

FORTSCHRITT-
BERICHTE

VDI

Dipl.-Ing. Martin Trocha, Essen

**Charakterisierung und
Scale-up des
Blasenbettreaktors zur
industriellen Kultivierung
tierischer Zellen**

Reihe **17**: Biotechnik

Nr. **161**

INHALTSVERZEICHNIS

Symbolverzeichnis	IX
Zusammenfassung	XVII
Summary	XIX
1. Entwicklungsstand und Bedeutung der Kultivierung tierischen Zellen	1
1.1 Historische Entwicklung der Zellkulturtechnik	1
1.2 Warum Zellkulturen?	2
1.3 Wirtschaftliche Bedeutung der Kultivierung tierischer Zellen	2
1.4 Gegenwärtiger Stand der Verfahrensentwicklung	4
1.5 Zielsetzung dieser Arbeit	5
2. Biologische und physikalische Grundlagen	7
2.1 Einordnung des Prozesses	7
2.2 Biologische Aspekte der Begasung	8
2.2.1 Zellschädigung in Suspensionskulturen	8
2.2.2 Bedeutung des CO ₂ bei der Fermentation	11
2.3 Methoden der Begasung	13
2.3.1 Grundlagen des G-/L-Stoffaustauschs	13
2.3.2 Blasenfreie Begasung und konventionelle Blasenbegasung	18
2.4 Bisheriger Entwicklungsstand des Blasenbettreaktors	20
2.4.1 Das Konzept des Blasenbettreaktors	20
2.4.2 Experimentelle Resultate im 2.4L-Reaktor	22

3. Besonderheiten des Stoffaustauschs im Blasenbettreaktor	23
3.1 Veränderung der Größe beim Aufstieg einer Einzelblase	23
3.1.1 Aufstieg in binären Systemen	24
3.1.2 Einfluß weiterer Gaskomponenten	26
3.1.3 Auswirkungen auf den Blasenbettreaktor	29
3.2 CO ₂ -Akkumulation im Blasenbett	30
4. Scale-up des Blasenbettreaktors	33
4.1 Erforderliche Umlauftrate im Blasenbettreaktor	34
4.2 Überlegungen zur Leitrohrgestaltung	36
4.2.1 Variationen des Leitrohres	36
4.2.2 Design des Diffusor-Leitrohres	37
4.2.3 Vermeidung von Tromben	39
4.3 Dimensionierung der Reaktorhauptmaße	40
4.4 Theoretische Sauerstoffausbeute	43
4.5 Begaser	45
4.5.1 Erzeugung monodisperser Blasen mittels Einzeldüsen	46
4.5.2 Begasen mit parallelgeschalteten Düsen	48
4.6 Leistungsbedarf von Blasenbettreaktoren	49
4.7 Zusammenfassung	54
5. Experimentelle Charakterisierung des 250L Blasenbettreaktors	55
5.1 Materialien und Methoden	56
5.1.1 Modellmedium	56
5.1.2 Vorstellung der Versuchsanlage	57
5.2 Charakterisierung der Blasen am Mehrkapillarenbegaser	61
5.2.1 Blasengröße am Mehrkapillarenbegaser	62
5.2.2 Aufstiegsgeschwindigkeit der Blasenstrahlen	63
5.2.3 Konsequenzen für den Betrieb	64
5.3 Förderung im Blasenbettreaktor	65

5.4	Stoffübergangsmessungen.....	66
5.4.1	Sauerstoffkonzentrationsmessung.....	66
5.4.2	$k_L \cdot a$ Bestimmung mit der dynamischen Methode	68
5.4.3	Oberflächenbelüftung	73
5.4.4	Stofftransfer an aufsteigenden Blasenschwärmen	74
5.4.5	Blasenbettbetrieb	75
5.4.6	Hold-up im Blasenbettreaktor	79
5.5	Diskussion der experimentellen Resultate	81
5.5.1	Stoffübergangsbeziehungen für Blasen in tensidhaltigem Wasser	81
5.5.2	Zusammenhang zwischen $k_L \cdot a$ und Rührleistung	82
5.5.3	Scale-up Kriterium für den Rührer im Blasenbettreaktor	83
5.6	Zusammenfassung	84
6.	Protein- und serumfreie Fermentation von Hybridomzellen in begasten, kontinuierlich betriebenen 70L und 250L Reaktoren	85
6.1	Materialien und Methoden	86
6.1.1	Zelllinie, Medium und Vorkultur	86
6.1.2	Anlagebeschreibung und Systemanpassung für den Blasenbettbetrieb	86
6.1.3	Analytik	90
6.1.4	Bilanzierung der Zellproliferation	90
6.1.5	Bilanzierung des Sauerstoffs	92
6.1.6	Statistische Analyse	93
6.2	Chemostat-Kultivierung im 70L Reaktor	94
6.2.1	Kultivierung ohne Schutzfaktoren im Blasenbettreaktor	95
6.2.2	Kultivierungen ohne Schutzenseide im konventionellen Reaktor	97
6.2.3	Zellagglomerate	98
6.2.4	Vergleich der Stoffwechselaktivitäten und der Teilungsraten	99
6.3	Perfusionsbetrieb im 250L Reaktor	102
6.3.1	Zellwachstum	102
6.3.2	Zugabe von NaOH	105
6.4	Zusammenfassung	106

7. Untersuchungen zum Trennmechanismus im Spinfilter	108
7.1 Theorie	108
7.2 Experimente im nicht-biologischen System	114
7.2.1 Geschwindigkeit im Ringspalt des Spinfilters	114
7.2.2 Filtrationsversuche mit Latex-Beads	119
7.3 Spinfiltration in industriellen Zellkulturen	120
7.4 Diskussion	122
8. Möglichkeiten und Grenzen des Blasenbettreaktors	125
8.1 Einordnung des Blasenbettreaktors in G-/L-Reaktoren	125
8.2 Mögliche Einsatzgebiete des Blasenbettreaktors	128
8.3 Ausblick	128
A Anhang	130
A1 Aufstiegsgeschwindigkeit von Einzelblasen	130
A2 Messen kleiner, dampfhaltiger Gasströme	131
A3 Ergänzung zur Anlagebeschreibung	132
Literatur	133