Raman-Technologie in Bioprozessen

Skalierbare *in-situ* Überwachung und fortschrittliche Steuerung von Bioprozessen







Eine Partnerschaft für den Erfolg

Ganzheitliche Unterstützung auf dem Weg zu exzellenten Betriebsabläufen





Von Anfang an durchgehend hohe Produktqualität Das Raman-Produktportfolio von Endress+Hauser für Bioprozesse, basierend auf der Kaiser Raman-Technologie, ermöglicht präzise *in-situ* Echtzeitanalysen mit nur einer Sonde. Erfasst werden Nährstoffe, Metaboliten, Produktqualität sowie der Lebendzellanteil. Die Technologie trägt zu höherem Ertrag, verbesserter Produktqualität, reduziertem Kontaminationsrisiko und gesteigerter Prozesseffizienz bei.

Auf Anhieb richtig In einem dynamischen Geschäftsumfeld mit sich wandelnden regulatorischen Anforderungen ist kontinuierliche Verbesserung unerlässlich. Die bewährte Skalierbarkeit und Leistungsfähigkeit der Analysatorsysteme von Endress+Hauser reduziert die Komplexität prozesstechnischer Anlagen und erleichtert die Übertragbarkeit analytischer Methoden. Dienstleistungen in den Bereichen Schulung, Advanced Analytics, technischer Support und Datenmodellierung schaffen Freiräume für das Kerngeschäft. Investitionen zahlen sich schneller aus gestützt auf langjährige Erfahrung und praxisnahe Lösungen.

Komplexes wird einfach Kompetenz in der Messgeräteherstellung, Prozessanalytik, Datenanalyse und den Life Sciences fließt direkt in die Entwicklung und Produktion der Produktlinie für Bioprozesse ein. Die Raman-Technologie lässt sich nahtlos in bestehende Bioprozesse integrieren. Robuste und zuverlässige Analytiklösungen gewährleisten eine stabile Prozessüberwachung und tragen zur Effizienzsteigerung bei.

Erfolge von der Prozessinnovation bis zur Prozessautomation Mit weltweit über 1.500 installierten Einheiten in GMP-konformen Produktionsumgebungen ist Endress+Hauser ein etablierter Partner der biopharmazeutischen Industrie. Das kontinuierliche Wachstum unterstreicht das Vertrauen führender Unternehmen in die Leistungsfähigkeit und Zuverlässigkeit der Systeme.

Prozess- und Produktqualität zuverlässig sichern

Führende Analytiklösungen für Bioprozesse und umfassende Compliance-Angebote sorgen dafür, dass Prozessanalysen vom Labor bis in den Prozess auf Anhieb präzise und zuverlässig sind.













Einhaltung weltweit anerkannter Normen und Zertifizierungen

Raman-Analysatorsysteme von Endress+Hauser bieten in-situ Echtzeitmessungen mehrerer Parameter für Zellkultur-, Fermentations- oder Downstream-Bioprozesse. Das Angebot zur *in-situ* Analytik unterstützt Quality by Design (QbD) sowie eine fortschrittliche Steuerung biotechnologischer Prozesse. Die Technologie ist skalierbar und eignet sich für den Einsatz in traditionellen wie auch in Einweg-Bioreaktoren (Single-Use Bioreactors, SUBs), im Batch- oder kontinuierlichen Betrieb vom Labor bis zur cGMP-konformen Produktion.

Langjährige Erfahrung in den Life Sciences und die enge Zusammenarbeit mit führenden Unternehmen der Branche bilden die Grundlage für ein breites Portfolio an Analytiklösungen für Bioprozesse. Das Raman-Expertenteam bietet Unterstützung in folgenden Bereichen:

- Dienstleistungen in der Methodenentwicklung
- Erweiterte Schulungsangebote
- Wartungskonzepte zur Reduzierung von Stillstandszeiten, zur Vermeidung erneuter Qualifizierungen und zum Schutz von Investitionen

Compliance-Dienstleistungen von

Endress+Hauser tragen zur Prozessoptimierung und Qualitätssicherung in cGMP-konformen Betriebsabläufen bei. Die Zertifizierung nach ISO 9001:2015 gewährleistet dabei höchste Qualitätsstandards. Mehr als zehn Jahre Erfahrung im Bau von Raman-Spektroskopie-Analysatoren mit ATEX-, CSA- und IECEx-Zertifizierungen ermöglichen den sicheren Einsatz in explosionsgefährdeten Bereichen. Zusätzlich stehen NEMA-4X-Gehäuse für anspruchsvolle Umgebungen wie Waschanlagen zur Verfügung. Endress+Hauser ist Inhaber einer Drug Master File der US-amerikanischen FDA für Mehrweg- und Einweg-Raman-Sonden in Bioprozessen.

Das umfassende Portfolio an Compliance-Dienstleistungen für cGMP-Anwendungen umfasst:

- Unterstützung bei Audits und Fragebögen
- Standardisierte und kundenspezifische Qualifizierungen (IQ/OQ)
- Werksabnahmeprüfungen (FAT)
- Interne Audits
- Lieferantenqualifizierung
- Wartung durch cGMP-geschultes Fachpersonal

Kompetenz in Raman-Systemen für die Life Sciences – bewährt und vertrauenswürdig

Mehr als 30 Jahre Erfahrung mit prozesstechnischen Raman-Systeme Langjährige Expertise und eine enge Partnerschaft mit der biopharmazeutischen Industrie prägen die Entwicklung der Raman-Analysatorsysteme von Endress+Hauser mit Kaiser Raman-Technologie. Die Erfolgsgeschichte reicht von ersten Machbarkeitsstudien in den 1990er-Jahren bis zur ersten GMP-konformen Installation im Jahr 2000. Seitdem leisten die Systeme einen kontinuierlichen Beitrag zur Lösung zentraler Herausforderungen in der Bioprozessanalytik – durch leistungsfähige Analyseprodukte, umfassende Compliance-Angebote, praxisnahe Dienstleistungen und technischen Support.

Kompetenz in den Life Sciences – von der Forschung bis zur Fertigung Seit über einem Jahrzehnt zählt Endress+Hauser zu den führenden Lösungsanbietern für die Überwachung und Steuerung von Bioprozessen. Die Leistungsfähigkeit der Raman-Systeme zeigt sich in zahlreichen Anwendungen:

- Verbesserte Produktqualität
- Höhere Titer
- Gesteigerte volumetrische Produktivität
- Geschlossene Regelkreise
- Methodenübertragbarkeit zwischen verschiedenen Anlagengrößen und Plattformen
- Automatisierte Steuerung der Nährstoffzufuhr
- Überwachung hochdichter Zellkulturen

Endress+Hauser steht für hochwertige Analysatoren, präzise Messgeräte und robuste Sonden für Bioprozesse. Die Kombination aus Prozessautomatisierung, cGMP-Kompetenz und tiefem Branchenverständnis macht das Unternehmen zu einem verlässlichen Partner für anspruchsvolle Anwendungen im Upstream- und Downstream-Bereich der Life Sciences.





Ein umfassender Ansatz für integrierte Raman-Lösun-

gen Endress+Hauser bietet eine robuste und zuverlässige Komplettlösung für die Raman-Analytik. Diese besteht aus leistungsstarken Analysatorsystemen, intuitiver eingebetteter Software und Sonden für die *in-situ* Probenahme. Alle Raman-Analysatoren sind mit identischer interner Hardware ausgestattet, um eine konsistente spektrale Antwort und eine hohe Leistung in standortspezifischen Konfigurationen zu gewährleisten. Gehäusevarianten sind für Benchtop-, Rollwagen-, Rack- oder Prozessinstallationen verfügbar.

Optimierte Sonden für Bioprozesse Die Raman-Sonden von Endress+Hauser sind speziell auf die Anforderungen biotechnologischer Prozesse und Anlagen ausgelegt. Dank der patentierten optischen Universalschnittstelle stehen optimierte Sonden für alle Maßstäbe zur Verfügung – vom Labor bis zur Produktion, für Einweg- und Mehrwegsysteme – und liefern dabei durchgehend hochwertige Spektren.

Anerkennung in der Branche Für Beiträge zur Weiterentwicklung von Upstream-Bioprozessen wurde Endress+Hauser 2018 mit dem Aspen Award ausgezeichnet. Im Jahr 2020 erhielt die Raman-Rxn-46-Sonde für Bioprozesse den Pharma Innovation Award der Fachzeitschrift Pharma Manufacturing.



Bewährte Raman-Anwendungen in Bioprozessen*

Zellkultur	Fermentation	Downstream
Glukose	Glycerin	Aggregation
Laktat	Methanol	Proteinkristallisation
Glutamat	Ethanol	Rezepturstabilität
Aminosäuren	Sorbit	CQA des Produkts
Zelldichte	Biomasse	Proteinkonzentration
Titer		Pufferhilfsstoffe

^{*} Zusätzliche produkt- und prozessbezogene Parameter sind möglich.

Raman RunTime

Software zur Überwachung und Steuerung von Bioprozessen – vom Labor bis zur cGMP-Produktion

Vorteile für Prozess und cGMP-Konformität:

- cGMP-konform einsetzbar
- Intuitive Touchscreen-Oberfläche
- Automatische Kalibrierfunktionen
- Kompatibel mit mehreren MVDA-Prädiktoren (multivariate Datenanalyse)
- OPC-, Modbus- und HTTPS-Schnittstellen zur Integration in externe Steuerungssysteme
- Anbindung an führende PAT-Managementsysteme möglich



Raman-Systeme in Labor- und Prozessentwicklung

Endress+Hauser bietet das umfassendste Raman-Portfolio mit bewährter Skalierbarkeit vom Labor bis zur cGMP-Produktion – vertraut von Branchenführern weltweit

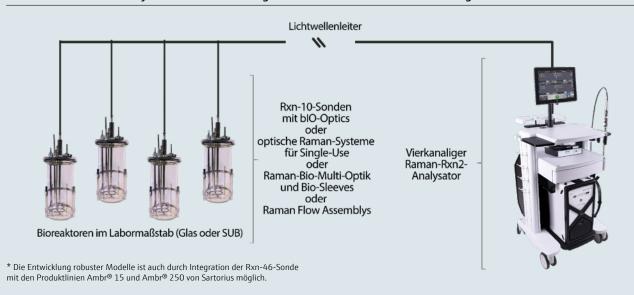
Der Raman-Rxn2-Analysator verfügt über ein integriertes System zur Selbstüberwachung und ist in den Wellenlängen 532 nm, 785 nm und 1000 nm erhältlich. In Kombination mit phasenoptimierten Probenahmesonden ermöglicht er hochauflösende *in-situ* Echtzeitmessungen und eine präzise Prozesssteuerung.

Die vollständig eingebettete Software Raman RunTime sorgt für zuverlässige Leistung und nahtlose Konnektivität. Sie integriert die Spektrometerfunktionen direkt in die Analysator-Elektronik, wodurch kein externer PC mit proprietärer Software erforderlich ist. Zur Sicherstellung der Datenintegrität exportiert Raman Run-Time Rohdaten und Diagnosedaten über standardisierte Kommunikationsprotokolle.

Der Raman-Rxn2 ist als Tischgerät oder auf einem mobilen Rollwagen erhältlich und bietet damit flexible Einsatzmöglichkeiten in Laboren der Prozessentwicklung. Mit bis zu vier anschließbaren Sonden pro Gerät lassen sich mehrere Bioreaktoren oder Probenahmestellen gleichzeitig überwachen. Für die Raman-Sonden stehen spezielle Kalibrier-Kits zur Verfügung – darunter Varianten für Single-Use-Optiken, Multi-Optik-Systeme und Flow-Assemblies. Diese unterstützen die Standardisierung der Messgeräte und erleichtern die Übertragung chemometrischer Kalibriermodelle vom Labor in den Produktionsprozess.

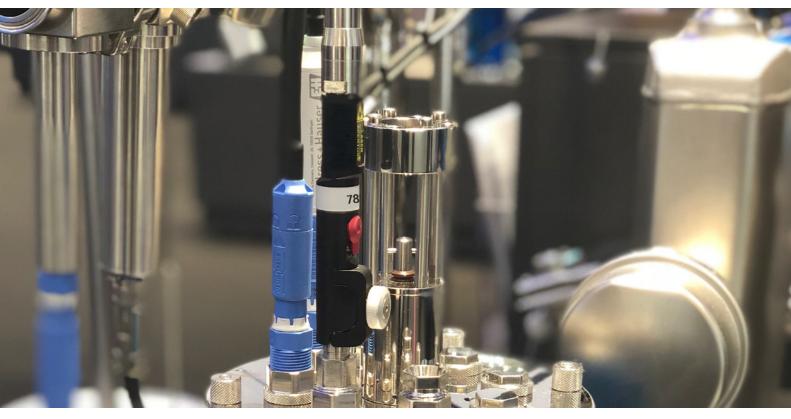


Prozessinterne Raman-Systeme für Anwendungen in Labor- und Prozessentwicklung*





Weitere Informationen zu Single-Use-Produkten in Labor- und Prozessentwicklung siehe in der Broschüre "Raman Single-Use-Technologie für Bioprozesse". Zusätzliche Informationen über die Entwicklung robuster Modelle durch Integration der Endress+Hauser Rxn-46-Sonde mit den Produktlinien Ambr® 15 und Ambr® 250 von Sartorius können in der Broschüre "Raman bioprocessing solution compatibility with BioPAT® Spectro by Sartorius" gefunden werden.



Rxn-10-Sonde mit bIO-Optic

- Kompatibel mit Bioprozessindustrie
- Gewinde PG13.5
- Länge 120, 220, 320 oder 420 mm
- Autoklavierbar



Rxn-10-Sonde mit optischem Raman-System für Single-Use

- Standardanschlüssen der Einwegarmatur für Single-Use-Bioreaktoren (SUB) mit berührungsloser, wiederverwendbarer Optik
 - Entwickelt gemäß Industriestandards für Single-Use-Sensorik
 - Gamma-sterilisierbar
 - Geprüft und geliefert von mehreren SUB-Anbietern



Rxn-10-Sonde mit Bio-Multi-**Optik und Bio-Sleeve**

- Bio-Multi-Optik
 - Berührungslose, wiederverwendbare Optik
 - Wird mit Rxn-10-Sonde verbunden
 - Wartungsfrei, lediglich regelmäßige Kalibrierung und Verifizierung erforderlich
- Bio-Sleeve
 - Einweghülse mit direktem Produktkontakt
 - Geeignet f
 ür Single- oder Multi-Use
 - Gewinde PG13.5
 - Länge 120 oder 220 mm
 - Autoklavierbar und Gamma-sterilisierbar
 - Kompatibel mit Endress+Hauser Durchflussarmatur CYA680



Raman-Flow Assembly

- Besteht aus einer Micro Flow Bench und einer Micro Flow Cell, die mit der Rxn-10-Sonde verbunden werden
- Ermöglicht Raman-basierte Prozesssteuerung des Betriebs von Downstream-Einheiten
- Optimiert f
 ür schnelle Messungen in Systemen mit geringem Probenvolumen



Rxn-46-Sonde für BioPAT® Spectro von Sartorius für Ambr®

- Kombiniert mit einkanaligem Raman-Rxn2-Analysator, integriert mit Ambr Software
- Entwicklung robuster Modelle durch Integration mit Ambr 15 und Ambr 250
- Ideal zur Überwachung in der Prozessentwicklung von Hochdurchsatz-Zellkulturen



Raman-Systeme in Prozess und cGMP

Den eigenen Erfolg des Herstellungsprojekts mit Endress+Hauser umfassenden Paket an Lösungen für die Prozessanalyse sicherstellen

Der Raman-Rxn4-Analysator ist ein leistungsfähiger und robuster Raman-Prozessanalysator, der kontinuierlich höchste Präzision und Zuverlässigkeit bietet – entscheidend für die nahtlose Übertragung von Kalibrierdaten.

Wie der Raman-Rxn2 verfügt auch der Raman-Rxn4-Analysator über die vollständig eingebettete Software Raman RunTime, die für Zuverlässigkeit und nahtlose Konnektivität sorgt und dabei die Anforderungen der Industrie 4.0 unterstützt. Raman RunTime integriert die Spektrometerfunktionen in die Elektronik des Analysators und benötigt dafür keinen separaten PC, auf dem proprietäre Software ausgeführt wird. Zur Unterstützung von Data Integrity Assurance exportiert Raman RunTime Rohdaten und Diagnose mit Standard-Kommunikationsprotokollen.

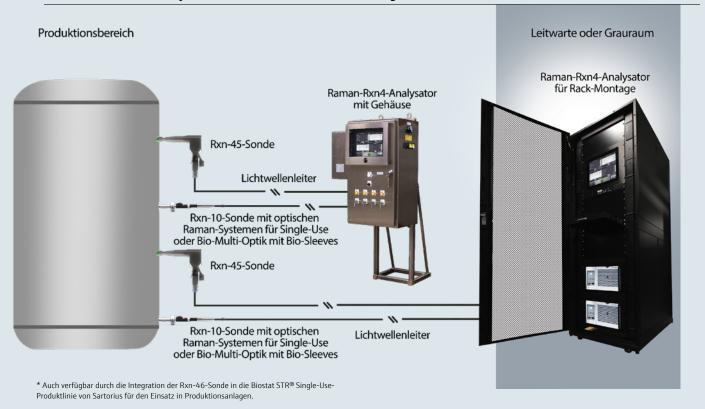
Der Raman Rxn4 mit Wellenlängen von 532 nm, 785 nm oder 1000 nm ist als Analysator für die Rack-Montage zum Einbau in Leitwarten oder in einem NEMA-4X-Gehäuse zur Aufstellung im Produktionsbereich erhältlich. Er verfügt über ein einzigartiges System zur Selbstüberwachung des Analysators, das die Gültigkeit jeder Messung garantiert. Der Raman-Rxn4-Analysator besitzt Selbstkalibrierungsfunktionen und nutzt Selbstdiagnose- und Selbstkorrekturmethoden.







Prozessinterne Raman-Systeme in Pilot- und cGMP-Anwendungen*





Rxn-10-Sonde mit optischem Raman-System für Single-Use

- Einwegarmatur für Single-Use-Bioreaktoren (SUB) mit berührungsloser, wiederverwendbarer Optik
- Entwickelt gemäß
 Industriestandards für Single-Use-Sensorik
- Gamma-sterilisierbar
- Geprüft und geliefert von mehreren SUB-Anbietern
- cGMP-qualifiziert



Rxn-45-Sonde

- Kompatibel mit Standardgehäusen der Bioprozessindustrie für seitliche 25 mm Anschlüsse
- Gewinde PG13.5 mit Sondenlänge 120 mm
- Oberflächengüte des benetzten Materials Ra 15, elektropoliert
- CIP/SIP-kompatibel

Rxn-46-Sonde für BioPAT® Spectro von Sartorius für Biostat STR®

- Anschluss an vorkonfektionierten Single-Use-Port von BioPAT Spectro
- Skalierbarer Ansatz mit effizienter Übertragbarkeit auf Biostat STR-Systeme für Single-Use-Prozesse





Weitere Informationen zu Single-Use-Produkten in Prozess und cGMP siehe in der Broschüre "Raman Single-Use-Technologie für Bioprozesse". Ausführlichere Informationen über die Integration der Endress+Hauser Rxn-46-Sonde und der Produktlinie Biostat STR® von Sartorius für die Single-Use-Herstellung siehe auch in "Raman bioprocessing solution compatibility with BioPAT® Spectro by Sartorius".

Anwendungserfolge im Upstream

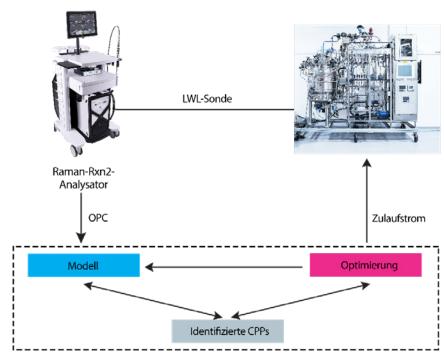
Höherer Titer bis zu 85 % und verbesserte Produktqualität mit Raman-basierter Glukose- oder Laktatsteuerung in einem Bioprozess mit Säugetierzellen

Kundenerfolge mit Raman-Anwendungen

Zellkultur und Fermentation

- CPP- und CQA-Überwachung und -Steuerung in Echtzeit
- Erhöhte Produktivität
- Verbesserte Produktgualität
- Modellübertragung zwischen unterschiedlichen Anlagengrößen und Plattformen
- Automatische Steuerung der Nährstoffzufuhr
- Fortschrittliche Prozesssteuerung
- Qualifizierung von Rohstoffen
- Zell- und Gentherapien

Technische Referenzen werden von Endress+Hauser auf Anfrage bereitgestellt



Schematische Darstellung eines Raman-basierten Regelkreises

Die Produktion von Proteintherapeutika durch Säugetierzellen ist der am häufigsten genutzte Bioprozess, denn diese Zellen sind in der Lage, ein rekombinantes Protein richtig zu produzieren und zu falten. 60 bis 70 % der Biopharmazeutika werden auf diese Weise produziert. Die Parameter des Bioreaktors beeinflussen die Stoffwechselprozesse der Zellen. Detaillierte Kenntnisse über den Bioreaktor sind daher eine wichtige Voraussetzung, um einen ausgeglichenen und gleichbleibenden Stoffwechselzustand der kultivierten Zellen zu erreichen.

Glukose ist ein kritischer Prozessparameter, weil sie das Stoffwechselprofil der Zelle, die Entstehung von Abfallprodukten und die posttranslationale nichtenzymatische Glykierung von Proteinen beeinflusst. Kontinuierliche Glukosemessungen mit Raman-Systemen von Endress+Hauser bieten Einblicke für das Verständnis wichtiger Bioprozesse und können so einen Regelkreis von der Prozessentwicklung bis zur Herstellung in Gang setzen.

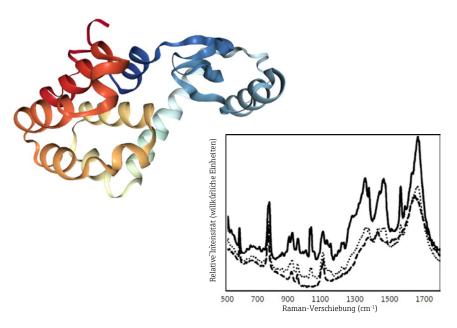
In Studien, die von Berry et al.¹ und Matthews et al.² durchgeführt worden waren, konnten Steuerungssysteme, in die auf Raman-Messungen basierende Rückmeldungen einflossen, rasch umgesetzt werden. Dabei wurde nachgewiesen, dass sie im Vergleich zum traditionellen Prozess die Produktqualität eines biopharmazeutischen Proteins verbessern und die den Ertrag um 85 % steigern konnten. Nach nur zwei Kalibrierschritten wurde eine signifikante automatisierte Steuerung erreicht und schnell in die Arbeiten zur Prozessentwicklung integriert. Das Raman-System war in der Lage, eine als Ziel festgelegte Konzentrationsbedingung oder eine schrittweise Bedingung zu unterstützen. Dies zeigt, dass Raman-Messungen eine robuste Methode sind, die sich für die Integration in einen Controller eines industriell relevanten Bioprozesses eignen. Die Raman-Technologie von Endress+Hauser lässt sich ohne Weiteres in Bioreaktor-Controller integrieren. Sie ist eine bewährte PAT-Lösung (Prozessanalysetechnik), die Prozesse in Echtzeit steuern und die Qualität biopharmazeutischer Produkte sicherstellen kann.

Literaturverzeichnis:

- 1. Berry BN, et.al. (2016) Biotechnol Progress 32:224-234. doi: 10.1002/btpr.2205
- 2. Matthews TE, et.al. (2016) Biotechnol Bioeng 113:2416-2424. doi: 10.1002/bit.26018

Anwendungserfolge im Downstream

Schnelle Optimierung der Bedingungen zur Proteinkristallisation



Die Proteinstruktur von Lysozym (links) wird durch Temperatur, pH-Wert, Fällungsmittel und Kristallisationszeit beeinflusst.¹ Raman-Spektren von Lysozym sind in Gegenwart eines Acetatpuffers bei 90 mg/ml (rechts oben), 30 mg/ml (rechts Mitte) und 0 mg/ml (rechts unten) dargestellt.

Kundenerfolge mit Raman-Anwendungen

Zellkultur und Fermentation

- Probenahme mit Flow Cell
- Quantifizierung von Protein und Hilfsstoffen
- CQA- und Aggregationsüberwachung
- Kontinuierliche Chromatographie
- Produktkonzentration und Pufferaustausch – UF/DF, TFF

Technische Referenzen werden von Endress+Hauser auf Anfrage bereitgestellt

Die Raman-Spektroskopie ist eine bewährte Prozessanalysetechnik (PAT) zum Verständnis der Kristallisation

in pharmazeutischen Wirkstoffen mit kleinen Molekülen. Ähnlich wie kleine Moleküle kann auch die Proteinkristallisation durch Temperatur, pH-Wert, Lösungsmittel und die Konzentration der Spezies im System beeinflusst werden. Die Kristallisation von Lysozym wurde in einer Charge im Labormaßstab mittels Raman-Spektroskopie überwacht. Die Auswirkungen von Temperatur, Konzentration des Fällungsmittels, Kristallisationszeit sowie mögliche Interaktionen zwischen diesen Faktoren wurden mit *in-situ* Raman-Spektroskopie untersucht.

Die Raman-Spektren eines Proteins enthalten Beiträge vom Proteinrückgrat und den Seitenketten. Die Amid-III-Region bei \sim 1240 cm $^{-1}$ und die Amid-I-Region bei \sim 1650 cm $^{-1}$ liefern Informationen über Strukturen höherer Ordnung, beispielsweise eine vorhandene a-Helix, ein $\mathfrak B$ -Faltblatt oder eine Random Coil. In dem Beispiel von Mercado et al. konnten aus den Banden bei 750, 760 und 2950 cm $^{-1}$ nützliche Informationen über die Proteinstruktur gewonnen werden, die Einblicke in die chemische Umgebung von Tryptophan (750, 760 cm $^{-1}$) und $\mathrm{CH_3}$ -Gruppen in aliphatischen Resten (2940 cm $^{-1}$) ermöglichten. 2 Die Intensitäten dieser Banden und das Bereichsverhältnis der Banden von 760:750 cm $^{-1}$ reagierten empfindlich auf die Auswirkungen von NaCl-Konzentration, Temperatur und Zeit bei der Lysozymkristallisation.

Aus Raman-Spektren abgeleitete Oberflächendarstellungen deuteten darauf hin, dass die optimalen Bedingungen für die Lysozymkristallisation im Beriech von 35 bis 40 °C und 5 bis 9 % (w/w) NaCl lagen. Diese Daten könnten die Grundlage eines Versuchsraums ("Design Space") der Kristallisation für die Aufskalierung sowie für Studien zur Prozessentwicklung bilden. Die *in-situ* Raman-Spektroskopie erwies sich als wirksame Methode bei der Überwachung der Einflüsse von Temperatur, Zeit und NaCl-Konzentration auf die Kristallisation eines Modellproteins. Raman-Spektren lieferten Informationen über das Proteinrückgrad und Seitenketten, mit denen quantitative Erkenntnisse über den Prozess gewonnen und die optimalen Kristallisationsbedingungen bestimmt werden konnten. Die Erweiterung der Technik auf Umgebungen für die biopharmazeutische Labor- oder Prozessentwicklung kann mit der Raman-Rxn2-Analysatorplattform realisiert werden und in Umgebungen für die cGMP-Herstellung mit der Raman-Rxn4-Analysatorplattform.

Literaturverzeichnis:

- 1. Protein structure: 10.2210/pdb253L/pdb
- 2. Mercado, J. et al. "Design and In-Line Raman Spectroscopic Monitoring of a Protein Batch Crystallization Process." *Journal of Pharmaceutical Innovation*, Dezember **2008**, 271–279.

