

## Vakioitu toimintaohje KeBPr-5205 ja 5206 Pellicon Maxi -suodatuslaite

Dokumenttinro.: 1048  
Versio: 3  
pvm: 29.4.2013

Laatijat: Tero Eerikäinen, Heidi Salo, Anssi Törmä  
Tarkastaja: \_\_\_\_\_  
Tarkastaja: \_\_\_\_\_

---

### 1 Käyttötarkoitus

Mikrobisolunmassan konsentroidi (ts. solujen erotus). Laite koostuu rungosta (Hydrios Biotechnology Oy:n) ja suodatinkasetista. Kokonaisuuteen sopiva pumppu on Hydrioksen Sine –pumppu. Soluerotukseen TKK:n runko ei sovellu, koska ei ole yhteisiin sopivaa pumppua. Sen sijaan ultrasuodatukseen runko soveltuu hyvin, jolloin pumppuna voidaan käyttää Hydrioksen Watson-Marlow –letkupumppua. Liitteessä 1 on esitetty hieman mikro-suodatuksen teoriaa ja perusmalleja.

### 2 Vastuuhenkilö

Ultrasuodatuslaitteiden KeBPr-5205 ja 5206 sekä Hydrios-laitteiden laitevastaava on Tero Eerikäinen.

### 3 Käyttöohjeet

Laitteessa on käytössä seuraavat suodattimet: 1 kpl Biomax 1000 kDa (2 m<sup>2</sup>) ja 2 kpl Biomax 1000 kDa (0,5 m<sup>2</sup>) membraaneja. Kalvot ovat erittäin hintavia ja käyttöohjeiden noudattaminen on erityisen tärkeä.

#### 3.1 Laitteen kokoaminen

- 1) Huuhtelee suodatinkasetti ja tiivistemuovikalvot vedellä ennen kokoamista.
- 2) Aseta ensin tiivistemuovikalvo laitteeseen, sitten suodatinkasetti ja kasetin päälle tiivistemuovikalvo. Jos käytät useampia suodatinkasetteja, tulee myös kasettien väliin tiivistemuovikalvo. Tarkista, että reiät ovat kohdallaan.
- 3) Laita yläosa niin, että sen ja alaosan sivussa olevat kolmiot tulevat samalle sivulle (vain Hydrioksen runko). Kiinnitä mutterit kiristämällä momentti-

avaimella vuorotellen ristikkäisiä muttereita vähän kerrallaan. Kiristä mutterit ensin momenttiin 4,3 kgm, odota 5-10 min ja kiristä uudelleen samaan momenttiin. Lopuksi kiristä mutterit momenttiin 6,3 kgm.

- 4) Kiinnitä T-kappaleet syöttö- ja retentaattilinjaan (väliin tiiviste ja kiristys hygieenisellä kiristimellä (sanitary clamp)). Kiinnitä samalla tavalla painemittarit T-kappaleiden sivuputkiin ja retentaattilinjaan lisäksi kuristusventtiili. Kiinnitä ensimmäiseen permeaattilinjaan venttiili ja toiseen painemittari (Hydrioksen rungossa ”kutistuvan” T-kappaleen avulla), venttiili ja pätkä letkua.
- 5) Liitä suodattimen syöttölinja letkun avulla Hydrioksen Sine –pumppuun. Lisää pumppuun vettä. Liitä pumpun imupuolen letku ja suodattimeen retentaattiletku.

### 3.2 Toimintakunnon tarkastaminen

- 1) Varaa vettä ainakin 100 l (25 °C).
- 2) Laita laitteesta lähtevät permeaatti- ja retentaattiletkut menemään viemäriin.
- 3) Avaa retentaatti- ja permeaattilinjat täysin auki. Käynnistä pumppu ja aseta syöttönopeudeksi noin 30% Sine –pumppussa. Huuhtelee kunnes noin 25 l/m<sup>2</sup> on mennyt läpi.
- 4) Ohjaa retentaattiletku välisammioon. ~~Kiristä varovasti retentaattiventtiiliä, kunnes syöttöpaine on noin 0,35 bar (viallisessa mittarissa nro. 1 = 0,75 bar). Huuhtelee noin 25 l/m<sup>2</sup>.~~
- 5) Ohjaa permeaattiletku välisammioon. Mittaa NWP, kun arvot ovat stabiloituneet. Merkitse NWP-mittauksen seurantalistaan permeaattivuo vedelle (l/min), P<sub>F</sub>, P<sub>R</sub> ja veden lämpötila. Laske NWP kaavalla:

$$NWP = \frac{J_{H_2O} \cdot F}{A \cdot \left\{ \left[ \frac{P_F + P_R}{2} \right] - P_p \right\}},$$

- missä  $J_{H_2O}$  = permeaattivuo vedelle (l/min)  
F = lämpötilan korjauskerroin (25 °C → F = 1,000, Taulukko1)  
P<sub>F</sub> = syöttöpaine (bar; 1 bar = n. 14,5 psi)  
P<sub>R</sub> = retentaattipaine (bar)  
P<sub>p</sub> = permeaattipaine (bar) (yleensä nolla)  
A = suodattimen kokonaispinta-ala (m<sup>2</sup>)

- 6) Aja laite tyhjäksi vedestä.

Taulukko 1. Lämpötilan korjauskerroin F lämpötilan funktiona

**NORMALIZED WATER PERMEABILITY TEMPERATURE CORRECTION FACTOR (F)\***

T (°F)	T (°C)	F	T (°F)	T (°C)	F	T (°F)	T (°C)	F
125.6	52	0.595	96.8	36	0.793	68.0	20	1.125
123.8	51	0.605	95.0	35	0.808	66.2	19	1.152
122.0	50	0.615	93.2	34	0.825	64.4	18	1.181
120.2	49	0.625	91.4	33	0.842	62.6	17	1.212
118.4	48	0.636	89.6	32	0.859	60.8	16	1.243
116.6	47	0.647	87.8	31	0.877	59.0	15	1.276
114.8	46	0.658	86.0	30	0.896	57.2	14	1.310
113.0	45	0.670	84.2	29	0.915	55.4	13	1.346
111.2	44	0.682	82.4	28	0.935	53.6	12	1.383
109.4	43	0.694	80.6	27	0.956	51.8	11	1.422
107.6	42	0.707	78.8	26	0.978	50.0	10	1.463
105.8	41	0.720	77.0	25	1.000	48.2	9	1.506
104.0	40	0.734	75.2	24	1.023	46.4	8	1.551
102.2	39	0.748	73.4	23	1.047	44.6	7	1.598
100.4	38	0.762	71.6	22	1.072	42.8	6	1.648
98.6	37	0.777	69.8	21	1.098	41.0	5	1.699

\*Based on Water Fluidity Relative to 25°C (77°F) Fluidity Value  $F = (\mu_{T_C} / \mu_{25^{\circ}\text{C}})$  or  $(\mu_{T_F} / \mu_{77^{\circ}\text{F}})$

Lämpötilan noustessa viskositeetti  $\mu$  ja korjauskerroin F pienenevät.

### 3.3 Aloitus ja suodatus

- 1) Aloita suodatus. Laita retentaatti- ja syöttöletku väkevöintiastiaan.
- 2) Käynnistä pumppu. Sopiva syöttönopeus on noin 10-15 l/min/m<sup>2</sup> (Sine – pumpussa 30-40%). Syöttöpaine on noin 0,8...1,5 bar (maks. 7 bar/30°C) ja retentaattipaine on noin 0,2...0,5 bar. V-screenillä voi ajaa jopa 33 L/min/m<sup>2</sup>, mutta kestävätkö solut tämän? Jos paine-ero tuntuu liian isolta, on laiteeseen asennettava permeaattipumppu tai -venttiili. Näin toimiessa sulje aluksi permeaattiventtiili. Käynnistä kierto ja avaa varovasti permeaattiventtiiliä. Sopiva vastapaine on noin 0,1...0,2 bar (1,5...3,0 psi).
- 3) Ota ylös suodatusdataa omalle seurantalomakkeelleen.

### 3.4 Lopetus

- 1) Avaa kaikki venttiilit ja sulje pumppu hitaasti (kun pumppu on pysähtynyt venttiilit voi taas sulkea).
- 2) Sulje permeaattiventtiili, avaa retentaattiventtiili ja huuhtelee ensin lämpimällä (maks. 50°C) vedellä 10 l/min/m<sup>2</sup> (Sine 20%). Ohjaa retentaatti viemäriin. Avaa permeaattiventtiili ja jatka huuhtelua.
- 3) Jatkaa pesua 0,1-0,5 M NaOH-liuoksella (maks. 50°C). Kierrätä noin 30 minuuttia pienellä retentaattivastapaineella. Jätä yön yli liukenemaan.
- 4) Sulje permeaattiventtiili ja aja NaOH-liuos laitteesta viemäriin. Valmista 10 litraa pesuliuosta, joka sisältää 200 ml Na-hypokloriittia (10% aktiivikloorin määrä, esim. Kloriitti Forte) ja 0,1 M NaOH:ia. Kierrätä liuosta suodattimessa

nopeudella 20% ja pienellä retentaattivastapaineella 15-30 minuuttia. Huuhtele lopuksi vedellä.

- 5) Mittaa NWP kuten kohdassa 3.2. Jos arvo on laskenut merkittävästi edellisestä mittauksesta, pesua pitää jatkaa/tehostaa.
- 6) Säilytä kasetit ja välikalvot 0,1 M NaOH:ssa.

**ÄLÄ KOSKAAN SULJE PUMPPUA ÄKILLISESTI, JOS PERMEAATTI-VENTTIILI ON KIINNI. TÄMÄ JOHTAA SIIHEN, ETTÄ PERMEAATTI-PUOLELLA OLEVA PAINE PURKAUTUU TAKAISIN KALVOJEN LÄPI JA KALVOT HAJOAVAT! HUOMAA MYÖS ESIMERKIKSI FERMENTORIIN MENEVÄ SYÖTTÖPUTKI, TARKISTA ETTÄ SYÖTTÖPUTKEN PALLOVENTTIILI ON AUKI (KAHVA POISTETTU ETTEI JÄÄ VAHINGOSSA KIINNI, MUTTA ETTEI OLE KÄÄNTYNYT KIINNI JOSTAIN SYYSTÄ).**

Mikrosuodatuksessa ehkä tärkein tekijä on permeaattivuo  $J$ . Sen yksikkönä käytetään  $L m^{-2} s^{-1}$  tai  $m s^{-1}$  ( $L m^{-2} s^{-1} = 10^{-3} m s^{-1}$ ). Yhdessä prosessissa tarvittavan suodatuskapasiteetin ( $L h^{-1}$ ) kanssa se määrää suodatuslaitteen koon. Permeaattivuota ajava voima on membraanin yli vallitseva paine-ero eli transmembraanipaine  $\Delta P_{TM}$ . Se määritellään:

$$\Delta P_{TM} = \frac{P_F + P_R}{2} - P_P, \quad (1)$$

missä  $P_F$ ,  $P_R$  ja  $P_P$  ovat syötön, retentaatin ja permeaatin mittaripaineet. Tyypillisesti  $P_P = 0$ .

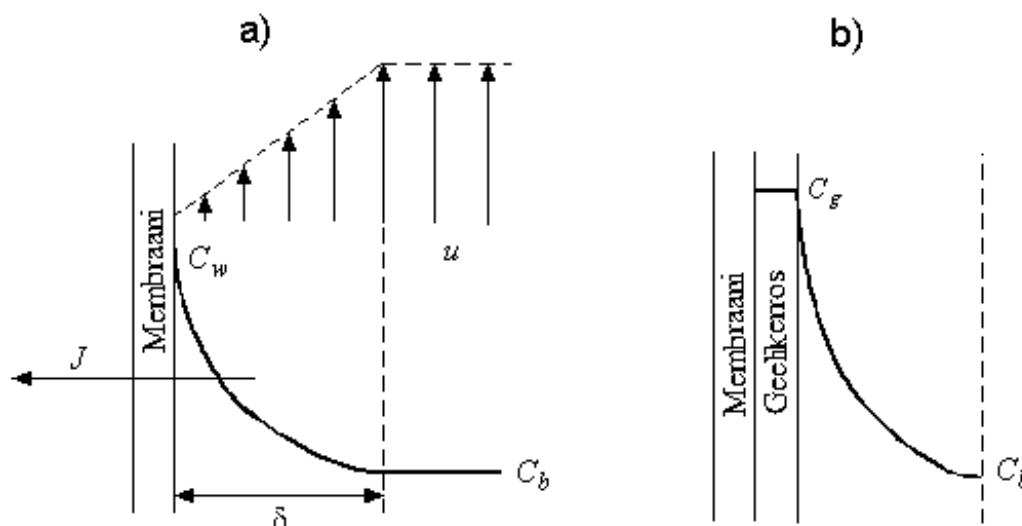
Permeaattivuon ja transmembraanipaineen välistä yhteyttä kuvaa yhtälö:

$$J = \frac{\Delta P_{TM}}{\mu R_{tot}}, \quad (2)$$

missä  $\mu$  on viskositeetti ja  $R_{tot}$  on kokonaisvirtausvastus. Yhtälö pätee sekä dead-end että TFF-suodatukselle (Tangential flow filtration). TFF-suodatuksessa virtausvastus koostuu membraanin vastuksesta  $R_m$ , polarisaatiokerroksen vastuksesta  $R_p$ , geelikerroksen vastuksesta  $R_g$  sekä kiinteiden aineiden muodostaman suodatinkakun vastuksesta  $R_c$ :

$$R_{tot} = R_m + R_p + R_g + R_c. \quad (3)$$

Aivan suodatuksen alussa vuo laskee nopeasti ns. polarisaatiokerroksen muodostuessa, mutta saavuttaa pian vakiotilan. Vakiotilassa polarisaatiokerroksen paksuus  $\delta$  on sama kuin hydrodynaamisen kerroksen. Tässä kerroksessa tangentiaalinen lineaarivirtausnopeus kasvaa nolasta seinämän kohdalla bulkkivirtauksen vakioarvoon  $u$  (kuva 1a).



**Kuva 1.** a) Konsentraatiopolarisaatio ja b) geelikerros makromolekyylien TFF-suodatuksessa (Datar ja Rosén, 1993).  $J$  = permeaattivuo (m/s),  $u$  tangentiaalivirtausnopeus (m/s),  $\delta$  = hydrodynaamisen (polarisaatio)kerroksen paksuus (m),  $C_b$  = liuenneen aineen bulkkikonsentraatio (g/L),  $C_w$  = liuenneen aineen konsentraatio membraanin pinnalla,  $C_g$  = konsentraatio, jossa makromolekyylit geeliiytyvät.



