

## Achema 2009 Trendbericht Trenntechnik

### Schlüssel zu neuen Synthesewegen

- **Großes wirtschaftliches Potenzial von Naturstoffen**
- **Trennprobleme als Hürde bei der Nutzung**
- **Entwicklung neuer Plattformtechnologien**

Die Gewinnung von Wert- und Wirkstoffen aus Mikroorganismen, Pflanzen oder tierischen Produkten birgt erhebliches wirtschaftliches Potenzial. Eine Hürde stellt bislang aber häufig die Trennung und Reinigung der Zielprodukte aus komplexen Gemischen dar. Verfügbare Verfahren sind in der Regel stoffspezifisch und beruhen auf Empirie. Ein besseres theoretisches Verständnis der zugrundeliegenden Thermodynamik sowie der kinetischen Vorgänge, eine Standardisierung der Verfahrensentwicklung und die integrierte Prozessentwicklung, bei der von der Fermentation bis zur Aufreinigung alle Schritte a priori betrachtet werden, sind der Schlüssel für den Einsatz biotechnologischer Verfahren und die wirtschaftliche Nutzung nachwachsender Rohstoffe. Auf der Achema 2009, die vom 11. bis 15. Mai in Frankfurt am Main stattfindet, werden Forscher, Entwickler und Anwender eine große Bandbreite fortschrittlicher Technologien in der Ausstellung sehen. Auch im Kongress spielen Trenntechniken eine erhebliche Rolle, beispielsweise in den Sessions „Separation and Mixing Technology“, „Advanced Fluids in Process Engineering“ oder „Industrial Biotechnology“.

Die Trennung komplexer Stoffgemische ist ein Dauerbrenner in der Prozessindustrie. Eine Vielzahl von Trennverfahren steht zur Verfügung; doch für jeden neuen Syntheseweg und jedes neue Gemisch müssen von neuem das oder die geeigneten Verfahren identifiziert, kombiniert und feinabgestimmt werden. Einen besonderen Schub erhält die Frage geeigneter Trenntechniken durch den steigenden Einsatz biotechnologischer Verfahren. Die Produkte liegen dort in der Regel stark verdünnt vor; häufig handelt es sich um sehr komplexe Produktgemische, die neben diversen Rest- und Abfallstoffen eine Reihe einander sehr ähnlicher Komponenten beinhalten. Typisch sind z.B. Fermentationslösungen, Zellkulturen oder Pflanzenextrakte. Analoges gilt für die Nutzung nachwachsender Rohstoffe und Pflanzenextrakte: Ob Öle, Proteine oder Kohlehydrate gewonnen werden sollen, Pflanzen produzieren keine Reinstoffe, sondern Gemische chemisch ähnlicher Substanzen, die vor der Weiterverarbeitung getrennt werden müssen. Dabei wird die Wirtschaftlichkeit des Gesamtprozesses maßgeblich von den Kosten im Downstream Processing bestimmt. Diese Verschiebung der Kostenanteile hin zum Downstream-Anteil ist prozessbedingt, und Experten prognostizieren, dass sie mit wachsendem Produkttiter im Upstream noch weiter ansteigen wird. Effiziente und ressourcenschonende Trennverfahren haben deshalb einen entscheidenden Einfluss darauf, ob biotechnologische Verfahren und nachwachsende Rohstoffe langfristig im Wettbewerb bestehen können.

## **Bindeglied zwischen Upstream-Processing und Produkt**

Grob lassen sich Trenntechniken in zwei Kategorien unterteilen:

Die Partikel- und Phasentrenntechnik erlaubt die Abtrennung zweier oder mehrerer Phasen voneinander (z.B. durch Filtration oder Zentrifugation) oder die Einstellung der Produkteigenschaften nach Bedarf (z.B. bei der Kristallisation). Die Methoden der Fluidverfahrenstechnik dagegen führen zur Veränderung der Konzentration einer oder mehrerer Komponenten in einer Phase. Darunter fallen vor allem die Unit Operations Destillation, Adsorption, Absorption, Verdampfung, Rektifikation, Extraktion usw. Diese „klassischen“ Unit Operations gelten jedoch als weitgehend ausgereift. Deshalb konzentriert sich die Forschung auf neuartige und Nischentechnologien für Einsatzfelder in der Pharma und Biotechnik sowie auf hybride und reaktive Technologien, die sowohl in der chemischen Industrie als auch in biotechnologischen Anwendungen zum Einsatz kommen können.

Ein starker Trend geht dabei zur Integration von Trennschritten mit anderen Prozessschritten, also beispielsweise Reaktivrektifikation, -absorption oder -extraktion oder der Einsatz von Membranreaktoren. Eine Schwierigkeit bei der Entwicklung solcher Verfahren besteht darin, dass bisher die einzelnen Prozessschritte in der Regel isoliert nebeneinander stehen. Jede Veränderung im Upstream führt zu einer oft aufwändigen Anpassung der weiteren Verfahrensstufen. Bislang erfolgt die Entwicklung und Optimierung technischer Biosynthesen aufgrund von mangelndem Wissen in der Regel nicht prädiktiv, sondern iterativ. Die selektiven Trenntechniken als Bindeglied zwischen Upstream-Processing und Produkt treten dadurch in den Vordergrund. Rückkopplungen, Verknüpfungen und Wechselwirkungen, beispielsweise zwischen der Schaffung optimaler physiologischer Kultivierungsbedingungen und dem Einsatz geeigneter verfahrenstechnischer Maßnahmen, sowohl bei der Produktsynthese als auch bei der Produktabtrennung und -reinigung, oder bei der Formulierung und Anwendung sollten zukünftig stärker berücksichtigt werden. Die Entwicklung von Methoden für ein integriertes Downstream-Processing ist ein Schlüsselschritt für effizientere, wirtschaftlichere und ressourcenschonendere Prozesse.

## **Großes wirtschaftliches Potenzial von Naturstoffen**

Heteropolysaccharide sind ein typisches Beispiel für eine Produktklasse, die biotechnologisch oder aus nachwachsenden Rohstoffen gewonnen werden. Sie finden zunehmend Eingang in technische Anwendungen. Gegenüber nicht-biologischen Verbindungen zeichnen sie sich durch eine hervorragende Abbaubarkeit aus. Die Spanne ihrer möglichen Anwendungen reicht dabei von Verdickern für Bohrlässigkeiten bei der Erdölförderung über Zusatzstoffe in Farben und Lacken bis zur Stabilisierung von Emulsionen in Kosmetika sowie ihrer Nutzung als Ausgangsverbindungen für hochwirksame Pharmazeutika. Allein der weltweite Umsatz mit Heteropolysacchariden als Zusatzstoffe in Milch-, Fleisch- und Backwaren liegt bei etwa 6,8 Mrd US-Dollar pro Jahr.

Typisch für die Heteropolysaccharide ist aber auch, dass bisher keine sehr effizienten Strategien zur Produktion und Aufreinigung zur Verfügung stehen. Vor dem Hintergrund der interessanten Eigenschaften solcher Biomoleküle und ihres großen wirtschaftlichen Potenzials in breiten Anwendungsgebieten ist es sehr unbefriedigend, dass in der Regel bisher nur empirisch ermittelte Aufreinigungsverfahren zur Verfügung stehen, die nicht auf andere Stoffe übertragbar sind und nicht produktionsintegriert eingesetzt werden können. Die Unit Operations, die im Labormaßstab angewendet werden, stoßen beim Upscaling schnell an ihre Grenzen. Zusätzlich sind sie häufig sehr aufwändig und energieintensiv, was sich nachteilig auf die Wirtschaftlichkeit der Verfahren auswirkt.

### **Neue Plattformtechnologien zur Reinigung bioaktiver Proteine und Peptide**

Ähnlich ist die Situation bei den bioaktiven Proteinen, Peptiden und Glykoproteinen. Sie werden aus Zellkulturen gewonnen, aber auch aus komplex zusammengesetzten Produkten pflanzlichen und tierischen Ursprungs wie z.B. Milch oder Molke. Die Zielprodukte werden beispielsweise in biofunktionellen Lebensmitteln eingesetzt, sind aber durch ihre Rolle als Blutgerinnungsfaktoren, Immunstoffe, Hormone, Membranbestandteile oder Enzyme auch pharmakologisch sehr bedeutend. Ein hoher Anteil der heute entwickelten neuen Arzneimittel sind Proteine, die aus Mikroorganismen oder tierischen Zellen gewonnen werden. Die Anforderungen an die Trennung sind hoch: Die Biofunktionalität der Produkte muss erhalten bleiben. Der geforderte Reinheitsgrad ist besonders bei pharmazeutischen Wirkstoffen sehr hoch, und die Substanz muss am Ende in einem haltbaren Zustand vorliegen. Aus diesem Grund und aus Gründen der Verträglichkeit sind teilweise biochemische oder chemische Modifikationen der Produkte notwendig, die im Idealfall in die Aufarbeitung integriert werden könnten.

Derzeit basiert die Herstellung von Proteinen und Peptiden hauptsächlich auf „single unit operations“, die jedoch hinsichtlich Kosten und Durchsatzkapazität deutlich an Grenzen stoßen. Das gilt besonders für chromatographische Trennverfahren. Membranverfahren sind für diese Anwendungen bislang nicht spezifisch genug, zumal Grenzschichtphänomene wie unspezifische Adsorption und Deckschichtbildung häufig zu unvorhersagbaren Ergebnissen führen.

Der Schlüssel für diese Klasse von Trennproblemen liegt in der Entwicklung neuer Plattformtechnologien auf der Basis neuer bzw. miteinander kombinierter Trenntechniken einschließlich mechanischer Verfahren wie Membrantrenntechnik oder Zentrifugaltrenntechnik, chromatographischer Verfahren (Ionenaustausch-, Gelpermeations- oder Affinitätschromatographie), thermischer und enzymatischer Verfahren sowie Kristallisation unter dem Einfluss selektiver Ionenmilieus. Man weiß beispielsweise, dass Proteine in einem Gemisch je nach Milieu bzw. nach Aminosäuresequenz und räumlicher Struktur sehr selektiv auf eine thermische Behandlung reagieren. So können einzelne Moleküle gezielt aggregiert werden, während andere in nativem Zustand verbleiben können.

Ein anderer Ansatz greift an dem Problem an, dass Proteine und Peptide meist in der gleichen Größenklasse liegen und daher kaum selektiv durch das Größenausschlussprinzip voneinander getrennt werden können. Der Einsatz von Enzymen, die eine selektive Vernetzung von Proteinen bewirken, führt dazu, dass bestimmte Zielmoleküle der Abtrennung zugänglich gemacht werden, da sie sich dann in der Größe deutlich von vernetzten Proteinen bzw. Peptiden unterscheiden.

Entscheidend für die Weiterentwicklung dieser Trenntechnologien ist das bessere Verständnis der stofflichen Veränderungen in den Prozessstufen, die dem Trennschritt vorgelagert sind. Nur dann lassen sich beispielsweise die Trenneffekte an Membranen besser vorhersagen und geeignete Hybridverfahren entwickeln.

### **Trennprobleme als Hürde für Gewinnung von Phytoextrakten**

Extrakte aus Pflanzen werden in großem Umfang in pharmazeutischen Produkten, zur Nahrungsergänzung und in kosmetischen Erzeugnissen eingesetzt. Der Markt allein für Extrakte aus Kräutern zur Nahrungsergänzung, z.B. Melisse, Grüner Tee oder Heidelbeere, beläuft sich auf 6,7 Mrd Euro in Europa und auf 17,5 Mrd Euro weltweit. Der Weltmarkt für Wirkstoffe aus Pflanzen betrug 2002 rund 30,7 Mrd US-Dollar, wobei die Substanzklasse der Terpene mit einem Anteil von etwa 40 % dominiert. Die Gewinnung von Wirkstoffen für Medikamente, Nahrungsmittel und Kosmetika aus nachwachsenden Rohstoffen durch Extraktion erscheint nachhaltiger als die Synthese aus petrochemischen Zwischenprodukten, die aus dem begrenzten, sich erschöpfenden Erdölvorrat hergestellt werden. Der Gewinnung von Extrakten aus nachwachsenden Rohstoffen kommt also aufgrund der zu erwartenden Marktentwicklung und der Nachhaltigkeit eine erhebliche Bedeutung zu.

Technisch beruht die Phytoextraktion hauptsächlich auf empirischen Erfahrungen. In der Regel wird schon nach wenigen Versuchen über Aufgabe oder Weiterführung des Vorhabens entschieden. Labor- und Pilotversuche werden bestenfalls für bestimmte Rohstoffe und in standardisierten Apparaten vorangestellt. Viele verfügbare, auch heimische Rohstoffe kommen dabei nicht zum Zuge, weil sie nicht in das klassische Schema passen oder geringere Gehalte an den gewünschten Inhaltsstoffen aufweisen. Ein Know-How-Transfer zwischen den Forschungsaktivitäten von Biologen, Pharmazeuten, Chemikern und Ingenieuren findet kaum statt, und auch ein branchenübergreifender Austausch zur Schaffung von Synergieeffekten ist bisher nicht etabliert.

Durch die Kombination effizienter Aufbereitungs- und Aufschlussverfahren mit neu entwickelten hochspezifischen Extraktionsverfahren und integrierten Aufreinigungskonzepten können neue Wirk- und Wertstoffe für den Einsatz in der Pharma-, Kosmetik- und Lebensmittelindustrie erschlossen werden. Dabei besteht zum einen das Potenzial, Reinheitsgrade und Ausbeuten zu erzielen, die bisher als nicht erreichbar galten. Zum anderen können neue, potente Wirk- und

Wertstoffe identifiziert, extrahiert und als Rohstoffe für die Produktimplementierung bereitgestellt werden.

Dabei stehen besonders drei Prozessstufen im Fokus: der Aufschluss, die Extraktion und die Reinigung. Wurzeln und harte Früchte werden bisher als Rohmaterial selten verwendet, da gravierende Probleme bei Zerkleinerung, Transport und Aufschluss bestehen. Durch neue Aufschlussverfahren soll ein möglichst weites Spektrum an wertstoffhaltigem Material nutzbar werden. Unmittelbar mit dem Aufschluss verknüpft ist der Extraktionsschritt. Die Feststoffvorbereitung steht in engem Zusammenhang mit der Kinetik, da je nach Partikelgröße und Konsistenz des Feststoffs Auflösungsvorgänge und die Desorption des Feststoffs eine ebenso große Rolle spielen wie thermodynamische Lösungsgleichgewichte.

Viele heutzutage eingesetzte Aufreinigungsmethoden für Naturstoffe basieren auf Standardprotokollen im Labormaßstab. Diese in der Regel chromatographischen Verfahren im Batch-Betrieb sind in keiner Weise für einen Produktionsprozess entwickelt oder optimiert. Entwicklungsbedarf besteht sowohl bei der Spezifität der Phasen für die aufzureinigende Komponente als auch bei der Beladbarkeit der stationären und der Löslichkeit in der mobilen Phase. Ein Weg dorthin ist der Einsatz neuartiger mobiler Phasen wie überkritischer Gase oder ionischer Flüssigkeiten. Auch verbesserte Verfahren wie Ringspaltchromatographie oder Gegenstromverfahren können hilfreich sein.

### **Industrielle Produktion: Trennung als kostenprägender Faktor**

Monoklonale Antikörper sind rekombinante Proteine, die über ein erhebliches therapeutisches Potenzial verfügen. Ihre Aufreinigung basiert bisher auf sogenannten Plattformtechnologien. Darunter versteht man Prozessabläufe, die als solche für eine Vielzahl verschiedener Produktklassen benutzt werden können. Generell führt dieser Ansatz zu einer schnelleren Prozessentwicklung und kostengünstigeren Produktion. Monoklonale Antikörper werden großtechnisch in Zellkulturen im Maßstab von 10.000 bis 20.000 Litern produziert. Nach einer Abtrennung der festen Bestandteile (Zellen) durch Zentrifugation oder Filtration erfolgt die eigentliche Reinigung.

Die Idee von Plattformtechnologien wird jedoch ad absurdum geführt, wenn der Plattformprozess wie im Fall der monoklonalen Antikörper auf einem überproportional teuren Verfahrensschritt basiert, der zudem noch als erster Schritt in der Prozessfolge linear mit dem zu prozessierenden Volumen ansteigt. Die Reinigung beruht hauptsächlich auf einer Kombination von chromatographischen Schritten und beinhaltet in der Mehrzahl der Fälle einen Affinitätsschritt auf der Basis von Protein A als Affinitätsliganden. Der Vorteil der Methode liegt in der fast universellen Anwendung dieses Affinitätsschrittes. Neben den immensen Kosten dieser chromatographischen Festphase hat die Protein-A-Chromatographie jedoch auch konzeptionelle Nachteile. Der niedrige pH-Wert, der für eine Elution der gebundenen monoklonalen Antikörper notwendig ist, führt zu

einem teilweisen Verlust der biologischen Aktivität durch Aggregation. Letzteres kann bei der therapeutischen Applikation als Biopharmaka immunologisch bedenkliche Folgeerscheinungen nach sich ziehen. Protein A Phasen haben ferner die Eigenart „auszubluten“. Dies bedeutet, dass ein geringer Teil des gebundenen Protein A (im nano-molaren Bereich) von der Säule „schleichend“ heruntergewaschen wird und letztlich das Zielprodukt kontaminiert.

Nicht zuletzt wegen der explodierenden Kosten im Gesundheitssystem ergibt sich ein erhöhter F&E-Bedarf in der Entwicklung kostengünstiger und einfach skalierbarer Verfahren zur Herstellung und besonders zu Aufreinigung von monoklonalen Antikörpern und verwandten Produkten. Gebrauchte Plattformtechnologien zur Prozessentwicklung, die für jedes Produkt eine schnelle, automatisierte Entwicklung von Verfahren erlauben und damit den kostenintensiven Engpass der Verfahrensentwicklung beseitigen. Ein weiteres Ziel ist die Umstellung von Batch- auf kontinuierliche Prozesse.

## **Ausblick**

Um neue, maßgeschneiderte Trennverfahren zu entwickeln, müssen (Bio-)Verfahrenstechniker, (Bio-)Thermodynamiker und Chemiker interdisziplinär zusammenarbeiten. Zum einen kann ein tieferes Verständnis der Thermodynamik und der Grundlagen der Trennvorgänge dabei helfen, gezielt neue Technologien zu entwickeln. Zum anderen ist die Integration der Trennoperationen in die Verfahrensentwicklung ein wichtiger Schritt auf dem Weg zu schnelleren und kostengünstigeren Prozessen, da jede Veränderung im Verfahren auch eine Anpassung der weiteren Schritte inklusive der Trennung zur Folge hat. Bislang werden biotechnologische Verfahren iterativ entwickelt, und eine Vorausplanung des gesamten Prozesses ist in der Regel nicht möglich. Man kann aber davon ausgehen, dass das Verständnis für die Vorgänge in den einzelnen Schritten in Zukunft größer werden wird. Dann wird auch eine integrierte Prozessplanung a priori unter Berücksichtigung aller Stufen von der Fermentation über die Aufbereitung und Reinigung möglich, und optimierte Gesamtprozesse werden greifbar.

ANALYTIK NEWS ist auf der ACHEMA 2009 erstmals mit einem eigenen Stand vertreten. Besuchen Sie uns in Halle 5.1 Stand B14.

[www.achema.de](http://www.achema.de)