
- (2) Fördern durch und gleichzeitiges Beschallen der Arbeitsflüssigkeit in der erfindungsgemässen Ultraschalldurchflusszelle;
- (3) Einleiten der beschallten Arbeitsflüssigkeit in ein Auffang- oder Prozessgefäss bzw. Weiterleiten zu einem nachgeschalteten weiteren Verarbeitungsprozess.

Erfindungswesentlich ist dabei, dass die Arbeitsflüssigkeit während der drei Prozessschritte von Umgebungseinflüssen isoliert werden kann und nicht in direkten Kontakt mit der Sonotrode kommt. Deshalb kann das Verfahren unter Ausschluss von mikrobieller oder nicht-mikrobieller Kontamination sowie zudem unter streng definierten Temperaturbedingungen durchgeführt werden.

Daraus ergeben sich Vorteile zur Behandlung fließfähiger Zusammensetzungen in den Bereichen der Pharmatechnologie, Lebensmitteltechnologie, Biotechnologie, Zellbiologie, Kosmetik, Elektronik und Elektrotechnik.

5

Ganz generell eignet sich das Verfahren zur Ultrabeschallung von einer oder mehreren nicht-mischbaren, teilweise mischbaren oder vollständig mischbaren Flüssigkeiten, sowie zur Manipulation von einer oder mehreren Flüssigkeiten und darin unlöslichen, teilweise löslichen oder vollständig löslichen Gasen oder Feststoffen.

Das Verfahren eignet sich insbesondere zur kontinuierlichen, berührungs- und kontaminationsfreien Beschallung fließfähiger Zusammensetzungen zum Zwecke von Mischung, Emulgierung, Homogenisierung, Zerkleinerung, Suspendierung oder Emulgierung von Flüssigkeiten, Feststoffen und Gasen in einer förderbaren Flüssigkeit, zum Zell- und Organenaufschluss, zu Desaggregation, Entgasung, Durchführung und Steuerung von chemischen Reaktionen, zur Kontrolle von Kristallbildung, zur Herstellung von Liposomen, Mizellen, Nano- und Mikroemulsionen, Nanopartikeln, Nanokapseln, Mikrosphären und Mikrokapseln und dergleichen.

Zum Dosieren der Komponenten der fließfähigen Zusammensetzung (Prozess-Schritt 1) werden die verschiedenen Komponenten der fließfähigen Zusammensetzung beispielsweise mittels geeigneter Pumpen, Gasflaschen, Gasförder- und Gasflussmesssysteme, sowie Pulverförder- und Pulverdosiersysteme oder auch manuell in ein geeignetes, bevorzugt hermetisch abschliessbares, steriles Gefäß, Rohr oder einen Schlauch eingebracht.

Die Komponenten werden dann in einem bevorzugt nach aussen abgeschlossenen System vorgemischt, was entweder in einem vorgelagerten Schritt vor der Förderung der fliessfähigen Zusammensetzung in die Durchflusszelle oder im Zuge der Förderung geschehen kann. Eine Vormischung im Zuge der Förderung der fliessfähigen Zusammensetzung kann beispielsweise mittels einfachen Geräten wie T-Stück, geeigneten Mischventilen, Fritten, Membranen, bewegter oder statischer Mischer erzielt werden.

Wichtig ist, dass bereits das Vormischen der Komponenten in einem sterilisierbaren Gerät oder Gefäss kontaminationsfrei und von Umwelteinflüssen hermetisch abgeschirmt erfolgt.

Das Fördern durch und gleichzeitige Beschallen der fliessfähigen Zusammensetzung in der erfindungsgemässen Durchflusszelle der (Prozess-Schritt 2) ist der zentrale Schritt dieser Erfindung.

Das Fördern der fliessfähigen Zusammensetzung kann entweder vor oder nach dem Vormischen der Komponenten (Prozess-Schritt 1) mittels geeigneter Fördereinrichtungen wie Pumpen oder Überdruckeinrichtungen erfolgen, wobei die Pumpen oder Überdruckeinrichtungen sterilisierbar sein und kontaminationsfrei arbeiten müssen. Der Volumenstrom der fliessfähigen Zusammensetzung durch die Durchflusszelle wird so gesteuert, dass die fliessfähige Zusammensetzung während eines gewünschten Zeitintervalls im Rohr ultrabeschallt werden kann. Dieses Zeitintervall der Beschallung kann je nach Anwendungszweck zwischen 0,1 Sekunden und 12 Stunden liegen, wobei die bevorzugte Beschallungsdauer zwischen 1 Sekunde und 1 Stunde liegt. Über die Schwingungsamplitude der Sonotrode und deren

Frequenz kann die in die beschallte fliessfähige Zusammensetzung eingetragene Leistung kontrolliert werden. Je nach Anwendungszweck kann der Leistungseintrag zwischen 1 W und 1 kW variiert werden, wobei der Leistungseintrag
5 bevorzugterweise zwischen 2 und 400 W liegt. Als Schallfrequenzen kommen 16 bis 150 kHz, bevorzugt 20 bis 100 kHz, in Frage.

Die Verweilzeit und der Leistungseintrag in die mit
10 Ultraschall behandelte fliessfähige Zusammensetzung bestimmen zusammen die eingetragene Schallenergie, über welche zusammen mit der Frequenz Einfluss auf den Effekt der Beschallung genommen werden kann.

15 So ist es beispielsweise möglich, den Mittelwert und die Breite der Tröpfchengrössenverteilung bei der Erzeugung von Emulsionen zu beeinflussen.

Bei der Zerkleinerung von Feststoffen in einer Flüssigkeit kann in gleicher Weise die erzeugte Korngrösse des
20 Feststoffs kontrolliert werden.

Auch besteht die Möglichkeit, beim Aufschluss biologischen Materials den Grad des Aufschlusses zu beeinflussen, um beispielsweise Zellverbände in einzelne Zellen zu
25 zertrennen oder diese zudem aufzuschliessen.

Grosse Bedeutung für den Beschallungseffekt auf die fliessfähige Zusammensetzung haben nebst Beschallungszeit, Leistungseintrag und Schallfrequenz auch die Materialart, die Geometrie sowie die Oberflächeneigenschaften der mit
30 der fliessfähigen Zusammensetzung in Berührung kommenden Durchflusszelle, wie dies weiter oben unter der Beschreibung der Einrichtung ausgeführt wurde.

Als Material für diese Durchflusszelle kann vorzugsweise ein Nichtmetall, besonders bevorzugt Glas oder ein harter Kunststoff, gewählt werden, um einen Eintrag von Metallpartikeln in die zu beschallende fließsfähige
5 Zusammensetzung zu vermeiden.

Weiterhin können durch geeignete Materialwahl und/oder Oberflächenbehandlung der Durchflusszelle unerwünschte Interaktionen zwischen Bestandteilen der fließsfähigen Zusammensetzung und dem Material der Durchflusszelle
10 vermieden werden.

Beispiele für unerwünschte Interaktionen sind Adsorption von Komponenten der fließsfähigen Zusammensetzung an die Durchflusszelle, Desorption von Materialkomponenten der Durchflusszelle (Metallspuren, Kunststoffadditive),
15 Reaktion von Komponenten der fließsfähigen Zusammensetzung mit dem Material der Durchflusszelle oder desorbierten Komponenten derselben, katalytische Reaktionen durch das Material der Durchflusszelle oder desorbierte Durchflusszellenkomponenten in der fließsfähigen
20 Zusammensetzung, sowie physikalisch-chemische Vorgänge an der Grenzfläche zwischen der fließsfähigen Zusammensetzung und der Durchflusszelle.

Durch die Wahl des Materials für die Durchflusszelle oder durch Modifikation von deren Oberfläche kann zudem die
25 Grenzflächenspannung zwischen der Durchflusszelle und der beschallten fließsfähigen Zusammensetzung oder Komponenten derselben beeinflusst werden.

Besteht die zu beschallende fließsfähige Zusammensetzung aus mehreren Komponenten, kann so die bevorzugte Benetzung
30 des Durchflusszelle durch eine oder mehrere dieser Komponenten verhindert werden, was einer Durchmischung der

verschiedenen Komponenten der fliessfähigen Zusammensetzung abträglich wäre.

Weiterhin kann durch die Geometrie der Durchflusszelle oder durch die Beschaffenheit der Innenfläche derselben die
5 Strömung durch die Durchflusszelle so verändert werden, dass ein laminares oder turbulentes Fliessen der fliessfähigen Zusammensetzung erzielt wird, was den Effekt der Beschallung verstärken oder abschwächen kann.

10 Auch hat die Geometrie der Durchflusszelle Einfluss auf die Effizienz der Schallübertragung auf die zu beschallende fliessfähige Zusammensetzung, beispielsweise durch die Wanddicke der Durchflusszelle.

15 Das Einleiten der beschallten fliessfähigen Zusammensetzung in ein Auffang- oder Prozessgefäss bzw. das Weiterleiten zu einem nachgeschalteten weiteren
Verarbeitungsprozess (Prozess-Schritt 3) geschieht erfindungsgemäss ebenfalls unter genau kontrollierten
20 Bedingungen und unter Ausschluss von möglichen Kontaminationen.

Als Auffanggefäss kann ein Einzelportionen- oder Mehrportionengefäss zur Zwischen- oder Endlagerung der
25 fliessfähigen Zusammensetzung verwendet werden. Ein Prozessgefäss bzw. eine Weiterleitung wird angewendet, wenn die fliessfähige Zusammensetzung aus dem erfindungsgemässen Verfahren in einem weiteren Verfahren weiterverarbeitet
wird, so wie dies beispielsweise bei der Herstellung von
30 Mikro- und Nanokapseln oder Mikro- oder Nanosphären geschieht.

Folgende Beispiele sollen die Anwendungsbreite der Erfindung unter Bezugnahme auf die schematischen Darstellungen in den Fig. 2 und 3 verdeutlichen.

5 Dabei zeigt die Fig. 2 den Verfahrensablauf am Beispiel der Herstellung einer Dispersion aus einer Flüssigkeit und wahlweise einer zweiten Flüssigkeit A, einem Feststoff B oder einem Gas C. Es wird eine Rohdispersion im Zuge der Förderung in die Ultraschalldurchflusszelle 4 erzeugt.

10

Die Fig. 3 veranschaulicht das erfindungsgemäße Verfahren am Beispiel der Herstellung einer Emulsion aus einer Flüssigkeit und wahlweise einer zweiten Flüssigkeit A, einem Feststoff B oder einem Gas C. Die Rohdispersion wird
15 hier jedoch vor der Förderung in die Ultraschall-durchflusszelle erzeugt.

In beiden Figuren ist die kontinuierliche flüssige Phase mit 1, die Zudosierung der dispersen Phase mit 2, ein
20 Mischer mit 3, die Zufuhr der Flüssigkeit zur Schallübertragung mit 30 (Fig. 1), ein Wärmetauscher mit 6, der Ablauf der Flüssigkeit zur Schallübertragung mit 70 (Fig. 1), eine grobdispersive fließfähige Zusammensetzung nach dem Verfahrensschritt 1 mit 8 und die nach dem
25 Verfahren behandelte fließfähige Zusammensetzung (Verfahrensschritt 2) mit 9 bezeichnet.

Beispiel 1

30 Herstellung einer Emulsion einer wässrigen Lösung eines Modellproteins in einer organischen Lösung eines bioabbaubaren Polymers als Vorstufe zur Weiterverarbeitung zu Mikrosphären als therapeutisches Delivery System.

Die Ultraschallzelle 4 wird mit einem Glasrohr 50 (Fig. 1) mit einem Innendurchmesser von 2 mm und einer Wandstärke von 0.5 mm ausgestattet.

- 5 Der Druck der Flüssigkeit 90 im Druckmantel 10 (Fig. 1) der erfindungsgemässen Ultraschalldurchflusszelle 4 beträgt 4,5 bis 5,5 bar, die Temperatur ca. 10 °C.

Eine 5% (w/w) Lösung des Polymers Poly(Milch-co-Glykolsäure) in Dichlormethan (DCM) und eine 10% (w/w) Lösung des Proteins Rinderserum Albumin (BSA) in einem Phosphatpuffer vom pH = 7.4 werden mittels zweier nicht dargestellter Spritzenpumpen und über ein T-Stück in das Glasrohr 50 der Ultraschallzelle 4 gefördert. Die Flussraten betragen 2 ml/h für die BSA-Lösung und 40 ml/h für die Polymerlösung. Die Amplitude des Schallgebers der Ultraschallzelle 4 wird im Bereich von 40% bis 80% der Maximalamplitude variiert. Die erzeugten W/O Emulsionen werden aufgefangen und mittels Laserlichtstreuung (Malvern Mastersizer X, 100 mm-Linse, Mie-Beugung) bezüglich ihrer Tröpfchengrösse analysiert. Man erhält reproduzierbar stabile Emulsionen mit einer mittleren Tröpfchengrösse (Volumenverteilung) im Bereich von 1.37 bis 0.62 Micrometer (Fig. 4, Tabelle 1), die sich mit steigender Amplitude stetig verringert. Die bei hohen Amplituden hergestellten Emulsionen weisen eine sehr enge Tröpfchengrössenverteilung auf. Die erzeugten Emulsionen sind in einem Zeitraum >30 Minuten stabil und erfüllen damit eine Grundvoraussetzung zur Weiterverarbeitung zu Mikrosphären.

- 30 **Tabelle 1:** Mittlere Tropfengrösse von Emulsionen, die wie in Beispiel 1 bis 3 beschrieben, mittels des erfindungsgemässen Verfahrens erzeugt wurden.

Konzentr ation der Polymer- lösung	Lösungsm ittel des Polymers	Flussrat e der Polymerl ösung	Konzentr ation der Protein- lösung	Flussrat e der Proteinl ösung	Schall- amplitud e [% Maximal- amplitud e]	mittlere r Tropfend urchmess er [Microme ter]
[% (w/w)]		[ml/h]	[% (w/w)]	[ml/h]		
5	DCM	40	10	2	40	1.37
5	DCM	40	10	2	60	0.81
5	DCM	40	10	2	80	0.62
5	DCM	60	10	3	80	0.63
5	EF	40	5	2	40	0.90
5	EF	40	5	2	60	0.68
5	EF	40	5	2	80	0.89

Beispiel 2

Es wird wie in Beispiel 1 vorgegangen. Im Unterschied zu
 5 Beispiel 1 beträgt die Flussrate der Proteinlösung 3 ml/h,
 die der Polymerlösung 60 ml/h. Die Amplitude des
 Schallgebers beträgt 80% vom Maximum. Man erhält eine
 stabile Emulsion, die gegenüber Beispiel 1 eine nur
 minimale Vergrößerung der mittleren Tropfengröße aufweist
 10 (Tabelle 1).

Beispiel 3

Es wird wie in Beispiel 1 vorgegangen. Im Unterschied zu
 15 Beispiel 1 wird anstelle des Lösungsmittels Dichlormethan
 wird das weniger toxische Ethylformiat (EF) als

Lösungsmittel für das Polymer verwendet. Die Konzentration des Modellproteins BSA in der Pufferlösung beträgt 5% (w/w); die Flussraten betragen 2 ml/h für die Protein- und 40 ml/h für die Polymerlösung. Die Amplitude des Schallgebers wird im Bereich von 40% bis 80% der Maximalamplitude variiert. Man erhält reproduzierbar stabile Emulsionen mit einer mittleren Tröpfchengröße (Volumenverteilung) im Bereich von 0.90 bis 0.68 Micrometer (Tabelle 1). Bei einer Amplitude von 60% wird ein Minimum der mittleren Tröpfchengröße gefunden. Die Emulsionen weisen eine enge Tropfengrößenverteilung auf und sind in einem Zeitraum von >30 Minuten stabil.

Beispiel 4

Es wird wie in Beispiel 3 vorgegangen. Die Konzentration des Modellproteins BSA in der Pufferlösung beträgt 10% (w/w). Die Lösungen von Polymer und BSA werden über 0.2 Mikrometer Filter sterilfiltriert. Das Glasrohr 50 der Ultraschalldurchflusszelle 4, sämtliches Schlauchmaterial, sowie das T-Stück werden autoklaviert, die Pumpen und die Ultraschalldurchflusszelle 4 in einem Laminar-Flow-Arbeitsplatz installiert und durch Besprühen mit einer ethanolischen Lösung desinfiziert. In den Pumpen werden sterile Einmalspritzen installiert. Der Zusammenbau der Versuchsapparatur erfolgt im Laminar-Flow-Arbeitsplatz. Nach erfolgtem Zusammenbau wird die Apparatur nochmals mit einer ethanolischen Lösung gespült. Es werden wie unter Beispiel 3 beschrieben bei einer Amplitude von 80% der Maximalamplitude Emulsionen hergestellt. Die erzeugten Emulsionen werden mit sterilem Ethylformiat verdünnt und sofort im Verhältnis 1:10 mit CASO Bouillon gemischt und über Nacht inkubiert. Am folgenden Tag wird die Bouillon über Kartuschen des Testsystems Millipore® 100 filtriert

und diese mit TSB (tryptic soy broth) Medium befüllt. Gemäss Europäischem Arzneibuch wird eine Hälfte der Kartuschen 14 Tage bei 30-35 °C zur Kontrolle auf Bakterienwachstum, die andere Hälfte 14 Tage bei 20-25 °C zur Kontrolle auf Pilzwachstum inkubiert. Es konnte keine Kontamination festgestellt werden.

Beispiel 5

Parenterale Öl-in-Wasser (O/W) - Fettemulsion bestehend aus Soyaöl, einem Emulgator, einem Isotonisierungszusatz und Wasser.

Die erfindungsgemässe Ultraschalldurchflusszelle 4 wird mit einem sterilen Glasrohr 50 mit einem Innendurchmesser von 4 mm und einer Wandstärke von 0.5 mm ausgestattet. Der Wasserdruck im Mantel 10 der Ultraschallzelle 4 beträgt 5 bar, die Temperatur 40 °C. Eine Mischung aus 12,0 g Eilecithin, 22,0 g Glycerin und 866,0 g Wasser wird in einer autoklavierbaren Glasflasche unter Handschütteln vordispersiert und danach gemäss Europäischem Arzneibuch 1997 autoklaviert. Parallel dazu wird 100 g Soyaöl ebenfalls in einer Glasflasche autoklaviert. Nach Abkühlung werden die beiden Flüssigkeiten in einem Massenstromverhältnis von 10:1 (Wasserphase : Ölphase) mittels Schlauchpumpen und sterilen Schläuchen in einem autoklavierten statischen Mikromischer vorgemischt und danach durch die Ultraschalldurchflusszelle 4 gefördert und mit 80% der Maximalamplitude beschallt. Die Fördergeschwindigkeit beträgt 12 ml/min, was zu einer Beschallungsdauer von ca. 15 Sekunden je Volumeneinheit Emulsion führt. Die feindisperse O/W-Emulsion wird unter aseptischen Bedingungen direkt in vier sterile Glasflaschen zu 250 ml für die Lagerung und den Endgebrauch als parenterale Fettemulsion gefüllt. Die mittels

Laserlichtstreuung (Malvern Mastersizer X, 45 mm-Linse, Mie-Beugung) ermittelte mittlere Tröpfchengröße (Volumenverteilung) der hergestellten Emulsion liegt bei 405 nm und entspricht der Tröpfchengröße handelsüblicher Produkte.

Beispiel 6

Zellaufschluss.

Die Ultraschalldurchflusszelle 4 wird mit einem sterilen Glasrohr 50 mit einem Innendurchmesser von 4 mm und einer Wandstärke von 0.5 mm ausgestattet. Der Wasserdruck im Mantel 10 der Ultraschalldurchflusszelle 4 beträgt 5 bar, die Temperatur 4 °C. Eine Portion von 5 g steril entnommener und grob zerkleinerter Teile einer Rindsleber wird in 100 ml sterilem Citratpuffer pH 6.5 suspendiert und mittels Vortex gut durchmischt. Diese Suspension von Zellklumpen wird unter aseptischen Verfahrensbedingungen durch die Ultraschalldurchflusszelle 4 gefördert und mit 90% der Maximalamplitude beschallt. Die Fördergeschwindigkeit beträgt 1,2 ml/min, was zu einer Beschallungsdauer von ca. 150 Sekunden je Volumeneinheit Zellsuspension führt. Die beschallte Zellsuspension wird dann in eine Glasflasche überführt und analysiert. Die beschallte Zellsuspension präsentiert sich als dicke Suppe, das sogenannte Homogenisat. Die Güte des Aufschlusses wird anhand der Glutamat-Dehydrogenase-Aktivität mit dem Substrat 2-Oxoglutarat und dem Aktivator ADP gemessen. Als Referenz wird eine handelsübliche Glutamat-Dehydrogenase mit 120 U/mg Enzym-Protein verwendet. Die gemessene Dehydrogenaseaktivität der Zellprobe, die nach dem erfindungsgemässen Verfahren aufgeschlossen wurde, lag um durchschnittlich 8-10% oberhalb des Wertes, der nach klassischem Aufschluss mittels Detergens oder Vermörserung in einem Glaskolben erzielt wurde.

Beispiel 7

Liposomenherstellung.

5 Die Ultraschalldurchflusszelle 4 wird mit einem sterilen Glasrohr 50 mit einem Innendurchmesser von 2 mm und einer Wandstärke von 0.5 mm ausgestattet. Der Wasserdruck im Mantel der Ultraschalldurchflusszelle 4 beträgt 5 bar, die Temperatur 8 °C. Eine Mischung aus 156 mg Sojalecithin (0,2
10 mmol) und 39 mg (0,1 mmol) Cholesterol werden in 30 ml Dichlormethan : Methanol (9:1, v/v) in einem 500 ml Rundkolben gelöst. Das Lösungsmittel wird im rotierenden Rundkolben langsam abgezogen, so dass an der Kolbenwand ein einheitlicher dünner Lipidfilm entsteht, der unter Vakuum
15 bei Raumtemperatur endgetrocknet wird. Der Film wird dann mit 10 ml einer 100 mM NaCl-Lösung unter Schwenken hydratisiert, wobei ein trübe Dispersion von grossen multilamellaren Vesikeln (MLV) entsteht. Die MLV werden nun durch die erfindungsgemässe Ultraschalldurchflusszelle
20 gefördert und mit 95% der Maximalamplitude beschallt. Die Fördergeschwindigkeit beträgt 1,2 ml/min, was zu einer Beschallungsdauer von ca. 40 Sekunden je Volumeneinheit MLV-Zubereitung führt. Die beschallte MLV-Zubereitung wird durch die Ultraschallung in kleine unilamellare Lipsomen
25 (sogenannte SUV, small unilamellar vesicles) zerkleinert. Die Liposomen-Zubereitung wird durch einen am Ende des Glasrohres installierten Celluloseacetat-Membranfilter mit einer Porengrösse von 0,2 μ m geführt, um die Liposomen-Zubereitung steril zu filtrieren. Schliesslich wird die
30 Zubereitung unter aseptischen Bedingungen direkt in sterile Glasfläschchen gefüllt.

Die Liposomen-Zubereitung erscheint bläulich-opaleszent, was bereits optisch auf kleine Liposomen hinweist. Die durchschnittliche Liposomengrösse wurde mittels Laserlichtstreuung bestimmt und betrug 220 nm.

Bezugszeichenliste

5	10	Druckmantel (Rohr)
	20	Endmasse
	30	Flüssigkeitszulauf
	40	Abdichtung
	50	Durchflusszelle in Form eines Rohres
10	60	Ultraschallwandler
	70	Flüssigkeitsablauf
	80	Fliessfähige Zusammensetzung (Arbeitsflüssigkeit)
	90	Druckübertragende und gegebenenfalls thermostatisierende Flüssigkeit
15		
	1	kontinuierliche fliessfähige Phase
	2	Zudosierung der dispersen Phase
	3	Mischer
20	4	Durchflusszelle
	5	
	6	Wärmetauscher
	7	
	8	grobdisperse fliessfähige Zusammensetzung
25	9	beschallte fliessfähige Zusammensetzung

Patentansprüche

1. Verfahren zur kontinuierlichen Bearbeitung von
fließfähigen Zusammensetzungen (Arbeitsflüssigkeit)
5 in einer Durchflusszelle mittels Ultraschall,
umfassend
(a) das Vormischen der Komponenten der fließfähigen
Zusammensetzung,
(b) das Durchleiten und gleichzeitige Beschallen der
10 fließfähigen Zusammensetzung durch die Durchflusszelle
und
(c) das Einleiten der beschallten Arbeitsflüssigkeit
in ein Auffang- oder Prozessgefäß,
dadurch gekennzeichnet, dass
15 die Arbeitsflüssigkeit in der Durchflusszelle (4) über
eine unter erhöhten Druck gesetzte Flüssigkeit (90)
indirekt mit Ultraschall beschallt wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass
20 die Arbeitsflüssigkeit (80) während der Beschallung
zwischen - 80 °C und + 200 °C thermostatisiert wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet,
dass die Arbeitsflüssigkeit (80) während der Beschallung
und während der Phasen Vormischen und Einleiten in ein
25 Auffang- oder Prozessgefäß von Umgebungseinflüssen
isoliert wird.
4. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet,
dass die Arbeitsflüssigkeit (80) eine oder mehrere
mischbare, teilweise mischbare oder nicht-mischbare
30 Flüssigkeiten und/oder ein oder mehrere lösliche,
teilweise lösliche oder nicht-lösliche Gase und/oder
Feststoffe enthält.

5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Vormischen der Komponenten der Arbeitsflüssigkeit in einem geschlossenen System, das aus einem einfachen T-Stück, einer Fritte, einer Membran, einem Mischventil oder einem bewegten oder statischen Mischer besteht, welches mit der Durchflusszelle dicht verbunden ist, vorgenommen wird.
6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Arbeitsflüssigkeit in der Durchflusszelle (4) mit einer Verweildauer von 0,1 Sekunden bis 12 Stunden geführt und der Schallenergieeintrag zwischen 1 und 1000 W gewählt wird, bei einer Schallfrequenz von 16 bis 150 kHz.
7. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass eine weitere Beschallung der beschallten Arbeitsflüssigkeit (80) vorgenommen wird.
8. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Arbeitsflüssigkeit unter aseptischen (keimfreien) Bedingungen durch die Durchflusszelle (4) geführt wird.
9. Anwendung des Verfahrens nach den Ansprüchen 1 bis 8 zur Erzeugung einer Flüssigkeitsmischung, zur Erzeugung einer Wasser-in-Öl (W/O) Emulsion, Öl-in-Wasser (O/W) Emulsion, W/O/W oder O/W/O Doppelemulsion, einer Mikro- oder Nanoemulsion, einer Suspension, eines mizellaren Systems, oder einer Lipsomenzubereitung.
10. Anwendung des Verfahrens nach den Ansprüchen 1 bis 8 zur Zerkleinerung oder Desaggregation von Feststoffpartikeln in einer flüssigen Zusammensetzung, zum Aufschluss von pflanzlichen oder tierischen Zellen, zur Homogenisation und zum Aufschluss von pflanzlichen und

tierischen Geweben, und zum Aufschluss von Parasiten, Bakterien und Viren.

11. Anwendung des Verfahrens nach Ansprüchen 1 bis 8 zur Kontrolle von Kristallisationsprozessen (Sonokristallisation).
5
12. Anwendung des Verfahrens nach den Ansprüchen 1 bis 8 zur Katalyse oder Beschleunigung von chemischen Reaktionen.
13. Anwendung des Verfahrens nach den Ansprüchen 1 bis 8 in Prozessen zur Herstellung von Mikro- und Nanosphären und von Mikro- und Nanokapseln.
10
14. Anwendung des Verfahrens nach den Ansprüchen 1 bis 8 zur Entgasung oder Begasung von flüssigen Zusammensetzungen.
15
15. Durchflusszelle zur kontinuierlichen Bearbeitung von fließfähigen Zusammensetzungen (Arbeitsflüssigkeit) mittels Ultraschall, enthaltend eine Durchflussstrecke, **dadurch gekennzeichnet**, dass die von der Arbeitsflüssigkeit (80) durchströmte Durchflussstrecke (50) von einem Druckmantel (10) umgeben ist, an den ein Ultraschallwandler (60) zur Schwingungsanregung angeschlossen ist, wobei zwischen einer Außenwandung der Durchflussstrecke (50) und dem Druckmantel (10) zur Vermeidung von Kavitation eine unter erhöhtem Druck stehende Flüssigkeit (90) fließt.
20
25
16. Durchflusszelle nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass die Durchflusszelle aus einem Rohr (50) für die Arbeitsflüssigkeit (80) gebildet ist, welches in einem von der unter erhöhtem Druck stehende Flüssigkeit (90) durchströmten Rohr (10) über Dichtungen (40) von
30

der Rohrrinnenwandung beabstandet angeordnet ist, welches mit dem Ultraschallwandler (60) zur Schwingungsanregung verbunden ist.

17. Durchflusszelle nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass an das Rohr (10) zur Schwingungsentkopplung Endmassen (20) angeordnet sind.
18. Durchflusszelle nach den Ansprüchen 15 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass die Flüssigkeit (90) im Rohr (10) zur Temperierung benutzt wird.

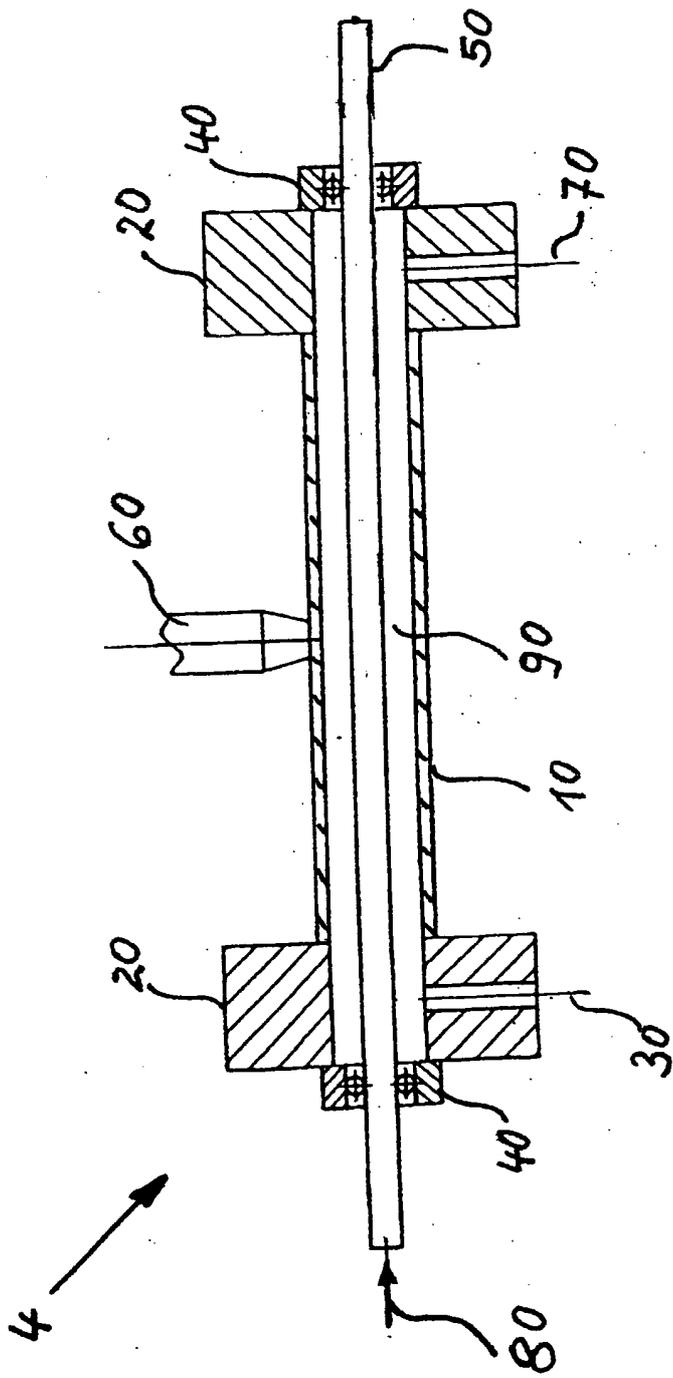


Fig. 1

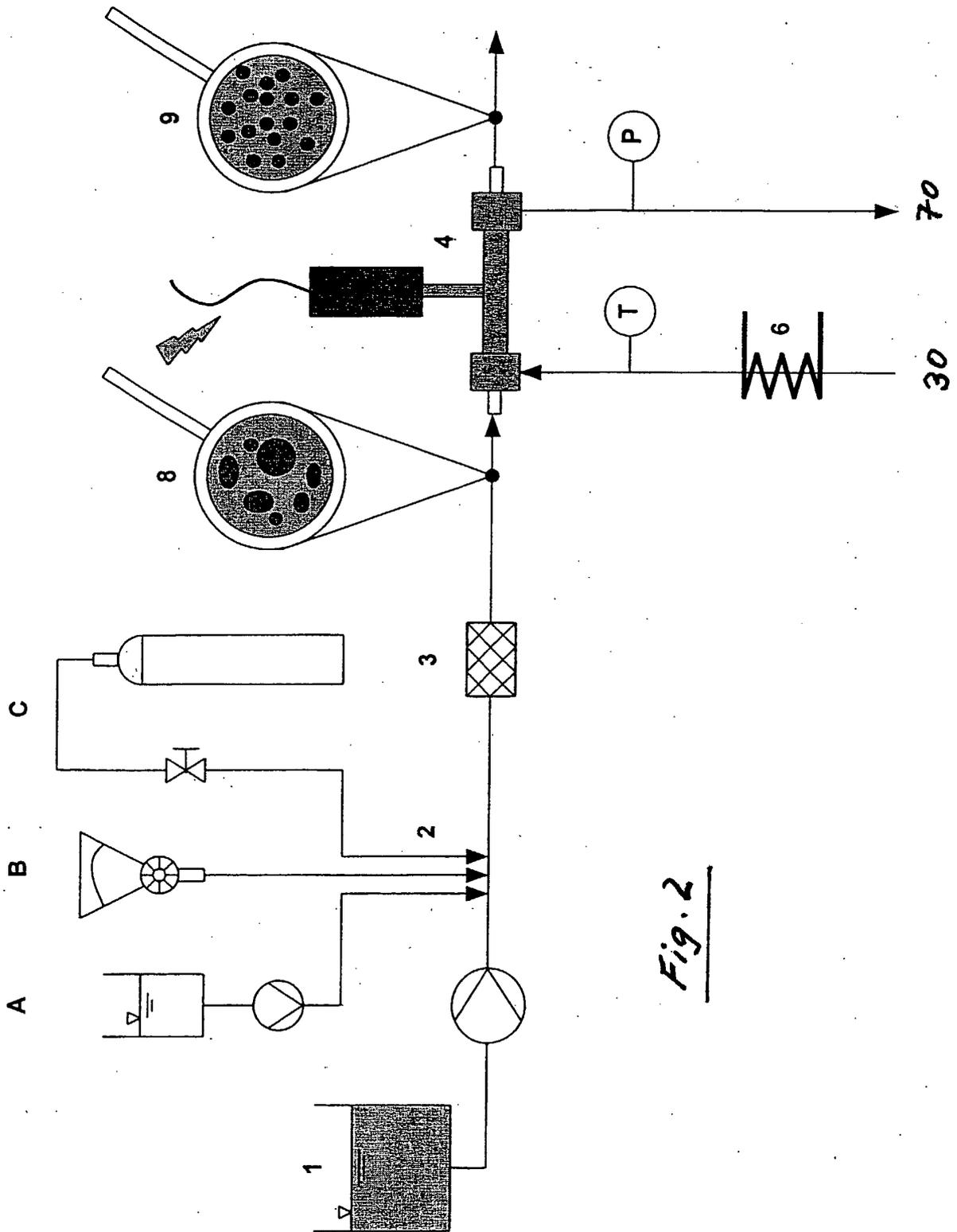


Fig. 2

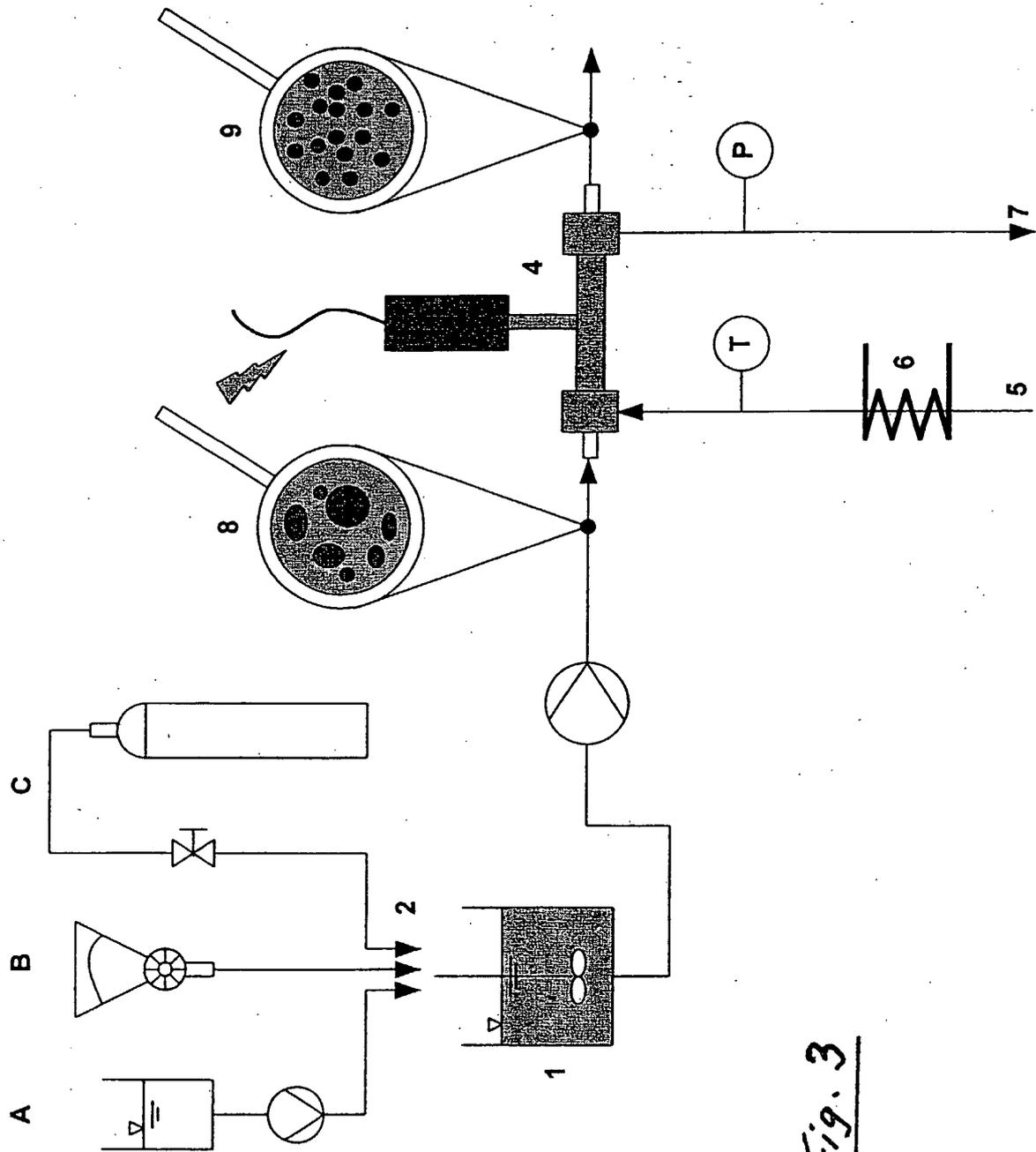


Fig. 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/10227

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 7 B01F11/02 B01J19/10 B01J19/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
 Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 IPC 7 B01F B01J

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
 EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 10 63 123 B (SIEMENS AG) 13 August 1959 (1959-08-13)	1-4,6,7, 9-11,15, 16,18
Y	column 1, line 1 - line 6	14
A	column 1, line 49 -column 3, line 28 figure	5,8,12, 13,17

X	DE 948 820 C (SIEMENS AG) 6 September 1956 (1956-09-06)	1-4,9, 15,16,18
Y	page 1, line 1 - line 6	14
A	page 2, line 61 - line 88 figure 4	5-8, 10-13,17

	-/--	

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
E earlier document but published on or after the international filing date	*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	* & * document member of the same patent family
P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 17 February 2004	Date of mailing of the international search report 23/02/2004
--	---

Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Real Cabrera, R
--	--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 03/10227

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GB 2 056 292 A (FUJI PHOTO FILM CO LTD) 18 March 1981 (1981-03-18) page 1, line 3 - line 5 page 1, line 62 -page 2, line 7 page 2, line 29 - line 57	14
A	figure 2	1-13, 15-17

A	US 6 438 998 B1 (KIM DONG-JOON ET AL) 27 August 2002 (2002-08-27) column 1, line 45 - line 53 column 2, line 13 - line 61 column 5, line 40 - line 46 column 5, line 54 - line 64 column 6, line 25 - line 31 column 6, line 47 - line 65 figure 5	1-17

A	US 2 407 462 A (OLDROYD WHITELEY EDWARD) 10 September 1946 (1946-09-10) column 2, line 31 - line 36 column 3, line 11 - line 22 figure 2	1-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 03/10227

Patent document cited in search report	Publication date	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 1063123	B	13-08-1959	NONE	
DE 948820	C	06-09-1956	NONE	
GB 2056292	A	18-03-1981	NONE	
US 6438998	B1	27-08-2002	KR 2001019932 A CN 1286227 A JP 2001106538 A	15-03-2001 07-03-2001 17-04-2001
US 2407462	A	10-09-1946	NONE	

INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Internationaler Aktenzeichen

PCT/EP 03/10227

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 7 B01F11/02 B01J19/10 B01J19/00		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RESEARCHIERTE GEBIETE Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 B01F B01J		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, WPI Data, PAJ		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DE 10 63 123 B (SIEMENS AG) 13. August 1959 (1959-08-13)	1-4, 6, 7, 9-11, 15, 16, 18
Y	Spalte 1, Zeile 1 - Zeile 6	14
A	Spalte 1, Zeile 49 - Spalte 3, Zeile 28 Abbildung	5, 8, 12, 13, 17

X	DE 948 820 C (SIEMENS AG) 6. September 1956 (1956-09-06)	1-4, 9, 15, 16, 18
Y	Seite 1, Zeile 1 - Zeile 6	14
A	Seite 2, Zeile 61 - Zeile 88 Abbildung 4	5-8, 10-13, 17

	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
17. Februar 2004		23/02/2004
Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Real Cabrera, R

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	GB 2 056 292 A (FUJI PHOTO FILM CO LTD) 18. März 1981 (1981-03-18) Seite 1, Zeile 3 - Zeile 5 Seite 1, Zeile 62 - Seite 2, Zeile 7 Seite 2, Zeile 29 - Zeile 57	14
A	Abbildung 2	1-13, 15-17

A	US 6 438 998 B1 (KIM DONG-JOON ET AL) 27. August 2002 (2002-08-27) Spalte 1, Zeile 45 - Zeile 53 Spalte 2, Zeile 13 - Zeile 61 Spalte 5, Zeile 40 - Zeile 46 Spalte 5, Zeile 54 - Zeile 64 Spalte 6, Zeile 25 - Zeile 31 Spalte 6, Zeile 47 - Zeile 65 Abbildung 5	1-17

A	US 2 407 462 A (OLDROYD WHITELEY EDWARD) 10. September 1946 (1946-09-10) Spalte 2, Zeile 31 - Zeile 36 Spalte 3, Zeile 11 - Zeile 22 Abbildung 2	1-17

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Patentzeichen

PCT/EP 03/10227

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 1063123	B	13-08-1959	KEINE
DE 948820	C	06-09-1956	KEINE
GB 2056292	A	18-03-1981	KEINE
US 6438998	B1	27-08-2002	KR 2001019932 A 15-03-2001 CN 1286227 A 07-03-2001 JP 2001106538 A 17-04-2001
US 2407462	A	10-09-1946	KEINE