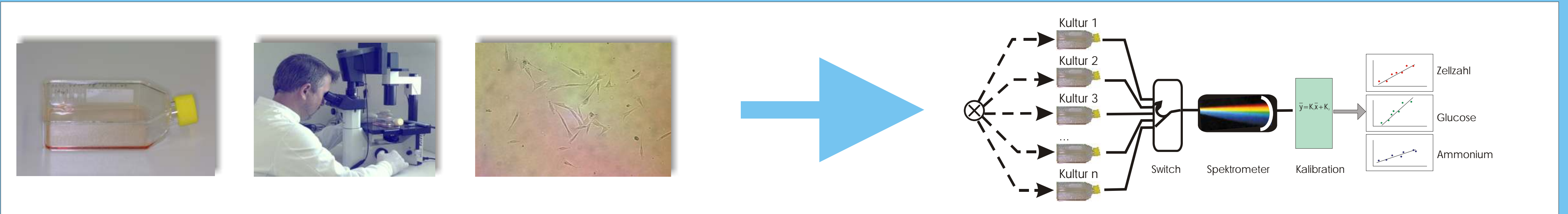


Überwachung multipler Prozessparameter in der Biotechnologie auf Basis der wellenlängenspezifischen Absorption im nahen Infrarot

S. Luck, H. Plettenberg, M. Hoffmann und I. Ponomarev

Motivation

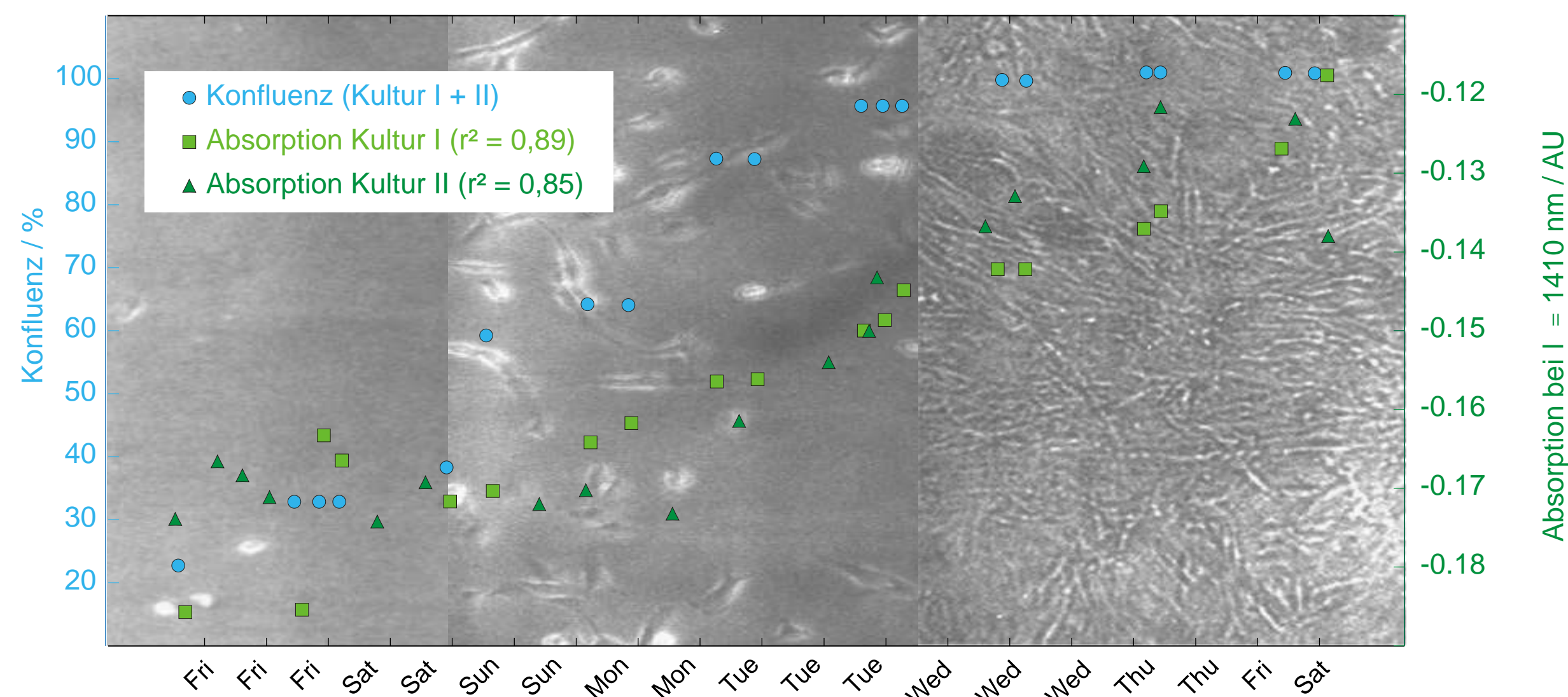
Der Einsatz von durch Tissue-Engineering hergestelltem Gewebe ist in vielen Bereichen (z.B. bei Hautimplantaten) eine anerkannte Therapieform. Derzeit findet die Produktion der Implantate überwiegend im Labor statt. Diese Vorgänge zu (semi) automatisieren stellt die nächste Entwicklungsstufe dieser Technologie dar. Allerdings ist die automatische Überwachung des Zellzuchterfolges noch nicht zufriedenstellend gelöst. Im Gegensatz zu vielen biotechnologischen Prozessen erfolgt die Produktion in kleinen, individuellen Kulturgefäßen. Eine Überwachung analog zu herkömmlichen Bioreaktoren ist nicht praktikabel.



Lösungsansatz

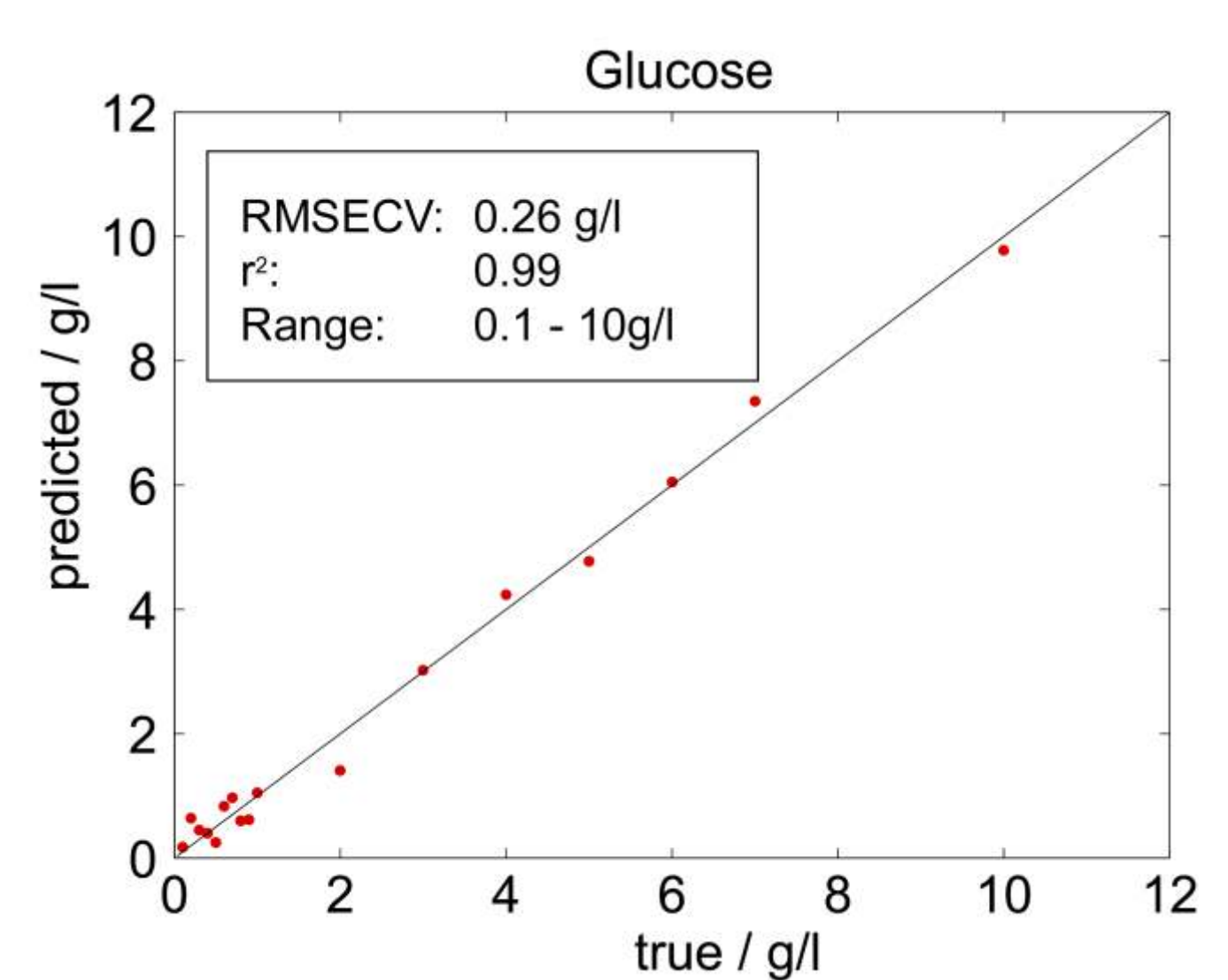
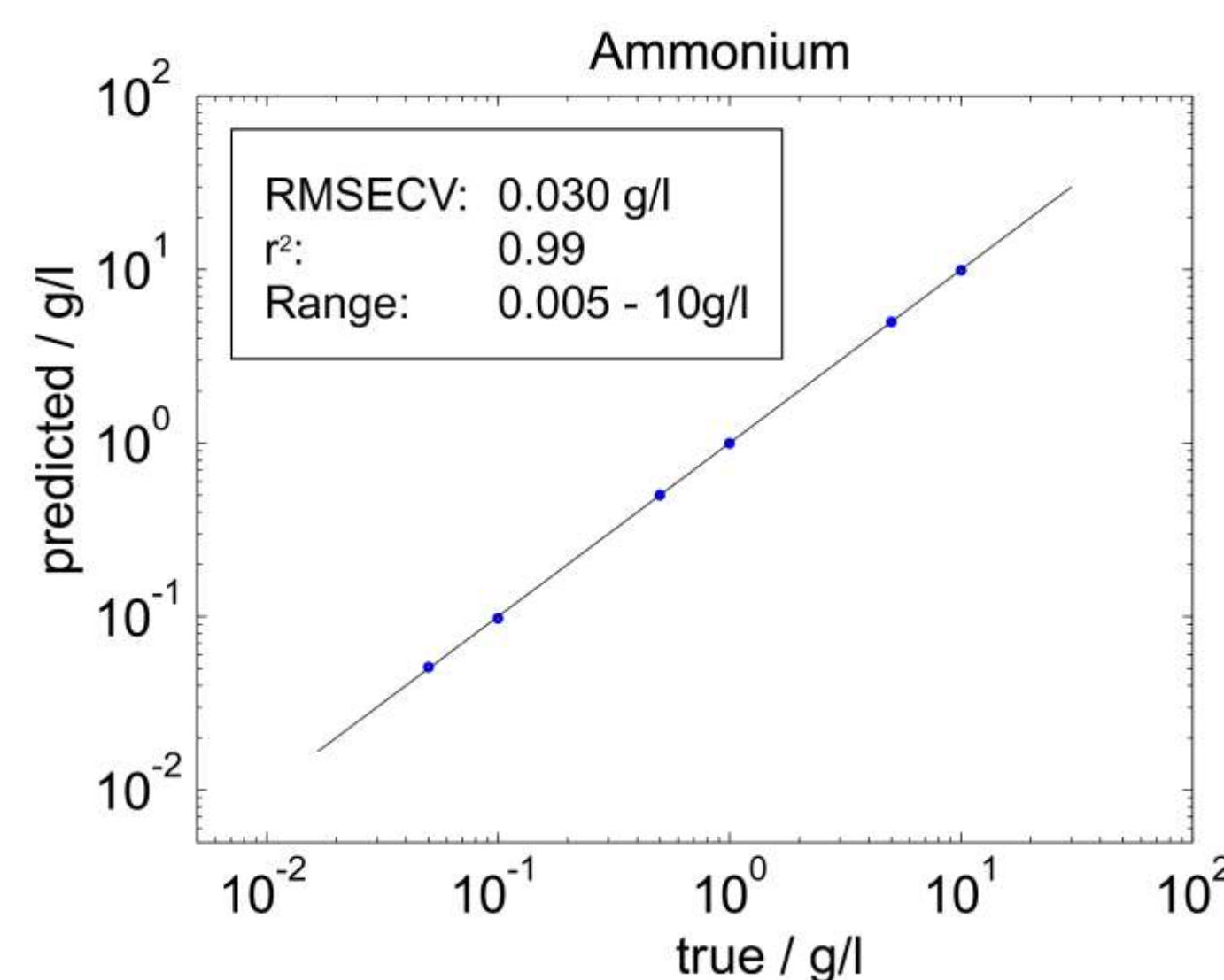
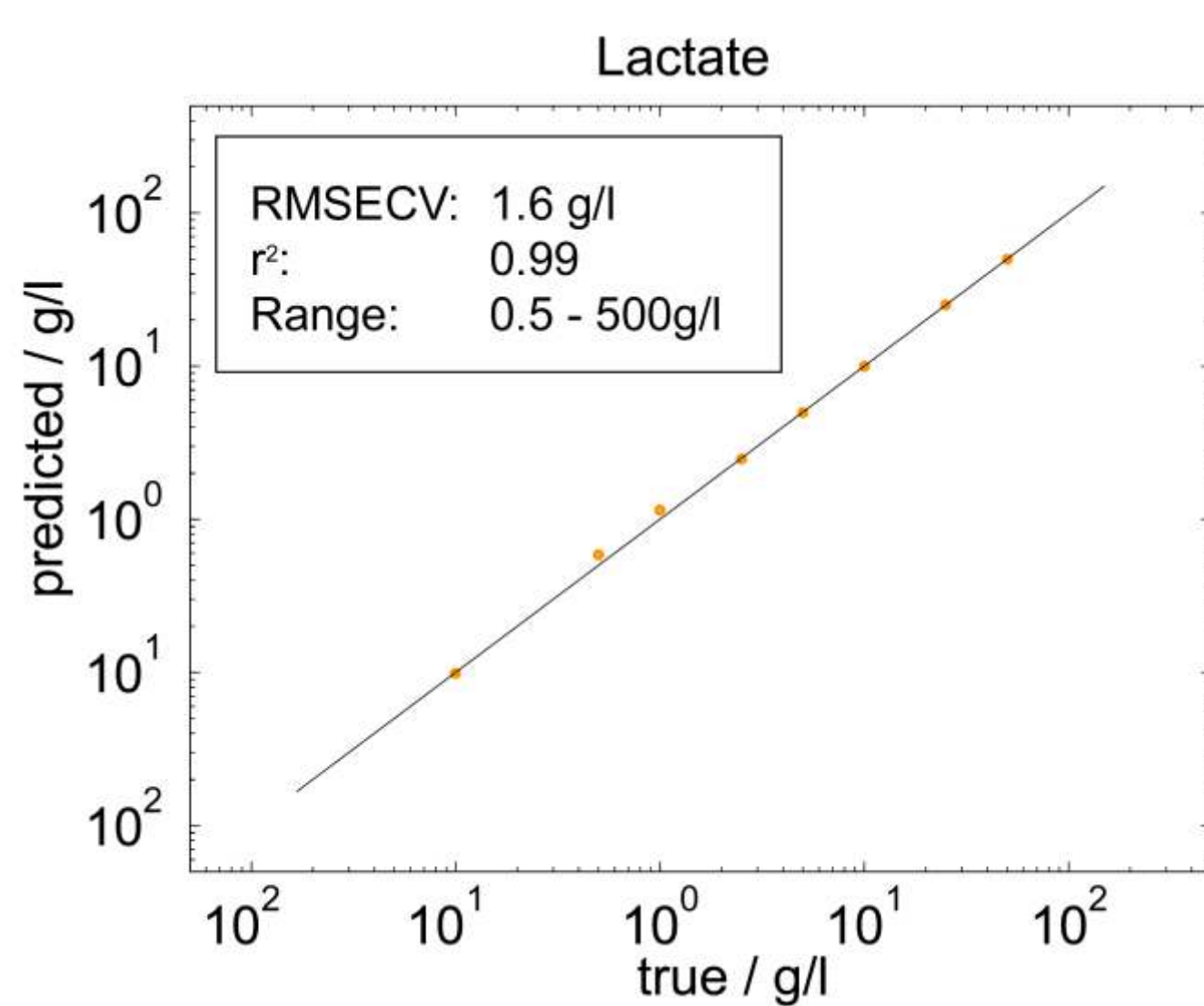
Nahe Infrarot (NIR) Spektroskopie hat das Potential zur Realisierung einer schnellen, kontaktfreien Multiparametermessung. Moderne Mikrospektrometer sind robust und kosteneffektiv, moderne chemometrische Modelle ermöglichen eine sichere Vorhersage der Zielwerte. Über Faseroptiken sind serielle Messung an vielen Gefäßen möglich und die Integration der Sensortechnik in automatisierte Kultivierungssysteme ist gewährleistet.

Ergebnisse



Material und Methode:

Für alle Untersuchungen wurde ein Mikrospektrometer (Spektralbereich 1100 nm - 1700 nm) eingesetzt. Faseroptiken wurden aus wasserfreiem Quarzglas gefertigt. Von Glucose, Lactat und Ammonium wurden Verdünnungsreihen vermessen und die Vorhersagbarkeit über eine MLR-Kreuzvalidierung nach Datenvorverarbeitung ermittelt (Software realisiert mit Matlab R13). Knorpelzellen wurden in Kulturgefäßen gezüchtet, das Zellwachstum (Konfluenz) mikroskopisch ermittelt. Die Kulturen wurden über einen Zeitraum von 9 Tagen mehrmals täglich über einen Faseraufbau untersucht.



Fazit

Glucose, Lactat und Ammoniumionen konnten über einen großen Konzentrationsbereich bestimmt werden, die Nachweisgrenzen sind für biologische Prozesse akzeptabel. Zwischen Konfluenz von Zellkulturen und NIR-Spektren konnten Korrelation (r^2) von 0,89 (Kultur I) bzw. 0,85 (Kultur II) nachgewiesen werden. Die Messzeit ist mit ca. einer Sekunde sehr schnell. Nächste Ziele bilden die Untersuchung von Quereinflüssen komplexerer Gemische und die Optimierung der Optik. Die Realisierbarkeit einer Online-Überwachung multipler Fermentationsprozesse für das Tissue-Engineering konnte damit demonstriert werden.

Danksagung:

Diese Arbeit wird unterstützt durch das BMWi innerhalb des Programms Förderung von Forschung, Entwicklung und Innovationen in kleinen und mittleren Unternehmen und externen Industrieforschungseinrichtungen in den neuen Bundesländern (Reg. Nr.: 395/04)