

细胞培养过程的氧气含量测量

在没有氧气的情况下，无法进行发酵和细胞培养——氧气对于生命至关重要，只有在氧气的消耗和供给之间达到良好的平衡时，才能确保细胞培养拥有最佳条件。那么操作者在选择传感器时应该考虑什么？为何光学传感器成为氧气测量的趋势呢？

文 / Klaus-Peter Mang 博士

氧含量和 pH 值是生物工程中最重要 的化工过程参数，需要对其进行监测。两者都会对细胞生长速度、产品的产量和质量产生着重要的影响。因此要使各个批次的产品质量保持一致，测量系统的选择非常重要。其中，安装、保养和系统安全性是用户在使用传感器时要特别考虑的因素。

近年来，光学传感器（如图 1 所示）主要用于氧气的测量，与安培传感器相比，它具有以下几个优势：

- 不需要极化；
- 不含电解质，因此无需加入腐蚀性化学物质；
- 初次使用前无需预处理；
- 仅需极少的保养；
- 无漂移。

与使用电化学原理的电流传感器不同，光学传感器采用的是



图 1 光学传感器

荧光猝灭原理，能精确快速地确定氧气浓度（如表 1 所示）。几年前，Mettler Toledo 研发了 Optocap 元件，该元件将传感器的光敏元件集成为一个部件，并且可以整体更换。该传感器元件可防止传

感器聚集气泡，从而避免了在测量信号的过程中产生噪声，使氧气测量稳定且有效。

集成诊断简洁明了

现代光学测量系统具有集成

PROCESS-Tip

* 更多信息请登录：
pharm.vogel.com.cn
* 反馈编码：210241

本文作者就职于 Mettler Toledo 公司。

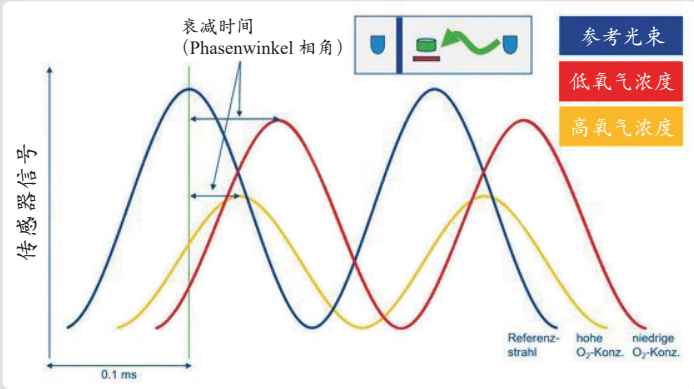
表 1 光学传感器和安培传感器测量方法的比较

光学传感器	安培传感器
无电解液	含 KCl 的 NaOH (pH = 13)
无需极化	保养后至少 6 h 才能再极化
没有最低流速	在某些应用中测量值取决于流量
非线性传感器信号, 针对传感器特定的校准	线性 nA 信号和氧气浓度, 提供直接信息的传感器信号
响应时间很短	由扩散来决定响应时间
信号稳定性高	过硬且可靠的技术

表格来源: Mettler Toledo

光学传感器测量的工作方式

物理学和化学原理的应用



图片来源: Mettler Toledo

图 2 光学传感器的信号表现

光学传感器的工作原理为淬灭荧光。染料（生色团）固定在有机硅层中，并在可更换组件（光罩）中形成光学测量系统的敏感部分。LED 光源发出脉冲信号，刺激染料发出荧

光，该荧光被引导至光敏检测器。如果氧气从测量介质扩散到硅层中，则荧光强度会降低。氧气浓度低时的荧光信号强度会高于氧气浓度高时的荧光信号强度。此外，反应时间（荧光衰减时间）

也不同。氧气浓度低时染料发出的荧光比氧气浓度高时发出的时间要长。衰减时间主要用于计算氧气浓度。

斯特恩 - 沃尔默动力学关系式为光学传感器奠定了基础。在此方程式中，延时不以直接的时间单位进行计算，而是以相位角 ϕ 进行计算。作为参考点的参考光束直接被导向光检测器，并与测量光束同时作为脉冲信号生成。在传感器中，测量光束通过光导体从光源引导至 Optocap 元件，在那里产生的荧光也会通过光导体引导到检测器。光学传感器的基本信号表现如图 2 所示。

诊断功能，该功能会以纯文本形式告知用户何时需要更换 Optocap 元件，以及它在给定的过程条件下还可以使用多长时间。此外，该系统的计时器功能还会显示下一次校准和调整的时间。这些系统能够自动检测测量过程的稳定性，利用校准数据和当前过程条件预先计算出可能出现的传感器漂移，再通过预计的偏差校正测量值，以实现长期稳定性。此外，

它们还可以自动检测清洁（CIP 在线清洁）循环和灭菌或高压灭菌（SIP 在线灭菌）循环的次数，并设定 CIP 和 SIP 循环的最大连续次数。

通过 PC 或笔记本电脑进行校准和调整

只有精确校准的测量系统才能提供准确的测量值。光学传感器采用的是两点校准：一是以空

气作为校准介质，空气的组分非常恒定，包含 20.95Vol-% 的氧气；二是在无氧介质中进行校准，如纯度至少为 99.995Vol-% 的氮气。在空气中进行校准时，必须同时考虑空气湿度和当前的大气压，在校准过程中将其输入到测量设备中，便可以计算出正确的氧分压。

现在可以通过网络或天气 App 就能够轻松地查询到这些数

据。光学传感器也可以通过带有气压和湿度传感器的 USB 接口，直接在电脑上进行校准和调整。电脑的校准软件还可提供其他常用的功能，如数据库中的传感器管理、用户管理和全面的传感器诊断。

光敏传感器元件的使用寿命取决于工作条件。应用于生物技术时，每周使用该元件测量两批次，其使用寿命最长可达半年。当氧分压大于 60 hPa 且单批使用时间持续 3 ~ 5 天时，通常每隔 5 ~ 10 个批次在空气中进行一点校准就足够了。当生物技术工艺过程更长，如分批补料式培养和灌注培养，且氧分压更大时，则应该在每批培养前在空气中进行一点校准。

更换 Optocap 元件后，必须再次进行两点校准。在批次培养开始时，对其进行通气，然后使用特殊的过程校准程序（缩放比例），将测量值设置为 100% 空气饱和度所需的起点。

含氧量高会缩短使用寿命

传感器的使用寿命是一个重要问题。传感器的使用寿命通常取决于 3 个因素：在高温、氧气浓度高且发色团同时被光照时，会降低传感器的使用寿命。这就是为什么在 CIP 和 SIP 循环以及不使用传感器时应关闭光学传感器中 LED 光源的原因。当测量设备接收到过程控制的数字信号时，测量设备将会关闭。另一种可能性是设定关闭温度（如设定为 42℃），一旦达到这个温度，传感器中的 LED 将自动关闭。

工艺集成的建议和技巧

光学传感器可以轻松地集成

到现有的工艺中，因为它们具有相同的工艺连接件和尺寸（直径和安装长度）以及卫生性能（CIP/SIP、介质材料和表面质量）。与传统的提供 nA 范围内的传感器电流作为原始值的安培传感器不同，光学传感器提供的是数字信号（相位角 phi）。

最佳配置是将光学传感器与兼容的变送器结合使用。这样做不仅可以得到纯度值，还可以处理大量的诊断数据。目前有用模拟或数字连接的方式可供选择，可以连接到现有的发酵控制器（生物控制器）或变送器。

降噪如何进行？

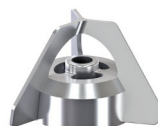
在台式发酵罐中，光学传感器通常垂直安装在盖子上。如果在充气过程中有气泡留在传感器尖端，则在有氧过程中会产生明显的信号噪声。通常这种情况会在常规的安培传感器中出现，即使设计不同，但光学传感器也会发生这种反应。对此，倾斜的尖端和疏水表面可以应对这一问题。它们使气泡无法黏附在传感器上并立即被排走，从而完全消除了信号噪声。

同种类型的传感器适用于不同大小的发酵罐

当要对生物技术过程进行最优化的监控时，光学传感器具有诸多优势。无论在研发台式小型发酵罐时，还是将中型发酵罐进行规模升级时，或者是在工艺研发（PD）中生产大型发酵罐时，使用相同型号的传感器，获得的测量值均一致。如今，已经有大量灵活的集成方案可用于将传统的安培传感器升级为现代光学传感器。

INNOVATE MAGNETIC TECHNOLOGY SINCE 1993

近 30 年专注磁力搅拌的研发及生产，拥有专业的技术研发团队，完美的产品质量，针对不同的工况可以提供精准有效的搅拌产品及技术服务，同时在国内拥有专门的售前售后人员为客户提供一流的服务保障。



CONTACT US

SEDNA CHINA OFFICE

Tel.: 0532-6776-9113

E-Mail: sednaeng_china@163.com

Web: WWW.SEDNAENG.COM

Add. 山东省 青岛市 城阳区 正阳路 151 号



SEDNA ENG

INNOVATIVE TECHNOLOGY SINCE 1993