

Controllo dell'ossigeno nei bioreattori con la tecnologia ottica

La riuscita della fermentazione delle cellule di mammifero richiede un controllo attento delle proprietà fisico-chimiche del mezzo, tra cui l'ossigeno disciolto. La lunga durata dei processi necessita di sensori a manutenzione ridotta con bassa deriva del segnale. I sensori di OD basati sulla tecnologia ottica sono ideali per questo scopo.

Premessa

L'analitica di processo durante la fermentazione serve per mantenere condizioni di vita favorevoli per cellule sospese o microrganismi. L'ambiente fisico-chimico è quindi tenuto sotto controllo, nello specifico per ciò che riguarda il livello di pH, di ossigeno disciolto (OD) e di anidride carbonica disciolta. Trascurare il controllo di questi parametri potrebbe potenzialmente influire sulla qualità del prodotto finale. Per mantenere la coltura allo stato ottimale è possibile avvalersi della misura in linea.

Le colture cellulari richiedono ossigeno per produrre energia da fonti di carbonio organico. Data la scarsa solubilità dell'ossigeno nell'acqua, il controllo del flusso di ossigeno (aria) deve essere regolato con cautela per garantire che non diventi un fattore limitante nel processo. Al contrario, la somministrazione di aria nel processo da parte di un bioreattore iperossigenato può influenzare irreversibilmente le prestazioni della coltura e causare uno spreco dell'energia utilizzata per il funzionamento del compressore d'aria.



Le cellule di mammifero sono grandi, crescono lentamente e sono molto sensibili al taglio se paragonate alla fermentazione microbica. La concentrazione di prodotto (titolo) è generalmente molto bassa e durante la crescita vengono prodotti metaboliti tossici come l'ammonio e il lattato. A causa di tali esigenze, il bioreattore necessita di condizioni ambientali omogenee e ben controllate (temperatura, pH, ossigeno disciolto e potenziale redox corretti). Grazie al tasso di crescita lento, la durata del processo può arrivare fino a tre settimane; naturalmente, i sensori in linea devono essere molto stabili durante tutto il ciclo.

Sensore di OD con tecnologia ottica

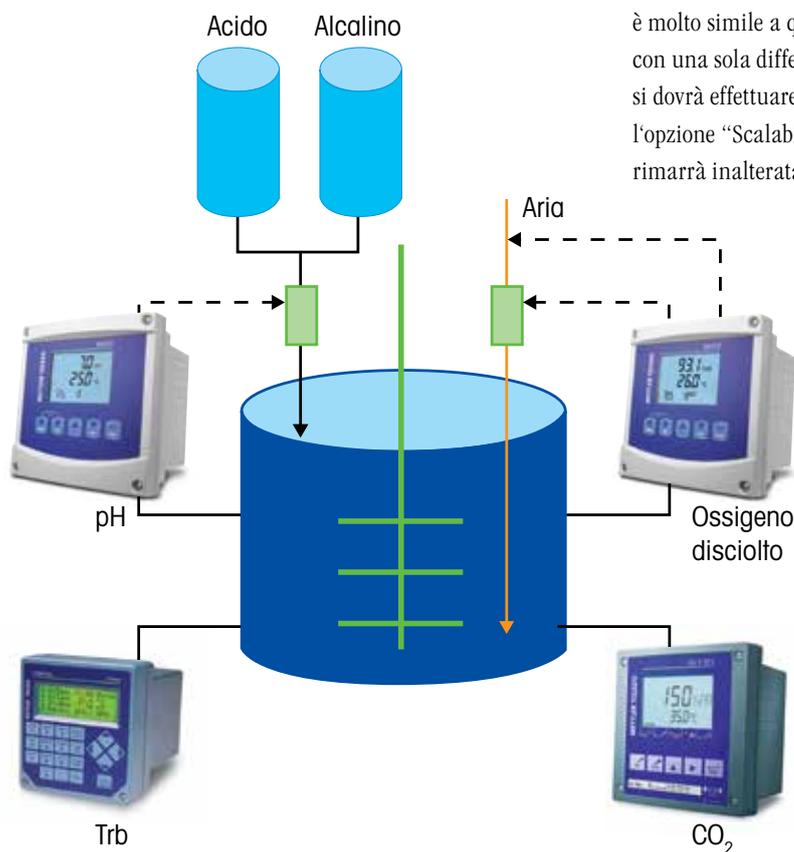
Per quanto riguarda le misure di ossigeno disciolto, i sensori con tecnologia ottica offrono vantaggi significativi rispetto alla tecnologia amperometrica, come illustrato nella tabella 1.

I sensori ottici di ossigeno InPro 6870i e InPro 6880i METTLER TOLEDO sono progettati per soddisfare le esigenze dell'industria farmaceutica. Il fulcro dei sensori è uno strato sensibile all'ossigeno che contiene un marcatore di molecole immobilizzate. Queste molecole assorbono la luce da un LED e sono in grado di rilasciare l'energia sotto forma di luce di diversa lunghezza d'onda (fluorescenza). Il ritardo tra

l'assorbimento e l'emissione di luce dipende dalla pressione parziale dell'ossigeno presente nel mezzo. A differenza dei sensori amperometrici, che richiedono la sostituzione della membrana, del corpo interno e dell'elettrolita, questi sensori necessitano della sola sostituzione del cappuccio ottico OptoCap.

Taratura accurata dei sensori ottici di OD

È piuttosto comune effettuare una taratura del sensore dopo un ciclo di sterilizzazione per partire da un valore iniziale riproducibile, ad esempio la saturazione dell'aria al 100% o qualsiasi altro valore desiderato. Con i sensori amperometrici, la pendenza è regolata durante la taratura. Nei sistemi ottici, invece, la regolazione della pendenza può alterare i dati reali di taratura del sensore poiché il valore desiderato non rappresenta necessariamente il valore reale di saturazione dell'ossigeno. Per ottenere un valore reale dell'ossigeno, si devono misurare la pressione di processo e la salinità. Questo cambiamento di procedura può generare confusione per gli utenti finali abituati ai sensori amperometrici. È pertanto possibile che preferiscano seguire le SOP di cui si sono avvalsi fino al momento del passaggio ai sensori ottici. Con l'opzione "Scalabilità" della taratura di processo, i sensori InPro 6870i e InPro 6880i possono essere regolati al valore desiderato senza modificare i valori di pressione del processo. Questa procedura è molto simile a quella effettuata con i sensori amperometrici, con una sola differenza: invece di correggere la pendenza, si dovrà effettuare una taratura di processo (se si sceglie l'opzione "Scalabilità", la curva di taratura del sensore rimarrà inalterata, ma il segnale in uscita verrà scalato).



Configurazione standard per il controllo di un bioreattore

Tecnologia amperometrica	Tecnologia ottica	I vantaggi della tecnologia ottica
Deriva del segnale del mezzo	Deriva del segnale molto bassa e tempo di risposta più breve	Altamente indicato per cicli lunghi
Scambio frequente membrana/elettrolita Rischio di perdita di elettrolita	Senza elettrolita	Manutenzione minima (sostituzione del cappuccio ottico OptoCap dopo 6–7 mesi). Nessun rischio di perdita di elettrolita.
6 ore di pre-polarizzazione prima della taratura e della misura	Polarizzazione non necessaria	Pronto per la misura quando è collegato a un trasmettitore, anche dopo l'autoclavaggio. Immediatamente utilizzabile. Elevata disponibilità.

Tabella 1: Confronto fra tecnologia amperometrica e tecnologia ottica

Durata della vita utile del cappuccio ottico OptoCap

Per ridurre l'usura del cappuccio ottico OptoCap e massimizzarne la durata, la frequenza di campionamento dovrebbe essere ridotta. Utilizzando i sensori InPro 6870 i e InPro 6880 i con i firmware più all'avanguardia, le variazioni della frequenza di campionamento comprese tra 1 e 20 secondi non influenzano il tempo di risposta poiché il sistema non esegue una media fra le misure (la frequenza di campionamento consigliata per un'applicazione biotecnologica è da 10 a 30 secondi). Durante la sterilizzazione e i CIP, non è necessario misurare l'ossigeno. In tali processi, dunque, la misura è disattivata: ciò comporta un ulteriore prolungamento della durata della vita utile del cappuccio ottico OptoCap.

Conclusioni

Per mantenere le condizioni ideali durante la fermentazione delle cellule di mammifero è necessario controllare vari parametri, tra cui l'ossigeno disciolto. Il tempo di risposta e la possibile deriva del segnale dei sensori di ossigeno InPro 6870 i e InPro 6880 i di METTLER TOLEDO sono notevolmente migliori rispetto a quelli dei sensori amperometrici. Poiché i tempi per le colture di cellule di mammifero e di alghe sono lunghi, la bassa deriva del segnale e la manutenzione minima rappresentano dei vantaggi significativi.

- Sensore di O₂ InPro 6860i
 - Tecnologia ottica
 - Design compatto che consente un semplice montaggio in bioreattori da banco
 - Uscita versatile – nA o 4–20 mA o ISM digitale
- Trasmettitore M800
 - Multiparametrico e multicanale
 - Touchscreen a colori che semplifica il funzionamento

Per ulteriori informazioni, visitate:

► www.mt.com/pro_pharma

