

# Sens-o-Spheres – Mobile, miniaturisierte Sensorplattform für die ortsungebundene Prozessmessung in Reaktionsgefäßen

*Tim Lauterbach, Felix Lenk, Thomas Walther, TU Dresden INT, Dresden  
 Michael Grösel, Stephan Lenk, SAAS GmbH, Bannewitz  
 Tassilo Gernandt, Rüdiger Moll, IMST GmbH, Kamp-Lintfort  
 Franziska Seidel, Dietmar Brunner, Ökoplast GmbH, Mittweida  
 Tobias Lüke, Christian Hedayat, Maik-Julian Büker, Fraunhofer ENAS, Paderborn  
 Arne Peters, e-nema GmbH, Schwentimental  
 tim.lauterbach@tu-dresden.de*

## Zusammenfassung

Für das Monitoring biotechnologischer Prozesse werden meist kabelgebundene, stabförmige Sonden in den Reaktionsraum eingebracht. Dies stellt für viele Rührreaktoren eine praktikable Lösung dar, ist jedoch bei anderen Reaktorarten, in welchen die Einbringung von Sensoren nicht vorgesehen ist wie beispielsweise dem Schüttelkolben, mit hohem technischem Aufwand verbunden. Dieser Beitrag stellt das Konzept mobiler, drahtloser und somit minimal invasiver Mikromessvorrichtungen für biotechnologische Prozessführungen, die sogenannten Sens-o-Spheres, vor. Die Sensoren ermöglichen einfache Messungen in verschiedenen Reaktoren im Labormaßstab ohne konstruktive Änderungen an den Reaktoren vorzunehmen. Die Sens-o-Spheres sind als technologische Plattform entworfen, welche von einem Messfühler erfasste Daten wandelt, diskretisiert und über ein energieoptimiertes Protokoll drahtlos versendet. Die Plattform sitzt dabei in einer 7,9 mm durchmessenden, kugelförmigen Einhausung und hat eine mittlere Dichte von 1,1 g/cm<sup>3</sup>. Die kugelförmige Messvorrichtung bewegt sich passiv mit der Prozessflüssigkeit und übermittelt die jeweils aufgezeichnete Prozessmessgröße drahtlos an eine Empfängerstation (Basisstation), welche die Daten interpretiert, menschenlesbar darstellt und zur weiteren Verwendung speichert. Die Basisstation kann frei in einem Radius von etwa 4 m um den Reaktor platziert werden, was einen flexiblen Einsatz des Gesamtsystems erlaubt.

**Keywords:** miniaturisiertes Messsystem, drahtlose Kommunikation, mobile Sensoren, induktive Ladetechnik, Temperaturmessung.

## Motivation

Die wissensbasierte Bioökonomie ist der entscheidende Treiber für die Umstellung von einer erdölbasierten auf eine nachhaltige, biobasierte Wirtschaft. Für ein umfassendes Verständnis der dazu notwendigen Bioprozesse ist eine effektive, kontinuierliche Bestimmung aller relevanten Prozessgrößen (z. B. Temperatur, pH-Wert oder Gelöstsauerstoffgehalt) unbedingt erforderlich, da diese Messgrößen auch in die Prozessregelung im Produktionsmaßstab einfließen. Die große Bandbreite an verschiedenen Bioreaktoren stellt hinsichtlich der Flexibilität von Messsystemen für biotechnologische Prozesse eine Herausforderung dar. So ist eine Messwerterfassung in vielen Reaktionsgefäßen, z. B. Schüttelkolben oder auch Röhren- bzw.

Flachbettbioreaktoren, derzeit umständlich oder sogar unmöglich. Hinzu kommt, dass ein ortsfester Einbau der Messgrößenaufnehmer nur Messwerte am Einbauort liefert, der sich konstruktionsbedingt oft am Randbereich der Reaktionsgefäße wiederfindet und so die Verhältnisse im Gefäß nicht repräsentativ widerspiegelt. Zudem sind redundante Messungen durch die limitierte Anzahl an Sensorzugängen oft ausgeschlossen.

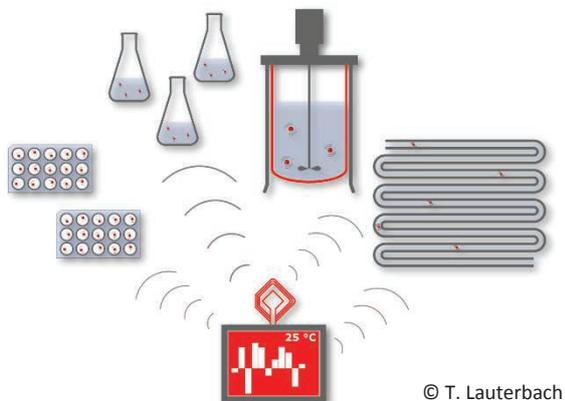
Die Ansprüche an ein lückenloses Monitoring von Bioprocen in Verbindung mit den technischen Limitationen der Reaktionsumgebungen führen zu einem Bedarf nach kabellosen Lösungen, Multisensorsystemen in Verbindung mit einer intelligenten Signalverarbeitung, Selbstdiagnose, Selbstidentifikation und Meldung des eigenen Status sowie

Multi-Agenten-Frameworks für die Identifikation von Populationsheterogenitäten. [1], [2]

Mit den in einem Verbundprojekt unter der Führung der TU Dresden, Forschungsgruppe SmartLab-Systeme entwickelten Sensorkugeln – den sog. Sens-o-Spheres – steht nun eine anwendungsbereite Lösung in Form von Messkugeln mit einem Durchmesser von unter 8 mm als Plattformtechnologie für die Implementierung einer Vielzahl von Prozessmessgrößen zur Verfügung, welche flexibel in biotechnologischen Prozessen eingesetzt werden kann.

### Konzept

Die Sens-o-Spheres vereinen die Funktionalität von Stabsonden in einer etwa erbsengroßen Kugel. Die Kugelsensoren können aufgrund ihrer geringen Größe in nahezu allen Reaktoren im Labormaßstab eingesetzt werden. Dabei bewegen sie sich passiv und aufgrund der angepassten Dichte mit der Flüssigphase durch das Reaktorvolumen und haben dadurch einen minimalen Einfluss auf die Strömungsverhältnisse. Sie sind bio-inert eingehaust und autoklavierbar. Mit einem induktiven Ladesystem können die Messkugeln nach einem Verwendungszyklus wieder aufgeladen werden. Die kontinuierliche Übertragung der Messwerte über den gesamten Versuchszeitraum an die Basisstation geschieht drahtlos bei variablen Messfrequenzen auf einem geeigneten, frei verfügbaren Übertragungsband. Durch die extreme Miniaturisierung des Sensorelements konnte eine sehr gute Dynamik z. B. bei der Temperaturregelung erreicht werden. Eine erhebliche Parallelisierung von Prozessmessungen ermöglicht die Verwendung von bis zu 24 Messkugeln mit einer Basisstation.



© T. Lauterbach

Abb. 1: Sens-o-Spheres System für die skalenerübergreifende, drahtlose Prozessmessung.

### Demonstratorsystem

Die Sphären besitzen einen Low-Power-Mikrocontroller, welcher als zentrales Steuerelement neben dem Datenmanagement auch den Ladevorgang der Sphären steuert. Als Energiespeicher ist ein Akkumulator im Zentrum der Sphären verbaut. Da der Akkumulator das schwerste Bauteil ist, befindet sich somit der Masseschwerpunkt mittig innerhalb der Sphäre, was sich positiv auf die Bewegung der Messkugel durch das Reaktionsvolumen auswirkt. Zudem erlaubt die zentrale Positionierung maximale Größe und somit Kapazität des Energiespeichers. Als Messgrößenaufnehmer besitzen die Sens-o-Spheres einen Temperatursensor mit etwa 0,1 K Auflösungsvermögen. Die erfasste Temperatur wird durch die Sens-o-Spheres digitalisiert und im radiofrequenten Bereich ( $f = 434 \text{ MHz}$ ) übermittelt. Hierzu dient eine Datenantenne, welche ringförmig um den Äquator der Kugel liegt und um auch hier die maximal mögliche Größe zu erreichen. Neben der Datenantenne ist eine Ladeantenne integriert, welche die drahtlose Aufladung vor dem Prozess in der Ladeeinrichtung ermöglicht. [3] Für den Einsatz in biotechnologischen Prozessen ist die Platine mit einer spritzgegossenen, lasergeschweißten und biologisch inerten Kunststoffkapsel (Material: Polypropylen) umhüllt. Aufgrund der drahtlosen Kommunikation und induktiven Aufladung der Messkugeln kann die Kapselung vollkommen abgeschlossen werden, ohne dass elektrische Kontakte o. ä. nach außen geführt werden müssen. Abb. 2 zeigt eine funktionsfähige Sens-o-Sphere.

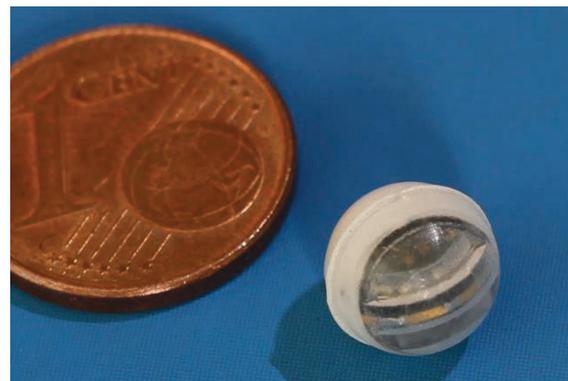


Abb. 2: Sens-o-Sphere im Größenvergleich zu einer 1 ct Münze.

Die Signale von parallel bis zu 24 Sphären werden von der Basisstation empfangen und ausgewertet. Diese besteht aus einem Tablet-PC und drei Empfangsantennen, welche für einen optimalen Empfang in verschiedene Raumrichtungen gerichtet sind. Die Basisstation ordnet die Signale mittels Sensor-ID und zugeordneter Reaktor-ID dem Prozess zu, zeigt

die Daten während des Prozesses an und speichert diese für eine weitere Verwendung. Das gesamte Messsystem ist in Abb. 3 dargestellt.

Aufgrund der beschränkten Kapazität des Akkumulators, ist die Anzahl der Sendezyklen begrenzt. Um über den gesamten Prozess hinweg Messergebnisse zu erhalten, kann mittels Abschätzung der Prozesslaufzeit das Sendeintervall der Sphären so angepasst werden, dass ein Kompromiss aus Wiederholungsrate und Laufzeit erreicht wird. Nach dem Prozess kann die Sphäre gereinigt, induktiv aufgeladen und anschließend wiederverwendet werden.



Abb. 3: Foto der Basisstation (rechts hinten), der Ladestation (ganz links) und des Applikators (vorn Mitte).

### Applikationsbeispiel

#### Aufnahmen der Sprungantwort

Zur Charakterisierung des Verhaltens der Sens-o-Spheres wurde eine Sprungantwort aufgenommen, indem diese einer plötzlichen Temperaturänderung ausgesetzt wurden. Zur Realisierung des Temperatursprungs wurde ein Thermostat (Thermo Fisher Scientific Inc.; DC30-K10), welcher auf 29,9 °C geheizt wurde, und ein Becherglas mit Eiswasser (0 °C) genutzt. Die Temperaturen wurden mit einem digitalen Handthermometer (Testo SE & Co. KGaA; testo 720) verifiziert. Wie in Abb. 4 dargestellt, liegen weisen die Messergebnisse mit zwei voneinander unabhängigen Sphären eine gute Kongruenz auf. Lediglich ein Offset von ca. 1,5 K gegenüber den 0 °C im Eiswasserbad ist zu erkennen. Dies kann jedoch mittels einer Kalibrierung ausgeglichen werden. Wie erwartet, zeigen die Sens-o-Spheres beim Messen der Temperatur ein PT<sub>1</sub>-Verhalten. Zudem wurde eine Totzeit in das Modell einbezogen, um das Verhalten besser abbilden zu können. Mit untenstehender Gleichung und der Methode der kleinsten Fehlerquadrate wurden eine Regression der

Messdaten durch die Variation der Parameter  $k$ ,  $T_1$  und  $T_{tot}$  erstellt.

$$x_a = \begin{cases} x_{e,0} & \text{für } t \leq T_{tot} \\ \Delta x_e \cdot k \cdot \left(1 - e^{-\frac{t-T_{tot}}{T_1}}\right) & \text{für } t > T_{tot} \end{cases} \quad (1)$$

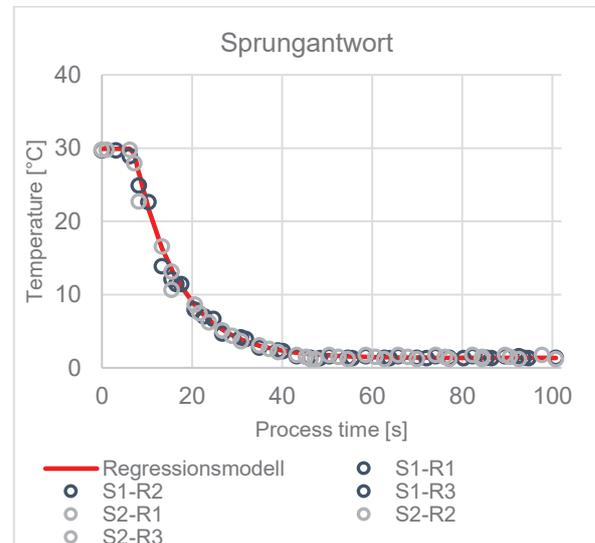


Abb. 4: Darstellung der Sprungantwort ( $\Delta t = 29,9$  K) von zwei Sens-o-Spheres (S1 & S2) und des Regressionsmodells.

Die Parameter für die Beschreibung des Sensorverhaltens ergeben sich zu folgenden Werten:  $k = 0,955$ ,  $T_1 = 9,900$  s und  $T_{tot} = 6,980$  s. Damit zeigen die Sphären eine hinreichende Dynamik für biologische Prozesse.

#### Reichweite in Laborumgebung

Zur Untersuchung der Reichweite der Signalübertragung in Laborumgebung wurde die Signalqualität von zwei Sphären aufgezeichnet. Die Variation des Abstands fand dabei in einem für biotechnologische Anwendungen typisch eingerichteten Labor statt. Als Einsatzszenario wurden die Sphären entweder frei an der Umgebungsluft positioniert, mittig in einer 1 L-Laborflasche mit LB-Medium (siehe unten) aufgehängt oder in einem mit 250 mL LB-Medium gefüllten Schüttelkolben in einem geschüttelten, geschlossenen Inkubator (Infors Minitron, Infors HT GmbH) platziert. Wie zu erwarten war, wurde die Empfangsleistung mit zunehmenden Abstand der Sphären von der Basisstation schlechter, wobei selbst im genutzten Komplexmedium (LB-Medium), welches in Voruntersuchungen die stärkste Dämpfung gezeigt hatte, ein sicherer Empfang der Daten mit einem Abstand von bis zu 4 m erfolgt. Selbst bei der Einbringung der Sphären in einen Schüttelinkubator konnte eine sichere Verbindung unabhängig vom Aufstellungsort

der Basisstation (oben auf dem Inkubator oder daneben) bzw. der Position der Schüttelkolben innerhalb des Inkubators nachgewiesen werden.

#### Demonstration an einem Realprozess

Die Sens-o-Spheres wurden während einer Kultivierung von *Escherichia coli* K12 angewendet. Als Kultivierungsmedium wurde das Komplexmedium Lysogeny Broth (LB-Medium) verwendet, was in Vorversuchen die stärkste Dämpfung der Funksignale gezeigt hatte und somit als Worst Case Anwendung diente. Wie bei biotechnologischen Prozessen typisch, wurden die Zellen aus einer kryokonservierten Bakterienkultur zunächst in einem kleinvolumigen Reaktor (Schüttelkolben) in einem Schüttelinkubator ( $N = 145 \text{ rpm}$ ;  $T_{\text{set}} = 30,0 \text{ }^\circ\text{C}$ ) angezogen, um mit dieser Vorkultur einen größeren Reaktor zu inokulieren. Eine Desinfektion der Sphären wurde mittels 1,5 %iger Peressigsäure durchgeführt. Um einen eventuellen Einfluss der Mikroorganismen auf die Signalübertragung bzw. die Temperaturentwicklung detektieren zu können, wurde ein Schüttelkolben beimpft und ein Kolben lediglich mit sterilem LB-Medium versehen und als Kontrolle mitgeführt. Das Temperaturprofil ist in Abb. 5 abgebildet. Wie aus den Datenverläufen ersichtlich ist, benötigten die Kolben etwa 1,5 h Stunden, um sich an die Temperatur im Inkubatorschrank anzupassen. Danach schwankt die Temperatur der Kolben aufgrund der Änderungen der Temperaturen im Schüttelinkubator. Die Daten der beiden Sphären wurden regelmäßig, etwa alle 30 Sekunden empfangen, was dem Sendezyklus der genutzten Sens-o-Spheres entsprach.

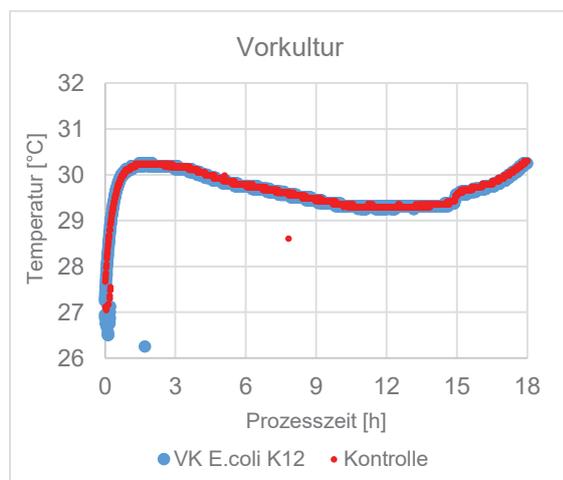


Abb. 5: Temperaturmessung in Schüttelkolben der Vorkultur im Orbital-schüttelinkubator; Kulturmedium: LB-Medium; Inokulation: mit (blau) und ohne (rot) *E. coli* K12.

Die Hauptkultur wurde anschließend mit der über Nacht angezogenen Vorkultur beimpft. Bei dem Reaktor handelte es sich um einen 3 L-Rührreaktor mit 2 L Arbeitsvolumen (LB-Medium). Die Durchmischung der Suspension erfolgte mittels zweier sechsflügeliger Scheibenrührer bei einer konstanten Rührergeschwindigkeit von 800 rpm und einer Begasungsrate mit Luft von 0,5 vvm. Die Temperierung auf  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  fand mittels Heizmanschette statt. Für die Hauptkultur wurde eine Sphäre mit geringerer Übertragungsrate gewählt (Sendeintervall = 1 Messwert pro 10 min). Die Ergebnisse der Messung sind in Abb. 6 dargestellt. Das Sens-o-Spheres-System lieferte während des gesamten Prozesses Temperatursignale analog zum kabelgebundenen Temperaturfühler des Reaktorsystems, wobei lediglich ein geringer Offset von etwa  $0,1 \text{ K}$  zu beobachten war. Eindeutige Outlier konnten nicht detektiert werden, wobei in seltenen Fällen die Signalübertragung fehlschlug, wie an vereinzelt Datenlücken der Sens-o-Spheres-Temperaturen ersichtlich wird. Dennoch kann die Signalübertragung als zufriedenstellend angesehen werden, da weder ein Einfluss auf die Einbauten im Bioreaktor noch auf die kultivierten Mikroorganismen selbst zu beobachten war. Die Abtrennung der Sens-o-Spheres erfolgte im Anschluss an den Prozess über einen Magnetstabentferner. Die Sphären wurden anschließend gereinigt und nach einem erneuten Aufladen wiederverwendet. Damit konnte eine Praxistauglichkeit der Sens-o-Spheres bereits auf Demonstrator-Niveau gezeigt werden.

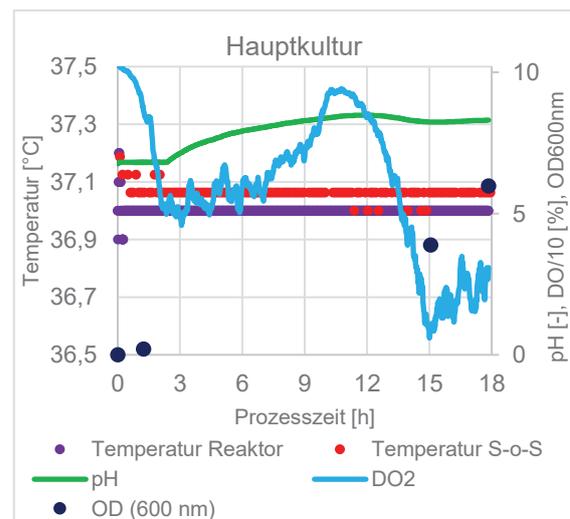


Abb. 6: Messwerte der Hauptkultur zur Anzucht von *E. coli* K12 im 3 L-Bioreaktor in LB-Medium.

## Diskussion und Ausblick

Mit den Sens-o-Spheres wurden Messkugeln für die Charakterisierung und Regelung von Bioprozessen der nächsten Generation entwickelt. [4] Vorteile des neuen Sensorsystems liegen neben der flexiblen Anwendung in verschiedenen Reaktoren im Labormaßstab auch in der einfachen Herstellung von Redundanzen hinsichtlich der Messsonden, um im Fehlerfall weiterhin Messwerte zur Verfügung zu haben. Die 7,9 mm durchmessenden Sensoren wurden bereits erfolgreich in Schüttelinkubatoren wie auch Rührreaktoren im Labormaßstab getestet. Dabei zeigten diese eine stabile Datenübertragung trotz der technischen Umgebung, welche aus potentiell elektromagnetische Strahlung schirmenden Materialien besteht. Auch eine mechanische Stabilität der Sphären gegenüber Schlägen durch Rührer konnte in den Versuchen mit Rührreaktoren gezeigt werden. Durch die geschlossene Kapselung der Sensoren, können diese einfach gereinigt und nach dem induktiven Aufladen wiederverwendet werden. Unter Verwendung von neusten miniaturisierten, energieeffizienten elektronischen Bauteilen konnte eine Plattformtechnologie geschaffen werden, welche die Anbindung von anderen Sensoren alternativ zu dem hier vorgestellten Temperatursensor erlaubt. So ist bereits die Einbindung von Messgrößenaufnehmern für den pH-Wert und Gelöstsauerstoff geplant. Für eine teilautomatisierte Handhabung und qualitätsgesicherte Identifizierung von Sensorkugel und Reaktionsgefäß soll zudem ein Handgerät entwickelt werden, um das Konzept des Sensorsystems zu vervollständigen. Ein weiterer Fokus für weitere Entwicklungsarbeiten liegt in der Verknüpfung der Prozessmessung mit dem Aufenthaltsort der Sensorkugel im Reaktionsvolumen. Durch das passive Mitschwimmen der Messkugeln mit der Strömung bieten die Sens-o-Spheres das Potential, Heterogenitäten in Reaktoren erfassen zu können.

## Literatur

- [1] DECHEMA-Fachgruppe „Messen und Regeln in der Biotechnologie“, „Smart Sensoren für die Biotechnologie“, Mai 2017.
- [2] J. M. Kahn, R. H. Katz, und K. S. Pister, „Next century challenges: mobile networking for “Smart Dust”“, in *Proceedings of the 5th annual ACM/IEEE international conference on Mobile computing and networking*, 1999, S. 271–278.
- [3] Tobias Lüke u. a., „Sens-o-Spheres | A concept for location independent acquisition of process measurement signals“, in *Smart Systems Integration 2017 International Conference and Exhibition on the integration of materials, devices and systems.*, Verlag Wissenschaftliche Scripten, 2017, S. 86–93.
- [4] Tobias Lüke und Tim Lauterbach, „Ortsungebundene Aufnahme von Prozesssignalen - Neue Messmethode in State-of-the-Art-Bioreaktorsystemen“, *TechnoPharm*, Bd. 7, Nr. 5, S. 254–259, 2017.

**Danksagung:** Die Arbeiten werden im Rahmen eines Verbundprojektes durch das BMBF, Projektträger Jülich, gefördert (Förderkennzeichen 031B0048A). Der Titel lautet: „Sens-o-Spheres II | Ortsungebundene Aufnahme von Prozessmesssignalen in neuartigen Bioreaktorsystemen“.