



Online Ueberwachung von Bioprocessen mit ATR-IR oder NIR:

Vor- und Nachteile

[Dr. Florian Eigenmann]

Arbeitskreis Prozessanalytik

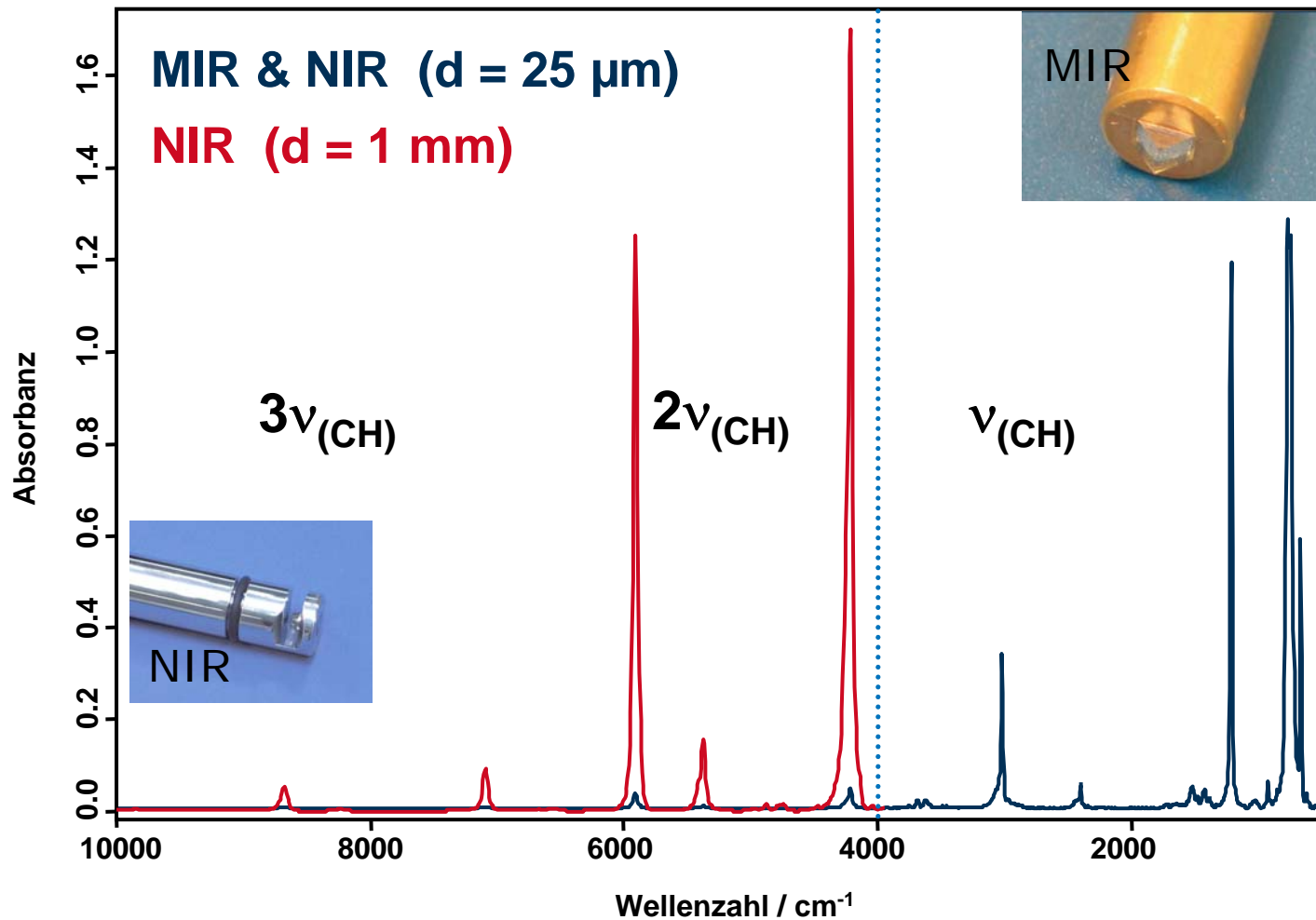
in der GDCh-Fachgruppe Analytische Chemie

4. Kolloquium, 17./18. Nov. 2008 in **Basel**

Agenda

- Einleitung MIR-NIR, Nachweisgrenzen, Interpretation, ...
- Realisierte Fermentationsreaktionen:
 - Off-line, At-line mit MIR
 - On-line mit NIR
- Transflektions-Sonde: Vorteile für Fermentationen
- Fermentations-Machbarkeitsstudie NIR, MIR-ATR
- Datenauswertung mit Chemometrie PLS, PCA
- Zusammenfassung, MIR als Alternative mit Limiten

ν (CH)-Schwingung von CHCl_3 im MIR & NIR



Fermentations-Reaktionen: Komponenten?

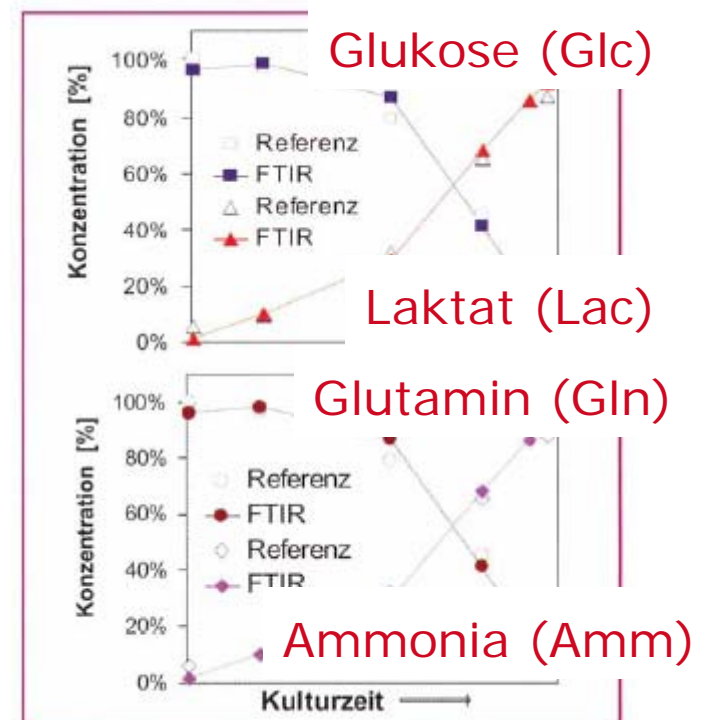
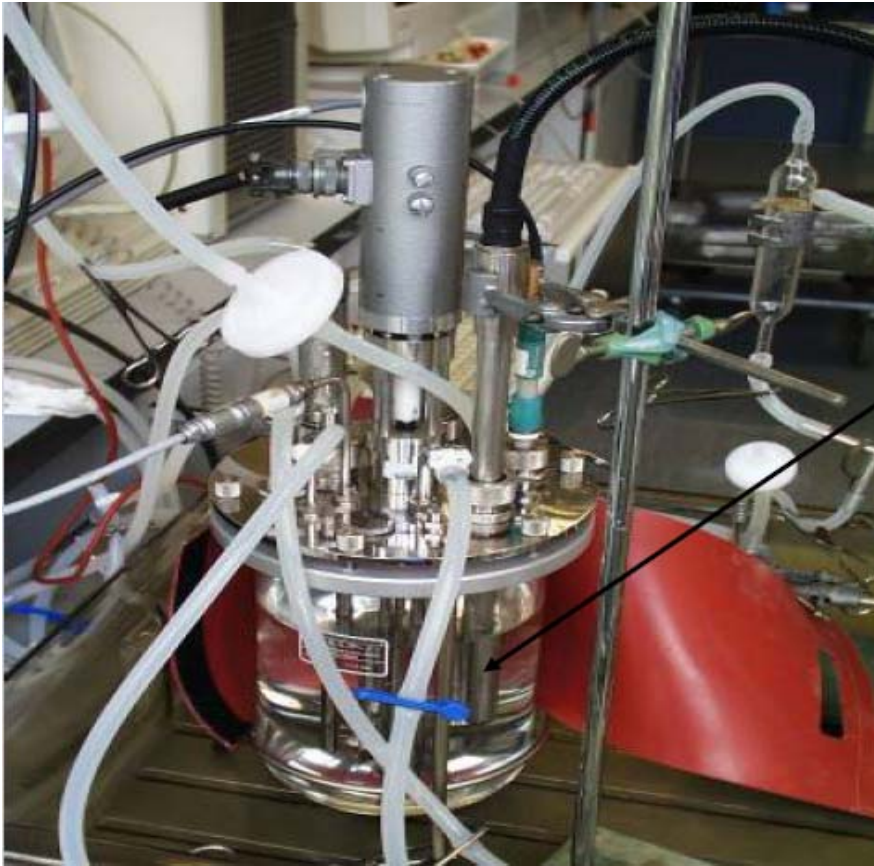


Abb. 2: Konzentrationsprofile während des Batch-Wachstums einer Zellkultur

Glutamat (Glu)

Fermentations-Reaktionen



Anforderungen an das Mess-System

- Genauigkeit (besser als 0.1% -> 1g/l)
- Online Messung (sofortige Analyse, Datenacquisition < 10min)
- Steuerung möglich – Einfluss auf den laufenden Prozess
-> Semi-Batch
- Langzeitstabilität, über mehrere Tage (ca. 3-5 Tage)
- Mehrere Reaktoren

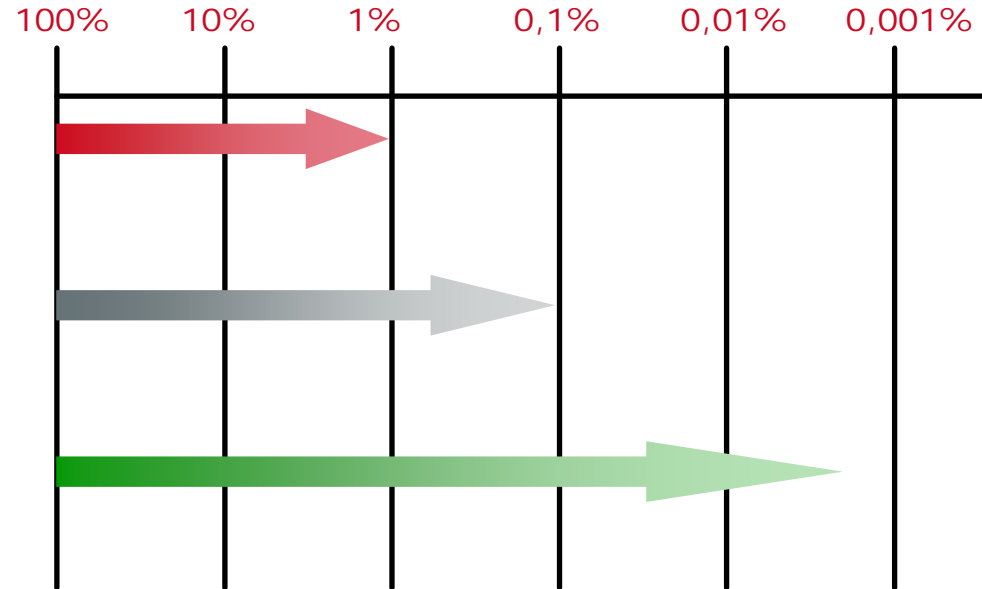


Typische Konzentrationslimiten in Wasser ?

Raman: $\geq 1\%$ (= 10 g/l)
(extrem substanzabhängig)

NIR: $\geq 0,1\%$ (= 1 g/l)

**Im MIR kann eine 1-2
 Grössenordnungen höhere
 Empfindlichkeit erreicht
 werden!**



ABER:

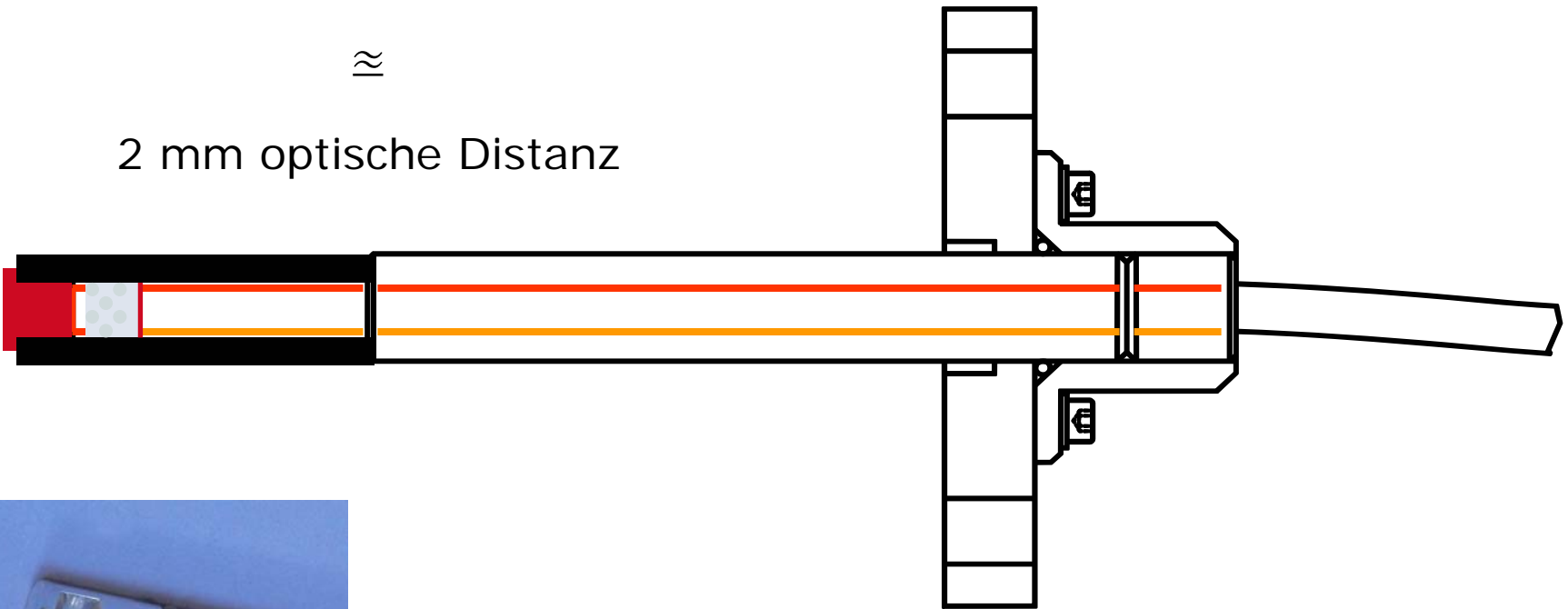
Anwendung **NICHT MÖGLICH** mit Standard Messzubehören (z.B. Einfach-reflexions ATR) in einem Standard Spektrometer (DTGS-Detektor) !

Prinzip der Transflekation

1 mm Distanz

\approx

2 mm optische Distanz



Transfleksionssonde



Applikationen:

Milchige reflektierende Proben (Suspensionen, Emulsionen) wie

- Fermentationen
- Polymer-Emulsionen
- Milch
- Cream
- ...



→ Detektion von transmittiertem and reflektiertem Licht

Diamant ATR Sonde IN350-T



ATR-Element:

Diamantprisma 2x45° Reflexionen

Sondendurchmesser: 6mm

Sondenmaterial:

Hastelloy, vergoldet

Optische Faser: Silberhalogenide

mit spezieller Kernmantel-

Technologie, Durchmesser: 1mm

Spektralbereich: 3500-560 cm^{-1}

Faserlänge: 2 x 1.5 m

Temp: $-100 < T < 180^\circ \text{C}$

Druck: bis 300 bar



Gegenüberstellung online NIR/MIR

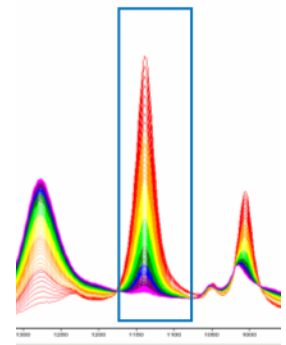


- Lange Lichtleiter möglich (0 - 200m)
- Chemometrie notwendig
- Limiten: 0.1, 0.2%
- Interpretation schwierig



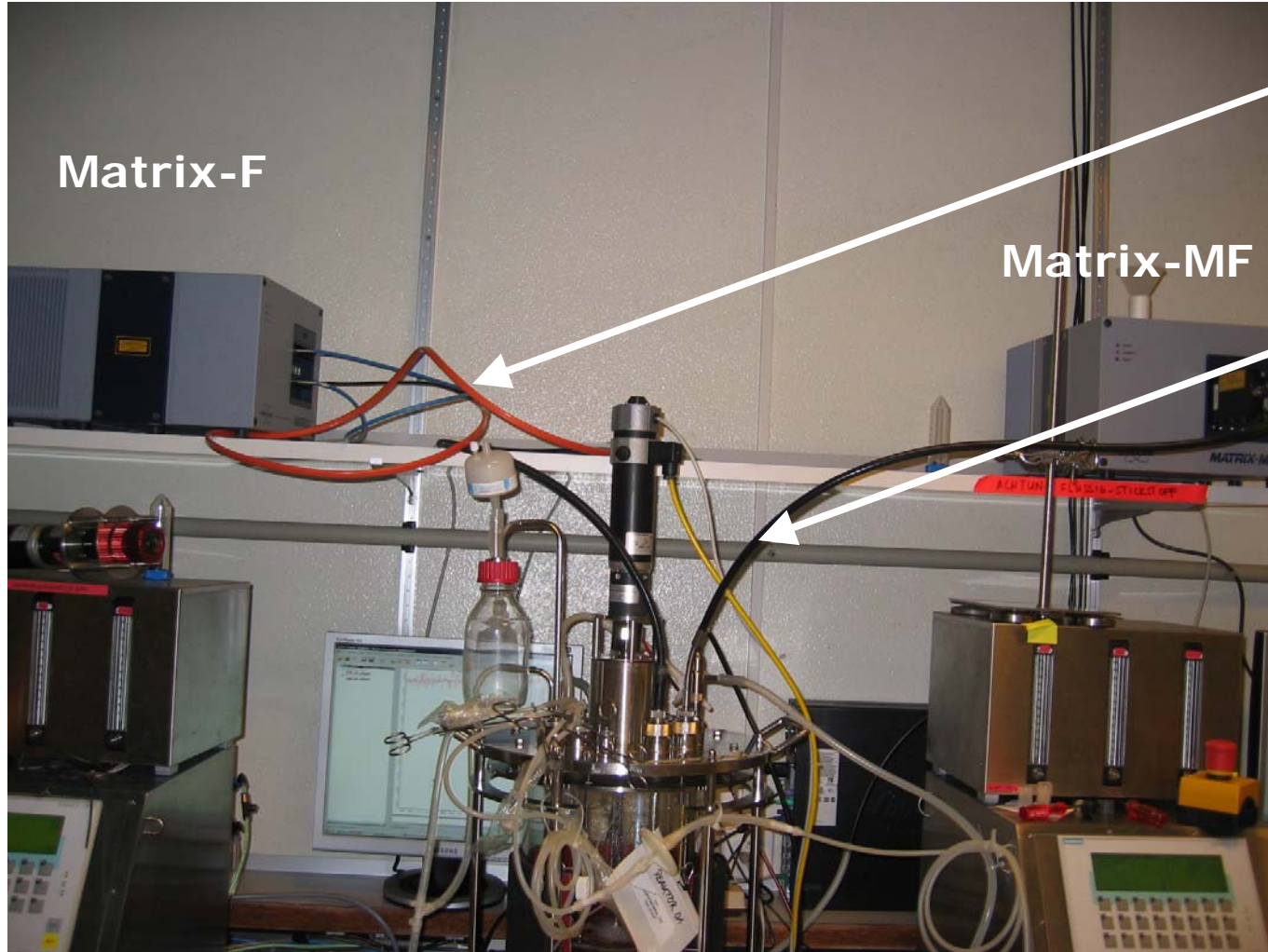
- Kalibrationstransfer möglich

- Distanz eingeschränkt < 5m
- Oft auch univariate Kalibration möglich
- Limiten: 10 - 100 ppm
- Interpretation einfach
 - Funktionelle Gruppen
 - Fingerprint



- Transfer z.T. möglich

Machbarkeitsstudie mit Matrix-F und MF



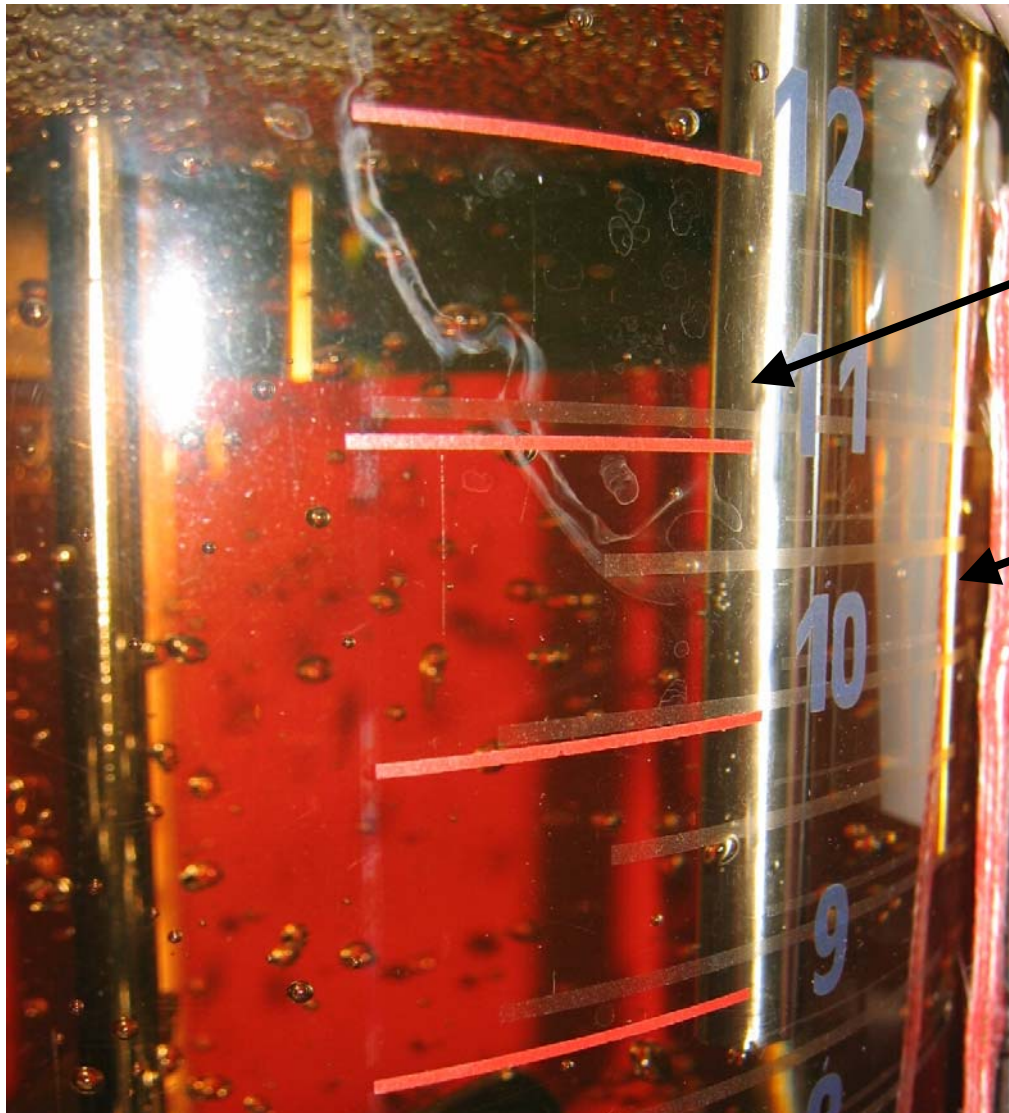
Matrix-F

Matrix-MF

NIR-Sonde

ATR-Sonde

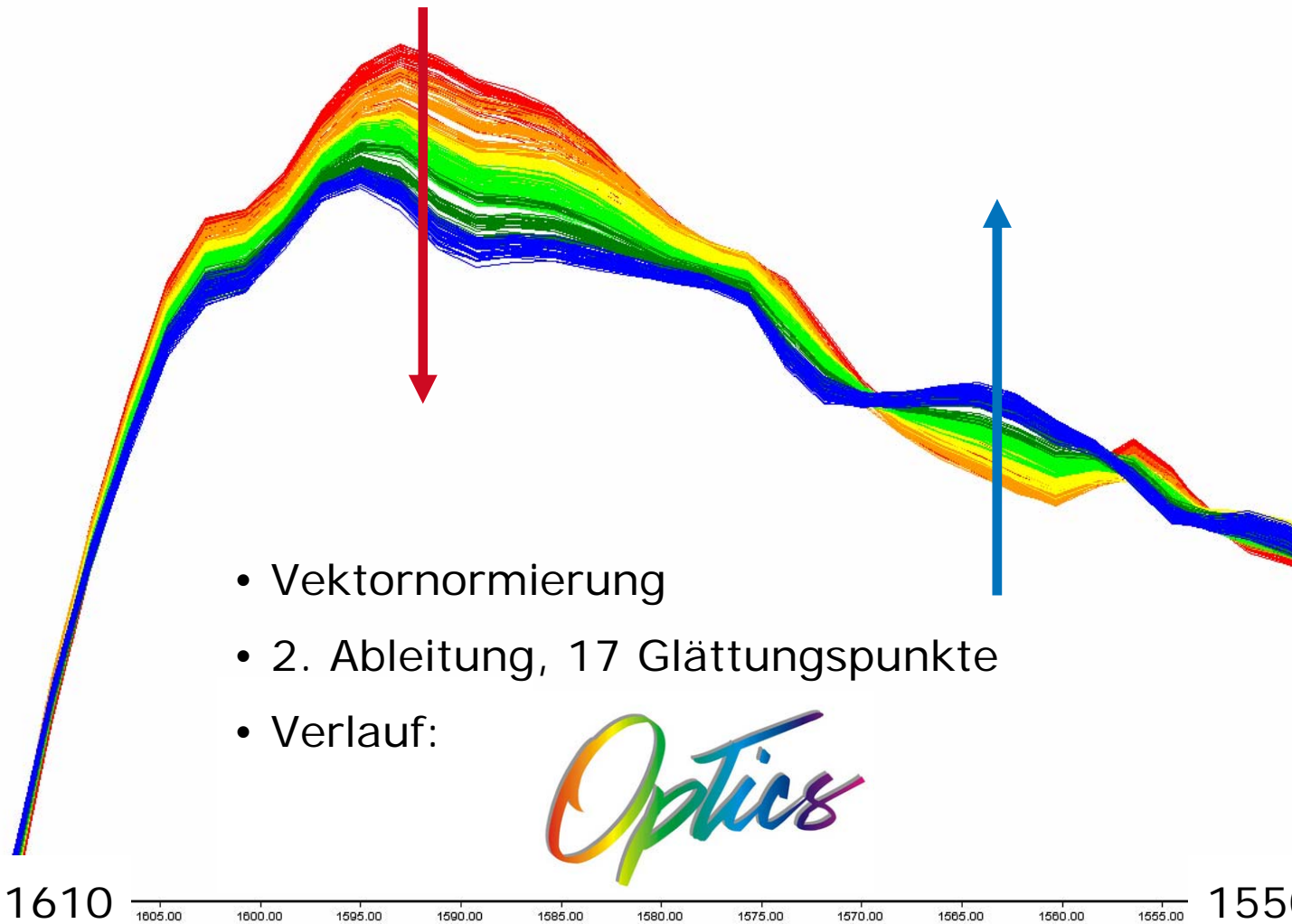
Machbarkeitsstudie mit Matrix-F und MF



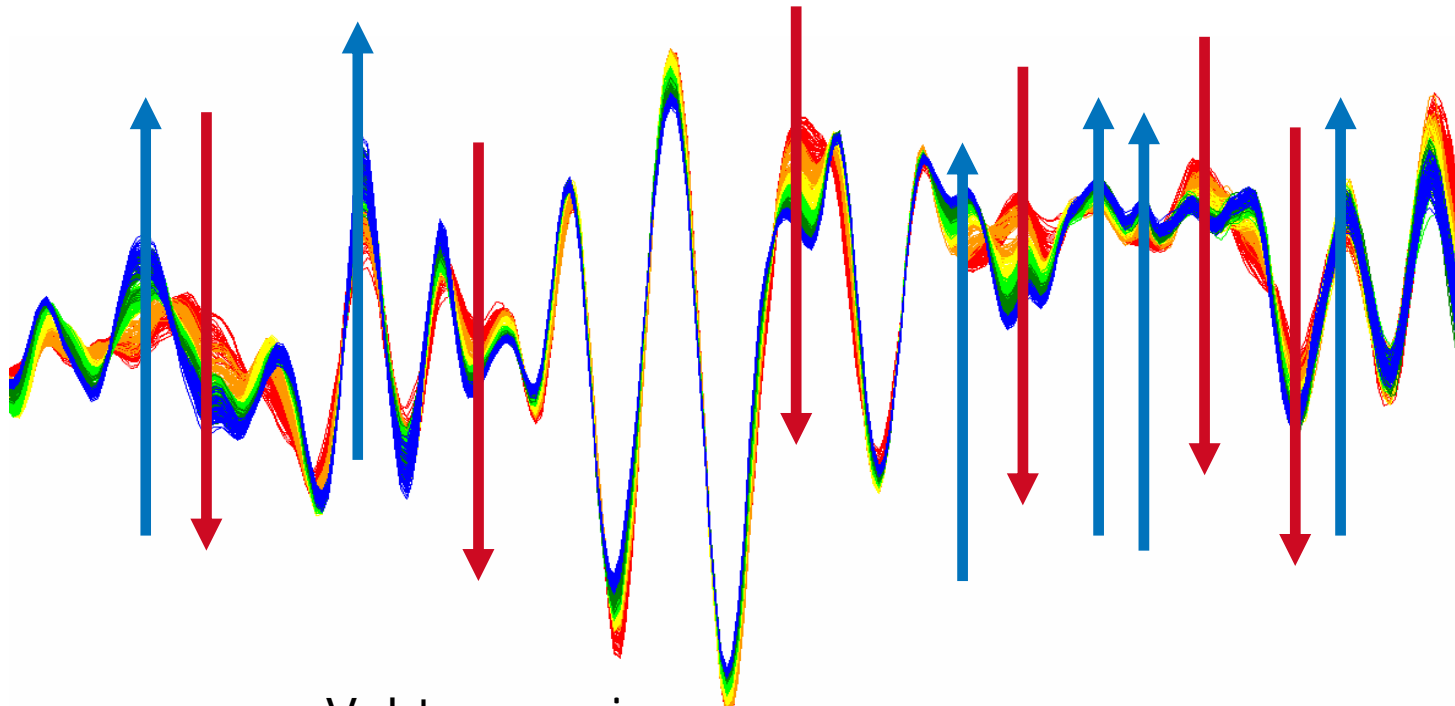
NIR-Sonde

ATR-Sonde

Visuelle Betrachtung der MIR-Spektren



Visuelle Betrachtung der MIR-Spektren

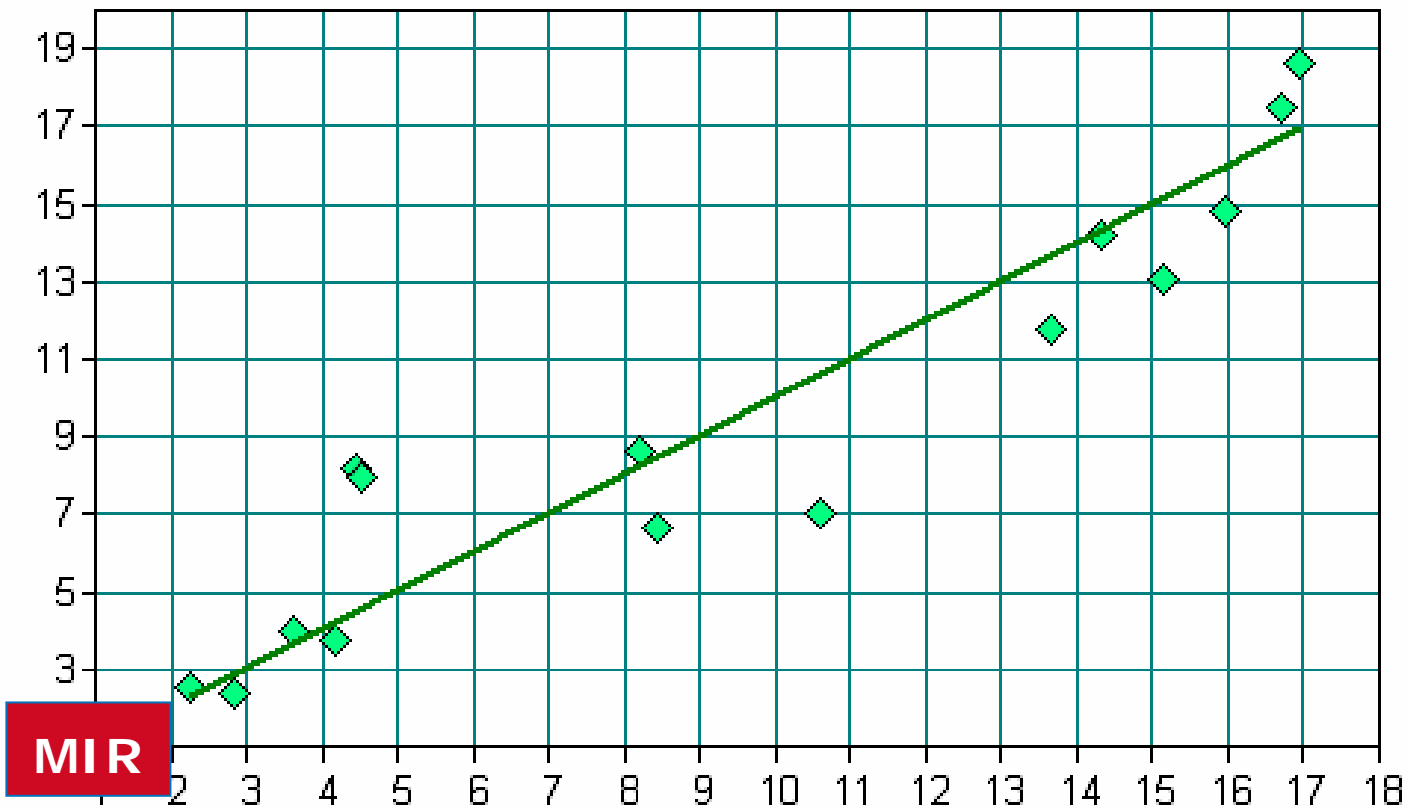


- Vektornormierung
- 2. Ableitung, 17 Glättungspunkte
- Verlauf:

Optics

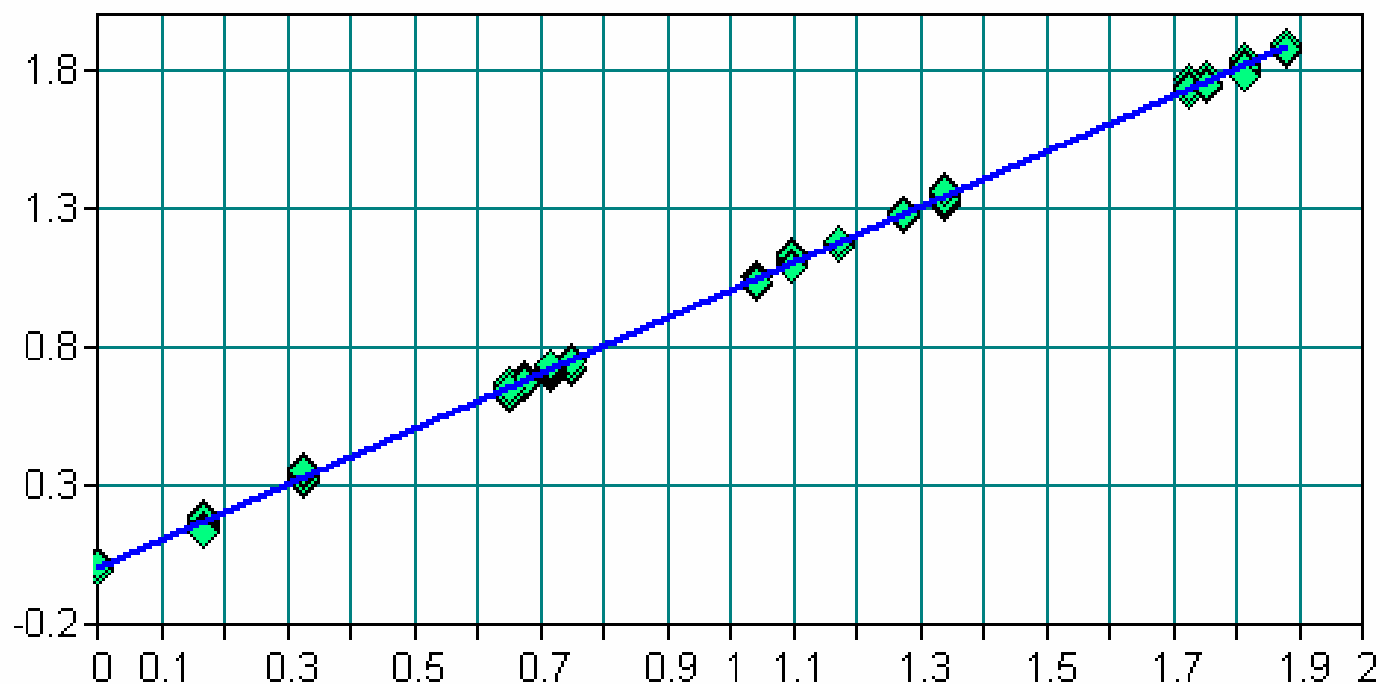
NIR-Resultate

Vorhersage vs Wahr / Amm [qL-1] / Kreuzvalidierung



Ammonia (Amm)

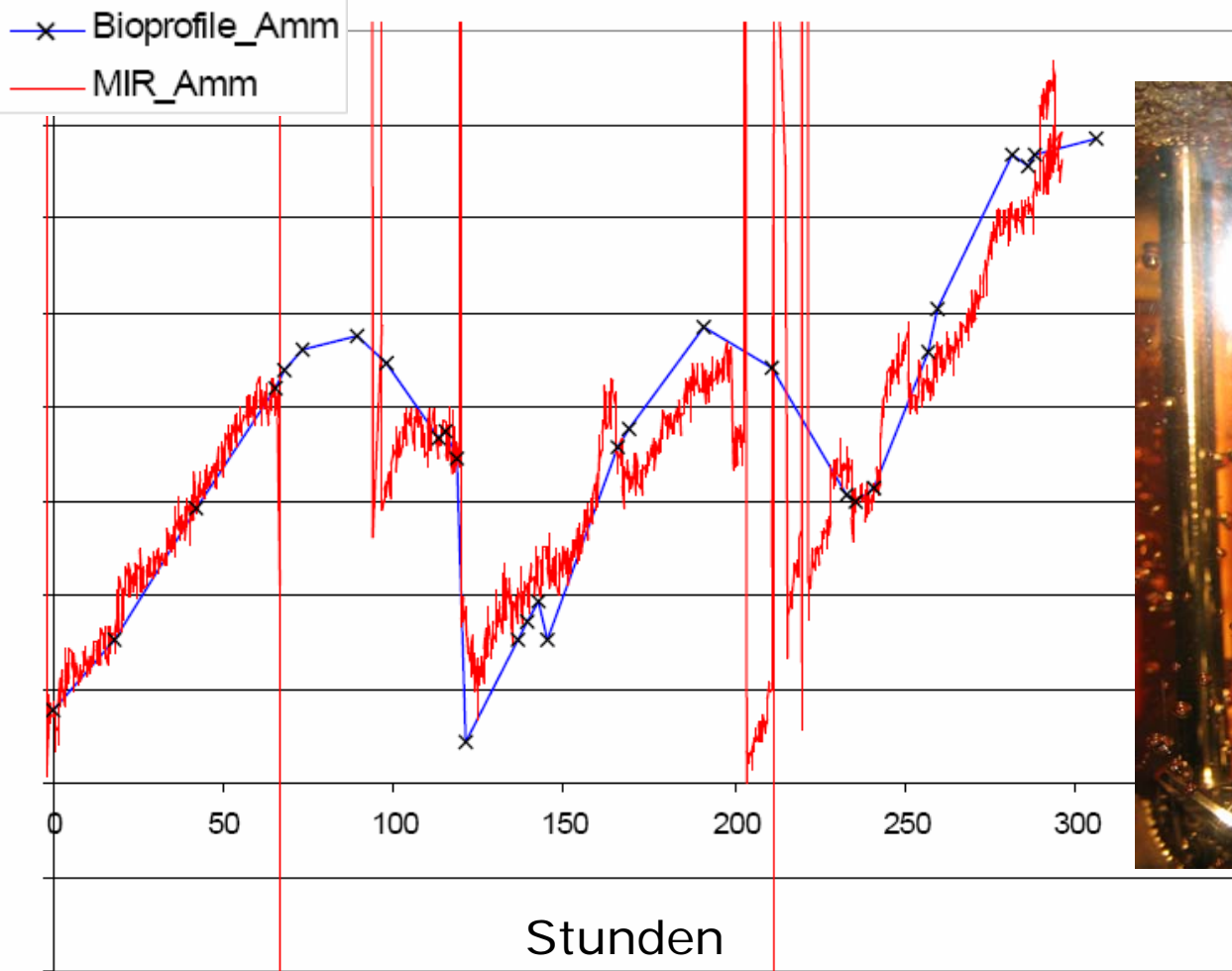
Vorhersage vs Wahr / Amm [g/L-1] / Kreuzvalidierung



< 20 ppm

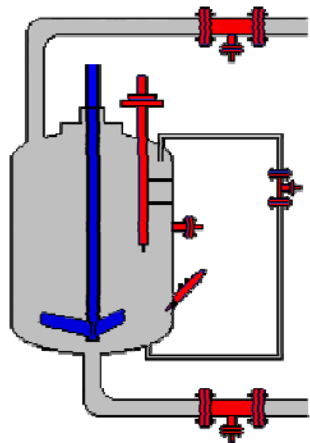
Offset: 0.001 Steigung: 0.999 Korr. Koeff.: 0.9996
 Rang: 10 $R^2 = 99.92$ RMSECV = 0.016 Bias: -0.000467 RPD: 35.8

Process Monitoring: Fermentation

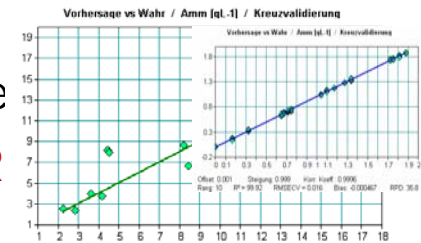


Zusammenfassung: Alternative MIR-ATR

- Nachteil: Länge der MIR Lichtleiter – Standard: 1.5m (bis 5m möglich)
- **MIR** Applikation ist eine prüfungswerte Alternative bei Messungen an der Detektionsgrenze von **NIR**

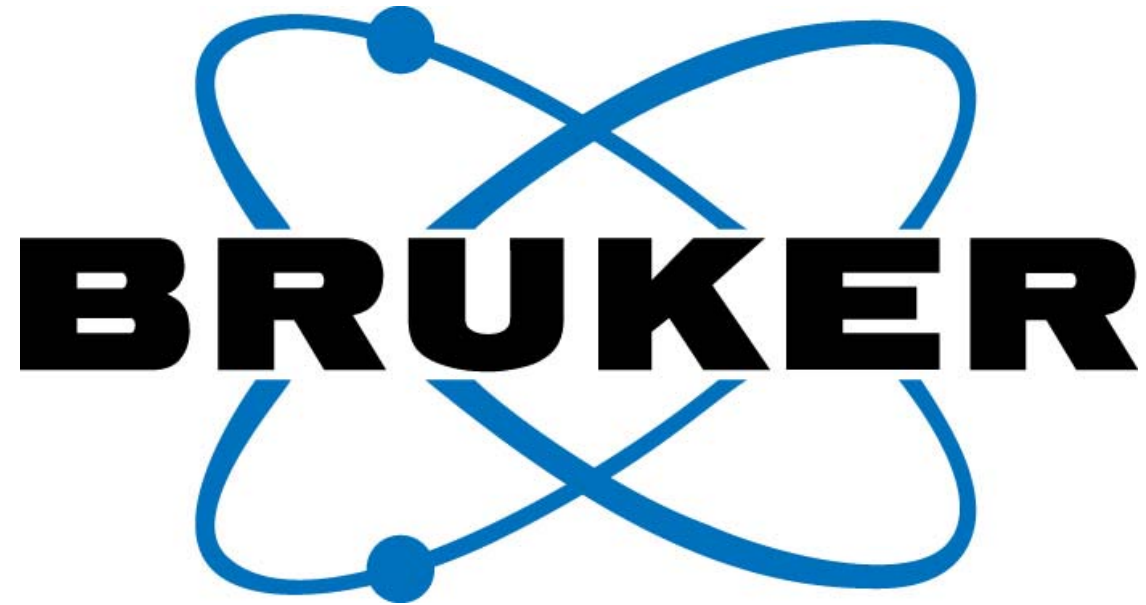


- Online Messungen mit dem FT-**MIR** und der ATR Sonde bietet gegenüber Off-Line Applikationen (HTS-XT) nennenswerte Vorteile: z.B. Steuerung von Semi-Batch Prozessen oder Endpunktbestimmung. Besseres QbD-Konzept



- Keine Konzentrationsgradienten an der Sonde. Keine Luftblasen, einfache Reinigung





florian.eigenmann@bruker.ch