

Reproduzierbare Messwerte vom Labor bis zum Prozess

Whitepaper über digitale Sensoren in der Biotechnologie

Von Bo Ottersten, Business Development Manager, Endress+Hauser Conducta GmbH+Co.KG

Zusammenfassung

In der Biotechnologiebranche werden Sensoren zur Flüssigkeitsanalyse häufig bereits während der Prozessentwicklung hinsichtlich Sensortyp und Marke standardisiert. Dies trägt dazu bei, reproduzierbare Messdaten beizubehalten, wenn der Prozess später hochskaliert wird. Dennoch können Unternehmen erhebliche Probleme bekommen, die durch unzuverlässige Sensorsignale, Unterschiede bezüglich des Signalalgorithmus oder Sensorhandling verursacht werden. Digitale Sensoren bieten eine Lösung zur Gewährleistung konstanter Messdaten und einen Weg zu einem einfachen, einheitlichen Sensormanagement.

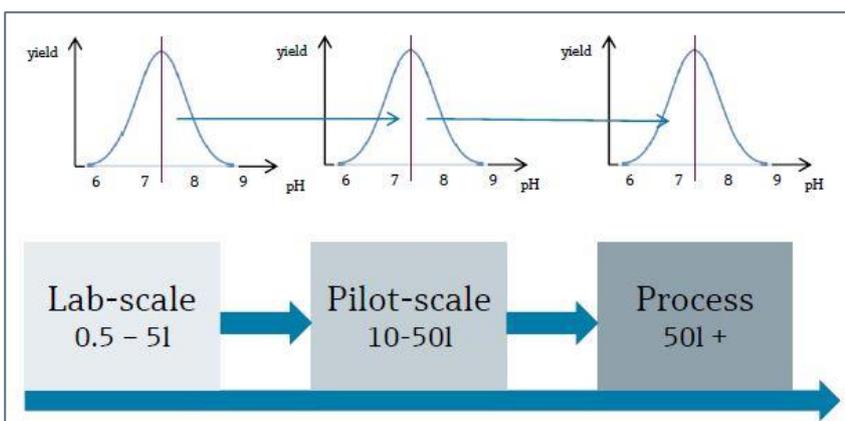
Die Bedeutung der Messwertbeständigkeit vom Labor bis zum Prozess

Es ist wichtig, die richtigen Bedingungen im Bioreaktor während der Laborversuche und im hochskalierten Prozess zu schaffen, damit Mikroorganismen oder Zellen gut gedeihen können. Korrekte Umgebungsbedingungen stellen sicher, dass die Ausbeute auf stabile und vorhersehbare Weise maximiert wird. Zwei der kritischsten Parameter während eines Fermentationsprozesses sind der pH-Wert und Sauerstoff, die beide sorgfältig kontrolliert werden müssen. pH- und Sauerstoffwerte außerhalb der Spezifikation führen direkt zu geringerer Ausbeute. Für einige spezifische Zellen, typischerweise Säugetierzellen von Menschen und Hamstern, ist der pH-Wert sehr kritisch und muss in einem Bereich von besser als $\pm 0,1$ bis $0,2$ pH-Einheiten kontrolliert werden, um die erwartete Ausbeute zu erzielen. Die Sauerstoffkonzentration wird für die Charge kritisch, wenn sie zu niedrig ist, also z.B. unter 20-25% fällt, da die Mikroorganismen dann nicht mehr genug Sauerstoff zum Atmen haben. Andererseits gefährdet zu viel Sauerstoff die Ausbeute ebenfalls, da einige Bakterien dazu neigen, eher an Größe zuzulegen, als die Produktion der gewünschten Moleküle zu erhöhen. Außerdem ist steriler Sauerstoff recht teuer und soll daher nicht überdosiert werden.

Wenn ein Prozess von der ersten Laborfermentation über den Piloten bis hin zum Vollmaßstab ausgebaut wird, ist es wichtig, alle Bedingungen unverändert beizubehalten. Daher ist es empfehlenswert, in allen Entwicklungsschritten identische Sensoren bezüglich Marke und Typ zu verwenden. Damit soll sichergestellt werden, dass bei einer Skalierung des Prozesses keine Messabweichungen auftreten, die zu einer Veränderung der Bedingungen im Bioreaktor und folglich zu einer Verringerung der Prozessausbeute führen könnten. Abweichungen im Messverhalten zwischen

Sensoren verschiedener Hersteller können aus verschiedenen Gründen erfolgen, wie z.B. durch unterschiedliche Kompensationsalgorithmen, unterschiedliche Materialleistung oder ein unterschiedliches Sensordesign, speziell der Referenz.

Trotz der Standardisierung der Sensoren kommen Messabweichungen recht häufig vor. Sie sind in der Regel auf die Sensoren selbst oder auf die elektrischen Signale der Sensoren zurückzuführen. Im Folgenden werden wir die verschiedenen Gründe für Fehler im Zusammenhang mit den elektrischen Signalen erklären und aufzeigen, wie diese Fehler durch den Einsatz digitaler Sensoren beseitigt werden können.



Einflüsse auf die Reproduzierbarkeit der Messwerte bei pH-Messungen

Bereits die Autoklavierung der Bioreaktoren im Labor stellt hohe Anforderungen an pH-Sensoren. Dabei werden sowohl der Glasfermenter als auch die Sensoren hohen Temperaturen und heißem Dampf ausgesetzt. Bleibt danach Feuchtigkeit auf den metallischen Sensorkontakten zurück, führt dies später zu unzuverlässigen und instabilen Messwerten.

Es ist allgemein bekannt, dass das hochohmige mV-Signal eines pH-Sensors sehr empfindlich gegenüber Feuchtigkeit oder Belägen an den Kabelkontakten ist. Signalabfälle führen zu unvorhersehbaren Messfehlern und können je nach Umgebung zufällig auftreten. Besonders problematisch ist es, wenn Messfehler nur gelegentlich auftreten, da sie dadurch schwer zu erkennen sind. Ein idealer pH-Sensor hat einen Nullpunkt bei pH 7,00. Mit anderen Worten, in einer pH 7,00-Lösung liefert ein idealer pH-Sensor ein 0 mV-Signal. In einer pH 8,00-Lösung liefert der gleiche pH-Sensor ein Signal von -59,16 mV (bei 25°C). Unter perfekten Bedingungen wird dieses Signal störungsfrei gemessen und vom Messumformer in den pH-Wert umgewandelt. Wenn jedoch Korrosion, Feuchtigkeit oder Beläge an den Sensor- und Kabelkontakten vorhanden sind, verschwinden im schlimmsten Fall alle 59,16 mV und das Signal nähert sich 0mV (pH 7,00). Das Signal des pH-Sensors würde dann einen niedrigeren Wert anzeigen, als es in Wirklichkeit der Fall ist, und die Steuerung im Fermenter würde weiterhin Reagenz hinzufügen, um den pH-Wert zu erhöhen. Das Ergebnis wäre in diesem Fall eine Überdosierung der Reagenzien, was zu einem pH-Wert außerhalb der Spezifikation und wahrscheinlich zu einer unbrauchbaren Charge führt.

Vergleichbarkeit der Messungen im Labor und im Prozess

Während aller Entwicklungsschritte ist es üblich, den pH-Wert, den die Online-Messung im Fermenter ermittelt hat durch die Analyse händischer Probenahmen zu kontrollieren und sogar zu justieren, wobei eine relativ kleine Probe mit einem Labor-pH-Sensor analysiert wird. Dies ist die zweite Herausforderung in Bezug auf die Übereinstimmung der pH-Messungen. Häufig treten auch Abweichungen zwischen den Messungen im Labor und jenen im Prozess auf. Dafür kann es mehrere Gründe geben. Selbst bei der Verwendung sehr hochwertiger pH-Sensoren ist man nicht vor Messabweichungen gefeit, wenn die Messungen nicht mit Sensoren des gleichen Typs oder des gleichen Herstellers erfolgen.

Typische Gründe dafür sind:

- Diffusionspotenziale im pH-Sensor durch unterschiedliche Bezugssysteme
- Nichtlinearität bei hohen/niedrigen pH-Werten durch unterschiedliche Membrangläser
- Unterschiedliches Temperaturverhalten in Abhängigkeit vom isothermen Punkt
- Verschiedene Kompensationsalgorithmen im pH-Messumformer

Einflüsse auf die Reproduzierbarkeit der Messwerte bei der Messung von Gelöstsauerstoff

Für die Messung von Gelöstsauerstoff stehen zwei verschiedene Messtechnologien zur Verfügung: die traditionelle amperometrische und die optische Fluoreszenz-Technologie. Amperometrische Sauerstoffsensoren liefern ein sehr kleines nA-Signal proportional zur Sauerstoffkonzentration. Üblicherweise liefert ein frisch gewarteter Sensor 0 nA bei 0 mg/l (%) und 60 bis 70 nA am Sättigungspunkt (100%). Dieses kleine nA-Strommesssignal erfordert eine ausgeklügelte Steuerung, um Abweichungen im Prozess zu erkennen.

Im Gegensatz dazu basiert das optische Messprinzip auf dem Fluoreszenzquenchen, bei dem sauerstoffempfindliche Moleküle in eine optisch aktive Fluoreszenzschicht integriert sind. Durch das Einstrahlen von Energie, im Allgemeinen Licht, mit einer bestimmten Wellenlänge auf diese Schicht, wird eine Reaktion in Form von fluoreszierendem Licht empfangen, die umgekehrt proportional zur Sauerstoffkonzentration in der Lösung ist. Die Abklingzeit und Intensität der Antwortsignale sind umgekehrt proportional zum Sauerstoffgehalt in der Lösung.

Das optische Messprinzip hat mehrere Vorteile gegenüber der traditionellen amperometrischen Methode:

- Keine empfindliche Membran und kein Elektrolyt
- Keine Polarisationszeit erforderlich
- Sehr einfache Wartung und Handhabung

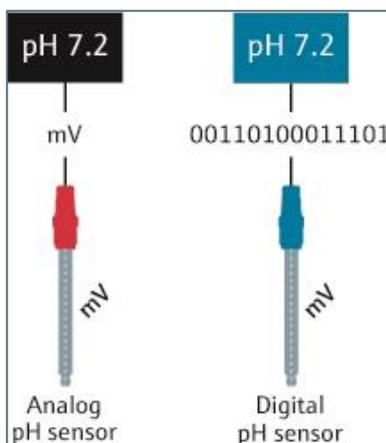
Die Herausforderung bei optischen und amperometrischen Sauerstoffsensoren besteht vor allem in der Interferenz von Luftblasen, die an der O₂-sensitiven Membran anhaften können, wenn der Sensor senkrecht von oben eingebaut ist. Ein Sauerstoffsensor sollte die Konzentration an gelöstem Sauerstoff messen, der von den Bakterien und Zellen umgesetzt werden kann. Er sollte jedoch nicht empfindlich auf den Sauerstoff reagieren, der sich in den Luftblasen der Lösung befindet. Die Sauerstoffkonzentration in den Blasen unterscheidet sich völlig von der in der Lösung. Wenn ein

Sauerstoffsensoren in einem Laborfermenter installiert werden, wird er hauptsächlich senkrecht von oben installiert. Diese Installation birgt immer ein Risiko, da Blasen dazu neigen, auf der O₂-sensitiven Membran zu haften. Mit elektronischen Filtern und der Dämpfung des Sensorsignals kann der Einfluss minimiert werden. Dies verlangsamt jedoch die Reaktion des Sensors auf Änderungen des Sauerstoffgehalts.

In größeren Fermentern im Pilot- und Prozessmaßstab werden die Sauerstoffsensoren horizontal von der Seite installiert. In dieser Position ist der Einfluss von Luftblasen durch das Rühren des Inhalts zu vernachlässigen. Allerdings macht dies den direkten Vergleich von Messwerten aus diesen beiden Anwendungen schwierig. Die bisher beste Lösung auf dem Markt ist die Verwendung eines Sauerstoffsensors mit einer konvexen Sensorspitze. Dies minimiert das Risiko, dass Blasen festsitzen und ermöglicht zudem eine Installation von oben nach unten.

Vorteile digitaler Sensoren

Digitale Sensoren können die Herausforderungen der pH-Messung lösen. Ein digitaler Sensor ist, wie der Name schon sagt, digital. Der eigentliche Sensorteil des Sensors ist analog und identisch mit einem herkömmlichen analogen Sensor. Der Unterschied besteht darin, dass digitale Sensoren eine zusätzliche Komponente in Form eines Mikroprozessors beinhalten, der Messsignale verarbeitet. Im Allgemeinen müssen mehrere Signale parallel verarbeitet und betrachtet werden.



Der Vorteil digitaler Analysensensoren besteht darin, dass sie eine 100%ige Signalintegrität bieten und damit die Zuverlässigkeit des Messwertes verbessern. Im Vergleich zu einer Messstelle mit analoger Sensorik besteht keine Gefahr eines Signalverlustes zwischen dem Sensor und dem angezeigten Messwert. Außerdem stellen Feuchtigkeit und Beläge auf Kontaktflächen kein Problem für die Messung dar. Entweder man erhält eine korrekte Messung – oder gar keine. Dies ist ein großer Fortschritt für alle Fermenteranwendungen im Labor, da eine verbleibende Restfeuchte auf den Kontaktflächen nach der Autoklavierung keine verzerrten oder instabilen Werte mehr verursacht. Messwertübereinstimmung (engl. Measuring consistency) bedeutet, die gleiche Sensormarke und den gleichen Sensortyp beizubehalten sowie die Berechnungsalgorithmen hinter den Messwerten unverändert zu halten, wenn ein Prozess vom Labor auf Pilot- und volle Prozesskapazität hochskaliert

wird. Die Standardisierung der digitalen Signalverarbeitung zwischen verschiedenen Messumformern ist bei der Verwendung digitaler Informationen im Vergleich zu analogen Signalen wesentlich einfacher.

Sensorkonditionierung und Sensorhandhabung

Ein zweiter großer Vorteil digitaler Sensoren besteht darin, dass die Handhabung und Einstellung der Sensoren zwischen Labor und Prozess standardisiert werden kann. Die Justage eines analogen pH-Sensors kann an der Messstelle eine Herausforderung darstellen, da Puffer- und Reinigungslösungen von Punkt zu Punkt gebracht werden müssen und zusätzliche Dokumentationen durchgeführt werden müssen. Digitale Sensoren tragen ihre eigenen Kalibrierdaten, so dass sie offline in einer stabilen Umgebung gereinigt, kalibriert und justiert und später im Prozess oder in Laboranwendungen installiert werden können.

Die Sensorkonditionierung im Labor bietet mehrere Vorteile. Neben dem Aspekt der Zeitersparnis kann auch die Messsicherheit verbessert werden. Die hohe Konzentration von Proteinmolekülen in der Fermentation kann leicht zur Verstopfung der Referenzmembran der pH-Sensoren beitragen. Dies verkürzt letztendlich die Lebensdauer des Sensors und trägt bei unsachgemäßer Reinigung zu Messfehlern bei. Für zuverlässige Messungen von Charge zu Charge muss der Sensor sorgfältig mit einer Säure in Kombination mit einer Pepsinlösung gewartet werden. Diese Wartung kann im Labor im Vergleich zur Messstelle einfacher durchgeführt werden. Das direkte Ergebnis der Sensorwartung im Labor ist eine bessere Leistung, höhere Messgenauigkeit und in vielen Fällen eine verlängerte Lebensdauer.

Durch den Einsatz einer digitalen Sensorik, die parallel die Möglichkeit bietet, eine Software zur Sensorwartung und -verwaltung zu nutzen, kann die gesamte Handhabung weitgehend standardisiert und vereinfacht werden. Die digitale Sensorik minimiert auch das Risiko von Abweichungen zwischen der Labormessung und der Online-Messung. Durch den Einsatz der identischen digitalen Sensor- und Signaltechnik in Verbindung mit einem entsprechenden Sensorhandling wird das Risiko von Fehlwerten minimiert.

Memosens-Sensoren für zuverlässige, stabile Messwerte

Die digitalen Memosens-Sensoren mit induktiver Kopplung sind völlig unempfindlich gegen Feuchtigkeit und können sogar unter Wasser angeschlossen werden. Dies garantiert höchste Messsicherheit. Memosens digitalisiert den Messwert innerhalb des Sensors und ermöglicht eine berührungslose, störungsfreie Übertragung zum Messumformer. Mit dem CYM17 Memosens-Analog-Konverter können digitale Memosens-Sensoren nun auch in Biotechnologie-Labors eingesetzt werden. Die Sensoren können einfach in bestehende Fermenter eingebaut und an den Konverter angeschlossen werden. Für eine einfache und schnelle Umrüstung stehen verschiedene Adapterkabel zur Verfügung. Das Ausgangssignal des CYM17-Konverters entspricht dem eines herkömmlichen analogen pH- oder Sauerstoffsensors.



Die induktive Memosens-Kupplung

Leistungsstarke Sensoren für Biotechprozesse – im Labor und im Prozess



pH-Sensor Memosens CPS171D

Dank des robusten Designs und der Langzeitstabilität sorgt der Sensor für äußerst genaue, reproduzierbare und zuverlässige Messergebnisse - sogar nach Autoklavieren (bis zu 140°C/284°F).



Optischer Sauerstoffsensor Memosens COS81D

Seine präzisen, langzeitstabilen Messungen und seine permanente Selbstüberwachung sorgen für zuverlässige Messwerte.



Memosens-Analog-Konverter CYM17

Ermöglicht den Einsatz von digitalen Memosens-Sensoren mit den in Biotechnologie-Labors eingesetzten Fermentern.

Die Endress+Hauser Gruppe

Endress+Hauser ist ein international führender Anbieter von Messgeräten, Dienstleistungen und Lösungen für die industrielle Verfahrenstechnik. Die Firmengruppe zählt weltweit rund 14.000 Beschäftigte. 2018 erwirtschaftete sie über 2,4 Milliarden Euro Umsatz.

WP01111C/07/DE/01.19