



(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO



(10) Identifikator
dokumenta:

HR P20220153 T1

HR P20220153 T1

(12) **PRIJEVOD PATENTNIH ZAHTJEVA
EUROPSKOG PATENTA**

(51) MKP:

C12M 1/34 (2006.01)

C12M 1/36 (2006.01)

(46) Datum objave prijevoda patentnih zahtjeva: 15.04.2022.

(21) Broj predmeta: P20220153T

(22) Datum podnošenja : 28.10.2016.

(86) Broj međunarodne prijave: PCT/EP2016076167
Datum podnošenja međunarodne prijave: 28.10.2016.

(96) Broj europske prijave patenta: EP 16788131.7
Datum podnošenja europske prijave patenta: 28.10.2016.

(87) Broj međunarodne objave: WO 2017072340
Datum međunarodne objave: 04.05.2017.

(97) Broj objave europske prijave patenta: EP 3368652 A1
Datum objave europske prijave patenta: 05.09.2018.

(97) Broj objave europskog patenta: EP 3368652 B1
Datum objave europskog patenta: 15.12.2021.

(31) Broj prve prijave: 15192387

(32) Datum podnošenja prve prijave: 30.10.2015.

(33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: EP

(73) Nositelj patenta:

(72) Izumitelji:

F. Hoffmann - La Roche AG, Grenzacherstrasse 124, 4070 Basel, CH
Christian Klinger, Sophie-Scholl-Strasse 14, 82377 Penzberg, DE
Detlef Eisenkraetzer, Erlenweg 14, 82393 Iffeldorf, DE
Katrin Greppmair, Sophie Scholl Strasse 18, 82377 Penzberg, DE
Claudia Schmidberger, Meisenweg 7, 89195 Staig, DE

(74) Zastupnik:

CPZ - CENTAR ZA PATENTE d.o.o., 10000 Zagreb, HR

(54) Naziv izuma:

PRAĆENJE ODSTUPANJA STANJA U BIOREAKTORIMA

HR P20220153 T1

PATENTNI ZAHTJEVI

1. Sustav (100) za praćenje odstupanja stanja stanične kulture u bioreaktoru (104, 106) od referentnog stanja stanične kulture u referentnom bioreaktoru (102), pri čemu bioreaktor sadrži isti medij (M1) kao i referentni bioreaktor, sustav koji sadrži:

- medij za pohranu (114) koji sadrži:

▪ PACO referentni profil (116), PACO referentni profil je prikaz varijacije referentne PACO vrijednosti ($PACO_{R-ti}$) u odnosu na vrijeme (ti), PACO referentni profil ukazuje na razliku u brzini ispuštenog plina CO₂ (ACO_{RM-ti}) izmjerenoj u referentnom bioreaktoru u odnosu na predviđenu brzinu ispuštenog plina CO₂ ($ACO_{R-EXP-ti}$) referentnog bioreaktora, pri čemu je navedena predviđena brzina ispuštenog plina CO₂ predviđena brzina ispuštenog plina navedenog medija u referentnom bioreaktoru u stanju ravnoteže pH-CO₂ uz odsutnost stanične kulture i pod uvjetom da je pH vrijednost medija u stanju ravnoteže identična pH vrijednosti (pH_{R-ti}) referentnog bioreaktora izmjerenoj pri mjerenju brzine ispuštenog plina CO₂ (ACO_{R-M-ti}) u referentnom bioreaktoru, PACO referentni profil koji ovisi o količini ispuštenog plina CO₂ koji proizvode stanice stanične kulture u referentnom bioreaktoru tijekom uzgoja stanične kulture;

▪ objekt podataka koji sadrži veze specifične za medij (136), a veza specifična za medij je specifična za medij (M1) te ukazuje na vezu između pH vrijednosti medija (M1) te odgovarajuće frakcije plina CO₂ u volumenu plina kada je spomenuti medij u stanju ravnoteže pH-CO₂ sa spomenutim volumenom plina te mu nedostaje stanična kultura;

- sučelje (128) za uzastopno primanje (212), u trenutnom vremenu (ti), trenutne brzine ispuštenog plina CO₂ ($ACO_{B1-M-ti}$, $ACO_{B2-M-ti}$) bioreaktora (104, 106) i trenutne pH vrijednosti (pH_{B1-ti} , pH_{B2-ti}) medija bioreaktora (104, 106) izmjerene tijekom uzgoja stanične kulture u bioreaktoru;

- jedinicu usporedbe (130) konfigurirane za računanje (214, 216), za svaku od primljenih trenutnih brzina ispuštenog plina CO₂:

▪ PACO vrijednost ($PACO_{B1-ti}$, $PACO_{B2-ti}$), PACO vrijednost koja pokazuje razliku brzine ispuštanja plina CO₂ ($ACO_{B1-M-ti}$, $ACO_{B2-M-ti}$) izmjerene u bioreaktoru (104, 106) u odnosu na predviđenu brzinu ispuštenog plina CO₂ ($ACO_{B1-EXP-ti}$, $ACO_{B2-EXP-ti}$), predviđena brzina ispuštenog plina CO₂ je predviđena brzina ispuštanja plina navedenog medija u navedenom bioreaktoru (104, 106) u stanju ravnoteže pH-CO₂ uz odsutnost stanične kulture i pod uvjetom da je pH vrijednost medija u stanju ravnoteže identična trenutnoj pH vrijednosti (pH_{B1-ti} , pH_{B2-ti}) bioreaktora (104, 106) mjereno pri mjerenju brzine ispuštanja plina CO₂ u bioreaktoru (104, 106), PACO vrijednost ovisno o količini ispuštenog plina CO₂ koju proizvode stanice stanične kulture u bioreaktoru tijekom uzgoja stanične kulture, izračunavanje PACO vrijednosti ($PACO_{B1-ti}$, $PACO_{B2-ti}$) koristeći kao ulaz:

◦ primljenu trenutnu brzinu ispuštanja plina CO₂ ($ACO_{B1-M-ti}$, $ACO_{B2-M-ti}$);

◦ primljenu trenutnu pH vrijednost (pH_{B1-ti} , pH_{B2-ti});

◦ ukupnu brzinu dotoka plina (TGI_{B1} , TGI_{B2}) u bioreaktor u vrijeme (ti) primanja trenutne brzine ispuštenog plina CO₂; i

◦ vezu specifičnu za medij (136);

▪ razliku između izračunate PACO vrijednosti ($PACO_{B1-ti}$, $PACO_{B2-ti}$) i odgovarajuće referentne PACO vrijednosti ($PACO_{R-ti}$) u PACO referentnom profilu (116);

jedinica usporedbe (130) konfigurirana je za izlaz (218) izračunate razlike, pri čemu izračunata razlika ukazuje na odstupanje stanja stanične kulture u bioreaktoru (104, 106) od referentnog stanja.

2. Sustav (100) prema patentnom zahtjevu 1, a odnos specifičan za medij je jednadžba $FCO_{2M1}(pH) = REL-M1(pH)$ dobivena matematičkim prilagođavanjem višestruko empirijski određenih parova pH vrijednosti medija (M1) odnosno mjerene frakcije plina CO₂ u volumenu plina, pri čemu:

- $FCO_{2M1}(pH)$ je predviđena frakcija plina CO₂ u volumenu plina iznad uzorka medija (M1) kada navedeni medij ima zadanu pH vrijednost i u stanju je ravnoteže pH-CO₂ s navedenim volumenom plina i nema staničnu kulturu;

- pH vrijednost je ulazna vrijednost parametra i predstavlja pH vrijednost medija (M1) u stanju ravnoteže pH-CO₂ uz odsutnost stanične kulture;

- pri čemu je REL-M1 niz od jednog ili više parametara (a₁, a₂, b₁, b₂, b₃) spojenih rukovateljima, a parametri se dobivaju:

▪ prilagodbom uzoraka medija (M1) kojima nedostaje stanična kultura za višestruke različite vrijednosti pH pa stoga puštajući uzorke da dosegnu ravnotežu pH-CO₂ s volumenom plina,

▪ određivanjem frakcije plina CO₂ u određenom volumenu plina u ravnoteži pH-CO₂ s medijem u uzorcima,

▪ pripremom grafa određenih frakcija plina CO₂ naspram određenih ravnotežnih vrijednosti pH uzorka,

▪ prilagođavanjem krivulje (502) u vrijednostima grafikona te izvođenjem parametara (a₁, a₂ ili b₁, b₂, b₃) odnosa specifičnog za medij iz prilagodene krivulje.

3. Sustav (100) prema bilo kojem od prethodnih patentnih zahtjeva, primljena trenutna brzina ispuštenog plina CO₂, primljena trenutna pH vrijednost, ukupna brzina dotoka plina u bioreaktor u određenom trenutku ti (t₀, t₁, ...,

tmax) i odnos specifičan za medij jedini su ulazni parametri za izračun PACO vrijednosti ($PACO_{B1-ti}$, $PACO_{B2-ti}$) za praćeni bioreaktor.

4. Sustav (100) prema bilo kojem od prethodnih patentnih zahtjeva, pri čemu je sustav konfiguriran za izračunavanje PACO vrijednosti ($PACO_{B1-ti}$, $PACO_{B2-ti}$), izračunavanje PACO vrijednosti uključuje:

- unošenje primljene trenutne pH vrijednosti u odnos specifičan za medij za izračunavanje predviđene koncentracije CO₂ („FCO_{2-EXP}”) u volumenu plina bioreaktora (104, 106) u stanju ravnoteže s medijem u trenutku mjerenja trenutne brzine ispuštanja CO₂ i trenutne pH vrijednosti;
- množenje predviđene koncentracije CO₂ („FCO_{2-EXP}”) s ukupnom brzinom dotoka plina u bioreaktor za dobivanje predviđene brzine ispuštanja plina CO₂ („ACO_{EXP}”) bioreaktora, pri čemu je predviđena brzina ispuštanja plina CO₂ predviđena brzina ispuštenog plina navedenog medija u stanju ravnoteže pH-CO₂ uz odsutnost stanične kulture i pod uvjetom da je pH vrijednost medija u stanju ravnoteže identična primljenoj trenutnoj pH vrijednosti unesenoj u odnos specifičan za medij; i
- oduzimanjem izmjerene brzine ispuštanja plina CO₂ ($ACO_{B1-M-ti}$, $ACO_{B2-M-ti}$) bioreaktora od predviđene brzine ispuštanja plina CO₂ ($ACO_{B1-EXP-ti}$, $ACO_{B2-EXP-ti}$) bioreaktora za dobivanje PACO vrijednosti.

5. Sustav (100) prema patentnom zahtjevu 4, pri čemu se izračunavanje predviđene brzine ispuštanja plina CO₂ ($ACO_{B1-EXP-ti}$, $ACO_{B2-EXP-ti}$) bioreaktora u trenutnom vremenu (ti) izvodi prema:

$ACO_{EXP-ti} [mol/min] = \left(\frac{FCO_{2-EXP-ti} [\%]}{100} \right) \times TGI_{B1} \left[\frac{mol}{min} \right]$, pri čemu je TGI_{B1} ukupna količina ulaska plina u bioreaktor (104, 106) u trenutnom vremenu (ti), i gdje je FCO_{2-EXP} predviđena koncentracija CO₂ u volumenu plina bioreaktora (104, 106) u stanju ravnoteže s medijem u trenutku mjerenja trenutne brzine ispuštanja plina CO₂ i trenutne pH vrijednosti.

6. Sustav (100) prema bilo kojem od prethodnih patentnih zahtjeva, pri čemu rezultat izračunate razlike uključuje:
- u slučaju da izračunata razlika (808, 810) između izračunate PACO vrijednosti ($PACO_{B1-ti}$, $PACO_{B2-ti}$) i odgovarajuće referentne PACO vrijednosti ($PACO_{R-ti}$) u PACO referentnom profilu (116) premašuje vrijednost praga, automatski emitira alarmni signal.

7. Sustav (100) prema bilo kojem od prethodnih patentnih zahtjeva, pri čemu medij predstavlja medij puferiran karbonatom.

8. Sustav (100) prema bilo kojem od prethodnih patentnih zahtjeva, pri čemu se referentni bioreaktor razlikuje od bioreaktora (104, 106) s obzirom na jednu ili više od sljedećih značajki:

- a) volumen plina u bioreaktoru,
- b) volumen medija u bioreaktoru,
- c) Reynoldsov broj bioreaktora,
- d) Newtonov broj bioreaktora,
- e) dimenzije bioreaktora,
- f) geometrijske značajke bioreaktora i/ili pregrade bioreaktora,
- g) konfiguracija miješalice,
- h) brzina miješanja,
- i) koeficijent prijenosa volumetrijske mase za kisik (kLa) bioreaktora,
- j) ukupnu brzinu ulaska plina i/ili brzinu ulaska O₂ i/ili brzinu ulaska N₂ i/ili brzinu ulaska CO₂,
- k) ulazno napajanje,
- l) tlak u bioreaktoru,
- m) vrijeme zadržavanja mjehurića plina u mediju,
- n) veličinu mjehurića plina i distribuciju u mediju,
- o) brzinu na površini,
- p) parametar izračunat kao derivat jednog ili više parametara a)-o).

9. Sustav (100) prema bilo kojem od prethodnih patentnih zahtjeva, pri čemu izračunavanje PACO vrijednosti ($PACO_{B1-ti}$) u trenutnom vremenu (ti) uključuje računanje, za svaku od primljenih trenutnih brzina ispuštenog plina CO₂ ($ACO_{B1-M-ti}$) i pH vrijednosti (pH_{B1-ti}) bioreaktora (104):

- očekivane frakcije ispuštenog plina CO₂ FCO_{2-B1-EXP-ti} [%] trenutnog volumena izlaznog plina bioreaktora (104) prema: $FCO_{2-B1-EXP-ti} [\%] = REL-M1 (pH_{B1-ti})$, pri čemu je FCO_{2-B1-EXP-ti} [%] predviđeni udio ispuštenog plina CO₂ u ukupnom volumenu ispuštenog plina (TGO_{B1}) bioreaktora (104) u % u trenutnom vremenu (ti), pri čemu se predviđanje izračunava korištenjem primljene trenutne pH vrijednosti (pH_{B1-ti}) kao ulaza za REL-M1 (pH_{B1-ti}), pri čemu je REL-M1 veza specifična za medij (136) medija (M1), pri čemu je pH_{B1-ti} primljena trenutna pH vrijednost u mediju bioreaktora (104, 106) u trenutnom vremenu (ti),

- očekivane brzine ispuštanja plina CO₂ $ACO_{B1-EXP-ti} [mol/min]$ prema:

$ACO_{B1-EXP-ti} [mol/min] = \left(\frac{FCO_{2-B1-EXP-ti} [\%]}{100} \right) \times TGI_{B1} \left[\frac{mol}{min} \right]$, pri čemu je vrijednost $ACO_{B1-EXP-ti} [mol/min]$ očekivana brzina ispuštanja plina CO₂ iz bioreaktora (104) kada medij bioreaktora ima trenutno izmjerenu pH vrijednost i u ravnoteži je pH-CO₂ s plinskom fazom gore navedenog medija u $\left[\frac{mol}{min} \right]$, pri čemu je TGI_{B1} ukupna količina ulaska plina u bioreaktor (104) u trenutnom vremenu (ti),

- $PACO_{B1-ti}$ vrijednosti [mol/min] prema: $PACO_{B1-ti} = ACO_{B1-EXP-ti}$ [mol/min] - $ACO_{B1-M-ti}$ [mol/min], pri čemu je $ACO_{B1-M-ti}$ [mol/min] brzina ispuštenog plina CO₂ u $\left[\frac{mol}{min}\right]$ izmjerena u vremenu t_i u bioreaktoru (104).
10. Sustav (100) prema bilo kojem od prethodnih patentnih zahtjeva, pri čemu medij u referentnom bioreaktoru ima prvi volumen (VRM) i prvu ukupnu masu, medij u bioreaktoru (104, 106) ima drugi volumen (V1M) i drugu ukupnu masu, prvi volumen i drugi volumen koji se međusobno razlikuju, izračun razlike između svake od izračunatih PACO vrijednosti ($PACO_{B1-ti}$) i odgovarajuće referentne PACO vrijednosti ($PACO_{R-ti}$) u PACO referentnom profilu (116, 402) koji se sastoji od:
- 5
- dijeljenja, pomoću procesora, izračunate PACO vrijednosti ($PACO_{B1-ti}$) drugim volumenom (VB1M); i dijeljenja, pomoću procesora, odgovarajuće referentne PACO vrijednosti ($PACO_{R-ti}$) u PACO referentnom profilu (116) prvim volumenom (VRM); ili
 - 10 - dijeljenja, pomoću procesora, izračunate PACO vrijednosti ($PACO_{B1-ti}$) drugom masom; i dijeljenja, pomoću procesora, odgovarajuće referentne PACO vrijednosti ($PACO_{R-ti}$) u PACO referentnom profilu (116) prvom masom.
11. Sustav (100) prema bilo kojem od prethodnih patentnih zahtjeva, pri čemu PACO referentni profil (116, 402) pokriva više faza rada referentnog bioreaktora, a faze obuhvaćaju:
- 15
- fazu bez hrane tijekom koje se stanična kultura uzgaja u referentnom bioreaktoru bez hranjenja;
 - fazu hranjenja tijekom koje se stanična kultura uzgaja u referentnom bioreaktoru uz prisutnost dane brzine hranjenja, pri čemu stanična kultura ne izlučuje metabolit koji utječe na pH vrijednost medija;
 - 20 - fazu hranjenja tijekom koje se stanična kultura uzgaja u referentnom bioreaktoru uz prisutnost dane brzine hranjenja, pri čemu stanična kultura izlučuje metabolit koji utječe na pH vrijednost medija.
12. Sustav (100) prema bilo kojem od prethodnih patentnih zahtjeva, pri čemu sustav sadrži kontrolnu jedinicu (132) konfiguriranu za automatsku modifikaciju jednog ili više kontrolnih parametara bioreaktora (104, 106) tako da je minimizirana razlika između izračunatih PACO vrijednosti ($PACO_{B1-ti}$) i odgovarajuće referentne PACO vrijednosti ($PACO_{R-ti}$) u PACO referentnom profilu (116).
- 25
13. Sustav (100) prema patentnom zahtjevu 12,
- pri čemu u slučaju da su PACO vrijednosti ($PACO_{B1-ti}$) veće od odgovarajućih referentnih PACO vrijednosti ($PACO_{R-ti}$) u PACO referentnom profilu, kontrolna jedinica automatski mijenja jedan ili više kontrolnih parametara bioreaktora (104, 106) provođenjem jedne ili više od sljedećih operacija: smanjiti ukupnu brzinu ulaska zraka i/ili smanjiti brzinu ulaska plina O₂ i/ili smanjiti brzinu ulaska plina CO₂ i/ili smanjiti osnovnu brzinu ulaska u bioreaktor (104, 106) i/ili modificirati tlak ili temperaturu bioreaktora;
 - 30 - pri čemu u slučaju da su PACO vrijednosti ($PACO_{B1-ti}$) niže od odgovarajućih referentnih PACO vrijednosti ($PACO_{R-ti}$) u PACO referentnom profilu, kontrolna jedinica automatski mijenja jedan ili više kontrolnih parametara bioreaktora (104, 106) provođenjem jedne ili više od sljedećih operacija: povećati ukupnu brzinu ulaska zraka i/ili povećati brzinu ulaska plina O₂ i/ili povećati brzinu ulaska plina CO₂ i/ili povećati osnovnu brzinu ulaska u bioreaktor (104, 106) i/ili modificirati tlak ili temperaturu bioreaktora.
- 35
14. Sustav (100) prema bilo kojem od prethodnih patentnih zahtjeva, pri čemu nadalje sadrži bioreaktor (104, 106).
15. Metoda za praćenje odstupanja stanja stanične kulture u bioreaktoru (104, 106) od referentnog stanja stanične kulture u referentnom bioreaktoru (102), pri čemu bioreaktor sadrži isti medij (M1) kao referentni bioreaktor, metoda koja obuhvaća:
- 40
- primanje, pomoću jedinice usporedbe (130) sustava za praćenje stanja bioreaktora (100), PACO referentnog profila (116), pri čemu je PACO referentni profil prikaz varijacije referentne PACO vrijednosti ($PACO_{R-ti}$) u odnosu na vrijeme (t_i), PACO referentni profil koji pokazuje razliku u brzini ispuštenog plina CO₂ (ACO_{R-M-ti}) izmjerenoj u referentnom bioreaktoru u odnosu na predviđenu brzinu ispuštenog plina CO₂ ($ACO_{R-EXP-ti}$) referentnog bioreaktora, spomenuta predviđena brzina ispuštanja plina CO₂ je predviđena brzina ispuštanja plina navedenog medija u referentnom bioreaktoru u stanju ravnoteže pH-CO₂ uz odsutnost stanične kulture i pod uvjetom da je pH vrijednost (pH_{R-M-ti}) medija u stanju ravnoteže identična pH vrijednosti referentnog bioreaktora izmjerenoj pri mjerenju brzine ispuštanja plina CO₂ (ACO_{R-M-ti}) u referentnom bioreaktoru, referentni profil PACO ovisi o količini plina CO₂ koji proizvode stanice stanične kulture u referentnom bioreaktoru dok se uzgaja stanična kultura;
 - 50 - primanje, pomoću jedinice usporedbe, objekta podataka koji sadrži veze specifične za medij (136), a veza specifična za medij je specifična za medij (M1) te ukazuje na vezu između pH vrijednosti medija (M1) te odgovarajuće frakcije plina CO₂ u volumenu plina kada je spomenuti medij u stanju ravnoteže pH-CO₂ sa spomenutim volumenom plina te mu nedostaje stanična kultura;
 - uzastopnog primanje (212), u trenutnom vremenu (t_i), trenutne brzine ispuštenog plina CO₂ ($ACO_{B1-M-ti}$, $ACO_{B2-M-ti}$) bioreaktora (104, 106) i trenutne pH vrijednosti (pH_{B1-ti} , pH_{B2-ti}) medija bioreaktora (104, 106) izmjerene tijekom uzgoja stanične kulture u bioreaktoru;
 - 55 - izračunavanje, pomoću jedinice usporedbe, za svaku od primljenih trenutnih brzina ispuštanja plina CO₂:
 - PACO vrijednosti ($PACO_{B1-ti}$, $PACO_{B2-ti}$), PACO vrijednosti koja pokazuje razliku u brzini ispuštanja plina CO₂ ($ACO_{B1-M-ti}$, $ACO_{B2-M-ti}$) izmjerenoj u bioreaktoru u odnosu na predviđenu brzinu ispuštanja plina CO₂ ($ACO_{B1-EXP-ti}$, $ACO_{B2-EXP-ti}$), predviđena brzina ispuštanja plina CO₂ je predviđena brzina ispuštanja plina navedenog medija u bioreaktoru u stanju ravnoteže pH-CO₂ uz odsutnost stanične kulture i pod
- 60

uvjetom da je pH vrijednost medija u stanju ravnoteže identična pH vrijednosti (pH_{B1-ti} , pH_{B2-ti}) bioreaktora (104, 106) izmjerenoj pri mjerenju brzine ispuštanja plina CO₂ u bioreaktoru (104, 106), PACO vrijednosti ovisno o količini ispuštenog plina CO₂ koju proizvode stanice stanične kulture u bioreaktoru tijekom uzgoja stanične kulture, izračunavanje PACO vrijednosti ($PACO_{B1-ti}$, $PACO_{B2-ti}$) koristeći kao ulaz:

- 5
- primljenu trenutnu brzinu ispuštanja plina CO₂ ($ACO_{B1-M-ti}$, $ACO_{B2-M-ti}$);
 - primljenu trenutnu pH vrijednost (pH_{B1-ti} , pH_{B2-ti});
 - ukupnu brzinu dotoka plina (TGI_{B1} , TGI_{B2}) u bioreaktor u vrijeme (ti) primanja trenutne brzine ispuštenog plina CO₂; i
 - vezu specifičnu za medij (136);
- 10
- razlike između izračunate PACO vrijednosti ($PACO_{B1-ti}$, $PACO_{B2-ti}$) i odgovarajuće referentne PACO vrijednosti ($PACO_{R-ti}$) u PACO referentnom profilu (116);
 - izlaz, pomoću jedinice usporedbe (130), izračunate razlike, pri čemu izračunata razlika ukazuje na odstupanje stanja stanične kulture u bioreaktoru (104, 106) od referentnog stanja.
16. Metoda prema patentnom zahtjevu 15, pri čemu PACO referentni profil sadrži više referentnih PACO vrijednosti, a metoda dalje uključuje izračunavanje referentnih PACO vrijednosti pomoću:
- 15
- primanja objekta podataka koji sadrži vezu specifičnu za medij;
 - uzastopnog primanja, u trenutnom vremenu (ti), trenutne brzine ispuštenog plina CO₂ (ACO_{R-M-ti}) referentnog bioreaktora (102) u $\left[\frac{mol}{min}\right]$ i trenutne pH vrijednosti (pH_{R-ti}) medija referentnog bioreaktora (102) izmjerene u navedenom trenutnom vremenu (ti) tijekom uzgoja stanične kulture u referentnom bioreaktoru;
- 20
- izračunavanja, za svaki od primljenih parova trenutne brzine ispuštanja plina CO₂ (ACO_{R-M-ti}) i trenutne pH vrijednosti (pH_{R-ti}), jedne od referentnih PACO vrijednosti ($PACO_{R-ti}$), izračunavanja referentne PACO vrijednosti koristeći kao ulaz:
 - primljenu trenutnu brzinu ispuštanja plina CO₂ (ACO_{R-M-ti}) referentnog bioreaktora;
 - primljenu trenutnu pH vrijednost (pH_{R-ti}) referentnog bioreaktora;
- 25
- ukupnu brzinu dotoka plina (TGI_R) referentnog bioreaktora u vrijeme (ti) primanja trenutne brzine ispuštenog plina CO₂; i
 - vezu specifičnu za medij (136).
17. Metoda prema patentnom zahtjevu 16, naznačena time, da dalje uključuje kreiranje PACO referentnog profila referentnog bioreaktora (102) pomoću:
- 30
- crtanja referentnih PACO vrijednosti ($PACO_{R-ti}$) na grafikonu ovisnosti brzine ispuštenog plina CO₂ o vremenu;
 - uklapanja krivulje u iscrtane referentne PACO vrijednosti, pri čemu navedena krivulja čini referentni PACO profil.
- 35
18. Metoda prema patentnom zahtjevu 16 ili 17, pri čemu izračunavanje svake od referentnih PACO vrijednosti ($PACO_{R-ti}$) u odgovarajućim trenutnim vremenima (ti) uključuje izračunavanje, za svaku od primljenih trenutnih brzina ispuštenog plina CO₂ (ACO_{R-M-ti}) i pH vrijednosti referentnog bioreaktora (102):
- 40
- očekivane frakcije ispuštenog plina CO₂ $FCO2_{R-EXP-ti}$ [%] trenutnog volumena izlaznog plina referentnog bioreaktora (102) prema: $FCO2_{R-EXP-ti}$ [%] = REL-M1 (pH_{R-ti}), pri čemu je $FCO2_{R-EXP-ti}$ [%] predviđeni udio ispuštenog plina CO₂ u ukupnom volumenu ispuštenog plina (TGO_R) referentnog bioreaktora (102) u % u trenutnom vremenu (ti), predviđanje se izračunava korištenjem primljene trenutne pH vrijednosti (pH_{R-ti}) kao ulaza za REL-M1 (pH_{R-ti}), pri čemu je REL-M1 veza specifična za medij (136) medija (M1), pri čemu je pH_{R-ti} trenutna pH vrijednost u mediju referentnog bioreaktora (102) primljena u vremenu ti,
 - očekivane brzine ispuštanja plina CO₂ $ACO_{R-EXP-ti}$ [mol/min] prema: $ACO_{R-EXP-ti}$ [mol/min] = $\left(\frac{FCO2_{R-EXP-ti} [\%]}{100}\right) \times TGI_R \left[\frac{mol}{min}\right]$, pri čemu je vrijednost $ACO_{R-EXP-ti}$ [mol/min] očekivana
- 45
- brzina ispuštenog plina CO₂ referentnog bioreaktora (102) u $\left[\frac{mol}{min}\right]$, pri čemu je TGI_R ukupna količina ulaska plina u referentni bioreaktor (102) u trenutnom vremenu (ti),
 - $PACO_{R-ti}$ vrijednosti [mol/min] prema: $PACO_{R-ti}$ = $ACO_{R-EXP-ti}$ [mol/min] - ACO_{R-M-ti} [mol/min], pri čemu je ACO_{R-M-ti} [mol/min] brzina ispuštenog plina CO₂ u $\left[\frac{mol}{min}\right]$ izmjerena u vremenu ti u referentnom bioreaktoru (102);
- 50
- $PACO_{R-ti}$ vrijednosti [mol/min] prema: $PACO_{R-ti}$ = $ACO_{R-EXP-ti}$ [mol/min] - ACO_{R-M-ti} [mol/min].