

J&M Analytik AG

Entwicklung eines zuverlässigen, robusten, sich selbst reinigenden und kontaminationssicheren optischen Online- Prozessanalyse- Verfahrens für Herstellungsprozesse in der Chemie-, Pharma-, Biopharma-, Lebensmittel- und Kosmetikindustrie

**Prozess-Analyzer optimiert für optische Detektionsmethoden**

**PANOPOD**

**Projektphase II**

Abschlussbericht über ein Entwicklungsprojekt  
gefördert unter AZ 25304/02 von der Deutschen Bundesstiftung Umwelt

von

Andrey Bogomolov und Hans Meyer

Essingen, Dezember 2010

**Projektkennblatt**  
der  
**Deutschen Bundesstiftung Umwelt**



Az	<b>25304/02</b>	Referat	<b>22</b>	Fördersumme	<b>239'593,00 €</b>
----	-----------------	---------	-----------	-------------	---------------------

**Antragstitel** **Zuverlässige optische Online-Prozessanalytik für nanoskalierbare Herstellungsprozesse unter Total Containment-Bedingungen in der Chemie-, Pharma- Biopharma-, Lebensmittel- und Kosmetikindustrie**

**Stichworte** Online-Prozessanalytik, Ramanspektroskopie, Bildgebung, Lichtstreuung

Laufzeit <b>24 Monate</b>	Projektbeginn <b>25.09.2008</b>	Projektende <b>24.09.2010</b>	Projektphase(n) <b>2</b>
------------------------------	------------------------------------	----------------------------------	-----------------------------

Zwischenberichte

<b>Bewilligungsempfänger</b>	J&M Analytik AG Willy-Messerschmidt-Straße 8 73457 Essingen	Tel	07361 92810
		Fax	928112
		Projektleitung Dr. Andrey Bogomolov	
		Bearbeiter Dr. Andrey Bogomolov	

**Kooperationspartner** HS Reutlingen, RRI  
ACABS Group, Esbjerg, Dänemark  
Chemometrics Group ICP RAS Moskau, Russland  
GEA Pharma Systems AG

### ***Zielsetzung und Anlass des Vorhabens***

Ziel des Forschungsvorhabens in Phase I war zunächst die Entwicklung eines zuverlässigen, robusten, sich selbst reinigenden und kontaminationssicheren optischen Online-Prozessanalyseverfahrens für Herstellungsprozesse in der Chemie-, Pharma-, Biopharma-, Lebensmittel- und Kosmetikindustrie. Die in der Projektphase I aufgebaute und patentierte Messsonde, die Lighthouse-Sonde (LHP), ermöglicht eine In-Process-Reinigung und -Kalibrierung der Messfenster. Die LHP-Sonde ist für verschiedene optische analytische Messverfahren geeignet, wie z. B. NIR-, UV/Vis Fluoreszenz- und Raman-Spektroskopie. Die Zielsetzung der sich anschließenden Projektphase II (vorwettbewerbliche Entwicklung) umfasste zwei Schwerpunkte:

Zum einen sollten im ersten Schwerpunkt die oben genannten optischen Detektionsverfahren im Sondengehäuse miteinander kombiniert werden. Dies erfolgte unter Verwendung unterschiedlicher Segmente der Sonde. Diese Kombination erlaubt es erstmals, mehrere Parameter eines Prozesses, z. B. Partikelgröße und Quantifizierung mittels Ramanspektroskopie, gleichzeitig zu erfassen. Zur Auswertung war es notwendig, entsprechende Module und Auswerteverfahren unter Verwendung von Chemometrie und Bildanalyseverfahren zu entwickeln und in einem Sensormodul zusammenzufassen. Die Verfahren sollten zunächst im Labormaßstab getestet und validiert werden.

Der zweite Schwerpunkt war die Übertragung der im Projekt erreichten Innovationen vom Labor- zu einem Technikumsmaßstab, und zwar in enger Zusammenarbeit mit industriellen Projektpartnern. Diese Arbeiten beinhalteten die Adaption der entwickelten Messtechniken an die jeweilige analytische Fragestellung, die Validierung der Messverfahren sowie die Dokumentation und Publikation/ Vorstellung der Ergebnisse.

## ***Darstellung der Arbeitsschritte und der angewandten Methoden***

Die Entwicklung und industrielle Evaluierung waren die zwei hauptsächlichen Arbeitsschritte des Projektes.

Im Rahmen des ersten Schrittes wurden die Grundlagen für die Weiterentwicklung einer neuartigen Sondentechnik für die Online-Prozessanalytik, durch eine Literaturrecherche, Simulationen und Vorversuche, gelegt.

Schwerpunkt der Entwicklungen waren optische analytische Verfahren. Unter Berücksichtigung von Patentrechercheergebnissen und unter Zuhilfenahme von Simulationsrechnungen wurde ein neues optisches Design zur Raman-Sonde entwickelt und experimentell umgesetzt.

Ein weiterer Entwicklungsschwerpunkt war die Erarbeitung von bildgebenden Verfahren. Die als Ausgangspunkt genommene Idee des Endoskops mit 30.000 Einzelfasern ausgestatteter Lichtwellenleiter und angeschlossener Kamera wurde durch ein starres Endoskop mit externer Lichtquelle und eingebauter Hochgeschwindigkeitsmikrokamera ersetzt.

Ingenieurlösungen zur Kombination der Raman-, NIR- und UV/Vis-, sowie Fluoreszenzspektroskopie innerhalb eines LHP-Sondenrohrs wurden entwickelt.

Zum Einsatz kamen Lichtstreutechniken zur Bestimmung von Partikelgröße und Streukoeffizienten, welche unter Zuhilfenahme winkelabhängiger, spektraler Daten im Rahmen dieses Projektes für ihren Einsatz in der Online-Prozessanalytik optimiert werden konnten.

Die entwickelten Module wurden im Medium der laufenden Prozesse wie Pelletbeschichtung, Granulierung, Trocknung, Kristallisation und Fermentation geprüft. Für die Evaluierung der Messergebnisse spielt die Modellierung und Datenauswertung eine entscheidende Rolle. Um die komplexen spektralen Prozessdaten in quantitative Qualitätsparameter zu transformieren, wurden dementsprechende Algorithmen ausgewählt, angepasst oder neu entwickelt und, sofern nötig, programmiert. Die Theorie der Versuchsplanung (Design of Experiment, DoE) zur optimalen Datenerfassung wurde vor den Messungen angewandt.

## ***Ergebnisse und Diskussion***

Sieben verschiedene Sondenmodule wurden entwickelt, aufgebaut und in der industriellen Prozessumgebung eingesetzt. Die folgenden Techniken und deren Kombinationen wurden in den Sonden implementiert:

- Sonde 1: Multifunktions-LHP I (Vis+NIR+Raman)
- Sonde 2: Multifunktions-LHP II (Vis+NIR+Fluoreszenz)
- Sonde 3: Bildgebende LHP-Sonde (Endoskop+Kamera)
- Sonde 4: NIR/Vis-LHP (Vis+NIR)
- Sonde 5: Total-Containment-LHP (Vis+NIR)
- Sonde 6: Partikelgrößen-LHP (orts aufgelöste Vis-Reflexion)
- Sonde 7: Durchfluss-Messzelle (UV/VIS)

Damit wurde der Anwendungsbereich der LHP-Technologie wesentlich erweitert. Die analysierten Medien und Proben beinhalteten Flüssigkeiten, Feststoffe und Suspensionen. Die entwickelten Detektionsverfahren und Techniken wurden im Technikumsmaßstab in Pilotanlagen weiter optimiert und an die analytische Fragestellung angepasst.

Erfolgreich konnte die Lighthouse-Sonde zur Überwachung mehrere Prozesse eingesetzt werden, u. a.: Kristallisation, Bestimmung der Beschichtungsdicke während des pharmazeutischen Beschichtungsprozesses, Überwachung der kontinuierlichen Pulvermischung, Total-Containment-Operationen mit Pulvern, Hefe-Fermentation sowie Reinigungsüberwachung von pharmazeutischen Anlagen.

Wesentliche wissenschaftliche Ergebnisse wurden auch seitens der FuE-Projektpartner erzielt:

Die NIR-Spektren erlauben die Online-Vorhersage der Auflösungskurven von Pellets während

der Beschichtung. Dieses wichtige Ergebnis wurde durch die fortgeschrittene chemometrische und kinetische Datenanalyse erreicht.

Die mit 1D-/2D-Fluoreszenz ausgerüstete LHP-Sonde wurde im Bioreaktor eingebaut und in der Fermentation von Hefe *Saccharomyces cerevisiae* getestet. Durch Datenanalyse wurde gezeigt, dass die Spektren nicht nur wichtige Informationen von den Biomasse- und O<sub>2</sub>-Gehalten, sondern auch vom metabolischen Zustand der Kultur liefern können.

Die Kombination von NIR- und Raman- sowie NIR-, UV/Vis- und die Fluoreszenzspektroskopie wurde für die Überwachung des Beschichtungsprozesses von Pellets in der Pharmaindustrie verwendet. Infolge der synergetischen Wirkung der Techniken konnte nicht nur die Beschichtungsdicke, sondern auch die Produktfeuchtigkeit während des Prozesses mit hoher Genauigkeit bestimmt werden.

Die bildgebende LHP wurde für eine detaillierte visuelle Kontrolle der Prozesse, z. B. die Pelletbeschichtung, eingesetzt. Sie ermöglicht eine frühere Erkennung von Prozessproblemen wie Bed-Stop, Agglomeration oder Abreibung der Partikel sowie die Bildung feiner Fraktionen. Weiteres Projektergebnis: Die multivariate Bildanalyse ermöglicht die Erkennung einzelner Partikel. Die Methode ist geeignet für die direkte Messung der Partikelgrößenverteilung.

Die Projektpartner erwarten, dass die Lighthouse-Sonde mit der im Projekt hier entwickelten modularen Bauweise einen breiten Einsatz erfährt und so die Vorteile der Online-Prozessanalytik bezüglich ökonomischer und ökologischer Einsparungen in viele Anwendungen einbringen kann.

### **Öffentlichkeitsarbeit und Präsentation**

Der neue PANOPOD-Prozess-Analyzer soll zunächst in der Pharmazie, später auch in den anderen erwähnten Bereichen, zum Einsatz kommen. Die globale Vermarktung der neuen Technologie soll einerseits über die GEA-Gruppe, an die J&M ihre Systeme liefert, andererseits über J&M selbst im Direktvertrieb erfolgen. Vorgestellt wurde der neue Analyzer mit großer Resonanz auf der Analytica in München, sowie auf den mehreren Konferenzen.

Auf Grund der Projektergebnisse wurden in 2010 vier Artikel in den Fachzeitschriften *Journal of Chemometrics* (3) und einer in *Analyst* (1) veröffentlicht oder vorgelegt.

Die Ergebnisse wurden auch bei mehreren Tagungen und Messen durch Vorlesungen und Posters präsentiert, u. a.: APACT-2009 in Glasgow (Schotland), SSC11-2009 in Loen (Norwegen), PAT and QbD in Heidelberg (Deutschland), WSC-7 in St. Petersburg (Russland) und CAC-2010 in Antwerpen (Belgien). Die vollständige Liste wurde im Bericht angegeben.

### **Fazit**

Die in der ersten Projektphase konzipierten und im Labormaßstab untersuchten Ideen wurden während der Projektphase II weiterentwickelt, optimiert und in der Industrie eingesetzt und im Technikumsmaßstab erfolgreich erprobt. Damit konnte der große wirtschaftliche und ökologische Gewinn beim Einsatz der Lighthouse-Sonde in der Online-Prozessanalytik experimentell verifiziert werden. Somit kann der Sonde zu einer hohen Akzeptanz bei Kunden verholfen werden.

Manche der im Projekt entwickelten Sonden, z. B. NIR+Raman, 2D-Fluoreszenz, die orts aufgelöste Streusonde und bildgebende LHP, haben kaum oder keine Analogien zu bisher eingesetzten Techniken und gehören deshalb zu Innovationstechniken.

Die Entwicklungen wurden patentgeschützt und in wissenschaftlichen- und Fachzeitschriften veröffentlicht

**Deutsche Bundesstiftung Umwelt** □ **An der Bornau 2** □ **49090 Osnabrück** □ **Tel 0541/9633-0** □ **Fax 0541/9633-190** □ **<http://www.dbu.de>**

## *Inhaltsverzeichnis*

Zusammenfassung .....	12
Einleitung .....	14
Hauptteil .....	18
Einführung.....	18
Ergebnisse .....	21
Literatur- und Patentrecherche .....	21
LHP Varianten und Zubehör .....	22
VN-LHP (Vis/NIR) .....	23
Kristallisationsüberwachung .....	23
Inline-Vorhersage der Auflösungskurven von beschichteten Pellets.....	24
Total-Containment-LHP (Vis-NIR) .....	25
Multifunktionssonde VNR-LHP: Vis+NIR+Raman.....	26
Überwachung der Pelletbeschichtung .....	27
Kristallisationsüberwachung .....	28
Überwachung der Pulvermischung .....	29
Multifunktionssonde VNF-LHP: Vis+NIR+Fluoreszenz .....	31
Überwachung von Bioprozessen.....	31
Beschichtungsprozess von Pellets.....	34
OVR-LHP (orts aufgelöste Vis-Reflexion).....	36
Bildgebende Sonde I-LHP (Endoskop+Videokamera) .....	41
RVP Durchfluss-Messzelle für die Reinigungsvalidierung im UV/VIS.....	44
Bewertung des ökonomischen und ökologischen Gewinnes .....	46
Energieeinsparung .....	47
Reinigung der Anlagen: .....	48
Toxizität, High Potency .....	48
Kontinuierliche Produktion .....	49

Fazit.....	50
Literaturverzeichnis.....	51

## *Abbildungsverzeichnis*

Abbildung 1: Lighthouse-Sonde mit Reinigungseinheit: Messkopf (l.), Prozesseinsatz (r.)	18
Abbildung 2: Arbeitsweise der Lighthouse-Sonde	19
Abbildung 3: Verschmutzung der Sonde während eines Prozesses (l.), Beobachtungsfenster nach Abstreifen am ersten Dichtring (M.) und Beobachtungsfenster nach dem Waschgang (r.)	20
Abbildung 4: LHP Varianten: manuelle Laborsonde (l.), Sonde eingebaut in Bioreaktor (M.) und halbautomatische Sonde (r.)	22
Abbildung 5. LHP Zubehör für Prozesseinbindung.	23
Abbildung 6. Verlauf der Spektren in diffuser Reflexion bei Kristallisation in 25 L Reaktor (o.) und Scoreplots von PC 1 und 2 (u.).	24
Abbildung 7. Inline-NIR-Spektren in neun Zeitpunkten des Beschichtungsprozesses von Pellets (l.) und Vorhersage der jeweiligen Auflösungsprofile (r.) von Pelletproben.	25
Abbildung 8. TC-LHP angepasste für abgeschlossene Pulveranalyse (l.) und NIR-Spektrum des Pulvers (r.).	26
Abbildung 9. Innerer Aufbau des Raman-Messkopfes: Zeichnung (l.) und Photo (r.)	27
Abbildung 10. Überwachung der Pelletbeschichtung durch NIR und Raman-Spektroskopie. Versuchsaufbau (o. l. und u. l.), das Team (o. r.), beschichtete Pellets (u. r.).	28
Abbildung 11. Vorhersage der Feuchte (l.) und Beschichtungsdicke (r.) aus kombinierten NIR- und Raman-Spektren vom Beschichtungsprozess der Pellets.	28
Abbildung 12. Raman-Spektren von $\alpha$ - und $\beta$ -Glutaminsäure (l.) und Prozessverlauf von Intensität von jeweiligen Peaks (r.).	29
Abbildung 13. Raman-Spektren von typischen pharmazeutischen Pulvern	30
Abbildung 14. MCR-aufgelöste Komponenten-Spektren und dementsprechende Verlaufsprofile vom Mischprozess	30
Abbildung 15. Überwachung der Hefe-Fermentation mit VNF-LHP im 3 L Laborbioreaktor.	32
Abbildung 16. Inline-Fluoreszenzspektren der Hefefermentation (l.) und aufgelöste Prozesskurve (r.) .	32

Abbildung 17. Inline-Überwachung der Hefefermentation mittels 2D-Fluoreszenzspektroskopie.	33
Abbildung 18. Algorithmus für die Auflösung der Fluoreszenz in Anwesenheit von starkem Streulicht (l.) und aufgelöste 2D-Spektren von individuellen Fluorophoren (r.).	34
Abbildung 19. Vis-Spektren im Batch#4 (l.) und vorhergesagte gegen gemessene %Feuchte (LOD) (r.).	35
Abbildung 20. Zeichnung des Messkopfes der OVR- LHP-Sonde mit zwei linearen LWL-Anordnungen; die roten Fasern dienen der Beleuchtung.	37
Abbildung 21. Ortsaufgelöste LHP: das Gesamtsystem (l.), Pushbroom Module (o. r.) und Sondenmesskopf (u. r.).	37
Abbildung 22. Justierung der Sonde im Ulbrichkugel (l.) und Resultierende Intensität einzelner LWLs (r.).	38
Abbildung 23. Abnahme der log-Intensität bei $\lambda=633$ nm für die Kovasil Partikeln (o.): Fenster 1 (o. l.) und 2 (o. r.); und für die Lipovenös Verdünnungsreihe (u.): Fenster 1 (u. l.) und 2 (u. r.).	39
Abbildung 24. Ergebnisse der PLS Regression der Steigungen mit $\log(\text{Partikelgröße})$ für die Kovasil Partikel (l.) und mit $\log(\text{Konzentration})$ für die Lipovenös Verdünnungsreihe (r.).	39
Abbildung 25. Milchmessungen: Abnahme der log-Intensität bei $\lambda=633$ nm für die Messfenster 1 (o. l.), und 2 (o. r.) und Wellenlängeabhängige Abnahme der Intensität (Steigung) für die Messfenster 1 (u. l.) und 2 (u. r.).	40
Abbildung 26. Prototyp-1 der bildgebenden LHP.	41
Abbildung 27. Bilder von beschichteten Pellets aufgenommen mit Prototyp-1 der bildgebenden Lighthouse-Sonde.	42
Abbildung 28. Image-LHP: Sondaufbau (l.) und Prozesseinsatz (r.).	42
Abbildung 29. 60 aufeinanderfolgende Bilder eines Videos (ca. 1,5 Sekunden); zeilenweise Anordnung.	43
Abbildung 30. Vier Bilder der beschichteten Pellets aus verschiedenen Prozessschritten (l.), Verlauf der Bildanalyse (o. r.) und Partikelgrößenverteilungen von zwei verschiedenen Beschichtungsprozessen (u. r.).	44
Abbildung 31. Erkennalgorithmus der Partikel im Prozessvideo.	44



Abbildung 32. RVM-Durchflusszelle für Reinigungsvalidierung bei GEA: eingebaute Zelle (l.) und LWL-Verbindung mit dem Spektrometer (r.).	45
Abbildung 33. Reinigungsüberwachung eines TC-Ventis: Überwachung der Reinigung von Ascorbinsäure bei 265 nm (l.) und Auswurfe während der Reinigung (r.).	45
Abbildung 34. RVP Messzelle mit Distanzscheiben.	46
Abbildung 35. Inline-Analyzer werden bereits in kontinuierlichen Produktionsanlagen vorgesehen.	49

## ***Tabellenverzeichnis***

Tabelle 1. Fünf Batches die mit der VNF-LHP überwacht wurden.....	34
Tabelle 2. Vorhersagefehler (RMSECV) von %Feuchte(LOD) und versprühter Menge (SM) von individuellen Daten und ihren Kombinationen. ....	35

## *Abkürzungen und Definitionen*

HPLC – high-performance liquid chromatography

LHP – Lighthouse Probe™

LWL – Lichtwellenleiter, optische Faser

NIR – nahinfrarot, near infrared

PLS – Partial Least Squares, Regressionsalgorithmus

RVP – reproducible variable pathlength

TC – total containment

UV/Vis – Ultraviolet and visible (sichtbar)

## Zusammenfassung

**Durchgeführte Untersuchungen, Entwicklungen und Modellanwendungen.** Im Rahmen des Entwicklungsprojektes wurde die Weiterentwicklung der in der ersten Projektphase konzipierten neuartigen Sondentechnik für die Online-Prozessanalytik vorgenommen. Die neue Lighthouse-Sonde, bei der eine In-Process-Reinigung und -Validierung durchführbar ist, wurde bezüglich ihres optischen Aufbaus, nicht aber bezüglich ihres äußeren Designs weiterentwickelt. Schwerpunkte der Entwicklungen waren optische analytische Verfahren. Unter Berücksichtigung von Patentrechercheergebnissen und unter Zuhilfenahme von Simulationsrechnungen wurden sieben optische Sonden mit dem neuen Design entwickelt. Sie beinhalten fast alle optisch spektroskopischen Verfahren wie: UV-Vis, NIR, Raman, Fluoreszenz und deren Kombinationen, sowie bild gebende Verfahren.

Die entwickelten Techniken wurden im Technikumsmaßstab in Pilotanlagen weiter optimiert und an die analytische Fragestellung angepasst. Erfolgreich konnte die Lighthouse-Sonde zur Überwachung mehrerer Industrieprozesse eingesetzt werden, so unter anderem die Kristallisation, Bestimmung der Beschichtungsdicke während des pharmazeutischen Beschichtungsprozesses, die Überwachung der kontinuierlichen Pulvermischung, Total-Containment-Operationen an Pulvern, die Hefe-Fermentation sowie die Reinigungsüberwachung von pharmazeutischen Anlagen.

**Erzielte Ergebnisse.** Die entwickelten neuartigen Sondentechniken haben ein großes Potential für die Online-Prozessanalytik demonstriert. Durch die Erfassung der hochrelevanten Prozessinformationen von den im Projekt geprüften Messsystemen wurden eine verbesserte Kontrolle und ein tieferes Verständnis von mehreren Herstellungsprozessen ermöglicht. Damit können verschiedene Risiken vermieden werden. Im Endeffekt wird die Produktqualität verbessert, die Herstellungskosten minimiert und die Umweltbelastung gesenkt. Eine frühere Erkennung der Prozessfehler ist zum Beispiel für die Wiederherstellung des normalen Prozessverlaufs wichtig. Eine genauere Bestimmung des Endpunktes erspart Energie und Materialien. Des Weiteren verbrauchen Online-Messtechniken keine Chemikalien, Verbrauchsmaterialien und Arbeitsstoffe wie bei feuchter chemischer Analyse, beispielsweise der Chromatographie. Das bessere Verständnis des Prozesses senkt die Risiken von Notfällen und die Herstellung minderwertiger oder gar lebensgefährlicher Produkte.

Um die relevante Information aus den extrem komplizierten spektralen Daten herauszuziehen sind fortgeschrittene datenanalytische Methoden d. h. Chemometrie nötig. Das erhöht den Anteil

der wissenschaftlichen Komponenten der FuE-Projektarbeiten. Die im Projekt entwickelten Algorithmen sind von hoher wissenschaftlicher Bedeutung. Dazu gehören: Online-Vorhersagen der Auslösungsprofile von beschichteten Pellets, gleichzeitige Analyse von NIR- und Raman-Prozess-Spektren, quantitative Bestimmung der Biomasse durch schwaches Fluoreszenzsignal sowie die Erkennung der Partikel auf Photos und Videobildern. Die pharmazeutischen und datenanalytisch relevanten Ergebnisse wurden in Fachzeitschriften veröffentlicht oder vorgelegt.

**Empfehlungen für das weitere Vorgehen.** Weitere Arbeiten haben einen Schwerpunkt in der Verbreitung der Applikationsfelder der entwickelten Messsysteme. Es betrifft hunderte Prozesse, vor allem in den behördlich meist kontrollierten Bereichen wie Lebensmittel- und Pharmaindustrie. Die analytischen Online-Verfahren sind im Prinzip universal und für mehrere Herstellungsarten geeignet. Als Beispiele können die Papier- oder Chemieindustrie angeführt werden. Eine weitere Optimierung der Techniken mit dem Ziel, sie an die neuen Applikationen und analytischen Fragestellungen anzupassen, ist der zweite Schwerpunkt.

Eine Inbetriebnahme der Messverfahren, die im Projekt getestet wurden, erfolgt durch die Erstellung und Validierung der wirkenden Prozessmodelle im Anschluss an die industrielle Einstellung des Systems.

**Angaben von Kooperationspartnern.** Das Projekt wurde von der J&M Analytik AG in Zusammenarbeit mit mehreren Kooperationspartnern aus dem In- und Ausland unter Förderung der Deutschen Bundesstiftung Umwelt (AZ 25304/02) durchgeführt. Die FuE- Arbeiten wurden zwischen J&M, der Hochschule Reutlingen (Prof. Dr. Kessler, Grundlagen und Chemometrie), der Universität Aalborg in Esbjerg, Dänemark (Prof. Dr. Esbensen, multivariate Bildanalyse) und dem Institut für Chemische Physik Moskau, Russland (Dr. Pomerantsev, fortgeschrittene Datenanalyse) aufgeteilt. Die Entwicklungen wurden in verschiedenen Abteilungen der GEA Pharma Systems AG in Deutschland und in der Schweiz industriell implementiert und erprobt. Somit ist das Projekt PANOPOD II ein markantes Beispiel einer fruchtbaren internationalen Zusammenarbeit.

Die Projektpartner erwarten, dass die Lighthouse-Sonde mit der hier entwickelten modularen Bauweise einen breiten Einsatz erfährt und so die Vorteile der Online-Prozessanalytik bezüglich ökonomischer und ökologischer Einsparungen in viele Anwendungen einbringen kann.

## Einleitung

Ziel von Phase II des Forschungsvorhabens war die Entwicklung eines zuverlässigen, robusten und sich selbst reinigenden optischen Online-Prozessanalyse-Verfahrens für Herstellungsprozesse in der Chemie-, Pharma-, Biopharma-, Lebensmittel- und Kosmetikindustrie. Technologische Grundlage hierfür war eine patentgeschützte Messsonde, die Lighthouse Probe<sup>TM</sup> (LHP), auf deren Basis ein universell einsetzbares und adaptierbares Multifunktions-Prozessanalyse-Verfahren entwickelt werden sollte. Diese Technologie sollte den gängigen optischen Analysemethoden Zugang zur Online-Prozessanalytik verschaffen.

In der Prozessanalytik sind heute Online-Verfahren von hohem Interesse. Mit ihnen können Herstellungs- oder Reinigungsprozesse sehr schnell und in der Regel kostengünstig erfasst werden. Meist werden in diesem Bereich optische Verfahren eingesetzt, aber auch mikroskopische, chromatographische und massenspektrometrische Methoden kommen zum Einsatz. Mit optischen Methoden der Online-Prozessanalytik kann eine enorme Bandbreite von Substanzen und Gemischen hochautomatisiert erfasst werden. Die wesentlichen Vorteile sind ein zerstörungsfreies Arbeiten, die Vermeidung der Notwendigkeit von Probenentnahmen durch berührungsloses Messen sowie die hohe Geschwindigkeit der Messverfahren, die eine zeitlich hochaufgelöste Prozesssteuerung zulässt.

Die wichtigsten optischen Verfahren sind die Absorptionsmessungen bei unterschiedlichen Wellenlängenbereichen (ultravioletter bis sichtbarer Bereich (UV/VIS) und Nahinfrarot (NIR)) sowie die Raman- und Fluoreszenzspektroskopie [WK09]. Zusätzlich können Partikelgröße und Partikelgrößenverteilung in bild gebenden oder streuungsspektroskopischen Verfahren erfasst werden. Die genannten Verfahren werden zur Überwachung von Herstellungs- und Reinigungsprozessen ganz unterschiedlicher Art eingesetzt. Beispiele sind die Rohmaterialeingangskontrollen, die direkte Prozessüberwachung, die Qualitätskontrolle von Zwischen- und Endprodukten sowie Inspektionsaufgaben. Konkret kann dies die Bestimmung der Mischgüte und des Mischendpunktes bei Mischprozessen sein oder die Überwachung eines Reinigungsprozesses nach Abschluss einer Produktkampagne oder bei einem Produktwechsel [Kes06].

Der Wunsch vieler Unternehmen nach dem Einsatz von Online-Prozessanalytik entsteht aus den enormen Vorteilen dieser Technik sowohl in ökonomischer als auch in ökologischer Hinsicht. Beide Vorteile sind eng miteinander verzahnt, was den Einsatz neuer Prozessanalyse-Verfahren lohnenswert macht.

Als wesentliche Vorteile sind zu nennen:

- Einsparung von Ressourcen
- Einsparung von Energie
- Minimierung des Entsorgungsaufwandes
- Minimierung von verschiedenen Produktionsrisiken
- Steigerung von Produktivität und Qualität

In Beispielrechnungen kann dargelegt werden, dass sich die Etablierung von Prozessanalyseverfahren selbst bei zunächst hohen Anschaffungs- und Installationskosten lohnen. Energieeinsparungen durch effizientere Prozessführung sind bis zu 50% möglich, Reinigungsprozesse können zum frühestmöglichen Zeitpunkt gestoppt werden, was entsprechende Einsparungen bei den einzusetzenden Reinigungsmitteln erlaubt. Entsprechend können die Mengen zu entsorgender Substanzen deutlich reduziert werden.

Auch Veränderungen im Prozess, die Qualität von Ausgangsmaterialien, Reaktions- oder Mischzeiten können kontrolliert, Fehler oder mangelnde Qualität schnell erkannt werden. Dies bringt eine deutliche Reduktion von Herstellungskosten, vor allem aber auch eine deutlich Reduktion von fehlerhaftem Material, das aufwendig entsorgt werden muss, mit sich. Ein weiterer wesentlicher Vorteil der optischen Technologien für die Prozessanalytik ist, dass sie bis auf mögliche Kalibrierstandards reagenzienfrei arbeiten. Der Verbrauch von z. B. organischen Lösungsmitteln, wie sie bei den meisten chromatographischen Verfahren eingesetzt werden, kann hier vermieden werden. Es ist zu erwarten, dass die Prozessanalytik in Zukunft einen wesentlichen Beitrag zur Optimierung ganz unterschiedlicher Prozesse im Hinblick auf ökonomische und ökologische Aspekte leisten wird. Ihr Einsatz kann in den verschiedensten Bereichen industrieller Fertigung erfolgen. Als Beispiele hierfür seien die Pharmaindustrie, die chemische Industrie und Lebensmittel produzierende Einrichtungen genannt.

Trotz der rasanten Entwicklungen in der Prozessanalytik in den letzten Jahren [RC07, SA06, WK09] gibt es heute noch immer Prozesse, die sich der Analytik mit kommerziell angebotener Technologie entziehen. Dies sind vor allem solche, in denen eine schwierige und komplexe Matrix vorliegt, durch die die in den optischen Verfahren notwendigen Messfenster zusetzen können. Ein kontrolliertes Arbeiten, das die hohen Ansprüche des Qualitätsmanagements erfüllt, ist nicht mehr möglich und es muss wieder auf Labor- (Offline-) oder Atline-Verfahren zurückgegriffen werden.

Das hier vorgestellte Projekt setzte an dieser Stelle an, um das Potenzial der Prozessanalytik Prozessen mit schwieriger und komplexer Matrix zugänglich zu machen.

Zwei wesentliche Innovationsschritte sollten in der Projektphase II erreicht werden. Der erste war die konsequente Weiterentwicklung der in Projektphase I entwickelten Prototypen. Dies beinhaltete vor allem die Integration mehrerer Detektionsverfahren in einer Lighthouse- Sonde. Diese Art der kombinierten Erfassung mehrerer interessierender Parameter eines Prozesses, z. B. die Bestimmung von Partikelgröße und Schichtdicke einer Beschichtung bei der Herstellung eines pulverförmigen Wirkstoffes mit definierter Partikelgröße und dessen anschließender Beschichtung, ist in der Literatur noch nicht beschrieben. Der zweite Schritt befasste sich mit der Integration der entwickelten Messverfahren in der Lighthouse-Sonde in die Prozessanalytik anhand von Modellapplikationen. So sollten die Innovationen aus Projektphase I weiterentwickelt werden, um ihren Einsatz im Technikumsmaßstab zu überprüfen. Damit sollten Prototypen dem Markt vorgestellt werden. Anhand der Modellapplikationen konnten notwendige Adaptionen an die jeweilige analytische Fragestellung erfasst werden, Funktionsprüfungen durchgeführt werden und Spezifikationen der einzelnen Messverfahren definiert werden.

Die qualitativen Ziele, die in der zweiten Projektphase erreicht werden sollten, sind hier noch einmal übersichtlich zusammengefasst:

- Weitere Optimierung der in Projektphase I entwickelten Detektionsverfahren
- Integration mehrerer Detektionsverfahren in ein Sondengehäuse
- Entwicklung von Auswertalgorithmen zur Erfassung aller notwendigen Messparameter und Datenevaluierung
- Optimierung der Lighthouse-Endoskopsonde und ihr Test im Labor- bis Prozessmaßstab
- Weiterentwicklung der Lighthouse-Sonde für die Partikelcharakterisierung mittels Streulichttechniken und ihr Tests
- Einsatz der Lighthouse-Sonde in Modellapplikationen im Technikumsmaßstab: Beobachtung von Fermentationsprozessen mittels Ramanspektroskopie, Reinigungsvalidierung, Einsatz von NIR-Spektroskopie und Streulichttechniken zur Prozessanalytik unter Total-Containment-Bedingungen mit Adaption der Detektionsverfahren an die analytische Fragestellung
- Entwicklung der an den untersuchten Prozess angepassten Kalibrierverfahren
- Ermittlung der Spezifikationen der Lighthouse-Sonde und ihrer Einsetzbarkeit in komplexen Prozesssystemen
- Erfassung, Dokumentation und Bewertung der Einsparungspotentiale durch den Einsatz der Lighthouse Sonde, sowohl in ökonomischer als auch in ökologischer Hinsicht



- erste Entwicklungsschritte für Software zur Ansteuerung, Datenerfassung und Datenevaluierung.

Die quantitative Zielstellung in diesem Abschnitt des Projektes lässt sich in diesen Punkten definieren und zusammenfassen:

- Erprobung der Sonde in Prozessumgebung: Können die in Labormaßstab erfolgreich getesteten Sonden auch in Prozesse eingebunden werden?
- Validierung der Online-Analysemethoden in Bezug auf Nachweisempfindlichkeit und Selektivität: Kann die Nachweisgrenze von 0,2 % für Flüssigkeitsgemische mit der Ramanspektroskopie auch hier erreicht werden? In wieweit können Fingerprintbereiche der Raman- und NIR-Spektroskopie zur Identifizierung genutzt werden?
- Total Containment-Bedingungen: Erlaubt die Sonde das Arbeiten unter Total Containment-Bedingungen: Welche Konzentrationen lassen sich nach der Messung in der Umgebung nachweisen bzw. gelangen Fremdstoffe von außen in das Untersuchungsmaterial?
- Sondendesign: Erlauben die für die Sonde gewählten Materialien ihren Einsatz in prozessrelevanten Lösungen, Feststoffen und Suspensionen? Kann die Fensterreinigung für alle diese Gemische eingesetzt werden?
- Kalibrierung: Wie aufwendig und kostenintensiv sind die zu entwickelten Kalibriermöglichkeiten?
- Quantifizierung: In welchen Konzentrationsbereichen ist eine Quantifizierung von Stoffen in Gemischen möglich?
- Partikelcharakterisierung: Welche Partikelgrößen und Partikelgrößenverteilungen sind zugänglich?

Die Projektarbeiten beider Schwerpunkte umfassten den Aufbau von sieben unterschiedlichen Prototypen der Lighthouse-Sonde, die an die jeweils unterschiedlichen analytischen Fragestellungen angepasst wurden.

# Hauptteil

## Einführung

Grundlage des Projektes war die Lighthouse-Sonde, die für die Online-Prozessanalytik optimiert und weiterentwickelt werden sollte. Sie ist in Abbildung 1 in einer Photographie gezeigt. Die optischen Komponenten sind in einem Edelstahlgehäuse untergebracht.



Abbildung 1: Lighthouse-Sonde mit Reinigungseinheit: Messkopf (l.), Prozesseinsatz (r.)

Die Lighthouse-Sonde besteht aus folgenden Komponenten:

- Sonde aus rostfreiem Stahl (Länge 240 mm;  $\varnothing$  20 mm) mit einem Sichtfenster aus Saphir
- Wash & Clean in Place-Gleitstück mit Reinigungsdetergenz und Druckluft für Trocknung
- Sondensteuerung
- Spektrometer

Die hier gezeigte Geometrie ist maßgeblich für alle zu integrierenden Messverfahren von UV/Vis- und NIR-Spektroskopie sowie für Raman- und Fluoreszenzspektroskopie und die Streulichtmessungen. Zusätzlich zu den spektroskopischen Messungen ist es möglich, mit zwei Temperatursensoren die Umgebungstemperatur der Sonde zu erfassen. Ein übergeordnetes Prozessleitsystem regelt bzw. synchronisiert je nach Prozessablauf die Sondensteuerung und das Spektrometer.

Wesentliches Innovationsmerkmal dieser Sonde ist die Möglichkeit, die optischen Messfenster zu reinigen. Dadurch können auch Prozesse mit komplexer Matrix untersucht werden, bei denen leicht eine Verschmutzung des Fensters auftreten kann (siehe z. B. Abbildung 1 rechts). Die Arbeitsweise der Sonde ist in Abbildung 2 dargestellt: (1) Zunächst ist die Messposition gezeigt. Die Sonde ist ganz herausgefahren, über das Messfenster kann der Prozess mit dem gewünschten optischen Verfahren analysiert werden. (2) Zur Reinigung des Messfensters während des Prozesses oder nach Beendigung des Prozesses wird das Fenster ins Innere des Edelstahlmantels

gefahren (siehe auch Abbildung 3). Das Messfenster kommt bei den Anschlüssen für die Waschflüssigkeit zu liegen, wird gespült und anschließend über Druckluft getrocknet. Ein Unterdruck am Gesamtsystem verhindert, dass Waschlösung in den Prozess gelangt. (3) In der Kalibrierposition wird die Sonde vollständig nach Innen gefahren. Um das optische Fenster befindet sich hier ein Referenzstandard. Hiermit kann der Reinigungsprozess überprüft und die Sonde für weitere Messungen kalibriert werden. In der NIR-Spektroskopie befindet sich an dieser Stelle ein Weißstandard. Für die Raman-Spektroskopie ist im Moment eine externe an die analytische Fragestellung angepasste Kalibrierung vonnöten. (4) In der Clean-in-Place (CIP) Position kann Reinigungsflüssigkeit auch den Sondenkopf erfassen. Die Reinigungsflüssigkeit fließt in dieser Position in den Prozessraum ab und gewährleistet z. B. bei Produktwechsel, dass kein Übertrag in die neue Produktion erfolgen kann.

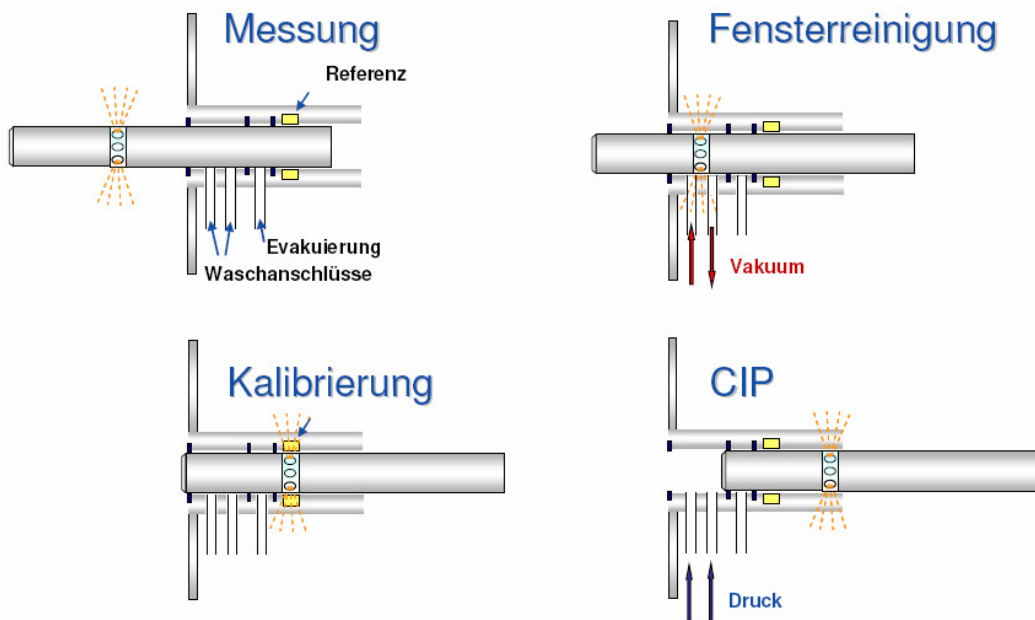
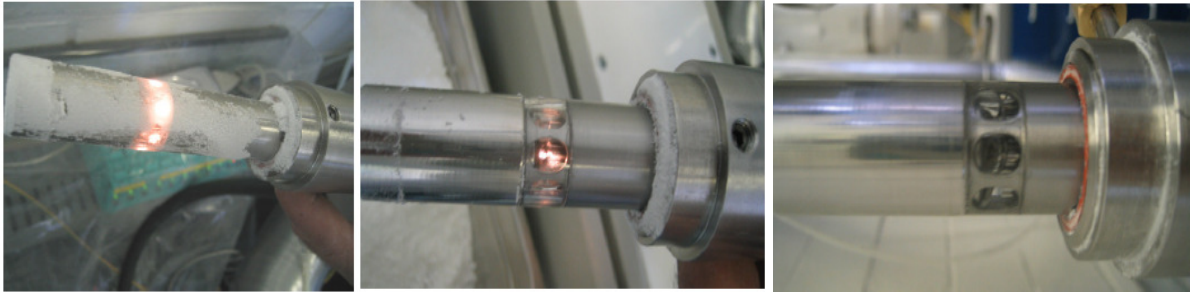


Abbildung 2: Arbeitsweise der Lighthouse-Sonde

Die Problematik der Verschmutzung des Messfensters ist in Abbildung 3 noch einmal eindrucksvoll dargestellt: Während der Prozesses kann eine Ablagerung von Material an der Sonde und am Fenster beobachtet werden. In diesem Zustand sind keine zuverlässigen Messungen mehr möglich. Mit einer herkömmlichen Messsonde ist ein Arbeiten unter Total Containment Bedingungen nicht gewährleistet, da die Sonde zur Reinigung entfernt werden müsste. Bei der Lighthouse-Sonde können nun aber die integrierten Reinigungsschritte erfolgen: Wird die Sonde ins Innere der Edelstahlhülle gezogen, wird schon ein wesentlicher Teil der Verschmutzung abgestreift, wie im zweiten Bild in Abbildung 3 zu sehen ist. Nach dem Waschschrift (rechtes Bild) ist die Sonde vollständig von dem zuvor anhaftenden Material befreit und wieder messbereit.



*Abbildung 3: Verschmutzung der Sonde während eines Prozesses (l.), Beobachtungsfenster nach Abstreifen am ersten Dichtring (M.) und Beobachtungsfenster nach dem Waschgang (r.)*

Neben der Möglichkeit zur Reinigung der Sonde wurden weitere wichtige Neuerungen eingebracht: Die ringförmige Detektion über mehrere Sektoren, die am Umfang der Sonde verteilt sind. Dies ermöglicht zum einen ein vergrößertes Beobachtungsvolumen (in 360° Anordnung), was die Beobachtung einer repräsentativen Menge des zu analysierenden Materials sichergestellt. Zum anderen erlaubt sie die Kombination unterschiedlicher Detektionsverfahren in unterschiedlichen Sektoren am Messfenster in einer Sonde. Dies ermöglicht einen weiten Anwendungsbereich der Sonde unter Verknüpfung von Einsparung von Kosten, Energie, Entsorgung, sowie eine Erhöhung der Arbeitssicherheit. Es können damit nun Analysen von Flüssigkeiten, Schüttgütern, Pasten und Suspensionen erfolgen.

Den Arbeiten in der Projektphase II lagen vier Schwerpunkte zugrunde. Zum **einen** sollten im ersten Schwerpunkt die oben genannten optischen Detektionsverfahren im Sondengehäuse miteinander kombiniert werden. Dies erfolgte unter Verwendung unterschiedlicher Segmente der Sonde. Diese Kombination sollte es erstmals erlauben, mehrere Parameter eines Prozesses, z. B. Partikelgröße und Quantifizierung mittels Ramanspektroskopie, gleichzeitig zu erfassen. Zur Auswertung war es notwendig, entsprechende Module und Auswerteverfahren unter Verwendung von Chemometrie und Bildanalyseverfahren zu entwickeln und in einem Sensor modul zusammenzufassen. Die Verfahren sollten zunächst im Labormaßstab getestet und validiert werden. Auch hier sollte ein Einsatz im Technikumsmaßstab (s. 2. Schwerpunkt) folgen. Diese Arbeiten erfolgten in Zusammenarbeit mit der Hochschule Reutlingen (Arbeitsgruppe Prof. Kessler), Universität Aalborg DK (Arbeitsgruppe Prof. Esbensen) und dem Institut für Chemische Physik, Moskau, (Arbeitsgruppe Dr. Pomerantsev).

Der **zweite Schwerpunkt** war die Übertragung der erreichten Innovationen vom Labor- in den Technikumsmaßstab. In enger Zusammenarbeit mit verschiedenen Tochterfirmen des Projektpartners GEA Group sollten die Möglichkeiten der entwickelten Sondentechnologie

anhand von Modellapplikationen aufgezeigt werden. Exemplarisch sollten drei Anwendungsbereiche der Sondentechnologie evaluiert werden.

Diese Arbeiten beinhalteten die Adaption der entwickelten Messtechniken an die jeweilige analytische Fragestellung, die Validierung der Messverfahren sowie die Dokumentation und Publikation/ Vorstellung der Ergebnisse. Mit den hier beschriebenen Modellapplikationen wird ein sehr breites Anwendungsfeld abgedeckt. Die Möglichkeiten und Grenzen der neuen Sondentechnologie sind nach diesen Arbeiten bekannt und können spezifiziert werden. Auch ist bekannt, welche Adaptionen ihr Einsatz in neuen Prozessen erfordert.

Anhand der Modellapplikationen sollte auch geprüft und quantifiziert werden, welche Einsparungen, sowohl in ökonomischer als auch ökologischer Hinsicht sich beim Einsatz der Lighthouse Sonde mit ihrer Vielzahl an kombinierbaren Detektionsverfahren und der Möglichkeit ihrer In-Process-Reinigung ergeben können. Projektphase II war damit die Basis für die Einführung der Lighthouse Sonde mit ihrer innovativen Sondentechnik in den Markt.

## **Ergebnisse**

### ***Literatur- und Patentrecherche***

Vor dem Beginn und während der Entwicklung und der Testmessungen wurde eine umfangreiche Literatur- und Patentrecherche durchgeführt. Die folgenden Themen wurden durchgenommen: Prozessanalytik [Kes06], Raman [Sas08] und NIR- [RC07] Spektroskopie für pharmazeutische Prozessanalytik, Infrarot- und Raman- Spektroskopie für die Beobachtung und Kontrolle der biotechnologischen Prozesse [SA06], Chemometrie [Kes07]. (Nur die wichtigsten Bücher und Übersichtsartikel sind unter den Referenzen angegeben.)

Die Literaturrecherche hat das enorme Potenzial sowie den derzeitigen Mangel an prozessanalytischer Technik gezeigt. Erfassung der möglichst vollen und zuverlässigen Prozessdaten auch in den realen komplexen Medien ist heutzutage ein Highlight der Prozessanalytik.

Es konnten keine Patente gefunden werden, die den Einsatz der entwickelten Sonden und der spektroskopischen Messmethoden verhindern könnten. Die Messanordnung zur Messung des Ramansignals im Prozess unter Anwendung der LHP-Technologie wurde seitens J&M patentiert [ME09]. Die LHP-Technologie wurde nach dem Abschluss der Projektphase I zusammen mit GEA Pharma Systems patentiert [Pat06, Pat06a, Pat08, Pat08a].

## ***LHP Varianten und Zubehör***

Die Verschmutzung von Messfenstern kommt in der Industrie häufig vor. Aber es gibt eine Reihe von „sauberen“ Prozessen, wobei eine automatisierte Reinigung der Sonde während der Prozesses nicht erforderlich ist. Hierzu gehören zum Beispiel trockene pharmazeutische Prozesse wie die Pulvermischung oder Messungen in hochflüssigen Emulsionen oder Suspensionen. Für diese Art von Prozessen wurden vergünstigte Modifikationen der Lighthouse-Sonde entwickelt (Abbildung 4). Die manuelle oder Laborsonde (Abbildung 4 links) hat keine Automatik und ihre Reinigung bzw. Kalibrierung wird außerhalb der Prozessumgebung durchgeführt. Diese Variante wurde für die Analyse im Bioreaktor angepasst (Abbildung 4 in der Mitte). Die halbautomatische LHP (Abbildung 4 rechts) beinhaltet alle Komponenten der vollautomatischen Sonde bis auf die Fensterreinigung mit Reinigungsmedium sowie das anschließende Trocknen des Messfensters. Alle Sondenvarianten erlauben eine mechanische Reinigung durch das Zurückziehen des Sondenrohres. Dabei wird die Fensterverschmutzung bei der Reibung gegen die Abdichtung beseitigt, siehe Abbildung 3 in der Mitte.



*Abbildung 4: LHP Varianten: manuelle Laborsonde (l.), Sonde eingebaut in Bioreaktor (M.) und halbautomatische Sonde (r.)*

Die Prozesseinbindung der Lighthouse-Sonde erfordert verschiedenartige Adapter und Zubehör. Die im Projekt entwickelten Bauteile sind in Abbildung 5 dargestellt. Die dargestellten Ingenieurösungen decken die Bedarfe von mehreren Labor- bzw. Industrieprozessen ab.

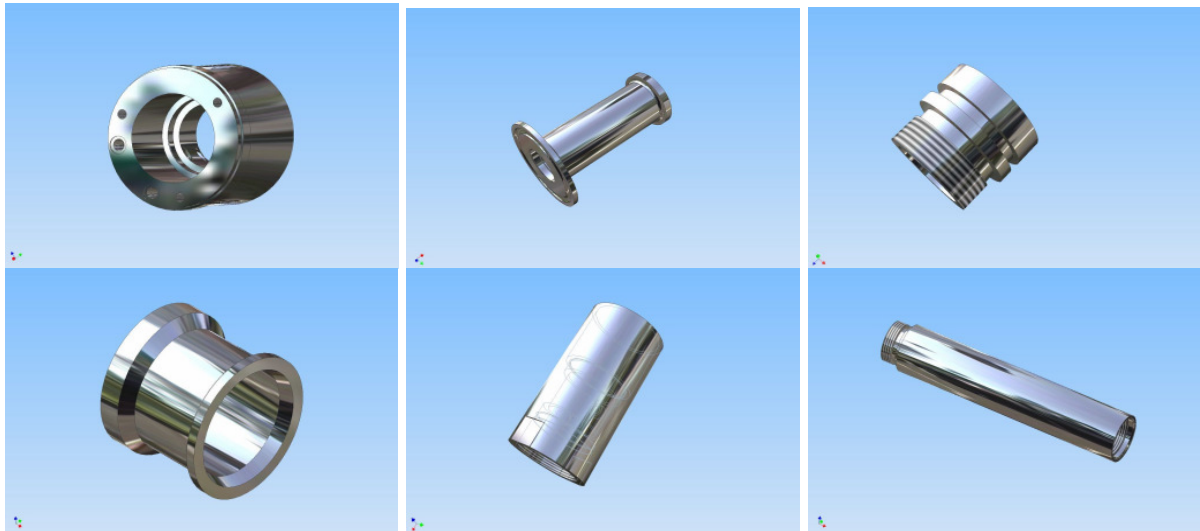


Abbildung 5. LHP Zubehör für Prozesseinbindung.

## ***VN-LHP (Vis/NIR)***

### **Kristallisationsüberwachung**

Die in der Projektphase I entwickelte NIR-Lighthouse-Sonde war eine optimierte Version der LHP mit 360°-Beobachtungsfeld durch alle sieben Saphirfenster. Deswegen wurde diese Sonde zuerst für die Prozesseinbindung ausgelegt. Dabei war es wichtig, die Sonde an die Prozessumgebung anzupassen und ihre praktische Relevanz für die Prozessanalytik zu prüfen. Der optische Aufbau erlaubt eine zweifältige Anwendung, entweder im spektralen Vis- (300-1100 nm) oder NIR- (1100-2100 nm) Bereich oder in ein „breites“ Spektrum kombiniert - deswegen der Sondenname. Dementsprechend wurden zwei verschiedene Applikationen gewählt: erstens die Überwachung der Kristallisation durch die Streuung im Vis-Bereich und zweitens die Inline-Qualitätskontrolle der beschichteten Pellets mittels NIR-Spektroskopie.

Der Prozess der Kristallisation ist von großer Bedeutung für die Chemische und Pharmazeutische Industrie und spielt eine wichtige Rolle bei der Aufkonzentrierung oder Aufreinigung von Produkten sowie der Herstellung von Pharmazeutika. Wichtige Parameter bei der Kristallisation sind die Morphologie, die polymorphe Form und die Reinheit der Produkte. Der Kristallisationsprozess ist somit ein aussichtsreicher Anwendungsbereich der VN-LHP in der Pharmaindustrie. In Zusammenarbeit mit der HS Reutlingen und Pharmaunternehmen A\* wurde die Vis-Detektionstechnik in den Prozess (1 L und 25 L Reaktoren) eingesetzt. Durch ihre sehr

---

\* Die Unternehmen und Prozessdetails sind vertrauliche Informationen und werden nicht veröffentlicht

hohe Empfindlichkeit bzgl. Lichtstreuung und Farbe ist die Vis-Spektroskopie fähig, den Beginn der Kristallbildung genau zu detektieren und das Wachstum zu verfolgen (Abbildung 6).

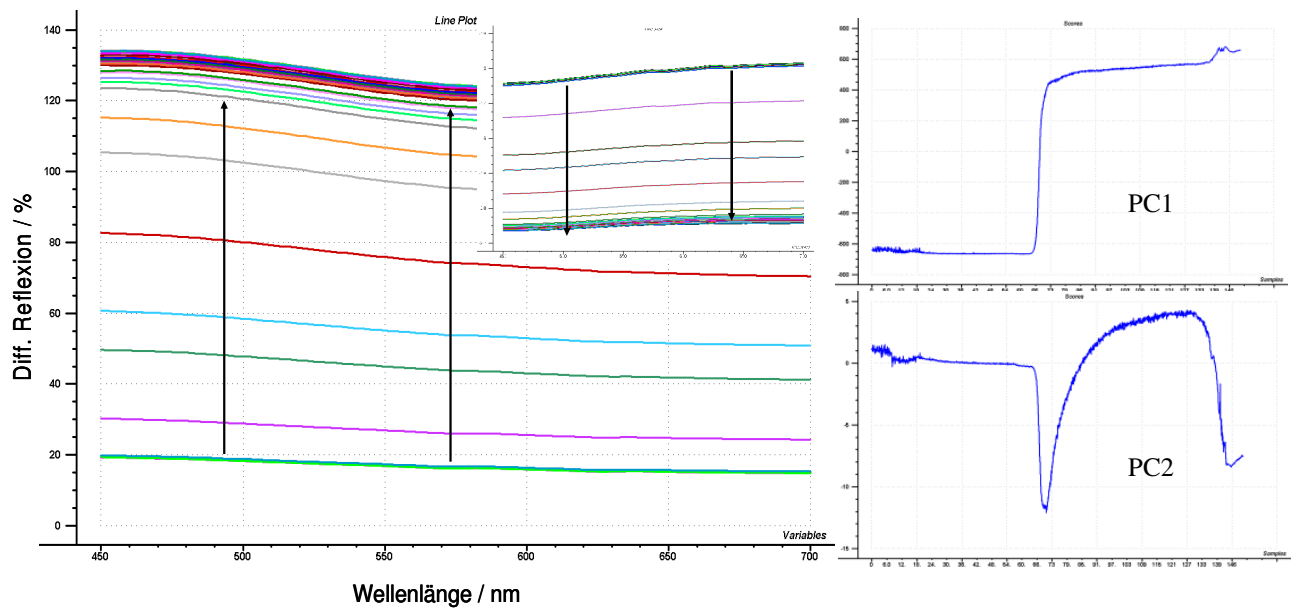


Abbildung 6. Verlauf der Spektren in diffuser Reflexion bei Kristallisation in 25 L Reaktor (o.) und Scoreplots von PC 1 und 2 (u.).

### Inline-Vorhersage der Auflösungskurven von beschichteten Pellets

Im zweiten Test wurde die mit einem NIR-Spektrometer gekoppelte Sonde VN-LHP im Fluid-Bed-Prozess der Pelletbeschichtung eingesetzt. Die beschichteten Pellets werden als Arzneimittel mit verzögerter Wirkung angewandt, darum ist die Kinetik der Auflösung, d. h. Auflösungskurve, die wichtigste Qualitätscharakteristik, deren Vorhersage das Hauptinteresse von Pharmazeuten ist.

Für die Geschwindigkeit der Auflösung ist natürlich die Beschichtungsdicke entscheidend. Aber auch die Prozessbedingungen, z. B. die Feuchtigkeit, die Temperatur oder die Sprühgeschwindigkeit spielen eine wichtige Rolle, da sie die Qualität der Beschichtung beeinflussen.

Von Projektpartner CG ICP wurde dazu eine neuartige Methode, die ein Prozessspektrum mit einem experimentellen Auflösungsprofil verbindet, erfunden. Die Versuche wurden bei GEA Aeromatik-Fielder durchgeführt. Zuerst wurde eine kinetische Gleichung vorgeschlagen, die für die Beschreibung von allen experimentellen Auflösungskurven gilt:

$$\varphi(t, m, k) = 100k \frac{\exp[(m+k)t] - 1}{m+k \exp[(m+k)t]}$$



Diese Gleichung ist im Fachfeld der chemischen Kinetik als *autokatalytische* bekannt. Es wurde sodann herausgefunden, dass der Parameter  $m$  prozessunabhängig ist, d. h. er ist innerhalb des Fehlers konstant und kann somit für das gleiche Beschichtungsmaterial von experimentellen Auflösungsdaten berechnet werden. Andererseits zeigt  $k$  eine strenge Korrelation mit der Beschichtungsdicke und kann von NIR-Spektren (Abbildung 7 links) chemometrisch modelliert und vorhersagt werden. Die Kenntnis dieser zwei Parameter ermöglicht die genaue Berechnung des Konzentrationsprofils eines Wirkstoffs in jedem aktuellen Prozesszeitpunkt (Abbildung 7 rechts). Die Ergebnisse wurden zur Veröffentlichung in *Analyst* vorgelegt [PR10].

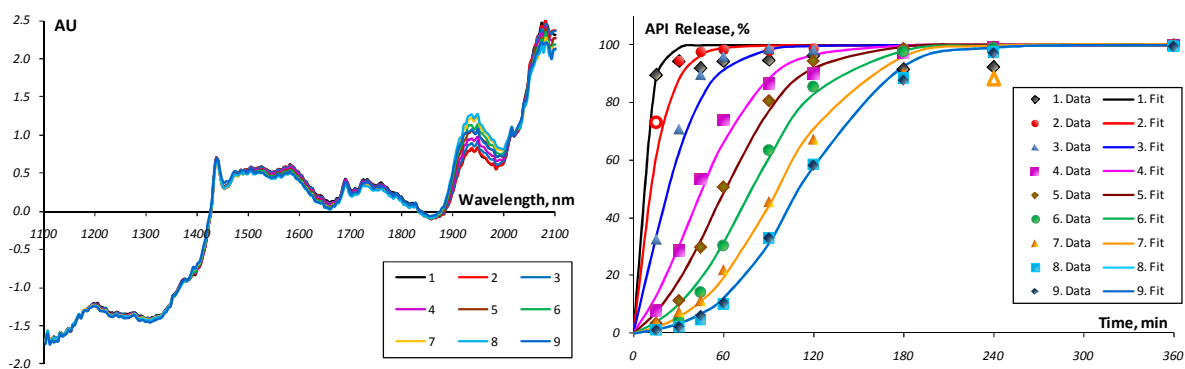


Abbildung 7. In-line-NIR-Spektren in neun Zeitpunkten des Beschichtungsprozesses von Pellets (l.) und Vorhersage der jeweiligen Auflösungsprofile (r.) von Pelletproben.

Als Ergebnis kann man einen erfolgreichen Einsatz der NIR/Vis-Lighthouse-Sonde für die Prozesskontrolle in zwei wichtigen Industrieanwendungen feststellen.

### ***Total-Containment-LHP (Vis-NIR)***

Total-Containment steht für die Analyse eines total abgeschlossenen Systems, wenn z. B. hochgiftige pharmazeutische Pulver gehandhabt werden. Eine Hauptschwierigkeit bei solchen Analysen ist, dass die Sonde nicht aus dem Prozess entfernt werden kann. Dadurch ist keine äußerliche Reinigung bzw. Kalibrierung möglich. Hierfür stellt die LHP-Technologie mit automatischer Intern-Reinigung eine unentbehrliche Lösung dar.

Bezüglich des spektroskopischen Aufbaus ist die Total-Containment-LHP (TC-LHP) mit der VN-LHP identisch. Aber die Prozessanforderungen mussten von einer speziellen Messanlage sowie von einer gewissen Modifikation des äußeren Sondendesigns getroffen werden. Hierzu gehören: das spitze Messkopfe, die verlängerten Probenkörper, dichtende Klipse und ein

Halter (Abbildung 8 links). Ein Beispiel für ein Prozessspektrum NIR ist in Abbildung 8 rechts gezeigt.

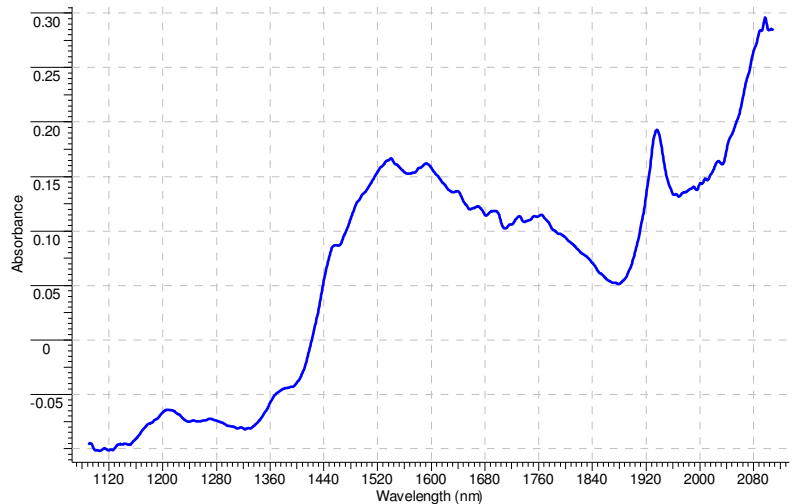


Abbildung 8. TC-LHP angepasste für abgeschlossene Pulveranalyse (l.) und NIR-Spektrum des Pulvers (r.).

Die Total-Containment-Lighthouse-Sonde ist somit ein besonderer Aufbau der NV-LHP, die zur spezifischen Prozessumgebung erfolgreich angepasst und darin getestet wurde.

### ***Multifunktionssonde VNR-LHP: Vis+NIR+Raman***

Eine Erfassung der möglichst vollständigen, qualitätsrelevanten Information ist die wichtigste Fähigkeit eines analytischen Online-Systems. Die drei spektroskopischen Techniken Vis, NIR und Raman bilden dafür eine vielversprechende Kombination.

Hohe Empfindlichkeit für verschiedene organische Stoffe sowie für den Wassergehalt macht die NIR-Spektroskopie zur meistgängigen Analysetechnik in der Pharmaindustrie. Die Spektren im günstigsten, sichtbaren (Vis-) Bereich sind zur genauen Charakterisierung der Farbeigenschaften geeignet. Durch die Lichtstreuung ergeben sie zudem Informationen über die Partikelgrößen. Raman ist in der Prozessanalytik eine relativ neue Spektroskopiemethode, die ausgezeichnete Sensibilität und Selektivität ermöglicht. Alle drei können durch Lichtwellenleiter (LWL) problemlos an den Prozess angeschlossen werden.

Zuerst wurde die LHP-Raman-Sonde weiterentwickelt. Der innere Aufbau des Messkopfes wurde mit zwei fokussierenden Spiegeln ausgestattet (Abbildung 9). Zudem wurde eine Filterfunktion für das rückgestreute Laserlicht eingebaut. Der rote (785 nm) DPSS-Laser wurde für die Anregung gewählt. Der neue Aufbau hat das wesentlich verbesserte Signal-Rausch-Verhältnis gezeigt.

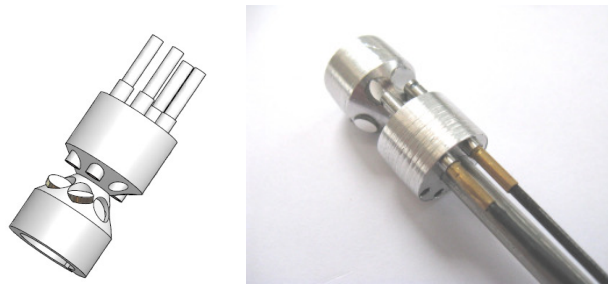


Abbildung 9. Innerer Aufbau des Raman-Messkopfes: Zeichnung (l.) und Photo (r.)

### **Überwachung der Pelletbeschichtung**

Das Zusammenwirken der Raman- und NIR- Spektren in der Prozessumgebung wurde anhand der Pelletbeschichtung getestet. Zuerst wurden die Daten durch zwei alleinstehende NIR and Raman- LHPs erfasst (Abbildung 10).

Die NIR- und Raman- Prozessdaten wurden miteinander verknüpft und für die gemeinsame Datenanalyse mittels PLS Regression verwendet. Die Modelle für zwei wichtige Qualitätsparameter wurden damit hergestellt: die Produktfeuchte und das sogenannte Massflow, das mit der Beschichtungsdicke stark korreliert. Die PLS- Modelle wurden für die Inline-Vorhersage der oben genannte Parameter verwendet (Abbildung 11).

Die nahe Übereinstimmung der aktuellen und vorhergesagten Werte bestätigt die Kompatibilität der beiden Techniken und deren Anwendbarkeit für die Online-Überwachung und Kontrolle des Beschichtungsprozesses. Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden in einer Fachzeitschrift [BE10] und auf verschiedenen Tagungen [BE09, BK09] veröffentlicht.

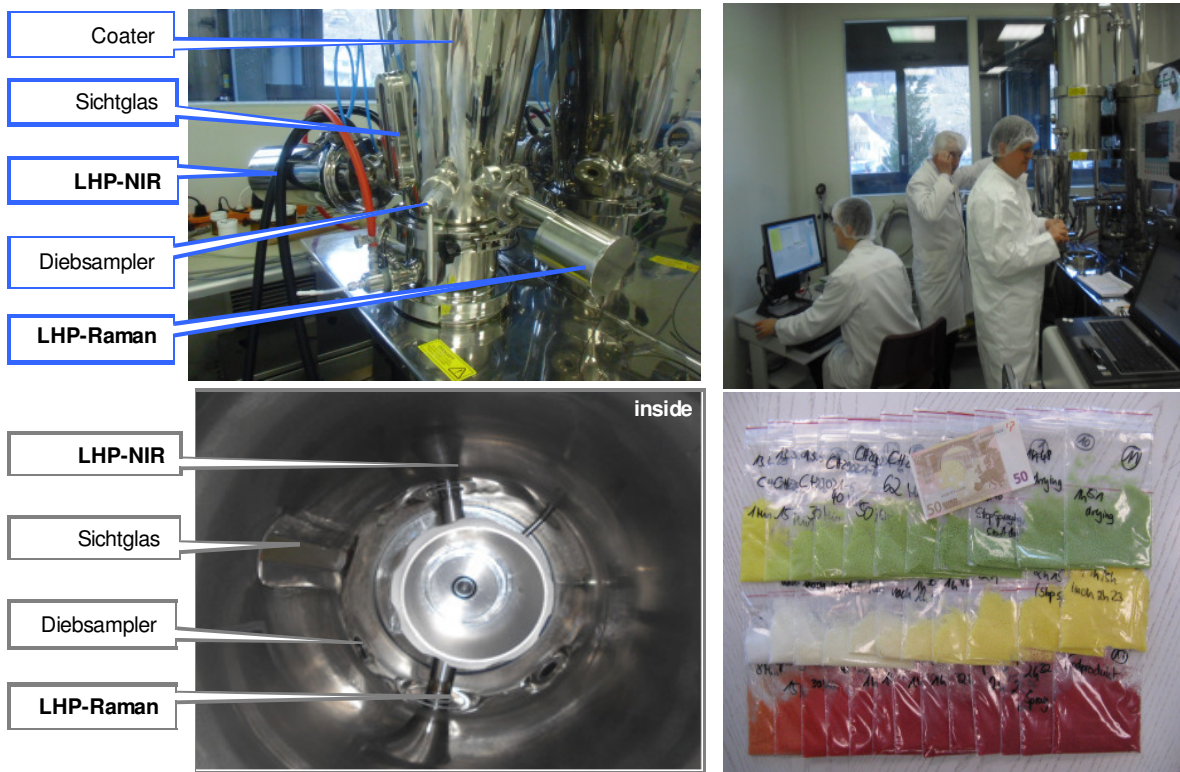


Abbildung 10. Überwachung der Pelletbeschichtung durch NIR und Raman-Spektroskopie. Versuchsaufbau (o. l. und u. l.), das Team (o. r.), beschichtete Pellets (u. r.).

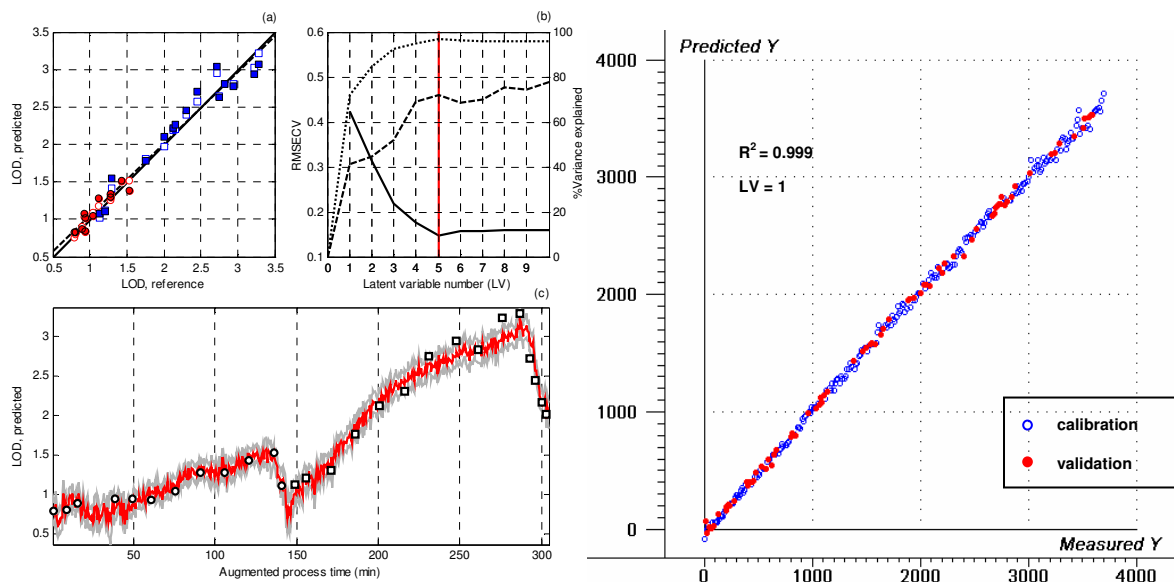


Abbildung 11. Vorhersage der Feuchte (l.) und Beschichtungsdicke (r.) aus kombinierten NIR- und Raman-Spektren vom Beschichtungsprozess der Pellets.

## Kristallisationsüberwachung

Die durchgeführten Versuche haben das Potenzial spektroskopischer Prozessanalytik im Bereich der Kristallisation aufgezeigt. Mit Hilfe der UV/VIS-Spektroskopie in diffuser Reflexion in der

Lighthouse Probe und der Raman-Spektroskopie in der Raman-Prozesssonde kann die Keimbildungsphase bei der Kristallisation verschiedener Substanzen zuverlässig ermittelt werden. Insbesondere durch Messungen in diffuser Reflexion können zudem Informationen über das Kristallwachstum im Prozessverlauf generiert werden. Mittels Raman-Spektroskopie können darüber hinaus Informationen über die Polymorphie der kristallinen Produkte gewonnen werden, wie am Beispiel der Racemisierung von Glutaminsäure aufgezeigt werden konnte (Abbildung 12).

Nach erfolgreichem Test wurden die NIR- und Raman- sowie die Vis-Spektroskopie in einer Sonde kombiniert.

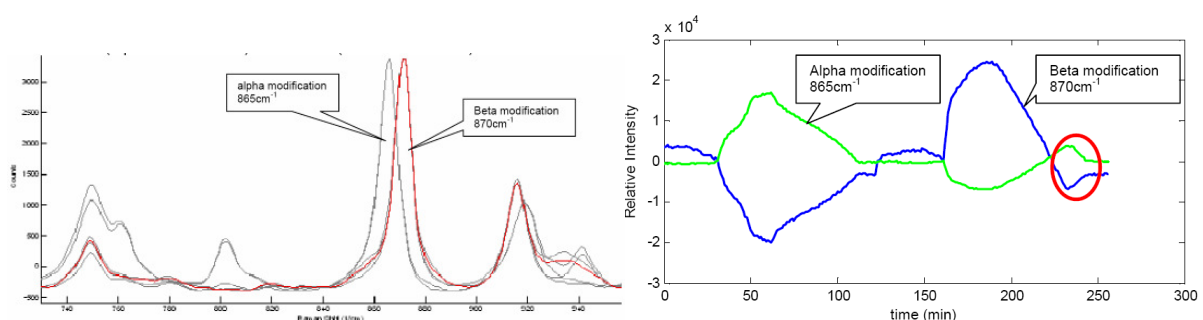


Abbildung 12. Raman-Spektren von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Glutaminsäure (l.) und Prozessverlauf von Intensität von jeweiligen Peaks (r.).

### Überwachung der Pulvermischung

Die pharmazeutische Pulvermischung war ein weiteres Medium, in dem die VNR-LHP erfolgreich getestet wurde. Die Fähigkeit der NIR-Spektroskopie zur Analyse von organischen Pulvern ist bekannt [RC07], aber für Raman war dies eine neue Anwendung. Die beim Pharmaunternehmen B\* durchgeführten Tests haben gezeigt, dass die Lighthouse-Sonde klare spektrale Signaturen von typischen pharmazeutischen Pulvern liefert (Abbildung 13). Diese Fähigkeit kann, wie es Abbildung 14 zeigt, für die Online-Überwachung des Mischungsprozesses verwendet werden.

Eine gleichzeitige Messung ist bei NIR-Spektren problemlos, aber für Raman ist die Halogenlampe, die für NIR und Vis-Messungen benutzt wird, störend. Zwei unkomplizierte Lösungen wurden vorgeschlagen: Einbau des Notchfilters bei 1065 nm oder die abwechselnde Aufnahme der Spektren.

Bei den Messungen in flüssigen streuenden Medien wie in Milch oder in Bioreaktoren hat aber die LHP eine viel geringere Intensität der Raman-Signal gezeigt als in Pulvern oder Pellets. Der Effekt lässt sich mit der hohen Absorptionsfähigkeit des wässrigen Mediums erklären. Deswegen

muss die Lighthouse-Sonde optisch noch weiter optimiert werden, um sie in solchen Prozesse einsetzen zu können.

Zusammengefasst bietet die Kombination von Vis-, NIR- und Raman-Detektionsverfahren in einer Lighthouse-Sonde nicht nur eine hohe Flexibilität bei der Anpassung an verschiedene analytische Fragestellungen, sondern auch eine komplementäre Wirkung, die die Sensibilität sowie Selektivität der Analyse wesentlich verbessern kann.

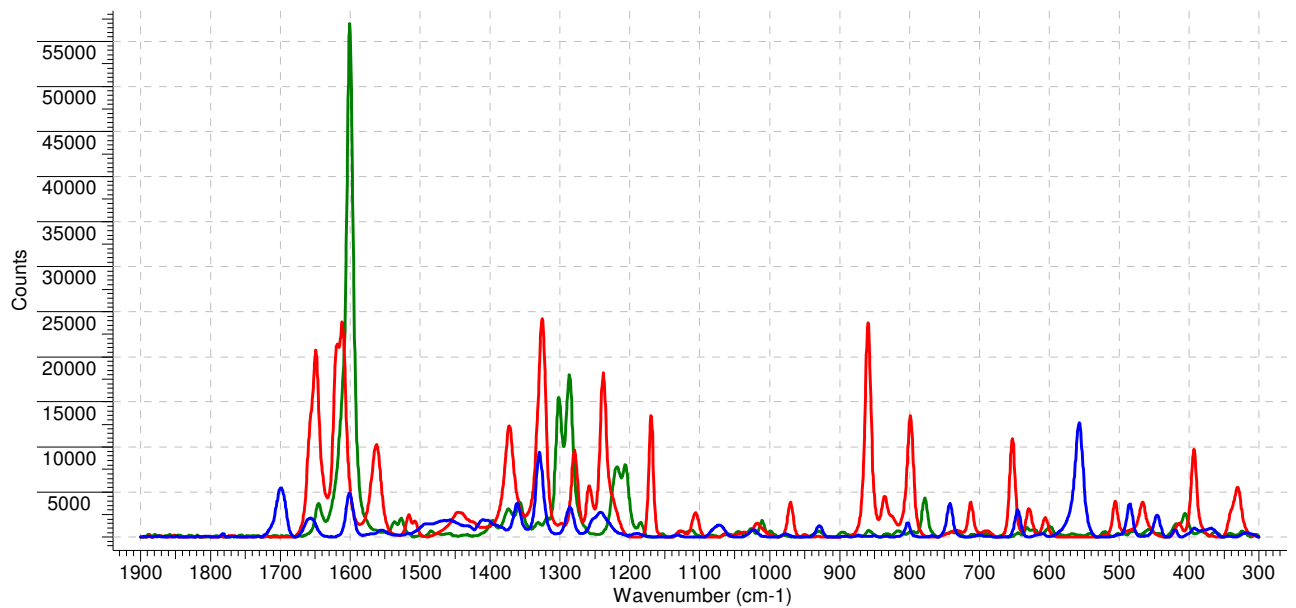


Abbildung 13. Raman-Spektren von typischen pharmazeutischen Pulvern

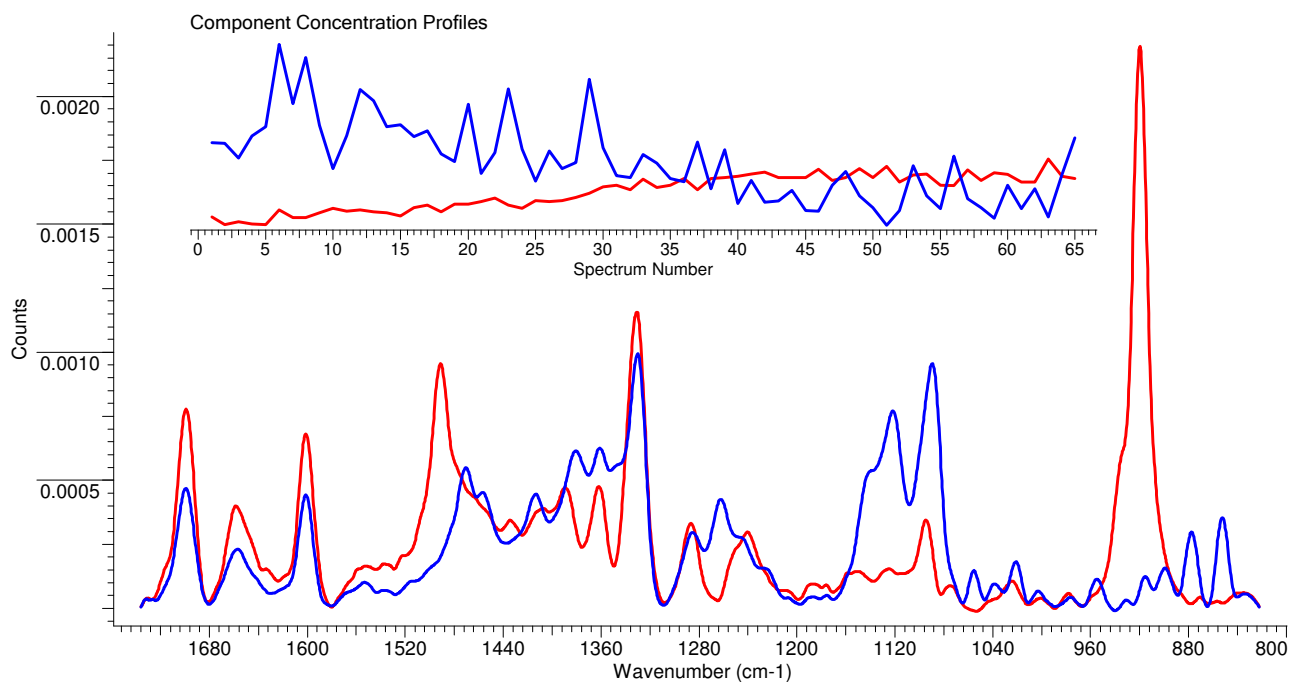


Abbildung 14. MCR-aufgelöste Komponenten-Spektren und dementsprechende Verlaufsprofile vom Mischprozess

### ***Multifunktionssonde VNF-LHP: Vis+NIR+Fluoreszenz***

Die Ersetzung der Raman- durch die Fluoreszenzspektroskopie führt einerseits zur wesentlichen Vergünstigung. Andererseits ist die Fluoreszenz eine hochempfindliche optische Methode, die sich zur Analyse von mehreren organischen Stoffen eignet. Die zweidimensionale (2D-) Fluoreszenz, die die Probenspektren bei mehreren Anregungswellenlängen aufnimmt, bietet dazu perfekte Selektivität, die zur Identifizierung von einzelnen Fluorophoren verwendet werden kann. Das Fluoreszenzsignal ist normalerweise viel stärker als die Ramanstreuung und lässt sich deswegen auch in schwierigen, z.B. flüssigen, Medien registrieren.

### **Überwachung von Bioprozessen**

Besonderes beliebt ist die Fluoreszenzspektroskopie als Methode zur Analyse von mikrobiologischen Systemen und biotechnologischen Prozessen. Sowohl extra- als auch intrazelluläre Komponenten des Stoffwechsels von Bakterien wie z. B. NADH, FAD, FMN, d. h. Enzymen und Koenzymen, sind typischerweise starke Fluorophoren. Somit, kann durch deren Fluoreszenz nicht nur das Biomassewachstum, sondern auch der metabolische Zustand und die Aktivität überwacht werden.

Die neue Kombisonde VNF-LHP wurde im Fermentationsprozess von *Saccharomyces cerevisiae* (Backhefe) eingesetzt (Abbildung 15). Dieser Prozess, der der Bauerei zugrunde liegt, ist ein Lieblingstestsystem von Biologen und Biochemikern. Die Fluoreszenz-Sonde wurde im 3 L Laborbioreaktor getestet. Das Milieu und die Prozessparameter sind in Labor- und Technikumsmaßstab sehr ähnlich.

Zuerst wurde die 1D-Fluoreszenzspektroskopie getestet, siehe Abbildung 16. Das Anregungslicht bei 365 nm (grüne Linie in Abbildung 16 links) wurde von einem Filter bei 450 nm (blaue Linie) unterdrückt. Trotz geringer Variationen des Fluoreszenzsignals, das meist vom fluoreszierenden Medium stammt, konnte die Prozesskurve mittels MCR aufgelöst werden (Abbildung 16 rechts). Dies erfolgte mithilfe der äußeren Lichtquelle (Emissionsband 800 - 950 nm). Dieses Band reflektiert nur die Intensität der Trübung, die mit dem Wachstum der Zellen korreliert und übernimmt somit die Rolle eines internen Standards, der von den Schwankungen der Anregungsintensität unabhängig ist. Damit konnte die Fluoreszenz von den Zellen (schwarze Kurve und Spektrum in Abbildung 16 (a) und (b) rechts) von der Mediumfluoreszenz getrennt werden.

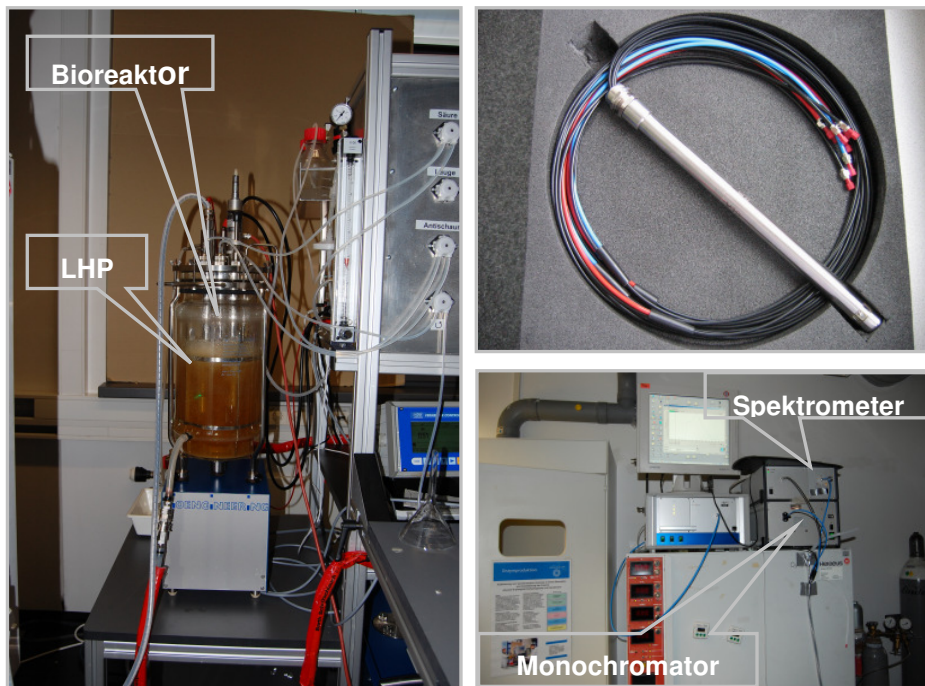


Abbildung 15. Überwachung der Hefe-Fermentation mit VNF-LHP im 3 L Laborbioreaktor.

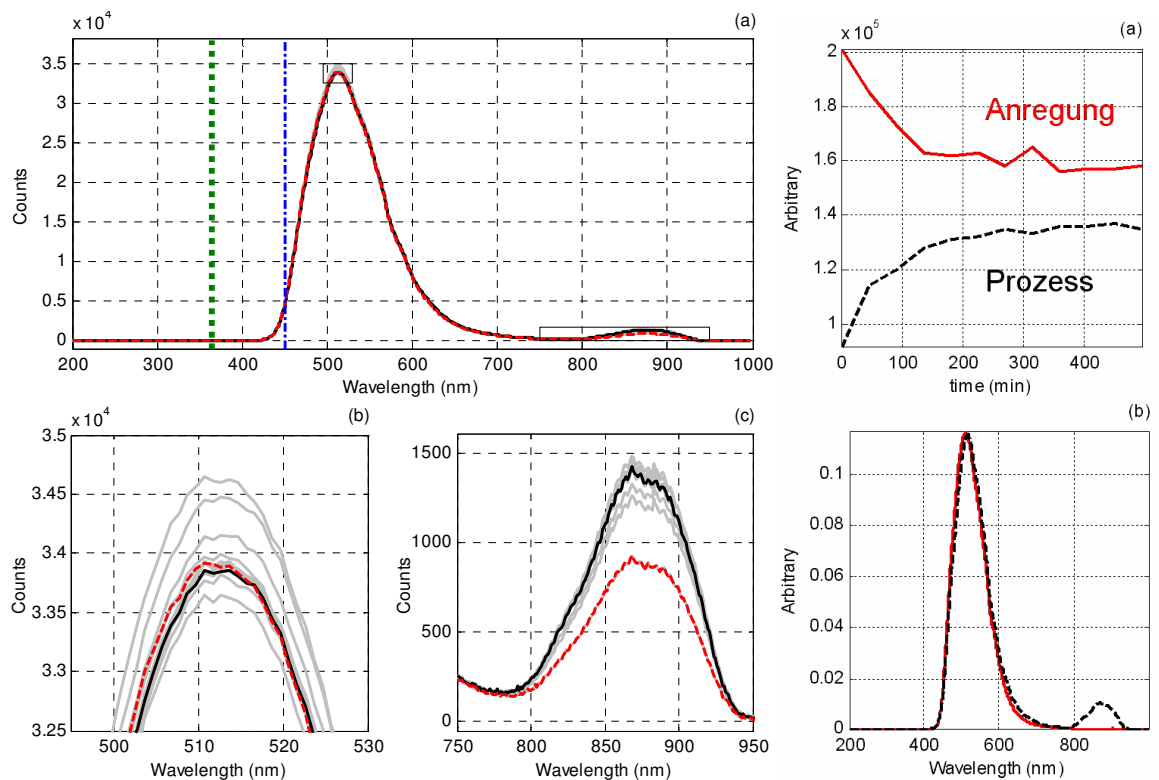


Abbildung 16. Inline-Fluoreszenzspektren der Hefefermentation (l.) und aufgelöste Prozesskurve (r.).

2D-Fluoreszenz nimmt die angeregten Spektren bei mehreren Wellenlängen auf und ergibt deswegen umfassende Prozessinformationen, die sowohl für qualitative als auch quantitative



Analyse genutzt werden. Für die Tests wurde die VNF-LHP mit dem J&M-Monochromator ausgestattet (Abbildung 15). Die erfassten Prozessspektren bilden den 3D-Datenblock (Abbildung 17). Die Datenanalyse ist in diesem Fall besonders kompliziert - wegen der starken Rayleigh- Streuung des Anregungslichtes, das die Intensität der Fluoreszenz ca. 500-mal übersteigt. Das Anregungslicht konnte in diesem Fall nicht herausgefiltert werden, weil das Fluoreszenzband zu nahe daran lag.

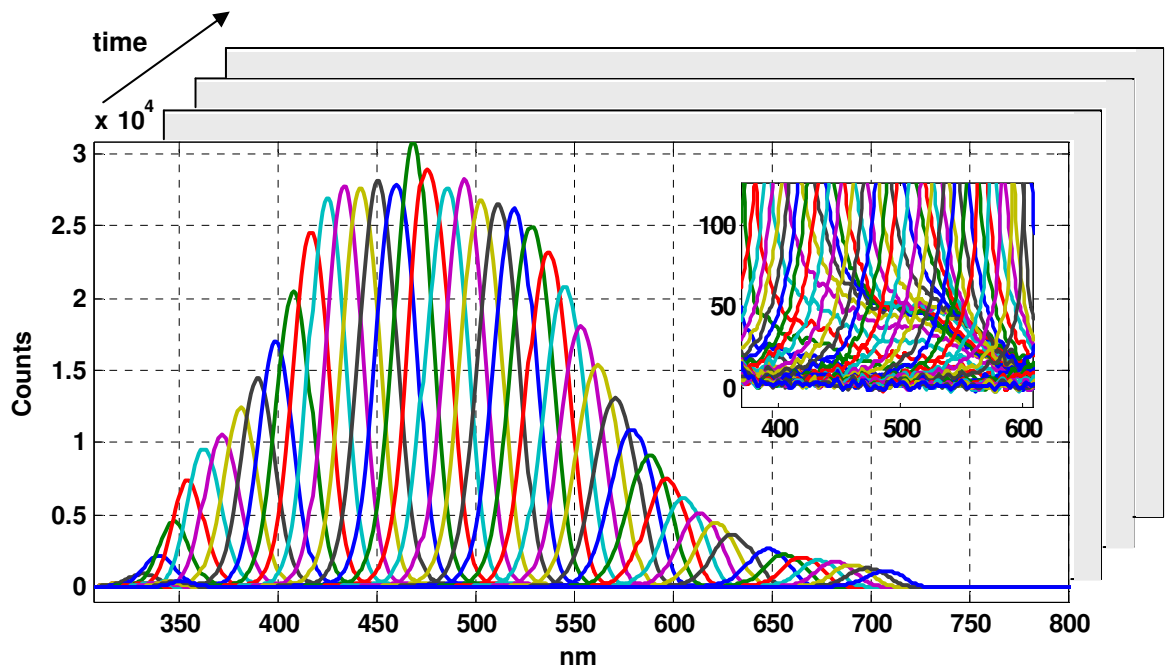


Abbildung 17. Inline-Überwachung der Hefefermentation mittels 2D-Fluoreszenzspektroskopie.

Um den Prozessverlauf sichtbar zu machen und darzustellen, wurde ein Algorithmus entwickelt. Damit konnten 2D-Fluoreszenzspektren (Anregung-Emissionsspektren) von individuellen Fluorophoren aufgelöst werden (Abbildung 18).

Die Ergebnisse des Einsatzes der Fluoreszenz- LHP in biotechnologische Prozesse wurden in einer chemometrischen Fachzeitschrift veröffentlicht [BG10].

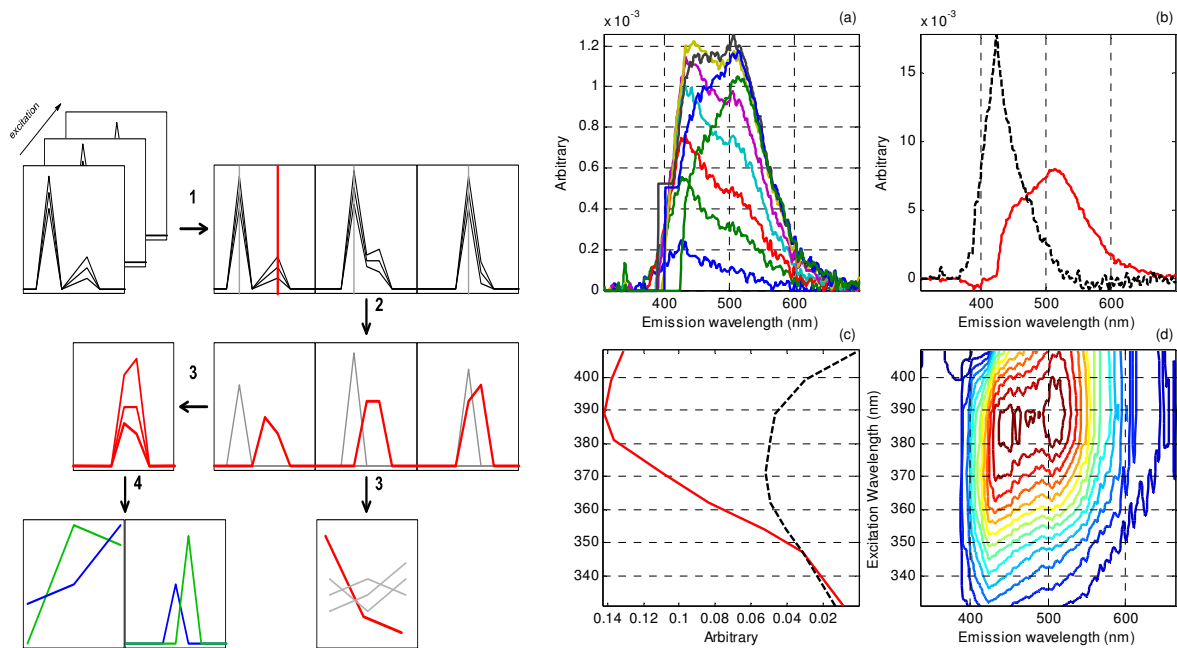


Abbildung 18. Algorithmus für die Auflösung der Fluoreszenz in Anwesenheit von starkem Streulicht (l.) und aufgelöste 2D-Spektren von individuellen Fluorophoren (r.).

## Beschichtungsprozess von Pellets

In diesem Test wurden die Zusammenwirkung aller drei Detektionsverfahren, d. h. Vis-, NIR und Fluoreszenzspektroskopie, im selben Beschichtungsprozess von Pellets (siehe Kapitel Überwachung der Pelletbeschichtung) untersucht. Hier wurde die Versuchsdesign-Methode (Design of Experiment, DoE) verwendet, um die Variation der zwei wichtigsten Prozessparameter, Menge des Wirkstoffes (%API) und Prozesstemperatur, zu berücksichtigen (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1. Fünf Batches die mit der VNF-LHP überwacht wurden.

Batch #	API % (level)	Av. Temperature (level)
B2	5% (mid)	29°C (mid)
B3	7.5% (max)	28°C (min)
B4	2.5% (min)	35°C(max)
B5	7.5% (max)	36°C(max)
B6	2.5% (min)	27°C (min)

Die NIR-Spektren wurden in diesem Fall nicht durch alle sieben, sondern durch ein einziges Sondenfenster aufgenommen. Trotzdem konnten die Feuchtigkeit und die mit der Beschichtungsdicke verbundene versprühte Masse (Sprayed Mass, SM) mit nur geringfügig schlechterer Genauigkeit vorhergesagt werden. Überraschend war, dass auch Vis-Spektren eine zwar schwächere aber deutlichere Korrelation mit der Feuchtigkeit gezeigt haben (Abbildung

19). Die 2D-Fluoreszenzspektren zeigen nach dem 3-Way-PLS [Bro96] Modell manche Korrelation mit SM, keine jedoch mit LOD.

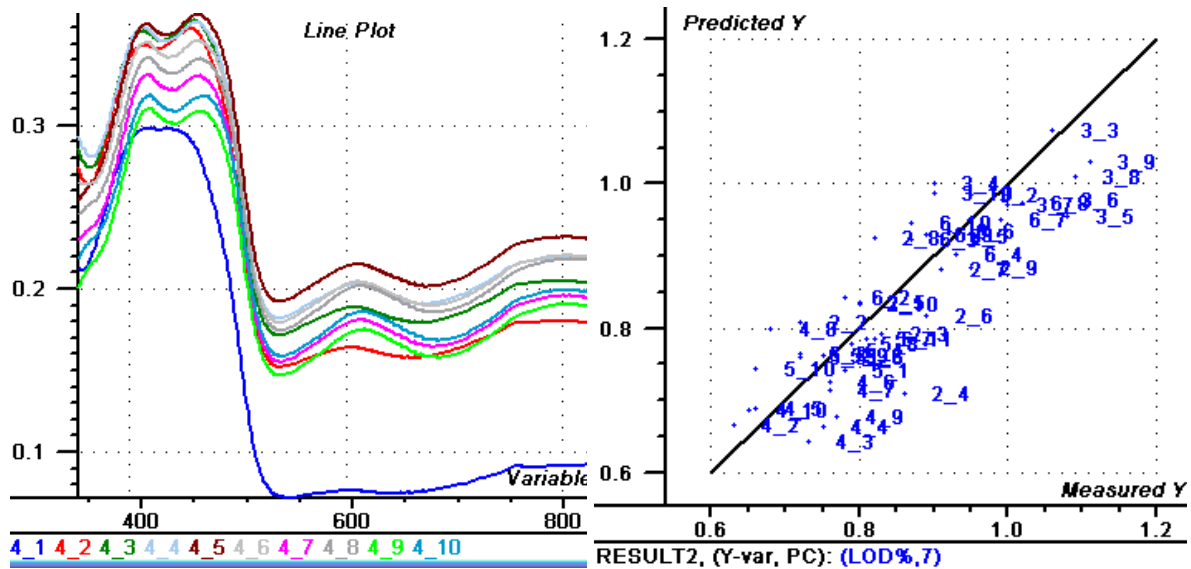


Abbildung 19. Vis-Spektren im Batch#4 (l.) und vorhergesagte gegen gemessene %Feuchte (LOD) (r.).

Die mit den verschiedenen Detektionsmethoden ermittelten Daten wurden zusammen ausgewertet. Tabelle 2 stellt die Ergebnisse dar. Für die gemeinsame Feuchteanalyse wurden die Vis- und NIR-Daten mit Koeffizienten 0.1/std und 1/std bzw skaliert und in einem Datenblock vereinigt. Für die Analyse von Vis+NIR+2D-Fluoreszenzdaten wurde Multiblock-PLS verwendet [Hös07].

Tabelle 2. Vorhersagefehler (RMSECV) von %Feuchte(LOD) und versprühter Menge (SM) von individuellen Daten und ihren Kombinationen.

Parameter	NIR	Vis	2DF	NIR+Vis	NIR+Vis+2DF
LOD	0.051	0.063	-	<b><u>0.046</u></b>	-
MS	173	-	500	-	<b><u>162</u></b>

Die Ergebnisse (Tabelle 2) zeigen eine deutliche Verbesserung der Genauigkeit bei der gemeinsamen Modellierung von verschiedenen spektroskopischen Daten.

Somit wurde die Effektivität der Kombi- Sonde mit mehreren Detektionsverfahren nachgewiesen. Nicht nur die Flexibilität der Methodikauswahl sondern auch die synergetische Zusammenwirkung der Vis-, NIR- und Fluoreszenzspektroskopie für die Analyse der zwei wichtigsten Qualitätsparameter des Beschichtungsprozesses wurde experimentell nachgewiesen.

### ***OVR-LHP (ortsaufgelöste Vis-Reflexion)***

Die Vielfachstreuung von Photonen in Partikelsystemen kann als Informationsträger für die morphologische und chemische Signatur benutzt werden. Bestrahlt man die Probe punktförmig, diffundieren die Photonen unterschiedlich tief in das System und können unterschiedlich weit vom Einstrahlpunkt sowohl in diffuser Transmission als auch in diffuser Reflexion vermessen werden. Die in der Projektphase I durchgeführten theoretischen Berechnungen mit Hilfe der Monte Carlo-Simulation bei der Diffusion von Photonen in lichtstreuenden Medien hat gezeigt, dass je nach Streukoeffizient der Probe und je nach Entfernung der Messstelle von der Einstrahlstelle sehr unterschiedliche Spektren erhalten werden. Dabei erhofft man sich, durch ortsaufgelöste Spektren nicht nur die mittleren Teilchendurchmesser zu erfassen, sondern auch weitere Informationen wie die Partikelgrößenverteilung zu bekommen.

Um die Lighthouse Sonde auch in Bereiche der Prozesskontrolle einzubringen, in denen Pulversysteme analysiert werden sollen, war die Entwicklung geeigneter analytischer Verfahren und ihre Implementierung in das Lighthouse-Sondendesign ein wesentlicher Aspekt des hier vorgestellten Projektes. In diesem Modul sollten Prinzip und Aufbau eines Online-Partikelmesssystems erarbeitet werden. Zur Bestimmung von Partikelgröße und eventuell Partikelgrößenverteilung wurde die Lighthouse Sonde als Messsonde zur Bestimmung des winkelabhängigen Streulichts modifiziert. Wie schon bei der Ramanspektroskopie wurde auch hier eine Lichtleitfaser als Lichtquelle, die anderen zentrisch darum angeordneten Fasern zur winkelabhängigen Detektion des Streulichtes inklusive seiner spektralen Verteilung, herangezogen. Im Wellenlängenbereich von UV-VIS und im NIR wurde dies über parallele Spektrometermodule realisiert oder über einen Pushbroom-Imager. Mit dieser Anordnung war es möglich, sowohl die morphologische Struktur der zu analysierenden Partikel zu erfassen als auch ihr Absorptionsverhalten zur Identifizierung heranzuziehen.

Um die winkelabhängige Streuleistung in einer Lighthouse-Sonde zu ermitteln wurden zwei lineare LWL- Anordnungen in den Messkopf eingebaut (Abbildung 20). Die resultierende Sonde ist in diesem Bericht als ortsaufgelöste Vis- Reflexion- (OVR-LHP) oder Photonendiffusionssonde bezeichnet.

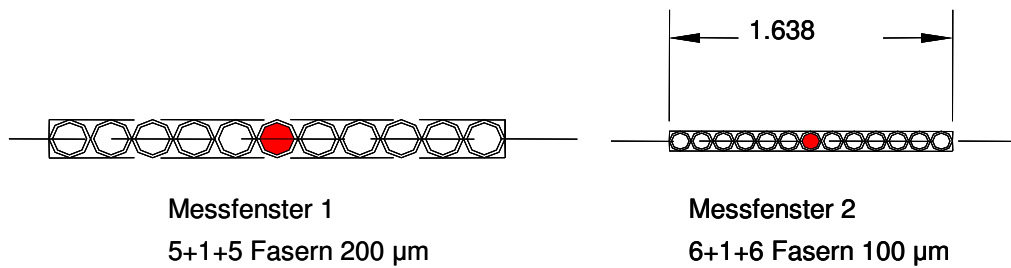


Abbildung 20. Zeichnung des Messkopfes der OVR- LHP-Sonde mit zwei linearen LWL-Anordnungen; die roten Fasern dienen der Beleuchtung.

Ein Kanal am Spaltende dient als Probebeleuchtung, in den weiteren Kanälen wird das rückgestreute Licht winkelabhängig detektiert. Als Vielfachspektrometer dient dabei ein VIS-Pushbroom-Imager. Dabei wird ein Bündel von Lichtwellenleitern auf einem Adapter so konfektioniert, dass diese entlang des Eintrittsspaltens vom Pushbroom-Imager liegen. Damit kann jeder Kanal einer bestimmten Pixelregion auf dem CCD zugeordnet werden, und die Messungen lassen sich in einem einzigen Spektrometersystem zusammenfassen (Abbildung 21).

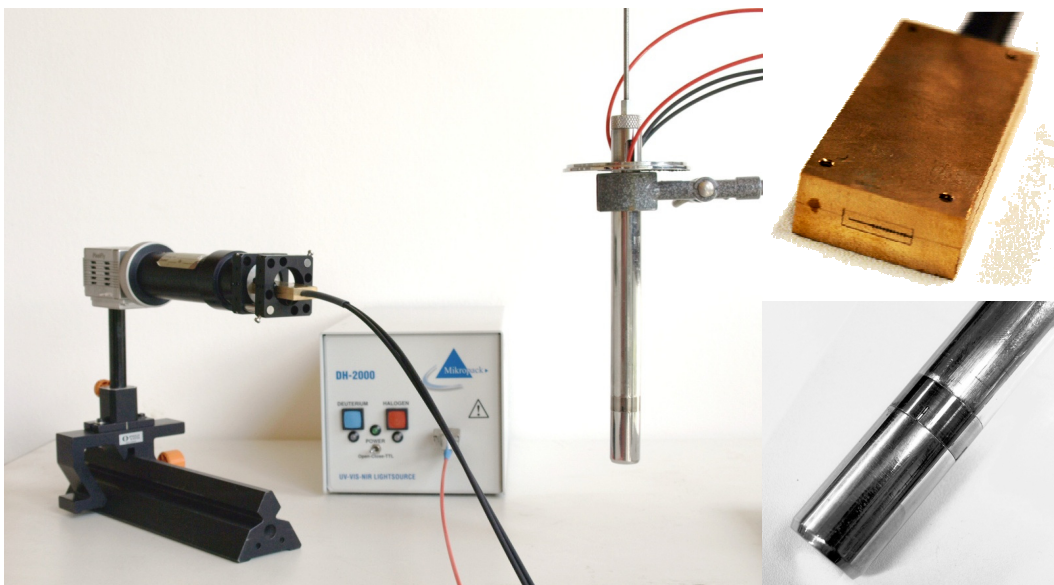


Abbildung 21. Ortsaufgelöste LHP: das Gesamtsystem (l.), Pushbroom Module (o .r.) und Sondenmesskopf (u. r.).

Die Qualifizierung der Sonde wurde beim RRI HS Reutlingen von H. Prof. Dr. Kessler durchgeführt. Die Justierung erfolgte in einer Ulbrichkugel, somit konnten die Transmissionseigenschaften der Einzelnen Lichtleiter innerhalb eines Fensters kalibriert werden (Abbildung 22).

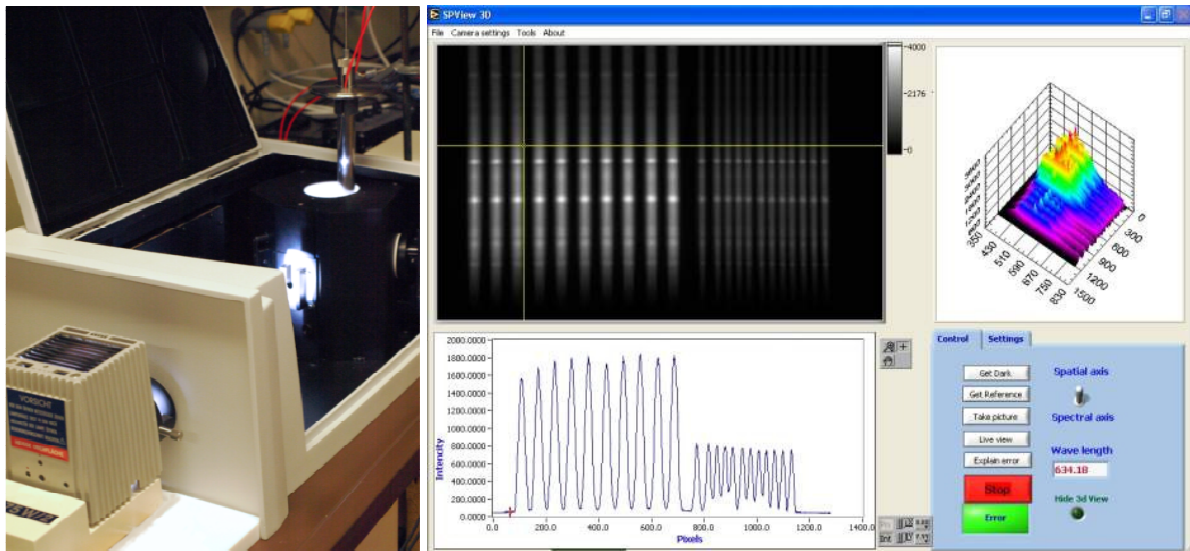


Abbildung 22. Justierung der Sonde im Ulbrichkugel (l.) und Resultierende Intensität einzelner LWLs (r.).

Die folgenden Korrekturen sind für die Auswertung notwendig: (1) „hot“ Pixel Korrektur; (2) „smile“ Korrektur; (3) Entfernung der äußeren Bereiche, wo das Signal/Rauschen Verhältnis zu schlecht ist: spektraler Bereich 400-800 nm; (5) Binning der Wellenlängen (x 4 → sampling rate: 1.5 nm Vergleich mit der spektrale Auflösung von 2.5 nm); (6) Keystone Korrektur; (7) Summe des zentralen Teils der LWL; (8) Normierung mit den Messungen an der Ulbrichtkugel; (9) Umrechnung in Reflexion durch Normierung mit der Messung des Lampenspektrums und Logarithmierung (ln) der Werte der Reflexion; und (10) Zuordnung der LWLs bezogen auf den Abstand von der Beleuchtungsquelle. Die Korrekturen (2)-(3) sind kamera-spezifisch, (1) (4) (5) und (6) sind kamera- und sondenspezifisch.

Mit der Vorverarbeitung gelingt eine starke Datenreduktion: die Messdaten zeigen am Ende die punktuelle Abnahme der Intensität abhängig vom Abstand vom Beleuchtungspunkt, wobei jeder Messpunkt einen Abstand von 126  $\mu\text{m}$  (Fenster 2) bzw. 245  $\mu\text{m}$  (Fenster 1) entspricht.

Nach der Korrektur wurde die Sonde mithilfe der folgenden Testsysteme (Messungen an Pulvern) getestet:

- BaSO<sub>4</sub> und PTTE (als weiße Standards)
- Kovasil Glaskügelchen ( $\varnothing=5, 10, 15, 20 \mu\text{m}$ )
- Estapor rot (K020, K045, K100, L300)
- Lipovenös (5 Verdünnungen).

Die Anwendbarkeit der OVR-LHP zur Analyse streuender Medien wird in Abbildung 23 aufgezeigt. Die Abnahme der Lichtintensität mit dem Abstand zum Beleuchtungspunkt wird

durch den geringen Unterschieds der Partikelgrößen (Kovasil, Abbildung 23 oben) oder durch unterschiedliche Konzentrationen von Lipovenös (Abbildung 23 unten) verursacht.

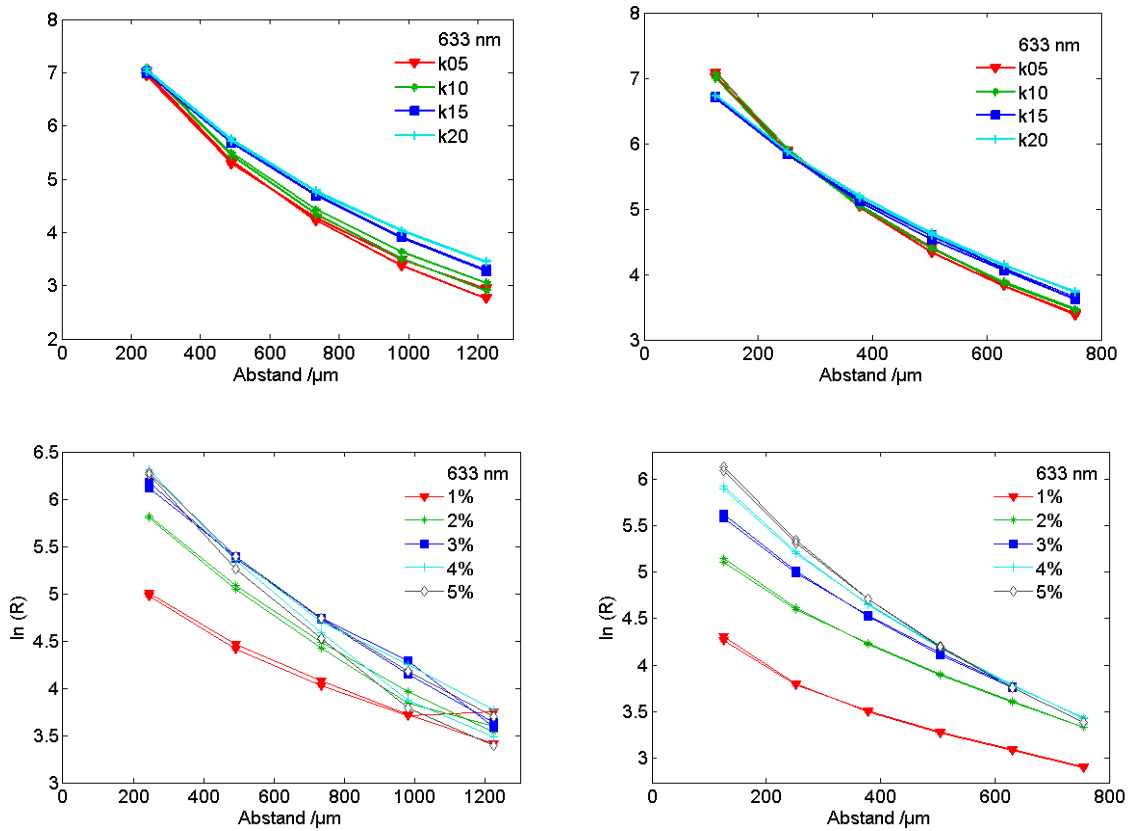


Abbildung 23. Abnahme der log-Intensität bei  $\lambda=633$  nm für die Kovasil Partikeln (o.): Fenster 1 (o. l.) und 2 (o. r.); und für die Lipovenös Verdünnungsreihe (u.): Fenster 1 (u. l.) und 2 (u. r.).

Die OVR-LHP-Sonde ermöglicht auch eine genaue quantitative Vorhersage der Partikelgröße und Konzentration. Eine PLS Regression wurde für die bestimmten log-Partikelgrößen bzw. log-Konzentrationen mit den Steigungen der Intensität für das Fenster 2 im optimalen Wellenlängenbereich 580-700-nm berechnet (Abbildung 24).

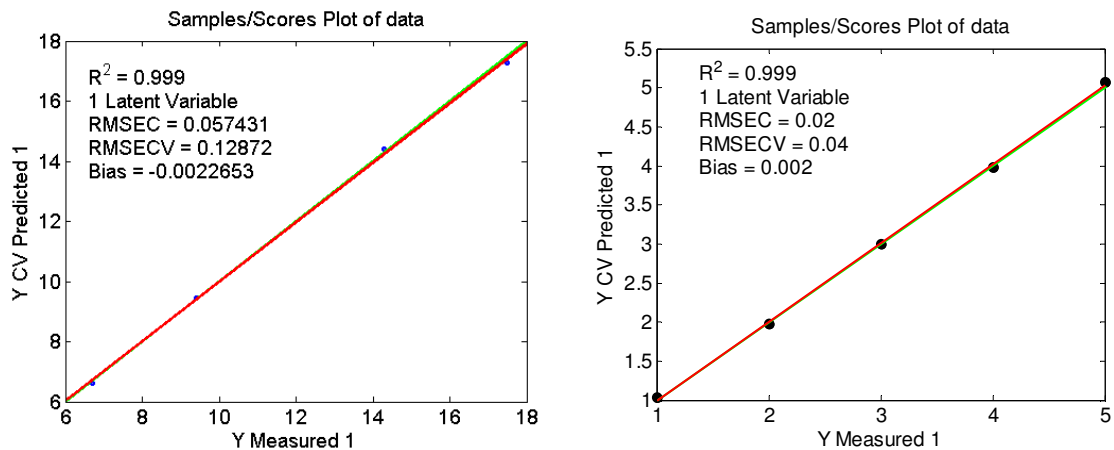


Abbildung 24. Ergebnisse der PLS Regression der Steigungen mit  $\log(\text{Partikelgröße})$  für die Kovasil Partikel (l.) und mit  $\log(\text{Konzentration})$  für die Lipovenös Verdünnungsreihe (r.).

Die Analyse von stark streuenden Systemen ist von großer praktischer Bedeutung. Eine der relevanten Industrieanwendungen der OVR-LHP ist die Analyse von Milchfett.

Abbildung 25 zeigt die Aufnahme unterschiedlicher Milchsorten. Jede Probe wurde dreimal gemessen, um die Messgenauigkeit zu bestimmen.

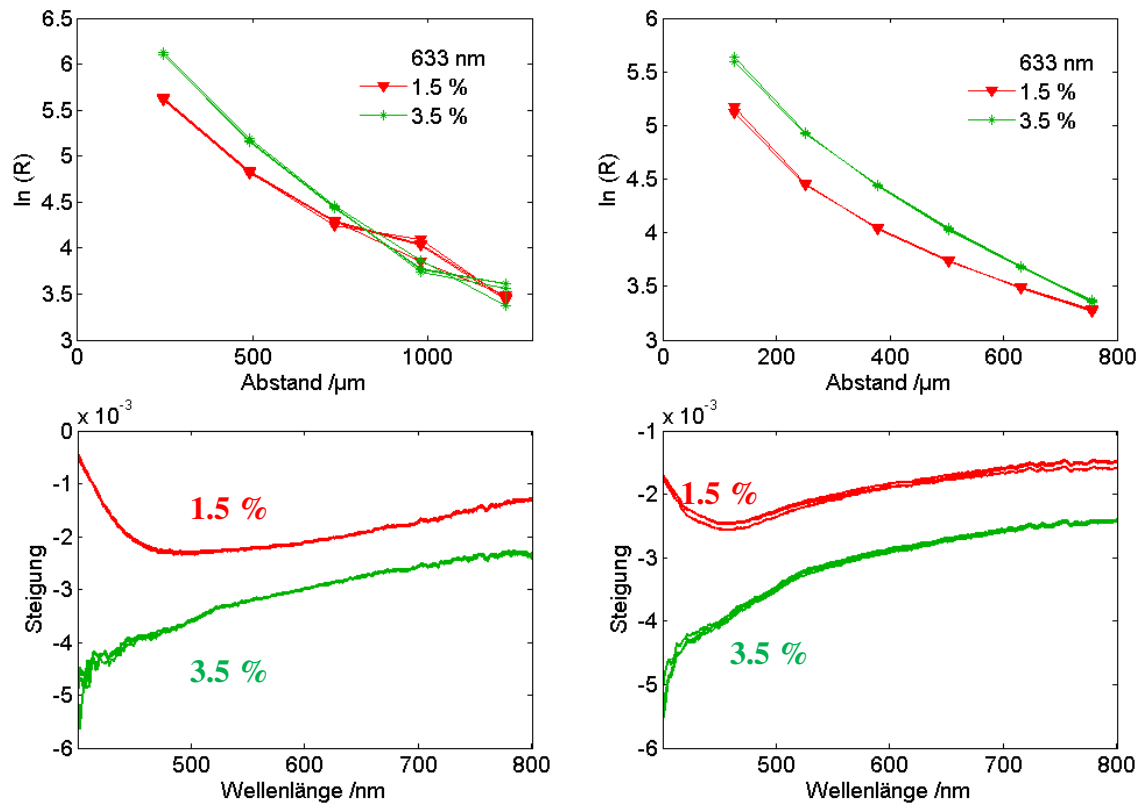


Abbildung 25. Milchmessungen: Abnahme der log-Intensität bei  $\lambda=633 \text{ nm}$  für die Messfenster 1 (o. l.), und 2 (o. r.) und Wellenlängeabhängige Abnahme der Intensität (Steigung) für die Messfenster 1 (u. l.) und 2 (u. r.).

Die Messungen mit der Sonde zeigen eine deutliche Tendenz, dass wie von der Theorie vorhergesagt, mit abnehmender Partikelgröße eine steilere Abnahme der Intensität gemessen werden kann. Die Messungen liefern eine sehr genaue quantitative Bestimmung. Die Sonde ermöglicht:

- die Überprüfung und online Verfolgung von Inhomogenitäten in Pulver oder Suspensionen
- die genaue Bestimmung der Konzentration von Partikeln nach Kalibration
- die genaue Bestimmung der Partikelgröße nach Kalibration

Die Ergebnisse dieses Versuchs wurden veröffentlicht [OB10].

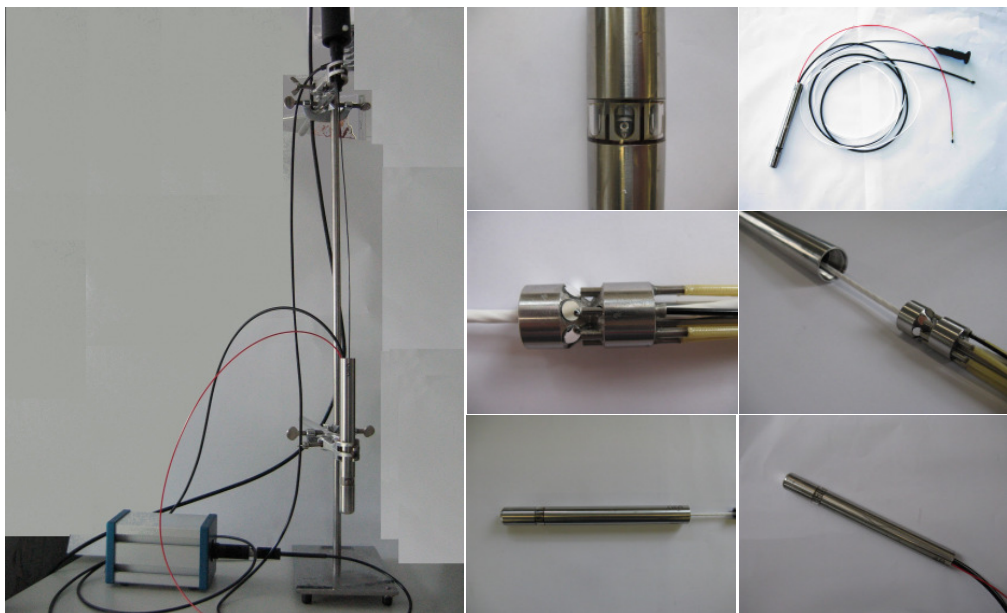


### ***Bildgebende Sonde I-LHP (Endoskop+Videokamera)***

Die direkte visuelle Überwachung ist eine bevorzugte Methode für die morphologische Analyse, einschließlich der Größe und Größenverteilung verschiedener Partikel im Mikro- und Millimeter-Bereich.

In Projektphase I wurde die bildgebende Lighthouse-Sonde konzipiert und ein Lichtwellenleiter mit 30.000 Fasern entwickelt. Auf dieser Basis wurde der erste Prototyp der I-LHP (Image Lighthouse Probe) hergestellt (Abbildung 26). Zuerst wurde der hochauflösende LWL gegenüber einem Fenster der Probe montiert und über einen unter 45° aufgestellten Spiegel nach außen geleitet. Über einen zentralen Anregungsfaserbund kann die zu betrachtende Fläche beleuchtet werden; das Bild wird über die restlichen Fasern des LWLs zur Kamera geleitet, und die Aufnahme des Bildes erfolgt. Abbildung 27 zeigt die mit der Sonde aufgenommene Bilder von beschichteten Pellets (Partikeldiameter ca. 800 µm).

Zu den Nachteilen des ersten Aufbaus gehören eine noch zu geringe Auflösung (dies lässt keine Partikel unter 200 µm erkennen), die schwache Aufnahmegeschwindigkeit der Kamera sowie starke Lichtreflexe. Diese Mängel machen Messungen in der Prozessumgebung problematisch. Um dies zu beheben, wurde die Sonde umgebaut. Der Lichtleiter wurde durch eine Starr-Endoskop und die Kamera durch eine Hochgeschwindigkeitsvideokamera ersetzt. Außerdem wurden zwei verschiedene Lichtquelle vorgesehen: direkte durch Endoskop und eine Seitenbeleuchtung durch weiße LED, die keine Reflexe gibt. Nach erfolgreichen Tests konnte die I-LHP im Beschichtungsprozess eingesetzt werden (Abbildung 28).



*Abbildung 26. Prototyp-1 der bildgebenden LHP.*

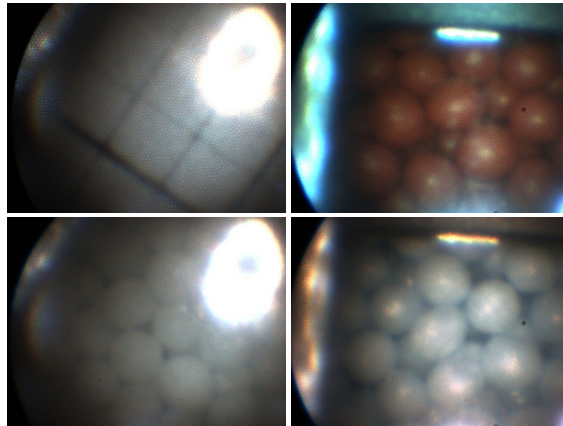


Abbildung 27. Bilder von beschichteten Pellets aufgenommen mit Prototyp-1 der bildgebenden Lighthouse-Sonde.

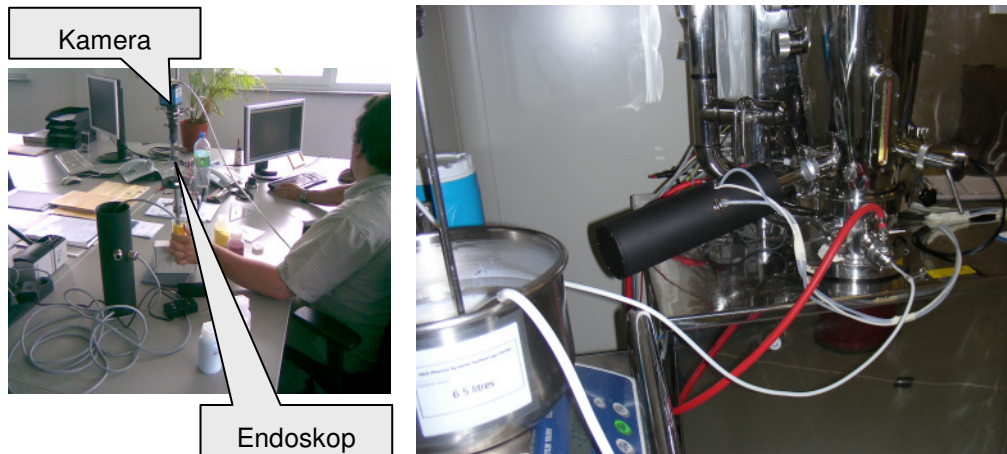
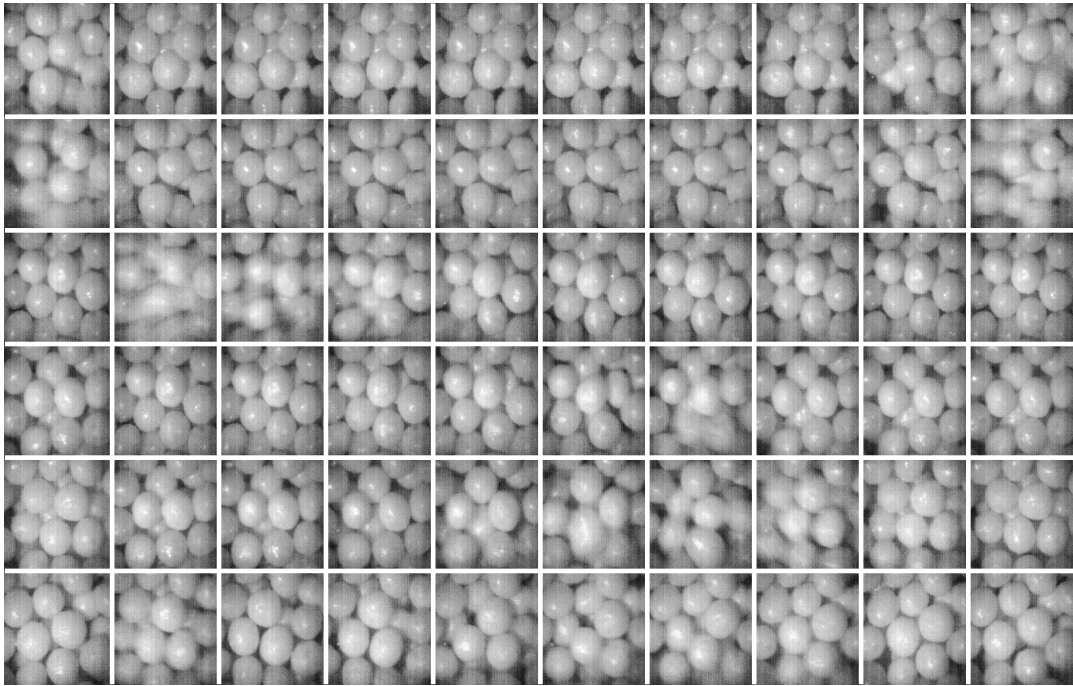


Abbildung 28. Image-LHP: Sondenaufbau (l.) und Prozesseinsatz (r.)

Das Prozessvideo, das mit der Geschwindigkeit von ca. 100 fps (Bilder pro Sekunde) aufgenommen wurde, zeigt eine hohe Bildqualität (Abbildung 29).



*Abbildung 29. 60 aufeinanderfolgende Bilder eines Videos (ca. 1,5 Sekunden); zeilenweise Anordnung.*

Schon die visuelle Beobachtung des Prozesses mittels I-LHP erlaubt eine unmittelbare Ermittlung von Prozessproblemen wie Bed-Stop, Agglomeration oder Abreibung der Partikel sowie die Bildung feiner Fraktionen. Von größtem Interesse ist aber die Erkennung von individuellen Partikeln, denn somit ist ihre Größenverteilung inline zu bestimmen.

Die Grundlagen-Algorithmen der Bildanalyse und Partikelerkennung wurden vom Projektpartner Gruppe ACABS (Dänemark) entwickelt. Zuerst wurde die Fähigkeit der Partikelanalyse am Beispiel konditioneller Photos von statischen Pellets geprüft. Der vorgeschlagene schrittweise Erkennungsalgorithmus zählt einzelne Partikel und misst ihre Geometrie, somit kann der Verlauf der Größenverteilung während des Prozesses bestimmt und dargestellt werden (Abbildung 30). Die Größenverschiebung aufgrund der Beschichtung ist klar erkennbar, obwohl man sie mit bloßem Auge kaum sehen kann. Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden in einer Fachzeitschrift veröffentlicht [KE10].

Für die Analyse der Inline-Bilder (Abbildung 29) wurde der Algorithmus modifiziert (Abbildung 31). Trotzdem kann ein individuelles Pellet in fünf Schritten erkannt und gemessen werden.

Die Datenanalyse ist ein „Bottleneck“ der Inline-Anwendung. Die bestehende Geschwindigkeit liefert die Ergebnisse nach 1 bis 2 min. Das ist für den Beschichtungsprozess, der i. d. R. zwei bis drei Stunden dauert, eine akzeptable Verzögerung.

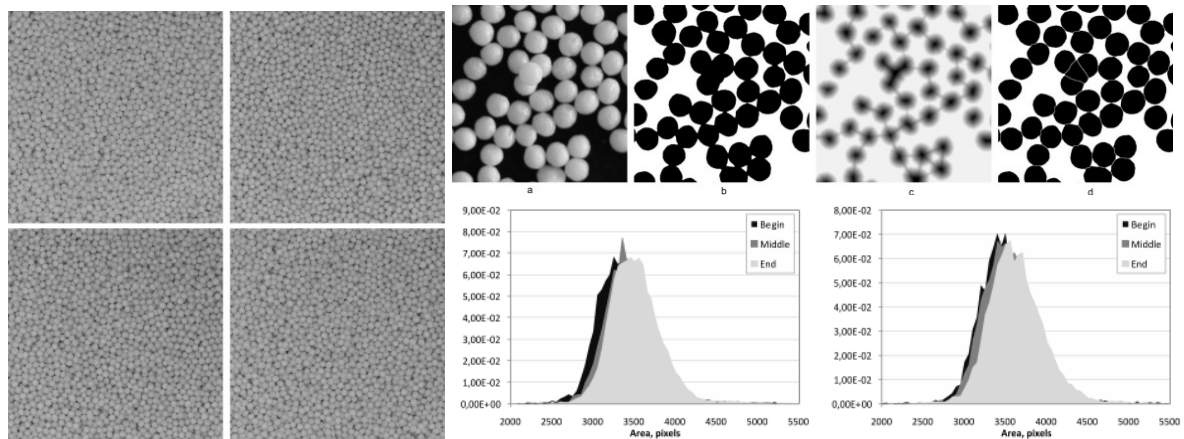


Abbildung 30. Vier Bilder der beschichteten Pellets aus verschiedenen Prozessschritten (l.), Verlauf der Bildanalyse (o. r.) und Partikelgrößeverteilungen von zwei verschiedenen Beschichtungsprozessen (u. r.).

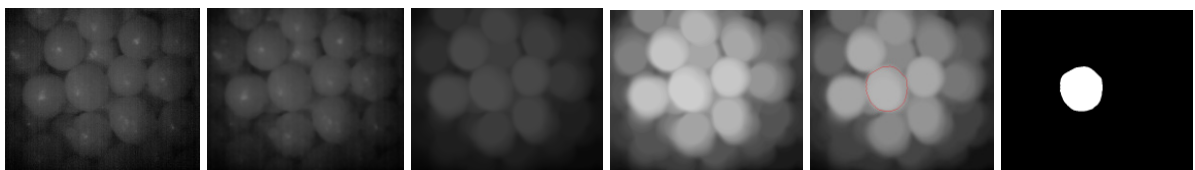


Abbildung 31. Erkennsalgorithmus der Partikel im Prozessvideo.

Die I-LHP ist eine neuartige Methode der Prozessanalyse, die keine direkte Konkurrenz kennt. Ihre hohe Relevanz für die Inline-Analyse wurde an einem beispielhaften Beschichtungsprozess grundsätzlich geprüft. Weitere Anwendungsbereiche sowie Nachweisgrenzen können jetzt definiert werden. Verbesserungsmöglichkeiten liegen in der Benutzung einer stärkeren Beleuchtung, einer stroboskopischen, vergrößernden Optik für feine Pulver oder kolloidale Medien und einer übergeschwinden Bildaufnahme für schnelle Prozesse wie die Fluid-Bed-Granulierung.

### ***RVP Durchfluss-Messzelle für die Reinigungsvalidierung im UV/VIS***

Die Durchfluss-Messzelle ist die einzige Sonde, die im Projekt nicht nach dem Prinzip LHP aufgebaut wurde. Die Zelle wird z.B. zur Überprüfung der Reinigung von Pharmazeutischen Anlagen mithilfe der spektralen Analyse von Abwasser eingesetzt. Dafür wird die Sonde ins

Abflussrohr eingebaut, und die UV/Vis-Spektren des fließenden Wasser während der Reinigung erfasst.

Die RVP-Messzelle wurde erst im Labor und danach in der Industrieumgebung getestet. Abbildung 32 zeigt die Installation der Zelle bei GEA Aeromatic-Fielder.

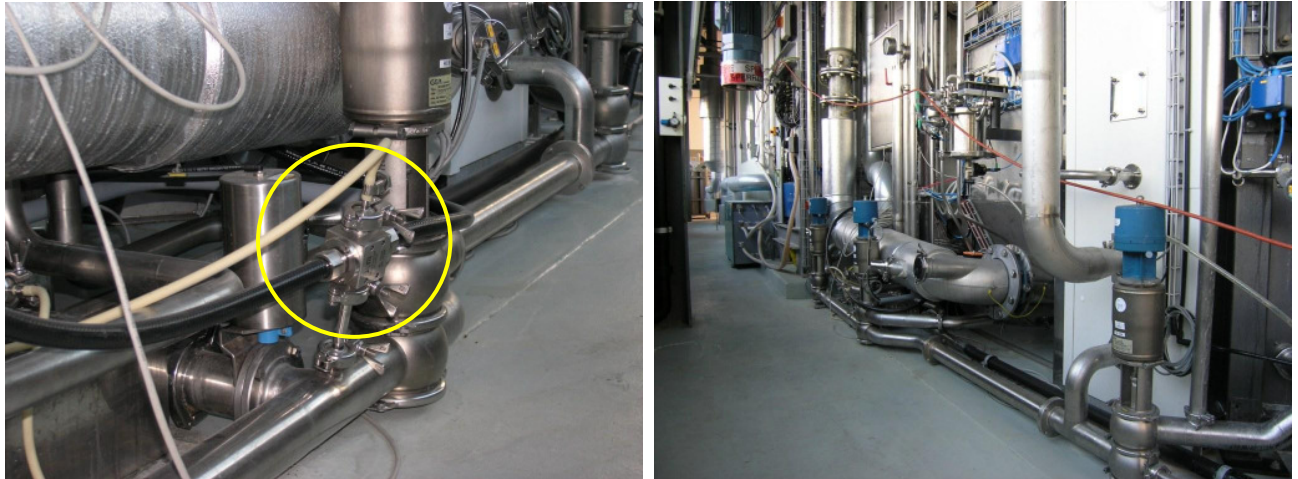


Abbildung 32. RVM-Durchflusszelle für Reinigungsvalidierung bei GEA: eingebaute Zelle (l.) und LWL-Verbindung mit dem Spektrometer (r.).

Als Referenz wird reines Wasser verwendet. Deshalb müssen die Abwasserspektren der komplett gereinigten Anlage eine Nulllinie zeigen, die eine vorgeschriebene Grenze nicht übersteigt. Die stoffspezifische Absorption bei einzelnen oder bei mehreren Wellenlängen kann für die Überwachung des Reinigungsfortschritts oder -Fehler, wie Abbildung 33 zeigt, verwendet werden. Um die Konzentration von individuellen Komponenten im Abwasser bestimmen zu können, müssen die Daten dementsprechend kalibriert werden.

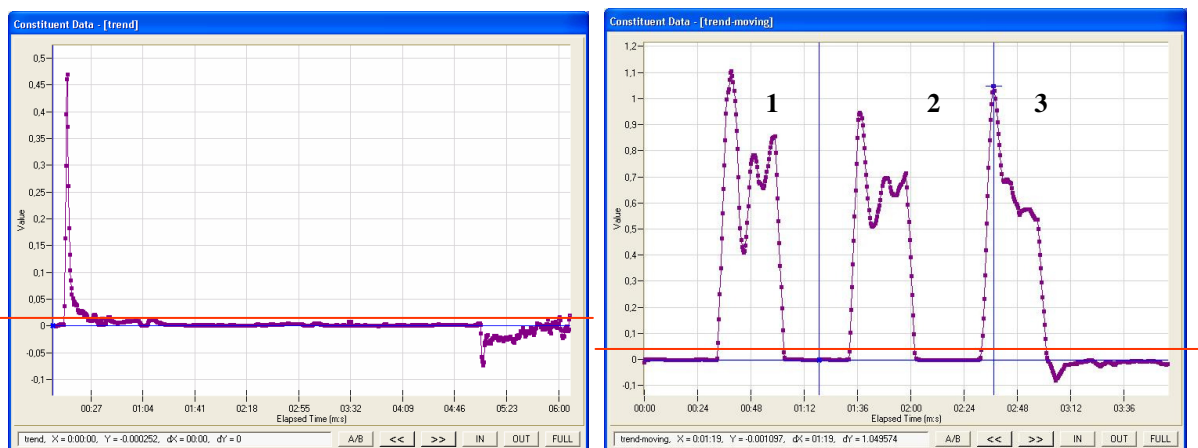


Abbildung 33. Reinigungsüberwachung eines TC-Ventis: Überwachung der Reinigung von Ascorbinsäure bei 265 nm (l.) und Auswürfe während der Reinigung (r.).

Ein wichtiger Vorteil der RVP-Zelle ist die einstellbare optische Schichtdicke, die auf 1, 5 oder 10 mm eingestellt und mit hoher Genauigkeit, z.B. nach einer Reinigung der Messzelle, reproduziert werden kann (Abbildung 34). Das ermöglicht eine flexible Anpassung des Systems zu verschiedenen Komponenten und Konzentrationen. Die Detektion in der Zelle kann unter 180° (Transmission) oder unter 90° (z. B. Fluoreszenz) durchgeführt werden. Zur Systemvalidierung wurde eine Mechanik konstruiert, die den Einsatz von Standrads in Küvettenform, unter Verwendung der Optiken der Messzelle, erlaubt.

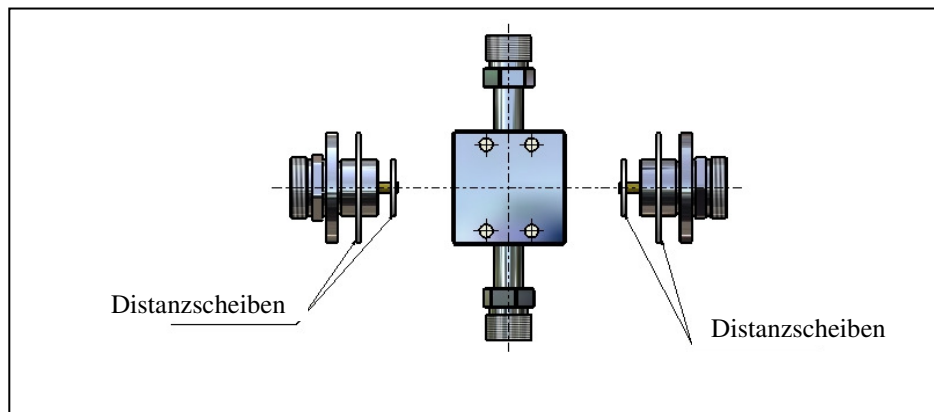


Abbildung 34. RVP Messzelle mit Distanzscheiben.

Die Reinigung der Anlagen ist ein kritischer Prozess in der pharmazeutischen Batch- Produktion. Die spektroskopische Inline- Analyse bietet eine günstige moderne Alternative zur feuchten (z.B. HPLC) chemischen Laboranalyse.

## **Bewertung des ökonomischen und ökologischen Gewinnes**

Generell kann gesagt werden, dass jede ökologische Ursache eine ökonomische Auswirkung hat. Kann durch geeignete Prozessführung und Kontrolle eine negative ökologische Ursache verhindert werden, so hat dies unmittelbar positive ökonomische Auswirkungen.

In der Pharmabranche wurde durch die PAT Initiative der FDA 2004 eine Änderung der Produktionsvorgaben hervorgerufen. War bis dahin das Produktionsverfahren fest vorgeschrieben so ist in der 2004 veröffentlichten Guidance [FDA04] nun die Möglichkeit beschrieben, Produktionsprozesse in Abhängigkeit von Eingangsgrößen (Eigenschaften des Rohmaterials, Umgebungsbedingungen etc.) in ihrem Prozeßverlauf zu steuern und zu regeln. Diese Vorgehensweise ist in anderen Branchen schon seit langem im Einsatz, jedoch in der sehr konservativ verhaltenden Pharmaindustrie erst jetzt aufgenommen worden. Damit eine

Produktionsablauf geregelt werden kann, ist die Automatisierung des Analyseverfahrens zwingend (Sensor in der Regelung) und es muß gewährleistet werden, dass on-line zu jedem beliebigen Zeitpunkt zuverlässige Analyseergebnisse zur Verfügung gestellt werden können. Aktuell zum Zeitpunkt der Erstellung dieses Berichtes gibt es weltweit nur ein Prozessanalyse-System das diese Anforderungen erfüllt und dieses basiert auf dem Prozess-Interface Lighthouse Sonde. Viele Anstrengungen wurden im Bereich von R&D sowie in der Prozessentwicklung unternommen, um sondenbasierende Sensoren (=Prozess-Analyser) in Prozessverfahren zu integrieren. Der Mangel an vollständig automatisierbaren Lösungen, insbesondere der automatischer Nullpunktgleich und die Kontrolle über das Beobachtungsfenster (Prozess-Interface) zu jedem Zeitpunkt des Prozessverlaufes verhinderten die Akzeptanz durch das produktionsverantwortliche Management.

Mit der innovativen Sonden und Analyser-Technik ist es jetzt möglich, diesen Mangel zu beheben und einen vollautomatisierbaren Sensor zur Verfügung zu stellen um die notwendigen Regelparameter, sogenannte kritische Prozess Parameter (Feuchtigkeit, Farbe, Partikelgröße, Konzentration, etc) zuverlässig erfassen zu können.

Die pharmazeutischen Prozesse die in PANOPOD-II aufgezeigt werden, sind alle individuell und das Einsparungspotential hängt vom Wert des Produktes und dem Aufwand des Herstellungsverfahrens, sowie den Bedingungen am Aufstellungsort ab. Aus diesem Grund kann nicht pauschal angegeben werden, welche Einsparungen oder Gewinne der Einsatz der Lighthouse-Sondentechnik erbringen kann, eine Quantifizierung ist deshalb nur im individuellen Einzelfall möglich.

Jedoch kann anhand von Erfahrungen beim Einsatz von PAT der positive Effekt dieser innovativen Sondentechnik aufgezeigt werden:

### ***Energieeinsparung***

Ökologisch: Die Energieeinsparung im 1. Prozess-Schritt liegt bei ca. 2 bis 10% (Verkürzung der Prozesszeit durch optimale Prozessführung) und ist zwar interessant, jedoch ökonomisch gesehen nicht relevant.

Anders sieht es aus, wenn durch Nacharbeit oder Totalverlust die zusätzliche Energieaufwendung mit ca. 40% bis 100% zu buche schlägt.

## **Auslastung der Produktionsanlage**

Ökonomisch: Durch optimierte Prozessführung kann die Prozesszeit ggf. verkürzt und die Qualität konstant gehalten werden. Die Wahrscheinlichkeit für Nacharbeit ist erheblich geringer. Dadurch kann ggf. die Produktionskapazität auf einer Anlage erhöht werden. In einigen Fällen ist dadurch eine Steigerung der Produktion (z. B. ein Batch pro Tag) möglich (vgl. Fallstudie von Hofmann-La Roche [Ver10]).

Durch die kontrollierten Prozessparameter ist es zudem möglich die Folgeprozesse (z. B. Verkapselung, Tablettierung) schneller und durch die Parameter abgesichert anzugehen, das Warten auf die Laborergebnisse entfällt. Diese Zeitersparnis kann mit mehreren Stunden bzw. Tagen angegeben werden. Die Anlagenkapazität wird durch den Einsatz der Analyser auf die Produktion konzentriert und es wird Unproduktivität durch Nacharbeit oder Zweitansatz vermieden.

## ***Reinigung der Anlagen:***

Jede Anlage zur Produktion von Lebensmitteln oder pharmazeutischen Produkten muß extrem sauber gereinigt werden. Dies erfordert entsprechende Reinigungs-prozeduren die sehr aufwendig und teuer sind. Bei jedem Produktwechsel in vielen Fällen auch für jeden Produktionszyklus ist eine derartige Reinigung vorgeschrieben. Durch on-line Kontrolle der Reinigungsprozedur ist die Einsparung von Reinigungsmitteln und Lösemitteln möglich. Die Industrie gibt diese Einsparungen mit ca. 20 bis 50% an. Zudem ergibt diese Einsparung der Menge eine Kostenreduzierung bei der Entsorgung und die einen erheblichen ökonomischen und ökologischen Effekt ausweist.

## ***Toxizität, High Potency***

Wirkstoffe werden immer mehr in hoher Konzentration oder hochwirksam in geringer Konzentration verarbeitet. Kommt es zu einem Totalverlust der Produktionscharge, dann kommt dies der Entsorgung von Sondermüll gleich.

Die Bilanz ist dann ökologisch (Energieaufwand der Entsorgung) und ökonomisch (Kosten der Entsorgung) katastrophal und liegt in der Regel in einem 6-7 stelligen Betrag.

Die Handhabung derartiger Stoffe wird durch ein vollautomatisiertes Analysesystem ebenfalls einfacher. Die Probennahme für die Laboranalyse kann dramatisch reduziert werden oder sogar



ganz entfallen. Das Risiko einer Kontamination oder Gefährdung von Personal wird signifikant verringert.

### ***Kontinuierliche Produktion***

Die kontinuierliche Produktion von Produkten bzw, Zwischenprodukten wird immer interessanter und immer häufiger angefragt. Ohne eine vollautomatische Analyse und Ermittlung von Prozessparametern ist diese Art der Produktionsanlagen undenkbar. Erst mit dem Einsatz der hier vorgestellten innovativen Prozess-Analyzer kann die Wertschöpfung einer kontinuierlichen Prozeßanlage voll ausgeschöpft werden.

Eine kontinuierliche Produktion (Abbildung 35) ist einer Batch Produktion (diskontinuierlich) in jeder Hinsicht deutlich überlegen. Die Einsparungen, ökonomisch gesehen, liegen bei 20 bis 40% pro kg Produkt. Ökologisch gesehen schlägt der geringere Energiebedarf und der dramatisch geringere Bauraum einer kontinuierlichen Anlage zu buche. Die vollautomatische Analyse der Zwischenproduktstufen ermöglicht den vollständigen Produktionsablauf vom Rohmaterial bis zum fertigen Produkt (Tablette oder Kapsel).

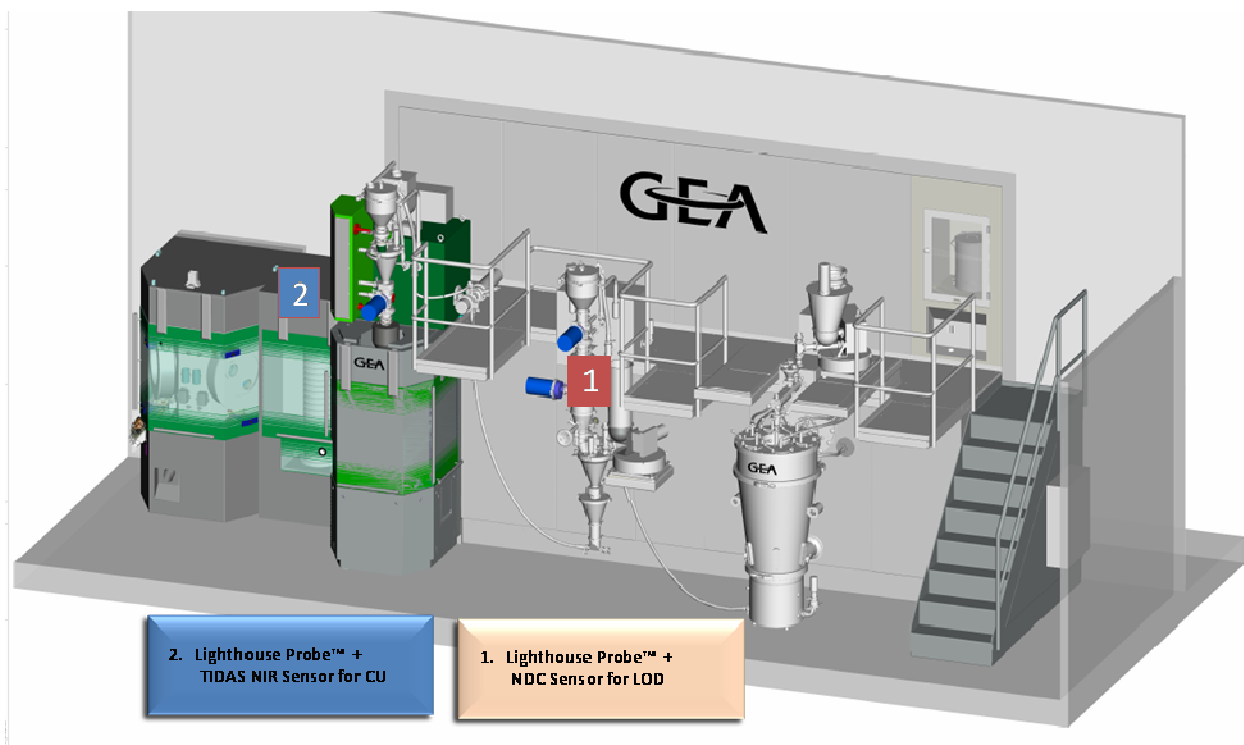


Abbildung 35. Inline-Analyzer werden bereits in kontinuierlichen Produktionsanlagen vorgesehen.

Abschliessend kann gesagt werden: **First Time Right spart Geld und Ressourcen.**

## **Fazit**

Das einzigartige Merkmal des Projektes PANOPOD-II ist die Mannigfaltigkeit von Ideen, die in marktfähige Produkte umgesetzt wurden. Die Multifunktions-, Bildgebenden und Ortsaufgelösten Sonden stellen höchst erfolgreiche Erfindungen und Entwicklungen dar. Ihr Einsatz in modernen Herstellungsprozessen verspricht hohe ökonomische und ökologische Zugewinne aufgrund einer weit verbesserten Prozesskontrolle.

Das Potenzial der entwickelten Produkte resultiert aus der Gewinnung prozessrelevanter Informationen aus massiven und hochkomplizierten, spektralen Daten. Insofern sind nicht nur die technischen, sondern auch die wissenschaftlichen Projektarbeiten sehr bedeutend. Die Ergebnisse der individuellen Versuche wurden in verschiedenen wissenschaftlichen Fachzeitschriften veröffentlicht.

Das Projekt ist zudem ein deutliches Beispiel für fruchtbare Teamarbeit und zwischenstaatliche Kooperation.

Industrieeinsätze und Markteinführungen sind die wichtigsten Post-Projekt Maßnahmen.

## Literaturverzeichnis

- [Bro96] BRO, R., *Multiway calibration. Multilinear PLS*. J. Chemom., Seiten 47 – 61, 10 1996.
- [FDA04] PAT—A Framework for Innovative Pharmaceutical Development, Manufacturing, and Quality Assurance. FDA Guidance for Industry. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM070305.pdf>.
- [Hös07] HÖSKULDSSON, A., RODIONOVA, O. Ye. und POMERANTSEV, A. L.: *Path modeling and process control*, Chemom. Intell. Lab. Syst. Seiten 84–99, 88 2007.
- [Kes06] KESSLER, R.W.: *Prozessanalytik: Strategien und Fallbeispiele aus der Industriellen Praxis*. Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 2006.
- [Kes07] KESSLER, W.: *Multivariate Datenanalyse für die Pharma-, Bio- und Prozessanalytik*, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 2007.
- [RC07] ROGGO, Y., CHALUS, P., MAURER, L., LEMA-MARTINEZ, C., EDMOND A., und JENT, N.: *A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies*. J. Pharm. Biomed. Anal. Seiten 683–700, 44 2007.
- [Pat06] Vorrichtung zur optischen Messung von Stoffkonzentrationen, Gebrauchsmuster Nr.10 2006 004 916.0, Int. Patent. No.PCT/EP207/00838, Anmeldung vom 01.02.2006.
- [Pat06a] Vorrichtung zur Analyse, insbesondere fotometrischen oder spectralfotometrischen Analyse, Gebrauchsmuster Nr. 10 2006 013 341.2, Anmeldung vom 23.03.2006.
- [Pat08] Kalibriervorrichtung für eine Messsonde, Gebrauchsmuster Nr. 20 2008 001 376.3, Anmeldung vom 30.01.2008.
- [Pat08a] Vorrichtung zur optischen Messung von Stoffen, Gebrauchsmuster Nr. 20 2008 003 764.6, Anmeldung vom 18.03.2008.
- [SA06] SCARFF, M., ARNOLD, S. A., HARVEY, L. M. und McNEIL, B.: *Near Infrared Spectroscopy for Bioprocess Monitoring and Control: Current Status and Future Trends*, Critical Reviews in Biotechnology: Seiten 17–39, 26 2006.
- [Sas08] ŠAŠIĆ, S.: *Pharmaceutical applications of Raman spectroscopy*. Wiley&Sons, Hoboken, New Jersey, USA, 2008.
- [Ver10] VERMNEIRE, T.: Effective in-process measurement of moisture content of products during granulation for Roche using a Lighthouse Probe™ from GEA Pharma Systems – A case study, GEA Pharma Systems and Roche, 2010.

[WK09] WORKMAN Jr., J., KOCH, M., LAVINE, B. und CHRISMAN, R.: *Process Analytical Chemistry*. Anal. Chem., Seiten 4623–4643, 81 2009.

### ***Projektveröffentlichungen:***

[BE09] BOGOMOLOV, A., ENGLER, M.; MANNHARDT, J.: *Reliable Data Collection in PAT*. The QbD / PAT Conference 2009, September 29 – October 1, 2009, Heidelberg, Germany

[BE10] BOGOMOLOV, A., ENGLER, M.; MELICHAR, M. und WIGMORE, A.: *In-line Analysis of a Fluid Bed Pellet Coating Process Using a Combination of Near Infrared and Raman Spectroscopy*. J. Chemom., Seiten 544–557, **24** 2010.

[BG10] BOGOMOLOV, A., GRASSER, T. und HESSLING, M.: *In-Line Monitoring of S. Cerevisiae Fermentation with a Fluorescence Probe – new approaches to Data Collection and Analysis*. J. Chemom. 2011 [im Druck]

[BH10] BOGOMOLOV, A., GRASSER, T. und HESSLING, M.: *In-Line Monitoring of S. Cerevisiae Fermentation with a Fluorescence Probe*. 7th Winter Symposium on Chemometrics (WSC-7), February 15-19, 2010, St. Petersburg, Russia.

[BK09] BOGOMOLOV, A., KUCHERYAVSKI, S., MELICHAR, M. und WIGMORE, A.: *Multi-Technique Process Monitoring: Method Development and Application to Pellet Coating*, Scandinavian Symposium on Chemometrics (SSC11), June 8-11, 2009, Loen, Norway.

[BM09] BOGOMOLOV, A., ENGLER, M.; MELICHAR, M. und WIGMORE, A.: *Toward Real-Time Release with the Lighthouse Probe*, Advances in Process Analytical Chemistry and Technology (APACT-2009), May 5-7, 2009, Glasgow, Scotland.

[KE10] KUCHERYAVSKI, S., ESBENSEN, K. H. und BOGOMOLOV, A.: *Monitoring of pellet coating process with image analysis – a feasibility study*. J. Chemom., Seiten 472–480, **24** 2010.

[ME09] MEYER, H. und ENGLER M. Optische Sonde, International Patent Nr. WO002009115282A1, Veröffentlicht 24.09.2009.

[OB10] OSTERTAG, E., BOLDRINI, B., MEYER, H.; MANNHARDT, J.; OELKRUG, D. und KESSLER, R.W.: *Design of a photo diffusion probe for the online analysis of*

*scattering materials*, 6. Kolloquium Prozessanalytik 8-9 November, 2010, Waldbronn, Germany.

- [PM10] POMERANTSEV, A. L., RODIONOVA, O. Ye., MELICHAR, M., WIGMORE, A. J. und BOGOMOLOV, A.: *In-line prediction of drug release profiles for pH-sensitive coated pellets*. Chemometrics in Analytical Chemistry (CAC-2010), 18-21 October, Antwerp, Belgium.
- [PR10] POMERANTSEV, A. L., RODIONOVA, O. Ye., MELICHAR, M., WIGMORE, A. J. und BOGOMOLOV, A.: *In-line prediction of drug release profiles for pH-sensitive coated pellets*. Analyst 2010 [vorgelegt].