



SCHWEIZERISCHE Eidgenossenschaft
Eidgenössisches Institut für Geistiges Eigentum

(11) **CH 708 178 A2**

(51) Int. Cl.: **C12M 1/24 (2006.01)**

Patentanmeldung für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

(12) **PATENTANMELDUNG**

(21) Anmeldenummer: 01034/13

(71) Anmelder:
ROOTEC bioactives AG, Benkenstrasse 254B
4108 Witterswil (CH)

(22) Anmeldedatum: 30.05.2013

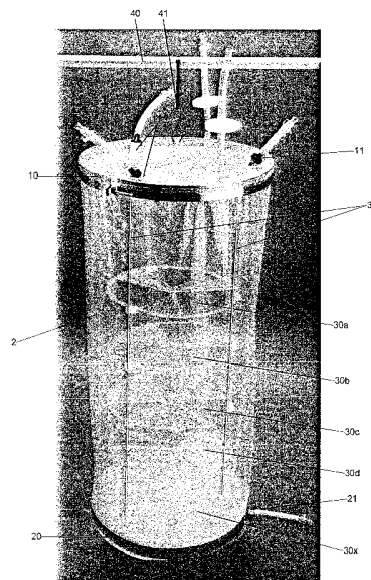
(72) Erfinder:
Alicia Idoux, 4104 Oberwil (CH)
Philipp Steiger, London, W114JU (GB)
Jost Harr, 4104 Oberwil (CH)

(43) Anmeldung veröffentlicht: 15.12.2014

(74) Vertreter:
Industrieberatung Maier AG, Gewerbestrasse 10
4450 Sissach (CH)

(54) **Bioreaktor zur Gewinnung sekundärer Pflanzeninhaltsstoffen.**

(57) Es wird ein Bioreaktor 1 zur Gewinnung sekundärer Pflanzen-Inhaltsstoffe vorgestellt. Dieser besteht aus einer beutelförmigen, flexiblen Hülle 2, welche oben durch einen formstabilen Deckel 10 und unten durch einen formstabilen Boden 20 abgeschlossen ist. Im Innern, innerhalb der Hülle 2, ist mindestens eine feste Trägerplatte 30 mittels einer am Deckel (10) befestigten Aufhängung 31 frei hängend angeordnet. Der Bioreaktor 1 kann über Sprühdüsen 11 im Deckel 10 mit Nährstoffen und Gasen beaufschlagt werden. Ein Auslass 21 im Boden 20 ist für den Abfluss der verbleibenden Nährstoffflüssigkeit und dem gewünschten metabolischen Produkt vorgesehen. Der Bioreaktor 1 mit dem ganzen Inhalt ist zusammenlegbar.



Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft einen Bioreaktor zur Gewinnung sekundärer Pflanzeninhaltsstoffen gemäss Oberbegriff des Patentanspruchs 1.

[0002] Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist eine verbesserte Vorrichtung nach dem in DE 10 016 554 A1 dargestellten Stand der Technik. Das Scale-up einer kleinen Anlage ist schwierig, da die inhomogenen und nicht zu durchmischenden Gewebekulturen in grösseren Anlagen die Versorgung mit Nährstofflösung erschweren. Aufwand und Risiko eines Scale-up sind sehr gross. Zudem ist man mit grösseren Anlagen nicht mehr flexibel. Deshalb wird das in WO 03 029 444 A2 detailliert beschriebene Verfahren mit Vorteil mittels einer Vielzahl relativ kleiner Bioreaktoren durchgeführt.

[0003] Die Praxis hat gezeigt, dass die Durchführung des Prozesses mit der in obiger Anmeldung vorgestellten Vorrichtung teuer ist und den gewünschten Prozess nicht effizient ablaufen lässt. So ist z.B. der Zeitaufwand nach jedem Einsatz sehr gross. Die Vorrichtung muss demontiert, gereinigt und in einem Autoklaven entkeimt werden, damit das Gerät für den erneuten Einsatz bereit ist. Da aus oben beschriebenen Gründen eine Vielzahl solcher Vorrichtungen im Einsatz sind, steht der Aufwand in keinem Verhältnis zum Ertrag. Das vorgestellte Verfahren wird mangels Wirtschaftlichkeit der bekannten Vorrichtung deshalb bis heute nicht eingesetzt.

[0004] Die in DE 10 016 554 A1 vorgestellte Vorrichtung ist die Basis der vorliegenden Erfindung, sie weist aber für die Effizienz des Verfahrens nachteilige Eigenschaften auf:

- Die Vertikal angeordneten Trägerplatten begünstigen den vertikalen Strom im Bioreaktor. Obwohl das Nährstofflösung/Gasgemisch horizontal eingebracht wird, gehen zu viele Teile der Nährstofflösung direkt nach unten, ohne die auf den Trägerplatten angesiedelten Organkulturen zu nähren. Dies hat zur Folge, dass viele Kreisläufe notwendig sind, um die Pflanzen mit Nährstoff zu versorgen.
- Die in den Zwischenadaptern zentral oder peripher angeordneten Sprühdüsen ermöglichen das Einbringen Nährstofflösung/Gasgemisch an gleichen Stellen und in gleicher Richtung. Die Organkulturen werden dadurch stellenweise übermässig benetzt, was das Wachstum derselben behindert.
- Ferner werden die auf den unteren Trägerplatten angesiedelten Organkulturen durch das Abtropfen von den oberen Trägerplatten massiv überbenetzt, was deren Wachstum zusätzlich behindert.

[0005] Die vorliegende Erfindung stellt sich nunmehr die Aufgabe, einen Bioreaktor zur Gewinnung sekundärer Pflanzeninhaltsstoffen der eingangs genannten Art derart zu verbessern, dass eine gleichmässigerer Verteilung der versprühten Nährstofflösung ein besseres Wachstum der Organkulturen ermöglicht und damit die Wirtschaftlichkeit verbessert.

[0006] Diese Aufgabe löst ein Bioreaktor mit den Merkmalen des Patentanspruches 1. Weitere Merkmale und Ausführungsbeispiele gehen aus den abhängigen Ansprüchen hervor und deren Vorteile sind in der nachfolgenden Beschreibung erläutert.

[0007] In der Zeichnung zeigt:

- Fig. 1 Bioreaktor
- Fig. 2 Boden, Trägerplatten und Deckel
- Fig. 3 Prinzipielle Seitenansicht Trägerplatte
- Fig. 4 Prinzipielle Aufsicht Trägerplatte
- Fig. 5 Aufsicht Trägerplatte a
- Fig. 6 Aufsicht Trägerplatte b
- Fig. 7 Aufsicht Trägerplatte c
- Fig. 8 Aufsicht Trägerplatte d
- Fig. 9 Aufsicht Trägerplatte x
- Fig. 10 Faltsystem am Bioreaktor
- Fig. 11 Faltlinien
- Fig. 12 Faltgeometrie

[0008] Die Figuren stellen mögliche Ausführungsbeispiele dar, welche in der nachfolgenden Beschreibung erläutert werden.

[0009] Die Kultivierung von Zellen zur Herstellung von Zellmaterial, insbesondere von metabolischen Produkten dieser Zellen gewinnt an Bedeutung. Die chemische Synthese solcher Produkte ist häufig unwirtschaftlich, schwierig oder gar

unmöglich. Für pflanzliche Organkulturen [transformierte Wurzelhaar- (Hairy root), Wurzel- oder Sprosskulturen (shooby teratomas)] bedarf es spezieller Vorrichtungen. Die Grundlagen für solche Geräte sind in DE 10 016 554 A1 offenbart.

[0010] Um den Prozess im Bioreaktor 1 (Fig. 1) effizienter und damit wirtschaftlicher zu machen, wurde die vorgestellte Erfindung entwickelt. Sie unterscheidet sich massgeblich von bekannten Konstruktionen. Form und Anordnung der Trägerplatten 30 wurden im Zusammenhang mit dem Einsprühwinkel der Nährstoff/Gasmischung über die Sprühdüsen 11 mittels numerischer Strömungssimulation (CFD computational fluid dynamics) ausgelegt, um eine möglichst gleichmässige Versorgung aller im Bioreaktor angesiedelten Organkulturen zu gewährleisten.

[0011] Im Laborversuch und in den Berechnungen wurden fünf Trägerplatten 30a-x eingesetzt, weshalb beispielhaft die Anordnung mit fünf Trägerplatten 30a-x beschrieben wird. Je nach Anwendung können jedoch weniger oder mehr Trägerplatten eingesetzt werden.

[0012] Der formstabile Deckel 10 bildet zusammen mit der flexiblen Hülle 2 und dem formstabilen Boden 20 das Gefäss. Die Trägerplatten 30a-30x sind innerhalb dieses Gefässes mittels einer Aufhängung 31 am Deckel 10 eingehängt. Die Aufhängung 31 besteht aus mindestens drei flexiblen Fäden genügender Festigkeit an welchen die Trägerplatten 30a-30x befestigt sind. Das Volumen dieses Bioraktors 1, kann mit allem Inhalt durch Verwindung und Einbeulung auf mindestens einen Fünftel reduziert werden (Fig. 10-12, «Twist Bückling Principe» nach Hunt,G. and Ario,I (2004) «Twist buckling and the foldable cylinder: an exercise in Origami». International Journal of Non-Linear Mechanics, 40(6), p.833-843). In Fig. 10 wird das Falprinzip am Bioreaktor 1 gezeigt. In Fig. 11 zeigt im Detail das Prinzip, wonach die im Faltbereich die ausgezogenen Striche die nach aussen gefalteten und die unterbrochenen Striche die nach innen gefalteten Linien zeigen. Die Fig. 12 zeigt das geometrische Prinzip der Faltung, welche nach dieser Formel vor sich geht.

$$\sin\gamma = \sin(\alpha + \beta) = \frac{nL \sin\alpha}{2\pi R \sin\beta}$$

[0013] Der Sinn dieses reglementierten Falprozesses ist der Erhalt der Dichtheit der Hülle, auch nach dem für Lagerung und Transport wichtigen Falten und vor allem nach dem Entfalten. In zusammengefalteter Form werden die Bioreaktoren 1 nämlich steril geliefert und gelagert, bis sie für den Einsatz entfaltet werden.

[0014] Die Trägerplatten 30 (Fig. 3-7) haben denselben Aussendurchmesser 34. Von diesem Aussendurchmesser 34 zu den Zentralbohrungen 33a-33x sind sie konisch (Fig. 3), so dass die Zentralbohrungen 33a-33x immer tiefer liegen, als die Aussendurchmesser 34. Grund dafür ist der gewollte Ablauf der Flüssigkeit über die Kreissegmente 32a-32x hin zum Zentrum. Im Zentrum tropft die Flüssigkeit dann durch die Zentralbohrungen 33a-33x ab. Die Zentralbohrung 33b der Trägerplatte 30b grösser als die Zentralbohrung 33a der darüber liegenden Trägerplatte 30a. Diese Gesetzmässigkeit setzt sich fort bis zur Zentralbohrung 33x der Trägerplatte 30x, welche den grössten Durchmesser aufweist. Daher tropft die den Nährstoff und das erwünschte metabolische Produkt tragende Flüssigkeit ab, ohne die auf der darunter liegenden Trägerplatte angesiedelten Organkulturen zu benetzen oder darauf zu tropfen.

[0015] Die Trägerplatten 30a-30x weisen alle denselben Aussendurchmesser 34 auf. Alle Trägerplatten 30a-30x sind an mindestens drei Punkten mit der Aufhängung 31 verbunden. Diese Aufhängung 31 besteht aus flexiblen Fäden angemessener Festigkeit und ist am formstabilen Deckel 10 befestigt. Die Trägerplatten 30a-30x hängen in den Bioreaktor, wobei die unterste Trägerplatte 30x den formstabilen Boden 20 nicht berührt.

[0016] Grösse, Ausgestaltung und Orientierung der Kreissegmente 32a-32x und der Einlasswinkel der Sprühdüsen 11 wurden mittels numerischer Strömungssimulation (CFD) festgelegt. Eine der gefundenen Anordnungen ist in Fig. 2 sichtbar. Versuche haben gezeigt, dass die erfindungsgemässe Auslegung viel effizienter arbeitet und dadurch die Ausbeute (yield) höher wird, wenn das Nährstoff/Gasgemisch in einer Art Spiralnebel in den Bioreaktor 1 eingesprüht wird. Es hat sich auch gezeigt, dass der Einlass über drei Sprühdüsen 11 im Winkel von 30-60°, vorzugsweise 40-50° Grad optimal ist.

[0017] Die Kreissegmente 32a der obersten Trägerplatte 30a nehmen den kleinsten und die Kreissegmente 32x der Trägerplatte 30x den grössten Anteil der Kreisfläche ein. Die Erkenntnisse aus Entwicklungs-Versuchen haben gezeigt: Wenn der Anteil der Fläche, welche den Organkulturen zu Beginn des Prozesses Halt geben in der obersten Trägerplatte 30a klein gehalten wird und sich über die darunter liegenden Trägerplatten 30b - 30d bis zur untersten Trägerplatte 30x vergrössert, wird die beste Ausbeute erzielt.

[0018] Der Boden 20 ist zum Auslass 21 hin geneigt, so dass sich die Flüssigkeit immer in der Nähe des Auslasses 21 sammelt.

Patentansprüche

1. Bioreaktor (1) zur Gewinnung sekundärer Pflanzen-Inhaltsstoffen, bestehend aus einer beutelförmigen, flexiblen Hülle (2), welche oben durch einen formstabilen Deckel (10) abgeschlossen ist, wobei innerhalb der Hülle (2) mindestens eine feste Trägerplatte (30) in einer am Deckel (10) befestigten Aufhängung (31) hängend angeordnet ist und die so gebildete Vorrichtung Zu- und Abführungen für flüssige Nährstoffe und Gase aufweist, dadurch gekennzeichnet, dass der Bioreaktor (1) unten einen formstabilen Boden (20) aufweist und Deckel (10), Hülle (2) und Boden (20), mit den horizontal angeordneten Trägerplatten (30) und deren Aufhängung (31), eine zusammenlegbare Vorrichtung

CH 708 178 A2

bilden, wobei Hülle (2), Deckel (10) und Boden (20) ein nur durch vorgesehene Ein- und Auslässe durchbrochenes, dichtes Gefäss bilden.

2. Vorrichtung gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass alle Trägerplatten (30a-30x) im Zentrum Zentral-Bohrungen (33a-33x) unterschiedlicher Dimension, aber Aussendurchmesser (34) gleicher Dimension aufweisen.
3. Vorrichtung gemäss Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Zentralbohrungen (33a-33x) mindestens 5mm tiefer liegen als die Aussendurchmesser (34) der Trägerplatten (30a-30x).
4. Vorrichtung gemäss Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Zentralbohrung (33a) der obersten Trägerplatte (30a) am kleinsten ist, und die Zentralbohrungen (33a-33x) im Durchmesser grösser werden, so dass die Zentralbohrung (33x) der Trägerplatte (30x) den grössten Durchmesser aufweist.
5. Vorrichtung gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass alle Trägerplatten (30a-30x) mindestens drei auf deren Umfang gleichmässig verteilte Kreissegmente (32a-32e) mit netzartiger Struktur aufweisen.
6. Vorrichtung gemäss Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass die beanspruchte Fläche des Kreissegments (32a) der obersten Trägerplatte (30a) am kleinsten ist und die Flächen der Kreissegmente (32a-32x) grösser werden, so dass die unterste Trägerplatte (30x) die grösste Fläche aufweist.
7. Vorrichtung gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sich der Boden(20) und die unterste Trägerplatte (30x) nicht berühren.
8. Vorrichtung gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Boden (20) einen Auslass (21) aufweist, wobei der Boden (20) zu diesem Auslass (21) hin nach unten geneigt ist und der Auslass (21) am untersten Punkt des Bodens angeordnet ist.

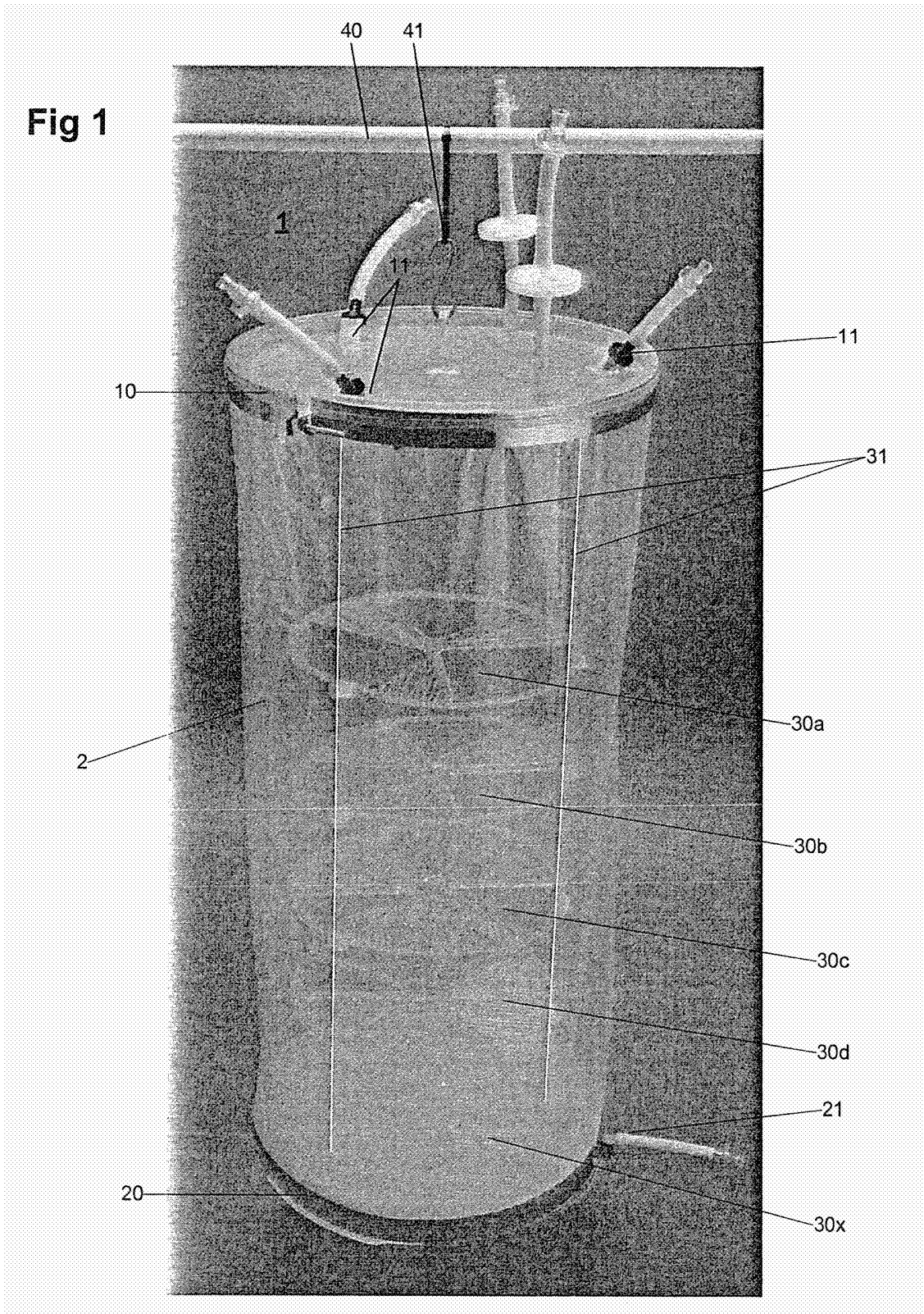


Fig 2

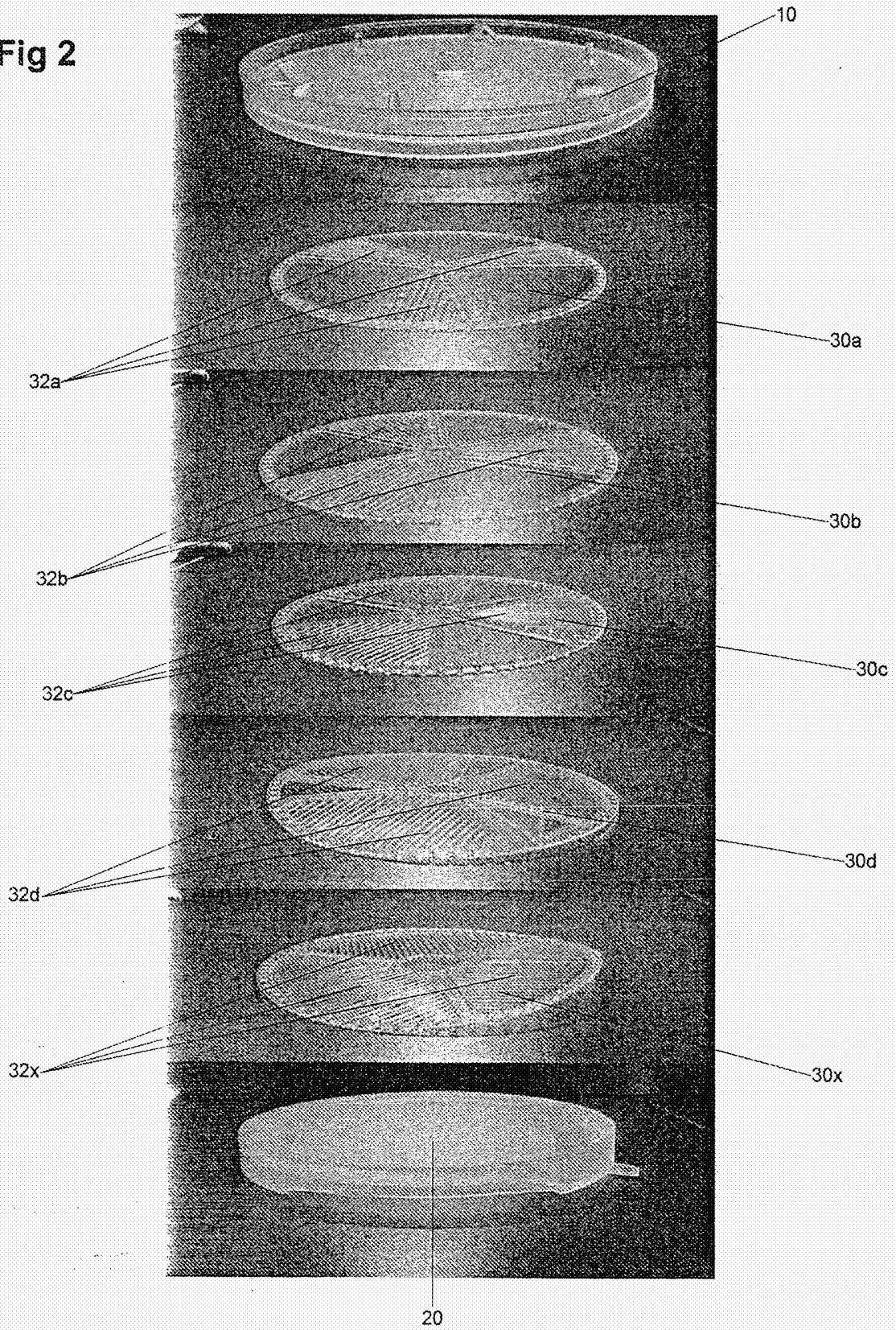


Fig 3

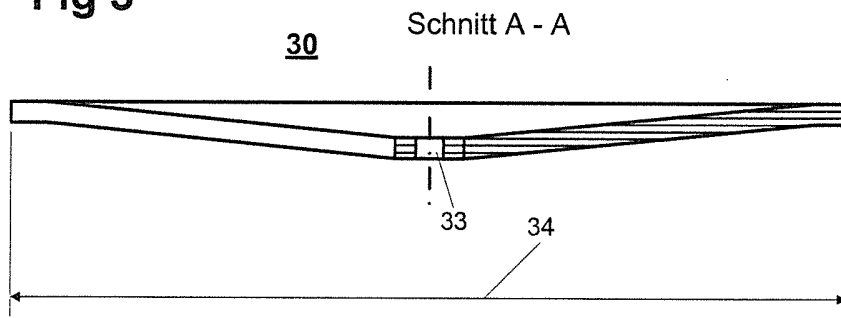


Fig 4

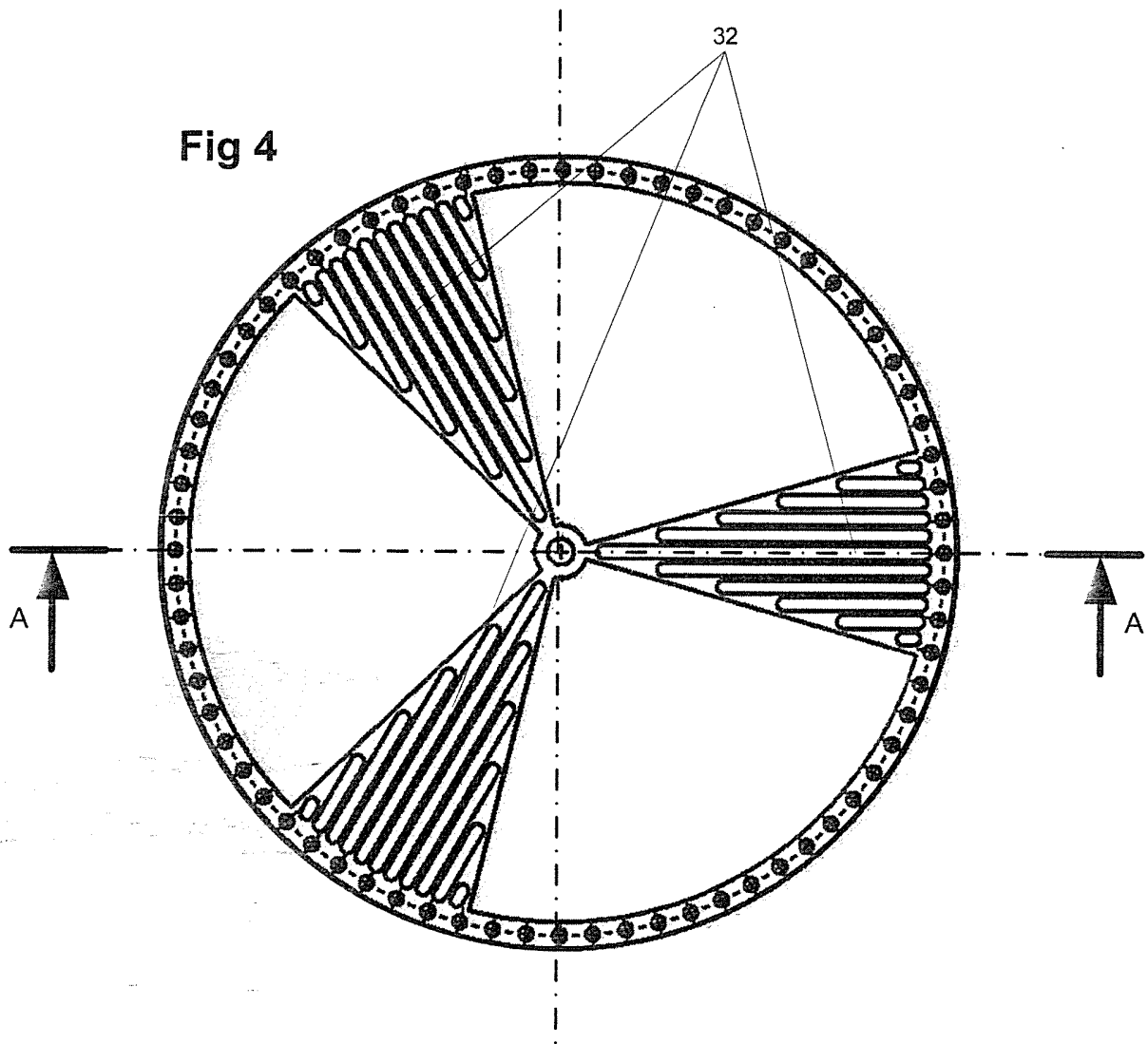


Fig 5

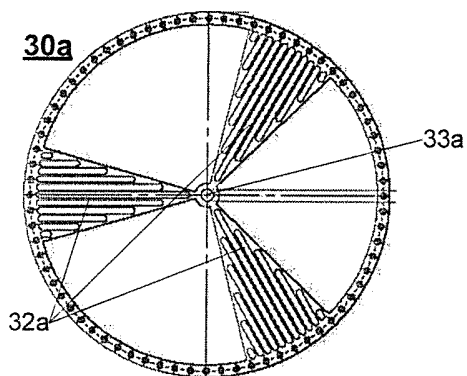


Fig 8

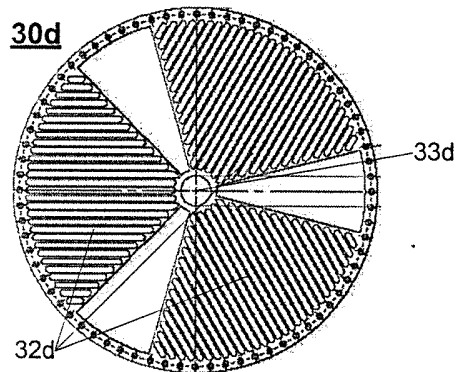


Fig 6

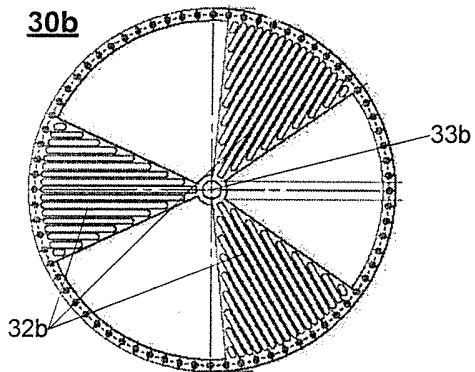


Fig 9

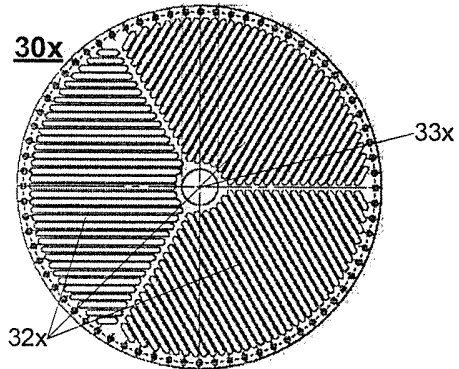


Fig 7

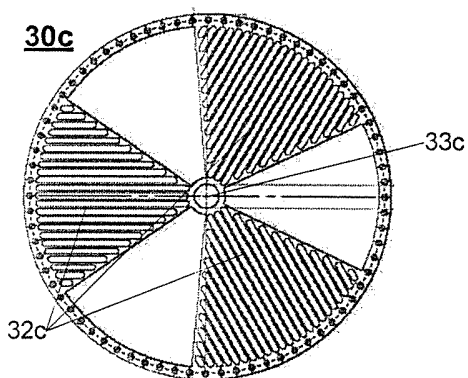


Fig 10

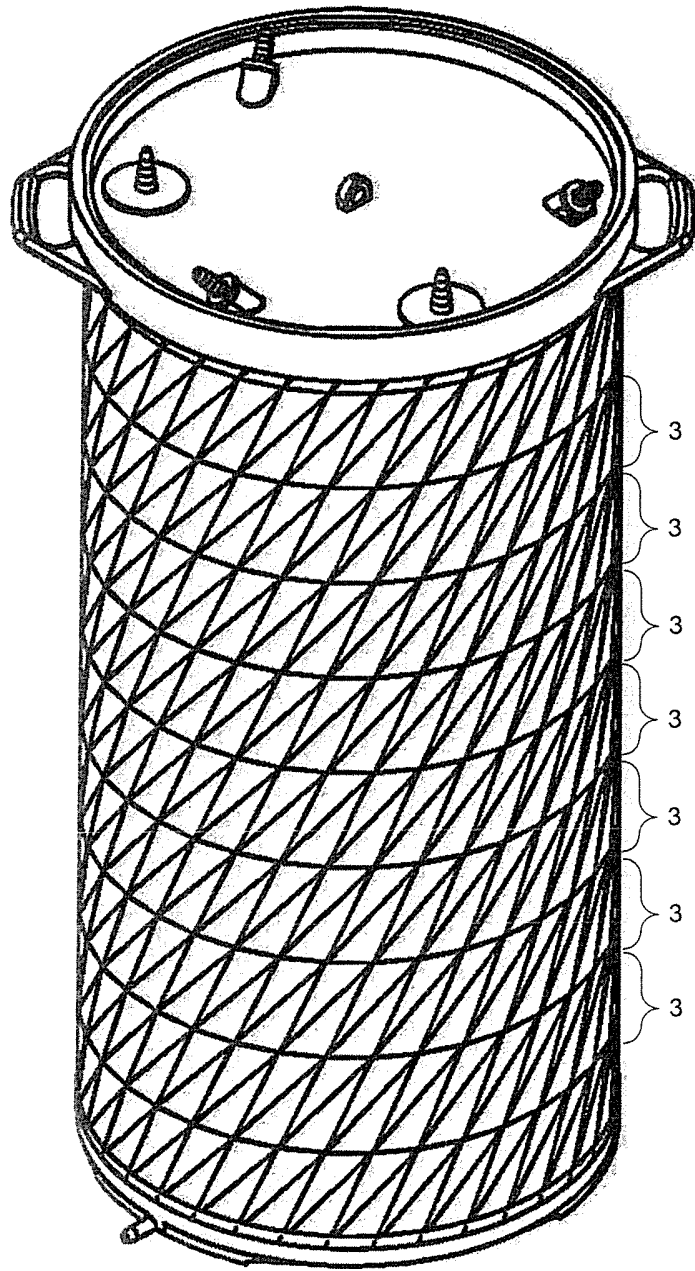


Fig 11

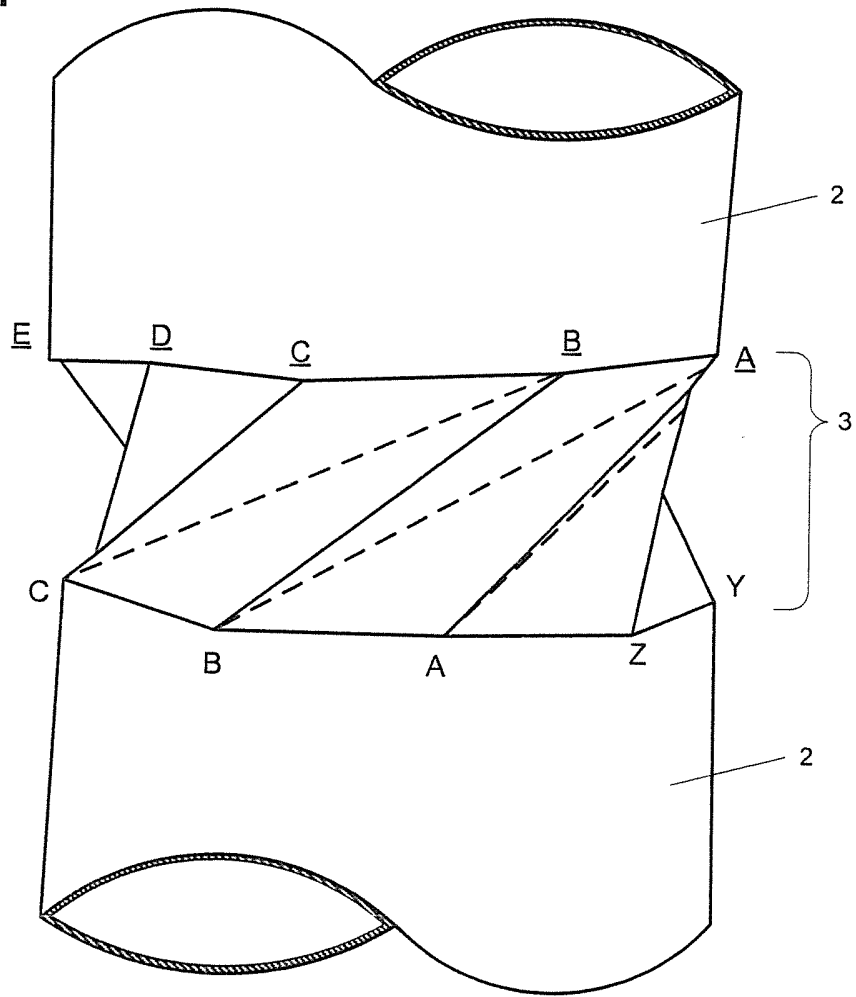


Fig 12

