

# Zusammenfassung

Die Optimierung von Bioprocessen setzt ein tiefgreifendes verfahrenstechnisches Verständnis für das verwendete Kultivierungssystem (Bioreaktor) voraus. Die verfahrenstechnische Charakterisierung eines Bioreaktors wird klassisch mittels experimenteller Untersuchungen im Labor oder mittels numerischer Strömungsmechanik (computational fluid dynamics, CFD) durchgeführt. Letzteres bietet die Möglichkeit örtlich und zeitlich aufgelöste Daten zu generieren, was eine umfangreichere Charakterisierung erlaubt. Des Weiteren können Bioreaktoren am Rechner optimiert und designt werden. In dieser Arbeit wurden unterschiedlich mechanisch angetriebene Bioreaktoren verfahrenstechnisch mittels CFD untersucht, wobei die Kolmogorov-Länge beziehungsweise deren zeitliche und räumliche Verteilung jeweils im Zentrum stand. Die bioverfahrenstechnische Charakterisierung mittels CFD hat sich für gerührte Bioreaktoren etabliert. Nicht gerührte und nicht-rigide Systeme wie wellendurchmischte Bioreaktoren werden nach wie vor hauptsächlich experimentell untersucht. Oftmals werden für CFD-Untersuchungen nur vereinfachte Geometrien und Bewegungen angenommen. Anhand des wellendurchmischten CELL-tainer Bioreaktors mit zwei Bewegungsfreiheitsgraden (Rotation und Translation) konnte gezeigt werden, dass ein anderer Ansatz möglich ist. Die komplexe Bewegung dieses Bioreaktors wurde mittels passiver Bewegungsverfolgung digitalisiert. Dazu wurde die Bioreaktorgeometrie mit Bodenausgleichsmasse ausgegossen und mit einem 3D-Scanner digitalisiert. Die anschließend durchgeführten CFD-Untersuchungen am CELL-tainer Bioreaktor haben gezeigt, dass durch die Bewegung mit zwei Freiheitsgraden der Sauerstofftransport begünstigt wird (im Vergleich zu einem Freiheitsgrad wie dies bei einem klassischen wellendurchmischten Bioreaktor der Fall ist). Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass zu keinem Zeitpunkt der Bewegung und für keine Prozessparametereinstellung die Kolmogorov-Länge einen für Säugerzellkulturen kritischen Wert erreichte. Mittels humaner embryonaler Nierenzellen (Human embryonic kidney cells, HEK-Zellen) FreeStyle™ 293-F Kultivierungen konnte für unterschiedlich mechanisch angetriebenen Bioreaktoren demonstriert werden, dass mit erhöhtem spezifischen Leistungseintrag die maximale Lebendzellichte sogar vergrößert werden kann. Der optimale spezifische Leistungseintrag in Bezug auf die maximale Lebendzellichte lang mit  $233 \text{ Wm}^{-3}$  deutlich höher als die in der Literatur typischerweise beschriebenen  $60 \text{ Wm}^{-3}$  bis  $80 \text{ Wm}^{-3}$ . Zudem konnte erstmals gezeigt werden, dass die Aggregatsgrößenverteilung von HEK293-F Zellen zum Zeitpunkt der maximalen Lebendzellichte strikt einer geometrischen Verteilung folgen. Der Parameter  $p$ , welcher diese Verteilung beschreibt, entspricht dabei dem Anteil an viablen, nichtaggregierten Zellen. Der Anteil an nichtaggregierten Zellen ist für alle untersuchten Bioreaktoren (Schüttelkolben mit und ohne Schikanen, wellendurchmischte Bioreaktoren und gerührte Bioreaktoren im Labor- und Pilotmassstab) linear von der mittleren Kolmogorov-Länge abhängig und kann somit mittels CFD vorhergesagt werden. Der spezifische Leistungseintrag, welcher das am häufigsten eingesetzte Massstabsübertragungskriterium ist, repräsentiert lediglich einen Mittelwert im untersuchten Bioreaktor. In dieser Arbeit wurde zum ersten Mal wesentlich erfolgreich die Kolmogorov-Längenverteilung als Massstabsübertragungskriterium für geometrisch nicht-ähnliche gerührte Bioreaktoren eingesetzt. Dabei wurde ein HEK293-F Batchprozess vom 4 L Labormassstab auf einen 30 L Pilotmassstab skaliert. Um eine vergleichbare Kolmogorov-Längenverteilung zu erhalten, wurde eine automatisierte Optimierung der Rührergeometrie und -positionierung durchgeführt und mittels Kolmogorov-Smirnov Test mit dem Labormassstab verglichen. Die Kultivierungen haben gezeigt, dass mit diesem Ansatz vergleichbare maximale Lebendzellichten ( $5.60 \cdot 10^6 \text{ Zellen mL}^{-1}$ ) erreicht werden können wie im Labormassstab ( $5.77 \cdot 10^6 \text{ Zellen mL}^{-1}$ ). Die Referenzkultivierungen, bei welchen der spezifische Leistungseintrag als Massstabsübertragungskriterium verwendet wurde, resultierten in tieferen maximalen Lebendzellichten ( $5.02 \cdot 10^6 \text{ Zellen mL}^{-1}$ ).

## Abstract

The optimization of bioprocesses requires a profound bioengineering understanding of the cultivation system (bioreactor) used. The bioengineering characterization of a bioreactor is classically carried out by means of experimental investigations in the laboratory or by computational fluid dynamics (CFD). The latter offers the possibility to generate spatial and temporal resolved data, which allows a more comprehensive characterization. Furthermore, bioreactors can be optimized and designed on the computer. In this work, different mechanically driven bioreactors were investigated by CFD, focusing on the Kolmogorov length scale and its temporal and spatial distribution. Bioengineering characterization by CFD has been well-established for stirred bioreactors. Non-stirred and non-rigid systems such as wave-mixed bioreactors are still mainly investigated experimentally. Often, only simplified geometries and motions are assumed for CFD studies. Using the wave-mixed CELL-tainer bioreactor with two degrees of freedom (DOF) motion (rotation and translation), it could be shown that a different approach is possible. The complex motion of this bioreactor was digitized using passive motion tracking. For this purpose, the bioreactor geometry was filled with levelling compound and digitized with a 3D scanner. The subsequent CFD investigations on the CELL-tainer bioreactor showed that the two DOF motion favors oxygen transport (compared to one DOF as in a classical wave-mixed bioreactor). Furthermore, it was shown that at no time during the movement and for no process parameter setting did the Kolmogorov length scale reach a critical value for mammalian cell cultures. Using human embryonic kidney (HEK) cells FreeStyle™ 293-F cultivations, it was demonstrated for different mechanically driven bioreactors that the maximum viable cell density (VCD) can even be increased with increased specific power input. The optimal specific power input with respect to the maximum VCD is  $233 \text{ Wm}^{-3}$ , which is significantly higher than the  $60 \text{ Wm}^{-3}$  to  $80 \text{ Wm}^{-3}$  typically described in literature. Moreover, it was shown for the first time that the aggregate size distribution of HEK293-F cells at the time of maximum VCD strictly follows a geometric distribution. The parameter  $p$  describing this distribution corresponds to the proportion of viable, non-aggregated cells. The fraction of non-aggregated cells is linearly dependent on the mean Kolmogorov length scale for all investigated bioreactors (shake flasks with and without baffles, wave-mixed bioreactors and stirred bioreactors in laboratory and pilot scale) and can thus be predicted by CFD. The specific power input, which is the most commonly used scale transfer criterion, represents only an average value in the studied bioreactor. In this work, the Kolmogorov length scale distribution was successfully used for the first time knowingly as a scale transfer criterion for geometrically nonsimilar stirred bioreactors. In this work, a HEK293-F batch process was scaled from a 4 L laboratory scale to a 30 L pilot scale. To obtain a comparable Kolmogorov length scale distribution, automated optimization of stirrer geometry and positioning was performed and compared to the laboratory scale by the Kolmogorov-Smirnov test. The cultivations showed that comparable maximum VCDs ( $5.60 \cdot 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$ ) can be achieved using this approach as in the laboratory scale ( $5.77 \cdot 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$ ). The reference cultivations, in which the specific power input was used as the scale transfer criterion, resulted in lower maximum VCDs ( $5.02 \cdot 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$ ).