

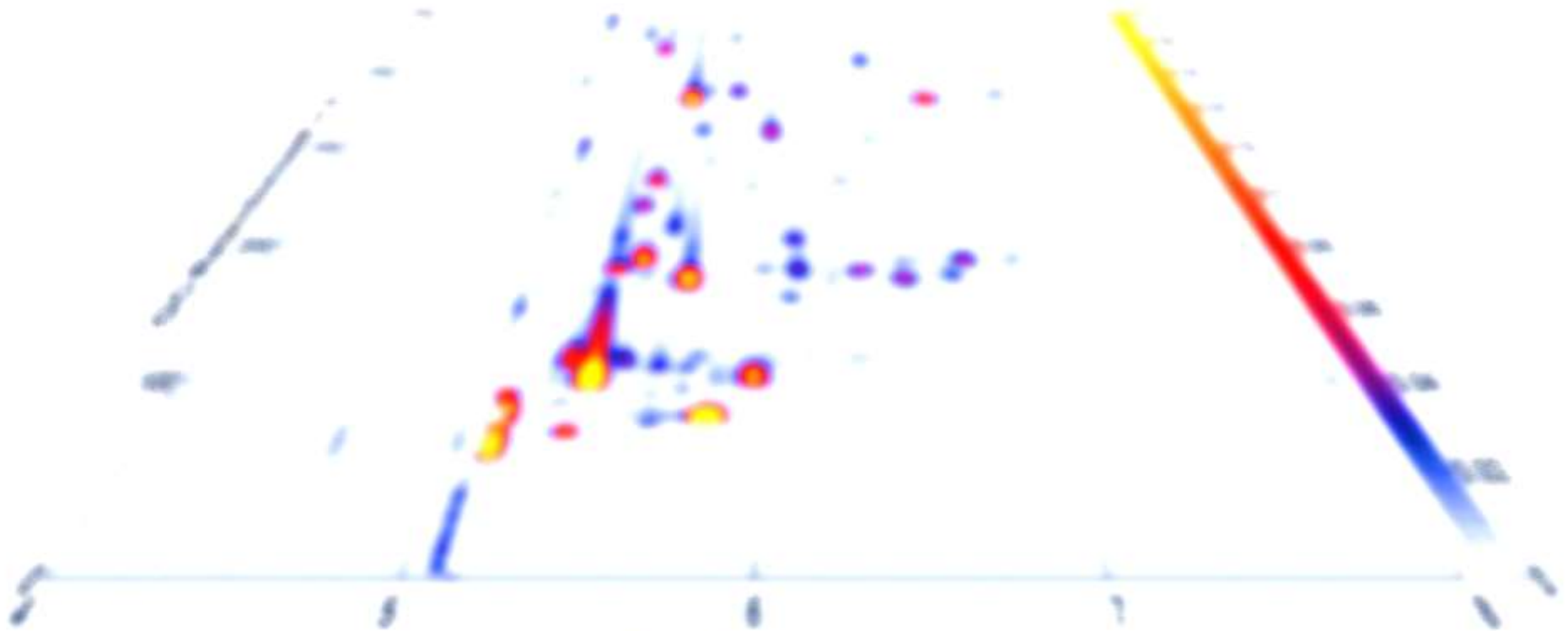
---

# Überwachung biologischer Prozesse mit Hilfe der Spurengasanalyse

Dr. Jens Langejürgen

Gruppenleiter: Biomedizinische Sensoren und Mikrosysteme

---



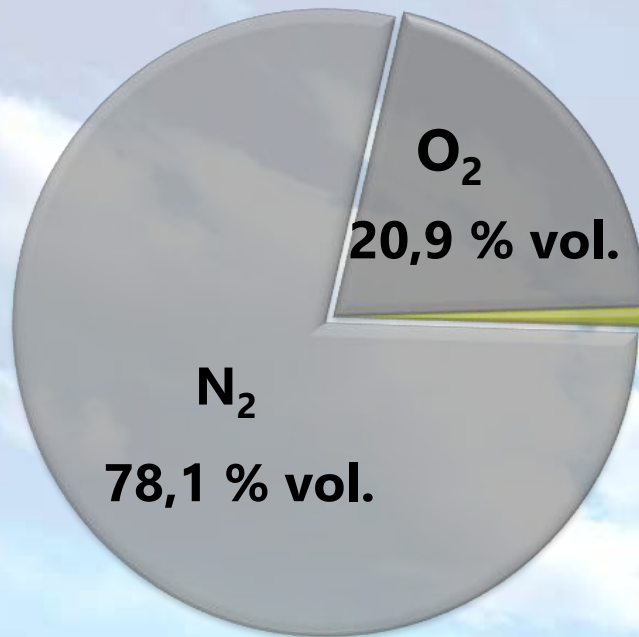
# Roadmap

- Spurengasanalyse
- Ionenmobilitätsspektrometrie (IMS)
- Beispielanwendung GC-IMS am Bioreaktor
- Beispielanwendung GC-MS an Stammzellkulturen
- Diskussion



# Spurengasanalyse – was ist das ?

Zusammensetzung von Luft  
(trocken, auf Meereshöhe)



Spurengase

Ar  
0,93 % vol.

CO<sub>2</sub>  
0,038 % vol.

**Rest:**

- Gebräuchliche Einheiten:  
ppm<sub>v</sub> (Volumenanteil 10<sup>-6</sup>)  
ppb<sub>v</sub> (Volumenanteil 10<sup>-9</sup>)
- Flüchtige organische Substanzen (VOCs) aus künstlichen und natürlichen Quellen
- Zusammensetzung teils spezifisch
- Volatilome, Bouquet, verallgemeinerter „Geruch“

# Spurengasanalyse - Anwendungsbereiche



Biomedizintechnik



Sicherheitstechnik



# Spurengasanalyse in der Biotechnologie - Vorteile

- Nicht-invasiv
- Spezifischere Information über Medium und Kultur
- Automatisierbar
- Anwendbar von Petri-Schale bis Bioreaktor (Nanoreaktor oder single-use)



# Spurengasanalyse - Workflow



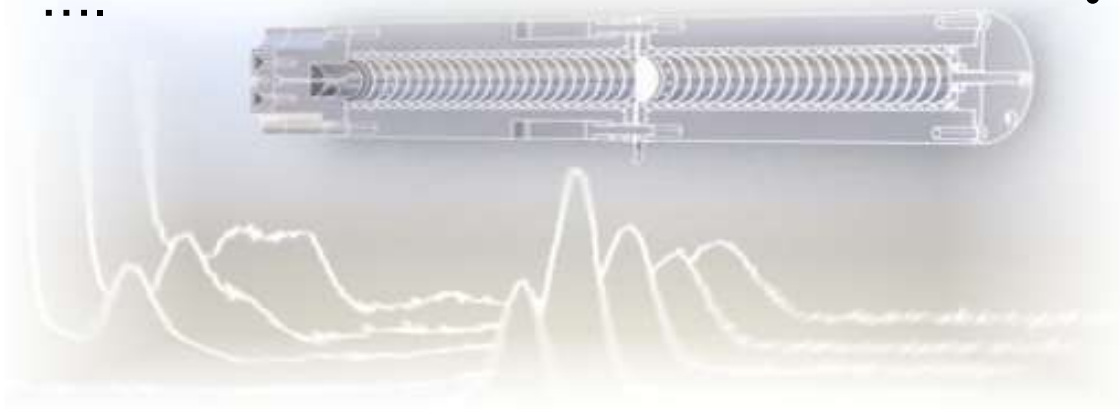
Entwicklung anwendungsspezifischer Lösungen

# (organische) Spurengasanalyse - Messmethoden

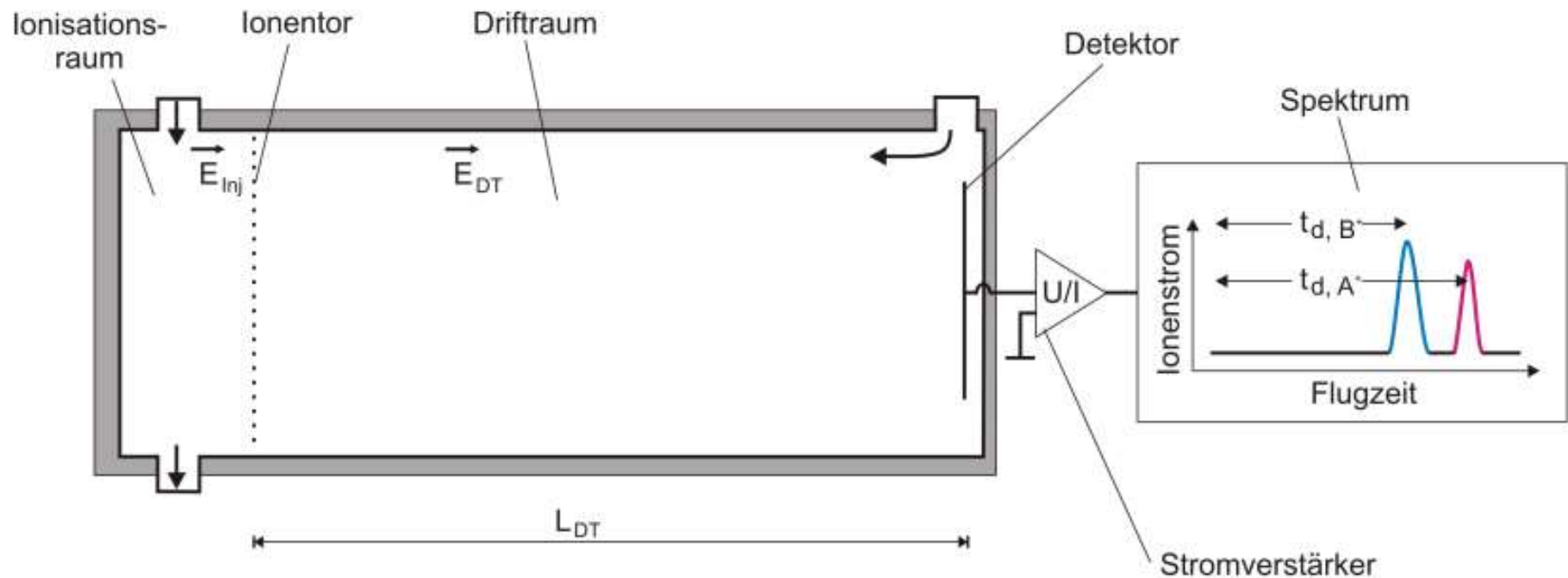
- Optische Verfahren
- Halbleitersensoren (Arrays: e-Nose)
- Mikroschwinger (QCM / SAWs)
- **Massenspektrometer**
- **Ionenmobilitätsspektrometer**
- ....

## Spezifische Anforderungen:

- Sensitivität
- Selektivität
- Anzahl „Kanäle“
- Reproduzierbarkeit
- Kosten, Größe, ...



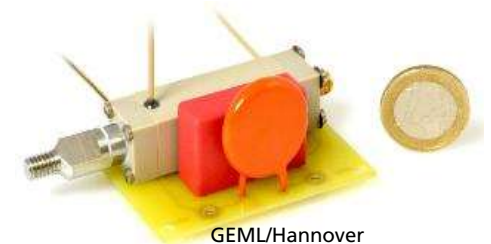
# Ionenmobilitätsspektrometer - Funktionsweise



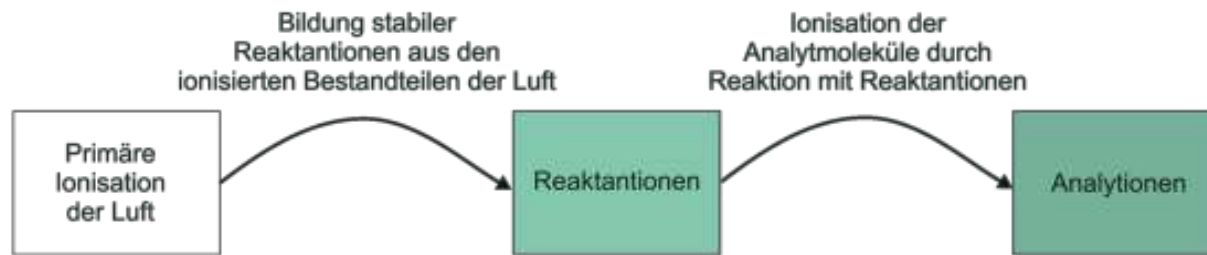
Bestimmung der Ionenmobilität ( $K$ ) der verschiedenen Ionensorten durch eine Messung der Driftzeit ( $t_d$ ):

- Geringe Nachweisgrenzen für (VOCs) im Bereich weniger ppb
- Vergleichsweise geringe Baugröße

$$K = \frac{L_{DT}}{t_d \cdot E_{DT}}$$

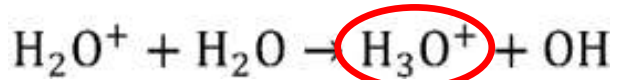
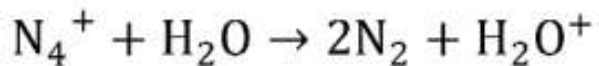
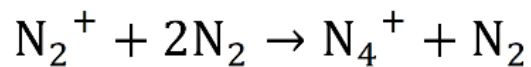


# Ionenmobilitätsspektrometer – Bildung von Analytationen

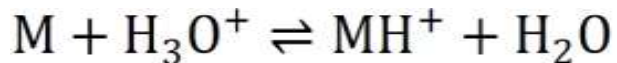


Hohe Sensitivität

## Reaktionskette

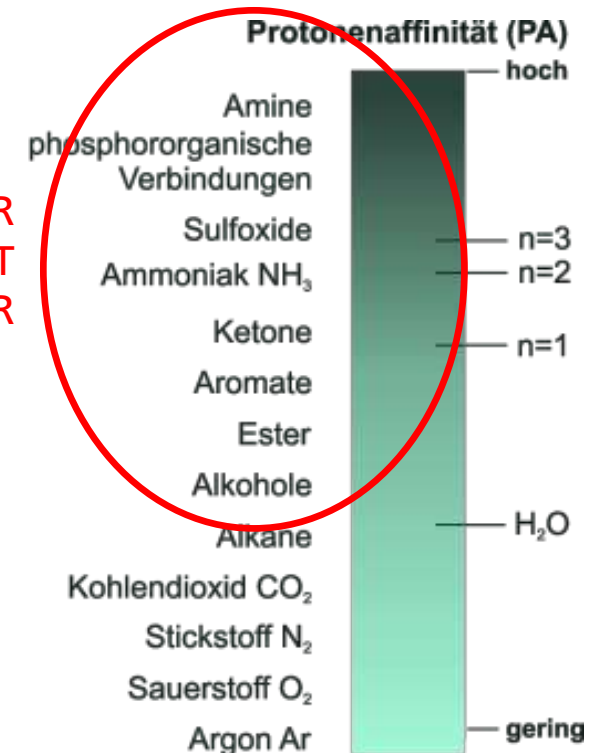


## Protonentransfer:



$$\Delta_R G \approx \Delta H = \text{PA}(\text{H}_2\text{O}) - \text{PA}(\text{M})$$

SEHR  
GUT  
NACHWEISBAR

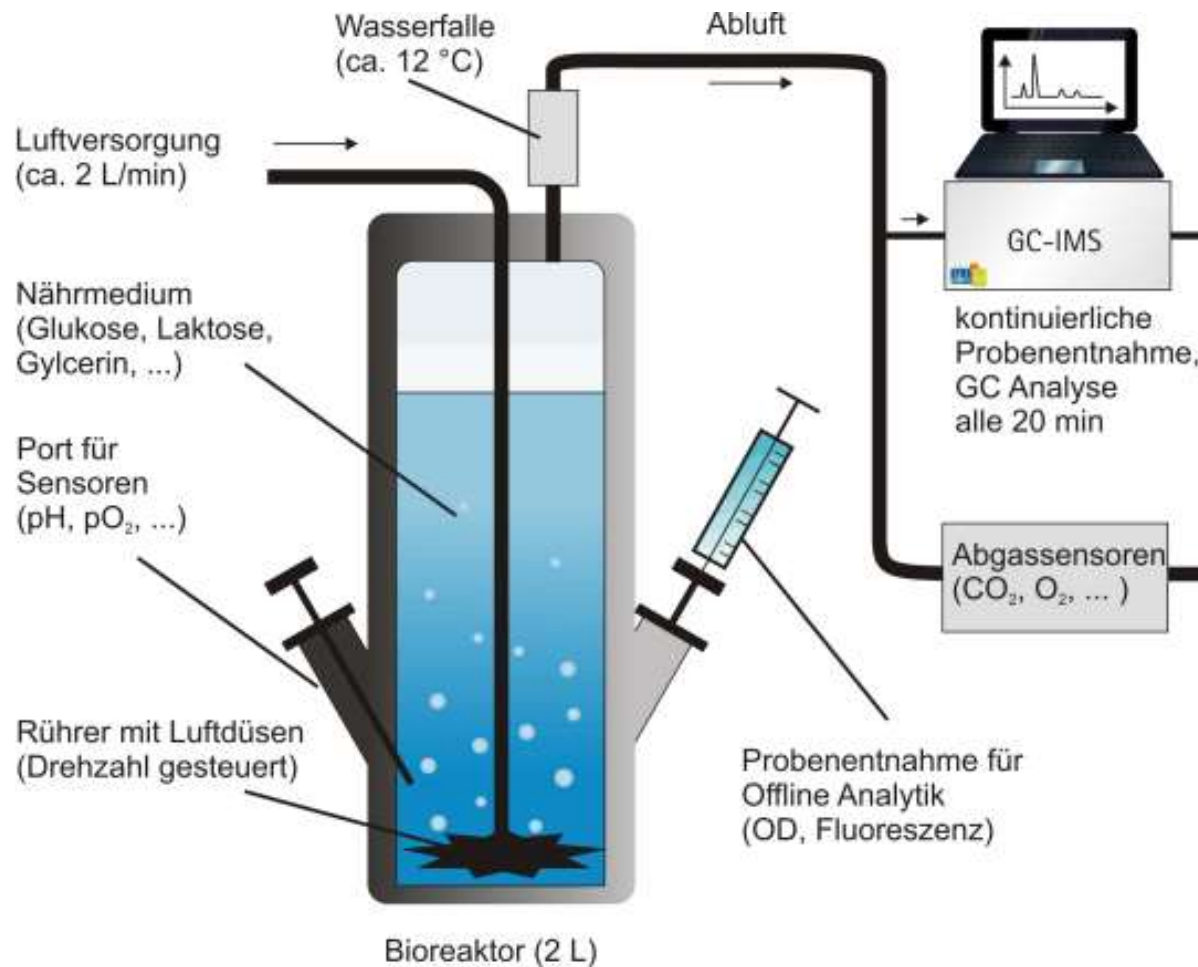


# Anwendungsbeispiel I



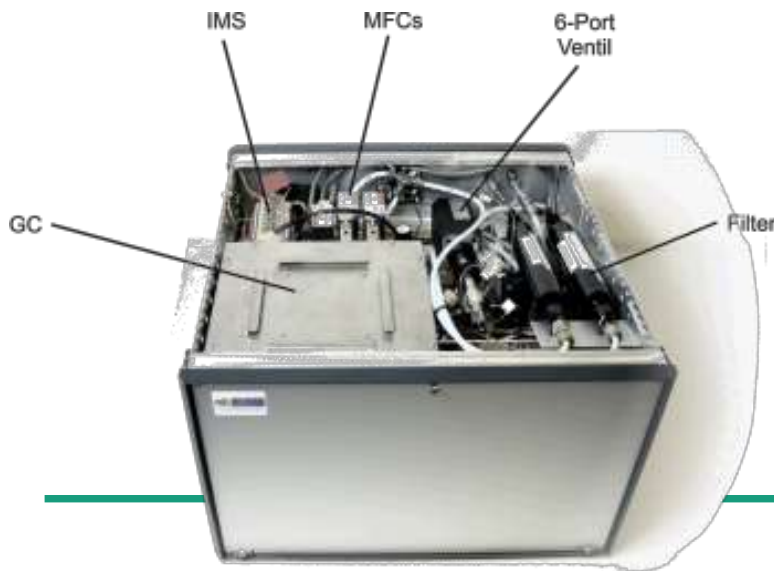
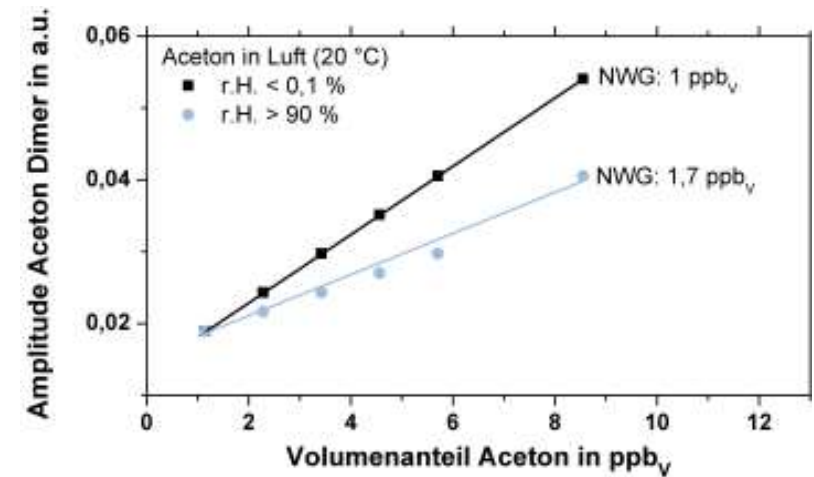
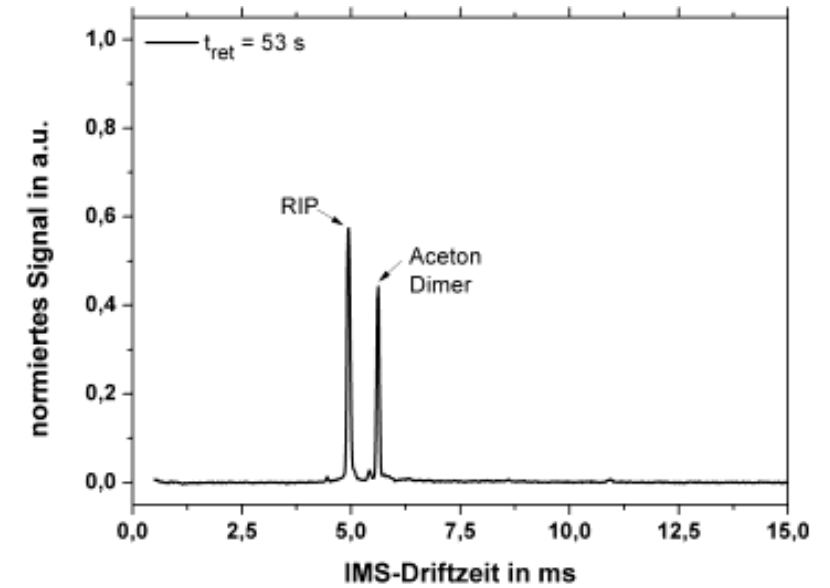
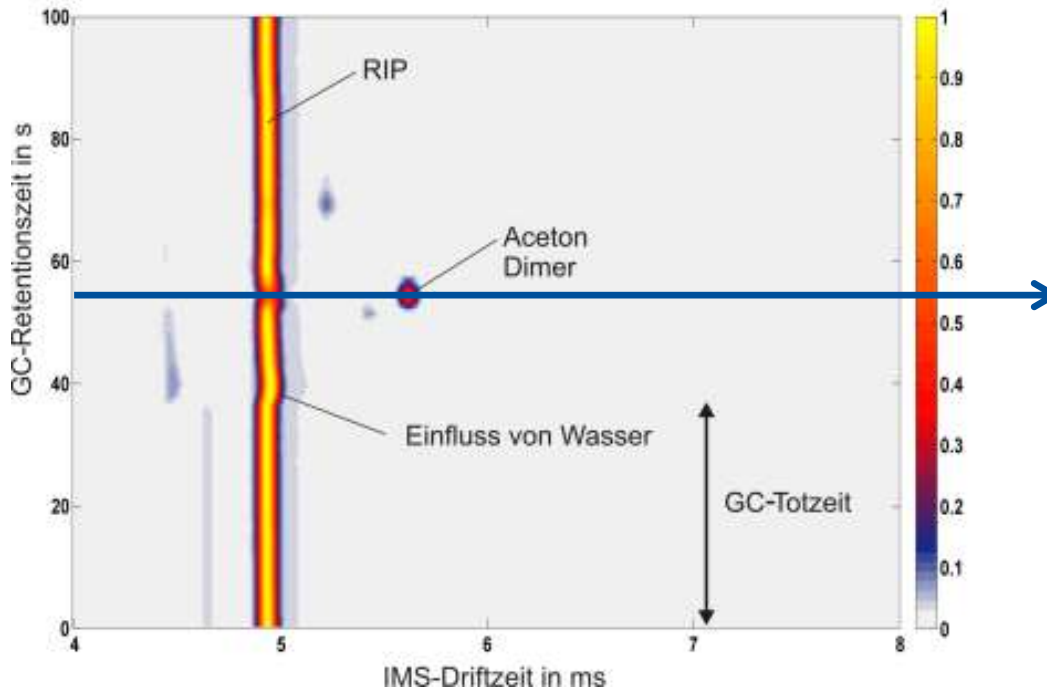
# GC-IMS am Bioreaktor - Beispielprozess

- *Escherichia coli* BL2 in 2L Bioreaktor
- Auto-induzierte Produktion von GFP markiertem Protein (konstante Bedingungen)



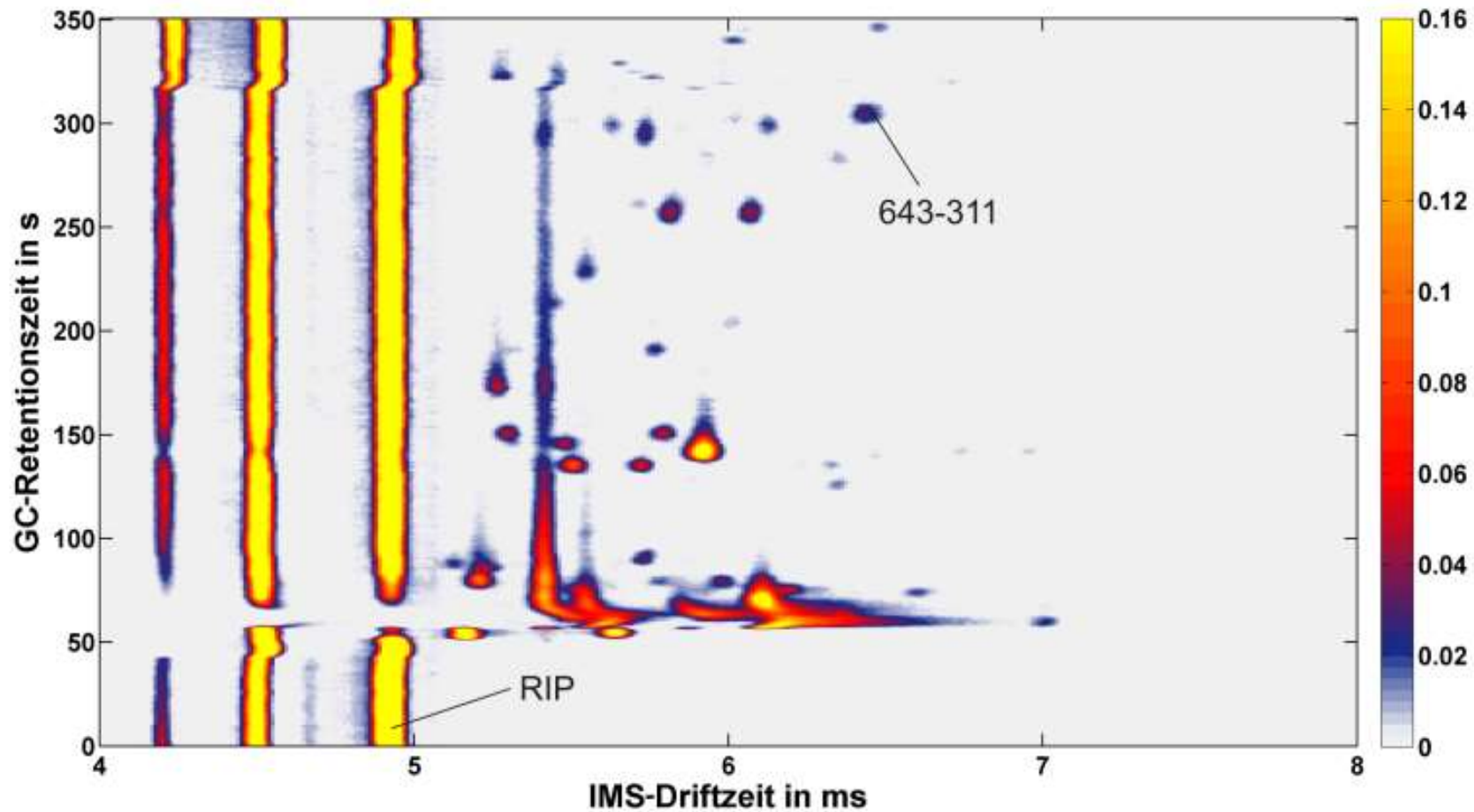


# GC-IMS am Bioreaktor - Charakterisierung



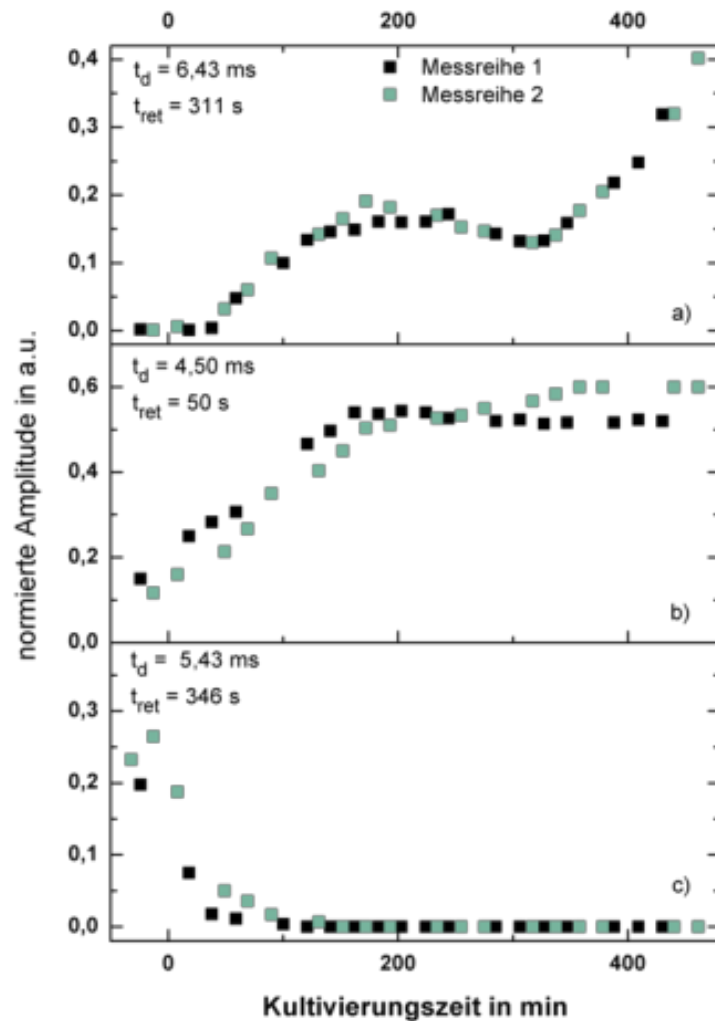
# GC-IMS am Bioreaktor – Ergebnisse I

- Über 100 Peaks können während des Prozesses detektiert werden.

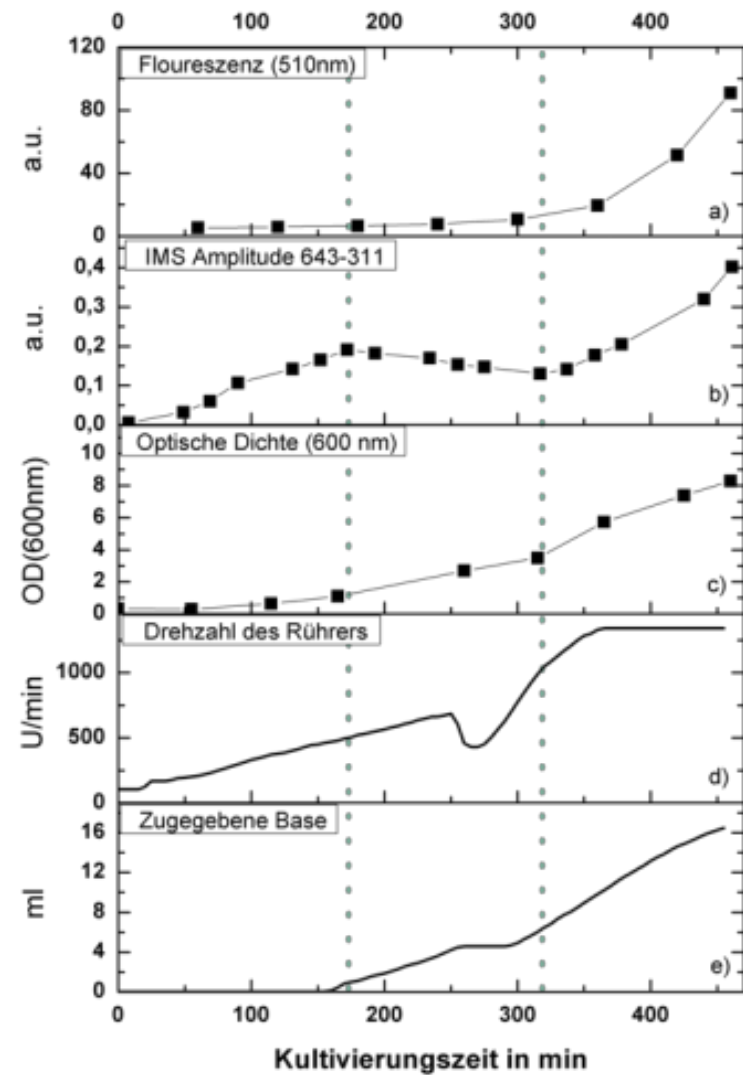


# GC-IMS am Bioreaktor - Ergebnisse II

## Verlauf Beispielpeaks



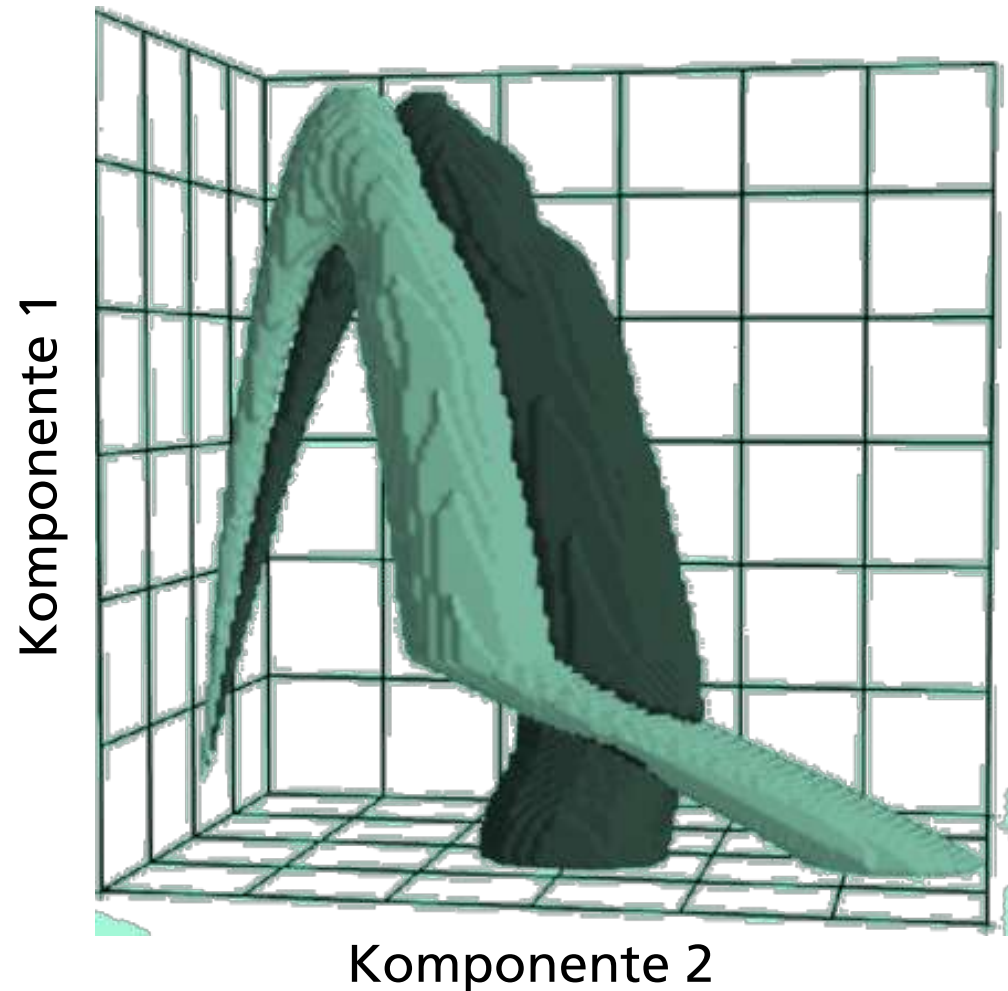
## Verlauf Referenzen



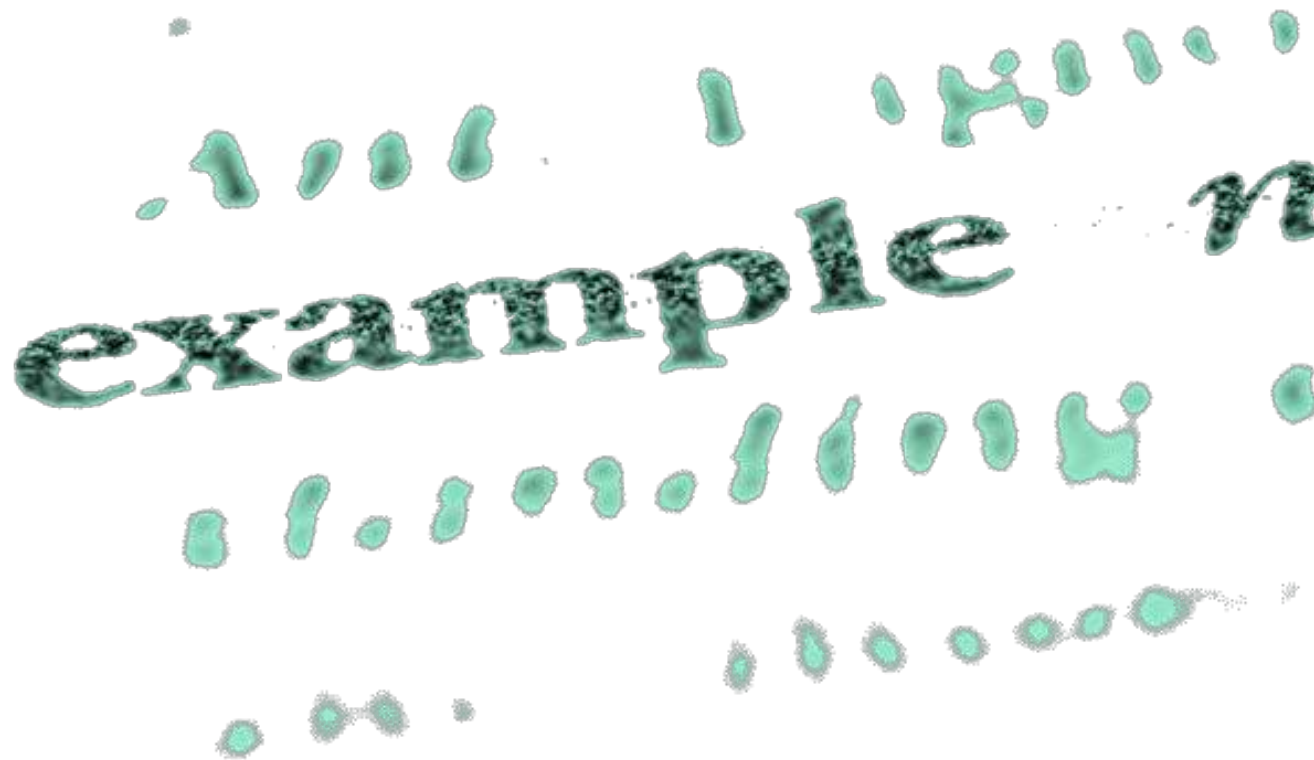
# Prozess-Trajektorien

Identifikation der Hauptkomponenten aus den  $n > 100$  Substanzen und Darstellung als Prozesstrajektorie

- Überwachung des Prozesses (Qualitätskontrolle, ggf. frühzeitige Aufgabe „pathologischer“ Prozesse)
- Verständnis
- Steuerung (Regelung anhand von Abweichungen)
- Prädiktion



# Anwendungsbeispiel II



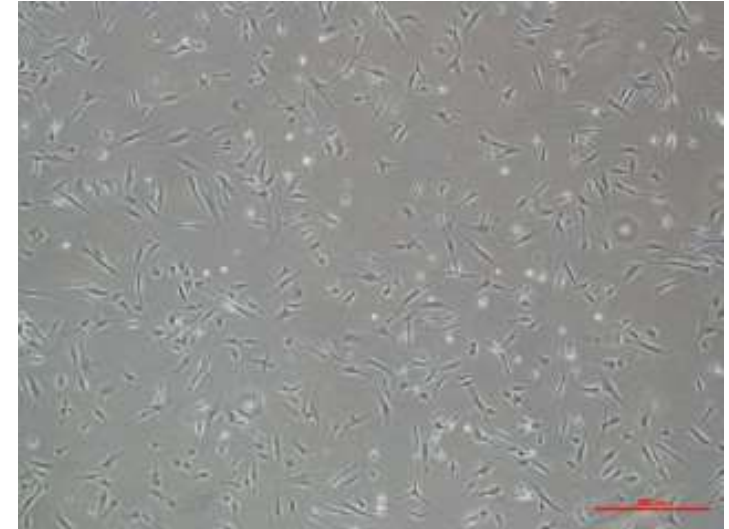
# Anwendungsbeispiel II – Zellkulturen im Inkubator

- Geringere Konzentrationen
  - Kein definiertes Abgas
  - Ziel ist
    - Detektion und Identifikation von Erregern
    - Qualitätskontrolle
- Zunächst ist eine Verwendung von **Massenspektrometern** aufgrund der höheren analytischen Leistungsfähigkeit notwendig.
- Das Gas muss geeignet vor-konzentriert werden.



# GC-MS an Stammzellkulturen

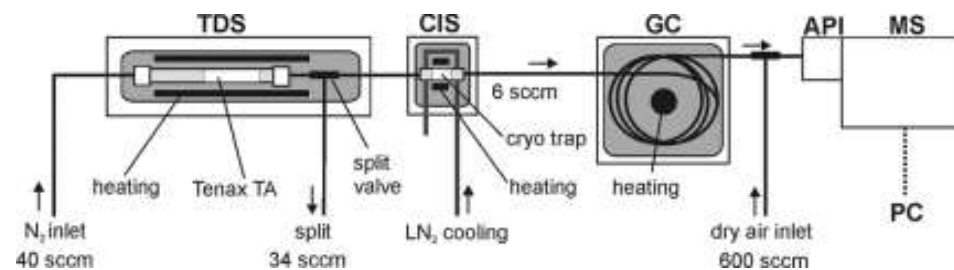
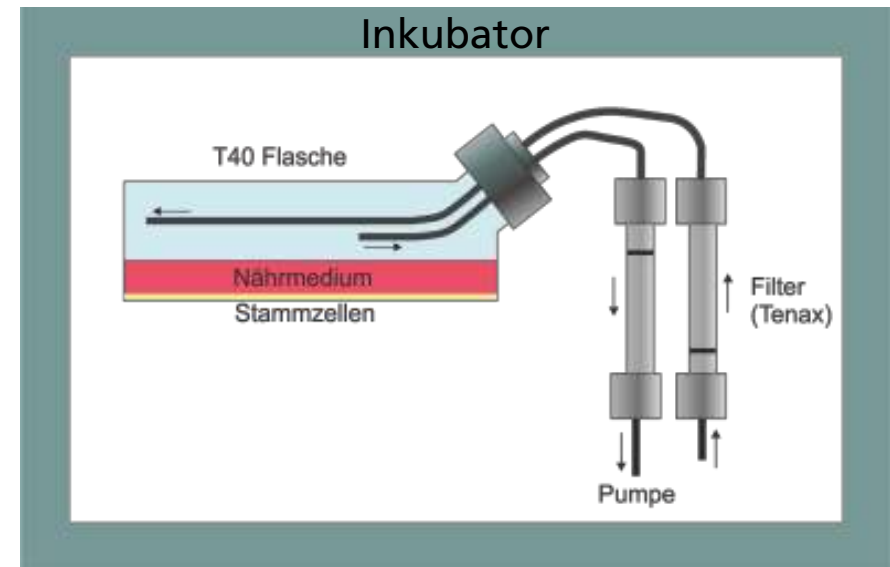
- Mesenchymale Stammzellen (MSC) für die Therapie
- Stammzellen werden nach mehreren Passagen „seneszent“
- Frühdetektion der Seneszenz und Qualitätsmerkmal
- **Vermeidung von Kontaminationen unbedingt notwendig**



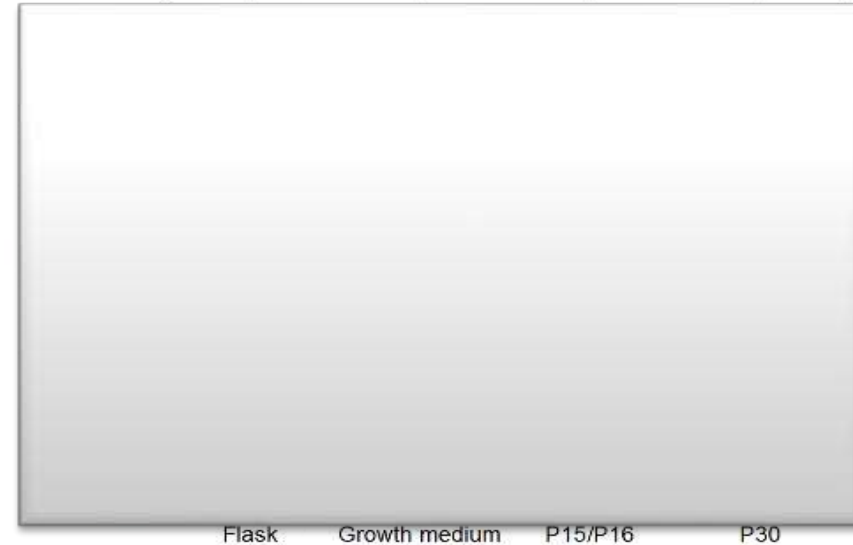
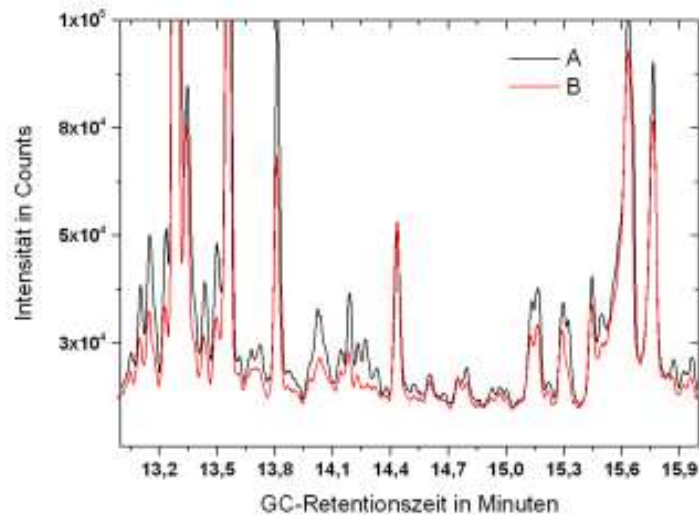
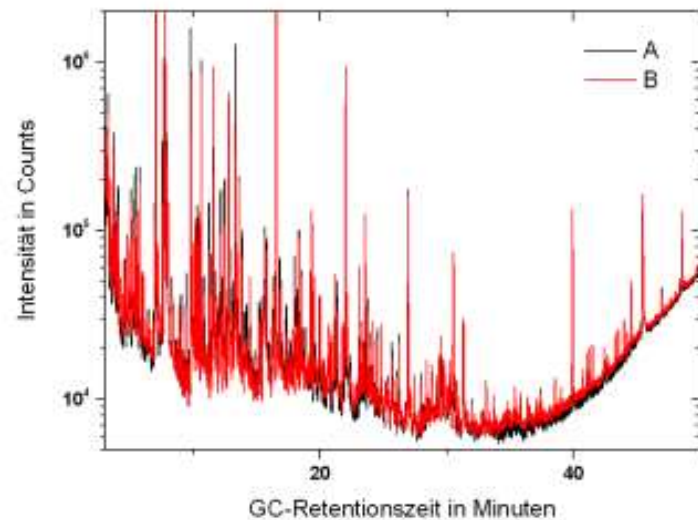
19

# GC-MS an Stammzellkulturen – Aufbau Probenentnahme

- Vorreinigen der Flasche mit
- Samplingzeit 20 Minuten
- Analysezeit 60 Minuten
- Analyse mit TDS-GC-MS
- (Potentiell auch mit TDS-GC-IMS möglich)



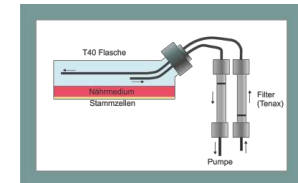
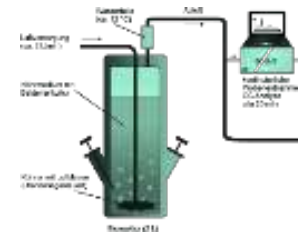
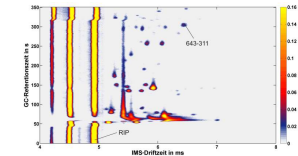
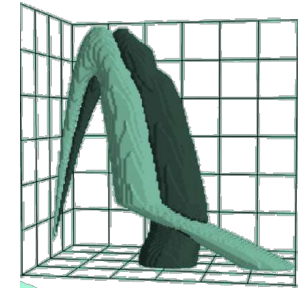
# Anwendungsbeispiel: GC-MS an Stammzellkulturen



- Reproduzierbares Sampling mit geeigneter Sensitivität
- Identifikation eines Markers für die Seneszenz.
- Die Kulturen haben überlebt.

# Zusammenfassung

- **Flüchtige organische Spurengase** können repräsentativ für einen Prozess oder den Zustand einer Kultur sein.
- Die Entnahme und Analyse können nicht-invasiv, online und automatisiert erfolgen.
- GC-IMS und GC-MS eignen sich für eine Analyse.
- Für eine Integration der Gasanalyse muss der **gesamte Analyseprozess** an den jeweilig betrachteten Bioprozess angepasst werden.



# Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!



Dr.-Ing. Jens Langejürgen  
Jens.Langejuergen@ipa.fraunhofer.de