



1 Die Ioline pH-Elektroden zeichnen sich durch schnelle Mess-Geschwindigkeit, Robustheit und Unempfindlichkeit gegenüber Chemikalien aus.

Präzisionsartikel Immunoassay

pH- und Leitfähigkeitsmessungen in der Immunoassay-Produktion

Neu entwickelte Verdünnungslösungen und Blockierer erhöhen die Verlässlichkeit und Reproduzierbarkeit von Immunoassays. Dabei muss die Herstellung dieser so genannten Optimizer selbst hoch reproduzierbar erfolgen. Hier hilft die Messung von pH-Wert und Leitfähigkeit. **TOBIAS POLIFKE* UND HELMUT BECKER****

Die Bioanalytik mit Immunoassays wurde in den letzten Jahren deutlich verbessert. Heute können eine höhere Präzision sowie bessere Sensitivitäten und Reproduzierbarkeiten erzielt werden. Ursache dafür war die Entwicklung neuer Assay-Diluents und Blockierer

für Immunoassays. Es handelt sich hierbei um Entwicklungen von Candor Bioscience: Die neuen Lösungen werden als Optimizer für Immunoassays vor allem in der Pharmaforschung, in GLP-Laboratorien für präklinische Studien, für die Analytik bei klinischen Studien und die moderne Hu-

man-Diagnostik eingesetzt. Genutzt werden die Optimizer bei ELISA, Western Blots, Lateral Flow Assays, aber auch der Immunohistochemie, Protein-Arrays und weiteren Immunoassays.

Um die Präzision dieser Messungen zu erhöhen, müssen die hierzu genutzten Lösungen ebenfalls mit höchster Präzision hergestellt werden. Rohstoffe wie Salze, Puffersubstanzen, Proteine und weitere anorganische und organische Bestandteile müssen immer wieder in derselben Art und Weise vermischt und ge-

LP-TIPP ■ Produktionskontrolle von Lösungen

Beim Lösen von Substanzen in Wasser zur Herstellung spezieller Puffer und Lösungen ist es im Rahmen der Kontrolle einer geeigneten Prozessführung und zur Steuerung von Produktionsprozessen besonders wichtig, den pH-Wert und die Leitfähigkeit der Lösungen zu kontrollieren. Dies ist besonders wichtig, wenn Lösungen aus dem Labormaßstab in den Produktionsmaßstab überführt werden sollen. Beim Up-Scaling bietet sich eine zweigeteilte Mess-Strategie an, die die Produktions-Kontroll-Messungen mit anderen Geräten wie die Chargen-Endkontroll-Messungen durchführt.

* **DR. T. POLIFKE:**
Candor Bioscience GmbH,
88239 Wangen im Allgäu,
Tel. +49 (0) 75 22 / 7 95 27 - 0

** **H. BECKER:** SI Analytics GmbH, 55122
Mainz, Tel. +49 (0) 61 31 / 66 - 51 16

löst werden bzw. deren chemische Reaktionen müssen kontrolliert immer wieder identisch ablaufen. Nur so lässt sich eine optimale Batch-to-Batch-Konsistenz erzielen. Neben anderen Prozessparametern spielen bei allen Reaktionen und Produktionen in wässrigen Lösungen insbesondere zwei Parameter eine Schlüsselrolle: der pH-Wert und die Leitfähigkeit. So einfach und alltäglich diese zwei Parameter auch erscheinen mögen, so wichtig sind sie in der Kontrolle einer geeigneten Prozessführung und Steuerung von Produktionsprozessen. Beim Lösen von Substanzen in Wasser lässt sich durch die kontinuierliche Überwachung von pH-Wert und Leitfähigkeit kontrollieren, ob übliche Prozessfenster eingehalten werden, oder ob es zu unerwarteten Phänomenen kommt. Gerade wenn Lösungen aus dem Labormaßstab in den Produktionsmaßstab überführt werden, spielen Probleme des Up-Scaling eine große Rolle. Dabei können von veränderten chemischen Reaktionsgleichgewichten bis hin zu trivial erscheinenden Aspekten wie dem Verklumpen größerer Chemikalien-, Protein- und Salz-Mengen diverse unerwünschte und zum Teil unerwartete Effekte auftreten. Sofern hier nicht kontinuierlich und präzise die Leitfähigkeit und pH-Werte und damit das Löseverhalten und die gelöste Menge von Substanzen kontrolliert wird, können sich Unterschiede beim Up-Scalens ergeben, die sich auf die Qualität des Endproduktes merklich auswirken können.

Messungen in der Produktion

In der modernen Puffer-Produktion von Candor Bioscience werden Kleinstchargen von 1 L für die Entwicklung genauso produziert wie regelmäßige Chargen-Größen bis zu 1200 L. Einzelne Produktionen erreichen hierbei Volumina von 2000 L je batch.

Natürlich muss man hierbei auf Präzision, aber auch auf adäquate Dokumentation, größten Wert legen. Candor hat daher in Zusammenarbeit mit dem Team von SI Analytics, Mess-Systeme ausgewählt und implementiert, die für kleine Chargen, wie sie im Laboralltag häufig vorkommen, genauso gut geeignet sind wie für die besonderen Anforderungen einer industriellen Produktion. Es wird hierbei eine zweigeteilte Mess-Strategie angewandt, die die Produktions-Kontroll-Messungen mit anderen Geräten wie die Chargen-Endkontroll-Messungen durchführt.

An jedem einzelnen Produktionsplatz wird ein Lab 970-Gerät zur Leitfähigkeitsmessung genutzt. Alle Geräte haben je einen direkt angeschlossenen Drucker, der automatisch jeden Messwert, Datum und Uhrzeit, die Messtemperatur sowie die Geräte- und Elektroden-Identifikationsnummern ausdruckt. Somit ist für alle Messwerte aus der Produktion die Nachvollziehbarkeit gegeben. Für die pH-Messung werden hier Lab 870-Geräte mit den modernen Ioline pH-Elektroden verwendet. Vorteile dieser neuen Schott Instruments Elektroden-Generation liegen in der schnellen Mess-Geschwindigkeit, der Robustheit und der Unempfindlichkeit gegenüber Chemikalien wie z.B. Tris-Puffern, die mit klassischen Ag/AgCl-Elektroden Probleme durch Ausfällungen erzeugen können. Zudem bieten sie die Möglichkeit, die verschiedensten Lösungen und Medien, von Protein-freien bis hin zu sehr stark Protein-haltigen Lösungen mit derselben Elektrode, kontrollieren zu können. Die schwarzen Ränder der „Silberfärbung“ von Proteinen an Diaphragmen, die jeweils mühsam von den Elektroden entfernt werden müssen, gehören ebenso der Vergangenheit an, wie die Notwendigkeit, einen Bezugs elektrolyt nachzufüllen. Die Ioline-Elektroden sind einfach in der Handhabung und lediglich der Brückenelektrolyt ist bei Bedarf aufzufüllen. Er kann sogar an das Messmedium angepasst werden.

Ein weiterer großer Vorteil liegt darin, dass die Temperaturanfälligkeit der Messungen deutlich reduziert ist. Während klassische Elektrodensysteme zwar für die Messung bei verschiedenen Temperaturen kompensiert werden können, führt diese Temperatur-Kompensation dennoch mitunter zu schlechter Präzision. Ein Abkühlen von Reaktionslösungen, um immer wieder bei identischen Temperaturen messen zu können, ist daher mit klassischen pH-Elektroden durchaus empfehlenswert. Dies entfällt bei Benutzung der Iod-Iodid-Elektroden, wie sich in ausführlichen Testmessungen herausgestellt hat. Der präzise Temperatur-Bereich ist für diese Elektroden weitaus größer und damit können Lösungsprozesse trotz entstehender Lösungswärme rasch verfolgt werden, ohne einen Temperatursausgleich mit der Raumtemperatur abzuwarten. Die Ioline-Elektroden tragen so zu einer Verkürzung der Produktionszeit bei.

Für die Chargen-Freigabe vor dem Verkauf kommt eine zweite zentrale Messeinheit zum Einsatz. Die Freigabe-Prüfungen



PRINT: Lesen Sie in der LABORPRAXIS 4/2010 ab Seite 48, was bei der Leitfähigkeitsmessung zu beachten ist.

ONLINE: Mehr rund um das Thema pH- und Leitfähigkeitsmessung finden Sie auf laborpraxis.de über InfoClick **2997373**.

EVENTS: Novia veranstaltet am 30.04.2012 in Bad Soden das Seminar „Immunoassays: Anwendung & Troubleshooting von ELISA & Co.“ (Infos unter: info@novia.de, Tel. +49 (0) 69 / 305 - 120 20)

werden an einem Prolab 4000 mit der Kombination von pH und Leitfähigkeit in einem Messgerät durchgeführt.

Chargen-Endkontrolle

Der Vorteil des Prolab 4000 liegt in einer noch höheren Datenintegrität und Sicherheitsoptionen, die dieses Gerät auch in GLP-Laboratorien einsetzbar macht. Das Gerät kann nur nach Authentifizierung des Anwenders durch einen persönlichen Transponder benutzt werden. Alle ID-Elektroden werden automatisch erkannt, die Elektroden-Historie wird automatisch dokumentiert. Messungen ohne die jeweils fällige Elektroden-Kalibrierung sind ebenso unmöglich, wie das nachträgliche Verändern oder Löschen von Messwerten. Das Gerät hat zwei voneinander getrennte Benutzer-Ebenen. Auf einer Administrator-Ebene werden nötige Kalibrierintervalle, zugelassene Benutzer und alle weiteren Sicherheits- bzw. Qualitäts-relevanten Geräte-Parameter eingegeben und verwaltet. Auf der Benutzer-Ebene ist dann nur noch die Messung, aber erst nach Authentifizierung und nach allen geforderten Kalibrierungen oder Kontrollen durchführbar. Das Gesamtsystem untersteht damit immer dem Administrator als oberster Qualitätsmanagement-Ebene. Selbstverständlich werden auch hier alle Messwerte mit den zugehörigen Parametern, wie Datum und Zeit, Temperatur, Benutzer, Elektroden- und Geräte-Identifikationsnummern, der Batch-Nummer sowie dem vorab gemessenen Zustand der Elektroden automatisch ausgedruckt.

Entscheidend für die Eignung der Geräte ist vor allem, dass sie im Alltag einfach und somit fehlerfrei zu bedienen sind, keinen besonderen Wartungsaufwand erfordern und leicht zu reinigen sind, da sie in einer Produktionsumgebung benutzt werden. ■