

2. BIOSENSOR SYMPOSIUM

TÜBINGEN 2001

<http://barolo.ipc.uni-tuebingen.de/biosensor2001>

Online-Überwachung eines Fermentationsprozesses mit Reflektometrischer Interferenzspektroskopie

Martin Mehlmann, R. Tünnemann, H. P. Fiedler, S. Pelzer, W. Wohlleben, G. Jung, G. Gauglitz
Institut für Physikalische und Theoretische Chemie, Auf der Morgenstelle 18, 72076 Tübingen
Tel. 07071-29 74668

martin.mehlmann@ipc.uni-tuebingen.de

Registriernummer der Online-Anmeldung: 178

Poster

Die prozessnahe online-Überwachung von biotechnologischen Prozessen gewinnt zunehmend an Bedeutung. Dabei werden von der Industrie vermehrt schnelle und genaue Analysenmethoden gefordert, um Kultivierungsbedingungen optimieren und die Fermentationsdauer reduzieren zu können. Bisher werden meist nur allgemeine Parameter wie Druck, Temperatur oder pH-Wert online verfolgt. Eine produktspezifische Analytik erfolgt größtenteils offline. D. h. die Proben werden manuell gezogen und nachfolgend in einem Labor analysiert. Eine solche Prozedur ist fast immer sehr arbeitsaufwändig und teuer. Problematisch kann auch die zeitliche Verzögerung zwischen Fermentationsprozess und Analyseergebnis sein. Insbesondere bei Batch-Fermentationen kann es bei Überproduktion zu Neben- und Abbauprodukten kommen. Wünschenswert ist deshalb eine zeitnahe, möglichst prozessintegrierte Analytik, um gezielt den Fermentationprozess steuern zu können.

In unserer Arbeitsgruppe wurde ein optischer Biosensor entwickelt [a], der eine produktspezifische, schnelle online-Überwachung eines Fermentationsprozesses erlaubt [Abb. 1]. Modellhaft wurde dabei die Produktion des Antibiotikums Vancomycin während einer Fermentation verfolgt. Die Wirkungsweise des Vancomycins beruht auf einer spezifischen Bindung an Mukopeptidvorstufen, die auf die Sequenz D-Alanin-D-Alanin enden [1]. Um eine spezifische Detektion von Vancomycin zu erreichen wurden entsprechende Peptide kovalent auf ein Glassubstrat immobilisiert und die Wechselwirkung zwischen der Oberfläche und Vancomycin mittels Reflektometrischer Interferenzspektroskopie (RIfS) verfolgt. Das Prinzip der RIfS beruht auf der Mehrfachreflektion an dünnen Schichten [2]. Die Bindung von Vancomycin an die Oberfläche führt zu einer Veränderung der optischen Schichtdicke des Substrats und somit zu einer Änderung des Reflektionsmusters. Dadurch können Wechselwirkungsprozesse zeitaufgelöst und markierungsfrei verfolgt werden und daraus die Konzentration bestimmt werden [Abb. 2]. Durch eine optimierte Oberflächenchemie gelingt es, störende Einflüsse, wie unspezifische Wechselwirkungen mit der Oberfläche, weitgehend zu unterdrücken, so dass Messungen in komplexen Fermentationsmedien möglich sind. Außerdem sind

die entwickelten Transducer für mehr als 200 Regenerationszyklen stabil und somit für eine quasi-online-Überwachung geeignet. Die mit dem Biosensor gewonnenen Daten zeigen dabei eine gute Übereinstimmung mit der Referenzanalytik mittels HPLC.

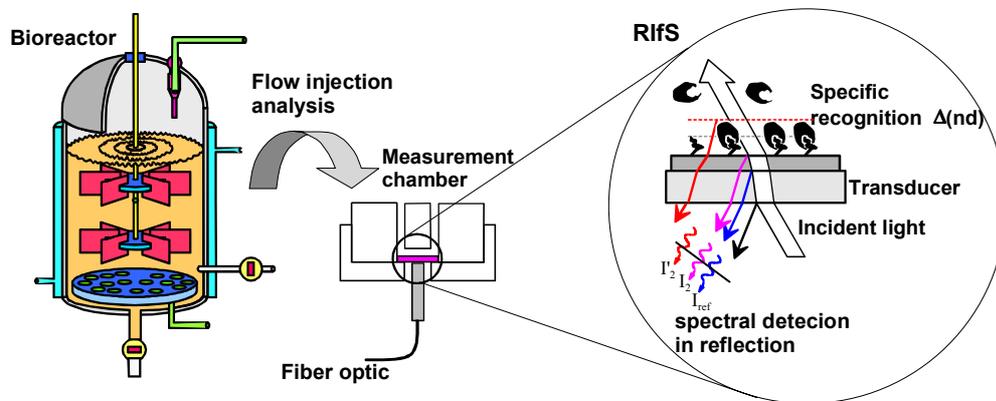


Abb. 1: Aufbau für eine online-Überwachung eines Fermentationsprozesses. Nach einer Sterilfiltration wird die Probe über ein Fließ-Injektionssystem zum Detektor transportiert und dort analysiert.

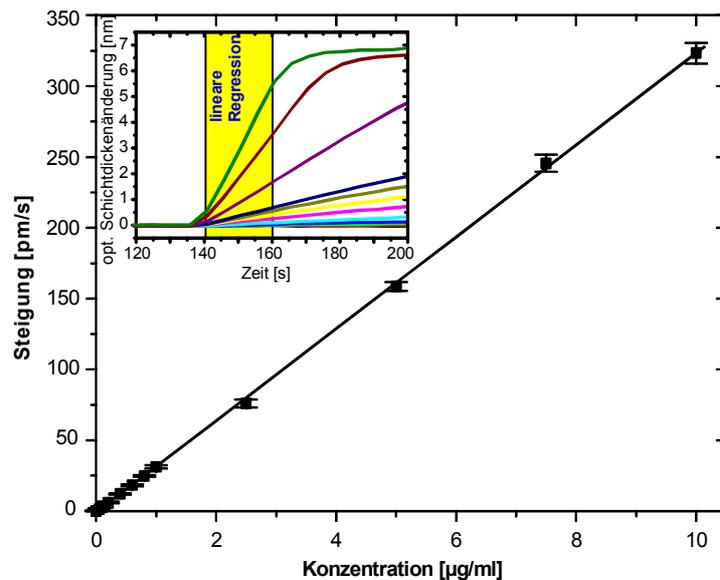


Abb. 2: Kalibrierkurve für Vancomycin. Unter diffusionslimierten Bedingungen erhält man eine Nachweisgrenze von $0,02\mu\text{g/ml}$ und einen linearen Arbeitsbereich bis $10\mu\text{g/ml}$.

Literatur

- [1] Nieto, M., Perkins, R., Biochem. J. (1971), 123, 789-803
- [2] Schmitt, H.-M., Brecht A., Piehler J., Gauglitz G., Biosensors & Bioelectronics 1997, 12, 809-816.
- [a] <http://www.barolo.ipc.uni-tuebingen.de/projects/environ/index.html>

Danksagung

Die Arbeiten wurden von der Bundesstiftung Umwelt im Rahmen des Projektes "Verbund Sensorik in der Biotechnologie" gefördert (Az. 13028/7).

Martin Mehlmann und Rolf Tünnemann werden durch das Graduiertenkolleg „Quantitative Analyse und Charakterisierung pharmazeutisch und biochemisch relevanter Substanzen“ der DFG unterstützt.