

Messtechnik in Upstream und Downstream Processing

Darauf sollten Sie achten

In biotechnischen Produktionsanlagen laufen die Prozesse heute praktisch ohne menschlichen Eingriff und vollautomatisiert ab. Nur dadurch können qualitativ hochwertige Produkte hergestellt und reproduzierbare Prozesse mit lebenden Expressionssystemen bestmöglich erreicht werden. Worauf man bei der messtechnischen Ausrüstung solcher Anlagen achten sollte, erfahren Sie in diesem Beitrag.

Schon in der Prozessentwicklung und auf dem Weg entlang der klinischen Phasen sind Verfahrensentwickler auf verlässliche Messtechniken für die verschiedensten Parameter angewiesen. Im Rahmen von Quality-by-Design-Konzepten werden schon früh bestimmte Parameter erhoben, um das Prozessverständnis zu erhöhen. Beispiele in Fermentation und Zellkultur sind die Gesamtzellzahl, die Lebendzellzahl, die Zielproteinkonzentration, bestimmte Substrate und Metabolite.

In den biotechnischen Kernprozessen, also in der Fermentation bzw. Zellkultur sowie im Downstream Processing, werden die Messgrößen Temperatur, Druck, Durchfluss, Füllstand und Grenzstand durchgängig erhoben (Tabelle 1). Dabei machen Temperatur und Druck (inkl. Manometer) zusammen 50 bis 70 % der gesamten verbauten Messstellen aus. Eine besondere Bedeutung kommt auch den analytischen Online-Messungen zu pH, pO_2 , pCO_2 , Leitfähigkeit und den verschiedenen Trübungsverfahren mit sichtbarem, UV- oder NIR-Licht zu. Die Parameter TOC und Ozon spielen in der Biotechnologie nur in der Wassererzeugung und im Verteilsystem eine Rolle. Die Schaumdetektion wird ausschließlich in Fermentation und Zellkultur eingesetzt und heute in der Regel konduktiv gelöst, da die Schaumdichten zur Detektion mit Schwinggabelsensoren häufig nicht ausreichen und schwer reproduzierbar sind.

Die Zahl der gemessenen Parameter in der Prozessentwicklung ist noch immer höher als im späteren Produktionsmaßstab. In naher Zukunft könnte aber vermehrt mit einem Transfer neuer Messparameter aus der Prozessentwicklung in die Produktion gerechnet werden, sofern diese Parameter qualitätsrelevant sind. Obwohl mehr Messungen auch mehr Prozess-



Bild 1: In biotechnischen Anlagen werden eine Vielzahl von Parametern bestimmt. Armaturen CPA475 zur vollautomatischen Messung, Reinigung und Kalibrierung von Analyseparametern erleichtern den Arbeitsprozess.

informationen liefern, sind Anlagenbetreiber natürlich bestrebt, die Betriebskosten und damit auch den Instandhaltungs- und Kalibrierungsaufwand für die installierte Basis zu minimieren. Die Investitionskosten spielen eine Rolle. Ihre Bedeutung schwindet aber zunehmend zugunsten einer umfänglichen Betriebskostenbetrachtung für die Instrumentierung, da diese Kosten über viele Jahre anfallen und kumuliert die Höhe der Erstinvestition deutlich übersteigen. Im Rahmen von erhöhten Effizienzvorgaben für die Betriebe liegt der Fokus vieler pharmazeutischer Unternehmen heute vor allem auf langfristiger Wirtschaftlichkeit.

— Kritikalität von Messstellen

Der Kritikalitätsbewertung kommt eine große Bedeutung zu. Diese Bewertung entscheidet über die Auswirkungen eines Versagens einer Messstelle auf das Produkt, den Prozess und

Autor



Philipp Garbers
Branchenmanager Life Sciences,
Endress+Hauser

die Sicherheit von Umwelt und Personal. Je nach Einstufung werden Art, Umfang und Intervall der Kalibrierung festgelegt. Liefert eine Messstelle hingegen nur Informationen über den Betrieb der Anlage wird sie in der Regel als nicht kritisch eingestuft.

Heute haben sich mehrere Modelle zur Bewertung der Kritikalität durchgesetzt (Tabelle 2). Diese ordnen die gesamte installierte Basis an Messstellen Kategorien zu. Geräte der höchsten Kategorie sind kritisch, d. h. sie werden nur nach Vorliegen des Werkskalibrierzertifikates vom Hersteller eingebaut, dann innerhalb eines definierten Zeitraums vor Ort erstkalibriert und in regelmäßigen Intervallen rekali-
briert. Innerhalb der kritischen Geräte kann noch zwischen Einfluss auf Qualität, Prozess und Sicherheit/Umwelt differenziert werden. Dies schlägt sich dann vor allem in einer Anpassung des Kalibrierintervalls nieder. Qualitätskritische Messstellen werden heute mit Kalibrierzyklen von drei bis zwölf Monaten bewertet. Bei den als unkritisch eingestuften Messstellen geht die Praxis je nach Modell stark auseinander. Mal wird erst- und rekali-

Prozess	Anlagen	Online-Messgrößen in der Biotechnologie																	
		Prozessmessgrößen						Analytische Messgrößen											
		Temperatur	Druck	Durchfluss	Füllstand	Grenzstand	Schaum	Leitfähigkeit	pH	pO ₂	pCO ₂	Trübung (UV, NIR & VIS)	TOC	Ozon	Gesamtzellzahl	Lebendzellzahl	Zielprotein	Substrate	Metabolite
Upstream Processing	Medienansatz	X	X	X	X	X	-	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Fermentation	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	-	-	-	X	X	X	X	X
	Zellkultur	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	-	-	X	X	X	X	X
	Ernte	X	X	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Downstream Processing	Zentrifugation	X	X	X	X	X	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-
	Filtration	X	X	X	X	X	-	X	X	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-
	Chromatographie	X	X	X	X	X	-	X	X	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-
Utilities	WFI-Erzeugung	X	X	X	X	X	-	X	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-
	WFI-Verteilung	X	X	X	X	X	-	X	-	-	-	-	X	X	-	-	-	-	-
	Reinstampf-Erzeugung	X	X	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Autoklavierung	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Reinigung	X	X	X	X	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Logistics	CIP-System	X	X	X	X	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Abfüllung	X	X	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Freeze & Thaw	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Messparameter in Prozessentwicklung & Produktion															Gelegentlich gemessen in Prozessentwicklung, sehr selten in Produktion				

ohne Reinraumesstechnik

Tabelle 1: In biochemischen Prozessanlagen werden verschiedene Messungen in den einzelnen Bereichen eingesetzt

briert, mal nicht, mal wird aktiv die Funktion kontrolliert, mal reaktiv.

— Beispiele für kritische Messstellen

Kritische Messstellen gibt es im Fermenter einige. So hat beispielsweise ein Versagen der Druckmessung einen Einfluss auf die Begasung und Sauerstoffregelung im Medium und ist damit direkt relevant für Kultur und Produkt. Zudem kommt in einem druckbeauf-

schlagten Behälter ein Sicherheitsaspekt für das Personal hinzu. Durch einen Ausfall der Schaumdetection könnte der Abluftfilter verblocken und dadurch die Sauerstoffregelung in aeroben Kulturen unmöglich werden. Eine fehlerhafte pH-Messung sorgt beispielsweise dafür, dass der optimale Kulturbereich der Zellen verlassen und zudem die Stabilität des Zielproteins gefährdet wird. Die Versorgung aerober Zellen mit Sauerstoff

Daten & Fakten

Unterschied zwischen Kalibrierung und Verifikation

Aus dem „Internationalen Wörterbuch der Metrologie“ (fr. Vocabulaire international des termes fondamentaux et généraux de métrologie VIM):

Kalibrierung nach VIM:
Tätigkeit, die unter festgelegten Bedingungen in einem ersten Schritt eine Beziehung zwischen den durch Normale zur Verfügung gestellten Größenwerten mit ihren Messunsicherheiten und den entsprechenden Anzeigen mit ihren beigeordneten Messunsicherheiten herstellt und in einem zweiten Schritt diese Information verwendet, um eine Beziehung herzustellen, mit deren Hilfe ein Messergebnis aus einer Anzeige erhalten wird (VIM 2.39).

Verifikation nach VIM:
Erbringung eines objektiven Nachweises, dass eine Betrachtungseinheit die spezifizierten Anforderungen erfüllt (VIM 2.44).

2 Kategorien	3 Kategorien	4 Kategorien	Kalibrierintervalle in der Praxis
Kategorie "Kritisch" - Einbau nur, wenn Werkskalibrierzertifikat vorliegt - Erstkalibrierung nach Einbau - Rekalibrierung in festen Intervallen	Kategorie A "Kritisch" - Einbau nur, wenn Werkskalibrierzertifikat vorliegt - Erstkalibrierung nach Einbau - Rekalibrierung in festen Intervallen	Kategorie 1 "Qualitätskritisch" - Einbau nur, wenn Werkskalibrierzertifikat vorliegt - Erstkalibrierung nach Einbau - Rekalibrierung in festen Intervallen	3-12 Monate
		Kategorie 2 "Prozesskritisch" - Einbau nur, wenn Werkskalibrierzertifikat vorliegt - Erstkalibrierung nach Einbau - Rekalibrierung in festen Intervallen	12 Monate
		Kategorie 3 "Sicherheits- und Umweltkritisch" - Einbau nur, wenn Werkskalibrierzertifikat vorliegt - Erstkalibrierung nach Einbau - Rekalibrierung in festen Intervallen	12-24 Monate
Kategorie "Unkritisch" - keine Rekalibrierung - ggf. Funktionskontrolle	Kategorie B "Weniger kritisch" - Einbau nur, wenn Werkskalibrierzertifikat vorliegt - Erstkalibrierung nach Einbau - keine Rekalibrierung	Kategorie 4 "Unkritisch" - Rekalibrierung in festen Intervallen oder - Funktionskontrolle oder - keine Rekalibrierung	12-24 Monate
	Kategorie C "Unkritisch" - Einbau nur, wenn Werkskalibrierzertifikat vorliegt - keine Rekalibrierung		

Tabelle 2: Heute haben sich mehrere Modelle zur Bewertung der Kritikalität durchgesetzt. Diese ordnen die gesamte installierte Basis an Messstellen unterschiedlichen Kategorien zu.



Bild 2: Geführte Radarmessung am Fermenter mit Levelflex erfüllt die Anforderungen der ASME BPE (links)



Bild 3: Temperaturkalibrierung im Ölbad mit TM411-QuickNeck-Anschluss ermöglicht werkzeugfreie Demontage. Mit TM411-QuickSens-Messeinsatz können kurze Eintauchlängen konform zur ISO 17025 realisiert werden.

ist essenziell für ihren Stoffwechsel. Wird ein kritischer Sauerstoffwert zu lange unterschritten, beeinflusst dies den Zellstoffwechsel und die Zellen sterben ab. Die Sauerstoffmessung ist prozesskritisch. Ein anderes Problem stellt die Kohlendioxidversorgung dar. Kohlendioxid wird unter anderem zur pH-Regelung in Zellkulturen eingesetzt. Außerdem wird mit Stickstoff das CO₂ im Fermenter ausgetrieben. Bei Versagen der pCO₂-Messung sind der Prozess und damit Zellen und Produkt gefährdet.

Die Zellen haben ein temperaturabhängiges Wachstumsoptimum, die Stabilität des Zielproteins ist temperaturabhängig, die Löslichkeit essenzieller Medienbestandteile hängt von der Temperatur ab, die Sterilisationsbedingungen müssen überwacht werden. Bei Versagen der Temperaturmessung sind Produkt, Prozess und Sicherheit gefährdet.

— Anforderungen an die Messgeräte

Aus dieser kritischen Betrachtung der Messstellen in Bioprocen ergeben sich unterschiedliche Anforderungen an Messgeräte. Sinnvollerweise kann man diese in die Bereiche Prozess, Design, Material & Dokumentation und Kalibrierung unterteilen.

Prozess – In der Biotechnologie wird mit wässrigen Medien gearbeitet. Im Upstream Processing werden lebende Zellen gezüchtet und im Downstream-Bereich versucht man das Zielprotein in seiner biologisch aktiven Form zu gewinnen. Messungen müssen genau, aber vor allem reproduzierbar sein, d. h. eine hohe Wiederholbarkeit aufweisen. Dies ist vor allem unter dem Aspekt der Prozessvalidierung wichtig. Durch lange Prozesszeiten in der Zellkultur ist eine hohe Nullpunktstabilität besonders für analytische Parameter erforderlich. Temperaturschocks bei Sterilisation oder Sanitisierung

müssen kompensiert werden. Medienberührende Komponenten müssen stabil gegen saure und basische CIP-Medien sein.

Design – Das hygienische Design soll besonders durch intelligente Prozessanschlüsse Totraumfreiheit gewährleisten und damit Kontaminationen verhindern.

Material & Dokumentation – Abgesehen von CIP-Medien werden in der Biotechnologie praktisch keine chemisch aggressiven Stoffe verwendet. Die Qualität der medienberührenden Oberflächen setzt primär auf Reinigbarkeit und Vermeidung von Kontaminationen. Medienberührender Edelstahl ist zumeist 316L (nach europäischer Nomenklatur zunehmend 1.4435, ansonsten auch 1.4404) mit definierter Oberflächenrauheit, Elektropolitur und minimiertem Deltaferrit-Gehalt. Obwohl bis heute Rouging in Wasseranlagen auch mit deltaferritarmen Edelstählen auftritt, ist diese Spezifikation nun über die Jahre in den User Requirements Specifications (URS) vieler Anlagenbetreiber angekommen. Die Schmelzzusammensetzung und Oberflächengüte wird heute über 3.1-Materialzeugnisse nachgewiesen.

In den letzten Jahren werden auch die Spezifikationen nach ASME BPE, also einem eigenen Standard für Bioprocessing Equipment, zunehmend von Kunden gefordert (Bild 2). Diese Spezifikationen gehen detailliert auf Materialien, Oberflächengüte, Schweißverfahren und weitere Aspekte ein.

Für medienberührende Kunststoffe gilt nach wie vor die FDA-Whitelist sowie vermehrt die Forderung nach USP-Chapter-<87>- und -<88>-Konformität. Beim Bioreaktivitätstest nach Chapter <88> Class VI auch mit Extraktionstemperaturen von +121 °C. Nach den BSE-Skandalen der 1990er-Jahre gewinnt zudem die Bescheinigung der TSE-Freiheit eine zuneh-

mende Bedeutung. Dies hat viele Lieferanten von Automatisierungstechnik vor einen hohen Evaluierungsaufwand in ihrer Produktion gestellt. Heute können nur wenige Hersteller nachvollziehbar und durchgängig TSE-Freiheit in ihrer Fertigung bescheinigen.

Kalibrierung – Neben der standardmäßigen Kalibrierung ab Werk bei Lieferung müssen sich Gerätehersteller über intelligente Kalibrierkonzepte Gedanken machen. Vor allem vor Ort durchführbare Inline-Konzepte werden von den Anlagenbetreibern gewünscht, d. h. eine Kalibrierung im Prozess, ohne Ausbau und damit ohne erneuten Reinigungsaufwand wie z. B. heute schon realisierbar bei Durchfluss-, Leitfähigkeits- und Trübungsmessungen.

Je nach Parameter ist aber Vorsicht angebracht. Es gibt viele Hersteller von Messkomponenten, die die Begriffe Kalibrierung und Verifizierung nicht ausreichend voneinander abgrenzen. Eine Kalibrierung ist der Vergleich des wahren Wertes (eines rückführbaren Referenzgerätes) mit dem Messwert des Prüflings. Eine Verifizierung, d. h. ein einfacher Messwertabgleich mit einem kalibrierten Referenzgerät, der nicht unter definierten Bedingungen stattfindet, kann dies nicht leisten (siehe Kastentext). Gerade im Bereich der Temperaturkalibrierung (Bild 3) wird hier viel verwechselt und die Prüfungen praktisch synonym angewandt. Die GMP-Regelwerke fordern jedoch explizit eine Kalibrierung. Hier ist verstärkt auch das Kalibrier-Know-how der Inspektoren gefragt, um verwendete Methoden und Ergebnisse zu bewerten. Ein Anlagenbetreiber geht dann auf Nummer sicher, wenn er seine Geräte gemäß ISO 17025 von qualifiziertem Personal bzw. von akkreditierten Dienstleistern kalibrieren lässt.

Halle 1, Stand B3.2

» prozesstechnik-online.de/php114401