



(19)
 Bundesrepublik Deutschland
 Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 10 2008 008 256 A1** 2009.04.09

(12)

Offenlegungsschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2008 008 256.2**

(22) Anmeldetag: **08.02.2008**

(43) Offenlegungstag: **09.04.2009**

(51) Int Cl.⁸: **B01J 19/24** (2006.01)

B01D 61/00 (2006.01)

C12M 1/18 (2006.01)

B01L 3/00 (2006.01)

(66) Innere Priorität:
10 2007 048 201.0 08.10.2007

(71) Anmelder:
m2p-labs GmbH, 52074 Aachen, DE

(74) Vertreter:
**Patentanwaltskanzlei Liermann-Castell, 52349
 Düren**

(72) Erfinder:
**Kensy, Frank, 52064 Aachen, DE; Müller, Carsten,
 52062 Aachen, DE; Büchs, Jochen, 52064 Aachen,
 DE; Funke, Matthias, 52074 Aachen, DE**

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht zu
 ziehende Druckschriften:

US 52 25 164 A
EP 19 44 080 A1
DE20 2006 004642 U1
DE11 2006 000361 T5
DE 697 33 366 T2
DE 603 09 962 T2
DE 201 21 739 U1
DE 101 59 091 A1
DE 101 17 275 B4
DE 699 13 978 T2
DE 602 15 377 T2
EP 15 08 373 A2
AT 5 00 167 B1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Rechercheantrag gemäß § 43 Abs. 1 Satz 1 PatG ist gestellt.

(54) Bezeichnung: **Mikroreaktor**

(57) Zusammenfassung: Ein Mikroreaktor mit mindestens einer Kavität, die einen Boden, eine Seitenwandung und eine dem Boden gegenüberliegende Öffnung aufweist, hat einen parallel zum Boden die Seitenwandung schneidenden Querschnitt, der eine von einer runden, quadratischen oder rechteckigen Form abweichende Form hat.

Anzahl Ecken	4	5	6	7	8	10	∞
Seitenlänge (mm)	10,59	8,07	6,57	5,56	4,82	3,82	0

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft einen Mikroreaktor mit mindestens einer Kavität, die einen Boden, eine Seitenwandung und eine dem Boden gegenüber liegende Öffnung aufweist.

[0002] Mittels herkömmlicher Mikroreaktoren-Arrays (sogenannte Mikrotiterplatten) lassen sich z. B. 6, 24, 48, 96, 384 oder mehr einzelnen Mikroreaktoren realisieren. So wie die Anzahl der Mikroreaktoren stark variiert, kann auch das Volumen der einzelnen Reaktoren unterschiedlich sein. Während schon bei Maßstäben unter 10 ml von Mikroreaktoren gesprochen wird, kann eine weitere Reduzierung des Volumens auf unter 1 ml, unter 500 μ l, unter 100 μ l oder gar unter 10 μ l stattfinden.

[0003] Ein Mikroreaktor dient als Reaktionsgefäß für biochemische, chemische oder enzymatische Reaktionen sowie mikrobielle Fermentationen. Ein Reaktor Array erlaubt die Untersuchung von Zellkulturen in hoher Parallelität bei geringem Arbeitsvolumen, hohem Informationsgewinn und der Möglichkeit zur vereinfachten Automatisierung. Derartige Arrays eignen sich insbesondere zur Automatisierung von Screening-Versuchen unter verbesserten Durchmischungs- und Stofftransferbedingungen und sie ermöglichen einen nach außen isolierten oder sterilen, aseptischen oder monoseptischen Betrieb.

[0004] In vielen Bereichen der Biologie, der Chemie, der Verfahrenstechnik, der Pharmazeutik und der Medizin ist ein Screening von biologischen Systemen notwendig (z. B. die Selektion von geeigneten biologischen Stämmen, Enzymen oder geeigneten Kulturmedien und -bedingungen). Dabei besteht ein Bedarf an hohen Probendurchsätzen (Parallelisierung der Versuche) und an einer Reduzierung der zum Teil teuren Ausgangsstoffe.

[0005] Mit den heute verwendeten Bioreaktoren, wie Schüttelkolben, Kleinf fermentern und Reagenzgläsern ist man nicht in der Lage, diesem Bedarf gerecht zu werden. Die etablierten Techniken werden den Anforderungen an die Automatisierung, die Kostenminimierung und dem benötigten hohen Durchsatz nicht gerecht. Gerade bei biokatalytischen Systemen ist der Bedarf an vielen parallelen Versuchen im Mikrolitermaßstab besonders hoch, da solche Prozesse im Allgemeinen langsamer ablaufen und gerade in der Entwicklungsphase teurer als vergleichbare chemische Prozesse sind. Daher besteht die Notwendigkeit, Mikrobioreaktoren zu entwickeln, die auf kleinstem Raum eine geeignete Umgebung für die biologische Kultivierung und für biokatalytische Reaktionen liefern.

[0006] Als wichtige Voraussetzungen für geeignete Betriebsbedingungen sind hierbei zwei Kriterien her-

vorzuheben: die Möglichkeit die entsprechenden Versuche unter sterilen oder monoseptischen Bedingungen durchzuführen und die Gewährleistung eines für die biologische Kultur oder das biokatalytische Reaktionssystem geeigneten und ausreichenden Stofftransfers (flüssig-flüssig, flüssig-gas, fest-flüssig, fest-gas).

[0007] Mikroreaktoren-Arrays, wie zum Beispiel Mikrotiterplatten, bieten eine ideale Plattform, um einen hohen Parallelisierungsgrad zu erreichen.

[0008] Aufgrund der kleinen Reaktionsvolumina (z. B. $> 10 \mu$ l bis < 10 ml pro Kammer), dem hohen Parallelisierungsgrad (z. B. 6 bis 1536 Kammern pro Platte) und der Möglichkeit zur Automatisierung der Kultivierungsprozesse (von Robotern handhabbare Form) stellen Mikroreaktoren-Arrays den insgesamt kostengünstigsten und zukunftsreichsten Bioreaktor dar.

[0009] Weiterhin ist der Einsatz nicht-invasiver, optischer Messmethoden zur Erfassung von Prozessgrößen in diesem Reaktortyp bereits weit fortgeschritten. Zudem lassen sich die Betriebsbedingungen in geschüttelten Mikrotiterplatten hinsichtlich des Stofftransfers (maximale Sauerstofftransferkapazität, OTR_{max}) bereits gut charakterisieren.

[0010] Es konnte gezeigt werden, dass mit Standard-96-Well-Mikrotiterplatten (runder Querschnitt) nur maximale Sauerstofftransferkapazitäten OTR_{max} von 0,030 mol/l/h bei Luftbegasung erreichbar sind. (Hermann R., Lehmann M., Büchs J.: Characterization of gas-liquid mass transfer phenomena in microtiter plates. *Biotechnol Bioeng*, 81(2), 178–186, 2003). Dies ist jedoch für die Kulturführung von aeroben, mikrobiellen Kulturen sehr häufig nicht ausreichend, um die Kultur nicht Sauerstofflimitiert zu führen.

[0011] Die Anforderungen vieler mikrobieller Kulturen liegen häufig über OTR-Werten von 0,05 mol/l/h, in vielen Fällen reichen sie sogar an OTR-Werte von 0,1 mol/l/h in Batch-Prozessen und sogar bis zu 0,3 mol/l/h in Feedbatch-Prozessen heran. In quadratischen und runden 96-Deep-Well-Platten konnten höhere OTR_{max}-Werte von 0,1–0,15 erreicht werden. Jedoch konnten diese Werte nur mit entsprechend kleinen Füllvolumina von 200 μ l erreicht werden. Dabei ist die Flüssigkeit fast vollkommen abgelöst vom Boden und eine optische Messung am Boden nicht mehr möglich. Zudem existieren derzeit keine Deep-Well-Platten mit optisch transparentem Boden, was dadurch eine optische Messung durch den Boden unmöglich macht.

[0012] Aktuell werden Mikrotiterplatten bereits zum Screening von biologischen Systemen eingesetzt. Dazu werden die einzelnen Reaktionskammern be-

füllt, angeimpft und auf einem Rotationsschüttler inkubiert. Durch die meist orbitale Schüttelbewegung wird der Eintrag von Sauerstoff in die Reaktionsflüssigkeiten verbessert und eine Durchmischung des Reaktionsgemisches erreicht. Um das System steril zu halten, werden die Mikrotiterplatten durch eine luftpermeable Membran (Porengröße < 0,2 µm) oder eine luftdichte Folie oder eine Deckelkonstruktion abgedeckt oder offen in steriler Umgebung kultiviert.

[0013] Die für die beschriebenen Anwendungen eingesetzten Mikrotiterplatten werden heute von verschiedensten Herstellern in zwei grundsätzlichen Ausführungen angeboten: Mit kreisrunden oder mit rechteckigen Kavitäten. Die ersten Mikrotiterplatten wurden in 1951 vom Ungarn Dr. G. Takatsky gefertigt und besaßen einen runden Querschnitt. In den 90er Jahren wurden dann Mikrotiterplatten mit quadratischem und rechteckigem Querschnitt eingeführt. Mikrotiterplatten werden allerdings in sehr vielen Bereichen der Chemie, Medizin, Biotechnologie und Biologie angewendet, so dass so gut wie keine Entwicklung speziell für die Kultivierung von Zellen stattgefunden hat.

[0014] Einige der wenigen Ausnahmen beschreibt die Patentschrift US 5225164 aus dem Jahre 1991, in der die Möglichkeit beschrieben wird, in einer quadratischen Kavität an mindestens einer der vertikalen Wände der Kavität einen in die Kavität hineinragenden Stromstörer anzubringen. Diese Lösung kann grundsätzlich zu einem verbesserten Stofftransfer führen, jedoch können die Strombrecher bei starker Ausprägung das Umlaufen der Flüssigkeit in den Reaktoren, eine gute Durchmischung und einen guten Stofftransfer stark einschränken.

[0015] Andererseits können die Strombrecher zur starken Tropfenbildung/Spritzern beitragen, was zu Inhomogenitäten, verstärktem Wandwachstum und zur Benetzung und zum Verschluss der gasdurchlässigen Abdeckung der Platten führt (Buchs J., Introduction to advantages and Problems of shaken cultures, Biochem. Eng. J. 7(2), 91–98, 2001). Des Weiteren ist auf dem Markt und in der Fachliteratur kein weiterer Hinweis auf die Realisierung und Untersuchung einer Mikrotiterplatte mit einer Variation der Kavitäten-Geometrie (außerhalb des kreisrunden und des rechteckigen Querschnittes) zu finden.

[0016] Aus der Praxis ist bekannt, dass der Einsatz von Mikrotiterplatten mit kreisrunden Kavitäten in einem Messsystem wie der von der Firma m2p-labs vertriebenen BioLector-Technologie (WO 2005/098397), zu Problemen bei der Messwerterfassung während des Schüttelvorganges führt. Die permanente Schüttelbewegung ist notwendig, um einen kontinuierlich, guten Stofftransfer in die Reaktionsflüssigkeit zu gewährleisten, sie führt allerdings bei hohen Schüttler-Drehzahlen zur drastischen Verrin-

gerung der Flüssigkeitsschicht bis zum vollständigen Freilaufen am sensorbesetzten Boden der Kavität und somit zu Problemen bei der Messwerterfassung (s. auch: Kesy F., John G. T., Hofmann B., Büchs J., Characterisation of Operation conditions and online monitoring of physiological culture parameters in shaken 24-well microtiter plates; Bioprocess and Biosystems Engineering 28(2), 75–81, 2005).

[0017] Zur Abdeckung von solchen Mikrotiterplatten sind verschiedene Systeme auf dem Markt. Zum Einen wird von den meisten Herstellern von Mikrotiterplatten ein Kunststoffdeckel mitgeliefert, der lose auf die Mikrotiterplatte aufgesetzt wird.

[0018] Zum Zweiten hat sich das Konzept einer aufgeklebten Folie oder Membran am Markt durchgesetzt. Für diese Verwendung sind auch Zusatzgeräte (Sealer) für den manuellen oder automatisierten Betrieb von verschiedenen Anbietern erhältlich.

[0019] Als eine dritte Variante werden Matten aus flexiblem Kunststoff (z. B.: Silikon) vertrieben, deren noppenartige Ausstülpungen in jede einzelne Kavität greifen und sie dadurch verschließen.

[0020] Am Markt sind nur zwei Systeme bekannt, die einen formstabilen Deckel mittels einer Kraft dicht auf eine Mikrotiterplatte aufpressen. Zum einen handelt es sich dabei um ein System, welches als „Sandwich Cover Plate“ von der Firma EnzyScreen vertrieben wird.

[0021] Zum Zweiten ist aus der Patentschrift US 6896848 eine Abdeckung bekannt, welche komplett um die Mikrotiterplatte herumgreift, und so einen Halt auf der Mikrotiterplatte findet. Für beide Systeme sind besondere Vorrichtungen zur Applikation oder beim Aufbringen des Deckels notwendig. Beide Systeme sind daher nicht ohne zusätzliche Halterungen oder Applikatoren automatisierbar.

[0022] Für einen Großteil der Anwendungen (insbesondere chem. Reaktionen mit einer Gasphase oder Zellkultivierungen) sind die nach dem Stand der Technik bekannten und oben beschriebenen Reaktionsgefäße nicht geeignet. Sie weisen folgende Nachteile auf:

- Unzureichender Gasaustausch zwischen der umgebenden Gasphase und der Flüssigphase in der Kavität
- Unzureichende oder zu langsame Mischung verschiedener Komponenten innerhalb der Kavität (Flüssig-Flüssig Mischung oder Fest-Flüssig Suspension)
- Mit steigender Schüttelfrequenz steigt die Flüssigkeit an der Wandung empor und erreicht bereits bei relativ niedrigen Schüttelfrequenzen den oberen Rand der Kavität. Dadurch wird das verwendbare Füllvolumen begrenzt, da sonst der

Austritt der Flüssigkeit über den Rand der Kavität oder eine Verstopfung der aufgebracht Abdeckungsmembran stattfinden würde.

- Freilaufen des Kavitätenbodens bei erhöhten Drehzahlen, was eine Messung mit am Boden immobilisierten oder angebrachten Sensoren oder optische Messungen in der Flüssigkeit von unterhalb des Bodens nicht zulässt.
- Die Verwendung von z. B. quadratischen Kavitätsquerschnitten oder Kavitäten mit Stromstörern kann zu Stromstörungen führen, welche die Bildung von Tropfen und/oder Aerosolen hervorrufen. Dies kann zur Abscheidung von Feststoffen und Reaktionsbestandteilen an den Wänden der Kavität sowie zur Verstopfung der Mikroreaktoren-Array-Abdeckung führen. Ebenso können optische Messungen durch die Bildung von Tropfen und/oder Aerosolen beeinträchtigt werden.
- Schaumbildung bei zu stark ausgeprägten Stromstörern.

[0023] Im Bezug auf die verschiedenen Systeme an Mikroreaktoren-Array-Abdeckungen, die gegenwärtig bekannt sind, sind vor allem folgende Nachteile als gravierend anzusehen:

- Kein fester und dichter Verschluss der Mikrotiterplatte insbesondere während einer Schüttelbewegung (nur lose aufzusetzende Standard-Deckel aus Kunststoff).
- Komplizierte Handgriffe, teilweise sind Zusatzgeräte notwendig, um eine Abdeckung auf der Mikrotiterplatte zu fixieren. Keine oder nur aufwendige Möglichkeiten und teure Lösungen der Automatisierung (Klebefolien und Kunststoffmatten).
- Keine oder nur unzureichende/inhomogene Gasversorgung und/oder unerwünscht hohe Verdampfung von Reaktionsflüssigkeit bei der Verwendung etablierter Mikrotiterplatten-Abdeckungen (Folien, Deckel-Systeme).
- Keine Möglichkeit der Beprobung oder der Flüssigkeits/Feststoff-Zugabe/Abnahme in die Mikrotiterplatte ohne Kontaminationsgefahr für die durchgeführte Reaktion, da keine Abdeckung existiert, die ohne zusätzlichen Aufwand oder ohne zusätzliche Geräte wiederverschließbar ist und gleichzeitig einen Gastransfer gewährleistet.

[0024] Aufgabe der Erfindung ist es, oben beschriebene Nachteile konventioneller Mikrotiterplatten zu überwinden und so das etablierte Konzept einer Mikrotiterplatte als Gefäß vorwiegend für chemische und biochemische Reaktionsansätze grundsätzlich hin zu einem vollwertigen und universell einsatzfähigen Reaktions- und Kultivierungssystem zu erweitern, indem vorzugsweise folgende Punkte erfüllt werden.

[0025] In Bezug auf die Mikroreaktoren-Arrays sind das:

- Intensivierter Gasaustausch mit der Flüssigkeit

innerhalb einer Kavität

- Intensivierung der Durchmischung einer Flüssigkeit oder Suspension in einer Kavität
- Verhinderung des Überschwappens der Reaktionslösung aus den Reaktionsgefäßen bei den erforderlichen hohen Schütteldrehzahlen.
- Verhinderung des Freilaufens des Bodens einer Kavität während des Schüttelvorganges (z. B.: zur Gewährleistung einer optischen oder beliebigen Messung am Boden bzw. durch den Boden) und Realisierung eines ständigen Kontaktes zu möglichen am Boden der Kavität angebrachten Sensoren.
- Vermeidung von Tropfen- und/oder Aerosolbildungen, welche die Messungen beeinträchtigen können, Reaktionsbestandteile und/oder Biomasse an den Wänden abscheidet und/oder durch Verstopfung den Stofftransfer durch die gasdurchlässige Abdeckung des Mikroreaktoren-Arrays behindern bzw. blockieren können.
- Geringe Schaumbildung durch möglichst homogene Flüssigkeitsbewegung.

[0026] In Bezug auf die Abdeckung der Mikroreaktoren-Arrays sind das:

- Fester und dichter Abschluss jeder einzelnen Kavität gegenüber den Nachbarkavitäten und der Umgebung durch Aufbringen einer Abdeckung, die auf dem Mikroreaktoren-Array arretiert und/oder wieder gelöst werden kann.
- Einfache Handhabung der Abdeckung mit der Möglichkeit zur Automatisierung mit herkömmlichen Greifarmen von z. B. Liquid-Handling-Systemen
- Reduzierung der Verdunstung bei gleichzeitig ausreichendem Gastransfer durch Öffnungen im Deckel, durch die Anpassung der Größe dieser Öffnungen und/oder durch die Verwendung diffusionssteuernder Materialien mit denen diese Öffnungen bedeckt sind.
- Möglichkeit der sterilen Beprobung und/oder Zu- und Abfuhr von Flüssigkeiten oder Feststoffen in die einzelnen Kavitäten eines Mikroreaktoren-Arrays.

[0027] In Bezug auf einen Mikroreaktor wird die Aufgabe gelöst, indem ein parallel zum Boden die Seitenwandung schneidender Querschnitt eine von einer runden, quadratischen oder rechteckigen Form abweichende Form hat. Als Form ist hierbei die Grundform gemeint, wobei diese Grundform von kleineren Strombrechern nicht verändert wird.

[0028] Die Lösung der beschriebenen Aufgaben erfolgt durch eine Veränderung der Geometrie einer Kavität, weg von den etablierten Geometrien einer kreisrunden Zylinderform oder eines rechteckigen Querschnitts.

[0029] Die Aufgabe wird gelöst indem die nach dem

Stand der Technik bekannten runden bzw. quadratischen Kavitäten so verändert werden, dass sich die positiven Eigenschaften einer Stromstörung durch das Einbringen von Vorsprüngen oder Einbuchtungen in die Kavität sowie die positiven Eigenschaften einer runden Kavität und somit einer möglichst ungestörten Strömung für den beschriebenen Anwendungsfall ideal ergänzen.

[0030] Durch die neuen vorgeschlagenen Formen der Kavitäten, wird die rundläufige Flüssigkeitsbewegung bei der Aufbringung einer orbitalen Schüttelbewegung mäßig gestört.

[0031] Durch die Störung oder Behinderung der gleichmäßigen Wandströmung bildet sich ein turbulentes Strömungsprofil aus, welches einen positiven Einfluss auf die Durchmischung sowie den Stofftransfer aus der Gasphase in die Flüssigphase und entgegengesetzt besitzt. Dabei ist die Ausbildung der Vorsprünge oder Einbuchtungen so abzustimmen, dass es nicht zur Tropfen- und Aerosolbildung kommt, die ein Verstopfen einer aufliegenden Abdeckung (z. B. einer Membran) oder das Festsetzen/Abscheiden von Flüssigkeit oder Feststoff (z. B. Biomasse) an den Reaktorwänden zur Folge haben könnte. Durch die Abstimmung der stromstörenden Wirkung kann weiterhin erreicht werden, dass die Flüssigkeit den Boden kontinuierlich benetzt und somit optische oder andere Messungen am Kavitätsboden ermöglicht werden. Ebenso kann durch die Abstimmung der stromstörenden Wirkung das mögliche Füllvolumen, bis es zu einem Überschwappen der Flüssigkeit bei einer entsprechenden Schüttelfrequenz kommt, erhöht werden.

[0032] Die Aufgabe kann durch die Realisierung verschiedener Kavitätsgeometrien gelöst werden: Der erste Variationsansatz für die Grundfläche der Kavitäten geht aus vom einen Extrem einer quadratischen Grundfläche und nähert sich über die Zunahme der Anzahl der Ecken dem anderen Extrem einer runden Grundfläche an. Es wird daher vorgeschlagen, dass der Querschnitt mehr als vier Ecken aufweist.

[0033] Die konstruktionsrelevante Länge der Grundseite eines Vieleckes lässt sich bei gegebener Fläche von $112,16 \text{ mm}^2$ auch über die Konstruktion eines Dreiecks zwischen einer Grundseite und zwei benachbarten Radien des Vielecks berechnen. Daher wird alternativ vorgeschlagen, dass der Querschnitt weniger als vier Ecken aufweist.

[0034] Im zweiten Variationsansatz wurde, wiederum ausgehend von einem Quadrat, der Übergang zur kreisrunden Grundfläche über die Konstruktion von Kreisen mit zunehmendem Radius in den Ecken des Quadrates realisiert. Konstruktionsrelevant sind die Größen des Radius des Eck-Kreises, sowie der ver-

bleibenden Gerade des Ausgangs-Quadrates.

[0035] Im dritten Variationsansatz wurde ein Fünfeck als Ausgangsform gewählt, und über die Abrundung der Ecken schrittweise in einen Kreis überführt.

[0036] Im Hinblick auf den zweiten und den dritten Variationsansatz hat es sich als vorteilhaft erwiesen, wenn der Querschnitt Ecken mit einem Radius von mehr als $0,5 \text{ mm}$ aufweist.

[0037] Ein vierter Ansatz, die ursprünglich kreisrunde Grundform der Kavität abzuändern, besteht im Einbringen von Stromstörern unterschiedlicher Form und Größe. Die hierbei entstehende Grundfläche ist in vielen Fällen nicht ohne weiteres berechenbar. Um hier die Vorgabe von $112,16 \text{ mm}^2$ zu erreichen, wurde die Fläche nach dem Zeichnen mit der Software Auto-CAD, Ver. 14.01 der Firma Autodesk Inc. vermessen und anschließend entsprechend skaliert.

[0038] Dabei ergibt sich eine Form, bei der der Querschnitt einen in die Kavität hineinragenden Bereich aufweist. Eine Alternative sieht vor, dass der Querschnitt einen aus der Kavität herausragenden Bereich aufweist. Vorteilhaft ist es für viele Ausführungsformen, wenn der Bereich in einer Ecke angeordnet ist.

[0039] Weiterhin wird vorgeschlagen dass mehrere derartige Bereiche mit unterschiedlichen Abmessungen vorgesehen sind oder dass mehrere derartige Bereiche aneinander angrenzen.

[0040] Im einfachsten Fall wurden rechteckige oder halbkreisförmige Schikanen über die gesamte Höhe der Kavität an ihren Wänden installiert.

[0041] Es wird daher vorgeschlagen, dass der Bereich ein Rechteck oder ein Kreissegment ist.

[0042] Weiterhin kann der jeweilige Querschnitt der verwendeten Geometrie der Kavitäten sich in Höhenrichtung weiten, um z. B. beim Spritzguss eine bessere Entformung zu gewährleisten, oder sich in Höhenrichtung verengen, um z. B. das Füllvolumen bei einer entsprechenden Schüttelfrequenz weiter erhöhen zu können, ohne dass ein Überschwappen der Flüssigkeit eintritt.

[0043] Als weitere Lösung der Aufgabe können die oben genannten Kavitätsgeometrien verwendet werden, die dann in Höhenrichtung nach oben oder nach unten in eine andere Kavitätsgeometrie übergehen. Der Übergang kann dabei zwischen einer der hier beschriebenen Kavitätsgeometrien erfolgen oder in eine runde, quadratische oder rechteckige Kavitätsgeometrie übergehen. Ebenso kann ein Übergang zwischen einer runden, quadratischen oder rechteckigen Kavitätsgeometrie erfolgen.

[0044] Als Beispiel wird daher vorgeschlagen, dass ein weiterer parallel zum Boden die Seitenwandung schneidender Querschnitt eine runde, quadratische oder rechteckige Form aufweist.

[0045] Für bestimmte Anwendungen kann es auch vorteilhaft sein, wenn mindestens ein den Querschnitt veränderndes Bauteil durch den Boden oder einen Deckel in die Kavität eingebracht ist.

[0046] Um Messungen durch den Boden zu ermöglichen wird vorgeschlagen, dass der Boden aus einem optisch transparenten Material ausgebildet ist.

[0047] Vorteilhaft ist es, wenn der Mikroreaktor mehrere Kavitäten aufweist, die besonders bevorzugt in Form eines Arrays angeordnet sind.

[0048] Unabhängig von den zuvor beschriebenen Ausführungsformen und den damit erzielbaren Vorteilen ist es vorteilhaft und erfindungswesentlich, wenn ein Mikroreaktor – insbesondere ein zuvor beschriebener Reaktor – einen speziellen Deckel aufweist.

[0049] Diese Abdeckung weist vorzugsweise eine gasdurchlässige Fläche auf, um insbesondere bei einem Array jede einzelne Kavität gegenüber Feststoffen und Flüssigkeiten aus der Umgebung abdichtet. Gleichzeitig ist es vorteilhaft, wenn oberhalb einer jeden Kavität eine Öffnung angebracht ist, die in ihrer Form und Größe, sowie dem sie verschließenden Material so gestaltet ist, dass die Verdunstung von Reaktionsflüssigkeit stark vermindert wird und ein Stofftransfer aus der umgebenden Gasphase in die Flüssigphase in der Kavität und in umgekehrte Richtung nicht beeinträchtigt wird.

[0050] Weiterhin wird vorgeschlagen, dass der Deckel eine wiederverschließbare Fläche aufweist. Besonders bevorzugt ist es, wenn der Deckel bis auf eine gasdurchlässige und/oder wiederverschließbare Fläche einstückig mit der Wandung und/oder dem Boden ausgebildet ist.

[0051] Vorteilhaft ist es, wenn der Deckel ein Sandwich-Material aus einem festen, einem flexiblen und/oder einem gasdurchlässigen Material aufweist. Eine Ausführungsform sieht vor, dass der Deckel einen stabilen Rahmen mit einer Dichtung aufweist.

[0052] Der Deckel kann unter Vorspannung an der Wandung befestigbar sein und er kann nach dem Luerverprinzip an der Wandung befestigt sein. Hierbei ist bevorzugt, dass der männliche Teil eines Luerverchlusses am Deckel angebracht ist und die Wandung das weibliche Gegenstück bildet.

[0053] Eine Variante sieht vor, dass der Deckel über gegeneinander verschiebbare schiefe Ebenen mit

der Wandung in Verbindung steht. Dies kann beispielsweise dadurch erreicht werden, dass zum Lösen des Deckels von der Wandung in einen Spalt ein Keil einschiebbar ist, um den Deckel von der Wandung zu lösen.

[0054] Um den Deckel abzuheben wird vorgeschlagen, dass zum Lösen des Deckels im Deckel Löcher angeordnet sind, in die ein Greifer eingreifen kann. Insbesondere hierbei ist es vorteilhaft, wenn die Greifer zum Lösen des Deckels eine Anordnung zum Aufbringen eines mechanischen oder pneumatischen Gegendrucks aufweisen. Zum Beispiel können zum Lösen eines verankerten Deckels Löcher in Öffnungen vorgesehen sein, durch die Stifte oder hohle Nadeln eines Greifarmes zum Lösen der Abdeckung von der Reaktionsgefäßanordnung einen mechanischen oder pneumatischen Druck auf die Kavität aufbringen.

[0055] Zur Befestigung des Deckels wird vorgeschlagen, dass der Deckel an der Wandung angeklebt ist. Weiterhin kann der Deckel rastend an der Wandung befestigt sein oder er kann eine Einrichtung zum Erzeugen eines Unterdrucks in der Kavität aufweisen.

[0056] Vorteilhaft ist es, wenn der Deckel eine Zu- und Abführung von Reaktionsteilnehmern und eine Beprobung ohne Unterbrechung des Schüttelvorganges ermöglicht.

[0057] Die Zeichnung zeigt Messergebnisse und Ausführungsvarianten zu Mikroreaktoren, Reaktor-Arrays und verschiedene Abdeckungen für Reaktoren und Reaktor-Arrays.

[0058] Es zeigt

[0059] [Fig. 1](#) Variationen der Eckenanzahl einer Kavität,

[0060] [Fig. 2](#) Variationen der Ausbildung von Ecken an einer quadratischen Kavität,

[0061] [Fig. 3](#) Variationen der Ausbildung der Ecken an einer fünfeckigen Kavität,

[0062] [Fig. 4](#) schematische Abbildungen von Kavitäten mit rechteckigen und halbkreisförmigen Stromstörern,

[0063] [Fig. 5](#) schematisch die Konstruktion einer fünfeckigen Grundfläche mit asymmetrischen halbkreisförmigen Schikanen,

[0064] [Fig. 6](#) schematisch fünf- und sechseckige Grundflächen mit asymmetrischen halbkreisförmigen Schikanen,

[0065] [Fig. 7](#) schematisch vier-, fünf- und sechseckige Grundflächen mit abgerundeten Ecken- und Spitzenschikanen,

[0066] [Fig. 8](#) eine Fotografie verschiedener Mikroreaktorgeometrien als Array angeordnet,

[0067] [Fig. 9](#) eine Fotografie der Prototypen der Abdeckung mit Luer-Prinzip für Mikroreaktorenarrays,

[0068] [Fig. 10](#) schematische Darstellungen zur Erläuterung des Luer-Prinzips,

[0069] [Fig. 11](#) schematisch eine Anordnung zum Halten des Deckels an einem Mikroreaktorarray durch Unterdruck,

[0070] [Fig. 12](#) schematisch die Darstellung vom Haken zum Halten des Deckels an einem Mikroreaktorarray,

[0071] [Fig. 13](#) schematisch Möglichkeiten zum Lösen des Deckels vom Mikroreaktorarray,

[0072] [Fig. 14](#) schematisch einen auf einem Mikroreaktorarray aufgesetzten Multifunktionsdeckel,

[0073] [Fig. 15](#) graphische Darstellungen von Messergebnissen für die maximale Sauerstofftransferate in unterschiedlichen Beispielgeometrien,

[0074] [Fig. 16](#) graphische Darstellungen von Messergebnissen für die maximale Sauerstofftransferate in weiteren realisierten Beispielgeometrien,

[0075] [Fig. 17](#) graphisch dargestellt Messergebnisse für die maximale Sauerstofftransferate bei Beispielgeometrien mit Schikanen,

[0076] [Fig. 18](#) Messergebnisse für das maximale Füllvolumen in realisierten Beispielgeometrien und

[0077] [Fig. 19](#) Messergebnisse für die messbare Füllhöhe in einer Kavität in realisierten Beispielgeometrien bei orbitaler Schüttelbewegung.

[0078] Die [Fig. 1](#) zeigt wie die konstruktionsrelevante Länge der Grundseite eines Vielecks sich bei gegebener Fläche – im vorliegenden Beispiel von $112,16 \text{ mm}^2$ – über die Konstruktion eines Dreiecks zwischen einer Grundseite und zwei benachbarten Radien des Vielecks berechnen lässt.

[0079] Der in [Fig. 2](#) gezeigte Variationsansatz geht von einem Quadrat aus, bei dem der Übergang zur kreisrunden Grundfläche über die Konstruktion von Kreisen mit zunehmendem Radius in den Ecken des Quadrates realisiert wird. Konstruktionsrelevant sind die Größen des Radius des Eckkreises sowie der

verbleibenden Gerade des Ausgangsquadrates. Ihre Berechnung erfolgt über Konstruktion und Berechnung eines Drachenvielecks mit dem Mittelpunkt des Eckkreises in der Ecke des Ausgangsquadrates.

[0080] Das selbe Vorgehen am Beispiel eines Fünfecks als Ausgangsform zeigt die [Fig. 3](#).

[0081] Die [Fig. 4](#) zeigt wie eine ursprünglich kreisrunde Grundform einer Kavität abgeändert werden kann, indem Stromstörer unterschiedlicher Form und Größe eingebracht werden. Die hierbei entstehende Grundfläche ist in vielen Flächen nicht ohne Weiteres berechenbar. Um die Vorgabe von $112,16 \text{ mm}^2$ zu erreichen, wurde die Fläche nach dem Zeichnen mit einem CAD-System vermessen und anschließend skaliert. Hierbei wurden als Beispiele rechteckige und halbkreisförmige Schikanen über die gesamte Höhe der Kavität an ihren Wänden installiert. Dies sind jedoch nur Beispiele und sowohl die Form der Schikane als auch deren Erstreckung über die Höhe der Kavität kann in unterschiedlichen Ausführungsbeispielen variieren.

[0082] Die [Fig. 5](#) bis [Fig. 7](#) zeigen Grundflächengeometrien, die aus theoretischen Überlegungen zur sinnvollen Umsetzung in verschiedenster geometrischer Formen entstanden sind. Bei allen diesen Grundformen wurden Kreise definierter Größe eingebracht, deren Radius in 1 mm Schritten verändert wurde. Die Auswahl der daraus hervorgegangenen Geometrien erfolgte aufgrund einer rein theoretischen Beurteilung ihres Einflusses auf die Strömung in der Kavität. So schieden Formen mit extrem stark oder aber sehr schwach ausgeprägten Stromstörern aus der Betrachtung aus.

[0083] Die [Abb. 6](#) und [Abb. 7](#) zeigen Stromstörgrundflächen, die von einer fünf- oder sechseckigen Grundfläche ausgehen. Ihre Konstruktion ist in den [Abb. 6](#) und [Abb. 7](#) exemplarisch dargestellt. Die Ecke dieser Grundflächen wurden abgerundet, wobei als Radius für die Eckkreise ein bzw. zwei Millimeter genommen wurden. An jeder Ecke wird eine halbkreisförmige Schikane mit einem Radius von 1 mm angelegt. Diese Konstruktion gibt aufgrund der fehlenden Symmetrie für die Kavitäten eine Drehrichtung zum Schütteln vor.

[0084] In [Fig. 7](#) sind weitere Grundformen von Kavitäten dargestellt. Ausgehend von vier-, fünf-, sechs-, oder siebeneckigen Grundformen sind die Ecken wiederum abgerundet, wobei in diesem Fall die Fläche zwischen diesen Ecken nicht flach ist, sondern eine nach innen reichende Spitze aufweist. Diese Spitzen bilden die Schikanen in diesen Kavitäten.

[0085] Das in [Fig. 8](#) gezeigte Array besteht aus unterschiedlichen Kavitäten und dient zur Untersuchung der Leistungsfunktion verschiedener Geometrien.

rien.

[0086] Die in **Fig. 9** gezeigte als Prototyp realisierte Abdeckung eines Mikroreaktorenarrays verschließt jede einzelne Kavität dicht gegen die Umgebung und hat oberhalb einer jeden Kavität eine Öffnung, die so gestaltet ist, dass die Verdunstung der Reaktionsflüssigkeit stark vermindert wird und ein Stofftransfer aus der umgebenden Gasphase in die Flüssigkeit in der Kavität und in umgekehrter Richtung nicht beeinträchtigt wird.

[0087] Dabei werden einzelne oder alle Reaktoren eines Mikroreaktorenarrays als Luer-Hülsen gegenüber dem mit Luer-Kernen gestalteten Deckeln ausgeführt. Vorteilhaft ist die Ausführung aller Kavitäten als Luer-Hülse, um gleichzeitig eine Abdichtung aller Kavitäten gegenüber der Umgebung zu erzielen.

[0088] Das in **Fig. 10** gezeigte Luer-Prinzip hat sich bei diesem Prototypen als sehr vorteilhaft erwiesen. Es ist in der Lage, die einzelnen Reaktionsräume gegenüber der Umgebung fest und dicht zu verschließen. Hierzu ist die Kavität **1** mit einem Deckel **2**, der als Abdeckung dient, verschlossen. Der Deckel **2** hat konische Pässelemente **3**, die an der Kavitätenwand anliegen und den Deckel **2** zur Kavität **1** abdichten. An seiner Oberseite hat der Deckel **2** eine gasdurchlässige Folie **4**, die auf den Deckel aufgeklebt oder mit ihm verschweißt ist. Diese Folie sorgt für den nötigen Gasaustausch, eine reduzierte Verdampfung und den monoseptischen Betrieb. Es ist vorgesehen, die Komponenten Mikroreaktorenarray und Passungsdeckel mit abschließender gasdurchlässiger Folie vorsterilisiert dem Anwender zur Verfügung zu stellen.

[0089] Eine andere Ausführungsform ist in **Fig. 10B** dargestellt. Hierbei ist auf den Kavitäten **5, 6** eine flexible Dichtschicht **7** vorgesehen, auf der eine gasdurchlässige Folie **8** liegt.

[0090] Der Mikroreaktorenarray hat eine konische Kavität im Korpus, die als weibliche Luer-Hülse **9** dient. Eine Abdeckung **10** für den Mikroreaktoren-Array hat einen Luer-Kern **11**, der als männlicher Teil mit der Hülse **9** zusammenwirkt und die Abdeckung auf dem Array hält.

[0091] Die flexible Schicht **7** ist über den Kavitäten angebracht. Sie dichtet durch entsprechenden Anpressdruck des Deckels, der durch die Luer-Verbindung gehalten alle Wells abdichtet. Die Luer-Hülsen können beispielhaft zwischen den einzelnen Wells und auf den Rahmen des Mikroreaktoren-Arrays angebracht werden. In **Abb. 10C** ist eine mögliche Ordnung gezeigt. Hierin sind die möglichen Positionen für Luer-Hülsen als Befestigungspunkte **12** auf dem Mikroreaktor-Array **13** zur Abdichtung der Kavitäten **14** gezeigt.

[0092] Die **Fig. 10D** zeigt, wie das Luer-Prinzip über die Gesamtheit des Mikroreaktor-Arrays ausgeübt werden kann. Hierbei sind mindestens zwei gegenüberliegende Seiten des Array-Rahmens **15** angeschrägt. Sie dienen damit als Luer-Kern für den Deckel **16**, der entweder eine umlaufende Luer-Hülse bildet oder nur an den überliegenden Seiten über die Seiten des Array-Rahmens **15** gestülpt ist. Der Array-Deckel **16** ist somit als Luer-Hülse ausgebildet und geht einen Kraftschluss mit dem Array-Rahmen **15** ein. Zwischen dem Deckel **16** und dem Mikroreaktor-Array-Rahmen ist wiederum eine gasdurchlässige Folie **17** und eine flexible Deckschicht **18** vorgesehen.

[0093] Um einen gleichmäßigen oder ausreichenden Anpressdrucks des Deckels **19** auf die flexible Schicht **20** an jeder Stelle des Mikroreaktoren-Arrays **21** zu gewährleisten, ist es vorteilhaft, den Deckel **19** nach innen hin auszubauchen, wie dies in **Fig. 10E** gezeigt ist. Dadurch wird für eine gleichmäßige Spannungsverteilung gesorgt.

[0094] Die **Fig. 11** zeigt eine Ausführungsvariante, bei der der Deckel **22** auf dem Mikroreaktoren-Array **23** mit Vakuum oder Unterdruck angesaugt wird. Hierzu wird durch eine Bohrung **24** im Korpus des Mikroreaktoren-Arrays **23** Vakuum gesaugt und damit Unterdruck erzeugt und der Deckel durch einen Saugnapf oder ein ähnliches Zwischenstück **25** an den Mikroreaktoren-Array **23** gezogen. Dadurch wird die flexible Schicht **26** mit der daraufliegenden gasdurchlässigen Folie **27** auf die Kavitäten gepresst, um diese abzudichten. Die Pressung und Dichtung ist solange aktiv, wie Vakuum gezogen bzw. Unterdruck erzeugt wird. Daher ist diese Verbindung sehr leicht zu lösen. Die Saugknöpfe **25** und die Bohrungen **24** können je nach Anwendungsfall beliebig auf dem Array verteilt sein.

[0095] In **Fig. 12A** ist dargestellt wie der Deckel **30** durch einen Widerhaken **31** an der Platten-Geometrie befestigt ist. Im Ausführungsbeispiel hakt sich der Widerhaken **31** an einem Steg **32** fest. Hierbei ist es lediglich erforderlich, den Deckel **30** mit seinem Widerhaken **31** auf den Mikroreaktoren-Array **33** von oben oder von der Seite aufzuschieben. Im geschlossenen Zustand wird der Deckel **30** so nah an dem Mikroreaktoren-Array **33** gehalten, dass er die flexible Schicht **34** auf die Kavitäten (nicht gezeigt) presst und somit abdichtet.

[0096] **Fig. 12B** zeigt eine Variante, bei der der Widerhaken **35** in einer Nut **36** im Mikroreaktoren-Array **37** festhakt.

[0097] Um den Deckel **30** später wieder zu lösen, ist es vorteilhaft, den Widerhaken **35** des Deckels **30** in einer Führungsnut **38** zu führen. In der Endlage der Führungsnut **38** wird der Widerhaken **35** durch die

Federspannung der flexiblen Schicht **39** gehalten. Zur Ein- und Ausrüstung in die Endlage muss eine äußere Kraft auf den Deckel **30** mittels eines Greifarmes eines Pipettierroboters oder manuell aufgebracht werden, die die Federspannung der flexiblen Schicht **38** leicht übersteigt.

[0098] Die **Fig. 12D** zeigt eine alternative Lösung zur Befestigung des Deckels **40** auf dem Mikroreaktoren-Array **41** durch das Aufbringen einer Federspannung mittels der Feder **42** auf den Widerhaken **43**. Nur durch das Aufbringen einer äußeren Kraft **44** mittels eines Greifarms eines Pipettierroboters oder manuell kann der Spannung der Feder **42** entgegengewirkt werden und der Widerhaken **43** aufgespreizt werden. Durch Verfahren des Deckels **40** nach unten und anschließender Entlastung der Feder **42** kann der Deckel **40** aufgesetzt werden und der Widerhaken an Seitensteg **45** einrasten.

[0099] Bei einigen Applikationen kann es notwendig werden, dass der Deckel wieder von dem Mikroreaktoren-Array gelöst wird. Auch diese Möglichkeit soll mit einfachen Mitteln gelöst werden, ohne große zusätzliche Geräte neben einem einfachen Liquid-Handling-Systems mit Greifern (Standart-Pipettierroboter). Eine Möglichkeit hierzu zeigt die **Fig. 13**. Zum einen ist es möglich, über einen Überdruck im Inneren der Luer-Hülse wie in **Fig. 13A** gezeigt, die Luer-Verbindung zu lösen. Der Überdruck kann durch eine am Greifarm eines Pipettierroboters angebrachte Druckluftleitung durch die Bohrung im Luer-Kern appliziert werden. Dazu muss zu jedem Luer-Kern **50** eine Druckluftleitung **51** geführt werden.

[0100] Die **Fig. 13B** zeigt, wie auf einer Platte **52** Stifte **53** angebracht sind, die die Luer-Kerne **54** von unten her losdrücken. Die Platte wird einfach auf die Stifte **53** aufgesetzt und schon drücken die Stifte **53** geführt durch Bohrungen **55** im Mikroreaktoren-Array-Grundkörper **56** den Deckel **57** an den Luer-Kernen **54** nach oben.

[0101] Wenn mehrere Luer-Verbindungen oder andere Kraftverbindungen über den Mikroreaktoren-Array zur Befestigung des Deckels angewendet werden, ist es von Vorteil, wenn nicht an jeder einzelnen Verbindung gezielt eine Kraft angewendet werden muss. Eine Lösung hierfür zeigt die in **Fig. 13C** dargestellte Konstruktion. Hierbei wird die Kraft **60** nur auf den äußeren Rahmen **61** des Deckels **62** aufgebracht, in dem angeschrägte Schuhe **63** als Finger eines Greifarms horizontal unter den Deckel **62** gefahren werden. An der schrägen Wand **64** des Mikroreaktoren-Arrays **65** kommt es schließlich zu einer Umlenkung der Kraft **60** in die Vertikale, indem der Schuh **63** unter den Deckel **62** fährt und ihn anhebt. Die Bewegung des Schuhs **63** erzwingt eine Relativbewegung des Mikroreaktoren-Arrays **65** zum Deckel **62** und löst ihn so.

[0102] Eine leichte Abwandlung von diesem Prinzip zeigt die **Fig. 13D**. Hier ist der Schuh **66** nach oben hin angefast. Der Deckel **67** fährt über eine Schräge **68** nach oben, wobei der Mikroreaktoren-Array **69** in seiner festen Position verharrt.

[0103] Ein weiterer Lösemechanismus ist in **Fig. 13E** dargestellt. Dieser Lösemechanismus kommt ohne einen speziellen abgeschrägten Schuh an den Fingern eines Greifarms aus. Durch die Realisierung zweier spiegelbildlicher Schrägen **70** und **71** am Mikroreaktoren-Array **72** und der Abdeckung **73** wird beim Aufbringen einer horizontalen Kraft **74** auf die an dieser Seitenfläche teilweise flexibel ausgestaltete Abdeckung eine Umleitung dieser Kraft **74** in die Vertikale nach dem oben beschriebenen Prinzip erreicht.

[0104] In zunehmendem Maße wird es erforderlich, nicht nur online-Informationen aus den Reaktoransätzen eines Mikroreaktoren-Arrays durch entsprechenden Einsatz von Sensorik in oder an den Reaktoren zu erhalten, sondern auch die zeitlich wechselnden Reaktionszustände mit weiterer offline-Analytik zu verifizieren oder weitere Einblicke zu erlangen. Daher ist es wichtig, auch während der Reaktionsführung aus den einzelnen Reaktoren Probematerial zu erhalten und die Reaktionen im Anschluss daran unbeeinflusst weiter zu betreiben. Es kann auch notwendig sein, flüssige oder feste Substanzen dem Reaktionsgemisch zu- oder abzuführen. Daher ist es erforderlich, einen reversiblen Zugang zu dem Reaktionsgefäß zu erlangen. Aus diesem Grunde soll zusätzlich zu der Öffnung im Deckel für die gasdurchlässige Schicht eine Öffnung zur Beprobung und/oder der Zu- und Abfuhr von Substraten/Reaktionsteilnehmern realisiert werden.

[0105] Hierfür ist die Verwendung eines Septenmaterials aus Silikon oder einem anderen flexiblen Polymer, welches aufgrund seiner Materialeigenschaften sich von selbst wieder verschließt, vorgesehen. Mit einer Kanüle **80**, einer Pipette oder einer Pipettenspitze soll die Septe schließlich durchstechbar sein, um aus dem Kavitätinneren Probenmaterial **81** hinein oder heraus zu pipettieren. Nach dem Abzug der Kanüle **80** und dem Wiederverschluss der Septe soll die Reaktion unbeeinflusst weiter laufen. Insbesondere bei zellulären Anwendungen ist die sterile Beprobung außerordentlich wichtig, um keine Kontamination der meist monoseptischen Kulturführung zuzulassen.

[0106] Vorteilhaft ist es, insbesondere bei sehr schnellen Reaktionen und Fermentationen die Beprobung bzw. den Eingriff in den Prozess ohne Unterbrechung des Schüttelns durchzuführen, um den Stofftransport nicht zu limitieren. Hierfür ist vorgesehen, den Schüttelprozess mit einem derart kleinen Durchmesser durchzuführen, der es erlaubt auch

während des Schüttelprozesses durch eine Septe in den Reaktionsraum einzudringen und eine Probe zu ziehen oder Substrate zu- oder abzuführen. Vorteilhaft sind hierbei Schütteldurchmesser von 1 bis 5 mm. Außerdem ist darauf zu achten, dass die Kanüle für die Beprobung während der Schüttelbewegung höchstens im elastischen Bereich deformiert wird oder flexibel gelagert ist.

[0107] Die in [Fig. 14](#) gezeigte Anordnung weist eine Kanüle **80** auf, die durch eine Öffnung **82** in einem starren Deckelrücken **83** durch eine gasdurchlässige Folie **84** und eine flexible Deckschicht **85** in eine Kavität **86** geführt wird, um aus der Kavität **86** Reaktionsflüssigkeit zu entnehmen oder in die Kavität einzuführen. Für den Stofftransport zwischen innen und außen sind Bohrungen **87** in der flexiblen Deckschicht **85** vorgesehen, die mit Öffnungen **88** im starren Deckelrücken **83** fluchten.

[0108] Die enormen Vorteile einer veränderten Geometrie der Kavitäten eines Mikroreaktoren-Arrays konnten in umfangreichen Versuchen mit mehreren Prototypen nachgewiesen werden. Zum Einen konnte gezeigt werden, dass eine enorme Steigerung der Sauerstofftransfertrate in die Reaktionsflüssigkeit, deren Höhe insbesondere für mikrobielle Fermentationen in Mikrotiterplatten nach dem Stand der Technik einen limitierenden Faktor darstellt, erreicht werden kann. Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass die nach dem Stand der Technik in verfügbaren Mikrotiterplatten bzw. Deep-Well-Platten verwendeten Kavitäten-Geometrien (kreisrund oder quadratisch) in keinsten Weise das Optimum für den Sauerstoffeintrag darstellen. In den [Fig. 15](#) bis [Fig. 17](#) sind die maximalen Stofftransferraten (hier Sauerstofftransfertrate; OTR (oxygen transfer rate)) bei verschiedenen Geometrien und Schütteldrehzahlen sowie unterschiedlichen Arbeitsvolumina dargestellt (Schütteldurchmesser jeweils 3 mm Orbit). Aus diesen Messdaten kann zusätzlich abgeleitet werden, dass die in der Patentschrift US 5225164 beschriebene Kavitätenform ebenfalls nicht optimal sein kann, da durch die Kombination der quadratischen Grundform mit eckigen Stromstörern kein maximaler Sauerstoffeintrag zu erwarten ist, dem gegenüber aber eine starke Tropfenbildung beobachtet werden kann.

[0109] In einer zweiten Versuchsreihe wurden das Überschwappen bzw. die Bildung von Tropfen während einer orbitalen Schüttelbewegung untersucht. Für jede der realisierten Ausführungen wurde untersucht, wie hoch das maximale Füllvolumen bei einer Schüttelgeschwindigkeit von 1000 U/min und einem Schütteldurchmesser von 3 mm in einem 20 mm hohen Prototypen-Mikrotiterplatte ist ([Fig. 18](#)).

[0110] Es kann gezeigt werden, dass ein vorteilhaftes Verhalten der Flüssigkeit entsteht, wenn die als Strombrecher wirkenden Vorsprünge oder Einstül-

pungen nur klein sind, bzw. moderate Steigungen aufweisen.

[0111] Neben diesen beiden Vorteilen der Erfindung, eines erhöhten Stofftransfers bei gleichzeitig geringer Tendenz zur Tropfenbildung bzw. zum Überschwappen der Reaktionsflüssigkeit, liegt ein weiterer wesentlicher Vorteil der Erfindung in der Verhinderung des Freilaufens des Bodens der Kavität. Um diese Eigenschaft zu untersuchen, wurde über die Fluoreszenz-Intensität einer Fluorescein-Lösung auf die am Boden eines Wells befindliche Schichtdicke der Flüssigkeit während der Rotation des Schüttlers zurück gerechnet. Die in [Fig. 19](#) beschriebenen Ergebnisse zeigen, dass je stärker die Ecken und Kanten ausgeprägt sind, desto mehr wird die Flüssigkeit daran gehindert, über die Kavitäten-Wände zu expandieren und somit vom Boden zu weichen.

[0112] Die gleichzeitige Betrachtung der drei beschriebenen Testreihen (Sauerstoffeintrag, maximales Füllvolumen, Freilaufen des Bodens) lässt erkennen, dass die Erfindung gegenüber dem Stand der Technik das Konzept der Mikrotiterplatte insbesondere bei deren Anwendung als Zellkultivierungssystem grundlegend verbessert. Dadurch, dass ein deutlich höherer Sauerstoffeintrag erzielt werden kann, bei gleichzeitig ausreichend homogener Hydrodynamik ohne Tropfen- und Spritzerbildung, ist eine in weiten Bereichen unlimitierte Fermentation von Mikroorganismen und höheren Zellen (Pflanzen-, tierische und menschliche Zellen) möglich. Durch ein Verhindern des Freilaufens des Bodens der Kavität bleibt auch bei hohen Schüttelgeschwindigkeiten eine ausreichend hohe Flüssigkeitssäule am Boden der Kavität. Dadurch wird die Flüssigkeit einer Messung am Boden der Kavität deutlich besser zugänglich gemacht. Hier angebrachte Sensoren laufen nicht Gefahr, den Kontakt zum Reaktionsgemisch zu verlieren.

[0113] Die neuartige Gestaltung der Abdeckung der Mikrotiterplatte überwindet einen gravierenden Nachteil, der normalerweise bei der Kultivierung in Mikrotiterplatten auftritt. Der insbesondere bei höheren Kultivierungstemperaturen auftretende Flüssigkeitsverlust aus der Kavität wird deutlich vermindert. Gleichzeitig wird ein ausreichender Gasaustausch zwischen Umgebung und Reaktionsvolumen ermöglicht. Durch ein Septum bleibt jede Kavität der Probennahme zugänglich. Durch den Aufbau der Abdeckung aus einem formstabilen Teil und einem flexiblen Material zur Abdichtung sowie der Möglichkeit zum leichten Lösen der Abdeckung bietet die Erfindung die Möglichkeit zur Einpassung des Systems in automatisierte Systeme (Pipettierroboter; Greifarm) ohne großes zusätzliches Equipment oder Sonder-Applikatoren.

ZITATE ENTHALTEN IN DER BESCHREIBUNG

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde automatisiert erzeugt und ist ausschließlich zur besseren Information des Lesers aufgenommen. Die Liste ist nicht Bestandteil der deutschen Patent- bzw. Gebrauchsmusteranmeldung. Das DPMA übernimmt keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

Zitierte Patentliteratur

- US 5225164 [0014, 0108]
- WO 2005/098397 [0016]
- US 6896848 [0021]

Zitierte Nicht-Patentliteratur

- Hermann R., Lehmann M., Büchs J.: Characterization of gas-liquid mass transfer phenomena in microtiter plates. *Biotechnol Bioeng*, 81(2), 178–186, 2003 [0010]
- Büchs J., Introduction to advantages and Problems of shaken cultures, *Biochem. Eng. J.* 7(2), 91–98, 2001 [0015]
- Kensy F., John G. T., Hofmann B., Büchs J., Characterisation of Operation conditions and online monitoring of physiological culture parameters in shaken 24-well microtiter plates; *Bioprocess and Biosystems Engineering* 28(2), 75–81, 2005 [0016]

Patentansprüche

1. Mikroreaktor mit mindestens einer Kavität, die einen Boden, eine Seitenwandung und eine dem Boden gegenüber liegende Öffnung aufweist, **dadurch gekennzeichnet**, dass ein parallel zum Boden die Seitenwandung schneidender Querschnitt eine von einer runden, quadratischen oder rechteckigen Form abweichende Form hat.

2. Mikroreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Querschnitt mehr als vier Ecken aufweist.

3. Mikroreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Querschnitt weniger als vier Ecken aufweist.

4. Mikroreaktor nach einem der vorhergehenden Ansprüche. dadurch gekennzeichnet, dass der Querschnitt Ecken mit einem Radius von mehr als 0,5 mm aufweist.

5. Mikroreaktor nach einem der vorhergehenden Ansprüche. dadurch gekennzeichnet, dass der Querschnitt einen in die Kavität hineinragenden Bereich aufweist.

6. Mikroreaktor nach einem der vorhergehenden Ansprüche. dadurch gekennzeichnet, dass der Querschnitt einen aus der Kavität herausragenden Bereich aufweist.

7. Mikroreaktor nach einem der Ansprüche 5 oder 6 dadurch gekennzeichnet, dass der Bereich ein Rechteck ist.

8. Mikroreaktor nach einem der Ansprüche 5 bis 7 dadurch gekennzeichnet, dass der Bereich ein Kreissegment ist.

9. Mikroreaktor nach einem der Ansprüche 5 bis 8 dadurch gekennzeichnet, dass der Bereich in einer Ecke angeordnet ist.

10. Mikroreaktor nach einem der Ansprüche 5 bis 9 dadurch gekennzeichnet, dass mehrere derartige Bereiche mit unterschiedlichen Abmessungen vorgeesehen sind.

11. Mikroreaktor nach einem der Ansprüche 5 bis 10 dadurch gekennzeichnet, dass mehrere derartige Bereiche aneinander angrenzen.

12. Mikroreaktor nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass ein weiterer parallel zum Boden die Seitenwandung schneidender Querschnitt eine runde, quadratische oder rechteckige Form aufweist.

13. Mikroreaktor nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens ein den Querschnitt veränderndes Bauteil durch den Boden oder einen Deckel in die Kavität eingebracht ist.

14. Mikroreaktor nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Boden aus einem optisch transparenten Material ausgebildet ist, welches Messungen durch den Boden ermöglicht.

15. Mikroreaktor nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass er mehrere Kavitäten aufweist.

16. Mikroreaktor insbesondere nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass er einen Deckel aufweist.

17. Mikroreaktor nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass der Deckel eine gasdurchlässige Fläche aufweist.

18. Mikroreaktor nach einem der Ansprüche 16 oder 17, dadurch gekennzeichnet, dass der Deckel eine wiederverschließbare Fläche aufweist.

19. Mikroreaktor nach einem der Ansprüche 16 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass der Deckel bis auf eine gasdurchlässige und/oder wiederverschließbare Fläche einstückig mit der Wandung und/oder dem Boden ausgebildet ist.

20. Mikroreaktor nach einem der Ansprüche 16 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass der Deckel ein Sandwich-Material aus einem festen, einem flexiblen und/oder einem gasdurchlässigen Material aufweist.

21. Mikroreaktor nach einem der Ansprüche 16 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass der Deckel einen stabilen Rahmen mit einer Dichtung aufweist.

22. Mikroreaktor nach einem der Ansprüche 16 bis 21, dadurch gekennzeichnet, dass der Deckel unter Vorspannung an der Wandung befestigbar ist.

23. Mikroreaktor nach einem der Ansprüche 16 bis 22, dadurch gekennzeichnet, dass der Deckel nach dem Luerprinzip an der Wandung befestigt ist.

24. Mikroreaktor nach einem der Ansprüche 16 bis 23, dadurch gekennzeichnet, dass der männliche Teil eines Luerverschlusses am Deckel angebracht ist und die Wandung das weibliche Gegenstück bildet.

25. Mikroreaktor nach einem der Ansprüche 16 bis 24, dadurch gekennzeichnet, dass der Deckel über gegeneinander verschiebbare schiefe Ebenen

mit der Wandung in Verbindung steht.

26. Mikroreaktor nach einem der Ansprüche 16 bis 25, dadurch gekennzeichnet, dass zum Lösen des Deckels von der Wandung in einen Spalt ein Keil einschiebbar ist, um den Deckel von der Wandung zu lösen.

27. Mikroreaktor nach einem der Ansprüche 16 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass zum Lösen des Deckels im Deckel Löcher angeordnet sind, in die ein Greifer eingreifen kann.

28. Mikroreaktor nach Ansprüche 16 bis 27, dadurch gekennzeichnet, dass Greifer zum Lösen des Deckels eine Anordnung zum Aufbringen eines mechanischen oder pneumatischen Gegendrucks aufweisen.

29. Mikroreaktor nach Ansprüche 16 bis 28, dadurch gekennzeichnet, dass zum Lösen des Deckels Stifte von unten den zum Lösen des Deckels notwendigen mechanischen Druck aufbringen.

30. Mikroreaktor nach einem der Ansprüche 16 bis 29, dadurch gekennzeichnet, dass der Deckel an der Wandung angeklebt ist.

31. Mikroreaktor nach einem der Ansprüche 16 bis 30, dadurch gekennzeichnet, dass der Deckel rastend an der Wandung befestigt ist.

32. Mikroreaktor nach einem der Ansprüche 16 bis 31, dadurch gekennzeichnet, dass der Deckel durch eine Einrichtung zum Erzeugen eines Unterdrucks durch die Mikroreaktorwandung an den Mikroreaktor gezogen wird.

33. Mikroreaktor nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass er ein Teil eines Mikroreaktoren-Arrays mit mehreren gleichartigen Kavitäten bildet.

34. Mikroreaktor nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass er eine Zu- und Abführung von Reaktionsteilnehmern und eine Beprobung ohne Unterbrechung des Schüttevorganges ermöglicht.

Es folgen 11 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

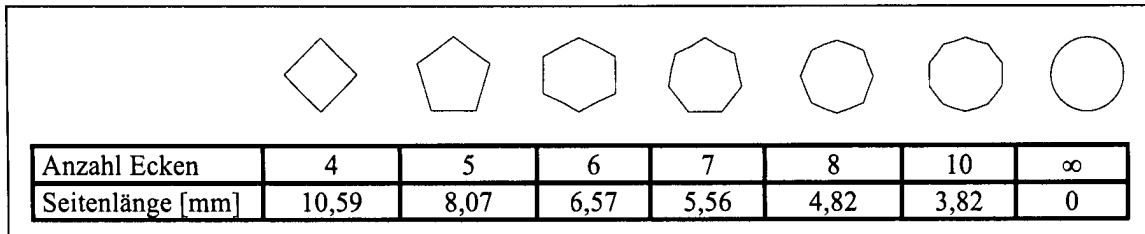


Fig. 1

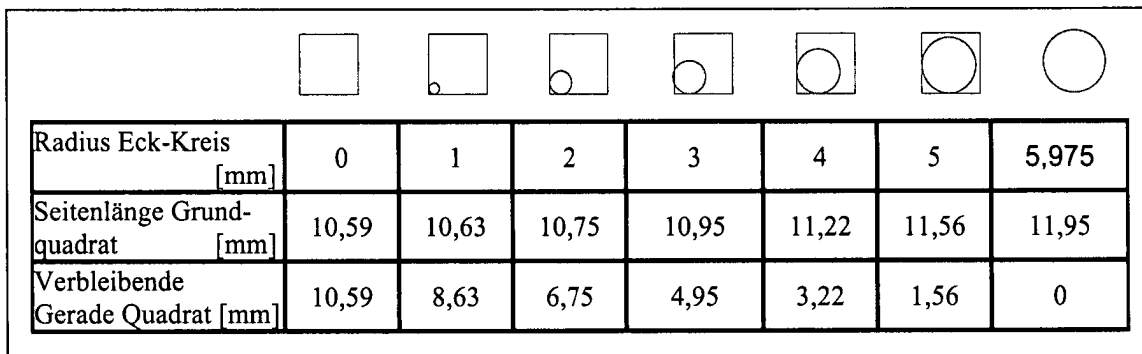


Fig. 2

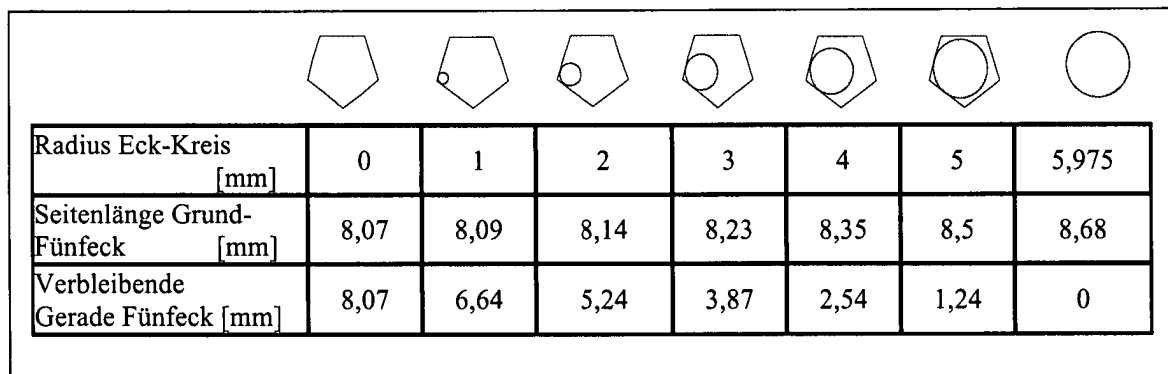


Fig. 3

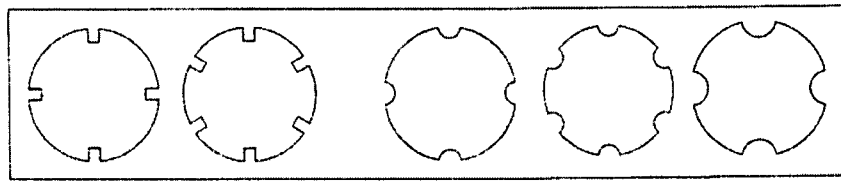


Fig. 4

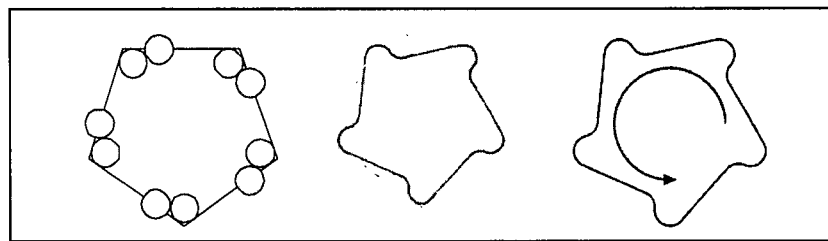


Fig. 5

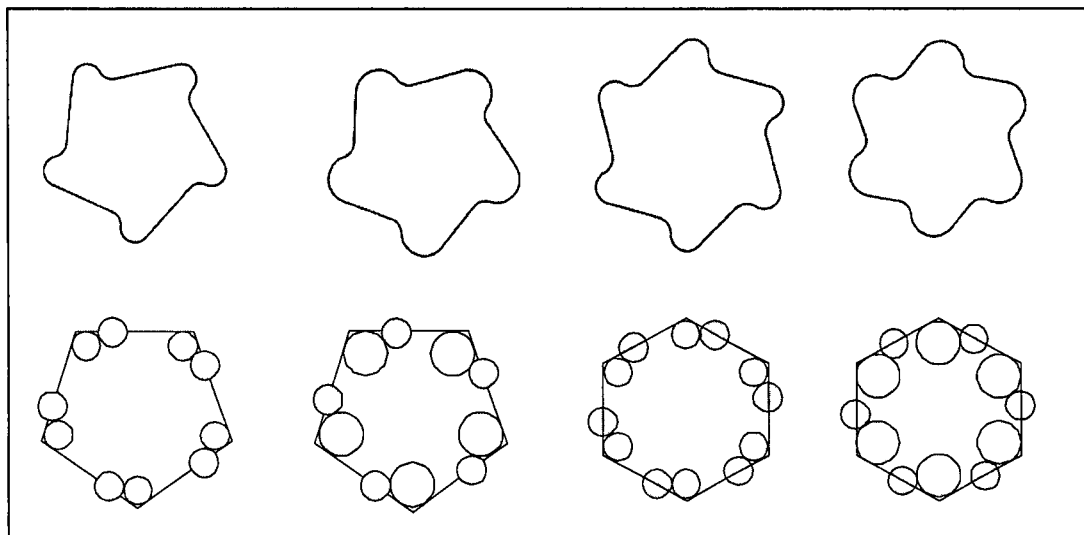


Fig. 6

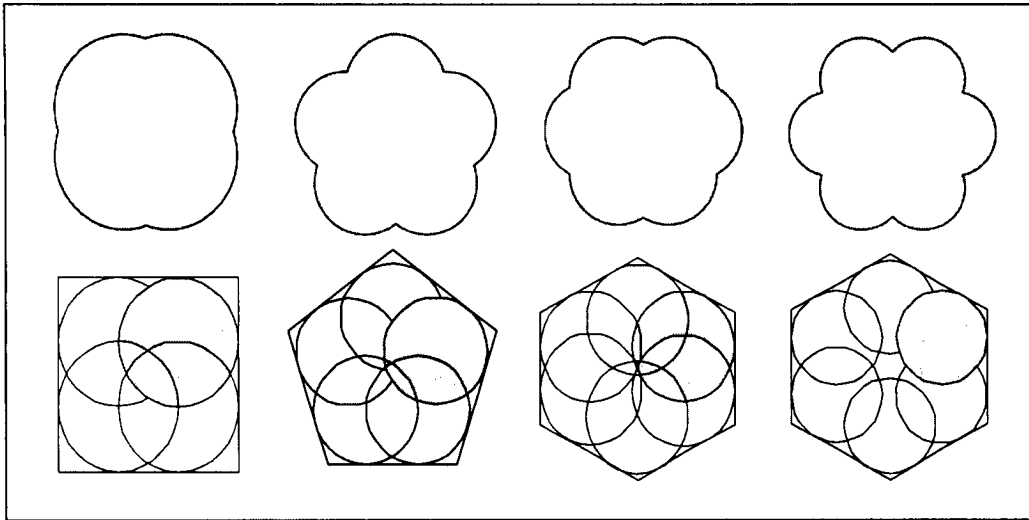


Fig. 7

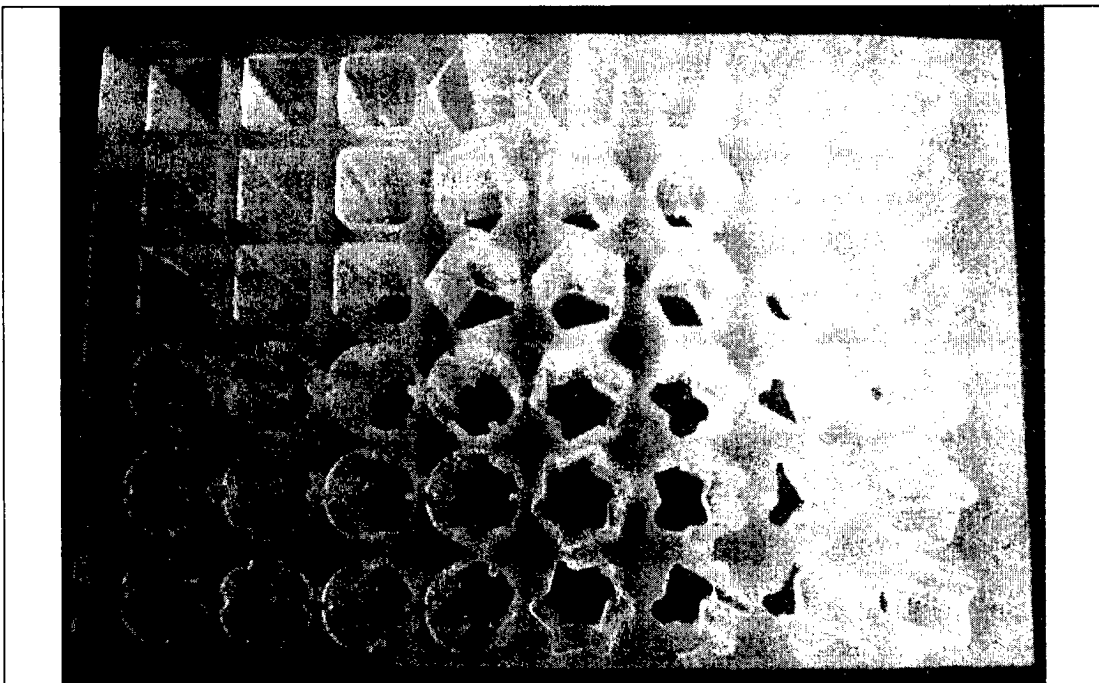


Fig. 8

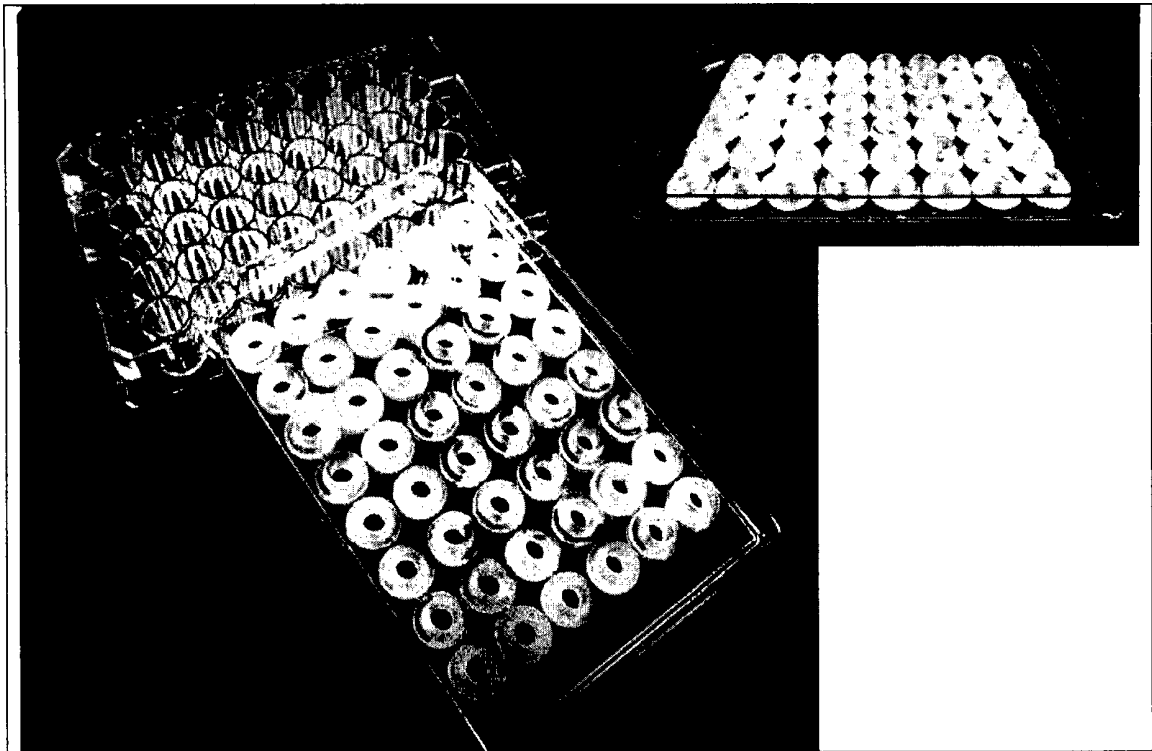


Fig. 9

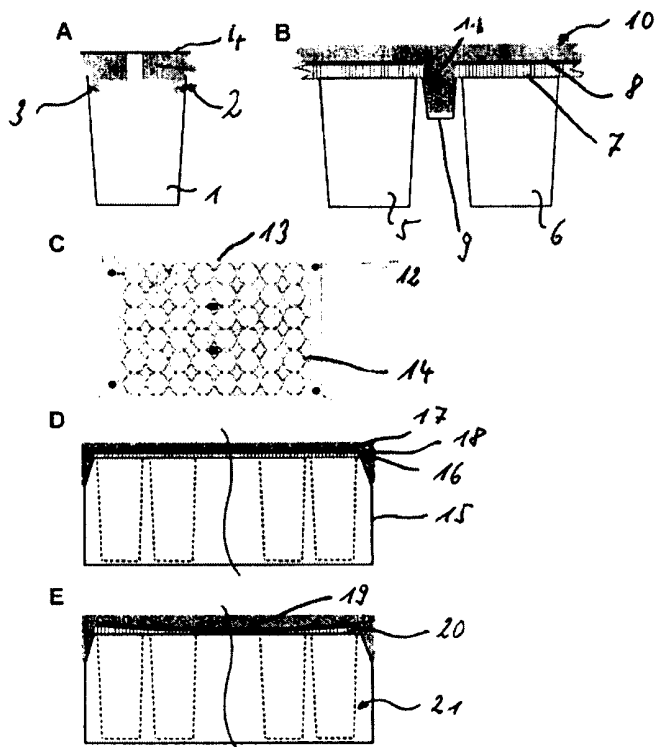


Fig. 10

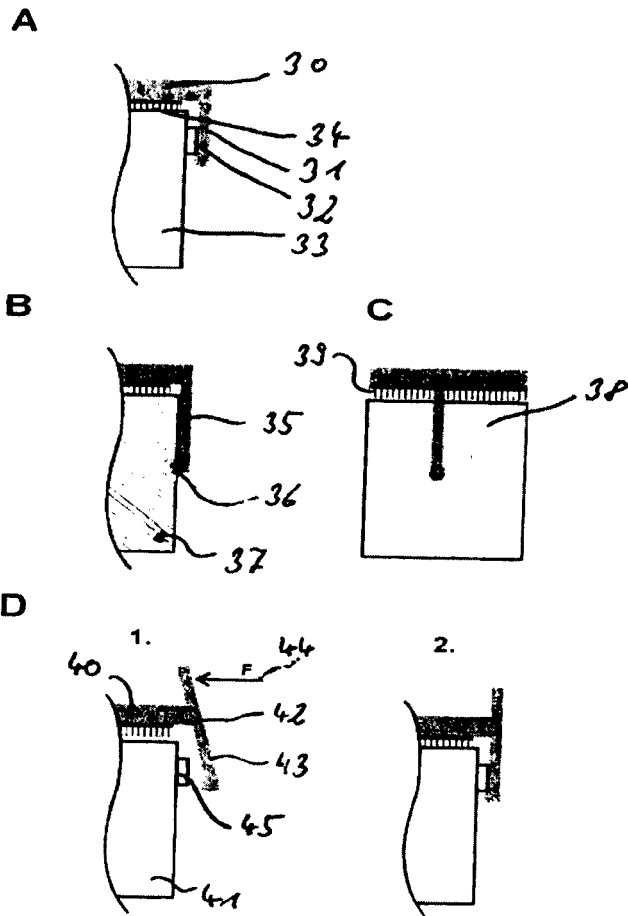
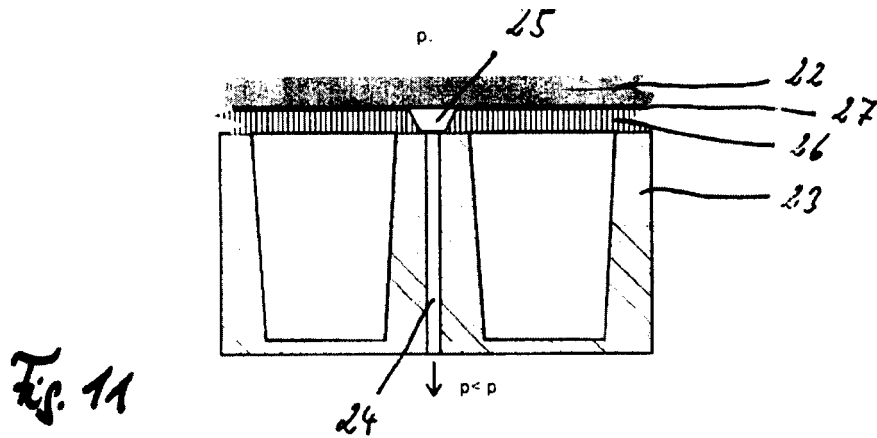


Fig. 12

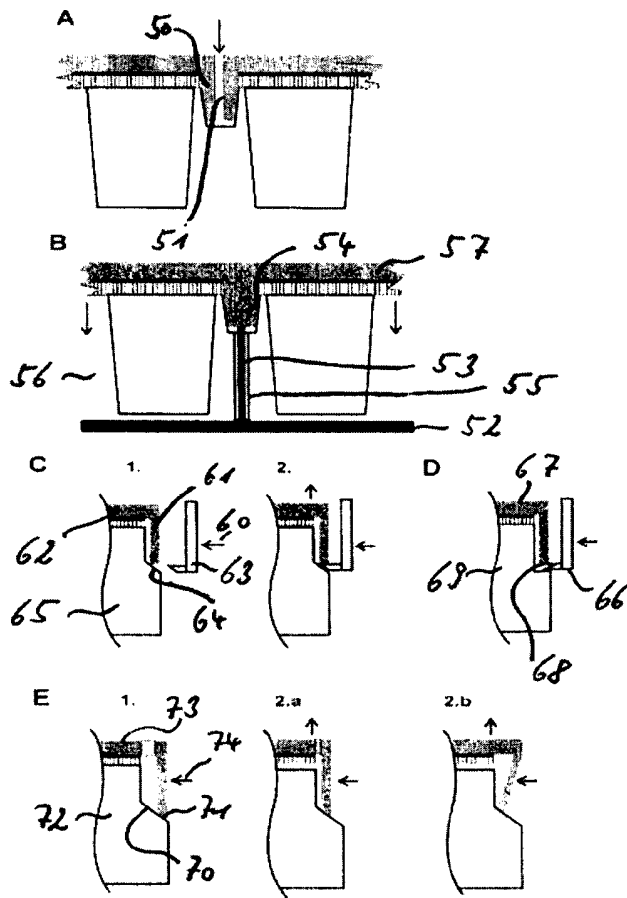


Fig. 13

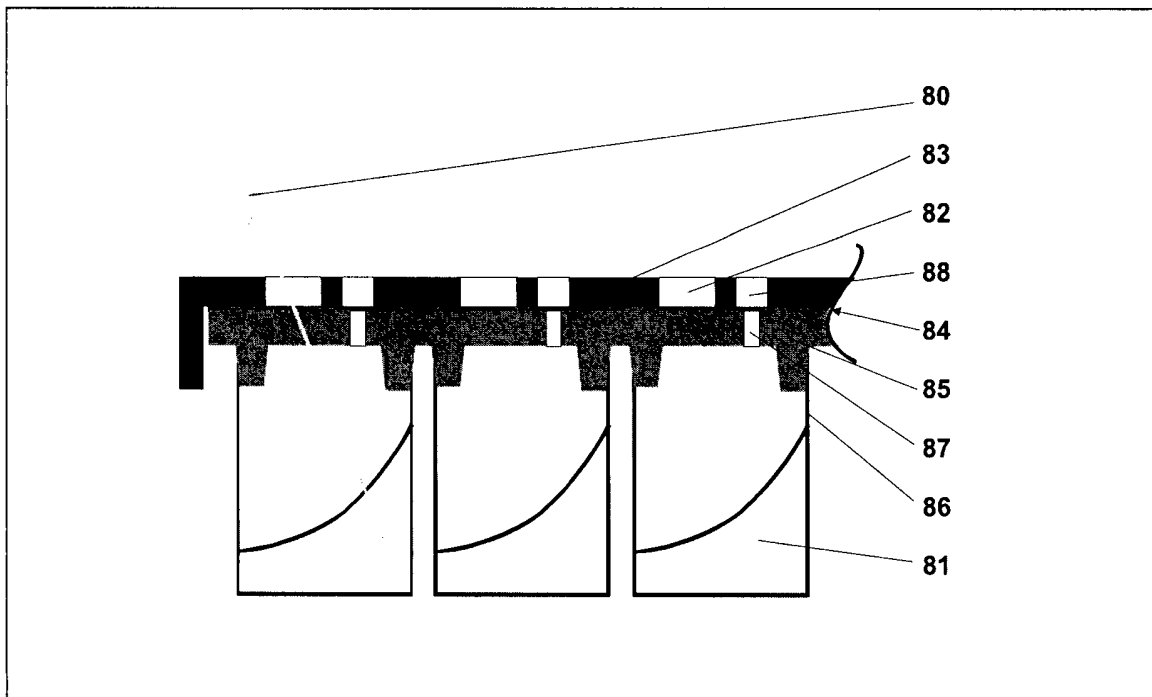


Fig. 14

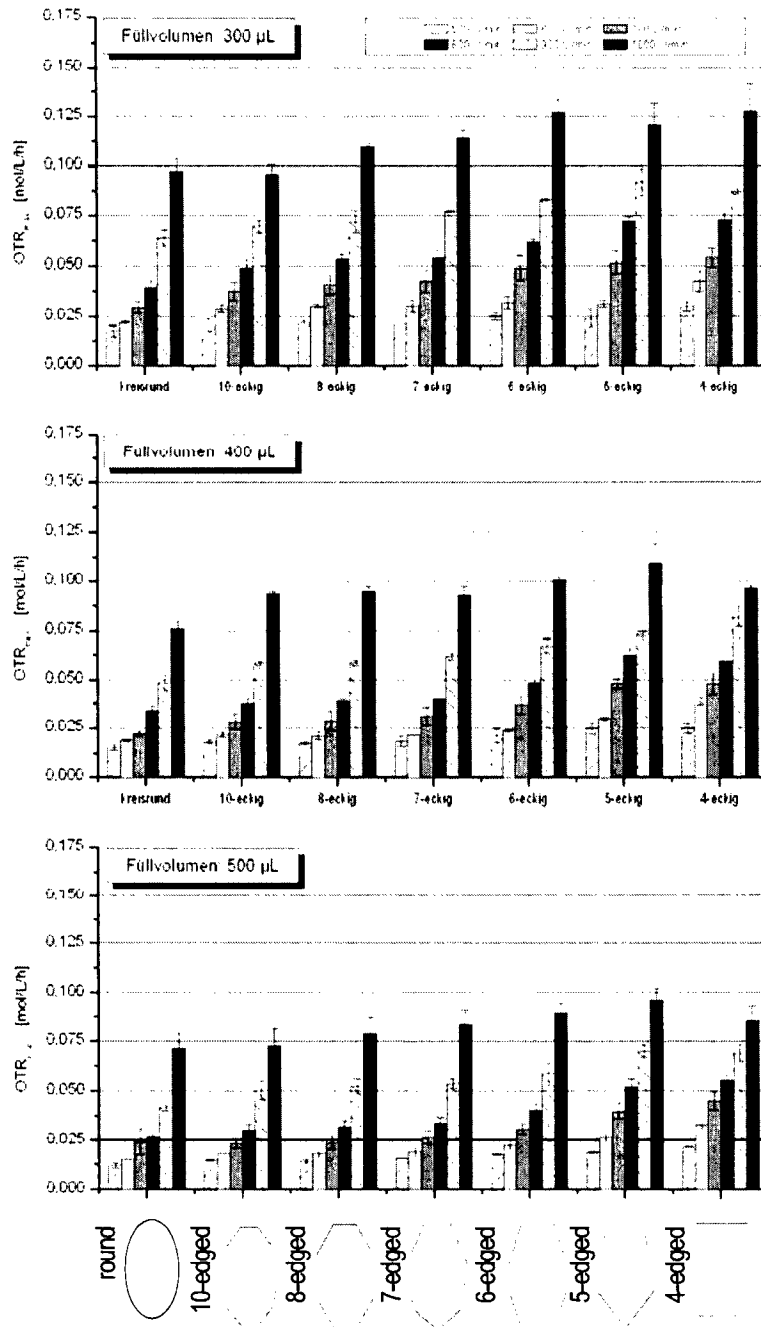


Fig. 15

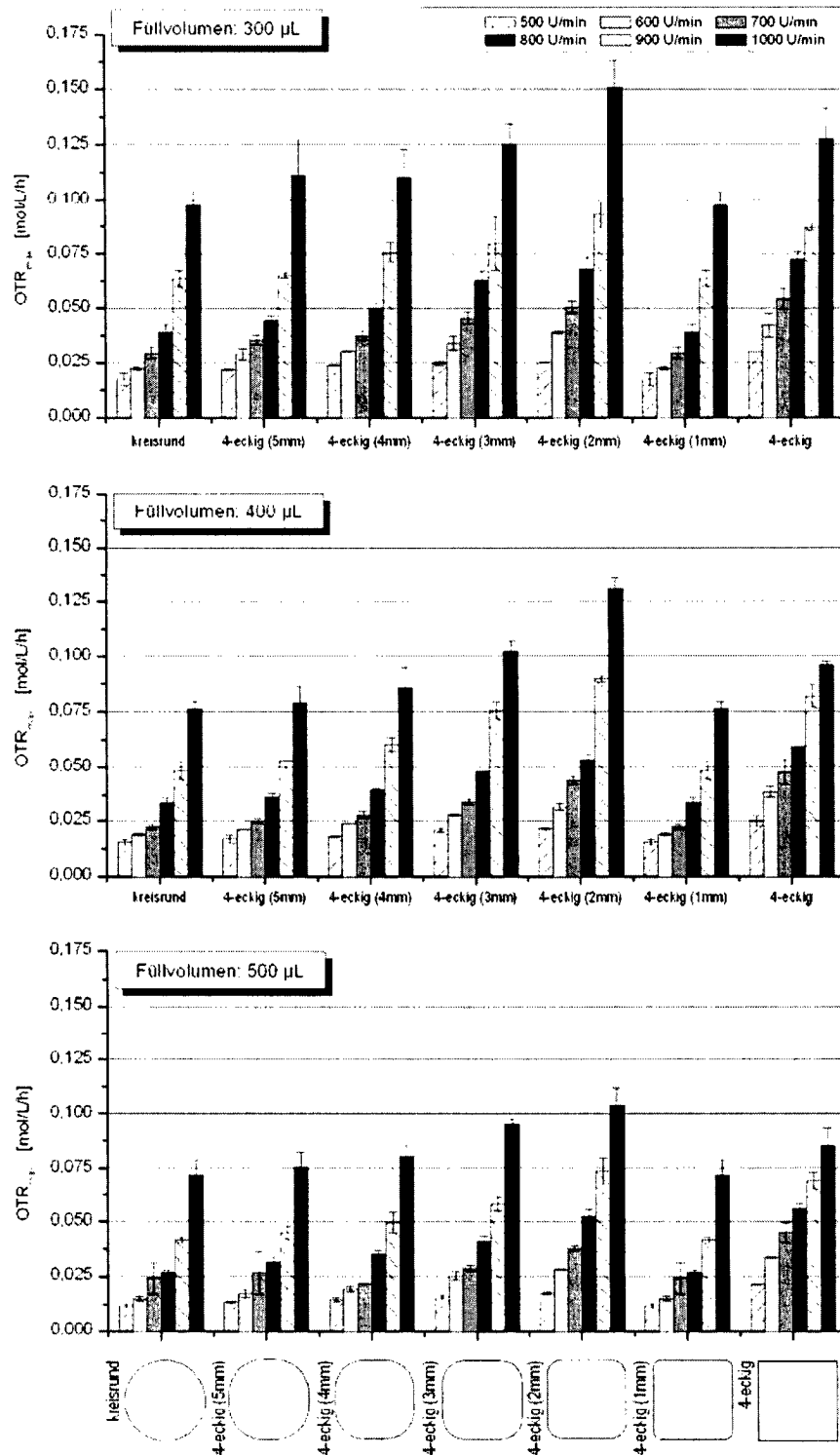


Fig. 16

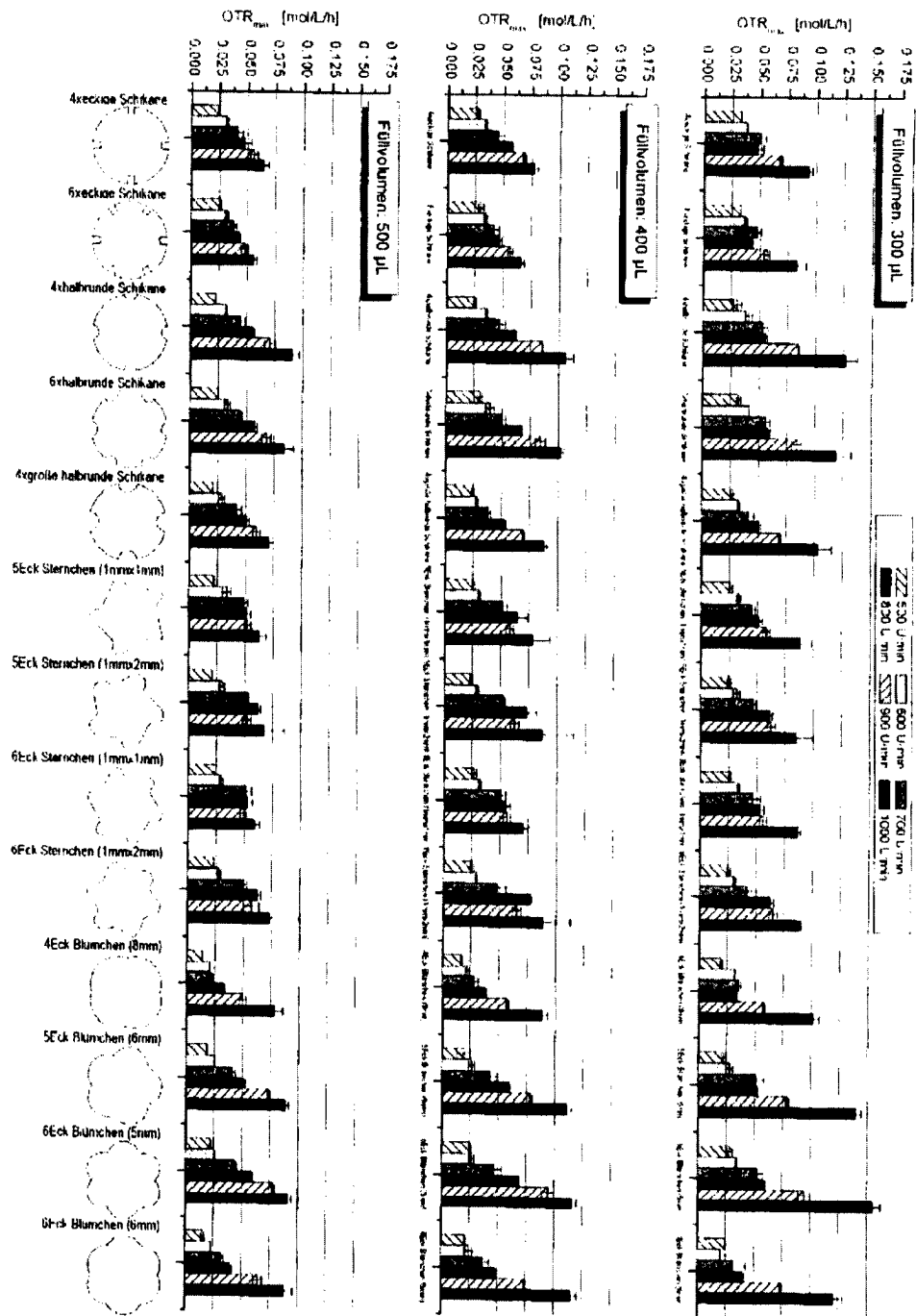


Fig. 17

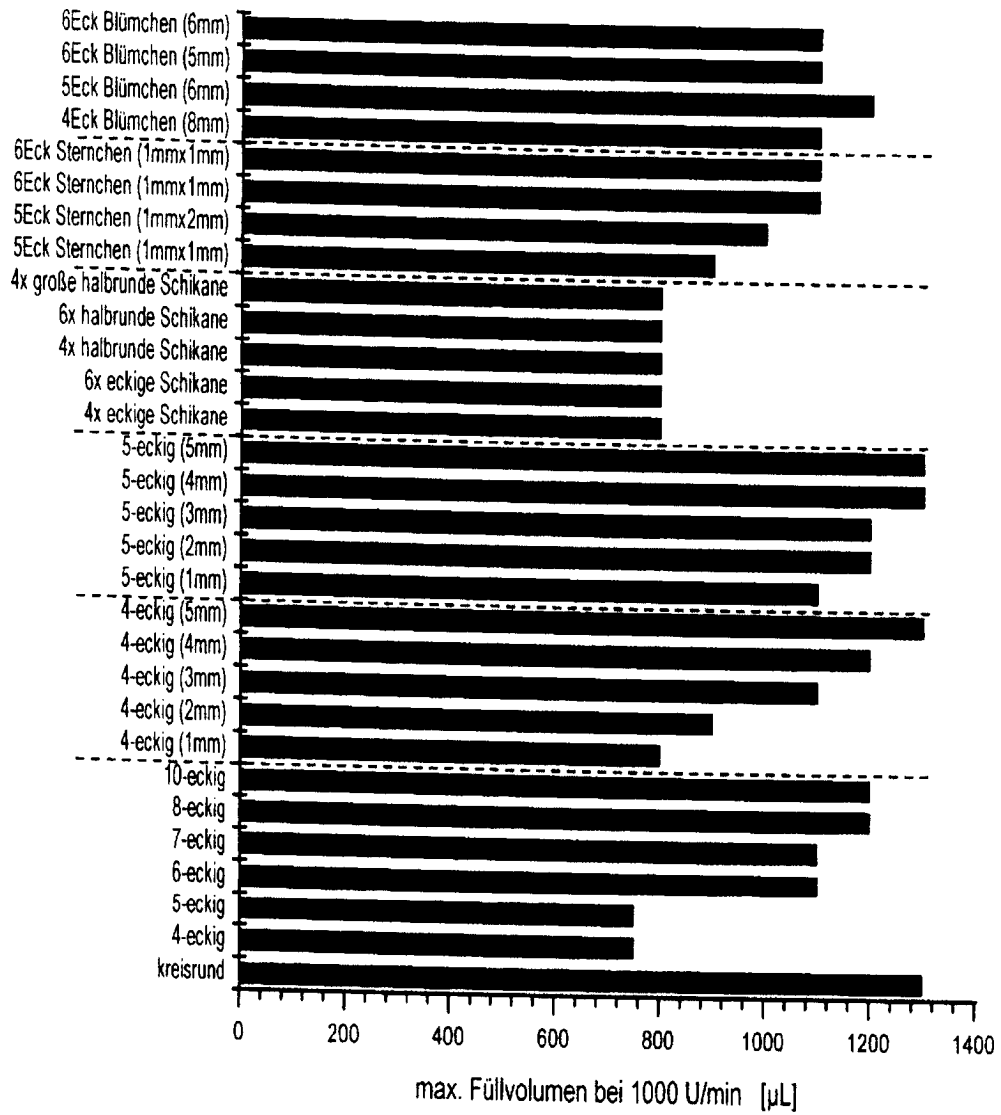


Fig. 18

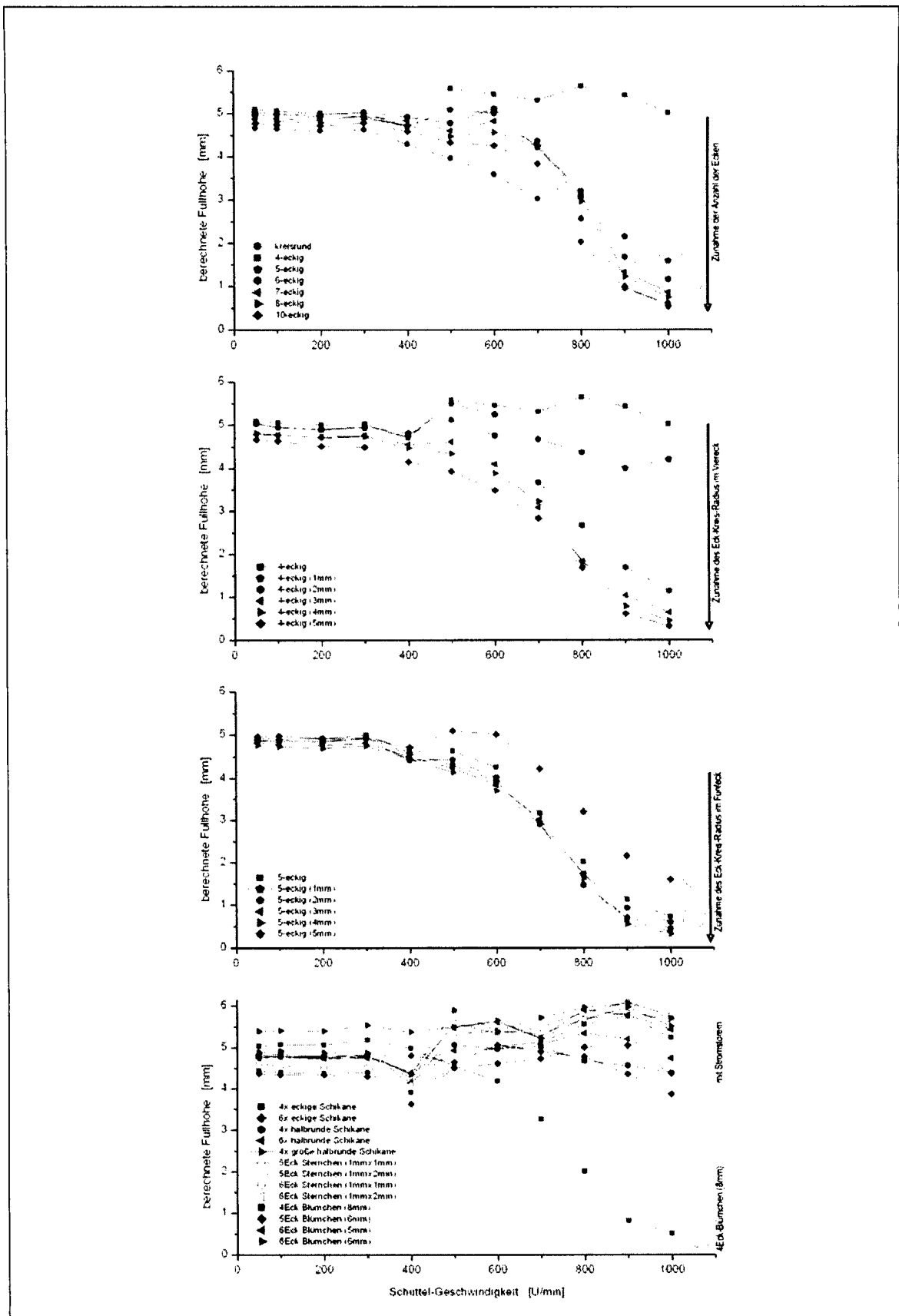


Fig. 19