

Entwicklung eines kombinierten Trennverfahrens aus dynamischer Cross-Flow-Filtration und Elektrofiltration – Untersuchungen auf makromolekularer Ebene.

1 Material und Methoden

Die Filtrationsversuche werden mit einem dynamischen Cross-Flow-Filter durchgeführt.

Bei der dynamischen Cross-Flow-Filtration wird die tangentielle Strömung über der Membran durch einen Scherfeldrührer erzeugt. Der Feedstrom und der Querstrom sind unabhängig voneinander regelbar und somit ist die Strömungsgeschwindigkeit über der Membran unabhängig vom Suspensionsvolumenstrom und dem angelegten Druck. Schematisch dargestellt ist dieses Prinzip in Abbildung 1.

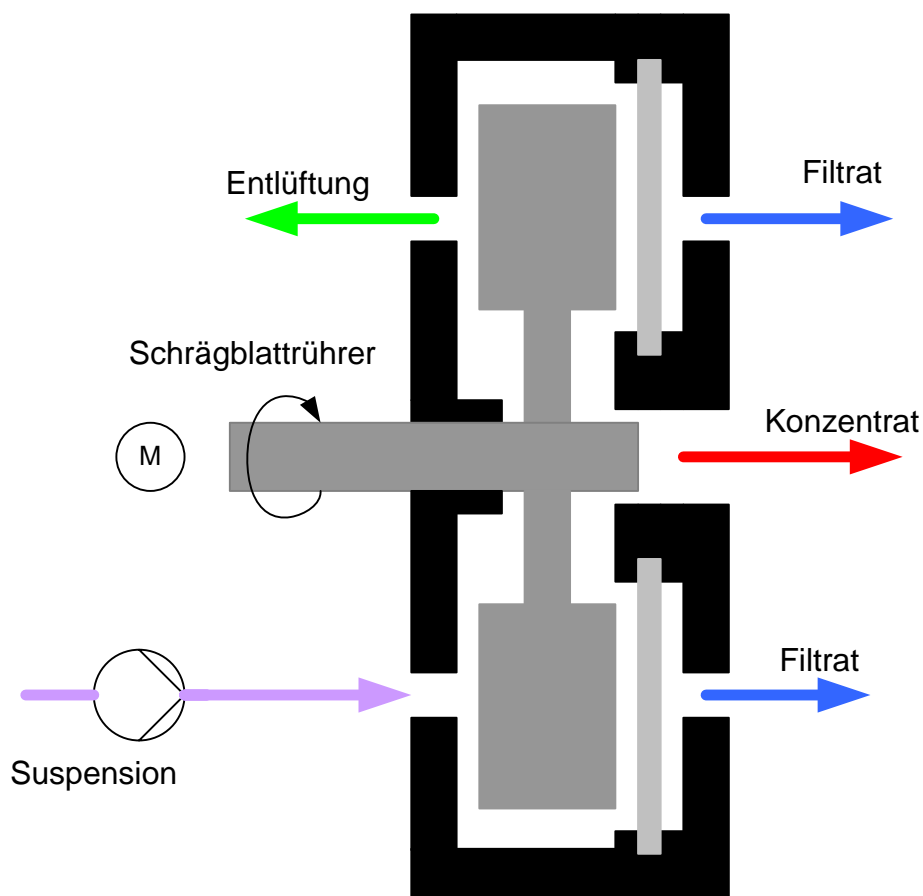


Abbildung 1: Prinzip der dynamischen Querstromfiltration

Das Scherfeld entsteht durch einen Schrägblattrührer mit jeweils um 45° versetzten Blättern, welcher in einem Abstand von 0,5 mm vor der Membran angebracht ist und dessen Drehzahl über einen Bereich von $0-2600\text{min}^{-1}$ variabel einstellbar ist. Es werden die Temperatur und der Druck im Verfahrensraum des Filters sowie das Drehmoment der Rührerwelle digital aufgezeichnet.

Als Biosuspensionen werden Hefezellen eingesetzt. Diese zeichnen sich durch eine gute Beschaffbarkeit, einen geringen Preis und vor allem durch hohe Widerstandsfähigkeit aus. Letzteres ist durch die hohe mechanische Belastung durch das Scherfeld des Rührers von entscheidender Bedeutung.

2 Ergebnisse

Ziel 1:

Untersuchung der Wirkung der Elektrophorese im dynamischen Cross-Flow-Apparat auf gelöste Makromoleküle

Maximale Eindickrate

Im Laufe eines Versuches steigt der Druck im Verfahrensraum durch eine Verblockung der Membran kontinuierlich an. Übersteigt der Druck einen Wert von 5,5 bar, so öffnet sich das Abschlämmventil und lässt eingedickte Hefesuspension ab, bis der Druck unter 5,5 bar sinkt. Eindickungen bis zur Fließgrenze der Suspension sind möglich (Abbildung 2).



Abbildung 2: eingedickte Hefesuspension am Abschlämmventil

Das abgelassene Retentat wird aufgefangen, gewogen und nach der Trocknung im Trockenschrank erneut gewogen.

Der Trockensubstanzgehalt errechnet sich mit

$$TS = 100\% - \frac{(Hefe_f - Hefe_t)}{Hefe_f} \quad (Gl.1) /PEU06/$$

Die zu erreichenden maximalen Feststoffgehalte liegen zum Teil über dem Feststoffgehalt der Backhefe, wie sie geliefert wird.

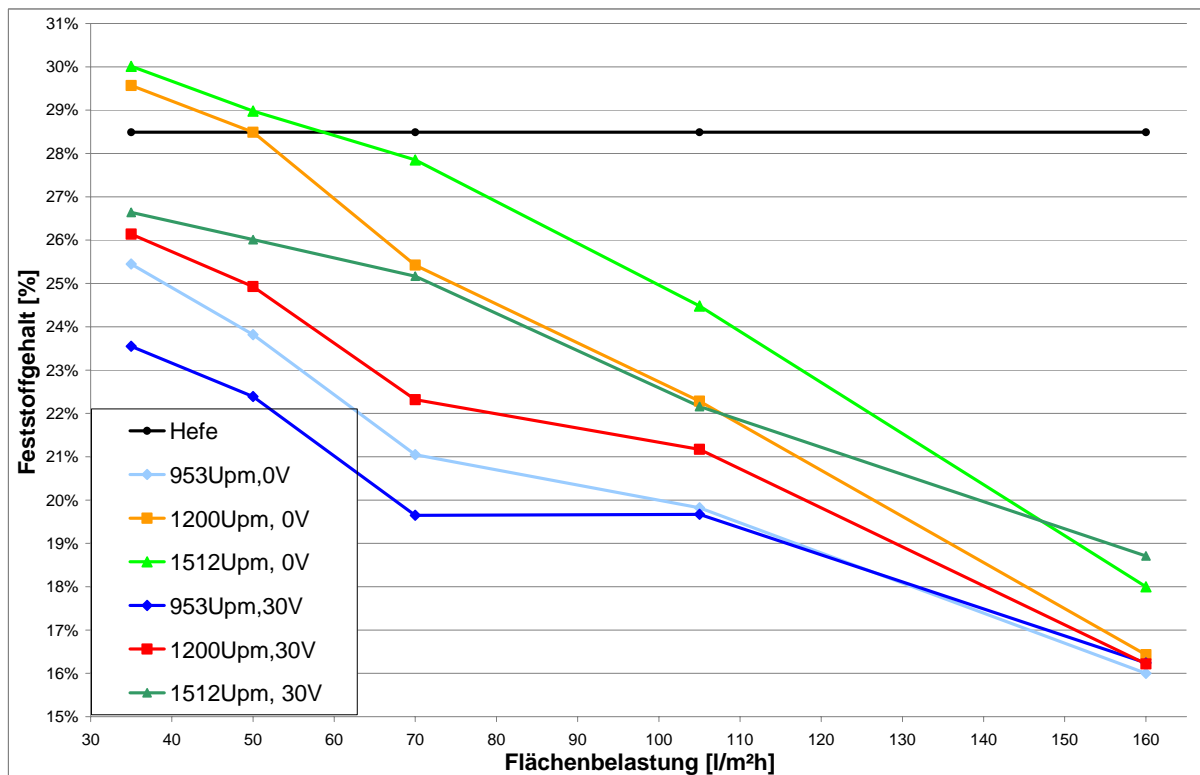


Abbildung 3: Vergleich der Feststoffgehalte

Der Vergleich der maximalen Eindickraten zeigt, dass eine starke Abhängigkeit von der auftretenden Flächenbelastung besteht. Die zu erreichenden Eindickraten mit angelegtem elektrischem Feld liegen sämtlich 1 – 3 Prozentpunkte unter den maximalen Feststoffgehalten ohne elektrisches Feld. Die elektrische Spannung führt zu einer Desagglomeration der Hefezellen, die zu einer Erniedrigung der Viskosität der Hefesuspension führt. Mit zunehmender Flächenbelastung nimmt der Einfluss des elektrischen Feldes ab, da die Strömungsgeschwindigkeit der zugeführten

Feedsuspension die elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit überlagert. Dadurch kommt es zu einem vorzeitigen Verblocken der Membran.

Drehmomentverlauf

Das Drehmoment, welches der Motor aufwenden muss, um die Querstromgeschwindigkeit aufrecht zu erhalten, wird durch den Frequenzumrichter aufgezeichnet. Das Drehmoment lässt Rückschlüsse auf den Zustand der Suspension im Verfahrensraum zu, da ein höheres Drehmoment durch einen höheren Widerstand hervorgerufen wird, d. h. der Motor muss mehr Arbeit leisten, um die gewünschte Drehzahl zu halten. Demnach muss bei einem höheren Drehmoment eine höhere Viskosität der Suspension vorliegen. Diese Abhängigkeit spiegelt sich in der Formel

$$F_s = 3\pi\eta d_p u \quad (\text{Gl.2) /STI95/}$$

mit

F_s = Strömungskraft [N]

η = Viskosität [Pas]

d_p = Partikeldurchmesser [m]

u = Strömungsgeschwindigkeit [$\frac{m}{s}$]

wider. Die benötigte Kraft wird größer, wenn die Viskosität zunimmt.

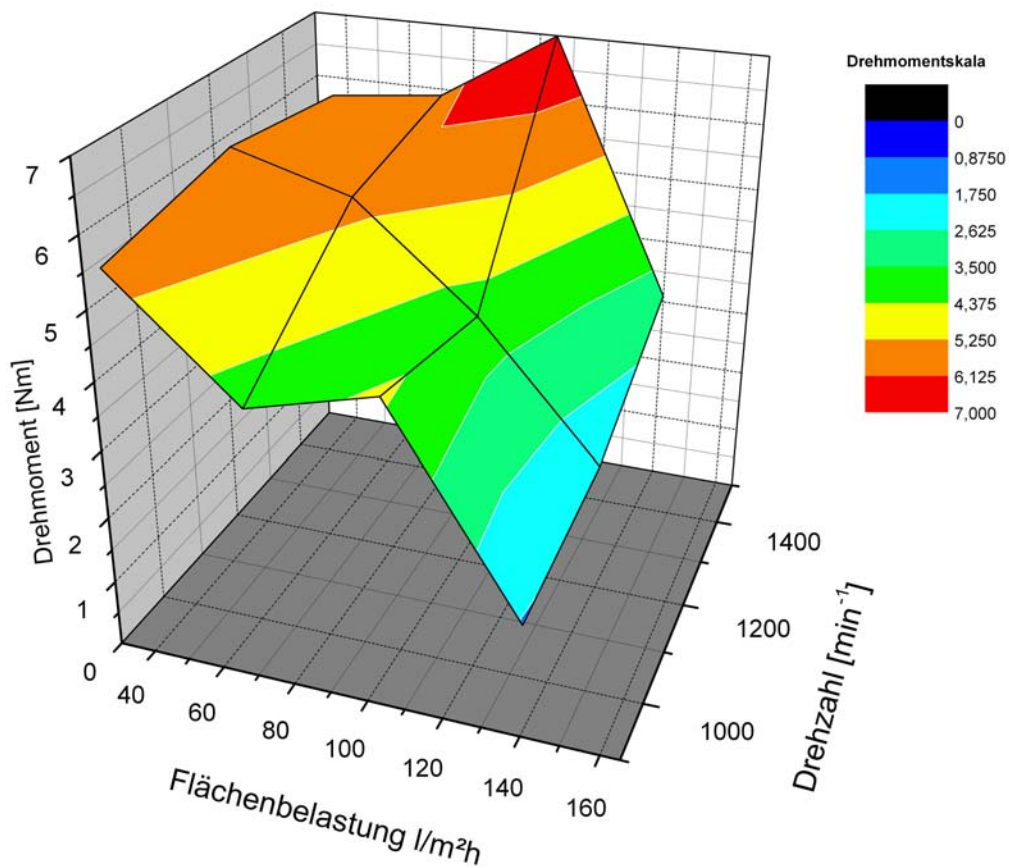


Abbildung 4: Darstellung maximaler Drehmomente ohne elektrisches Feld

Wie in Abbildung 4 zu sehen, fällt das maximale Drehmoment nur gering mit Abnahme der Drehzahl, nimmt mit zunehmender Flächenbelastung jedoch stark ab. Für Flächenbelastungen kleiner 100 l/m²h bewegt sich das Drehmoment zwischen 4 und 7 Nm, fällt für größere Flächenbelastungen von 4 auf 2 Nm.

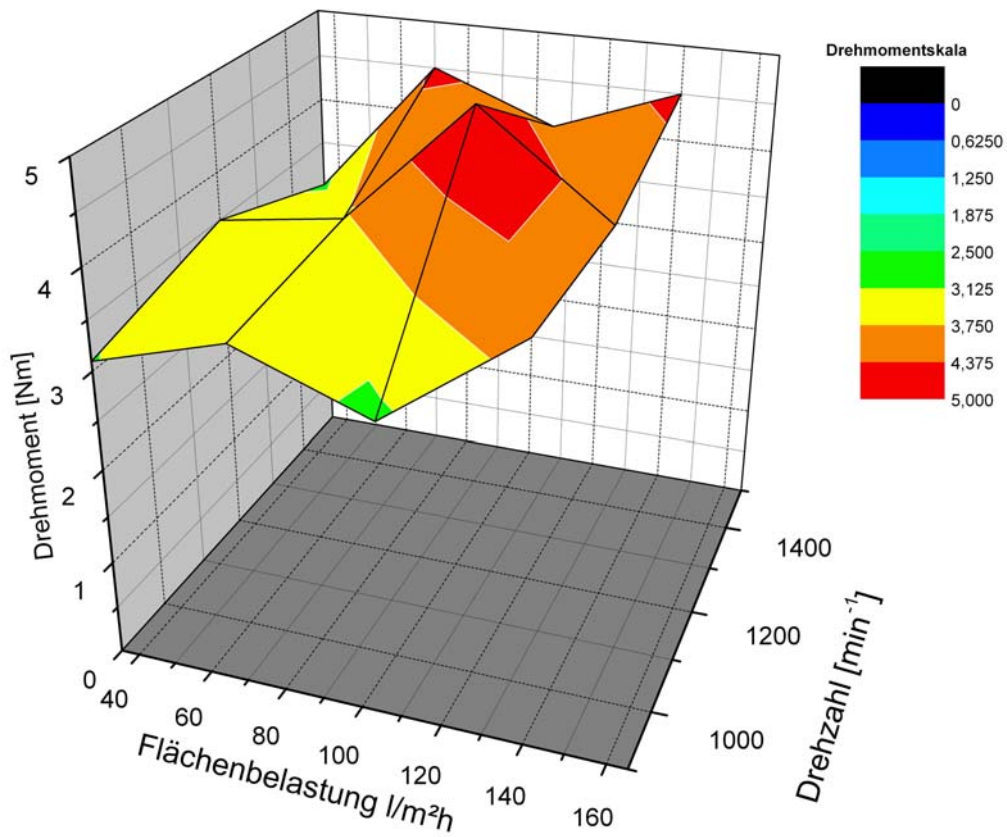


Abbildung 5: Darstellung maximaler Drehmomente mit elektrischem Feld

Der Einsatz des elektrischen Feldes führt zu einer generellen Abnahme des maximalen Drehmoments (Abbildung 5). Mit steigender Flächenbelastung nimmt das maximale Drehmoment hier jedoch zu. Die Werte bewegen sich zwischen 3 und 5Nm. Auch in diesem Fall hat die Drehzahl nur einen sehr geringen Einfluss auf das in den Versuchen zu verzeichnende maximale Drehmoment.

Temperatur

Die Temperatur wird durch ein in den Verfahrensraum eingebrachtes Thermoelement kontinuierlich über den Versuchsfortschritt protokolliert. Zum Vergleich werden die in den Versuchen auftretenden Maximaltemperaturen herangezogen.

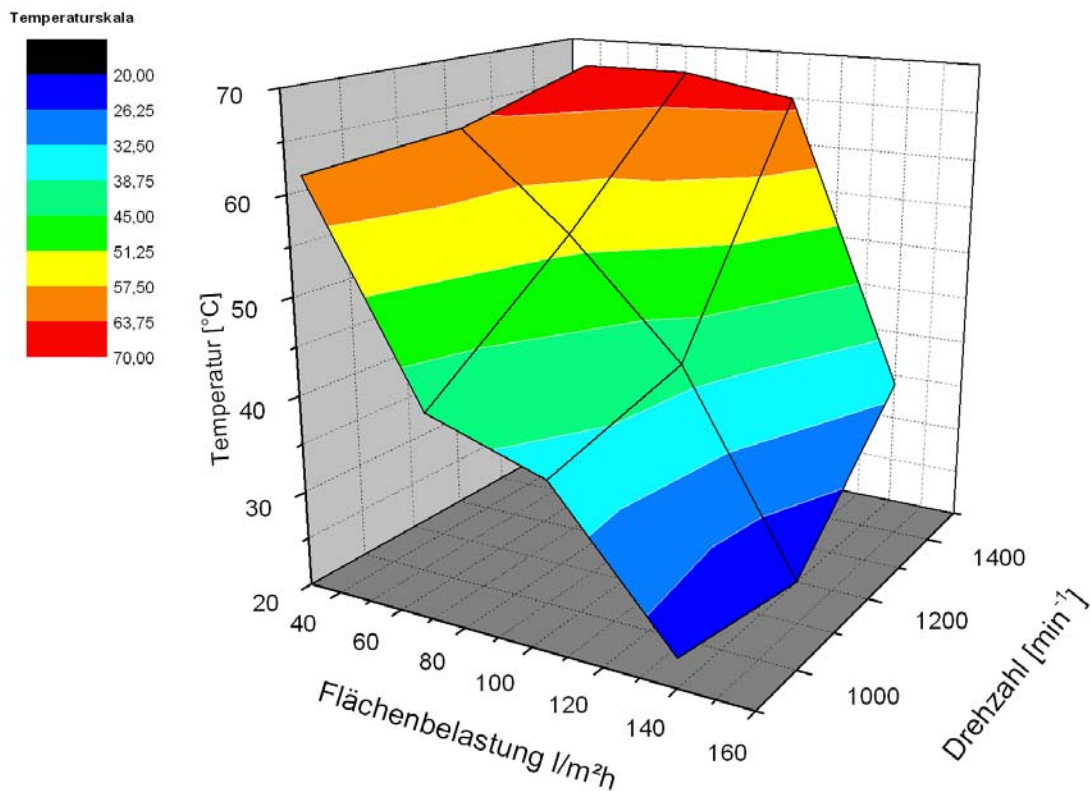


Abbildung 6: Darstellung maximaler Temperaturen ohne elektrisches Feld

Die Versuchsergebnisse ohne Anlegen eines elektrischen Feldes zeigen eine starke Abhängigkeit der Temperatur von Flächenbelastung und Drehzahl. Die Temperatur steigt bei geringen Flächenbelastungen und hohen Drehzahlen trotz Kühlung des Verfahrensraums bis knapp 70°C an. Dies kann bereits zu einer Zerstörung der Hefezellen führen. Mit Abnahme der Drehzahl und bei hohen Flächenbelastungen hingegen fällt die maximal im Versuch auftretende Temperatur auf knapp über Raumtemperatur. Grund ist zum einen die höhere Zufuhr an gekühlter Feedsuspension bei hohen Flächenbelastungen sowie ein früheres Verblocken der Membran bei geringen Drehzahlen.

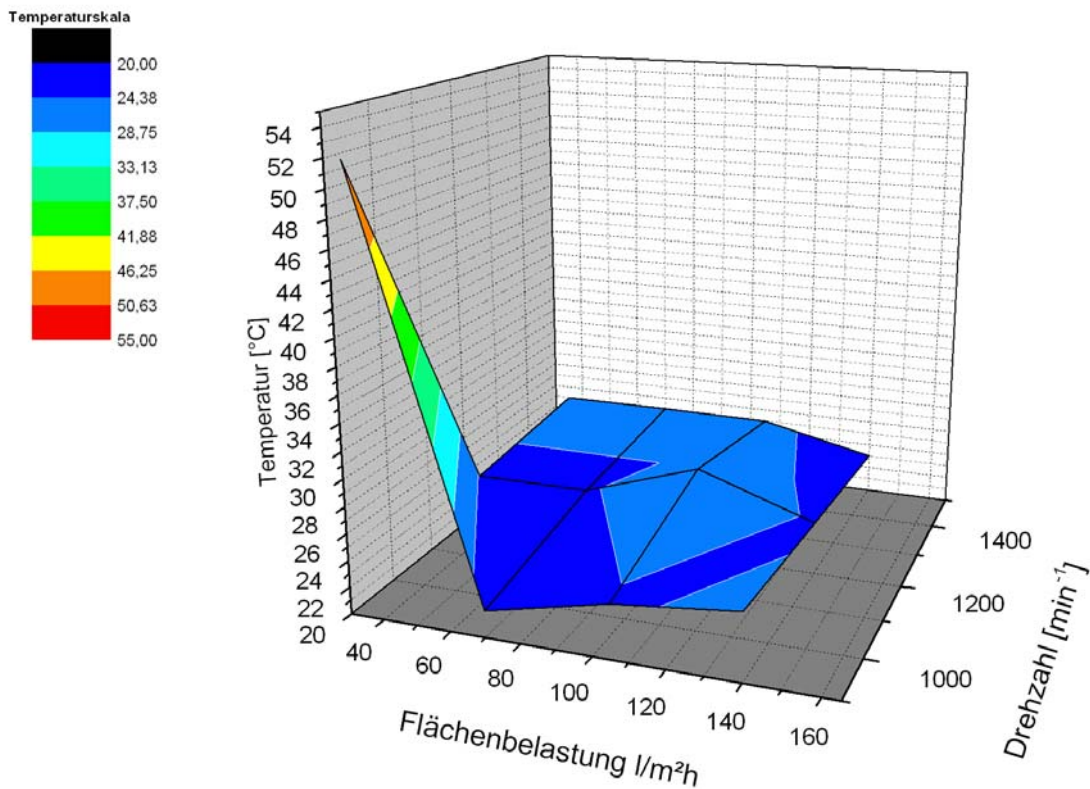


Abbildung 7: Darstellung maximaler Temperaturen mit elektrischem Feld

Die Erweiterung des Filters um ein elektrisches Feld führt zu einer deutlichen Senkung der im Versuch auftretenden Maximaltemperaturen. Mit Ausnahme des Messpunktes bei der Flächenbelastung von 40 l/m²h und 1000 upm, dessen gravierende Abweichung noch genau verifiziert werden muss, bewegen sich sämtliche Temperaturen nur knapp über Raumtemperatur. Zudem zeigen sich keine Abhängigkeiten von Flächenbelastung und Drehzahl.

Ziel 2: **Auswirkung einer gezielt veränderten Oberflächenladung von gelösten Makromolekülen auf das biotechnologische Trennergebnis**

Zur Ermittlung des Trennergebnisses wird der Hefesuspension zusätzlich Rinderserumalbumin (BSA) zugesetzt, welches sich mittels eines UV-Vis Spektrometers gut detektieren lässt. BSA weist bei einer festen Wellenlänge von 238 nm die höchste Absorption auf. Es wird in den Versuchen der Hefesuspension als Tracer zugesetzt, um quantitativ die verbleibende Menge BSA im Filtrat festzustellen.

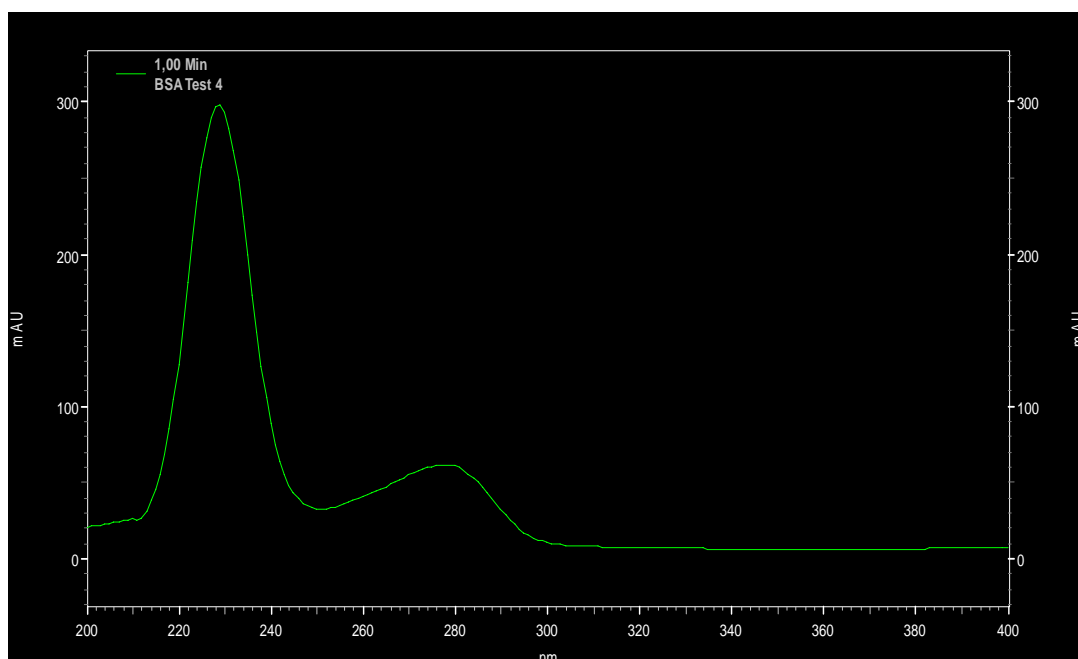


Abbildung 8: Spektrometerkurve für reines BSA in destilliertem Wasser

Bei einer Konzentration von 1g/l BSA zeigt sich ein deutlicher Peak bei der erwarteten Wellenlänge (Abbildung 8). Die Absorption beträgt 300 mAU (milli Absorbance Units).

Hefefiltrat mit BSA mit einer Konzentration von 1g/l zeigt eine starke Absorption bei Wellenlängen größer 300 nm, so dass die Werte für BSA nicht einzeln detektierbar sind. Das Maximum liegt bei mehr als 2000 mAU und es sind keine einzelnen Peaks auszumachen. Das Hefefiltrat absorbiert sehr stark über den gesamten Wellenlängenbereich und es kommt zu Überlagerungen in den Absorptionswellenlängen von Hefefiltrat und BSA (Abbildung 9).

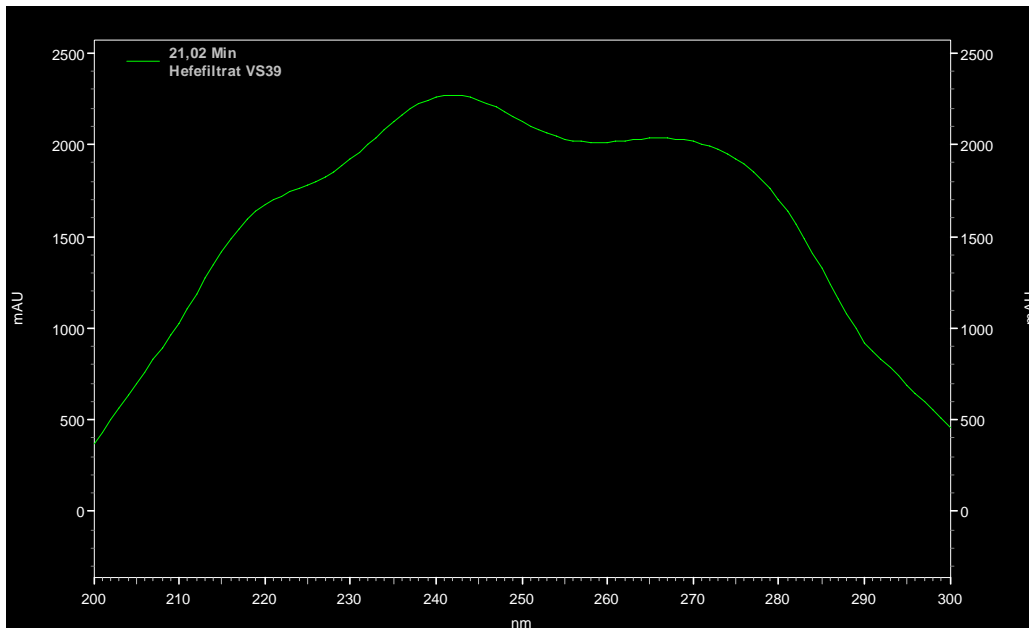


Abbildung 9: Spektrometerkurve für Hefefiltrat mit BSA 1g/l

Mikroskopaufnahmen des Filtrats zeigen, dass einzelne Zellbruchstücke und flüssige Zellinhaltsstoffe, die wie Fettaggen auf dem Filtrat schwimmen, dafür verantwortlich sind, dass es ein derart großes Absorptionsspektrum gibt. In Abbildung 10 ist zu sehen, wie sich die nicht wässrigen Zellflüssigkeiten (Ölkörper, Eiweißkristalle) zu Fettaggen zusammenziehen und Bruchstücke der Zellbestandteile durch die Membran gelangt sind. Da die Membran eine Porengröße von 200 nm hat, ist es nicht möglich, dass komplette Hefezellen in das Filtrat gelangen können. Abbildung 10 zeigt diese zusammengeballten Zellbestandteile als lichtmikroskopische Aufnahme.

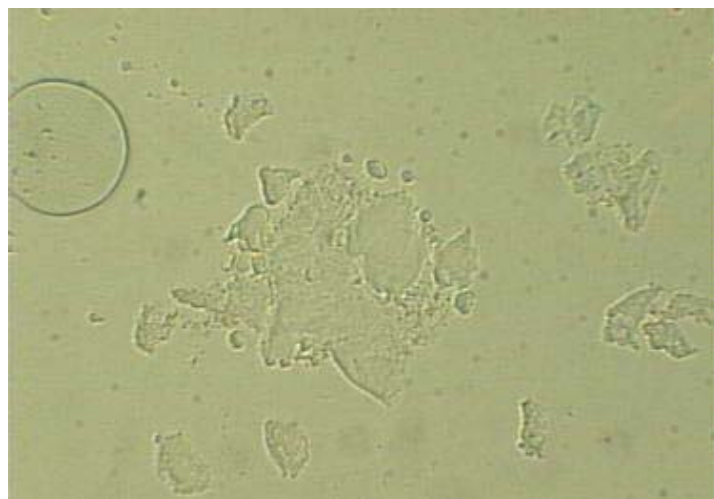


Abbildung 10: Lichtmikroskopische Aufnahme von Hefefiltrat bei 500-facher Vergrößerung

3 Zusammenfassung

Die Wirkung der Elektrophorese im dynamischen Cross-Flow-Filter zeigt einen großen Einfluß auf die für den Filtrationsprozess von Biosuspensionen entscheidenden Parameter. Zwar nimmt die erreichbare maximale Eindickung um bis zu 3 Prozentpunkte ab, die für den Filter notwendige Aufwendung an elektrischer Energie kann dafür drastisch gesenkt werden. Besonders für Flächenbelastungen kleiner 100 l/m²h kann das maximale Drehmoment um bis zu 20 % gesenkt werden. Die im Prozess auftretende Erhitzung der Suspensionsflüssigkeit kann durch den Einsatz eines elektrischen Feldes gänzlich vermieden werden. Vor allem bei Bioprozessen ist dies ein wichtiger Faktor, da die zu filtrierenden Produkte oftmals sehr sensibel auf erhöhte Temperaturen reagieren. So ist eine Anwendung der dynamischen Cross-Flow-Filtration trotz hoher mechanischer Belastung auch für empfindliche Produkte möglich.

Eine Quantifizierung des Einflusses der Oberflächenladung der Makromoleküle ist hingegen durch die hohe mechanische Beanspruchung der Zellen durch das Scherfeld und dem damit verbundenen Aufschluß der Hefezellen nicht möglich. Die quantitative Messung des eingesetzten Tracers wird durch aufgeschlossene Zellbruchstücke überlagert.

4 Fazit

Der Einsatz des elektrischen Feldes bei der dynamischen Cross-Flow-Filtration von Biosuspensionen bringt eine deutliche Verbesserung des Prozesses. Der vor allem bei Biosystemen entscheidende Anstieg der Temperatur kann dadurch vollständig umgangen werden. Verbunden mit der zusätzlichen Energieeinsparung hat die kostengünstig zu verwirklichende Erweiterung eines dynamischen Cross-Flow-Filters großes wirtschaftliches und prozessoptimierendes Potential.

5 Quellenverzeichnis

- /PEU06/ Peuker, Urs A., Prof. Dr.-Ing.
Vorlesungsskriptum zur Vorlesung: Mechanische Trennverfahren II –
Apparate zur mechanischen Flüssigkeitsabtrennung, ICVT, TU
Clausthal, 2006
- /STI95/ Stieß, Matthias
Mechanische Verfahrenstechnik I
Springer Verlag, Berlin, 1995

6 Formelzeichen

6.1 Lateinische Buchstaben

Formelzeichen	Bedeutung	Einheit
d_p	Partikel- bzw. Moleküldurchmesser	[m]
F_s	Strömungskraft	[N]
n	Drehzahl	[Hz]
Nm	Drehmoment	[Nm]
p	Druck	[bar]
TS	Trockensubstanz	[%]
u	Überströmgeschwindigkeit	$[\frac{m}{s}]$
V	Stromspannung	[V]

6.2 Griechische Buchstaben

Formelzeichen	Bedeutung	Einheit
π	Kreiszahl	[-]
η	Viskosität	[Pas]