

Opinnäytetyö (AMK)

Bio- ja elintarviketekniikan ko.

Biotekniikka

2015

Noora Vanhanen

# DELFINIA- PUSKUREIDEN ERÄKOON KASVATUKSEN KARAKTERISOINTI



TURUN AMMATTIKORKEAKOULU  
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Noora Vanhanen

## DELFINA- PUSKUREIDEN ERÄKOON KASVATUKSEN KARAKTERISOINTI

Opinnäytetyön lähtökohtana oli valmistusmittakaavan kasvattaminen tietyillä DELFINA-puskureilla, joiden valmistustiheys on keskimääräistä suurempi ja erä koko useimmiten tuotteille määritelly eräkokomaksimi. Valmistusmittakaava nostamalla voidaan valmistaa kerralla suurempi määrä tuotetta ilman henkilötyötuntimäärän merkittävää kasvua ja vastaavasti lisätä tuottavuutta. Opinnäytetyö suoritettiin PerkinElmer Wallac Oy:n Liuosvalmistusosastolla.

Opinnäytteen tavoitteita olivat uuden valmistusastian käyttöönotto, eri puskurituotteiden tuotantovolyymien, raaka-ainekoostumusten ja varastoinnin vaatimien resurssien selvittäminen sekä kartoitus valmistusastian soveltuvuudesta puskureiden valmistukseen. Uuden valmistusastian mahdollinen vaikutus prosessiin ja sen soveltuvuus tiettyjen puskureiden tuottamiseen selvitettiin valmistamalla kaksi koe-erää sekä testaamalla ne. Olennaisena osana työtä oli valmistusmittakaavan nostoon liittyvien menettelyjen asianmukainen raportointi yrityksen käytäntöjen mukaan.

Kaikki opinnäytteeseen sisällyneet osa-alueet toteutettiin suunnitellusti loppuun asti. Ennen uuden valmistusastiatkokonaisuuden ottamista tuotannolliseen käyttöön suoritetaan vielä validointi, joka ei sisällynyt tähän opinnäytetyöhön. Kuitenkin yksi päämäärästä oli kokonaiskäsityksen muodostaminen tuotantomittakaavan kasvatukseen liittyvistä menettelytavoista, muutoksenhallinnasta ja näiden yhteydestä laatu järjestelmän mukaiseen toimintaan.

### ASIASANAT:

käyttöönotto, muutoksenhallinta, laatu järjestelmät

BACHELOR'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Programme of Biotechnology and Food Technology | Biotechnology

2015 | 63

Instructors: Taina Hovinen, M.Sc. and Paula Kondratjeff, B.Eng.

Noora Vanhanen

## CHARACTERIZATION OF DELFIA BUFFER PRODUCTION VOLUME SCALE-UP

Starting point for the thesis was production volume scale-up for certain DELFIA buffers which are manufactured more frequently and with higher batch sizes than average. By scaling up batch sizes, cost savings are achieved as larger volumes can be produced with the same personnel resources and almost within the same production time. The experimental work for the thesis was conducted at Wallac Oy's Solution Manufacturing Department.

The objectives of the thesis were to achieve qualification of the larger solution vessel, to survey the production frequencies and characteristics of different DELFIA buffers and to inspect the new production vessel's suitability for buffer solution manufacturing. Two test batches were manufactured in order to verify that production with a larger scale vessel had no effect on product quality and that the buffers still met their specifications. The due reports on all of the applied procedures were composed according to the company practices.

All parts of the thesis were carried out as planned. The final production process will be validated before taking the new, larger production vessel to use. The validation was not included in this thesis, but one significant objective was to form a conception about the procedures of change management concerning the scaling up process and their relation to quality system regulated practices.

KEYWORDS:

qualification, change management, quality systems

# SISÄLTÖ

<b>KÄYTETYT LYHENTEET</b>	<b>8</b>
<b>1 JOHDANTO</b>	<b>9</b>
<b>2 TEKNOLOGIA</b>	<b>11</b>
2.1 DELFIA®- teknologia	11
2.2 DELFIA- puskurit diagnostiikkakittien komponenttina	13
<b>3 LAADUNHALLINTA</b>	<b>14</b>
3.1 Laatujärjestelmä	14
3.2 Kvalifiointi	16
3.3 Karakterisointi	17
3.4 Prosessin validointi	18
<b>4 MITTAKAAVAN NOSTON PERIAATTEET</b>	<b>20</b>
<b>5 TYÖSSÄ KÄYTETYT MITTAUSMENETELMÄT</b>	<b>23</b>
5.1 Kierrosnopeuden mittaus	23
5.2 Refraktometria	23
5.3 Polarimetria	24
5.4 Tiheysmittaus	24
5.5 pH- mittaus	24
5.6 Johtokyvyn mittaus	25
5.7 Spektrofotometrinen määrittäminen	25
5.8 Kombinaatiotestaukset	26
<b>6 ERÄKOON KASVATUKSEN TARPEEN KARTOITUS</b>	<b>27</b>
6.1 Tuotantohistorian analysointi	27
6.2 Säästölaskelmat	28
6.3 Resurssit	29
<b>7 VALMISTUSASTIAN KÄYTTÖÖNOTTOON JA KARAKTERISOINTIIN LIITTYVÄT MENETTELYT KÄYTÄNNÖSSÄ</b>	<b>31</b>
7.1 Kvalifiointi	31

7.2	Karakterisointi	33
7.2.1	DELFI A- puskureiden ominaisuuksien kartoitus	34
7.2.2	Homogeenisuuden toteamiseen käytettävien mittausmenetelmien etsintä	36
7.2.3	Ensimmäisen karakterisointierän suunnittelu, valmistus ja testaus	37
7.2.4	Toisen karakterisointierän suunnittelu, valmistus ja testaus	40
7.2.5	Karakterisoinnin raportointi	42
<b>8</b>	<b>TULOSTEN KÄSITTELY JA PÄÄTELMÄT</b>	<b>43</b>
8.1	Kvalifiointi	43
8.2	Mittausmenetelmätestit	44
8.3	Ensimmäisen karakterisointierän tulokset	45
8.4	Toisen karakterisointierän tulokset	51
8.5	Päätelmät	56
8.6	Riskinarviointi	57
<b>9</b>	<b>YHTEENVETO</b>	<b>59</b>
<b>10</b>	<b>LÄHTEET</b>	<b>60</b>

## LIITTEET

DELFLIA- puskureiden ominaisuuksien ja tuotantohistorian kartoituksessa kootut tiedot .....	62
OQ- testauksen tulokset .....	63

## KUVAT

Kuva 1. Ihmisen tyreotropiinin kvantitatiivinen immunomääritys. (4) .....	12
Kuva 2. Muutoksenhallinta on keskeinen osa tuotteen tai prosessin elinkaarta. (12) ..	15
Kuva 3. Mittasuhteiden valmistusasteesta. (26) .....	31
Kuva 4. Lohkokaavio 1. karakterisointierän valmistusprosessista. ....	37
Kuva 5. Lohkokaavio 2. karakterisointierän valmistusprosessista. ....	40
Kuva 6. Johtokykyeron suuruus 1. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 1. valmistuspäivänä. ....	46
Kuva 7. Absorbanssieron suuruus 1. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 1. valmistuspäivänä. ....	46
Kuva 8. pH- eron suuruus 1. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 1. valmistuspäivänä. ....	47
Kuva 9. Johtokykyeron suuruus 1. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 2. valmistuspäivän ensimmäisessä sekoituksessa.....	47
Kuva 10. Absorbanssieron suuruus 1. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 2. valmistuspäivän ensimmäisessä sekoituksessa. ....	48
Kuva 11. pH-eron suuruus 1. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 2. valmistuspäivän ensimmäisessä sekoituksessa.....	48
Kuva 12. Absorbanssieron suuruus 1. karakterisointierän värin sekoituksen aikana. ...	48
Kuva 13. Pinta- ja pohjanäytteiden johtokykyarvojen muutos 1. karakterisointierän seisotuksen aikana. ....	49
Kuva 14. Pinta- ja pohjanäytteiden pH-arvojen muutos 1. karakterisointierän seisotuksen aikana. ....	50
Kuva 15. Pinta- ja pohjanäytteiden absorbanssin (530 nm) muutos 1. karakterisointierän seisotuksen aikana. ....	50
Kuva 16. Pinta- ja pohjanäytteiden absorbanssin (279 nm) muutos 1. karakterisointierän seisotuksen aikana. ....	51
Kuva 17. Johtokykyeron suuruus 2. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 1. valmistuspäivän sekoituksissa. ....	52
Kuva 18. Absorbanssieron suuruus 2. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 1. valmistuspäivän sekoituksissa. ....	52
Kuva 19. pH- eron suuruus 2. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 1. valmistuspäivänä .....	52
Kuva 20. Johtokykyeron suuruus 2. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 2. valmistuspäivän mittauspisteissä. ....	53
Kuva 21. Absorbanssieron (279 nm) suuruus 2. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 2. valmistuspäivän mittauspisteissä. ....	53

Kuva 22. Absorbanssieron (530 nm) suuruus 2. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 2. valmistuspäivän mittauspisteissä. ....	53
Kuva 23. pH- eron suuruus 2. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 2. valmistuspäivän mittauspisteissä. ....	53
Kuva 24. Pinnan ja pohjan johtokykyarvojen keskinäinen korrelointi 2. karakterisointierän seisotuksen aikana. ....	54
Kuva 25. Pinnan ja pohjan absorbanssiarvojen (530 nm) keskinäinen korrelointi 2. karakterisointierän seisotuksen aikana. ....	54
Kuva 26. Pinnan ja pohjan absorbanssiarvojen (279 nm) keskinäinen korrelointi 2. karakterisointierän seisotuksen aikana. ....	55
Kuva 27. Pinnan ja pohjan pH- arvojen keskinäinen korrelointi 2. karakterisointierän seisotuksen aikana. ....	55
Kuva 28. Karakterisoinnin tulosten pohjalta soveltuvaksi todetun valmistusprosessin lohkokaavio.....	57

## TAULUKOT

Taulukko 1. Eräiden tuotantovolyymien ääripäitä edustavien puskurituotteiden tuotantohistoria aikavälillä 01/2013 – 10/2014. ....	27
Taulukko 2. Eräkoon kasvatuksella saavutettava kustannussäästö eräillä puskurituotteilla, kun tuotantovolyymien oletetaan pysyvän samana ja valmistettujen erien olevan maksimieräkoko 1600 L. ....	29
Taulukko 3. Vaihtoehdot pullotetun tuotteen maksimierän varastoinnille nykyisellä ja tulevalla maksimieräkoolla. ....	30
Taulukko 4. Eräiden DELFIA- puskuroiden ominaisuuksien kartoituksessa käytetyt raaka-ainetiedot. Ilmoitetut pitoisuudet koskevat yhtä litraa puskuria. ....	35
Taulukko 5. Ensimmäiselle karakterisointierälle suunnitellut testaukset. Taulukossa kuvattujen mittausten lisäksi koko prosessin ajan suoritettiin visuaalista havainnointia. ....	38
Taulukko 6. Toiselle karakterisointierälle suunnitellut testaukset. Mittausten lisäksi suoritettiin visuaalista havainnointia koko prosessin ajan. ....	41
Taulukko 7. Poiminta OQ- testauksen tuloksista Liitteestä 2. ....	43
Taulukko 8. Eri valmistustilavuuksille (Täyttö, L) optimoidut sekoitusnopeuden arvot rpm- lukuina sekä sekoittajan säätimen asetusarvoina. ....	44
Taulukko 9. Pinnan ja pohjan erotukselle määritellyt maksimiarvot eri mittausmenetelmillä. ....	45
Taulukko 10. Puskuroiden eräkoon kasvatuksen Process Failure Mode and Effect Analysis eli pFMEA. ....	58
Taulukko 11. DELFIA- puskuroiden raaka-ainepitoisuuksia ja tuotantohistoriaa. ....	62
Taulukko 12. Kvalifioinnin OQ- testauksessa tehdyt rpm- mittaukset sekä visuaaliset havainnot. ....	63

## KÄYTETYT LYHENTEET

Lyhenne	Lyhenteen selitys
FDA	Food And Drug Administration, Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkevirasto
EU GMP	Good Manufacturing Practice, hyvät tuotantotavat (Euroopan Unionin asettama GMP- ohjeisto)
pFMEA	Process Failure Mode Effects Analysis, prosessin riskien analysoinnin työkalu
IQ	Installation Qualification, asennuksen kvalifointi
OQ	Operational Qualification, toiminnan kvalifointi
PQ	Performance Qualification, suorituskyvyn kvalifointi
PPQ	Process Performance Qualification, suorituskyvyn kvalifointi
VST	Validation Steering Team, Validoinnin ohjausryhmä



# 1 JOHDANTO

Raskaudenaikaista sekä vastasyntyneiden lapsien seulontaa suoritetaan kokoajan enenevässä määrin eri maissa. Vastaavasti myös oireiden aiheuttajan nopea löytäminen diagnostisin keinoin on helpottunut automatisoitujen määrittäslaitteistojen ansiosta, joten entistä useampi sairas lapsi saa hoitoa jo mahdollisimman aikaisessa vaiheessa. PerkinElmer Wallac Oy:n päätavoitteena on tarjota diagnostisia, farmaseuttisia ja analyttisiä instrumentti- ja sovellusratkaisuja ihmisten terveyden ja elinympäristön turvallisuuden edistämiseksi. Yritys toimittaa tuotteita useisiin maihin ympäri maailmaa. Suurimpia asiakkaita ovat USA, Kiina sekä Brasilia. (1)

DELFLA®- teknologian tuotteet eli seulonta- ja diagnostiikkamääritykset muodostavat suuren osan Wallac Oy:n tuotannosta. Kasvavan kysynnän myötä myös yksittäisten tuotanto-osastojen tuottavuudelta vaaditaan enemmän. Osalla Wallac Oy:n Liuosvalmistusosastolla valmistettavista DELFLA- puskureista menekki on kasvanut niin paljon, että valmistusmittakaavan nostaminen on tullut aiheelliseksi.

Opinnäytetyön tavoitteena oli uuden 1600 litran valmistusastian käyttöönotto DELFLA- puskureiden valmistukseen sekä valmistusprosessin ja puskureiden karakterisointi. Uuden valmistusastian käyttöönoton tavoitteena oli tarkastaa astian tekniset ominaisuudet ja toimivuus. Karakterisoinnin tavoitteita olivat puskureiden koostumuksen sekä tuotantohistorian kartoitus. Tuotantohistoriaan pohjautuen laskettiin myös eräkoon kasvatuksella saavutettava kustannussäästö. Koostumusten kartoituksen pohjalta etsittiin eniten riskialttiita ominaisuuksia sisältävät puskurit ja valittiin ne karakterisointierissä valmistettaviksi. Karakterisointieriä testaamalla selvitettiin pystytäänkö uudella valmistusastialla tuottamaan spesifikaatioita vastaavaa puskuria ja säilyykö puskurit tasalaatuisena valmistusastiassa riittävän pitkään. Testausta varten etsittiin myös puskurituotteille soveltuvia mittausmenetelmiä.

Teoriaosuudessa pääpaino oli eräkoon kasvatukseen liittyvillä muutoksenhallinnan toimintamalleilla, joita olivat kvalifiointi, karakterisointi sekä prosessin validointi. Teoriaosuudessa käsiteltiin myös uuden tuotantolaitteen suunnittelun periaatteita yleisellä tasolla ja pohdittiin tuotantomittakaavan kasvatuksen tuomia haasteita.

## 2 TEKNOLOGIA

Wallac Oy kehittää ja valmistaa terveydenhuollon ratkaisuja erilaisiin tarpeisiin. Yrityksen tuotteilla voidaan suorittaa ennakoivaa seulontaa tai diagnosoida jo havaittujen oireiden syytä. Tulevan käyttötarkoituksen ja – volyymin mukaan valitaan soveltuvien laiteratkaisu jokaiselle asiakkaalle ja toimitetaan reagenssit, laitteet sekä käyttöjärjestelmät yhtenä kokonaisuutena. (2)

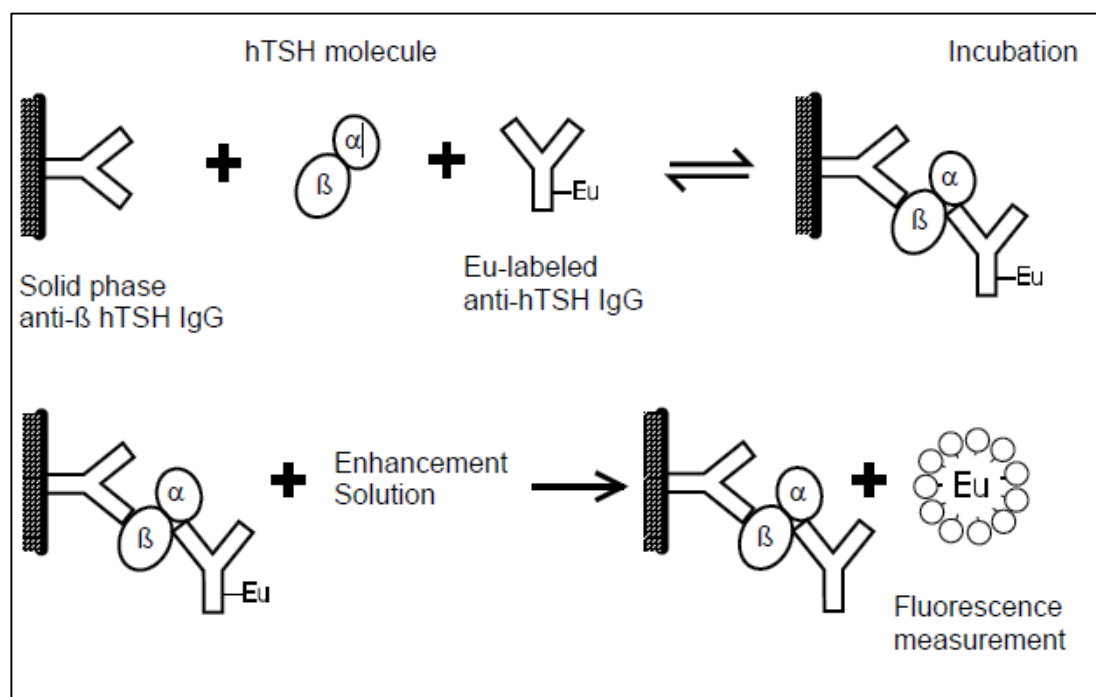
Jo raskausaikana voidaan saada paljon tietoa kehittyvän sikiön sekä odottavan äidin terveydestä. Raskauden ensimmäisellä ja toisella kolmanneksella käytettävillä Prenatal Screening- tuotteilla voidaan seuloa mm. raskausmyrkytyksen riskiä, Downin syndroomaa sekä Edwardsin syndroomaa. Suurin osa yrityksen tuotoista koostuu vastasyntyneiden seulontaan kehitettyjen Neonatal Screening- tuotteiden myynnistä. Näillä tuotteilla seulotaan mm. geneettisen poikkeaman aiheuttamaa biotinidaasin puutosta, synnynnäistä lisämunuaiskuoren hyperplasiaa, kilpirauhasen vajaatoimintaa, galaktosemiaa sekä fenyyliketonuriaa. (1)

Wallac Oy kehittää ja valmistaa myös solu- ja molekyylitason tutkimuslaboratorioiden käyttöön suunnattuja ratkaisuja. Näiden teknologioiden tuotteilla voidaan tutkia syöpäsairauksia, hormonaalisia toimintahäiriöitä tai esimerkiksi lapsettomuuden syitä. (2)

### 2.1 DELFIA®- teknologia

Tässä opinnäytetyössä toteutettu karakterisointi koski puskurituotteita, jotka ovat osa DELFIA®- teknologiaa. Nimitys tulee englannin kielen sanoista dissociation-enhanced lanthanide fluorescence immunoassay. Teknologia perustuu biomolekyylin sitoutuvan lantanidi-kelaattileiman fluoresenssin vahvistamiseen ja edelleen tämän vahvistetun signaalin detektoimiseen. Biomolekyyli, johon leima-aine sitoutuu, voi olla kuoppalevyn pintaan immobilisoitu vasta-aine tai siihen kiinnittyvä antigeeni, riippuen määrittelyn luonteesta. Kuvassa 1. nähdään esimerkki DELFIA- teknologialla suoritettavasta vasta-ainemäärittäyksestä,

jossa kuoppalevyn pohjaan sitoutettuun vasta-aineeseen kiinnittyy antigeeni ja tähän edelleen toinen vasta-aine. Sitoutumattomat komponentit poistetaan useiden pesuvaiheiden aikana. DELFIA Inducer ja DELFIA Enhancement- liuokset aikaansaavat kiinnittyneiden leimojen irtoamisen puskuriliuokseen ja niiden kelatoitumisen liuoksessa olevien energianluovuttajamolekyylin kanssa, jolloin niiden ympärille muodostuu misellirakenne. Lantanidin kanssa kelatoitunut molekyyli ottaa vastaan mittalaitteelta tulevan viritysväli eli eksitaatioenergian ja virityksen purkautuessa taas luovuttaa sen emissioenergian eli fluoresenssina, jonka mittalaite detektoi. (3)



Kuva 1. Ihmisen tyreotropiinin kvantitatiivinen immunomääritys. (4)

Käytettäviä leima-aineita ovat Europium (Eu) ja Samarium (Sm). Teknologiassa käytettävien lantanidikelaattileimojen etu tavallisiin fluoroforeihin nähden on niiden pitkä fluoresoimis aika ja laaja Stokesin siirtymä eli eksitaatio- ja emissioaallonpituuksien välinen erotus. (3)

DELFIA®- teknologian laitteistot ovat automatisoituja, diagnostisiin määrittäisiin tarkoitettuja laitekokonaisuuksia. Samaa teknologiaa on hyödynnetty useammassa Wallac Oy:n laitteessa, joita ovat AutoDELFLIA, DELFLIA Xpress sekä

Genetic Screening Processor eli GSP. Laitteeseen syötetään kaikki näytteiden laimentamiseen ja pipetointiin tarvittavat reagenssit ja välineet, vasta-aineeseen tarttuva leima-aine sekä vasta-aineella tai antivasta-aineella päällistetty kuoppalevy. Ennen kuin kuoppalevyt voidaan ladata laitteeseen, kuoppiin lävistetään näytelävistäjällä veritäpläarkeilta- tai kaseteilta standardeja, kontrolleja sekä tasokalibraattoreita. Lävistetty näytetäplä on standardikokoinen pala näytearkille- tai kasetille imeytetystä veritäplästä. Laite pipetoi kuoppiin puskurin sekä muut tarvittavat liuokset ja mittaa kuoppalevyiltä signaalin. (3)

## 2.2 DELFIA- puskurit diagnostiikkakittien komponenttina

Puskurit ovat liuoksia, joilla on kyky vastustaa hydroksidi- tai oksoniumionitasapainon vaihtelua liuoksen laimentuessa tai väkevöityessä. Muiden liuosten tai reagenssien lisääminen puskuriliuokseen ei siis aiheuta merkittävää muutosta sen pH-arvossa. Puskuriliuoksilla on suuri merkitys biologisissa systeemeissä. (5)

DELFIA- puskurin tehtävä immunomäärityksen osatekijänä on luoda ja ylläpitää optimaaliset olosuhteet kuoppalevyllä tapahtuvalle reaktiolle. Yksi DELFIA-puskureiden pääraaka-aineista on yleensä tris-hydroksimetyyli-aminometaani. Puhdistettu naudan seerumin albumiini tai muu vastaava toimii mm. blokkerina epäspesifistä sitoutumista vastaan. Detergentit helpottavat näytteiden liukenevista ja toimivat myös epäspesifisen sitoutumisen ehkäisyssä. Kelatoivat reagenssit pieninä pitoisuuksina auttavat ylläpitämään puskurin aiheuttaman signaalitaustan matalana. (3)

## 3 LAADUNHALLINTA

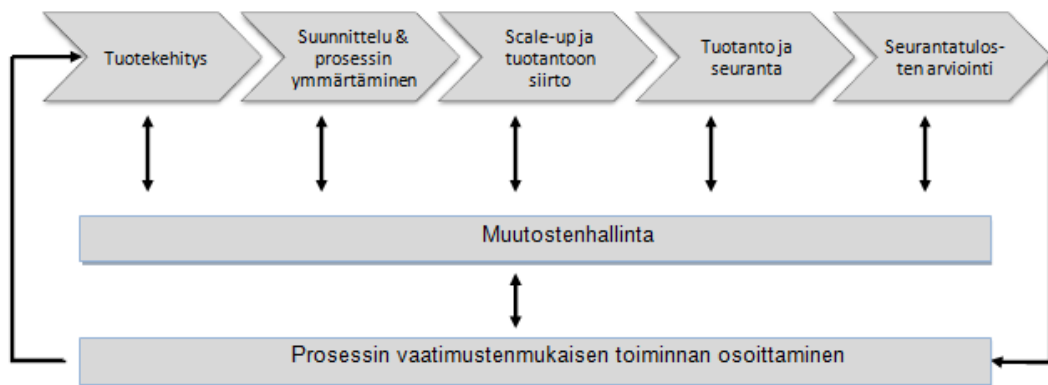
### 3.1 Laatujärjestelmä

Keskeinen osa tuotantoa harjoittavien yritysten laadunhallintaa on laatukäsikirja, jossa kuvataan laadun saavuttamiseksi vaaditun toiminnan rakenne eli laadunhallintajärjestelmä, siihen kuuluvien prosessien menettelytapaohjeet sekä niiden väliset yhteydet. Noudattamalla standardien pohjalta määritellyjä toimintatapoja ylläpidetään sellaista toimintaa, jolla sekä asiakkaan, että standardin asettamat vaatimukset täyttyvät. Vaatimusten täyttymistä todennetaan usein sekä ulkoisilla että sisäisillä tarkastuskäynneillä eli auditoinneilla. Kansainvälisillä markkinoilla toimivien yritysten haasteena on yhdistää yhdeksi laatukäsikirjaksi kaikki ne säädökset, joita yrityksen kohdemaissa sovelletaan. (6)

Wallac Oy noudattaa toiminnassaan ISO13485:2003- laatustandardia, yhdysvaltalaisen Food and Drug Administrationin (myöhemmin FDA) säädöksiä, IVD 98/79/EY- direktiiviä, ISO 9001:2008- standardia ja ISO 13485- laadunhallintajärjestelmästandardin kansainvälisiä, sekä Canadian Medical Devices Conformity Assessment System (CMDCAS)- ohjelman alaisia säädöksiä (7). ISO 13485:2003- standardi pohjautuu ISO 9001- standardiin ja on tarkoitettu lääkinällisten laitteiden tai palveluiden valmistajien ja tarjoajien käyttöön (8). CMDCAS on Kanadan oma versio ISO 13485- standardista. Euroopan parlamentin ja neuvoston direktiivi 98/79/EY kuvaa erityisesti in vitro- diagnostiikan laitteille asetettavat vaatimukset, joiden täytyessä laite voidaan varustaa CE-merkinnällä (9). FDA valvoo monien muiden tuontituotteiden ohella myös kaikkia USA:han tuotavia lääkinnällisiä laitteita, joten se asettaa vaatimuksia myös Wallac Oy:n toiminnalle (10). Euroopan Unionin sisällä sovellettava EU GMP eli Good Manufacturing Practice sisältää paljon samoja ohjeistuksia edellämainittujen standardien kanssa ja sen ilmoittamat ohjelinjat ovat keskeisiä Wallac Oy:n toiminnalle.

Laadunhallintajärjestelmä sisältää mm. kuvaukset muutosten, riskien sekä dokumenttien ja tallenteiden hallinnasta. Se on kaikkien menettelytapohjeiden pääohje, johon toiminta- ja työohjeet pohjautuvat. (7)

Muutoksenhallinnan tavoitteena on varmistua tuotannon oikeanlaisen ja tehokkaan toiminnan ylläpidosta. Kuvassa 2. on esitettyä muutoksenhallinnan kytkös tuotteen tai prosessin elinkaaren eri vaiheisiin. Muutoksenhallinta on keskeinen osa tuotannollista toimintaa, sillä laadun ylläpitämiseksi niin menettelytapojen kuin tuotantoon käytettävien laitteidenkin on pysyttävä ajantasaisina. Tarpeen muutosprosessille voi aiheuttaa esimerkiksi laatupoikkeama, auditoinista saatu huomautus, uusi raaka-ainetoimittaja tai muutos valmistusprosessissa. Toimintamalli on sama myös täysin uusien prosessien käyttöönoton kanssa. (11)



Kuva 2. Muutoksenhallinta on keskeinen osa tuotteen tai prosessin elinkaarta. (12)

Riskien hallinnalla pyritään ennakoimaan ja arvioimaan laitteiden, raaka-aineiden ja yksittäisten prosessien sisältämiä riskejä ja niiden vaikutusta tuotteeseen tai koko tuotannon toimintaan. Riskien tunnistamiseen ja niiden vaikutuksen merkittävyyden arvioimiseen on olemassa työkaluja, joissa kaikkien riskitekijöiden summa on kohteeseen kohdistuva jäännösriski. Yksittäisen riskitekijän muodostaman riskin suuruus riippuu vaikutusten vakavuudesta sekä esiintymistodennäköisyydestä. Tällaisia työkaluja ovat mm. Process Failure Mode Effects Analysis (FMEA) sekä Fault Tree Analysis (FTA). (13)

Seuraavissa kappaleissa on kuvattu tähän työhön liittyvien muutostenhallinnan menettelytapojen keskeinen sisältö niin yleisellä tasolla, kuin Wallac Oy:n oman laatupolitiikan kannalta.

### 3.2 Kvalifiointi

Kvalifiointi on aina tuote- tai laitekohtaista ja usein osana validointia. Yleisesti kvalifiointi määritellään sellaiseksi toiminnaksi, jolla osoitetaan tietyn laitteen toimivan toistettavasti sille asetettujen vaatimusten mukaan. Eri direktiiveillä ja ohjeistuksilla on hieman erilainen määrittely ja termistö kvalifioinnin suhteen.

EU GMP:n ohjeistuksessa kvalifiointi nähdään validoinnista erillisenä toimintana, johon voi kuulua sen kohteesta ja muutoksen tarpeesta riippuen erilaisia osioita. Design Qualification (DQ) eli suunnittelun kvalifiointi on uusien välineiden, laitteistojen tai kokonaisten tuotantolaitosten perustamisen ensimmäinen askel. Tätä seuraa yleensä Installation Qualification (IQ) eli asennuksen kvalifiointi, jota toteutetaan myös jo käytössä olleelle kohteelle suoritettujen muutosten jälkeen. IQ sisältää kaikkien kohteen osien ja oheislaitteiden asennuksen tarkistuksen sekä käyttöohjeiden ja kalibrointitoiminnan määrittelyyn. Operational Qualification (OQ) eli toiminnan kvalifiointi toteutetaan aina IQ:n jälkeen ja sen tavoitteena on kohteen toiminta-alueen määrittely, joka toteutetaan kohteelle soveltuviksi määriteltujen testien kautta. Edellä mainittuja toimintoja voi seurata Performance Qualification (PQ) eli suorituskyvyn kvalifiointi, jossa toteutettavissa testeissä luodaan yleensä jo kohteen loppukäyttöä vastaava ympäristö ja osoitetaan toistettava, halutunlainen toiminta tietyllä toiminta-alueella. (14)

FDA:n säädöksissä kvalifiointia ei nähdä niinkään erillisenä toimintana vaan validoinnin sisällä toteutettavana osana. GMP:n neljän kvalifioinnin osakokonaisuuden sijaan FDA erottaa kvalifioinnista alaosioiksi kohteen ja siihen liittyvän toiminnan suunnittelun sekä näiden vaatimustenmukaisen toiminnan osoituksen, josta käytetään termiä Process Performance Qualification (PPQ). (15)

Wallac Oy:n Kvalifiointimenettely- ohjeistuksessa kvalifiointi määritellään dokumentaatioksi teknisen järjestelmän oikeaoppisesta asennuksesta sekä sen toi-



minnan oikeellisuudesta. Kvalifioinnin laajuus riippuu kohteena olevan teknisen järjestelmän ominaisuuksista, joiden perusteella se kuuluu kvalifiointiluokkaan A, B tai C. Luokan A kvalifiointi voi olla esimerkiksi kokonainen prosessilinja, luokan B kvalifiointi suoritetaan yleensä esim. analyysilaitteille ja luokan C kvalifiointi jollekin toiminnaltaan yksinkertaiselle laitteelle tai välineelle. Kvalifiointimenettely- ohjeesta ilmenee kohteen kvalifiointiluokan määrittely sekä ohjeet kvalifioinnin suorittamiseen. (16) Tässä työssä suoritettu valmistusastian kvalifiointi kuului kvalifiointiluokkaan C. Siihen sisältyi IQ- ja OQ- osuudet, sillä varsinainen suorituskäynnin osoitus toteutettiin karakterisoinnin yhteydessä.

### 3.3 Karakterisointi

Karakterisointi- termiä käytetään yleensä sellaisesta toiminnasta, jota toteutetaan entuudestaan huonosti tunnetun kohteen ominaisuuksien ja toiminnan selvittämiseksi. FDA:n säädöksissä siihen viitataan lyhyesti PPQ:iin sisältyvänä toimintana (15). EU GMP:n ohjeistuksissa termiä käytetään tietyn tuotteen ominaisuuksien selvittämisestä, mutta sitä ei mainita validointi- ja kvalifiointiohjeistuksissa.

Wallac Oy:n määrittely karakterisointi- termille pohjautuu englannin kielen sanan characterisation, joka merkitsee ominaisuuksien selvittämistä tai jonkin kohteen luonnehdintaa. Se voi kuvastaa myös tuotekehitysvaiheessa toteutettavaa selvitystä optimaalisista raaka-ainemääristä. Validoitavalle laitteelle tai prosessille voidaan suorittaa ensin karakterisointi, jotta voidaan tunnistaa kohteen toiminnan ominaispiirteet sekä kriittiset pisteet ja määrittää esimerkiksi validoinnissa käytettävät kontrolloitavat parametrit. (17)

Tämän opinnäytetyön tapauksessa karakterisointi on välttämätöntä, kun prosessin toimivuus suuremman mittakaavan valmistusastiassa optimoidaan. Kuten monissa muissakin prosessityypeissä, biologista materiaalia sisältävien tuotantoprosessien tuotantomittakaavan kasvatuksessa ei voida suoraan siirtää pienemmän mittakaavan prosessiparametrejä isompaan mittakaavaan ja olettaa lopputuotteen olevan täysin samanlaista. Siksi prosessia tarkastellaan ja tutki-

taan uuden tuotantomittakaavan väline- ja laitekoonpanolla ennen uuden eräkoon vakiinnuttamista käyttöön. Tästä johtuen karakterisoinnista saataville mittaustuloksille tai havainnoille ei välttämättä aseteta etukäteen kriteerejä, jotka niiden tulisi täyttää. Saadut tulokset dokumentoidaan ja raportoidaan, mutta erillistä suunnitelmaa ennen karakterisoinnin aloitusta ei ole välttämätöntä laatia. Kohteen validointi aloitetaan karakterisointiraportin hyväksymisen jälkeen. Hyväksyminen tapahtuu Validoinnin ohjausryhmässä (myöhemmin viitattu lyhenteellä VST). (17)

Tässä työssä karakterisointi oli melko laaja ja siihen sisältyi useampi tehtäväkonaisuus. Karakterisoinnille ei tehty varsinaista hyväksyttävää suunnitelmaa, vaan raportoitiin ainoastaan suoritus ja tulokset.

### 3.4 Prosessin validointi

Validoinnilla viitataan kokonaisten prosessien oikeellisen toiminnan osoittamiseen tietyllä toiminta-alueella ennalta määriteltyjen vaatimusten mukaan. EU GMP erottaa validoinnista tyypit ennakoiva, samanaikainen sekä takautuva. Ennakoiva validointi on suositeltavaa, mutta olosuhteiden niin vaatiessa validointi voidaan suorittaa normaalin tuotannon aikana tai takautuvasti jopa jo tuotettujen tuote-erien kautta. Verifiointi- sanaa käytetään yleisesti jonkin kohteen toiminnan oikeellisuuden osoittamiseksi tehdyistä käytännön toimista, eikä se kuvaa mitään erillistä muutostenhallinnan toimintakeinoa. (14)

FDA:n säädöksissä validointi käsittää myös suunnittelun kvalifioinnin sekä PPQ:n. Myös edellisessä kappaleessa mainitut validoinnin eri tyypit tunnustetaan. (15)

Wallac Oy:n validointipolitiikassa määrittely validoinnille on EU GMP:n ja FDA:n ohjeistuksiin rinnastettuna samanlainen. Testimenetelmien, valmistus- ja puhdistusprosessien sekä tietokonejärjestelmien ja – ohjelmistojen asianmukainen ja toistettava toiminta todennetaan validoinnilla. Validointi on osoitus siitä, että kohde toimii sille etukäteen asetettujen vaatimusten mukaisesti. Vastaavuusverifiointi- termiä käytetään, kun toimintoa kohtaan suoritetaan tarkastus peilaten

aiemmin normaaleiksi määriteltyihin rajoihin ja hyväksymiskriteereihin. Validointi suoritetaan esimerkiksi tapauksissa, joissa toiminnolle ei ole voitu määrittää tiettyjä tarkastusrajoja joihin saatuja testaustuloksia peilattaisiin. Tällaisia tilanteita ovat esimerkiksi uuden prosessin käyttöönotto tai uuden tuotteen valmistuksen aloitus, jolloin ei vielä tiedetä toiminnon kykyä tuottaa haluttu lopputulos. Wallac Oy:ssä validointeihin sovelletaan Validointipolitiikka ja -menettelyt toimintaohjetta, jonka ajantasaisuudesta vastaa laatujohtaja ja ohjeen asianmukaisesta soveltamisesta validointiasiantuntijat. (17)

Validoinnin tyypeistä suositeltavin on ennakoiva validointi. Tarve validoinnille voi syntyä muutoksista tai kehitystoiminnasta kohdistuen johonkin prosessin osaan, uuden tuotteen tai prosessin kehittämisestä tai laadun seurannassa havaituista puutteista tai muutoksista. Tässä työssä suoritettavan karakterisoinnin tulosten ja niiden perusteella tehtyjen johtopäätösten pohjalta on tarkoitus suorittaa myöhemmin ennakoiva validointi. Validointi sisältää aina sekä suunnitelman että raportoinnin, jotka molemmat tulee erikseen hyväksyttävä VST:llä. (17)

## 4 MITTAKAAVAN NOSTON PERIAATTEET

Scale-up eli mittakaavan nosto tulee ajankohtaiseksi, kun prosessin tuottokapasiteetti ei riitä täyttämään lopputuotteen tarvetta. Scale-up - termiä käytetään myös sellaisissa tapauksissa, joissa prosessia on aiemmin tarkasteltu vain laboriomittakaavassa ja tästä siirrytään edelleen pilottimittakaavaan sekä tuotannolliseen mittakaavaan. Pääperiaatteet ovat molemmissa tilanteissa samat ja tavoitteena on aina optimaalisten prosessiparametrien löytäminen, jotta suuremmalla mittakaavalla tuotettu lopputuote vastaisi pienemmällä mittakaavalla tuotettua. Erityisesti biologista materiaalia sisältäville prosesseille ei voida toteuttaa mittakaavan nostoa vain siirtämällä esim. kymmenkertainen määrä raaka-aineita kymmenkertaisesti suurempaan valmistusastiaan ja käyttää samoja prosessiparametreja kuin pienemmässäkin mittakaavassa, olettaen että lopputuote olisi edelleen samanlaista. Joissain tapauksissa myös esim. apulaitteiden teho ja kapasiteetti estää näin suoraviivaisen etenemisen suurempaan tuotantomittakaavaan.

Edellytyksenä saman prosessin toimivuudelle sekä pienemmässä että suuremmassa mittakaavassa on fysikaalinen samankaltaisuus. Fysikaalista samankaltaisuutta voidaan tarkastella geometrian, kinemaattisten tai dynaamisten ominaisuuksien, lämpötilaerojen tai kemiallisten aineiden pitoisuuksien erojen kannalta. Mittakaava noston kohteena olevan prosessin ominaisuudet määräävät ne suureet, jotka halutaan pitää fysikaalisen samankaltaisuuden perustana skaalattaessa tuotantoprosessia suurempaan mittakaavaan. (18) Bio- ja kemianteekniikan valmistusastioissa ja -reaktoreissa, kuten sekoitus- ja virtausreaktoreissa, sovellettaneen usein geometriseen tai dynaamiseen samankaltaisuuteen perustuvaa mittakaavan nostoa.

Dynaamisesti samankaltaisilla valmistusastioilla tuotteeseen kohdistuvat voimat tietyssä tarkastelupisteessä ovat keskenään samassa suhteessa sekä pienemmässä että suuremmassa mittakaavassa. Tällaisia voimia ovat mm. sekoituslaipojen aiheuttamat leikkausvoimat, paine, nesteen liikkeestä aiheutuva kitka sekä viskoosisuudesta aiheutuva kitka. Tuotteen ja sen kanssa kosketuksissa ole-

vien pintojen välistä kitkaa tarkastellaan erityisesti virtausreaktorien tapauksessa. Vastaavasti geometrinen samankaltaisuus edellyttää kaikkien lineaaristen dimensioiden keskinäisen suhteen pysyvän samana. (18) Näitä dimensioita ovat sekoituslapojen leveys ja niiden muodostama sekoittimen halkaisija, lapoljen etäisyys valmistusastian pohjasta, koko astian halkaisija, virtausesteiden koko sekä vakiona pysyvän eräkoon tapauksessa pinnan korkeus valmistusastiassa. (19) Suurempaa valmistusastiaa suunniteltaessa tulee tarkastella kohdetta koskevia virtausmekaniikan dimensiottomia suureita ja niiden välisistä yhteyksistä saatavaa informaatiota tuotteen käyttäytymisestä uudessa valmistusastiassa. Tällaisia suureita ovat Newtonin luku, Reynoldsin luku sekä Frouden luku. (18)

Reaktiokinetiikka ja ainetaseet voivat vaihdella reaktioympäristön muuttuessa, vaikka lähtöaineet olisivat samat. Tietyn lähtöaineen konsentraatioerot valmistusastian, tai tässä yhteydessä reaktorin, eri osissa vaikuttavat oleellisesti reaktionopeuteen. Reaktion nopeus vaikuttaa tuotteen muodostumisnopeuden kautta ainetaseeseen. Lisäksi tulee huomioida energiataseet, jos reaktorin lämpötilaa ei säädetä vakioksi. (20)

Tuotantomittakaavan nosto toteutetaan yleensä vaiheittain. Huolellinen esiselvitys raaka-aineiden käyttäytymisestä ja niiden käsittelyssä suositeltavista lämpötiloista sekä paineista voidaan toteuttaa kirjallisuuslähteiden avulla. Laboratoriomittakaavan kokeiden perusteella selvitetään reaktionopeus ja määritetään reaktionopeusyhtälö. Ennen siirtymistä lopulliseen tuotantomittakaavaan toteutetaan yleensä välivaiheena pilot- mittakaavan pystytys. Valmistuslaitteiston simulointi erilaisilla tietotekniikan työkaluilla on suuressa merkityksessä mittakaavan noston eri vaiheissa. Suurtenkin tuotantomäärien prosessi voidaan koostaa myös pienempien prosessilaitteiden rinnan- tai sarjankytkennällä, joka on usein käytetty menettelytapa erityisesti mikroskaalan tuotantolaitteilla. Tällöin itse tuotantolaitteen skaalausta suurempaan mittakaavaan ei toteuteta. (20)

Tässä opinnäytetyössä oli kyse volyymitään vaihtelevan, panostyyppisen tuotantoprosessin eräkoon kasvatuksesta, jossa lähtömittakaava oli jo verrattain iso eli tavoitteena ei ollut laboratoriomittakaavan tuottoprosessin muutos merkit-

tävästi suuremmaksi. Mittakaavan muutos oli aiemmin validoidun mittakaavan maksimieräkoon ja tulevan mittakaavan maksimieräkoon välillä noin 2,4- kertainen. Uusi valmistusastia oli jo aiemmin yritykseen tilattu, joten sen suunnittelu ja geometrian optimointi ei sisällynyt tähän työhön. Lopputuote on aina tietynlainen, koostumukseltaan tunnettu puskuriliuos joka ei ole kemiallisen synteessin tuotos. Tässä tapauksessa mittakaavan nostossa ei tarvitse siis huomioida esim. stoikiometrian tai lämmönsiirron optimoinnin tuomia haasteita. Seuraavissa kappaleissa tarkastellaan yleisellä tasolla tärkeimpiä huomioonotettavia seikkoja sekä mahdollisia riskejä, joita tuotantomittakaavan nosto voi sisältää.

## 5 TYÖSSÄ KÄYTETYT MITTAUSMENETELMÄT

Karakterisoinnissa valmistettavien puskurierien testaamiseen haluttiin löytää useampi mittausmenetelmä normaaliin laadunvalvontaan kuuluvan pH- mittauksen lisäksi. Puskureiden raaka-ainekoostumuksen perusteella valittiin testattavaksi muutamia mittausmenetelmiä, jotka saattaisivat soveltua karakterisointierien pinta- ja pohjanäytteiden erojen mittaamiseen. Mittausmenetelmien antamaa vastetta sekä herkkyyttä testattiin aiemmin tuotetuilla puskurierillä sekä niistä valmistetuilla laimennoksilla.

### 5.1 Kierrosnopeuden mittaus

Kvalifioinnissa sekoituslavan moottorin asetusarvoja vastaavat kierrosnopeudet mitattiin optisella kierrosnopeusmittauksella. Käytetty Testo 470- mittari toimii myös mekaanisessa kontaktimittauksessa, mutta kontaktimenetelmä ei ollut tässä tapauksessa soveltuva valmistusastian suuren koon takia. Mittarissa on LED- kohdistin, joka suunnataan 90° kulmassa heijastinteipillä merkittävään mitauskohteeseen eli tässä tapauksessa sekoituslavan varteen. Mittari laskee sen vastaanottamat heijastussykäykset ja muuntaa luvun rpm- tai rps- arvoksi. Tarvittaessa laite ilmoittaa myös kierrosnopeuden minimin ja maksimin mittausta-  
pahtuman ajalta. Optisen mittauksen tarkkuus on  $\pm 0,02$  % ja resoluutio 0,1-1 rpm kun mittausalue on 1-999 rpm. (21)

### 5.2 Refraktometria

Valo kulkee eri tavalla eri aineissa, niiden ominaisuuksista riippuen. Refraktometria perustuu valon nopeuden muutokseen ja tästä syntyvän taittumiskulman mittaamiseen kahden eri aineen rajapinnassa. Refraktometrissä pisara neste-  
mäistä näytettä asetetaan taitekertoimeltaan tunnetun prisman päälle. Laitteen tuottama valonsäde, jolla on tietty aallonpituus, kohdistetaan näytteen sekä

prisman läpi ja mitataan tapahtunut valon taittuminen detektorilla. Laite laskee taitekulman perusteella näyteaineen taitekertoimen  $n$ . (22)

Taitekertoimeen vaikuttaa näytteen sisältämien komponenttien määrä. Refraktometriä voidaan hyödyntää tietyn komponentin konsentraation määrittämisessä, epäpuhtauksien etsinnässä sekä joissain tapauksissa tietyn komponentin kvalitatiivisessa määrittämisessä. Ennen käyttöä refraktometri kalibroidaan vedellä, jonka taitekerroin eri lämpötiloissa on tunnettu. (22)

### 5.3 Polarimetria

Kun aine sisältää epäsymmetrisiä orgaanisia molekyyliä eli hiiliatomeja joihin kiinnittyneet ryhmät eivät ole samanlaisia, on aine optisesti aktiivinen. Optisesti aktiivinen aine taittaa siihen kohdistettua valonsädettä joko vasemmalle tai oikealle. Tällaisten molekyylien määrä nesteessä voidaan mitata polarimetrillä. Polarimetrissä näyte asetetaan tietyn mittaiseen näyteputkeen, joten laitteen valolähteeltä tulevan säteen kulkema matka on vakio. Yleisimmin käytetty valon aallonpituus mittauksissa on 589,3 nm. (22)

### 5.4 Tiheysmittaus

Työssä käytetty tiheysmittausmenetelmä perustuu värähtelevän U-putken värähtelytaajuuden muuttumiseen sen sisällä olevan näyteaineen tiheyden mukaan. U-putken värähtelytaajuus ilmalla täytettynä tietyssä lämpötilassa tunnetaan. Näytteen tiheys määritetään värähtelytaajuuden muutoksen suuruuden avulla. Näytteen lämpötilan tunteminen on merkitsevää, sillä molekyylien lämpöliike vaikuttaa U-putken värähtelytaajuuteen. (23)

### 5.5 pH- mittaus

pH- arvon mittaukseen käytettävän pH- mittarin toiminta perustuu potentiometriin eli jännitteen mittaukseen. pH- elektrodissa on ioniselektiivinen elektrodi



(ISE) sekä vertailuelektrodi, jotka muodostavat sähköparin. Vertailuelektrodin jännite on vakio ja ioniselektiivisen elektrodin jännite muuttuu nesteen sisältämien oksoniumionien määrän mukaan. Tämän jännitteen arvon mittari muuntaa edelleen pH- arvoksi. pH- mittauksissa ISE- ja vertailuelektrodit on yleensä rakennettu saman lasisen kuoren sisään, jolloin mittarin käyttöön tarvitaan vain yksi anturi. (24) pH-mittari kalibroidaan ennen käyttöä puskuriliuoksilla, joiden pH on tunnettu.

### 5.6 Johtokyvyn mittaaminen

Sähkökemiallisella johtavuusmittauksella selvitetään, kuinka hyvin sähkö kulkee nesteessä anturin elektrodilta toiselle eli kuinka paljon nesteessä on sähköä johtavia ioneja. Hapot, emäkset sekä suolojen vesiliuokset voivat toimia sähkönjohtavina nesteinä eli elektrolyytteinä. Johtokykyymittarissa on anturi eli kenno, jossa elektrodit sijaitsevat. Elektrodilevyt ovat yleensä platinaa tai platina-päälysteistä metallia. Levyjen välinen etäisyys suhteessa niiden pinta-alaan ilmaistaan kennovakiona  $k$ . Nesteeseen upotetun anturin elektrodien välillä kulkevan vaihtosähkövirran avulla mitataan nesteen aiheuttama resistanssi  $R$ , josta johtokykyymittari laskee sähkönjohtavuuden arvon  $K$ . Sähkönjohtavuuden eli konduktiivisuuden yksikkö on siemens  $S$ . (25)

### 5.7 Spektrofotometrinen määrittäminen

Työssä käytetty UV/VIS- spektrofotometri on yleinen analyysilaitte. Spektrofotometri mittaa näytteen läpi kulkevan säteilyn intensiteetin muutosta. Näytteeseen tulevan ja siitä lähtevän säteilyn intensiteetti on siis erisuuri. Analyysitekniikassa näiden säteilyjen intensiteettien suhteesta johdetaan Lambert-Beerin lain kautta suure absorbanssi. Absorbanssi  $A$  koskee aina vain yhtä aallonpituutta eikä sillä ole yksikköä. Se voidaan mitata yksittäisesti tietyllä aallonpituudella tai ajaa näyteaineen koko spektri, josta nähdään millä kaikilla aallonpituuksilla aine absorboi. Mittauksista vähennetään kyvetin pinnasta ja mahdollisesti laimentamiseen käytetystä väliaineesta aiheutuva mittaustausta. (24)

## 5.8 Kombinaatiotestaukset

Kombinaatio on samaan määrityskittierään kuuluvien komponenttien yhdistelmä. Kombinaatiotestaus suoritetaan jokaiselle Wallac Oy:ssä tuotetulle diagnostiikka- tai seulontamäärityskitille osana tuotteen laadunvalvontaa. Testauksessa todennetaan kittierää varten koottavien komponenttien toimivuus yhdessä tuotetasolla asiakasmäärityksen kaltaisessa määrityksessä loppulaadunvalvonnan spesifikaatioita vasten.

## 6 ERÄKOON KASVATUKSEN TARPEEN KARTOITUS

### 6.1 Tuotantohistorian analysointi

DELFIA- puskureiden vuosittaisen tuotantovolyymin ja – frekvenssin kartoituksen avulla saatiin selkeä käsitys jokaisen puskurin eräkoon kasvatuksen tarpeesta. Kartoitusta tehtiin useille DELFIA- teknologiassa käytettäville puskureille, joiden valmistusprosessit olivat samanlaisia. Nykyiset valmistettavat eräkoot perustuvat aiemmin tehtyihin validointeihin. Joitakin puskureita valmistetaan nykyisellä maksimieräkoolla useammin kuin kerran kuukaudessa, ja ero muiden DELFIA- puskureiden keskimääräiseen valmistusfrekvenssiin on huomattava. Tämä osoittaa selkeän tarpeen tuotteen maksimieräkoon nostolle.

Kaikkien kartoitukseen sisältyneiden DELFIA- puskureiden nykyinen validoitu erä koko oli 4-675 litraa. Aikavälillä 01/2013 – 10/2014 kuukausittaisten valmistusfrekvenssien keskiarvo oli 0,88 ja kokonaistuotantomäärän keskiarvo 8449 L. Taulukko 1. havainnollistaa esimerkkitapauksia tuotantovolyymin molemmista ääripäistä.

Taulukko 1. Eräiden tuotantovolyymin ääripäitä edustavien puskurituotteiden tuotantohistoria aikavälillä 01/2013 – 10/2014.

Tuotantohistoria	Puskuri Y		Puskuri X		Puskuri Z	
	kpl	L	kpl	L	kpl	L
Tuotetut erät	17	610	32	671	1	458
	4	510	12	630-670	1	310
	8	366	3	610	3	227-293
			5	255-488	1	167
					2	92
Tuotettu yhteensä	29	14 728	51	29 089	8	1 929
Valmistusfrekvenssi (erää/kk)	1,32		2,32		0,36	

Puskureilla X ja Y tuotetut erät ovat usein eräkokoskaalan ylärajalla, kun taas vastaavasti Puskurilla Z eräkoot ovat olleet eräkokoskaalan keskivaiheilla. Myös kuukausittainen valmistusfrekvenssi eroaa keskiarvosta kaikilla kolmella puskurilla.

Liitteessä 1. on taulukoituna kartoituksessa kootut tuotantohistoriatiedot. Jokaisen kartoituksessa mukana olleen puskurin tapauksessa tarve eräkoon kasvatamiselle ei ollut akuutti. Kun DELFIA- puskureita on kuitenkin useita valmistusprosessiltaan sekä koostumukseltaan samankaltaisia, oli tulevaisuuden kannalta hyödyllistä sisällyttää useampi keskenään vertailukelpoinen puskurituote samaan eräkoon kasvatusprojektiin. Vaikka jonkin puskurin menekki ei nykytilanteessa olisikaan erityisen suuri, saatetaan sitä tulevaisuudessa tarvita suurempia määriä. Tällöin sen valmistusprosessi suuremmassa mittakaavassa olisi jo todettu toimivaksi ja validoitu käyttöön.

## 6.2 Säästölaskelmat

Kustannussäästöä muodostuu erän valmistukseen vaadittavien henkilötyötuntimäärien pysyessä lähes samana eräkoon kasvaessa. Työskentelyajan pituuteen vaikuttaa eräkoon kasvaessa ennen kaikkea liuoksen valmistukseen tarvittavan veden tuottaminen ja siihen kuluva aika. Puhtaan veden tuottaminen on hidas prosessi. Puskureiden raaka-aineena käytettävästä vedestä poistetaan ensin bakteerit suodattamalla, jonka jälkeen vesi pumpataan neljän pylväsmallisen suodattimen läpi, joissa vedestä poistetaan ionit sekä orgaaniset partikkelit. Eräkoon kasvatuksen jälkeen uuden maksimieräkoon eli 1600 L vesimäärän tuottamiseen kuluu noin 2 tuntia 20 minuuttia.

Taulukkoon 2. on laskettu eräkoon kasvattamisella saavuttava kustannussäästö. Laskennallinen kustannussäästö suuren tuotantovolyymin omaavien puskurituotteiden tapauksessa on jopa 3300-5700 euroa vuodessa. Säästölaskelmasa tuotantomäärän oletetaan pysyvän samana. Toteutunut tuotto- sarake kuvaa tuotantohistoriaan perustuvaa tietoa ja Tuottoarvio- sarake oletettua tuotantomäärää yhtä pitkällä aikavälillä, joka on 12 kk.

Taulukko 2. Eräkoon kasvatuksella saavutettava kustannussäästö eräillä puskurituotteilla, kun tuotantovolyymien oletetaan pysyvän samana ja valmistettujen erien olevan maksimieräkoko 1600 L.

Tuotantohistoria ja kustannukset	Puskuri Y		Puskuri X	
	Toteutunut tuotto	Tuotto-arvio	Toteutunut tuotto	Tuotto-arvio
Tuotetut erät (kpl)	16	5	28	10
Tuotettu yhteensä (L)	14 728	14728	29 089	29 089
Valmistusfrekvenssi (erää/kk)	1,32	0,42	2,32	0,83
Henkilötyötunnit / erä	12	13	12	13
Kustannus henkilötyötunneista / erä (€)	319,44	346,06	319,44	346,06
Kokonaiskustannus vuodessa (€)	5111,93	1730,30	8944,32	3194,40
Säästö vuodessa (€)	3381,63		5749,92	

### 6.3 Resurssit

Vaikka eräkoon kasvatukselle nähdään selkeä tarve ja kustannuslaskelmat osoittavat muutoksen tuovan selkeää säästöä, myös tiloihin ja välineisiin liittyvät resurssit tulee huomioida. Henkilö- ja raaka-aineresursseja ei tässä tapauksessa katsota rajoittavaksi tekijäksi, mutta esimerkiksi varaston kapasiteetti ja sen vaikutus suurempien erien säilyttämiseen on aiheellista arvioida.

Yrityksen tavoitteena on pitää varastoarvot pienenä eli säilyttää tuotteita varastossa määrällisesti mahdollisimman vähän sekä lyhyen aikaa. Toisaalta yksi tärkeimmistä päämääristä on pystyä vastaamaan kysyntään tehokkaasti ja olla valmiina toimittamaan tuotteet mahdollisimman lyhyellä toimitusajalla. DELFIA-puskurit koostuvat pääsääntöisesti edullisista ja keskihintaisista raaka-aineista eli ne eivät ole myytävän kitin kallein komponentti. Siten suurikin määrä puskurituotetta on melko pieni tekijä varastoarvossa.

Varastoinnin kannalta suurin haaste on siis fyysisen varastointitilan riittävyys, sekä tuotteen varastointiin tarvittavat laatikot, rullakot ja lavat. Puskurituotteet

säilytetään kylmävarastoissa, kuten monet muutkin tehtaan tuotteista. Kun pusku-ri on pulloitettu, korkitettu ja etiketoitu pulloituslinjalla, pakataan valmiit pusku-ripullot laatikoihin. Laatikot lastataan rullakoille tai suoraan trukkilavoille, joita on kahta eri kokoa. Samoja rullakoita ja lavoja käytetään monien muidenkin tuotteiden varastointiin, joten tuotannosuunnittelussa tulee huomioida tasainen resurssijako. Jotta eräkoon kasvatukselta hyödytään mahdollisimman tehokkaasti, varastointiresurssien riittävydestä valmistuksen ajankohtana tulee varmistua.

Taulukossa 3. on kuvattuna maksimierän varastoinnin vaihtoehdot, joista valitaan silloisten resurssien puitteissa. Eräkoon kasvatuksen myötä maksimierästä voidaan pulloittaa yli kaksinkertainen kappalemäärä pulloja, joten vastaavasti myös tarvittavien varastointilaatikoiden ja – rullakoiden määrä kasvaa.

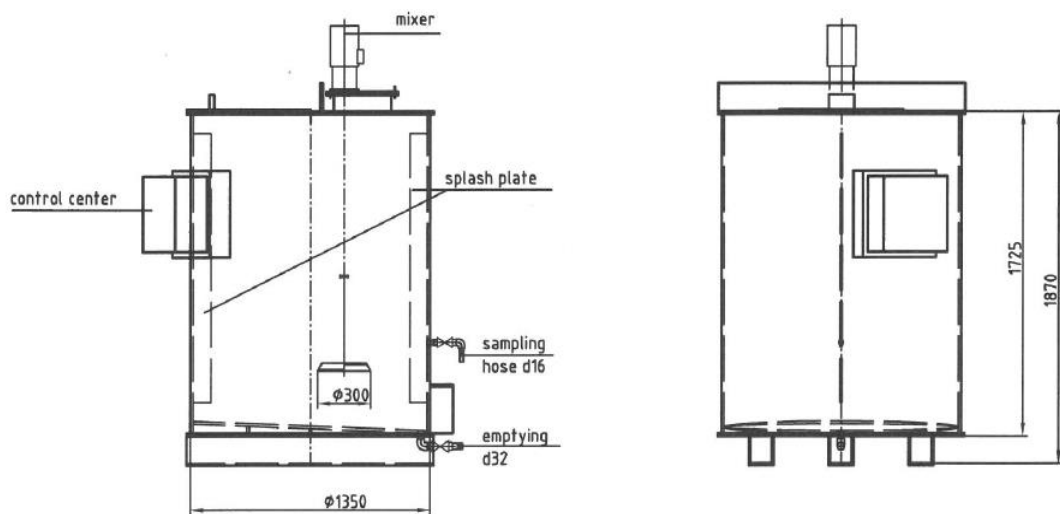
Taulukko 3. Vaihtoehdot pulloitetun tuotteen maksimierän varastoinnille nykyisellä ja tulevalla maksimieräkoolla.

	<b>Maksimierä 675 L</b>		<b>Maksimierä 1600 L</b>	
	60	175	60	175
Pullokoko (ml)	60	175	60	175
Pulloja (kpl)	2647	5532	6274	13114
Laatikoita (kpl)	42	60	100	141
Varastoinnin vaihtoehdot	1 iso lava + rullakko	1 iso lava + 3 rullakkoa	2 isoa lavaa + 3 rullakkoa	3 isoa lavaa + 3 rullakkoa
	1 pikkulava + 2 rullakkoa	2 pikkulavaa	3 pikkulavaa + 1 rullakko	4 pikkulavaa + 2 rullakkoa
	6 rullakkoa	8 rullakkoa	13 rullakkoa	18 rullakkoa

## 7 VALMISTUSASTIAN KÄYTTÖÖNOTTOON JA KARAKTERISOINTIIN LIITTYVÄT MENETTELYT KÄYTÄNNÖSSÄ

### 7.1 Kvalifiointi

Käyttöön otettava valmistusastia-sekoituslava-moottori- kokonaisuus on tyypiltään yksinkertainen tekninen järjestelmä, joten käyttöönotto toteutettiin C- luokan kvalifiointina. Kokonaisuus koostuu valmistusastiasta, sekoituslavasta sekä lapaa pyörittävästä moottorista. Astian seinämillä on neljä virtausestettä. Valmistusastian osat sekä mittasuhteet ilmenevät Kuvasta 3. Kaikki mitat kuvassa on ilmoitettu millimetreinä.



Kuva 3. Mittasuhteepiirros valmistusastiasta. (26)

C- luokan kvalifioinneissa kvalifiointisuunnitelmaa ei tarvitse hyväksyttää etukäteen VST:llä. Suoritus raportoidaan valmiilla kvalifiointikaavakepohjalla. Kaavakkeeseen kirjattiin tietoja valmistusastian, sekoituslavan sekä sekoittimen moottorin ominaisuuksista ja käytöstä, huoltotoimenpiteistä ja puhdistuksesta. IQ- osuudessa todettiin virtakytkimet, säätimet sekä venttiilit toimiviksi ja oikein asennetuiksi. Kvalifiointikaavakkeen yhteyteen kerättiin valmistusastiakokonai-

suuden valmistajalta saadut dokumentit, joista ilmeni valmistuksessa käytetyt materiaalit ja menetelmät, valmistusastian mittasuhteet piirustuksineen ja ennen tuotteen luovutusta suoritettut testaukset. Myös kvalifioinnin aikana tehdyistä mittauksista eli OQ- testauksista saatu alkuperäisdata arkistoiitiin osana kvalifiointidokumentaatiota. Kvalifiointiraportti liitteineen hyväksyttiin validointiasiantuntijalla sekä teknisellä tarkastajalla, jonka jälkeen se siirrettiin validointiarkistoon. Kvalifioinnin hyväksynnän jälkeen laitteeseen kiinnitettiin kvalifiointitunniste.

Uuden valmistusastian geometria ja mittasuhteet eivät ole yhtäläiset liuosvalmistuksen muihin astioihin verrattuna, joten halutun kaltaisen sekoituksen saavuttamiseen käytettävät parametrit määritettiin erillisesti ko. astiaa koskeviksi. Tällaisia parametreja ovat sekoitusnopeus ja –aika. Kullekin valmistustilavuudelle soveltuvat sekoitusnopeudet selvitettiin Operational qualification- osuudessa. Eri liuostuotteiden vaatimat sekoitusajat riippuvat niiden sisältämien raaka-aineiden määrästä ja liukenevuudesta, joten raaka-aineiden liukenemista ja optimaalista sekoitusaikaa tutkittiin vasta karakterisoinnissa. Sekoitusaikoihin ei siis kvalifioinnissa otettu kantaa. Kuvasta 3. ilmenevästä valmistusastian pohjan ja sekoituslavan välisestä etäisyydestä johtuen teoreettinen minimitilavuus oli 400 L, joten myös sekoitustehokkuuden havainnointi aloitettiin tästä tilavuudesta ja jatkettiin aina maksimitilavuuteen eli 1600 litraan saakka. Vettä lisättiin astiaan noin 100-150 L kerrallaan, joten havainnointia suoritettiin yhteensä kymmenellä eri tilavuudella.

Eri sekoitusnopeuksien vaikutusta liukseen arvioitiin visuaalisesti ja kirjattiin ylös nesteen liike, roiskuminen sekä mahdolliset epätoivotut vortex- ilmiöt. Visuaalisen havainnoinnin tulokset löytyvät Liitteestä 2. Koska kaikki tuotteiden raaka-aineet eivät kestä suurta mekaanista rasitusta eikä vaahtoaminen ole toivottavaa, usein pyritään käyttämään mahdollisimman alhaisia sekoitusnopeuksia. Tästä syystä visuaalisen arvioinnin lähtökohtana oli tehokas sekoitus, joka ei kuitenkaan aiheuta nesteen roiskumista. Tällä tavoin voidaan myös pidentää käyttöikää, sillä korkeat sekoitusnopeudet aikaansaavat sekoituslavan heiluntaa ja rasittavat lapa-moottorikonaisuutta.



Astian sekoittimessa ei ole kierroslukumittaria, vaan moottorin nopeutta säädetään mekaanisen säätövastuksen eli potentiometrin avulla. Potentiometrissä on portaaton säätö, eikä sen asetusarvolla ole yksikköä. Liuosvalmistuksen työohjeissa sekoitusnopeus on ohjeistettu rpm- arvoina, joten asetusarvojen ja kierrosnopeuden välinen yhteys eri valmistustilavuuksilla selvitettiin mittaamalla kierrosnopeusmittarilla kutakin asetusarvoa vastaavat kierrosluvut sekoituslaavan varren sivusta. Samalla arvioitiin mahdollista vaihtelua kierrosnopeusarvoissa eri tilavuuksilla, kun säätimen asetusarvo pysyy samana. Tulokset kirjattiin kolmesta rinnakkaisesta mittauksesta. Tähän käytettiin Testo 470- kierrosnopeusmittaria. Myös kierrosnopeusmittausten data sekä keskiarvot löytyvät Liitteestä 2.

OQ- testauksessa saatujen kierrosnopeuden arvojen perusteella määriteltiin kullekin valmistustilavuudelle alustavat sekoitusnopeuden minimi- ja maksimiarvot. Näitä arvoja hyödynnettiin karakterisointierää suunniteltaessa. Sekoitusnopeuden ohjeistusta tarkennettiin karakterisoinnin yhteydessä, kun voitiin havainnoida sekoituksen vaikutusta prosessin raaka-aineisiin.

## 7.2 Karakterisointi

Karakterisointi sisälsi sekä tiedonhakuja ja – analysointia että käytännön valmistus- ja testaustyötä. Kaikki koottu informaatio ja saadut tulokset yhteenvetoinen koottiin karakterisointiraportiksi. DELFIA- puskureiden ominaisuuksien kartoituksen perusteella määriteltiin karakterisointiin sisällytettävät puskurit ja valittiin niiden joukosta kaksi karakterisointierinä valmistettavaa puskuria, jotka edustivat kattavasti koko määriteltyä puskuriryhmää. Puskureille etsittiin soveltuvat mittausmenetelmät prosessin onnistumisen todentamiseen ja laadittiin nykyisten validoitujen valmistusprosessien pohjalta ohjeistukset karakterisointierien valmistukseen. Sekoitusnopeuksien valinnassa hyödynnettiin kvalifioinnin OQ- osuudessa saatua dataa. Molemmille karakterisointierille laadittiin omat ohjeistukset ja niissä pyrittiin käyttämään erilaisia parametreja, mm. erilaisia sekoitusnopeuksia ja – aikoja, kattavien tulosten saamiseksi. Suuremmankin

mittakaavan valmistusprosesseissa pyrittiin kuitenkin mahdollisuuksien mukaan noudattamaan jo käytössä olevan sekoitusprosessin kulkua. Lopulta karakterisointiraportti koottiin yhteen ja hyväksyttiin VST:llä.

### 7.2.1 DELFIA- puskureiden ominaisuuksien kartoitus

DELFIA- teknologian käyttöön kehitetyt puskurituotteet ovat raaka-ainekoostumukseltaan pääpiirteittäin samankaltaisia. Tietyt raaka-aineet liukenevat kuitenkin huomattavasti toisia hitaammin ja vaativat erilaista käsittelyä, joten eri puskurituotteiden valmistusprosessien riskit ja kriittiset prosessivaiheet selvitettiin. Puskurien ominaisuuksia kartoittamalla niistä kyettiin erottelamaan ryhmä, jonka puskureilla samankaltaisuus oli riittävää niiden keskinäiseksi vertailemiseksi. Tästä ryhmästä valittiin karakterisointierissä valmistettaviksi kaksi sellaista puskurituotetta, jotka edustavat sekoittuvuudeltaan tai liukenevuudeltaan haastavinta mahdollista tilannetta. Kun uudella valmistusastialla voidaan tuottaa spesifikaatioiden mukainen tuote em. puskureista, voidaan tämä katsoa riittäväksi osoitukseksi valmistusastian soveltuvuudesta myös muiden määritellyn ryhmän puskureiden valmistukseen.

Sekoittuvuuden kannalta kriittisimpiä raaka-aineita ovat detergentit sekä proteiinit. Proteiinit ovat usein niukkaliukoisia mutta eivät siedä suurta mekaanista rasitusta, vaan saattavat alkaa vaahdota. Proteiinien vaahtoamisessa on havaittu vaihtelua eri raaka-aine-erien välillä. Myös detergentit ovat herkästi vaahtoavia. Kyseiset raaka-aineet aiheuttavat suurimman riskin liuosvalmistusprosessin tai prosessin osan onnistumiselle.

Liitteestä 1. ilmenee kartoituksessa koottu informaatio eri puskureiden raaka-ainepitoisuuksista. Taulukossa 4. on ääripäiden esimerkkejä puskureiden raaka-ainekoostumuksesta. Sekoittuvuuden kannalta haastavinta tapausta edustivat puskuri X ja puskuri A, sillä niissä proteiinipitoisuus on suurempi kuin liuosryhmän muissa puskureissa. Kyseiset puskurit sisälsivät myös huomattavan määrän detergenttejä, joilla liukoisuuden edistämisen lisäksi on taipumus vaahtomiseen. Puskuri A sisälsi joitakin raaka-aineita, joita puskuri X ei sisältänyt,

mutta kyseisten raaka-aineiden osuus koko valmistustilavuudesta on pieni ja raaka-aineet nestemäisiä, joten niiden ei ajateltu vaikuttavan sekoittuvuuteen millään lailla. Lisäksi kyseiset raaka-aineet ovat puskuriliuosten arvokkaimpia komponentteja, joten valitsemalla puskuri X voidaan säästää karakterisointieristä koituvissa kustannuksissa. Lisäksi puskuri X:n eräkoon kasvatuksen tarve oli suuri, joten se oli relevantti valinta ensimmäisessä karakterisointierässä valmistettavaksi tuotteeksi. Puskuri Y sisälsi myös suuren määrän proteiinia mutta 10-kertaisesti vähemmän liukenevuutta edistäviä detergentejä. Kyseinen puskuri valittiin valmistettavaksi toiseen karakterisointierään, jotta voitiin nähdä pienemmän detergenttipitoisuuden vaikutus valmistusprosessiin ja liukenevuuteen.

Taulukko 4. Eräiden DELFIA- puskuroiden ominaisuuksien kartoituksessa käytetyt raaka-ainetiedot. Ilmoitetut pitoisuudet koskevat yhtä litraa puskuria.

Raaka-aine	Puskuri Y	Puskuri X	Puskuri A	Yksikkö/L
1	3000,000	3200,000	3200	µL
2	500,000	500,000	500,000	MG
3	20,000	20,000	20,000	MG
4 (P)	10,000	15,000	15,000	G
5	6100,000	6056,000	6056,000	MG
6	7800,000	9000,000	9000,000	MG
7		500,000	500	MG
8 (D)	10,000	109,200	109,2	MG
10			3,750	MG
11			3,750	MG
12			3,750	MG
13			1,000	MG
15	1,300	15,680	15,680	MG
16 (D)	5,000	10,000	10,000	G
17	0,300			MG
18	0,100			ML

\*(P)= proteiini

\*(D)= detergentti

Valmistusprosessit ovat tarkastellun puskuriryhmän tuotteilla pääpiirteittäin samanlaisia, kaksipäiväisiä ja huoneenlämmössä suoritettavia prosesseja. Eräillä puskuireilla sekoitusvaiheita on enemmän kuin toisilla, jos yksittäinen raaka-aine

lisätään muista raaka-aineista erillisenä. Tällaisilla eroilla ei kuitenkaan ole prosessikokonaisuuden kannalta niin suurta merkitystä, etteivätkö puskurit olisi silti keskenään vertailukelpoisia. Karakterisointieriin valitut puskurit X ja Y edustavat kattavasti koko puskuriliuosryhmää, joten eräkoon kasvatus toteutuu kaikilla ryhmään kuuluvilla puskureilla.

### 7.2.2 Homogeenisuuden toteamiseen käytettävien mittausmenetelmien etsintä

Raaka-aineiden täydellinen liukeneminen ja puskurin homogeenisuus kuuluvat DELFIA- puskurituotteiden spesifikaatioihin. Pullotetun puskurituotteen tasalautisuus auttaa määrityksen toistettavuuden ylläpitämisessä. Saostuminen tai muu erottuminen saattaisi aiheuttaa vääristyneitä tuloksia tai koko määrityksen keskeytymisen. Karakterisoinnissa haluttiin varmistua siitä, että uusi valmistusastia toimii halutulla tavalla ja lopputuote on kauttaaltaan homogeenista sekä myös säilyy homogeenisena riittävän pitkään. Visuaalisia havaintoja tukemaan oli relevanttia määrittää jokin testausparametri, jolla mitattiin pinnasta ja pohjasta otettujen näytteiden eroja.

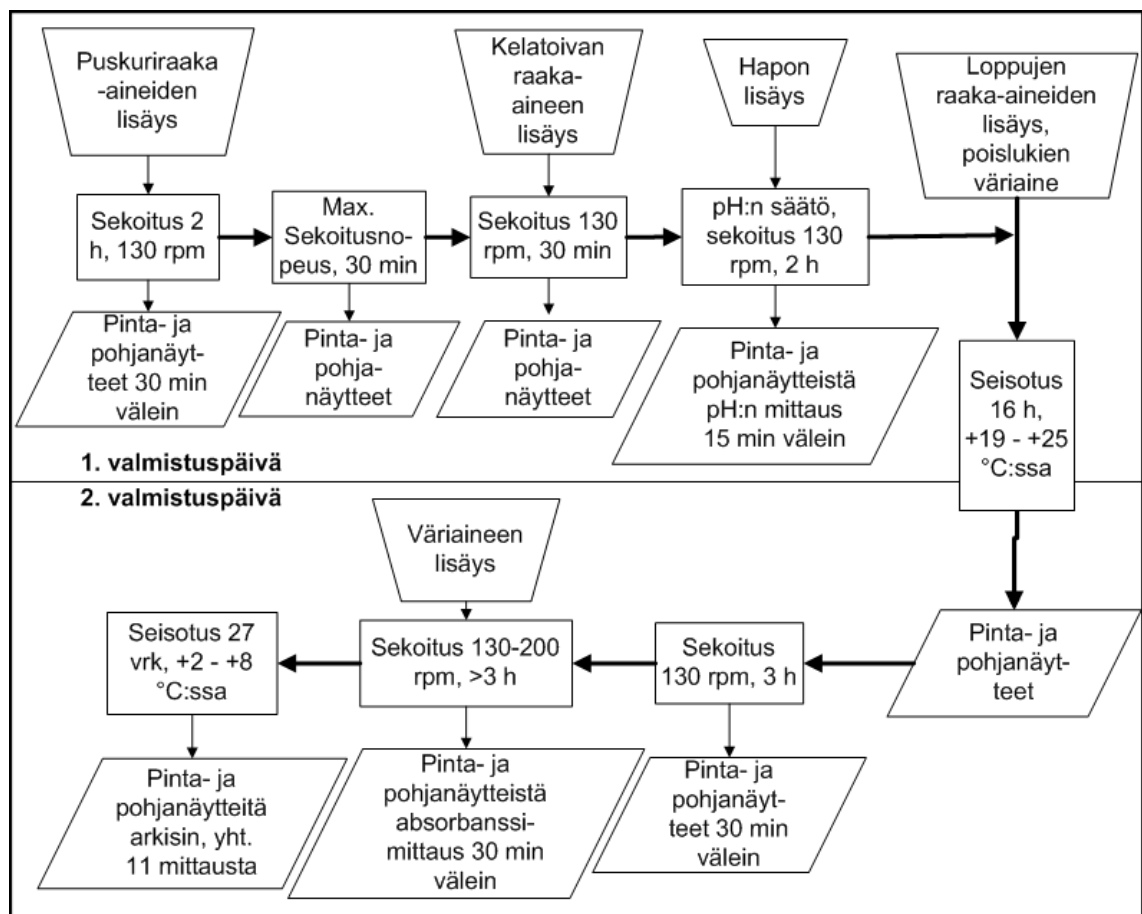
DELFIA- puskureiden tuotannonaikaiseen laadunvalvontaan kuuluu ainoastaan pH- mittaus. Karakterisointia varten testattiin eräistä DELFIA- puskureista saatavaa mittausvastetta muutamilla menetelmillä ja valittiin niistä parhaiten tarkoitukseen soveltuvat. Päämääränä oli käyttää laimentamattomia näytteitä, jotta mittausepävarmuus pysyisi alhaisena. Testatut menetelmät olivat polarimetria, refraktometria, tiheysmittaus, johtokykymittaus sekä absorbanssin mittaus spektrofotometrillä. Saatujen tulosten perusteella karakterisointiin valittiin pH-mittauksen lisäksi spektrofotometria sekä johtokyvyn mittaus.

Valituilla testimenetelmillä tehtiin mittauksia puskureiden X ja Y aiemmin valmistetuilla erillä, jotta saatiin dataa puskureiden pinnan ja pohjan välisten mittaustulosten erotuksen maksimiarvon laskemiseen. Erotuksen maksimiarvot perustuvat kolmen aiemmin tuotetun erän mittaustulosten vaihteluvälin suuruuteen. Eri erien käyttämisellä pyrittiin varmistamaan mahdollisten raaka-aine-eräkohtaisten vaihtelujen sisällyttäminen vaihteluväliin. Erotuksen maksimiarvot

koskivat tätä karakterisointia sekä mahdollisesti myös tulevaa validointia ja niitä käytettiin karakterisointierien valmistuksenaikaisen sekä seisotuksesta saadun mittausdatan käsittelyssä. Eri menetelmille määritellyt erotuksen maksimiarvot löytyvät tuloksista.

### 7.2.3 Ensimmäisen karakterisointierän suunnittelu, valmistus ja testaus

Valmistusprosessin aikana tehtävistä mittauksista laadittiin kirjallinen suunnitelma. Kuvassa 4. on kuvattuna valmistusprosessin eri vaiheet. Prosessin eri vaiheissa tehtyihin mittauksiin vaikuttavat siihen mennessä lisättyjen raaka-aineiden ominaisuudet, joten eri prosessivaiheisiin määriteltiin omat mittaukset. Puskuripohjan raaka-aineet ovat lähinnä suoloja, kun taas loppuraaka-aineet sisältävät mm. proteiineja.



Kuva 4. Lohkokaavio 1. karakterisointierän valmistusprosessista.

Ensimmäisen karakterisointierän testaussuunnitelma ilmenee Taulukosta 5. Puskuripohjan sekoituksessa mitattiin 200–600 nm absorbanssispektri, kun taas proteiinin lisäyksen jälkeen absorbanssi mitattiin aallonpituudella 279 nm. Proteiinit absorboivat kyseisellä aallonpituudella ja absorbanssiero kuvastaa hyvin proteiinipitoisuuden eroja pinnassa ja pohjassa. Näytteitä piti laimentaa korkean proteiinipitoisuuden takia. Väriaineen lisäyksen jälkeen absorbanssia mitattiin myös aallonpituudella 530 nm, koska väriaineen havaittiin absorboivan kyseisellä aallonpituudella.

Taulukko 5. Ensimmäiselle karakterisointierälle suunnitellut testaukset. Taulukossa kuvattujen mittausten lisäksi koko prosessin ajan suoritettiin visuaalista havainnointia.

<b>Prosessivaihe</b>	<b>Mittaukset</b>
Puskuripohjan sekoitus	pH, johtokyky, huippupiikin absorbanssi sekä spektri 200 - 600 nm
Maksimisekoitus	
Kelatoivan aineen sekoitus	
pH:n säätö	pH
16 h seisotuksen jälkeen	pH, johtokyky, absorbanssi 279 nm laimennetusta näytteestä sekä spektri 200 - 600 nm
Sekoitus	
Väriaineen sekoitus	spektri 200 - 600 nm sekä absorbanssi 530 nm laimentamattomasta näytteestä
Seisotusseuranta väh. 14 vrk	pH, johtokyky, spektri 200 - 600 nm, absorbanssi 279 nm laimennetusta näytteestä sekä absorbanssi 530 nm laimentamattomasta näytteestä

Kuten erän valmistusvaiheessa, myös seurantavaiheessa otettiin kaksi näytettä pinnasta ja pohjasta. Jokaisesta rinnakkaisnäytteestä tehtiin kolme rinnakkaismittausta. Seurantanäytteistä analysoitiin aina kaikki Taulukossa 5. mainitut mittaukset. Dataa homogeenisuuden säilymisen todentamiseksi haluttiin vähintään 14 vuorokauden ajalta. Puskuria säilytettiin valmistusastiassaan, jota ei suuren kokonsa takia voitu säilöä mihin tahansa kylmiöön. Tästä syystä oli tärkeää huomioida kylmäsäilytystilojen resurssit ja niiden priorisointi varsinaisten tuotantoerien säilytykseen. Kaikista saaduista mittaustuloksista laskettu pinnan ja pohjan eroja tulkittiin pinnan ja pohjan välisen erotuksen maksimiarvojen

muodostamissa rajoissa. Myös puskurin toiminta sen lopullisessa käyttökohdeessa DELFIA- määritysten komponenttina haluttiin testata kombinaatiotestauksella ja erityisesti selvittää mahdollisia seisotuksen aiheuttamia muutoksia puskurin toiminnassa.

Valmistusprosessi aloitettiin valuttamalla astiaan vettä, kunnes nestepinta ylitti alalavan (teoreettinen minimitulavuus). Raaka-aineiden lisäys ja sekoitus aloitettiin veden vielä valuessa. Raaka-aineita lisättiin vähän kerrallaan, jotta ne eivät jäisi astian pohjalle. Sekoituksen kokonaisaika laskettiin siitä hetkestä, kun koko vesimäärä oli valutettu ja raaka-aineet lisätty. Myös näytteenotto aloitettiin kyseisestä kohdasta. Pintanäyte otettiin elektronista pumpettia ja 10 ml:n pipettejä käyttäen ja pohjanäyte otettiin valmistusastian pohjahanasta.

Kun puskuripohjan raaka-aineet olivat lienneet, testattiin puolen tunnin ajan maksimisekoitusnopeutta, jotta nähtiin alkaako liuos vaahdota. Näytteenoton jälkeen sekoitusnopeus laskettiin aiemmalle tasolle (130 rpm) ja lisättiin seuraava raaka-aine sekä säädettiin pH. Lopuksi lisättiin viimeiset raaka-aineet lukuun ottamatta väriainetta ja sammutettiin sekoitus. Valmistuksen prosessivaiheet sekä testauksen mittauspisteet näkyvät Kuvasta 4.

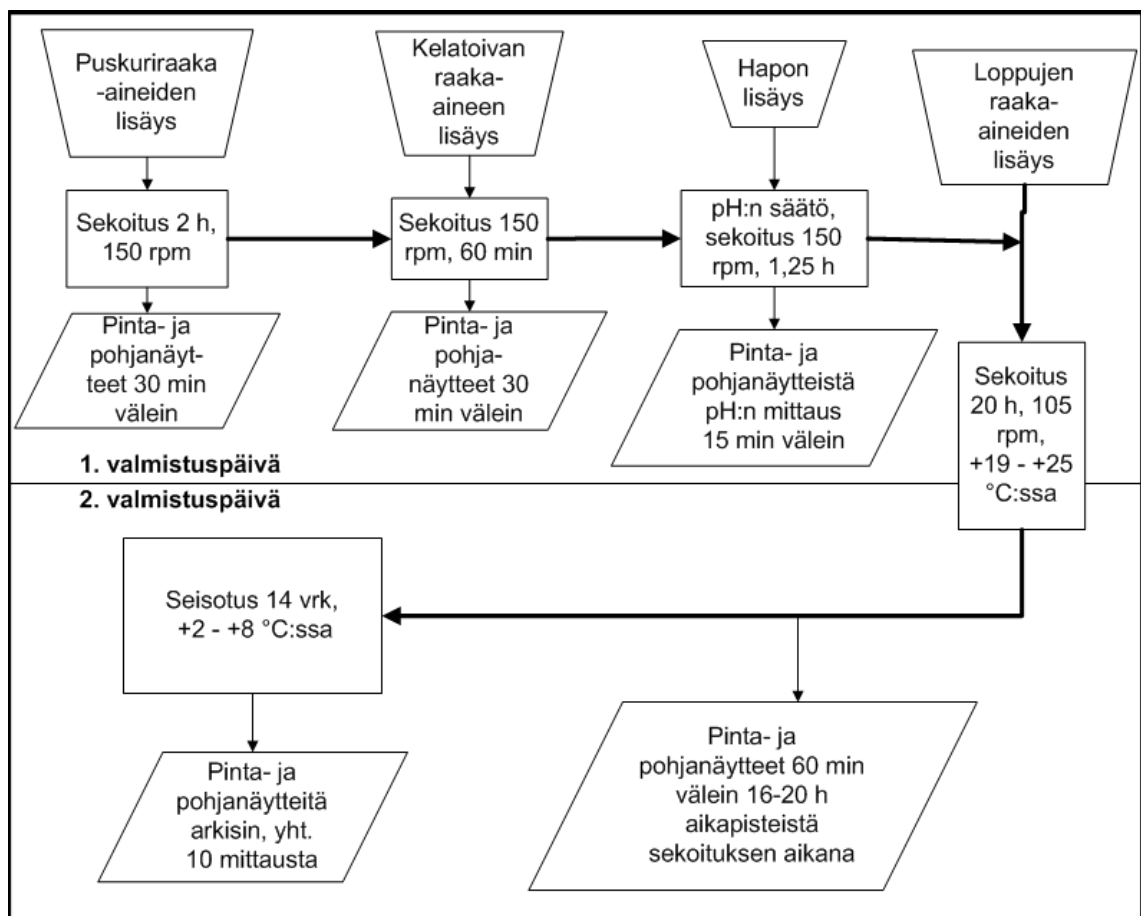
Liuosta seisotettiin +19 – +25 °C:ssa 16 h ajan jonka jälkeen otettiin näytteet. Seisotus kuuluu nykyiseen valmistusprosessiin, joten se haluttiin sisällyttää prosessiin myös karakterisointierissä. Tätä seuranneen 2,5 h sekoituksen aikana otettiin näytteitä puolen tunnin välein, kuten myös väriaineen lisäämistä seuranneen sekoituksen aikana. Valmiista puskurista pulloitettiin näytteitä kombinaatiotestauksia varten. Puskurit säilytettiin +2 - +8 °C:ssa.

Seisotusta jatkettiin 26 vuorokauden ajan ja näytteitä otettiin seisotuksen aikana yhteensä 11 kertaa. Testaus suoritettiin mahdollisuuksien mukaan joko samana päivänä tai myöhemmin, jolloin näytteitä säilytettiin +2 - +8 °C:ssa. Näytteiden annettiin seistä huoneenlämmössä noin 2 tuntia ennen testausta lämpötilan tasaamiseksi. Viimeisessä näytepisteessä pulloitettiin näytteitä kombinaatiotestausta varten.

Puskurista pulloettiin näytteitä kombinaatiotestauksia varten. Näytteitä pulloettiin sekä erän valmistuttua, että yhdentoista seisotuspäivän jälkeen. Näin nähtiin mahdollinen seisotuksen aiheuttama vaikutus puskurin toimintaan. Kombinaatiotestauksissa puskurin toiminta todennettiin kolmessa eri kombinaatiotestissä eli DELFIA- teknologiaa hyödyntävissä lopputuotemäärityksissä. Määritykset suoritettiin AutoDELFI- sekä GSP- laitteilla.

#### 7.2.4 Toisen karakterisointierän suunnittelu, valmistus ja testaus

Toisen karakterisointierän testaukset olivat suurimmaksi osaksi samoja kuin ensimmäisessä karakterisointierässä, mutta valmistusprosessin eroista johtuen jotkin mittauspisteet olivat erilaisia. Valmistusprosessi on havainnollistettuna Kuvassa 5.



Kuva 5. Lohkokaavio 2. karakterisointierän valmistusprosessista.



Prosessin alkuosan absorbanssimittauksissa tarkennettiin aallonpituudeksi 205 nm, joka oli ensimmäisen karakterisointierän mittauksissa absorbanssispektrin maksimikohta. Taulukosta 6. ilmenee mittaukset eri prosessivaiheissa.

Taulukko 6. Toiselle karakterisointierälle suunnitellut testaukset. Mittausten lisäksi suoritettiin visuaalista havainnointia koko prosessin ajan.

Prosessivaihe	Mittaukset
Puskuripohjan sekoitus	pH, johtokyky, absorbanssi 205 nm sekä spektri 200 - 600 nm
Kelatoivan aineen sekoitus	
pH:n säätö	pH
20 h sekoitus, mitauspisteet 16-20 h	pH, johtokyky, absorbanssi 279 nm laimennetusta näytteestä, absorbanssi 530 nm laimentamattomasta näytteestä sekä spektri 200 - 600 nm
Seisotusseuranta 14 vrk	pH, johtokyky, spektri 200 - 600 nm, absorbanssi 279 nm laimennetusta näytteestä sekä absorbanssi 530 nm laimentamattomasta näytteestä

Erän valmistus aloitettiin valuttamalla astiaan vettä, kunnes nestepinta ylitti alalavan. Raaka-aineiden lisäys ja sekoitus 150 rpm nopeudella aloitettiin veden vielä valuessa. Raaka-aineita lisättiin taas vähän kerrallaan. Puskuripohjan raaka-aineiden sekoitus ja pH:n säätö sekä näytteenotot suoritettiin miltei samaan tapaan kuin ensimmäisessä karakterisointierässä. Jälleen visuaalisia havaintoja kirjattiin ylös valmistuksen aikana. Toisen karakterisointierän valmistusprosessi on esitetty lohkokaaaviona Kuvassa 5.

Loppuraaka-aineiden lisäyksen jälkeen puskuria sekoitettiin +19 – +25 °C:ssa 20 h ajan. Mittauksia otettiin tunnin välein sekoituksen aikapisteissä 16-20 h, pullotettiin näytteet kombinaatiotestausta varten ja siirrettiin puskurin +2 - +8 °C:een kylmiöön.

Seisotusta jatkettiin 14 vrk +2 - +8 °C:ssa. Puskurista otettiin näytteitä yhteensä 10:ssä näytepisteessä. Seisotuksen jälkeen puskurista pullotettiin näytteitä kombinaatiotestausta varten. Myös toisen karakterisointierän toiminta testattiin kolmella eri DELFIA- teknologian lopputuotemäärityksellä ja verrattiin keske-

nään vastavalmistetusta puskurista otettuja näytteitä sekä seisotetusta puskurista otettuja näytteitä.

### 7.2.5 Karakterisoinnin raportointi

Karakterisointiraporttiin koottiin karakterisoinnissa tuotettu data ja siitä tehdyt johtopäätökset. Tuotantohistorian analysointi sekä karakterisoinnilla saavutettava kustannussäästö ja siihen liittyvät perustelut kirjattiin karakterisointiraporttiin taustatietona. Mittausmenetelmien valinta sekä karakterisointierinä valmistettavien puskurien valinta perusteltiin kattavasti. Erien valmistusta havainnoitiin lohkokaavioilla ja kirjattiin lyhyt sanallinen kuvaus. Saatuja tuloksia havainnollistettiin erilaisilla kuvaajilla ja kirjattiin tulosten perusteella muodostetut johtopäätökset. Laatuorganisaation tuoteryhmävastaava tarkasteli kombinaatiotestien tuloksia tuotekohtaisia hyväksymisrajoja vasten sekä vertaili karakterisointierien tuloksia pitkäaikaisseurannasta saatuun dataan. Prosessin mittakaavamuutokseen liittyviä riskejä arvioitiin pFMEA- tarkastelun avulla ja selvennettiin sanallisesti jäännösriskin suuruutta.

Loppuun kirjattiin karakterisointia seuraavat jatkotoimenpiteet eli validointi ja niiden arvioitu toteutusajankohta. Karakterisointiraportti käytiin läpi VST:n kokouksessa. Hyväksynnän jälkeen raportti arkistoitiiin validointiarkistoon.

## 8 TULOSTEN KÄSITTELY JA PÄÄTELMÄT

### 8.1 Kvalifointi

OQ- testauksissa havaittiin, että valmistettaessa eri tilavuuksia kierrosnopeudet ovat lähes samat. Sekoitustilavuuksien moottori pystyy hyvin ylläpitämään asetetun nopeuden tilavuuden kasvaessa. Visuaalisen havainnoinnin perusteella eri tilavuuksille soveltuvat kierrosnopeusarvot voivat olla suuruudeltaan hyvinkin erilaisia (Taulukko 7.).

Taulukko 7. Poiminta OQ- testauksen tuloksista Liitteestä 2.

Tilavuus, L / huomiot	Nopeuden-säätimeen asetettava arvo	Mitattujen rpm-arvojen ka.	Visuaaliset havainnot sekoituksen tehokkuudesta
400 (vain alalapa käytössä)	100	64.9	Ei riittävän tehokas
	150	74.7	Normaali
	200	90.2	Normaali
	250	106.0	Tehokas
	350	136.7	Tehokas
	400	152.3	Neste roiskuu ja vaahdottuu liikaa
950 (pinta n. 15 cm yläalavan alapuolella)	250	105.3	Ei riittävän tehokas
	350	135.3	Normaali
	535	190.8	Tehokas
1600 (ylälapa n. 30 cm pinnan alla)	615	215.7	Neste roiskuu ja vaahdottuu liikaa
	300	120.5	Ei riittävän tehokas
	490	175.7	Tehokas
	560	196.1	Neste roiskuu ja vaahdottuu liikaa

Kierrosnopeuden noustessa sekoituslavan varsi alkaa heilua ja se voi rasittaa sekoituslapaa ja moottoria, joten sitä tulee välttää. Varren heilunta on merkittävämpää pienemmillä tilavuuksilla.

Kvalifioinnin OQ- osiossa saaduista tuloksista muodostettiin alustavat sekoitusnopeuden minimi- ja maksimiarvot, joita pidettiin soveltuvina kullekin valmistustilavuudelle. Valmistusastian alalavan havaittiin peittyvän kokonaan jo 360 litran tilavuudella, mutta sekoitus roiskii, joten kyseistä tilavuutta ei voida käyttää valmistuksen minimi-tilavuutena. Valmistajan ilmoittama teoreettinen minimi-tilavuus (400 L) pidettiin eräkoon minimi-tilavuutena uudella valmistusastialla. Taulukossa 8. on ilmoitettu OQ- osuuden testausten perusteella optimaalisiksi havaitut sekoitusnopeudet kullakin valmistustilavuudella.

Taulukko 8. Eri valmistustilavuuksille (Täyttö, L) optimoidut sekoitusnopeuden arvot rpm- lukuina sekä sekoittajan säätimen asetusarvoina.

Täyttö, L	Sekoitusnopeus, min-max	
	Asetusarvo	rpm- arvo
400	150-350	75-140
550	300-400	115-160
650	300-500	115-180
950	350-550	135-200
1097	450-600	165-210
1300	390-440	145-160
1600	490-540	175-185

Alle 1100 litran tilavuuksilla vain alempi sekoituslapa on nestepinnan alla. Vain yhden lavan ollessa käytössä valmistuksen maksimitilavuus on 1100 litraa ja kahdella lavalla minimi-tilavuus on 1300 litraa. 1101- 1299 litran valmistustilavuuksia ei voida käyttää tällä valmistusastialla.

## 8.2 Mittausmenetelmät

Karakterisointierien soveltuivat parhaiten spektrofotometrinen määrittäminen ja johtokyvyn mittaus. Refraktometrian sekä tiheysmittauksen soveltumattomuus tä-

mäntyyppisille näytteille johtui puskureiden liian pienestä tiheydestö, joka oli melko lähellä veden tiheyttä. Polarimetriaa olisi voitu hyödyntää suuren proteiinipitoisuuden vuoksi, sillä proteiinien sisältämät aminohapot omaavat usein kiraalisia hiiliatomeja. Näytteiden laimentamisessa tarvittavilla laimennuskertoimilla pinta- ja pohjanäytteiden väliset erot olisivat kuitenkin olleet jo niin pieniä, että niiden merkitys homogeenisuuden määrittämisessä olisi ollut mitätön.

Temperoimalla näytteet huoneenlämmössä pyrittiin minimoimaan lämpötilaeroista johtuva vaihtelu mittaustuloksissa. Erityisesti johtokykymittauksissa lämpötilavaihtelun vaikutus on merkittävä. Taulukosta 9. ilmenee eri testausmenetelmien mittaustuloksille lasketut sallittujen vaihteluvälien suuruudet, jotka perustuvat karakterisoinnissa tehtyihin mittaustuloksiin ja käytettävien mittalaitteiden spesifikaatioiden perusteella laskettuihin mittaasepävarmuusarvioihin. Vaihteluvälien suuruutta käytettiin pinta- ja pohjanäytteiden erotuksen maksimiarvona.

Taulukko 9. Pinnan ja pohjan erotukselle määritellyt maksimiarvot eri mittausmenetelmillä.

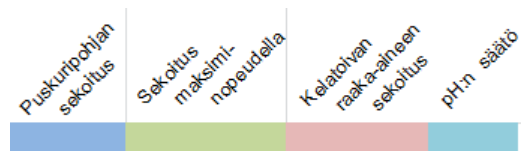
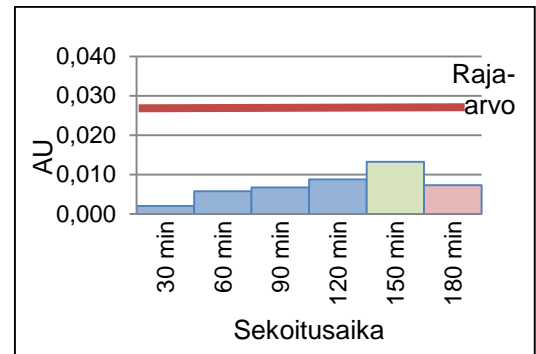
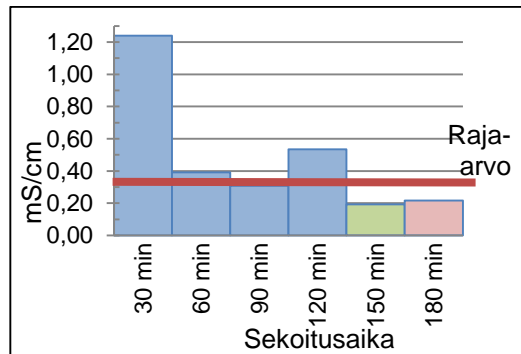
Mittausmenetelmä	Erotuksen maksimiarvo
Johtokyky	0,32 mS/cm
Absorbanssi, 279 nm*	0,026 AU
Absorbanssi, 530 nm	0,026 AU
pH	0,08 pH-yksikköä

\*279 nm absorbanssi mitattiin veteen laimennetusta näytteestä, laimennussuhde 1/10.

### 8.3 Ensimmäisen karakterisointierän tulokset

Valmistuksen aikana otettujen pinta- ja pohjanäytteiden erojen suuruutta on kuvattu pylväsdiagrammeilla, joissa mittausmenetelmille lasketut pinta- ja pohjanäytteiden maksimierot on merkitty raja-arvona. Valmistusprosessin ensimmäisen päivän sekoitusten johtokykymittausten tulokset näkyvät Kuvassa 6. Puskuripohjan sekoituksessa johtokykyero on ensimmäisessä mittauspisteessä suuri,

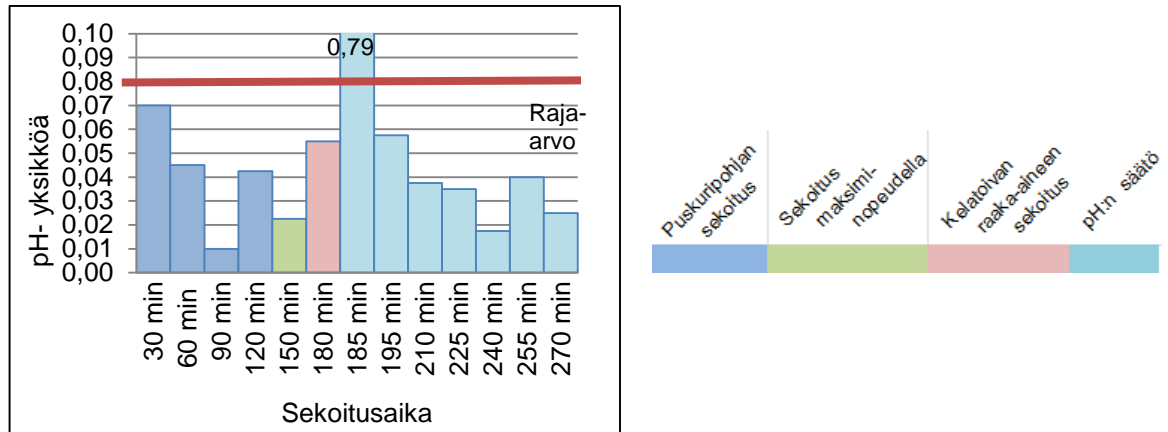
mutta tasaantuu nopeasti. Puskuripohjan sekoituksen viimeisessä mittauspisteessä 120 min sekoituksen jälkeen saatu johtokykytulos vaikuttaa poikkeavalta. Syynä saattaa olla epäedustava näyte tai mittalaitteen toimintahäiriö. Absorbanssitulokset näkyvät Kuvasta 7. Absorbanssierot ja yleisesti absorbanssiarvojen suuruus ovat tässä prosessivaiheessa matalia, sillä puskurissa ei ole paljoa absorboivaa materiaalia.



Kuva 6. Johtokykyeron suuruus 1. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 1. valmistuspäivänä.

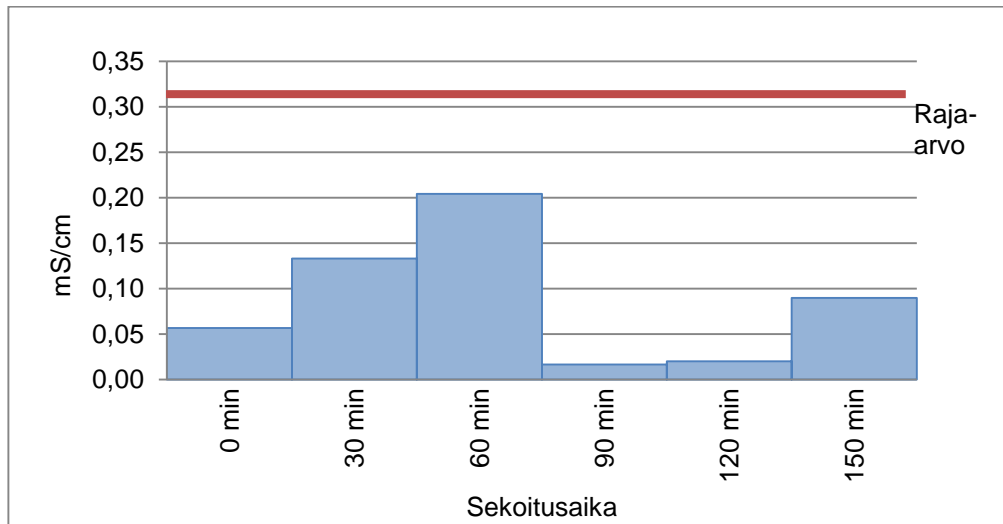
Kuva 7. Absorbanssieron suuruus 1. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 1. valmistuspäivänä.

Ensimmäisen valmistuspäivän pH-mittausten tulokset näkyvät Kuvasta 8. Kuten 120 min sekoituksen jälkeen mitattu johtokykytuloskin, myös pH-tulos näyttää poikkeavalta. Puskurin pH:n tasaantuu nopeasti happolisäyksen jälkeen, mikä osoittaa sekoituksen toimivan tehokkaasti. Ensimmäinen mittauspiste on juuri happolisäyksen kohdalla, jonka jälkeen pH mitattiin 15 minuutin välein. Kelatoivan raaka-aineen lisäyksen aiheuttamaa pH:n nousua ei osata näiden mittaus tulosten perusteella selittää.



Kuva 8. pH- eron suuruus 1. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 1. valmistuspäivänä.

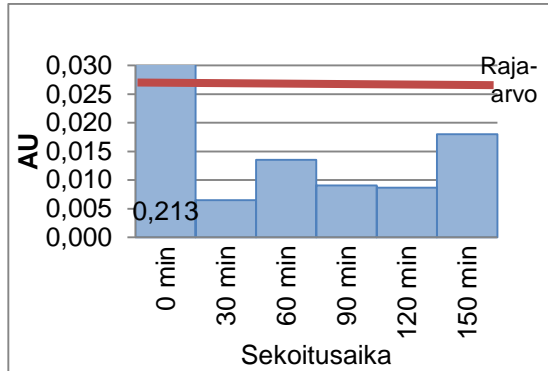
Loppuraaka-aineiden lisäystä seuranneen 16 h seisotuksen jälkeen sekä seuraavan prosessivaiheen sekoituksen aikana tehdyt mittaukset nähdään Kuvista 9.-11. Johtokykymittausten tulokset seisotuksen päättäneen 2 h sekoituksen aikana nähdään Kuvasta 9., joka osoittaa johtokykyeron pysyvän melko pieninä.



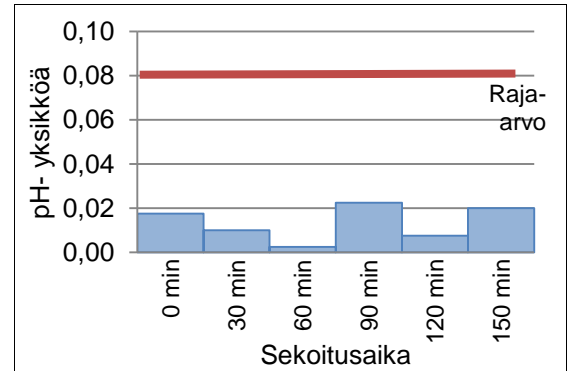
Kuva 9. Johtokykyeron suuruus 1. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 2. valmistuspäivän ensimmäisessä sekoituksessa.

Kuvasta 10. nähdään absorbanssieron olevan korkea ennen sekoituksen alkua 0 min mittauspisteessä. Ero kuitenkin tasoittuu hyvin nopeasti. Tämä kertoo

sekoituksen tehokkuudesta. Kuvasta 11. ilmenevät pH-erot olivat valmistusprosessin toisena päivänä hyvin tasaisia.

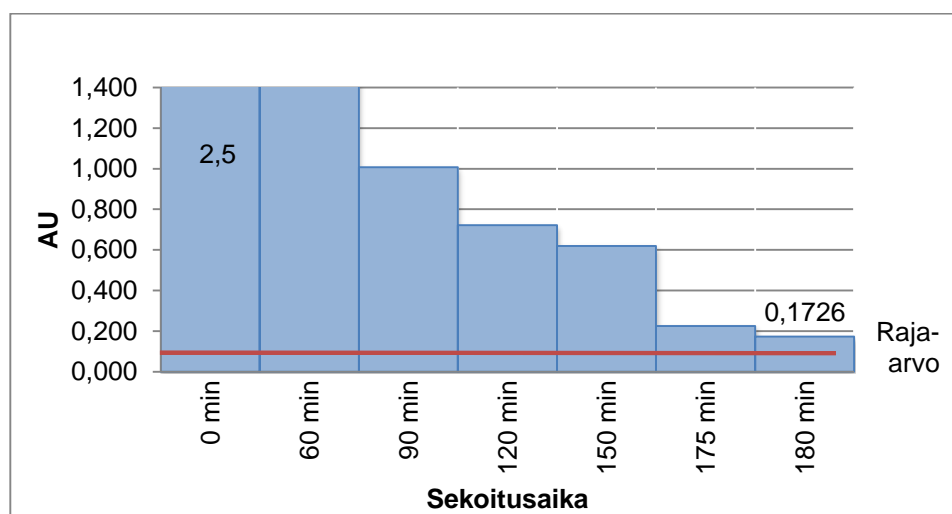


Kuva 10. Absorbanssieron suuruus 1. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 2. valmistuspäivän ensimmäisessä sekoituksessa.



Kuva 11. pH-eron suuruus 1. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 2. valmistuspäivän ensimmäisessä sekoituksessa.

Väriaineen lisäyksen jälkeen absorbanssia mitattiin vain aallonpituudella 530 nm laimentamattomasta näytteestä eikä johtokyky- tai pH-mittauksia enää tehty. Väriin liuottaminen osoittautui oletettua haasteellisemmaksi eikä absorbanssimittauksilla saatu toisena valmistuspäivänä maksimieron alle osuvia tuloksia. Kuvasta 12. havaitaan absorbanssieron kuitenkin pienenevän tasaisesti.



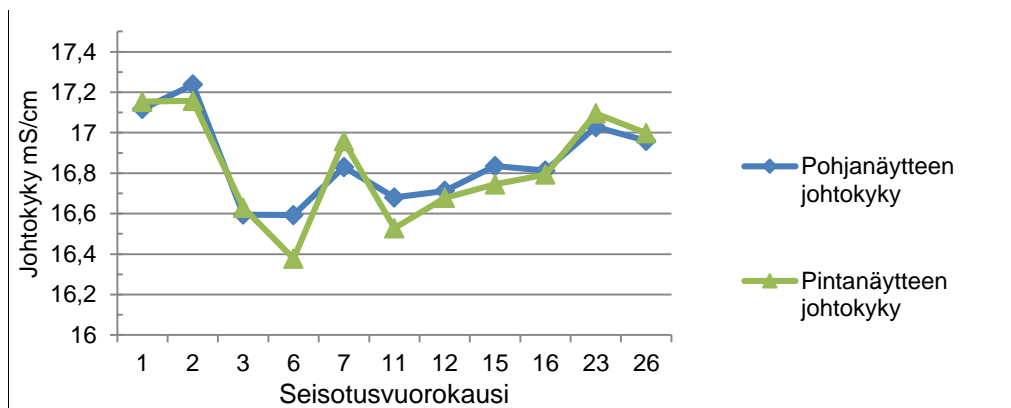
Kuva 12. Absorbanssieron suuruus 1. karakterisointierän värin sekoituksen aikana.



Väriaineen odotettua hitaampaa liukenemistä ei voitu selittää muiden tulosten nojalla, koska väriaineen lisäyksen jälkeen muita mittauksia ei enää tehty. Havaintoa ei kuitenkaan alettu tässä yhteydessä tutkimaan perusteellisemmin. Väriaineen sekoitusta edeltävän sekoituksen mittauspisteissä saadut tulokset osoittavat liuksen olevan homogeenista.

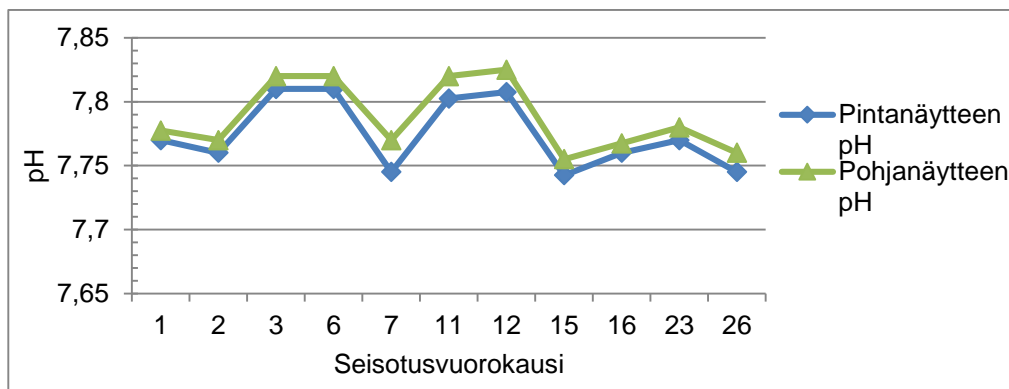
Kuvissa 13.–16. on esitetty 26 vuorokauden seisotuksen aikana mitatut pinta- ja pohjanäytteiden mittaustulokset. Tulosten keskinäistä korrelointia on havainnollistettu viivadiagrammina. Viivadiagrammeissa jokainen tulos piste on kolmen rinnakkaisen mittaustuloksen keskiarvo. Puskurin voitiin tulosten perusteella todeta säilyvän homogeenisena valmistusastiassa jopa 26 vrk ajan.

Kuvassa 13. nähdään pinta- ja pohjanäytteiden johtokykyarvojen tiivis korrelointi.



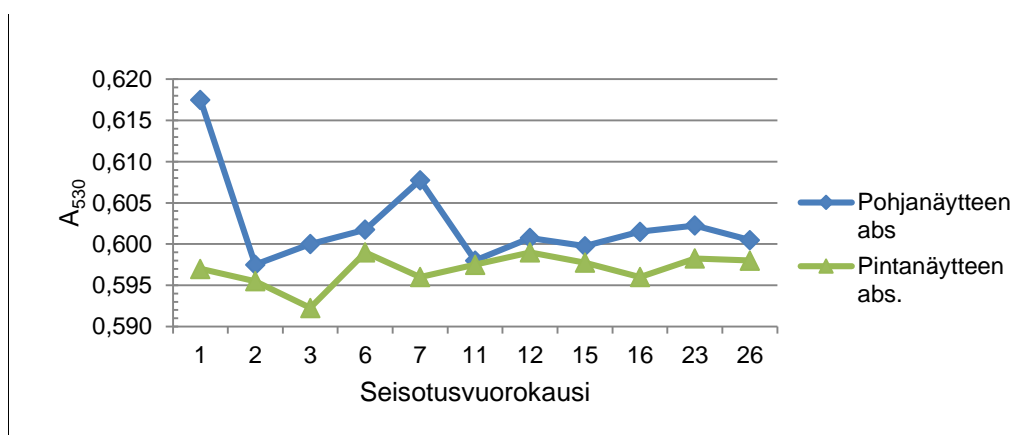
Kuva 13. Pinta- ja pohjanäytteiden johtokykyarvojen muutos 1. karakterisointierän seisotuksen aikana.

Myös Kuvassa 14. pH- arvojen vaihtelu tapahtuu eri mittauspisteissä yhtä paljon ja samaan suuntaan, joten heittelyn voidaan päätellä johtuvan mittausmenetelmästä tai näytteenotosta.



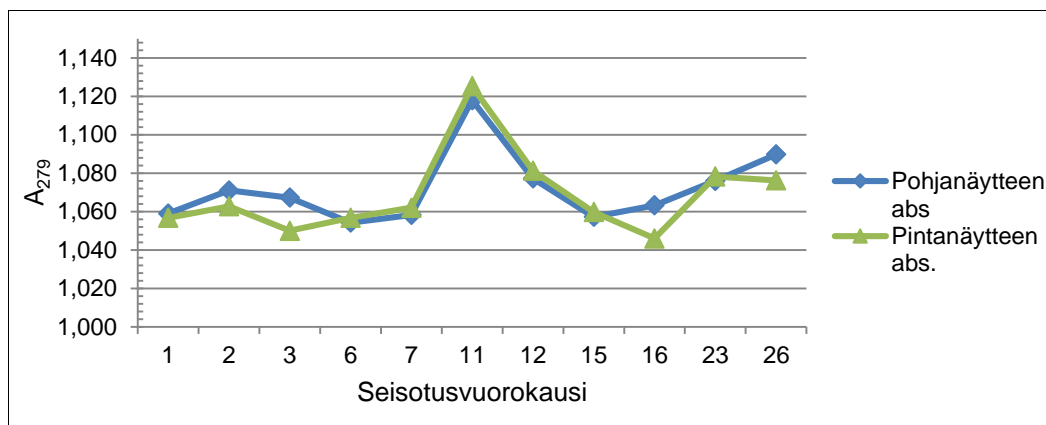
Kuva 14. Pinta- ja pohjanäytteiden pH-arvojen muutos 1. karakterisointierän seisotuksen aikana.

Kuvasta 15. nähdään myös selvästi väriaineen lisäyksen haasteellisuus, sillä pinnan ja pohjan välinen 530 nm absorbanssiero on edelleen ensimmäisenä seisotuspäivänä suuri, vaikkakin alle erotuksen maksimiarvon. Tuloksista nähtävä heittely saattaa selittyä menetelmän toiminnan häiriöllä tai epäedustavilla näytteillä, mutta yksityiskohtaisia syitä ei lähdetty erikseen selvittämään.



Kuva 15. Pinta- ja pohjanäytteiden absorbanssin (530 nm) muutos 1. karakterisointierän seisotuksen aikana.

Kuvasta 16. huomataan 279 nm absorbanssin pysyvän seisotuksen aikana tasanaisena, lukuun ottamatta seisotuspäivän 11 tulosta. Kyseisen mittauspisteen näytteessä on saattanut olla vikaa tai mittauksessa jotakin laitteen toimintaa häiritsevää. 279 nm absorbanssin mittaustulosten heittely on melko vähäistä huomioiden laimennuskertoimen (10) tuoman lisän mittausepävarmuuteen.



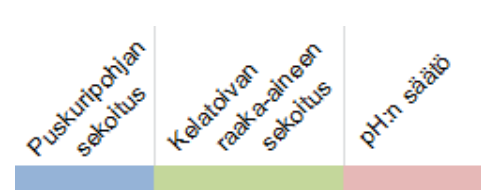
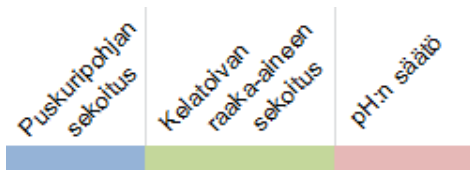
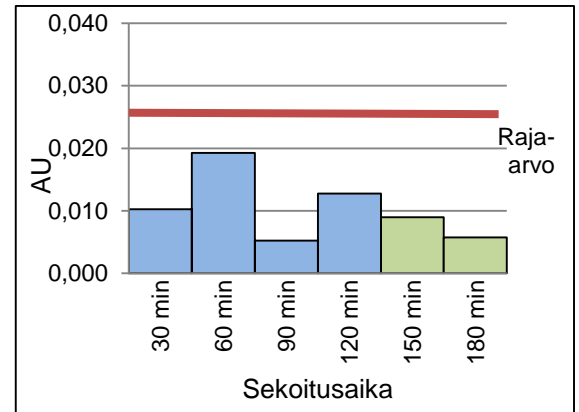
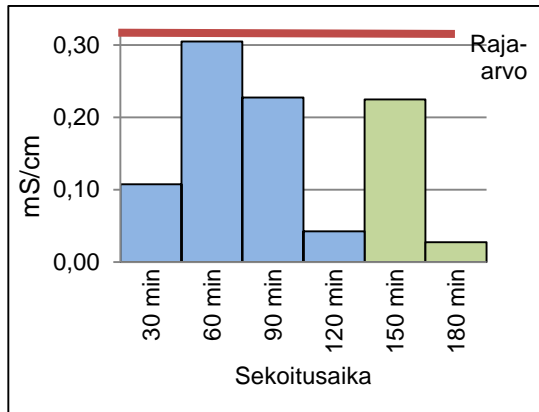
Kuva 16. Pinta- ja pohjanäytteiden absorbanssin (279 nm) muutos 1. karakterisointierän seisotuksen aikana.

Ensimmäisestä karakterisointierästä pullotetuista näytteistä tehtyjen kombinaatiotestausten perusteella todettiin, ettei uuden valmistusmittakaavan astialla ole vaikutusta lopputuotteen toimivuuteen. Myöskään vastavalmistetulla ja seisotetulla puskurilla ei havaittu olevan eroa.

#### 8.4 Toisen karakterisointierän tulokset

Valmistuksen aikana otettujen pinta- ja pohjanäytteiden erojen suuruutta on kuvattu pylväsdiagrammeilla, joissa mittausmenetelmille lasketut pinta- ja pohjanäytteiden maksimierot on merkitty raja-arvona. Kuvissa 17.–19. on esitetty yhteenvedot pohjan ja pinnan välisten erojen muutoksesta valmistusprosessin ensimmäisen päivän sekoitusten aikana. Kuvasta 17. nähdään toisen karakterisointierän ensimmäisen valmistuspäivän sekoitusten mittaustulokset. Puskuripohjan sekoituksen 60 min mittauspisteessä havaittava johtokykyeron kasvu johtuu todennäköisesti epäedustavasta näytteestä tai kennon epätasapainosta. Uusintanäytteiden ottaminen karakterisointierien valmistuksen aikana oli mahdotonta, koska mittauspisteen sekoitusaika ei olisi tällöin enää sama.

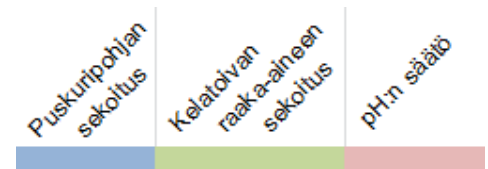
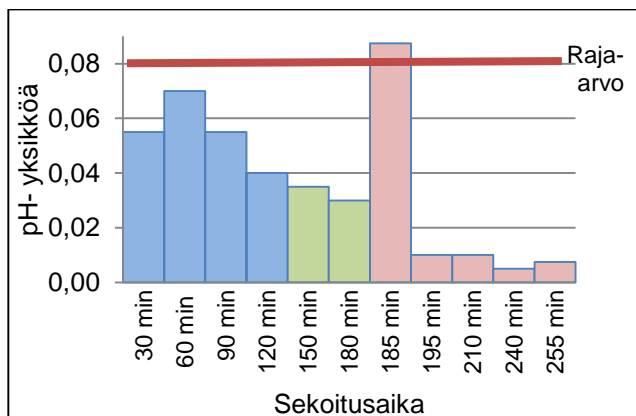
Kuvasta 18. nähtävät 205 nm absorbanssin mittaustulokset ovat keskenään melko tasaisia.



Kuva 17. Johtokykyeron suuruus 2. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 1. valmistuspäivän sekoituksissa.

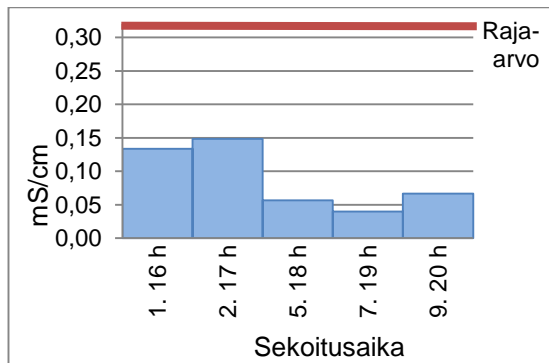
Kuva 18. Absorbanssieron suuruus 2. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 1. valmistuspäivän sekoituksissa.

Kuvasta 19. havaitaan selkeästi hapon lisäyksen jälkeen pinnan ja pohjan pH-eron tehokas tasoittuminen. pH:n säädön 185 min mittauspisteessä eli heti hapon lisäyksen jälkeen pH-ero on todella korkea, mutta tasaantuu nopeasti sekoituksen edetessä.

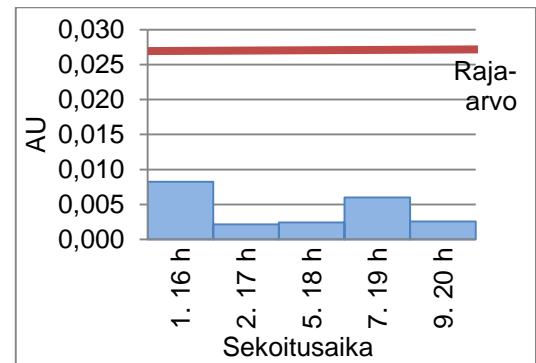


Kuva 19. pH-eron suuruus 2. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 1. valmistuspäivänä

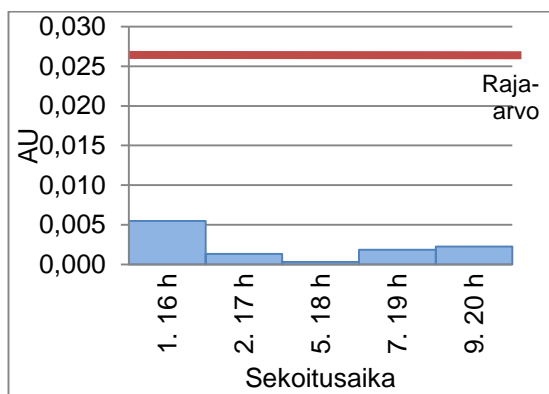
Loppuraaka-aineiden lisäyksen jälkeen sekoitus jätettiin päälle 20 h ajaksi. Näytteitä otettiin 16–20 h mittauspisteissä. Tuloksissa ei ollut kovin suurta vaihtelevuutta ja pinnan ja pohjan väliset erot olivat pieniä, kuten nähdään Kuvista 20.-23. Koska ensimmäisessä karakterisointierässä tehdyn poikkeuksellisen väriainelisäyksen huomattiin tuottavan ongelmia, voitiin toisen karakterisointierän tulosten perusteella varmistua siitä, että toisena päivänä tehtävä väri lisäys ei ole tarkoituksenmukaista. Kuvissa 20. ja 23. nähtävät pinta- ja pohjanäytteiden erot näyttävät hyvin pieniltä.



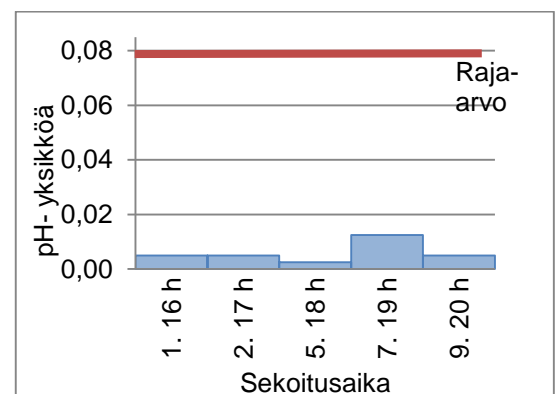
Kuva 20. Johtokykyeron suuruus 2. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 2. valmistuspäivän mittauspisteissä.



Kuva 21. Absorbanssieron (279 nm) suuruus 2. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 2. valmistuspäivän mittauspisteissä.



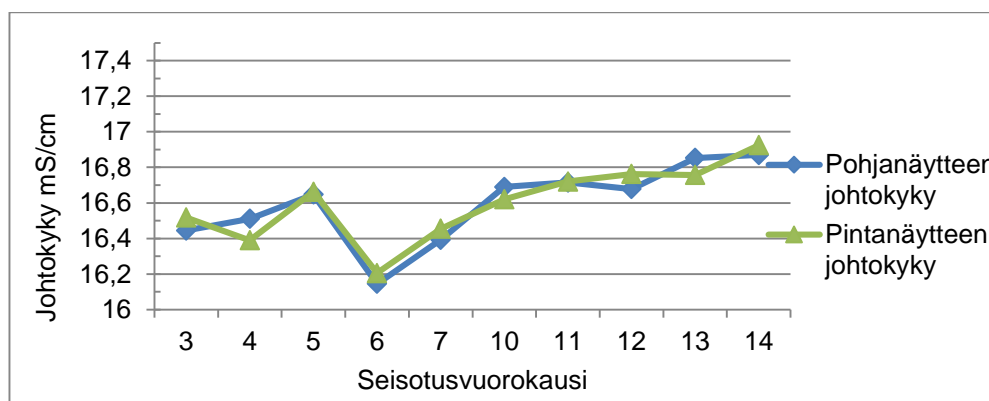
Kuva 22. Absorbanssieron (530 nm) suuruus 2. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 2. valmistuspäivän mittauspisteissä.



Kuva 23. pH-eron suuruus 2. karakterisointierän pinta- ja pohjanäytteiden välillä 2. valmistuspäivän mittauspisteissä.

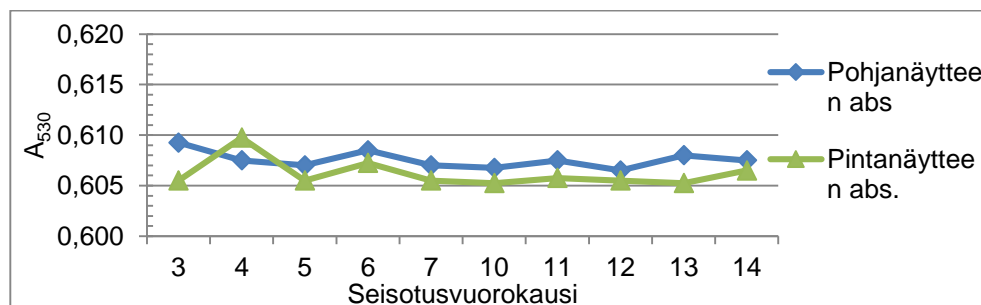
Toisen valmistuserän seisotusseurannan tulokset nähdään Kuvista 24.–27. Seisotuksen aikana tehtyjen mittausten tuloksista tehtiin viivadiagrammit havainnollistamaan pinta- ja pohjanäytteiden tulosten korrelointia ja muutosta seisotuksen aikana. Tulosten perusteella voitiin todeta puskurin säilyvän homogeenisena valmistusastiassa. Ensimmäisessä karakterisointierässä oli homogeenisuuden pysyvyyttä seurattu 27 vrk ajan, joka on reilusti puskurien normaalia varastointiaikaa pidempi aikaväli. Toisessa karakterisointierässä ei nähty tarpeelliseksi seurata homogeenisuuden pysyvyyttä näin pitkään.

Kuvan 24. johtokykytulokset näyttävät tasaisilta ja korreloivilta.



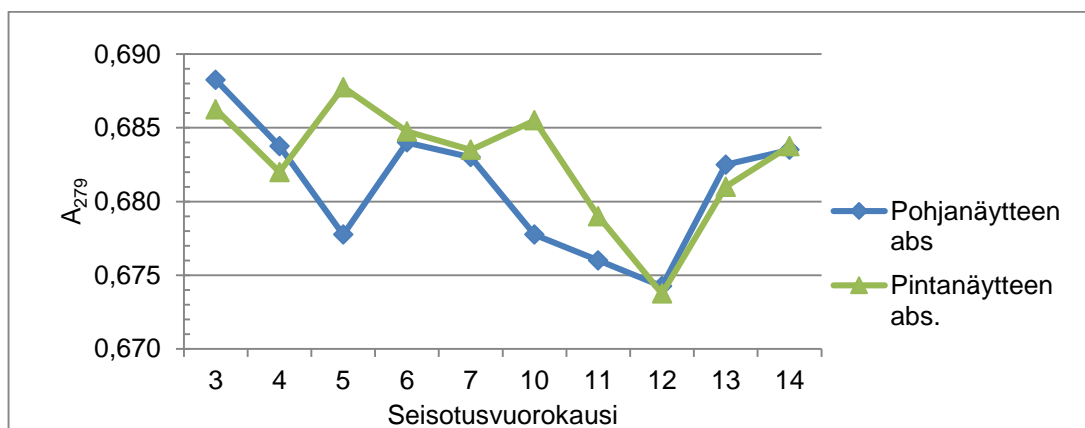
Kuva 24. Pinnan ja pohjan johtokykyarvojen keskinäinen korrelointi 2. karakterisointierän seisotuksen aikana.

Kuvassa 25. nähtävä pintanäytteen absorbanssin heitto ensimmäisten seisotuspäivien kohdalla on todennäköisesti epäedustavasta näytteestä johtuvaa heittelyä.



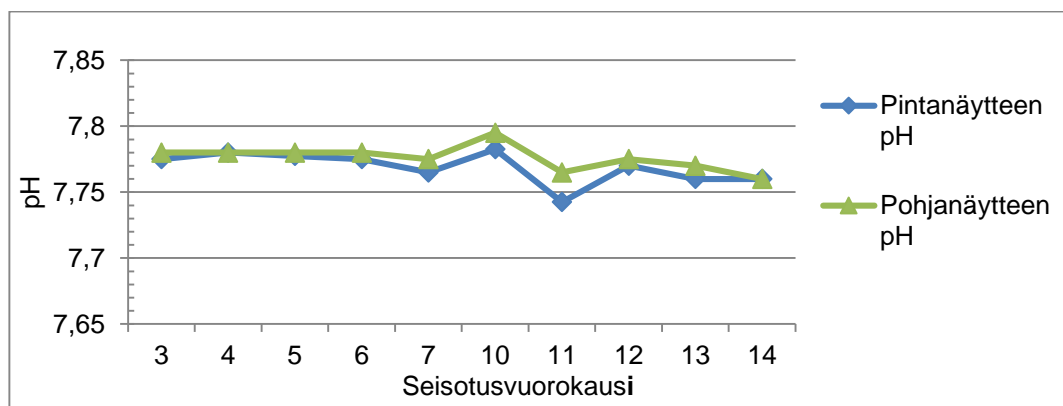
Kuva 25. Pinnan ja pohjan absorbanssiarvojen (530 nm) keskinäinen korrelointi 2. karakterisointierän seisotuksen aikana.

Kuvasta 26. ilmenevässä 279 nm absorbanssin kuvaajassa on seisotuspäivien 5 ja 10 tuloksissa pinnan ja pohjan välinen ero suurempi kuin muissa tuloksissa. Muiden tulosten nojalla ei ole syytä epäillä puskurin homogeenisuuden pysyvyyttä, vaan epätavalliset tulokset saattavat johtua esim. näytteiden laimentamisessa tapahtuneesta virheestä tai mittalaitteen toimintahäiriöstä.



Kuva 26. Pinnan ja pohjan absorbanssiarvojen (279 nm) keskinäinen korrelointi 2. karakterisointierän seisotuksen aikana.

Kuvan 27. pH- arvot ovat tasaisesti korreloivia.



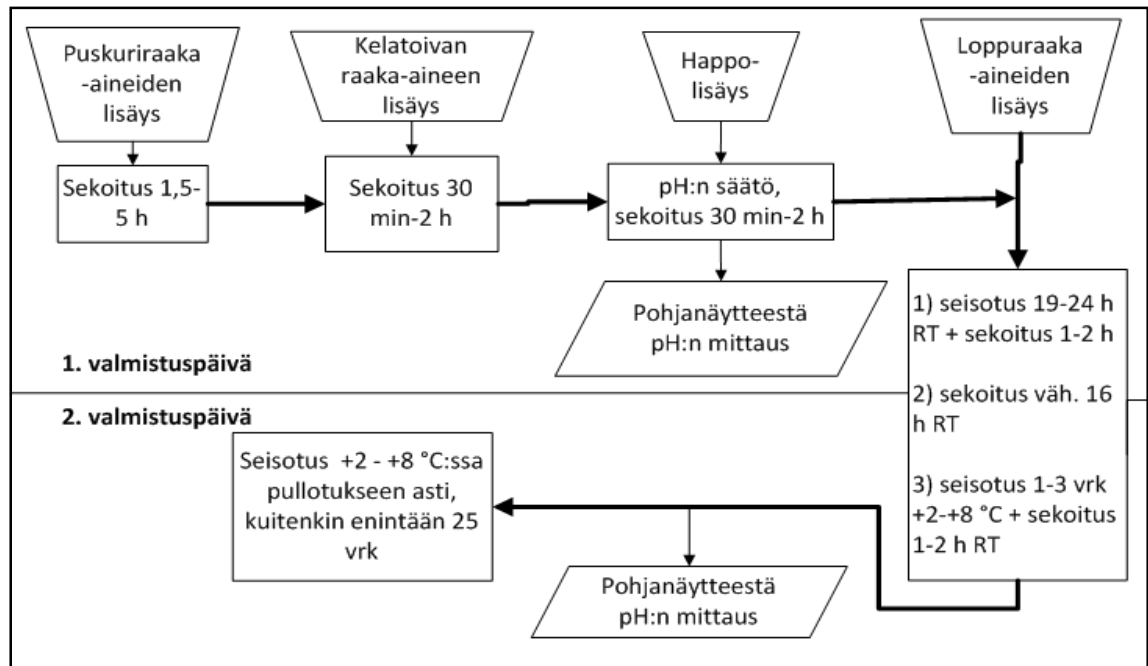
Kuva 27. Pinnan ja pohjan pH- arvojen keskinäinen korrelointi 2. karakterisointierän seisotuksen aikana.

Kuten ensimmäisessä karakterisointierässä, kombinaatiotestausten tulosten perusteella todettiin uudella valmistusastialla valmistetun puskurin toimivan tuotteelle asetettujen vaatimusten mukaisesti. Myöskään seisotuksella ei ollut vaikutusta puskurin toimintaan.

## 8.5 Päätelmät

Ensimmäisen ja toisen karakterisointierän tulosten perusteella voidaan osoittaa uuden, suuremman valmistusastian olevan soveltuva DELFIA- puskureiden valmistukseen. Kahdessa karakterisointierässä käytetyt valmistusprosessivaihtoehdot edustivat haastavimpia tilanteita, joten näiden tulosten perusteella ei ole estettä myös kolmannen valmistusprosessivaihtoehdon käytölle. Prosessin parametreihin ei tullut merkittäviä muutoksia karakterisoinnin perusteella. Karakterisoinnin tuloksia tullaan hyödyntämään tulevassa validoinnissa, jossa validointieriä tulee olemaan vähintään kolme. Validoinnissa tullaan tekemään myös eräohjeisiin tarvittavat muutokset, joissa tarkennetaan eri prosessivaiheissa käytettävät sekoitusnopeudet ja –ajat eri valmistustilavuuksilla. Haasteeksi saattaa nousta selkeän sekoitusnopeusohjeistuksen koostaminen sellaisissa tilanteissa, joissa prosessin alkuvaiheessa lisättävällä vesimäärällä ainoastaan alempi sekoituslapa on käytössä, mutta loppuvaiheessa lisättävä vesimäärä kohottaa nestepinnan myös ylemmän lavan yläpuolelle. Kuvasta 28. ilmenevässä valmistusprosessin lohkokaaviossa on kuvattu soveltuvaksi havaitut sekoitusajat suuremmalla eräkoolla. Sekoitusnopeudet ovat tilavuuskohtaisia (Taulukko 8.).





Kuva 28. Karakterisoinnin tulosten pohjalta soveltuvaksi todetun valmistusprosessin lohkokaavio.

## 8.6 Riskinarviointi

Eräkoon kasvatuksen riskinarvioinnissa tarkasteltiin riskin suuruutta numeerisena arvona, riskilukuna. Perustana on tarkastella eräkoon kasvatuksen tuomaa riskiä prosessin tai sen osien onnistumiselle. Mahdollisten ongelmien vaikutus sekä vaikutuksen vakavuus tuotteelle, tuottavuudelle, henkilökunnalle tai tuotantolaitteille arvioidaan lukuarvona. Riskinhallinnan toimien tehokkuus varmistetaan validoinnissa. Tästä syystä jäännösriskiä eli toimien jälkeen prosessiin kohdistuvaa riskiä ei määritely, vaan jäännösriskin suuruus arvioidaan validoinnissa. pFMEA- riskinarvioinnissa käytetty taulukkomalli ja riskilukujen laskenta ilmenee Taulukosta 10.

Taulukko 10. Puskureiden eräkoon kasvatuksen Process Failure Mode and Effect Analysis eli pFMEA.

RISKI	VAIKUTUS	VAKAVUUS x ESIINTYMISEN TODENNÄKÖISYYS x HAVATTAVUUS = RISKILUKU	RISKINHALLINTATOIMET TULEVASSA VALIDOINNISSA	JÄÄNNÖSRISKI: VAKAVUUS x ESIINTYMISEN TODENNÄKÖISYYS x HAVATTAVUUS = RISKILUKU
Suuret raaka-ainemäärät (esim. BSA) eivät liukene.	Valmistusprosessi saattaa pitkittyä.	$2 \times 3 \times 1 = 6$	Karakterisoinnissa PL14-5661k käytettiin raaka-aine "kakun" liuottamiseen suurempaa vesimäärää kuin nykyisessä prosessissa, jolloin ongelmaa ei havaittu. Tarvittava veden määrä tullaan optimoimaan validoinnissa.	N/A
Puskuri ei ole homogeenista valmistusprosessin päätyttyä.	Pullotettu puskurierä on epätasalaatuista.	$3 \times 2 \times 1 = 6$	Karakterisoinnissa PL14-5661k on pinta- ja pohjanäytteiden mittausten perusteella todettu puskurin olevan homogeenista. Validoinnissa homogeenisuus tullaan todentamaan karakterisoinnissa käytettyjen mittausten lisäksi tiheysmittauksella.	N/A
Puskuri ei säily homogeenisena 14 vrk varastoinnin ajan/pullotukseen saakka.	Pullotettu puskurierä on epätasalaatuista tai eri pullotuserien välillä on vaihtelevuutta.	$3 \times 2 \times 1 = 6$	Karakterisoinnissa PL14-5661k on seisotuskokeissa mitattujen pinta- ja pohjanäytteiden perusteella todettu, että puskurin säilyminen homogeenisena jopa 27 vrk ajan. Validoinnissa homogeenisena säilyminen tullaan todentamaan karakterisoinnissa käytettyjen mittausten lisäksi tiheysmittauksella.	N/A

## 9 YHTEENVETO

DELFLIA- puskureiden eräkoon kasvatuksessa ei voitu olettaa samojen prosessiparametrien toimivan samalla tavalla sekä nykyisessä validoidussa mittakaavassa, että suuremmassa. Puskureiden sisältämät biologiset materiaalit eivät kestä suurta mekaanista rasitusta, joten prosessiparametrien optimointi oli tärkeää. DELFLIA- puskureiden raaka-ainepitoisuuksien kartoituksen perusteella voitiin osoittaa tiettyjen puskureiden olevan koostumukseltaan niin samanlaisia, että kahdessa karakterisointierässä saatuja tuloksia voidaan yleistää eri puskurituotteisiin. Suurimman tuotantovolyymien omaavilla puskureilla eräkoon kasvatuksella saavutettava kustannussäästö on useita tuhansia euroja vuosittain.

Uusi valmistusastia kvalifioitiin ja suuremman mittakaavan valmistusprosessia tutkittiin karakterisoinnilla. Kvalifioinnin tuloksena todettiin uuden valmistusastian olevan oikein asennettu ja toimivan tarkoituksenmukaisesti. OQ- osiossa tehtyjen havaintojen pohjalta muodostettiin alustava ohjeavotaulukko eri täyttötilavuuksille soveltuvista sekoitusnopeuksista, joiden lopullinen ohjeistus tulee tarkentumaan myöhemmin validoinnissa.

Karakterisoinnissa valmistettiin kaksi koe-erää, joiden avulla tarkasteltiin sekoituksen tehokkuutta ja prosessin toimivuutta. Karakterisointierissä valmistettavat puskurit valittiin DELFLIA- puskureiden raaka-ainekoostumuksen vertailun perusteella, josta valittiin riskialttiimmat puskurituotteet. Karakterisointierien testausta varten etsittiin puskureille soveltuvat testimenetelmät, joista soveltuviksi osoitettiin pH:n mittaus, absorbanssin mittaus sekä johtokyvyn mittaus.

Karakterisoinnista saatujen mittaustulosten analysoinnin perusteella uuden valmistusastian todettiin olevan soveltuva tuottamaan puskureita niille asetettujen spesifikaatioiden mukaisesti. Jo käytössä olevan valmistusprosessin parametreihin ei karakterisoinnin tulosten perusteella ole tarvetta tehdä merkittäviä muutoksia. Karakterisoinnin tuloksia hyödynnetään myöhemmin validoinnissa.

## 10 LÄHTEET

1. PerkinElmer. (2015). About Us: PerkinElmer Company. Viitattu: 04.02.2015. [www.perkinelmer.com](http://www.perkinelmer.com) > corporate > company > about us
2. Wallac Oy. (2013) Wallac Oy:n intranet. 2013. Viitattu: 30.01.2015
3. PerkinElmer. (2015). DELFIA time-resolved fluorescence assays. <http://www.perkinelmer.com> > products > solutions > technologies > clinical screening and diagnostics
4. Wallac Oy. (2014). hTSH diagnostiikkakitin insertti.
5. Lehtonen, Pekka O. pH- ja ISE- mittaukset. (1998). Oy Edita Ab.
6. Huber, Ludwig. (2007). Validation and Qualification in Analytical Laboratories. Second Edition. Informa Healthcare Inc.
7. Fagerström, Ann-Christine ja Sahlberg, Heli. (2014) Wallac Oy:n Laatu järjestelmä. Wallac Oy.
8. ISO 13485:2003. (2015) Medical devices -- Quality management systems -- Requirements for regulatory purposes.
9. Euroopan Parlamentti ja Euroopan Unionin Neuvosto. (1998) Direktiivi 98/79/EY.
10. Food and Drug Administration (2014) .Code of Federal Regulations.
11. Boedecker, Bern. (2009) EU GMP Regulations.
12. Hiob, Michael. (2012) Principles of Change Control. GMP Publishing.
13. Gould, Tony. (2014) Quality Risk Management. World Health Organization.
14. European Commission.(2001) Annex 15: Qualification and Validation, EU Guide to Good Manufacturing Practice. Brussels.

15. Food And Drug Administration. (2011) Guidance for Industry, Process Validation: General Principles and Practices.
16. Wallac Oy. (2015) .Wallac Oy:n Kvalifiointimenettely.
17. Wallac Oy (2015).Wallac Oy:n Validointipolitiikka.
18. Elson, Tim. (2007) Concepts of Chemical Engineering 4 Chemists (e-julkaisu). Chapter 6: Scale-Up in Chemical Engineering. s- 171-175. Cambridge
19. Nauman, E. Bruce. (2008) Scaling Factors for Liquid Phase Stirred Tanks. Chemical Reactor Design, Optimization and Scaleup, 2.nd Edition (e-julkaisu). s. 142-144. Wiley-Interscience.
20. Jokinen, Mika.(2014) Prosessitekniikka III. Turun Ammattikorkeakoulu, 2014.
21. Testo.(2015) rpm measuring instrument. Viitattu: 23.02.2015. [www.testo-international.com](http://www.testo-international.com) > measuring instruments
22. Kenkel, John. (2003). Analytical Chemistry for Technicians. Physical Testing Methods. s. 427-429. Lewis Publishers.
23. Anton Paar.(2015). Determination of density using the oscillating U-tube method by Anton Paar Oscillating U-tube Method. Viitattu: 15. 3 2015.] <http://www.anton-paar.com> > products > density-meter
24. Jaarinen, Soili ja Niiranen, Jukka. (1995) Laboratorion Analyysitekniikka. s. 51-63. Edita.
25. Sihvonen, Marja-Liisa ja Lehtonen, Pekka O. (2004). Laboratorioalan analyttinen kemia. s. 203-204 Opetushallitus.
26. Ekomuovi. (2013) Kemikaalitankin laitekirja. Wallac Oy.

## DELFIA- puskureiden ominaisuuksien ja tuotantohistorian kartoituksessa kootut tiedot

Tiedot DELFIA- puskureiden koostumuksesta kerättiin Liuosvalmistus- osaston omista tiedostoista yrityksen sisäisestä verkosta. Ilmoitetut raaka-aineiden määrät ovat koskevat yhtä litraa tuotetta. Tuotantohistorian tiedot kerättiin SAP- tuotannonohjausjärjestelmästä, jossa voidaan hakea tietoa tuotetuista eristä tietyllä aikavälillä. Haussa käytetty aikaväli oli vuoden 2013 alusta vuoden 2014 loka-kuuhun. Tiedot taulukoitiin (Taulukko 11.) ja niiden perusteella arvioitiin puskuri-kohtaista tuotantomittakaavan kasvatuksen tarvetta.

Taulukko 11. DELFIA- puskureiden raaka-ainepitoisuuksia ja tuotantohistoriaa.

Raaka-aineen nro.	Puskurin koodi							Yksikkö/L
	V	W	Y	Z	O	X	A	
1	3000	3000	3000	3000	3000	3200	3200	µL
2	500	500	500	500	500	500	500	mg
3	20	20	20	20	20	20	20	mg
4	5.00	5.00	10.00	5.00		15.00	15.00	g
5	6056	6056	6100	6056	6055	6056	6056	mg
6	9000	9000	7800	9000	9000	9000	9000	mg
7	500	500		500		500	500	mg
8		109	10.0	109		109	109	mg
9	109							mg
10							3.75	mg
11							3.75	mg
12	10.00	10.00					3.75	mg
13	1.00	1.00					1.00	mg
14	5.00	5.00						mg
15			1.30			15.68	15.68	mg
16			5.00			10.00	10.00	g
17			0.30					mg
18			0.10					mL
Valmistetut erät	10 kpl 320 L	3 kpl 425 L	16 kpl 610 L	1 kpl 458 L	6 kpl 208 L	32 kpl 671 L	11 kpl 183 L	KA.
		3 kpl 156 L	4 kpl 510 L	2 kpl 92 L	1 kpl 379 L	7 kpl 663 L	2 kpl 244 L	
	3 kpl 423- 422 L		8 kpl 366 L	3 kpl 227-293 L	1 kpl 449 L	3 kpl 610 L		
	1 kpl 180 L			1 kpl 167 L	3 kpl 520 L	5 kpl		
1 kpl 480 L			1 kpl 310 L	2 kpl 196 L	255-488 L			
Valmistettu yht. L	5,126	1,743	14,728	1,929	4,028	29,089	2,501	<b>8449</b>
Eriä yhteensä, kpl	15	6	29	8	13	51	13	<b>19</b>
Valmistusfrekvenssi kuukaudessa	0.68	0.27	1.32	0.36	0.59	2.32	0.59	<b>0.88</b>
Min-max eräko, L	4-675 L							
Liuosryhmä	2.a)							

## OQ- testauksen tulokset

OQ- osuuden mittausdata sekä visuaaliset havainnot koottiin yhteen taulukkoon (Taulukko 12). Visuaalisen havainnoinnin perusteella määriteltyjen tilavuuskoh-  
taisia sekoitusnopeuksia käytettiin lähtökohtana sekoituksille karakterisointieris-  
sä.

Taulukko 12. Kvalifioinnin OQ- testauksessa tehdyt rpm- mittaukset sekä visu-  
aaliset havainnot.

Tilavuus, L	Nopeuden- säätimeen asetettava	Mitattujen rpm-arvojen ka.	rpm-arvot			Visuaaliset havainnot sekoituksen tehok- kuudesta
			1	2	3	
400 (vain alalapa käytössä)	100	64.9	65.1	64.5	65.0	Ei riittävän tehokas
	150	74.7	74	75.2	75.0	Normaali
	200	90.2	89.9	91.1	89.7	Normaali
	250	106.0	106.7	105.6	105.6	Tehokas
	350	136.7	137.2	135.5	137.5	Tehokas
	400	152.3	150.8	153.4	152.8	Neste roiskuu ja vaah- dottuu liikaa
550 (vain alalapa käytössä)	250	106.9	106.9	106.8	107.0	Ei riittävän tehokas
	350	136.4	136.6	136.3	136.2	Normaali
	400	150.7	150.7	149.9	151.6	Tehokas
	470	174.1	174.8	174.4	173.2	Neste roiskuu ja vaah- dottuu liikaa
650 (alalapa n. 20 cm pinnan alla)	260	108.8	109.5	109.5	107.5	Ei riittävän tehokas
	325	128.7	127.9	129.1	129.2	Normaali
	480	176.8	176.4	177.6	176.3	Tehokas
	510	184.9	185.5	184.1	185.0	Tehokas
950 (pinta n. 15 cm ylälavan ala- puolella)	250	105.3	104.0	105.0	106.8	Ei riittävän tehokas
	350	135.3	135.7	135.2	135.1	Normaali
	535	190.8	190.0	190.7	191.6	Tehokas
	615	215.7	216.5	215.8	214.9	Neste roiskuu ja vaah- dottuu liikaa
1097 (pinta aivan ylä-lavan alapuo- lella)	350	135.7	135.2	134.9	137.0	Ei riittävän tehokas
	450	165.9	166.2	164.8	166.6	Normaali
	590	207.9	207.4	208.9	207.5	Tehokas
	635	222.6	224.1	222.7	220.9	Neste roiskuu ja vaah- dottuu liikaa
1300 (ylälapa n.15 cm pinnan alla)	250	105.6	105.0	106.8	104.9	Ei riittävän tehokas
	390	147.1	146.2	148.3	146.7	Normaali
	450	164.3	162.9	165.5	164.5	Tehokas
1600 (ylälapa n. 30 cm pinnan alla)	300	120.5	119.0	121.4	121.2	Ei riittävän tehokas
	490	175.7	174.7	178.3	174.1	Tehokas
	560	196.1	196.9	194.9	196.6	Neste roiskuu ja vaah- dottuu liikaa