

# Einfache Sauerstoffmessung in Bioreaktoren mit optischer Technologie

**Das Wachstum von Säugetierzellen erfordert eine vorsichtige Steuerung der physikochemischen Eigenschaften des Nährmediums, wie etwa gelöster Sauerstoff (DO). Die langen Chargenlaufzeiten erfordern den Einsatz wartungsarmer Sensoren mit minimaler Drift. Sauerstoffsensoren basierend auf optischer Technologie eignen sich hervorragend für derartige Anwendungen.**

## Ausgangslage

Während der Fermentation dient Prozessanalytik dazu, die Lebensbedingungen suspendierter Zellen oder Mikroorganismen möglichst stabil zu halten. Dazu werden die physikochemischen Umgebungsbedingungen überwacht und gesteuert wie pH, gelöster Sauerstoff (DO) und gelöstes Kohlendioxid. Wird die Steuerung dieser Parameter vernachlässigt, kann sich das auf die Endproduktqualität auswirken. Inline-Messungen können dazu beitragen, die Kultur in einem optimalen Zustand zu halten.

Zellkulturen benötigen Sauerstoff zur Energieproduktion aus organischen Kohlenstoffquellen. Aufgrund der geringen Wasserlöslichkeit von Sauerstoff muss die Sauerstoffzufuhr (Luft) sorgfältig geregelt werden, damit sie nicht zu einem begrenzenden Faktor im Prozess werden kann. Ein Sauerstoffüberangebot im Bioreaktor kann dagegen die Leistungsfähigkeit der Zellkultur ebenfalls irreversibel beeinträchtigen. Zudem wird Energie für den Betrieb des Luftkompressors verschwendet.



Säugetierzellen sind groß, wachsen langsam und sind äußerst empfindlich gegen Scherkräfte im Vergleich zur mikrobiellen Fermentation. Die Produktkonzentration (Titer) ist üblicherweise sehr niedrig, und toxische Stoffwechselprodukte wie Ammonium und Lactat werden während des Wachstums produziert. Ein Bioreaktor für Säugetierzellen erfordert eine sehr genaue Überwachung der homogenen Umgebungsbedingungen (Temperatur, pH, DO und Redoxpotential). Wegen der geringen Wachstumsrate kann die Chargenlaufzeit bis zu drei Wochen betragen; daher müssen Inline-Sensoren während dieser Zeit sehr stabil arbeiten.

### Sauerstoffsensor mit optischer Technologie

Für die Sauerstoffmessung bieten Sensoren mit optischer Technologie deutliche Vorteile gegenüber der amperometrischen Technologie, wie in Tabelle 1 dargestellt.

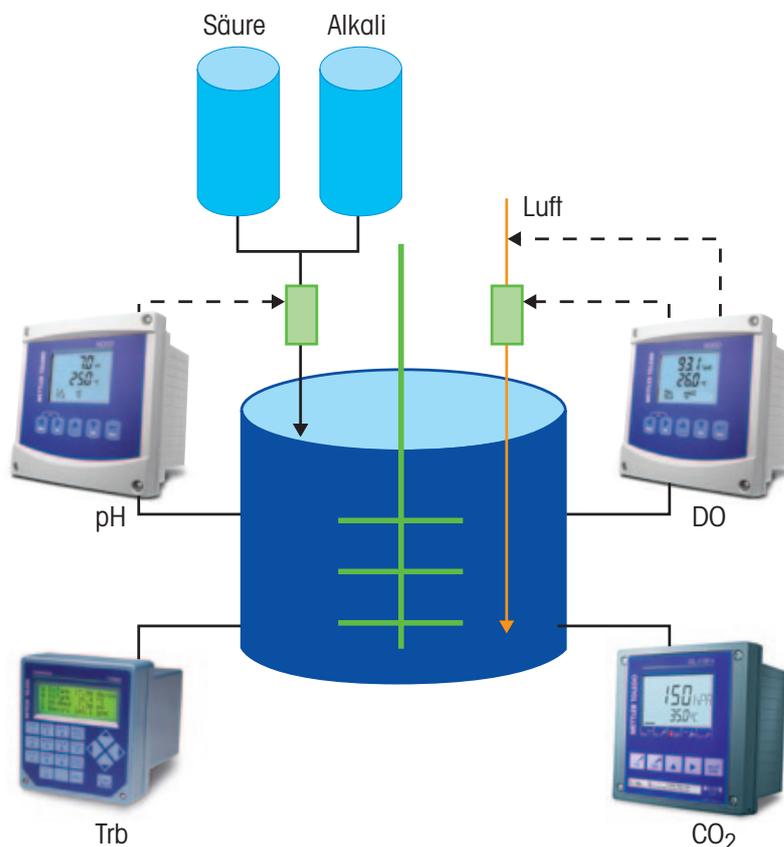
Die Sensoren InPro 6870i und InPro 6880i von METTLER TOLEDO sind optische Sauerstoffsensoren, die speziell auf die Anforderungen der Pharmaindustrie ausgelegt sind. Das Herz der Sensoren bilden sauerstoffempfindliche Schichten, die immobilisierte Markermoleküle enthalten. Diese Moleküle absorbieren das von einer LED abgegebene Licht und geben dieses Licht dann ihrerseits in einer anderen Wellenlänge wieder ab

(Fluoreszenz). Die Zeitverzögerung zwischen Lichtabsorption und -abgabe richten sich nach dem Partialdruck des im Medium enthaltenen Sauerstoffs. Statt eines Membrankörpers, eines Innenkörpers und eines Elektrolyts, wie sie typischerweise in amperometrischen Sensoren zu finden sind, gibt es hier nur eine Komponente, nämlich die OptoCap (diese enthält die sauerstoff-sensitive Molekülschicht), die von Zeit zu Zeit ausgetauscht werden muss.

### Einfaches Kalibrieren optischer Sauerstoffsensoren

Nach der Sterilisation erfolgt üblicherweise eine Kalibrierung des Sensors, um reproduzierbare Ausgangswerte zu erhalten, wie z.B. 100 % Luftsättigung oder einen anderen gewünschten Wert. Bei amperometrischen Sensoren wird während der Kalibrierung die Steilheit angepasst. Bei optischen Systemen würde eine Steilheitsanpassung zu einer Verfälschung der tatsächlichen Kalibrierdaten des Sensors führen, weil der gewünschte Wert nicht notwendigerweise dem tatsächlichen Wert der Sauerstoffsättigung entspräche. Um den tatsächlichen Sauerstoffwert zu erhalten, müssen auch Prozessdruck und Salzgehalt gemessen werden. Benutzern, die von einem amperometrischen zu einem optischen Sensor wechseln, mag das zunächst verwirrend vorkommen und so neigen sie dazu, entsprechend ihrer bestehenden SOP zu handeln. Mit der Prozessjustierungsoption "Skalierung"

können die Sensoren InPro 6870i und InPro 6880i auf den gewünschten Wert justiert werden, ohne die Werte für den Prozessdruck verändern zu müssen. Das Verfahren ist sehr ähnlich dem, wie es für amperometrische Sensoren durchgeführt wird - allerdings mit einem Unterschied: anstelle einer Steilheitskorrektur muss eine Prozessjustierung durchgeführt werden. (Wenn "Skalierung" gewählt wurde, bleibt die Eichkurve des Sensors unverändert. Nur das Ausgangssignal des Sensors wird skaliert.)



Typischer Aufbau einer Bioreaktorsteuerung

Amperometrische Technologie	Optische Technologie	Vorteile der optischen Technologie
Mittlere Drift.	Sehr geringe Drift und kürzere Ansprechzeit.	Bestens geeignet für lange Chargenlaufzeiten.
Regelmäßiger Wechsel von Membran und Elektrolyt. Risiko des Auslaufens von Elektrolyt.	Frei von Elektrolyt.	Wartungsarm (Austausch der OptoCap alle 6-7 Monate). Kein Risiko des Auslaufens von Elektrolyt.
6 Stunden Vorpolarisierungszeit, bevor kalibriert und gemessen werden kann.	Keine Polarisation erforderlich.	Unmittelbar einsatzbereit nach dem Anschließen an einen Transmitter, auch direkt nach dem Autoklavieren. Sofort nach dem Auspacken aus dem Versandkarton einsatzbereit. Höchste Verfügbarkeit.

Tabelle 1: Amperometrische vs. optische Technologie

### Lebensdauer der OptoCap

Um die Belastung für die OptoCap zu reduzieren und die Lebensdauer zu erhöhen, wird empfohlen, die Messrate zu verringern. Wenn die Sensoren InPro 6870 i und InPro 6880 i mit der aktuellen Firmware verwendet werden, haben Änderungen der Messrate zwischen 1 und 20 Sekunden keine Auswirkungen auf die Ansprechzeit, weil das System keine Mittelwertbildung der Messwerte durchführt (die empfohlene Messrate für biotechnologische Anwendungen liegt zwischen 10 und 30 Sekunden). Während Sterilisation und CIP wird die Sauerstoffmessung nicht benötigt. Während dieser Prozesse ist die Messung abgeschaltet, was wiederum die Lebensdauer der OptoCap verlängert.

### Zusammenfassung

Die Aufrechterhaltung idealer Bedingungen während des Wachstums von Säugetierzellen erfordert die Steuerung zahlreicher Parameter, unter anderem des gelösten Sauerstoffs. Die Ansprechzeit und das Driftverhalten der Sauerstoffsensoren InPro 6870 i und InPro 6880 i von METTLER TOLEDO ist im Vergleich zu amperometrischen Sensoren deutlich besser. Da die Chargendurchlaufzeiten für Säugetierzellen und Algenkulturen sehr lang sind, ist die geringe Drift und Wartungsarmut der Sensoren hier ein entscheidender Vorteil.

- O<sub>2</sub> -Sensor InPro 6860i
  - Optische Technologie
  - Sein schlankes Design eignet sich ideal für den Einbau im Kopf von kleinen Bioreaktoren
  - Vielseitig anschließbar – nA oder 4 – 20 mA oder digital mit ISM

- Transmitter M800
  - Multiparameter- und Mehrkanal-Ausführung
  - Farb-Touchscreen vereinfacht die Bedienung

Weitere Informationen unter:

► [www.mt.com/pro\\_pharma](http://www.mt.com/pro_pharma)

