

# Mikrobioreaktorok és mérésük

Hollósi Mátyás  
Hári Máté Ferenc

# Fermentációs eljárások fejlesztése, optimalizálási kísérletek



Rázott  
lombik

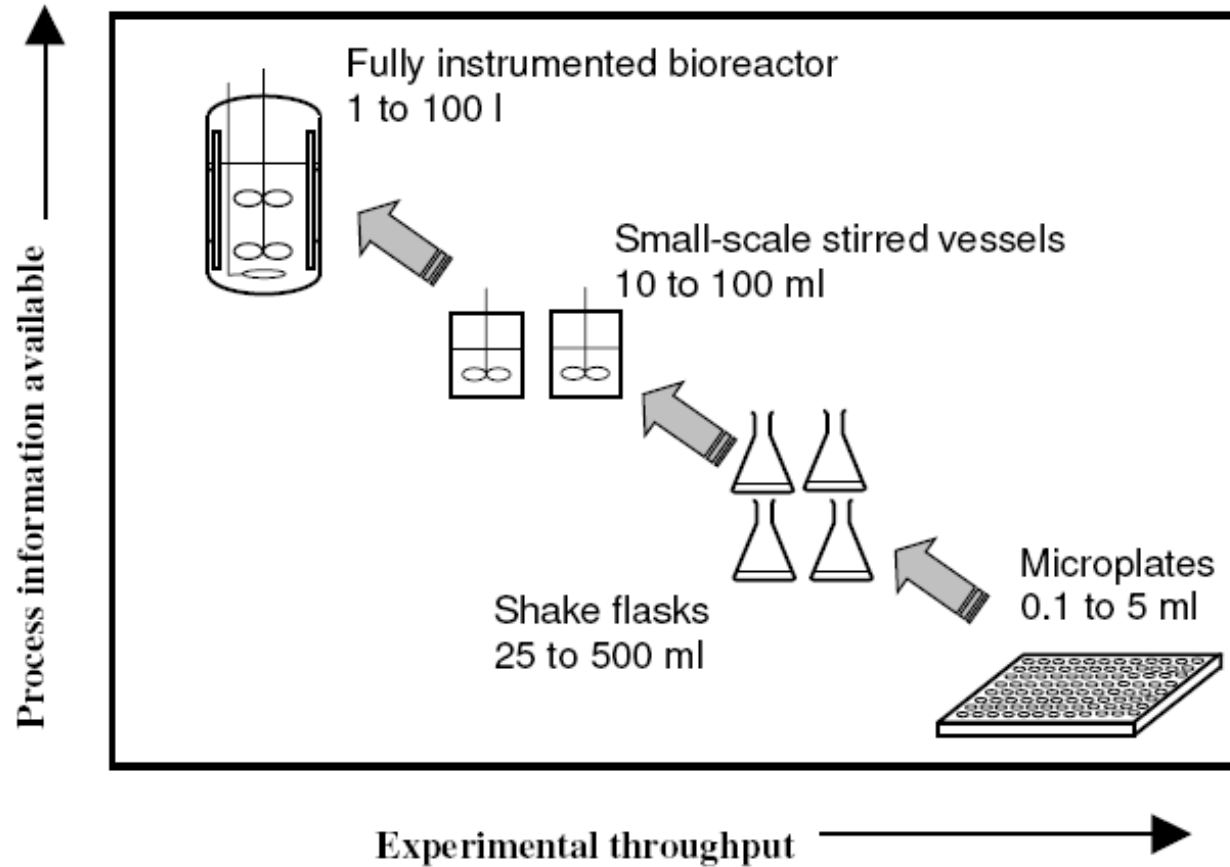


Görgetett  
palack



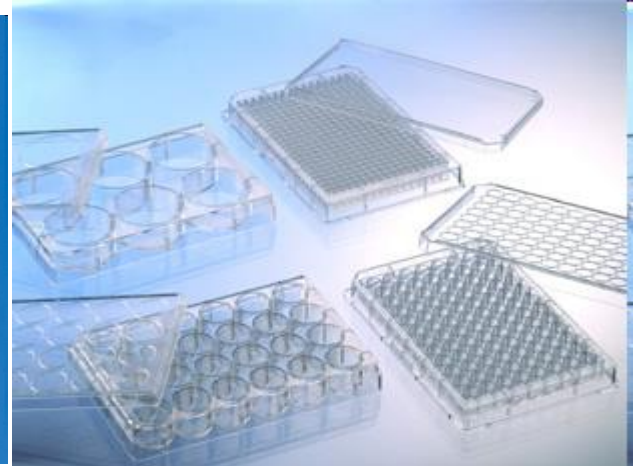
Laborléptékű  
kevertetett  
bioreaktor

# Léptéknövelés



# Kémcső, rázatott lombik, mikrotiter lemez egyszerű bioreaktorként

- ▶ nehézkes a paraméterek szabályozása, kevés lehetőség
- nincs on-line adatgyűjtési lehetőség: csak végpont mérése



# Laboratóriumi léptékű hagyományos kevert bioreaktorok

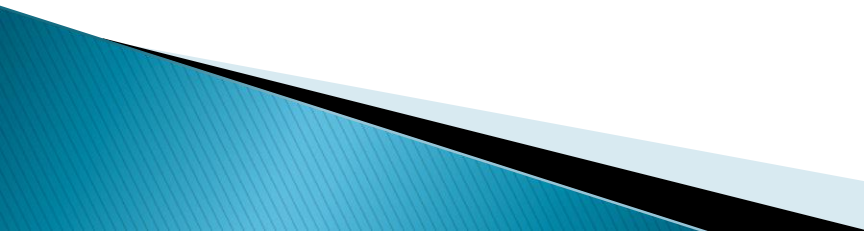
- ▶ Előnyök:
  - T, pH, DO hatékonyan szabályozható (kevertetéssel, levegőztetési sebességgel)
  - a fermentáció különböző szakaszaiban jól értékelhető adatokat szolgáltatnak fiziológiai állapotra, és anyagcserére
- ▶ Hátrányok:
  - drága (főleg párhuzamosan üzemeltetni)
  - munkaerő-igény (összeszerelés, takarítás)
  - bonyolult, nehézkes (berendezés mechanika komplexitása)



# Fejlesztési irányok

- a reaktortérfogat lecsökkentése
- a párhuzamosan végezhető kísérletek számának növelése

Valamilyen szinten ez már ma is megoldott párhuzamosan kapcsolt reaktorokkal → a reaktorok számával egyenes arányban nőnek a kezelési és működtetési teendők:

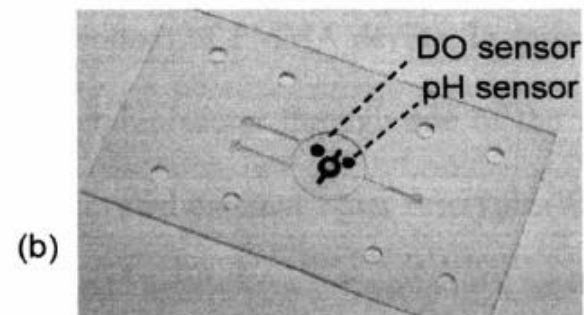
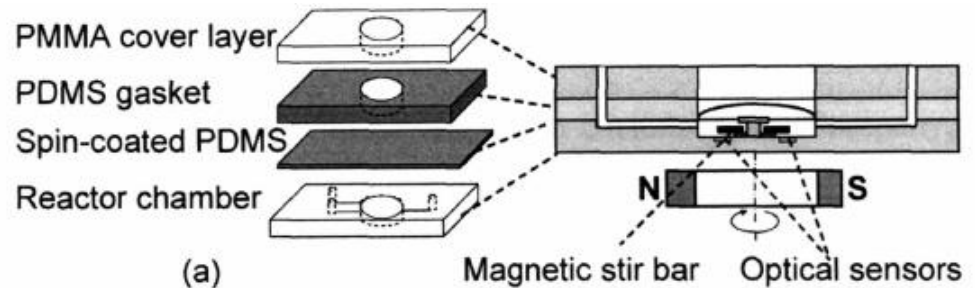
- sterilizálás
  - összeszerelés
  - tisztítás
  - a szenzorok kalibrációja
- 

# A megoldás: mikrobioreaktorok

- nagy áteresztőképesség (gyorsabb folyamatfejlesztési eljárás)
- méretgazdaságosság: tápanyag/reagens, hely, energia megtakarítás
- nagyobb teljesítmény, nagyszámú sejtfeldolgozás kis helyen → teszt integritás
- könnyű kezelhetőség, munkamegtakarítás, gazdaságosság
- beépített felügyeleti és ellenőrzési funkciók (jól szabályozottság, ismételhetőség)
- kicsi és megbízható érzékelők (OD, pH, T, DO)
- on-line adatgyűjtés (szubsztrát, termék, melléktermék...) → így elkerülhető a mintavétel

# Mikrobioreaktor batch fermentációkhoz

- Térfogat: 150  $\mu$ l
- Kevertetés: gyűrű alakú, kis mágnes magokkal (6mm karok, 0,5 mm vastagság)
- pH-mérés: fluoreszcens szenzorral
- DO-mérés
- OD-mérés





# Mikrobioreaktor batch fermentációkhoz

- ▶ **PMMA borítás:** ez a réteg (fedőlap) tartalmazza a csatornákat, ez maga a mikroreaktor
- ▶ Kis kamra a közepén ( $d=10$  mm, mélység:1 mm)
- ▶ 3 kis csatorna: beoltás, vízzel való feltöltés ezeken keresztül (500  $\mu\text{m}$  mélység, 500  $\mu\text{m}$  szélesség)
  
- ▶ **PDMS gázáteresztő membrán:** elválasztja a folyadék- és a gázteret, megakadályozza a befertőződést
- ▶ **PDMS tömítés (5 mm):**
  - megkönnyítse a szerelést
  - biztosítja a hermetikus zárást
  - kapcsolatot teremt a folyadékcsatornák között

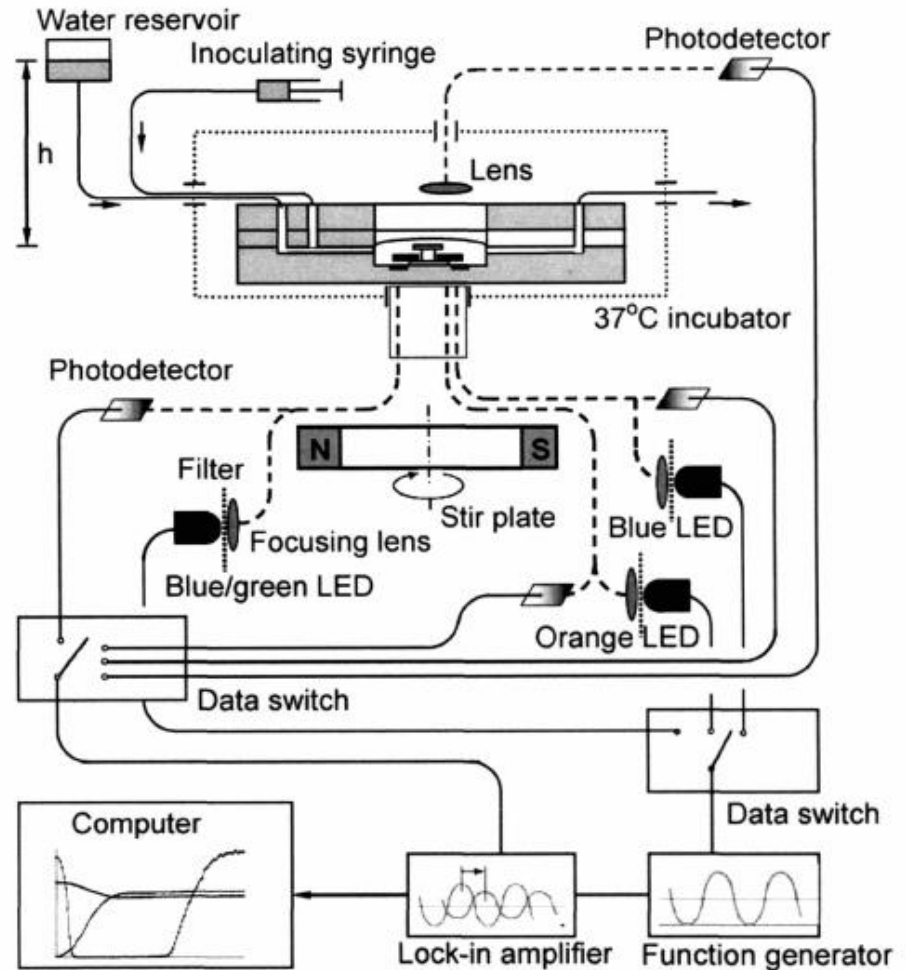
$h=300$  mm  $\rightarrow$  ebből eredő víznyomás enyhén felfelé domborodva tartja a membránt  $\rightarrow$  teljes térfogat:  $150 \mu\text{l}$

**Víz passzív rátáplálása:** állandó térfogatot tart, mivel a víz a membránon keresztül párolog, pótolni kell (jelentős térfogatveszteség lenne)

Elágazó **optikai szálak:** felülről és alulról a kamrába vezetve, melyek vezetnek a LED-ekhez, illetve a fotodetektorokhoz:

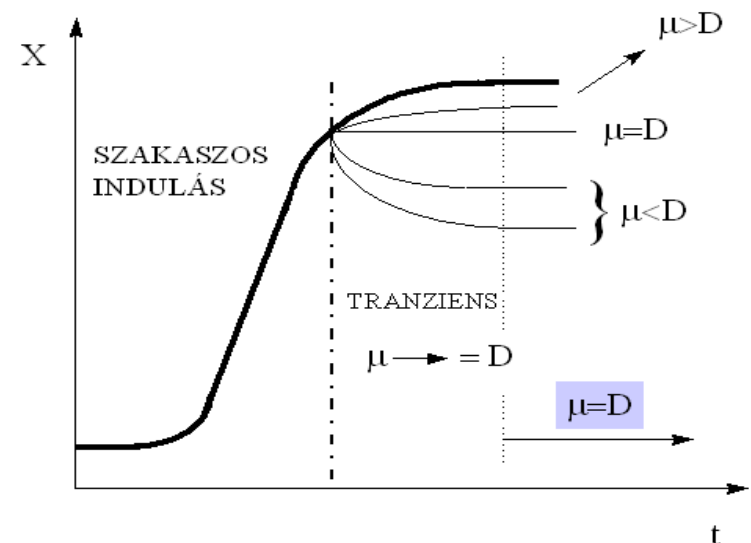
Narancs (600 nm): OD

Kék/zöld (505 nm), kék (465 nm): DO, pH



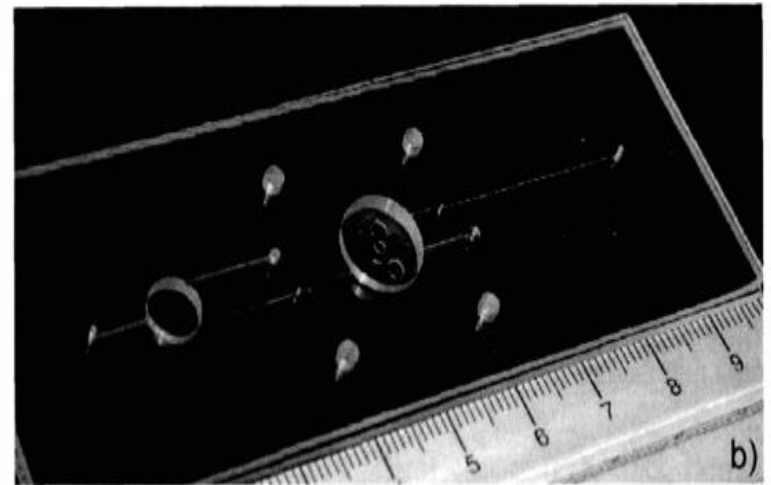
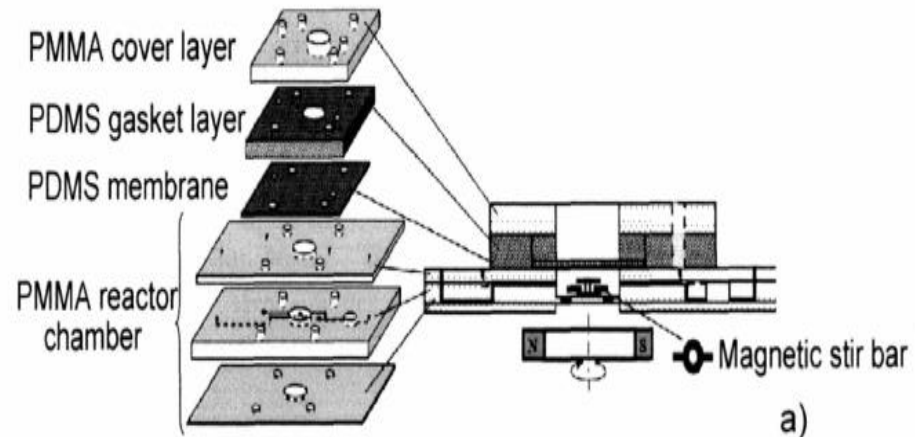
# Mikrokemosztát

- ▶ Konstans biomassa-, szubsztrát- és termékkoncentráció
- ▶ Folyamatos tenyészet: könnyű összehasonlítani a megfelelő körülményeket, de drága és időigényes
- ▶ Miniatürizálás



# Mikrokemosztát

- ▶ **PMMA réteg:** mechanikai stabilitást ad
- ▶ Kis csatlakozó nyílások vannak a felső PMMA-rétegbe fúrva, ezeken keresztül:
- ▶ betáplálás (beoltás és tápoldat adagolás), illetve elvétel (mintavétel és a hulladék eltávolítása)
- ▶ Betáplálás nyomásvezérelt
- ▶ Integrált pH, OD, DO mérés



# Fed-batch mikrobioreaktor

- A pH- és a glükóz-koncentráció szigorú szabályozása esetén
- Vannak mikrobák, melyek a túl magas  $c(\text{glü})$  illetve túl alacsony DO esetén savat termelnek, amely megváltoztatja a környezetet, és a szaporodási kinetikájuk nem vizsgálható
- **Párolgás-vezérelt:** a folytonos betáplálás következtében a térfogat jelentősen nőhet, amely ilyen  $\mu\text{l}$ -es méret esetén nem elhanyagolható, így az állandó térfogatot a víz párolgása biztosítja a PDMS-membránon keresztül
- **Aktív transzport** is szükséges: mikroszelepeket használnak, így a bázis- és savadagolást szabályozzák (pH-állítás), illetve a glükóz vagy egyéb szénforrás adagolását (DO és OD szabályozása); vezérlőprogram segítségével visszacsatolás, és a szelepek irányítása

# High-throughput kísérletek

- ▶ HTS, azaz High-throughput screening:
- ▶ Tudományos kísérletekben alkalmazott vizsgálati módszer: biológia és kémia területeken (pl. gyógyszerkutatás).
- ▶ egyidejűleg és könnyedén vizsgálni lehet nagyon nagy számú biokémiai, genetikai vagy farmakológiai folyamatot
- ▶ automatizáltság, a robotika, adatok gyors feldolgozása, szoftveres irányítás, folyadék kezelő berendezések és a nagy érzékenységű detektorok teszik lehetővé
- ▶ a folyamat által gyorsan meghatározhatóvá válnak az aktív összetevők, antitestek vagy akár gének, melyek mind befolyásolhatják egyes biomolekuláris útvonalakat
- ▶ a kísérletekből származó információk gyógyszerek tervezéséhez, egyes biokémiai részfolyamatok közti kölcsönhatások, azok szerepeinek megértéséhez

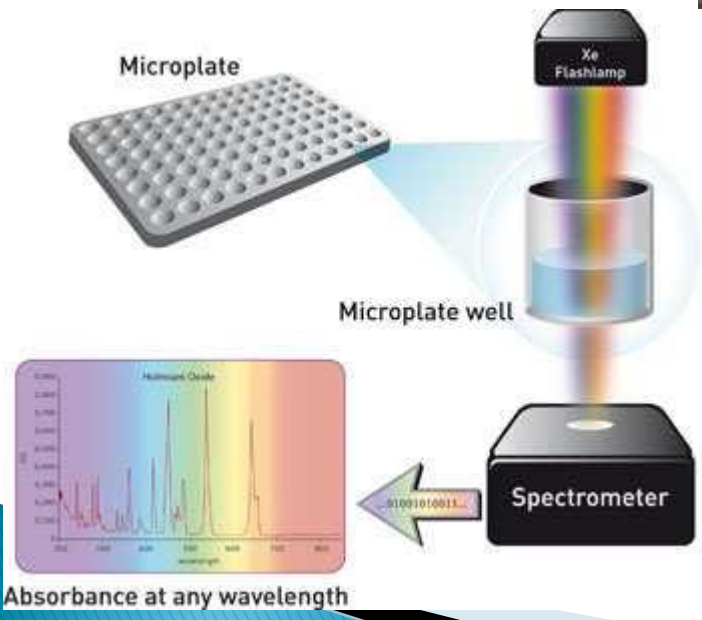
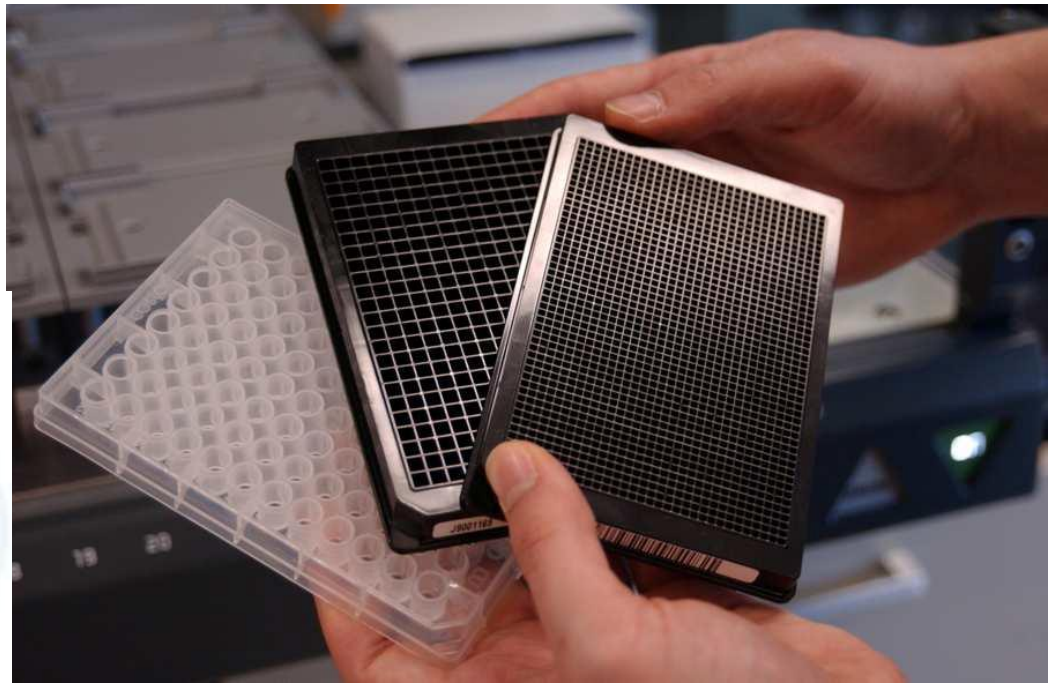
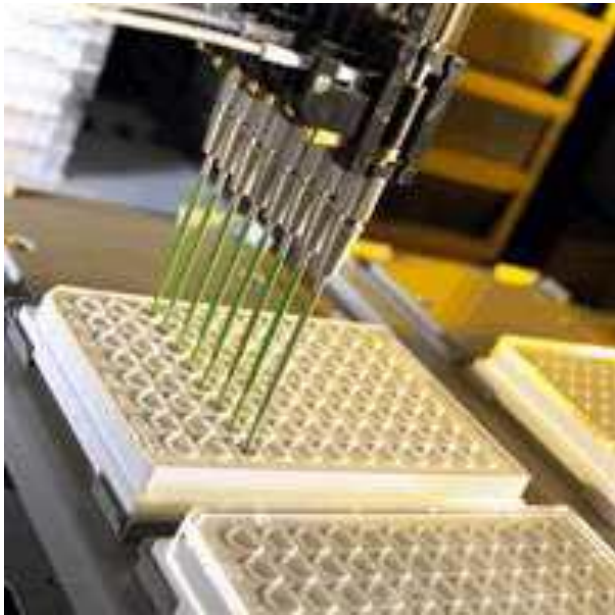
# Módszertan és berendezések

- ▶ **Teszt tálca előkészítése**
- ▶ automatizáltság, akár több ezer komponens egyidejű vizsgálata
- ▶ Mikrotiter tálca, rajta sok nyitott üreg (well)
- ▶ Modern HTS microplate: 384, 1536, vagy 3456 üreg (klasszikus 8\*12-es tálca többszörösei)
- ▶ Egyes mintaüregek már előre tartalmazzák az adott vizes oldatot vagy különböző kémiai komponenseket a kísérlethez, üresen hagyott helyek vannak a kontroloknak

# Módszertan és berendezések

- ▶ **Reakció követése**
- ▶ Teszt (assay) : egyes üregekbe adagoljuk a mintákat
- ▶ Bizonyos ideig inkubálás, majd mérés (manuális vagy automatizált) mindegyik mintában (ezalatt vagy lezajlik egy reakció vagy nem)
- ▶ Manuális mérésre akkor van szükség, ha olyan változást kell vizsgálni, amit a számítógép nem képes (pl. vizsgálatok mikroszkóppal)
- ▶ Automatizált méréskor a számítógép több ezer mérési pontot képes felvenni igen rövid idő alatt(pl. fényreakciók)
- ▶ **Automatizált rendszerek**
- ▶ Integrált robotok sorozata: reagens adagolás, keverés, inkubálás, olvasás, detektálás (mindezt szimultán, több tálcán)
- ▶ • Sebesség: akár 100 000 komponens vizsgálata egy nap alatt (uHTS)





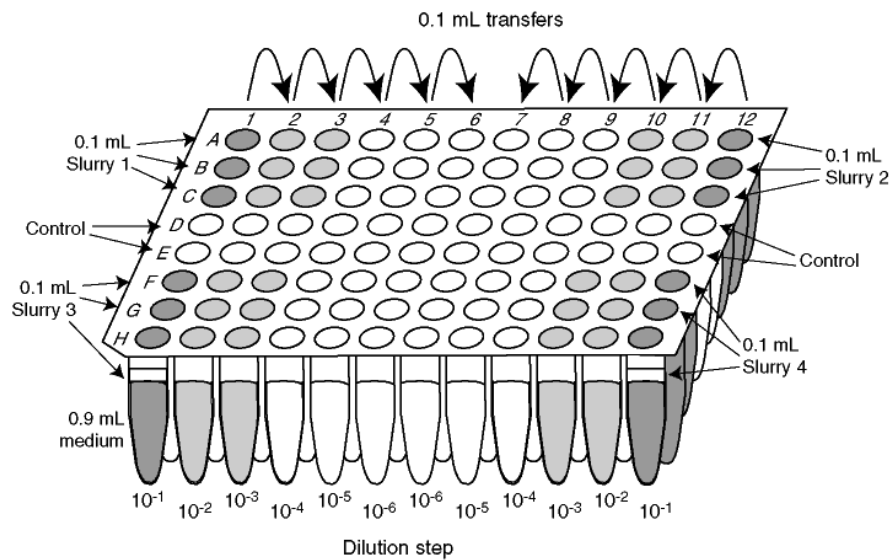
# HTS ↔ tradicionális módszerek

- ▶ Méretcsökkentés, automatizálás: új eszközei a sejt kultúrákkal kapcsolatos folyamat fejlesztéseknek (PD – process development) a terápiás fehérjék gyártásában (ezáltal hamarabb elkezdődhetnek a klinikai vizsgálatok)
- ▶ Tradicionális PD: rázatott lombik, laborméretű bioreaktorok által határozzák meg az ideális paramétereket az egy adott folyamathoz

# HTS ↔ tradicionális módszerek

- ▶ Kevés eredményt szolgáltató kísérlet (low experiment throughput): kevés mérésből igyekeznek optimális adatokat nyerni
- ▶ Így az egyes paraméterek közti kölcsönhatásokat nem feltétlen lehet megállapítani. Továbbá az alaposan vizsgált rész optimumokból nem lehet meghatározni a folyamatra érvényes teljes optimumot.
- ▶ high-throughput sejt kultúra platform → nagyobb statisztikai tervek vizsgálata
- ▶ HTS mikrobioreaktorok: nagy térfogatú bioreaktorok folyamatainak szimulációja kis térfogatokban
- ▶ mért és szabályozott paraméterek: pH, hőmérséklet, DO (oldott oxigén)

# HTS ↔ tradicionális módszerek



# HTBR: High Throughput Bioreactor

- ▶ upstream biológiai folyamatok rendkívül komplexek
- ▶ sok kísérlet szükséges: meg kell választani a táptalajt, körülményeket, termelő szervezetet
- ▶ legtöbb információt termelői (ipari) körülmények közt végzett kísérlet adná
- ▶ a tervezés, optimalizálás kis térfogatokban történik (~50–6000 ml)
- ▶ kérdés: HTBR által mért adatok, egy laborméretű bioreaktornak megfelelnek-e

# HTBR: High Throughput Bioreactor

- ▶ a környezet meghatározza a sejteket és a termékeket
- ▶ paraméterek szigorú szabályozása → reprodukálható eredményt kapunk
- ▶ HTBR itt: 12 db párhuzamos, 35–35 ml, kétlapátú keverő,
- ▶ levegőztetett, optikai szenzorok (pH, DO)
- ▶ kísérlet: HTBR és egy labor méretű bioreaktor azonos eredményeket szolgáltat-e

# HTBR: High Throughput Bioreactor

- ▶ első lépés: azonos  $kLa$  érték fenntartása mind a HTBR-ben mind a laborméretű bioreaktor rendszerben
- ▶ második lépés:  $\Delta x$  és mAB képződés nyomon követése
- ▶ 1. kísérlet: pH és DO szabályozás nem volt se a HTBR-ben (35 ml), se a bioreaktorban (2 L) (HTBR-el egyiket sem lehet)
- ▶ eredmények: DO és pH profilok hasonlóak, azonos sejttömeg növekedés és mAB termelődés
- ▶ 2. kísérlet: bioreaktor (3,5 L, pH szabályozás: szakaszos CO<sub>2</sub> adagolással), HTBR változatlan

# HTS trendek az ipari alkalmazásban

- ▶ gyógyszeripar két kihívása: új gyógyszerek vizsgálata, nagyszámú eddig ismeretlen biológiai célpont
- ▶ feladat: komponens azonosítása
- ▶ költségcsökkentés (mintánkénti)
- ▶ nagyobb „információ sűrűség” (mintatérfogat / időre vonatkoztatva)
- ▶ kulcsfontosságú: automatizáltság
- ▶ előre összeállított reagensek igénye növekszik
- ▶ alkalmazási területek: enzim-, receptor- és sejteken alapuló tesztek



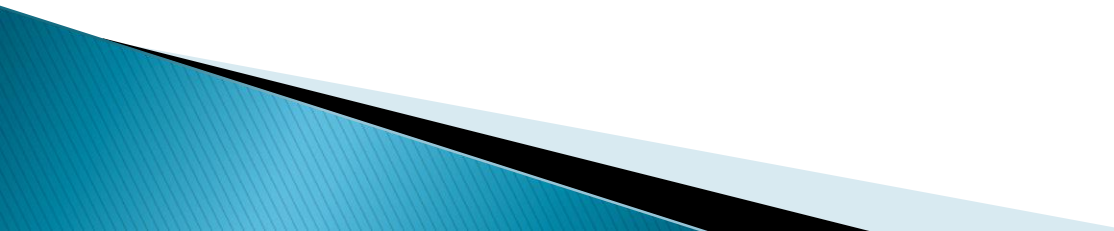
# HTS rendszerrel szemben támasztott elvárások

- ▶ Ideális sejttenyészet rendszer (több reaktor) tulajdonságai:
- ▶ online sejtsűrűség, pH, DO, CO<sub>2</sub>, szubsztrát, termék mérés (sok mérési pont)
- ▶ pH, DO, T, szubsztrát adagolás szabályozás
- ▶ alacsony valószínűség a befertőződésre
- ▶ könnyen indítható (setup) és szabályozható
- ▶ egyszer használatos vagy könnyen sterilezhető anyagok
- ▶ olcsón üzemeltethető és karbantartható

# Mikrobioreaktorok

Eldobható  
mikrobioreaktorokhoz  
használható szenzorok

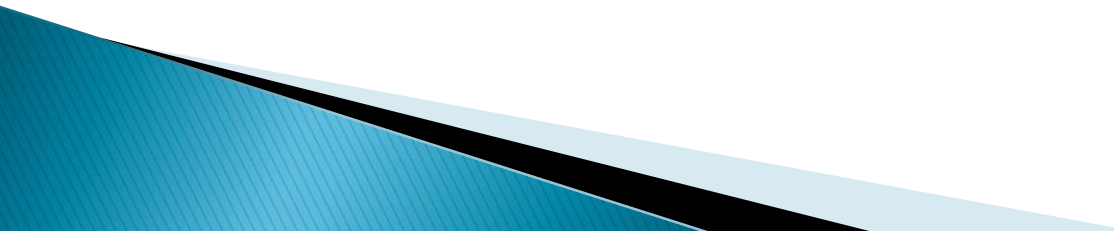
# Tartalom

1. Bevezetés
  2. In situ, ex situ és online szenzorok
  3. Ex situ mérésekhez használt eldobható mintavevő egységek
  4. Közvetlen optikai szenzorok
  5. Optikai kemoszenzorok
  6. In situ mikroszkópia
  7. Vezetésmérő szenzorok
  8. UH-on alapuló szenzorok
- 

# Bevezetés

- ▶ élelmiszeripar, gyógyszeripar → egyre nagyobb érdeklődés az eldobható reaktorok iránt
- ▶ a produktivitás és a termék jobb minőségének érdekében részletes monitorozásra van szükség: szenzorok kellenek
- ▶ előnyök:
  - előre sterilizáltak
  - nem szükséges elmosni őket használat után
  - gyorsabb folyamatfejlesztés és optimalizálás (főként gyógyszeriparban fontos)
  - kiegyensúlyozottabb költségeloszlás (olcsóbb beruházás, de magasabb felhasználási költségek)

# Szenzorokkal szemben támasztott követelmények

- ▶ Fizikai, kémia és biológiai paraméterek
  - ▶ Szelektivitás, szenzitivitás
  - ▶ Gyors válasz és analízálási idő (gyorsan szaporodó mikroorganizmusok)
  - ▶ Olcsó
- 

# In situ, ex situ és online szenzorok

## ▶ Összehasonlítás:

- In situ:
  - A reaktoron belül, közvetlenül mérünk
- Ex situ:
  - A reaktoron kívül mérünk
- Online:
  - A mérendő anyagot egy vezetékbe vezetjük, és ott mérünk

# In situ, ex situ és online szenzorok

## In situ és online szenzorok:

- folytonos információáramlás
- rövid reakcióidő
- direkt kapcsolatba léphetnek a médiummal  
→ sterilizálhatónak kell lenniük
- Elektrokémiai elven mérnek

## Ex situ szenzorok:

- nincsenek közvetlen kapcsolatban a bioreaktorral
- steril mintavevő egységre van szükség

# Ex situ mérések – Mintavételezés

- ▶ Eldobható mintavevő egységek:
  - a mintavételezés során meg kell tartani a tenyészet sterilitását
  - gyakori mintavételezés → hatékony szabályozás
  - a mintavétel invazív
    - nagy a befertőződés veszélye
    - stresszhatás → változás a tenyészetben



# Ex situ mérések – mintavételezés

## ▶ Sejtmentes mintavételezés

- steril szűrővel ellátott cső egy perisztaltikus pumpára kötve
- olcsó, könnyen eldobhatóvá alakítható
- hátrány: nagy holtter

## ▶ Sejtes mintavételezés

- nehezebb a sterilitás fenntartani
- meg kell akadályozni, hogy a levett mintában elinduljanak a lebontó folyamatok
  - fagyasztással
  - inaktiváló szerek hozzáadásával

# Ex situ mérések – sejtes mintavételezés

- ▶ **sterilitási problémák kiküszöbölése:**
  - hő hatására könnyen összeforrasztható, termoplasztikus csövek alkalmazása
  - egy elősterilizált mintavételező edényt hegesztenek a zsákreaktor mintavevő moduljához
  - a mintát belepumpálják az edénybe, majd az összeköttetést hőszugárzással lezárják
  - egyszerű mintavételezés, beszennyeződés nélkül

# Ex situ mérések – sejtes mintavételezés

## ▶ Cellexus rendszer:

- a mintavételezés egy fecskendővel történik
- elősterilizált Luer csatlakozóval kapcsolódik a bioreaktorhoz
- a csatlakozó egy egyirányú szelepet tartalmaz, ezzel kerül el a minta visszafolyását a reaktorba
- a rendszer kis tasakokba gyűjti a mintát, melyeket hegesztéssel zárnak le

# Ex situ mérések – sejtes mintavételezés

## ▶ Millipore rendszer

- sokféle reaktorhoz illő csatlakozó
- számos rugalmas, egyenként nyitható vezeték
- a mintavételezés során egy vezetéket megnyitnak, melyből a minta az edénybe áramlik, amit aztán hegesztéssel választanak le
- 5–1000 ml

# Ex situ mérések – sejtes mintavételezés

## ▶ Cellexus és Millipore rendszerek

### Hátránya:

- Modulonként minták száma korlátozott
- Nem automatizálható

# Közvetlen optikai szenzorok

- ▶ működésük alapja az elektromágneses hullámok és a molekulák ütközése
- ▶ az optikai mérés nem invazív, folytonos
- ▶ a különböző folyamatok paramétereit gyakran párhuzamosan is mérhetők
- ▶ mivel az optikai szenzoroknak nincs időbeli késésük, a valós idejű monitorozás is megvalósítható

# Közvetlen optikai szenzorok

- ▶ az optikai detektor üvegszállal érintkezhet a reaktorral, így fizikailag el van választva tőle
  - a drága analitikai rendszer újra felhasználható
- ▶ **in situ és online alkalmazhatók**
  - online mérések esetén: buborékok → veszély
- ▶ **2 típus:**
  - fluoreszcens szenzorok
  - IR spektroszkópia

# Közvetlen optikai szenzorok – fluoreszcens szenzorok

- ▶ a reaktorhoz egy átlátszó megfigyelő ablakon keresztül csatlakoznak
- ▶ in situ és online módon is alkalmazhatók
- ▶ néhány szenzor a NAD(P)H mérésére lett optimalizálva:
  - **alapja:** ha egy sejttenyészetet megvilágítanak  $\lambda=340-360\text{nm}$  -es fénnel akkor a redukált adenin dinukleotidok (NADH,NADPH)  $\lambda=460\text{nm}$ -es fénnel fluoreszkálnak

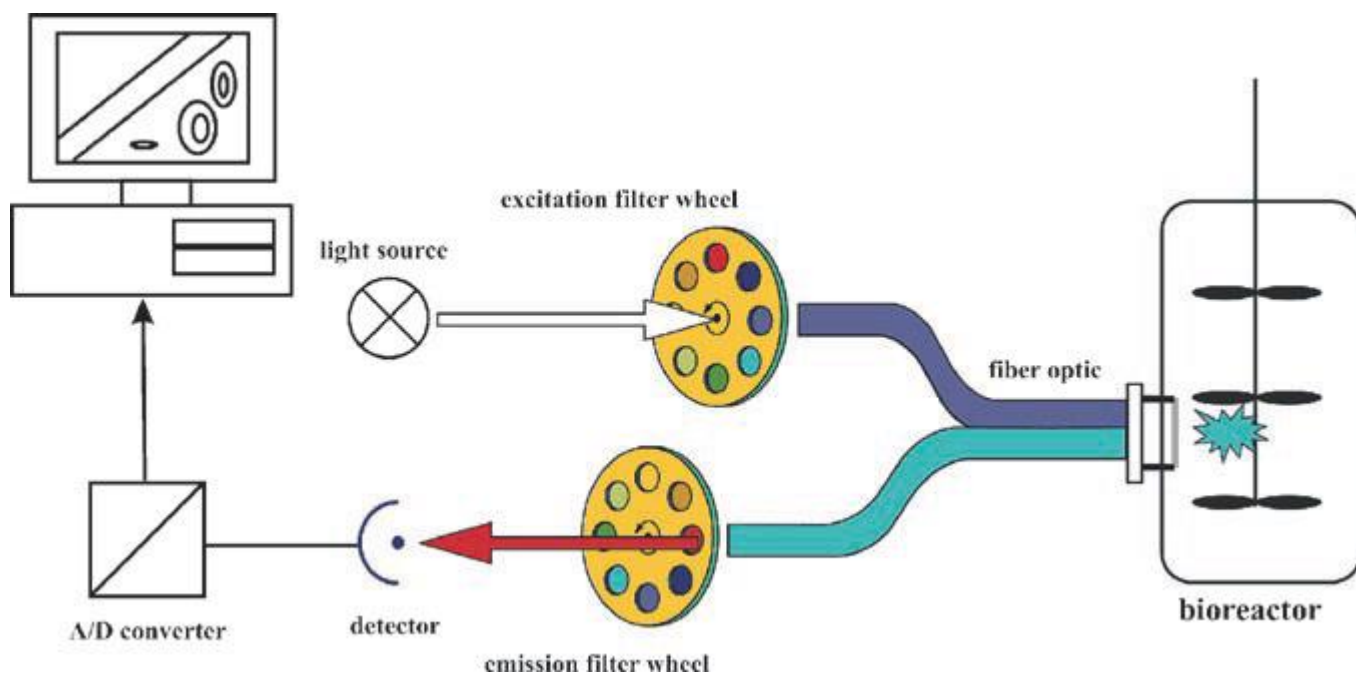


# Közvetlen optikai szenzorok – fluoreszcens szenzorok

## ▶ 2D fluoriméter

- A mintában található összes fluorofór egymás mellett detektálható
- 280–700 nm-es tartományon belül mérnek, 1 perces ciklusokban, színszűrőkkel

# Közvetlen optikai szenzorok – fluoreszcens szenzorok



# Közvetlen optikai szenzorok – IR spektroszkópia

- ▶ **Capnostat 5 rendszer**
- ▶ Gáz fázisban történő CO<sub>2</sub> mérést tesz lehetővé
- ▶ IR abszorpción alapuló mérés
- ▶ 2 részből áll: egy mérő cellából és egy áteresztő kamrából
- ▶ Az infravörös sugárzás áthatol az áteresztő kamrán, mely a reaktor egy gázelvezető portjához van csatlakoztatva
- ▶ A fotodetektor méri a transzmittált fényintenzitást, biztosítva, hogy a mérés független legyen a fényforrás intenzitásától

# Közvetlen optikai szenzorok -IR spektroszkópia



mérőcella



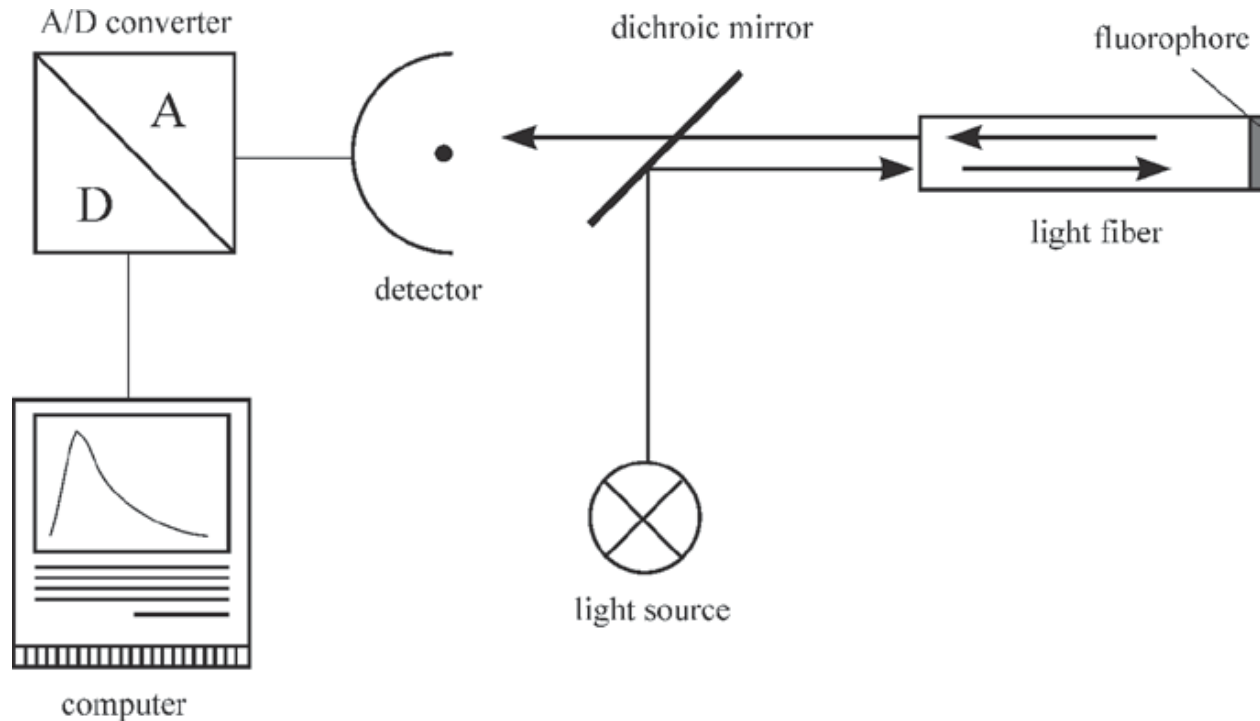
Capnostat 5 szenzora

# Optikai kemoszenzorok

- ▶ a közvetlen mérés nem mindig megoldható → optikai tulajdonságokkal rendelkező indikátorokat használunk
- ▶ az optikai detektor és a jelátalakító üvegszállal van összekapcsolva
- ▶ a jelátalakítót a reaktorba helyezik el (fogyóeszköz), a külső mérőeszköz újra használható
- ▶ in situ vagy online módon használható
- ▶ fajtái:
  - $O_2$
  - pH mérő
  - $CO_2$

# Optikai kemoszenzorok

## Egy üvegszálás optikai szenzor általános felépítése



# Optikai kemoszenzorok

## Optikai O<sub>2</sub> szenzorok:

- ▶ Mérés alapja: A festék fluoreszcenciájának életideje és intenzitása a membrán környezetében lévő oxigénkoncentráció függvénye
- ▶ Az optikai szál egyik felére egy fluoreszcens festéket visznek fel, míg a másik felén egy gerjesztő fényforrást helyeznek el (pl. LED)

# Optikai kemoszenzorok – Oxigén szenzorok

## ▶ Előnyök:

- Kicsinyíthetők – kis térfogatok mérhetők nagy térben
- Nem reaktív módszer, diffúzió limitált helyeken is megoldható a mérés
- Folyadék és gáz fázisban is alkalmazhatók

## ▶ Hátrányok

- Stabilitásuk limitált, főleg intenzitásmérés szempontjából



# Optikai kemoszenzorok

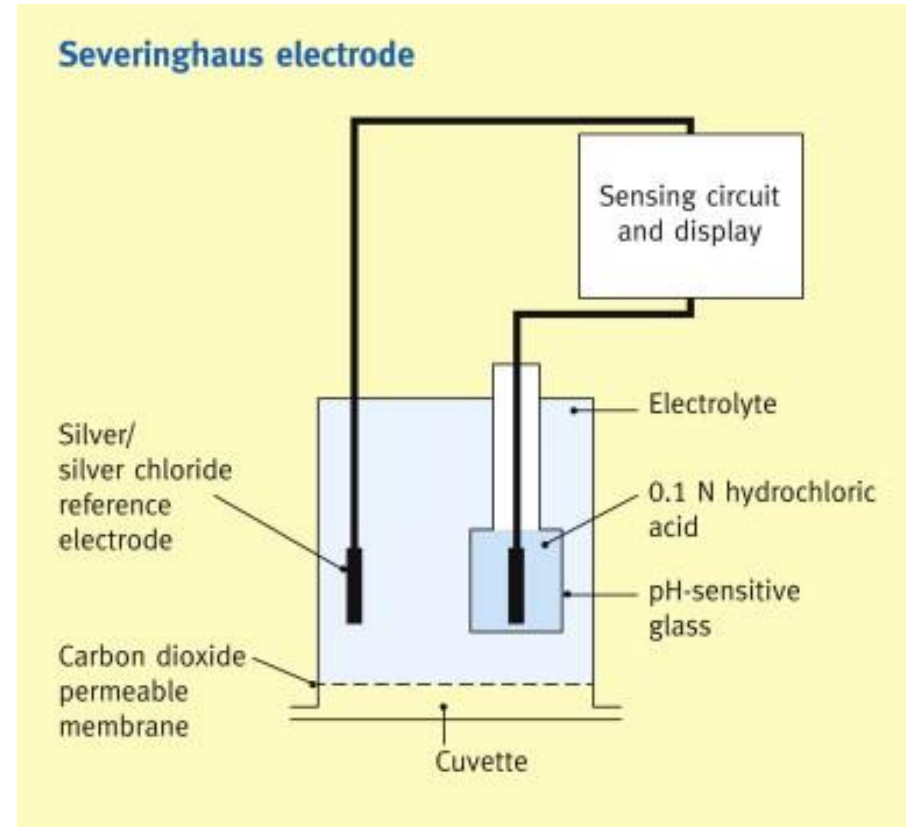
## Optikai pH szenzorok:

- ▶ száloptikás pH mérésekre fluoreszcencián és abszorpción alapuló pH indikátorok is alkalmazhatóak (pl: fluoreszcein, 8-hidroxi-1,3,6-pirén triszulfonsav, fenolvörös, krezolvörös)
- ▶ **Előnyök:**
  - miniatürizálhatók
  - 1  $\mu\text{m}$ -nél kisebb átmérőjűek
  - válaszidejük a másodperc ezredrésze
  - lehetőség van velük sejten belüli mérésekre
- ▶ **Hátrányok:**
  - kis mérési tartomány (3 pH egység)
  - érzékenyek az ionerősség változására
  - autoklávozás, elúció  $\rightarrow$  festékek érzékenysége csökken
  - kovalensen kötött festékek  $\rightarrow$  stabilabbak

# Optikai kemoszenzorok

## Optikai CO<sub>2</sub> szenzorok:

- ▶ a Severinghaus elektródhoz hasonló elven működnek
  - karbonát puffer, benne egy pH és egy referenciaelektrod
  - CO<sub>2</sub>-re permeábilis membrán
  - A karbonát puffer pH értékét mérik, ami egyensúlyban van a CO<sub>2</sub> parciális nyomásával
  - A puffert gyakran kell cserélni (ionerősségre érzékeny a szenzor)
  - Mivel a puffer és a médium lassan keveredik a membránon keresztül, ezért a szenzor reakcióideje percekben mérhető

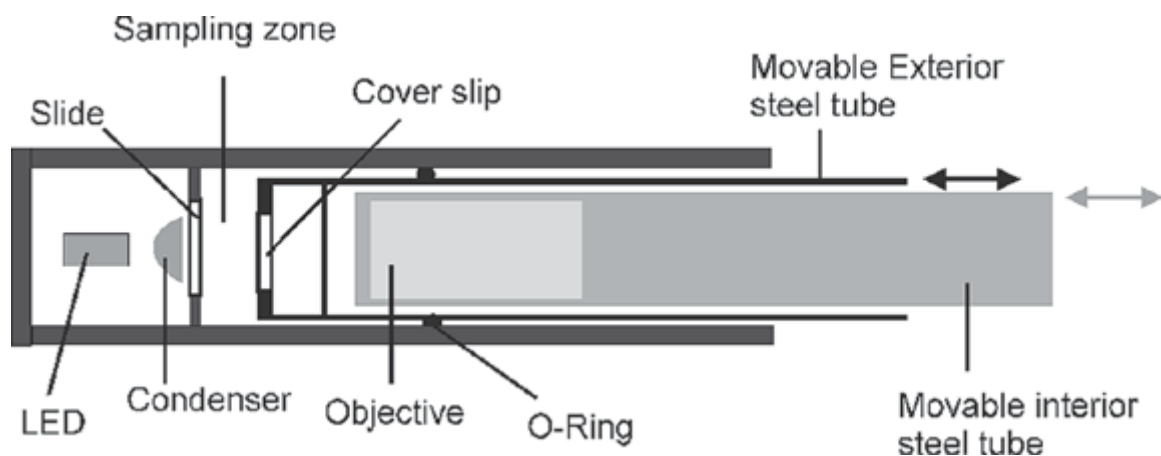


# In situ mikroszkópia

- ▶ Vizsgálható: a sejtek koncentrációja és morfológiája
- ▶ Két, szétszerelhető egységből áll
- ▶ Reaktor rész
  - a bioreaktorba helyezhető (autoklávozható)
  - tartalmaz egy mintavevő zónát, melyet két zafírablak határol
  - a zónán áthaladó sejteket a CCD kamera érzékeli
- ▶ Optikai rész
  - két csúszka van benne
    - az egyik a mintavevő zóna magasságát szabályozza (sejttípustól függően)
    - a másik az objektívhez csatlakozik és a kép fókuszálására szolgál

# In situ mikroszkópia

## Felépítés:

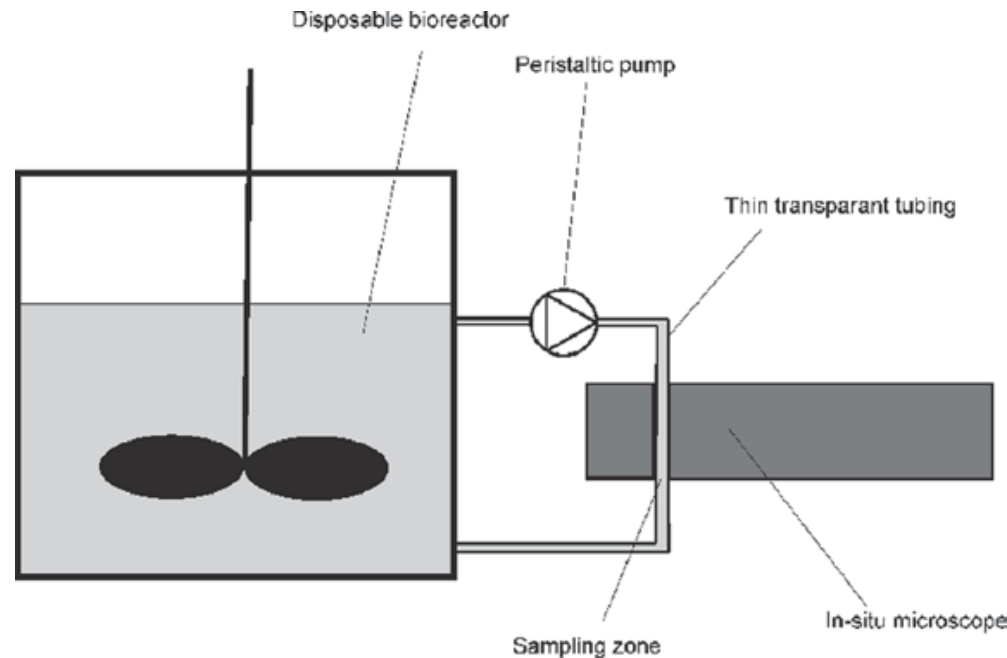


# In situ mikroszkópia

## Eldobható változatok:

### 1. Megkerülő vezetékes

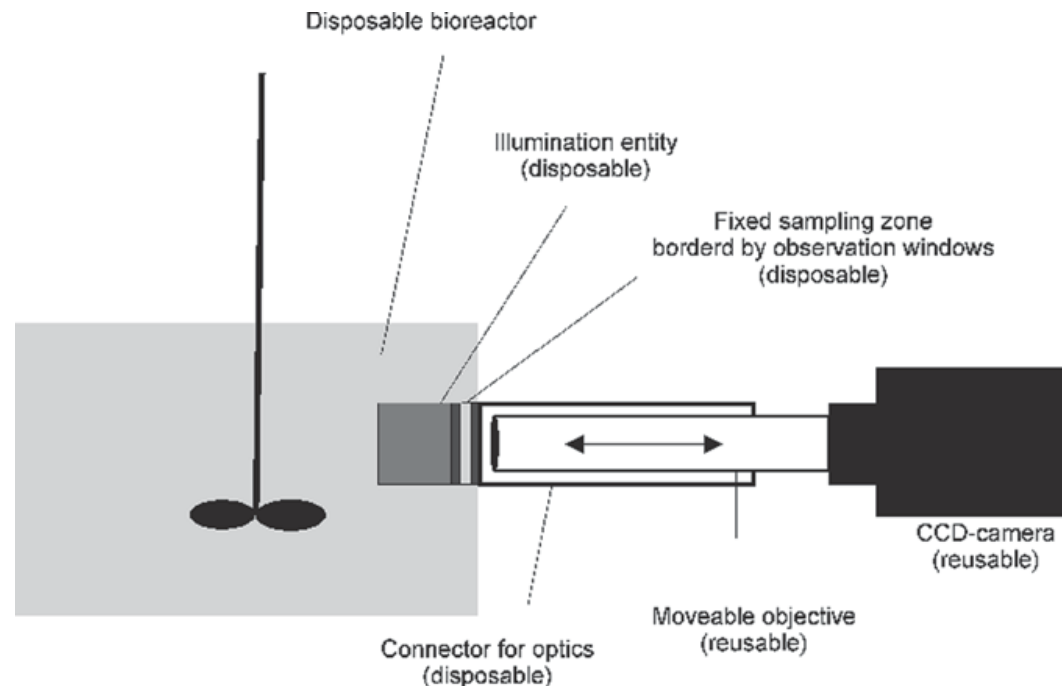
- Előny: nem kell változtatni a készülék hardverjén
- Nehézségek:
  - váltakozó mintaáram
  - sejtekre fókusztálás



# In situ mikroszkópia

## 2. Átalakított reaktor szegmens

- ▶ fix mintavevő zóna → sejttípustól függő modulokra van szükség
- ▶ eldobható, reaktorba integrálható
  - gyűjtőlencsék
  - LED
  - két üveglap
- ▶ újrahasznosítható:
  - Objektív
  - CCD kamera



# Vezetésmérő szenzorok

- ▶ Váltoáramú feszültségforrás feszültséget bocsát ki két, egymáshoz közel lévő, párhuzamos elektródra
  - köztük lévő teret a mérendő anyag tölti ki
- ▶ A két elektród közti áramot és feszültségesést mérve az ellenállás az Ohm-tv. alapján számítható
- ▶ A mért ellenállás és a vezetés közti kapcsolatot a sejtkonstans adja meg:
$$\kappa_{\text{sejt}} = \kappa R$$
- ▶ A rendszert kalibrálni kell egy ismert vezetőképességű oldattal



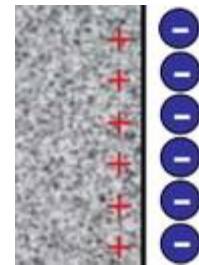
# Vezetésmérő szenzorok

**Probléma:** elektromos kettősréteg kialakulása az elektród felületén

**Megoldás: 4 elektródos rendszer**

▶ 4 párhuzamos elektród

- 2 külső a váltófeszültséghez van kapcsolva és vezeti az áramot
- 2 belső méri a feszültségesést, nincs rajta áram, így nem is polarizálódik



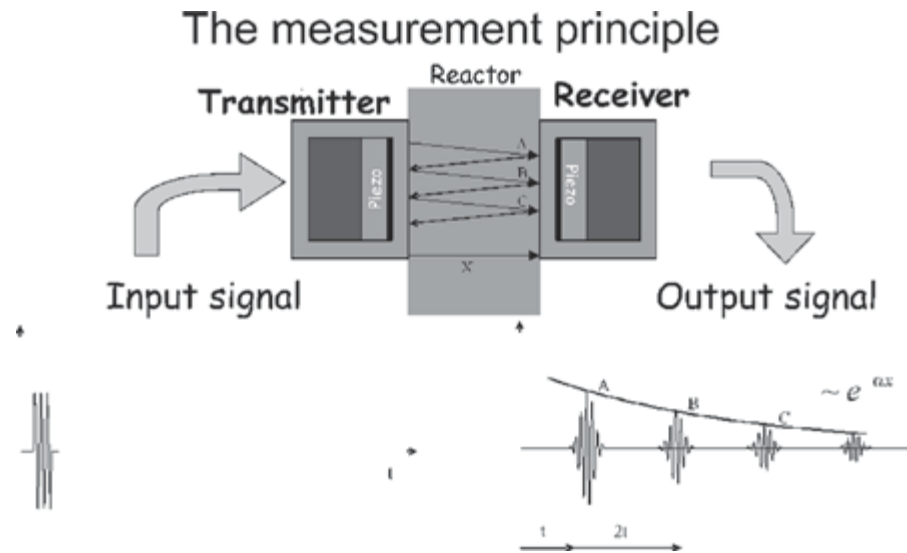
a vezetés erősen hőmérsékletfüggő  $\rightarrow 25^{\circ}\text{C}$ -n mérünk



# Ultrahang szenzorok

- ▶ Szint érzékelés, folyadék áram és különböző anyagok koncentrációinak mérésére használható
- ▶ Az UH-t egy piezoelektromos kristállyal állítjuk elő (20 kHz– 1 GHz)
- ▶ Az adó és a fogadó a reaktoron kívül helyezkedik el
- ▶ Az adó UH-ot bocsát ki, mely áthalad a folyadékon, visszhangját méri a fogadó
- ▶ Előnyök:
  - in situ és online készülékekben is noninvazívan elhelyezhetők
  - nincs szükség reagensre használatukhoz
  - teljesítményigényük alacsony
  - hosszú ideig stabilak
  - rövid válaszidő

# Ultrahang szenzorok



- UH sebessége és gyengülése a reaktorban lévő anyagtól függ
- A gyengülés számítása: a jel amplitúdójának exponenciális csökkenéséből
- A jel sebességének számítása: hullámok közti időből

# Ultrahang szenzorok

- ▶ A hullám sebessége az alábbi képlet szerint függ a folyadék sűrűségétől:

$$c_{UH} = \sqrt{\frac{1}{\kappa \rho}}$$

$\kappa$  – adiabatikus összenyomhatóság

$\rho$  – sűrűség

$c_{UH}$  – ultrahang hullám sebessége

- ▶  $\kappa$  – függ a hőmérséklettől, ezért kalibrálás szükséges

# Kérdések

- ▶ Hogyan néz ki a léptéknövelés általános sémája? Hány lépcső van benne?
- ▶ Milyen tulajdonságokkal jellemezhetőek a mikrobioreaktorok?
- ▶ Mely technikák teszik lehetővé, hogy egyidejőleg nagyon nagy számú mérés elvégzésére képes a HTS?
- ▶ Ex situ méréseknél a sejtes mintavételezés esetében hogyan küszöbölhetjük ki a sterilitási problémákat?
- ▶ Mik a szenzorokkal szemben támasztott követelmények?

Köszönjük a figyelmet!

## Források:

- Sensors in Disposable Bioreactors Status and Trends – Anne Glindkamp, Daniel Riechers, Christoph Rehbock, Bernd Hitzmann, Thomas Scheper, and Kenneth F. Reardon – Department of Chemical and Biological Engineering, Colorado State University, Fort Collins, CO, 80523–1370, USA
- Integrated microbioreactor arrays for high-throughput experimentation (Harry Lee, MIT, 2006)