



TRACE
Analytics

TRACE Analytics GmbH
Richard-Wagner-Straße 1
38106 Braunschweig
Telefon: 0531/209008-0
Telefax: 0531/209008-39
E-Mail: info@trace.de
www.trace.de

Bedienungsanleitung Filtrationssonde zum Einbau in einen 25 mm Seitenport

Ausgabe 01/2015



Abbildung 1: Filtrationssonde zum Einbau in einen 25 mm Seitenport mit Membranschutzkäfig

1. Einleitung

Die Filtrationssonde dient zur Gewinnung keimfreien Filtrates aus Bioreaktoren und Fermentern unter sterilen Bedingungen.

Eine schlauchförmige Mikrofiltrationsmembran aus Polypropylen dient als Sterilbarriere.

Die Sterilisation der Filtrationssonde erfolgt zusammen mit dem Bioreaktor.

Der Einbau der Filtrationssonde erfolgt in den 25 mm Seitenport des Reaktors.

Das keimfreie Filtrat wird am Sondenkopf, der außerhalb des Bioreaktors/Fermenters zugänglich ist, kontinuierlich oder diskontinuierlich entnommen. Zur Filtratförderung finden vorwiegend peristaltische Pumpen kleiner Leistung Verwendung. Für die manuelle Entnahme können konventionelle Einweg Spritzen verwendet werden.

Durch den Verbrauch von Fermentermedium ist die Filtrationssonde für große Bioreaktoren über 100 Liter (insbesondere bei mikrobiellen Prozessen) geeignet. Für kleinere Fermenter ist die Filtrationssonde nur dann einsetzbar, wenn in großen Intervallen z. B. bei Zellkulturen Probe entnommen wird.

2. Beschreibung des Aufbaus

Die Filtrationssonde besteht aus der Filtrationseinheit (1) mit Membranträger (2) zum Einbau in einen 25 mm Seitenport, Überwurfmutter (3), Absperrhahn (4), Ferrule (6), O-Ring (7), Polypropylen Membran (8) und Blindstopfen (9), siehe nachstehende Abbildung.

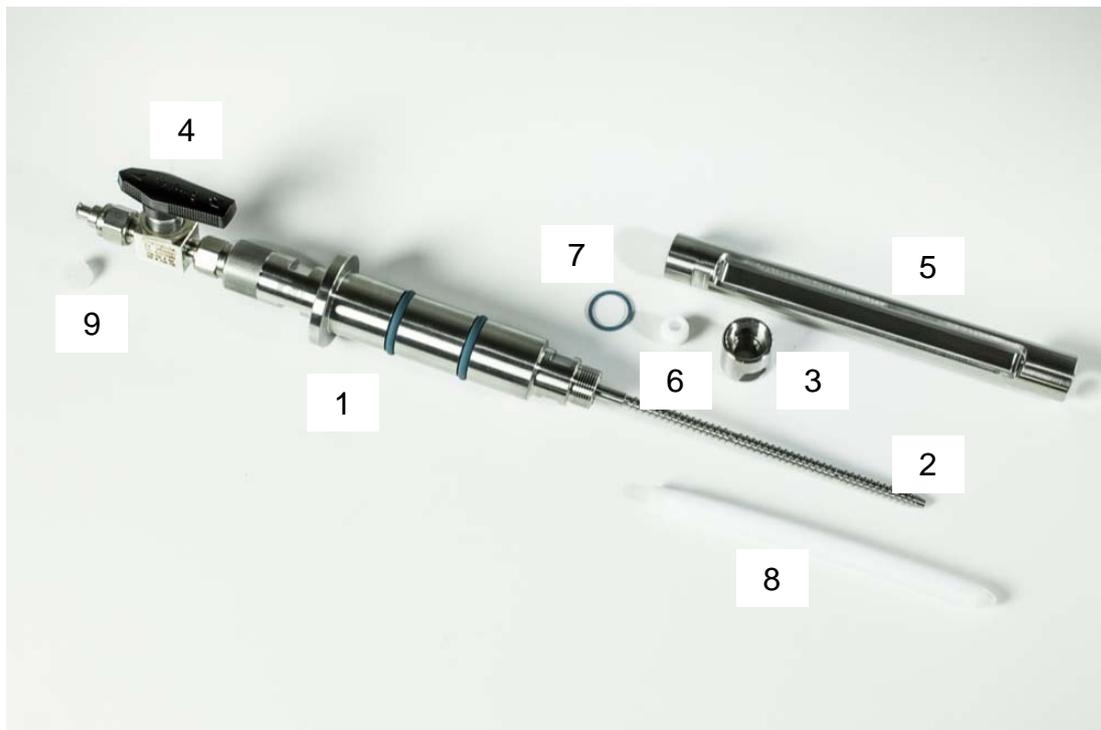


Abbildung 2: Bestandteile der Filtrationssonde zum Einbau in den 25 mm Seitenport

Optional ist ein Membranschutzkäfig (5) für den Einbau in einen 25 mm Seitenport in Bioreaktoren mit großer Turbulenz und hohen Scherkräften zur Verhinderung der Verformung des Membranträgers (2) verfügbar.

Die Fixierung der Polypropylen Membran (8) erfolgt auf dem Membranträger (2), einem gewendelten Rohr aus Edelstahl. Das durch die Membran gewonnene Permeat wird über einen wendelförmigen Kanal zu insgesamt 4 Kreuzbohrungen geführt. Diese leiten das Filtrat auf kürzestem Wege in die Sammelbohrung der Filtrationseinheit wodurch eine Rückvermischung der Probe weitgehend vermieden wird.

Die Ferrule (6) aus PTFE umschließt das Ende der Membran und den freiliegenden Teil des Membranträgers. Durch Anziehen der Überwurfmutter (3) bzw. des Membranschutzkäfigs (5) wird der Dichtkonus unter Druck verformt und dichtet das Membran-Ende zum Membranträger hin sicher ab.

Das Gewinde der Sonde wird durch den O-Ring und durch Festziehen gegen Endanschlag vor dem Eindringen von Mikroorganismen geschützt.

3. Montage der Filtrationssonde

Montieren Sie zunächst den O-Ring über das Außengewinde der Filtrationseinheit. Danach schieben Sie die Ferrule mit der engen Öffnung voran über den Membranträger bis in die konische untere Membranhalterung der Filtrationseinheit (Abbildung 3 und 4).



Abbildung 3 und 4: Einbau des PTFE Dichtkonus

Die Polypropylen Membran wird aus der Verpackung genommen und vorsichtig auf den Membranträger bis zum Anschlag in den bereits montierten PTFE Dichtkonus gesteckt.



Abbildung 5: Aufstecken der Polypropylen Membran

Nun wird die Überwurfmutter bzw. des Membranschutzkäfigs vorsichtig über die aufgesteckte Membran geschoben und in die Filtrationseinheit geschraubt. Die Verschraubung wird unter Verwendung von 2 Maulschlüsseln bis zum mechanischen Anschlag angezogen (Abbildung 7).



Abbildung 6: Aufgesteckte Polypropylen Membran



Abbildung 7: Anziehen der Überwurfmutter



Befeuchten Sie das Außengewinde der Filtrationssonde vor der Montage mit demineralisiertem Wasser.
Die Schraubverbindung der Filtrationssonde wird bis zum mechanischen Anschlag angezogen.

4. Demontage der Filtrationssonde

Das Zerlegen der Filtrationssonde erfolgt in umgekehrter Reihenfolge von Kapitel 3. Generell muss ein neuer PTFE Dichtkonus eingesetzt werden, wenn die Verschraubung geöffnet wird. Bei Wiederverwendung bereits genutzter Dichtkonen ist eine ordnungsgemäße Abdichtung der Verschraubung nicht mehr gewährleistet.



Das Gewinde an der Filtrationseinheit ist ein schmierstofffreies Befestigungsgewinde.

Durch wiederholtes Zerlegen und Wiedermontieren, kann sich aufgrund der Flankenreibung in den Gewindegängen metallischer Abrieb bilden. Deshalb müssen die Gewindegänge der Innen- und Außengewinde vor jeder Wiedermontage unter fließendem Wasser sorgfältig von möglichen Ablagerungen gereinigt werden.

Wird auf diese Reinigung verzichtet, besteht beim Wiedermontieren eines derart verunreinigten Gewindes die Gefahr, dass das Gewinde frisst, d.h. partiell kalt verschweißt wird und demzufolge nicht mehr montierbar bzw. demontierbar ist.

5. Hydrophilisierung der Polypropylen Membran

Neue Polypropylen Membranen sind undurchlässig für wässrige Medien (hydrophob).

Nach dem Einbau in die Filtrationssonde muss die Membran daher hydrophilisiert werden. Als Hydrophilisier-Lösung findet Isopropanol (70%ig, vol/vol) Verwendung.

In einem Standzylinder ausreichender Länge wird die Sonde so in die Hydrophilisier-Lösung getaucht, dass sich die Membran vollständig in der Flüssigkeit befindet. Mit Hilfe einer Schlauchpumpe, welche am Probenauslass der Sonde angeschlossen ist, wird der Alkohol mit einer Fließrate von 1 - 2 ml/min im Kreislauf durch die Sonde gepumpt. Die Dauer der Hydrophilisierung beträgt mindestens 2 Stunden. Ohne Pumpeneinsatz kann die Sonde auch über Nacht durch Aufbewahrung in Isopropanol hydrophilisiert werden.

Wird die Filtrationssonde in Verbindung mit den online Analysegeräten TRACE C2 Control oder BioPAT®Trace verwendet, kann die Hydrophilisierung sowie die Dichtigkeitsprüfung mit einem Hydrophilisierungs Set einfach durchgeführt werden. Die detaillierte Beschreibung finden Sie in der jeweiligen Bedienungsanleitung.

6. Dichtigkeitsprüfung

Nach erfolgter Hydrophilisierung wird eine Dichtigkeitsprüfung durchgeführt. Dazu wird der Hydrophilisierungsaufbau aus Punkt 5 verwendet.

Statt Isopropanol durch die Membran der Sonde zu ziehen, wird nun Luft in die Sonde gepumpt. Die Fließrate sollte die gleiche wie bei der vorherigen Hydrophilisierung sein.

- Viele kleine Luftblasen sollten zeitlich verzögert, nach ca. 6 Minuten, aus der Membran austreten, ansonsten ist die Membran unzureichend hydrophilisiert.
- Der Austritt von großen Luftblasen aus den Verschraubungen deutet auf defekte Dichtungen hin.

Um die Membran bis zum Einbau in den Bioreaktor hydrophil zu halten, wird die Aufbewahrung unter Hydrophilisier-Lösung (Isopropanol) empfohlen. Kurz vor dem Einbau in den Bioreaktor sollte das Isopropanol durch Wasser ersetzt werden um Verdunstung und den Verlust der Hydrophilisierung zu vermeiden.

7. Einbau im Bioreaktor

Vor jedem Einbau der Filtrationssonde in den Entnahmestutzen des Bioreaktors sind alle Verschraubungen auf festen Sitz zu prüfen und ggf. nachzuziehen. Ebenso ist der O-Ring an der Filtrationssonde auf Beschädigung zu prüfen und ggf. zu ersetzen.

Wählen Sie am Reaktor einen Stutzen aus, der die Positionierung der Sonde in einem Bereich möglichst großer Turbulenz ermöglicht. Eine möglichst hohe Strömungsgeschwindigkeit im Bereich der Filteroberfläche bewirkt eine Verlängerung der Standzeit der Filtrationssonde (Crossflow-Effekt).

Achten Sie unbedingt darauf, dass die Sonde nach dem Einbau nicht mit bewegten Teilen (z.B. Rührer, Rührerwelle) im Inneren des Bioreaktors in Berührung kommt. Für schmale Bioreaktoren steht die Filtrationssonde mit einer Einbaulänge von ca. 140 mm (Membranlänge 90 mm) zur Verfügung, so dass es nicht zu Konflikten mit dem Rührer kommen kann.



Der Einsatz der Filtrationssonde mit einer Membranlänge von 90 mm empfiehlt sich nur dann, wenn die Standardvariante aufgrund von Platzmangel nicht eingebaut werden kann. Aufgrund der geringen Filterfläche besteht die Gefahr von schnellem Verstopfen der Membran.

Für hohe Zelldichten ist die kurze Filtrationssonde nicht geeignet.

Die Polypropylen Membran muss im Betrieb des Bioreaktors immer vollständig in die Flüssigkeit eintauchen. Andernfalls ist eine starke Abnahme der Filtratleistung möglich.

Ein hoher hydrostatischer Druck an der Entnahmestelle kann die Leistung der Filtrationseinheit verbessern. Für die Anbindung an eine online HPLC empfehlen wir grundsätzlich eine Förderpumpe vorzusehen (z. B. Schlauchpumpe), um gerade unter diesen Bedingungen die Filtratleistung auf max. 1,5 ml/min zu begrenzen. Bei zu hoher Anfangs-Filtratleistung (> 1,5 ml/min.) können die Poren der aktiven Filteroberfläche irreversibel verstopfen.

Die Filtrationssonde ist immer erst kurz vor dem Befüllen des Bioreaktors einzubauen, da ein Austrocknen der Membran zu einem Verlust der hydrophilen Eigenschaften führt.

8. In-line Sterilisation der Filtrationssonde

Nach dem Einbau wird die Filtrationssonde zusammen mit dem Bioreaktor sterilisiert. Während des gesamten Vorganges muss die Sonde vollständig mit Flüssigkeit bedeckt sein. Während des Aufheizvorganges empfiehlt es sich, Filtrat aus dem Probenauslass abzuziehen; Alkoholspuren werden so aus der Membran und dem Sondeninneren sicher entfernt und das außerhalb des Reaktors liegende Volumen (Probenleitung, Ventile) mit Flüssigkeit gespült. Während der Sterilisationsphase, vor dem Erreichen der Halte­temperatur (typ. 125°C, 1,5 bar) ist der Absperrhahn zu verschließen, um eine Verformung der Polypropylen Membran durch Druckdifferenz bei hoher Temperatur zu vermeiden.

Nach Abschluss der Sterilisation und Erreichen der Betriebstemperatur des Reaktors von max. 40°C muss der Absperrhahn wieder geöffnet werden, damit ein angeschlossenes Gerät (z.B. online Analysegerät, online HPLC) Proben entnehmen kann.

9. Anbindung der Filtrationssonde

Die Filtrationssonde wird direkt mit dem Filtrationsschlauchset der online Analysegeräte TRACE C2 Control und BioPAT®Trace verbunden (Abbildung 8 und 9).



Abbildung 8 und 9: Anschluss der Filtrationssonde an das Schlauchset der online Analysegeräte TRACE C2 Control / BioPAT®Trace

Für die Anbindung der Filtrationssonde z.B. an eine externe Pumpe oder das online Analysegerät ProcessTRACE steht ein Installationskit (Ferrule, Fitting, Verbinder, Blindstopfen, Adapter UNF/LUER) zur Verfügung.

10. Regenerierung der Filtrationssonde nach der Fermentation

Direkt nach der Entleerung und Sterilisation des Bioreaktors/Fermenters ist die Filtrationssonde aus dem Reaktorport auszubauen. Wir empfehlen nach jedem Einsatz den Austausch von Membrane und PTFE Dichtkonus.

In vielen Fällen ist jedoch ein wiederholter Einsatz der Membrane (3 - 5 Einsätze) nach vorheriger Reinigung möglich. In diesem Fall verfahren Sie wie folgt:

Entfernen Sie z.B. unter Verwendung einer weichen Bürste, unter fließendem Wasser alle, an der Filtrationssonde haftenden Beläge.

Nachfolgend wird zur Entfernung der Protein-Kontamination der Membrane eine schwache Base (z. B. 0,5 N NaOH) im Kreislauf in Filtratrichtung durch die Filtrationssonde gepumpt; die Dauer des Reinigungszyklus beträgt etwa 4 Stunden. Verwenden Sie hierfür die unter Pkt. 5 beschriebene Einrichtung.

Nach Beendigung des Reinigungsvorganges spülen Sie bitte die Filtrationssonde sorgfältig mit demineralisiertem Wasser. Um die Hydrophilisierung der Membrane zu erhalten, muss die Sonde bis zum nächsten Einsatz unter Hydrophilisierungs-Lösung (70%igem [vol/vol] Isopropanol) aufbewahrt werden.

Sollte die Filtratleistung der Filtrationssonde trotz intensiver Spülung mit einer basischen Lösung unzureichend sein, muss eine neue Membran einschließlich des erforderlichen PTFE-Dichtkonus eingebaut werden.

11. Technische Daten

Einbau der Filtrationssonde:	Bioreaktor mit 25 mm Seitenport
Ausführungen:	Standard verkürzte Version (für schmale Bioreaktoren mit geringer Einbaulänge)
Filtrationstechnik:	Sterile in-line Filtration
Material der Filtrationssonde:	Edelstahl 1.4404
Einbaulänge der Filtrationssonde:	Standardversion ca. 180 mm verkürzte Version ca. 140 mm
Membranmaterial:	Schlauchförmige Mikrofiltrationsmembran aus Polypropylen
Membranlänge:	Standardversion ca. 130 mm verkürzte Version ca. 90 mm
Porengröße der Membran:	0,2 µm
Flussrate:	1 - 1,5 ml / Minute
Membrandichtung:	PTFE Ferrule
Sterilisation im Bioreaktor:	bei 125°C und 1,5 bar
Optionales Zubehör:	Membranschutzkäfig aus Edelstahl 1.4404
Einbaulänge der Filtrationssonde mit Membranschutzkäfig:	Standardversion ca. 205 mm verkürzte Version ca. 165 mm
Installationskit (nur für die Anbindung der Filtrationssonde an eine externe Pumpe oder ProcessTRACE):	Ferrule, Fitting, Verbinder, Blindstopfen, Adapter UNF/LUER