

Bruch von Proteinkristallen im mechanischen Trennprozess

zur Erlangung des akademischen Grades eines
DOKTORS DER INGENIEURWISSENSCHAFTEN (Dr.-Ing.)

der Fakultät für Chemieingenieurwesen und Verfahrenstechnik des
Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)

genehmigte
DISSERTATION

von

Dipl.-Ing. Bianca Cornehl

aus Karlsruhe

Referent: Prof. Dr.-Ing. Hermann Nirschl

Korreferent: Prof. Dr.-Ing. Jürgen Hubbuch

Tag der mündlichen Prüfung: 31.10.2014

Danksagung

Diese Arbeit entstand während meiner Zeit von 2009-2014 im Rahmen meiner Tätigkeit als wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Mechanische Verfahrenstechnik und Mechanik (MVM) des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT).

Mein Dank gilt insbesondere meinem Doktorvater Herrn Prof.Dr.-Ing. Hermann Nirschl für die hervorragende Betreuung während der letzten fünf Jahre. Ich danke Ihnen nicht nur für die vielen fachlichen Diskussionen und Anregungen, sondern auch für die immer angenehme Arbeitsatmosphäre und für die Möglichkeit meine Ergebnisse auf vielen Konferenzen präsentieren zu können.

Herrn Prof.Dr.-Ing. Jürgen Hubbuch danke ich für die freundliche Übernahme des Koreferats.

Für die Konstruktion von Versuchsanlagen danke ich Herrn Hans Guigas, Herrn Andreas Lumpp und Herrn Friedhelm Flügel. Besonders zu Beginn meiner Promotionszeit stand Herr Flügel mir bei der Durchführung von Versuchen zur Seite und hatte immer hilfreiche Verbesserungsvorschläge. Herrn Thomas Reutter möchte ich für die ständige Unterstützung danken. Zahlreiche kleine Bauteile und Verbesserungen dieser wären ohne ihn nicht möglich gewesen. Für die Fertigung der Teile meiner Versuchsanlagen danke ich der mechanischen Werkstatt.

Der Partikelmessstechnik möchte ich danken für das entleihen und bestellen von diversem Labormaterial und der Messung von Partikelgrößenverteilungen. Besonders danken möchte ich Herr Klaus Hirsch und Frau Astrid Huber.

Daneben möchte ich allen ehemaligen und aktuellen Kollegen am MVM für das freundliche Arbeitsklima, die vielen interessanten Diskussionen und die schönen Grillabende und Wanderseminare danken. Meinen Projektkolleginnen Frau Natalie Rakel und Frau Stefanie Alten möchte ich für die fachliche und messtechnische Unterstützung danken.

Dank gilt auch meinen vielen Studenten, die mich in meiner Arbeit sehr unterstützt haben. Hervorheben möchte ich Nicole Barkholz, Nicolas Schork, Dominik Hofheinz, Thilo Grünke, Annika Schwab, Jan-Philipp Büser, Lisa Löbnitz und Carmen Liebich.

Danken möchte ich auch Herrn Achim Overbeck von der Universität Braunschweig für die

Messung der mechanischen Eigenschaften meiner Einzelkristalle.

Meinen Eltern möchte ich danken, die mich in meinem Studium und während meiner Promotionszeit unterstützt haben.

Ein persönliches Dankeschön geht an meinen Freund Johannes Knoll, der mich vor allem gegen Ende der Promotionszeit sehr unterstützt hat, unter anderem durch das Gegenlesen der vorliegenden Arbeit und mich immer wieder motivieren konnte. Ich danke dir sehr für deine Unterstützung, die wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit dem Bruch von Proteinkristallen in mechanischen Trennverfahren. Die Besonderheit von Proteinkristallen ist, dass diese im Vergleich zu konventionellen kristallinen Systemen schon bei geringen mechanischen Belastungen brechen können. In mechanischen Trennverfahren, wie der Filtration und der Zentrifugation, führt Kristallbruch zu einer schlechteren Abtrennbarkeit. Bei zentrifugalen Verfahren, bei denen die Kristalle vor allem im Einlauf auf Scherung/Turbulenz beansprucht werden, führt eine Zerkleinerung des partikulären Systems zu einer langsameren Sedimentation. Bei filtrierenden Verfahren ist der Druck auf die Kristalle der entscheidende Mechanismus. Der Bruch von Kristallen hat einen Anteil an der Kompressibilität der sich bildenden Kuchen. Es gilt herauszufinden, inwieweit der Kristallbruch beeinflusst ist durch die Morphologie, die Abtrenngrößen bzw. Prozessbedingungen und durch das gewählte Abtrennverfahren an sich. Dadurch lassen sich insbesondere die Kristallisation und der Fest-Flüssig-Trennschritt aufeinander abstimmen. Auch lässt sich durch eine geeignete Wahl der Prozessbedingungen, wie beispielsweise die Erhöhung der äquivalenten Klärfläche bei erhöhtem Feinanteil in zentrifugalen Abtrennverfahren, das Verfahren optimieren. Eine Vielzahl von Arbeiten zum Bruch von Kristallen während Grundoperationen der mechanischen Verfahrenstechnik beschäftigt sich mit Kristallen $> 100 \mu\text{m}$. Die hier zu untersuchenden Proteinkristalle bewegen sich allerdings in einem Größenbereich $< 100 \mu\text{m}$. Für die noch recht stabilen anorganischen Kristalle war in diesem Größenbereich kein Bruch zu erwarten da kleine Kristalle einer weniger starken Belastung unterliegen, sowohl in Haufwerken bei der Filtration, als auch in Sedimentationsverfahren. Bei den empfindlicheren Proteinkristallen ist ein Einfluss schon von geringen Belastungen nicht auszuschließen und daher Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

Anhand des Modellsystems Lysozym sollen diese Einflüsse und Zusammenhänge untersucht werden. Der Bruch kann über das Ausmaß und die zugrundeliegenden Mechanismen evaluiert werden. Als erster Schritt wird das grundlegende Bruchverhalten in Modellapparaturen zur Scher- und Druckbelastung untersucht. Weiter wird die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf Pilotanlagen, einer dynamischen Cross-Flow-Einheit (Dynotest von Boke-

la) und einer filtrierenden Vertikalzentrifuge (Heinkel), überprüft.

Die systematische Beanspruchung der Kristallsuspensionen wird zum einen apparativ gelöst durch eine Scherzelle, welche die Belastung im Einlass von Zentrifugen nachbilden kann und nur geringe Produktmengen pro Versuch benötigt. Zum anderen wird für die Druckbeanspruchung auf eine miniaturisierte Kompressions-Permeabilitätszelle zurück gegriffen. Durch eine Variation der Kristallisationsbedingungen konnte die Morphologie der Lysozymkristalle beeinflusst werden und der Einfluss dieser auf die Abtrennung untersucht werden. Kompakte tetragonale, aggregierte tetragonale und nadelige Lysozymkristalle waren Gegenstand der Untersuchungen.

Weiter wurden die Prozessparameter variiert. In der Scherzelle waren dies die Feststoffkonzentration, die Drehzahl der Scherscheibe und die Scherzeit. Bei der Druckbeanspruchung wurden der Einfluss des Differenzdrucks und der Zeit betrachtet. Die wichtigsten Erkenntnisse stellen sich folgendermaßen dar. Die anhand von Kornanreicherungskurven beurteilten Bruchmechanismen waren bei der Scher- und Druckbeanspruchung der kristallinen Systeme gleich. Kristallnadeln zeigten einen vollständigen Bruch, während bei aggregierten und isometrischen (kompakten) Kristallen Abrieb/Abbruch von Ecken und Kanten dominierend war. Der Kristallbruch durch Scherung/Turbulenz führte zu einer deutlichen Reduktion der ermittelten Trennsiegelsinkgeschwindigkeiten von bis zu 83 % bei maximaler Scherintensität. Die Druckbeanspruchung von Haufwerken zeigte, dass es schon bei sehr geringen Drücken < 1 bar zu einer ausgeprägten Reduktion der mittleren Kristallgröße von ca. 40 % kommt. Eine Reduktion der Kristallgröße kann prinzipiell auf den Widerstand und die Kompressibilität des Kuchens Auswirkungen haben. Tendenziell führt eine verminderte Kristallgröße zu höheren Widerständen und einer höheren Kompressibilität, allerdings spielen Wechselwirkungen zwischen den Kristallen auch noch eine Rolle. Welchen Anteil der Kristallbruch auf die detektierten Eigenschaften des Kuchens hat, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht erfasst werden.

Die Übertragbarkeit der gewonnenen Erkenntnisse aus den Scherzellenversuchen auf die dynamische Querstromfiltration ist nur eingeschränkt möglich. Zwei Ursachen sind zu nennen. Zum einen tritt in der dynamischen Filtration aufgrund der unterschiedlichen Rührergestaltung Kristallbruch durch Prallbeanspruchung auf. Zum anderen sind die Belastungszeiten wesentlich länger. Während die dynamische Filtration 30-60 Minuten andauerte wurden die Kristalle in der Scherzelle nur 10-30 Sekunden beansprucht. Grund für die kurzen Beanspruchungszeiten in der Scherzelle war vor allem die hohe Wärmentwicklung durch die in die Suspension eingetragene Energie. Die Versuche in der Scherzelle lassen also Aussagen über das Verhalten im Einlaufbereich von Zentrifugen zu, nicht jedoch über den Bruch in dynamischen Filtrationsverfahren. Nichtsdestotrotz war das prin-

zipielle Ausmaß des Kristallbruchs in der dynamischen Querstromfiltration ähnlich wie in der Scherzelle. Versuche in dieser lassen also eine grobe Einschätzung des Verhaltens zu. Die Ergebnisse aus Versuchen in einer filtrierenden Vertikalzentrifuge ließen sich wesentlich besser mit der reinen Druckbeanspruchung korrelieren. Lediglich ein leicht erhöhter Feinanteil ist zu beobachten. Dieser lässt sich begründen durch den Abrollprozess der Kristalle nach dem Einlassvorgang. Die Strömungen im Einlauf der Zentrifuge führten in diesem Fall nicht zu einer Vorzerkleinerung der Kristalle.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Kristallbruch bei Proteinkristallen schon bei geringen Belastungen auftritt und einen Einfluss auf die Abtrennleistung hat. Dies steht im Gegensatz zu bisherigen Arbeiten mit konventionellen anorganischen und organischen Kristallen, die bei geringen Kristallgrößen und Belastungen Kristallbruch ausgeschlossen haben. Die Modellapparaturen im kleinen Maßstab erlauben nun eine prinzipielle Einschätzung des Bruchs in Fest-Flüssig-Trennapparaten. Dies ermöglicht schon im Entwicklungsstadium von beispielsweise pharmazeutisch aktiven Proteinen eine geeignete Auswahl der Kristallstruktur, wenn diese sich beeinflussen lässt, des Trennapparats und der geeigneten Prozessbedingungen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde nur ein Modellsystem und eine beschränkte Zahl an möglichen Kristallmorphologien bezüglich ihres Bruchverhaltens beurteilt. Interessant wäre hier die Erweiterung der Arbeit auf Proteine mit einem höheren Molekulargewicht bzw. schwächeren Wechselwirkungen untereinander. Diese beiden Punkte haben einen wesentlichen Einfluss auf die mechanischen Eigenschaften des Einzelkristalls und somit aller Wahrscheinlichkeit nach auf das Bruchverhalten während der Abtrennung. Auch konnte nicht herausgefunden werden, welchen Einfluss der Bruch auf die Kompressibilität von Filterkuchen hat. Letzter und wichtigster Punkt ist die Übertragbarkeit auf den großtechnischen Maßstab. Hier gilt es die Laborapparaturen zu optimieren um eine bessere Übertragbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten.

Summary

This thesis deals with the breakage of protein crystals in mechanical separation processes. Compared to conventional crystalline systems, protein crystals may break at low mechanical loads already. In mechanical separation processes, such as filtration and centrifugation, crystal breakage deteriorates the separation efficiency. In centrifugation processes, in which the crystals are subject to shear / turbulence loading in the inlet area in particular, comminution of particulate systems leads to a slower sedimentation velocity. For filtration, the pressure on the crystal is the key mechanism. Breakage of crystals contributes to the compressibility of the forming cake. It is essential to investigate to what an extent crystal breakage is influenced by the morphology, separation parameters or process conditions, and by the chosen separation process. This allows for adapting crystallization and solid-liquid separation to each other. The separation process can also be optimized by an appropriate choice of the process conditions, such as increased equivalent clarification area with increasing fraction of fines in centrifugal separation.

Numerous studies of the breakage of crystals in basic operations of mechanical process engineering focus on crystals smaller than 100 μm . The protein crystals examined here, however, are in a size range below 100 μm . The still quite stable inorganic crystals in this size range were not expected to break, since small crystals are not subjected to high loads in heaps in filtration as well as in sedimentation. For the more sensitive protein crystals, breakage under low loads cannot be excluded, which is why it is the subject of this thesis. These influences and relationships will be examined using the lysozyme model system. The breakage behavior can be evaluated based on the extent of breakage and the underlying mechanisms. As a first step, the basic breakage behavior will be investigated in model setups for shear and compressive loading. Then, the transferability of the results to pilot plants, a dynamic cross-flow unit (DYNOTEST of Bokela) and a filtering vertical centrifuge (Heinkel), will be discussed.

Systematic loading of the crystal suspensions is achieved by using a shear cell to simulate the load in the inlet of centrifuges. It requires small amounts of the product per test only. Compressive loading of the crystals is achieved by a miniaturized compression-

permeability cell. By varying the crystallization conditions, the morphology of lysozyme crystals was influenced. Its impact on separation was analyzed. Compact and aggregated tetragonal lysozyme crystals as well as needle-shaped lysozyme crystals were studied.

In addition, the process parameters were varied. In the shear cell, these were the solids concentration, the rotational speed of the shear plate, and the shear time. In compressive loading, the influence of differential pressure and time was considered. The following main findings were obtained: The fracture mechanisms of shear and compressive loading were derived from the particle concentration ratio curves and found to be the same for the same crystalline systems. Crystalline needles exhibited complete breakage, while aggregated and isometric (compact) crystals predominantly showed abrasion / breaking of corners and edges. Crystal breakage due to shear / turbulence led to a significant reduction of the determined separation front velocity by up to 83 % at maximum shear intensity. Even at very low pressures of <1 bar, compressive loading of filter cakes caused a pronounced reduction of the mean crystal size by about 40 %. A reduced crystal size may affect the resistance and compressibility of the cake. Filter cake resistance and compressibility may be increased, but interactions between the crystals also play a role. However, the impact of crystal breakage on the cake properties could not be detected.

Transferability of the findings obtained from the shear cell experiments to dynamic cross-flow filtration is limited for two reasons. Firstly, variable stirrer geometry during dynamic filtration results in crystal breakage due to impact loading. Secondly, loading times are much longer. Dynamic filtration lasted 30-60 minutes, while the crystals in the shear cell were loaded for 10-30 seconds only. The short loading times in the shear cell were mainly caused by the high heat generation due to the energy input into the suspension. The experiments in the shear cell, thus, allow statements to be derived with respect to the behavior in the inlet region of centrifuges, but not with regard to breakage in dynamic filtration processes. Nevertheless, the extent of crystal breakage in dynamic cross-flow filtration was similar to that in the shear cell in principle. Hence, experiments in the shear cell allow for a rough estimation of the behavior.

Correlation of results from tests in a filtering vertical centrifuge with pure compression was much better. Only a slightly higher proportion of fines is observed. This could be explained by rolling of the crystals after the inlet. Fluid flow in the inlet of the centrifuge led to no pre-breaking of the crystals in this case.

In summary, it can be said that breakage of protein crystals occurs already at low loads and has an influence on the separation efficiency. This is in contrast to previous work with conventional inorganic or organic crystals, in which crystal breakage was excluded at low crystal sizes and loads. The small-scale model setups now allow for a principle estimation

of breakage in solid-liquid separation systems. As early as in the development stage of pharmaceutically active proteins, for example, it is now possible to make a suitable choice of the crystal structure, if this can be influenced, of the separating apparatus, and of appropriate process conditions.

Within the framework of this thesis, only a model system and a limited number of possible crystal morphologies were evaluated with respect to their breakage behavior. It would be interesting to extend the work to proteins with a higher molecular weight or weaker interactions. These two points have a substantial influence on the mechanical properties of single crystals and, hence, on breakage behavior during separation. Moreover, it turned out to be impossible to find out what influence crystal breakage has on the compressibility of the filter cake. The last and most important point is the transferability of the results to the industrial scale. It can be improved by optimizing the systematic equipment.

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1 | Einleitung | 1 |
| 2 | Theoretische Grundlagen | 3 |
| 2.1 | Modellproteine und Kristallisation | 3 |
| 2.1.1 | Modellproteine | 3 |
| 2.1.2 | Proteinkristallisation | 3 |
| 2.2 | Grundlagen der Zerkleinerungstechnik | 7 |
| 2.2.1 | Kristallzerstörung unter Druckbelastung | 7 |
| 2.2.2 | Kristallzerstörung unter Prall- und Scherbelastung | 17 |
| 2.3 | Partikelzerstörung in technischen Systemen | 22 |
| 2.4 | Besonderheiten der Proteinkristalle bei mechanischer Belastung | 23 |
| 3 | Abgrenzung des Themengebiets und Ziel der Arbeit | 27 |
| 4 | Materialien und Methoden | 29 |
| 4.1 | Kristallisation des Modellsystems Lysozym | 29 |
| 4.1.1 | Isometrische Kristalle | 29 |
| 4.1.2 | Nadelige Kristalle | 30 |
| 4.1.3 | Aggregierte Lysozymkristalle | 30 |
| 4.2 | Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften am Einzelkristall | 31 |
| 4.3 | Beurteilung der Partikelgröße mittels Bildanalyse | 33 |
| 4.4 | Zerkleinerung der Partikel unter Druckbelastung | 37 |
| 4.4.1 | Eindickung der Kristallsuspensionen | 38 |
| 4.4.2 | Bestimmung der Kristallmassenkonzentration | 38 |
| 4.4.3 | Berechnung und Bestimmung der charakteristischen Haufwerkspa- rameter | 39 |
| 4.4.4 | Drucknutsche | 43 |

| | | |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.4.5 | Kompressionszelle (CP-Zelle) | 45 |
| 4.4.6 | Versuchsführung | 47 |
| 4.5 | Zerkleinerung der Partikel unter Scherbelastung | 48 |
| 4.5.1 | Übertragung auf Zentrifugen | 48 |
| 4.5.2 | Strömungsbeschreibung in der Scherzelle | 50 |
| 4.5.3 | Apparativer Aufbau und Versuchsdurchführung | 51 |
| 4.5.4 | Optische Sedimentationsanalyse | 52 |
| 4.6 | Übertragung der Ergebnisse auf großtechnische Prozesse | 57 |
| 4.6.1 | Dynamische Cross-Flow Filtration | 57 |
| 4.6.2 | Vertikalzentrifuge | 63 |
| 4.7 | Charakterisierung von Waschprozessen | 72 |
| 4.7.1 | Durchströmungswäsche | 73 |
| 4.7.2 | Verdünnungswäsche in Cross-Flow-Verfahren | 74 |
| 5 | Ergebnisse Kristallisationsversuche | 75 |
| 6 | Einfluss der Scherbeanspruchung auf Kristallbruch und Sedimentationsverhalten | 77 |
| 6.1 | Übersicht der Scherversuche | 77 |
| 6.2 | Isometrische Kristalle | 80 |
| 6.3 | Nadelige Kristalle | 81 |
| 6.4 | Aggregierte Kristalle | 84 |
| 6.5 | Vergleich der untersuchten Kristallstrukturen bezüglich ihrer Scherstabilität | 87 |
| 6.5.1 | Veränderungen der normierten Kristallgröße und des Bruchmechanismus | 87 |
| 6.5.2 | Sedimentation und Einfluss auf die Abtrennung in Zentrifugen . . . | 90 |
| 7 | Kristallbruch unter Druckbeanspruchung im Haufwerk und Einfluss auf die Filtrationseigenschaften | 93 |
| 7.1 | Übersicht der Filtrationsversuche | 93 |
| 7.2 | Vorversuche | 94 |
| 7.3 | Einfluss der Presszeit auf Filtrations- und Bruchverhalten isometrischer Kristalle | 96 |
| 7.3.1 | Kristallgrößenverteilung | 96 |
| 7.3.2 | Filtrationseigenschaften | 97 |
| 7.4 | Kuchenstrukturanalyse mit 3D Laser Scanning Mikroskopie (LSM) | 98 |
| 7.5 | Bruch isometrischer Lysozymkristalle bei kleinen Drücken | 99 |

| | | |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 7.5.1 | Kristallgrößenverteilung | 99 |
| 7.5.2 | Filtrationseigenschaften | 100 |
| 7.6 | Filtration isometrischer Kristalle von 0,25 bis 4,5 bar | 101 |
| 7.7 | Filtration nadeliger und isometrischer Lysozymkristalle | 104 |
| 7.7.1 | Kristallgrößenverteilung | 104 |
| 7.7.2 | Filtrationseigenschaften | 109 |
| 7.8 | Filtrations- und Bruchverhalten von Lysozymkristallaggregaten | 110 |
| 7.8.1 | Filtrationseigenschaften | 110 |
| 7.8.2 | Kristallgrößenverteilung | 110 |
| 7.8.3 | Charakterisierung der Gutbettzerkleinerung über Kraft-Weg-Kurven | 115 |
| 7.9 | Filtration und Druckstabilität aller untersuchten Kristallmorphologien . . . | 117 |
| 7.9.1 | Einfluss der Presszeit auf das Materialverhalten kompakter isometrischer (Ansatz A) und aggregierter Lysozymkristalle | 118 |
| 7.9.2 | Einfluss des Pressdruckes auf das Materialverhalten nadeliger und aggregierter Lysozymkristalle | 119 |
| 7.9.3 | Vergleich der Kraft-Weg-Kurven aller untersuchten kristallinen Strukturen | 121 |
| 7.9.4 | Vergleich der Kompressibilitäten aller Systeme | 122 |
| 8 | Übertragung der Ergebnisse auf großtechnische Prozesse | 125 |
| 8.1 | Dynamische Cross-Flow Filtration | 125 |
| 8.1.1 | Eindickung | 125 |
| 8.1.2 | Waschung | 135 |
| 8.2 | Vertikalzentrifuge | 138 |
| 8.2.1 | Kurzübersicht über die durchgeführten Versuche | 138 |
| 8.2.2 | Kristallisation | 139 |
| 8.2.3 | Einfluss der Peripherie auf den Kristallbruch | 142 |
| 8.2.4 | Einfluss der Zentrifugenparameter auf die Kristallgröße | 142 |
| 8.2.5 | Filterkuchenspezifikationen | 146 |
| 8.2.6 | Verknüpfung der Druckbeanspruchung während der Zentrifugation mit der Belastung während der Filtration | 152 |
| 9 | Allgemeine Schlussfolgerungen und weiterführende Überlegungen | 155 |
| 10 | Anhang | 161 |

Abbildungsverzeichnis

| | | |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.1 | Phasendiagramm der Proteinfällung [40] | 4 |
| 2.2 | Elementarzelle im Kristallgitter | 6 |
| 2.3 | Habitus von tetragonalen Kristallen [54] | 7 |
| 2.4 | Schematische Darstellung von Bruchanteil und ϵ -funktion [38] | 9 |
| 2.5 | Linien konstanter Spannung eines Filterkuchens aus hochkompressibler Zellose [110] und Verteilung der Schüttdichte (in g/cm^3) in einem einaxial von oben beanspruchten Gutbett aus Nickelpartikeln [89] | 10 |
| 2.6 | Kraft-Weg-Kurve [72] | 11 |
| 2.7 | Simulation eines Gutbettes [72] | 12 |
| 2.8 | Schematische Darstellung von Abrieb und Abrasion [24] | 22 |
| 2.9 | Darstellung der millerschen Indizes (a) und der kristallographischen Gleitebenen im tetragonalen Lysozymkristall (b)[109] | 25 |
| 4.1 | Für die Kristallisationen eingesetzte Magnetrührer: (a) Turbinenrührer zur Herstellung isometrischer Kristalle (b) Schwimmer-Magnetrührfisch zur Herstellung nadelförmiger Kristalle | 30 |
| 4.2 | Kristallbruch eines isometrischen Kristalls bei der Beanspruchung zwischen zwei Platten (a) vor Beanspruchung (b) nach Beanspruchung | 33 |
| 4.3 | Bildbearbeitung zur Partikelgrößenanalyse: (a) Mit Mikroskop aufgenommenes Bild (b) mit Photoshop bearbeitet (c) Threshold gesetzt mit ImageJ (d) Partikelvermessung mit ImageJ | 36 |
| 4.4 | Fehler in der Bildanalyse: Verlust von kleinen Partikeln und Fehlmessung von Kristallen mit unscharfen Kanten | 36 |
| 4.5 | Fehler in der Bildanalyse: Übereinanderlagerung von Nadeln/Partikeln und Durchbrechen von Nadeln durch unscharfe Regionen | 37 |
| 4.6 | Exemplarische Darstellung der Ermittlung der Kompressibilität von Filterkuchen nach Alles | 44 |
| 4.7 | Aufbau der Drucknutsche: (a) Versuchsaufbau (b) Kuchenbildungsring | 45 |

| | | |
|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.8 | Aufbau der CP-Zelle | 46 |
| 4.9 | CFD Simulationen der Energiedissipationsraten der Scherzelle und Zentrifuge im Vergleich [13] | 49 |
| 4.10 | Scherapparatur | 52 |
| 4.11 | Wirkende Kräfte im Erdschwere- (a) und Zentrifugalfeld (b) | 53 |
| 4.12 | LUMiFuge (a) und LUMiReader (b), Messprinzip LUM: Durchstrahlung einer Küvette mit Licht und Ermittlung der Konzentration über der Küvettenhöhe (c), Ausgabe der Transmission über Position und Zeit mit farblicher Kodierung (d) | 55 |
| 4.13 | Sedimentationsverhalten über Partikelkonzentration [9] | 57 |
| 4.14 | Wirkende Kräfte während der dynamischen Querstromfiltration [11] | 58 |
| 4.15 | Ablagerung von Partikel nach Arbeitsweisen ([52]) | 59 |
| 4.16 | Prozessfließbild der Dynotest und Abmaße der Filtrationskammer | 61 |
| 4.17 | Arten von Flüssigkeitsbindungen zwischen Partikeln nach Mollet u. Grubenmann [69] | 64 |
| 4.18 | Betriebszyklus einer filtrierende Zentrifuge [56] | 65 |
| 4.19 | Bonddiagramm nach Stahl [103] | 66 |
| 4.20 | Zentrifugendeckel mit Einlassöffnungen | 70 |
| 4.21 | Anlagenfließbild der Vertikalzentrifuge | 71 |
| 4.22 | Probenehmer zur Bestimmung der Porosität des Filterkuchens (a) und Probenahmestellen zur Bestimmung der Kristallgrößenverteilungen (b) | 72 |
| 4.23 | Idealisierte Waschkurven [88] | 73 |
| 5.1 | Repräsentative Mikroskopien der isometrischen tetragonalen Kristalle (a), der nadeligen Kristalle (b) und der Aggregate aus isometrischen tetragonalen Kristallen | 76 |
| 6.1 | Normierte x-Werte der isometrischen Kristalle für die originale (a) und konzentrierte (b) Kristallsuspension | 80 |
| 6.2 | Trennspiegelsinkgeschwindigkeit in Abhängigkeit der Scherintensität und -zeit für die originale (a) und konzentrierte (b) Kristallsuspension mit isometrischen Kristallen | 81 |
| 6.3 | Q2-Verteilungen der nadeligen Kristalle nach der Scherung mit verschiedenen Drehzahlen in der Scherzelle | 82 |
| 6.4 | Sedimentationsgeschwindigkeiten (im Zentrifugalfeld) über der Scherdrehzahl | 83 |
| 6.5 | Normierte mittlere Partikelgröße für die originale (a) und konzentrierte Kristallsuspension (b) | 84 |

| | | |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 6.6 | Sedimentationsgeschwindigkeit bei Variation der Scherdauer und Scherintensität für die originale (a) und konzentrierte Kristallaggregatsuspension (b) | 85 |
| 6.7 | Vergleich der normierten x50-Werte bei Variation des Energieeintrages und der Kristallstruktur (originale Konzentration, 10 s Scherzeit) | 87 |
| 6.8 | Kornanreicherungskurven aller Kristallstrukturen nach Scherung für 10s bei maximaler Energiedissipation im Vergleich (a) und aggregierte und isometrische Kristalle im Vergleich (b) (originale Konzentration) | 88 |
| 6.9 | Charakteristische Werte der Größenverteilungen von nadeligen und aggregierten Kristallen (10 s Scherzeit, originale Konzentration) über maximaler Energiedissipation im Vergleich zur errechneten Kolmogorov-Längenskala | 89 |
| 6.10 | Vergleich der Sedimentationsgeschwindigkeiten von isometrischen und aggregierten Kristallen bei maximaler Scherintensität und unterschiedlicher Scherzeit und Konzentration | 91 |
| 6.11 | Vergleich der Sedimentationsgeschwindigkeiten von nadeligen und aggregierten Kristallen bei Steigerung der Scherintensität, 10 Sekunden Scherzeit und originaler Konzentration | 92 |
| 7.1 | Normierte charakteristische x-Werte des Ansatzes A als Funktion der Presszeit | 96 |
| 7.2 | Porosität (a) und massenspezifischer Filtrationswiderstand (b) als Funktion der Presszeit des Ansatzes A, die Daten für unter einer Minute Presszeit sind aus Drucknutschenversuchen ergänzt bzw. die Werte der Nullporosität Φ_0 und des Nullwiderstands α_0 wie in Kapitel 4.4.3 beschrieben | 97 |
| 7.3 | Mit einem 100x Objektiv aufgenommene LSM-Bilder eines bei 1 bar für 16 Stunden gepressten Filterkuchens isometrischer Lysozymkristalle des Ansatzes A. (a) zeigt die Oberseite und (b) die Unterseite des Kuchens | 98 |
| 7.4 | Normierte x-Werte der isometrischen Kristalle (Ansatz A) als Funktion des Differenzdrucks (Drucknutsche) | 100 |
| 7.5 | Porosität und Kuchenwiderstand als Funktion der Druckdifferenz für einen Filterkuchen aus kompakten isometrischen Kristallen (Ansatz A) | 101 |
| 7.6 | Vergleich der Porositäten (a) und massenspezifischen Kuchenwiderstände (b) der bei niedrigen (Drucknutsche) und hohen Pressdrücken (CP-Zelle) beanspruchten Filterkuchen von isometrischen Kristallen | 102 |

| | | |
|------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 7.7 | Vergleich der normierten charakteristischen x-Werte der Filterkuchen von Ansatz A und B (isometrische Kristalle) bei niedriger (Drucknutsche) und hoher (CP-Zelle) Druckbeanspruchung | 102 |
| 7.8 | Veränderung der Partikelgröße der nadelförmigen Kristalle über den untersuchten Druckbereich | 104 |
| 7.9 | Kornanreicherungskurven der nadeligen Kristalle (Ansatz C) bei Pressung in der CP-Zelle (a) und der isometrischen Kristalle des Ansatzes A gepresst in der CP-Zelle und Drucknutsche (b) bei unterschiedlichen Differenzdrücken | 106 |
| 7.10 | Mikroskopieaufnahmen von Proben des Ansatzes A der unbelasteten Kristallsuspension (a), des bei 1 bar gepressten Kuchens (b) und des bei 4,5 bar gepressten Kuchens (c) (nach Resuspendierung des Kuchens und Verdünnung der Proben) | 108 |
| 7.11 | Vergleich der Porositäten (a) und massenspezifischen Filterkuchenwiderstände (b) der Filterkuchen aus nadeligen (Ansatz C) und isometrischen (Ansatz B) Kristalle bei verschiedenen Druckstufen | 109 |
| 7.12 | Filtrationseigenschaften aggregierter Lysozymkristalle über der Zeit; (a) Widerstandsverlauf (b) Porositätsverlauf | 110 |
| 7.13 | Änderung der Kristallgrößenverteilungen von bei 1 bar gepressten Filterkuchen, (a) Kornanreicherungskurven (b) normierte charakteristische Werte | 111 |
| 7.14 | Änderung der Kristallgrößenverteilungen von bei 2,5 bar gepressten Filterkuchen, (a) Kornanreicherungskurven (b) normierte charakteristische Werte | 112 |
| 7.15 | REM Aufnahmen von (a) Kristallaggregaten im unbelasteten Zustand und (b) nach Belastung bei 2 bar für eine Minute | 113 |
| 7.16 | LSM Aufnahmen der Oberseite von Kristallaggregatkuchen bei 1 bar Pressdruck (a) und bei 2 bar Pressdruck(b) | 114 |
| 7.17 | LSM-Aufnahme eines bei 2 bar für 1 Minute gepressten Filterkuchens - Durch plastisches Fließen an einen größeren Kristall angehafter kleiner Kristall (siehe Partikel in rot umrandeten Gebiet) | 114 |
| 7.18 | REM-Aufnahme eines bei 4,5 bar gebildeten Aggregats (60 Minuten Presszeit) | 115 |
| 7.19 | LSM-Aufnahmen der Oberseite von Kristallaggregatkuchen bei 2 bar Pressdruck (a) und bei 4,5 bar Pressdruck(b) bei 60 Minuten Presszeit | 116 |
| 7.20 | Kraft-Weg-Kurven der aggregierten Lysozymkristalle bei unterschiedlichen Presszeiten | 116 |
| 7.21 | Vergleich der Größenverteilungen aller kristallinen Systeme | 118 |

| | | |
|------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 7.22 | Vergleich der normierten charakteristischen x-Werte für aggregierte und isometrische Kristalle (Ansatz A) bei 1 und 10 Minuten Presszeit in der CP-Zelle (a) und Vergleich der Kornanreicherungskurven bei 1 bar und 10 Minuten Presszeit (b) | 119 |
| 7.23 | Vergleich der normierten charakteristischen x-Werte für nadelige und isometrische Kristalle bei unterschiedlichen Drücken in der CP-Zelle (a) und Vergleich der Kornanreicherungskurven bei 4,5 bar (b) | 120 |
| 7.24 | Vergleich der Kraft-Weg-Kurven aller kristallinen Systeme (Presszeiten isometrisch/aggregiert/nadelig 60/600/1200 min) | 121 |
| 8.1 | Repräsentative Entwicklung der Feststoffmassenkonzentration von isometrischen Lysozymkristallen über der Filtratmasse im Verlauf der Eindickung. Die gemessenen Datenpunkte (schwarze Quadrate) stammen aus Proben des Abschlämmventils, die graue Linie zeigt den aus der Konzentration des Vorlagebehälters berechneten Verlauf der Massenkonzentration. | 126 |
| 8.2 | Repräsentative Entwicklung der Feststoffmassenkonzentration von isometrischen Lysozymkristallen über der Filtrationszeit von Proben aus dem Bypassventile vor der Kammer, aus dem Abschlämmventil und aus dem Entlüftungsventil (5 l Vorlage, 1200 Upm Rührerdrehzahl). Der theoretisch berechnete Verlauf aus dem Filtratstrom ist ebenfalls dargestellt. | 127 |
| 8.3 | Deckschichtmasse auf 130 cm^2 Filterfläche bei Variation der Rührergeschwindigkeit (Isometrische Lysozymkristalle, 5 l Vorlage) | 128 |
| 8.4 | Deckschichtmasse auf 130 cm^2 Filterfläche bei Variation der Rührergeschwindigkeit und des Vorlagevolumens (isometrische Lysozymkristalle) | 129 |
| 8.5 | Spezifischer Filtratfluss über der Filtratmasse während der Eindickung mit unterschiedlicher Rührerdrehzahl | 130 |
| 8.6 | Normierte charakteristische Werte der KGV durch die Pumpzeit (a) und kumulative flächenbezogene Verteilungen der unbeanspruchten Kristallsuspension (aus dem Vorlagebehälter), nach 30 Minuten Eindickung bei 1200 Upm (zur Filterzelle gefördert durch Membranpumpe) und nach 30 Minuten Pumpen durch die Membranpumpe ohne Eindickung (b) | 131 |
| 8.7 | Vergleich der mittleren Feret-Durchmesser x50 (a) und des normierten mittleren Feret-Durchmessers (b) der Eindickung bei unterschiedlichen Rührergeschwindigkeiten über die Filtratmasse und Filtrationsdauer | 132 |

| | | |
|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 8.8 | Mittlerer Feret-Durchmesser von isometrischen Lysozymkristallen über Versuchszeit bei unterschiedlichen filtrierten Volumina und Suspensionsförderung durch Druck | 134 |
| 8.9 | REM Aufnahme eines Lysozymkristalls einer eingedickten Suspension auf einem Nuclepore Filter | 135 |
| 8.10 | Verlauf der Waschung; BSA Konzentration über Waschfiltratmasse (a) und Restverunreinigungsanteil über Waschfiltratmasse (b) | 136 |
| 8.11 | Exemplarische Darstellung der Entwicklung der Kristallgrößenverteilung für Versuch 8_3 (a) und Versuch 16_1 (b) vor der Filtration (im Vorlagebehälter, nach der Eindickung und nach der Waschung) | 137 |
| 8.12 | REM Bilder der Kristalle aus Kristallisationsansätzen mit 8 g/l BSA vor (a) und nach (b) der Eindickung und Bilder von Kristallen der Suspension mit 16 g/l BSA vor (c) und nach der Eindickung (d) | 139 |
| 8.13 | Aufnahmen des Ausgangskristallisats unter dem Lichtmikroskop (a) und unter dem LSM (b) | 140 |
| 8.14 | Charakteristische Werte x10, x50 und x90 der Korngrößenverteilungen vor (Original) und nach dem Durchlauf durch das Ventil an der Vertikalzentrifuge | 143 |
| 8.15 | Charakteristische Kennwerte (a) und Kornanreicherungskurven (b) bei Variation der Einlassdrehzahl (Schleuderdrehzahl 2000 Upm, Schleuderzeit 2,5 Minuten) | 144 |
| 8.16 | Absolute charakteristische Kennwerte der Größenverteilung vor der Filtration (a) und nach der Filtration und Schleudern (bei 2000 Upm für 2,5 Minuten) (b)) | 145 |
| 8.17 | Charakteristische Kennwerte (a) und Kornanreicherungskurven (b) bei Variation der Schleuderdrehzahl (Einlassdrehzahl 500 Upm, Schleuderzeit 2,5 Minuten) | 145 |
| 8.18 | Schematische Darstellung des Filterkuchenaufbaus in vertikaler und horizontaler Richtung zur Drehrichtung | 147 |
| 8.19 | LSM-Bilder der Kuchenober- und Unterseite bei 50-facher Vergrößerung (a) und der Kuchenmitte bei 100-facher Vergrößerung (b)) | 148 |
| 8.20 | Abhängigkeit der Porosität von der Einlassdrehzahl (Schleudern bei 2000 Upm für 2,5 Minuten) | 149 |
| 8.21 | Abhängigkeit der Kuchenrestfeuchte von der Schleuderzahl (Einlassdrehzahl 500 Upm, Schleuderzeit 2,5 Minuten) | 150 |
| 8.22 | Abhängigkeit des Filterkuchenwiderstandes von der Einlassdrehzahl (Widerstandsbestimmung bei Start der Messung bei 1 kg) | 151 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 8.23 Kornanreicherungskurven für Drucknutsche bei 0,5 bar Filtrationsdruck und Zentrifugenversuche bei einer Einlassdrehzahl von 500 Upm bei 2000 Upm für 2,5 Minuten geschleudert | 153 |
| 8.24 Höhenspezifische Widerstände der Zentrifugen- und Drucknutschenversu- che bei Steigerung der Belastungsintensität | 154 |
| 10.1 Größenverteilungen einen Filtrationsversuche bei 9 l Filtrationsvolumen und 1200 Upm Rotorgeschwindigkeit | 161 |
| 10.2 Kornanreicherungskurven von bei 4,5 bar gepressten Kuchen über der Zeit | 161 |

Tabellenverzeichnis

| | | |
|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 2.1 | Kristallsysteme und geometrische Eigenschaften [26] | 6 |
| 2.4 | Mechanische Eigenschaften von Kristallen [109] | 24 |
| 4.1 | geometrische Verhältnisse während der Kristallisation | 31 |
| 4.3 | Vergleich des Detektionslimits der Kamera und des Mikroskops | 34 |
| 4.5 | Berechnete Kernströmungsgeschwindigkeit in der Scherzelle und der Dynotest | 60 |
| 5.1 | Charakteristische Werte der Größenverteilungen der Kristallisationsansätze im Kapitel 7 (Druckbeanspruchung) | 76 |
| 5.3 | Charakteristische Werte der Größenverteilungen der Kristallisationsansätze im Kapitel 6 (Scherbeanspruchung) | 76 |
| 6.1 | Feststoffkonzentrationen der gescherten Kristallsuspensionen | 78 |
| 6.3 | Berechnete Energiedissipation bei originaler Konzentration | 79 |
| 6.5 | Berechnete Energiedissipation bei aufkonzentrierter Kristallsuspension . . . | 79 |
| 6.7 | Porositäten der Sedimente | 84 |
| 6.9 | Porositäten der Sedimente bei originaler Konzentration | 86 |
| 6.11 | Porositäten der Sedimente bei konzentrierter Kristallsuspension | 86 |
| 7.1 | Vergleich der absoluten Partikelgrößen der nadeliger und isometrischen Kristalle vor und nach der Druckbeanspruchung | 105 |
| 7.3 | Bezugsporosität und -widerstand aller untersuchten kristallinen Systeme . | 117 |
| 7.5 | Kompressibilitäten der Filterkuchen aller kristallinen Systeme | 122 |
| 7.7 | Filterkuchenwiderstände aller kristallinen Systeme (bei 1 bar Realdruck in CP-Zelle) | 123 |
| 8.1 | Parameter der Versuche mit der Vertikalzentrifuge | 140 |
| 8.3 | Charakteristische Kennwerte der Größenverteilungen | 141 |
| 8.5 | Übersicht über die Filterkuchensättigung nach dem Schleudervorgang . . . | 149 |

8.7 Druck auf den Filterkuchen während des Schleudervorgangs (berechnete Werte) 152

1 Einleitung

Die Bedeutung von Biopharmazeutika nahm in den letzten Jahren stetig zu, was zu einer Nachfrage nach verbesserten Expressions- und Produktionsmethoden führt. Klassische Downstream-Verfahren, wie die Chromatographie, können häufig nicht mehr wirtschaftlich betrieben werden. Daher rückt die Proteinkristallisation als Aufarbeitsverfahren vermehrt in den Interessensfokus der pharmazeutischen Industrie. Zum einen lassen sich mittels Kristallisation Stoffe schnell und quantitativ konzentrieren, zum anderen erleichtert bzw. verbessert die kristalline Formulierung die Handhabung und Lagerung [4, 91]. Im Anschluss an die Kristallisation müssen die gewonnenen Feststoffe in der Regel mittels eines Fest-Flüssig-Trennverfahrens von der Mutterlösung befreit werden. Hauptproblemstellung hierbei ist, dass Proteinkristalle wesentlich sensitiver gegenüber mechanischer Belastung sind als konventionelle anorganische und organische Kristalle [109]. Bei allen Verfahren zur Feststoffabtrennung werden die Kristalle einer mechanischen Belastung unterworfen, welche zu einer Reduktion der Kristallgröße und somit zu einer verschlechterten Abtrennung führt.

Bei filtrierenden Verfahren werden die Kristalle durch Druck im sich bildenden Kuchen beansprucht, bei sedimentierenden Verfahren häufig durch Scherung/Turbulenz im Suspensionseinlauf des Trennapparates. Auch eine kombinierte Belastung ist bei z.B. filtrierenden Zentrifugen möglich. Die kuchenbildende Filtration betreffend kann der Bruch von Kristallen wesentlich zur Kompressibilität des Filterkuchens beitragen und somit eine schlechtere Filtrationsleistung befördern. Hierbei ist von Interesse inwieweit die gewählten Prozessbedingungen und die im Kristallisationsverfahren zum Teil beeinflussbare Kristallgröße, -größenverteilung und Morphologie Einfluss auf den auftretenden Kristallbruch haben. Erkenntnisse über die Einflussparameter und Mechanismen können zur Verfahrensoptimierung beitragen. Die Beanspruchung im Einlauf von Zentrifugen kann durch die Reduktion der Kristallgröße zu einer Verminderung der Sedimentationsgeschwindigkeit und folglich zu einer Erhöhung der notwendigen äquivalenten Klärfläche führen. Auch führt eine Vorbeanspruchung ohne auftretende Bruchereignisse zu einer erhöhten Empfindlichkeit gegenüber Bruch beispielsweise bei nachfolgender Druckbeanspruchung in der

filtrierenden Zentrifugation. Durch eine Minimierung der Belastung über eine Optimierung der Einlaufgeometrie lässt sich auftretender Kristallbruch reduzieren und somit das Sedimentationsverhalten verbessern. Auch lassen sich durch Vorabversuche zum Kristallbruch Fehler in der Auslegung von Sedimentationsapparaten vermeiden.

Ziel dieser Arbeit ist es Anhand des Modellsystems Lysozymkristalle den Einfluss von Morphologie und Prozessbedingungen auf den in Fest-Flüssig-Trennverfahren auftretenden Kristallbruch zu untersuchen. Von Interesse sind hierbei das Ausmaß des Bruches und die zugrundeliegenden Mechanismen. Entwickelte Modellapparaturen zur definierten Beanspruchung dienen dem grundlegenden Verständnis der Mechanismen. Die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf Pilotanlagen wird an einer dynamischen Cross-Flow-Einheit (Dynotest von Bokela) und einer filtrierenden Vertikalzentrifuge (Heinkel) evaluiert.

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Modellproteine und Kristallisation

2.1.1 Modellproteine

Lysozym

Lysozym ist ein Enzym welches unter anderem aus Hühnereiweiß gewonnen werden kann. Für die vorliegende Arbeit wurde Hen egg white lysozyme (HEWL) von der Firma Ovobest GmbH bezogen. Es ist ein relativ kleines Protein mit einem Molekulargewicht von 14,3 kDa und einer Dichte von ca. 1300 kg/m^3 [59]. Die Löslichkeit von Lysozym variiert stark mit der Temperatur, dem pH-Wertes und der Elektrolytkonzentration [17]. Aufgrund der preiswerten Gewinnung und der großen Verfügbarkeit ist das Protein sehr gut erforscht und eignet sich daher als Modellprotein für die Kristallisationsversuche.

Bovines Serum Albumin (BSA)

Albumin ist ein Polypeptid mit einem Molekulargewicht von 66 kDa und einer Dichte von 1364 kg/m^3 . Das hier verwendete Bovine Serum Albumin wird aus dem Serum von Rinderblut gewonnen und in kristalliner Form von der Firma Carl Roth GmbH bezogen [31, 8].

2.1.2 Proteinkristallisation

Die Kristallisation von Proteinen kann zum einen deren Strukturaufklärung zum Ziel haben, zum anderen zur Aufreinigung und Formulierung von Proteinen genutzt werden. Zur Strukturaufklärung werden Röntgenbeugungsversuche an großen, möglichst reinen, Einkristallen durchgeführt [74]. In der großtechnischen Kristallisation von Proteinen haben die Kristalle geringeren Anforderungen zu genügen. Etabliert hat sich vor allem die Anwendung der Kristallisation bei der Formulierung und Aufreinigung von Enzymen, wie

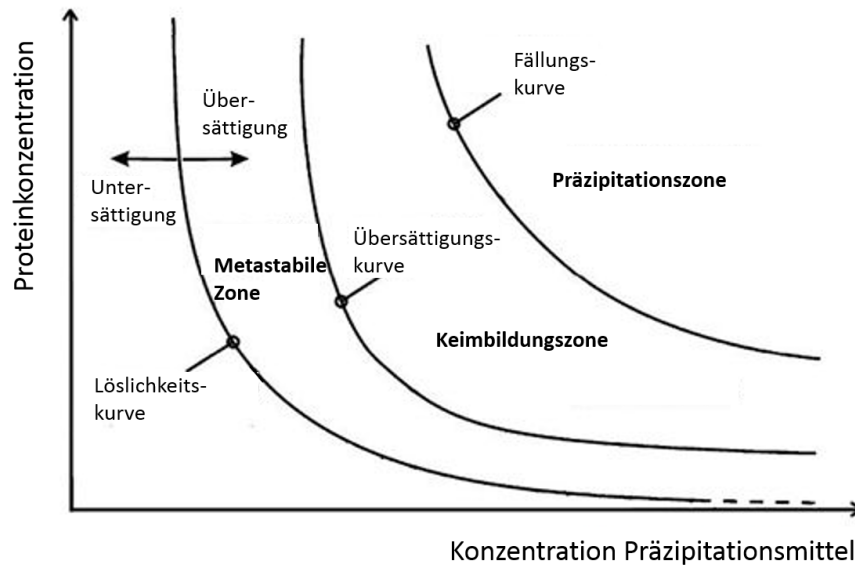


Abbildung 2.1: Phasendiagramm der Proteinfällung [40]

z.B. Thermolysin und Subtilisin. In der pharmazeutischen Industrie hat sich die Kristallisation als Formulierungsverfahren bisher nur beim Makromolekül Humanes Insulin durchgesetzt [117, 63]. Die meisten pharmazeutische Proteine werden bisher chromatografisch aufgereinigt. Allerdings bietet die Kristallisation wesentliche Vorteile gegenüber konventionellen chromatografischen Verfahren. Zum einen sind die Proteine stabiler bei Lagerung in kristalliner Form; der Aktivitätserhalt ist wesentlich verbessert im Vergleich zur Lagerung der Proteine in Lösung [117]. Zum anderen ist die Proteinkristallisation zu meist eine Verdrängungskristallisation, das heißt für die Kristallisation werden nur Salze und wasserlösliche Polymere wie Polyethylenglycol benötigt. Dies macht den Verfahrensschritt im Vergleich zur Chromatografie sehr günstig. Die Zugabe des Verdrängungsmittels führt hier zu einer Verringerung der Löslichkeit des auszufällenden Stoffes und im Endeffekt zur Kristallisation des Proteins. Die Abhängigkeiten der Löslichkeit des Proteins von der Verdrängungsmittelkonzentration ist in Abbildung 2.1 dargestellt. Dabei sind mehrere Bereiche sichtbar. Im untersättigten Gebiet ist das Protein vollständig gelöst. Im metastabilen Zustand kommt es trotz Übersättigung zu keiner Keimbildung, da die Potentialschwelle zur Keimbildung nicht überwunden werden kann; diese kann erst in der Keimbildungszone überwunden werden.

Für die Kristallisation entscheidend ist unter anderem auch die Geschwindigkeit der Keimbildung. Diese hängt wiederum mit der Geschwindigkeit des Übersättigungsaufbaus respektive der Zugabegeschwindigkeit des Fällungsmittels zusammen. Bei einem schnellen Aufbau der Übersättigung entstehen viele Keime, was zu vielen kleinen Kristallen führt.

Ein langsamer Übersättigungsaufbau sorgt dahingegen für die Bildung von wenigen, aber großen Kristallen. Das Kristallwachstum ist beendet wenn die Übersättigung abgebaut bzw. thermodynamisches Gleichgewicht hergestellt ist. Im Bereich höherer Fällungsmittel- oder Proteinkonzentration bildet sich amorphes Präzipitat. Die Bildung von amorphem Präzipitat wirkt sich nachteilig auf die Aufreinigung aus, da zum einen eher Verunreinigungen eingeschlossen werden, zum anderen die Verunreinigungen auch schlechter aus dem Präzipitat wieder herauszuwaschen sind. Einen großen Einfluss auf das Phasendiagramm und damit auf die Bildung von Kristallen haben die Parameter pH-Wert, Temperatur und Konzentration und Art der Verunreinigung [100, 58, 48, 2, 114]. Bei Lysozym zum Beispiel ist eine Verschiebung der Präzipitationskurve nach links bei Erhöhung der Rührergeschwindigkeit zu beobachten. Dies führt zu einer schmaler werdenden Kristallbildungszone [39]. Die Ermittlung von Phasendiagrammen durch empirische Screening Methoden ist häufig sehr aufwändig. Ein alternativer Ansatz zur Prognose der Kristallisation ist die Ermittlung des zweiten osmotischen Virialkoeffizienten [112, 25]. Dieser ist mittels dynamischer Lichtstreuung ermittelbar und beschreibt die Wechselwirkungen zwischen Proteinmolekülen. Der Koeffizient fasst den Einfluss von pH-Wert, Temperatur und Fällungsmittelkonzentration zusammen. In einem bestimmten Wertebereich des Koeffizienten kann dann von guten Kristallisationsbedingungen ausgegangen werden.

Im Vergleich zu Salzkristallen weisen Proteinkristalle andere chemische und physikalische Eigenschaften auf. Der Anteil der Mutterlösung in den Kristallen bewegt sich zwischen 25 – 90%, also einem sehr hohen Wertebereich [67]. Dies ist begründet durch die geringe Anzahl und Schwäche der intermolekularen Bindungen. Auch sind diese Eigenschaften Ursache für die limitierte Größe und geringen mechanischen Stabilität von Proteinkristallen [109, 119]. Die geringe mechanische Stabilität kann zu Problemen während verfahrenstechnischen Prozessen führen. Dies wird weitergehend in 2.3 beschrieben. Eine weitere Besonderheit der Proteinkristallisation ist, dass sehr hohe Übersättigungen für die Initiierung der Kristallisation erforderlich sind, oft zwei bis drei Größenordnungen größer, als für das Aufrechterhalten des Wachstums notwendig wäre. Die Kinetik und das Wachstum sind außerdem sehr langsam, zwei bis drei Größenordnungen langsamer als bei konventionellen Molekülen. Dies vermindert allerdings auch die Wahrscheinlichkeit, dass Verunreinigungen im Kristall eingelagert werden [67].

Kristallmorphologie

Kristalle sind gekennzeichnet durch eine dreidimensional-periodische Anordnung von Elementarbausteinen, welche Atome, Ionen oder Moleküle sein können, in einem Raumgitter.

Tabelle 2.1: Kristallsysteme und geometrische Eigenschaften [26]

| Kristallsystem | Elementarlängen | Elementarwinkel |
|------------------------|-------------------|-------------------------------------------------|
| triklin | $a \neq b \neq c$ | $\alpha \neq \beta \neq \gamma$ |
| monoklin | $a \neq b \neq c$ | $\alpha = \gamma = 90^\circ \neq \beta$ |
| (ortho)rhombisch | $a \neq b \neq c$ | $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ |
| tetragonal | $a = b \neq c$ | $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ |
| hexagonal | $a = b \neq c$ | $\alpha = \beta = 90^\circ; \gamma = 120^\circ$ |
| trigonal-rhomboedrisch | $a = b = c$ | $\alpha = \beta = \gamma \neq 90^\circ$ |
| kubisch | $a = b = c$ | $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ |

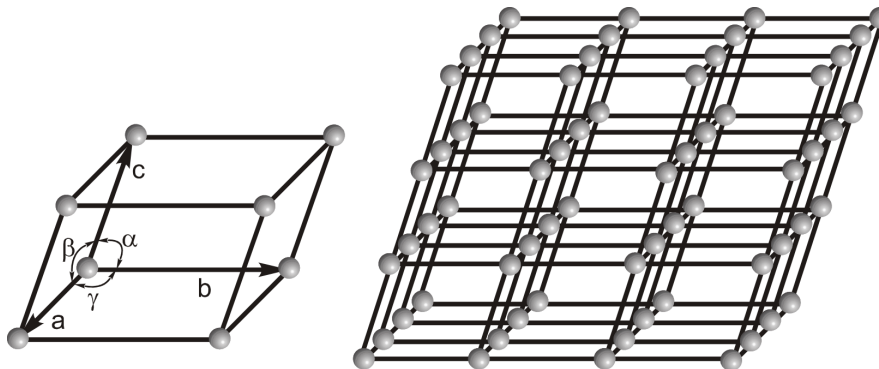


Abbildung 2.2: Elementarzelle im Kristallgitter

Bedingt durch Unterschiede der in den Kantenlängen und -winkeln der Elementarbausteine eines Kristalls können sieben Kristallsysteme (siehe Tabelle 2.1) unterschieden werden. Die Definition der Elementarlängen und -winkel ist in Abbildung 2.2 dargestellt.

Die äußere Form, oder auch Morphologie, der Kristalle setzt sich zusammen aus Habitus und Tracht und wird nicht nur durch das Kristallsystem bzw. den Aufbau der Elementarbausteine bestimmt, sondern auch von den Kristallisationsbedingungen. Diese beeinflussen insbesondere den Habitus der Kristalle. Folgende Formen können unterschieden werden:

- prismatisch (nadelig, dendritisch): Wachstum hauptsächlich in eine Raumrichtung
- planar (tafelig): Flächenförmiges Wachstum
- isometrisch: Gleichmäßiges Wachstum in alle Raumrichtungen

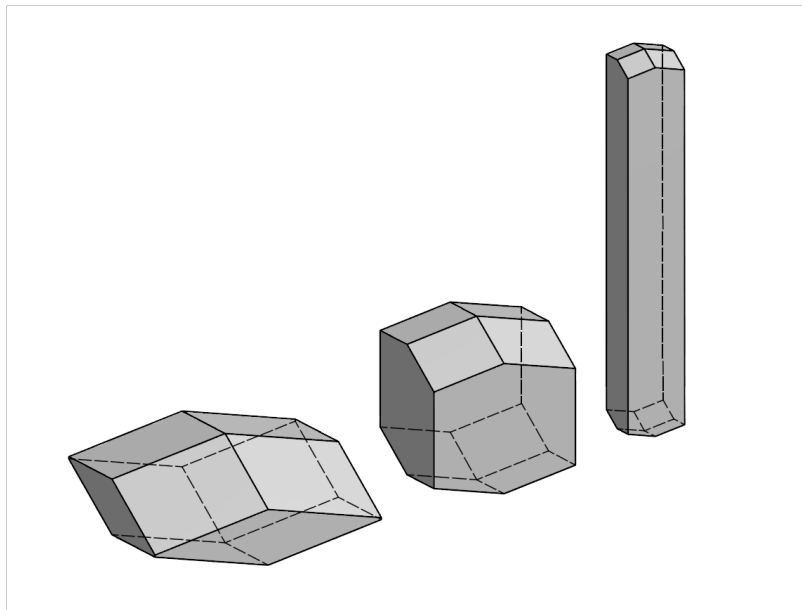


Abbildung 2.3: Habitus von tetragonalen Kristallen [54]

Zwei Kristalle können gleiche Tracht bei unterschiedlichem Habitus aufweisen und umgekehrt. In Abbildung 2.3 sind tetragonale Kristalle mit drei verschiedenen Habitus dargestellt [26, 10].

2.2 Grundlagen der Zerkleinerungstechnik

Während verfahrenstechnischer Prozesse können die Partikel bzw. Kristalle auf unterschiedliche Art beansprucht werden, nämlich auf Druck und auf Prall- bzw. Scherung. Im folgenden werden Grundlagen dieser beiden Zerkleinerungsmethoden vorgestellt.

2.2.1 Kristallzerstörung unter Druckbelastung

Die Druckbelastung eines Filterkuchens bzw. Sediments führt zu einem Spannungsfeld in diesem, das durch Umordnung, Deformation und Bruchereignisse abgebaut werden kann. Um die Vorgänge beschreiben zu können muss zunächst einmal zwischen der Belastung einzelner Partikel und der Gutbettbelastung unterschieden werden.

Einzelkornbelastung

Das Deformationsverhalten von Partikel kann grundsätzlich elastisch, plastisch oder viskoelastisch sein. Bei geringen Belastungen erfolgt häufig nur eine leichte Verschiebung der Elementarteilchen und eine reversible elastische Formänderung des Kristalls tritt auf.

Bei höheren Belastungen werden die Gitterebenen soweit verschoben, dass die Formänderung nicht mehr reversibel ist bzw. eine plastische Formänderung auftritt. Bei viskoelastischen Stoffen wird die Formänderung bzw. Deformation erst nach längerer Zeitdauer der Belastung erreicht [19]. Weiter kann noch unterschieden werden zwischen spröden und duktilen Materialien. Während bei der spröden Belastung Bruch ohne vorhergehende plastische Verformung auftritt, verformt sich bei duktilem Verhalten das Partikel plastisch bis die Festigkeitsgrenze überschritten wird [115]. Die Kontaktgeometrie ist ebenfalls entscheidend für das Beanspruchungsverhalten von einzelnen Partikeln. Bei unregelmäßig geformten Partikeln werden die Spannungen aufgrund einer vermehrten Anzahl von Kontaktstellen vermindert, daher tritt das Bruchereignis erst bei höheren Belastungen auf [47, 105, 87, 41]. Die Kontaktpunkte des Partikels bilden immer die Bereiche höchster Energiedichte und die Belastung an diesen führt zum Bruchereignis [105, 41, 46].

Die Auswertung von Einzelkornversuche erfolgt durch den Vergleich der Bruchstücke nach der Belastung mit dem unbelasteten Partikel. Bei Belastung wird ein Teil der insgesamt eingebrachten Beanspruchungsenergie E_B umgesetzt in Zerkleinerungsprozesse. Die bis zum Bruch eingesetzte Energie E_Z sollte bei einem Prozess, der die Zerkleinerung zum Ziel hat, im Idealfall der insgesamt eingebrachten Energie entsprechen [95]. Der Bruch muss nicht zwingend in einer Zertrümmerung des Gesamtpartikels in einzelne Bruchstücke resultieren. Auch können nur Bruchereignisse an der Oberfläche, genannt Abrasion, welche zur Verminderung der Oberflächenrauigkeit führen, auftreten.

Die Größenverteilung der Bruchstücke in Abhängigkeit von der Größe des Ausgangsmaterials und der Beanspruchungsenergie kann durch die Bruchfunktion $B(x, x_0, E_B)$ beschrieben werden [50, 96]. Eine Erhöhung der Beanspruchungsintensität führt dazu, dass der Median des größten Teilkollektivs abnimmt. Der Zerkleinerungsfortschritt kann somit durch die Veränderung der Massenanteile der einzelnen Teilchenkollektive beobachtet werden [73]. Abgesehen von der Beanspruchungsintensität und der Größe des Ausgangsmaterial hat auch die Form einen Einfluss. Bei unregelmäßig geformten Partikeln ist die Anzahl der Kontaktstellen höher. Dies führt dazu, dass ein wesentlich höherer Feinanteil im Vergleich zu regelmäßig geformten Partikeln (z.B. Kugeln) zu beobachten ist [50, 35, 113, 23]. Eine Zerkleinerung führt zu einem Oberflächenzuwachs, welcher zu einer Veränderung der Beanspruchungsverhältnisse führt. Aus dem Oberflächenzuwachs im Verhältnis zur Beanspruchungsenergie lässt sich die Effektivität des Zerkleinerns beurteilen. Je gröber das Ausgangsmaterial ist desto größer ist die Energieausnutzung bzw. die Effektivität des Zerkleinerns. Im Vergleich zur Prallbeanspruchung ist die Energieausnutzung bei Druckbeanspruchung größer [84, 85, 33]. Eine zweite Größe zur Beschreibung von Partikelbruch

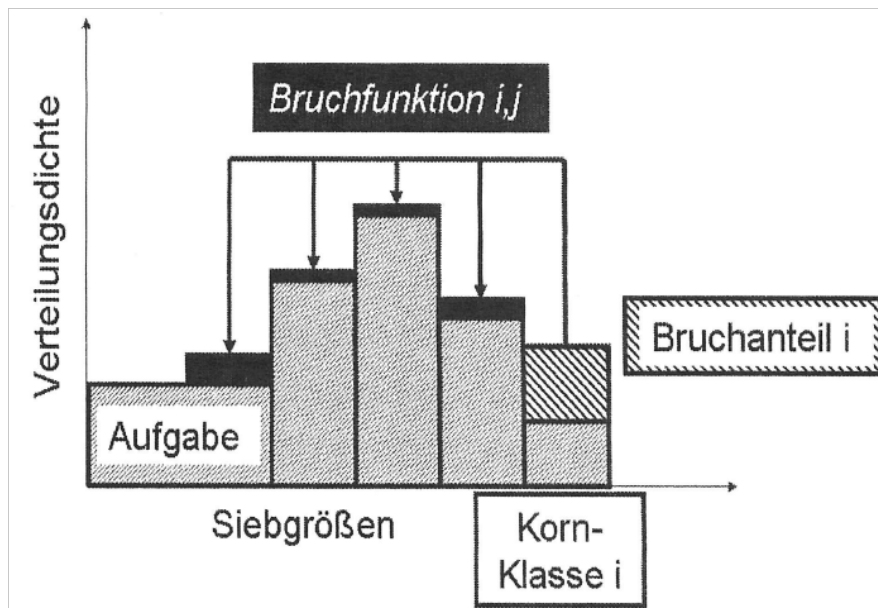


Abbildung 2.4: Schematische Darstellung von Bruchanteil und -funktion [38]

neben der Bruchfunktion ist der Bruchanteil. Dieser bezieht die Masse der zerkleinerten Partikel auf die insgesamt beanspruchte Partikelmasse. Eine schematische Darstellung von Bruchanteil und -funktion eines polydispersen Partikelkollektivs ist in Abbildung 2.4 dargestellt.

Sind Partikelgröße und -material gleich entspricht der Bruchanteil der Bruchwahrscheinlichkeit [7]. Bei gleicher Beanspruchung nimmt mit abnehmender Partikelgröße die Bruchwahrscheinlichkeit ab. Das bedeutet, dass kleine Partikel nur unter erhöhtem spezifischen Energieaufwand zu zerkleinern sind [30]. Eine Ursache hierfür ist, dass die Wahrscheinlichkeit für das Vorhandensein von Inhomogenitätsstellen (im Kristallgitter) abnimmt mit geringerem Volumen. Dadurch sind weniger wirksame Anrisse vorhanden und eine höhere Energie ist zur Zerkleinerung notwendig. Verglichen mit der Prallbeanspruchung, bei der in der Regel höhere Beanspruchungsgeschwindigkeiten vorliegen, ist die Bruchwahrscheinlichkeit bei gleichem Energieeintrag niedriger. Allerdings ist die Menge an Feingut höher, da mehrere Lastangriffspunkte vorhanden sind [5, 65, 6].

[72]

Gutbettbeanspruchung

Bei der **Gutbettbeanspruchung** wird die von außen am Gutbett anliegende Kraft über viele Lastangriffspunkte übertragen. Am Gutbettrand wird das Partikel sowohl durch den Rand, als auch durch umliegende Partikel belastet und ist damit auch von vergleichsweise wenigen Partikeln umgeben. Dies führt dazu, dass am oberen Rand des Gutbettes die

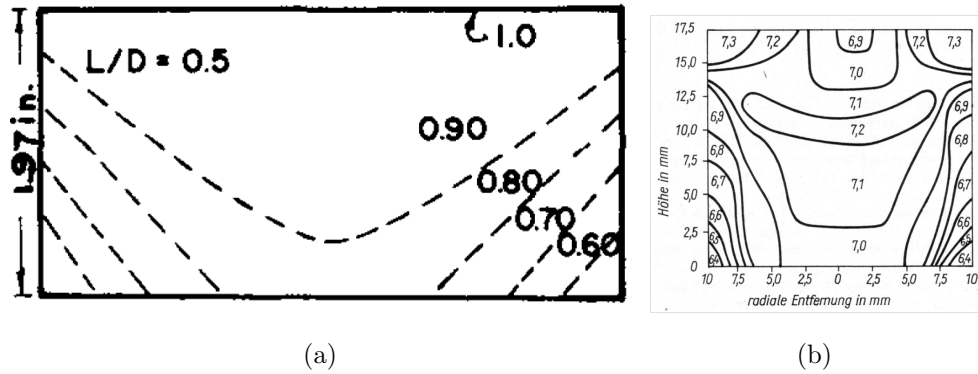


Abbildung 2.5: Linien konstanter Spannung eines Filterkuchens aus hochkompressibler Zellulose [110] und Verteilung der Schüttdichte (in g/cm^3) in einem einaxial von oben beanspruchten Gutbett aus Nickelpartikeln [89]

größte Verdichtung und damit die größten Spannungen auftreten (siehe Abbildung 2.5). Porosität bzw. Permeabilität und Spannung sind direkt miteinander verknüpft, d.h. Linien konstanter Spannungen zeigen auch Linien konstanter Porosität bzw. Permeabilität an.

Am unteren Rand und bei der größten Entfernung von der Stempelmitte treten somit auch die niedrigsten Spannungen auf [93, 89]. Der Verlauf kann damit begründet werden, dass über die Kuchenhöhe die eingebrachte Energie zunehmend absorbiert wird. Die oberhalb gelagerten Partikel speichern Energie in Form von elastischer und plastischer Deformation und Bruchereignissen und somit nimmt die über die Kontaktpunkte weitergeleitete Energie sukzessive ab. Im Inneren des Gutbettes sind die Vorgänge äußerst komplex und die Spannungsverteilungen lassen sich häufig nicht über Messungen am Rand des Gutbettes bestimmen. Dies wird unter anderem deutlich bei Vergleich der aus Messungen an den Gutbettbegrenzungen berechneten Linien konstanter Spannung (Abbildung 2.5 (a)) mit den Messungen der Schüttdichte eines Gutbettes aus Nickelpartikeln (Abbildung 2.5 (b)). Während die reinen Berechnungen zu sukzessiver Abnahme der Spannung über der Höhe führen zeigen Messungen, dass durchaus auch ein (nicht physikalisch erklärbarer) Anstieg der Porosität mit nachfolgender wieder abfallender Porosität auftreten kann.

Die wichtigsten integralen Größen zur Charakterisierung der Gutbettbeanspruchung sind der maximale Pressdruck p_{max} und die massenbezogene Energieaufnahme bzw. Energieabsorption E_m . Der maximale Pressdruck stellt das Verhältnis von der äußeren Krafteinwirkung F_{max} zu der Querschnittsfläche des Gutbettes A_{GB} dar:

$$p_{max} = \frac{F_{max}}{A_{GB}} \quad (2.1)$$

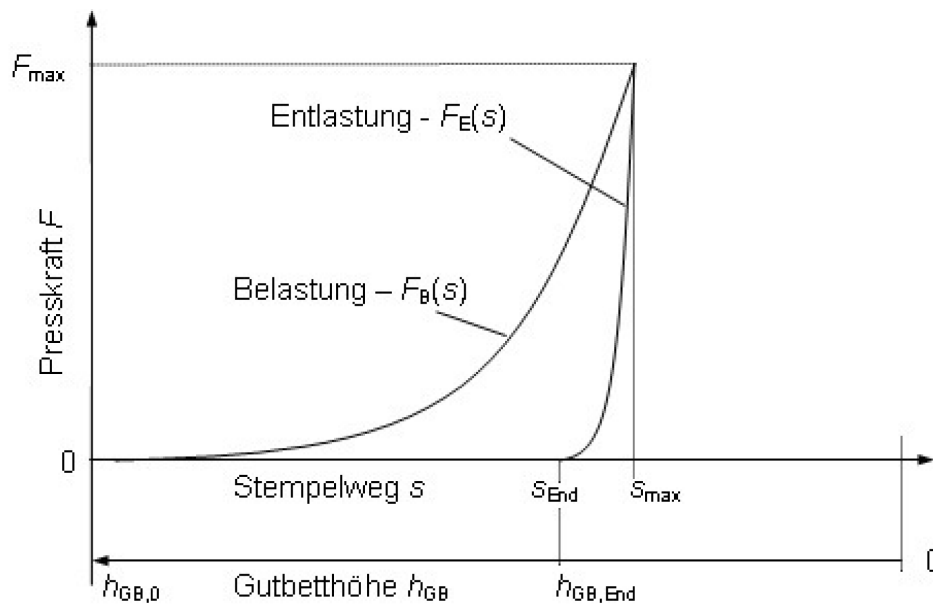


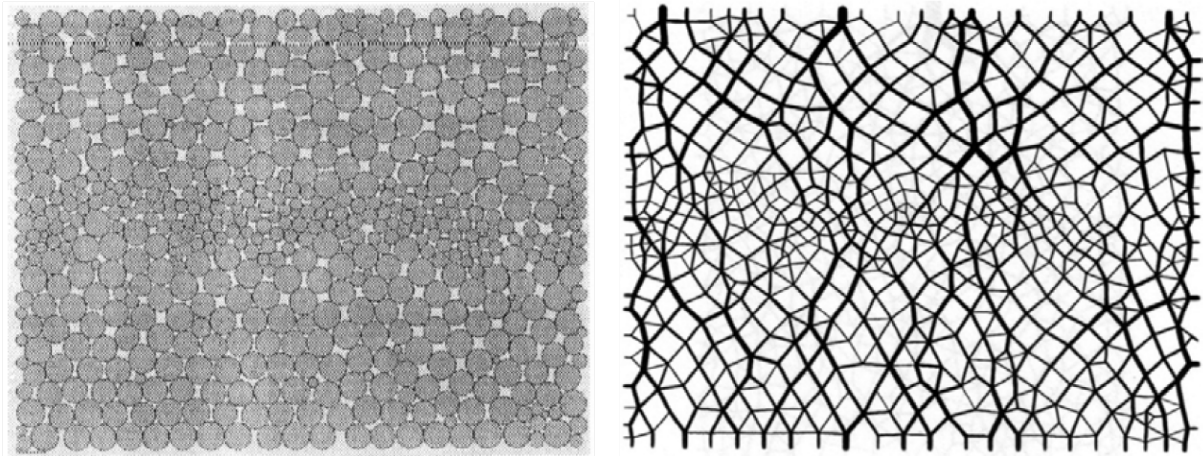
Abbildung 2.6: Kraft-Weg-Kurve [72]

Die Energieabsorption E_m ergibt sich wie folgt:

$$E_m = \frac{E_V}{\rho_{FS}} = \frac{1}{m} \left(\int_0^{s_{max}} F_B(s) \cdot ds - \int_{s_{end}}^{s_{max}} F_E(s) \cdot ds \right) \quad (2.2)$$

mit der Feststoffdichte ρ_{FS} und $F_B(s)$ und $F_E(s)$ den Kraft-Weg-Kurven beim Be- und Entlasten. Abbildung 2.6 stellt diese dar. Die Kraft-Weg-Kurve setzt die Abnahme der Gutbetthöhe in Zusammenhang mit der aufgetragenen Last.

Besonders die Partikelgröße und -verteilung haben einen entscheidenden Einfluss auf die Energieabsorption. Bei Partikelgrößen kleiner $50 \mu\text{m}$ beschreibt eine lineare Gleichung den Zusammenhang zwischen Pressdruck und Energieabsorption, bei Partikeln zwischen $0,8 \text{ mm}$ und 16 mm eine Potenzfunktion [75, 79, 73, 34]. Bei Mischungen aus Partikelfraktionen sind zwei Faktoren für die Energieabsorption entscheidend. Zum einen das Mischungsverhältnis, zum anderen die aufgetragene Last. Häufig wird ein Minimum der Energieabsorption bei Erhöhung der Last durchschritten. Nach überschreiten dieses Minimums ist die Energieabsorption nahezu unabhängig von der Gemischzusammensetzung. Bei der Modellierung der Gutbettbeanspruchung wird die elastische Rückdehnung $F_E(s)$, obwohl diese bis zu 30% betragen kann, häufig vernachlässigt. Damit vereinfacht sich Gleichung 2.2. $F_B(s)$ beschreibt in der Gleichung den funktionellen Zusammenhang der äußeren Last und der daraus resultierenden Verdichtung des Gutbettes. Dieser Zusammen-



(a) 2D-Zufallspackung mit feiner zentraler Schicht (b) Kraftflusslinien in einer Zufallspackung mit feiner zentraler Schicht

Abbildung 2.7: Simulation eines Gutbettes [72]

hang ist für gewöhnlich aus Pressversuchen bekannt und kann analytisch nach Schönert mit dem Pressdruck folgendermaßen verknüpft werden [71]:

$$\frac{E_V}{p_C} = \int_0^{\frac{p}{p_C}} \frac{dp}{\Phi_0 \left\{ 1 - \exp \left[- \left(\frac{p}{p_C} \right)^a \right] \right\} + (1 - \Phi_0)} - \frac{\frac{p}{p_C}}{\Phi_0 \left\{ 1 - \exp \left[- \left(\frac{p}{p_C} \right)^a \right] \right\} + (1 - \Phi_0)} \quad (2.3)$$

mit dem Wert p_c , der sogenannten charakteristischen Pressung, und dem Anpassungsparameter a . Diese Größe, auch charakteristischer Pressdruck genannt, ist ein Maß für den Widerstand des Gutbetts gegen die Verdichtung. Φ_0 ist die Porosität des Gutbetts zum Zeitpunkt $t = 0$, d.h. im unbelasteten Zustand. Die numerische Lösung der Gleichung mit Hilfe eines Anpassungsparameters a führt zu dem Ergebnis, dass ein erhöhter Feststoffvolumenanteil des Ausgangsmaterials zu einem Anstieg der normierten Energieabsorption führt.

Diese Betrachtung vernachlässigt allerdings das Deformationsverhalten und das Spannungsfeld im Gutbett. Das Spannungsfeld im Gutbett lässt sich für einfache Systeme mit Diskrete bzw. Finite-Elemente-Methoden simulieren. Die Kraftübertragung in Gutbetten erfolgt mit sogenannten Kraftflusslinien und bilden eine netzförmige Struktur aus (siehe Abbildung 2.7).

Bei Einfügen von kleinen Partikeln in die Gutbettmitte ist eine deutlich ausgeprägtere Verzweigung der Kraftflusslinien zu sehen. Der Kraftfluss wird dadurch deutlich gleich-

mäßiger. Die Lage der Partikel im Kraftfluss des Gutbetts ist für seine Belastung entscheidend [45]. Um den Einfluss der Gutbettbegrenzung vernachlässigen zu können, das heißt einen homogenen Kraftfluss zu garantieren, müssen die Abmaße des Gutbetts folgenden Bedingungen genügen:

$$D_{GB} \geq 3h_{GB} \geq 18x_{max} \quad (2.4)$$

wobei x_{max} die obere Partikelgröße des Ausgangsmaterials im Gutbett, D_{GB} den Durchmesser und h_{GB} die Höhe des Gutbettes bezeichnet [72, 45, 3].

Der im vorigen Abschnitt beschriebenen Beanspruchung des Gutbetts folgt die **Verdichtung**, also die Umordnung der Partikel zu einer dichteren Packung. Dies wiederum führt zur einem abnehmendem Porenvolumen. Die beiden Teilprozesse Verdichten und Zerkleinern sind dabei eng miteinander verknüpft. Eine Umordnung führt zu einem veränderten Belastungszustand und damit zur Zerkleinerung. Durch die Zerkleinerung wird das Partikelkollektiv verändert und führt zu weiteren Umordnungsprozessen. Bei niedrigem Pressdruck unter 10MPa (100 bar) findet zumeist nur eine Umordnung statt. Die meisten Partikel behalten ihre äußere Form und innere Struktur bei und elastische Verformungen treten nur lokal begrenzt auf [61]. Zeitgleich zur Umordnung wird das überschüssige Fluid aus dem Gutbett verdrängt. Bei höheren Drücken werden die Partikel zunächst plastisch verformt und dann zerkleinert. Hierbei werden Punkt- zu Flächenkontakten umgewandelt, was zum Anstieg von Haftkräften und zu einer Zunahme des Widerstandes gegen fortschreitendes Verdichten führt [87]. Die Haupteinflussgrößen auf den Verdichtungsprozess sind der Pressdruck, die Partikelgröße, die Beanspruchungsgeschwindigkeit und die Materialfeuchte (bezogen auf Quarz und Kalkstein zwischen 100 - 2500 μm). Feine Körnungen lassen sich schwerer verdichten als grobe und eine schnelle Beanspruchung verdichtet Gutbetten weniger als langsame [82, 72]. Feuchtes Material wird bei ansonsten gleichen Versuchsbedingungen außerdem weniger verdichtet als trockenes. Bei feinkörnigen Partikeln tritt der Einfluss der Feuchte allerdings im Vergleich zu den Partikelwechselwirkungen in den Hintergrund [71, 73].

Die **Zerkleinerung** eines Partikels wird aufgrund der Deformation durch Druckbeanspruchung erreicht. Übersteigt die Deformation die Belastungsgrenze des Partikels bricht das Partikel. Einen wesentlichen Einfluss auf das Zerkleinerungsergebnis haben die Wechselwirkungen der Partikel mit ihrer Umgebung, d.h. mit den angrenzenden Feststoffflächen und dem Fluid. Außerdem haben die Partikel im Gutbett die Möglichkeit sich der Druck-

beanspruchung durch Umlagerung zu entziehen. Eine Energiebilanz zur Beschreibung der am Einzelpartikel auftretenden Kraft und damit die Möglichkeit der Vorhersage der Bruchereignisse lässt sich aufgrund der Vielzahl der Einflussgrößen auf den Bruchvorgang nur bedingt auf reale Zerkleinerungsprobleme anwenden. Es werden neue Bruchflächen bzw. Oberflächen erzeugt, plastische Verformungen treten auf und auch Ladungsverschiebungen können an Bruchflächen auftreten [92]. Selbst annähernd in Größe, Form und Materialart gleich Partikel weisen durch inhomogene innere Strukturen Unterschiede im Bruchverhalten bei gleicher Belastung auf [84, 83, 16, 6]. In Bezug auf das Deformationsverhalten von Materialien lässt sich eine Einteilung nach sprödem und zähem Materialverhalten vornehmen. Spröde Materialien brechen ohne sich vorher zu verformen, während bei zähen Materialien ein signifikanter Anteil der Energie über plastische Verformung verbraucht wird.

Die zerkleinerbare Korngröße ist limitiert durch drei wesentlich Punkte:

1. das Stoffverhalten geht über von sprödem zu plastischem Verhalten
2. Abnahme von Inhomogenitätsstellen → die Beanspruchungsintensität ist bei kleinen Partikeln zu niedrig um zum Bruchereignis zu führen
3. durch Zerkleinerung entstandene Bruchstücke agglomerieren/aggregieren

Umso kleiner die Partikel sind, desto schwieriger ist es also diese zu zerkleinern. Weiterhin gibt es eine (stoffabhängige) untere Grenze der Partikelgröße unter der die Energiebedingung für die Rissausbreitung nicht mehr erfüllt ist und somit kein Bruch mehr auftritt [94]. Allerdings kann diese höhere Festigkeit bei eigentlich spröden Materialien bei kleinen Partikeln dazu führen, dass an den Kontaktstellen die Fließgrenze des Materials erreicht wird (bei Quarz und Kalkstein zum Beispiel zwischen 1 und 5 μm), was einem Übergang vom elastischen zum plastischen Stoffverhalten entspricht [42, 86, 104, 14].

Die Zerkleinerung von Partikeln im Gutbett wird durch den Massenanteil der Bruchstücke die kleiner als die Ausgangsfraction sind beschrieben. Diese Beschreibung ist allerdings nur bei monodispersen Gutbetten möglich [36]. Bei realen Produktsystemen mit einer Partikelgrößenverteilung sind die zur Bewertung des Partikelbruchs herangezogenen Größen der spezifische Oberflächenzuwachs, die Energieausnutzung, der Bruchanteil und die Bruchfunktion. Der spezifische Oberflächenzuwachs und die Energieausnutzung beschreiben den Zerkleinerungsfortschritt summarisch und reagieren besonders empfindlich auf eine Veränderung des Feinkornanteils.

Eine schematische Darstellung von Bruchanteil und -funktion findet sich in Abbildung 2.4. Der Bruchanteil ist der Anteil einer Kornklasse i , der aus dieser Kornklasse heraus bricht, während die Bruchfunktion die Verteilung der entstehenden Bruchstücke beschreibt [38]. Der Bruchanteil und die Bruchfunktion vernachlässigen insbesondere Partikel im oberen Größenbereich. Dies kann zu Fehlinterpretationen führen. Bei gleicher Energieabsorption wird somit bei der Einzelkornzerkleinerung ein feineres Produkt fest gestellt, da nur Partikel ausgewertet werden die auch real gebrochen sind. Im Gutbett herrscht allerdings eine Mischung aus ungebrochenem und gebrochenem Material und damit insgesamt eine größere Verteilung [45, 44, 43]. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die typischen Kenngrößen Oberflächenzuwachs, Energieausnutzung, Bruchanteil und Bruchfunktion die Zerkleinerung von stark polydispersen Materialien nur eingeschränkt beschreiben können.

Für polydisperse Materialien lässt sich die Zerkleinerung durch die sogenannte Kornanreicherungskurve beschreiben [20]. Die Kornanreicherungskurve $pcr(x)$ (engl. particle concentration ratio) beschreibt den Zerkleinerungsfortschritt über den gesamten Partikelgrößenbereich und stellt sich über den Quotienten der Verteilungsdichte der Zerkleinerungsprodukte $q_{r,z}(x)$ und des Ausgangsmaterials $q_{r,0}(x)$ dar:

$$pcr(x) = \frac{q_{r,z}}{q_{r,0}} \quad (2.5)$$

mit der Bedingung $q_{r,0}(x) > 0$. Aus dieser Funktion lassen sich folgende Aussagen ableiten:

- $pcr(x) = 1$: Der Anteil der Partikel der Größe x ist vor und nach der Beanspruchung gleich. Dabei muss es sich physikalisch nicht um dieselben Partikel handeln.
- $pcr(x) > 1$: Der Anteil der Partikel der Größe x steigt an durch Zerkleinern.
- $pcr(x) < 1$: Der Anteil der Partikel der Größe x sinkt durch Zerkleinern.
- $pcr(x) = 0$: Alle Partikel dieser Größenfraktion wurden zerkleinert.
- $pcr(x) \rightarrow \infty$: Im Ausgangsmaterial waren keine Partikel dieser Größenfraktion vorhanden, während am Ende der Zerkleinerung eine endliche Anzahl vorhanden ist.

Auf das Ausmaß der Zerkleinerung von Partikeln in Gutbetten haben folgende Parameter einen Einfluss:

- Beanspruchungsintensität

- Partikelgrößenverteilung
- Partikelform und Materialart
- Gutbettabmaße
- (Umordnungsvorgänge)
- Beanspruchungsgeschwindigkeit

Der Einfluss dieser Parameter wird im Folgenden diskutiert.

Die **Beanspruchungsintensität** wird integral durch den Pressdruck oder die Energieabsorption beschrieben. Die Aufgabe des Pressdruckes führt zu einer Belastung des Partikels durch gleichzeitig wirkende Tangential- und Normalkräfte, welche zum Abröckeln bzw. zur Zertrümmerung von Partikeln führen [30, 28, 15, 64]. Bei weiterer Erhöhung des Pressdruckes bestimmt die aus der ersten Beanspruchung resultierende Bruchstückgrößenverteilung die fortlaufende Zerkleinerung. Mit steigender Beanspruchung bzw. Zerkleinerung nimmt die Energieausnutzung bzw. Zerkleinerungseffizienz ab, da der Oberflächenzuwachs mit der Energieabsorption über eine Potenzfunktion verknüpft ist. Bei steigender Beanspruchungsintensität nimmt außerdem der Anteil des Zertrümmerns gegenüber dem Abreiben zu, wodurch der Medianwert der Bruchfunktion sinkt und die Breite steigt [71, 73, 22, 73]. Bei höherer Beanspruchungsintensität nähert sich die Partikelgröße einem Grenzwert an. Ursächlich hierfür ist der innere Spannungszustand des Gutbettes. Feinkörnige Materialien könne gröbere Partikel im Gutbett umschließen. Dadurch wird die Zahl der Lastangriffspunkte erhöht und dadurch die potentiell zum Bruch führende maximale Last am jeweiligen Punkt geringer [73, 45, 32].

Eine breitere **Partikelgrößenverteilung** beeinflusst die Belastung der Partikel dahingehend, dass die Anzahl der Kontaktstellen erhöht wird und folglich die Bruchwahrscheinlichkeit geringer ist als in einem monodispersen Gutbett.

Die **Partikelform** hat nur einen geringen Einfluss auf das Zerkleinerungsergebnis trotz des Einflusses auf das Fließverhalten [30, 64]. Im Vergleich zur Relevanz der Beanspruchungsintensität hat auch das **Materialverhalten** nur eine untergeordnete Bedeutung [29]. Zwar ist es prinzipiell so, dass je geringer die Festigkeit des Materials ist, desto stärker wird es zerkleinert. Allerdings verliert dieser Faktor an Einfluss mit steigender Belastung und Ausgangspartikelgröße [29, 79]. Dies wirkt sich dahingehend aus, dass bei bei festeren Materialien erst bei höherer Energieabsorption die Grenz-Partikelgrößenverteilung erreicht wird [71]. Die **Gutbettabmaße** beeinflussen das Zerkleinerungsergebnisse nur in

der Hinsicht, dass bei der 1-Korn-Schicht der Bruchanteil wesentlich höher ist als bei Mehrkornschichten. In Gutbetten ist es nahezu unmöglich alle Partikel zu zerkleinern. Bereits ab drei Kornschichten ist die Zerkleinerung unabhängig von den Gutbettabmaßen. Der Einfluss der Gutbettabmaße ist damit wesentlich geringer als beim Beanspruchungsverhalten [3]. Allerdings kann die inhomogene Spannungsverteilung im Gutbett dazu führen, dass die Energiedichten und damit die Bruchanteile über Gutbetthöhe und Radius variieren. Die Erhöhung der Beanspruchungsgeschwindigkeit führt häufig zu einer geringeren Zerkleinerung. Das im Porenvolumen befindliche Fluid kann nicht so schnell entweichen. Durch den zusätzlichen energetischen Aufwand steigt die Energieabsorption und die Energieausnutzung sinkt. Verglichen mit der Schlagbeanspruchung ist die Bruchfunktion von Einzelpartikeln außerdem bei gleicher Energieabsorption höher, da beim Schlag ein Teil der Energie in kinetische Energie der Bruchstücke umgewandelt wird [30].

Zusammenfassen lässt sich zur Zerkleinerung sagen, dass es eine Vielzahl von Untersuchungen gibt von Partikeln $> 100 \mu\text{m}$ und bei hohen Pressdrücken. Hierbei sind die Haupteinflussgrößen die Beanspruchungsintensität und die Partikelgröße und -verteilung. Bei Partikeln unterhalb von $100 \mu\text{m}$ spielen die Partikelwechselwirkungen eine größere Rolle, was die Übertragbarkeit der dargestellten Abhängigkeiten zur Diskussion stellt.

[72]

2.2.2 Kristallzerstörung unter Prall- und Scherbelastung

Zwei gegensätzliche Faktoren bestimmen den Bruchprozess in gerührten Systemen, einerseits die mechanische Stabilität der Kristalle, andererseits die aufgebrachten Bruchkräfte. Die auftretenden Kräfte können sowohl zum Abrieb von Ecken und Kanten an Kristallen, also auch zum vollständigen Bruch der Kristalle in kleine Einheiten führen. In Rührkesseln ist der Partikelbruch hauptsächlich durch Oberflächenerosion bestimmt. Eine Vielzahl von Mechanismen bestimmt den Kristallabrieb und -bruch. Dabei kann unterschieden werden zwischen *prallinduzierten Belastungen*, wie Kristall-Kristall, Kristall-Wand und Kristall-Rührer Kollisionen, und zwischen *fluidinduzierten Kräften* wie Scher-, Widerstands- und Druckkräfte (Normalkräfte). Wirbel mit einer zu den Partikeln vergleichbaren Größe führen bei Kontakt mit der Kristalloberfläche zu Scherung, Widerstands- und Druckkräften an der Oberfläche. Daraus kann ein Bruch des Kristalls resultieren. Wenn die Wirbel allerdings größer als die Partikel sind werden die Kristalle von den Wirbeln eingefangen und produzieren damit sehr wenig Oberflächenbelastungen. Modelle, die die Mechanismen und die Bruchraten von Kristallbruch in turbulent gerührten Suspensionen beschreiben sind in Synowiec et al. [107] genauer beschrieben.

Der Gesamtbruchanteil ($\frac{dn_e}{dt}|_{tot}$) setzt sich, wie zuvor schon beschrieben, aus dem Anteil, der durch Prall zu Stande kommt ($\frac{dn_e}{dt}|_{imp}$) und aus der von turbulenten Fluidkräften herrührenden Belastung ($\frac{dn_e}{dt}|_{turb}$) zusammen.

$$\frac{dn_e}{dt}|_{tot} = \frac{dn_e}{dt}|_{imp} + \frac{dn_e}{dt}|_{turb} \quad (2.6)$$

mit der Partikelanzahl n .

Kristallabrieb durch Prall

Prallkräfte auf das Partikel werden durch Kristall-Kristall und Kristall-Wand bzw. Kristall-Rührer Kollisionen induziert. Der Kristall-Rührer Prall wird durch folgenden Faktoren beeinflusst:

- Rührintensität $f_{st} = \frac{F_0 \cdot f_{rot} \cdot d^3}{V}$ [37]
Dabei ist F_0 die volumetrische Flusszahl, f_{rot} die Rührergeschwindigkeit, d der Rührerdurchmesser und V das beanspruchte Volumen.
- Prallenergie die pro Energieeinheit für die Entstehung von Fragmenten aufgebracht wird E_{ci}/e_{ci}
- Wahrscheinlichkeit des Rührer-Kristall-Kontakts η_T
- Mechanische Eigenschaften von Kristall und Rührer
- Anzahl der Partikel im Rührbehälter n_c

Daher folgt für die Abriebsrate die aus dem Kontakt des Rührers mit dem Kristall kommt:

$$\frac{dn_e}{dt}|_{ci} = \frac{\pi^2}{2} k_v x_{50}^3 \rho_c \frac{F_0}{P_0} \epsilon \eta_T \underbrace{\left(\frac{1 + \sigma_c Y_{st}}{1 + \sigma_{st} Y_c} \right)}_{\text{Materialeigenschaften}} \frac{n_c}{e_{ci}} \quad (2.7)$$

mit

- k_v volumetrischen Formfaktor
- x_{50} mittleren Kristallgröße
- ρ_c Kristalldichte
- P_0 Leistungszahl

| | |
|---------------|---------------------------------------|
| ϵ | spezifischer Leistungseintrag |
| η_T | Zieleffizienz |
| σ_c | Poisson Rate Kristall |
| σ_{st} | Poisson Rate Rührer |
| Y_{st} | Young-Modul Rührer |
| Y_c | Young-Modul Kristall |
| n_c | Anzahl Kristalle |
| e_{ci} | Energie des Kristall-Rührer Kontaktes |

Hierbei ergibt sich die Anzahl der Kristalle pro Volumeneinheit an Suspension aus:

$$n_c = \frac{c_v}{k_v \cdot x_{50}^3} \quad (2.8)$$

mit der Volumenkonzentration c_v . Die Zieleffizienz η_T ist abhängig von folgenden Wahrscheinlichkeiten:

Dass der Kristall

- sich zwischen den Rührerelementen hindurchbewegt
- mit der Kante des Rührers kollidiert
- mit der Fläche des Rührers in Kontakt kommt

Dies führt nach Pohlisch und Mersmann [78] zu folgender Gleichung:

$$\eta_T \cong 34,4 \cdot z \cdot \sin\gamma \left[\frac{x_{50}^2}{dl} \right] \quad (2.9)$$

mit der Anzahl z der Rührerblätter, dem Rührerflügelwinkel γ , dem Rührerdurchmesser d und der Dicke des Rührers l . Die Wahrscheinlichkeit einer Kollision eines Kristalls mit dem Rührer nimmt also mit abnehmender Partikelgröße und mit steigender Größe des Rührbehälters linear ab (bei gleichbleibendem geometrischem Verhältnis von Rührer und Rührbehälter) [107]. Aus Gleichung 2.7 folgt eine lineare Abhängigkeit der Abriebsrate von der Energiedissipationsrate und der Suspensionsdichte. Die Partikelgröße steht in einer Abhängigkeit dritter Ordnung mit der Abriebsrate.

Der **Aufprall von Kristallen aufeinander** ist von folgenden Faktoren abhängig:

- Kristallkollisionsfrequenz f_{cc}
- Kristallaufprallenergie pro Energieeinheit die für die Entstehung von Fragmenten aufgebracht wird E_{cc}/e_{cc}
- Anzahl der Partikel im Rührbehälter n_c

Daraus folgt die Gleichung für die Abriebsrate:

$$\left. \frac{dn_e}{dt} \right|_{cc} = K_2 x_{50}^8 \epsilon^{\frac{3}{2}} n_c^2 \quad (2.10)$$

Hieraus leitet sich eine Abhängigkeit achter Ordnung von der Kristallgröße und zweiter Ordnung von der Kristallanzahl ab. Die Abhängigkeit von der Energiedissipationsrate beträgt 1,5. Bei verdünnten Produktsystemen kann dieser Term vernachlässigt werden, der Kristallabrieb aufgrund von Prall ist dann nur bestimmt durch den Kristall-Rührer-Kontakt.

Kristallabrieb durch Turbulenz

Der zweite Anteil des Gesamtkristallabriebs neben dem Prall ist induziert durch die Turbulenz. Für den Partikelaufruch ist entscheidend, wie groß der Wirbel ist und über wie viel Energie dieser verfügt. Wenn die Wirbel größer sind als die sogenannte „kritische Größe“ fangen diese die Partikel ein und es werden kaum Oberflächenkräfte aufgeprägt. Bei ausreichend kleinen Wirbeln bewegen sich die Wirbel über die Oberfläche der Partikel und produzieren Scher-, Normal- und Druckkräfte. Damit Abrasion auftritt ist zusätzlich eine ausreichende Energie notwendig. Folgende Größen sind entscheidend für das Ausmaß des Abriebs aufgrund von Fluidkräften:

- Frequenz der Wirbel f_e
- Widerstands- und Scherkomponenten der turbulenten Energie im Verhältnis zu der benötigten Energie um Abrieb an Kristallen durch Zugspannungen E_d/e_d oder Scherung E_s/e_s zu generieren
- Gesamtanzahl der Kristalle n_c

Hieraus ergeben sich folgende Abhängigkeiten:

$$\frac{dn_e}{dt}|_{turb} = 0,258k_v x_{50}^8 \left[\frac{\epsilon}{\nu} \right] \left[2,55 \times 10^{-2} x_{50}^2 \Delta\rho \left[\frac{\epsilon}{\nu} \right]^{1/2} \frac{1}{e_d} + \frac{\eta}{e_s} \right] n_c \quad (2.11)$$

dabei ist ν die kinematische Viskosität, $\Delta\rho$ die Dichtedifferenz von Kristall und Mutterlösung und η die dynamische Viskosität. Da der Kristallabrieb maßgeblich durch Scher- und Normalkräfte verursacht wird und nicht durch Druckkräfte wurden diese in Gleichung 2.11 vernachlässigt. Außerdem gilt die Gleichung nur für $Re \leq 0,3$ und geringe Feststoffkonzentrationen ($c_v \leq 5$ Vol%). Für Partikel größer als $200 \mu\text{m}$ bestimmen hauptsächlich Normalkräfte, unter $200 \mu\text{m}$ hauptsächlich Scherkräfte das Zerkleinerungsergebnis. Die Abriebsrate steht in einer Abhängigkeit fünfter Ordnung von der Mutterkristallgröße und erster Ordnung von der Feststoffkonzentration. Die Abhängigkeit der Abriebsrate aufgrund von Turbulenz ergibt sich aus Gleichung 2.11 zu einem Wert zwischen 1 (hauptsächlich Scherung) und 1,5 (hauptsächlich Widerstandskraft/Normalkraft). Eine theoretische Lösung der Gleichung konnte bisher nicht gefunden werden, da die Einheitsenergien e_d , e_s und e_{ci} nicht bekannt sind. Hier lässt sich nur eine empirische Lösung finden. Die Analyse experimenteller Daten mit Hilfe dieser Beschreibungsgleichungen ist schwierig, da die Ursachen des Kristallabriebs miteinander interagieren bzw. im Wettbewerb zueinander stehen [107, 55].

Scale-up

Bei geometrisch ähnlichen gerührten Behältern hängt die turbulente Abriebsrate nur vom Energieeintrag ab und ist bei Partikelgrößen unter $200 \mu\text{m}$ unabhängig von der Größe des Rührbehälters. Die Prallabriebsrate nimmt für Systeme mit einer Reynoldszahl von unter 10^3 , wie sie meist vorliegt, quadratisch mit zunehmender Größe des Rührbehälters ab. Gleichung 2.12 beschreibt die Skalierung.

$$\left(\frac{n_e}{n_{e,lab}} \right)_{imp} \approx \left(\frac{F_0}{F_{0,lab}} \right) \left(\frac{\epsilon}{\epsilon_{lab}} \right) \left(\frac{d}{d_{lab}} \right)^{-2} \quad (2.12)$$

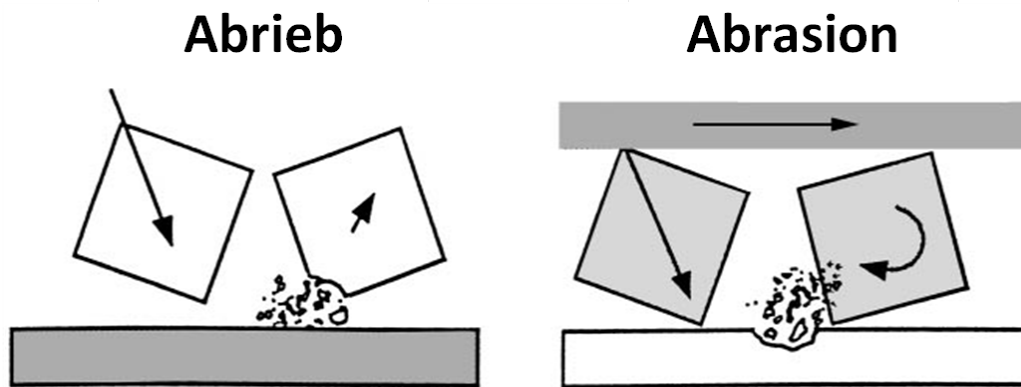


Abbildung 2.8: Schematische Darstellung von Abrieb und Abrasion [24]

2.3 Partikelzerstörung in technischen Systemen

Rühren und Mischen

Partikelabrieb während Kristallisationsprozessen tritt häufig auf und ist sogar teilweise erwünscht. Abrieb ermöglicht sekundäre Keimbildung, d.h. fördert die Kristallisation. Partikel-Wand, Partikel-Partikel und insbesondere Partikel-Rührer Kollisionen führen zu der Entstehung von Abrieb [77, 21, 76]. Die Prozessparameter Rührerdrehzahl, Suspensionskonzentration, Verweilzeit und Leistungseintrag sind entscheidend für das Ausmaß des Abriebs. Indirekt ist der Abrieb auch von der Partikelgröße abhängig, da die Einschlagsenergie mit der Partikelgröße bzw. -masse zunimmt. Die Rührerdrehzahl, Suspensionskonzentration und Verweilzeit erhöhen den Abrieb dadurch, dass die Kollisionsfrequenz im Allgemeinen zunimmt [66]. Auch die Härte des Rührers im Vergleich zum Kristall ist entscheidend für die auftretenden Effekte. Ist der Kristall härter als der Rührer wird von Abrasion gesprochen und der Rührer nimmt Schaden (siehe Abbildung 2.8). Ist der Rührer härter als der Kristall tritt Abrieb auf. Insbesondere Ecken werden abgeschlagen, was zu einer Abrundung der Kristalle führt. Prinzipiell wird bei Kristallisatoren darauf geachtet den Kristall-Rührer Kontakt zu minimieren. Somit bleibt nach dem Abschlagen der Ecken genug Zeit, dass der Kristall wieder ausreichend wachsen kann [24].

Pumpen und Ventile

In technischen Prozessen sind häufig Pumpen und Ventile im Rahmen der Suspensionsführung zugeschaltet. Die Belastung des Produktes bzw. die Vorschädigung in Pumpen und Ventilen kann zu einer Vorschädigung der Kristalle führen. Diese Vorschädigung wieder-

um führt dann zu einer höheren Wahrscheinlichkeit des Kristallbruchs im Fest-Flüssig-Trennschritt. In den Pumpe und Ventilen selbst tritt hauptsächlich Kristallabrieb und weniger Kristallbruch auf. Auch lassen sich diese geometrisch so ausgestalten, dass die auf die Partikel wirkende Energie minimiert werden kann [102].

2.4 Besonderheiten der Proteinkristalle bei mechanischer Belastung

Kristalle aus Proteinen bestehen zu 25 – 90% aus Mutterlösung, abhängig vom betrachteten Protein. Bedingt durch den hohen Gehalt an Mutterlösung bilden die verbleibenden Moleküle eine Art geordnete Gelstruktur mit großem Freiraum zwischen den Gitterplätzen. Durch diesen können Lösungsmittel und andere kleine Moleküle frei diffundieren. Im Verhältnis zu ihrer molekularen Masse ist die Anzahl der ausgebildeten Bindungen (Salzbrücken, Wasserstoffbrückenbindungen und hydrophobe Interaktionen) sehr viel kleiner als von konventionellen Molekülen im Kristall. Dies erklärt die großen Unterschiede der Eigenschaften von Kristallen aus Proteinen zu Kristallen kleiner Moleküle oder Salzen. Eine weitere Besonderheit ist, dass Proteinen nur einen sehr engen pH bzw. Temperaturbereich tolerieren. Außerdem bleibt die biologische Aktivität auch nur in wässrigen Systemen erhalten. Weiterhin bilden konventionelle Kristalle eine relativ hohe Ordnung im Kristallgitter aus, was diese physikalisch hart und brüchig erscheinen lässt. Kristalle aus Proteinen hingegen sind sehr limitiert in der Größe, sehr weich und brechen leicht. Die großen Zwischenräume zwischen den aneinander angrenzenden Molekülen und die schwachen Gitterkräfte führen außerdem dazu, dass die Moleküle nicht exakt äquivalente Orientierungen und Positionen im Gitter einnehmen. Auch die Konformation und Seitengruppen der Proteinmoleküle können sich leicht verändern und zu Unregelmäßigkeiten im Kristallgitter führen. Diese große Variabilität kann wiederum zu Polymorphismus bei der Kristallisation führen. Das heißt bei gleichen Kristallisationsbedingungen koexistieren mehrere Kristallformen [67]. Dies kann zu Problemen bei der mechanischen Charakterisierung der Systeme führen.

Das mechanische Verhalten von Kristallen kann durch unterschiedliche Parameter beschrieben werden. Zum einen durch die Härte H (MPa), welche bei der typischerweise

angewandten Indentermethode (Beschrieben in 4.2) ermittelt werden kann. Die Härte kann durch folgende Beziehung dargestellt werden:

$$H = \frac{F}{A} \quad (2.13)$$

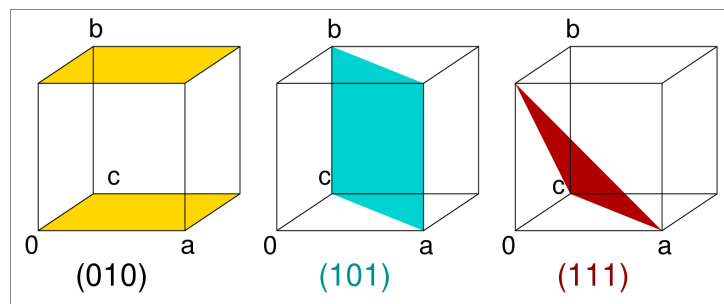
mit der maximalen Kraft des Indenters F und der projizierten Fläche A des Indenters. Der zweite Parameter ist das Young Modul Y (GPa), welches unter der Bedingung, dass das Material unter Last elastisch deformiert und ab einer bestimmten Belastung einen Übergang zu plastischem Verhalten zeigt mit Indentationsmethoden bestimmt werden kann.

Tabelle 2.4: Mechanische Eigenschaften von Kristallen [109]

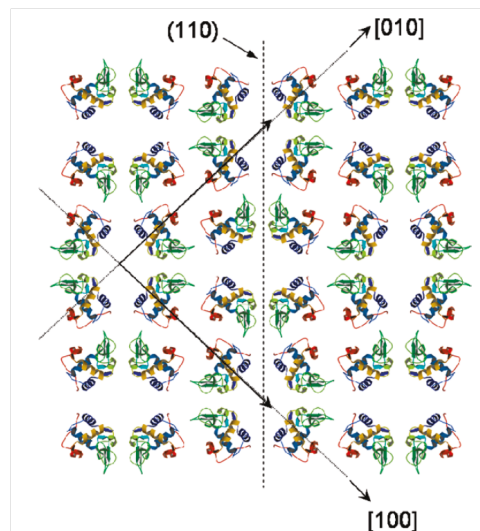
| Material | H (MPa) | Y (GPa) |
|----------------------------------------------------|----------------|----------------|
| Gesättigter Lysozymkristall | $15 \pm 7\%$ | $0,49 \pm 6\%$ |
| Glutaminsäurekristalle | $2200 \pm 5\%$ | $32 \pm 10\%$ |
| Weicher anorganischer Kristall z.B. Natriumchlorid | $60 - 200$ | $15 - 50$ |

Tabelle 2.4 gibt charakteristische Werte der Härte H und Elastizität Y des Modellproteins Lysozym im Vergleich zu einem Glutaminsäurekristall und weichen anorganischen Kristallen wieder, welche von Tait et al. [109] experimentell über Indentationsmessungen bestimmt wurden.

Lysozymkristalle und in noch größerer Ausprägung Glucoseisomerasekristalle zeigen ein Kriechverhalten. Kriechen bezeichnet allgemein, dass bei gleichbleibender Belastung des Kristalls der Indenter weiter in den belasteten Kristall eindringt. Häufig wird dies bei gummiartigen Stoffen beobachtet, die elastisch und verzögert viskos deformieren (Materialien mit sowohl Festkörper- als auch Fluideigenschaften). Das Kriechverhalten führt bei Glucoseisomerasekristallen dazu, dass sich die Härte und Elastizität nicht erfassen lassen. Bei Lysozymkristallen wird das Kriechen bei halten der maximaler Belastung über einige Zeit dissipiert (im Gegensatz zu den Glucoseisomerasekristallen), was eine Auswertung der mechanischen Daten erlaubt. Prinzipiell lässt sich aber sagen das Glucoseisomerasekristalle sehr viel weicher aber nicht so bruchempfindlich sind wie Lysozymkristalle; bei Indenterversuchen zeigten sich im Gegensatz zu Lysozym keine Risse. Brüchige Kristalle



(a)



(b)

Abbildung 2.9: Darstellung der millerschen Indizes (a) und der kristallographischen Gleitebenen im tetragonalen Lysozymkristall (b)[109]

absorbieren die Deformationsenergie über Bruch und nicht über eine plastische Deformation [109].

Die mechanischen Eigenschaften von Proteinkristallen sind stark abhängig von der Temperatur, dem Wassergehalt der Kristalle und vor allem der Belastungsrichtung. Die Kristalle sind umso brüchiger, je niedriger die Temperatur und der Wassergehalt sind. In [119] sind die Eigenschaften von tetragonalen Lysozymkristallen beschrieben bzw. aus bestehenden mechanischen Daten simuliert worden. Lysozymkristalle reagieren grundsätzlich elastisch-plastisch auf eine mechanische Belastung [109, 51]. Dabei rührt die plastische Deformation vom sogenannten kristallographischen Gleiten her [108]. Die Gleitebenen bilden hierbei die Ebenen mit dichtester Atompackung und größtem Schichtabstand. Für isometrische Lysozymkristalle sind diese in Abbildung 2.9 (b) dargestellt. Die millerschen Indizes, welche die Gleitebenen darstellen, sind in Abbildung 2.9 (a) bildlich dargestellt.

Abhängigkeiten zwischen den mechanischen Eigenschaften und der Temperatur und dem Wassergehalt für Lysozymkristalle sind wie folgt:

- Young Modul bzw. Elastizität:
 - Mit steigender Temperatur sinkende Elastizität
 - Mit steigendem Wassergehalt steigende Elastizität
- Fließgrenze
 - Abnehmende Fließgrenze mit steigender Temperatur
 - Zunehmende Fließgrenze mit abnehmendem Wassergehalt

Eine weitere wichtige Größe um die mechanische Antwort von Kristallen zu charakterisieren ist der „Critical resolved shear stress (CRSS)“. Dieser ist eine in Gleitrichtung aufgelöste Komponente des Scherstress, die notwendig ist um Gleiten im Korn auszulösen. Der CRSS ist eine vom kristallinen System abhängige Größe und notwendig um die plastische Deformation zu initiieren.

Bei ansteigender Temperatur ist ein abnehmender CRSS zu beobachten. Dabei ist der Effekt der Temperatur auf die Härte ausgeprägter als auf die elastischen Konstanten, da Dislokationen bei höherer Temperatur eine höhere Wahrscheinlichkeit haben. Dies lässt sich durch das Auftreten von thermischen Fluktuationen begründen. Ansteigender Wassergehalt führt zu einer Abnahme des CRSS und zu einer steigenden Elastizität. Allerdings ist das mechanische Verhalten auch stark abhängig davon, wie viel und welche anderen Moleküle sich im Kristallwasser befinden.

Die mechanische Antwort von Kristallen ist, wie schon beschrieben, hoch anisotrop. In $[100]$ und $[\bar{2}12]$ Richtung ist die mechanische Antwort elastisch-plastisch, während die Antwort in $[110]$ Richtung rein elastisch ist. Bei nicht-symmetrischer Belastung kann der Kristall in eine andere Raumrichtung rotieren, in der Kristallschlupf weniger auftritt, was zu einer Härtung des Kristalls führt.

Insgesamt führt dies zu einem heterogenen und orientierungsabhängigen Materialverhalten der Kristalle [119].

3 Abgrenzung des Themengebiets und Ziel der Arbeit

Der Bruch von anorganischen und organischen Kristallen während Grundoperationen der mechanischen Verfahrenstechnik ist in einer Vielzahl von Arbeiten untersucht worden. Zumeist wurden Systeme mit sehr großen Kristallen $> 100 \mu\text{m}$ betrachtet. Die hier zu untersuchenden Proteinkristalle lassen sich strukturell bedingt in einem Kristallisationsprozess nicht in dieser Größe gewinnen. Für die Zerkleinerung von anorganische Kristalle ist bei abnehmender Größe ein sehr hoher Energieeintrag in das System notwendig, weswegen in vorhergehenden Arbeiten kleine Kristalle bezüglich ihrer Zerkleinerung nicht weitergehend untersucht wurden. Proteinkristalle weisen eine wesentlich geringere mechanische Festigkeit auf, weshalb hier Kristallbruch bei kleinen Kristallen nicht ausgeschlossen werden kann.

Kristalle können im Abtrennprozess auf zweierlei Art beansprucht werden. Durch Turbulenz im Suspensionseinlauf von Zentrifugen und durch Druck in einem Haufwerk. Diese beiden Beanspruchungsarten werden zunächst gesondert betrachtet um eine Aussage bezüglich des Einflusses der möglichen Prozessparameter auf die Veränderung der Kristallgrößenverteilung zu gewinnen. Dazu stehen eine aus der Literatur adaptierte Scherzelle zur Beanspruchung der Kristalle durch Turbulenz und eine miniaturisierte Kompressions-Permeabilitätszelle zur Druckbeanspruchung zur Verfügung. Zusätzlich zur Art der Beanspruchung wurde die Morphologie der Kristalle variiert. Die ideale Form bezüglich der Abtrennung bilden isometrischen tetragonale Kristalle, verglichen werden diese mit nadel-förmigen und aggregierten tetragonalen Kristallstrukturen des Modellsystems Lysozym. Es gilt die Frage zu klären, inwieweit die Kristallstruktur einen Einfluss hat auf das Bruchverhalten und das Ausmaß des Bruches und dies wiederum auf das Abtrennergebnis. So soll die Möglichkeit geschaffen werden schon anhand von Voruntersuchungen mit kleinen Produktmengen Aussagen zu treffen über eine geeignete Kristallform für die mechanische Abtrennung. Durch gezielte Variation der Kristallisationsbedingungen ließe sich die für die Abtrennung geeignete Struktur herstellen.

Im Anschluss an die Versuche im Labormaßstab wird die Übertragbarkeit auf großtechnische Prozesse, hier eine dynamische Cross-Flow-Filtrationseinheit und eine filtrierende Zentrifuge vertikaler Bauweise, überprüft. Dabei werden die Prozessbedingungen variiert und mit den Ergebnissen aus den Voruntersuchungen im kleinem Maßstab in Zusammenhang gesetzt.

Für die Beschreibung der Zerkleinerungsvorgänge wird die aus der Mahlung von Partikelsystemen bekannte Kornanreicherungskurve genutzt. Die konventionelle Beschreibung über die Bruchfunktion und den Bruchanteil ist aufgrund der kleinen Kristalle und breiten Größenverteilungen nicht sinnvoll.

Gesamtziel der Arbeit ist es Erkenntnisse zu gewinnen über das Bruchverhalten von Proteinkristallen bei typischen Fest-Flüssig-Trennprozessen. Eine Übertragbarkeit auf andere, pharmazeutisch relevante, Proteinkristalle ist aufgrund ähnlicher mechanischer Eigenschaften anzunehmen.

4 Materialien und Methoden

4.1 Kristallisation des Modellsystems Lysozym

Die Kristallisation von Lysozym beruht auf dem Herabsetzen der Löslichkeit des Moleküls durch ein Verdrängungsmittel. Änderungen der Fällungsmittelkonzentration, der Zugabegeschwindigkeit des Verdrängungsmittels und der Rührbedingungen beeinflussen die Kristallstruktur und -größe (siehe 2.1). Durch eine Variation der Bedingungen konnten isometrische, nadelige und aggregierte Lysozymkristalle gewonnen werden. Für die gesamten Versuche wurde aufgereinigtes pulverförmiges Lysozym der Firma Ovobest Eiprodukte GmbH und Co.KG (Neuenkirchen-Vörden) unterschiedlicher Chargen verwendet. Die Verwendung unterschiedlicher Chargen kann unter anderem zu mangelnder Reproduzierbarkeit der Kristallisation beitragen.

4.1.1 Isometrische Kristalle

Die Herstellung von isometrischen (tetragonalen) Lysozymkristallen wird im 5 l Maßstab durchgeführt. Hierzu werden je 2,5 l eines 25 mM Natrium-Acetat-Puffers mit einem pH-Wert von 4 mit Lysozym und mit Fällungsmittel miteinander vermischt. Im Fall von isometrischen Kristallen werden in der Proteinlösung 100 g/l Lysozym eingelöst und 80 g/l Fällungsmittel. Die Bedingungen sind aus Hekmat et al. [39] entnommen. Die Kristallisation an sich wird in einem Doppelmantelbehälter, welcher auf 20°C temperiert ist, durchgeführt. Die geometrischen Verhältnisse während der Kristallisation sind Tabelle 4.1 zu entnehmen. Verwendetes Rührorgan war ein Turbinenrührer des Typs R1313 von IKA (siehe Abbildung 4.1 (b)), die Rührgeschwindigkeit während der Kristallisation betrug 300 1/min. Die Salzlösung wird sehr langsam zu der vorgelegten Proteinlösung gegeben um lokale Übersättigungen und damit eine Präzipitatbildung zu vermeiden. Eine Kristallisationszeit von 24 h wird eingehalten um einen vollständigen Abbau der Übersättigung zu gewährleisten.



Abbildung 4.1: Für die Kristallisationen eingesetzte Magnetführer: (a) Turbinenrührer zur Herstellung isometrischer Kristalle (b) Schwimmer-Magnetführer zur Herstellung nadelförmiger Kristalle

4.1.2 Nadelige Kristalle

Für die geometrischen Verhältnisse bei der Kristallisation von nadeligen Kristallen sei auf Tabelle 4.1 verwiesen. Der Kristallisationsansatz hat jeweils ein Volumen von 1,5 l. Die Kristallisationszeit beträgt 24 h und es wird in einem Becherglas bei 20°C kristallisiert. Gemischt werden Proteinlösung und Salzlösung im Verhältnis 3 zu 2 im Gegensatz zu 1 zu 1 für die isometrischen Kristalle. Rührorgan ist hier ein Schwimmer-Magnetführer (siehe Abbildung 4.1 (a)), welcher bei 480 1/min betrieben wird. Diese Art von Magnetführer wurde gewählt, da mit diesem eine sehr schonende Durchmischung erfolgt. Die Lysozymkonzentration in der Proteinlösung beträgt 66,67 g/l und 220 g/l NaCl befanden sich in der Fällungsmittellösung. Dies entsprach Endkonzentrationen von 40 g/l Lysozym und 88 g/l NaCl auf den gesamten Kristallisationsansatz bezogen.

4.1.3 Aggregierte Lysozymkristalle

Zwei Methoden wurden angewandt um aggregierte (tetragonale) Lysozymkristalle zu gewinnen. Zum einen führt die **Zugabe eines weiteren Proteins**, in unserem Fall Bovines Serum Albumin (BSA), zur Bildung von aggregierten isometrischen Kristallen. Dabei galten die gleichen geometrischen Bedingungen wie für die Gewinnung vereinzelt vorliegender isometrischer Kristalle (siehe Tabelle 4.1).

Tabelle 4.1: geometrische Verhältnisse während der Kristallisation

| | isometrische Kristalle | nadelige Kristalle |
|--------------------------------------|---------------------------|--------------------|
| Behältervolumen/l | 7 | 2 |
| Füllvolumen/l | 5 | 1,5 |
| Durchmesser Behälter/cm | 15 | 12,5 |
| Durchmesser Rührer/cm | 7 | 6,25 |
| Höhe Suspensionsspiegel/cm | 30 | 12,5 |
| Position Rührer von Behälterboden/cm | 19,5 | 1,7 |
| Position Rührer von Behälterwand | zentriert | zentriert |
| Drehfrequenz/ min^{-1} | 300 | 480 |

Dabei wurde in einem Fall 8 g/l BSA (bezogen auf das Gesamtvolumen der Kristallisationslösung) in die vorgelegte Lysozym-Pufferlösung, im anderen Fall 16 g/l BSA zusätzlich gelöst. Dies führte, wie im Ergebnisteil gezeigt wird, zu sehr unterschiedlichen Aggregatstrukturen bezüglich der mechanischen Stabilität.

Die zweite Methode um aggregierte Kristalle zu gewinnen ist es **den Energieeintrag während der Kristallisation zu erhöhen**. Dazu wurde zum einen das Volumen des Kristallisationsansatzes reduziert. Zum anderen kam ein anderer Rührfisch und eine andere Drehzahl als für die isometrischen und nadeligen Kristallstrukturen zum Einsatz. Ein Becherglas mit 600 ml Füllvolumen und ein Magnetrührfisch mit Pivotring mit 40 mm Länge und 8 mm Durchmesser wurden verwendet um 0,5 l Kristallsuspension zu gewinnen. Für 24 h wurde die Suspension mit 600 rpm gerührt.

4.2 Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften am Einzelkristall

Die Charakterisierung von Einzelkristallen erfolgte durch Herrn Achim Overbeck von der TU Braunschweig für am MVM kristallisierten Lysozymkristallen. Die Härte und Elastizität, wie sie in Kapitel 2.4 beschrieben sind, konnte für die hier interessierenden Kristalle

nicht bestimmt werden. Ein direkter Vergleich mit den Daten aus Tait et al. [109] ist daher nicht möglich. Um diese bestimmen zu können muss die Kontaktgröße (bzw. die durch den Indenter hervorgerufene Einkerbungsfläche) bekannt sein. Diese kann entweder optisch detektiert werden für große Einkerbungen oder aus der Tiefe und der Geometrie der Einkerbung berechnet werden. Für beides ist eine planare Oberflächen (des Kristalls) und eine Belastung ohne Bruch notwendig. Diesen Anforderungen konnten die untersuchten Kristalle nicht genügen. Weitere Schwierigkeiten ergaben sich in der Probenpräparation dadurch, dass die Kristalle eine zu geringe Größe aufwiesen, in der Form variierten und außerdem die gesamte Zeit mit Flüssigkeit bedeckt sein mussten. Aus diesem Grund wurden die Kristalle zwischen parallelen Oberflächen bis zum Kristallbruch komprimiert. Eine Fixierung der Kristalle auf einem Substrat ist hierfür nicht notwendig, auch die Orientierung der Kristalle auf dem Objektträger ist nicht relevant. Zur Beurteilung und Einordnung der mechanischen Stabilität wird die Bruchkraft ausgewertet.

Grundlage zur Bestimmung der Bruchkraft bildete die mechanische Beanspruchung einzelner Kristalle mittels eines Hysitron TriboIndenter Ti 900 (Minneapolis MN) mit flachen Platten von 100 μm Durchmesser. Der Messumformer besitzt eine Auflösung von 0,1 μN bei Belastung und von 0,0004 nm bezogen auf die Auslenkung. Die Präparation der Lysozymkristalle erfolgte durch Aufnahme der Kristallsuspension in einer Flüssigzelle mit einem Objektträger aus Glas und einem Kunststoffring, welche über ein Silikonfett abgedichtet sind. Über wiederholtes Pumpen der Suspension mit einer Pipette werden die Kristalle homogen in der Mutterlösung verteilt. Zur Realisierung einer zufälligen Verteilung der Kristalle über den Objektträger werden diese auf den Objektträger pipettiert und eine Sedimentationsphase von 15 Minuten schließt sich an. Innerhalb dieser gesamten Prozedur befinden sich die Kristalle in Mutterlösung um die Einflüsse von Trocknungsprozessen auf die mechanischen Eigenschaften der Proteinkristalle, wie sie in Tait et al. [109] beobachtet wurden, auszuschließen. Eine Überprüfung der Parallelität der Stempel und damit der Kompression der Kristalle zwischen zwei parallelen Flächen erfolge durch den in-situ imaging mode des TriboIndenters. Die integrierte Optik erlaubte eine folgende Überprüfung ob die zu beanspruchenden Kristalle einzeln vorliegen. Während der Messung wurde die Kristalloberfläche mit einem Sollwert von 2 μN detektiert. Eine Kompression der Kristalle mit einer konstanter Lastrate von 25 $\mu\text{N}/\text{s}$ bis zu einer Maximallast von 500 μN führte schließlich zum Bruch dieser. Die Bruchkraft lässt sich aus der aufgenommenen Kraft-Weg-Kurve berechnen. Insgesamt wurden 63 Einzelkristalle und 32 aggregierte Kristalle analysiert. Abbildung 4.2 zeigt exemplarisch den Bruch eines isometrischen Kristalls.

Die durchschnittlichen Bruchkräfte für Einzelkristalle betrug $283,2 \mu\text{N} \pm 124,5 \mu\text{N}$ und

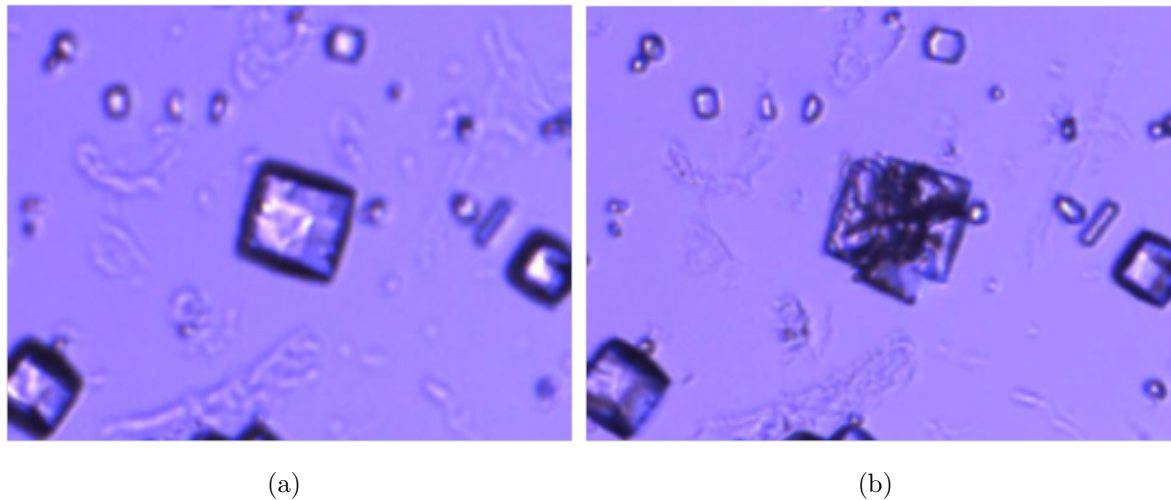


Abbildung 4.2: Kristallbruch eines isometrischen Kristalls bei der Beanspruchung zwischen zwei Platten (a) vor Beanspruchung (b) nach Beanspruchung

die der einzelnen (isometrischen) Kristalle $76,4 \mu\text{N} \pm 50,5 \mu\text{N}$. Das heißt die aggregierten Kristalle weisen, wie erwartet, eine deutlich geringere Stabilität auf. Weiterhin konnte bei den isometrischen Kristallen keine Abhängigkeit der Bruchkraft von der Kristallgröße festgestellt werden. Allerdings war diese für die aggregierten Kristalle leicht abnehmend bei größeren Kristallen. Dies wird strukturell bedingt sein, d.h. die größeren Aggregate haben eine offenerporigere Struktur.

4.3 Beurteilung der Partikelgröße mittels Bildanalyse

Eine wichtige Größe um Kristallbruch charakterisieren zu können ist die Veränderung der Partikelgrößenverteilung durch die jeweilige Belastung. In dieser Arbeit wurde die Bildanalyse als geeignetes Verfahren erachtet. Die Bildanalyse hat die Vorteile, dass erstens keine bzw. nur geringfügig Energie eingetragen wird bei der Probenpräparation. Ein zweiter Vorteil ist, dass zusätzlich zu der Größeninformation noch die Struktur der Kristalle und eine Veränderung dieser beurteilt werden können.

Zunächst müssen mit einem geeigneten Mikroskop Bilder der Kristallsuspensionen aufgenommen werden. Hierbei wurde ein Durchlichtmikroskop vom Typ Orthoplan der Firma Leitz verwendet. Verwendet wurden zwei Objektive von der Firma Leitz, eines mit einer 4x Vergrößerung und eines mit einer 25x Vergrößerung. Der aufnehmbare Partikelgrößenbereich ist von zwei Faktoren abhängig. Zum einen vom Objektiv bzw. der Optik, zum

Tabelle 4.3: Vergleich des Detektionslimits der Kamera und des Mikroskops

| Objektiv | Partikelgröße Mikroskop / μm | Partikelgröße Kamera / μm |
|-----------------|---------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| 4x | 2,4 | 1,51 (3.0 MPixel) bzw. 1,08 (5.0 MPixel) |
| 25x | 0,67 | 0,16 (3.0 MPixel) |

anderen durch den Auflösereich der Kamera. Die optische Beschränkung des Mikroskops ist bestimmt durch die Abbesche Auflösungsgrenze, die durch die numerische Apertur und die Wellenlänge λ berechnet wird. Die Grenze der Auflösung bzw. der kleinste Abstand zweier Punktobjekte ergibt sich zu:

$$l = \frac{0,61\lambda}{NA} \quad (4.1)$$

Die numerische Apertur NA beschreibt das Vermögen eines optischen Elements Licht zu fokussieren und damit die Auflösungsgrenze eines Objektivs. Das 4x Objektiv hat dabei eine NA von 0,14, das 25x Objektiv von 0,5. Die Beschränkung der Größe durch die Kamera ist bestimmt durch die Pixelgröße. Zwei Kameras wurden in der Arbeit verwendet, zum einen eine Moticam 2500 mit 5,0 MPixeln, zum anderen eine Moticam 2300 mit 3,0 MPixeln. Um nun die Größe eines Pixels zu bestimmen wurden Aufnahmen eines Maßstabes gemacht und mit dem Programm ImageJ vermessen. Ein Vergleich der limitierenden Größe aus den optischen Beschränkungen des Mikroskops und der Kamera gibt Tabelle 4.3 wieder.

Dabei wird ersichtlich, dass die Optik des Mikroskops der beschränkende Faktor ist. Der Feinanteil kann leicht unterschätzt werden durch die Limitierung in den kleinen Partikelgrößen. Weiterhin entscheidend für eine aussagekräftige Partikelgrößenanalyse ist die Qualität der Probenpräparation und Aufnahmen. Für die Statistik werden jeweils drei Proben aus der Suspension nach Durchmischung entnommen und mit Mutterlösung verdünnt. Aus den verdünnten Lösungen werden hierbei jeweils zwei Proben auf je einen Objektträger verteilt und davon jeweils an verschiedenen Positionen vier Aufnahmen gemacht. Die Verdünnung wurde immer so gewählt, dass eine Überlappung der Partikel weitgehend vermieden werden konnte. Außerdem muss darauf geachtet werden, dass die Partikel in einer optischen Ebene liegen. Dies hat den Grund, dass die Helligkeit der

Partikel für die weitere Auswertung der Bilder möglichst gleich sein muss. Dazu muss unter anderem die auf den Objektträger aufgetragene Probemenge variiert werden je nach Produktsystem. Umso dünner die Schicht, umso eher liegen die Partikel in einer Ebene. Mögliche daraus folgende Fehler werden im weiteren diskutiert. Mindestens 1000 Partikel, zumeist jedoch wesentlich mehr, werden pro Probe ausgewertet um eine statistisch sinnvolle Größenverteilung zu erhalten. Die Auswertungsprozedur eines mikroskopischen Bildes ist in Abbildung 4.3 dargestellt. Bild (a) zeigt das mikroskopisch aufgenommene Bild. Dieses wird mit Hilfe von Adobe Photoshop weiter bearbeitet. Dabei werden die Konturen der Partikel geschärft (siehe Bild (b)) und das Bild in ein 8-bit Bild umgewandelt. Das Setzen eines Thresholds bzw. Grenzwertes der Grauwerte im Freeware Bildauswertungsprogramm ImageJ führt zu einem binären Bild, welches dann bezüglich Fläche und Größe der Partikel ausgewertet werden kann. Das Setzen des Thresholdes ist ein sehr sensibler Schritt in der Größenanalyse und kann zu Fehlern führen, wenn dieser nicht richtig gesetzt wird. Wird der Threshold zu hoch gesetzt erscheinen die Partikel größer als sie eigentlich sind, wird er zu niedrig gesetzt verschwinden insbesondere kleine Partikel aus der Auswertung. Daher muss bei jeder stark veränderten Größe bzw. Struktur der Kristalle in der Suspension das originale Mikroskopiebild mit dem bearbeiteten und ausgewerteten Bild verglichen werden. Die bearbeiteten Bilder werden im Anschluss mit ImageJ vermessen und gezählt. Die sich am Rand befindlichen Partikel werden dabei nicht ausgewertet, da sie nicht vollständig abgebildet sind. Außerdem wird noch die Funktion „include holes“ verwendet, die die vollständig umrandeten Kristalle ausfüllt. Dies verhindert, dass Schattierungen im ansonsten durchscheinenden Kristall nicht als separate Partikel ausgewertet werden.

Abbildung 4.4 zeigt ein durch Fehler in der Probenpräparation bzw. im Setzen vom Threshold erzeugtes Problem bei der Auswertung kleiner Partikel. Dabei werden schon bei der Bearbeitung mit Photoshop die Kanten der kleinen Partikel nicht deutlich hervorgehoben und führen dann beim Setzen des Thresholds zu einem Verschwinden der Partikel. Ein weiteres Problem, das insbesondere bei Kristallen auftritt ist, dass die Kanten, der an sich durchsichtigen Kristalle, nicht an allen Stellen gleich hell sind. Dies führt zu einer falschen Information über die Kristallgröße. Dies ist unter anderem die Ursache dafür, dass standardmäßig nicht mit einem Objektiv größerer Auflösung gearbeitet wird. Bei größerer Auflösung ist es noch schwieriger die Kristalle in eine optische Ebene zu bringen, was zu Helligkeitsunterschieden und zu Problemen bei der Bildauswertung führt.

Bei den kleineren nadeligen Kristallstrukturen wird allerdings auf ein größeres Objektiv (25x) zurück gegriffen, da sonst die Strukturen nicht mehr auflösbar sind. Die Größenauswertung der Nadeln ist besonders anspruchsvoll, da sie unabhängig von der gewählten

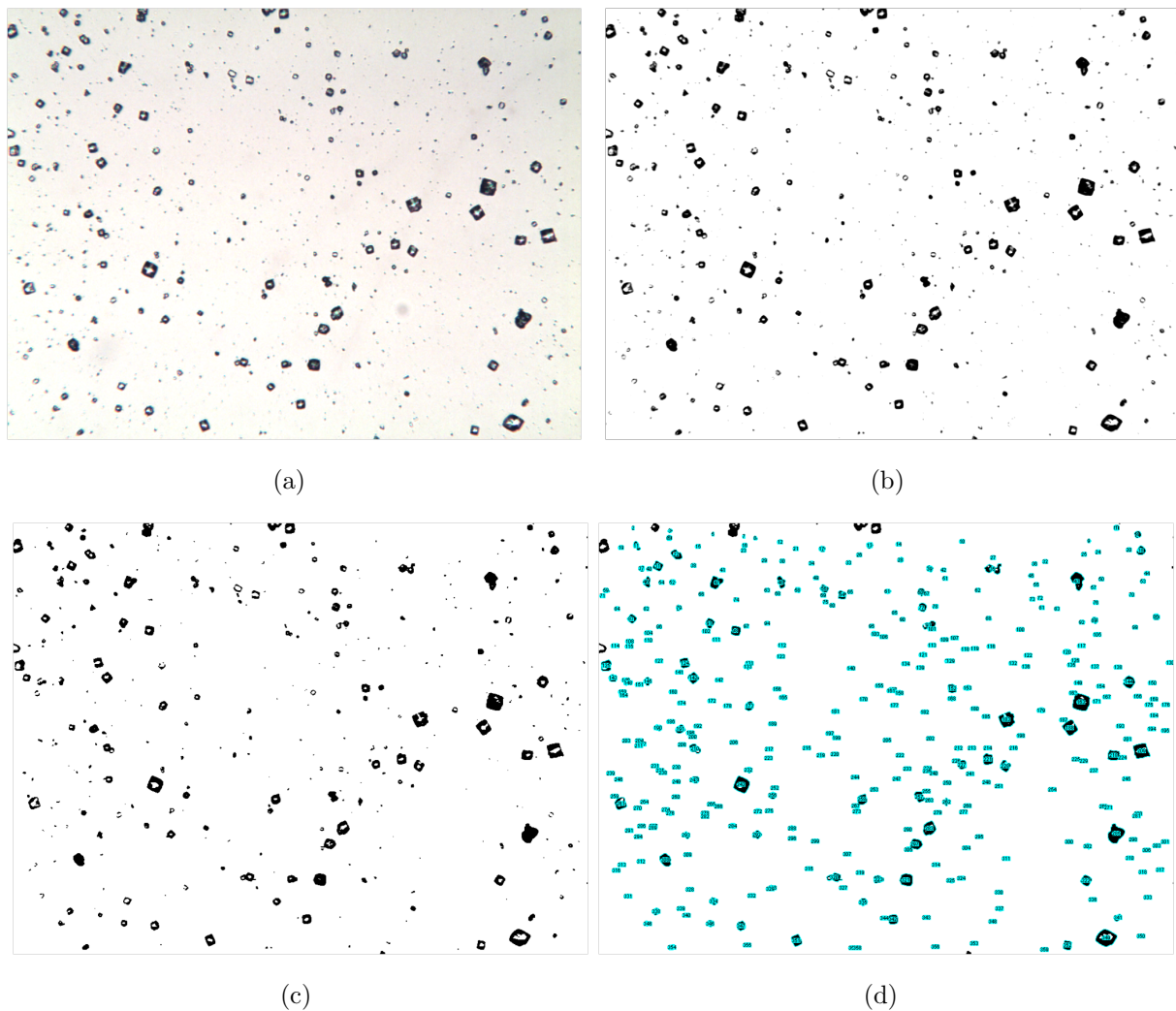


Abbildung 4.3: Bildbearbeitung zur Partikelgrößenanalyse: (a) Mit Mikroskop aufgenommenes Bild (b) mit Photoshop bearbeitet (c) Threshold gesetzt mit ImageJ (d) Partikelvermessung mit ImageJ



Abbildung 4.4: Fehler in der Bildanalyse: Verlust von kleinen Partikeln und Fehlmessung von Kristallen mit unscharfen Kanten

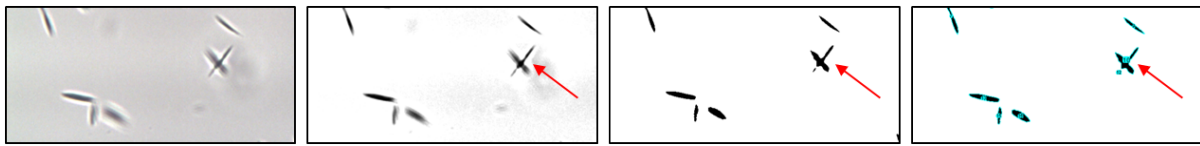


Abbildung 4.5: Fehler in der Bildanalyse: Übereinanderlagerung von Nadeln/Partikeln und Durchbrechen von Nadeln durch unscharfe Regionen

Verdünnung dazu tendieren sich zusammen zu lagern. Dies zeigt Abbildung 4.5. Häufig werden zusammengelagerte Nadeln als ein Partikel gezählt. Auch führen Helligkeitsunterschiede in den Nadeln selbst dazu, dass Teilweise eine Nadel als zwei Partikel gezählt wird. Daher wird die automatische Auswertung zusätzlich per Hand korrigiert. Nicht richtig ausgewertete Partikel werden aus der von ImageJ ausgegebenen Tabelle entfernt und die Partikel per Hand vermessen und zugefügt.

ImageJ gibt von jedem Partikel den Feret-Durchmesser und die Fläche aus. Der Feret-Durchmesser bzw. der ausgegebene maximale Feret-Durchmesser ist der Abstand zweier an das Partikel angelegter Tangenten. ImageJ sucht dabei den maximalen Abstand aus allen Raumrichtung, die Orientierung des Partikels im Bild spielt daher keine Rolle. Die Fläche des Partikels wird durch Zählen der Pixel bestimmt. Dabei wird auch ein nicht ganz ausgefüllter Pixel zum Partikel dazu gezählt, was bei kleinen Partikeln zu einer leichten Überschätzung der Größe führen kann. Da bei dem bildanalytischen Messverfahren Flächen vermessen werden ergibt sich eine flächenbezogene Summenverteilung. Die Summenverteilung aus den von ImageJ ausgegebenen Größen wird mit Hilfe einer Matlab Prozedur ausgewertet, welche die Partikel nach Größe sortiert und die Flächen entsprechend aufsummiert.

4.4 Zerkleinerung der Partikel unter Druckbelastung

Zur Druckbelastung eines Haufwerks aus Kristallen und somit der Kristalle wurden zwei Apparaturen eingesetzt. Zum einen eine sogenannte Kompressions-Permeabilitätszelle oder auch CP-Zelle für höhere Druckbereiche über einem Bar Realdruck, zum anderen eine Standarddrucknutzche der Firma BHS für niedrige Druckbereiche unter einem Bar. Dabei wird bei der CP-Zelle der Druck über einen Presskolben aufgebracht und bei der Drucknutzche über Luft realisiert. Ursache für die Verwendung der Drucknutzche für die niederen Druckbereiche ist, dass bei Drücken unter einem Bar in der CP-Zelle die Reibungsverluste des Pressstempels eine Bewegung des Kolbens in die Kuchenbildungseinheit verhindern.

Dies wurde auch schon von Alles [1] beschrieben. Durch eine Verkleinerung der Filterfläche in dieser Arbeit und damit einer Erhöhung des Verhältnisses von Umfang zu Durchmesser in der Filterzelle wird dieser Effekt auch noch verstärkt. In den folgenden Kapiteln 4.4.1-4.4.6 werden beide Apparaturen und die Versuchsführung für die Druckbeanspruchung eingehend beschrieben.

4.4.1 Eindickung der Kristallsuspensionen

Die Proteinkristalllösungen sind verhältnismäßig niedrig konzentriert (zwischen 40 g/l und 50 g/l) und die Kuchenbildungseinheit umfasst nur ein kleines Volumen. Um dennoch einen ausreichend hohen Kuchen für die Druckbeanspruchung zu gewinnen muss die Suspension eingedickt werden. Dies geschieht durch einfache Sedimentation über mehrere Tage. Der entstehende klare Überstand wird vorsichtig ohne Partikel mit zu reißen dekantiert. Das gewonnene Konzentrat wird für die Versuche in entsprechend viele Proben aufgeteilt. Die endgültige Feststoffkonzentration im Konzentrat ist abhängig vom Kristallsystem bzw. der Porosität des gebildeten Sediments und bewegte sich zwischen ca. 60 g/l für die Nadeln und 260 g/l für die aggregierten Kristalle. Die Kristallisation an sich ist nicht ausreichend reproduzierbar wie später noch gezeigt wird, was zu starken Unterschieden im Filtrationsverhalten führen kann. Daher werden Vergleiche der Filtrationsdaten nur innerhalb eines Ansatzes angestellt. Der dekantierte Überstand wird mit einer Membran mit einer Porenweite von 0,2 μm abfiltriert um Feststofffreiheit zu gewährleisten. Benötigt wird dieser zum einen zur Verdünnung der Proben für die Partikelgrößenanalyse, zum anderen für die Durchströmung des Filterkuchens. Durch die Verwendung des Überstandes kann jeglicher Einfluss auf die Kristallgröße durch Verdünnung bei konstanter Temperatur ausgeschlossen werden. Da die nadelförmigen Lysozymkristalle sehr poröse Filterkuchen bilden kann nicht genug Überstand gewonnen werden für die Durchströmung durch alleinige Sedimentation. Daher wird hier eine Pufferlösung hergestellt, deren Salz- und Lysozymkonzentration exakt der Mutterlösung entspricht. Überprüft wird dies durch die Messung der Leitfähigkeit und der Absorption der Lösung bei 280 nm.

4.4.2 Bestimmung der Kristallmassenkonzentration

Die Kristallmassenkonzentration der Suspensionen wird direkt nach der Kristallisation und nach der Aufkonzentrierung bestimmt. Durch die Kristallisation wird nicht alles Lysozym auskristallisiert, sondern nur bis zum Erreichen des Gleichgewichtszustands. Zum einen lässt sich die Massenkonzentration durch eine Messung der Lysozymkonzentration im Überstand, zum anderen durch die Trocknung des Sediments bestimmen. Beim zweiten

Verfahren muss beachtet werden, dass die Mutterlösung auch einen Trocknungsrückstand m_{Salz} hinterlässt. Dieser muss heraus gerechnet werden. Da beim ersten Verfahren die in z.B. aggregierten Systemen eingeschlossene Lysozymmenge nicht mit berücksichtigt wird, wird das zweite Verfahren zur Feststoffbestimmung bevorzugt. Prinzipiell werden zur Bestimmung Proben definierten Volumens ($V_{Probe} = V_{Suspension}$) aus der Suspension entnommen und für 10 Minuten bei 6000 Upm zentrifugiert bzw. bis der entstehende Überstand vollständig geklärt ist. Der Überstand wird dekantiert und der Trocknungsrückstand des Überstandes bestimmt um den Salzfaktor SF zu ermitteln. Das Feuchtgewicht des Sediments $m_{Sediment,feucht}$ wird bestimmt und die Proben werden im Trockenschrank bei 40°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und abermals gewogen ($m_{Sediment,trocken}$). Die Kristallkonzentration c_{m1} lässt sich im Anschluss daran bestimmen durch folgende Formel:

$$c_{m1} = \frac{m_{Lysozym}}{V_{Suspension}} = \frac{(m_{Sediment,trocken} - m_{Salz})}{V_{Probe}} \quad (4.2)$$

mit

$$m_{Salz} = \frac{(m_{Sediment,feucht} - m_{Sediment,trocken})}{\left(\frac{1}{SF} - 1\right)}. \quad (4.3)$$

Die Kristallkonzentration im Konzentrat c_{m2} kann über das Volumen des dekantierten Überstands berechnet werden.

4.4.3 Berechnung und Bestimmung der charakteristischen Haufwerkparameter

Porosität

Eine charakteristische Größe für die Beurteilung von Filterkuchen ist die Porosität ϵ . Diese beschreibt das Hohlräumvolumen V_H des Filterkuchens und kann bestimmt werden über das Feststoffvolumen V_{FS} bzw. die Feststoffmasse m_{FS} und über das Gesamtkuchenvolumen V_{ges} :

$$\Phi = \frac{V_H}{V_{ges}} = 1 - \frac{V_{FS}}{V_{ges}} = 1 - \frac{m_{FS}}{\rho_{FS} \cdot V_{ges}} = 1 - \frac{m_{FS}}{\rho_{FS} \cdot A \cdot h_k}. \quad (4.4)$$

Bekannte Größen sind die Feststoffdichte ρ_{FS} und die Filterfläche A . Die Kuchenhöhe h_k kann in der CP-Zelle direkt detektiert werden, bei den Versuchen mit der Drucknutsche wird die Höhe mittels eines Lasers bestimmt, zur Vorgehensweise sei auf 4.4.4 verwiesen.

Die Feststoffmasse wird in beiden Fällen durch Trocknung des Filterkuchens bestimmt. Allerdings werden Proben für die Partikelgrößenanalyse vom Filterkuchen entnommen. Für die Bestimmung der Gesamttrockenmasse des Filterkuchens wird angenommen, dass diese über die Filterkuchenfläche A gleich bleibt. Außerdem wird hier, analog zur Bestimmung der Feststoffkonzentration (siehe 4.4.2), der Salzanteil im trockenen Kuchen herausgerechnet. Zur Kontrolle wurde die Porosität nach Alles [1] bestimmt ohne Beachtung der Kuchenhöhe. Dabei wird ein vollständig gesättigter Kuchen angenommen, d.h. das Hohlraumvolumen V_H entspricht dem Flüssigkeitsvolumen V_L :

$$\Phi_{Alles} = \frac{V_f}{V_{ges}} = 1 - \frac{\frac{m_{FS}}{\rho_{FS}}}{\frac{m_{FS}}{\rho_{FS}} + \frac{m_{FS,feucht} - m_{FS}}{\rho_f}}. \quad (4.5)$$

Diese Gleichung hat allerdings keine Gültigkeit bzw. führt zu einer Verfälschung der Werte wenn der Kuchen teilweise entfeuchtet wird. Dies kann insbesondere bei der Drucknutsche vorkommen. Ein weiteres Problem das auftreten kann ist, dass sich Mutterlösung während des Kuchenausbaus aus der CP-Zelle in den Kuchenbildungsring zurück zieht. Dies würde ebenfalls zu einer Verfälschung der bestimmten Werte führen. Daher werden die so bestimmten Porositäten nur als Vergleichswert herangezogen.

Spezifische Filterkuchenwiderstände

Durchströmungsversuche, sowohl in der CP-Zelle als auch in der Drucknutsche, lassen die Bestimmung des spezifischen Filterkuchenwiderstands zu. Dabei wird der Filtratvolumenstrom $\frac{dV}{dt}$ erfasst und mit Hilfe der Darcy-Gleichung der Filtrationswiderstand R wie folgt bestimmt:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{\Delta p \cdot A}{\eta_f \cdot R}. \quad (4.6)$$

Mit der am Filterkuchen anliegenden Druckdifferenz Δp , der Viskosität der umgebenden Mutterlösung η_f und der Filtrationsfläche A . Diese Gleichung ist gültig für laminare Strömungen von inkompressiblen newtonschen Fluiden durch eine isotrope unveränderliche Packung. Bei konstanter Druckdifferenz und unter Vernachlässigung von Massenkräften ergeben sich folgende Gleichungen für die höhen- und massenspezifischen Kuchenwiderstände (α_m und α_h):

$$\alpha_m = \left(\frac{\Delta p \cdot A}{\eta_f \cdot \dot{V}} - R_m \right) \cdot \frac{A}{m_{FS}} \quad (4.7)$$

und

$$\alpha_h = \left(\frac{\Delta p \cdot A}{\eta_f \cdot \dot{V}} - R_m \right) \cdot \frac{1}{h_k}. \quad (4.8)$$

Mit dem Filtermediumwiderstand R_m , der Feststoffmasse im Kuchen m_{FS} und der Filterkuchenhöhe h_k .

Bestimmung der Kompressibilität

Mit Hilfe der bestimmten Porositäts- und Widerstandsverläufe über den Druck lässt sich die Kompressibilität der Filterkuchen bestimmen. Für die Bestimmung der Kompressibilität gibt es eine Vielzahl von Ansätzen, in der Hauptsache einfache Potenzgesetze. Diese zeigen zwei wesentlich Schwächen, zum einen liefern sie physikalisch unsinnige Werte bei kleinen Drücken, zum anderen hängt die Dimension der der Potenzfunktion vorangestellten Koeffizienten vom Zahlenwert des jeweiligen Exponenten ab. Daher soll hier nur auf den Ansatz von Alles eingegangen werden der ebendiese Schwächen nicht zeigt. In ihrer Arbeit werden folgende empirische Zusammenhänge verwendet:

$$\alpha = \alpha_0 \cdot \left(1 + \frac{\Delta p_k}{\Delta p_0} \right)^{N_\alpha} \quad (4.9)$$

und

$$1 - \Phi = (1 - \Phi_0) \cdot \left(1 + \frac{\Delta p_k}{\Delta p_0} \right)^{N_\Phi}. \quad (4.10)$$

Auf die in den Gleichungen angegebenen Größen wird im Folgenden noch genauer eingegangen. N_α ist hier die globale Kompressibilität und kann zur Beurteilung kompressiblen Materialverhaltens herangezogen werden. Dabei wird die Summe der Exponenten $N_\alpha + N_\Phi$ für ideal inkompressible Filterkuchen gleich 0 und steigt mit der Zunahme kompressiblen Materialverhaltens an. Für sehr stark kompressible Systeme kann der Wert auch deutlich größer als eins sein.

Der Bezugswiderstand α_0 kann mit einer Näherungsformel von Shirato [98] über die Bestimmung der Trennsiegelsinkgeschwindigkeit w_{sed} bestimmt werden:

$$\alpha_0 = \frac{(\rho_{FS} - \rho_f) \cdot g}{\eta_f \cdot \rho_{FS} \cdot w_{sed}}. \quad (4.11)$$

Zur Bestimmung der Trennsiegelsinkgeschwindigkeit werden Sedimentationsversuche im LUMiReader oder der LUMiFuge durchgeführt (genauere Beschreibung siehe 4.5.2). Dabei wird die Trennsiegelposition in Abhängigkeit der Zeit optisch bestimmt. Bei sehr

langsam sedimentierenden Systemen, wie den nadelförmigen Lysozymkristallen, wird die Trennspiegelsinkgeschwindigkeit im Zentrifugalfeld ermittelt. Um aus der im Zentrifugalfeld ermittelten Geschwindigkeit auf den Bezugskuchenwiderstand zu kommen müssen die Ergebnisse auf das Erdschwerefeld umgerechnet werden. Hierzu wird die Langarmnäherung verwendet, wobei angenommen wird, dass sich die Sinkgeschwindigkeit im Zentrifugalfeld $w_{St,ZF}$ proportional zur Froude-Zahl Z bzw. der Zentrifugalbeschleunigung verhält. Mit dieser Annahme können Rückschlüsse auf die Sinkgeschwindigkeit im Erdschwerefeld $w_{St,g}$ gezogen werden. Hieraus ergeben sich folgende Berechnungsgleichungen:

$$w_{St,ZF} = w_{St,g} \cdot C \quad (4.12)$$

$$w_{St,g} \cong w_{sed} \quad (4.13)$$

$$C = \frac{r_{mt} \cdot \omega^2}{g} \quad (4.14)$$

Mit der Winkelgeschwindigkeit ω und der Erdbeschleunigung g .

Für

$$r_a - r_{in} \ll r_a \quad (4.15)$$

gilt

$$r_{mt} = \frac{r_{in} + r_a}{2}. \quad (4.16)$$

Die LUMiFuge hat einen äußeren Rotationsradius r_a von 133 cm. Die Füllhöhe der Küvette beträgt 2,2 cm, was einen mittleren Rotationsradius r_{mt} von 12,2 cm ergibt. Eine Rotationsfrequenz von 2000 min^{-1} bzw. ein C-Wert von 545,5 wird auf die Suspension aufgebracht.

Weitere rechnerisch und/oder experimentell zu bestimmende Größen sind der **Bezugsdifferenzdrucks** Δp_0 und die Bezugsporosität Φ_0 . Für die Berechnung des Bezugsdifferenzdrucks Δp_0 im unbelasteten Zustand wird der hydrostatische Druck p_{hydr} auf das Haufwerk, welcher bestimmt ist durch die Höhe des Suspensionsspiegels h_{Susp} , angenommen. Hieraus ergibt sich folgende Gleichung:

$$\Delta p_0 \approx p_{hydr} = \rho_{Susp} \cdot g \cdot h_{Susp} \quad (4.17)$$

wobei $h_{Susp} = \frac{V_{Susp}}{A}$ mit der Filtrationsfläche A . Die **Bezugsporosität** Φ_0 lässt sich aus Sedimentationsversuchen im Erdschwerefeld bestimmen [1]. Die im Konsolidierungsgleichgewicht, d.h. bei $t \rightarrow \infty$, bestimmte Höhe des Sediments ergibt die Porosität im unbelasteten Zustand:

$$\Phi_0 = \Phi(p_s = 0) \approx \bar{\Phi}_{Sed}(t \rightarrow \infty). \quad (4.18)$$

Um den Punkt der vollständigen Konsolidierung bestimmen zu können wird die Sedimenthöhe in mehreren Zeitschritten vermessen. Die daraus bestimmte Porosität über der Konsolidierungszeit t lässt sich darstellen durch eine exponentielle Gleichung der Form:

$$\bar{\Phi}(t) = \bar{\Phi}_0 \cdot e^{-A_0 \cdot t}. \quad (4.19)$$

Hieraus ergibt sich entsprechend 4.18:

$$\Phi_0 = \bar{\Phi}(t \rightarrow \infty) = \bar{\Phi}_0 \quad (4.20)$$

Die Dichten des gesättigten Überstands und der Suspension werden gravimetrisch und dreifach mit Hilfe eines Pyknometers bestimmt. Nach Bestimmung der Porositäten und Kuchenwiderstände bei mehreren Druckstufen werden zur Bestimmung der Kompressibilitätsexponenten die Terme $\frac{\alpha}{\alpha_0}$ bzw. $\frac{1-\Phi}{1-\Phi_0}$ über dem Term $(1 + \frac{\Delta p_k}{p_0})$ doppellogarithmisch aufgetragen und mit einer Geradengleichung angenähert. Eine exemplarische Auftragung zeigt Abbildung 4.6. Aus der Steigung ergeben sich dann die Kompressibilitätsexponenten N_α und N_Φ .

4.4.4 Drucknutsche

Aufbau

Wie in den einleitenden Worten des Kapitels (4.4) schon erwähnt wird für niedrige Druckdifferenzen unter einem Bar eine Drucknutsche für die Druckbeanspruchung der Haufwerke verwendet. Diese stammt von der Firma BHS-Sonthofen GmbH. Der Versuchsaufbau des Nutschenversuchs ist in Abbildung 4.7 (a) zu sehen. Um eine Vergleichbarkeit der Filtrationsdaten zu gewährleisten wird ein kleiner Kuchenbildungsring mit einer mit der CP-Zelle vergleichbaren Filterfläche von $3,14 \text{ cm}^2$ in den Nutschenkörper eingesetzt (siehe Abbildung 4.7 (b)). Eine detaillierte Beschreibung des Versuchsaufbaus der CP-Zelle findet sich in Kapitel 4.4.5. Außerdem wird dasselbe Filtermedium, d.h. eine Nylonmembran

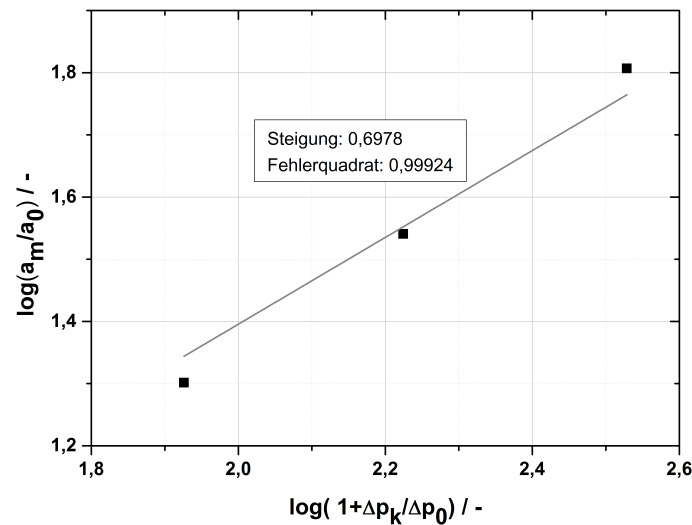


Abbildung 4.6: Exemplarische Darstellung der Ermittlung der Kompressibilität von Filterkuchen nach Alles

mit einem mittleren Porendurchmesser von $0,2 \mu\text{m}$ des Typs Pall Life Science Ultipore NRG, verwendet. Die Versuche werden außerdem in einem auf 20°C temperierten Labor durchgeführt um Veränderungen des Kristallsystems aufgrund von Lösungserscheinungen/Kristallisationen zu verhindern.

Als Stützgewebe für die Membran dient ein feinmaschiges Metallnetz, an dessen Unterseite ein Ablauftrichter mit einem Schlauch angebracht ist. Über diesen vorgefüllten Schlauch wird der Filtratanfall während des Versuchs über eine Waage detektiert und aufgezeichnet. Die Druckluft wird im oberen Teil der Filterzelle über einen Anschlussstutzen in die Filterzelle geleitet, Maximaldruck ist 4 bar. Die Aufzeichnung der Messwerte wird über eine Lichtschranke an der Rotameterstation (siehe Abbildung 4.7 (a), Schwebekörper-Durchflussmessstation) induziert.

Versuchdurchführung

Vor jedem Versuch wird das Nutschenunterteil in Wasser zusammengebaut. Dies hat zum einen den Vorteil, dass Totvolumina ausgeschlossen werden können. Zum einen werden dadurch Filtrationseffekte zu Anfang des Versuchs (zum Beispiel Schwarmsedimentation) besser detektiert. Zum anderen macht bei den kleinen verwendeten Probemengen das Totvolumen im Ablauf einen nicht zu vernachlässigenden Anteil aus. Im nächsten Schritt wird der sogenannte Wasserwert des Filtermediums, d.h. der Durchströmungswiderstand der Filtermembran ohne Partikel, ermittelt. Im Anschluss folgt die Kuchenbildung. Dazu wird

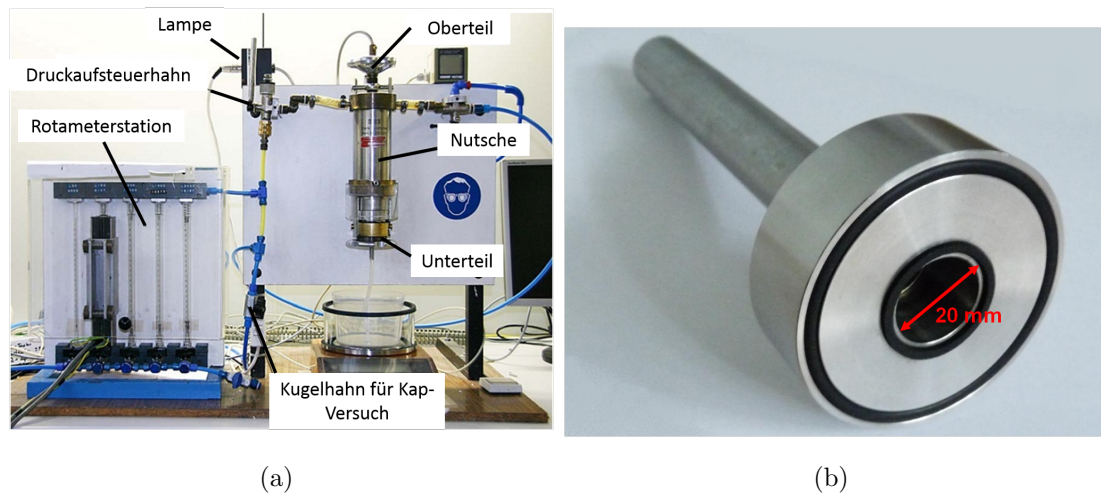


Abbildung 4.7: Aufbau der Drucknutsche: (a) Versuchsaufbau (b) Kuchenbildungsring

die Probe gut durchmischt um eine gleichmäßige Verteilung der Kristalle in der Suspension zu garantieren und damit einen homogenen Kuchenaufbau. Die durchmischte Probe wird anschließend in den Kuchenbildungsring der Nutsche eingefüllt. Möglichst schnell wird der Deckel geschlossen und der im vorhergehend angelegte Druck aufgesteuert. Kurz vor Entfeuchtungsbeginn, welcher über Vorversuche mit demselben Produktsystem ermittelt wurde, wird der Druck abgesteuert. Über die während der Kuchenbildung aufgefangene Filtratmasse lässt sich der Durchströmungswiderstand des Kuchens über die Standardfiltrationsgleichung ermitteln (siehe Gleichung 4.6). In einem weiteren Schritt wird der Kuchen nochmals mit Mutterlösung durchströmt. Hierüber soll eine Vergleichbarkeit mit den CP-Zellenversuchen realisiert werden. Dabei wird 2,5 ml Mutterlösung vorsichtig auf den Kuchen aufgebracht und ein Durchströmdruck von 0,25 bar angelegt. Nach der Entfeuchtung wird der Kuchenbildungsring ausgebaut, das aufgesetzte Rohr abgenommen und die Höhe des Kuchens mittels Lasertriangulation (Firma: Keyence, Messkopf: LK-G157, Steuereinheit: LK_GD500) an zehn verschiedenen Stellen bestimmt. Anschließend wird der Kuchen ausgebaut. Proben aus Mitte und Rand werden für die Partikelgrößenanalyse entnommen und der restliche Kuchen wird bei 35°C im Trockenschrank getrocknet zur Ermittlung der Feststoffmasse.

4.4.5 Kompressionszelle (CP-Zelle)

Aufbau der CP-Zelle

Die CP-Zelle baut im Wesentlichen auf der von Alles [1] beschriebenen Anordnung auf. Die Pressstempereinheit ist in Abbildung 4.8 dargestellt. Wesentliche Komponenten der Fil-

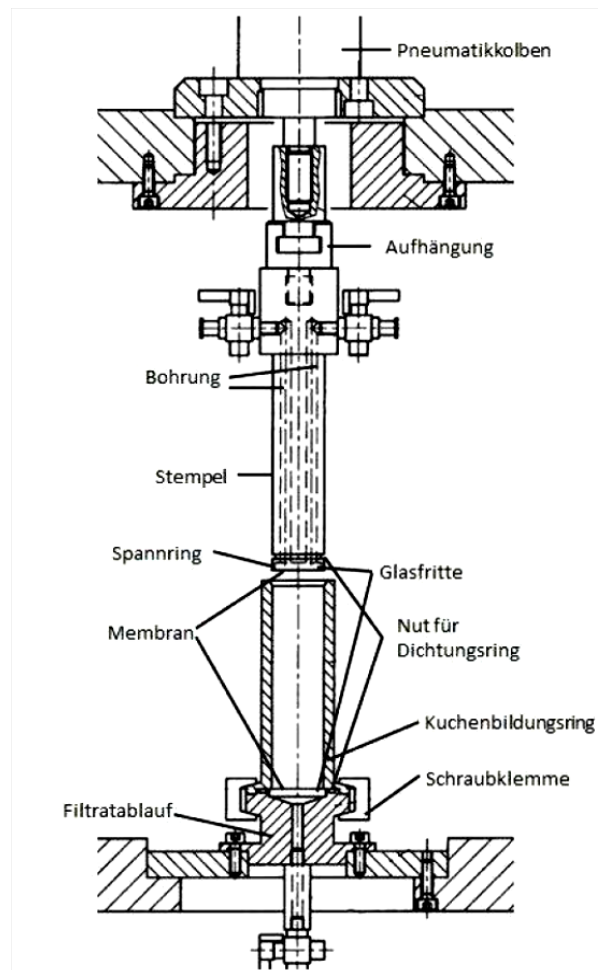


Abbildung 4.8: Aufbau der CP-Zelle

trationseinheit sind der bewegliche Stempel, welcher mit einer Kolbenstange verbunden ist, die Kuchenbildungseinheit und der Filtratablauf. Der Pressstempel und die Kuchenbildungseinheit sind aus Plexiglas gefertigt. Plexiglas wurde hier als Material gewählt, da die Kuchenbildung während des Versuchs direkt betrachtet werden kann und eventuelle Luft einschüsse in der Kuchenbildungseinheit und in den Bohrungen des Stempels sofort sichtbar sind. Um Versuchsmaterial einzusparen wurde außerdem der Innendurchmesser des Kuchenbildungsringes auf 20,1 mm fest gelegt. Dies entspricht einer realen Filterfläche von $3,15 \text{ cm}^2$. Diese wurde über einen Pressversuch mit reinem Wasser im Kuchenbildungsring bei 4 bar bestimmt.

Dazu wird das aufgefangene Filtratvolumen über die Stempelhöhe aufgetragen. Die Steigung der sich ergebenden Geraden ergibt die reale Filterfläche. Zwei Bohrungen im Stempel ermöglichen eine Durchströmung des gebildeten Kuchens. Das Filtermedium wird am Stempel mittels eines Spannringes befestigt und durch eine Glasfritte unterstützt. Eine Nut mit einem O-Ring am unteren Ende des Stempels sorgt außerdem für die Abdichtung

des Filtrationsraums. Der Stempel ist über eine Aufhängung mit einem Pneumatikkolben verbunden, welcher den Druck zur Pressung des Kuchens realisiert. Am Pneumatikkolben ist ein Wegaufnehmer der Firma Novotechnik vom Typ TLM 150 angebracht, welcher die Kuchenhöhe während des Versuchs detektiert. Im Filtratablauf ist entsprechend zum Presskolben eine Glasfritte mit Membran verspannt. Der Kuchenbildungsring wird mittels einer Schraubklemme am Filtratablauf befestigt. Für alle Versuche wurde als Filtermedium eine Nylonmembran des Typs Pall Life Science Ultipor NRG mit einem mittleren Porendurchmesser von $0,2 \mu\text{m}$ verwendet. Während des Versuchs wird über eine Feinwaage der Firma Satorius des Typs M-Pact AX623 die aus dem Filtratablaufschauch austretende Filtratmenge erfasst. Ein Verschluss des Ablaufs ist über einen angebrachten Hahn möglich. Die zur Detektion notwendige Durchströmung des gebildeten Filterkuchens wird realisiert über einen Druckbehälter aus Plexiglas, welcher über einen Schlauch mit dem linken Hahn des Stempels verbunden ist. Über ein Magnetventil wird die Durchströmung gesteuert. Eine entsprechende Mess- und Regeleinheit steuert die für die Durchströmung und Pressung benötigte Druckluft auf. Der eingestellte Druck beim Presskolben entspricht nicht exakt derjenigen die am Kuchen anliegt, sondern ist um die Reibungsverluste im System reduziert. Für die Beschreibung der Bestimmung der realen Pressdrücke sei auf 7.2 verwiesen.

4.4.6 Versuchsführung

Anhand eines vorgegebenen Länge zu Durchmesserverhältnisses L/D , muss zunächst das erforderliche Suspensionsvolumen berechnet werden. Die Porosität des resultierenden Filterkuchens wird durch einen Vorversuch mit derselben Suspension bestimmt. Folgende Berechnung wird durchgeführt:

$$V_{Susp} = \frac{(\rho_{FS} \cdot A \cdot \frac{L}{D} \cdot D \cdot (1 - \Phi))}{c_{m2}} \quad (4.21)$$

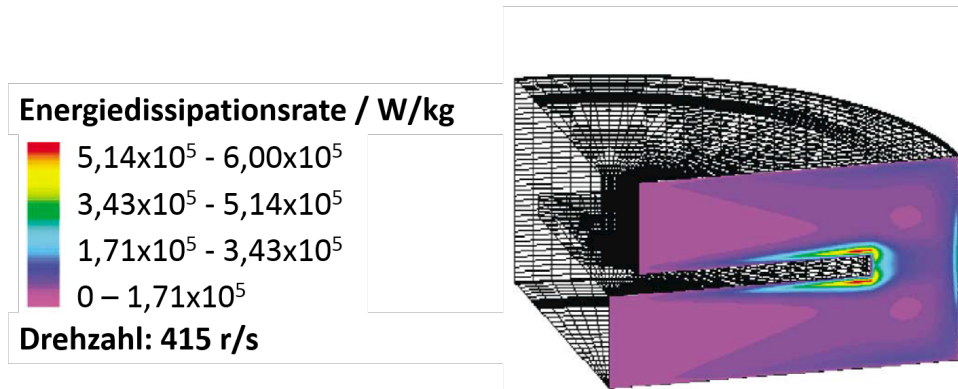
Um eine Vergleichbarkeit der Versuchsergebnisse zu gewährleisten werden stammen die Proben für die Filtration jeweils aus einem einzigen Kristallansatz. Die erforderliche Probebeteiligung sollte möglichst genau erfolgen und Anhand des Vergleichs der Kristallgrößenverteilung und der Feststoffkonzentrationen der einzelnen Ansätze überprüft werden. Zu Beginn jeden Versuchs wird der Filtratauffangbehälter mit VE-Wasser so weit befüllt, dass das Ende des Filtratablaufschauchs in das Wasser eintaucht. Die Membran wird feucht auf den Stempel gespannt und im Anschluss daran getrocknet, da mit feuchter Membran kein Gasdurchsatz möglich ist. Der Filtratablauf wird, wie bei der Drucknuttsche auch, komplett befüllt um Totvolumina zu vermeiden. Außerdem wird eine Sättigung

des Porensystems der Glasfritte und der Membran erreicht. Der Durchströmbehälter wird mit ca. 150 ml Mutterlösung befüllt und ein Durchströmdruck von 0,25 bar eingestellt. Die Probe wird resuspendiert und in den Kuchenbildungsring eingefüllt. Der Presstempel wird mit 0,5 bar auf den Suspensionsspiegel aufgesetzt und das obere Schlauchsystem mit Mutterlösung befüllt. Der Versuch wird mit der gewünschten Pressstufe gestartet, welche für eine vorgegebene Zeit gehalten wird. Im Idealfall sollte sich die Kuchenhöhe nach einer gewissen Zeit nicht mehr verändern. Der dann konsolidierte Kuchen wird mit 2 g (entspricht hier auch ca. 2ml) Mutterlösung durchströmt und anschließend ausgebaut. Proben von der Mitte und dem Rand werden für die Bestimmung der Partikelgrößenverteilung entnommen und der restliche Kuchen entsprechend den Drucknutschenversuchen getrocknet (siehe 4.4.4).

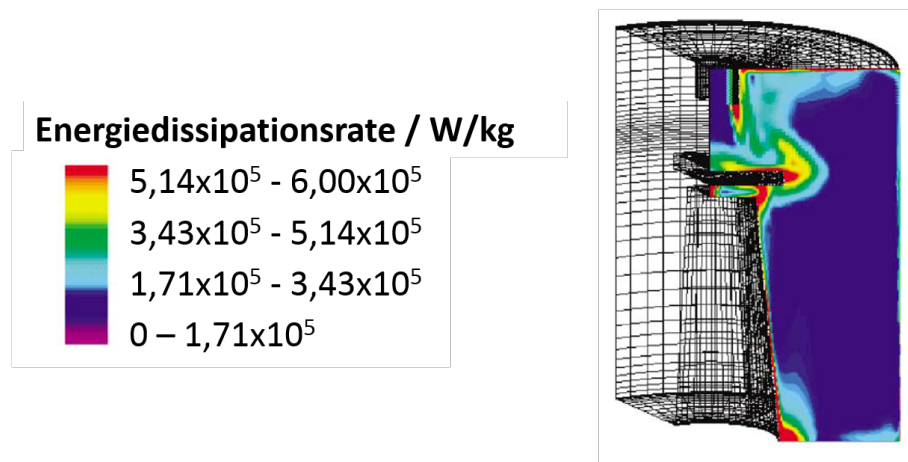
4.5 Zerkleinerung der Partikel unter Scherbelastung

4.5.1 Übertragung auf Zentrifugen

Unter anderem Mannweiler und Hoare [62] beschrieben für aggregierte Strukturen, dass ein Bruch dieser vor allem im Einlauf von Zentrifugen auftritt. Ebenfalls nachgewiesen wurde dies für Mehrkammerzentrifugen von Boychyn et al. [12]. Der Bruch des Feed-Materials in einer Zentrifuge führt dazu, dass der Feinanteil steigt. Wenn dieser steigende Feinanteil durch Bruch im Einlauf von Zentrifugen nicht berücksichtigt wird, ist die Klärung des Produkts nicht mehr gewährleistet [102]. Aufschluss über Kristallbruch im Einlauf von Zentrifugen geben direkte Versuche in einer Pilotanlage. Allerdings braucht es dazu sehr große Mengen an Versuchsprodukt und es ist schwierig zwischen Partikelbruch und Partikelseparationseffekten zu unterscheiden. Eine andere Möglichkeit Brucheffekte vorherzusagen ist die Scherung in einer Scherapparatur wie sie in 4.5.3 genauer beschrieben wird. In dieser werden die maximalen Energiedissipationen im Einlauf einer Zentrifuge nachgebildet. Abbildung 4.9 zeigt die über CFD Simulationen von Boychyn et al. [13] berechneten Energiedissipationen der Scherzelle nach Levy et al. [57] im Vergleich zu einer Mehrkammerzentrifuge.



(a)



(b)

Abbildung 4.9: CFD Simulationen der Energiedissipationsraten der Scherzelle und Zentrifuge im Vergleich [13]

4.5.2 Strömungsbeschreibung in der Scherzelle

Einfache Berechnungsgleichungen nach Lee et al. [55] bilden eine Grundlage zur Einschätzung der auf die Kristalle wirkenden Energien. Im Folgenden sind dies kurz beschrieben. Die Reynoldszahl in der Scherzelle Re_x berechnet sich mit der folgenden Gleichung zu:

$$Re_x = \frac{vl}{\nu} \quad (4.22)$$

wobei ν die kinematische Viskosität der kontinuierlichen Phase des Fluids ist, v ist die maximale tangentielle Geschwindigkeit am Rand der Scheibe und l der Abstand von der Kante der Platte. Es gilt weiterhin folgende Gleichung:

$$\tau_{max} = 0,332\eta v_\infty \left[\frac{v_\infty}{\nu l} \right]^{1/2} \quad (4.23)$$

mit der dynamischen Viskosität η , der Umfangsgeschwindigkeit v und dem Abstand l vom maximalen Radius der Scheibe. Das Drehmoment ergibt sich durch Integration der Scherbeanspruchung über die Plattenfläche zu:

$$T = 0,664\eta\pi v_\infty \left[\frac{v_\infty}{\nu} \right]^{1/2} \left[\frac{16r^{5/2}}{15} \right] \quad (4.24)$$

Aus der Drehzahl f_{rot} und dem Drehmoment T lässt sich die Leistung P und daraus die Energiedissipationsrate ϵ berechnen:

$$P = 2\pi f_{rot} T \quad (4.25)$$

$$\epsilon = \frac{P}{\rho V} \quad (4.26)$$

Dabei ist V das beanspruchte Volumen. Es lässt sich auch die Annahme treffen, dass die maximale Energiedissipation in der die Scherscheibe umgebenden Grenzschicht auftritt. Das Grenzschichtvolumen V_{Grenz} lässt sich folgendermaßen berechnen:

$$V_{Grenz} = 2\pi \cdot \int_0^{\delta_{max}} r^2 d\delta = 2\pi \cdot \left[\frac{8}{3} \cdot \left(\frac{\nu}{v_\infty} \right)^{1/2} \cdot r^{5/2} \right] \quad (4.27)$$

In der Scherzelle an sich liegt eine turbulente Strömung vor, welche durch Wirbelbildung geprägt ist. Infolge von Instabilitäten in der Strömung entstehen fortlaufend kleinere Wirbel bis schließlich eine Umwandlung in innere Energie stattfindet [90]. Die Wirbelgröße

kann über die sogenannte Kolmogorov Längenskala charakterisiert werden. Diese gibt die Größe der kleinsten Wirbel an. Sind die Partikel kleiner als die Wirbel werden sie von diesen eingefangen und nicht wesentlich zerkleinert. Kleinere Wirbel führen zu einer Ab-
 rasion der Partikel an der Oberfläche. Zwei charakteristische Längen lassen sich in der Scherzelle berechnen. Erstens die minimale Kolmogorov Länge $\eta_{k,min}$ über die maximale Energiedissipation ϵ_{max} im Grenzbereich der Scherscheibe, zweitens die mittlere Kolmogorov Länge η_k in der gesamten Scherzelle aus der mittleren Energiedissipation ϵ_0 . Folgende Formel findet zur Berechnung Anwendung:

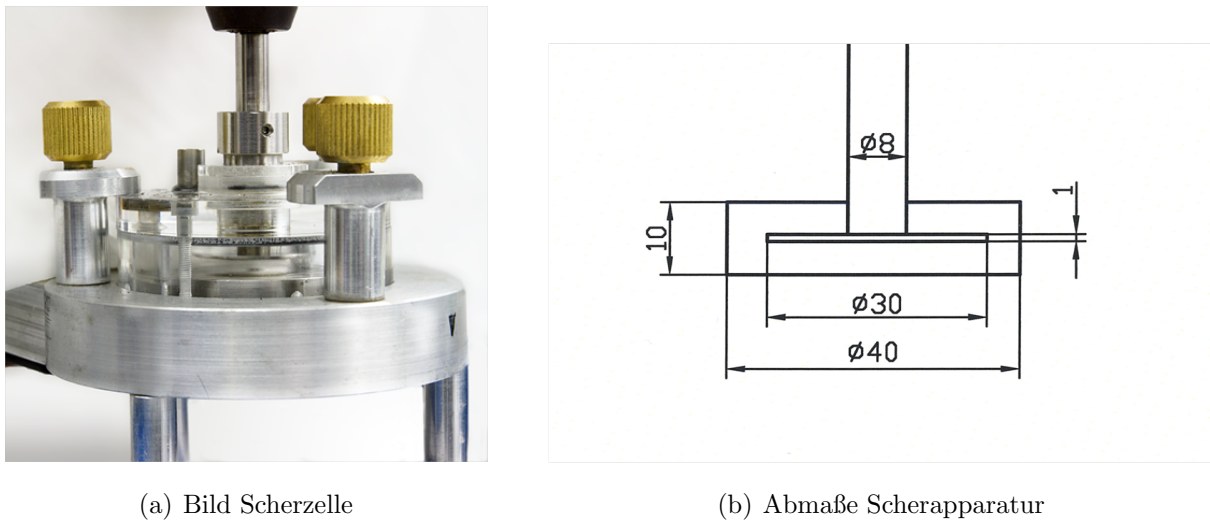
$$\eta_k = \left(\frac{\nu^3}{\epsilon_{(0/max)}} \right)^{\frac{1}{4}} \quad (4.28)$$

4.5.3 Apparativer Aufbau und Versuchsdurchführung

Die verwendete Scherapparatur wurde zuerst beschrieben in Levy et al. 1999 [57]. Levy verwendete die Apparatur zur Scherung von Plasmiden. Weitere Arbeiten nutzten die Scherzelle um die Schersensivität von unterschiedlichen biologischen Stoffen, wie Proteinpräzipitaten ([111]), zu untersuchen.

Die geometrischen Abmaße des Inneren der Zelle und ein Bild dieser finden sich in Abbildung 4.10. Insgesamt hat die Zelle mit den angegebenen geometrischen Abmaßen ein Volumen von 12,57 ml. Die Kammer der Zelle ist aus Plexiglas gefertigt um visuell überprüfen zu können, ob die Zelle vollständig luftfrei befüllt ist. Luftblasen würden hier zu einer sofortigen Ausbildung eines stabilen Proteinschaums bei Scherung führen. Außerdem befindet sich jeweils ein Auslass am Deckel und am Boden der Zelle. Durch diese Konstruktion wird das Zu- und Abführen der Suspension realisiert. Angetrieben wird die Scherscheibe durch einen stufenlos einstellbaren Fräsmotor der Firma CNC-Plus (Selmsdorf). Dieser Motor kann Drehzahlen von 3500 (Stufe 1) bis 30 000 (Stufe 6) Upm und eine schnelle Beschleunigung realisieren.

Für die Versuche wird die Scherzelle zunächst mit der zu beanspruchenden Kristallsuspension durch den oberen Einlauf befüllt. Bei der Befüllung wird die Zelle schräg gehalten um ein entweichen der Luft aus der Scherzelle gewährleisten zu können. Nach der Füllung wird die Zelle zeitnah in eine waagerechte Position gebracht und die Scherung bei der gewünschten Drehzahl gestartet. Als Scherdauer gilt immer die Zeit vom an bis zum abschalten des Motors. Eine starke Erwärmung der Kristallsuspension tritt beim Scheren der Kristallsuspension auf. Um den Einfluss der Erwärmung zu minimieren, da hierbei das Löslichkeitsgleichgewicht und damit die Größe und Struktur der Kristalle beeinflusst



(a) Bild Scherzelle

(b) Abmaße Scherapparatur

Abbildung 4.10: Scherapparatur

werden kann, wird maximal über eine Zeitdauer von 10 s geschert. Anschließend wird eine Abkühlpause von ca. 20 min eingehalten. Während der gesamten Versuchsdauer wird die Temperatur über ein Pt-Thermometer online erfasst. Außerdem wird nach jedem Versuch eine eventuelle Veränderung des Feststoffgehalts durch sofortige Zentrifugation der Suspension bestimmt. Eine Änderung des Feststoffgehalts würde auf eine Veränderung des Löslichkeitsgleichgewichts hindeuten. Eine Abnahme des Feststoffgehalts wäre gleichbedeutend mit einer Zunahme der Lysozymkonzentration im Überstand.

4.5.4 Optische Sedimentationsanalyse

Sedimentationsbeschreibung

Bestimmend für die Sedimentation an sich ist die Dichtedifferenz zwischen Partikel und umgebenden Fluid. Ist die Dichte des Partikels größer als die des umgebenen Fluids sedimentiert das Partikel. Für die Geschwindigkeit der Sedimentation bestimmend ist zum einen die Widerstandskraft F_W , zum anderen die durch die Eigenschaften des Partikels hervorgerufenen Gewicht- und Auftriebskräfte F_g bzw. F_{ZF} und F_A . Die wirkenden Kräfte im Erdschwere- und Zentrifugalfeld sind in Abbildung 4.11 dargestellt.

Aus dem Gleichgewicht dieser Kräfte ergibt sich für eine Stokesche Umströmung die Sinkgeschwindigkeit eines Partikels im Erdschwerefeld zu:

$$3\pi\eta x w_{p, sed} = \frac{\pi x^3 (\rho_{FS} - \rho_f)}{6} \cdot g \quad (4.29)$$

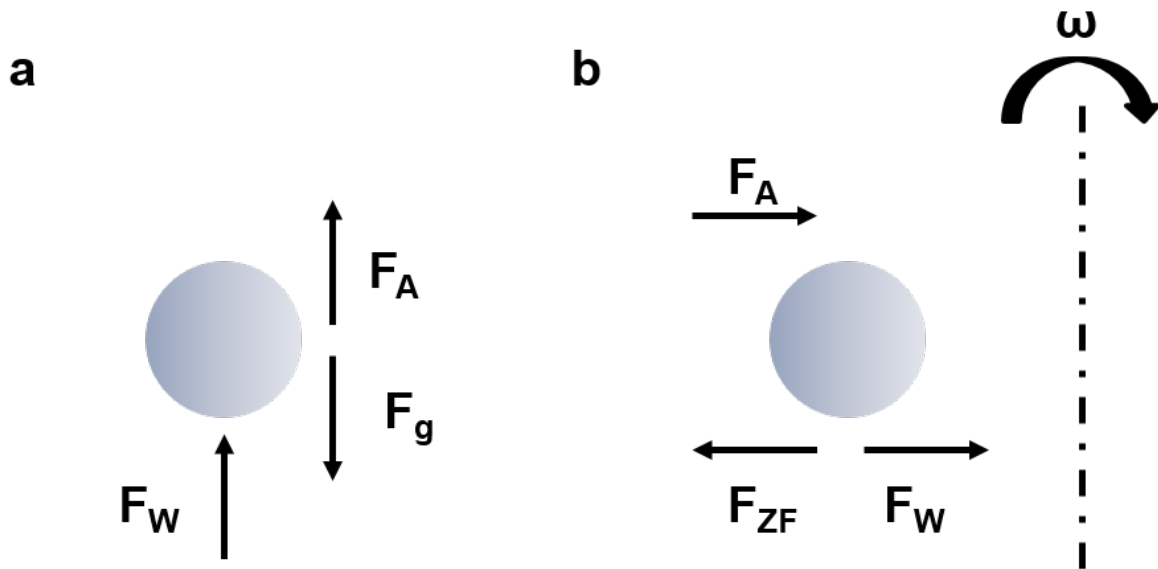


Abbildung 4.11: Wirkende Kräfte im Erdschwere- (a) und Zentrifugalfeld (b)

und hieraus:

$$w_{p, sed} = \frac{x^2 \cdot (\rho_{FS} - \rho_f)}{18 \cdot \eta} \cdot g \quad (4.30)$$

mit der Partikelgröße x , der Sinkgeschwindigkeit des Partikels $w_{p, sed}$, der Dichtedifferenz zwischen Fluid und Partikel $\rho_{FS} - \rho_f$, der dynamischen Viskosität der Flüssigkeit η und dem Erdschwerefeld g .

Für eine Stokesche Umströmung muss die Partikelreynoldszahl unter 1 sein, d.h. eine sogenannte schleichende Umströmung vorliegen. Dazu sind auch Randeffekte durch eine Gefäßwand oder eine Beeinflussung von umgebenden Partikeln auszuschließen. Die Partikelreynoldszahl errechnet sich zu:

$$Re_P = \frac{x \cdot \rho_f \cdot w_{p, sed}}{\eta} \quad (4.31)$$

Wenn allerdings die Partikelkonzentration eine vom Stoffsystem abhängige Volumenkonzentration übersteigt gilt die Berechnung der Sinkgeschwindigkeit nach Stokes nicht mehr. Hier lässt sich beispielsweise der Ansatz nach Richardson und Zaki [80] anwenden:

$$w_{sed} = w_{p, sed} \cdot (1 - c_v)^{\alpha(Re)} \quad (4.32)$$

mit der Trennspiegelsinkgeschwindigkeit w_{sed} bzw. w_T und der Volumenkonzentration des Partikelsystems c_v . $\alpha(Re)$ ist ein vom Produktsystem abhängiger Faktor der experimen-

tell zu bestimmender ist. Für langsame, d.h. im Stokes-Bereich sedimentierende Partikel, ergibt sich der Exponent $\alpha(Re)$ zu 4,65.

Bei der Betrachtung der Sedimentation im Zentrifugalfeld kann die Erdbeschleunigung bei der Stokschen Betrachtung durch die Zentrifugalbeschleunigung ersetzt werden. Das Erdschwerefeld bzw. die durch das Erdschwerefeld erzeugte Gewichtskraft kann gegenüber der Zentrifugalkraft als vernachlässigbar angesehen werden. Damit ergibt sich für die Sinkgeschwindigkeit eines Partikels im Zentrifugalfeld:

$$w_{p, \text{sed}, \text{zentrifugal}} = \frac{x^2 \cdot (\rho_{FS} - \rho_f)}{18 \cdot \eta} \cdot g \cdot G \quad (4.33)$$

mit dem Zusammenhang aus Erdbeschleunigung und Zentrifugalbeschleunigung

$$G = \frac{r \cdot \omega^2}{g} \quad (4.34)$$

mit dem Radius r auf dem sich das Partikel befindet und der Winkelgeschwindigkeit ω

$$\omega = \frac{2 \cdot \pi \cdot f_{\text{rot}}}{60} \quad (4.35)$$

Eine Bedingung für die Gültigkeit der Stokschen Gleichung für das Zentrifugalfeld ist außerdem, dass sich die Partikel/das Partikelsystem durch Scherkräfte nicht verändern.

LUMiFuge und LUMiReader

Die optische Sedimentationsanalyse erlaubt die Ermittlung von Trennspiegelsinkgeschwindigkeiten zur Beurteilung des Sedimentationsverhaltens. Dabei wird eine Messküvette mit einer Lichtquelle durchstrahlt und das transmittierte Licht über einen CCD-Sensor aufgenommen (siehe Abbildung 4.12).

Die gewonnenen Daten ergeben örtlich und zeitlich aufgelöste Transmissionsdaten aus welchen das Entmischungsverhalten und die Geschwindigkeit des Trennspiegels ermittelt werden können. Problematisch bei der optischen Auswertung ist allerdings die Übergeichtung von feinen Partikeln bei polydispersen Produkten. Aus dem folgenden Gesetz von Lambert-Beer:

$$c = -\lg\left(\frac{I}{I_0}\right) \cdot \frac{1}{\xi D} \quad (4.36)$$

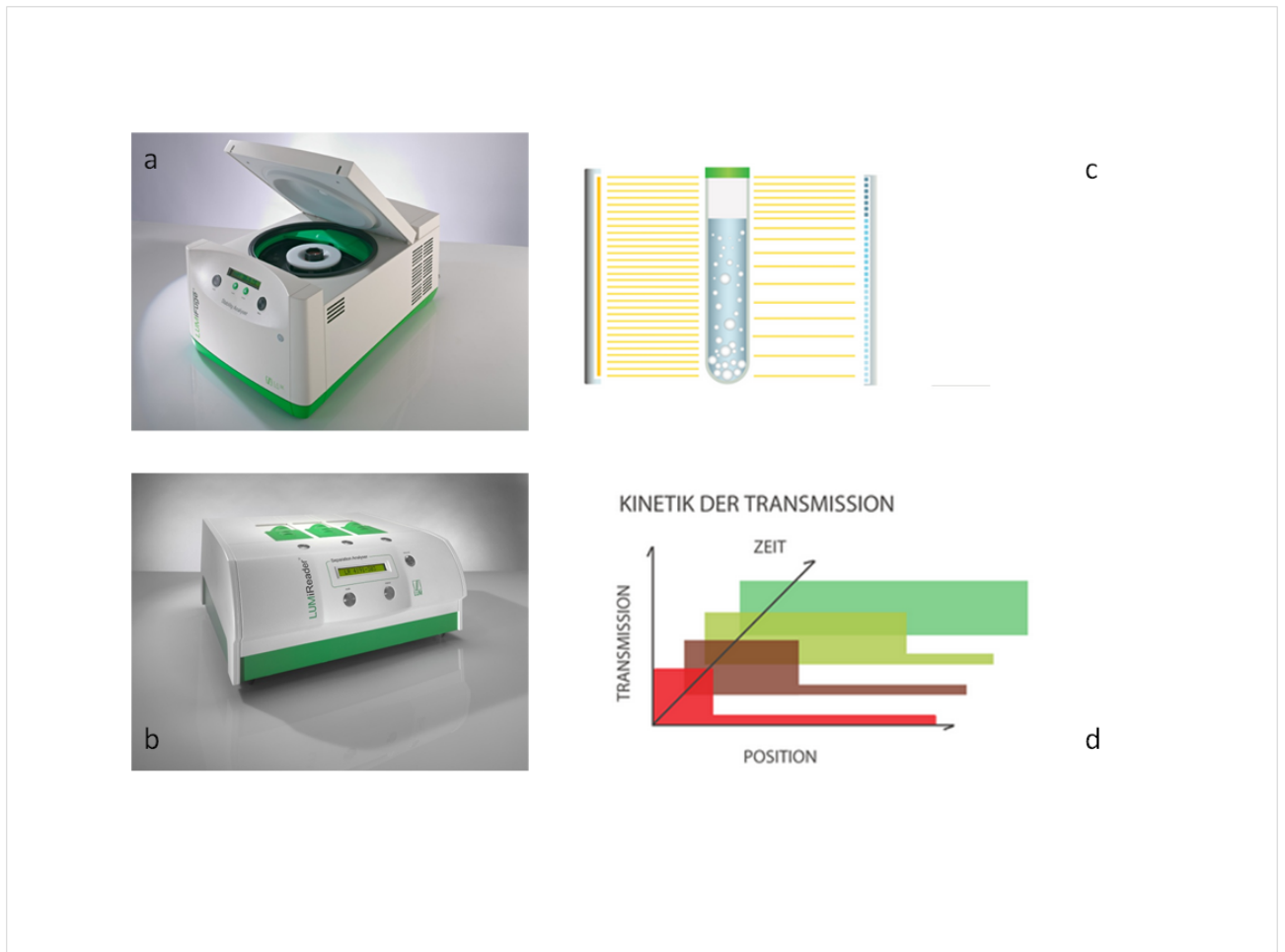


Abbildung 4.12: LUMiFuge (a) und LUMiReader (b), Messprinzip LUM: Durchstrahlung einer Küvette mit Licht und Ermittlung der Konzentration über der Küvettenhöhe (c), Ausgabe der Transmission über Position und Zeit mit farblicher Kodierung (d)

ergibt sich bei gleicher Konzentration c eine höhere Abschwächung $\frac{I}{I_0}$ des Lichts. Dabei ist ξ der Extinktionskoeffizient und D der Durchmesser der Küvette.

Bei der Sedimentationsanalyse mit dem LUMiReader (im Erdscherefeld) und der LUMi-Fuge (im Zentrifugalfeld) lassen sich Transmissionsprofile im Abstand von 1 s aufnehmen. Die Analyse wird abhängig von der Partikelgröße und der unter anderem dadurch beeinflussten Sedimentationsgeschwindigkeit im Erd- oder Zentrifugalfeld durchgeführt. Dabei werden vorzugsweise rechteckige Küvetten mit einem Länge zu Breite Verhältnis von 10 mm zu 2 mm verwendet, da die Trennspiegel deutlicher sichtbar sind als bei den größeren Küvetten mit einem Länge zu Breite Verhältnis von 10 mm zu 8 mm. Laut Bickert [9] sind bei den untersuchten Partikelgrößen Randeffekte vernachlässigbar, dennoch wurden zur Überprüfung auch 10 x 8 mm Küvetten ausgetestet. Die detektierten Sedimentationsgeschwindigkeiten beider Küvettentypen befanden sich in einem ähnlichen Bereich. Die Transmissionsprofile über der Zeit werden farbkodiert ausgegeben. Dabei zeigen grüne Profile den Beginn der Sedimentation an, rote das Ende. Gegen Ende zeigt sich eine Verlangsamung der Sedimentation durch eine Sedimentkonsolidierung.

Je nach Partikelkonzentration, -größenverteilung und Tendenz zur Flockenbildung (ζ – *Potential*) ergibt sich ein andere Bild der Sedimentationsprofile. Bei Flockenbildung können sich sehr unregelmäßig geformte Transmissionsprofile ergeben, welche eine Mitteilung/Anpassung der Profile zur weiteren Auswertung erfordern. Die Volumenkonzentration kann die Trennspiegelsinkgeschwindigkeit auch wesentlich beeinflussen. Bickert [9] unterteilte die Konzentrationszonen wie folgt:

- ungehinderte Sedimentation nach Stokes
- Clusterbildung und Überhöhung der Sedimentationsgeschwindigkeit
- Schwarmsedimentation: weitere Überhöhung der Sedimentationsgeschwindigkeit und Klassierung
- Zonensedimentation: gegenseitige Behinderung von Partikel; Sinkgeschwindigkeit $<$ Stokes

In Abbildung 4.13 wird dies illustriert.

Über die aufgenommenen Transmission über der Küvettenhöhe lässt sich ermitteln welches Sedimentationsverhalten vorliegt. Ein scharfer Trennspiegel deutet auf monodisperse Partikel oder Zonensedimentation hin. Ein zunehmender Übergangsbereich zwischen hohen und niedrigen Transmissionswerten deutet an, dass die Partikel mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten sedimentieren. In diesem Fall lässt sich bei niedrigen Transmissionschwellenwerten die Sedimentation der größeren Partikel beobachten und bei hohen die

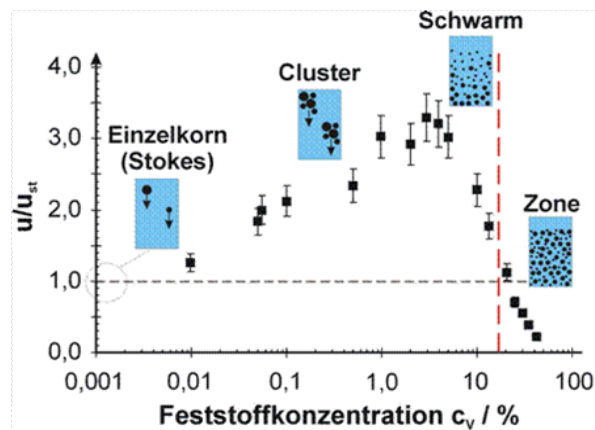


Abbildung 4.13: Sedimentationsverhalten über Partikelkonzentration [9]

Wanderung der feinen Partikel. Weitere aus den Profilen ermittelte Größen sind die Sedimenthöhe und, bei bekannter Feststoffkonzentration, die Porosität und die Klarheit des Überstandes [101].

4.6 Übertragung der Ergebnisse auf großtechnische Prozesse

4.6.1 Dynamische Cross-Flow Filtration

Das **Prinzip der dynamischen Filtration** beruht auf der Überströmung des Filtermediums mit der zu filtrierenden Suspension. Dabei strömt das Filtrat und gegebenenfalls kleinere Partikel als die Porengröße des Filtermediums durch das Filtermedium hindurch und größere Partikel werden mit dem Suspensionsstrom mit getragen. Gut geeignet ist diese Art der Filtration für Systeme die in der Kuchenfiltration Kuchen mit sehr hohen Widerständen ausbilden oder auch überhaupt nicht filtrierbar sind. Im Idealfall bildet sich kein Filterkuchen aus. Allerdings bildet sich im Realfall häufig eine Deckschicht aus, die strömungstechnisch bedingt aus den kleinsten Partikeln der Suspension besteht und einen dementsprechend höheren Widerstand gegen den Filtratstrom ausbildet. Abbildung 4.14 zeigt die prinzipiell wirkenden Kräfte auf ein Partikel während der Querstromfiltration.

Bei der vereinfachten Betrachtung einer durch die Strömung verursachten Querkraft und durch den Filtratstrom verursachten Widerstandskraft strömt das Partikel bei einem Verhältnis dieser beiden Kräfte über eins über die Membran hinweg. Bei kleinen Partikeln ist zumeist das Verhältnis von Querkraft zu Widerstandskraft kleiner als eins. Folglich ist die Ablagerungswahrscheinlichkeit erhöht und eine Deckschicht aus feinen Partikeln kann

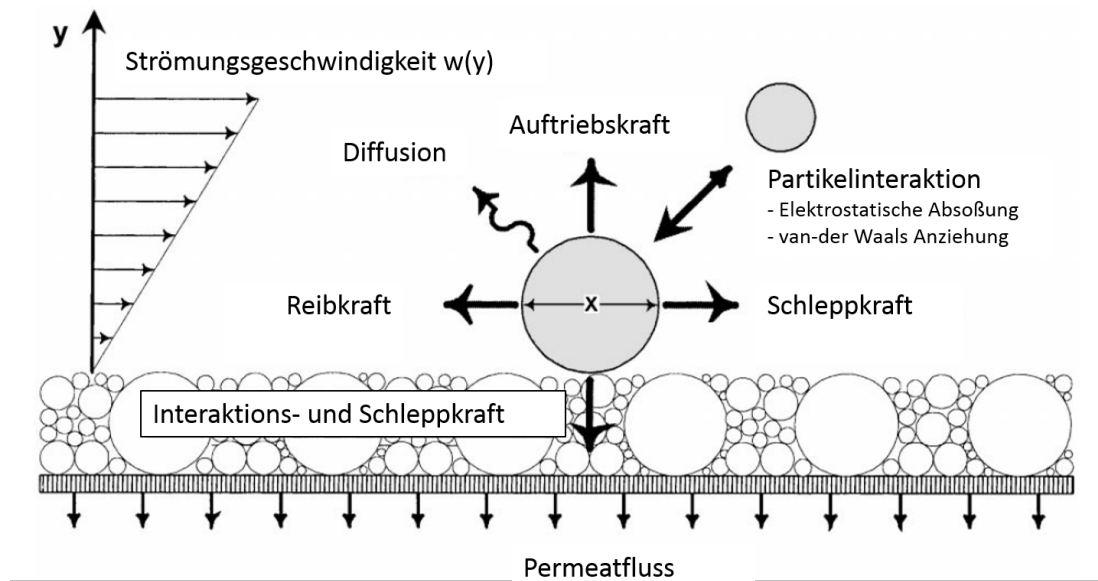


Abbildung 4.14: Wirkende Kräfte während der dynamischen Querstromfiltration [11]

sich ausbilden. Hierfür kann eine sogenannte Grenzkorngröße x_g berechnet werden, die die Filtriergeschwindigkeit w_F mit dem Schergefälle $\dot{\gamma}_W$ (dw/dy an der Oberfläche $y=0$) ins Verhältnis setzt.

$$x_g \propto \frac{w_F}{\dot{\gamma}_W} \quad (4.37)$$

Die Oberflächenrauigkeit und Kornform geht in die Proportionalitätskonstante ein. [106]

Die notwendige Scherströmung zur Erzeugung der Querkraft kann auf unterschiedliche Weise erzeugt werden. Die gängigste Methode ist die Strömungsführung in Überströmmmodulen [81]. Die hier zur Anwendung kommende Methode der Erzeugung von Scherkräften ist eine Rotor-Stator-Kombination. Den Stator bildet hierbei die Membran, den Rotor ein Rührer direkt über der Membran.

Trotz des Rührers bildet sich jedoch häufig eine Deckschicht aus, d.h. die Filtration bzw. der Filtratfluss ist deckschichtdominiert (siehe Abbildung 4.15). Bei der deckschichtdominierten Filtration stellt sich für gewöhnlich nach der Anfangsphase ein quasistationärer Zustand ein, welcher sich in einem gleichbleibenden Filtratstrom ausprägt. Dieser Zustand rührt von einem Gleichgewicht des Abtransports von Partikeln aus der Deckschicht und Wiederanlagerung von Partikeln an dieser her.

Grundsätzliche Abhängigkeiten des Prozessergebnisses sind gegeben durch die:

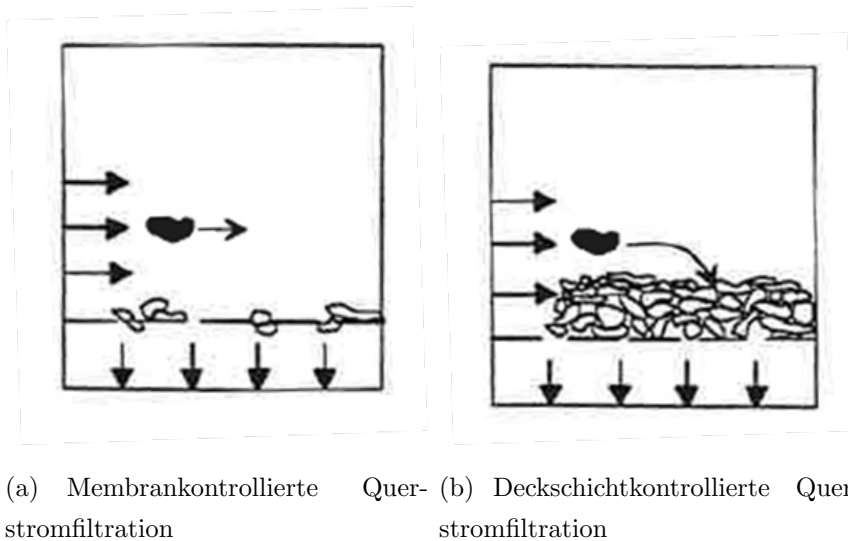


Abbildung 4.15: Ablagerung von Partikel nach Arbeitsweisen ([52])

- Deckschichtbeanspruchung (Rotordrehzahl, Querstromgeschwindigkeit, Schergeschwindigkeit oder Wandschubspannung)
- Filtrationsdruckdifferenz
- Feststoffkonzentration
- Geometrie- und Strömungskennzahlen

[53]. Aufgrund der Vielzahl an Einflussgrößen und der Dynamik der Strömung während der Eindickung wird auf eine weitergehende Berechnung/Messung dieser Größen verzichtet. Hauptproblematik bei der Berechnung der in das System eingetragenen Energie sind:

- die sich ausbildende Deckschicht → Veränderung der geometrischen Verhältnisse während des Prozesses
- die sich ändernde Feststoffkonzentration → Veränderung der Rheologie des Systems

Eine überschlägige Berechnung der Strömungsgeschwindigkeiten der Kernströmung v_{ks} am äußeren Rand der jeweiligen Rührorgane ergibt sich aus folgender Gleichung:

$$v_{ks} = k \cdot v_i \quad (4.38)$$

mit der Rührergeschwindigkeit am äußeren Radius v_i, a :

$$v_{i,a} = \pi d_a f_{rot} \quad (4.39)$$

Tabelle 4.5: Berechnete Kernströmungsgeschwindigkeit in der Scherzelle und der Dynotest

| | k | Drehzahl / Upm | v_i / m/s | v_{ks} / m/s |
|------------|----------|----------------|-------------|----------------|
| Scherzelle | 0,34 | 9000 | 14,14 | 4,81 |
| | | 14000 | 21,99 | 7,48 |
| | | 30000 | 47,12 | 16,02 |
| Dynotest | 0,83 | 600 | 4,21 | 3,49 |
| | | 900 | 6,31 | 5,24 |
| | | 1200 | 8,24 | 6,99 |

mit der Drehzahl f_{rot} . Der Faktor k ist durch die Geometrie des Rührorgans gegeben. Für die hier verwendete Anlage zur dynamischen Querstromfiltration der Firma Bokela, Karlsruhe (im Folgenden Dynotest genannt) wird ein Wert aus der Literatur ([53]) für einen Schrägblattrührer mit 4 um 45° verdrehten Blättern zum Vergleich herangezogen. Hierbei kommen, bis auf die Scherung in der Scherzelle bei 30 000 Upm, relativ ähnliche Werte für die Kernströmungsgeschwindigkeit heraus (siehe Tabelle 4.5). Es können allerdings nur Tendenzen miteinander verglichen werden, da die Geometrie des Rührers doch einen wesentlichen Einfluss auf die Strömungsform hat. Ein wesentlicher Unterschied zwischen Scherzelle und Dynotest besteht darin, dass in der Scherzelle Kristallzerstörung durch Kontakt mit dem Rührorgan zum Großteil ausgeschlossen werden kann im Gegensatz zur Dynotest. Die für gewöhnlich längere Beanspruchungszeit während der dynamischen Filtration spielt sicherlich eine weitere Rolle.

Aufbau der Anlage

Das Prozessfließbild der Versuche mit der Dynotest von Bokela ist dargestellt in Abbildung 4.16. Abbildung 4.16 (a) zeigt hier das Prozessfließbild der durchgeführten Versuche. Der Vorlagebehälter beinhaltet 5 l Kristallsuspension.

Diese wird bei Versuchsbeginn mit einer Membranpumpe (DDI von Grundfos Alldos) in die Cross-Flow Zelle gepumpt. Die geometrischen Abmaße der Zelle sind in Abbildung 4.16 (b) dargestellt. Der Rotor ist ein Schrägblattrührer mit 16 Blättern die im 45° Winkel gebogen sind und sich in der Rotationsrichtung abwechseln. Die Zelle fasst 360 ml an Suspension und die Filterfläche beträgt 130 cm^2 . Für alle Versuche wurde eine hydrophile

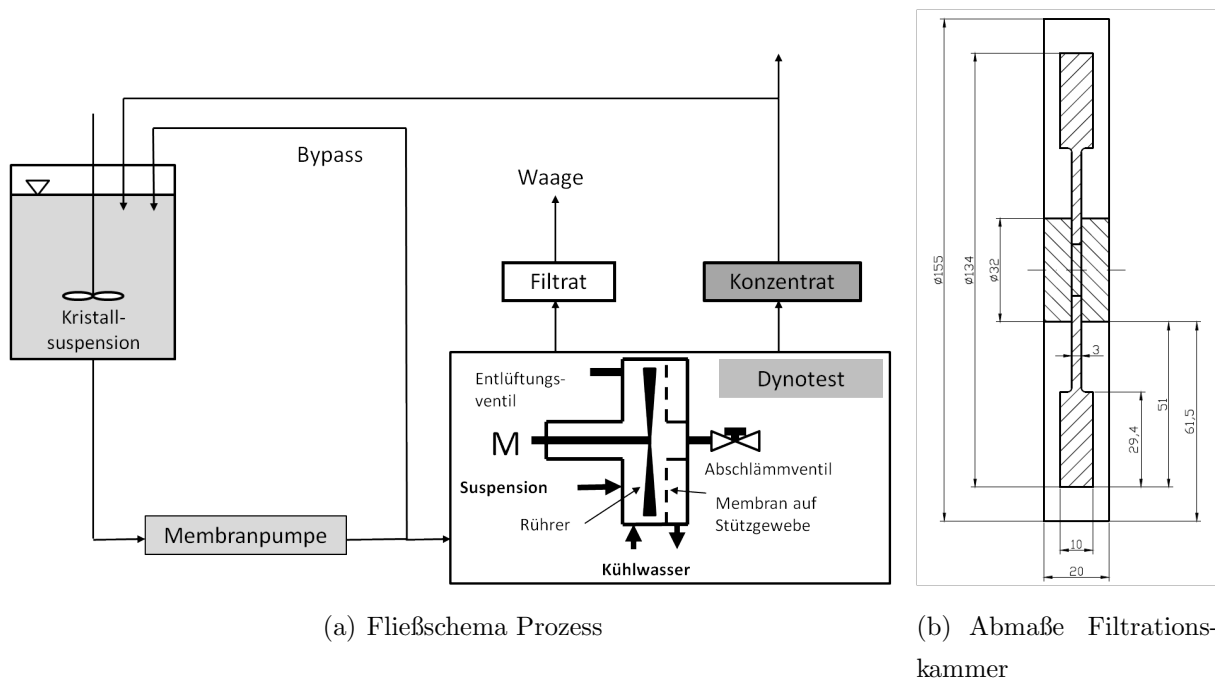


Abbildung 4.16: Prozessfließbild der Dynotest und Abmaße der Filtrationskammer

Polyethersulfon Membran mit einem mittleren Porenradius von $0,2 \mu\text{m}$ verwendet. Die Membran ist verbunden mit einem Stützgewebe aus Polyolefinvlies und wurde von Bokela bezogen. Während der Versuche wurde der Filtratfluss mittels einer Waage detektiert und Proben des Filtrats und des Konzentrats genommen.

Versuchsdurchführung

Zwei Arten von Versuchen wurden durchgeführt. Zum einen wurde bei Variation der Versuchsparameter, wie Drehzahl des Rührers und Vorlagevolumen, eine Lysozymkristallsuspension aus isometrischen Kristallen eingedickt. Eine weitere Versuchsreihe hatte zum Ziel die Verunreinigung BSA aus einer Lysozymkristallaggregatsuspension auszuwaschen. Dies geschah nach vorheriger Eindickung der Kristallsuspension, welche zum Zweck hatte die erforderliche Waschwassermenge zu minimieren.

Eindickung

Vor dem Start der Filtration muss die Filterzelle zusammengesetzt werden. Dazu wird die Membran auf einer Lochscheibe und einem groben Stützsieb zunächst fixiert. Anschließend wird die Zirkulation des Kühlwassers gestartet um die Filterzelle und den Doppelmantelvorlagebehälter während des Experiments zu temperieren. Die im Vorlagebehälter befindliche Kristallsuspension wird während der Versuchsdauer mit einem Turbinenrühr-

rer bei 300 Upm gerührt um Sedimentationsprozesse auszuschließen. Die Membranpumpe wird auf einen Volumenstrom von 20 l/h eingestellt um die Kristallsuspension in die Filterzelle zu fördern. Zunächst werden alle Schläuche und Rohrleitungen des Systems, auch das Bypass-System, mit Suspension befüllt. In der Filterzelle wird anschließend die Rührergeschwindigkeit auf 300 Upm gesetzt um eine Sedimentation der Partikel in der Zelle zu unterbinden. Nach einer ersten Probenahme für die Feststoff und Partikelgrößenanalyse wird die Geschwindigkeit des Rührers entsprechend der gewünschten Versuchsbedingungen erhöht. Die Filtration wurde bei 600, 900 und 1200 Upm durchgeführt und ein Vergleich des Kornbruchs und der Filtration angestellt. Dabei ist zu berücksichtigen, dass eine lineare Drehzahlerhöhung aufgrund der Überlagerung oder des Wechsels hydrodynamischer Effekte zu einer nichtlinearen Änderung des Filtrationsergebnisses führen kann. Für alle Experimente betrug der Filtrationsdruck ca. 2,5 bar, Schwankungen wurden mittels Bypassventil geregelt. Aufgrund von Druckschwankungen im Laufe der Experimente musste der Druck kontinuierlich nachjustiert werden. Die Probenahme erfolgte aus dem Vorlagebehälter und der Filtrationskammer (aus dem Abschlammventil im Zentrum) über der Versuchsdauer. Alle Versuche wurden dreifach durchgeführt und bei Erreichen derselben Feststoffkonzentration in der Filtrationskammer gestoppt. Nach jedem Versuch wurde die Filtrationskammer demontiert und die Membran ausgebaut, getrocknet und gewogen um die Deckschichtmasse zu bestimmen.

Waschung und Detektion der Verunreinigungskonzentration mittels Photometrie

Vor der Waschung wird die Lysozymkristallsuspension in der Dynotest eingedickt wie vorhergehend beschrieben. Der Vorlagebehälter und der Bypass werden mit vollentsalztem Wasser gereinigt und mit Waschlösung befüllt. Die Waschlösung ist, was den Salz- und Lysozymgehalt betrifft, der Mutterlösung der Kristallisation gleich, allerdings enthält sie kein BSA. Vor jedem Versuch wird zur Überprüfung der Lysozymgehalt der Waschlösung mittels Photometrie gemessen. Da die BSA-Konzentration bekannt ist und sich die gemessene Absorption additiv verhält, kann die Lysozymkonzentration in der Mutterlösung bestimmt werden. Das Photometer (Jenway, Genova Seria 63) bestrahlt die Probe mit monochromatischem Licht und je nach Proteinart und -konzentration wird ein spezifischer Teil des Lichts absorbiert. Proteine haben ein Absorptionsmaximum bei einer Wellenlänge von 280 nm und die Intensität der Absorption unterscheidet sich je nach Protein. Lysozym absorbiert Licht bei gleicher Konzentration stärker als BSA. Um die Proteinkonzentration schließlich bestimmen zu können werden Kalibrierkurven erstellt

indem Verdünnungsreihen erstellt und vermessen werden. Im linearen Bereich der Kalibrierkurve können schließlich Proteinkonzentrationen ermittelt werden.

Für die Ermittlung von Waschkurven bzw. die Bestimmung der BSA-Konzentration im Filtrat wird nun folgendermaßen vorgegangen:

1. Das Waschfiltrat wird bis in den linearen Absorptionsbereich verdünnt und vermessen.
2. Der aus Messungen der Mutterlösung bekannte Absorptionsanteil von Lysozym wird abgezogen und die BSA-Konzentration aus der Restabsorption berechnet.

Alle Daten sind dreifachbestimmt.

Der Volumenstrom wird, äquivalent zum Suspensionsstrom bei der Eindickung, auf 20 l/h gesetzt. Da die Waschlösung ebenso wie das vollentsalzte Wasser transparent erscheinen ist es schwierig den Moment zu bestimmen, an dem die Waschlösung das entsalzte Wasser verdrängt hat. Daher wird sicherheitshalber ein halber Liter verworfen. Die Rührgeschwindigkeit wird für die Waschung auf 1200 Upm eingestellt und der Zufluss in die Zelle und das Filtratventil werden simultan geöffnet. Proben des Waschfiltrates werden in konstanten Zeitschritten entnommen und anschließend wird die Absorption dieser bestimmt. Die anschließende Berechnung der Konzentrationen ist in Kapitel 4.7 dargestellt.

4.6.2 Vertikalzentrifuge

Prinzip Filterzentrifuge

Die Abtrennung in einer Filterzentrifuge beruht zum einen auf der durch das überlagerte Zentrifugalfeld beschleunigte Sedimentation von Partikeln, zum anderen auf der Rückhaltung von Partikeln durch ein Filtermedium. Dabei kann die gegenüber dem Erdschwerefeld beschleunigte Sedimentation durch die Schleudertziffer C charakterisiert werden.

$$C = \frac{2 \cdot D_{tr} \cdot \pi^2 \cdot f_{rot}^2}{g} \quad (4.40)$$

mit der Drehzahl n , dem Trommeldurchmesser D_{tr} und der Erdbeschleunigung g .

Bei filtrierenden Zentrifugen bildet der Feststoff einen Filterkuchen auf dem Filtermedium und die flüssige Phase durchdringt das Medium. Durch ein Gleichgewicht zwischen Kapillarkräften und Zentrifugalkräften, welche sich durch die Drehzahl beeinflussen lassen, kann die Sättigung des Kuchens beeinflusst werden [56]. Die Entfeuchtung betreffend sind unterschiedliche Arten von Flüssigkeitsbindungen zu unterscheiden [69].

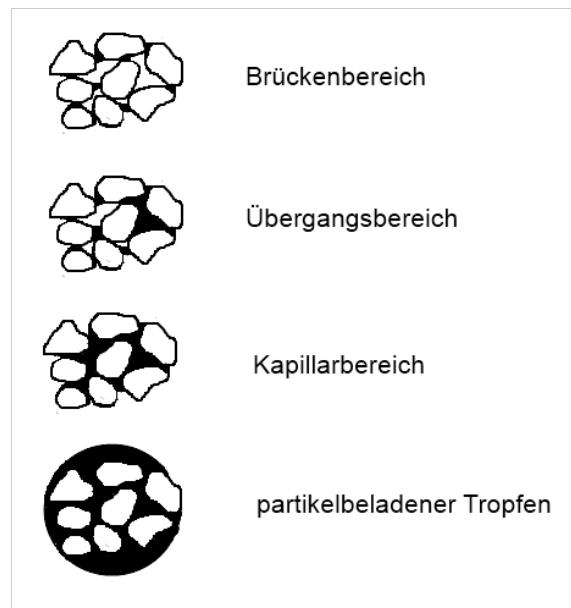


Abbildung 4.17: Arten von Flüssigkeitsbindungen zwischen Partikeln nach Mollet u. Grubenmann [69]

Die freie Flüssigkeit lässt sich in der Filterzentrifuge leicht austreiben, Flüssigkeit im Übergangsbereich nur bei hohen Schleuderzahlen und die Flüssigkeit im Brückenbereich ist durch Zentrifugation nicht entfernbar [56].

Grundsätzlich können Filterzentrifugen semi-kontinuierlich oder diskontinuierlich betrieben werden. Für den semi-kontinuierlichen Betrieb kann der trockene Filterkuchen mittels einer Schälvorrichtung ausgetragen werden. In dieser Arbeit wird eine diskontinuierliche Filterzentrifuge vertikaler Bauweise verwendet. Das heißt nach der Filtration kann der Filtersack manuell entnommen und der Kuchen ausgetragen werden. Vorteilhaft ist diese Art der Zentrifuge besonders für häufig wechselnde Produkte und kleine Chargenmengen, wie sie häufig für pharmazeutische Anwendungen vorliegen.

Die Wahl des Materials des Filtertuches ist abhängig von Einsatzort und Einsatzstoffen. Um einen gleichmäßigen Kuchenaufbau zu gewährleisten müssen die Filtertücher genau an die Einsatztrommel angepasst sein. Die Porengröße des Tuches wird meist als das 1,5 bis 2,5-fache des abzutrennenden Partikeldurchmessers gewählt. Dies führt zu einem Trübstoß zu Beginn des Filtrationsprozesses, vermeidet bzw. vermindert allerdings eine Porenverblockung. Nach der Ausbildung von Feststoffbrücken bleibt das ablaufende Filtrat feststofffrei. Der Aufbau der Brücken wird durch eine höhere Feststoffdichte und Feststoffkonzentration befördert. Ein weiterer den Aufbau beeinflussender Parameter ist die Rotationsgeschwindigkeit der Trommel, da die Partikel nicht direkt auf die Trommel-

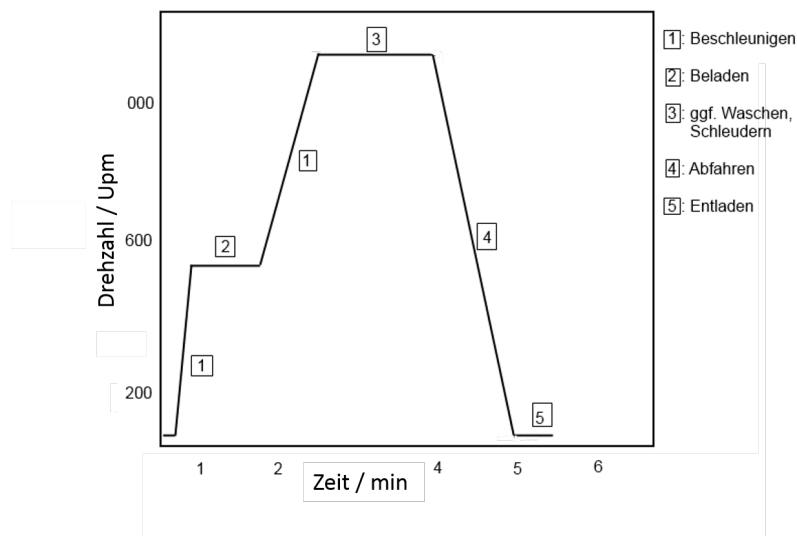


Abbildung 4.18: Betriebszyklus einer filternde Zentrifuge [56]

geschwindigkeit beschleunigt werden und somit zum Rollen auf dem Filtertuch neigen ohne sich abzulagern [103].

Betriebsparameter Filterzentrifugen

Prinzipiell ist die Drehzahl beim Befüllen geringer als beim darauf folgenden Entwässerungsvorgang. Dies hat den Hintergrund, dass zu hohe Drehzahlen zu Feststoffunwuchten führen können. Eine zu niedrige Wahl der Drehzahl kann allerdings auch zu Problemen führen, da Flüssigkeitsunwuchten auftreten können [103]. Für den Entwässerungsvorgang wird die Drehzahl dann erhöht um eine möglichst geringe Restfeuchte des Filterkuchens zu erzielen. Ein typischer Betriebszyklus die Drehzahl betreffend ist in Abbildung 4.18 dargestellt.

Der Entfeuchtungsvorgang selbst kann mit dem sogenannten Bond-Diagramm (siehe Abbildung 4.19) dargestellt werden. Der Zusammenhang zwischen der Sättigung des Filterkuchens und der Bondzahl ist dargestellt, wobei die Bondzahl eine Funktion von der Flüssigkeitsdichte ρ_f , der Erdbeschleunigung g , der Schleuderzahl C , der Betthöhe h_{Bett} , der Oberflächenspannung Γ , des Benetzungswinkels δ und des hydraulischen Kapillardurchmessers D_h ist.

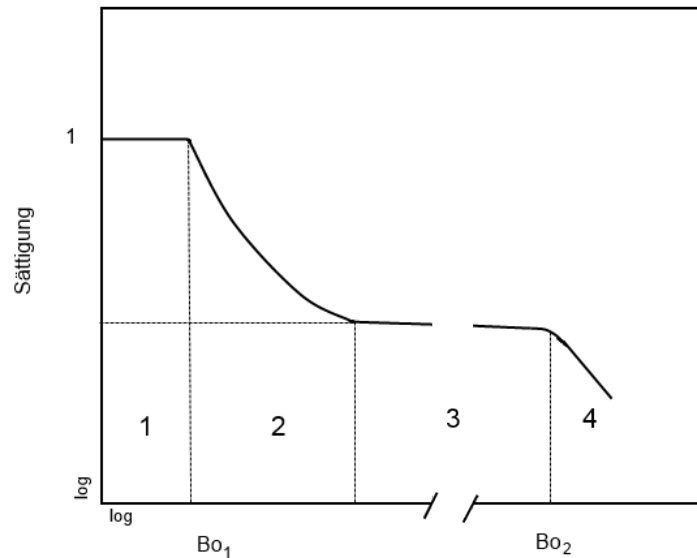


Abbildung 4.19: Bonddiagramm nach Stahl [103]

Abhängig von der Lage im Bonddiagramm werden Bondzahl 1 und 2 unterschieden und folgendermaßen berechnet:

$$Bo_1 = \frac{\rho_f \cdot g \cdot C \cdot D_h \cdot h_{Bett}}{\Gamma \cdot \cos\delta} \quad (4.41)$$

$$Bo_2 = \frac{\rho_f \cdot g \cdot C \cdot D_h^2}{\Gamma \cdot \cos\delta} \quad (4.42)$$

In Bereich 1 ist eine Kuchenentwässerung nicht möglich, im Bereich 2 ist diese begrenzt durch das Gleichgewicht zwischen Zentrifugalkraft und Kapillarkraft und Bereich 3 stellt das sogenannte Bond-Plateau dar. In Bereich 2 ist mit höherer Schleuderzahl eine bessere Entwässerung möglich, im Bereich 3 hält sich die Feuchtigkeit im Brückenbereich und ist über einen weiteren Bond-Zahlbereich konstant. Bei sehr viel höheren, technisch häufig nicht lohnenden, Bondzahlen können diese Brücken zerstört werden und eine weitere Entfeuchtung ist möglich [88][103]. Besonders bei kompressiblen bzw. fragilen Partikelsystemen führt eine Erhöhung der Schleuderzahl nicht zwingend zu einer besseren Entfeuchtung.

Bezüglich der Befüllung der Zentrifuge, welche auch die Filterkuchenbildung und folglich auch die Entfeuchtung maßgeblich beeinflusst, sind einige Dinge zu berücksichtigen. Zulauf- und Filtrationsrate müssen aufeinander abgestimmt werden, um Feststoffunwuchten zu vermeiden. Feststoffunwuchten können zu einer inhomogenen Kuchenbildung

und somit über den Kuchen stark variierenden Restfeuchten führen. Das ideale Füllvolumenstrom \dot{V} lässt sich nach Stahl [103] durch folgende Formel ausdrücken:

$$\dot{V} = \frac{\pi \cdot H_{tr} \cdot \rho_f \cdot \omega^2 \cdot (r_{tr}^2 - r_k^2)}{\eta \cdot (R_k \cdot \ln(\frac{r_{tr}}{r_k}) + \frac{R_m}{r_{tr}})} \quad (4.43)$$

Mit der Trommelhöhe H_{tr} , der Flüssigkeitsdichte ρ_l , der Winkelgeschwindigkeit ω , dem Trommelradius r_{tr} , dem Radius der Kuchenoberfläche r_k der Flüssigkeitsviskosität η_f dem Kuchenwiderstand R_k und dem Grundwiderstand R_m .

Kornzerstörung in Filterzentrifugen

Die filtrierende Zentrifugation von sensiblen Kristallsuspensionen kann zu Kornschädigung führen. Im folgenden sind die möglichen Orte der Kornschädigung aufgeführt:

- Peripherie
- Einlass
- Auftreffen auf die (rotierende) Trommel
- Druckbelastung im Filterkuchen.

Die Peripherie meint hier die Förderung der Suspension in die Zentrifuge, welche auf unterschiedliche Weisen erfolgen kann. Die Suspension kann durch Pumpen, Druckbehälter oder alleinige Ausnutzung des Erdschwerefelds in die Zentrifuge gefördert werden. Dabei stellt die Förderung über Pumpen die intensivste Beanspruchung dar. Häufig treten in Pumpen Scherkräfte und/oder Turbulenz und im schlechtesten Fall sogar Kavitation auf. Die Förderung durch einen Druckbehälter oder durch das Erdschwerefeld benötigt häufig ein Ventil um den Volumenstrom der Suspensionszufuhr zu regulieren. Diese können ebenfalls für eine Vorschädigung des Produktes vor dem eigentlichen Abtrennprozess sorgen. Letztlich muss die Suspension noch durch einen Einlass in die Zentrifuge selbst gelangen. Häufig wird hier ein sich verengender 90° Krümmer verwendet. Dieser kann ebenfalls das Produkt belasten.

Die wahrscheinlich höchsten Belastungen den Einlassprozess betreffend treten bei Auftreffen der Suspension auf die Trommel auf. Hierfür sind einige Ausführungen von filtrierenden Zentrifugen bekannt (z.B. Ferrum), welche eine besondere Einlassgeometrie aufweisen, die eine Vorbeschleunigung der Suspension und damit geringere Kräfte beim Auftreffen auf die Trommel verursachen. Das Auftreffen der Suspension auf die Trommel führt zunächst

zu einem starken Abbremsen gefolgt von einer starken Beschleunigung der Suspension tangential zum Filterkuchen. Das Produkt wird dadurch geschert und der Feststoff kann auf der Oberfläche des Filtermediums und, bei einsetzender Kuchenbildung, des Kuchens abrollen. Weiterhin kommt es zur Ausbildung von turbulenten Strömungen [56].

Der letzte Ort an dem Kornschädigung bei der zentrifugalen Abtrennung auftreten kann ist der Filterkuchen selbst. Im sich bildenden Haufwerk sind die Partikel über den Prozess zunehmend stärker belastet, zum einen durch die steigende Massenbelastung durch einen wachsenden Filterkuchen, zum anderen durch eine Steigerung der Drehzahl beim Abschleudern bzw. Entfeuchten des Filterkuchens. Ablaufendes Zwickelwasser und fehlender Auftrieb durch die Mutterlösung kann ebenfalls zu einer stärkeren Belastung vor allem beim Schleudervorgang führen. Eine Bewegung der Partikel gegeneinander ist auch möglich und kann zum Kornabrieb führen. Speziell die Entfeuchtung betrachtend beeinflussen folgende Punkte die Druckbelastung der Kristalle [103]:

- Druck durch den Feststoff

$$p_{Feststoff} = \frac{1}{2} \cdot \omega_{tr}^2 \cdot (r_{tr}^2 - r_{FS}^2) \cdot \rho_{FS} \cdot (1 - \Phi) \quad (4.44)$$

- Auftrieb durch die Flüssigkeit

$$p_{Auftrieb} = -\frac{1}{2} \cdot \omega_{tr}^2 \cdot (r_{tr}^2 - r_{pst}^2) \cdot \rho_f \cdot (1 - \Phi) \quad (4.45)$$

- Der kapillare Drucksprung

$$p_{Drucksprung} = \frac{1}{2} \cdot \omega_{tr}^2 \cdot p_{Kapillar} \quad (4.46)$$

- Druck durch Grobkapillarflüssigkeit

$$p_{Grobkapillar} = \frac{1}{2} \cdot \omega_{tr}^2 \cdot (r_{tr}^2 - r_{FS}^2) \cdot \rho_f \quad (4.47)$$

- Druck durch Zwickel und Filmflüssigkeit

$$p_{Zwickel} = \frac{1}{2} \cdot \omega_{tr}^2 \cdot (r_{pst}^2 - r_{FS}^2) \cdot \rho_f \cdot S_{eq} \cdot \Phi \quad (4.48)$$

- Druck durch überstehende Flüssigkeit

$$p_{Säule} = \frac{1}{2} \cdot \omega_{tr}^2 \cdot (r_{FS}^2 - r_f^2) \cdot \rho_f \quad (4.49)$$

dabei ist ω_{tr} die Winkelgeschwindigkeit der Trommel, r_{tr} der Trommelradius, r_{FS} der Radius bis zur Feststoffoberfläche, r_{pst} der Radius bis zu der Kuchenhöhe, an dem die Sättigung unter 1 sinkt, r_f der Radius des Flüssigkeitsspiegels, S_{eq} die remanente Sättigung (minimale Sättigung unter gegebenen Bedingungen) und $p_{Kapillar}$ der Kapillardruck.

Vergleich zu anderen mechanischen Trennverfahren

Besonders in Bezug auf die Filterkuchenbildung und damit der Eigenschaften des resultierenden Filterkuchens sind wesentliche Unterschiede im Vergleich zu anderen mechanischen Trennverfahren festzustellen. Im Folgenden wird die Filtration bzw. Kuchenbildung im Zentrifugalfeld mit der durch Gasdruckdifferenz oder Pressung induzierten Kuchenbildung verglichen und diskutiert.

Bei der gasdruckgetriebenen Kuchenfiltration lagern sich die Partikel auf einem Filtermedium nach und nach an. Der Ort des Auftreffens entspricht dabei auch zumeist dem Ort der Ablagerung [103]. Belastet werden die Partikel hier geringfügig durch den Auftreffimpuls des Partikels und wesentlich durch den über dem Kuchen anliegenden Druck. In einer Filterzentrifuge läuft insbesondere der Ablagerungsprozess auf komplexere Weise ab. Zunächst müssen die Partikel auf die Trommelgeschwindigkeit beschleunigt werden, was zu einem Rollen der Partikel auf dem Filtertuch bzw. Filterkuchen führt. Der Rollprozess läuft so lange ab, bis das Partikel auf Trommelgeschwindigkeit beschleunigt wurde oder in einer geeigneten Lücke Platz gefunden hat. Dadurch besitzt der Kuchen vergleichsweise geringe Porositäten und hohe Widerstände.

Der Ort größter Belastung für die Kristalle ist in der reinen Druckbeanspruchung die Kuchenoberseite, über der Höhe nimmt die Belastung ab (siehe 2.2.1). Dies ergibt sich aus einer zunehmenden Energieabsorption über dem Höhenverlauf im Gutbett. Die oben abgelagerten Partikel speichern Energie in Form von elastischer und plastischer Deformation oder auch Bruchereignissen ab, was zu einer sukzessiven Abnahme der an den Kontaktpunkten weitergeleiteten Energie führt. Dargestellt ist dies unter anderem in Khanal et al. [49]. Im Gegensatz dazu wirkt in der Zentrifuge die größte Belastung auf die Partikel direkt am Filtertuch. Zum einen nimmt der Radius und somit der C-Wert über den Kuchen zu, zum anderen ist die auf die Partikelschicht wirkende Masse größer umso näher sich diese am Filtertuch befindet. Die während der zentrifugalen Abscheidung auftretenden Belastungen für die Partikel sind also weitaus größer und weitaus mehr als reine Druckbelastungen.

Um zumindest das Ausmaß der auftretenden Druckbelastungen in der filtrierenden Zentrifugation abschätzen zu können wird diese nach den Gleichungen 4.44 bis 4.49 berechnet. Bei Filtration des selben Kristallisationsansatzes in der Nutsche und der Zentrifuge bei gleichen Drücken werden Vergleiche des auftretenden Kristallbruchs gezogen.

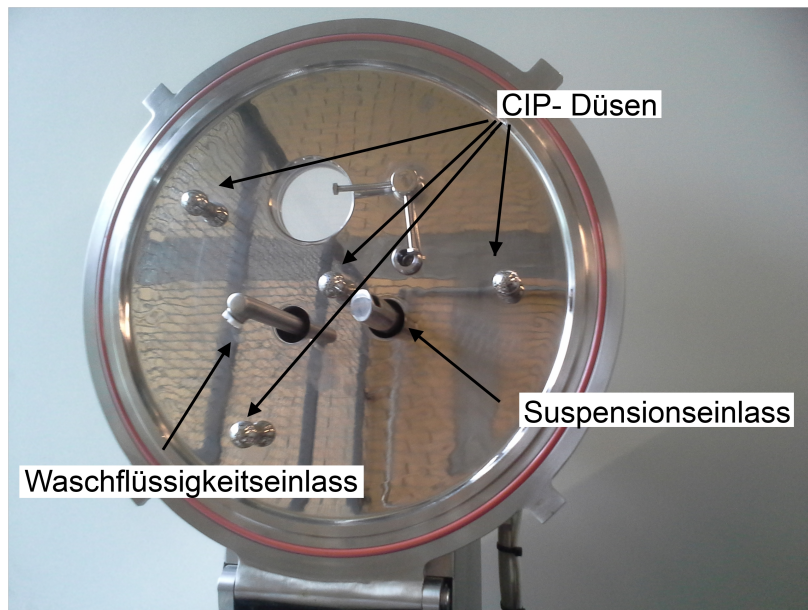


Abbildung 4.20: Zentrifugendeckel mit Einlassöffnungen

Apparativer Aufbau und Versuchsführung

Für die Versuche wurde eine Vertikalzentrifuge des Typs V300/200 TP der Firma Heinkel verwendet. Die eingesetzte Siebtrommel hat einen Durchmesser von 200 mm und eine Trommelhöhe von 100 mm; hieraus resultiert eine maximale Füllmenge von 2 l oder 1,5 kg. Die Drehzahl kann zwischen 300 und 4200 Upm variiert werden, was in Schleuderzahlen von 10 bis 1960 an der Trommelwand resultiert. Die Zentrifuge ist prinzipiell CIP-fähig, was allerdings in dieser Arbeit nicht genutzt wurde. Durch den Deckel können die zu filtrierende Suspension und auch ggf. Waschflüssigkeit eingelassen werden. Der Filtriervorgang kann außerdem durch die Innenbeleuchtung und das Sichtfenster beobachtet werden. Der Behälterdeckel mit den Einbauten ist in Abbildung 4.20 dargestellt.

Das genutzte Filtermedium ist ein auf die Trommel angepasster Filterbeutel des Typs TETEX DLW der Firma SEFAR (Heiden, Schweiz). Er besteht aus einem Doppellagen-gewebe aus Polypropylen (PP). Die mittlere Porengröße der filtrierenden (feinmaschigen) Schicht beträgt 20 μm , die zweite Lage ist ein grobes Stützgewebe. Der Feststoff kann hier nach der Trocknung zusammen mit dem Filtersack entnommen werden.

Die Förderung der Probensuspension in die Zentrifuge wird über einen Druckbehälter bei einem Überdruck von 0,25 bar realisiert. Abbildung 4.21 zeigt ein Anlagenfließbild.

Die Suspension im Druckbehälter wird während des Versuchs kontinuierlich bei geringer Drehzahl gerührt um Sedimentation im Behälter zu vermeiden. Die Regelung der Suspen-

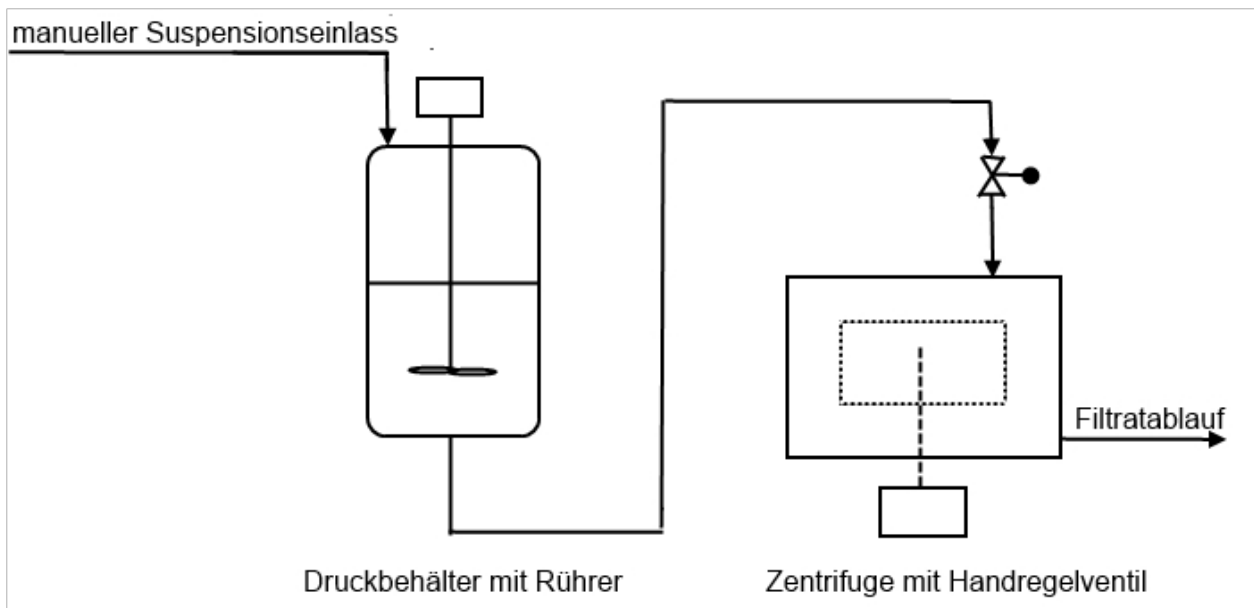


Abbildung 4.21: Anlagenfließbild der Vertikalzentrifuge

sionszufuhr erfolgt über ein Drehventil (Membran-Absperrventil Sisto-B von KSB). Die Filtratmasse wird über eine Waage am Filtratauslass aufgezeichnet. Folgende Parameter werden für die Versuche variiert:

- Drehzahl während des Füllvorgangs
- Schleuderdrehzahl
- Schleuderzeit.

Zwei relevante Größen werden erfasst und zueinander in Bezug gesetzt. Zum einen die Filtrations- und Entfeuchtungseigenschaften (Restfeuchte, Porosität, Kuchenwiderstand), zum anderen die Kristallgrößenverteilung im Kuchen im Verhältnis zur eingesetzten Suspension. Die Versuche wurden wie folgt durchgeführt:

1. Befüllung der Zentrifuge bis der Vorlagebehälter vollständig geleert war (5l Suspensionsansatz)
2. Erhöhung der Drehzahl der Zentrifuge (Schleuderdrehzahl)
3. Probenahme aus dem Kuchen mit Probenehmer zur Porositätsbestimmung (siehe Abbildung 4.22 (a))
4. Probenahme über Höhe und Radius der Trommel für die Partikelgrößenbestimmungen (Schema siehe Abbildung 4.22 (b))

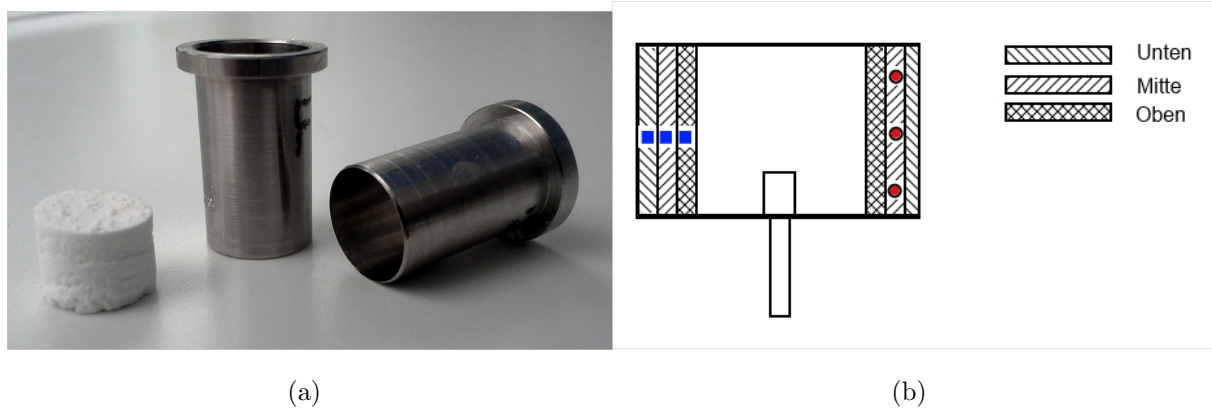


Abbildung 4.22: Probenehmer zur Bestimmung der Porosität des Filterkuchens (a) und Probenahmestellen zur Bestimmung der Kristallgrößenverteilungen (b)

Dabei wird die Kuchenhöhe im Kuchenprobenehmer (Durchmesser 12 mm, Höhe 20 mm) mittels Lasermessung bestimmt und die Porosität nach Gleichung 4.4 berechnet. Weiterhin wird noch die Kuchensättigung ermittelt. Die Sättigung S gibt an, welcher Anteil des Hohlraumvolumens $V_{Hohlraum}$ mit Flüssigkeit gefüllt ist und berechnet sich nach Stieß [106] wie folgt:

$$S = \frac{V_{\text{Flüssigkeit}}}{V_{\text{Hohlraum}}} = \frac{V_{\text{Kuchen}} \cdot \Phi_{v,\text{Flüssigkeit}}}{\Phi \cdot V_{\text{Kuchen}}} \quad (4.50)$$

mit dem Flüssigkeitsvolumenanteil $\Phi_{\text{Flüssigkeit}}$ im Kuchen.

4.7 Charakterisierung von Waschprozessen

Zwei prinzipielle Waschverfahren lassen sich unterscheiden, die Durchströmungswäsche und die Verdünnungswäsche. Bei der Durchströmungswäsche wird die Waschflüssigkeit in den Poren eines Filterkuchens durch ein treibendes Potential verdrängt, z.B. Massenkraft oder Druckdifferenz. Dabei wird die Mutterlösung mit Verunreinigung im Idealfall vollständig verdrängt. Bei der Verdünnungswäsche wird die Haufwerksstruktur aufgelöst. Dadurch werden die Diffusionswege der Verunreinigung wesentlich kürzer und die Poren zugänglicher im Vergleich zur Durchströmungswäsche.

Abbildung 4.23 zeigt einen Vergleich der Waschkurven bei der Durchströmungs- und Ver-

dünnungswäsche. Dabei stellt X^* den Anteil der Restverunreinigung dar und berechnet sich aus:

$$X^* = \frac{X}{X_0} \quad (4.51)$$

mit dem Restverunreinigungsanteil X und der Anfangsbeladung X_0 . Das Waschverhältnis W berechnet sich aus dem benötigten Waschwasservolumen V_W und der gewaschenen Feststoffmasse m_{FS} (bei der Verdünnungswäsche) bzw. dem Hohlraumvolumen des Filterkuchens V_H (bei der Durchströmungswäsche):

$$W_m = \frac{V_W}{m_{FS}} \quad (4.52)$$

$$W_V = \frac{V_W}{V_H} \quad (4.53)$$

Um die Filterkuchenwäsche mit der Verdünnungswäsche vergleichen zu können wird in der Regel das massenbezogenen Waschverhältnis W_m herangezogen.

4.7.1 Durchströmungswäsche

Bei der Durchströmungswäsche wird die Flüssigkeit in den Poren in der Regel nicht ideal verdrängt. Der Waschvorgang lässt sich in drei Teilbereiche aufteilen (siehe Abbildung 4.23):

- Bereich I: Verdrängungsbereich
Die Waschlüssigkeit verdrängt die Mutterflüssigkeit fast vollständig aus den Poren
- Bereich II: Dispersions- und Diffusionsbereich
Dispersion, Diffusion und Konvektion laufen nebeneinander ab
- Bereich III: Diffusionsbereich
Nur noch Diffusionsvorgänge aus den stagnierenden Stellen des Filterkuchens können den Waschprozess aufrecht erhalten.

Die Partikelgrößenverteilung beeinflusst die Waschung maßgeblich. Je kleiner die Partikel sind, desto kleiner sind auch die Poren [88].

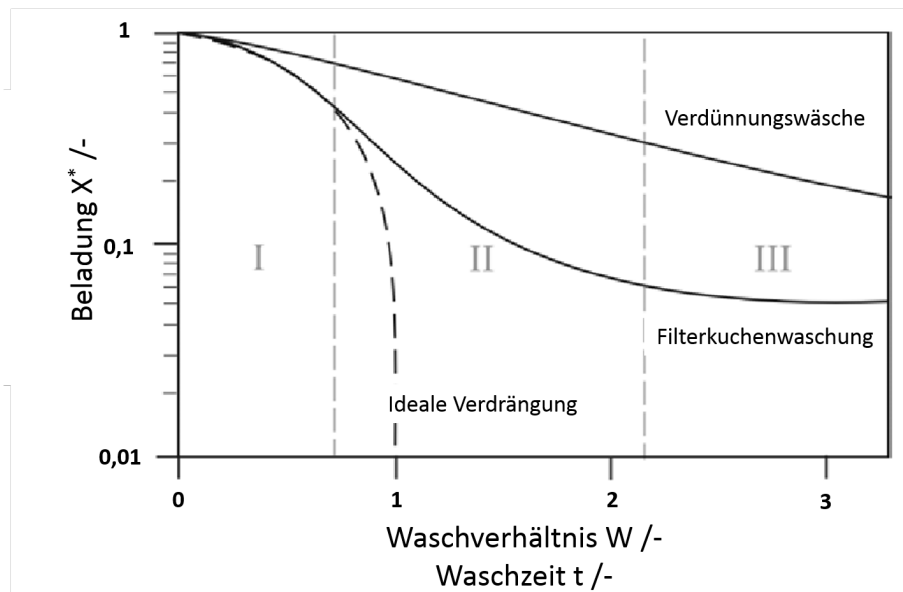


Abbildung 4.23: Idealisierte Waschkurven [88]

4.7.2 Verdünnungswäsche in Cross-Flow-Verfahren

Bei der im Bereich der Cross-Flow-Filtration auch Diafiltration genannten Verdünnungswäsche wird der Feststoff von einer Membran vollständig zurückgehalten und die in der Waschlösung gelösten Verunreinigungen passieren die Membran vollständig. Um Waschwasser einzusparen ist es häufig sinnvoll die Suspension zunächst einzudicken. Allerdings führt dies auch zu einem niedrigeren Filtratstrom. Angewandt wird die Verdünnungswäsche vor allem für Systeme die in der kuchenbildenden Filtration nahezu undurchlässige Kuchen bilden [81]. In einem ideal durchmischten Rührkessel kann die Waschung entsprechend folgender Gleichung beschrieben werden:

$$\frac{c}{c_0} = e^{-\frac{V_W}{V_{Susp}}} \quad (4.54)$$

mit der Anfangsverunreinigungskonzentration c , der Endkonzentration c_0 , dem Wasservolumen V_W und dem Suspensionsvolumen V_{Susp} . Diese Beschreibung ist gültig unabhängig von der Art des Partikelsystems, der Feststoffkonzentration der Rührerdrehzahl, der Prozesstemperatur, der Waschart und den rheologischen Eigenschaften [27].

5 Ergebnisse Kristallisationsversuche

Der Kristallisationsprozess war, trotz kontrollierter Bedingungen, häufig nicht reproduzierbar. Dies ist ein bekanntes Problem bei der Kristallisation von Makromolekülen und auch in der Literatur schon beschrieben von Yen et al. [118]. Chernov et al. ([18]) begründet dies mit einer starken Abhängigkeit der Nukleationsrate von der Übersättigung bei Makromolekülen. Es ist relativ schwierig das Übersättigungslevel während des Einmischens der Präzipitationslösung in die Proteinlösung zu kontrollieren. Für die Versuche in den kleineren Beanspruchungsapparaturen wurde daher jeweils ein größerer Ansatz hergestellt und dieser in Einzelproben geteilt um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten. Für Versuche in der Dynotest und Vertikalzentrifuge war das Vorlagevolumen zu groß um eine sinnvolle Probeteilung zu realisieren. Weiterhin fangen die Ansätze ab einem gewissen Zeitraum an zu schimmeln. Da die großtechnischen Versuche zeitaufwändiger sind als die Beanspruchungsversuche im kleinen Maßstab konnten keine Kristallisationsansätze weit im voraus gemacht werden. Dies führte dazu, wie im Ergebnisteil ausgiebig diskutiert wird, dass die Abtrenneigenschaften sich abhängig vom betrachtete Kristallisationsansatz unterschieden und somit die Aussagekraft bezüglich des Einflusses der Abtrennbedingungen auf den Kristallbruch eingeschränkt ist.

Folgend sind die Größenverteilungen der kristallinen Systeme für die Versuche im Labormaßstab tabellarisch dargestellt.

Abbildung 5.1 zeigt weiterhin repräsentative Bilder der Kristallisationen.

Die charakteristischen Werte der Größenverteilungen für die großtechnischen Versuche sind aufgrund der Streubreite über die Kristallisationsansätze im entsprechenden Kapitel dargestellt und diskutiert.

Tabelle 5.1: Charakteristische Werte der Größenverteilungen der Kristallisationsansätze im Kapitel 7 (Druckbeanspruchung)

| Charakteristischer Wert / μm | Ansatz isometrisch | A | Ansatz isometrisch | B | Nadeln | Aggregate |
|-----------------------------------------|--------------------|---|--------------------|---|------------------|------------------|
| x10 | $20,30 \pm 1,94$ | | $23,26 \pm 1,58$ | | $11,07 \pm 0,74$ | $8,62 \pm 0,18$ |
| x50 | $60,36 \pm 2,96$ | | $48,70 \pm 1,62$ | | $16,36 \pm 0,79$ | $17,72 \pm 0,31$ |
| x90 | $80,16 \pm 1,75$ | | $80,86 \pm 2,70$ | | $24,07 \pm 2,31$ | $49,51 \pm 1,62$ |

Tabelle 5.3: Charakteristische Werte der Größenverteilungen der Kristallisationsansätze im Kapitel 6 (Scherbeanspruchung)

| Charakteristischer Wert / μm | isometrisch | Nadeln | Aggregate |
|-----------------------------------------|------------------|------------------|------------------|
| x10 | $12,01 \pm 1,98$ | $15,88 \pm 0,58$ | $7,68 \pm 0,31$ |
| x50 | $39,85 \pm 5,23$ | $21,04 \pm 0,81$ | $20,97 \pm 4,13$ |
| x90 | $70,06 \pm 6,14$ | $25,92 \pm 0,66$ | $59,80 \pm 2,98$ |

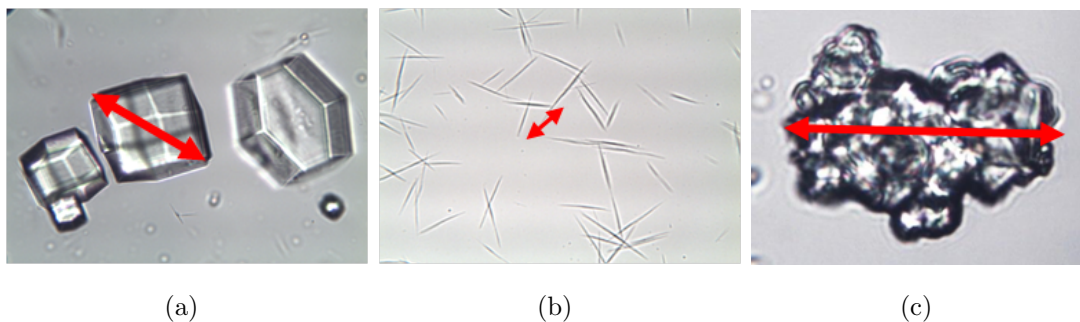


Abbildung 5.1: Repräsentative Mikroskopien der isometrischen tetragonalen Kristalle (a), der nadeligen Kristalle (b) und der Aggregate aus isometrischen tetragonalen Kristallen

6 Einfluss der Scherbeanspruchung auf Kristallbruch und Sedimentationsverhalten

6.1 Übersicht der Scherversuche

Drei wesentliche Einflussparameter bezüglich der Scherung wurden für die drei kristallinen Systeme, isometrische, nadelige und aggregierte Lysozymkristalle untersucht. Der erste Einflussparameter ist die eingetragene Energie, welche durch die maximale Energiedissipation dargestellt werden kann. Bei einer Erhöhung des Energieeintrages wurde eine ansteigende Zerkleinerung erwartet. Die maximale Drehzahl in der Scherzelle bzw. maximal erreichbare Energiedissipation entsprach dem schlechtesten Fall der im Einlauf von Zentrifugen auftretenden Dissipation. Weiterhin wurde die Scherzeit variiert um einen Einfluss des Aufenthalts der Suspension im Einlaufbereich evaluieren zu können. Eine verlängerte Aufenthaltszeit erhöht die Kontakt- und damit auch die Bruchwahrscheinlichkeit. Die minimale Scherzeit von 10 s, bedingt durch die An- und Abfahrzeiten des Motors, und eine maximale Scherzeit von 30 s, limitiert durch die starke Erwärmung der Kristalllösung, wurden für die Versuche gewählt. Von einer Aufenthaltszeit von mehr als 10 s ist im Einlaufbereich nicht auszugehen. Aus systematischen Gründen wurden dennoch Versuche bei längeren Scherzeiten durchgeführt. Ebenfalls zu einer Erhöhung der Kontakt- und damit Bruchwahrscheinlichkeit führt eine höhere Partikelkonzentration. Daher wurde für die isometrischen und aggregierten Lysozymkristalle die Partikelkonzentration durch Sedimentation und Abdekantieren des Überstandes erhöht. Für die Nadeln war dies nicht möglich, da diese ein hochporöses Sediment mit wenig Überstand ausbildeten, auch nach sehr langen Sedimentationszeiten.

Tabelle 6.1: Feststoffkonzentrationen der gescherten Kristallsuspensionen

| Kristallsystem | Feststoffkonzentration original g/l | Feststoffkonzentration konzentriert g/l |
|----------------|------------------------------------------|----------------------------------------------|
| isometrisch | $57,20 \pm 1,28$ | $261,34 \pm 23,01$ |
| nadelig | $38,7 \pm 1,08$ | |
| aggregiert | $35,63 \pm 2,72$ | $139,02 \pm 2,72$ |

Die Versuchsbedingungen wurden wie folgt für die unterschiedlichen Kristallsysteme variiert:

- isometrisch:
 - Konzentration (original und konzentriert)
 - Scherzeit (10 und 30 s)
 - Drehzahl (14 000 und 30 000 Upm)
- nadelig
 - Drehzahl (9 000, 14 000 und 30 000 Upm)
- aggregiert
 - Konzentration (original und konzentriert)
 - Scherzeit (10, 20 und 30 s)
 - Drehzahl (9 000, 14 000 und 30 000 Upm)

Die Feststoffkonzentrationen für die untersuchten Systeme sind in Tabelle 6.1 dargestellt. In Abhängigkeit der Feststoffkonzentration unterschieden sich die Systeme auch bezüglich der eingebrachten Energie. Entsprechend der in Kapitel 4.5.2 dargestellten Gleichungen lässt sich die eingebrachte Energie abschätzen. Dabei kann die dynamische Viskosität, welche bei den konzentrierten Suspensionen von der des Puffers abweicht, über die Krieger-Dougherty Gleichung abgeschätzt werden. Diese lautet wie folgt:

$$\eta_{rel} = \left(1 - \frac{c_v}{c_{v,max}}\right)^{[\eta]c_{v,max}} \quad (6.1)$$

Tabelle 6.3: Berechnete Energiedissipation bei originaler Konzentration

| Drehzahl / Upm | ϵ_0 / W/kg | η_k / μm | ϵ_{max} / kW/kg | $\eta_{k,min}$ / μm |
|----------------|---------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------------|
| 9000 | 264,21 | 8,22 | 25,015 | 2,64 |
| 14 000 | 797,38 | 6,24 | 75,493 | 2,00 |
| 30 000 | 5359,79 | 3,88 | 507,447 | 1,24 |

Tabelle 6.5: Berechnete Energiedissipation bei aufkonzentrierter Kristallsuspension

| Drehzahl / Upm | ϵ_0 / W/kg | η_k / μm | ϵ_{max} / kW/kg | $\eta_{k,min}$ / μm |
|----------------|---------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------------|
| 9000 | 295,98 | 9,48 | 25,015 | 3,13 |
| 14 000 | 893,26 | 7,19 | 94,157 | 2,24 |
| 30 000 | 6004,28 | 4,47 | 926,468 | 1,27 |

mit der relativen Viskosität $\eta_{rel} = \frac{\eta_{Susp}}{\eta_{Lösungsmittel}}$.

Hierbei wird die maximale Feststoffkonzentration $c_{v,max}$ zu 0,64 angenommen und die intrinsische Viskosität $[\eta]$ zu 2,5 (laut Einstein für runde Partikel) [70]. c_v stellt die tatsächliche Feststoffkonzentration in der Suspension dar. Zu beachten ist allerdings, dass die Gleichung gültig ist für monodisperse Partikel und ideale Kugeln. Eine breite Verteilung und die Abweichung von der Kugelform kann zu komplexem rheologischen Verhalten führen. Im hier untersuchten niedrigen Konzentrationsbereich ist allerdings nur eine geringe Abweichung zu erwarten.

Die mittlere (ϵ_0) und maximale (ϵ_{max}) Energiedissipation und die daraus berechneten Kolmogorov-Längenskalen η_k und $\eta_{k,min}$ für die verschiedenen Drehzahlen sind den Tabellen 6.3 und 6.5 zu entnehmen. Zwei Parameter wurden zur Diskussion des Einflusses der Scherung auf das Partikelsystem herangezogen. Zum einen die Partikelgrößenverteilung, zum anderen das Sedimentationsverhalten. Die Bestimmung des Sedimentationsverhaltens erfolgte dabei direkt nach der Scherung und stellt dadurch eine unmittelbare Vergleichsgröße dar. Die Bestimmung der Partikelgrößenverteilung benötigte zum einen eine Vorbehandlung der Probe durch einen Verdünnungsschritt, zum anderen liegt aufgrund des Zeitaufwands der Messung Zeit mehr Zeit zwischen der Scherung und der Messung.

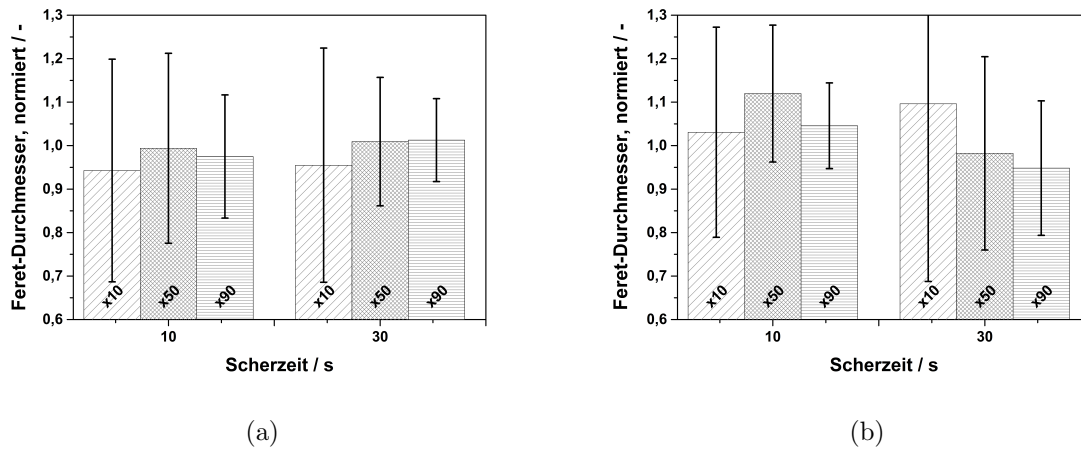


Abbildung 6.1: Normierte x-Werte der isometrischen Kristalle für die originale (a) und konzentrierte (b) Kristallsuspension

Dies kann zu Fehlern in der Beurteilung des Einflusses der Scherung auf das Partikelkollektiv führen. Das Sedimentationsverhalten wird über die Trennspiegelsinkgeschwindigkeit evaluiert, welche mit Hilfe des LUMiReaders im Erdschwerefeld oder der LUMiFuge im Zentrifugalfeld bestimmt wurde. Die Entscheidung für die Messung im Erdschwere- oder im Zentrifugalfeld wurde anhand von Vorversuchen getroffen. Schnell sedimentierende Systeme, wie die isometrischen Lysozymkristalle und -aggregate der originalen Konzentration, wurden im Erdschwerefeld untersucht, die restlichen langsam sedimentierenden Systeme im Zentrifugalfeld.

6.2 Isometrische Kristalle

Bezüglich der Kristallgrößenverteilung konnten im Rahmen des Fehlers keinerlei Unterschiede vor und nach der Scherbeanspruchung festgestellt werden (siehe Abbildung 6.1). Bei Betrachtung der ermittelten Trennspiegelsinkgeschwindigkeiten (siehe Abbildung 6.2) lassen sich allerdings folgende Tendenzen feststellen:

- Bei originaler Konzentration nur Effekt bei 30 s Scherdauer und höchster Drehzahl von 30 000 Upm
- Bei konzentrierter Suspension leichte Abnahme bei 30 s Scherdauer und mittlerer Drehzahl (von 14 000 Upm) und kontinuierliche Abnahme der Sedimentationsgeschwindigkeit bei 30 000 Upm

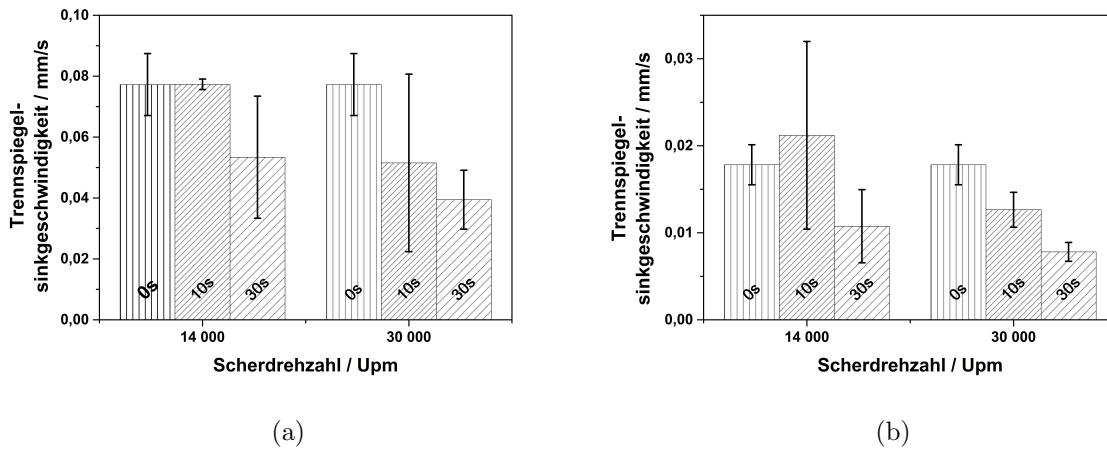


Abbildung 6.2: Trennspiegelsinkgeschwindigkeit in Abhängigkeit der Scherintensität und -zeit für die originale (a) und konzentrierte (b) Kristallsuspension mit isometrischen Kristallen

Der Widerspruch zwischen der nicht vorhandenen Änderung der Kristallgröße und dem sichtbaren Effekt die Sedimentationsgeschwindigkeit betreffend kann auf unterschiedliche Ursachen zurück geführt werden. Zum einen ist die Mikroskopie limitiert bezüglich der detektierbaren Kristallgröße (siehe 4.3). D.h. wenn Kristallabrieb durch Scherkräfte entsteht verändert sich die Partikelgröße der großen Kristalle nicht wesentlich, allerdings entstehen viele kleine Kristalle. Wenn diese zu klein sind lassen sie sich optisch nicht mehr detektieren und es ist keine Veränderung der Größenverteilung erkennbar. Allerdings können diese kleinen Kristalle Einfluss auf die detektierte Trennspiegelsinkgeschwindigkeit haben. Eine weitere Einflussmöglichkeit bei gleichbleibender Kristallgrößenverteilung sind strukturelle Änderungen des kristallinen Systems. Diese können allerdings aufgrund der optischen Bewertung der Mikroskopiebilder zum Großteil ausgeschlossen werden.

Prinzipiell entsprechen die zu sehenden Effekte, dass bei höherer Konzentration und maximaler Scherkraft die größte Veränderung der Trennspiegelsinkgeschwindigkeit zu beobachten ist, den Erwartungen. Beides verursacht eine erhöhte Kontaktwahrscheinlichkeit der Partikel und damit einen höheren Abrieb.

6.3 Nadelige Kristalle

Zur Auswertung der Veränderung der Partikelgröße wurde bei den sehr dünnen nadelförmigen Kristallen die Länge als der geeignetste Parameter erachtet. Abbildung 6.3 stellt die Veränderung der Summenverteilung bei unterschiedlich stark beanspruchten Proben

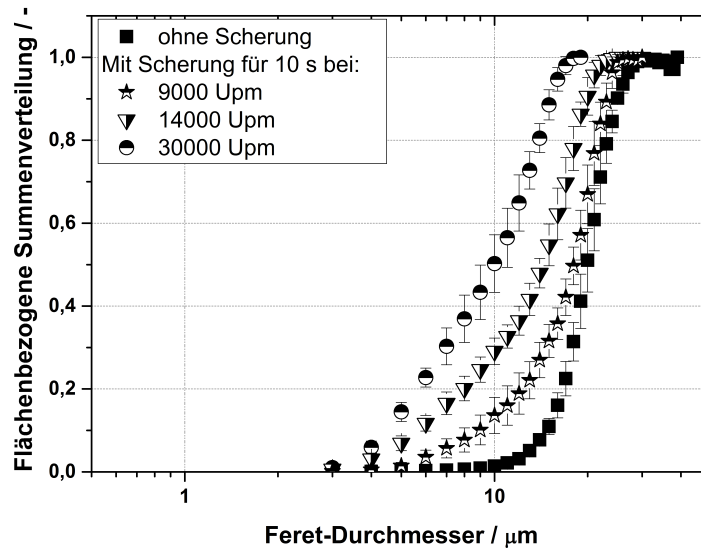


Abbildung 6.3: Q2-Verteilungen der nadeligen Kristalle nach der Scherung mit verschiedenen Drehzahlen in der Scherzelle

im Vergleich zur Verteilung der ungescherten Kristallsuspension dar. Bei der geringsten Beanspruchung von 9000 Upm ist nur eine leichte Verschiebung vor allem im Bereich kleiner Partikel zu beobachten. Dies ist zurückzuführen auf ein Abbrechen der Spitzen der Kristallnadeln. Die flächenbezogene Verteilung verändert sich daher im Bereich großer Kristalle nicht, aber der Feinanteil wird deutlich erhöht. Bei zunehmender Beanspruchung ist eine deutliche Verschiebung der Verteilung über alle Größenbereiche zu beobachten. Die Nadeln brechen bei hoher Beanspruchung vollständig in ihre Einzelteile.

Im Anschluss ist nun die Frage zu klären, inwieweit diese deutlich sichtbare Zerkleinerung das Sedimentationsverhalten beeinflusst. Dabei wurde zunächst einmal die Sedimentationsgeschwindigkeit bei verschiedenen Transmissionswerten miteinander verglichen. Dabei konnte im Bereich von 10 bis 50 % Transmission kein Unterschied in der detektierten Sedimentationsgeschwindigkeit festgestellt werden. Dies weist auf eine homogene Sedimentation hin. Für die weitere Diskussion des Einflusses der Scherintensität auf die Sedimentationsgeschwindigkeit wurden daher nur die Geschwindigkeiten bei einem Transmissionswert von 20 % miteinander verglichen.

Problematisch bei der Auswertung waren die Unterschiede zwischen den Sedimentationsgeschwindigkeiten der ungescherten Kristallsuspension (siehe Abbildung 6.4). Zwei mögliche Ursachen könnten dazu geführt haben. Da nur eine geringe Variation in der Ausgangspartikelgrößenverteilung sichtbar war, könnten zum einen Schwierigkeiten in der

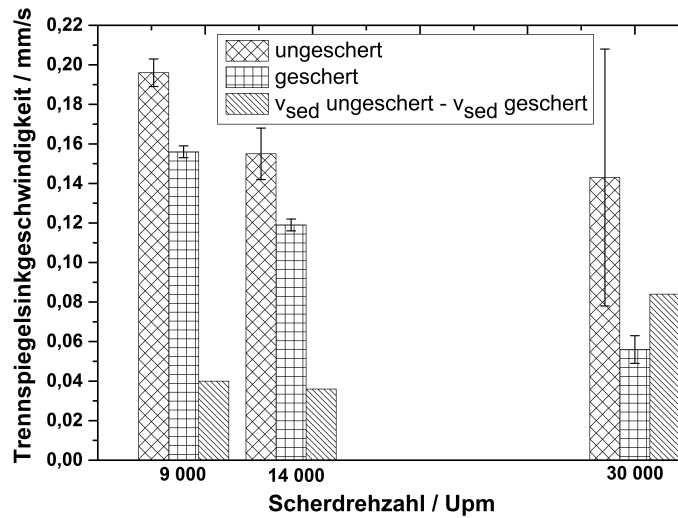


Abbildung 6.4: Sedimentationsgeschwindigkeiten (im Zentrifugalfeld) über der Scherdrehzahl

Probenahme zu Unterschieden geführt haben, zum anderen eine statistische Variation des Sedimentationsverhaltens der Nadeln. Insbesondere der große Fehler bei der ungescherten Probe bei 30 000 Upm stützt diese Überlegungen.

Während die Unterschiede der Sedimentationsgeschwindigkeiten zwischen der gescherten und ungescherten Kristallsuspension bei einer Änderung der Scherdrehzahl von 9 000 auf 14 000 Upm noch relativ klein (ca. 8 % im x_{50} -Wert) sind, ist bei 30 000 Upm ein deutlicher Unterschied erkennbar (ca. 50 % im x_{50} -Wert). Der deutlich größere Fehlerbalken bei 30 000 Upm erschwert es allerdings hier eine Absolutaussage zu treffen. Werden die Ergebnisse in Zusammenhang mit der Veränderung der Partikelgrößenverteilung diskutiert ist zu schlussfolgern, dass die bei 30 000 Upm entstehenden kleinen nadeligen Strukturen langsamer sedimentieren als die Nadeln der ungescherten Kristallsuspension. Zwischen 9000 und 14 000 Upm unterscheidet sich die Partikelgröße nur minimal und folglich fällt der Unterschied in den Sedimentationsgeschwindigkeiten nur sehr gering aus. Ein weiterer die Abtrennung beeinflussender Parameter ist die Sedimentporosität, welche sich aus der bekannten Feststoffmenge und den Transmissionsprofilen ablesen lässt. Tabelle 6.7 stellt eine Übersicht der Porositäten dar. Die Sedimentporosität vor der Scherbeanspruchung betrug $0,88 \pm 0,001$. Eine leichte Abnahme der Porosität mit zunehmender Scherdauer ist zu beobachten.

Tabelle 6.7: Porositäten der Sedimente

| Drehzahl / Upm | Sedimentporosität nach Scherung / - |
|----------------|-------------------------------------|
| 9000 | $0,87 \pm 0,002$ |
| 14 000 | $0,85 \pm 0,003$ |
| 30 000 | $0,82 \pm 0,005$ |

Dies war zu erwarten, da eine Zerkleinerung der langen nadeligen Strukturen zu einer dichteren Packung der Kristalle im Sediment führen.

6.4 Aggregierte Kristalle

Das dritte untersuchte kristalline System sind aggregierte isometrische tetragonal Lysozymkristalle. Zunächst wird wieder die Veränderung der Größenverteilung diskutiert und im Anschluss daran der Einfluss der Scherung auf das Sedimentationsverhalten. Der Übersichtlichkeit halber wird die Veränderung der Größenverteilung mit Hilfe eines auf die Ausgangsverteilung normierten Wertes der mittleren Partikelgröße dargestellt (siehe Abbildung 6.5).

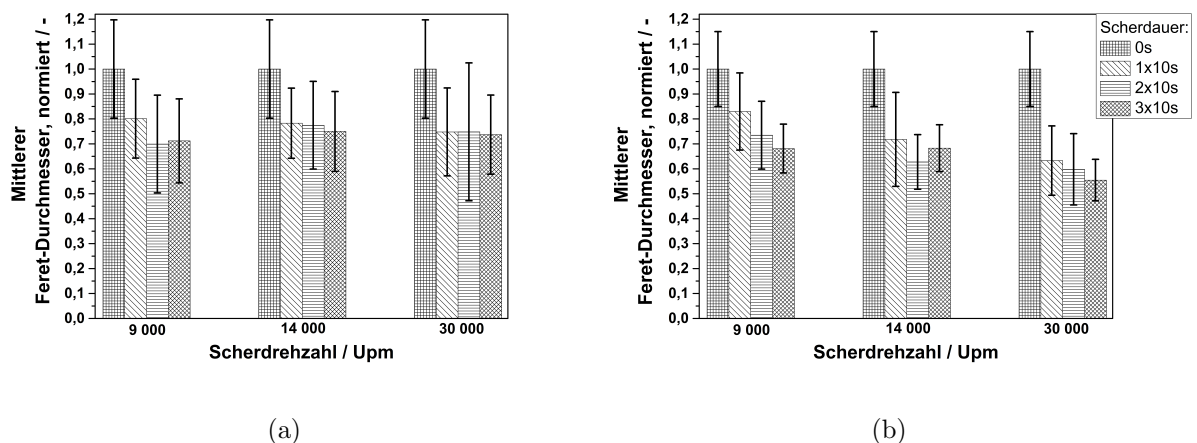


Abbildung 6.5: Normierte mittlere Partikelgröße für die originale (a) und konzentrierte Kristallsuspension (b)

Dabei zeigen sich bei der konzentrierten Suspension ausgeprägtere Effekte als bei der Suspension originaler Konzentration. Die originale Konzentration zeigt keine weitere Ver-

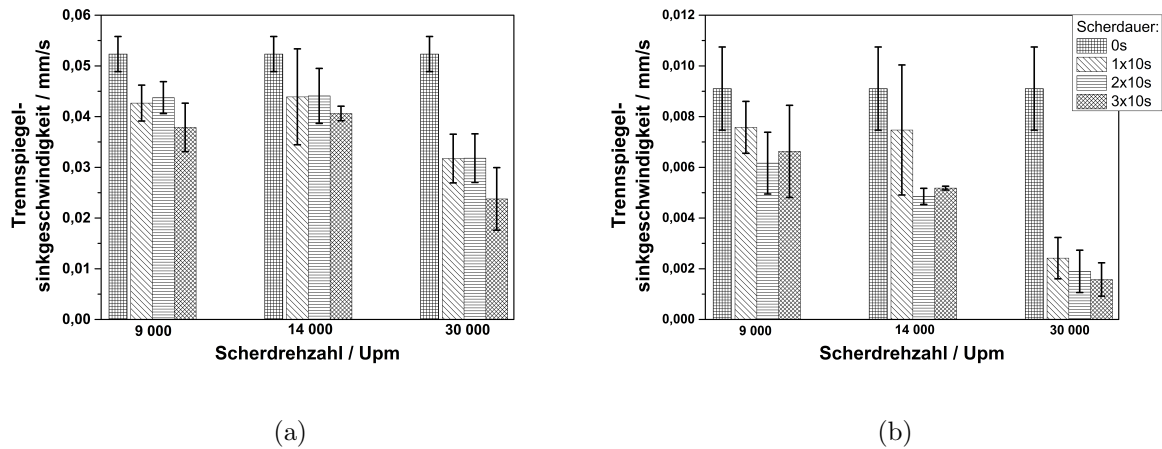


Abbildung 6.6: Sedimentationsgeschwindigkeit bei Variation der Scherdauer und Scherintensität für die originale (a) und konzentrierte Kristallaggregatsuspension (b)

änderung der Kristallgrößenverteilung bei Verlängerung der Scherzeiten im Gegensatz zur konzentrierten Suspension. Dies lässt sich durch das höhere Zerkleinerungspotential bedingt durch die höhere Kontaktwahrscheinlichkeit erklären. Dabei steigt diese weiter an bei einer längeren Scherdauer. Entsprechend ist die durch Prall zustande kommende Entstehungsrate kleiner Kristalle proportional zum Quadrat der Anzahl an Kristallen [107]. Die hier nicht dargestellten x90-Werte zeigen einen Abfall bei Zunahme der Scherbeanspruchung und Scherzeit, die x10-Werte verändern sich nur geringfügig.

Folgend sollen nun die Auswirkungen von Scherbeanspruchung, Scherdauer und Konzentration auf das Kristallkollektiv diskutiert werden. Das Sedimentationsverhalten kann direkt in Zusammenhang mit der Zerkleinerung der Kristalle gesetzt werden. Für die originale Konzentration wurden die Messungen im Erdschwerefeld durchgeführt und für die sehr langsam sedimentierende konzentrierte Kristallsuspension im Zentrifugalfeld. Die sich ergebenden Sedimentationsprofile waren sehr gleichmäßig, d.h. bei unterschiedlichen Transmissionswerten wurden dieselben Trennspiegelsinkgeschwindigkeiten ermittelt. Um die Messungen im Erdschwere- und im Zentrifugalfeld miteinander in Zusammenhang setzen zu können wurden die Sedimentationsgeschwindigkeiten aus der LUMiFuge umgerechnet. Allerdings ist ein direkter Vergleich nur bedingt möglich, da während der Zentrifugation auftretende Scherströmungen durchaus zu einer Abrasion der Aggregate führen können.

Abbildung 6.6 stellt die Ergebnisse der (umgerechneten) Sedimentationsgeschwindigkeiten dar. Erwartungsgemäß ist die Trennspiegelsinkgeschwindigkeit bei erhöhter Konzentration geringer, da sich die Partikel gegenseitig in der Sedimentation behindern. Bei Vergleich

Tabelle 6.9: Porositäten der Sedimente bei originaler Konzentration

| Drehzahl / Upm | 10s | 20s | 30s |
|----------------|------------|------------|-------------|
| 9 000 | 0,78 ±0,02 | 0,77 ±0,02 | 0,80 ±0,01 |
| 14 000 | 0,77 ±0,03 | 0,76 ±0,02 | 0,76 ±0,01 |
| 30 000 | 0,81 ±0,04 | 0,82 ±0,01 | 0,87 ±0,002 |

Tabelle 6.11: Porositäten der Sedimente bei konzentrierter Kristallsuspension

| Drehzahl / Upm | 10s | 20s | 30s |
|----------------|-------------|-------------|-------------|
| 9 000 | 0,70 ±0,008 | 0,69 ±0,02 | 0,65 ±0,08 |
| 14 000 | 0,71 ±0,01 | 0,69 ±0,01 | 0,68 ±0,006 |
| 30 000 | 0,71 ±0,002 | 0,72 ±0,001 | 0,73 ±0,002 |

der ungescherten Suspension liegen die Geschwindigkeiten bei $52,33 \mu\text{m/s}$ für die originale Konzentration und bei $9,11 \mu\text{m/s}$ für die konzentrierte Kristallsuspension, d.h. um 83 % niedriger. Bei Zunahme der Schergeschwindigkeit ist außerdem eine weitere Verringerung der Sedimentationsgeschwindigkeiten fest zu stellen. Bei der originalen Konzentration ist dieser Effekt allerdings nur sehr gering bzw. vernachlässigbar im Vergleich zur höher konzentrierten Suspension. Aufgrund der höheren Teilchenzahl pro Volumenelement tritt eine höhere Kontaktwahrscheinlichkeit auf und somit eine ausgeprägtere Zerkleinerung die in eine schlechtere Sedimentation resultiert. Im Falle der konzentrierten Suspension kommt es auch zu einer weiteren Zerkleinerung bei Erhöhung der Scherzeit. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in der originalen Konzentration nur eine geringe Zerkleinerung und folglich ein geringer Einfluss der Scherung auf das Sedimentationsverhalten beobachtbar ist. Weiterer betrachteter Parameter ist die Sedimentporosität, welche sich aus den optischen Sedimentationsdaten berechnen lässt. Die Ausgangsporosität der ungescherten Kristallsuspension betrug für die originale Konzentration $0,76 \pm 0,01$ und für die konzentrierte $0,7 \pm 0,01$. Tabelle 6.9 und 6.11 stellen die Ergebnisse bei unterschiedlichen Scherzeiten und -drehzahlen dar.

Es ist die Tendenz festzustellen, dass die Sedimentporosität mit abnehmender mittlerer Partikelgröße ansteigt. Die höchste Porosität ist jeweils bei Kristallsuspensionen die bei der höchsten Scherintensität und am Längsten beansprucht wurden sichtbar.

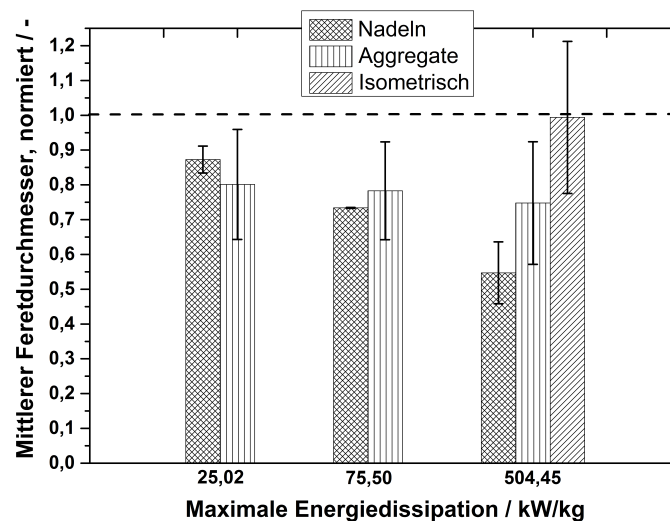


Abbildung 6.7: Vergleich der normierten x50-Werte bei Variation des Energieeintrages und der Kristallstruktur (originale Konzentration, 10 s Scherzeit)

Dies ist vermutlich auf die Auswirkung der Oberflächenkräfte zurück zu führen. Bei abnehmender Partikelgröße steigen die Haftkräfte in Relation zur Partikelmasse und es wird folglich ein poröseres Sediment ausgebildet.

6.5 Vergleich der untersuchten Kristallstrukturen bezüglich ihrer Scherstabilität

6.5.1 Veränderungen der normierten Kristallgröße und des Bruchmechanismus

Abbildung 6.7 stellt zunächst einmal einen Vergleich der drei untersuchten Kristallstrukturen bezüglich ihrer Abhängigkeit des Kristallbruchs von der Energiedissipation bei originaler Konzentration und 10 s Scherzeit dar. Dabei veränderte sich der Wert der mittleren Kristallgröße für die isometrische Kristallform auch bei höchster Scherdrehzahl im Rahmen des Fehlers nicht. Aggregierte Kristalle zeigen jedoch eine Veränderung durch die Scherung aber keine Zerkleinerung mit der Zunahme der Scherintensität. Allein die nadelige Kristallform zeigt eine deutliche Abhängigkeit des Medianwertes vom Energieeintrag. Ursächlich hierfür könnte der Unterschied im Bruchmechanismus sein.

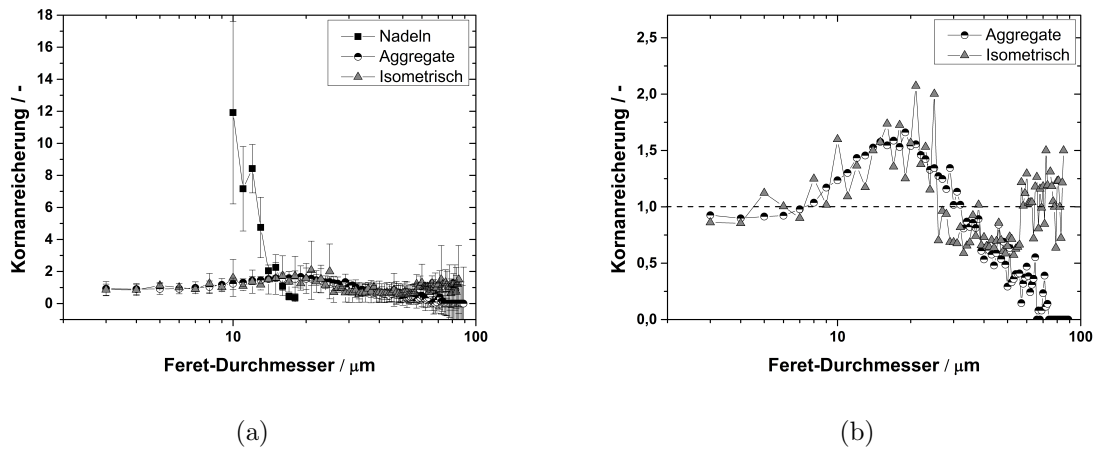


Abbildung 6.8: Kornanreicherungskurven aller Kristallstrukturen nach Scherung für 10s bei maximaler Energiedissipation im Vergleich (a) und aggregierte und isometrische Kristalle im Vergleich (b) (originale Konzentration)

Dargestellt ist ein Vergleich der Bruchmechanismen in Abbildung 6.8 für 10 s Beanspruchung bei maximaler Energiedissipation mit originaler Konzentration. In (a) ist deutlich ersichtlich, dass im Falle nadeliger Kristalle ein vollständiger Bruch dieser zu einer Erhöhung des Feinanteils und Reduktion des Anteils langer Nadeln führt. Aggregate und isometrische Kristallstrukturen zeigen hingegen, wie in Teilabbildung (b) genauer dargestellt, im Wesentlichen eine Erhöhung des Kristallanteils zwischen 10 und 30 μm und eine Erniedrigung des Anteils über 30 μm . Wesentlicher Unterschied zwischen Aggregierten und isometrischen Kristallen ist im Bereich über 60 μm zu finden. Der Anteil isometrischer Kristalle bleibt gleich, bei den aggregierten Kristallen ist eine Abnahme erkennbar. Die bei isometrischen Kristallen sehr gering ausgeprägte und im Rahmen des Fehlers vernachlässigbare Veränderung der Kristallgröße ist bedingt durch leichten Abrieb der Ecken und Kanten der kompakten Struktur. Der deutlichere Abfall der Aggregatgröße durch Scherbeanspruchung ist bedingt durch Abschlagen von Teilen des Aggregats. Die Haftkräfte zwischen den Partikeln scheinen allerdings so hoch zu sein, dass die Aggregate nicht vollständig in ihre Einzelteile zerbrechen. Dies könnte auch die gleichbleibende Partikelgröße bei steigender Scherintensität erklären. Lockere Strukturen der Aggregate brechen weg und die verbleibenden Strukturen weisen zu hohe Haftkräfte auf um eine weitere Zerkleinerung zuzulassen. Weiter zerkleinert werden die Aggregate nur durch Erhöhung der Scherintensität oder Erhöhung der Kontaktwahrscheinlichkeit durch Steigerung der Feststoffkonzentration.

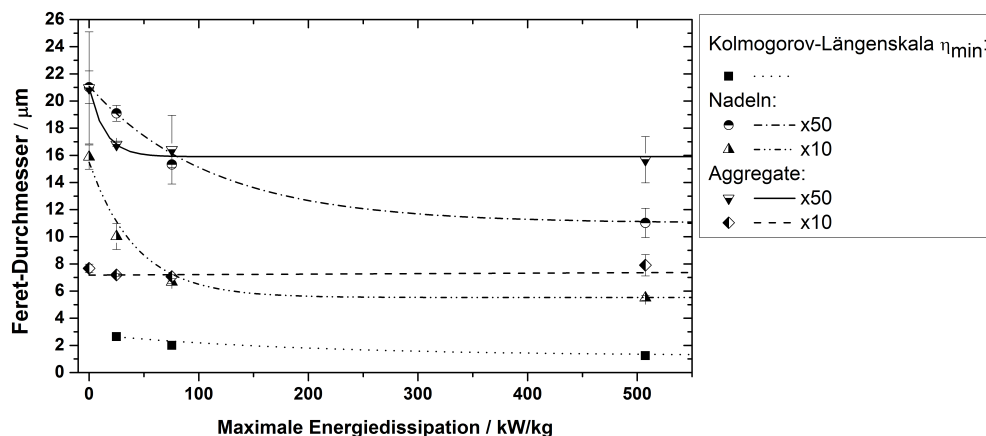


Abbildung 6.9: Charakteristische Werte der Größenverteilungen von nadeligen und aggregierten Kristallen (10 s Scherzeit, originale Konzentration) über maximaler Energiedissipation im Vergleich zur errechneten Kolmogorov-Längenskala

Dies führt direkt zur Frage, ob die Kristalle schon ihre minimale Größe für die eingebrachte Energie bzw. bei den gegebenen Strömungsbedingungen erreicht haben. Als Vergleichswert kann die minimale Kolmogorov-Längenskala herangezogen werden. Abbildung 6.9 zeigt die charakteristischen Größen $\times 50$ und $\times 10$ der Nadeln und Aggregate für 10 s Scherzeit und die errechnete Kolmogorov-Längenskala in Abhängigkeit der maximalen Energiedissipation. Zunächst einmal ist deutlich ersichtlich, dass alle Werte der charakteristischen Größen über der Kolmogorov-Längenskala liegen. Zu berücksichtigen ist aber, dass die minimal messbare Kristallgröße mit der optischen Methode bei $2,4 \mu\text{m}$ liegt, also Kristalle um bzw. unter der Kolmogorov-Längenskala überhaupt nicht erfasst werden können. Dennoch ist davon auszugehen, dass ein Großteil der Kristalle in beiden Systemen über dieser messbaren Größe liegt. Wie zuvor schon beschrieben sinken die charakteristischen Größenparameter bei der nadeligen Kristallstruktur durch einen höheren Energieeintrag noch weiter ab, während sie bei den aggregierten Kristallen nahezu gleich bleiben. Die nur sehr kurzen Beanspruchungszeiten führen weiterhin dazu, dass nur ein Teil der Kristalle die Zone höchster Scherbeanspruchung durchläuft. Für diese These spricht, dass die $\times 10$ -Werte eher der aus der mittleren Energiedissipation berechneten Kolmogorov-Länge entsprechen (Vergleich Tabelle 6.3). Die Medianwerte sind aber immer noch weit entfernt von der Kolmogorov-Länge. Da höhere Scherintensitäten und längere Scherzeiten nicht in Zentrifugen auftreten wurde jedoch von weiteren Versuchen diesbezüglich abgesehen.

6.5.2 Sedimentation und Einfluss auf die Abtrennung in Zentrifugen

Der wesentliche zu diskutierende Punkt ist, inwieweit der beobachtete Kristallbruch nun einen Einfluss auf die Sedimentation und damit auf die Effizienz der Abtrennung in Zentrifugen hat. Wie in Kapitel 6.2 dargestellt haben kurze Scherzeiten bei isometrischen Kristallen auch bei höchster Intensität im untersuchten Konzentrationsbereich keinen Einfluss auf die beobachtete Sedimentationsgeschwindigkeit. Die kompakte Kristallstruktur ist also erwartungsgemäß die am Besten abzutrennende. Die absolute Trennspegelgeschwindigkeit ist ebenfalls die höchste im Vergleich zum aggregierten und nadeligen System, sowohl in der originalen, als auch in der konzentrierten Suspension (siehe Abbildung 6.10). Bei 30 s Scherung ist zwar eine Abnahme der Sedimentationsgeschwindigkeit um ca. 50 % zu sehen, allerdings kann von einer kürzeren Aufenthaltszeit im Bereich sehr hoher Scherkräfte im Einlauf von Zentrifugen ausgegangen werden. Die aggregierten Lysozymkristalle sedimentieren langsamer als die isometrischen, allerdings ist die mittlere Kristallgröße auch nur in etwa halb so groß wie die der isometrischen Kristalle (siehe Tabelle 5.3). Im Einklang mit der Theorie der gehinderten Sedimentation ist eine Reduktion der Geschwindigkeit mit Erhöhung der Feststoffkonzentration für isometrische und aggregierte Kristalle zu beobachten. Allgemein ist bei beiden konzentrierten kristallinen Systemen eine kontinuierliche Abnahme der Trennspegelsinkgeschwindigkeit zu beobachten. Auch ist ein aggregiertes System grundsätzlich schlechter mit zentrifugalen Methoden abzutrennen als ein kompaktes (isometrisches), zum einen bedingt durch die absolut geringere Kristallgröße, zum anderen durch einen höheren Grad an entstehendem Feinanteil durch den Eintrag von Energie.

In Abbildung 6.11 ist nun ein Vergleich des Sedimentationsverhaltens der Aggregate mit den nadeligen Strukturen in originaler Konzentration dargestellt. Mit Erhöhung der Scherdrehzahl ist bei den Nadeln ein sehr deutlicher Abfall der Trennspegelsinkgeschwindigkeit zu sehen. Die dargestellten Trennspegelsinkgeschwindigkeiten der Aggregate sind hier im Erdschwerefeld bestimmt, die der Nadeln im Zentrifugalfeld. Die detektierten Geschwindigkeiten für die Nadeln wurden umgerechnet in das Erdschwerefeld um Vergleiche ziehen zu können. Zu bedenken ist allerdings, dass auftretende Scherströmungen im Zentrifugalfeld nicht unbedingt vergleichbar sind mit den Strömungen im Erdschwerefeld. Die Bruchempfindlichkeit der Nadeln spricht für einen höheren Bruchanteil durch Scherströmungen im Zentrifugalfeld. D.h. bei reiner Sedimentation im Erdschwerefeld könnten die Sedimentationsgeschwindigkeiten leicht höher sein. Der Unterschied in der Absolutgeschwindigkeit zwischen Nadeln und Aggregaten spricht aber dafür, dass auch bei einer Detektion der

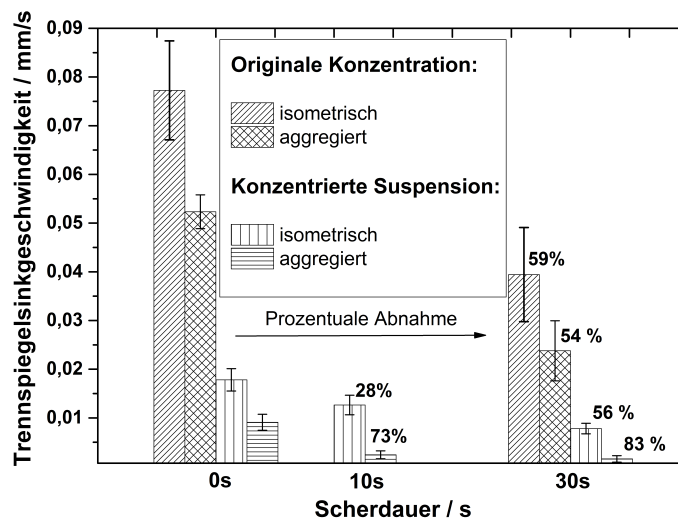


Abbildung 6.10: Vergleich der Sedimentationsgeschwindigkeiten von isometrischen und aggregierten Kristallen bei maximaler Scherintensität und unterschiedlicher Scherzeit und Konzentration

Trennspiegelsinkgeschwindigkeit im Erdschwerefeld die Nadeln langsamer sedimentieren als die Aggregate. Von allen kristallinen Systemen weisen die Nadeln die langsamste Sedimentation und die größte Abnahme der Sedimentationsgeschwindigkeit mit steigender Energiedissipation auf. Dies korreliert mit den Beobachtungen in der Veränderung der Partikelgröße.

Schließlich wurde der Versuch unternommen Korrelationen herzustellen zwischen dem Kristallbruch bzw. der Abriebsrate mit den Parametern Feststoffkonzentration, Scherzeit und Energiedissipation. Aufgrund der ausgeprägten Schwankungen und der geringen Anzahl an Messpunkten wurde von einer Darstellung der Ergebnisse an diesem Punkt abgesehen. An den maximal drei Datenpunkten lassen sich keine Anpassungsfunktionen bezüglich der Abriebsraten entwickeln. Eine Überlagerung der Effekte des Kristallbruchs durch Kristall-Kristall-Kontakte und Turbulenz macht es ebenfalls schwierig, auch bei einer ausreichenden Anzahl an Datenpunkten, den Abrieb mit den variierten Parametern zu korrelieren. Die Vorausberechnungen der Sedimentationsgeschwindigkeiten aus den Partikelgrößen führte mit dem Ansatz von Richardson und Zaki zu deutlichen Abweichungen (bei konzentrierten Systemen um ein Drittel höhere Sedimentationsgeschwindigkeiten), weshalb hiervon auch abgesehen wurde. Dieser Ansatz basiert auf kugelförmigen und eng verteilten partikulären Systemen, welche hier nicht gegeben sind.

Es bleibt fest zu halten, dass bei solch komplexen Systemen Experimente notwendig sind

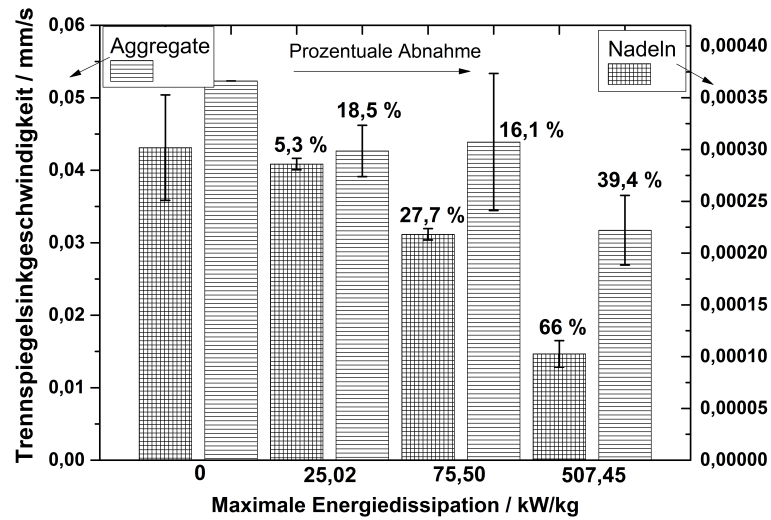


Abbildung 6.11: Vergleich der Sedimentationsgeschwindigkeiten von nadeligen und aggregierten Kristallen bei Steigerung der Scherintensität, 10 Sekunden Scherzeit und originaler Konzentration

um Aufschluss zu erhalten über den Kristallbruch und den Einfluss auf die Sedimentationsgeschwindigkeit.

7 Kristallbruch unter Druckbeanspruchung im Haufwerk und Einfluss auf die Filtrationseigenschaften

7.1 Übersicht der Filtrationsversuche

Im Folgenden werden die drei produzierten kristallinen Strukturen, tetragonal isometrisch, nadelig und aggregiert, auf ihre mechanische Stabilität gegenüber Druck untersucht. Bezüglich der Größenverteilungen der hergestellten Kristallsuspensionen sei auf Tabelle 5.1 verwiesen. Wichtige untersuchte Einflussparameter sind der Pressdruck und die Presszeit. Kristallbruch und sich durch Umordnungsvorgänge verändernde Spannungszustände im Haufwerk können einer Zeitabhängigkeit unterliegen, daher war die Untersuchung dieses Einflussparameters von Interesse. Da bei niedrigen Pressdrücken, wie in Kapitel 4.4 schon beschrieben, die Druckbeanspruchung in einer CP-Zelle aufgrund von Reibungseffekten nicht möglich war wird noch beurteilt inwieweit sich Ergebnisse aus den Drucknutschenversuchen in die CP-Zellendaten einfügen. Folgend sind die variierten Parameter für die jeweiligen Kristallisationsansätze aufgeführt:

- Kompakte isometrische Kristalle
 - Ansatz A:
 - * Variation Presszeit (1 min, 10 min, 1080 min) bei 1 bar realem Pressdruck in der CP-Zelle
 - * Variation Pressdruck (0,25 bar, 0,5 bar und 1 bar) in der Drucknutsche
 - Ansatz B: Variation Pressdruck (1 bar, 2 bar, 4,5 bar) bei Presszeit von 1080 min in der CP-Zelle

- Nadelige Kristalle: Variation Pressdruck (1 bar, 2 bar, 4,5 bar) bei Presszeit von 1080 min in der CP-Zelle
- Aggregierte Kristalle: Variation von Pressdruck (1 bar, 2 bar, 4,5 bar) und Presszeit (1 min, 10 min, 60 min) in der CP-Zelle

Zur Beurteilung der Filtrationseigenschaften wurde der Filterkuchenwiderstand, die Porosität und, aus der Entwicklung der Kucheneigenschaften über dem Pressdruck, die Kompressibilität herangezogen. Der auftretende Kristallbruch bei der Kompression wurde mittels normierten charakteristischen Werten der Größenverteilung und der Kornanreicherungskurve beurteilt.

7.2 Vorversuche

Ermittlung der realen Pressdrücke

Um die Abhängigkeit des Kristallbruchs vom Druck sinnvoll erfassen zu können, ist es essentiell den real am Haufwerk anliegenden Druck zu ermitteln. Wie schon erwähnt gibt es bei der CP-Zelle Reibungsverluste in den Leitungen, am Pneumatikkolben und besonders zwischen Stempel und Kuchenbildungsring, welche den vom Presskolben aufgeprägten Druck vermindern. Ermitteln lässt sich der reale Druck mit Hilfe eines Wasserversuchs, dazu wird der Kuchenbildungsring anstelle von Suspension mit Wasser befüllt. Das System wird nach Aufsetzen des Kolbens auf den Wasserspiegel komplett verschlossen und Druck wird über den Presskolben aufgegeben. An einem am Pressstempel angebrachten Schlauch ist ein Drucksensor angeschlossen, welcher dann einen Druck registriert. Da Wasser im betrachteten Druckbereich als inkompressibel angenommen werden kann entspricht dieser Druck dem schließlich an der Kuchenoberfläche anliegenden Druck. Die realen Pressdrücke wurden bestimmt zu 1,01 bar bei 1,5 bar angelegtem Druck, 2,05 bar bei 2,5 bar und 4,50 bar bei 5,0 bar.

Ermittlung der Verdunstungsrate

Der mit Wasser gefüllte Filtratbehälter weist eine relativ große Oberfläche auf, d.h. während der bis zu über 10 h andauernden Konsolidierung des Filterkuchens kann auch ein erheblicher Teil an Wasser verdunsten. Dies würde die Filtratbilanz verfälschen. Daher wird ein Vorversuch durchgeführt um die Verdunstungsrate zu bestimmen, welche dann von den ermittelten Filtratströmen abgezogen werden kann. Dafür wird der mit Wasser

befüllte Auffangbehälter auf eine Waage gestellt und die Massenänderung erfasst und ausgewertet.

Bestimmung des Filtermittelwiderstandes

Durchströmexperimente lassen nur eine Bestimmung des gesamten Widerstands aus zwei Membranen und dem Kuchenwiderstand zu. Daher ist es notwendig den Widerstand der Membranen zu bestimmen. Der wie folgt bestimmte Membranwiderstand kann anschließend vom ermittelten Gesamtwiderstand abgezogen werden und es ergibt sich der Filterkuchenwiderstand.

Zur Bestimmung des Membranwiderstands werden zwei Membranen übereinander gelegt und mit VE-Wasser durchströmt. Jede Membran wird drei mal durchströmt und dreimal werden neue Membranen eingelegt. Aus diesen so ermittelten Widerstandswerten (über Darcy-Gleichung) kann ein Mittelwert gebildet werden. Der Versuch wird bei drei Druckstufen, welche den realen Pressdrücken in der CP-Zelle entsprechen, durchgeführt. Dies hat den Hintergrund, dass die Membranporen sich unter Druckbelastung deformieren können und so ein anderer Widerstand für höhere Drücke ermittelt werden kann.

Nullspaltnessung

Der Nullspalt gibt die Ausgangsposition des Kolbens bzw. des Pressstempels bei Kontakt der oberen mit der unteren Membran an. Der Offsetwert bzw. der Nullwert ist abhängig vom aufgeprägten Druck, da sich die Materialien der Bauteile der CP-Zelle unterschiedlich stark verformen. Daher wird dieser Offsetwert bei den drei aufgeprägten Drücken in Dreifachbestimmung ermittelt. Dazu wird zunächst der höchste Pressdruck vorgegeben und nach 30 Minuten der Offsetwert aus der Messwerterfassung ausgelesen. Anschließend wird der Druck reduziert und nach 15 Minuten der veränderte Offsetwert aufgenommen.

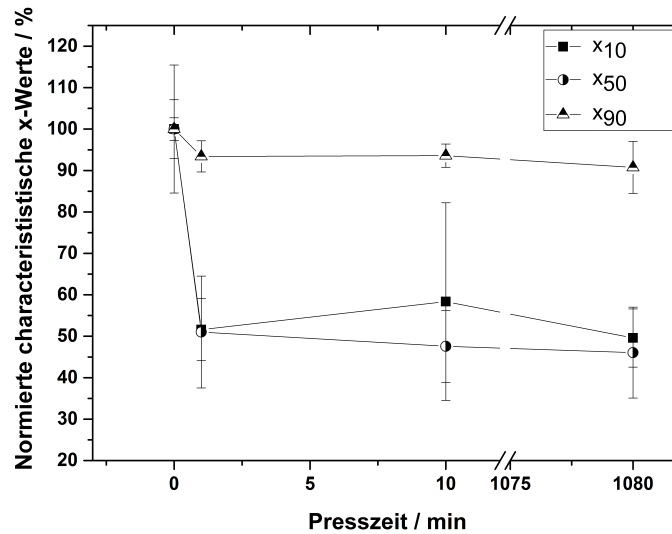


Abbildung 7.1: Normierte charakteristische x-Werte des Ansatzes A als Funktion der Presszeit

7.3 Einfluss der Presszeit auf die Filtrationseigenschaften und Kristallgrößenverteilungen isometrischer Kristalle

7.3.1 Kristallgrößenverteilung

Um die Kristallgrößenverteilung während der Pressbeanspruchung evaluieren zu können wurden die charakteristischen Größen der Verteilungen bei 1,01 bar von Ansatz A (vgl. Kapitel 5) in Abbildung 7.1 miteinander verglichen.

Schon nach einer Minute Presszeit nimmt der Feret-Durchmesser signifikant ab. Eine längere Presszeit führt hier nicht zu einer weiteren wesentlichen Verschiebung der charakteristischen Werte, bzw. die Verschiebung ist im Bereich der Standardabweichung. Dieses Verhalten führt zu dem Schluss, dass die absolute Intensität der Belastung und weniger die Dauer der Belastung der entscheidende Faktor für Kristallbruch ist. Weiterhin kann beobachtet werden, dass der x90-Wert, also die großen Kristalle, weniger stark abnimmt als die x50- und x10-Werte. Dies weist darauf hin, dass nur die Ecken und Kanten der großen Kristalle brechen. Dies wird im weiteren Verlauf der Diskussion bei der Beurteilung des generellen Bruchverhaltens bestätigt. Bruch von Ecken der großen Kristalle hat keinen signifikanten Einfluss auf die Größe der großen Kristalle, aber reduziert die x10-

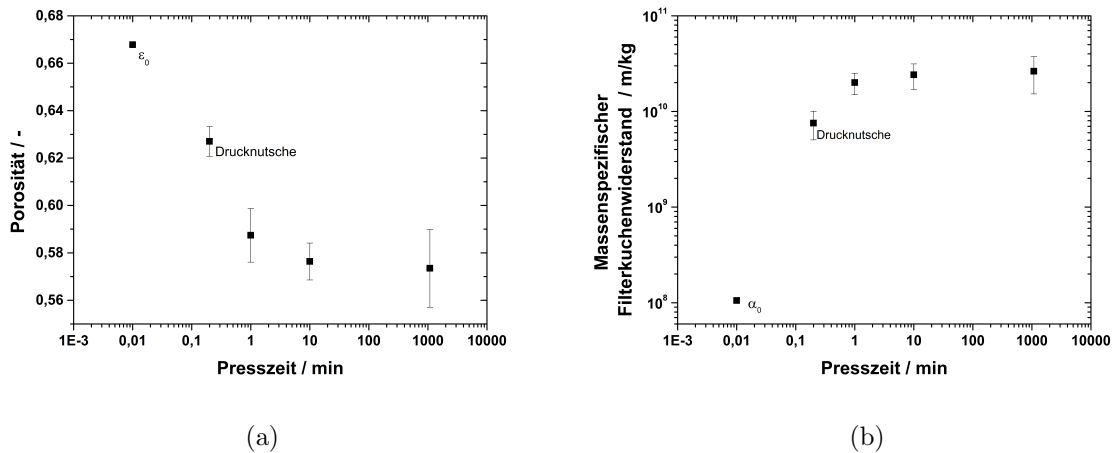


Abbildung 7.2: Porosität (a) und massenspezifischer Filtrationswiderstand (b) als Funktion der Presszeit des Ansatzes A, die Daten für unter einer Minute Presszeit sind aus Drucknutschenversuchen ergänzt bzw. die Werte der Nullporosität Φ_0 und des Nullwiderstands α_0 wie in Kapitel 4.4.3 beschrieben

und x50-Werte. Das heißt der Feinanteil erhöht sich, was zu einer Erhöhung des Filterkuchenwiderstands beitragen kann. Jedoch ist auch zu berücksichtigen, dass kleine Kristalle unwahrscheinlicher brechen aufgrund der Spannungszustände im Haufwerk (siehe Dissertation Mütze [72]). Partikelbruch führt also dazu, dass weiterer Partikelbruch verhindert wird.

7.3.2 Filtrationseigenschaften

Die Porosität der Filterkuchen in der CP-Zelle gegen die Presszeit ist in Abbildung 7.2 dargestellt. Der Wert nach 12 s ist über ein Experiment in der Drucknutsche bestimmt worden bei 1 bar Druckdifferenz. Ein steiler Abfall der Porosität ist über die erste Minute der Druckbeaufschlagung sichtbar. Während dieser ersten Minute Filtrationszeit wird der Kuchen aus einer eingedickten Kristallsuspension gebildet. Mit ansteigender Presszeit wird der Kuchen weiter komprimiert. Bei Betrachtung der Porositätsdaten mit den Werten der Größenverteilung zusammen werden keine weiteren Änderungen der KGV nach der ersten Minute beobachtet. Dies führt zu dem Schluss, dass eine ansteigende Kompaktierung des Kuchens eher zu einer Umordnung des Partikelsystems führt und nicht zu weiterem Bruch. Der in der CP-Zelle bestimmte massenspezifische Widerstand ist in Abbildung 7.2 ebenfalls über die Presszeit dargestellt. Passend zu der Entwicklung der Porosität ist innerhalb der ersten Minute ein starker Anstieg zu beobachten. Im Gegensatz zur

Porosität ist allerdings nur ein geringfügiger weiterer Anstieg bis 10 Minuten Presszeit zu beobachten bevor der Widerstand stagniert. Für die untersuchte Druckstufe ist der Kuchen also konsolidiert nach 10 Minuten Presszeit. Der Einfluss des Druckes auf den Kuchen wird in den folgenden Kapiteln diskutiert.

7.4 Kuchenstrukturanalyse mit 3D Laser Scanning Mikroskopie (LSM)

Um Einblicke in die Bruchprozesse während der Beanspruchung von Filterkuchen zu bekommen wurden LSM Bilder der gesättigten Kuchen gemacht. Bilder von der Oberseite und dem Boden des Kristallkuchens des Ansatzes A werden in Abbildung 7.3 gezeigt.

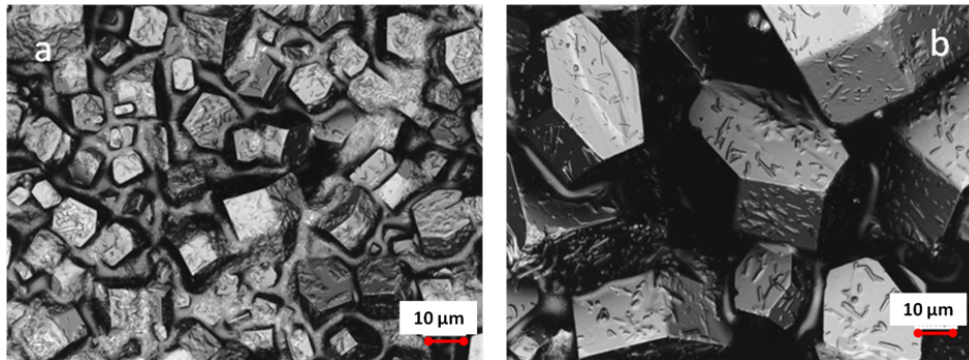


Abbildung 7.3: Mit einem 100x Objektiv aufgenommene LSM-Bilder eines bei 1 bar für 16 Stunden gepressten Filterkuchens isometrischer Lysozymkristalle des Ansatzes A. (a) zeigt die Oberseite und (b) die Unterseite des Kuchens

Zunächst einmal sind auf den ersten Blick keine gebrochenen Kristalle sichtbar. Dies heißt, dass Kristallbruch mit dieser Messmethode nicht bewiesen und bewertet werden kann. Ursächlich hierfür kann sein, dass nur ein kleiner Ausschnitt des gesamten Kuchens berücksichtigt wird und gebrochene Partikel könnten sich auch im Inneren des Kuchens befinden. Allerdings zeigen uns die aufgenommenen Bilder ein anderes Phänomen. Die Oberfläche des Kuchens besteht hauptsächlich aus kleinen Kristallen mit einem mittleren Durchmesser um die $14 \mu\text{m}$, während die Unterseite aus Kristallen mit einem mittleren Durchmesser von ca. $44 \mu\text{m}$ besteht. Dies weist auf das Auftreten einer klassierenden Sedimentation während der Kuchenbildung hin. Um die Porosität und den Durchströmungswiderstand zu berechnen wurden nun Formeln verwendet, die einen homogenen Filterkuchen annehmen (Mittelwerte der Porosität und des Widerstandes über den gesamten Kuchen). Die Inhomogenitäten des Filterkuchens könnten die relativ hohen Standardabweichungen der

Filterkucheneigenschaften erklären (siehe Abbildung 7.2). Eine weitere Eindickung der Suspensionen würde helfen Klassierung zu verhindern. Allerdings wurde davon abgesehen, da die Untersuchung des realen Bruchverhaltens unter „realen“ Filtrationsbedingungen bzw. mit Kristallsuspensionen realistischer Feststoffanteile erfolgen soll. In konventionellen Proteinkristallisationsprozessen werden sogar noch geringere Konzentrationen erreicht als es hier der Fall war und Klassierung wird auf jeden Fall auftreten. Interessanterweise wurde eine klare Sedimentationsfront bei der optischen Sedimentationsanalyse für die α_0 Bestimmung beobachtet. Dies spricht auf den ersten Blick für eine Zonensedimentation. Diese Beobachtungen könnten durch das Beschreibungsmodell der Sedimentation polydisperser Systeme von Mirza und Richardson [68] erklärt werden. Das Modell kann angewandt werden auf Suspensionen mit einem Feststoffanteil von weniger als 40 %, was auf unser System mit einer Konzentration von 12 % zutrifft. Entsprechend zu Mirza und Richardson existieren N scharf getrennte Zonen für ein Partikelsystem mit N Größenfraktionen. Jeder Suspensionszone kann eine Partikelfraktion zugeordnet werden. Die Ursache hierfür ist, dass die Feststoffkonzentration in höheren Sedimentationszonen geringfügig niedriger ist als in niedrigeren und dass Partikel in höheren Zonen schneller sedimentieren als in tieferen. Dies führt zu einer Konzentration einzelner Partikelfraktionen in den Schichten. In den unteren Schichten sind folglich alle Partikelklassen sichtbar, während nur feine Partikel in den oberen Schichten gefunden werden können. Als eine Konsequenz der beobachteten Klassierung im Filterkuchen muss sehr darauf geachtet werden die Proben für die Kristallgrößenverteilung über die gesamte Kuchenhöhe zu nehmen.

7.5 Bruch isometrischer Lysozymkristalle bei kleinen Drücken

7.5.1 Kristallgrößenverteilung

Abbildung 7.4 zeigt die Veränderung der charakteristischen x -Wert der Verteilung als Funktion des Pressdruckes bei kleinen Differenzdrücken. Wie erwartet nehmen die charakteristischen Werte mit ansteigendem Druck ab. Schon bei geringen Drücken von 0,25 bar tritt Partikelbruch auf und nimmt bei höheren Drücken an Ausprägung zu. Die geringfügige Abnahme der x_{90} -Werte und die starke Abnahme der x_{10} -Werte führen zu dem Schluss, dass hauptsächlich Teile von großen Partikeln abbrechen und kein vollständiger Partikelbruch auftritt. Die sehr leichte Abnahme der x_{90} -Werte weist auch auf zwei weitere Phänomene hin. Da Klassierung auftritt finden sich die großen Kristalle haupt-

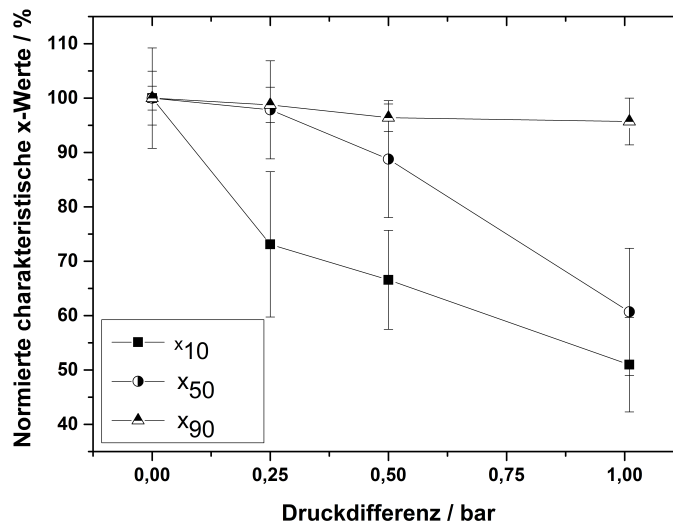


Abbildung 7.4: Normierte x-Werte der isometrischen Kristalle (Ansatz A) als Funktion des Differenzdrucks (Drucknutsche)

sächlich im unteren Teil des Kuchens. Da nun die Beanspruchung über die Kuchenhöhe nicht gleichmäßig ist bzw. der Feststoffgerüstdruck über die Höhe abnimmt (nach Lu und Huang [60]) werden diese auch weniger beansprucht. Es könnte sein, dass die Bruchkraft in den unteren Schichten des Kuchens nicht überstiegen wird. Das zweite Phänomen ist, dass das unbeanspruchte Konzentrat einen wesentlichen Anteil an kleinen Partikeln enthält. Kleine Partikel können eine Schutzfunktion für die großen Partikel ausüben indem sie an deren Oberfläche anhaften. Als Folge ist die Last auf den großen Partikel in kleinere Maximallasten aufgeteilt die nicht ausreichen um den Kristall zu brechen (siehe Mütze 2011 [72]).

7.5.2 Filtrationseigenschaften

Die Porosität und der massenspezifische Kuchenwiderstand sind als Funktion des Differenzdruckes in Abbildung 7.5 dargestellt. Die Porosität nimmt mit ansteigendem Differenzdruck ab und der Widerstand zu, wie erwartet. Mit höherem Druck wird der Kuchen kompaktiert und das freie Porenvolumen nimmt ab. Weiterhin nimmt das Ausmaß des Partikelbruches mit steigendem Druck zu, was vorhergehend gezeigt wurde, und die entstehenden feinen Partikel können die Hohlräume ausfüllen. Folglich nimmt die freie Fläche der Filterkuchenporen ab und der Flusswiderstand nimmt zu.

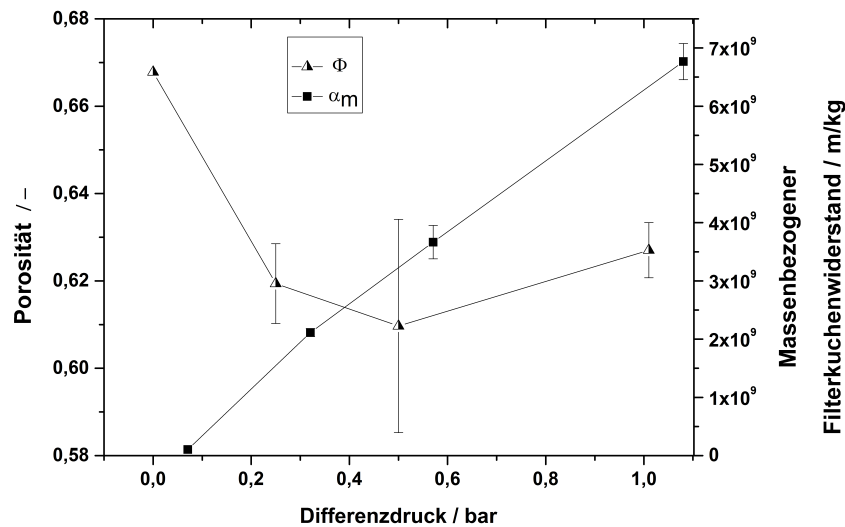


Abbildung 7.5: Porosität und Kuchenwiderstand als Funktion der Druckdifferenz für einen Filterkuchen aus kompakten isometrischen Kristallen (Ansatz A)

7.6 Vergleich der Filtration von isometrischen Kristallen bei niedrigen und hohen Differenzdrücken

Wie Abbildung 7.6 zeigt, stimmen die Ergebnisse aus der Drucknutsche und der CP-Zelle relativ gut übereinander ein. Allerdings gibt es auch teilweise Abweichungen. Erstens ist das ein Ergebnis der Unterschiede der Kristallisationsansätzen A und B, welche in Verteilungsbreite, Größe und Anfangskristallkonzentrationen unterschiedlich sind (vgl. Tabelle 5.1). Wenn nur die Experimente des Ansatzes A untereinander verglichen werden, sind die Unterschiede schwächer ausgeprägt. Weiterhin unterscheidet sich die Filtration in der Drucknutsche und CP-Zelle zu einem gewissen Anteil. Die Kuchenbildungseinheit in der Drucknutsche besteht aus Edelstahl, während die Einheit der CP-Zelle aus Plexiglas ist. Dies kann zu Unterschieden in der Wandreibung und daraus folgend zu Unterschieden in den Filtrationseigenschaften, speziell für sehr kleine Filterflächen, führen [110]. Dazu kommt, dass sich die Filtrations- bzw. Presszeiten in den beiden Filtrationsapparaten unterscheiden. In der Drucknutsche werden die Kuchen innerhalb von einigen Sekunden anfiltriert, in der CP-Zelle für einige Stunden konsolidiert um eine vollständige Konsolidierung zu gewährleisten. In der Drucknutsche kann eine vollständige Konsolidierung nicht angenommen werden. Dies erklärt die höheren Porositäten und geringeren Widerstände des in der Drucknutsche gebildeten Kuchens.

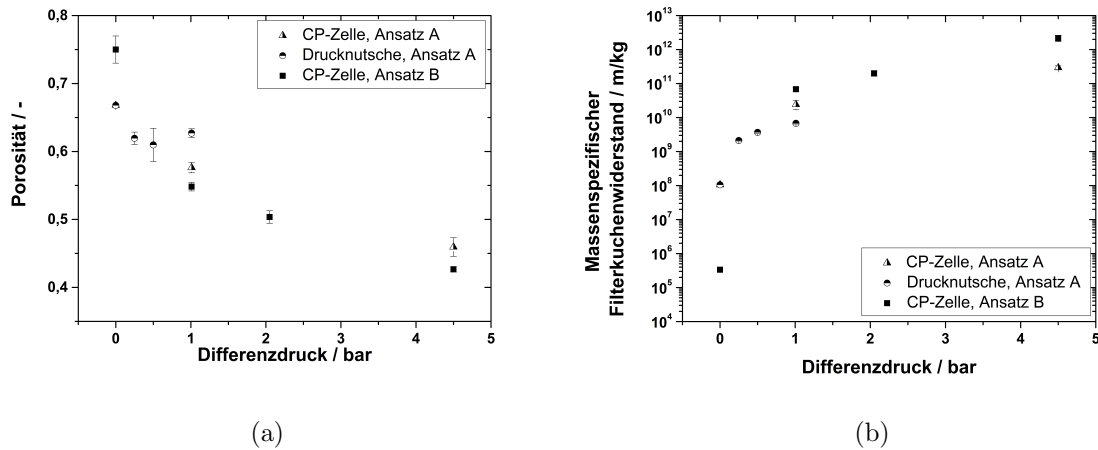


Abbildung 7.6: Vergleich der Porositäten (a) und massenspezifischen Kuchenwiderstände (b) der bei niedrigen (Drucknutsche) und hohen Pressdrücken (CP-Zelle) beanspruchten Filterkuchen von isometrischen Kristallen

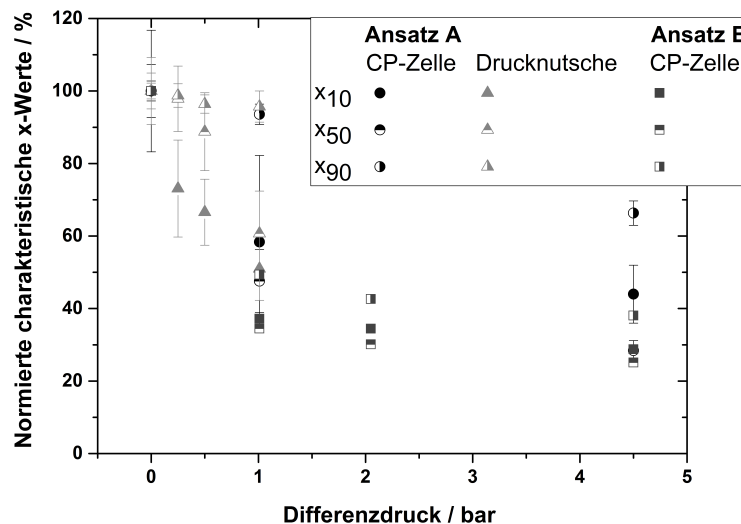


Abbildung 7.7: Vergleich der normierten charakteristischen x-Werte der Filterkuchen von Ansatz A und B (isometrische Kristalle) bei niedriger (Drucknutsche) und hoher (CP-Zelle) Druckbeanspruchung

Abbildung 7.7 zeigt die Veränderung der charakteristischen normierten x -Werte der Nutschen und CP-Zelle Versuche im Vergleich. Die Ergebnisse der Drucknutsche zeigen, dass der Partikelbruch kontinuierlich von 0,25 - 1 bar zunimmt. Bei einer Druckdifferenz von 1 bar wird eine Art Bruchlimit erreicht, bei dem die Partikelgröße sich nicht mehr wesentlich weiter verändert. Die Kristallgröße nimmt ab und je kleiner die Kristalle sind, desto stabiler ist der Kuchen. Die Kristalle können der anliegenden Spannung widerstehen. Dies rührt von den sich veränderten Spannungszustand im Kuchen her. Die Druckkraft wird bei zunehmender Zerkleinerung über mehr Punktkontakte verteilt und damit kleiner für jeden einzelnen Kontaktpunkt (siehe Dissertation Mütze [72]). Weiterhin unterscheiden sich die normierten x -Werte für die CP-Zelle und Drucknutsche bei 1 bar Differenzdruck für Ansatz A und B, wie dies auch für die Filtrationskennwerte schon gezeigt wurde. Dies könnte verursacht sein durch eine Abweichung der Kristallgrößenverteilungen der unbeanspruchten Kristallkollektive. Ansatz A beinhaltet eine höhere Feinfraktion, welche die großen Kristalle schützen kann, wie zuvor schon erklärt. Zusätzlich beinhaltet das Kollektiv des Ansatzes B aggregierte Kristalle, welche wesentlich sensibler auf Druckbeanspruchung reagieren als kompakte Kristalle. Dies wurde anhand von Einzelkornbelastungsversuchen nachgewiesen. Für Aggregate beträgt die durchschnittliche Bruchkraft $76,4 \mu\text{N} \pm 50,5 \mu\text{N}$ und für die kompakten isometrischen Kristalle $238,3 \mu\text{N} \pm 124,5 \mu\text{N}$ (vgl. Kapitel 4.2). Eine höhere Feinfraktion des Ansatzes A führt außerdem zu einer Klassierung des Kuchens, was zu einer Akkumulation von großen Kristallen in den unteren Kuchenschichten führt (siehe Kapitel 7.4). In den unteren Schichten des Kuchens ist die Belastung des Kristalls durch die inhomogenen Spannungen und Reibungsverluste im Kuchen geringer. Für den Ansatz A nimmt folglich der x_{90} Wert weniger ab. Ein Vergleich der Veränderungen der Kristallgröße für denselben Kristallansatz (siehe Abbildung 7.7) bei ein bar Druckdifferenz in der Nutsche und in der CP-Zelle zeigt eine gute Übereinstimmung der Werte. Dies bestätigt die Annahme, dass die Abweichung der normierten x -Werte hauptsächlich durch die Abweichungen der Ausgangskristallgröße der beiden Ansätze zu erklären ist. Weiterhin kann der Schluss gezogen werden, dass das kompressible Verhalten der Lysozymkristallkuchen zum Teil durch Kristallbruch aufgrund von Überschreiten der Materialstärke schon ab 0,25 bar verursacht ist. Sicherlich ist dieser Beitrag zur Kompressibilität nur einer von vielen und überlagert durch Umordnungsvorgänge, speziell bei kleinen Drücken.

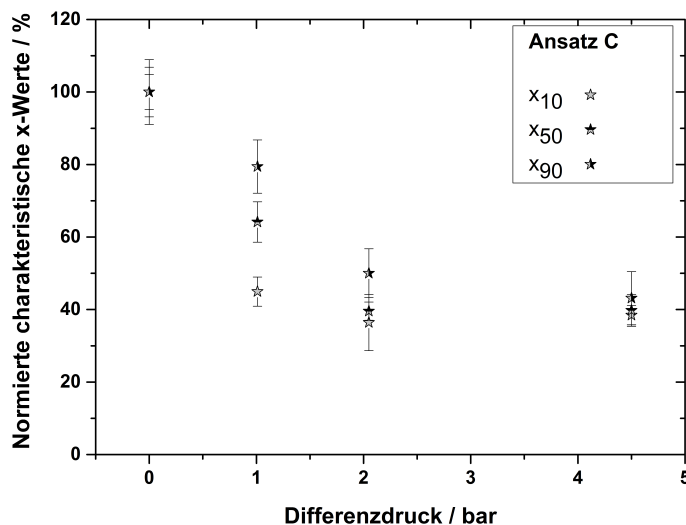


Abbildung 7.8: Veränderung der Partikelgröße der nadelförmigen Kristalle über den untersuchten Druckbereich

7.7 Vergleich des Filtrationsverhaltens von nadelförmigen und isometrischen Lysozymkristallen

7.7.1 Kristallgrößenverteilung

Die Kristallgröße (bzw. -länge) von Lysozymkristallen nadeliger Struktur in den gepressten Filterkuchen nahm mit ansteigendem Druck ab, was zu erwarten war (siehe Abbildung 7.8). Mit Drücken höher als 2 bar erreichte die Größe der Kristalle einen konstanten Bereich. Weiterhin nähern sich die charakteristischen x-Werte einander an, d.h. die Größenverteilung verschmälert sich bei ansteigendem Druck. Dies weist darauf hin, dass ein Bruchlimit für den untersuchten Druckbereich erreicht wurde. Bestätigt wird dies durch den Fakt, dass die Abnahme des x10-Wertes schon bei 1 bar Druckdifferenz stagniert. Das bedeutet, dass keine kleinen Partikel mehr entstehen, das heißt, von den großen Partikeln abbrechende Ecken und Kanten sind nicht kleiner als die minimale Größe. Beide kristalline Systeme, nadelig und isometrisch, zeigen eine Reduktion der Kristallgröße mit ansteigendem Druck (sich Abbildung 7.7 und 7.8). Zusätzlich ist eine Stagnation der Größenverteilungen ab 2 bar Druckdifferenz für beide Systeme sichtbar. Bei Betrachtung der Kristallform wurde eine höhere Empfindlichkeit der nadeligen Kristallform gegenüber Bruch vermutet. Dies kann so direkt nicht durch die Experimente nachgewiesen werden. Die prozentuale Abnahme der normierten charakteristischen x-Werte unterscheiden sich

Tabelle 7.1: Vergleich der absoluten Partikelgrößen der nadeliger und isometrischen Kristalle vor und nach der Druckbeanspruchung

| Druckdifferenz / bar | x50 nadelig / μm | x50 isometrisch (Ansatz B) / μm |
|----------------------|-----------------------------|--------------------------------------------|
| unbelastet | $16,4 \pm 0,8$ | $48,7 \pm 1,6$ |
| 1,01 | $10,5 \pm 0,8$ | $16,8 \pm 3,0$ |
| 2,05 | $6,4 \pm 0,4$ | 14,68 |
| 4,50 | $6,5 \pm 0,6$ | 12,24 |

nicht wesentlich zwischen Nadeln und isometrischen Kristallen. Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung findet sich im Vergleich der absoluten Partikelgrößen (Vergleich Tabelle 7.1)

Schon im unbeanspruchten Zustand sind die nadelige Kristalle kleiner als die isometrischen. Beim Vergleich der absoluten Größen muss außerdem berücksichtigt werden, dass Längenverteilungen gemessen wurden. Bei einem Vergleich der volumenbezogenen Verteilungen wären die Unterschiede noch deutlicher. Bruch von kleinen Partikeln braucht prinzipiell eine höhere auf den Kuchen wirkende Kraft, da die Kontaktpunkte zwischen den Kristallen zunehmen und folglich die Maximallast auf einen Punkt sinkt, wie zuvor schon erklärt. Zusätzlich bewegen sich die Partikel mehr auf das physikalische Bruchlimit (die Kristallgröße betreffend) hin. Mit abnehmendem Kristalldurchmesser wird das mechanische Verhalten plastischer und Bruch wird unwahrscheinlicher. Ebenfalls ist es kleinen Partikeln leichter möglich durch Umlagerung der Belastung auszuweichen, vor allem wenn das Haufwerk eine hohe Porosität aufweist und den Partikeln somit genügend „Freiraum“ zur Verfügung steht. Ein weiterer wichtiger Faktor ist die Orientierung der Nadeln im Filterkuchen. Wenn diese vertikal positioniert sind ist Kristallbruch wahrscheinlicher als in einer horizontalen Anordnung. Wenn der Presskolben sehr langsam auf den Kuchen gefahren wird, wie es z.B. bei 1 bar Differenzdruck der Fall ist, bleibt genügend Zeit für die Partikel sich anzuordnen. Bei hohen Presskolbengeschwindigkeiten, wie z.B. bei 4,5 bar Pressdruck, bleibt für eine Umordnung wenig Zeit und die Bruchwahrscheinlichkeit von vertikal positionierten Nadeln steigt.

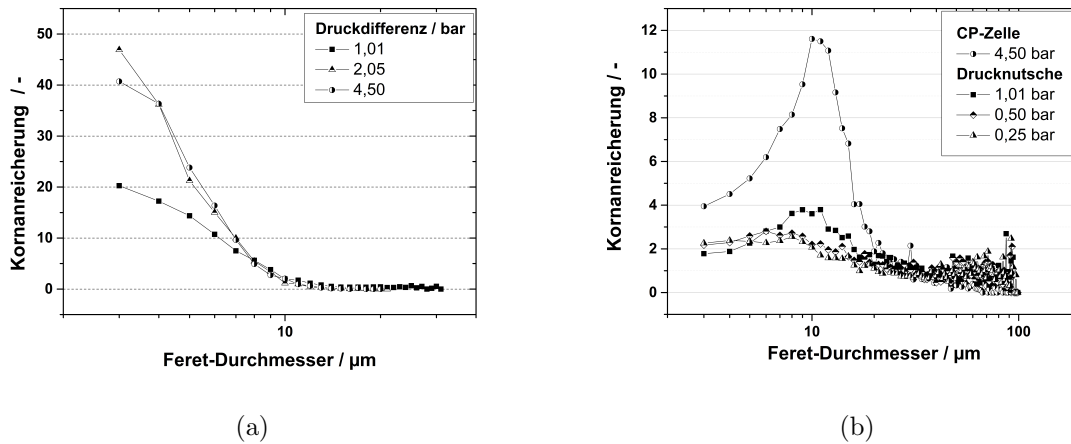


Abbildung 7.9: Kornanreicherungskurven der nadeligen Kristalle (Ansatz C) bei Pressung in der CP-Zelle (a) und der isometrischen Kristalle des Ansatzes A gepresst in der CP-Zelle und Drucknutsche (b) bei unterschiedlichen Differenzdrücken

Bei Vergleich der Abnahme der charakteristischen Größe von Ansatz C (Nadeln) und Ansatz A und B (isometrische Kristalle) in Abbildung 7.8 und 7.6 fällt weiter auf, dass die Unterschiede zwischen Ansatz A und C geringer ausfallen als zwischen Ansatz B und C. Dies führt zu dem Schluss, dass neben der absoluten Größe auch die Breite der Verteilung und der Agglomerationszustand eine wesentliche Rolle spielen für den Bruchprozess. Die Veränderung der Kristallgrößenverteilungen für unterschiedliche kristalline Systeme weist darauf hin, dass die Druckstabilität nicht nur durch die Kristallmorphologie beeinflusst ist. Andere Faktoren wie die absolute Größe, Orientierung der Kristalle im Kuchen und die Zusammensetzung des Partikelkollektivs spielen eine größere Rolle (siehe [72]).

Die Kornanreicherungskurve (oder auch particle concentration ratio pcr) kann genutzt werden um den Bruchmechanismus und die Kompression bei unterschiedlichen Drücken miteinander zu vergleichen.

Abbildung 7.9 vergleicht die Kornanreicherungskurven von CP-Zellenexperimenten mit nadeligen und isometrischen Lysozymkristallen. Die Kornanreicherungskurven für die nadeligen Kristalle bei 2 und 4,5 bar unterscheiden sich nicht, aber die Kurve bei 1 bar ist wesentlich niedriger. Wie vorher schon beschrieben ist dies auf das Erreichen eines maximalen Kristallbruchs für den untersuchten Druckbereich zurück zu führen. Weiterhin kann beobachtet werden, dass nach 2 und 4,5 bar die Feinfraktion erheblich zunimmt im Vergleich zum bei einem bar gepressten Kuchen. Eine detaillierte Bewertung der Kornanreicherungskurven führt zu den folgenden Schlüssen für die nadeligen Kristalle:

- 1 bar Druckdifferenz:

- Alle Partikel mit einem originalen Durchmesser größer als $30\ \mu\text{m}$ sind gebrochen
 - Die Fraktion der Partikel zwischen 30 und $13\ \mu\text{m}$ nimmt ab
 - Die Fraktion kleiner $13\ \mu\text{m}$ nimmt zu
 - Die maximale Partikelgröße der unbelasteten Kristalle beträgt ca. $35\ \mu\text{m}$ und das Partikelkollektiv hat eine mittlere Größe von $16\ \mu\text{m}$. Die weist darauf hin, dass ein wesentlicher Anteil der Kristalle nicht oder nur minimal durch den Druck gebrochen ist
- Für 2 und $4,5$ bar Druckdifferenz:
 - Alle Partikel mit einem Durchmesser von über $17\ \mu\text{m}$ sind gebrochen
 - Die Partikelfraktion zwischen 16 und $11\ \mu\text{m}$ nimmt mit der Belastung ab
 - Die Partikelfraktion kleiner als $11\ \mu\text{m}$ nimmt zu
 - Der Großteil der Kristall ist durch den Druck zerstört worden

Die Kornanreicherungskurven für die isometrischen Kristalle sind nicht ganz so klar wie die für die nadeligen Kristalle. Besonders im Bereich der größeren Kristalldurchmesser ist die Schwankungsbreite der Kornanreicherungskurven recht groß. Die Ursache hierfür ist, dass die Größenverteilung der isometrischen Kristalle breiter ist, was zu einer höheren Standardabweichung im Vergleich zu den Nadeln führt. Das generelle Verhalten der Kornanreicherungskurven zeigt, dass mit steigendem Druck die Partikel zwischen 10 und $20\ \mu\text{m}$ angereichert werden. Speziell nach Pressung des Kuchens bei $4,5$ bar ist eine wesentliche Zunahme der Partikelfraktion kleiner $20\ \mu\text{m}$ sichtbar. Jedoch kann bei den isometrischen Kristallen, im Gegensatz zu den nadeligen Kristallen, keine klare Grenze gezogen werden bei der alle Partikel der originalen Größe gebrochen sind. Sogar nach der Pressung bei 1 bar (minimaler untersuchter Pressdruck für die isometrischen Kristalle war $0,25$ bar) sind noch Partikel aller Fraktionen vorhanden. Trotz der Fluktuationen im Bereich der großen Partikel kann angenommen werden, dass alle Partikel größer $67\ \mu\text{m}$ bei einer Druckdifferenz von $4,5$ bar gebrochen sind. Die Fraktion der Partikel zwischen 67 und $33\ \mu\text{m}$ nimmt ab, während die Fraktion der Partikel kleiner $30\ \mu\text{m}$ zunimmt. Dies unterstützt die oben getroffene Aussage, dass der Bruchmechanismus der isometrischen Kristalle auf dem Abbrechen von Ecken und Kanten der Kristalle beruht.

Abbildung 7.10 zeigt Mikroskopieaufnahmen von bei unterschiedlich großen Drücken beanspruchten Kuchen. Hieraus ist die Abrundung der großen Kristalle und der zunehmende Feinanteil deutlich sichtbar.

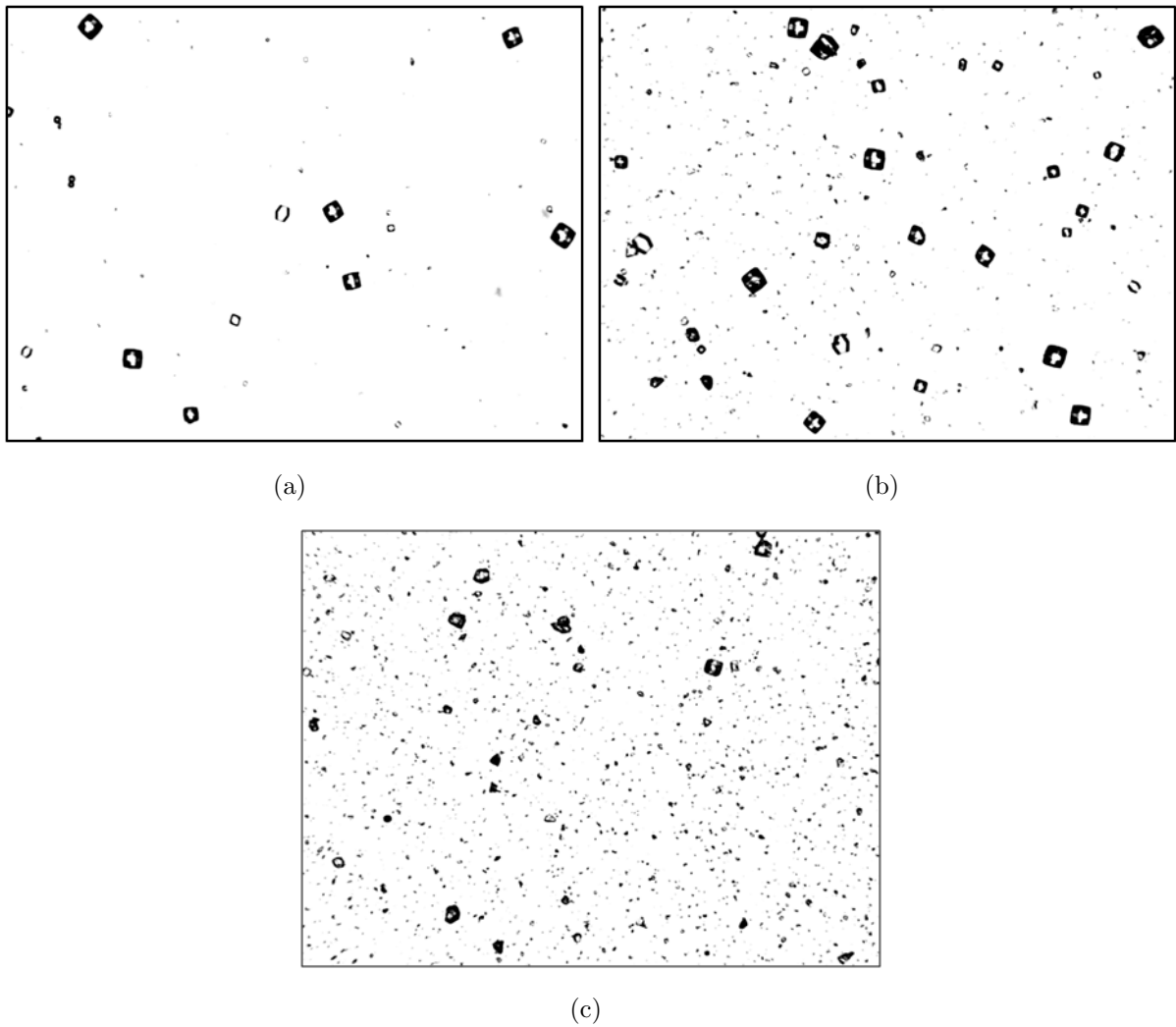


Abbildung 7.10: Mikroskopieaufnahmen von Proben des Ansatzes A der unbelasteten Kristallsuspension (a), des bei 1 bar gepressten Kuchens (b) und des bei 4,5 bar gepressten Kuchens (c) (nach Resuspendierung des Kuchens und Verdünnung der Proben)

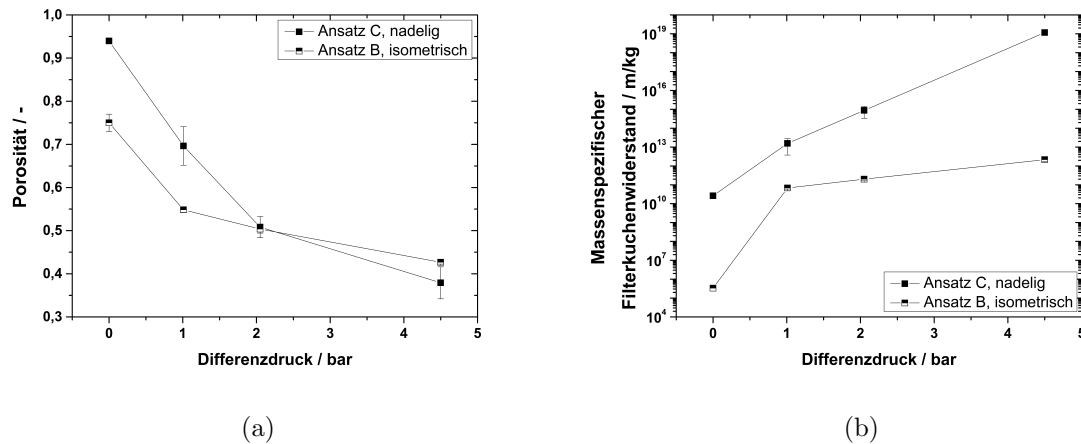


Abbildung 7.11: Vergleich der Porositäten (a) und massenspezifischen Filterkuchenwiderstände (b) der Filterkuchen aus nadeligen (Ansatz C) und isometrischen (Ansatz B) Kristalle bei verschiedenen Druckstufen

7.7.2 Filtrationseigenschaften

Die Entwicklung der Porositäten der Filterkuchen bei ansteigendem Druck für nadelige und isometrische Kristalle ist in Abbildung 7.11 (a) dargestellt. Bei beiden Systemen nimmt die Porosität mit ansteigendem Druck aufgrund von Umordnungs- und Bruchereignissen ab. Es wird deutlich, dass die Porositätsabnahme bei der Filtration nadeliger Kristalle wesentlich steiler ist bei zunehmendem Druck. Ursächlich hierfür ist die hohe Porosität des unbelasteten Haufwerks der Nadeln. Zu Anfang besteht das Sediment aus 95 Vol% Mutterlösung die zum Großteil aus dem Kuchen ausgepresst wird. Weiterhin führt die hohe Porosität zu einem größeren Raum für die Umordnung von Partikeln. Das Verhalten des Kuchenwiderstandes ist eng verbunden mit den Veränderungen der Porosität. Für die nadeligen Kristalle ist die Veränderung des Kuchenwiderstands ausgeprägter als die Porositätsänderung. Der Kuchen aus Kristallnadeln wird auf ca. 40 Vol% des Originalvolumens gepresst bei 4,5 bar. Die Absolutwerte des massenspezifischen Kuchenwiderstands der Nadeln übersteigt den für die isometrischen Kristalle um einige Größenordnungen. Die Filtrierbarkeit ist allgemein für die Nadeln als sehr schlecht und für die isometrischen als mittel bis schlecht einzustufen, abhängig vom aufgebrauchten Druck.

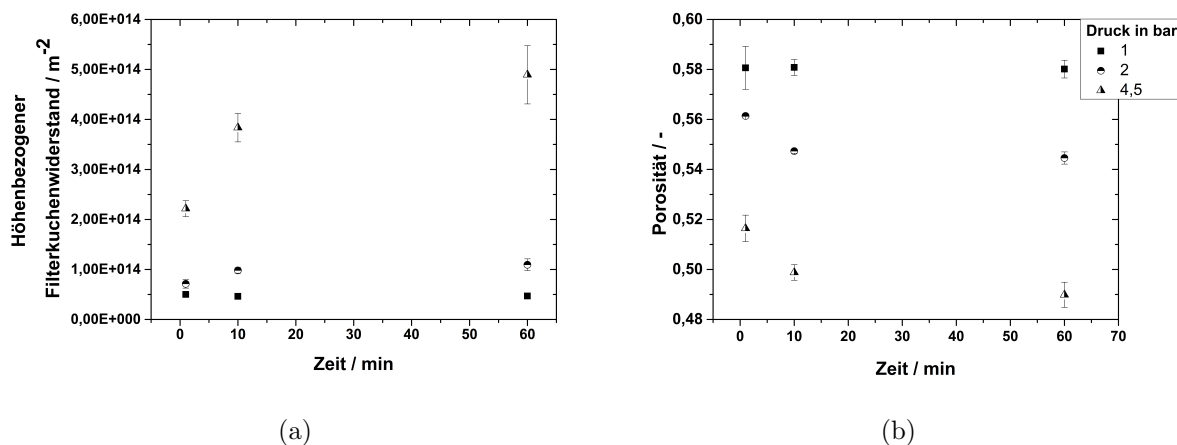


Abbildung 7.12: Filtrationseigenschaften aggregierter Lysozymkristalle über der Zeit; (a) Widerstandsverlauf (b) Porositätsverlauf

7.8 Filtrations- und Bruchverhalten von Lysozymkristallaggregaten

Für die Aggregate wurde das Filtrationsverhalten in einer CP-Zelle bei 1, 2 und 4,5 bar Realdruck und Presszeiten von 1, 10 und 60 Minuten untersucht. Höhere Presszeiten waren für dieses System nicht realisierbar, da die Kristallstrukturen sich auflösten und ein Gel sich ausbildete.

7.8.1 Filtrationseigenschaften

Erwartungsgemäß kommt es zu einer Zunahme des Filterkuchenwiderstandes und einer Abnahme der Porosität mit dem Filtrationsdruck (siehe Abbildung 7.12). Die Zunahme der Presszeit hat, je nach Pressdruck, einen unterschiedlichen Einfluss auf die Filtrationskennwerte. Bei einem Pressdruck von 1 bar ist offensichtlich schon nach kurzer Zeit die maximale Verdichtung erreicht. Bei 2 bar ist eine leichte Abhängigkeit von der Zeit erkennbar, bei 4,5 bar ist diese noch ausgeprägter. Die Mechanismen die zu diesem Verhalten führen werden Anhand der Veränderungen der Partikelgrößenverteilung im Folgenden diskutiert.

7.8.2 Kristallgrößenverteilung

Zunächst einmal kann fest gestellt werden, dass zwischen Rand und Mitte des Filterkuchens keine Unterschiede in den Größenverteilungen sichtbar sind. Die Spannungsun-

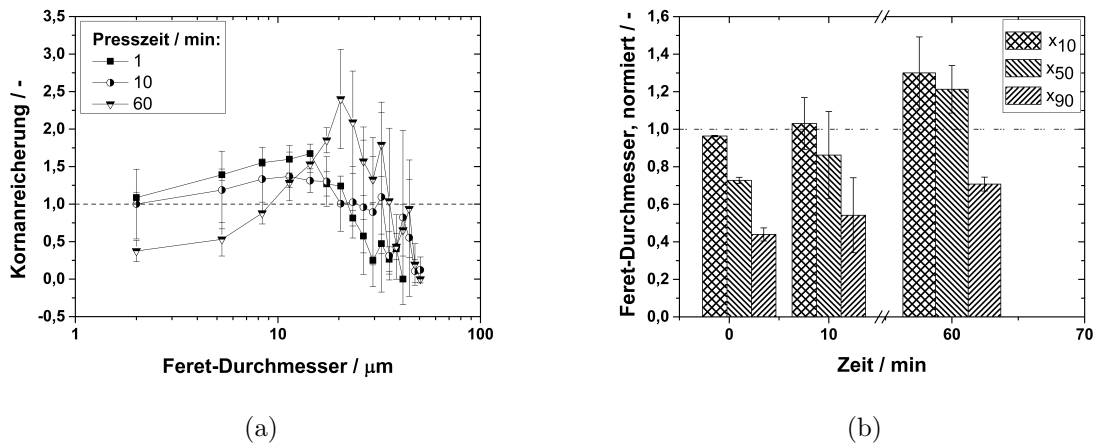


Abbildung 7.13: Änderung der Kristallgrößenverteilungen von bei 1 bar gepressten Filterkuchen, (a) Kornanreicherungskurven (b) normierte charakteristische Werte

terschiede scheinen hier nicht ausreichend groß zu sein um Unterschiede im Bruch- und Umordnungsverhalten zu erzeugen. Daher werden im folgenden nur noch die Proben aus der Mitte des Filterkuchens miteinander verglichen.

Den Verlauf der Kornanreicherungskurven bei 1 bar Druckdifferenz stellt Abbildung 7.13(a) dar. Schon nach einer Minute Presszeit ist eine deutliche Verringerung des Grobgutanteils und ein Anstieg im Feinanteil sichtbar. Interessanterweise nimmt anschließend mit steigender Beanspruchung der Grobgutanteil wieder zu und der mittlere Bereich flacht ab. Eine mögliche Erklärung für dieses Phänomen ist, dass nach einem anfänglichen Aufbruch der aggregierten Strukturen diese sich bei anhaltender Druckbelastung wieder zusammenlagern. Die Kornanreicherungskurve bei 60 Minuten Presszeit unterstützt diese Hypothese. Deutlich nimmt der Feinanteil ab und im Bereich mittlerer Partikelgrößen ist eine Zunahme sichtbar. Die absoluten Veränderungen der Größen in Form des Zerkleinerungsgrades sind in Abbildung 7.13 (b) dargestellt. Nach einer Minute Presszeit ist für die charakteristischen Werte der Größenverteilung eine Abnahme sichtbar. Im weiteren Zeitverlauf steigen alle charakteristischen Werte sukzessive an, bis bei 60 Minuten der x10- und x50-Wert sogar größer sind als im ursprünglichen Kristallkollektiv. Dies unterstützt die aufgestellten Überlegungen, dass es nach einem anfänglichen Aufbruch der Aggregate zu einer Zusammenlagerung der Kristalle zu Agglomeraten und Aggregaten kommt. Dies kann mit einer Pressagglomeration gleichgesetzt werden. Durch die Verdichtung des Gutbetts werden die Partikel näher aneinander gebracht und Haftkräfte können wirken. Eine weitere Belastung kann zu einer plastischen Deformation an den Kontaktstellen führen

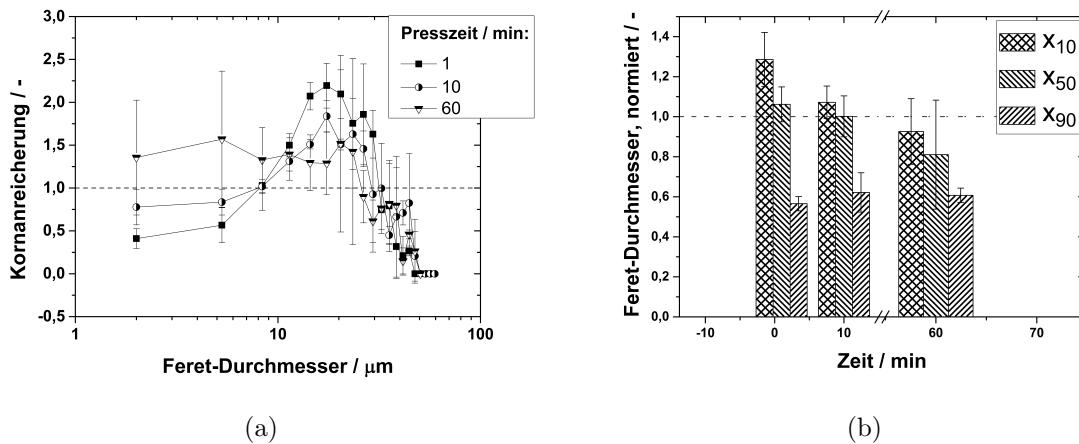


Abbildung 7.14: Änderung der Kristallgrößenverteilungen von bei 2,5 bar gepressten Filterkuchen, (a) Kornanreicherungskurven (b) normierte charakteristische Werte

und somit werden aus anfänglichen Punktkontakten Flächenkontakte, was die wirkenden Haftkräfte verstärkt. Zunächst einmal ist eine plastische Deformation für die spröden Lysozymkristalle nicht zu erwarten gewesen. Allerdings kann ab der Unterschreitung einer Grenzkristallgröße eine Änderung der mechanischen Eigenschaften beobachtet werden und es kann zum plastischen Fließen kommen (siehe Kapitel 2.2.1). Wenn diese Ergebnisse nun in Zusammenhang mit den Filtrationseigenschaften gesetzt werden fällt auf, dass diese sich nicht im gleichen Maße verändern wie die Größenverteilungen. D.h. die Änderungen der absoluten Größen führen nicht zu einer Veränderung des Hohlraumvolumenanteils.

Dieselben Betrachtungen können nun auch für 2 bar Pressdruck angestellt werden. Abbildung 7.14 zeigt die dynamische Entwicklung der Größenverteilungen. Hier zeigt sich schon nach einer Minute Presszeit ein ähnliches Verhalten wie bei 1 bar Pressdruck und 60 Minuten Presszeit. Bei einer Erhöhung der Presszeit ist, im Gegensatz zu 1 bar Pressdruck, eine Erhöhung des Feinanteils beobachtbar. Dies ist begründet durch erneutes Desagglomerieren. Diese führt zu einer weiteren Verdichtung des Gutbettes über dem Zeitverlauf, wie schon Anhand der Filtrationsgrößen gezeigt wurde. Die Hypothese der Agglomeration und nachfolgenden Desagglomeration kann bestätigt werden durch einen Vergleich von REM-Aufnahmen unbelasteter und belasteter Aggregaten bei 2 bar Pressdruck für 1 Minute.

Während das bei der Kristallisation gebildete Aggregat (siehe 7.15) glatte Kanten und Ecken aufweist sind diese bei dem durch Pressung gebildeten eher rau und unregelmäßig. Jedoch sind auch bei der unbelasteten Probe Bruchstücke zu sehen, zustande gekommen durch den Prall auf den Rührer während der Kristallisation. Diese sind aber nicht so deut-

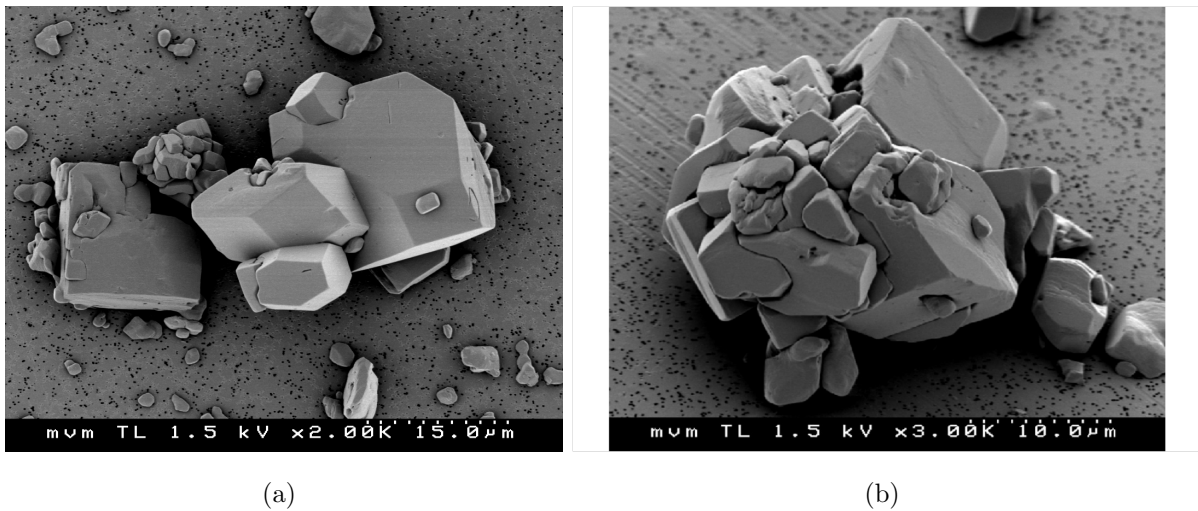


Abbildung 7.15: REM Aufnahmen von (a) Kristallaggregaten im unbelasteten Zustand und (b) nach Belastung bei 2 bar für eine Minute

lich ausgeprägt wie nach der Druckbeanspruchung. Auch sind die durch die Kristallisation entstandenen Aggregate deutlich größer als die durch Pressung entstandenen. Zusätzlich zu den REM-Aufnahmen der Einzelpartikel wurden noch LSM Aufnahmen der Kuchenoberseite getätigt. Abbildung 7.16 zeigt Aufnahmen von bei 1 und 2 bar für einer Minute gepressten Kuchen.

Eine deutlich ausgeprägtere Zerkleinerung ist bei 2 bar sichtbar, was die vorher aufgestellten Thesen weiter stützt. Werden die Bilder nun in Zusammenhang gesetzt zu den Kornanreicherungskurven erweist sich die Erklärung, dass Aggregate sich durch den aufgebrachtten Pressdruck aufbrechen und sich wieder Zusammenlagern als schlüssig. Es kommt zu einer in den LSM-Aufnahmen sichtbaren Anhäufung von Bruchstücken bei abnehmendem Feinanteil. Ob diese feinen Bruchstücke Teile von Aggregaten sind lässt sich aus den Bildern nicht direkt schließen, aber im Zusammenhang mit den Kornanreicherungskurven vermuten.

Das Auftreten von plastischem Fließen bei der Druckbeanspruchung von Lysozymkristallen konnte weiterhin nachgewiesen werden. Hierzu sei auf Abbildung 7.17 verwiesen.

Der dargestellte durch Fließen an einen größeren Kristall angehaftete Kristall ist ca. $5 \mu\text{m}$ groß. Die Darstellung der Größenverteilung bei 4,5 bar Realdruck findet sich im Anhang (Abbildung 10.2). Der Unterschied zu den Versuchen bei 2 bar ist nur, dass sich bei 10 Minuten Pressdruck schon ein konstanter Zustand eingestellt hat. Im Gegensatz zu 2 bar Druckbelastung entstehen stabile Zusammenschlüsse, welche sich im untersuchten Druckbereich nicht wieder zerkleinern lassen. REM-Aufnahmen der Kristalle nach 60 Minuten

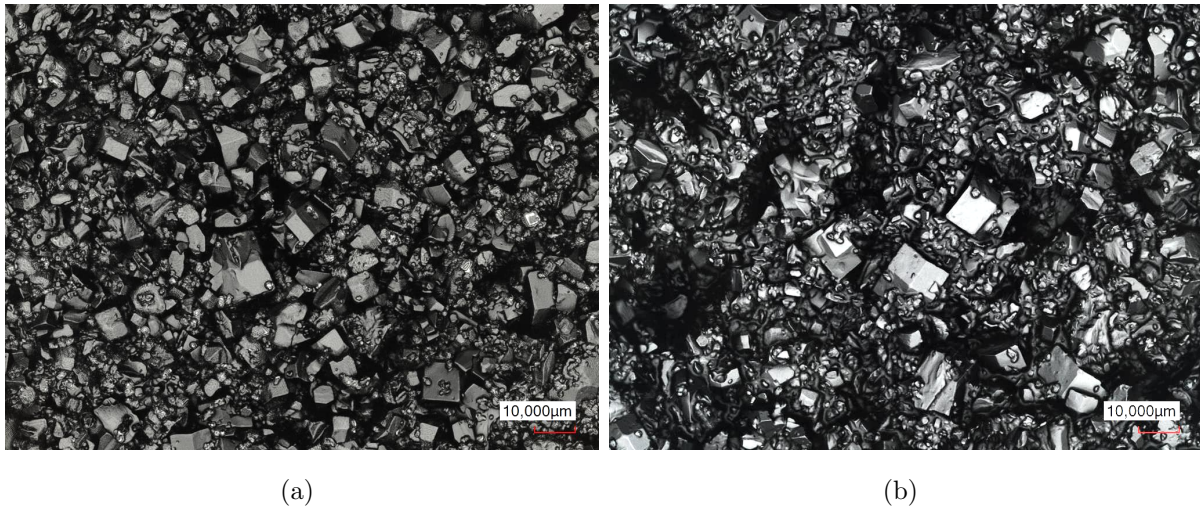


Abbildung 7.16: LSM Aufnahmen der Oberseite von Kristallaggregatkuchen bei 1 bar Pressdruck (a) und bei 2 bar Pressdruck(b)



Abbildung 7.17: LSM-Aufnahme eines bei 2 bar für 1 Minute gepressten Filterkuchens - Durch plastisches Fließen an einen größeren Kristall angehafterter kleiner Kristall (siehe Partikel in rot umrandeten Gebiet)

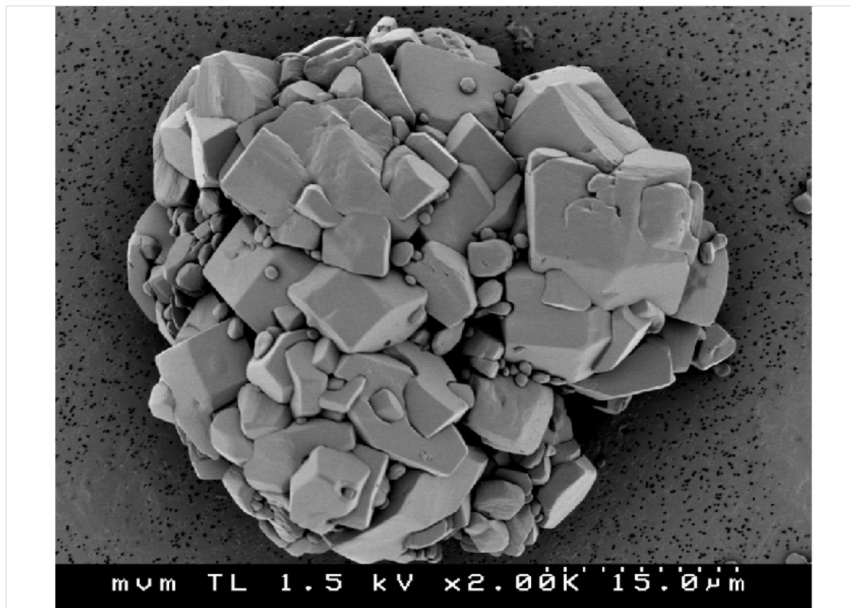


Abbildung 7.18: REM-Aufnahme eines bei 4,5 bar gebildeten Aggregats (60 Minuten Presszeit)

Druckbelastung (siehe Abbildung 7.18) zeigen dies, dass Aggregat nähert sich sogar einer (stabileren) Kugelform an.

Weiterhin ist bei Betrachtung der Kuchenoberflächen mittels LSM in Abbildung 7.19 sichtbar, dass mehr Feingut entsteht.

Durch die geringere Größe der Primärpartikel weisen schließlich die Aggregate eine höhere Festigkeit auf. Werden diese Beobachtungen nun in Zusammenhang gesetzt mit den ermittelten Filterkuchenwiderständen wird die Theorie der festeren Aggregate bestätigt. Trotz Agglomeration kommt es zu einer Zunahme des Widerstandes mit der Belastungszeit, Umlagerungsvorgänge führen zur Bildung von stabilen Agglomeraten und somit zu einer Reduktion der Porosität.

7.8.3 Charakterisierung der Gutbettzerkleinerung über Kraft-Weg-Kurven

Abbildung 7.20 zeigt die Kraft-Weg-Kurven aus den Kompressionsversuchen von Filterkuchen aus aggregierten Kristallen. Mit Zunahme der Presszeit ist eine deutliche Abflachung der Kurven sichtbar, was auf einen zunehmenden Einfluss von Umordnungsvorgängen auf die Verdichtung hindeutet. Die Umordnung bzw. das Ausfüllen von Hohlräumen führt dazu, dass bei gleicher Kraft ein längerer Weg vom Stempel zurück gelegt wird, als dies

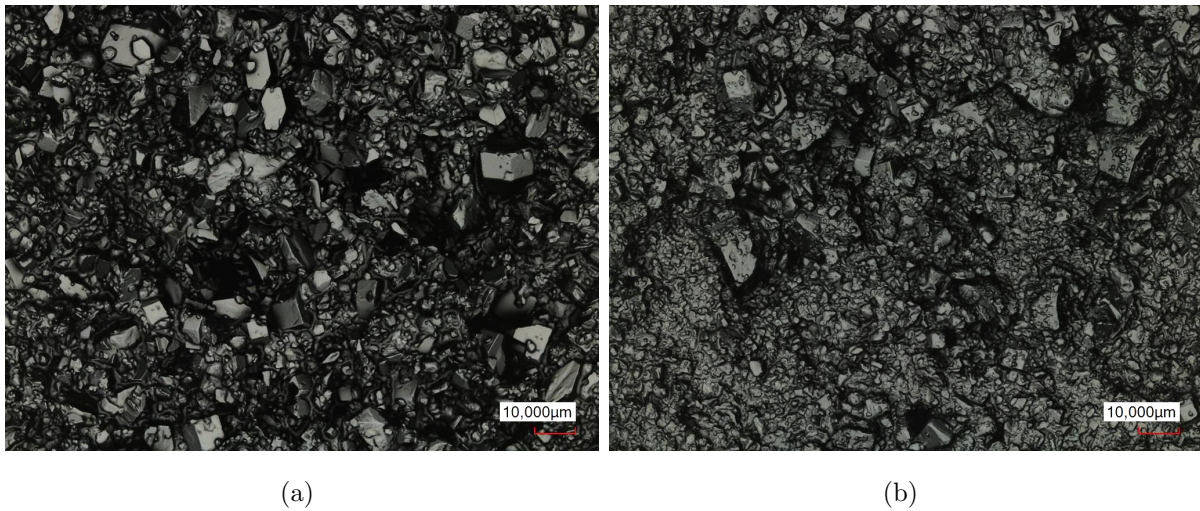


Abbildung 7.19: LSM-Aufnahmen der Oberseite von Kristallaggregatkuchen bei 2 bar Pressdruck (a) und bei 4,5 bar Pressdruck(b) bei 60 Minuten Presszeit

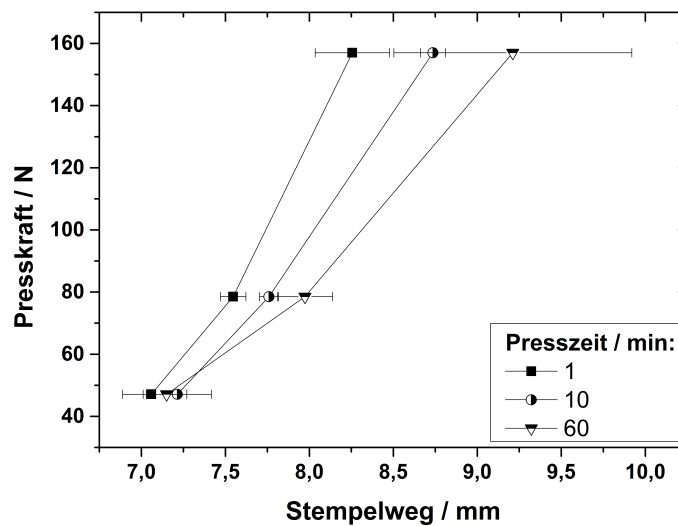


Abbildung 7.20: Kraft-Weg-Kurven der aggregierten Lysozymkristalle bei unterschiedlichen Presszeiten

Tabelle 7.3: Bezugsporosität und -widerstand aller untersuchten kristallinen Systeme

| Kristallsystem/Ansatz | Φ_0 / % | α_0 / m/kg |
|------------------------------|--------------|-----------------------|
| Isometrisch (Ansatz A) | 66,67 | $1,056 \cdot 10^8$ |
| Aggregate | 73,33 | $1,37 \cdot 10^9$ |
| Nadelförmig | 93,96 | $2,602 \cdot 10^{10}$ |

bei einer reinen Zerkleinerung der Fall wäre. Bruchstücke würden bei einer Zerkleinerung weiter zur Höhe beitragen und der Stempelweg wäre kürzer. Bestätigt werden diese Überlegungen bei Betrachtung des Zeiteinflusses. Bei geringerer Presszeit ist die Zerkleinerung bestimmend, bei andauernder Belastung kommt es zu Umlagerungen und Deformationen. Die Wahrscheinlichkeit der Deformation von Kristallen steigt bei längeren Belastungszeiten, da die relativ kleinen Primärpartikel der zerstörten Aggregate mehr Energie elastisch oder plastisch speichern können als die Aggregate. Diese beiden Punkte können letztlich zum flacheren Anstieg der Kraft-Weg-Kurven führen.

7.9 Vergleich der Filtrationskennwerte und der Druckstabilität aller untersuchten Kristallsysteme

Zunächst wird ein Vergleich des Ausgangsmaterials, d.h. der Kristalle im unbelasteten Zustand, angestellt. Verglichen werden die Bezugsporosität und der Bezugswiderstand und die jeweiligen Partikelgrößenverteilungen (siehe Tabelle 7.3 und Abbildung 7.21).

Die Kristallsysteme unterscheiden sich deutlich in ihrem Ausgangszustand. Die geringste Porosität und der geringste Widerstand ist bei den isometrischen Kristallen detektiert worden. Dies klingt zunächst einmal nach einem Widerspruch. Die geringe Porosität ist bedingt durch die regelmäßige Struktur und Größe der Kristalle. Dies führt zu einer platzsparenden Anordnung der Kristalle, auch durch die geringen Haftkräfte in Relation zur Gewichtskraft zwischen den recht großen Kristallen. Der niedrige Widerstand ist wiederum bedingt durch die Detektionsmethode über die Sedimentationsgeschwindigkeit. Bei allgemein größeren Partikeln ergibt sich eine hohe Sinkgeschwindigkeit und damit ein niedriger detektierter Widerstand. Die Nadeln weisen die höchste Bezugsporosität und den höchsten Widerstand auf. In einem Haufwerk bilden die Nadeln eine Art Strohhaufen

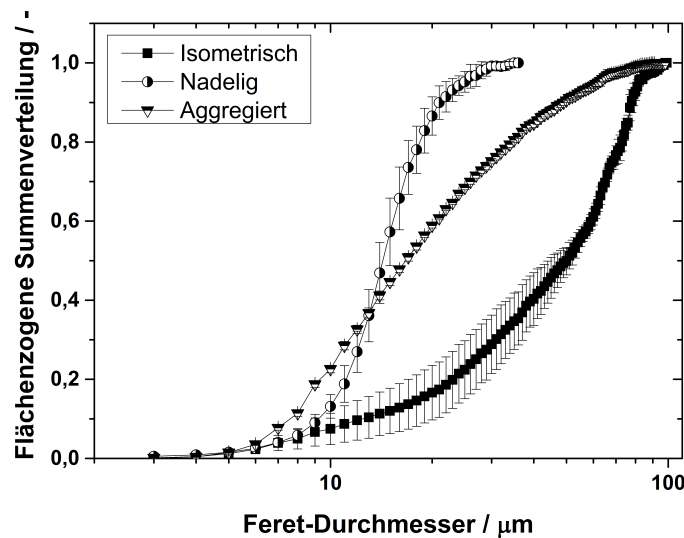


Abbildung 7.21: Vergleich der Größenverteilungen aller kristallinen Systeme

und große Hohlräume entstehen. Die Sedimentation des Kollektivs ist langsamer, da die Strukturen sehr klein sind. Das aggregierte System ordnet sich zwischen diesen beiden an.

7.9.1 Einfluss der Presszeit auf das Materialverhalten kompakter isometrischer (Ansatz A) und aggregierter Lysozymkristalle

Verglichen wird die Kompression von Haufwerken bei 1 bar Druckdifferenz in der CP-Zelle und Presszeiten von 1 und 10 Minuten. Abbildung 7.22 (a) stellt die Zerkleinerungsgrade dar. Folgende Schlüsse können hieraus für isometrische Kristalle gezogen werden:

- Die Kristallgröße ändert sich mit der Presszeit nicht mehr
- Bei einer Presszeit von 1 Minuten nimmt die Kristallgröße im Grobgutbereich nur geringfügig ab, während im mittleren und Feingutbereich eine deutliche Abnahme sichtbar ist.

Ab einer Minute Presszeit stellt sich also ein stabiler Zustand bezüglich des Kristallbruchs ein, die eingebrachte Energie scheint nicht auszureichen eine weitere Zerkleinerung zu ermöglichen. Insbesondere die Anhäufung von Feingut kann dazu führen, dass größere Kristalle geschützt werden durch die Erhöhung der Kontaktstellenanzahl.

Beim Verhalten von aggregierten Kristallen können folgende Aussagen getroffen werden:

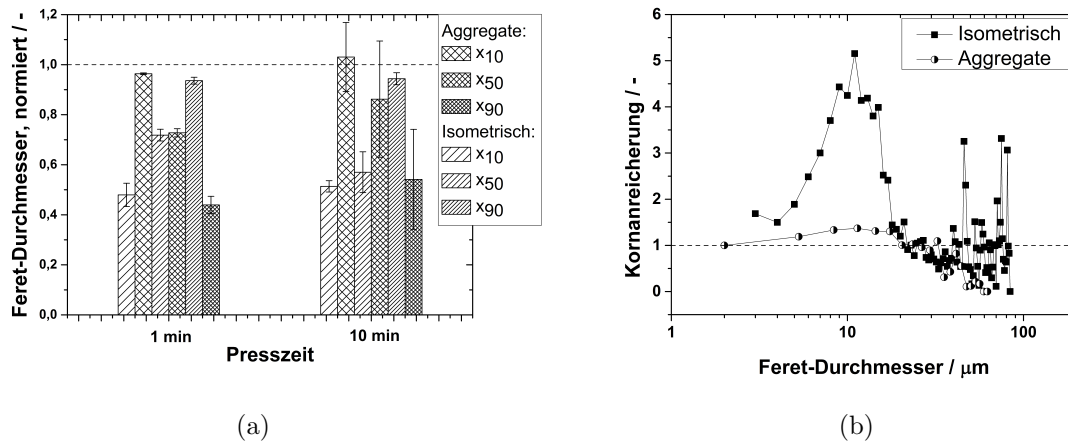


Abbildung 7.22: Vergleich der normierten charakteristischen x-Werte für aggregierte und isometrische Kristalle (Ansatz A) bei 1 und 10 Minuten Presszeit in der CP-Zelle (a) und Vergleich der Kornanreicherungskurven bei 1 bar und 10 Minuten Presszeit (b)

- Bei einer Presszeit von 1 Minuten ergibt sich eine Abnahme der Partikel im Grobgutbereiche und eine, etwas kleinere, Abnahme im mittleren Größenbereich
- Der Feingutanteil bleibt konstant.

Bei Betrachtung der Entwicklung der Größenverteilung aggregierter Systeme über der Zeit sind im Gegensatz zu den isometrischen Kristallen weitere Veränderungen sichtbar. Dabei nehmen alle charakteristischen Werte zu im Vergleich zu einer Minute Kompressionszeit. Dies ist begründet durch das Zusammenpressen der zunächst gebrochenen Kristallaggregate.

Dies deutet darauf hin, dass bei kurzen Belastungszeiten große Aggregate auseinanderbrechen, wohingegen bei den isometrischen Kristallen ein Abrieb von Ecken und Kanten statt findet. Die Kontaktpunkte als wirksame Inhomogenitätstellen führen zu einem Bruch der Aggregate schon bei geringen Belastungen. Im Feingutanteil der Aggregatsuspension ist keine weitere Zerkleinerung sichtbar, da die Absolutgröße des Feinguts geringer ist. Kleinere Partikel sind, wie zuvor schon erwähnt, mechanisch stabiler. Dieser Bruchmechanismus wird in den Kornanreicherungskurven in Abbildung 7.22 (b) deutlicher.

7.9.2 Einfluss des Pressdruckes auf das Materialverhalten nadeliger und aggregierter Lysozymkristalle

Für die nadeligen Kristalle wurde keine Betrachtung der Zeitentwicklung getätigt. Daher werden die Ergebnisse der Druckbelastung bei 20 h verglichen mit denen bei 60 Minuten

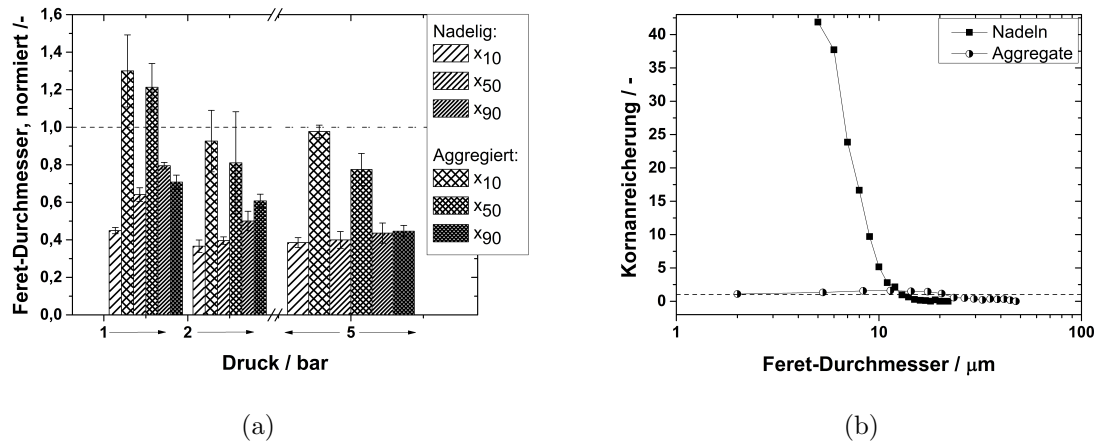


Abbildung 7.23: Vergleich der normierten charakteristischen x-Werte für nadelige und isometrische Kristalle bei unterschiedlichen Drücken in der CP-Zelle (a) und Vergleich der Kornanreicherungskurven bei 4,5 bar (b)

Belastungszeit für die Aggregate. Abbildung 7.23 stellt die Änderungen der Größenverteilungen mit dem Pressdruck dar.

Dabei können folgende Beobachtungen für nadelige Kristalle gemacht werden:

- Die Partikelgrößen nehmen in allen Größenbereichen ab
- in der mittleren Fraktion und im Grobgutanteil nimmt die Partikelgröße mit zunehmendem Pressdruck ab
- im Feingutbereich ist schon bei 1 bar ein konstanter Bereich erreicht.

Dieses Verhalten lässt sich durch die Struktur der Kristalle begründen. Die lang gestreckte Form erhöht die Anzahl der Lastangriffspunkte. In Kombination mit dem sehr geringen Durchmesser der Nadeln braucht es nur eine geringe Kraft um diese in eine Vielzahl kleiner Nadeln zu zerbrechen. Die Kornanreicherungskurven (siehe Abbildung 7.23 (b)) zeigen dieses deutlich andere Bruchverhalten. Die nadeligen Kristallstrukturen zeigen eine ausgeprägte Anreicherung im Feinanteil. Allerdings ist der Grenzkorndurchmesser für den untersuchten Druckbereich geringer bei den Nadeln. Ursache hierfür könnte sein, dass die einzelnen aus den Aggregaten herausbrechenden isometrischen Kristalle eine geringere Größe aufweisen als die durch Bruch der Nadeln produzierten kleinen Nadeln. Berücksichtigt werden muss allerdings auch, dass die nadelförmigen Kristalle über einen wesentlich längeren Zeitraum verpresst wurden, was auch zu Unterschieden im Zerkleinerungsverhalten führen kann. Für die aggregierten Kristalle ist ein Zeiteinfluss sichtbar gewesen, bei den Nadeln lässt sich dies also auch nicht ausschließen.

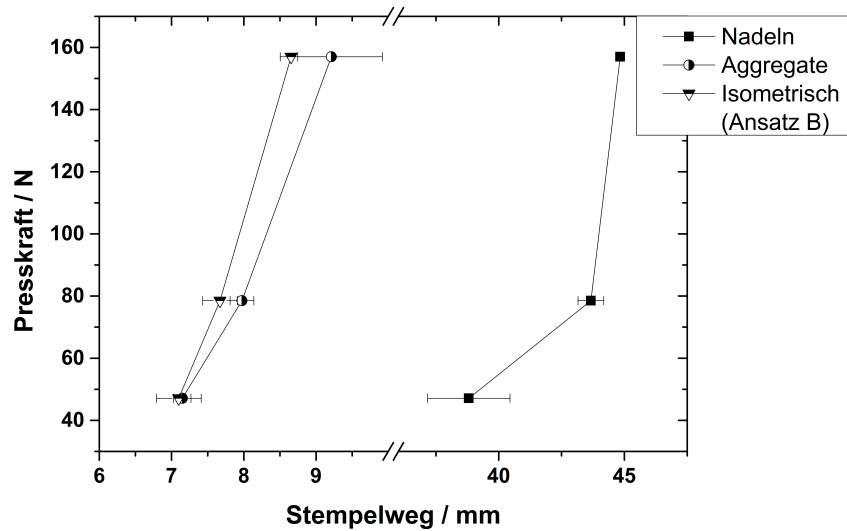


Abbildung 7.24: Vergleich der Kraft-Weg-Kurven aller kristallinen Systeme (Presszeiten isometrisch/aggregiert/nadelig 60/600/1200 min)

7.9.3 Vergleich der Kraft-Weg-Kurven aller untersuchten kristallinen Strukturen

Um das Kompressionsverhalten von Haufwerken charakterisieren und vergleichen zu können werden häufig sogenannte Kraft-Weg-Kurven herangezogen (siehe Kapitel 2.2.1). Die elastische Rückdehnung wird in den meisten Fällen, wie hier auch, vernachlässigt. Abbildung 7.24 zeigt einen Vergleich der aus der CP-Zelle gewonnenen Daten aller untersuchten kristallinen Systemen.

Deutliche Unterschiede sind zu erkennen. Ein wesentlich längerer Stempelweg ist bei den Filterkuchen aus nadeligen Kristallen schon bei niedriger Presskraft zurück gelegt worden. Das im unbelasteten Zustand deutlich porösere Sediment wird, u.a. bedingt durch den schnell auftretenden Bruch, schon bei niedrigen Drücken deutlich komprimiert. Weiter auffällig ist der flachere Anstieg bei Zunahme der Presskraft im Vergleich zu den beiden anderen Kristallsystemen. Dies ist ein Hinweis darauf, dass Umordnungsvorgänge und plastische Deformationen der Kristalle eine größere Rolle spielen. Wird nun ein Vergleich gezogen zwischen isometrischen und aggregierten Kristallen fallen fast keine Unterschiede auf. Aggregierte Kristalle weisen einen geringfügig flacheren Anstieg bei Erhöhung der Presskraft auf. Dies deutet wieder auf vermehrt auftretende Umordnungsprozesse hin. Bei isometrischen Kristallen spielen Umordnungsprozesse eine kleinere Rolle, da hier nur

die kleinen Bruchstücke die Hohlräume ausfüllen, während bei den Aggregaten ganze Bruchstücke umgeordnet werden.

7.9.4 Vergleich der Kompressibilitäten aller Systeme

Aus den detektierten Porositäten und Kuchenwiderständen können Schlüsse über das kompressible Materialverhalten der Proteinkristallfilterkuchen gezogen werden. Tabelle 7.5 zeigt die Werte für die Kompressibilität für alle Kristallisationsansätze und eine Interpretation der Werte. Beide Ansätze aus isometrischen Kristallen und die aggregierten Kristalle zeigen eine Summe der Exponenten $N_\alpha + N_\Phi$ unter eins. Dies weist auf ein kompressibles Materialverhalten der Filterkuchen entsprechend des gewählten Beschreibungsmodells hin. Die Summe der Exponenten für nadelige Kristalle ist mehr als doppelt so hoch wie die der isometrischen. Filterkuchen aus nadeligen Kristallen sind, wie schon die Entwicklung der Porositäts- und Widerstandswerte andeutete, sehr viel kompressibler. Die Kristallaggregate platzieren sich zwischen den isometrischen und nadeligen Kristallstrukturen. Sie zerbrechen leichter in ihre Primärpartikel als isometrische Kristalle. Da Ansatz B einen gewissen Anteil an aggregierten Kristallen besitzt, wie zuvor schon beschrieben, bewegt sich die Kompressibilität in einem ähnlichen Bereich.

Tabelle 7.5: Kompressibilitäten der Filterkuchen aller kristallinen Systeme

| Kristallsystem/ Ansatz | N_α / - | N_Φ / - | Interpretation |
|-------------------------------|-------------------|-------------------|-----------------------|
| Isometrisch (Ansatz A) | $0,698 \pm 0,011$ | $0,026 \pm 0,004$ | Kompressibel |
| Isometrisch (Ansatz B) | $0,891 \pm 0,098$ | $0,093 \pm 0,004$ | Kompressibel |
| Aggregiert | $0,753 \pm 0,044$ | $0,081 \pm 0,003$ | Kompressibel |
| Nadelförmig (Ansatz C) | $2,099 \pm 0,517$ | $0,335 \pm 0,013$ | Hochkompressibel |

Abschließend gibt Tabelle 7.7 noch einen Überblick der detektierten Filterkuchenwiderstände bei einem bar Realdruck in der CP-Zelle.

Die Entwicklung der Filterkuchenwiderstände deckt sich mit denen der Kompressibilität. Das Haufwerk der am stärksten komprimierbaren Strukturen, d.h. der Kristallnadeln, ist auch am schwersten zu durchströmen, isometrische am leichtesten und aggregierte Kristalle ordnen sich dazwischen an. Generell kann der Schluss gezogen werden, dass die Kristallmorphologie einen wesentlichen Einfluss auf die Kompressibilität, Filtrierbarkeit

Tabelle 7.7: Filterkuchenwiderstände aller kristallinen Systeme (bei 1 bar Realdruck in CP-Zelle)

| Kristallsystem/Ansatz | α_m / m/kg |
|------------------------------|---------------------------------------------|
| Isometrisch (Ansatz A) | $2,63 \cdot 10^{10} \pm 1,11 \cdot 10^{10}$ |
| Aggregiert | $8,40 \cdot 10^{10} \pm 7,44 \cdot 10^9$ |
| Nadelförmig (Ansatz C) | $1,57 \cdot 10^{13} \pm 1,19 \cdot 10^{13}$ |

und auf das Bruchverhalten hat. Der Einfluss der absoluten Größe und der Morphologie auf die Filtrationseigenschaften ist dabei ausgeprägter als der des Partikelbruchs.

8 Übertragung der Ergebnisse auf großtechnische Prozesse

8.1 Dynamische Cross-Flow Filtration

8.1.1 Eindickung

Massenkonzentration und Deckschichtbildung

Während der Eindickung einer Suspension ist eine Vielzahl an Messwerten von Interesse. Zunächst einmal wird die Entwicklung der Massenkonzentration während des Eindickens und die Masse der sich bildenden Deckschicht nach Beendigung des Versuchs diskutiert. Die Entwicklung der Massenkonzentration gibt Aufschluss über den Erfolg bzw. die Effizienz der Eindickung. Die Masse der Deckschicht, und auch die Zusammensetzung, haben einen wesentlichen Einfluss auf die Filtrationszeit und hängen ab von der Kristallgrößenverteilung in der Ausgangsusension und den Strömungsbedingungen. Abbildung 8.1 zeigt die Entwicklung der Massenkonzentration in der Filterzelle über der Filtratmasse.

Vor der Filtration wurden zwei Proben genommen, eine aus dem Vorlagebehälter und eine aus der befüllten Filtrationskammer (aus dem Abschlämmventil, siehe Abbildung 4.16). Für die Probenahme aus der Filtrationskammer wird der Rührer auf 300 Upm eingestellt um Sedimentation zu verhindern. Diese würde zu einem Fehlwert der Feststoffkonzentration führen, da das Abschlämmventil in der Mitte der Kammer positioniert ist. Offensichtlich ist, dass sich die gemessenen Konzentrationen aus Abschlämmventil und Vorlagebehälter zu Beginn des Versuchs unterscheidet. Die Probe aus der Kammer weist einen höheren Wert für die Massenkonzentration auf als die Probe aus dem Vorlagebehälter. Als realer Startwert zur Berechnung des Verlaufs der Konzentration wird der Wert aus dem Vorlagebehälter genommen. Hier kann von einer guten Durchmischung bzw. homogenen Verteilung der Kristalle ausgegangen werden im Gegensatz zur Filtrationskammer. Hierauf wird später noch genauer eingegangen. Die folgenden Messwerte der Massenkonzentration

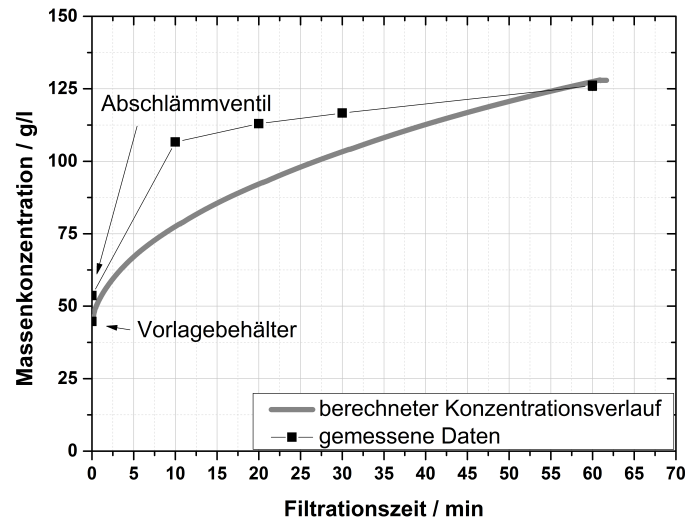


Abbildung 8.1: Repräsentative Entwicklung der Feststoffmassenkonzentration von isometrischen Lysozymkristallen über der Filtratmasse im Verlauf der Eindickung. Die gemessenen Datenpunkte (schwarze Quadrate) stammen aus Proben des Abschlammventils, die graue Linie zeigt den aus der Konzentration des Vorlagebehälters berechneten Verlauf der Massenkonzentration.

zentration sind, da die genommenen Proben aus dem Abschlammventil stammen, alle überhöht. Allein der letzte Wert, welcher aus der Proben nach der Filtration aus der Auffangwanne unter der Filterzelle entstammt, entspricht dem theoretisch berechneten Wert. Die überhöhten Werte aus der Filtrationskammer können durch das Strömungsfeld im Scherspaltfilter erklärt werden. Einige Untersuchungen zum Strömungsfeld in Scherspaltfiltern zeigen, dass das Feld in der Nähe des Rührers nach außen zeigt und nahe des Stators nach innen [99, 116]. Deshalb kann angenommen werden, dass die Kristalle sich im Zentrum der Zelle ansammeln und so zu einem überhöhten Wert der Massenkonzentration führen. Der letzte Messwert entspricht wieder dem theoretischen Verlauf, da die Konzentration der Kristalle in der Filtrationskammer nicht länger durch das Strömungsfeld beeinflusst ist. Dies konnte in einem separaten Versuch bestätigt werden. Abbildung 8.2 zeigt die Ergebnisse auf. Beachtet werden muss hier allerdings, dass die gezeigten Ergebnisse mit einem leicht veränderten Versuchsaufbau durchgeführt wurden. Die Membranpumpe wurde ausgetauscht durch einen Druckbehälter, dadurch musste der Druck nicht über einen Bypassstrom reguliert werden. Der Filtrationsdruck war derselbe wie mit der Membranpumpe und auch alle anderen Versuchsparameter wurden gleich gehalten.

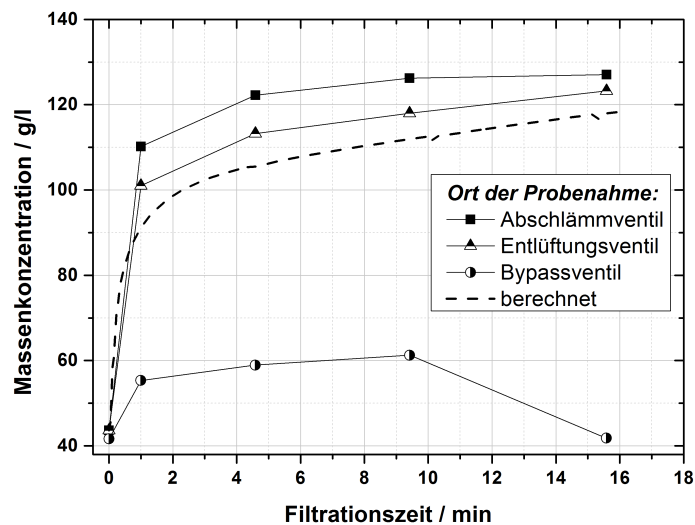


Abbildung 8.2: Repräsentative Entwicklung der Feststoffmassenkonzentration von isometrischen Lysozymkristallen über der Filtrationszeit von Proben aus dem Bypassventile vor der Kammer, aus dem Abschlämmventil und aus dem Entlüftungsventil (5 l Vorlage, 1200 Upm Rührerdrehzahl). Der theoretisch berechnete Verlauf aus dem Filtratstrom ist ebenfalls dargestellt.

Dargestellt sind die Verläufe der Massenkonzentration aus dem Bypassventil, aus dem Abschlämmventil und aus dem Entlüftungsventil. Die aus dem Entlüftungsventil bestimmten Massenkonzentrationen liegen immer unter denen des Abschlämmventils. Dennoch stimmen beide Kurven nicht mit dem berechneten Verlauf überein, dieser liegt noch ein Stück unter dem des Entlüftungsventils. D.h. die Berechnung unterschätzt die Eindickung, was unter anderem mit den nicht ganz homogenen Zulaufkonzentrationen zusammen hängen könnte. Eine weitere Beobachtung ist die nichtlineare Entwicklung der Massenkonzentration. Es ist zu berücksichtigen, dass die Probenahme aus der Filterzelle immer zu einer leichten Verdünnung der Suspension in der Filterzelle führt. Folglich ist eine abnehmende Steigung zwischen den Datenpunkten im Vergleich zur berechneten Entwicklung zu beobachten. Die Beobachtung des Verlaufs der Massenkonzentration durch alleinige Probenahme aus dem Abschlämmventil enthüllt also nicht den realen Verlauf der Massenkonzentration in der gesamten Filterkammer. Dennoch gibt der berechnete Verlauf eine gute Annäherung an die endgültig erreichten Werte für die Massenkonzentration wieder.

Einen maßgeblichen Einfluss auf die Filtrationsgeschwindigkeit hat die sich ausbildende Deckschicht. Eine größere Deckschichtmasse mit kleineren Partikeln resultiert in einer Verlängerung der Filtrationszeiten. Der Einfluss der Partikelgröße auf die Filtrationszeit

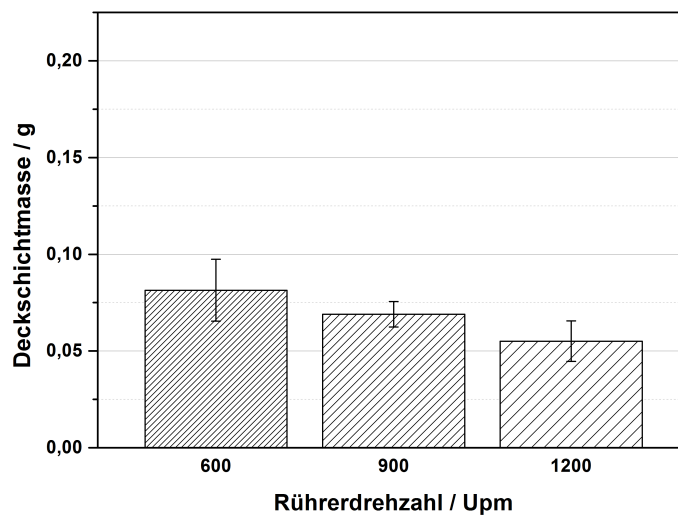


Abbildung 8.3: Deckschichtmasse auf 130 cm^2 Filterfläche bei Variation der Rührergeschwindigkeit (Isometrische Lysozymkristalle, 5 l Vorlage)

wird in 8.1.1 noch ausführlich diskutiert. Der Einfluss der Rührerdrehzahl und somit der Scherkräfte auf die Deckschichtbildung ist in Abbildung 8.3 dargestellt.

Mit höherer Rührergeschwindigkeit bildet sich eine geringere Deckschicht aus. Dies kann begründet werden durch die stärkeren auf die Partikel wirkenden Querkräfte. Diese befördern den Abtransport von sich der Membran nähernden Partikeln zurück in die Strömung. Interessant ist es hierbei auch noch den Deckschichtaufbau über eine längere Filtrationszeit bzw. eine größere Menge an filtrierter Suspension zu betrachten. Dies ist in Abbildung 8.4 dargestellt. Die Versuche wurden mit einem Druckbehälter zur Suspensionsförderung durchgeführt. In dieser Versuchsreihe konnte sogar eine geringere Deckschichtmasse detektiert werden. Die Ursache hierfür konnte nicht ausgemacht werden. Für gewöhnlich sind die Fehler oder auch unterschiedlichen Einflüsse in der Variabilität der Kristallisationsansätze zu finden. Der veränderte Versuchsaufbau könnte hier allerdings auch dazu beigetragen haben, da keine homogene Feststoffkonzentration im Zulauf garantiert werden konnte. Bei gleicher Rührerdrehzahl wird eine größere Deckschichtmasse detektiert bei längerer Filtrationszeit. Dies deutet darauf hin, dass sich nach 5 l filtriertem Volumen noch kein Gleichgewichtszustand eingestellt hat.

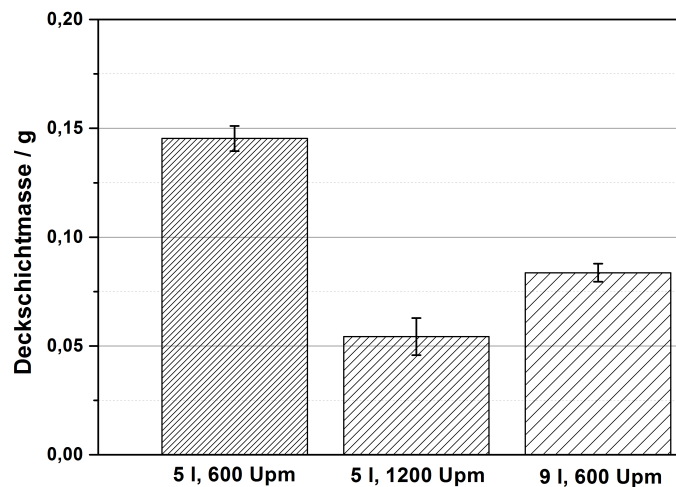


Abbildung 8.4: Deckschichtmasse auf 130 cm^2 Filterfläche bei Variation der Rührergeschwindigkeit und des Vorlagevolumens (isometrische Lysozymkristalle)

Spezifischer Filtratfluss

Der spezifische Filtratfluss ist der entscheidende Parameter um die Effizienz der Querstromfiltration beurteilen zu können. Der Verlauf wird an dieser Stelle als Funktion der Rotorgeschwindigkeit diskutiert.

Abbildung 8.5 zeigt hier den Verlauf des spezifischen Filtratflusses von repräsentativen Experimenten bei unterschiedlichen Rührerdrehzahlen. Generell zeigen alle drei Kurven dieselbe Entwicklung. Bei einer Rotorgeschwindigkeit von 1200 Upm ist der Startpunkt des spezifischen Filtratflusses nach oben verschoben. Ursache sind Druckfluktuationen und folglich einer Fluktuation des Filtratflusses für die ersten 250 g Filtrat in den Experimenten (in Abbildung 8.5 nicht gezeigt). Dies führt zu einer leichten Verlängerung der Gesamtfiltrationszeit, da der Druck sich von Versuchsbeginn an nicht im optimalen Bereich befindet. Die Initialwerte des Filtratflusses für 900 und 600 Upm weichen ebenfalls voneinander ab, was geringen Unterschieden des Membranwiderstands über dem Membranblatt geschuldet ist. Die generelle Entwicklung des Filtratflusses zeigt einen exponentiellen Abfall, welcher asymptotisch gegen einen Langzeitwert strebt. Wird nun dieser Langzeitwert betrachtet lässt sich eine Abhängigkeit von der Rotorgeschwindigkeit beobachten. Zu Beginn des Versuches wird die Deckschicht ausgebildet und über einen bestimmten Konzentrationsbereich wird ein relativ konstanter Filtratfluss erreicht. Die Lage dieses annähernd konstanten Wertes ist direkt abhängig vom Widerstand der Deckschicht und damit von

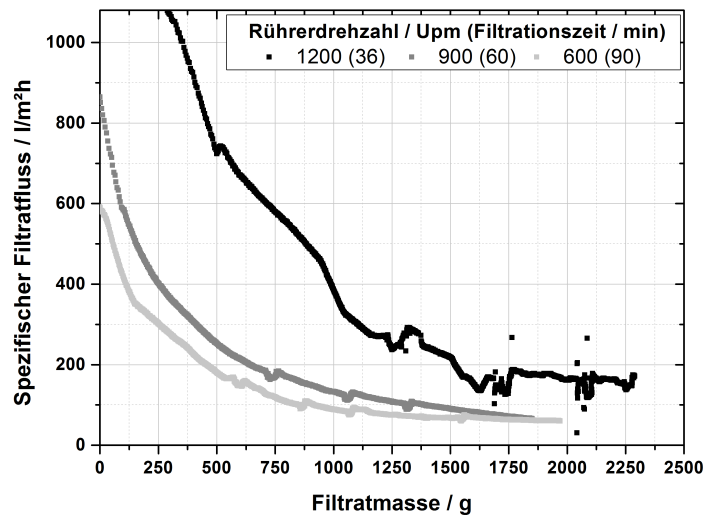


Abbildung 8.5: Spezifischer Filtratfluss über der Filtratmasse während der Eindickung mit unterschiedlicher Rührerdrehzahl

der Rührerdrehzahl. Bei der höchsten Rührerdrehzahl wird auch der höchste Langzeitwert von $171 \pm 44 \text{ Lm}^{-2}\text{h}^{-1}$ erreicht. Mit abnehmender Rührerdrehzahl nimmt auch der Langzeitwert auf $94 \pm 25 \text{ Lm}^{-2}\text{h}^{-1}$ bei 900 Upm und $83 \pm 47 \text{ Lm}^{-2}\text{h}^{-1}$ für 600 Upm. Bei Betrachtung der Fehlerbalken ist allerdings kein Unterschied zwischen den beiden niedrigsten Rührerdrehzahlen zu beobachten. Jedoch ist bei der niedrigeren Rührerdrehzahl eine größere Deckschichtmasse beobachtet worden, was zu einem geringen Filtratfluss führen würde. Eventuell ist der Unterschied zwischen den beiden unteren Drehzahlen zu gering um einen Einfluss zu üben oder die Zusammensetzung der Deckschicht ist verantwortlich hierfür. Dies wird im folgenden Kapitel weitergehend diskutiert.

Veränderung der Kristallgrößenverteilung (KGV) mit der Drehzahl und Prozesszeit

Fokus der Ergebnisdiskussion ist die Veränderung der Kristallgrößenverteilung (KGV) während des Versuchs bedingt durch den Eintrag von Scherenergie in das System. Die Größenverteilung beeinflusst die Filtrationsleistung und auch nachfolgende Produktformulierungsschritte, z.B. Trocknungsprozesse. An zwei Punkten des Prozesses tritt besonders hohe mechanische Belastung auf. Der Energieeintrag im Vorlagebehälter ist im Vergleich zur Cross-Flow Anlage minimal (nach überschlägiger Berechnung 0,16 Watt im Vorlagebehälter und 14 Watt während der Filtration) und kann somit vernachlässigt werden. Die eine Quelle ist der Rotor, die andere die Membranpumpe, welche zur Suspen-

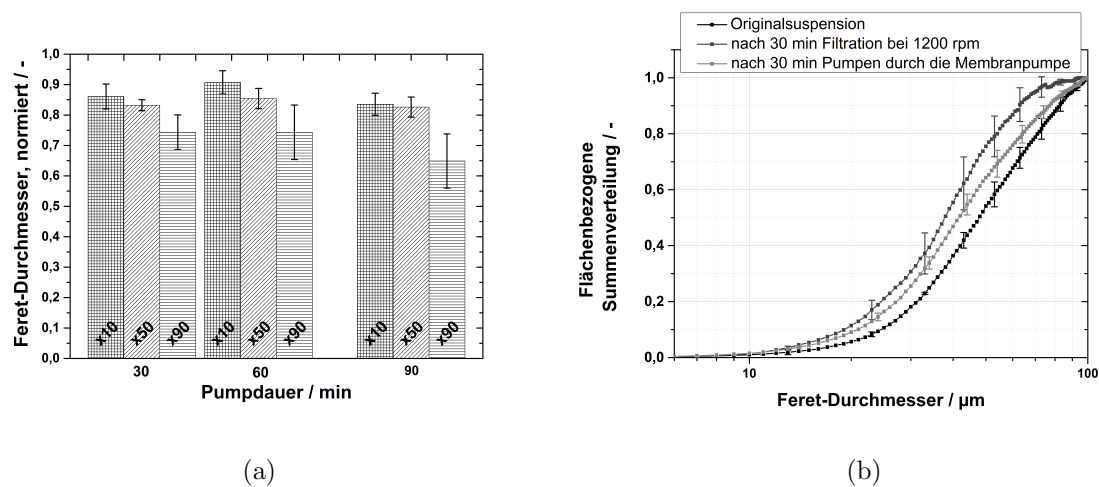


Abbildung 8.6: Normierte charakteristische Werte der KGV durch die Pumpzeit (a) und kumulative flächenbezogene Verteilungen der unbeanspruchten Kristallsuspension (aus dem Vorlagebehälter), nach 30 Minuten Eindickung bei 1200 Upm (zur Filterzelle gefördert durch Membranpumpe) und nach 30 Minuten Pumpen durch die Membranpumpe ohne Eindickung (b)

sionsförderung in die Filterkammer genutzt wird. Dabei sollte nicht außer acht gelassen werden, dass auch eine nicht direkt zum Bruch führende Vorschädigung der Kristalle zum nachfolgenden Bruch/Abrieb während der Filtration führen kann (siehe Stahl [102]). Ein anderer Einflussparameter ist auch die Verweilzeit der Suspension in der Filtrationskammer. Wenngleich dies in den experimentellen Ergebnissen für isometrische Kristalle in Kapitel 6.2 ausgeschlossen werden kann ist dies nicht unbedingt auf die hier durchgeführten Versuche übertragbar. Die Beanspruchung während der Filtration ist wesentlich länger als in der Scherzelle. Ein weiterer Punkt ist, dass in der Filtrationskammer Prall auf das Rührorgan auftreten kann, während dies für die Scherzelle weitgehend ausgeschlossen werden konnte.

Als erster Punkt wird hier die Änderung der KGV durch die Rezirkulation der Suspension durch den Bypass verglichen mit der nur zur Zelle gepumpten und eingedickten Suspension. Über diesen Vergleich wird versucht den Einfluss der Pumpe zu quantifizieren um die Ergebnisse aus der Variation der Rührergeschwindigkeit evaluieren zu können. Abbildung 8.1.1 (a) zeigt den Einfluss der Pumpzeit auf die KGV. Ein leichter Abfall der charakteristischen Werte ist mit zunehmender Pumpzeit zu beobachten.

Wie erwartet ist die Abnahme des x_{90} -Wertes am ausgeprägtesten, da große Partikel strömungsbedingt eine höhere Energie erfahren. Abbildung 8.1.1 (b) zeigt die kumulativen Größenverteilungen der unbeanspruchten Suspension, nach 30 Minuten Eindickung

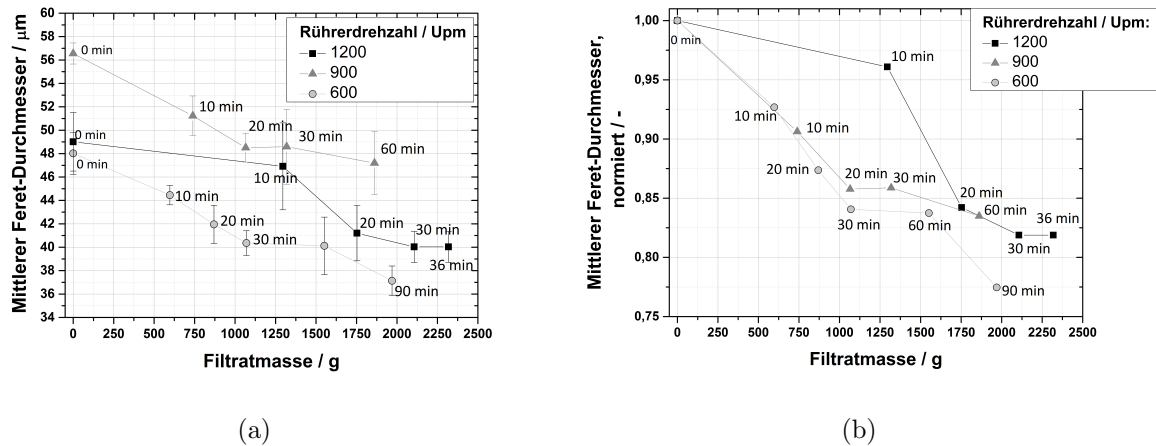


Abbildung 8.7: Vergleich der mittleren Feret-Durchmesser $\times 50$ (a) und des normierten mittleren Feret-Durchmessers (b) der Eindickung bei unterschiedlichen Rührergeschwindigkeiten über die Filtratmasse und Filtrationsdauer

und nach 30 Minuten alleinigem Pumpen durch die Membranpumpe. Eine Reduktion der Kristallgröße wird schon nach 30 Minuten pumpen ohne Filtration beobachtet. Die gepumpte und filtrierte Suspension zeigt eine weitere Abnahme der Kristallgröße. Es muss allerdings berücksichtigt werden, dass die Kristallsuspension während des gesamten Filtrationsprozesses durch die Membranpumpe zirkuliert. Die Suspension wird mit einer konstanten Konzentration durch die Membranpumpe gepumpt und die Kristallgröße nimmt kontinuierlich ab. Somit werden Kristalle mit einem über die Zeit schrumpfenden Durchmesser in die Filtrationskammer gefördert. Theoretisch müsste der mittlere Durchmesser ohne weitere Zerkleinerung der Partikel in der Filtrationskammer größer sein als nach 30 Minuten Pumpen, da die Partikel in der konzentrierte Suspension in der Kammer eine Mischung sind der geförderten Suspension über die Zeit. Dennoch muss berücksichtigt werden, dass die Eindickung auch zu einem häufigeren Partikel-Partikel-Kontakt führt und folglich zu einem zunehmenden Abrieb führen kann. Mit dem hier gewählten experimentellen Aufbau war es nicht möglich diese beiden Effekte zu differenzieren. Weitere Fehlerquelle ist, dass die dargestellten Feret-Durchmesser aus der Probenahme des Abschlammventils stammen. Bei Probenahme aus dem Entlüftungsventil ist eine geringere Größe zu beobachten als bei Proben aus dem Abschlammventil (siehe Abbildung 10.1 im Anhang). Weil der Strömungszustand einer Veränderung in Abhängigkeit der Drehzahl unterliegt ist ein Einfluss nicht auszuschließen. Da der jeweils letzte Wert aus der gesammelten filtrierte Lösung entstammt, sollte dieser auf jeden Fall dem Gesamtkollektiv nach der Beanspruchung entsprechen.

Bei Betrachtung der mittleren Werte der Größenverteilung über die ersten 30 Minuten Versuchsdauer in Abhängigkeit der Rührerdrehzahl scheinen diese beeinflusst zu sein durch die Drehzahl (siehe Abbildung 8.7 (a)). Bei einer Rührerdrehzahl von 1200 Upm ist eine Reduktion der mittleren Korngröße um ca. 20 % bzw. um 14 % für 600 und 900 Upm zu sehen. Jedoch muss hier der Fakt, dass bei derselben Filtrationszeit nicht dieselbe Feststoffkonzentration erreicht wird berücksichtigt werden. Dies wird verursacht durch die sich unterscheidenden spezifischen Filtratflüsse welche wiederum bedingt sind durch Unterschiede im reinen Membranwiderstand und des Deckschichtwiderstandes. Wenn nun der Kurvenverlauf nach 30 Minuten Eindickung bei einer Rührerdrehzahl von 900 Upm betrachtet wird, lässt sich nur eine weitere Reduktion der mittleren Partikelgröße um 2,5 % beobachten. Bei 600 Upm ist eine weitere Reduktion der Partikelgröße von um die 6,5 % innerhalb einer Stunde zu sehen. Dies führt zu dem Schluss, dass der Einfluss der Versuchszeit signifikant geringer ist als der der Rührergeschwindigkeit, wahrscheinlich verursacht durch die Strömungsbedingungen in der Filterzelle. Unter einer bestimmten Kristallgröße können die Partikel in Turbulenzen eingefangen werden und somit mechanischen Belastungen ausweichen (siehe Kapitel 6). In Abbildung 8.7 wurde die Entwicklung der Partikelgröße unter denselben Suspensionsbedingungen, das heißt selbe Filtratmasse bei unterschiedlichen Rührergeschwindigkeit, verglichen. Problem hierbei ist, dass ein Unterschied in der Ausgangskristallgröße besteht. Ein ähnlicher Unterschied im Ausgangskristall ist aber auch bei einem probegeteilten Ansatz (siehe Kapitel 5, Tabelle 5.3) beobachtet worden. Die Problematik lässt sich also nicht durch Teilung eines großen Ansatzes beheben. Zur weiteren Evaluation der Ergebnisse wurde folglich der Feret-Durchmesser normiert auf den mittleren Feret-Durchmesser der Ausgangssuspension für einen Vergleich des Einflusses der Rührerdrehzahl. Diese ist in Abbildung 8.7 dargestellt. Allerdings muss hier auch berücksichtigt werden, wie zuvor schon diskutiert, dass auch der absolute Feret-Durchmesser einen Einfluss auf das Ausmaß des Abriebs hat. Je größer der Partikel, desto größer die Stoßbelastung. Bei 900 und 1200 Upm ist hier nun zu sehen, dass der absolute Abfall dasselbe Ausmaß annimmt; die bei 600 Upm eingedickte Suspension zeigt den größten Abfall der Kristallgröße. Für diesen Effekt gibt es keine schlüssige Erklärung, aber das Ausmaß der Kristallzerstörung zeigt in dieser Auftragung dieselbe Größenordnung bei allen Rührergeschwindigkeiten.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der Abfall des absoluten Partikeldurchmessers abhängig erscheint von der Rührergeschwindigkeit. Bei der Betrachtung des normierten Feret-Durchmesser sind allerdings keine Abhängigkeiten erkennbar. Folglich beeinflusst die Rührergeschwindigkeit im untersuchten Konzentrationsbereich nur die Masse der Deckschicht und somit die Filtrationszeit und nicht die Abnahme der Kristallgröße. Zwei wei-

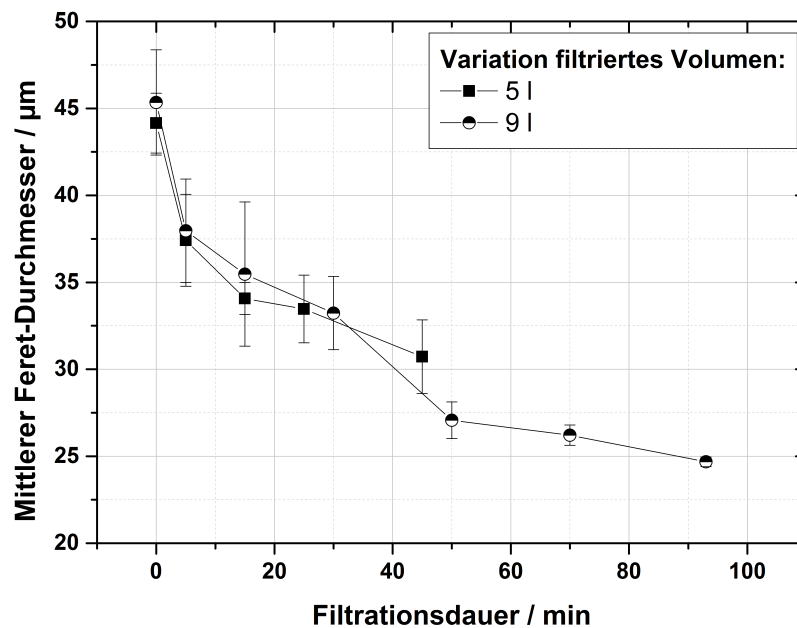


Abbildung 8.8: Mittlerer Feret-Durchmesser von isometrischen Lysozymkristallen über Versuchszeit bei unterschiedlichen filtrierte Volumina und Suspensionsförderung durch Druck

tere Fragen konnten noch im Rahmen weiterer Versuche mit Suspensionsförderung über einen Druckbehälter geklärt werden. Zum einen ob die Pumpe wesentlich zum Kristallbruch durch eine Vorschädigung derselbigen beiträgt, zum anderen ob bei weiterer Eindickung die Kristalle weiter zerkleinert werden und in welchem Ausmaß. Die Ergebnisse repräsentativer Versuche bei einer Rührgeschwindigkeit von 1200 Upm sind in Abbildung 8.8 dargestellt. Beides konnte hier bestätigt werden, wobei gegen Ende des Versuches die Partikelgröße nur noch leicht abfiel. Zur Bestätigung, dass die Kristallgrößenreduktion durch Bruch bedingt ist wurden die Mikroskopieaufnahmen bei Beginn und Ende der Filtration miteinander verglichen. Generell sind die isometrischen Kristalle kleiner nach der Eindickung, was zu den ermittelten kumulativen Verteilungen passt. Weiterhin zeigten elektronenmikroskopische Aufnahmen ausgeprägte Bruchgebiete auf den Kristallen (siehe Abbildung 8.9). Dies ist ein Nachweis, dass Kristallabrieb durch Pumpen und während der Filtration tatsächlich ursächlich sind für die Abnahme der Kristallgröße.

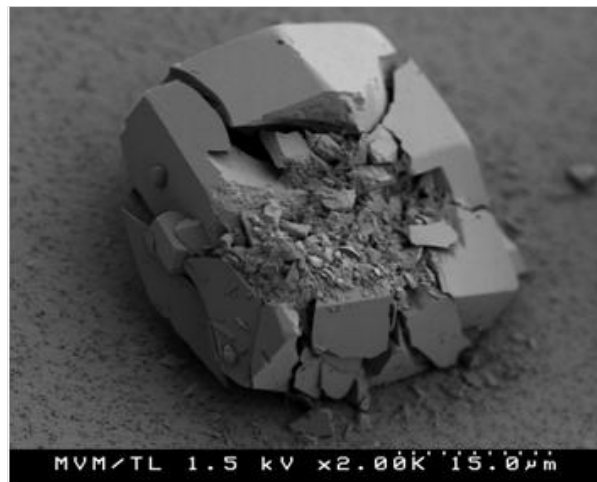


Abbildung 8.9: REM Aufnahme eines Lysozymkristalls einer eingedickten Suspension auf einem Nuclepore Filter

8.1.2 Waschung

Die generelle Möglichkeit eine Proteinverunreinigung aus einer Proteinkristalllösung auszuwaschen wird im Folgenden diskutiert. Die Auswaschung der Modellverunreinigung BSA aus einer Lysozymkristallsuspension und die Reduktion der Kristallgröße während des Waschprozesses werden beschrieben.

Beurteilung der Waschung

Der Fortschritt der Waschung wird, wie im Methodenteil schon beschrieben, photometrisch beurteilt. In Abbildung 8.10 (a) ist der Verlauf der Waschung dargestellt.

Die geschlossenen Symbole zeigen die Entwicklung für drei Versuche mit einer BSA Konzentration von 8 g/l vor der Waschung, die offenen Symbole zeigen den Verlauf bei einer Startkonzentration von 16 g/l. Vor der Waschung wird die Suspension eingedickt bis zu einer Feststoffkonzentration zwischen 160 - 170 g/l. An dieser Stelle muss bemerkt werden, dass die Eindickung mit BSA wesentlich länger dauert als ohne. Die Ursache hierfür wird im folgenden Abschnitt diskutiert. Jede eingedickte Suspension wird mit näherungsweise 1000 g Waschlösung durchströmt. Zwei wichtige Annahmen wurden für die Beurteilung des Waschverhaltens getätigt. Erstens wurde angenommen, dass die vollständige Masse an BSA in Lösung bleibt, d.h. nicht in die Lysozymkristalle bzw. -kristallaggregate eingeschlossen wird. Zweitens wird die Waschlösung mit derselben Lysozymkonzentration wie in der Mutterlösung zu Beginn des Versuchs vorhanden ist präpariert. D.h. es wird davon ausgegangen, dass der Eindickungsprozess zu keiner Auflösung und damit zu einem

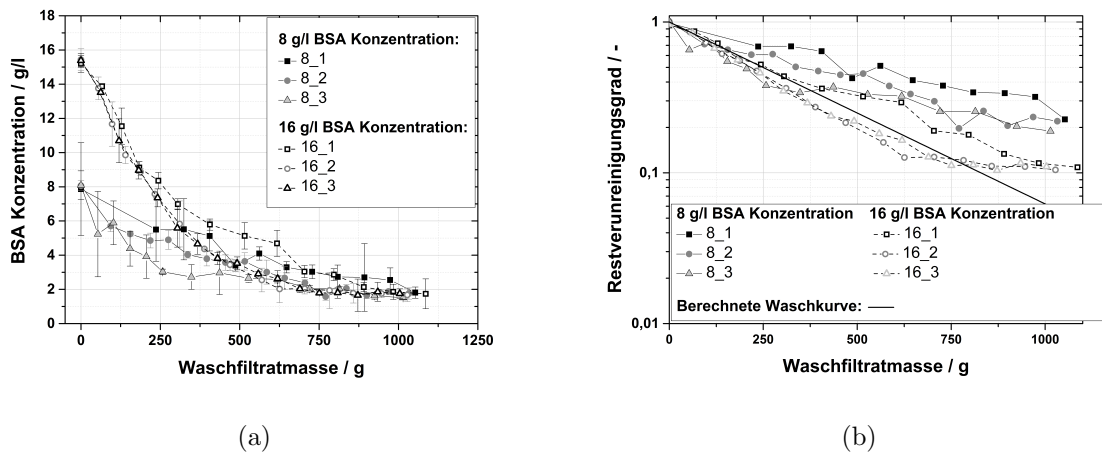


Abbildung 8.10: Verlauf der Waschung; BSA Konzentration über Waschfiltratmasse (a) und Restverunreinigungsanteil über Waschfiltratmasse (b)

erhöhten Anteil an Lysozym in der Mutterlösung führt.

Entsprechend Abbildung 8.10 (a) stimmen die Startwerte der BSA Konzentrationen sehr gut mit den angesetzten Lösungen überein. Weiterhin ist der Abfall der BSA Konzentration sehr viel schneller bei einer Startkonzentration von 16 g/l. Bei einer Waschfiltratmasse von 500 g ist eine gleiche BSA Konzentration zweier experimenteller Reihen zu beobachten. Zu diesem Zeitpunkt liegt die BSA Konzentration im Filtrat schon bei nur noch 3-4 g/l. Der weitere Waschprozess verhält sich sehr ähnlich für 8 und 16 g/l BSA und auch die Endkonzentrationen sind vergleichbar. Um einen Restverunreinigungsanteil von 10 % zu erreichen liegt das berechnete Waschverhältnis um die 2,8 bei den Versuchen. In Abbildung 8.10 (b) ist der Restverunreinigungsanteil über der Masse an Waschfiltrat aufgetragen. Die relative Restverunreinigung nimmt schneller ab bei einer höheren Startkonzentration an BSA. Bei 8 g/l Startverunreinigungskonzentration wird eine Restverunreinigung von 20 % erreicht. Bei den Experimenten mit 16 g/l Startverunreinigungskonzentration ist ein abweichender Verlauf der Restverunreinigung zu beobachten. Im als 16_2 bezeichneten Experiment (Versuch 2 mit 16 g/l Startkonzentration) und 16_3 ist sichtbar, dass ab 650 g Waschfiltratmasse die Restverunreinigung ungefähr konstant bleibt. Versuch 16_1 hingegen zeigt immer noch einen kontinuierlichen Abfall der Messwerte.

Dennoch wird dieselbe Restverunreinigung, nämlich 10 %, für alle Versuche erreicht. Die Unterschiede in den Waschkurven könnten bedingt sein durch sich unterscheidende Waschzeiten. Bei Versuch 16_1 betrug die Waschzeit 50 Minuten, bei 16_2 und 16_3 65 und 80 Minuten. Dies führt zu dem Schluss, dass längere Waschzeiten zu einem geringeren Waschflüssigkeitsverbrauch führen um denselben Restverunreinigungsgrad zu erreichen.

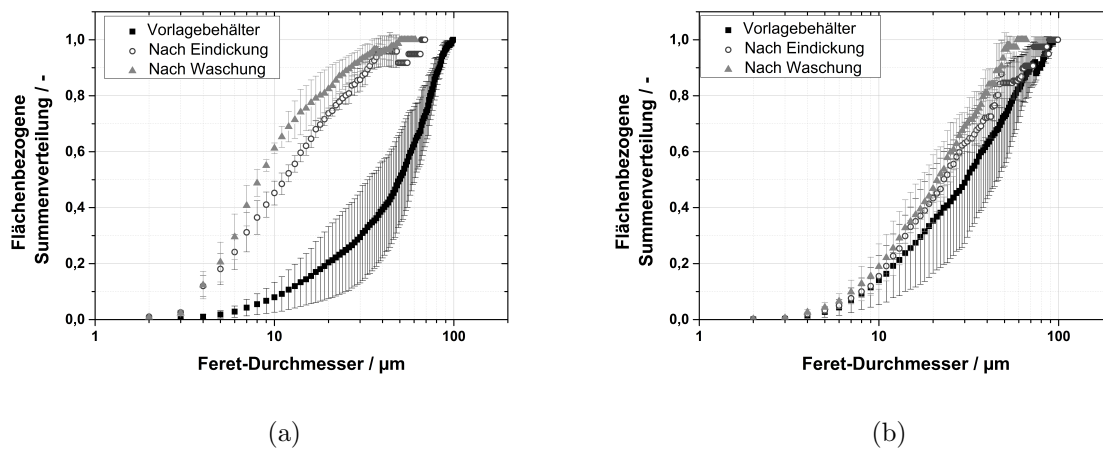


Abbildung 8.11: Exemplarische Darstellung der Entwicklung der Kristallgrößenverteilung für Versuch 8_3 (a) und Versuch 16_1 (b) vor der Filtration (im Vorlagebehälter, nach der Eindickung und nach der Waschung)

Ursächlich hierfür ist, dass eine längere Kontaktzeit der Kristalle mit der Waschflüssigkeit den diffusiven Massentransfer verbessern. Ebenso führt der Verlauf des Verunreinigungsanteils von Versuch 16_2 und 16_3 zu dem Schluss, dass die Restverunreinigung mit einer höheren Menge an Waschflüssigkeit nicht weiter reduziert werden kann. Dies ist auch nachgewiesen durch den berechneten Verlauf der Verunreinigung. Die experimentell detektierten Kurven weisen eine Abweichung vom erwarteten exponentiellen Verlauf auf; ein Grenzwert scheint erreicht zu sein.

Generell kann behauptet werden, dass bei steigender BSA Konzentration die Waschung effizienter wird. Dies kann erklärt werden durch den gesteigerten Massentransfer aufgrund des höheren Konzentrationsgradienten und durch die steigende Waschzeit bei höherer Verunreinigungskonzentration welche die Diffusion von BSA in das Waschfluid befördert.

Veränderung der Kristallgrößenverteilung

Der erste hier diskutierte Punkt ist der Einfluss der BSA Konzentration auf die Veränderung der Kristallgrößenverteilung während der Eindickung. Zweitens wird die Veränderung der Größenverteilung durch den Waschprozess selbst beurteilt. Abbildung 8.11 (a) zeigt die Veränderung der kumulativen Größenverteilung für Versuch 8_3 als repräsentativen Versuch bei 8 g/l Startverunreinigungskonzentration an BSA.

Schon vor der Eindickung der Suspension ist eine große Standardabweichung aufgrund der Kristallgrößenanalyse sichtbar. Nach einer Filtrationszeit von ca. 75 Minuten bzw. 2000 g aufgefangener Filtratmasse wird eine Probe aus der Filtrationskammer genommen.

Zu diesem Zeitpunkt ist schon eine signifikante Veränderung der Kristallgrößenverteilung sichtbar. Im Speziellen lässt sich eine Verdoppelung der Breite der Verteilung nachweisen. Nach der Waschung der Kristallsuspension bewegt sich die flächenbezogene Summenverteilung weiter in Richtung kleiner Kristallgrößen. Jedoch ist diese Verschiebung wesentlich kleiner als nach der Eindickung. Die Breite der Verteilung ändert sich durch die Waschung nicht weiter. Dies könnte auf dem Fakt basieren, dass nach der Eindickung die Kristalle sowieso schon sehr klein sind und so eine weitere Verkleinerung nicht passieren kann. Abbildung 8.11 (b) zeigt die KGVs im Verlauf des Versuchs bei 16 g/l Startkonzentration. Die Startverteilung zeigt wieder eine ausgeprägte Standardabweichung, wie auch bei den 8 g/l Versuchen beobachtet wurde. Dies führt zu dem Schluss, dass die große Standardabweichung ein generelles Problem darstellt bei Kristallsuspensionen die BSA enthalten. Die Veränderung der Kristallgrößenverteilung ist weniger ausgeprägt als bei den 8 g/l Versuchen. Weiterhin scheint der Einfluss der Waschung auf die KGV vernachlässigbar zu sein. Der kleinere Einfluss der Eindickung auf die Größenverteilung bei 16 g/l BSA kann erklärt werden mit der Tatsache, dass die Kristalle sowieso schon kleiner sind nach der Kristallisation im Vergleich zu den Kristallen mit 8 g/l BSA und folglich weniger gestresst werden in den Scherströmungen der Anlage. Ein weiterer Grund ist, dass die Kristallstruktur sich bei Kristallisation unterschiedlicher Verunreinigungskonzentration unterscheidet. Dies wird in Abbildung 8.12 gezeigt. BSA tendiert zu der Bildung von hauptsächlich Kristallaggregaten. Diese bestehen aus kleinen zusammengewachsenen Kristallen. Schon durch nur geringe mechanische Beanspruchung (siehe 4.2 und 6.4) werden diese in ihre Einzelkristalle zerbrochen und die Verteilung verschiebt sich vollständig in Richtung kleiner Kristalle. Einzelne isometrische Kristalle sind so gut wie nicht sichtbar vor der Beanspruchung. Die kleine Menge an sehr großen Kristallaggregaten die nach der Scherung noch zurück bleibt zeigt eine deutliche Abrundung der Struktur, was auf mechanische Beanspruchung dieser hinweist (Abbildung 8.12 b und d). Bei 16 g/l BSA Startkonzentration sind die Aggregate weniger abgerundet als bei 8 g/l BSA. Dies ist bedingt durch die geringere absolute Größe der Kristallaggregate und/oder die sich unterscheidende innere Aggregatstruktur bei Variation der BSA Konzentration.

8.2 Vertikalzentrifuge

8.2.1 Kurzübersicht über die durchgeführten Versuche

Variiert wurden die Betriebsparameter Füllzahl, Schleuderdrehzahl und Schleuderzeit, Tabelle 8.1 gibt eine Übersicht über die in der Zentrifuge durchgeführten Versuche.

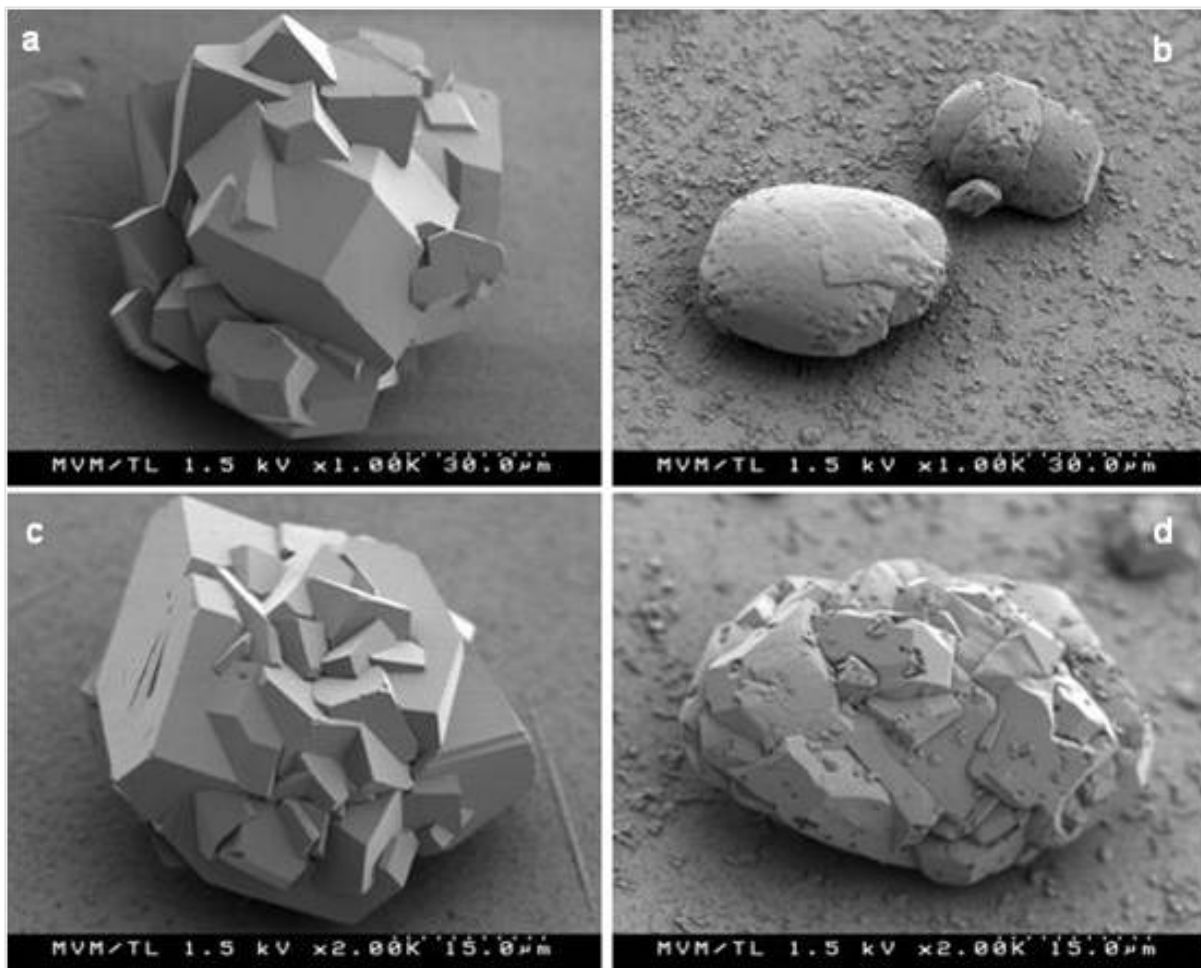


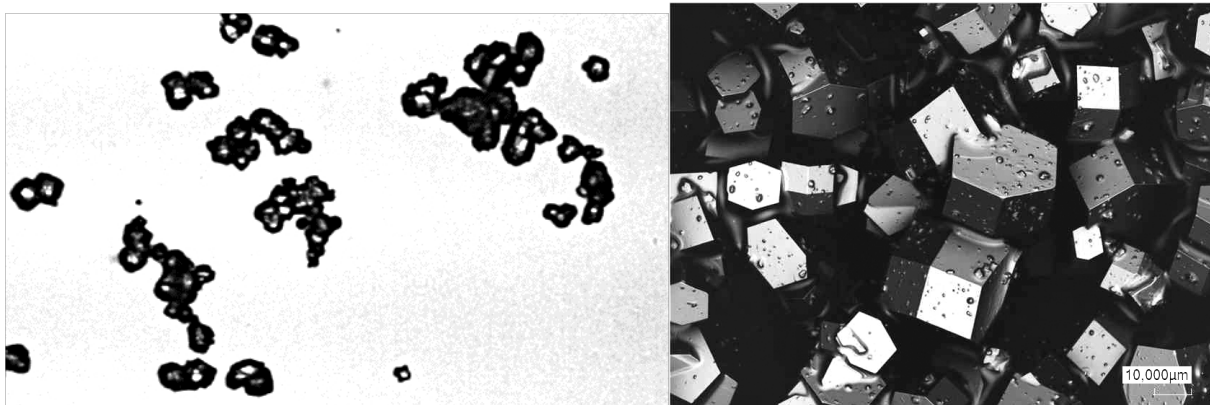
Abbildung 8.12: REM Bilder der Kristalle aus Kristallisationsansätzen mit 8 g/l BSA vor (a) und nach (b) der Eindickung und Bilder von Kristallen der Suspension mit 16 g/l BSA vor (c) und nach der Eindickung (d)

8.2.2 Kristallisation

Da die Kristallisation sehr sensitiv auf Veränderungen reagiert war eine gewisse Variationsbreite der einzelnen Kristallisationsansätze zu beobachten. Die Kristallisationsprozedur folgte der in Kapitel 4.1.1 für isometrische Kristalle beschriebenen. Abbildung 8.13 zeigt Lichtmikroskopische und LSM-Aufnahmen des so gewonnenen Kristallisats. Ob die auf den lichtmikroskopischen Aufnahmen (siehe Abbildung 8.13) (a) deutlich sichtbar zusammengelagerten Kristalle agglomeriert oder aggregiert sind, konnte nicht erfasst werden. Bei Betrachtung der LSM-Aufnahmen in Abbildung 8.13 (b) ist jedoch ein Anteil an aggregierten Kristallen zu sehen. Dieser Anteil aggregierter Kristalle ließ sich nicht vermeiden und muss in die Diskussion mit einbezogen werden. Aggregierte und agglomerierte Strukturen sind wesentlich empfindlicher gegenüber mechanischen Belastungen als kom-

Tabelle 8.1: Parameter der Versuche mit der Vertikalzentrifuge

| Einlassdrehzahl / Upm | Schleuderdrehzahl / Upm | Schleuderzeit / min |
|-----------------------|-------------------------|---------------------|
| 300 | 2000 | 2,5 |
| 500 | 2000 | 2,5 |
| 1000 | 2000 | 2,5 |
| 500 | ungeschleudert | ungeschleudert |
| 500 | 4200 | 7 |
| 500 | 4200 | 20 |
| 500 | 2000 | 20 |
| 500 | 3000 | 2,5 |



(a)

(b)

Abbildung 8.13: Aufnahmen des Ausgangskristallisats unter dem Lichtmikroskop (a) und unter dem LSM (b)

Tabelle 8.3: Charakteristische Kennwerte der Größenverteilungen

| Kennwert | Feret-Durchmesser / μm | Standardabweichung / μm |
|-----------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| x10 | 36,4 | 4,6 |
| x50 | 64,6 | 6,0 |
| x90 | 88,9 | 3,7 |

pakte isometrische Kristalle. Die durchschnittlichen charakteristischen Kennwerte für die Größenverteilungen aller Kristallisationen sind in Tabelle 8.3 dargestellt.

8.2.3 Einfluss der Peripherie auf den Kristallbruch

Als erster Schritt wurde der Einfluss der Peripherie bzw. des Zulaufs auf die Kristallgrößenverteilung untersucht. Die Stellen höchster Beanspruchung (und damit verantwortlich für auftretenden Kristallabrieb) in der Zulaufleitung sind die Stellen engsten Durchmessers. Dies sind der Behälterauslass und das Handventil zur Regelung des Suspensionseinlasses in der verwendeten Anlage. Um eine mögliche Belastung abschätzen zu können wird die Schergeschwindigkeit in den engsten Querschnitten nach Senge et al. [97] wie folgt berechnet:

$$\dot{\gamma} = \frac{4 \cdot \dot{V}}{\Pi \cdot r_{Rohr}^3} \quad (8.1)$$

mit der Schergeschwindigkeit $\dot{\gamma}$, dem Volumenstrom \dot{V} und dem Rohrradius r_{Rohr} . Hieraus ergibt sich eine maximale Scherrate von 50 000 1/s. Bei Vergleich mit den Ergebnissen aus Kapitel 6.2 war bei den kompakten isometrischen Kristallen bei dieser Scherbeanspruchung noch keine deutliche Kristallzerstörung sichtbar. D.h. es ist von keiner Zerkleinerung der Kristalle durch die Zuführung auszugehen, dennoch wurde dies experimentell überprüft.

In Abbildung 8.14 ist ein Vergleich der charakteristischen Kennwerte vor und nach dem Durchlauf durch das Ventil dargestellt. Ein Unterschied ist nur im Rahmen der Standardabweichung zu sehen. Zu berücksichtigen ist allerdings, dass nach Stahl [102] eine nicht zum Bruch führende Vorschädigung der Kristalle zu einer geringeren zum Bruch führenden Energie während der Zentrifugation führen kann.

8.2.4 Einfluss der Zentrifugenparameter auf die Kristallgröße

Die erste wichtige zu klärende Frage ist, ob die Kristallgrößenverteilung bzw. das Ausmaß des Kristallbruchs und -abriebs durch eine Variation der Zentrifugenparameter beeinflussbar ist. Daraus ließe sich dann über geeignete Betriebsparameter entscheiden. Parameter waren, wie in Kapitel 4.6.2 schon erläutert, die Einlassdrehzahl, die Schleuderdrehzahl und die Schleuderzeit. Dabei bezieht sich die Angabe der Schleuderzeit auf den Beginn der Beschleunigung der Zentrifuge bis zum Beginn des Bremsvorgangs, d.h. die Schleuderdrehzahl war nicht über die gesamte Schleuderzeit konstant. Die bestimmten Kornanreicherungskurven sind über die gesamte Kuchenhöhe ermittelt worden, ebenso die charakteristischen Kennwerte.

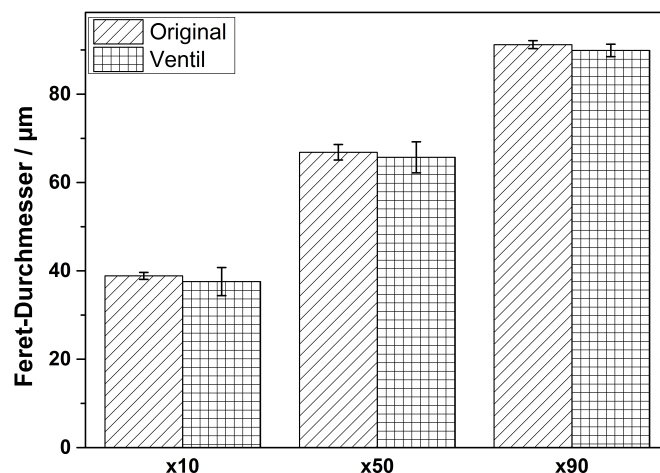


Abbildung 8.14: Charakteristische Werte x_{10} , x_{50} und x_{90} der Korngrößenverteilungen vor (Original) und nach dem Durchlauf durch das Ventil an der Vertikalzentrifuge

Einfluss der Einlassdrehzahl

Die Frage die es hier zu klären galt war, ob die Rotationsgeschwindigkeit der Trommel einen Einfluss auf den Kristallbruch/-abrieb hat. Dabei wurden drei Einlassdrehzahlen untersucht, 300, 500 und 1000 Upm. 300 Upm ist eine typische Drehzahl für grobkörnige Produkte wie beispielsweise Zucker. In der pharmazeutischen Industrie sind um die 500 Upm üblich (siehe [103]). 1000 Upm wurde als sehr hoher Referenzwert gewählt. Der gebildete Kuchen wurde bei allen Versuchen bei 2000 Upm für 2,5 Minuten abgeschleudert. Bei den sehr geringen Schleuderdrehzahlen und -zeiten wird eine geringe weitere Zerkleinerung der Kristalle erwartet. Ganz ohne Abschleudern des Kuchens war, insbesondere bei geringen Einlassdrehzahlen, aufgrund der hohen Restfeuchte der Kuchen eine Analytik des selbigen erschwert. Abbildung 8.15 zeigt das Ergebnis der Untersuchungen in Form von normierten charakteristischen Kennwerten und Kornanreicherungskurven.

Bei allen Versuchen ist zunächst eine deutliche Reduktion der Kristallgröße erkennbar, vor allem im Bereich größer $50 \mu\text{m}$. Zwischen 500 und 1000 Upm sind keine Unterschiede sichtbar, jedoch zu einem Einlassprozess bei 300 Upm. Vom grundsätzlichen Verlauf entsprechen die Kurven dem für isometrische aus den Scherzellenversuchen (siehe Kapitel 6.5), d.h. es ist ein Anstieg der Kurven in Richtung kleiner Korngrößen und dann ein Abflachen der Kurven zu beobachten. Bei einer Einlassdrehzahl von 300 Upm ist ein nicht ganz so ausgeprägter Anstieg der Feinfraktion ersichtlich. Allerdings sind die Stan-

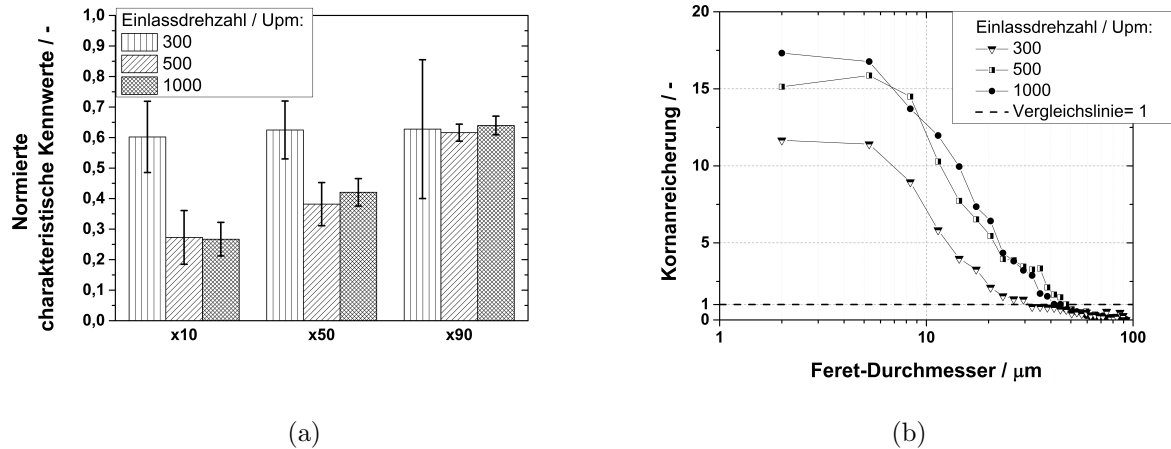


Abbildung 8.15: Charakteristische Kennwerte (a) und Kornanreicherungskurven (b) bei Variation der Einlassdrehzahl (Schleuderdrehzahl 2000 Upm, Schleuderzeit 2,5 Minuten)

dardabweichungen speziell für diese Versuchsreihe recht hoch. Auch ist im Bereich kleiner Kristalle der Fehler analytisch bedingt höher. Abbildung 8.15 zeigt außerdem, dass die Unterschiede in den x90-Werten bei allen drei Schleuderdrehzahlen gering ausfallen. Ursache für die geringere Zerkleinerung bei geringerer Einlassdrehzahl könnte zum einen sein, dass die Kristalle die Trommelgeschwindigkeit schneller erreichen und somit der Rollvorgang abgekürzt wird und weniger Abrieb auftritt. Ein zweiter nicht zu vernachlässigender Punkt ist die Variabilität der Kristallisationen bezüglich der Kristallgröße. In Abbildung 8.16 sind die Mittelwerte der Kollektive für die Versuche vor und nach dem Zentrifugationsprozess dargestellt.

Hier wird deutlich, dass die Kristallkollektive schon vor dem Versuch aus kleineren Kristallen bestehen als für die Versuche bei 300 Upm. D.h. die geringere Abnahme der Kristallgröße könnte die Ursache finden in der geringeren Angriffsfläche von kleineren Kristallen.

Einfluss der Schleuderdrehzahl

Bei einer gewählten konstanten Einlassdrehzahl von 500 Upm wurde die Schleuderdrehzahl variiert. Bei geringeren Einlassdrehzahlen wurde häufig Schaumbildung aufgrund des langsamen Filtratabflusses beobachtet. Die Schleuderdrehzahlen betragen 2000, 3000 und 4200 Upm, wobei die höchste Schleuderdrehzahl der Maximaldrehzahl der Zentrifuge entsprach. In Abbildung 8.17 sind die normierten charakteristischen Kennwerte (a) und die Kornanreicherungskurven (b) aufgetragen. Geschleudert wurde wieder für jeweils 2,5 Minuten.

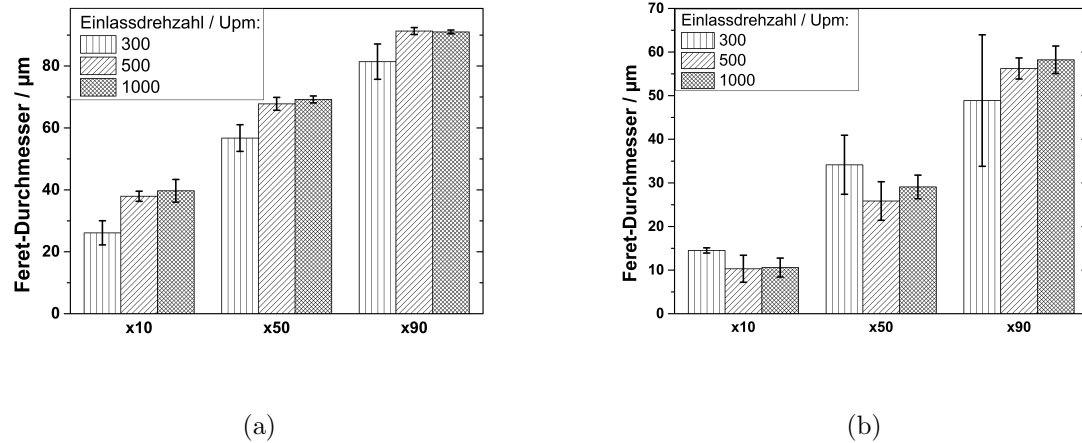


Abbildung 8.16: Absolute charakteristische Kennwerte der Größenverteilung vor der Filtration (a) und nach der Filtration und Schleudern (bei 2000 Upm für 2,5 Minuten) (b))

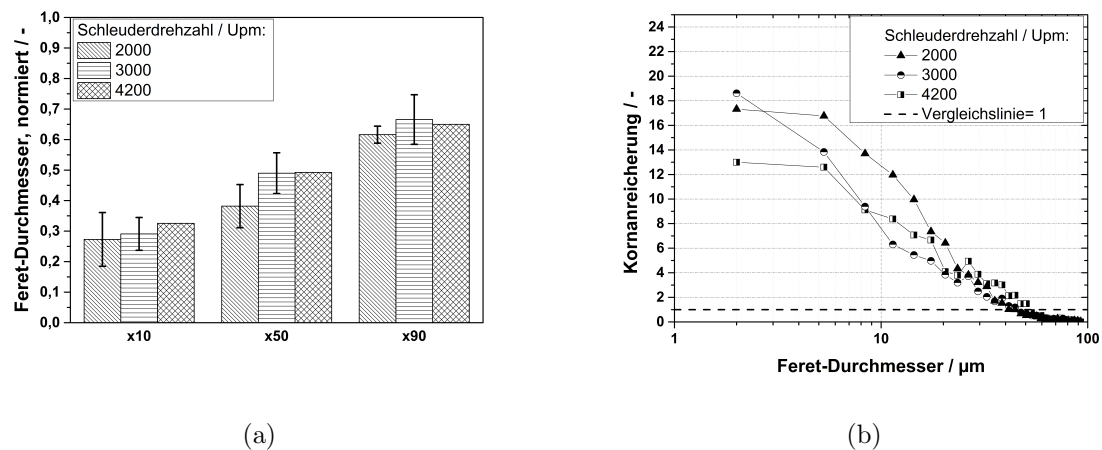


Abbildung 8.17: Charakteristische Kennwerte (a) und Kornanreicherungskurven (b) bei Variation der Schleuderdrehzahl (Einlassdrehzahl 500 Upm, Schleuderzeit 2,5 Minuten)

Die Anreicherungskurven bzw. Zerkleinerung der Kristalle ist bei Variation der Schleuderdrehzahl noch ähnlicher als bei Variation der Einlassdrehzahl.

Einfluss der Schleuderzeit

Die Schleuderzeit scheint im Rahmen der Variation keinen wesentlichen Einfluss zu haben auf das Ausmaß der Kristallzerstörung. Hier sei auf das Diagramm 10.2 im Anhang 10 verwiesen.

8.2.5 Filterkuchenspezifikationen

Im Folgenden wird der Einfluss der variierten Versuchsparameter auf die Filtrationseigenschaften des Filterkuchens diskutiert. Dazu wird zunächst kurz der Kuchenaufbau angerissen und nachfolgend die Porosität des Kuchens, der Widerstand und die Kuchenrestfeuchte diskutiert.

Kuchenaufbau

Ziel der Filtration im Zentrifugalfeld ist vor allem ein gleichmäßiger Kuchenaufbau. Dies hat einen wesentlichen Einfluss auf das Entfeuchtungsergebnis des Kuchens. Bei den hier durchgeführten Versuchen konnte dies meist nicht erreicht werden. Zur Vermeidung von Schaumbildung bzw. einem Überlaufen der Trommel war nur ein geringer Einlassvolumenstrom realisierbar. In Kombination mit dem großen Querschnitt des Einlasses konnte eine Suspensionsaufgabe in der Trommelmitte nicht realisiert werden. Die Suspension lief auf den Boden des Filtertuchs, d.h. es konnte nicht die volle Trommelhöhe als Filtrationsfläche ausgenutzt werden. Weiterhin bildete sich häufig ein welliges Kuchenprofil aus. Es konnte jedoch keine Abhängigkeit mit den variierten Prozessparameter hergestellt werden. Abbildung 8.18 zeigt eine Prinzipskizze des gebildeten Filterkuchens.

Der manuelle Einlassvorgang könnte ebenfalls einen wesentlichen Einfluss auf sich ausbildende inhomogene Kuchenstrukturen gehabt haben.

Weitere Inhomogenitäten im Kuchen können durch einen Sortierungsvorgang bezüglich der Kristallgröße während der Zentrifugation zustande kommen. Dies konnte allerdings für das Produktsystem durch Probenahme über die Höhe und Vergleich der resultierenden Größenverteilungen ausgeschlossen werden. Ein weiterer Diskussionspunkt ist die sich unterscheidende Belastung über der Kuchenhöhe durch die steigende Zentrifugalkraft in Richtung des Filtermediums. Zur Überprüfung und Veranschaulichung wurden LSM-Aufnahmen mit 50-facher Vergrößerung betrachtet nach Versuchen bei einer Einlassdrehzahl von 500 Upm, einer Schleuderdrehzahl von 2000 Upm und einer Schleuder-

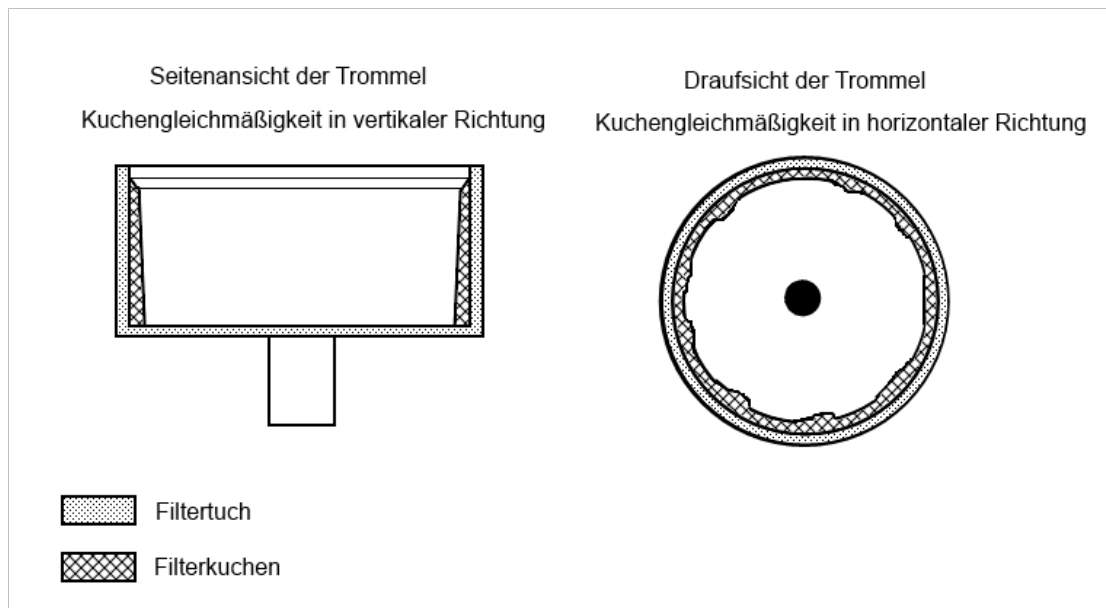


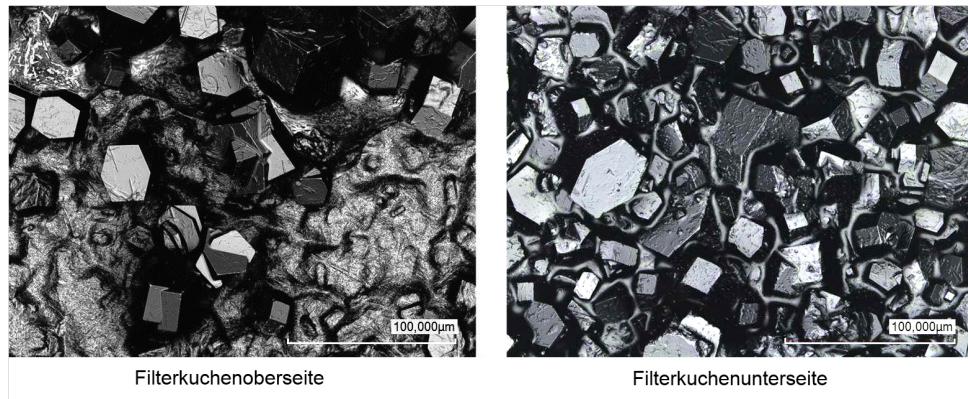
Abbildung 8.18: Schematische Darstellung des Filterkuchenaufbaus in vertikaler und horizontaler Richtung zur Drehrichtung

zeit von 2,5 Minuten. Abbildung 8.19 zeigt die aufgenommenen Bilder der Kuchenoberseite, Kuchenunterseite und Kuchenmitte.

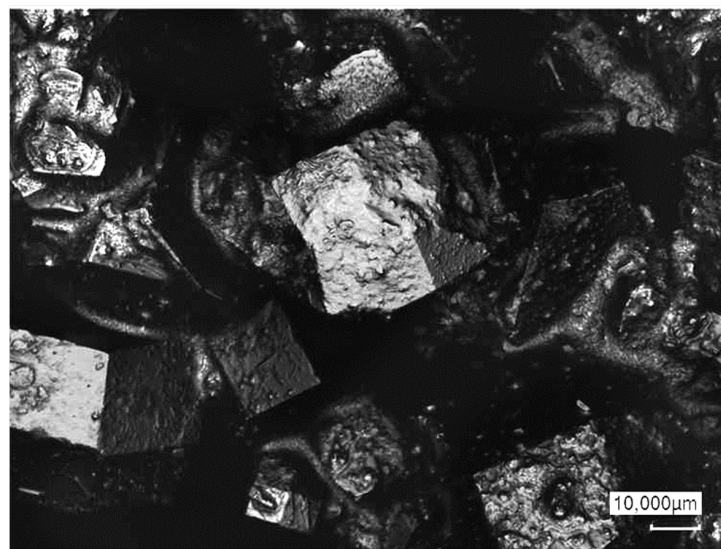
Eine wesentliche Größenveränderung konnte hier, wie schon die Größenverteilungen über der Kuchenhöhe zeigten, nicht ausgemacht werden. Allerdings sind die Kristalle an der Kuchenunterseite deutlich stärker angegriffen als an der Oberseite. Interessanterweise zeigen die Kristalle der Kuchenmitte die größte Zerstörung. Kristalle mit gänzlich abgeriebenen Kanten und Löchern sind erkennbar.

Kuchenporosität

Passend zu der in Kapitel 8.2.4 diskutierten Beobachtung, dass sich bei Änderung der Schleuderdrehzahl keine Änderung der Kornzerstörung ergibt, sind auch keine Porositätsunterschiede erkennbar. Im Gegensatz dazu ist eine leichte Abhängigkeit der Porosität von der Einlassdrehzahl erkennbar. So liegt bei einer Einlassdrehzahl von 300 Upm eine Porosität von 0,42 vor, während diese bei 1000 Upm auf 0,47 ansteigt (siehe Abbildung 8.20). Dies wäre zu erklären durch den Rollvorgang während des Beschleunigens der Kristalle auf die Trommelgeschwindigkeit. Je geringer die Einlassdrehzahl, desto länger dauert der Einlassvorgang, was die Wahrscheinlichkeit erhöht, dass Kristalle in eine optimale Lücke rollen und der Kuchen ist kompakter [103].



(a)



Filterkuchenmitte 100-fache Vergrößerung

(b)

Abbildung 8.19: LSM-Bilder der Kuchenober- und Unterseite bei 50-facher Vergrößerung (a) und der Kuchenmitte bei 100-facher Vergrößerung (b))

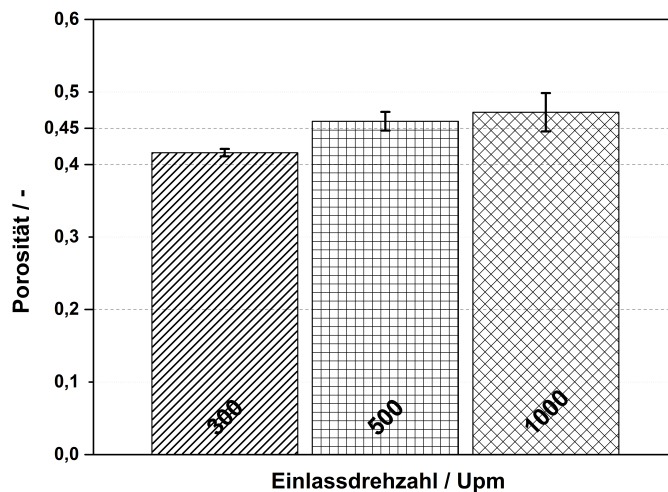


Abbildung 8.20: Abhängigkeit der Porosität von der Einlassdrehzahl (Schleudern bei 2000 Upm für 2,5 Minuten)

Tabelle 8.5: Übersicht über die Filterkuchensättigung nach dem Schleudervorgang

| Schleuderdrehzahl / Upm | $\xi_{\text{Flüssigkeit}}$ | $\Phi_{\text{Flüssigkeit}}$ | Φ | S |
|-------------------------|----------------------------|-----------------------------|--------|------|
| 2000 | 0,49 | 0,56 | 0,45 | 1 |
| 3000 | 0,39 | 0,46 | 0,45 | 1 |
| 4200 | 0,37 | 0,44 | 0,45 | 0,98 |

Kuchenrestfeuchte und Sättigung

Erwartungsgemäß ist die Kuchenrestfeuchte stark abhängig von der Schleuderdrehzahl. Abbildung 8.21 zeigt die Versuchsergebnisse hierzu. Der Kuchen wurde für jeweils 2,5 Minuten geschleudert und die Restfeuchte reduzierte sich von 55 % im ungeschleuderten Zustand zu 37 % für den bei 4200 Upm geschleuderten Kuchen. Im Rahmen der Standardabweichung wurde allerdings kein Einfluss der Schleuderzeit auf die Restfeuchte festgestellt. Dies weist darauf hin, dass bereits kurze Schleuderzeiten genügen um den Kuchen maximal zu entfeuchten.

Die Ergebnisse der Restfeuchte und der Porosität lassen auf die Kuchensättigung schließen, welche eine Rolle spielt für die Einschätzung des Entfeuchtungsverhaltens der Kristallkuchen. Die berechneten Sättigungen sind in Tabelle 8.5 dargestellt.

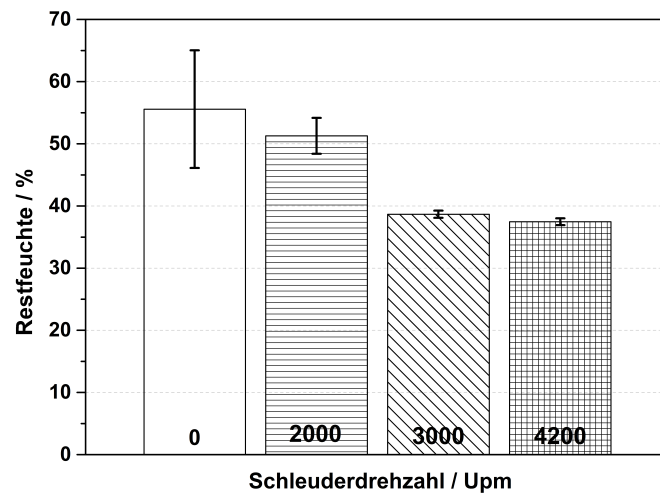


Abbildung 8.21: Abhängigkeit der Kuchenrestfeuchte von der Schleuderdrehzahl (Einlassdrehzahl 500 Upm, Schleuderzeit 2,5 Minuten)

Folgende Schlüsse lassen sich aus der dargestellten Tabelle ziehen:

- Bei niedrigen Schleuderdrehzahlen ist der Filterkuchen vollständig gesättigt
- Eine geringfügige Entfeuchtung ist bei maximaler Schleuderdrehzahl von 4200 Upm erkennbar.

Die hier eingesetzte Zentrifuge eignet sich also nicht zur starken Entfeuchtung der Kristallkuchen. Allerdings gilt es zu berücksichtigen, dass mit konventionellen Filtrationsverfahren vergleichbare bzw. höhere Restfeuchten erreicht werden können, dies also eine Problematik des Produktsystems zu sein scheint.

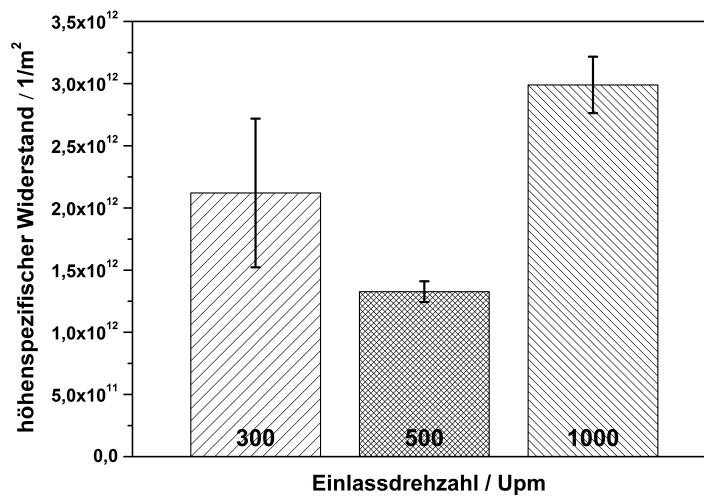


Abbildung 8.22: Abhängigkeit des Filterkuchenwiderstandes von der Einlassdrehzahl (Widerstandsbestimmung bei Start der Messung bei 1 kg)

Kuchenwiderstand

Der Kuchenwiderstand wird hier aus dem aufgezeichneten Filtratstrom berechnet. Aufgrund des sehr großen Totvolumens ist zu berücksichtigen, dass das Messergebnis verfälscht ist und nur zur Abschätzung dienen kann. Die aus dem Filterkuchen austretende Mutterlösung muss zunächst zur Zentrifugenwand gelangen, abgebremst werden und nach unten abfließen. Um die Daten bei unterschiedlichen Einlassdrehzahlen miteinander vergleichen zu können wurden erst Messwerte ab 1 kg Filtratdurchsatz betrachtet. Abbildung 8.22 zeigt die Ergebnisse für den ermittelten höhenpezifischen Widerstand.

Bei 1000 Upm Einlassdrehzahl bildet sich der Kuchen mit dem höchsten Widerstand aus, bei 500 Upm der mit dem kleinsten. Dies ist zunächst einmal ein überraschendes Ergebnis, da bei geringerer Einlassdrehzahl ein schwächer kompaktierter Kuchen erwartet wird und die Porositätswerte ebenfalls zu diesem Schluss führen. Beachtet werden muss hier allerdings, dass die Porosität nach dem Schleudern bestimmt wurde, während der Kuchenwiderstand während dem Einlassvorgang bestimmt wurde. Sicherlich führt das Abschleudern des Kuchens zu einer Vereinheitlichung der Porenstruktur und evtl. auch zu anderen Bruchereignissen. Eine mögliche Fehlerquelle ist der Einfüllvorgang. Dieser Einfüllvorgang gestaltet sich umso schwieriger, je schneller die Suspension filtriert wird. Die Durchsätze und damit auch der Filtratfluss können dadurch beeinflusst werden. Schlussendlich ist der mit der vorhandenen Methodik bestimmte Filterkuchenwiderstand so nicht aussagekräftig.

Tabelle 8.7: Druck auf den Filterkuchen während des Schleudervorgangs (berechnete Werte)

| Schleuderdrehzahl / Upm | 2000 | 3000 | 4200 |
|-------------------------|-------|-------|-------|
| Gerüstdruck / bar | 0,3 | 0,69 | 1,36 |
| Flüssigkeitsdruck / bar | 0,94 | 0,46 | 1,84 |
| Auftrieb / bar | -0,23 | -0,52 | -1,01 |
| Gesamtdruck / bar | 0,49 | 1,1 | 2,17 |

tig. Der gleiche Trend der Widerstände bei Filtration in der Drucknutsche deutet aber darauf hin, dass der beobachtete Trend durch das Kristallsystem und nicht durch die Versuchsmethodik bedingt ist.

8.2.6 Verknüpfung der Druckbeanspruchung während der Zentrifugation mit der Belastung während der Filtration

Um Abschätzungen treffen zu können inwieweit die Druckbelastungen in Zentrifugen mit denen in einer Drucknutsche vergleichbar sind werden zunächst überschlägige Berechnungen für die Zentrifuge angestellt. Die in Tabelle 8.7 dargestellten Ergebnisse berechnen sich aus den Gleichungen 4.44 bis 4.49. Dabei kann der Zentrifugationsprozess in zwei unterschiedliche Belastungsphasen unterteilt werden, zum einen die eigentliche Filtration, zum anderen das Abschleudern. Der erste Schritt hat einen Einfluss auf die Filterkuchenbildung. Hier treten geringe Drücke auf und ein geringer ausgeprägter Kristallbruch ist zu erwarten.

Der zweite Schritt, das Abschleudern, hat einen wesentlichen Einfluss auf die erreichbaren Restfeuchten der Filterkuchen. Abbildung 8.23 zeigt einen Vergleich zwischen den Kornanreicherungskurven bei gleichen berechneten Gesamtdrücken in Drucknutsche und Vertikalzentrifuge. Der prinzipielle Verlauf der Kornanreicherungskurven zeigt eine gute Übereinstimmung zwischen den beiden Separationsverfahren. Der Feinanteil ist leicht erhöht bei der Zentrifugalabtrennung, was wahrscheinlich durch das schon zuvor beschriebene Abrollen der Kristalle auf dem Filtertuch und dem Kuchen herrührt.

In besonderer Weise relevant bei der Auslegung ist der Filterkuchenwiderstand. Verglichen werden können hier die aus der Kuchenbildung detektierten Filterkuchenwiderstände.

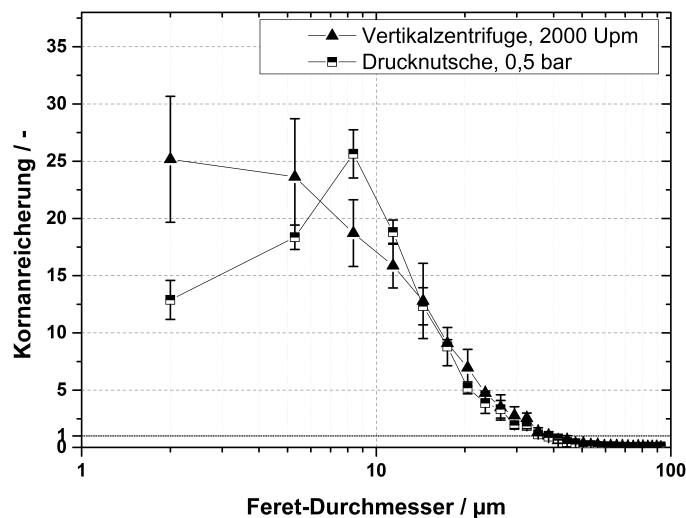


Abbildung 8.23: Kornanreicherungskurven für Drucknutsche bei 0,5 bar Filtrationsdruck und Zentrifugenversuche bei einer Einlassdrehzahl von 500 Upm bei 2000 Upm für 2,5 Minuten geschleudert

Der Kuchenwiderstand bei einer Einlassdrehzahl von 1000 Upm in der Zentrifuge betrug $2,99 \cdot 10^{12} \pm 2,27 \cdot 10^{11}$ und der Widerstand der Drucknutschenversuche bei 0,25 bar war $9,15 \cdot 10^{11} \pm 1,72 \cdot 10^{11}$. Entsprechend den in Tabelle 8.7 dargestellten Berechnungen sollte dies eine ähnliche Belastung auf das Haufwerk aufbringen. Die im zentrifugalen Feld gebildeten Kuchen weisen somit einen höheren Widerstand als die in der Nutsche auf. Dies entspricht den Erwartungen nach Stahl [103], da durch den Rollprozess beim Einlass in Zentrifugen dichter gepackte Kuchen entstehen.

Ein weiterer zu diskutierender Punkt ist der in Abbildung 8.22 dargestellte prinzipielle Verlauf der Filterkuchenwiderstände in Abhängigkeit der Belastungsintensität. Hier galt es die Frage zu klären, ob dies messtechnisch bedingt ist oder das Produktsystem zu diesem Verhalten führt. Abbildung 8.24 zeigt die Widerstände der Zentrifugen- und Drucknutschenversuche im Vergleich.

Der Verlauf ist bei steigender Belastung für beide Trennverfahren identisch, wenngleich die absolute Belastung nach den durchgeführten Berechnungen unterschiedlich ist. Der ermittelte Filterkuchenwiderstand nimmt mit steigender Belastung ab und anschließend wieder zu. Auch kann in beiden Fällen kein direkter Zusammenhang mit dem Porositätsverlauf erkannt werden. Beachtet werden muss jedoch, dass die Widerstände in beiden Fällen aus dem Kuchenbildungsversuch ermittelt wurden und die Porositäten erst nach weiterer Kompression bzw. Durchströmung. Bei den Nutschenversuchen konnte nachge-

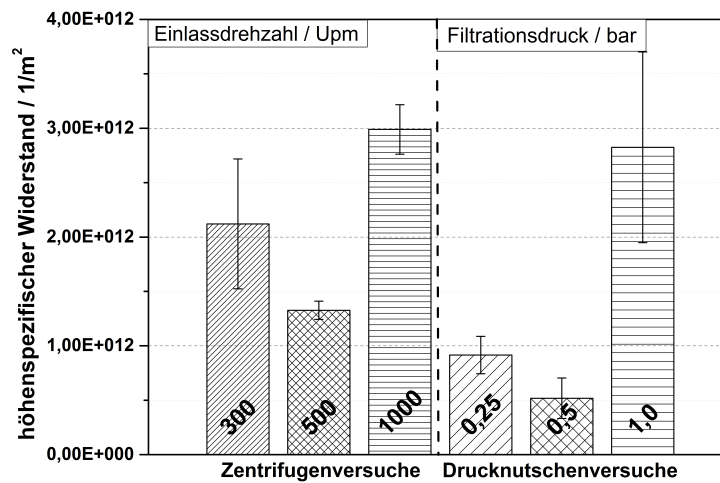


Abbildung 8.24: Höhengenspezifische Widerstände der Zentrifugen- und Drucknutschenversuche bei Steigerung der Belastungsintensität

wiesen werden, dass dies einen erheblichen Einfluss hat auf den Verlauf der Widerstände in Abhängigkeit des Druckes. Folglich kann der Verlauf nur durch die eingesetzte Kristallsuspension bzw. das Verhalten dieser bedingt sein.

Hervorzuheben ist, dass in beiden Trennverfahren dasselbe Verhalten sichtbar ist und somit Nutschenversuche Aufschluss geben können über das Verhalten des Kristallkollektivs in einer Filterzentrifuge.

9 Allgemeine Schlussfolgerungen und weiterführende Überlegungen

Interessante Erkenntnisse zum Bruchverhalten und -mechanismus und zum Einfluss der Kristallmorphologie auf dieses konnten gewonnen werden. Im Folgenden werden die Ergebnisse zusammengefasst dargestellt und weiterführende Überlegungen angestellt.

Zunächst wurden die drei unterschiedlichen kristallinen Lysozymstrukturen (isometrisch, nadelig und aggregiert) in der Scherzelle turbulent und in einer CP-Zelle und in einer Drucknutsche in unterschiedlicher Intensität beansprucht und der Einfluss verschiedener Versuchsparameter untersucht. Dabei konnten wesentliche Erkenntnisse zum Bruchverhalten und zum Einfluss auf die Abtrennung gewonnen werden:

- Das Bruchverhalten ist bei isometrischen und aggregierten Strukturen ähnlich und bei Nadeln ist ein wesentlich anderes Verhalten sichtbar.
- Die Bruchmechanismen sind bei Scher- und Druckbelastungen gleich.
- Isometrische Kristalle stellen wie erwartet die stabilste Struktur dar.
- Die mechanische Abtrennung betreffend führt Kristallbruch nachweislich zu einer:
 - Reduktion der Sedimentationsgeschwindigkeit in der zentrifugalen Abtrennung
 - Erhöhung der Kompressibilität in der kuchenbildenden Filtration und somit Verlängerung von Filtrationszeiten.

Die Prozessbedingungen betreffend wurden folgende Beobachtungen gemacht. In der **Scherzelle** konnte bei Steigerung der Scherintensität bei nadeligen Kristallen eine ausgeprägte Reduktion der Trennspiegelsinkgeschwindigkeit um 66 % (unkonzentriert, 10 s, maximale Scherintensität) ausgemacht werden. Die aggregierten Strukturen zeigten sogar eine Abnahme von 83 % (konzentriert, 30 s, maximale Scherintensität). Bei einer kurzen Scherdauer von 10 s konnte bei den isometrischen Kristallen kein Einfluss festgestellt

werden. Bei Erhöhung der Scherdauer konnte zwar eine leichte Abnahme der Trennsiegelsinkgeschwindigkeit beobachtet werden. Allerdings war die Abnahme der Trennsiegelsinkgeschwindigkeit nicht mit Hilfe der gegebenen analytischen Methoden an der Änderung der Kristallgrößenverteilung fest zu machen. Die Erhöhung der Konzentration an Kristallen in der Suspension machte sich in einem leicht erhöhten Kristallbruch bei den aggregierten Kristallen bemerkbar. Bei diesen und bei isometrischen Kristallen beeinflusste dies die Sedimentationsgeschwindigkeit im Vergleich zur Ausgangssuspension. Der Mechanismus des auftretenden Kristallbruchs ist bei den isometrischen und aggregierten Kristallstrukturen Abbrechen/Abrieb von Ecken und Kanten. Bei den Nadeln ist ein vollständiger Bruch der fragilen Strukturen erkennbar. Dieselben Mechanismen wurden in der **Druckbeanspruchung** beobachtet. Variierte Prozessparameter bei der Druckbeanspruchung waren der aufgebrachte Druck und die Belastungszeit. Während bei isometrischen Kristallen Bruch schon bei sehr geringen Drücken auftrat und keine weitere Dynamik der Größenverteilung bei Verlängerung der Prozesszeit und Erhöhung des Druckes erkennbar war, konnte bei aggregierten Kristallen eine deutliche Abhängigkeit festgestellt werden. Im besonderen Fall der Aggregate ergab sich eine Zusammenlagerung bzw. -pressung im Wechsel mit einer Zerkleinerung bei Erhöhung von Presszeiten und Pressdrücken. Nadelige Kristalle zeigten eine Stagnation der Kristallgröße bei einem Pressdruck von 2 bar, also bei höheren Drücken als bei isometrischen Kristallen. Dies kann auf die Unterschiede im Spannungszustand der Haufwerke zurück geführt werden. Eine direkt Korrelation der Bruchereignisse mit der Filtrierbarkeit konnte hier nicht vorgenommen werden. Die Filtrierbarkeit ist primär bestimmt durch die Kristallstruktur und -größe. Beides variierte, was einen Vergleich erschwert. Weiterhin ist die Kompressibilität des Filterkuchens durch viele Faktoren beeinflusst, nicht nur durch den Kristallbruch. Es kann von den vorliegenden Daten also nur davon ausgegangen werden, dass der, im Vergleich zu konventionellen kristallinen Systemen, schon bei geringen Belastungen auftretenden Bruch einen Einfluss auf die Kompressibilität hat. Das Ausmaß des Einflusses lässt sich nicht erfassen. Von den untersuchten Systemen weisen die isometrischen Strukturen die geringste Kompressibilität auf, während die Nadeln die höchste Kompressibilität zeigen.

Schlussendlich stellte sich noch die Frage inwieweit die gewonnenen Erkenntnisse auf **Fest-Flüssig-Trennprozesse im Pilotmaßstab** zu übertragen sind. Dazu standen eine dynamische Cross-Flow Filtrationseinheit und eine filtrierende Vertikalzentrifuge zur Verfügung. Der Vergleich der Übertragbarkeit auf die *dynamische Cross-Flow Filtrationseinheit* gestaltet sich schwierig. Zum einen unterschied sich die Geometrie der Rührer. Während in der Scherzelle eine flache Scheibe das Rührorgan darstellte und somit Kristallbruch durch Prall ausgeschlossen werden konnte, war hingegen in der dynami-

schen Cross-Flow Einheit ein Schrägblattrührer eingebaut und Prall mit dem Rührorgan als Bruchmechanismus war möglich. Zum anderen sind die Belastungszeiten in der dynamischen Cross-Flow Filtration wesentlich länger. Während in der Scherzelle aufgrund der Erwärmung der Suspension nur geringe Belastungsdauern von bis zu 30 s realisierbar waren betragen die Filtrationszeiten in der dynamischen Filtration ca. 30-90 Minuten. Ein weiterer Unterschied ist die Aufkonzentrierung während der Filtration. Da, wie in der Scherappartur nachgewiesen wurde, die Feststoffkonzentration den Kristallbruch beeinflusst kann mit Hilfe der Modellapparatur nur eine Momentaufnahme der Filtration untersucht werden. Bei allen Filtrationsversuchen bzw. Einstellparametern der Versuchsanlage konnte für isometrische Kristalle eine deutliche Größenreduktion um ca. 50 % beobachtet werden. Diese nahm mit der Zeit ab. Im Rahmen des Fehlers waren keine Abhängigkeiten von der Rotationsgeschwindigkeit des Rührers erkennbar. Im Gegensatz zu den Versuchen in der Modellapparatur wurden bei den aggregierten Kristallen eine sehr deutlich Abrundung der Strukturen beobachtet. Auch war die Größenreduktion deutlich ausgeprägter als in den einfachen Scherversuchen. Sowohl die erhöhte Belastungszeit als auch der Kontakt mit dem Rührer sind wahrscheinlich ursächlich für die beobachteten Unterschiede. In welchem Maß die beobachteten Effekte nun Einfluss auf das Abtrennergebnis in der dynamischen Filtration hat lässt sich aufgrund der Komplexität des Prozesses nicht sagen. Es kann nur die Vermutung geäußert werden, dass kleinere Kristalle zu einer kompakteren Deckschicht und somit zu einer Reduktion der Filtrationsleistung führen können. Auch sind ab einer gewissen Größe der Kristalle und ab einer gewissen Konzentration der Suspension Einflüsse auf das rheologische Verhalten der Suspension und damit auf die Filtrierbarkeit zu erwarten. Da in dieser Arbeit nur sehr geringfügig aufkonzentriert wurde (maximal 2x) konnte dies nicht weitergehend diskutiert werden. Die Filtration in der *Vertikalzentrifuge* unterschied sich von der Modellapparatur dadurch, dass zum einen eine Vorbelastung der Kristalle im Einlauf zu vermuten war, zum anderen durch einen möglichen Abrollprozess beim Auftreffen der Kristalle auf die Filter- bzw. Kuchenoberfläche. Am nächsten liegt das Ergebnis noch den aus Nutschenversuchen gewonnenen Daten, da hier ähnlich kurze Belastungszeiten vorherrschen. Untersucht wurden hier ausschließlich die isometrischen Kristalle. Bei diesen konnte kein Einfluss der Peripherie bzw. des Einlaufvorgangs auf die Kristallstruktur festgestellt werden. Die absolute Reduktion der Kristallgröße war vergleichbar mit der aus Drucknutschenexperimenten. Leichte Unterschiede im Bereich des Feinkorns zeigten sich, da das Abrollen von Kristallen über den Filterkuchen zu einer Abrasion der Kristalloberfläche führten. Aufgrund der Variationsbreite der Ansätze und der Komplexität des Prozesses konnte allerdings kein Einfluss der untersuchten Prozessparameter Einlassdrehzahl, Schleuderdrehzahl und

Schleuderzeit beobachtet werden. Die Reduktion der Kristallgröße kann zu einer Erhöhung der Kompressibilität des Kuchens und damit einer schlechteren Filtrierbarkeit und Entfeuchtung führen. Das Ausmaß des Einflusses lässt sich nicht einschätzen. Zusammenfassend können folgende Schlüsse bezüglich der Übertragbarkeit der Modellversuche auf Anlagen im Pilotmaßstab gezogen werden:

- **Dynamische Filtration:** Die Erkenntnisse aus den Scherversuchen sind nur sehr eingeschränkt übertragbar. Die Scherzelle kann lediglich die Belastung im Einlaufbereich von Zentrifugen nachbilden.
- **Vertikalzentrifuge:** Es konnte eine gute Übereinstimmung fest gestellt werden mit der reinen Druckbeanspruchung, allein der Rollvorgang nach dem Einlauf führte zu einem leicht erhöhten Feinanteil durch Abrasion der Oberfläche.

In der vorgestellten Arbeit konnte nachgewiesen werden, dass bedingt durch die hohe Fragilität der Proteinkristalle von einer Reduktion der Abtrennleistung ausgegangen werden kann im Vergleich zu ähnlichen Systemen bei denen Kristallbruch nicht auftritt. Anhand von Versuchen mit Modellapparaturen im kleinen Maßstab konnte der Einfluss verschiedener Prozessparameter auf den Kristallbruch und der Einfluss der Strukturierung auf die Abtrennung und den Bruch beurteilt werden. Dies ist ein wertvolles Hilfsmittel bei der Beurteilung von Proteinkristallstrukturen hinsichtlich des Bruchverhaltens und der Abtrennung allgemein und liefert erste Einschätzungen für die Abtrennung im Pilotmaßstab. Schwächen der vorgestellten Untersuchungen sind im wesentlichen die kristallinen Systeme. Zum einen wurde nur ein Modellprotein bezüglich des Bruchverhaltens beurteilt. Vor allem bei pharmazeutisch interessierenden Antikörpern sind aufgrund deren Größe und der Anzahl der verschiedenen Wechselwirkungen andere mechanische Eigenschaften zu erwarten. Weiterhin wurden nur drei unterschiedliche Morphologien untersucht deren absolute Größe und Größenverteilungen nicht im selben Bereich lagen. Um weitergehende Erkenntnisse bezüglich des Struktureinflusses zu erlangen sind hier weitere Versuche vonnöten. Weiterhin ist mit der vorgestellten Methode keine Korrelation zwischen dem auftretenden Kristallbruch und dem Materialverhalten des gebildeten Filterkuchens möglich. Dies könnte Gegenstand weiterführender Untersuchungen sein. Bezüglich der Scherexperimente waren es aufgrund der Komplexität der partikulären Systeme außerdem nicht möglich die Reduktion der Kristallgröße und den Einfluss auf die Sedimentationsgeschwindigkeit in funktionalen Zusammenhang zu bringen bzw. zu beschreiben. Hier wären Untersuchungen zunächst an einfacheren Systemen notwendig um physikalische Zusammenhänge herzustellen. Die mangelnde Übertragbarkeit der Scherzellenversuche auf die dynamische

Querstromfiltration kann über eine Anpassung der Scherzelle verbessert werden, im Detail durch eine vergleichbare Geometrie des Scherraumes.

10 Anhang

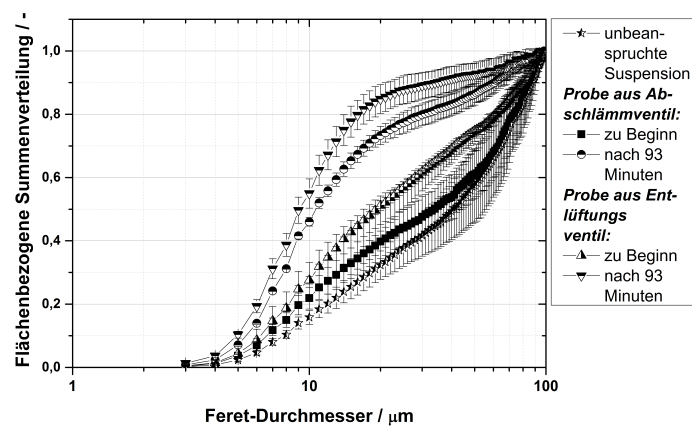


Abbildung 10.1: Größenverteilungen einer Filtrationsversuche bei 9 l Filtrationsvolumen und 1200 Upm Rotorgeschwindigkeit

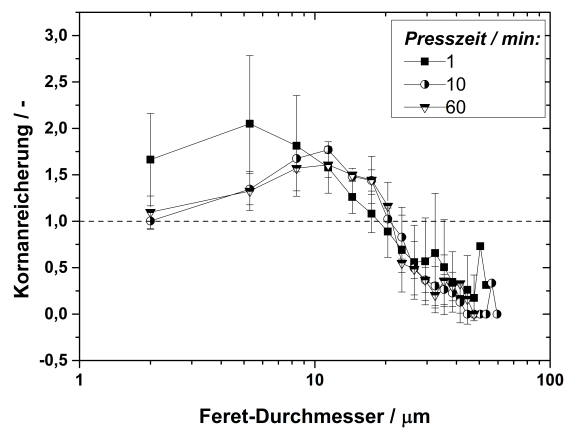


Abbildung 10.2: Kornanreicherungskurven von bei 4,5 bar gepressten Kuchen über der Zeit

Symbolverzeichnis

Lateinische Buchstaben

| Symbol | Einheit | Beschreibung |
|-----------|------------|----------------------------------------------------|
| A | m^2 | Fläche |
| a | – | Anpassungsparameter |
| B | – | (kumulative) Bruchfunktion |
| C | – | Schleuderziffer |
| c | g/l | Konzentration |
| c_v | m^3/m^3 | Volumenkonzentration |
| c_m | kg/m^3 | Massenkonzentration |
| D | m | Durchmesser |
| D_h | m | hydraulischer Durchmesser |
| d | m | Rührerdurchmesser |
| E | J | Energie |
| e | J | Benötigte Energie um Partikelantrieb zu generieren |
| F | N | Kraft |
| F_0 | – | volumetrische Flusszahl |
| f_{rot} | min^{-1} | Drehzahl |

| | | |
|------------|------------|------------------------------------------------------------|
| f | min^{-1} | Frequenz |
| G | N | Gewichtskraft |
| g | m/s^2 | Erdbeschleunigung |
| H | Pa | Härte |
| h | m | Höhe |
| h_{Bett} | m | Betthöhe |
| I | Wm^2 | Intensität |
| K_2 | – | Konstante in Kristall-Kristall Abriebsratengleichung |
| k | – | Faktor gegeben durch Rührergeometrie |
| k_v | – | Volumetrischer Formfaktor |
| L | m | Le |
| l | m | Abstand |
| m | kg | Masse |
| N | – | Kompressibilitätsexponent |
| n | m^{-3} | Partikelanzahl |
| P | W | Leistung |
| P_0 | – | Leistungszahl |
| p | Pa/bar | Druck |
| p_c | Pa/bar | charakteristischer Pressdruck |
| p_s | Pa/bar | Feststoffgerüstdruck |
| Q | – | Verteilungssumme |
| q | m^{-1} | Verteilungsdichte |
| R | $1/m$ | Widerstand |

| | | |
|-----------|-------|-------------------------------------|
| R_m | $1/m$ | Filtermediumswiderstand |
| r | m | Radius |
| S | - | Sättigung |
| S_{eq} | - | remanente Sättigung |
| SF | - | Salzfaktor |
| s | m | (Stempel)Weg |
| T | Nm | Drehmoment |
| t | s | Zeit |
| V_W | l | Waschwasservolumen |
| V_H | l | Hohlraumvolumen |
| V_L | l | Flüssigkeitsvolumen |
| v | m/s | tangentiale Geschwindigkeit |
| v_k | m/s | Kernströmungsgeschwindigkeit |
| W_m | - | Massenbezogenes Waschverhältnis |
| W_V | - | Volumenbezogenes Waschverhältnis |
| w_F | m/s | Filtriergeschwindigkeit |
| w_{sed} | m/s | Trennspiegelsinkgeschwindigkeit |
| X | - | Beladung |
| X^* | - | Restverunreinigungsanteil |
| x | mm | Partikelgröße |
| x^* | mm | Bezugs-Partikelgröße |
| x_{50} | mm | mittlere Partikelgröße |
| x_g | mm | Grenzkorngröße |
| Y | Pa | Young Modul |

| | | |
|-----|---|--------------------------|
| z | – | Anzahl der Rührerblätter |
| Z | – | Froude-Zahl |

Griechische Buchstaben

| Symbol | Einheit | Beschreibung |
|--------------------|------------------|----------------------------------------|
| α_h | $1/m^2$ | Höhenspezifischer Kuchenwiderstand |
| α_m | m/kg | Massenspezifischer Kuchenwiderstand |
| $\alpha(Re)$ | – | Sedimentationsexponent |
| Γ | Pa | Oberflächenspannung |
| γ | Grad | Rührerflügelwinkel |
| $\dot{\gamma}$ | $1/s$ | Schergeschwindigkeit |
| δ | <i>Grad</i> | Benetzungswinkel |
| ϵ | W/kg | Energiedissipationsrate |
| η | $Pa \cdot s$ | dynamische Viskosität |
| η_k | m | Kolmogorov-Längenskala |
| η_T | – | Zieleffizienz |
| λ | m | Wellenlänge |
| ν | m^2/s | kinematische Viskosität |
| ξ | $l/mol \cdot cm$ | Extinktionskoeffizient |
| $\xi_{Flssigkeit}$ | – | Massenanteil Wasser im Haufwerk |
| ρ | kg/m^{-3} | Dichte |
| σ | – | Poissonrate |
| τ | Pa | Schubspannung |

| | | |
|---------------------|----------|-------------------------------------|
| Φ | - | Porosität |
| Φ_0 | - | Nullporosität |
| $\Phi_{Flssigkeit}$ | - | Volumenanteil Wasser im Haufwerk |
| ω | s^{-1} | Winkelgeschwindigkeit |

Abkürzungen

| | |
|----------|--------------------------------------|
| Bo | Bond-Zahl |
| BSA | Bovine Serum Albumin |
| CFD | Computational Fluid Dynamics |
| CP-Zelle | Compression-Permeability-Zelle |
| CRSS | Critical resolved shear stress |
| Eppi | Eppendorf-Reaktionsgefäß |
| HEWL | Hen egg white lysozyme |
| kDa | Kilodalton |
| KGV | Kristallgrößenverteilung |
| LSM | Laser Scanning Microscope |
| PP | Polypropylen |
| Re | Reynolds-Zahl |
| REM | Rasterelektronenmikroskop |
| NA | numerische Apertur |
| PG | Partikelgröße |
| PGV | Partikelgrößenverteilung |
| KGV | Kristallgrößenverteilung |
| pcr | particle concentration ratio |
| rpcr | relativ particle concentration ratio |

| | |
|-----------|------------------------|
| Upm | Umdrehungen pro Minute |
| VE-Wasser | vollentsalztes Wasser |

Indizes

| | |
|------|-------------------------|
| A | Auftrieb |
| a | außen |
| B | Beanspruchung/Belastung |
| c | (Mutter)kristall |
| cc | Kristall-Kristall |
| ci | Kristall-Rührer |
| d | Zug/Druck (drag) |
| E | Entlastung |
| End | Endzustand |
| e | fein/wirbel |
| FS | Feststoff |
| f | Fluid/Flüssigkeit |
| GB | Gutbett |
| g | Erdbeschleunigung |
| ges | gesamt |
| H | Hohlraum |
| hydr | hydrostatisch |
| i | Rührer |
| in | innen |
| imp | Aufprall |
| ks | Kernströmung |
| k | Kuchen |

| | |
|------|--------------------------------------------------------------------|
| lab | Labormaßstab |
| m | massenbezogen |
| mt | mittlere |
| max | maximal/obere |
| min | minimal |
| norm | normiert |
| p | Partikel |
| r | von der Mengenart abhängiger Index der Partikelgrößenverteilung |
| rel | relativ |
| s | Scherung |
| St | Stokes |
| Susp | Suspension |
| st | Rühren/Rührer |
| tot | gesamt |
| tr | Trommel |
| turb | turbulent |
| v | volumenbezogen |
| w | Widerstand |
| Z | Zerkleinerung |
| ZF | Zentrifugalfeld |

Literaturverzeichnis

- [1] C. Alles. *Prozeßstrategien für die Filtration mit kompressiblen Kuchen*. Dissertation, Universität Karlsruhe (TH), 2000.
- [2] M. ATAKA and M. ASAI. SYSTEMATIC STUDIES ON THE CRYSTALLIZATION OF LYSOZYME Determination and use of phase diagrams. *Journal of Crystal Growth*, 90:86–93, 1988.
- [3] J. Aziz and K. Schönert. Einzelkornzerkleinerung und Gutbettbeanspruchung von Zementklinker-Fraktionen. *Zement-Kalk-Gips*, 33(5):213–218, 1980.
- [4] S. K. Basu, C. P. Govardhan, C. W. Jung, and A. L. Margolin. Protein crystals for the delivery of biopharmaceuticals. *Expert opinion on biological therapy*, 4(3):301–17, Mar. 2004.
- [5] S. Baumgardt. Freiburger Forschungshefte A560 - Beitrag zur Einzelkornzerkleinerung spröder Stoffe. Technical report, 1976.
- [6] S. Baumgardt, B. Buss, P. May, and H. Schubert. Zum Vergleich der Zerkleinerungsergebnisse bei der Einzelkornzerkleinerung mit verschiedenen Beanspruchungsarten. *Aufbereitungs-Technik*, 16(8/9):397–400/468–476, 1975.
- [7] D. Behrens. Prallzerkleinerung von Glas - Kugeln und unregelmäßig geformten Teilchen aus Schwerspat, Kalkstein und Quarzsand. *Chemie Ingenieur Technik*, 37(5):473–483, 1965.
- [8] J. Berg, J. Tymoczko, L. Stryer, B. Her, A. Held, C. Lange, K. Mahlke, G. Maxam, L. Seidler, and N. Zellerhoff. *Stryer Biochemie*. Spektrum Akademischer Verlag, 6 edition, 2009.
- [9] G. Bickert. *Sedimentation feinsten suspendierter Partikel im Zentrifugalfeld*. Dissertation, Universität Karlsruhe, 1997.
- [10] W. Borchard-Ott. *Kristallographie*. Springer Verlag, 5 edition, 1997.

-
- [11] R. Bott, T. Langeloh, and E. Ehrfeld. Dynamic cross flow filtration. *Chemical Engineering Journal*, 80(1-3):245–249, Dec. 2000.
- [12] M. Boychyn, W. Doyle, M. Bulmer, J. More, and M. Hoare. Laboratory Scaledown of Protein Purification Processes Involving Fractional Precipitation and Centrifugal Recovery. *Biotechnology and bioengineering*, 69(1):1–10, 2000.
- [13] M. Boychyn, S. S. S. Yim, P. Ayazi Shamlou, M. Bulmer, J. More, and M. Hoare. Characterization of flow intensity in continuous centrifuges for the development of laboratory mimics. *Chemical Engineering Science*, 56(16):4759–4770, Aug. 2001.
- [14] W. Brameshuber. *Bruchmechanische Eigenschaften von jungem Beton*. Dissertation, Universität Karlsruhe (TH), 1988.
- [15] B. Buss, J. Hanisch, and H. Schubert. Über das Zerkleinerungsverhalten seitlich begrenzter und nicht-begrenzter Kornschichten bei Druckbeanspruchung. *Neue Bergbautechnik*, 12(5):277–282, 1982.
- [16] B. Buss and H. Schuber. Freiburger Forschungshefte A480 - Einzelkornprallzerkleinerung von Salzmineralen. Technical report, 1970.
- [17] E. Cacioppo and M. L. Pusey. The solubility of the tetragonal form of hen egg white lysozyme from pH 4.0 to 5.4. *Journal of Crystal Growth*, 114(3):286–292, Nov. 1991.
- [18] A. a. Chernov. Protein crystals and their growth. *Journal of Structural Biology*, 142(1):3–21, Apr. 2003.
- [19] G. Ehrenstein. *Polymer-Werkstoffe*. Hanser Verlag, 2 edition, 1999.
- [20] D. Espig and V. Reinsch. Die Kornanreicherungskurve-Ein Wertvolles Hilfsmittel für die Partikeltechnologie. In K. Husemann and K. Graichen, editors, *Freiburger Forschungshefte A841 Grundstoff-Verfahrenstechnik*, pages 118–132. TU Bergakademie Freiberg, Freiberg, 1 edition, 1998.
- [21] U. Fasoli and R. Conti. Crystal breakage in a mixed suspension crystallizer. *Kristall und Technik*, 8(8):931–946, 1973.
- [22] D. Fuerstenau, O. Gutsche, and P. Kapur. Confined particle bed comminution under compressive loads. *International Journal of Mineral Processing*, 44-45:521–537, Mar. 1996.
- [23] D. Fuerstenau, A. Shukla, and P. Kapur. Energy consumption and product size distributions in choke-fed, high-compression roll mills. *International Journal of Mineral Processing*, 32(1-2):59–79, July 1991.

- [24] C. Gahn and A. Mersmann. Brittle fracture in crystallization processes Part A . Attrition and abrasion of brittle solids. *Chemical Engineering Science*, 54:1273–1282, 1999.
- [25] A. George and W. W. Wilson. Predicting protein crystallization from a dilute solution property. In *Acta crystallographica. Section D, Biological crystallography*, volume 50, pages 361–365. International Union of Crystallography, July 1994.
- [26] V. Gnielinski, A. Mersmann, and F. Thurner. *Verdampfung, Kristallisation, Trocknung*. Vieweg Verlag, Braunschweig, 1993.
- [27] D. Goldnik, R. Weiler, and S. Ripperger. Dynamisches Waschen von hochkonzentrierten Suspensionen mit feinsten Partikeln in Scheibenfiltern. *Chemie Ingenieur Technik*, 82(9):1580–1581, Aug. 2010.
- [28] G. Göll. *Modellierung des Zerkleinerungsprozesses bei vorherrschender Druckbeanspruchung unter besonderer Berücksichtigung des Stoffeinflusses*. Dissertation, Bergakademie Freiberg, 1975.
- [29] G. Göll. *Modellierung des Zerkleinerungsprozesses bei vorherrschender Druckbeanspruchung unter besonderer Berücksichtigung des Stoffeinflusses*. Dissertation, Bergakademie Freiberg, 1975.
- [30] G. Göll and R. Helfricht. Über das Bruchverhalten von Körnerkollektiven bei der Druckbeanspruchung. *Neue Bergbautechnik*, 3(9):693–697, 1973.
- [31] K. Grossgebauer and H. Langmaak. Lysozyme - Ergebnisse und Probleme. *Klinische Wochenschrift*, 46(21), 1968.
- [32] O. Gutsche and D. Fuerstenau. Fracture kinetics of particle bed comminution — ramifications for fines production and mill optimization. *Powder Technology*, 105(1-3):113–118, Nov. 1999.
- [33] U. Haese. Zerkleinerungstechnische Stoffeigenschaften von Zementrohmaterial und Klinker. *Zement-Kalk-Gips*, 32(1):10–13, 1979.
- [34] J. Hanisch. *Untersuchungen zur Druckbeanspruchung von nicht allseitig begrenzten Kornschichten unter Variation der Beanspruchungsgeometrie*. Dissertation, Bergakademie Freiberg, 1984.
- [35] J. Hanisch and H. Schubert. Comminution of Irregularly Shaped Particles by Slow Compression: Interpretation of the size distributions of progeny particles as mixed distributions. *Particle & Particle Systems Characterization*, 1(1-4):74–77, Sept. 1984.

-
- [36] J. Hanisch and H. Schubert. Druckzerkleinerung von Kornschichten. *Aufbereitungs-Technik*, 27(10):535–540, 1986.
- [37] N. Harnby, M. Edwards, and A. Nienow. *Mixing in the Process Industries*. Butterworth-Heinemann, 2 edition, 1992.
- [38] F. Heinicke. Band 45: Beitrag zur Modellierung der Zerkleinerung in Gutbettwalzenmühlen. In T. Pretz, P. Quicker, and H. Wotruba, editors, *Schriftreihe zur Aufbereitung und Veredlung*. Shaker Verlag, 2012.
- [39] D. Hekmat, D. Hebel, H. Schmid, and D. Weusterbotz. Crystallization of lysozyme: From vapor diffusion experiments to batch crystallization in agitated ml-scale vessels. *Process Biochemistry*, 42(12):1649–1654, Dec. 2007.
- [40] D. Hekmat, D. Hebel, and D. Weuster-Botz. Crystalline Proteins as an Alternative to Standard Formulations. *Chemical Engineering & Technology*, 31(6):911–916, June 2008.
- [41] H. Hertz. Über die Berührung fester elastischer Körper. *Journal für reine und angewandte Mathematik*, 92:156–171, 1881.
- [42] W. Hess. *Einfluss der Schubbeanspruchung und des Verformungsverhaltens bei der Druckzerkleinerung von Kugeln und kleinen Partikeln*. Dissertation, Universität Karlsruhe (TH), 1980.
- [43] N. Hoffmann, F. Flügel, and K. Schönert. Zerkleinerung in binären und ternären Mischungen von Glaskugeln und Quarzkörnern in einem Gutbett. *Chemie Ingenieur Technik*, 46(6):263, 1974.
- [44] N. Hoffmann, F. Flügel, and K. Schönert. Die Bruchstück-Größenverteilung bei der Zerkleinerung von binären und ternären Mischungen. *Chemie Ingenieur Technik*, 48(4):329, 1976.
- [45] N. Hoffmann and K. Schönert. Bruchanteil von Glaskugeln in Packungen von Fraktionen binärer Mischungen. *Aufbereitungs-Technik*, 9, 1971.
- [46] M. Huber. Zur Theorie der Berührung fester elastischer Körper. *Annals of Physics*, 14(61):153–163, 1904.
- [47] K. Johnson. *Contact Mechanics*. Cambridge University Press, 1987.
- [48] R. A. Judge, E. L. Forsythe, and M. L. Pusey. The Effect of Protein Impurities on Lysozyme Crystal Growth. *Biotechnology and bioengineering*, 59(6):776–785, 1998.

-
- [49] M. Khanal, W. Schubert, and J. Tomas. Discrete element method simulation of bed comminution. *Minerals Engineering*, 20(2):179–187, Feb. 2007.
- [50] K. Klotz and H. Schubert. Crushing of Single Irregularly Shaped Particles by Compression: Size Distribution of Progeny Particles. *Powder Technology*, 32(1):129–137, 1980.
- [51] H. Koizumi, M. Tachibana, and K. Kojima. Observation of all the components of elastic constants using tetragonal hen egg-white lysozyme crystals dehydrated at 42% relative humidity. *Physical Review E*, 73(4):041910, Apr. 2006.
- [52] M. Kortenbusch. *Zum Stofftransport bei der deckschichtbildenden Querstromfiltration kolloidaler Suspensionen*. Dissertation, RWTH Aachen, 1990.
- [53] D. Kracht. *Untersuchungen zum Deckschichtverhalten in einem Scherspaltfilter mit radialem Spalt*. Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 1996.
- [54] R. Kügler, S. Alten, and M. Kind. *Proteinkristallisation*. Studienarbeit, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), 2009.
- [55] T. S. Lee, M. K. Turner, and G. J. Lye. Mechanical stability of immobilized biocatalysts (CLECs) in dilute agitated suspensions. *Biotechnology progress*, 18(1):43–50, 2002.
- [56] W. Leung. *Industrial Centrifugation Technology*. McGraw-Hill Professional, 1 edition, 1998.
- [57] M. S. Levy, I. J. Collins, S. S. Yim, J. M. Ward, N. Titchener-Hooker, P. Ayazi Shamlou, and P. Dunnill. Effect of shear on plasmid DNA in solution. *Bioprocess Engineering*, 20(1):7–13, 1999.
- [58] B. Lorber, M. Skouri, J. Munch, and R. Giege. The influence of impurities on protein crystallization; the case of lysozyme. *Journal of Crystal Growth*, 128(1-4):1203–1211, Mar. 1993.
- [59] F. Lottspeich, J. W. Engels, and Z. L. Solodkoff. *Bioanalytik*. Spektrum Akademischer Verlag, 2 edition, 2012.
- [60] W.-M. Lu, Y.-P. Huang, and K.-J. Hwang. Stress distribution in a confined wet cake in the compression-permeability cell and its application. *Powder Technology*, 97:16–25, 1998.
- [61] S. Mani, L. G. Tabil, and S. Sokhansanj. Evaluation of compaction equations applied to four biomass species. *Canadian Biosystems Engineering / Le Genie des biosystems au Canada*, 46(3.55-53.61), 2004.

- [62] K. Mannweiler, M. Hoare, and U. Kingdom. The scale-down of an industrial disc stack centrifuge. *Bioprocess Engineering*, 8:19–25, 1992.
- [63] A. L. Margolin and M. A. Navia. Proteinkristalle als neue Katalysatoren. *Angewandte Chemie*, 113(12):2262–2281, 2001.
- [64] R. Martin, B. Buss, and H. Schuber. Zur Druckbeanspruchung von Teilenschichten. *Silikatechnik*, 28(7):213–215, 1977.
- [65] P. May. Freiburger Forschungshefte A550 -Einzelkornzerkleinerung von spröden Stoffen. Technical report, 1974.
- [66] B. Mazzarotta. Abrasion and breakage phenomena in agitated crystal suspensions. *Chemical Engineering Science*, 47(12):3105–3111, 1992.
- [67] A. McPherson. Introduction to protein crystallization. *Methods (San Diego, Calif.)*, 34(3):254–65, Nov. 2004.
- [68] S. Mirza and J. Richardson. Sedimentation of Suspensions of Particles of two or more sizes. *Chemical Engineering Science*, 34:447–454, 1979.
- [69] H. Mollet and A. Grubenmann. *Formulierungstechnik: Emulsions, Suspensionen, feste Formen*. Wiley-VCH, 2000.
- [70] S. Mueller, E. Llewelin, and H. Mader. The rheology of suspensions of solid particles. *Proceedings of the royal society A: Mathematical, physical & Engineering sciences*, 466(4):1201–1228, Aug. 2010.
- [71] F. Müller. *Hochdruckzerkleinerung im Gutbett bei Variation von Feuchte und Beanspruchungsgeschwindigkeit*. Dissertation, TU Clausthal, 1989.
- [72] T. Mütze. *Geschwindigkeitseinfluss bei der Druckbeanspruchung von Gutbetten*. Dissertation, Technische Universität Bergakademie Freiberg, 2011.
- [73] A. Nguyen. *Zerkleinerung von druckbeanspruchten feinsten Gutbetten*. Dissertation, TU Bergakademie Freiberg, 2002.
- [74] N.-V. Nielsen and T. K. Nielsen. Method for Crystallization of Enzymes, 1993.
- [75] W. Oettel. *Untersuchungen zum Zusammenhang von Verdichtung und Zerkleinerung bei der einmaligen Beanspruchung feinkörniger Gutbetten und Einfluß eines organischen Zusatzstoffes*. Dissertation, TU Bergakademie Freiberg, 2002.
- [76] H. Offermann and J. Ulrich. Kristallkeimbildung durch mechanischen Abrieb. *vt verfahrenstechnik*, 14(6):397–399, 1980.

- [77] R. Plob and A. Mersmann. A New Model of the Effect of Stirring Intensity on the Rate of Secondary Nucleation. *Chemical Engineering & Technology*, 12(1989):137–146, 1989.
- [78] J. Pohlisch and A. Mersmann. The influence of stress and attrition on crystal size distribution. *Chemical Engineering & Technology - CET*, 11(1):40–49, 1988.
- [79] Y. Reichart. *Feinstzerkleinerung durch ein- und mehrfache Beanspruchung mit hohem Druck auf ein Gutbett*. Dissertation, TU Clausthal, 1994.
- [80] J. Richardson and W. Zaki. Sedimentation and fluidisation: Part I. *Chemical Engineering Research and Design*, 75(3):S82–S100, Dec. 1997.
- [81] S. Ripperger. *Mikrofiltration mit Membranen : Grundlagen, Verfahren, Anwendungen*. Wiley-VCH, Weinheim, 1 edition, 1992.
- [82] R. Roberts and R. Rowe. The compaction of pharmaceutical and other model materials - a pragmatic approach. *Chemical Engineering Science*, 42(4):903–911, Jan. 1987.
- [83] D. Rose. *Beiträge zur Verdichtung chloridischer Kalidüngesalze auf Glattwalzenpressen*. Dissertation, Bergakademie Freiberg, 1970.
- [84] H. Rumpf. Die Einzelkornzerkleinerung als Grundlage einer technischen Zerkleinerungswissenschaft. *Chemie Ingenieur Technik*, 37(3):187–202, 1965.
- [85] H. Rumpf. Kriterien zur Beurteilung von Zerkleinerungsaufgaben. *Zement-Kalk-Gips*, 19(8):343–353, 1966.
- [86] H. Rumpf. Physikalische Aspekte des Zerkleinerns, Ähnlichkeitsgesetz der Bruchmechanik und die Energieausnutzung der Einzelkornzerkleinerung. *Aufbereitungs-Technik*, 14(2):59–71, 1973.
- [87] H. Rumpf, K. Sommer, and K. Steier. Mechanismen der Haftkraftverstärkung bei der Partikelhaftung durch plastisches Verformen, Sintern und viskoelastisches Fließen. 48(4):300–307, 1976.
- [88] F. Ruslim. *Flow Phenomena in Cake Washing Driven by Mass Forces*. Dissertation, Universität Karlsruhe (TH), 2008.
- [89] W. Schatt. *Pulvermetallurgie - Sinter und Verbundwerkstoffe*. VEB Geutscher Verlag für Grundstoffindustrie, 1985.
- [90] H. Schlichting and K. Gersten. *Boundary Layer Theory*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 8 edition, 2000.

- [91] S. Schmidt, D. Havekost, K. Kaiser, J. Kauling, and H. Henzler. Kristallisation für die Aufarbeitung von Proteinen. *Chemie Ingenieur Technik*, 76(6):819–822, 2004.
- [92] K. Schönert. Über die Eigenschaften von Bruchflächen. *Chemie Ingenieur Technik*, 46(17):711–715, 1974.
- [93] K. Schönert. The influence of particle bed configurations and confinements on particle breakage. *International Journal of Mineral Processing*, 44-45:1–16, 1996.
- [94] K. Schönert and K. Steier. Die Grenze der Zerkleinerung bei kleinen Korngrößen. *Chemie Ingenieur Technik*, 43(13):773–777, 1971.
- [95] H. Schubert. Zu einigen Fragen der Kollektivzerkleinerung. *Chem. Techn.*, 19(10):595–598, 1967.
- [96] H. Schubert. Die Bedeutung der Partikeltechnologie für den wissenschaftlich-technischen Fortschritt. *Chem. Techn.*, 32(11):556–562, 1980.
- [97] B. Senge, R. Blochwitz, and S. Bentlin. Rheologische Stoffwerte richtig bestimmen. *Deutsche Milchwirtschaft*, 7:256–260, 2004.
- [98] M. Shirato, T. Murase, and E. Iritani. Cake Filtration: A Technique for Evaluating Compression-Permeability Data at Low Compressive Pressure. *Proceedings of the filtration society*, Sep/Okt:404–407, 1983.
- [99] M. Shirato, T. Murase, H. Yamazaki, M. Iwata, and M. Inayoshi. Patterns of flow in a filter chamber during dynamic filtration with a grooved disk. *International Chemical Engineering*, 27(2):304–310, 1987.
- [100] M. Skouri, B. Lorber, R. Giegé, J.-P. Munch, and J. Candau. Effect of macromolecular impurities on lysozyme solubility and crystallizability: dynamic light scattering, phase diagram, and crystal growth studies. *Journal of Crystal Growth*, 152(3):209–220, July 1995.
- [101] T. Sobisch, D. Lerche, T. Detloff, M. Beiser, and A. Erk. Tracing the centrifugal separation of fine-particle slurries by analytical centrifugation. *Filtration*, 6(4):313–321, 2006.
- [102] W. Stahl. 12 Produktschädigung während der Zentrifugation. In *Industrie Zentrifugen Band III: Betriebs- und Prozesstechnik*.
- [103] W. Stahl. 1 Diskontinuierliche Filterzentrifugen. In *Industrie Zentrifugen Band II: Diskontinuierliche Filterzentrifugen*, pages 40–192. DrMPress, 2004.

- [104] K. Steier. *Die Korngrößenabhängigkeit des Bruchverhaltens und der Struktur druckbeanspruchter Körner aus Quarz, Kalkstein und Polystyrol im Bereich von 1 μm und 1000 μm* . Dissertation, Universität Karlsruhe (TH), 1971.
- [105] M. Stieß. *Die Druckbeanspruchung von elastischen und inelastischen Kugeln bis zum Bruch*. Dissertation, Universität Karlsruhe (TH), 1976.
- [106] M. Stieß. *Mechanische Verfahrenstechnik 2*. Springer Verlag, 1994.
- [107] P. Synowiec, A. Jones, and P. Ayazi Shamlou. Crystal Break-up in Dilute Turbulently Agitated Suspensions. *Chemical Engineering Science*, 48(20):3485–3495, 1993.
- [108] M. Tachibana, Y. Kobayashi, T. Shimazu, M. Ataka, and K. Kojima. Growth and mechanical properties of lysozyme crystals. *Journal of Crystal Growth*, 198-199:661–664, Mar. 1999.
- [109] S. Tait, E. T. White, and J. D. Litster. Mechanical Characterization of Protein Crystals. *Particle & Particle Systems Characterization*, 25(3):266–276, Sept. 2008.
- [110] F. M. Tiller and W.-m. Lu. The Role of Porosity in Filtration VIII: Cake Nonuniformity in Compression-Permeability Cells. *AIChE Journal*, 18(3):569–572, 1972.
- [111] C. Y. Wang. Slow rotation of a disc in a fluid-filled casing. *Acta Mechanica*, 94:97–103, 1992.
- [112] J. Wanka and W. Peukert. Die Bedeutung des zweiten osmotischen Virialkoeffizienten für die Proteinkristallisation. *Chemie Ingenieur Technik*, 78(3):273–278, Mar. 2006.
- [113] M. Wedekind and H. Schubert. Zum Einfluss von Stoffart und Kornform auf die Bruchfunktion bei der Einzelkornzerkleinerung. *Neue Bergbautechnik*, 8(12):706–710, 1984.
- [114] J. M. Wiencek. New strategies for protein crystal growth. *Annual review of biomedical engineering*, 1:505–34, Jan. 1999.
- [115] J. Wittenburg and E. Pestel. *Festigkeitslehre: Ein Lehr- und Arbeitsbuch*. Springer Verlag, 2001.
- [116] S. Wronski, L. Rudniak, and E. Molga. Resistance Model for High-Shear Dynamic Microfiltration. *Proceedings of the Filtration Society*, pages 418–420, 1989.
- [117] M. X. Yang, B. Shenoy, M. Disttler, R. Patel, M. McGrath, S. Pechenov, and A. L. Margolin. Crystalline monoclonal antibodies for subcutaneous delivery. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(12):6934–6939, June 2003.

- [118] D.-C. Yin, N. I. Wakayama, H.-M. Lu, Y.-J. Ye, H.-S. Li, H.-M. Luo, and Y. Inatomi. Uncertainties in crystallization of hen-egg white lysozyme: reproducibility issue. *Crystal Research and Technology*, 43(4):447–454, Apr. 2008.
- [119] A. Zamiri and S. De. Modeling the mechanical response of tetragonal lysozyme crystals. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, 26(6):4251–4257, Mar. 2010.