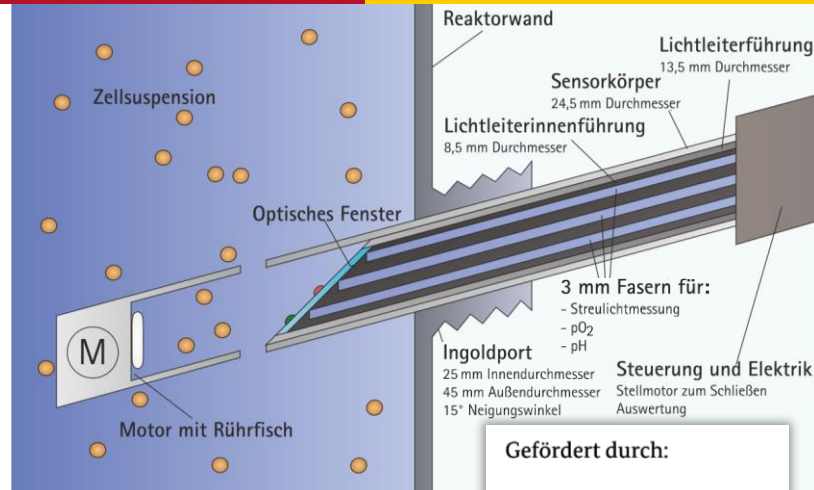
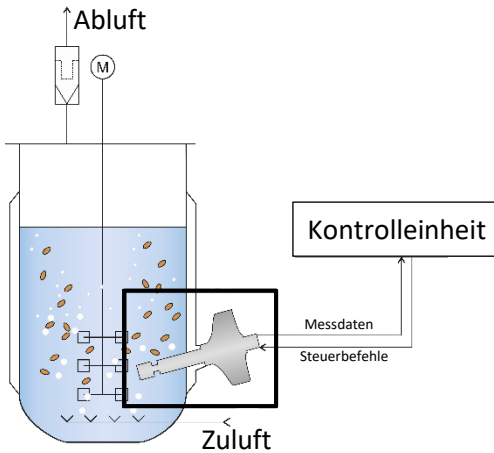


Industrielle Gemeinschaftsforschung

F.O.M.

017



Gefördert durch:



Bundesministerium
für Wirtschaft
und Energie

aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Entwicklung eines neuartigen, nicht invasiven In-situ-Kombi-Sensors zur Überwachung des metabolischen Zustands von Kultivierungsprozessen (ISICOM)

Die Herausforderung

Biotechnologische Prozesse sind komplexe Mehrphasenprozesse, deren ganzheitliche Beschreibung nur mit erheblichem Zeit- und Kostenaufwand möglich ist. Zudem erfordern der steigende Pharmazeutikabedarf sowie steigende Qualitätsanforderungen in der Pharmazie- und Lebensmittelbranche eine Steigerung von Effizienz und Verlässlichkeit der Überwachung und Regelung mehrphasiger biotechnologischer Prozesse. Um solche Prozesse sicher und effizient zu gestalten, bedarf es Sensoren, die den Prozess- und insbesondere den Zellzustand möglichst nicht-invasiv und in situ erfassen. Diese Sensorkonzepte zur nicht-invasiven Echtzeiterfassung metabolischer Aktivität existieren bisher nicht.

Die Innovationsidee

Ziel des Projekts war die Entwicklung eines In-situ-Kombi-Sensors, der durch simultane Messung von Biomassekonzentration und pO_2 -Wert in einer kurzzeitig abgeschlossenen Kammer den O_2 -Verbrauch als Indikator des Zellzustands während der Kultivierung online ohne

Probenahme ermittelt. Das Konzept des Sensors sollte auf der Miniaturisierung der dynamischen Methode beruhen: In einer Messkammer sollte ein für das gesamte Kulturzellvolumen definiertes und repräsentatives, zeitlich segmentiertes Volumenelement vom Rest der Zellsuspension aus dem Reaktor isoliert und sauerstoffdicht abgeschlossen werden. Der Sensor muss somit einen gasdichten Verschluss einer möglichst kleinen Messkammer garantieren. In der Messkammer sollten dann über Sensoren basierend auf Glasfaseroptik der pO_2 -Wert und die Biomassekonzentration über eine integrierte Streulichtoptode ermittelt werden, um den O_2 -Verbrauch zu bestimmen.

Der Vorteil dieser Sensorkombination wäre, dass der Sensor bei geöffnetem Messraum als konventionelle pO_2 - und Streulichtoptode arbeiten kann und die von diesen Sensoren ermittelten Werte mit denen der Sensoren im Reaktor abgeglichen werden können. Bei geschlossener Messkammer ist die spezifische Sauerstoffaufnahme der Zellen bestimmbar, ohne den Kultivierungsprozess zu beeinflussen oder eine Probe aus dem Reaktor entnehmen zu müssen.

Projektinformationen

IGF-Nr.:	19361 N
Laufzeit:	03/2017 – 08/2020
Fördersumme:	159.130 EUR
Industrieleistungen:	38.950 EUR

Forschungseinrichtungen

- Leibniz Universität Hannover, Institut für Technische Chemie

Projektbegleitender Ausschuss

- art photonics GmbH ^{KMU}
- Blue Ocean Nova AG ^{KMU}
- Christian Hansen
- LabCognition, Analytical Software GmbH & Co. KG ^{KMU}
- Ocean Optics BV
- PreSens - Precision Sensing GmbH ^{KMU}
- Sanofi-Aventis Deutschland GmbH
- Sartorius Lab Instruments GmbH & Co. KG
- Weihenstephaner Förderverein für Brau-, Getränke- und Getreidetechnologie e. V.

- Optische Messtechnik, Sensorik**
- Biotechnik**

Projektbegleitende akademische Abschlussarbeiten

[Promotion] Katharina Dahlmann (2020)
[Bachelor] Nico Ulber (2019)

Das Programm „Industrielle Gemeinschaftsforschung“ (IGF) ...

... fördert Studien zur industriellen Machbarkeit von Innovationsideen und beschleunigt so Technologietrends. Dazu arbeiten Wissenschaft, Industrie und Politik zusammen:

0 Das **BMW**i fördert vorwettbewerbliche, innovationsorientierte Forschung mit dem IGF-Programm.

1 **Industrie** und **Wissenschaftler** entwickeln Innovationsideen und geben Projekimpulse.

2 **AiF-Forschungsvereinigungen**, wie die F.O.M., finden Forschungspartner.

3 **Wissenschaftler** von je 1-3 Forschungseinrichtungen schreiben Förderanträge.

4 **Industrieunternehmen** beraten bei der Entwicklung der Anträge.

5 Die **Forschungsvereinigungen** optimieren die Qualität der Vorhaben und der Anträge und reichen die Anträge ein.

6 Die **Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen** (AiF) lässt die Anträge durch **Experten aus Industrie und Wissenschaft** begutachten.

7 Das **BMW**i finanziert die Forschungskosten bis max. 275/525/750 T EUR.

8 Die **Industrie** teilt sich die Administrationskosten.

9 Die **Wissenschaftler** der Forschungseinrichtungen führen die Forschung durch.

10 Die **Forschungsvereinigungen** stellen mithilfe von je 10-20 Unternehmen projektbegleitender **Industrieausschüsse** mit mindestens 50 % KMU einen regen Technologietransfer bis hinein in die Branchen sicher.

11 Die **Industrie** sorgt durch Bekundung ihrer Interessen für die Praxisrelevanz der Forschung, steuert Industrieexpertise bei und validiert die Ergebnisse.

Gemeinsam stärken wir die Innovationskraft des Mittelstands und den Fachkräftenachwuchs in Deutschland.

Für eine ausführlichere Fassung des Abschlussberichts wenden Sie sich bitte an:

Kontakt / Impressum

Forschungsvereinigung F.O.M.
Werderscher Markt 15, 10117 Berlin
030 4140 21-39

info@forschung-fom.de
www.forschung-fom.de



Die Ergebnisse

Der ISICOM-Sensor konnte erfolgreich entwickelt werden: Die Messkammer schließt ein definiertes Volumenelement kurzzeitig und gasdicht ein, um dort den pO_2 -Wert und die Biomassekonzentration simultan zu erfassen. Die simultane Erfassung wurde durch die Implementierung von zwei Messprinzipien im Sensorkopf erreicht: Zur Ermittlung des pO_2 -Werts wurden faseroptische Sensoren genutzt, die die sauerstoffabhängige Fluoreszenz in den Sensorspots auf der Glasscheibe der äußeren Lichtleiterführung erfassen. Der dazugehörige Lichtleiter wurde durch die innere Lichtleiterführung von hinten genau dort an die Glasscheibe geführt, wo der Sensorspot positioniert ist. Diese räumliche Trennung des Sensorspots von der optischen Faser ermöglicht ein Sterilisieren des Sensorkopfs, ohne die Sensorelektronik und die temperaturempfindlichen Lichtleiter zu zerstören. Die Biomassebestimmung erfolgt optisch mittels Trübungsmessung (180° -Streulicht). Hierfür wurde ein weiterer Lichtleiter mit dem inneren Sensorstempel an die Glasscheibe geführt, der das rückgestreute Licht und damit die Trübung in der Kammer direkt durch die Glasscheibe misst.

Die spezifische Sauerstoffaufnahme (qOUR) von Bakterien- (*E. coli*), Hefe- (*K. phaffii*) und Tierzell- (Chinese Hamster Ovary-/CHO-)Kultivierungen konnte mit dem Sensor erstmalig online in situ bestimmt und der metabolische Zustand der Zellen über den gesamten Kultivierungsprozess ohne Probenahme erschlossen werden. Somit waren Rückschlüsse auf die Anlaufphase des Populationswachstums („Lag-Phase“), die Änderungen des metabolischen Zustands und die Produktivität der Zellen möglich.

Die qOUR-Bestimmung war mit dem ISICOM-Sensor jedoch nur für geringere Zelldichten mit einer resultierenden qOUR bis zu 20 mmol/l/h) möglich. Für

höhere Zelldichten erwies sich die Sauerstoffsensoren als zu langsam. Dennoch konnten auch bei hohen Zelldichten bereits durch die Online-Bestimmung der Biomasse wichtige Informationen gewonnen werden.

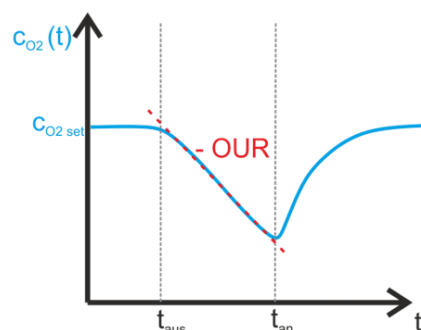
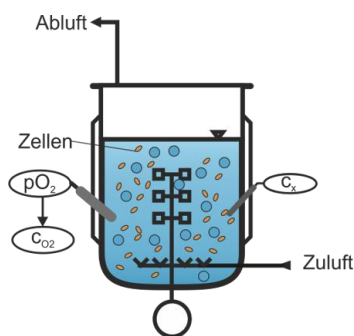
Die Verwertung

KMU-Nutzen

Biotechnologische Prozesse finden eine breite Anwendung in der (Bio-)Pharmazeutika- und Lebensmittelbranche. Während viele der in der Lebensmittelbranche tätigen Unternehmen KMU sind, steigt mit steigendem Bedarf an Pharmazeutika auch der Bedarf an neuen Sensorkonzepten, die von KMU entwickelt und geliefert werden können. Für eine zuverlässige Produktion werden Prozessanalytoren zur Prozessüberwachung und -regelung benötigt. Der ISICOM-Sensor kann hier entscheidende Informationen zur Prozessoptimierung und -auslegung liefern: Bei der Prozessüberwachung ist mit dem Sensor eine frühzeitige Fehlchargenerkennung und optimale Endpunktbestimmung möglich, sodass Ressourcen eingespart werden können. Zudem kann durch den Online-Einsatz des Sensors bei Bedarf gezielt während der Produktion in den Prozess eingegriffen werden. In der Prozessentwicklung können durch den Einsatz des ISICOM-Sensors Entwicklungszeit und somit Entwicklungskosten eingespart werden.

Umsetzung

Im direkten Anschluss an das Projekt wurde der ISICOM-Sensor bei einem Unternehmen zur Online-Überwachung zweier Batch-Hefekultivierungen (von Saccharomyceten und Non-Saccharomyceten) eingesetzt. Obwohl die Zelldichten zu groß waren, um die spezifische Sauerstoffaufnahme zu bestimmen, konnten anhand der online-bestimmten Zellzahlen neue Erkenntnisse über den industriellen Produktionsprozess gewonnen und der Produktionsprozess optimiert werden.



Prinzip der dynamischen Methode zur Bestimmung der Sauerstoffaufnahme (OUR).