

Empfangsbescheinigung

DEUTSCHES PATENT- UND MARKENAMT

(1) In der Anschrift Straße, Haus-Nr. und ggf. Postfach angeben

Sendungen des Deutschen Patent- und Markenamts sind zu richten an:
 Alfred-Wegener-Institut
 Chr. Ruholl
 Am Handelshafen 12
 27570 Bremerhaven, DE

Antrag auf Erteilung eines Patents	1
<input type="checkbox"/> TELEFAX vorab am	
Aktenzeichen (für den Deutschen Patent- und Markenamt vergeben) 10 2009 013 930.3	

Vordruck nicht für PCT-Verfahren verwenden s. Rückseite

(2) Zeichen des Anmelders/Vertreters (max. 20 Stellen) AWI 2009/03/01 DE	Telefon des Anmelders/Vertreters 0471-4831-1120	Datum 22.03.2009
---	--	---------------------

(3) Der Empfänger in Feld (1) ist der <input type="checkbox"/> Anmelder <input checked="" type="checkbox"/> Zustellungsbevollmächtigte <input type="checkbox"/> Vertreter	ggf. Nr. der Allgemeinen Vollmacht DPMA 402/05 AV
--	--

nur auszufüllen, wenn abweichend von Feld (1)
 Handelsregisternummer nur bei Firmen anzugeben

(4) Anmelder (Name und Anschrift - kein Postfach! -) Stiftung Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung Am Handelshafen 12 27570 Bremerhaven, DE	Vertreter (Name und Anschrift)
<input type="checkbox"/> Der Anmelder ist eingetragen im Handelsregister Nr. _____ beim Amtsgericht _____	



(5) Anmelder-Nr. 17224349	Vertreter-Nr.	Zustelladressen-Nr.	ABT /	ERF
------------------------------	---------------	---------------------	----------	-----

s. auch Rückseite
 IPC-Vorschlag ist unbedingt anzugeben, sofern bekannt

(6) Bezeichnung der Erfindung Einrichtung zum Rühren von Fluiden mittels Gasblasen	IPC-Vorschlag d. Anmelders
--	----------------------------

(7) Erläuterung u. Kostenhinweise auf der Rückseite

(7) Sonstige Anträge	Aktenzeichen der Hauptanmeldung (des Hauptpatents)
<input type="checkbox"/> Die Anmeldung ist Zusatz zur Patentanmeldung (zum Patent) → <input checked="" type="checkbox"/> Prüfungsantrag - Prüfung der Anmeldung mit Ermittlung der öffentlichen Druckschriften (§ 44 Patentgesetz) <input type="checkbox"/> Rechercheantrag - Ermittlung der öffentlichen Druckschriften ohne Prüfung (§ 43 Patentgesetz) <input type="checkbox"/> Aussetzung des Erteilungsbeschlusses auf _____ Monate (§ 49 Abs. 2 Patentgesetz) (Max. 15 Mon. ab Anmelde- oder Prioritätstag)	

(8) Erklärungen	Aktenzeichen der Stammanmeldung
<input type="checkbox"/> Teilung/Ausscheidung aus der Patentanmeldung → <input checked="" type="checkbox"/> an Lizenzvergabe interessiert (unverbindlich) <input type="checkbox"/> Nachanmeldung im Ausland beabsichtigt (unverbindlich)	

(9) <input type="checkbox"/> Inländische Priorität (Datum, Aktenzeichen der Voranmeldung) <input type="checkbox"/> Ausländische Priorität (Datum, Land, Aktenz. der Voranmeldung; vollständige Abschrift(en) der ausländischen Voranmeldung(en) beifügen)

s. auch Rückseite
 Erläuterung und Kostenhinweise s. Rückseite

(10) Gebühreuzahlung in Höhe von <u>-410,-</u> EUR
<input type="checkbox"/> Einzugsermächtigung Vordruck (A 9507) ist beigelegt <input checked="" type="checkbox"/> Überweisung (nach Erhalt der Empfangsbescheinigung)

Wird die Anmeldegebühr nicht innerhalb von 3 Monaten nach dem Tag des Eingangs der Anmeldung gezahlt, so gilt die Anmeldung als zurückgenommen!

(11) Anlagen 3. - 6. jeweils 3-fach
 s. auch Rückseite

(11) Anlagen	6. <u>3</u> Blatt Zeichnungen
1. - Vertretervollmacht	7. - Abschrift(en) d. Voranmeld.
2. <u>1</u> Erfinderbenennung (P 2792)	8. <u>1</u> Zitierte Nichtpatentliteratur
3. <u>1</u> Zusammenfassung (ggf. mit Zeichnung Fig. <u>1</u>)	9. - Anzahl Datenträger
4. <u>15</u> Seite(n) Beschreibung (ggf. mit Bezugszeichenliste)	<input type="checkbox"/> für Sequenzprotokoll nach § 11 Abs. 2 PatV <input type="checkbox"/> für umfangreiche Anmeldungsunterlagen nach § 6 Abs. 1 S. 2 PatV
5. <u>3</u> Seite(n) Patentansprüche	10. -
<u>2</u> Anzahl Patentansprüche	


 (12) **Unterschrift(en)**
 Ruholl, Justitiar, 402/05 AV
 (13) **Funktion des Unterzeichners**

Nur von der Dokumentenannahme auszufüllen:
 Diese Patentanmeldung ist an dem durch Perforierung angegebenen Tag, bei Übermittlung durch Telefax an dem durch das Empfängergerät aufgedruckten Datum beim Deutschen Patent- und Markenamt eingegangen. Sie hat das o.a. Aktenzeichen erhalten.
 Dieses Aktenzeichen ist bei allen Eingaben anzugeben. Bei Zahlungen ist das vollständige Aktenzeichen und der Verwendungszweck in Form der Gebührennummer (s. Rückseite zu Feld (10)) zu vermerken.

<input type="checkbox"/> Bei Einzugsermächtigung: A 9507 bzw. Doppel an Referat 4.2.1. - Zahlungsverkehr - gesandt. <input type="checkbox"/> Die genannten Anlagen sind vollständig eingegangen. <input type="checkbox"/> Folgende o.a. Anlagen fehlen: Mit diesen Angaben ist keinerlei Aussage dazu verbunden, inwieweit die eingereichten Unterlagen den formellen und inhaltlichen Anmeldeerfordernissen entsprechen.	Bitte beachten Sie die Hinweise auf der Rückseite der zurückgehaltenen Antragsdurchschrift
--	--



BEZEICHNUNG**Einrichtung zum Rühren von Fluiden mittels Gasblasen**

5

BESCHREIBUNG

Die Erfindung bezieht sich auf eine Einrichtung zum Rühren eines Fluids in einem Gefäß mittels eines Gasblasenhebers mit einem vertikal in das Fluid eingetauchten und am oberen und am unteren Ende Öffnungen aufweisenden Standrohr mit einem von aufsteigenden Gasblasen aus einem Gas, das über eine Gaszuführung mit einem Gaseintritt und einem Gasaustritt in das Innere des Standrohrs eingeleitet wird, durchströmten Fluidhebebereich, an dessen oberes Ende sich ein Fluidrückführbereich und an dessen unteres Ende sich ein Fluidnachströmbereich anschließt.

Derartige Rühreinrichtungen nutzen die Hebewirkung der Gasblasen um eine Verwirbelung oder eine umlaufende Strömung in dem Fluid zu erzeugen, mit der das Fluid in Bewegung gehalten wird, um zwei Flüssigkeiten zu vermischen oder eine Flüssigkeit mit einem darin enthaltenen feinteiligen Feststoff in Mischung ohne Sedimentation zu halten oder um sich wie Flüssigkeiten verhaltende Stäube zu vermischen oder zu rühren. Dabei kann die Hebe- und damit die Rührwirkung auf das Fluid mit einer Vielzahl von kleinen Blasen bewirkt werden, die ohne Führung in einen sich konisch nach oben ausweitenden Raum hinein aufsteigen, wobei das jeweils über einzelnen Gasblasen befindliche Fluid nicht seitlich ausweichen kann ohne dabei auf eine weitere aufsteigende Gasblase zu treffen. Andererseits kann eine Rührwirkung erzielt werden, wenn Gasblasen in einem offenen Standrohr aufsteigen und der Blasendurchmesser etwa dem des Standrohrs entspricht, so dass das Fluid nicht mehr ausweichen kann und am oberen Ende aus dem Rohr austreten muss und in das Gefäß zurückfällt. Durch die Saugwirkung des aufsteigenden Fluids wird am unteren Ende des Standrohrs Fluid aus dem

Gefäß angesaugt und dabei etwa in Ablagerung begriffene feste Teilchen mitgerissen.

5 **STAND DER TECHNIK**

Aus der **DE10 2006 045 088 A1** ist ein Verfahren zur Durchmischung einer in einem im wesentlichen abgeschlossenen Behälter befindlichen Flüssigkeit oder Mischung aus einer Flüssigkeit und einem feinteiligen Feststoff bekannt, bei dem in der Figur 1 eine grundsätzliche Anordnung zum Durchperlen eines Fluids mit Gasblasen aus einer Gaszufuhr gezeigt wird. Durch die aufsteigenden Gasblasen wird das Fluid im Umlauf gehalten, wobei bei einer derart einfachen Anordnung eine Sedimentation nicht vollständig verhindert werden kann. Der Gasblasenstrom wird weiter nicht geführt und weitet sich nach oben konisch auf. Durch den nach oben abnehmenden Druck werden die Gasblasen beim Aufsteigen größer und weichen einander aus, wobei das erwähnte konische Volumen entsteht und die Hebewirkung der Blasen nach oben weiter zunimmt.

20 Aus der **DE 198 36 565 A1** ist ein Verfahren und eine Vorrichtung zum Mischen von Produkten bekannt, die für die Einmischung von Komponenten in ein Fluid in einem kontinuierlichen Durchflussprozess bestimmt sind. Dazu werden die Komponenten in einem in der Leitung des Fluids befindlichen Mischbehälter eingebracht und durch die Hebewirkung von aus einer Gaszufuhr entweichenden Gasblasen verwirbelt und mit guter Wirkung mit dem Fluid vermischt. Die Gasblasen verstärken hier allerdings nur die Wirkung einer an die innere Wandform des Behälters angepasste flügelartige mechanische Rührereinrichtung.

30 Aus der **US 2007/0182033 A1** ist ein Gasblasenmischer bekannt, der große zusammenhängende Gasblasen in einem Standrohr aufsteigen lässt. Die großen Gasblasen werden in einem umgedrehten Siphon erzeugt, in den Gas

von oben in dessen Krümmer eingeblasen wird. Durch das Gas wird das Fluid in dem Krümmer verdrängt, bis der Fluidspiegel die untere Kante der in den Krümmer nach unten hineinragenden Trennwand erreicht. Bei weiterer Gaszufuhr tritt das Gas in den aufsteigenden Rohrteil des Siphons ein, der mit einer seitlichen Öffnung des Standrohr verbunden ist. Durch die Siphonwirkung wird nun mit dem nachdrückend den ganzen Siphon wieder ausfüllenden Fluid die gesamte Gasmenge in Form einer großen Gasblase in das Standrohr entlassen. Das Fluid oberhalb der Gasblase kann durch das Standrohr seitlich nicht ausweichen und wird gehoben, um oben aus dem Standrohr auszutreten. Die dadurch entstehende Sogwirkung sorgt für ein Nachströmen von Fluid durch die untere Öffnung des Standrohrs. Wenn die folgende Gasblase in das Standrohr entlassen wird, bevor die vorhergehende oben angekommen ist, wird ein quasi konstanter Fluss erzeugt, der allerdings im Moment des Austritts einer Gasblase oben aus dem Standrohr jeweils abrupt unterbrochen wird. Das Standrohr und der Siphon müssen so bemessen werden, dass der Auftrieb die darüber befindliche Fluidsäule noch ausreifeichend schnell heben kann. Anderenfalls wird die Gasblase so verformt, dass das Fluid seitlich an ihr vorbei wieder nach unten strömen kann und keine Hebewirkung und damit kein Mischen bzw. Umrühren erfolgt. Die Durchmischungswirkung diese Prinzips ist stark und für große Mischer bzw. relativ zähe oder stark durchsetzte Fluide geeignet.

Aus der **US 4,293,506** ist eine Einrichtung zum Umlauf von Fluiden bekannt, die dem vorhergehenden Gasblasenmischer weitestgehend entspricht.

25

Aus der **US 3,840,216** ist ein Schmutzwasser-Belüfter bekannt, der in einem Gefäß einen von unten mit Luftblasen betriebenen Heber vorsieht, der das Fluid anhebt und es dabei über die Blasen zusätzlich mit Luft versetzt. Am oberen Ende wird das Fluid in einen Vorratsbehälter entlassen, der mit einem Rohr mit dem Gefäß verbunden ist, durch das das Fluid in das Gefäß zurückgelangt. Dieser Mischer hält das Fluid in Bewegung zur Sediment-

30

Verhinderung und sorgt für eine Sauerstoffversorgung der reinigenden Mikroorganismen.

Die **DE 698 06 906 T2** , von der die vorliegende Erfindung als dem
5 nächstliegenden Stand der Technik ausgeht, beschreibt ein Gerät zum Rühren
des Inhalts eines mit einem Luftblasenheber versehenen Gefäßes. Im
Wesentlichen handelt es sich bei dem Heber um ein beidseitig offenes
Standrohr, das in der Nähe des unteren Endes eine Gaszufuhr aufweist, durch
die einfache, nicht weiter geformte oder vorbereitete Gasblasen in das
10 Standrohr entlassen werden und damit das in ihm vorhandene Fluid
angehoben wird. Es fließt oben aus dem Standrohr heraus, wobei dessen
oberes Ende oberhalb oder unterhalb der Oberfläche des Fluids angeordnet
sein kann. Am unteren Ende des Standrohrs wird Fluid durch den
Hebevorgang angesaugt und der Umlauf sorgt für die Durchmischung. Durch
15 die beliebige Anordnung von Heber und Gaszufuhr im Gefäß ergibt sich eine
zufällige und ungleichmäßige räumliche Verteilung der Mischzonen. Eine
Sedimentation kann bei entsprechend belasteten Fluiden nicht
ausgeschlossen werden.

20 Die vorgestellten Verfahren und Einrichtungen sind auf das Mischen von
Fluiden mit und ohne feinteilige Feststoffe zu industriellen Zwecken gerichtet.
Dabei geht es in erster Linie um die Effektivität des Misch- bzw. Rührvorgangs
zur Sedimentverhinderung oder Stoffbeimischung und weniger um Erzielung
spezifischer Eigenschaften des durchmischten Fluids wie beispielsweise
25 besondere Homogenität und/oder geringstmögliche Störung des Fluids.
Derartige Eigenschaften werden aber zusammen mit der Ausprägung eines
von fremden Objekten freien Raumteils zu besonderen Messzwecken verlangt.

AUFGABENSTELLUNG

Die **AUFGABE** für die vorliegende Erfindung besteht daher darin, eine Einrichtung zum Rühren von Fluiden mittels Gasblasen bereitzustellen, die für ein in hoher Dichte mit feinteiligen Feststoffen versetztes Fluid eine homogene Vermischung herstellt und aufrecht erhält, wobei innerhalb des Gefäßes eine Zone derartiger homogener Vermischung ohne die Anwesenheit von Gasblasen und Fremdkörpern wie Rohrenden usw. vorhanden sein soll. Die **LÖSUNG** für die Aufgabe ist dem Hauptanspruch zu entnehmen. Vorteilhaftere Weiterbildungen werden in den Unteransprüchen aufgezeigt und im Folgenden im Zusammenhang mit der Erfindung näher erläutert.

Mit der erfindungsgemäßen Einrichtung zum Rühren von Fluiden mittels Gasblasen sollen in-vivo-Untersuchungen von Zellsuspensionen hoher Dichte z.B. mit der Magnetresonanz-Spektroskopie (NMR) ermöglicht werden, wobei die Messergebnisse besonders empfindlich von inhomogenen Strömungseffekten oder Fremdkörpern beeinflusst werden.

Bestimmte nicht invasive in-vivo-Untersuchungen in der Zellforschung erfordern zur Erzielung eines ausreichend differenzierten Signals eine hohe Dichte der eingesetzten Zellsuspension. Dabei muss eine kontinuierliche Bewegung der Suspension erfolgen, um Ablagerungen zu vermeiden und die für eine möglichst genaue Beobachtung erforderliche Homogenität zu gewährleisten. Die Untersuchungen erfolgen in Serien in schnellem zeitlichen Ablauf in zylindrischen Glasröhrchen z.B. in einem NMR-Spektrometer, das in der Lage ist, einige wichtige Zell-Metabolite zu beobachten, z.B. phosphorhaltige Verbindungen wie Phosphornukleotide, Phosphorzucker, Polyphosphate usw. durch ^{31}P -NMR-Spektroskopie oder kohlenstoffhaltige Zucker-Metabolite durch ^{13}C -NMR-Spektroskopie. Es können Konzentrationen von Metaboliten, pH-Werte und die Kinetik von Enzymreaktionen gemessen und damit die Wege des Stoffwechsels aufgeklärt werden. Leider ist die NMR-Spektroskopie relativ wenig empfindlich in Bezug auf die physiologischen

Konzentrationen von Zellstoffwechselprodukten. Im Gegensatz zu Methoden wie der Kapillaren Elektrophorese (CE), der Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung (GC-MS) und der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC), die auf Basis von Nanomol (nM) und Picomol (pM) arbeiten, werden für die NMR-Spektroskopie Millimol (mM) benötigt. Das ist der Grund, warum Begrenzungen bei der in vivo-Beobachtung des Zell-Metabolismus nur durch hohe Zellkonzentrationen in der Suspension zur Verstärkung des Messsignals überwunden werden können.

10 Ein anderer Ansatz wird in der **Veröffentlichung** ("A device for maintaining viable cells at high densities for NMR-studies", G.S.Karczmar, A.P.Koretsky, M.J.Bissell, M.P.Klein, M.W.Weiner, Journal of Magnetic Resonance 53, 123-128 (1983)) gemacht. Es wird darin ein System zur Aufrechterhaltung einer Zellgesellschaft in einem konstanten und lebensfähigen Zustand bei einer für
15 NMR-Experimente notwendigen Dichte beschrieben, wobei es sich hier um eine Anordnung ausschließlich zur Beobachtung von immobilisierten Zellstrukturen handelt. Die Zellen haften an einem Knäuel von Zelluloseacetat-Hohlfasern, das sich als Pellet in dem Probengefäß im Messbereich befindet. Als Probengefäße werden NMR-Röhrchen aus Glas mit einem Durchmesser
20 von 4 bis 20 mm im Handel angeboten. Die Zufuhr von Nährmitteln, die Abfuhr von Stoffwechselprodukten und eine Belüftung werden über Polyethylenröhrchen durch den abgedichteten Deckel bewirkt. Alternativ könne die Zellen auch in einem Agar / Kollagen-Gel eingebettet werden. Erprobt wurde der Ansatz mit sekundären Hühnerembryo-Fibroblasten und dem
25 Protozoon *Tetrahymena thermophila*. Das zur Anhaftung verwendete Trägermaterial verfälscht das NMR-Signal und muss bei dem Ergebnis berücksichtigt werden.

In-vivo-Messungen an nicht immobilisierten freien Zellstrukturen wie zum
30 Beispiel der Bierhefe *Saccharomyces cerevisiae* können besonders vorteilhaft nur in trägerfreien und ausreichend dichten Zellsuspensionen vorgenommen werden. Der Eukaryot *Saccharomyces cerevisiae* ist wie der Prokaryot

Escherichia coli ein Modellorganismus in der molekularbiologischen und zellbiologischen Forschung. Aufgrund der einfachen Kulturbedingungen und der Verwandtschaft der internen Zellstruktur zu anderen eukaryoten Zellen in der Pflanzen- und Tierwelt wird er zum Beispiel zur Untersuchung des Zellzyklus oder des Proteinabbaus verwendet.

Bei der hierzu vorgesehenen erfindungsgemäßen Röhreinrichtung wird mit den Maßnahmen, dass eine Gaszuführung vom oberen Ende eines Standrohrs her unter Bildung eines Zwischenraums zum Standrohr mit einer solchen Tiefe in das Standrohr hineinragt und Gas mit einem solchen Druck in das Innere des Standrohrs eingeleitet wird, dass die an einem Gasaustritt der Gaszuführung austretenden Gasblasen noch innerhalb des Standrohrs umkehren und aufsteigen, erreicht, dass ein Fluidnachströmbereich unterhalb des Standrohrs gasblasenfrei ist. Ein Fluidhebebereich ist dabei in einem Zwischenraum zwischen dem Standrohr und der Gaszuführung ausgebildet. Mit der erfindungsgemäßen Ausbildung des Gasblasenhebers mit einer Gaszuführung von oben nach unten im Inneren des Standrohres und dem Gasaustritt am unteren Ende der Gaszuführung wird erreicht, dass die entstehenden Gasblasen nicht den vollständigen, vom Fluid gefüllten Raum durchlaufen, sondern durch ihre noch im Standrohr erfolgenden Richtungsumkehr für eine gasblasenfreien Raumabschnitt unterhalb des unteren Endes des Standrohres sorgen. Durch die Eingrenzung des Fluidhebebereichs auf den Zwischenraum zwischen Gaszuführung und Standrohr können die Gasblasen und damit der Gasdruck auf eine für die effektive Anhebung des Fluids im Fluidhebebereich notwendige Größe beschränkt werden. Dadurch wird auch erreicht, dass der für die Richtungsumkehr der Gasblasen benötigte Raum zwischen dem Gasaustritt und dem unteren Ende des Standrohrs minimiert und der Aufbau der Röhreinrichtung kompakter wird.

Eine erste vorteilhafte Weiterbildung der Röhreinrichtung nach der Erfindung ergibt sich, wenn das Gefäß und das Standrohr einen kreisförmigen Querschnitt aufweisen und konzentrisch zueinander angeordnet sind. Eine

gleichmäßige Durchmischung des Fluids ergibt sich immer dann, wenn der vom Fluid angefüllte Raum überall einer gleichförmigen Durchmischungsströmung unterworfen ist. Das kann in der Praxis mit einem hochgenauen Ergebnis nur mit einer Röhreinrichtung erreicht werden, deren bestimmende Bestandteile Gefäß, Standrohr und Gaszuführung eine konzentrische Anordnung aufweisen. Dann und nur dann ist gewährleistet, dass bei senkrechter Betriebsweise die austretenden Gasblasen sich gleichmäßig im Fluidhebebereich ausbreiten und für eine gleichmäßige Durchströmung auch des Fluidrückführungs- und des Fluidnachströmbereichs sorgen.

10

Eine weitere vorteilhafte Weiterbildung der Röhreinrichtung nach der Erfindung ergibt sich, wenn eine Öffnung am oberen Ende des Standrohrs von einer offenen Stirnseite oder von zumindest einer Durchtrittsöffnung in der Mantelfläche des Standrohrs gebildet ist, an die sich ein Fluidrückführbereich anschließt. Das Standrohr kann ein einfaches Rohr mit zylindrischem Querschnitt sein, dass in seiner Länge so bemessen ist, dass es einerseits nicht bis zum Grund des Gefäßes in das Fluid eintaucht, sondern einen freien Fluidnachströmbereich unterhalb seines unteren Endes bildet und andererseits entweder unterhalb oder knapp oberhalb der Oberfläche der Fluidfüllung im Gefäß endet. In beiden Fällen ist zu berücksichtigen, dass eine notwendige Halteinrichtung für das Standrohr im Fluidrückführbereich vorgesehen sein muss. Wenn das Standrohr hingegen länger ist und zusammen mit dem Gefäß in einem gemeinsamen oberen Abschluss unter Vermeidung einer gesonderten Halteinrichtung enden soll, muss es knapp oberhalb der Oberfläche des Fluids zumindest eine, vorteilhaft aber mehrere, am Umfang gleichmäßig verteilte Durchtrittsöffnungen in seiner Mantelfläche aufweisen. Das im Fluidhebebereich von den Gasblasen angehobene Fluid strömt dann durch diese Durchtrittsöffnungen in den Fluidrückführbereich.

30

Weiterhin wird die Röhreinrichtung nach der Erfindung vorteilhaft weitergebildet, wenn der gasblasenfreie Fluidnachströmbereich als Messbereich ausgebildet ist. Für die Bildung eines Messbereichs ist es von

besonderem Vorteil, wenn er über seine gesamte Ausdehnung konstante Abmessungen aufweist, von einem möglichst homogenen Fluid angefüllt ist und keine Fremdkörper, z.B. mechanische Rührelemente usw., aufweist. Diese Forderungen werden von der Röhreinrichtung nach der Erfindung in besonders vorteilhafter Weise erfüllt.

Weitere vorteilhafte Weiterbildungen der Röhreinrichtung nach der Erfindung ergeben sich, wenn die Gaszuführung als Düse mit einem Düsenkörper mit in Richtung auf den Gasaustritt verengtem Durchmesser ausgebildet und konzentrisch zum Standrohr angeordnet ist, und wenn der Durchmesser des Düsenkörpers zwischen dem verengtem Durchmesser am Gasaustritt und dem Durchmesser oberhalb der Durchtrittsöffnung stetig auf den Durchmesser des Standrohrs erweitert und mit diesem fest und dicht verbunden ist, wobei der Gaseintritt durch das obere Ende des Standrohrs gebildet ist. Eine Ausbildung des Gaszuführung als Düse mit nach unten verengtem Düsenkörper führt zu einer exakten, mit dem Gasdruck einstellbaren Größe und Anzahl der Gasblasen. Damit ist eine Unterscheidung zum Beispiel in eine erste gröbere Vormischphase und eine spätere Feinmischphase möglich. Für eine Messphase kann die Durchmischung sogar für kurze Zeit ganz abgeschaltet werden, bis die einsetzende Sedimentierung des Fluids eine von der Messaufgabe abhängige kritische Grenze erreicht. Wenn der Düsenkörper unten verengt und bis oberhalb der Durchtrittsöffnung auf den Durchmesser des Standrohrs stetig erweitert ist, ist der Fluidhebebereich im Zwischenraum zwischen der Gaszufuhr, hier als Düsenkörper ausgebildet, und dem Standrohr von unten nach oben stetig verengt. Dadurch wird die Hebewirkung der Gasblasen nach oben verstärkt und der Transport des Fluids durch die Durchtrittsöffnungen sichergestellt.

Die Röhreinrichtung nach der Erfindung wird auch vorteilhaft weitergebildet, wenn das Gefäß einen ebenen Boden oder einen runden Boden aufweist, der zumindest bis zum Beginn des zylindrischen Teils des Gefäßes zur Bildung eines ebenen Grundes des Fluids mit einem festen, in Bezug auf das Fluid

inerten Material gefüllt oder gegen das Fluid abgedichtet ist. Ein ebener Boden begrenzt den Fluidnachströmbereich auf den Messbereich, wodurch die Rührleistung reduziert werden kann.

- 5 Schließlich wird eine vorteilhafte Weiterbildungen der Röhreinrichtung nach der Erfindung erzielt, wenn zur Zentrierung des Standrohres in dem Gefäß zumindest zwei zwischen dem Standrohr und dem Gefäß eingefügte gasdurchlässige Abstandhalter vorgesehen sind. Die Gasdurchlässigkeit kann bei Verwendung von einfachen Dichtringen, die das Standrohr fest
- 10 umschließen durch einen Spalt bewirkt werden, der bei entsprechender Auswahl der Ringe zwischen Ihnen und der Wandung des Gefäßes offen bleibt. Die Größe des Spalts muss optimiert sein zwischen den Forderungen, die zur Erzeugung der Gasblasen verwendete Gasmenge drucklos hindurchtreten zu lassen und eine ausreichend sichere Zentrierung des
- 15 Standrohrs im Gefäß zu gewährleisten. Diese Forderungen werden auch durch spezielle Abstandhalter erfüllt, die fest zwischen dem Standrohr und dem Gefäß angeordnet sind und in ihrem Material eigene Öffnungen zum Gasdurchlass aufweisen.

AUSFÜHRUNGSBEISPIELE

Ausbildungsformen der Röhreinrichtung nach der Erfindung werden nachfolgend anhand der schematischen Figur zum weiteren Verständnis der
5 Erfindung näher erläutert. Dabei zeigt die

- FIGUR 1** eine Röhreinrichtung nach der Erfindung,
FIGUR 2 eine andere Ausführung der Röhreinrichtung,
Figur 3 zwei einzelne in vivo-NMR-Messreihen unter Einsatz der
10 erfindungsgemäßen Röhreinrichtung und
Figur 4 zwei aufeinanderfolgende in vivo-NMR-Messreihen unter Einsatz der erfindungsgemäßen Röhreinrichtung.

Die Figuren sind schematische Darstellungen, nicht maßstabsgerecht und
15 stellen nur Beispiele für mögliche Ausführungsformen dar.

Figur 1 zeigt eine bevorzugte Ausführung einer Röhreinrichtung **01** zum Rühren eines Fluids **02** in einem Gefäß **03** mittels eines Gasblasenhebers **04**. Der Gasblasenheber **04** wird durch ein Standrohr **05** und eine Gaszuführung **06** gebildet. Das Standrohr **05** ragt in das Innere des Gefäßes **03** und in das
20 Fluid **02** hinein und weist Öffnungen **07** an seinem oberen Ende **08**, an seinem unteren Ende **09** sowie Durchtrittsöffnungen **10** knapp oberhalb der Oberfläche **11** des Fluids **02** auf. Die Gaszuführung **06** wird im Inneren des Standrohres **05** durch eine Düse **12** mit einem Düsenkörper **13** gebildet, der am Gasaustritt
25 **14** an seinem unteren Ende **15** einen verengten Durchmesser **16** und an seinem oberen Ende **17** einen Durchmesser **18** aufweist, der dem des Standrohres **05** entspricht, wobei der Durchmesser vom unteren Ende **15** zum oberen Ende **17** stetig erweitert ist. Das obere Ende **15** des Düsenkörpers **13** ist oberhalb der Durchtrittsöffnungen **10** fest und dicht mit dem Standrohr **05**
30 verbunden. Der Gaseintritt **36** wird dabei durch die Öffnung **07** am oberen Ende **08** des Standrohres **05** gebildet. Das Gefäß **03**, das Standrohr **05** und der Düsenkörper **13** weisen einen kreisförmigen Querschnitt auf und sind

konzentrisch zueinander angeordnet. Die Zentrierung des Gasblasenhebers **04** im Gefäß **03** wird oberhalb der Oberfläche **11** des Fluids **02** durch gasdurchlässige Abstandhalter **19** bewirkt, die in diesem Beispiel durch Dichtringe **33** unter Einhaltung eines Ringspalts **34** gebildet sind. Das Gefäß **03** hat in dem gewählten Beispiel einen runden Boden **20**, der bis zum Ansatz des zylindrischen Teils **21** zur Bildung eines ebenen Grundes **22** mit einem festen und inerten Material **23** gefüllt ist. Der Druck des durch die Gaszuführung **06** zugeführten Gases **24** zusammen mit dem verengten Durchmesser **16** am Gasaustritt **14** einerseits und der Abstand **a** zwischen dem Gasaustritt **14** und dem unteren Ende **09** des Standrohres **05** andererseits sorgen dafür, dass Gasblasen **25** nach unten aus dem Gasaustritt **14** austreten und noch innerhalb des Standrohres **05** ihre Richtung umkehren und in einem Fluidhebebereich **26**, der durch einen sich nach oben verengenden Ringspalt **27** zwischen dem Düsenkörper **13** und dem Standrohr **05** gebildet ist, nach oben wandern. Bei ihrem Weg nach oben heben die Gasblasen **25** das Fluid **02** an und lassen es durch die Durchtrittsöffnungen **10** in einen Fluidrückföhrbereich **28**, der durch einen Zwischenraum **29** zwischen dem Standrohr **05** und dem Gefäß **03** gebildet ist, zurückströmen. Das Gas **24** der oberhalb der Oberfläche **11** des Fluids **02** aufgelösten Gasblasen **25** tritt durch die gasdurchlässigen Abstandhalter **19** nach oben aus dem Gefäß **03** aus. Durch die Hebewirkung der Gasblasen **25** im Fluidhebebereich **26** wird eine Sogwirkung auf das Fluid **02** ausgeübt, so dass es unterhalb des Fluidrückföhrbereichs **28** aus einem Fluidnachströmbereich **30** wieder in den Fluidhebebereich **26** eintritt. Durch diese umlaufende Bewegung wird eine konstante und sanfte Durchmischungswirkung auf das Fluid **02** ausgeübt und unterhalb des Standrohres **05** ein Bereich mit einem ungestörten und homogen durchmischten Fluid **02** als Messbereich **31** der Höhe **b** zur Verfügung gestellt.

Figur 2 zeigt eine andere Ausführung einer Röhreinrichtung **01** zum Röhren eines Fluids **02** in einem Gefäß **03** mit ebenem Boden **32** und Abstandhaltern

19, die fest zwischen dem Standrohr **05** und dem Gefäß **03** angeordnet sind und spezielle Öffnungen **35** zum Gasdurchlass aufweisen.

In den **Figuren 1 und 2** ist die Gasführung **37** mit gestrichelten Linien und die Fluidführung **38** mit durchgezogenen Linien dargestellt

Figur 3 zeigt zwei in vivo-NMR-Messreihen unter Einsatz der erfindungsgemäßen Röhreinrichtung. Bierhefe (*Saccharomyces cerevisiae*, Stamm CEN.PK 122, Genotyp MAT a/α ; MAL2-8^c/MAL2-8^c; SUC2/SUC2; aus der EUROSCARF Hefesammlung; siehe <http://web.uni-frankfurt.de/fb15/mikro/euroscarf>) wurde aerobisch in CBS-Medium (kontinuierliche O₂ Beblasung) mit 100 mM Glucose im Chemostat mit einer Verdünnungsrate von $D=0,05 \text{ h}^{-1}$, 30°C und 250 Upm gezüchtet. Unter diesen Bedingungen erreicht die Zelldichte einen Wert von $60,92 \pm 2,22 \text{ g WW l}^{-1}$ (wet weight, Feuchtgewicht) oder $5,36 \pm 0,05 \text{ g DW l}^{-1}$ (dry weight, Trockengewicht). Die Kultur weist einen pH-Wert von 2,65 auf und die Zellen erreichen folgende Allometrie (biologischer Größenvergleich): Mittlerer Durchmesser = $3,099 \pm 1,271 \text{ }\mu\text{m}$; Zelldichte = $304,7 \times 10^6 \text{ Zellen ml}^{-1}$; mittleres Volumen = $6,275 \times 10^9 \text{ }\mu\text{m}^3 \text{ ml}^{-1}$; mittlere Fläche = $10,38 \times 10^9 \text{ }\mu\text{m}^2 \text{ ml}^{-1}$ (Beckmann Coulter^M Multisizer 3 mit 100 mm Kapillare in Coulter ISOTON II Lösung). Die 90 ml Hefe-Suspension aus dem Chemostat wurden unter Vakuum durch einen Sartorius Zelluloseacetatfilter (Durchmesser = 0,2 mm) geleitet und dreimal mit Arbeitspufferflüssigkeit (25 mM MOPS pH 7,0; 2 mM MgSO₄; 1,7 mM NaCl; 2 mM KCl und 100 mM Glukose) gewaschen. Die Zellansammlungen wurden in 2 ml der Arbeitspufferflüssigkeit gesammelt und 250 μl D₂O hinzugefügt: Die insgesamt erreichte Zelldichte in 2,25 ml war $2,436 \text{ g WW ml}^{-1}$ und 11,1 % D₂O. Damit wurde eine sehr hohe Zelldichte erreicht, die ohne den Einsatz der Röhreinrichtung innerhalb weniger Minuten sedimentiert. Es wurden dann ca. 750 μl Zellsuspension in ein 8 mm NMR Probenglasröhrchen mit abgedichtetem Boden gemäß **Figur 1** pipettiert. Die Hefeprobe wurde anschließend in einem 31P NMR in Bruker 400 Ultrashield mit 8 mm Bohrung

gemessen. Zur Beblasung wurde Luft eingesetzt. **Figur 3A** zeigt integrierte Spektren von 512 Scans in 11 min und **Figur 3B** von 3072 Scans in 66 min.

Legende: SP = Phosphorzucker; = cytoplasmatisches anorganisches Phosphat; $P_i(v)$ = vacuolares anorganisches Phosphat; PP_1 und PP_2 =
 5 Oligophosphate; PP_N = Polyphosphate.

Figur 4 zeigt zwei aufeinanderfolgende in vivo-NMR-Messreihen mit Bierhefe (*Saccharomyces cerevisiae*) mit jeweils 3072 Scans in 66 min unter Einsatz der erfindungsgemäßen Röhreinrichtung. Die Legende entspricht der von

10 Figuren 3A und 3B.

15 BEZUGSZEICHENLISTE

	01	Röhreinrichtung
	02	Fluid
	03	Gefäß
20	04	Gasblasenheber
	05	Standrohr
	06	Gaszuführung
	07	Öffnung von 05
	08	oberes Ende von 05
25	09	unteres Ende von 05
	10	Durchtrittsöffnung
	11	Oberfläche
	12	Düse
	13	Düsenkörper
30	14	Gasaustritt
	15	unteres Ende von 13
	16	verengter Durchmesser

	17	oberes Ende von 13
	18	Durchmesser
	19	Abstandhalter
	20	runder Boden
5	21	zylindrischer Teil von 03
	22	ebener Grund
	23	inertes Material
	24	Gas
	25	Gasblasen
10	26	Fluidhebebereich
	27	verengter Ringspalt
	28	Fluidrückföhrbereich
	29	Zwischenraum
	30	Fluidnachströmbereich
15	31	Messbereich
	32	ebener Boden
	33	Dichtring
	34	Ringspalt
	35	spezielle Öföfnung
20	36	Gaseintritt
	37	Gasföhrung (gestrichelte Linie)
	38	Fluidföhrung (durchgezogene Linie)
	a	Abstand
	b	Höhe

PATENTANSPRÜCHE

- 5 **1.** Einrichtung zum Rühren (01) eines Fluids (02) in einem Gefäß (03) mittels eines Gasblasenhebers (04) mit einem vertikal in das Fluid (02) eingetauchten und am oberen und am unteren Ende (08,09) Öffnungen (07) aufweisenden Standrohr (05) mit einem von aufsteigenden Gasblasen (25) aus einem Gas (24), das über eine Gaszuführung (06) mit einem Gaseintritt (36) und einem
- 10 Gasaustritt (14) in das Innere des Standrohrs (05) eingeleitet wird, durchströmten Fluidhebebereich (26), an dessen oberes Ende sich ein Fluidrückföhrbereich (28) und an dessen unteres Ende sich ein Fluidnachströmbereich (30) anschließt,
- DADURCH GEKENNZEICHNET**, dass
- 15 die Gaszuföhrung (06) vom oberen Ende (08) des Standrohrs (05) her unter Bildung eines Zwischenraums (29) zum Standrohr (05) mit einer solchen Tiefe in das Standrohr (05) hineinragt und das Gas (24) mit einem solchen Druck in das Innere des Standrohrs (05) eingeleitet wird, dass die am Gasaustritt (14) der Gaszuföhrung (06) austretenden Gasblasen (25) noch innerhalb des
- 20 Standrohrs (05) umkehren und aufsteigen, wobei der Fluidnachströmbereich (30) gasblasenfrei ist, und dass der Fluidhebebereich (26) in dem Zwischenraum (29) ausgebildet ist.
- 25 **2.** Einrichtung zum Rühren eines Fluids nach Anspruch 1,
- DADURCH GEKENNZEICHNET**, dass
- das Gefäß (03) und das Standrohr (05) einen kreisförmigen Querschnitt aufweisen und konzentrisch zueinander angeordnet sind.

3. Einrichtung zum Rühren eines Fluids nach Anspruch 1,

DADURCH GEKENNZEICHNET, dass

5 die Öffnung (07) am oberen Ende (08) des Standrohrs (05) von einer offenen
Stirnseite oder von zumindest einer Durchtrittsöffnung (10) in der Mantelfläche
des Standrohrs (05) gebildet ist, an die sich der Fluidrückführbereich (28)
anschließt.

10 **4.** Einrichtung zum Rühren eines Fluids nach Anspruch 1,

DADURCH GEKENNZEICHNET, dass

der gasblasenfreie Fluidnachströmbereich (30) als Messbereich (31)
ausgebildet ist.

15

5. Einrichtung zum Rühren eines Fluids nach Anspruch 1,

DADURCH GEKENNZEICHNET, dass

16 die Gaszuführung (06) als Düse (12) mit einem Düsenkörper (13) mit in
Richtung auf den Gasaustritt (14) verengtem Durchmesser (16) ausgebildet
20 und konzentrisch zum Standrohr (05) angeordnet ist.

6. Einrichtung zum Rühren eines Fluids nach Anspruch 5,

DADURCH GEKENNZEICHNET, dass

25 der Durchmesser des Düsenkörpers (13) zwischen dem verengten
Durchmesser (16) am Gasaustritt (14) und dem Durchmesser oberhalb der
Durchtrittsöffnung (10) stetig auf den Durchmesser des Standrohrs (05)
erweitert und mit diesem fest und dicht verbunden ist, wobei der Gaseintritt
(36) durch das obere Ende (08) des Standrohrs (05) gebildet ist.

30

7. Einrichtung zum Rühren eines Fluids nach Anspruch 2,

DADURCH GEKENNZEICHNET, dass

das Gefäß (03) einen ebenen Boden (32) oder einen runden Boden (20) aufweist, der zumindest bis zum Beginn des zylindrischen Teils (21) des Gefäßes (03) zur Bildung eines ebenen Grundes (22) des Fluids (02) mit einem festen, in Bezug auf das Fluid (02) inerten Material (23) gefüllt oder gegen das Fluid abgedichtet ist.

8. Einrichtung zum Rühren eines Fluids nach Anspruch 2,

DADURCH GEKENNZEICHNET, dass

zur Zentrierung des Standrohres (05) in dem Gefäß (03) zumindest zwei zwischen dem Standrohr (05) und dem Gefäß (03) eingefügte gasdurchlässige Abstandhalter (19) vorgesehen sind.

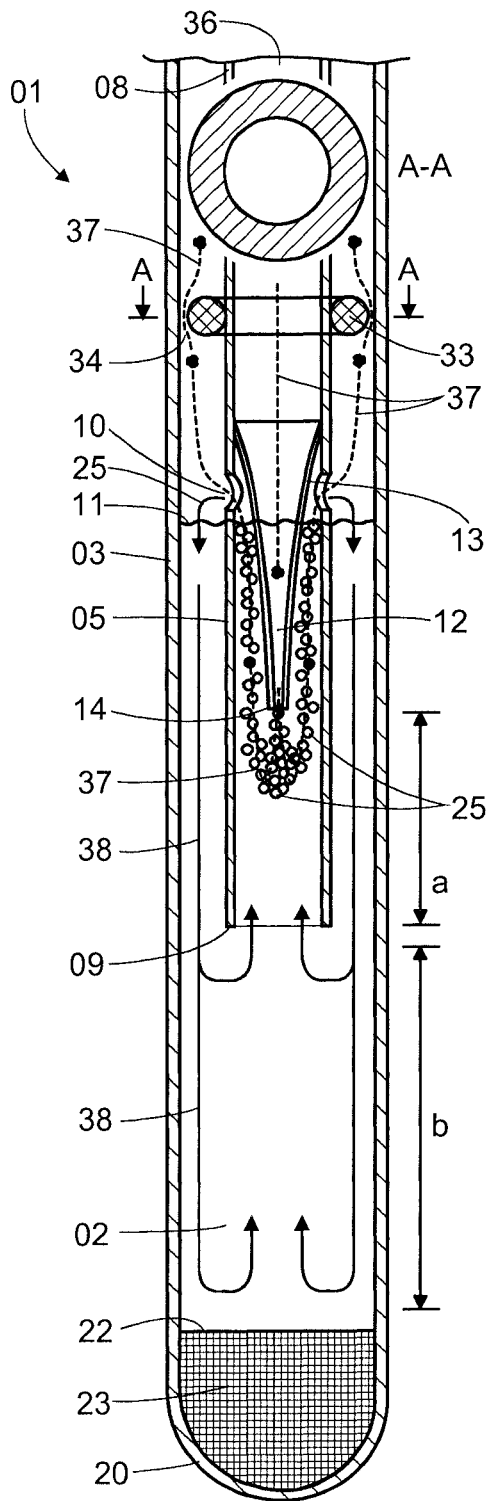


Fig.1

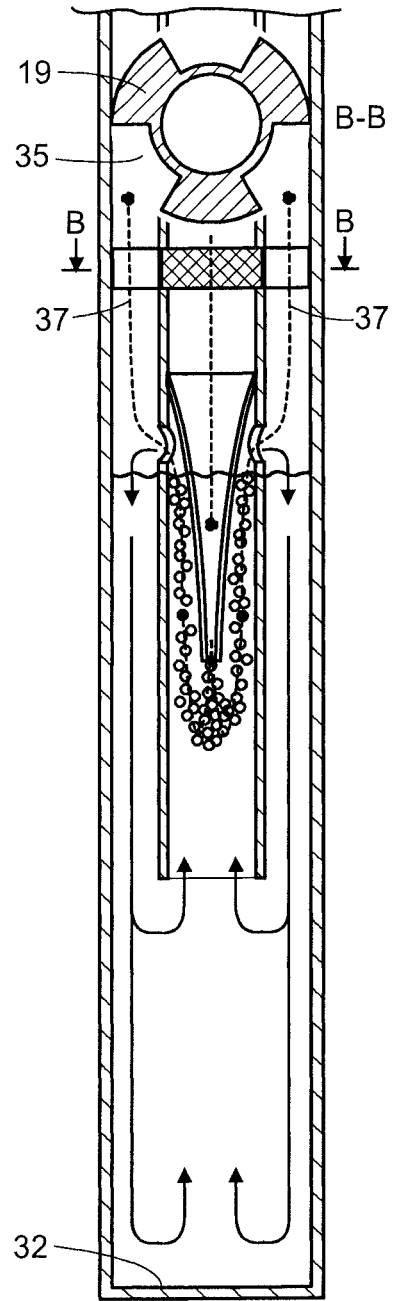


Fig.2

2/3

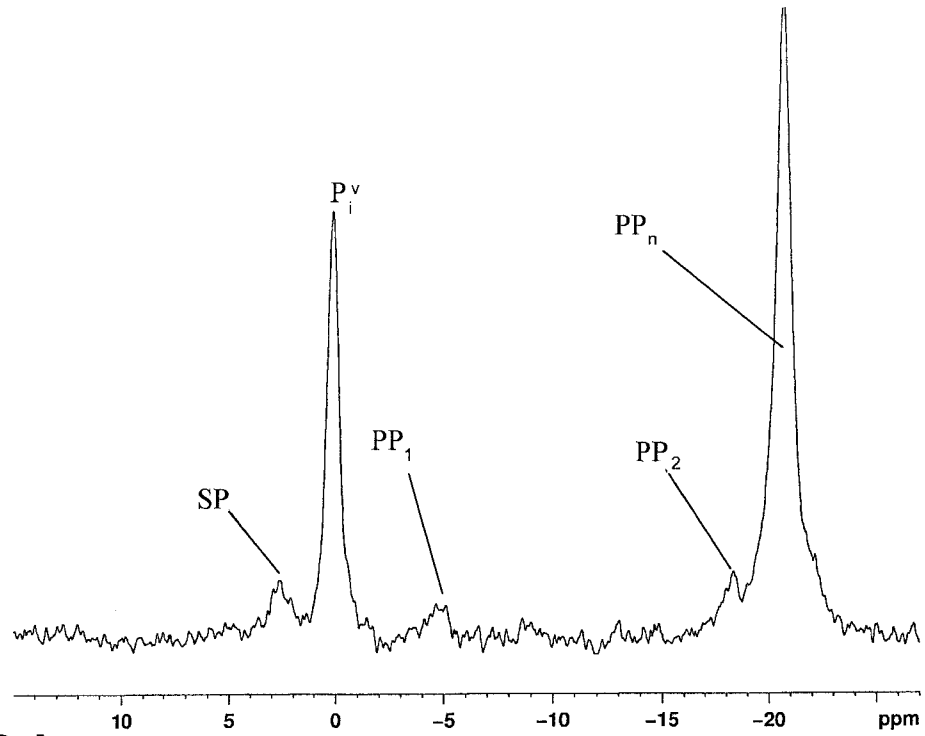


Fig.3A

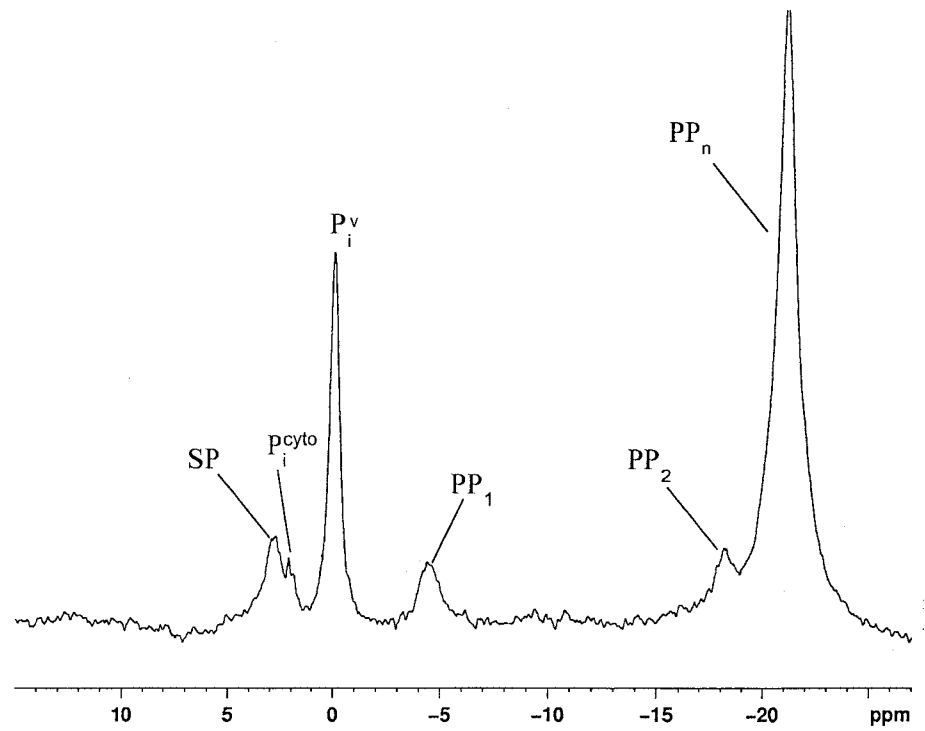


Fig.3B

3/3

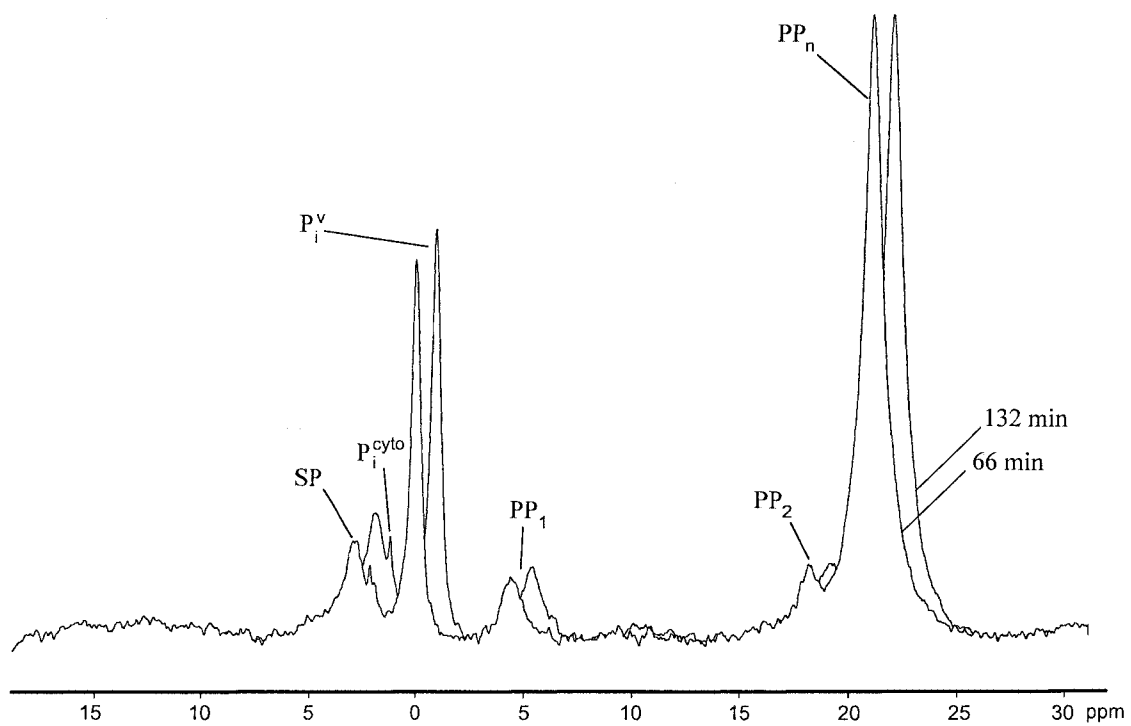


Fig.4

ZUSAMMENFASSUNG**Einrichtung zum Rühren von Fluiden mittels Gasblasen**

5

Eine Einrichtung zum Rühren (01) von Fluiden (02) hoher Dichte mit feinteiligen Feststoffen soll in einem Gefäß (03) mittels eines Gasblasenhebers (04) aus einem Standrohr (05), das in das Fluid (02) hineinragt und einer Gaszuführung (06) von oben im Inneren des Standrohrs (05), in einem

10

Messbereich (31) homogener Vermischung empfindliche Untersuchungen ermöglichen. Das Gefäß (03) und der Gasblasenheber (04) haben einen kreisförmigen Querschnitt und sind konzentrisch zueinander angeordnet. Ein Gas (24) mit geregelter Gasdruck lässt die Gasblasen (25) am Gasaustritt (14) innerhalb des Standrohrs (05) umkehren, aufsteigen und das Fluid (02)

15

anheben und durch Durchtrittsöffnungen (10) im Standrohr (05) mitnehmen. Durch den Sog beim Aufsteigen der Gasblasen (25) wird das Fluid (02) im Umlauf gehalten. Die Gaszuführung (06) ist eine Düse (12) mit verengtem unterem Gasaustritt (14), die nach oben stetig auf den Durchmesser des Standrohrs (05) erweitert und mit diesem oberhalb der Durchtrittsöffnungen

20

(10) fest verbunden ist. Durch die Konstruktion des Gasblasenhebers (04) mit umgekehrtem Gasstrom bleibt der Messbereich (31) unter dem Standrohr (05) gasblasenfrei und stellt ein sehr homogenes und ungestörtes Fluid (02) für Messzwecke bereit.

25

SIGNIFIKANTE FIGUR FÜR DIE ZUSAMMENFASSUNG: 1

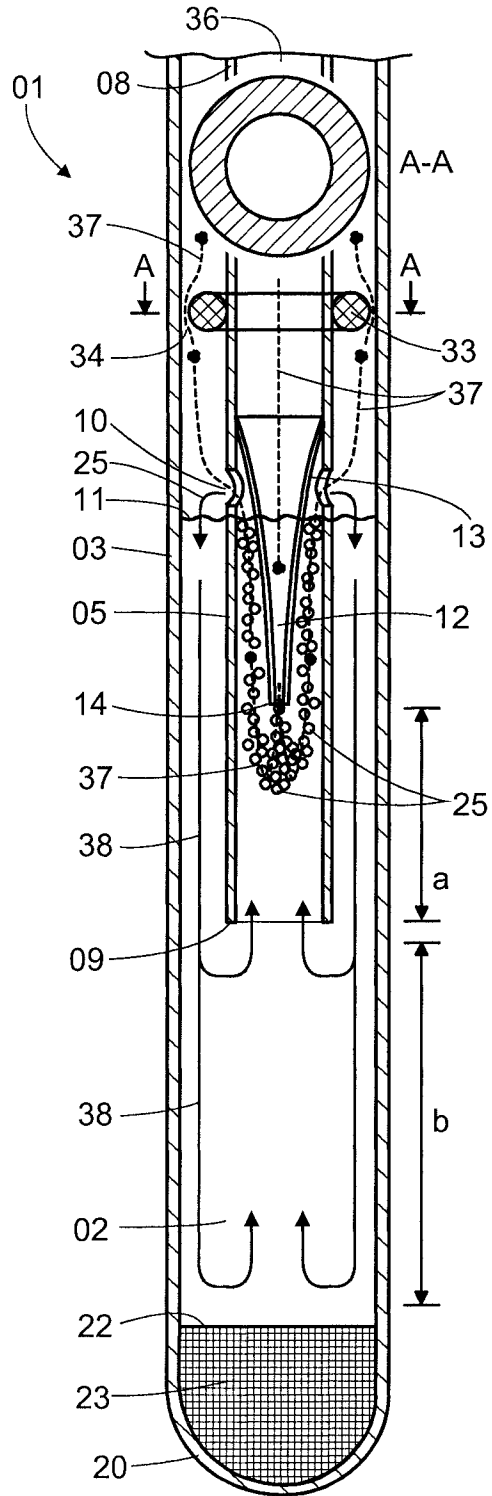


Fig.1