

Optische Sensoren für gelösten Sauerstoff

► Institut für Drucktechnologie IDT

Themen

- Anwendungen
- Sensortypen
- Sensormaterial
- Optik
- ► Elektronik
- Software



Anwendungen von Gelöst-Sauerstoff-Sensoren

Branchen

- Biotechnologie & Pharma
 - Zellkulturen
 - Bakterienkulturen
- Med. Forschung & Life Sciences
- Biologie & Umweltforschung
- Lebensmittel & Getränke
- ► Industrie & Technik

Biotechnologie & Pharma

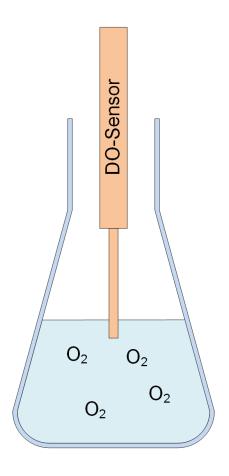


Gelöster Sauerstoff

- ► Partialdruck von O₂ in einer Lösung
 - Wasser
 - andere Flüssigkeiten
- Dissolved Oxygen (DO)

DO-Sensor

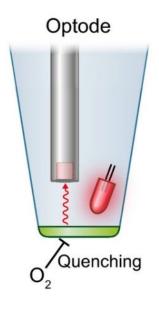
- Optische Sensoren für gelösten Sauerstoff
- Präzise Messung des Sauerstoffgehalts in Flüssigkeiten
- Schnelle Ansprechzeit



Vergleich DO Sensoren

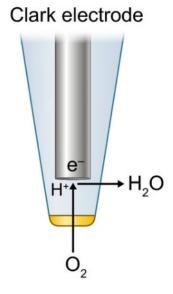
Optischer DO-Sensor

- ► O₂ empfindlicher Fluorophor
- < 0.15 mg/L @ DO 0...20 mg/L</p>



Klassische Clark-Elektrode

- Elektrochemischer Sensor
- ► Sensitiv für tiefe O₂-Konzentrationen



Klassische Clark-Elektrode

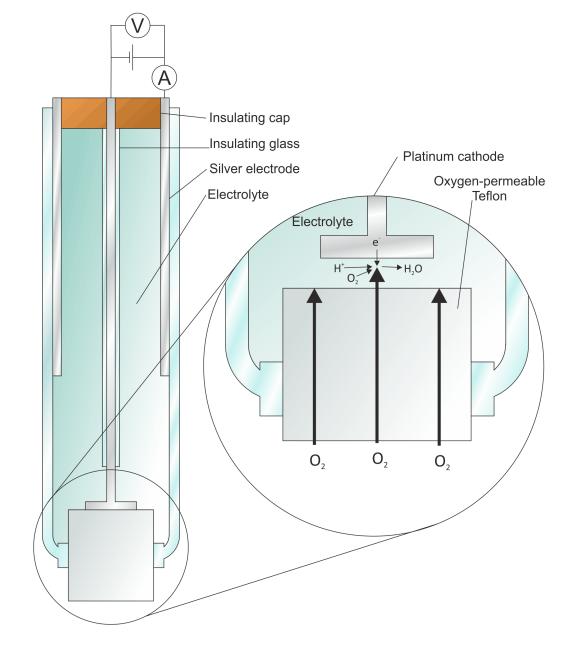
- Elektrochemischer Sensor
- Messung des O₂-Partialdrucks in einer Lösung

Vorteile

- ► Sensitiv für tiefe O₂-Konzentrationen
- Autoklavierbar

Nachteile

- Störungsempfindlich, nA-Messsignal
- Sauerstoff-Verzehr
- Kalibrierungs- und Wartungsaufwand



Optischer DO-Sensor

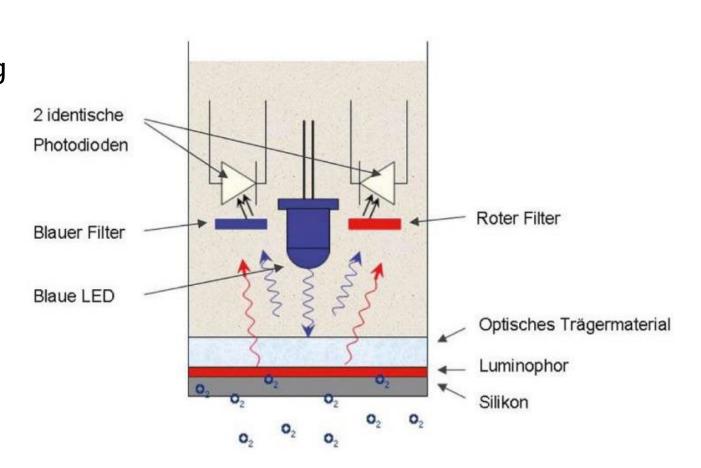
- O₂ empfindlicher Fluorophor
- ► Messung O₂-Partialdrucks in Lösung

Vorteile

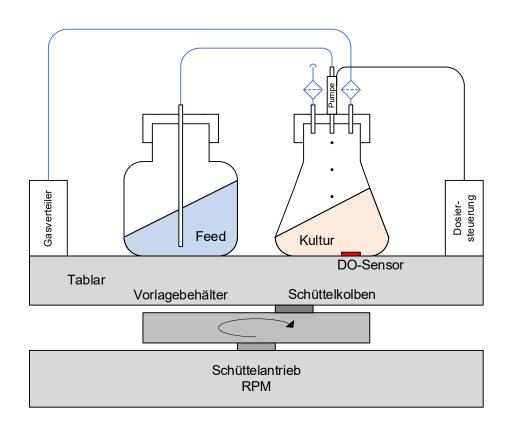
- Präzise: < 0.15 mg/L @ DO Konzentrationen von 0 ... 20 mg/L
- Kein Sauerstoff-Verzehr
- Autoklavierbar
- Schnelle Messung, geringe Wartung

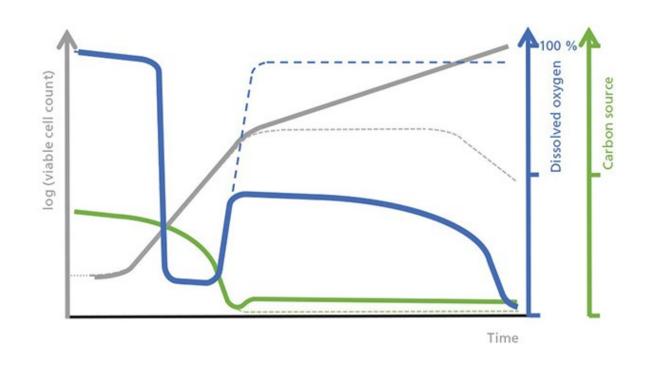
Nachteile

Photobleaching (Alterung)



Einsatz im Bioreaktor





Fed-Batch Schüttelkolben-Bioreaktor mit DO-Sensor zur O₂-Überwachung der Zellkultur.

Fermentationsverlauf einer Zellkultur.

DO-Sensoren in Bioreaktoren

Mikrobioreaktoren Mini-Bioreaktoren Mini-Bioreaktoren Well-Plates 1 ml Schüttelkolben 250 mL DO-Sensor DO-Sensor PreSens

DO-Sensoren in Bioreaktoren

Bioreaktor 10 l



Bioreaktor 200 l



Bioreaktor 2000 l



DO-Sensor

Entwicklung optischer DO-Sensor

KTI-Projekt

- Entwicklung optischer DO-Sensor
- Ersatz von klassischen Elektroden

Nutzen des Projekts

- Probleme der Clark Elektrode beheben
- Überwachung von Zellkulturen

Projektpartner

- BFH-IDT
- ZHAW, Wädenswil
- Metroglas AG, Affoltern a.A.



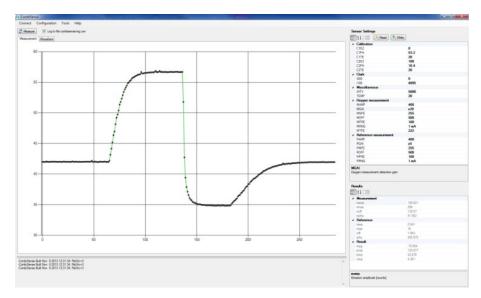
DO-Sensorelektronik mit USB-Schnittstelle und autoklavierbarem DO-Sensor-Spot

Entwicklung optischer DO-Sensor

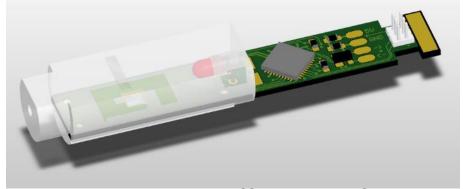
- Moderne optische Sauerstoffmessung mittels Fluoreszenzlöschungsverfahren eines DO-Sensormaterials
- Autoklavierbar (130° C, 20 min)
- Baugrösse 12 mm
- Einsatz bei Bioreaktoren

Entwicklung am IDT

- Optik, Elektronik, Firmware, GUI für die optische Sauerstoff-Messkomponente
- Der Sauerstoffgehalt wird in Funktion der Phasenverschiebung eines sinusmodulierten Fluoreszenz-Anregungssignals und dem gemessenen Fluoreszenz-Messignals des Sensormaterials berechnet



Sauerstoffmesskurve



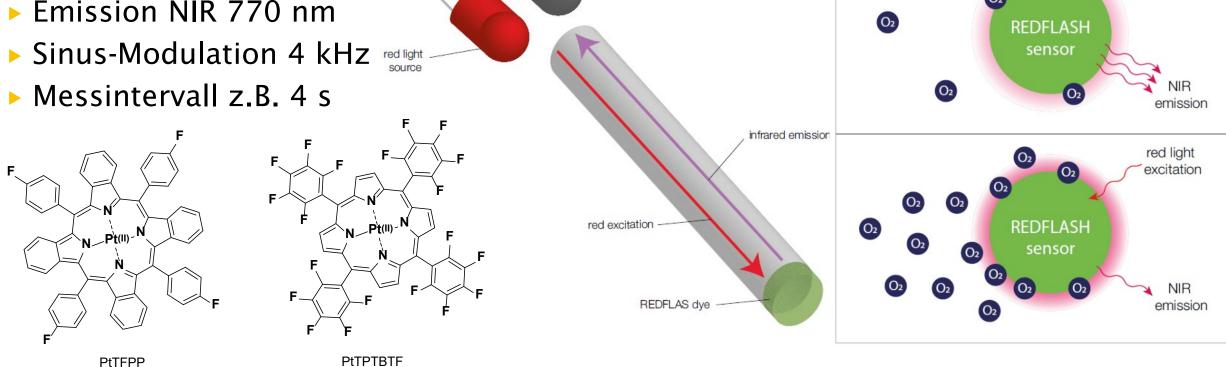
Optischer Sauerstoffmesskopf

DO-Sensorspot - Redflash Technologie

Sensorspot von TU Graz

Anregung rot 625 nm

Emission NIR 770 nm



infrared detector

Platinum meso-tetraphenyl benzoporphyrin (PtTPBP or PtTPTBT)

red light

excitation

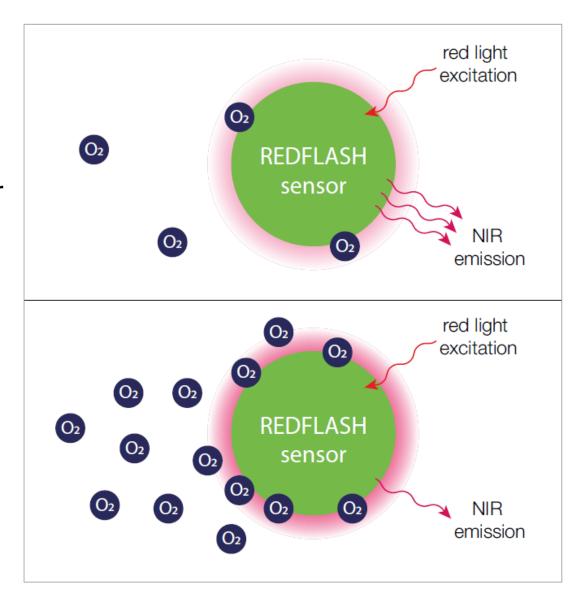
Fluorophore

Quenching

- ► O₂ sensitiver Fluorophor
- ► O₂ bewirkt Abnahme in der Intensität der Fluoreszenz
- Quenching, Fluoreszenzlöschung
- Reversibler Vorgang

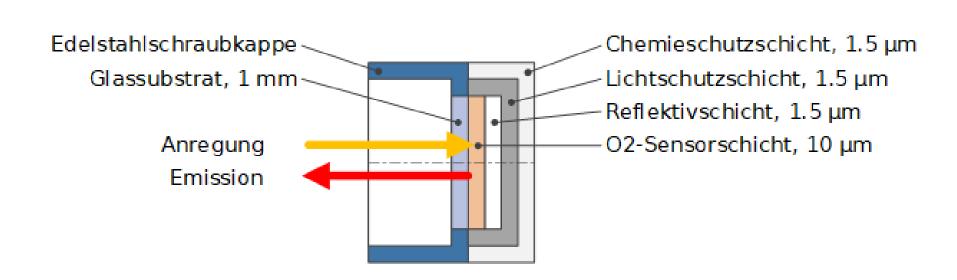
Photobleaching

- Alterung des Sensors durch Anregungslicht
- Irreversibel



Aufbau Sensorkopf

- ► O₂-Sensormaterial wird auf Substrat aufgetragen
 - Polystyrol-Matrix mit Fluorophor
 - Substrate: Glas, PET
- ► Nach Bedarf mit Schutzschichten ausgerüstet









DO-Sensorelektronik

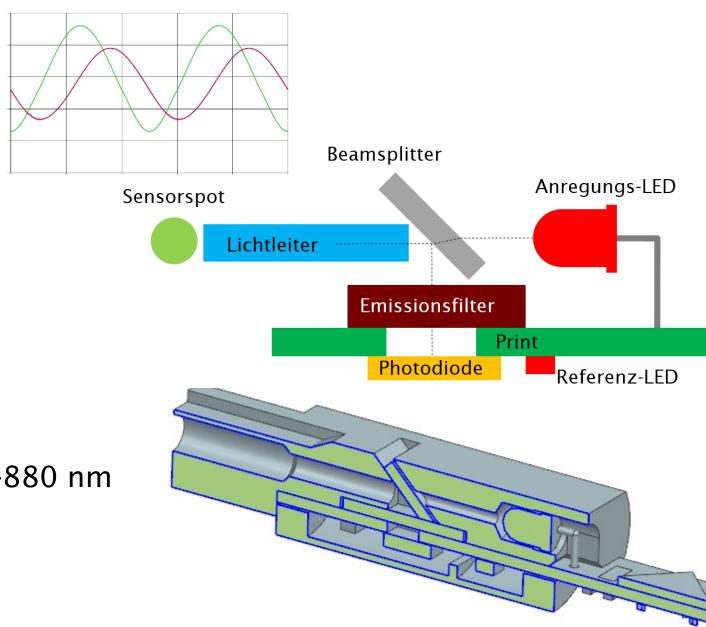


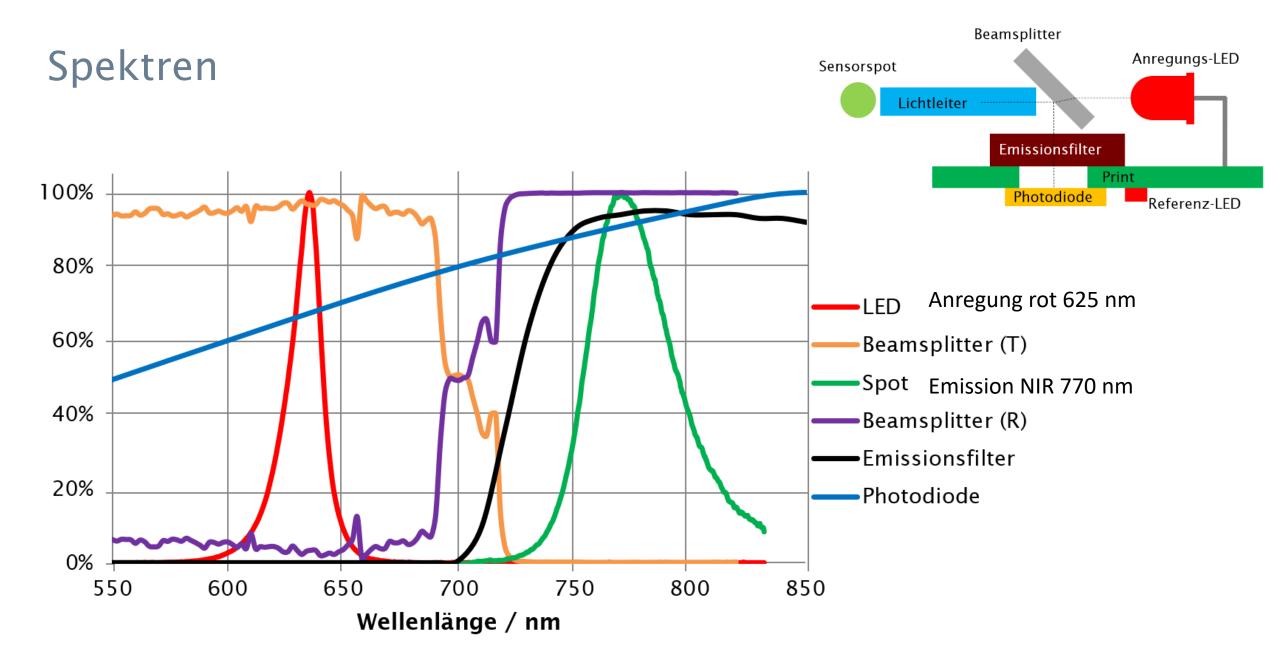
DO-Sensorelektronik mit USB-Schnittstelle

Komponenten der Elektronik: USB, Edelstahlgehäuse, PCB, Optikblock, Abdeckung

Optik

- ▶ LED Anregung 625 nm
- ▶ LED Referenz 625 nm
- Photodiode 940 nm Peak
- Beamsplitter Shortpass
 - ► Transmission 400-680nm
 - ► Reflexion 725-900 nm
- Emissionsfilter
 - ▶ OD > 5 unterhalb 680 nm
 - ► Transmission > 90% bei 750-880 nm
- Sensorspot Redflash
 - Absorption rot
 - Emission NIR





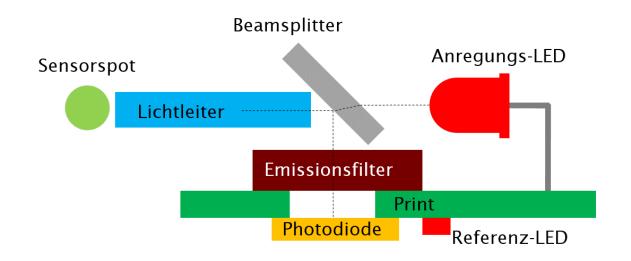
Messfehler durch Streustrahlung und Lichtspalten

Messfehler

Unerwünschtes Licht auf Photodiode

Ursache

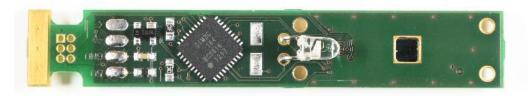
- Streustrahlung von Anregungs-LED und Referenz-LED
- Halbtransparentes Gehäusematerial
- Lichtdurchlässiger Print
- Gehäuse und Montagespalten

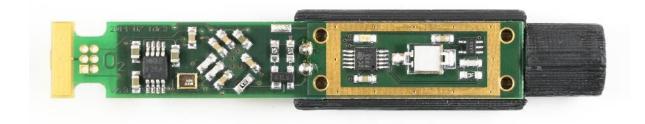


Messelektronik

Eigenschaften

- Siliconlabs SiM3C 32-bit Microcontroller 80 MHz, Low Power
- Spezielle Firmware mit zeitkritischen Teilen in Assembler
- USB-Schnittstelle
- Abmessung 60 x 10 mm
- Geringer Stromverbrauch,
 Batteriebetrieb bis 6 Monate

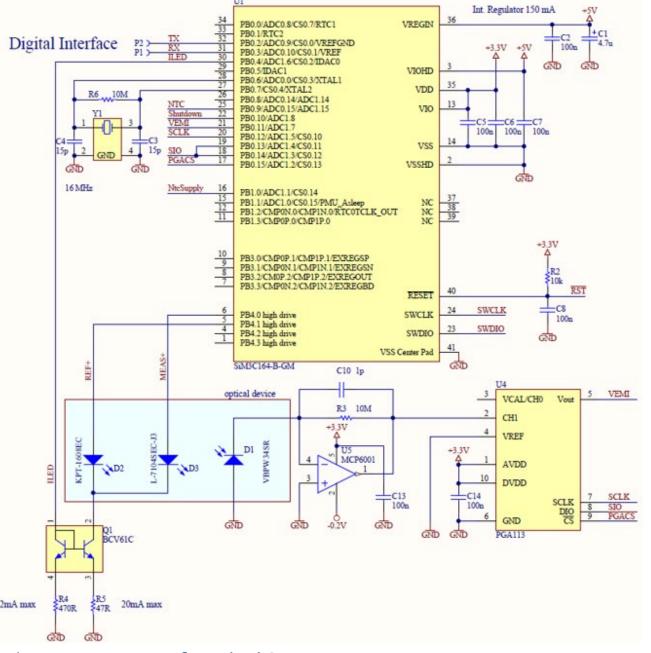






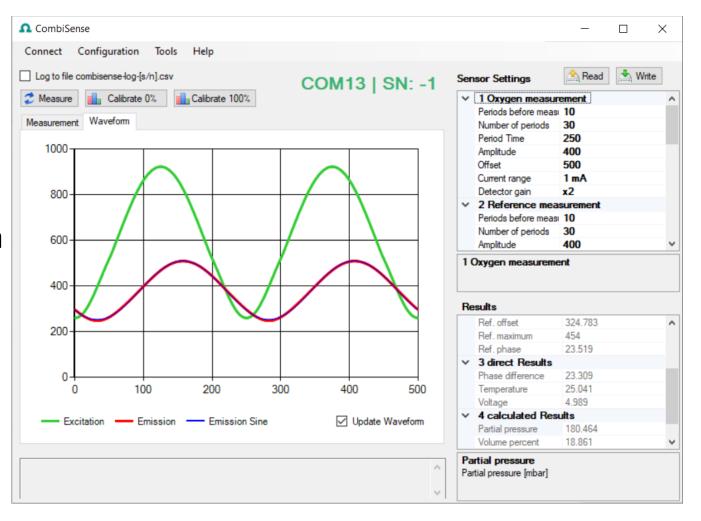
Elektronik

- Siliconlabs SiM3C Mikrocontroller mit integrierten
 - DA-Wandler für LED
 - AD-Wandler für Photodiode
 - Temperatursensor NTC
- Stromsparende Variante

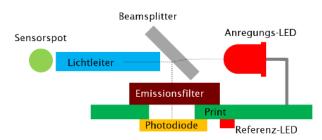


Software PC-GUI

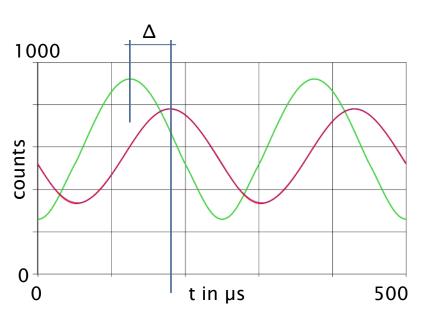
- Messungen am PC
- Messprotokoll für Automatisierung
- Datenlogging nach .csv
- Speicherung von Sensor Settings im Flash-Speicher
- Eingabe von Kalibrierungswerten
- DO-Messkurve
- Monitor für Waveform

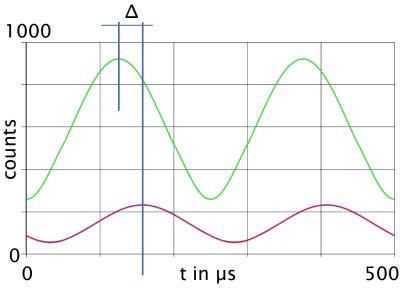


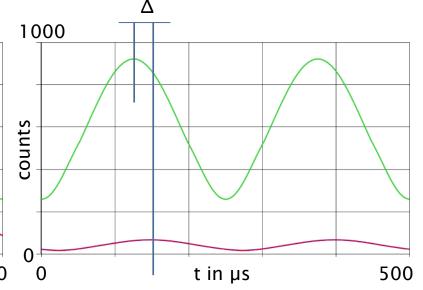
Beispiel Messungen DO in Wasser



Anteil O2 = 0% Phase diff = 55 Kein Quenching Anteil O2 = 21% Phase diff = 23 Quenching + Anteil O2 = 100% Phase diff = 9 Quenching ++





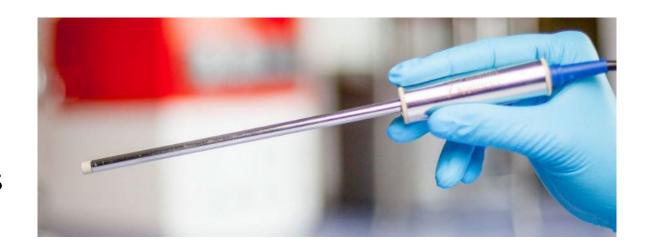






Applikon Biotechnology LumiSens

- Prozesselektrode
- Multi-Use DO-Sensor für die Biotechnologie
- Autoklavierbar
- Glasteil und Sensorspot von Metroglas





Optical sensor on tip of stainless steel sensor housing



Green fluophore on tip of replaceable glass tube

Metrohm O2-Lumitrode

- Laborelektrode
- Optischer Sensor für die DO-Messung
- Wird mit 913 pH/DO Meter oder 914 pH/DO Konduktometer verwendet.
- Nicht autoklavierbar
- Qualitätskontrolle von Wasser
- Abwasserindustrie
- Getränkeherstellung
- Fischzucht



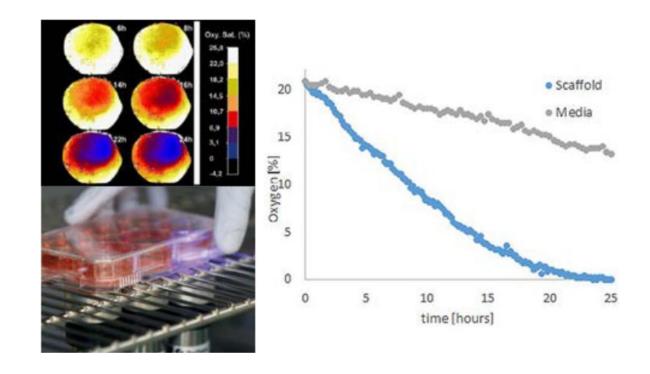
Weitere Messgrössen für optische Sensoren

Sensor Spots (Fluorophore) für

- **▶** O₂
- ► pH
- ► CO₂
- Temperatur

Flächige Sensormaterialien

► Imaging von O₂, pH, CO₂



O2 or pH in Cell Culture and Engineered Tissue

Ausblick

- Optische Sensoren ersetzen elektrochemische Sensoren
- Norm ISO 17289:2014, Water quality - Determination of dissolved oxygen - Optical sensor method

Quellenverzeichnis

- ▶ Weits, D.A., van Dongen, J.T. and Licausi, F. (2021), Molecular oxygen as a signaling component in plant development. New Phytol, 229: 24-35. https://doi.org/10.1111/nph.16424
- ▶ Clark Jr, LC; Wolf, R; Granger, D; Taylor, Z (1953). "Continuous recording of blood oxygen tensions by polarography". Journal of Applied Physiology. 6 (3): 189-93. doi:10.1152/jappl.1953.6.3.189
- Chemmanager, 2012, Sauerstoffmessung Hamilton auf dem Weg zum "Intelligenten Sensor"
- Resea Biotec, LumiSens optical DO sensor, https://www.reseabiotec.ch/our-products/sensors/lumisens/
- Metrohm, Measuring dissolved oxygen with the new O2 Lumitrode optical sensor, https://www.metrohm.com/en/products/ph-ion-measurement/measuring-dissolved-oxygen-with-the-new-o2-lumitrode-optical-sen.html
- Gschwind Sabrina, 2020, Determining dissolved oxygen in water: Titration or direct measurement? Metrohm
 White Paper
- Allman Tony, 2020, The Difference Between Batch, Fed-batch and Continuous Processes, Infors-HT, https://www.infors-ht.com/en/blog/the-difference-between-batch-fed-batch-and-continuous-processes/

Vielen Dank für ihre Aufmerksamkeit

Institut für Drucktechnologie BFH-Burgdorf

www.Drucktechnologie.ch