

Downstream szűrési műveletek

- Cél: fermentorból kijövő anyagból nagy tisztaságú, magas biológiai aktivitású termék előállítása, amely mentes mindenfajta szennyezőtől (endotoxin, baktérium-, vírustörmelék stb.)
- Lépései:
 - 1) Sejt főtömeg eltávolítása
 - 2) Sejttörmelék eltávolítása
 - 3) Végső tisztítás sterilre szűrés

Downstream szűrési műveletekről általánosságban

- Vírusmentesítés (ha szükséges):
 - Hidrofil membránok ($d_p > 0,04 \mu\text{m}$)
 - Ultraszűrés után
 - Az ultraszűrést nem lehet vírus eltávolításra használni, mert kiszűrnénk a terméket is
- Downstream rendszerek védelme
 - Az olcsóbb szűrőket „feláldozzák” a drágább rendszerek védelmében (kromatográfiás oszlopok, membrán-, ultraszűrők stb.)

Sejt főtömeg eltávolítása

- Magas szárazanyag tartalom és viszkozitás miatt dead-end szűrés helyett crossflow szűrés vagy centrifugálás
- Mivel a membránszűrők könnyen eltömődnek így mélységi előszűrőket használnak, mert ezek könnyebben használhatóak, és olcsóbbak
- Centrifugálás után, tükrösre szűréshez
- Propilén mélységi szűrők. Emlős: 1-5 μm ,
baktérium: 0,3-1 μm

Maradék sejt, és sejttörmelék eltávolítása

- További tisztítás, akár sterilitásig is
- Kromatográfiás tisztítás vagy ultraszűrés előtt
- A szennyező koncentrációjától függően más szűrő:
 - Magas konc.: PP mélységi szűrő (0,5 μm) vagy gyantával impregnált üvegszálás szűrő (1 μm)
 - Alacsony konc.: hidrofil membránszűrő (0,45 v. 0,2 μm). Ez már sterilre szűr

Végső tisztítás, sterilre szűrés

- A termék gyűjtőtartályos tárolás közben szennyeződhet
- Csomagolás, kiszereelés előtt végső tisztítás kell
- Hidrofil membránszűrőkkel (0,2 μm)
- Kis termékkoncentráció esetén speciális, kis fehérjekötő képességű membrán

Szűrők gőzsterilizációja

- In situ gőzsterilizációt alkalmazunk
- Bizonyos szűrőtípusok autoklávban is sterilizálhatók
- Legalább 121°C -on 30 percig 100 kPa-s gőzzel sterilizálás
- Az in situ sterilizációhoz a kondenzátum elvezetését meg kell oldani
- A steril oldal csőhossza legyen minimális (csőről leváló szennyeződések)

Szűrők gőzsterilizációja II.

- Gőz: száraz, telített, szennyeződésmentes (ehhez rozsdamentes acélszűrőket alkalmazhatunk)
- A felhasználás után át kell mosni
- DE: ellennyomás TILOS!! Könnyen megsérül tőle a membrán integritása.
- Elkerülésére: gőz lezárása esetén inert gázzal nyomást kell ráadni.

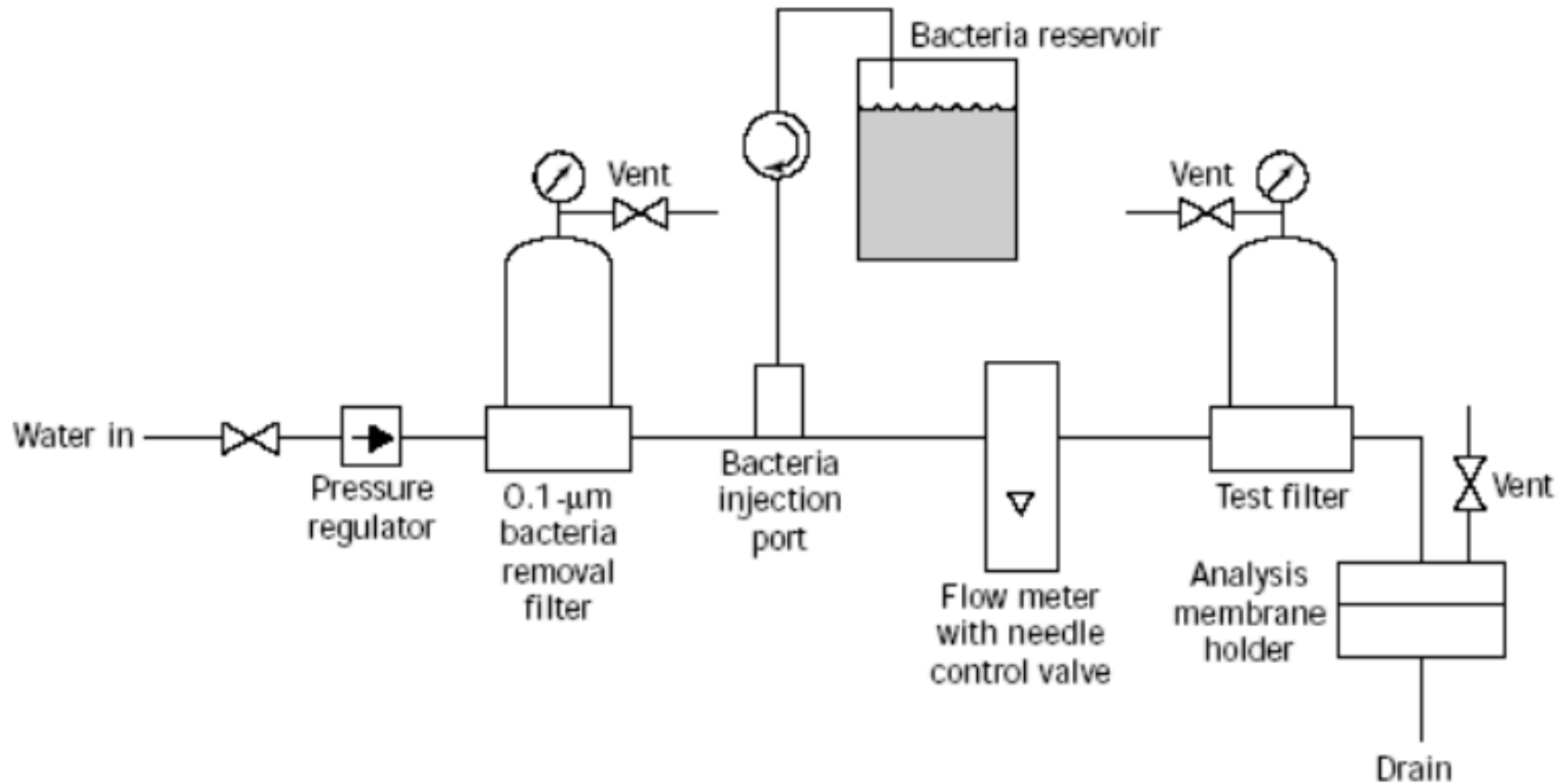
Szűrőelemek integritásának az ellenőrzése

- Tényleges baktériumszűrő hatékonyság vizsgálata
- Átáramoltatásos (forward flow) teszt
- Nyomástartási (pressure hold) teszt
- Buburékpont (bubble point) teszt
- Víz elárasztási (water intrusion) teszt

Tényleges baktériumszűrő hatékonyság vizsgálata

- Ismert koncentrációjú baktérium szuszpenziót engedünk rá a szűrőre
- Vizsgálják mennyi jut át
- Jellemzően *Pseudomonas diminuta* szuszpenzió
- Minimum 10^7 db sejt/cm² legyen a szuszpenzió koncentrációja!
- DE: tönkreteszi a szűrőt, azaz termelési körülmények között nem alkalmazható

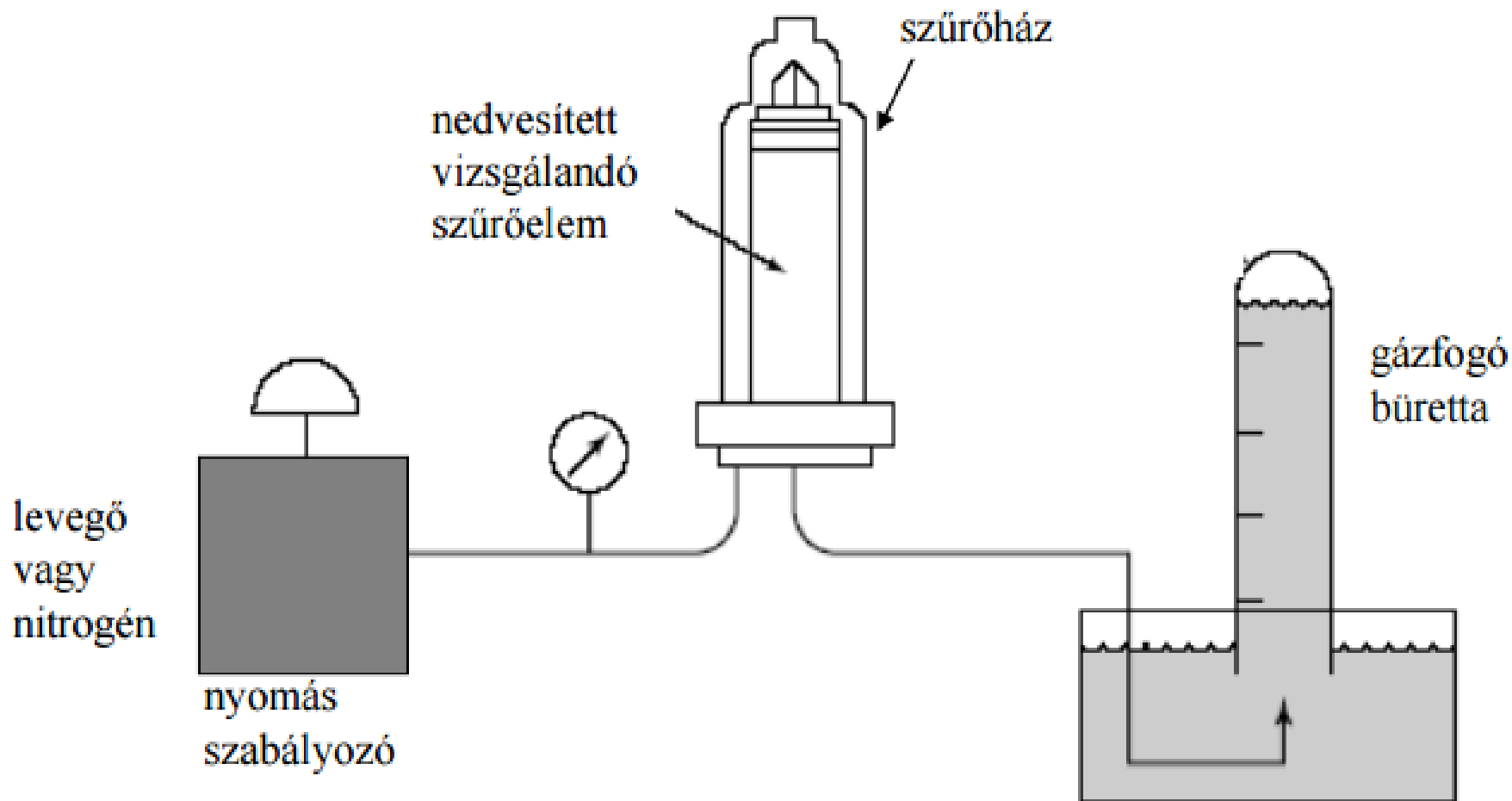
Tényleges baktériumszűrő hatékonyság vizsgálata



Átáramoltatásos teszt

- A szűrőt megnedvesítik, és adott konstans nyomást alkalmaznak
- Így a levegő csak diffundálni tud a membránon keresztül
- Ha ez egy előre meghatározott értéknél kisebb, akkor a szűrő alkalmazható
- Vagy konstans nyomás esetén mérjük az átdiffundáló levegő mennyiségét, vagy a bemenő gázáramot mérjük ami adott nyomáshoz szükséges

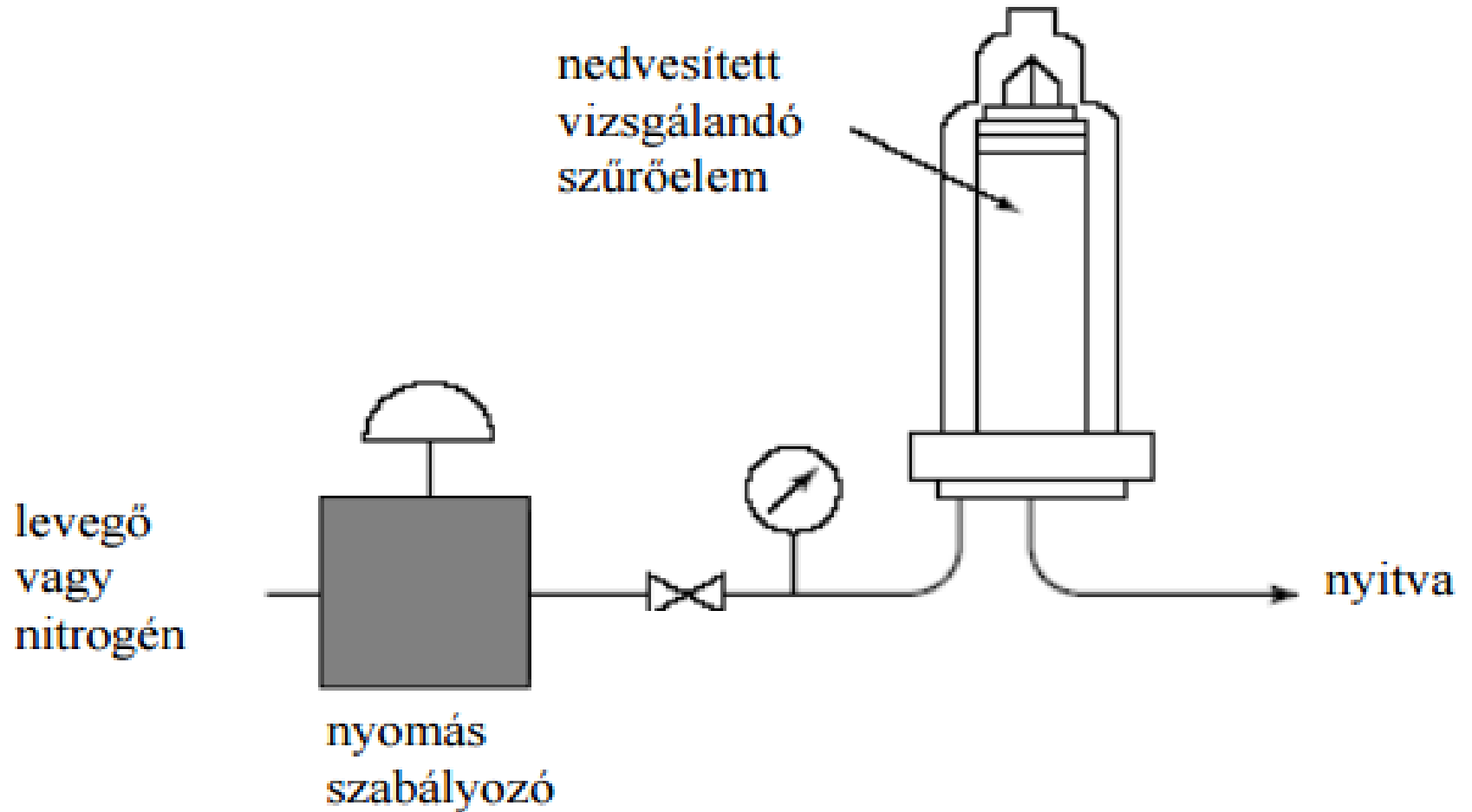
Átáramoltatásos teszt



Nyomástartási teszt

- Alkalmazhat sterilizálás előtt és után is.
- Membrán degradációja jól nyomon követhető (szűrés előtt-után)
- Szűrőház lezárása után megnedvesített szűrővel
- Vizsgáljuk azt, hogy adott gáz nyomás, összetétel és hőmérséklet mellett a nyomás időbeli változását vizsgáljuk.

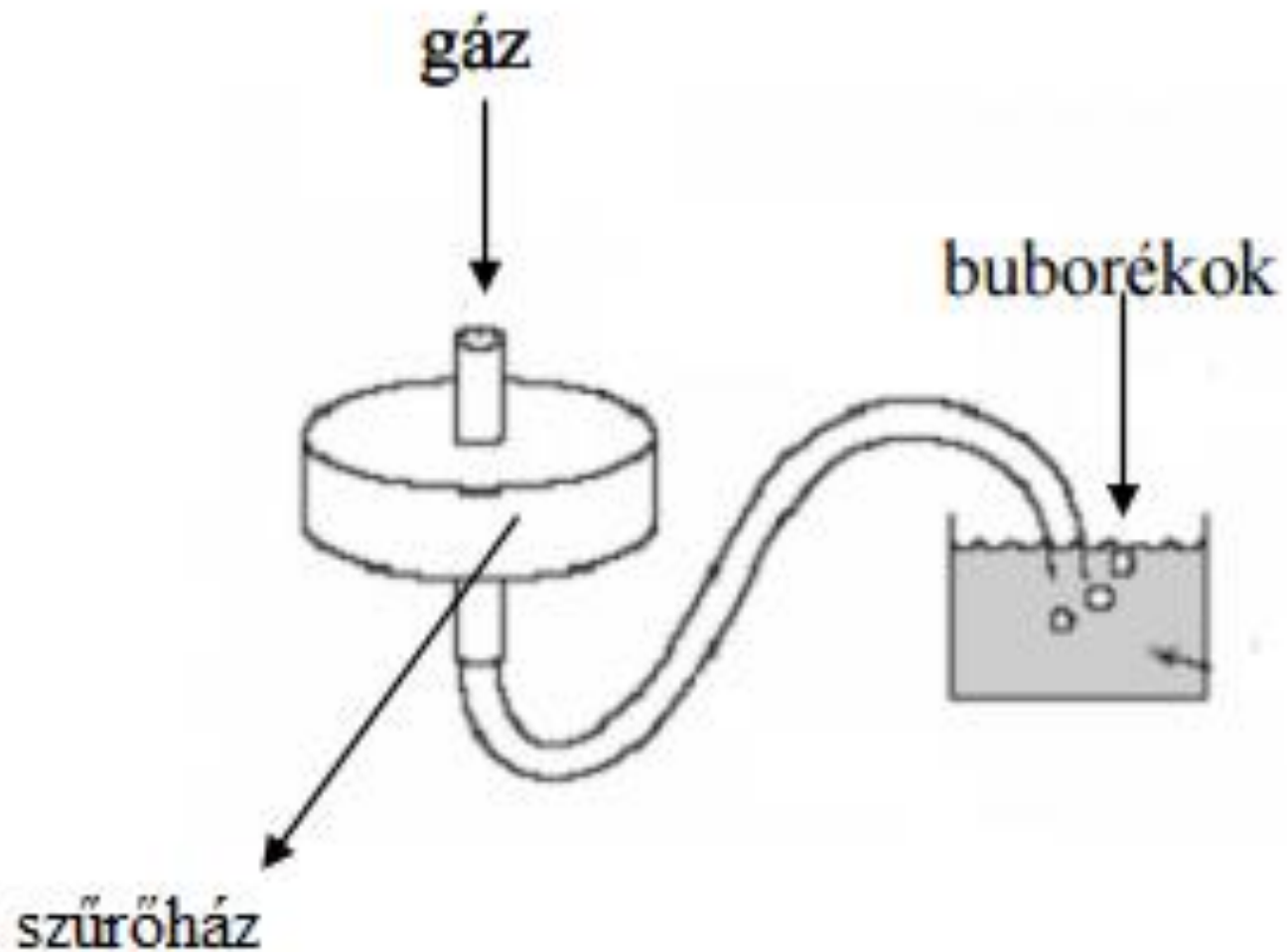
Nyomástartási teszt



Buborékpont teszt

- Vizuális teszt
- Nedves membrán
- Levegőt nyomnak át a membránon, egyre növekvő nyomás mellett
- A buborékok képződése a diffúzióknak köszönhetően minden nyomáson megfigyelhető, de a buborékpont után folyamatos lesz.

Buborékpont teszt



Víz elárasztási teszt

- Mindegyik teszthez nedves membrán kell
- Ezt hidrofób membránok esetén alkohollal végzik, de ez terelés közben nem megoldható
- Erre való a víz elárasztási teszt
- Bemelő oldalt vízzel árasztják el, majd növelik a nyomást
- Azt vizsgálják, hogy mikor jelenik meg az elemző oldalon a víz

A megfelelő teszt megválasztása

- Mindegyik teszt automatizálható
- Így a valóságban mindegyiket alkalmazzák
- Hidrofób membránok esetében szinte csak a víz elárasztási tesztet alkalmazzák
- Hidrofil membránok esetén érdemes a gyártó ajánlását követni

Köszönjük a figyelmet!