Moderne LC/LC-MS-Verfahren zur Online-Analyse biotechnologischer Prozesse

Rehorek, A., Köln/D

Die Zahl flüssigchromatographischer Methoden, die die Laboranalytik in den vielfältigsten Bereichen zur Zustands-, Chargen- und Produktqualitätskontrolle einem Prozess nachgeschaltet verwendet [1] oder die dem Emissions- und Gewässerschutz dienen [2], ist kaum zu überblicken. Es gibt selbst DIN-Normen, in denen Flüssigchromatographie-Methoden in diesen Bereichen beschrieben sind [2-3]. Online-LC- und erst recht Online-LC-MS-Verfahren sind nach wie vor eine aktuelle und anspruchsvolle Herausforderung für die Prozessanalytik [4-5], die im Bereich der biotechnologischen Herstellung von pharmazeutischen Produkten und Lebensmitteln wachsende Bedeutung hat [6]. Dabei dient die LC/LC-MS-Prozessanalysentechnik der automatisierten Bestimmung von Einzelstoffkonzentrationen, was auch kinetische und reaktionsmechanistische Aussagen erlaubt [5]. Die Proben werden automatisiert entnommen, aufbereitet und kontinuierlich dem LC- oder LC-MS-Analysengerät zugeführt. Die Geschwindigkeit und die Zahl der Messungen richtet sich nach der Zeitkonstante des biotechnologischen Prozesses, für den ein quasi kontinuierliches Monitoring angestrebt wird.

Vorgestellt wurden Beispiele moderner LC/LC-MS-Verfahren zum kontinuierlichen Prozessmonitoring aus verschiedenen Bereichen von Fermentern, Bioreaktoren und Kläranlagen. Es wurden sowohl Mehrkomponentenprozessanalysatoren der Prozessflüssigchromatographie als auch der Prozessmassenspektrometrie erfasst. Auf zwei LC/LC-MS-Verfahrensbeispiele aus dem Bereich der Abwasserkontrolle und der biologischen Abwasserbehandlung wurde detailierter eingegangen. Es sollte unter anderem gezeigt werden, dass ein stoffspezifisches LC-MS-Monitoring eine wertvolle Hilfe bei der Verfahrensoptimierung und -entwicklung sein kann, insbesondere dann, wenn die gewonnenen einzelstoffspezifischen Daten mechanistisches und wirkungsbezogenes Verständnis liefern. Kann mit Hilfe der Multivariaten Datenanalyse ein Zusammenhang mit üblicherweise gemessenen Prozess-Summenparametern nachgewiesen werden, so können direkte Vorgaben zur Steuerung und Regelung des Prozesses gemacht werden.

[1] a) Henke, H., Flüssig-Chromatigraphie: Analytische und präparative Trennungen, ISBN 3-8023-1757-2, Vogel 1999.
b) Rehorek, A., Attraktive HPLC-Analytik für die diagnostische Anwendung in der Labormedizin, Merck Spectrum, 1, 19-20, 1996.

[2] DIN 38 407, Deutsche Einheitsverfahren Abwasser (Emissions und Gewässerschutz)

[3] a) Prüfung von Papier und Pappe, Prüfung auf antimikrobielle Zusatzstoffe, Bestimmung des Gehaltes an Tetramethylthiuramdisulfid, DIN 54 600, Juli 1988.
b) Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung:
Bestimmung ausgewählter Explosivstoffe und verwandter Verbindungen durch HPLC, DIN 38407-21, Dezember 2001.
c) Bestimmung von Glyphosphat und Aminomethylphosphonsäure in Wasser durch HPLC, Nachsäulenderivatisierung und Fluoreszenzdetektion, DIN 38407-22, Oktober 2001.
d) Schlamm und Sedimente: Bestimmung von 15 PAK's durch HPLC und Fluoreszenzdetektion, DIN 38414-23, Februar 2002.

[4] a) Edwards, E., Thomas-Oates, J., Hyphenating liquid phase separation techniques with mass spectrometry: on-line or off-line, Analyst, 130, 13-17, 2005
b) Reemtsma, T.,Liquid chromatography-mass spectrometry and strategies for trace-level analysis of polar organic pollutants, J. Chromatogr. A, 1000, 477-501, 2003.
c) Manini, P., Andreoli, R., Niessen, W. M. A., Liquid chromatography-mass spectrometry in occupational toxicology: A novel approach to the study of biotransformation of industrial chemicals, J. Chromatogr. A, 1058, 21-37, 2004.

[5] a) Rehorek, A., Unerwünschter Farbe auf der Spur, Labor Praxis, Special „Wasser- und Umweltanalytik", 24-27, April 2005
b) Plum, A., Rehorek, A., Strategies for continuous on-line high performance liquid chromatography coupled with diode array detection and elctrospray tandem mass spectrometry for process monitoring of sulphonated azo dyes and their intermediates in anaerobic-aerobic bioreactors, J. Chromatography A, 1084, 119-133, 2005

[6] a) Ritzka, A., Sosnitza, P., Ulber, R. Scheper, T., Fermentation monitoring and process control, Current Opinion in Biotechnology, 8, 160-164, 1997. b) Olsson, L., U. Nielsen, J., Online bioprocess monitoring – an academic discipline or an industrial tool?, Trends in Analytical Chemistry , 17, 88-94, 19998