

バイオリアクターの 溶存酸素測定

翻訳・編集：営業開発課

文書番号：FF10296-B

更新日：2024 年 4 月 1 日

株式会社ティ・アンド・シー・テクニカル

本社

〒110-0003 東京都台東区根岸 1 丁目 2 番 17 号

住友不動産上野ビル 7 号館 5 階

代表 03-3871-1750、Fax 03-3871-1751

取手事業所

〒300-1514 茨城県取手市宮和田 448-1

代表 0297-83-0721、Fax 0297-82-7127

目 次

1、目的	3
2、バイオリアクターでの正確な測定	3
制御への影響	4
曝気装置とそのガス流量への影響	4
攪拌装置の影響	5
スケールアップ	5
センサーの取り付け位置の確認	5
センサーの深さ	5
センサーの取り付け角度	6
気泡の付着	6
3、測定精度を保つ	6
洗浄の実施	7
校正環境	7
校正手順	7
製造物を校正点とする場合	7

1、目的

溶存酸素 (DO) の測定は、バイオプロセスでの細胞増殖を最適化するための重要な制御パラメータとして用いられています。適切な DO 制御のためのさまざまな手順について多くのことが書かれていますが、実際の測定精度の最適化とプロセスにより生じる測定エラーの一般的な原因の解決に関しまとめられたものが少ないことがあります。このため本書では、主な測定エラーの原因と対応についてまとめています。

センサーの運用において、プロセス内の測定精度の維持のためにいくつかの状況が想定されます。プロセス側の状況として、仕様、構造があり、センサー側の状況として劣化があります。これらが相互に関係し測定が保たれています。プロセスにおける測定への影響は第 2 章、センサーの精度については第 3 章にまとめられています。プロセスについては原因を突き止め改善することで一定期間問題なく測定を行えるようになります。この一定期間の時間はプロセスの仕様により様々です。このため運用開始当初はセンサーの劣化を短期間に繰り返し検証し、校正と調整を通じてセンサーの精度寿命を確認します。最終的に調整が不可となる状況で交換となります。交換するものは通常検知部になります。なおプロセスの運用を続けることで、センサーの精度検証作業が繰り返され、最終的にプロセスに適した精度検証周期、交換周期を求めることができます。

2、バイオリアクターでの正確な測定

バイオリアクターは、適切な DO 測定と制御を使用し、液相の溶存酸素を測定することにより、気相から液相への OTR（酸素移動速度）と細胞の OUR（酸素取り込み速度）を最適化しています（図 1）。この OTR、OUR の酸素の量は、通気の程度を制御することにより最適化することになります。DO センサーで測定できるのは OTR のため、その最適値が「スケールごと」に検証され求められます。最適値を下回ると、細胞の成長が制限され（低酸素）、細胞死（無酸素）を生じる可能性があります。逆に高レベルの溶存酸素（高酸素症）は、酸素毒性による増殖阻害があります。また通気ガス（酸素または空気）の曝気方法により、泡が過剰に培地表面に蓄積、化学物質（消泡剤）をはじめ管理機器の運用コストが増加する可能性があります。

細胞のタイプに応じて、一般的な DO 制御は、+10% および -5% の上下限範囲で 30~60% の飽和空気に最適化されています。異なる細胞タイプ（例えば、哺乳類と細菌）は、OUR 値が大きく異なる傾向があります。このため細胞の種類に合わせた酸素濃度とするため、リアクターの設定は調整されるため、結果として細胞種、リアクター設計、スケールにより制御点とその範囲が決定されます。

制御への影響

曝気量の制御は、PID（比例、積分、微分制御）の組み合わせによって自動制御されます。DO センサー測定値がフィードバック信号となって入力されますが、ここで課題になるのはセンサーの応答性と制御への影響です。応答が遅い場合、通常 PID はより緩慢な応答になるため実際の酸素濃度の変動が大きく制御点に収束するのに時間がかかります。測定値が極端にばらつく場合も制御点への収束が困難になり生産物への影響が避けられません。

これらのリアクターごとに、理想的な曝気レベル、測定に影響せず洗浄性に影響しないセンサーの取り付け位置の決定、設定とセンサーの評価（校正周期の確認）、およびスケールアップでの評価を行います。

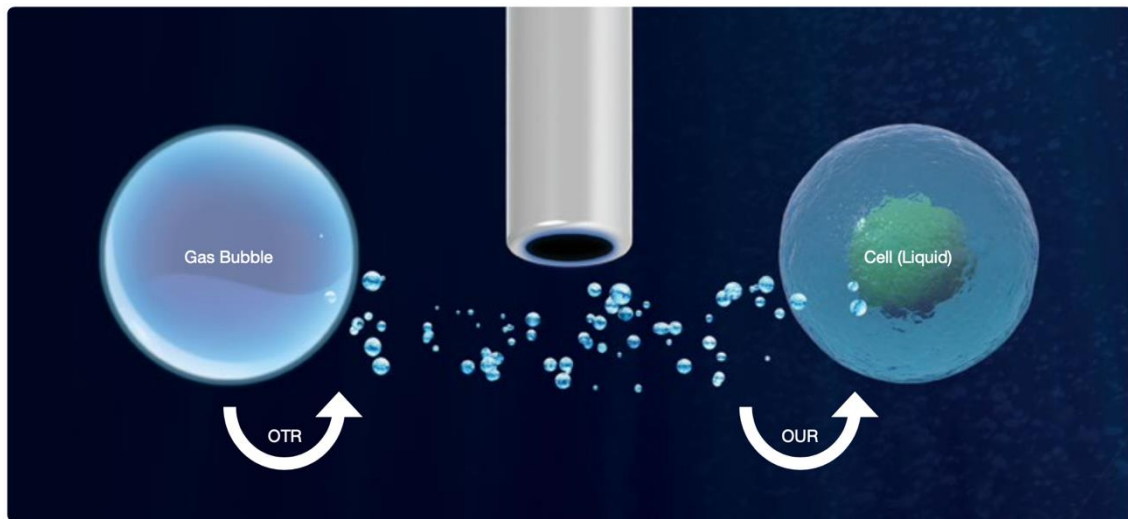


図 1：酸素は細胞によって消費（OUR-酸素取り込み速度）されるようにするため、気相から液相（OTR-酸素移動速度）に移動する必要があります。

曝気装置とそのガス流量への影響

バイオリアクターメーカーは、最適な OTR のために気泡のサイズを制御するように曝気装置を設計します。この時 DO センサーと曝気装置の位置関係を考慮する必要があります。センサーを気泡発生部に近づけすぎると、気泡の蓄積や気相酸素の干渉により、測定が不正確になる、測定値が安定しない可能性があります。また曝気装置から離しすぎると、大型リアクターでは DO を含む培地の層化（乱流がなく止まる）により、センサーの読み取り値がバイオリアクター全体の酸素濃度と一致しない可能性があります。

これらの影響で測定された DO により、先に記載した PID 制御が行われた結果、曝気用ガス流量の制御が設定値に到達しにくい状況、あるいは全体の酸素濃度が不適切な状態になる可能性があります。

攪拌装置の影響

攪拌速度が速いと OTR が増加することから、攪拌速度は DO 測定によりその効果を確認する上で重要です。単純には高い OTR は望ましいのですが、その状態を保つため攪拌を多くすると、細胞の物理的損傷や過度の泡の蓄積を引き起こす可能性があります。またバイオリアクターの中央にエアポケットが形成され、攪拌機の効果が制限される、渦効果が発生する可能性があります。一方、速度を下げすぎると、沈降や不完全な混合が発生し、化学薬品の供給制御が不適切になる可能性があります。

与えられたバイオリアクターの形状と OTR を最適化する攪拌装置の設計はさまざまで、それぞれのバイオリアクターの設計にあわせた設計と設定があり、DO 測定も装置ごとに最適な設置箇所と攪拌による DO の変化を検証し最適な設定条件を決めます。

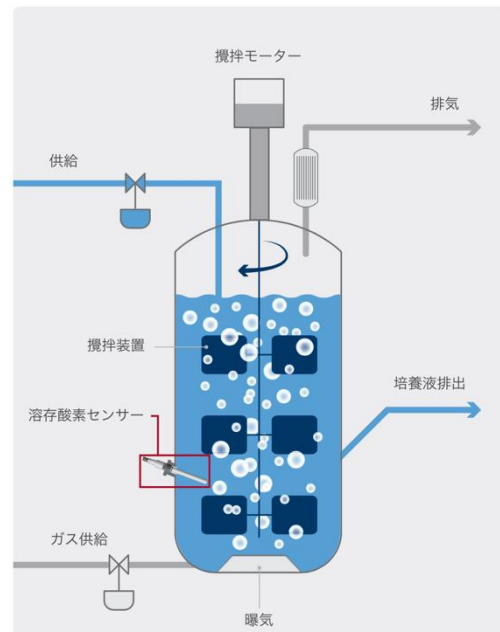


図2 基本的なバイオリアクターのレイアウト

スケールアップ

スケールアップは、多くの場合、実験室で通常見られるものとは大きく異なります。スケールアップの結果として容量が大きくなると、OTR は遅くなり、容量の増大から DO の濃度変化も遅くなります。このため単純に小規模の装置の PID 条件を単純比例で設定した場合、DO センサーの正確な応答を得ることはできません。OTR と OUR の値を正確に予測するには、スケールアッププロセスで酸素の物質移動係数 kLa を一定とする必要がありますが、その状態を検証するには溶存酸素の制御条件の調整と検証をする必要があります。

曝気装置の位置、攪拌装置の運転条件、センサーの取り付け位置は、上記の通り DO 測定に対し物理的な影響があります。センサーのプロセス接続は小規模のものと異なる場合が多く、センサーのホルダー位置、センサー先端の挿入深さの変更が生じる場合があります。リアクターの物理的影響を小さくするには、センサー検知部（先端部）は容器内の乱流に完全に入るよう調整する必要があります。

センサーの取り付け位置の確認

センサーを設置する場合は、DO センサーの取り付けを確認する必要があります（図3 および図4）。

センサーの深さ

垂直ヘッドプレートの設置では、液面がセンサーの先端より下に下がった場合に空気にさらされないようセンサーを容器内に十分に伸ばす必要があります。

サイドマウント設置の場合、DO センサーの先端はバイオリアクターの内壁から少なくとも 10mm 離れた位置にする必要があります。この長さにより、培地の入れ替わりが保たれ、リアクター内の溶存酸素の変化へ迅速な応答が保たれます。

センサー先端がホルダー表面と同じ面となるフラッシュタイプ、またはリアクター壁面への埋め込みタイプのセンサーの設置は、センサーに膜がつきやすく、その影響で応答が遅くなります。また衛生の問題が懸念されるため、リアクター内壁面とセンサー検知部面が一致するタイプの使用は避けるようにします。

センサーの取り付け角度

側面に取り付けられたセンサーの設置では、角度の付いたソケットが使用されるのが一般的です。

角度付き取り付けは、光学式 DO センサーでは必要ではありませんが、衛生上の理由から、角度の付いたソケットを使用します。ハミルトンは、デッドスペースの排水を最適化するために、水平に対して 15 度の角度を推奨しています。

気泡の付着

センサー先端に気泡が蓄積しやすいと、測定値が安定しにくくなります。これは、多くの場合、攪拌装置からのセンサー距離、容器内の成層、および攪拌装置の回転速度と相関する場合があります。一般的なガイドラインとして、この状態を回避するにはセンサーを曝気装置から離して配置します。また先端部と攪拌装置の距離を近づけることで先端部に気泡が付着しにくくなります。

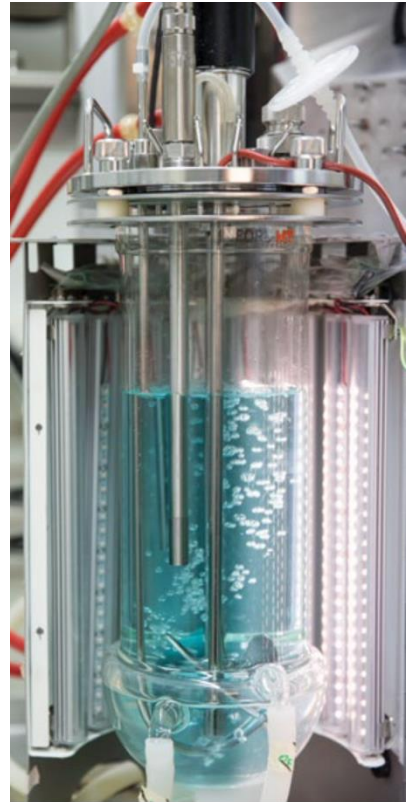


図3. 小型のベンチトップバイオリアクターでは、垂直に取り付けられることが一般的です。



図4. 生産規模のバイオリアクターでは、多くの場合、側面に取り付けられます。

3、測定精度を保つ

ほとんどの分析測定と同様に、現在の DO センサーは、精度を維持するために適宜校正を必要とします。

歴史的に、ポーラログラフセンサーは、電解質の劣化および被毒、アノード/カソードの素材の経年劣化による測定値の変化を生じます。これらの問題により、ユーザーは、製造バッチごとにポーラログラフセンサーを検証校正・記録を手順書に従い行います。

現在の光学式 DO センサーは、原理・構造の違いから劣化の状況が異なってきますが、同じよう

に測定値の誤差が大きくなっていくことで劣化を知ることになります。光学式は検知部の蛍光膜の退色、蛍光膜に対する化学的影響、高温の繰り返し曝露による蛍光膜の変化により誤差を生じてきます。検証校正はポーラログラフセンサーと同様の方法で行えます。

溶存酸素センサー共通の確認事項として、プロセスの温度、圧力、湿度などセンサーの校正環境を記録し、それらを含め検証校正の実施周期を定め、精度維持に必要な校正時期を定めるようにします。

洗浄の実施

測定器は適切な校正を行うことで、測定器本来の精度を発揮します。しかし精度の低下原因が先のような検知部の劣化だけでなく、検知部の汚れによる精度低下が発生する場合があります。汚れと考えられる精度低下が認められる場合は、保守手順書に従いセンサーの洗浄を実施してください。センサーの汚れの付着が頻繁に発生する場合、光学式 DO センサーでは汚れが付着しにくい PTFE 仕様の蛍光膜も用意されています。

校正環境

ハミルトンの光学式 DO センサーは環境が校正に適しにくいプロセスの現場での校正を避けるため、センサーはプロセスからの取り外しが容易な設計としています。

またハミルトンの光学式溶存酸素センサーはセンサー内部に校正した記録と補正係数、それを用いた測定値の算出機能、そして外部出力機能が備わっています。このためセンサー単体で測定精度が決まるため、交換後すぐに測定できます。

センサー本体をプロセスから外して PC と専用校正ソフトウェアのクリックキャルを使用し校正に適した環境で校正作業をします。センサーが装置に組み込まれているあるいはポータブル方式で使用されている場合、タッチパネルに組み込まれた校正機能を用いて行うこともできます。校正点の判定はセンサーが持つ品質判定機能により自動で調整校正を実施するようになっています。判定が NG の場合は、不合格の原因を表示します。その内容から問題点を解消し校正を再度実施するようにします。校正が終わりましたらセンサーをプロセスに取り付けて作業完了になります。

校正手順

校正は付属の手順書に記載される環境条件、校正機材、測定時間に従い作業を行うようにします。採用されている数値及び機材は変更しないようにします。これは校正結果の変化が変更による可能性を無くすためです。機材の変更等を検討する場合は、必ず旧手順と比較を実施し、問題がないことを確認してから行うようにします。

なお手順書は光学式センサー及びポーラログラフ式センサーの両方に共通で使用できます。

製造物を校正点とする場合

その標準物質が測定されている条件を校正点とする場合、専用の校正ソフトウェア「プロセスキャル」を使用するようにします。誤用しないように画面の色も標準の校正ソフトウェアと異なり赤色となっています。

