

Sanitizzazione: innovazione nella determinazione dell'ozono residuo

Con l'aggiornamento del suo analizzatore per disinfettanti, Swan Analytische Instrumente AG risponde a un'esigenza pressante dell'industria farmaceutica: la misura accurata e affidabile dell'ozono nei sistemi di stoccaggio e distribuzione dell'acqua pura e ultrapura.

La sanitizzazione con ozono è un metodo standard per proteggere i sistemi di stoccaggio e distribuzione di acqua pura e ultrapura fredda dalla contaminazione microbica. Tuttavia, un'implementazione affidabile e sicura richiede la determinazione precisa dell'ozono in tutti i punti di campionamento pertinenti: occorre infatti assicurare continui e sufficienti livelli di ozono nel serbatoio, un'efficiente sanitizzazione periodica del sistema di distribuzione e la completa distruzione dell'ozono prima di utilizzare l'acqua nei processi di produzione farmaceutica.

Swan Analytische Instrumente AG, punto di riferimento nel panorama della strumentazione on-line per l'analisi nei settori dell'acqua pura e ultrapura, ha recentemente apportato rilevanti modifiche al suo analizzatore per disinfettanti Monitor AMI Codes-II, per

rispondere a un'esigenza sempre più pressante dell'industria farmaceutica: la misura, accurata e affidabile, dell'ozono nei sistemi di stoccaggio e distribuzione dell'acqua pura e ultrapura (PW e HPW).

La produzione di acque pure nel settore farmaceutico

PW (Pure Water), HPW (Highly Purified Water) e WFI (Water For Injection) sono differenti tipologie d'acqua che vengono prodotte e immagazzinate in vari step della produzione farmaceutica. Le principali caratteristiche inerenti le acque PW e WFI sono state globalmente armonizzate e indicate da tutte le farmacopee (USP, EP e JP), mentre solo la farmacopea europea specifica chiaramente l'acqua HPW, che richiede una produzione con standard microbiologici più severi rispetto alla WFI, pur non essendo comunque utilizzabile per applicazioni parenterali (iniettata).



di **Valentina Zani***
e **Giorgio Capodanno****

La produzione di acque PW/HPW partendo dall'acqua potabile (in accordo con le normative locali) è suddivisa in due fasi:

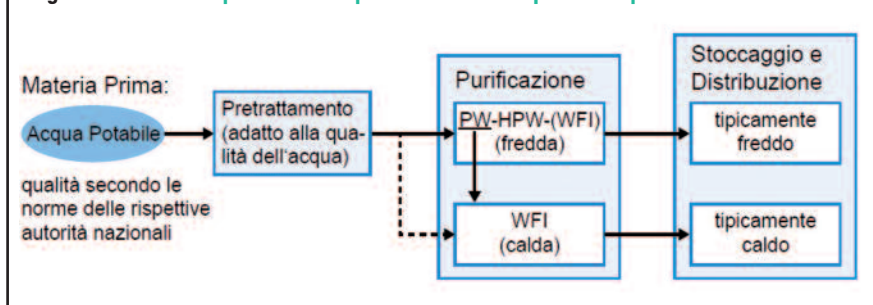
- Il pretrattamento, che prepara l'acqua potabile alla successiva osmosi inversa (RO), eliminando gran parte dei solidi sospesi, la durezza e rimuovendo l'eventuale residuo di agente disinfettante, notoriamente molto dannoso per le membrane della RO.
- Il processo di purificazione PW/HPW propriamente detto, che ha il compito di ridurre la quantità di sali (TDS) e la carica batterica; questa parte del sistema include sempre un passaggio attraverso l'osmosi inversa (RO), una eventuale fase di degassaggio a membrana (ME), un ulteriore passaggio di purificazione (elettrodeionizzazione, EDI) o un secondo step di RO e uno step di ultrafiltrazione (UF), solo in caso di HPW. Nel caso di acque WFI, da quest'anno an-

*Service Manager,
Swan Analytica Srl

** Sales, Swan
Analytica Srl

Hanno collaborato
Ivan Dottori,
Micro-Sphere SA,
e Paolo Leani,
Stilmas SpA

Fig. 1 - Schema semplificato della produzione dell'acqua in campo farmaceutico



che la farmacopea europea, allineandosi con quelle americana e giapponese, ne consente la produzione anche a bassa temperatura: tale processo è ancora poco diffuso ma acquisterà sempre maggiore importanza nel futuro.

Le acque PW e HPW sono normalmente immagazzinate a temperatura ambiente o inferiore, mentre le acque WFI, essendo già prodotte a elevate temperature, sono stoccate a valori tra i 65°C e i 90°C. Il motivo principale di una sanitizzazione permanente è che l'alta temperatura riduce drasticamente qualsiasi rischio di contaminazione microbica che può avere luogo nel caso di una cattiva gestione/progettazione del sistema di stoccaggio e di distribuzione.

I sistemi di stoccaggio e distribuzione a freddo, non essendo quindi protetti dall'alta temperatura, richiedono una sanitizzazione periodica, per la quale

l'impiego di ozono sta diventando sempre più diffuso.

Descrizione di un sistema di stoccaggio e distribuzione

La foto 1 ritrae un impianto di stoccaggio e distribuzione di acqua purificata (PW) sanitizzata con ozono, progettato da Stilmas SpA, consolidata azienda italiana specializzata nella progettazione e realizzazione di impianti per la produzione di clean utilities, e installato presso Micro-Sphere SA, realtà del Canton Ticino, specializzata nella produzione di polveri farmaceutiche mediante tecnologia di atomizzazione (spray drying).

Sull'impianto si individuano diversi componenti fondamentali:

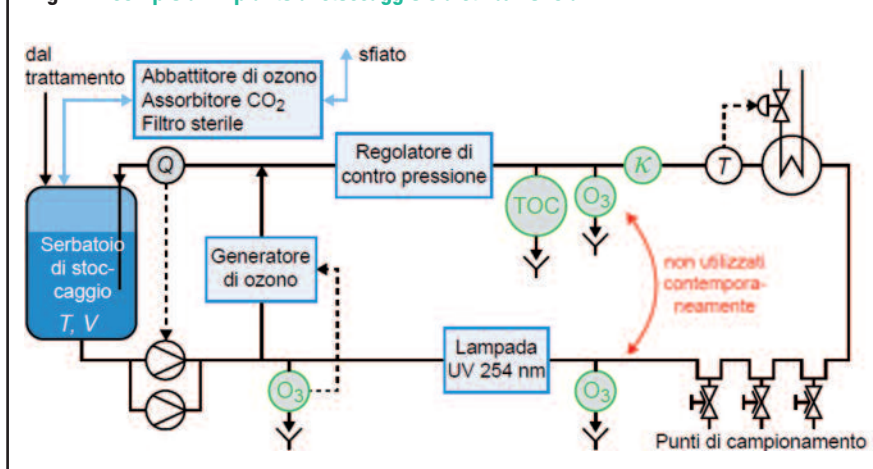
- Generatore di ozono con sistema elettrolitico.
- Punto di analisi dell'ozono a monte della lampada UV, impiegato per monitorare e regolare la concentrazione

di ozono all'interno del serbatoio, pressoché costante a 50 ppb.

- Lampada UV per eliminare l'ozono residuo.
- Punto di analisi dell'ozono a valle della lampada UV, prima dei punti di campionamento, necessario per verificare il corretto funzionamento della lampada monitorando la totale assenza di ozono. Questo punto è particolarmente critico, richiede di poter determinare l'assenza di ozono prima del rilascio in produzione dell'acqua purificata, con la certezza che una lettura a zero sia reale e non dovuta a un malfunzionamento del sistema di analisi.
- Punto di analisi dell'ozono posizionato a valle della lampada UV, utilizzato durante la sanitizzazione periodica, nella quale la lampada UV viene spenta e la concentrazione di ozono viene incrementata per un determinato periodo di tempo (per garantire una sanitizzazione efficiente si mantiene una concentrazione di 100 ppb per 30 minuti).
- Un analizzatore di gas, che monitora continuamente la qualità dell'aria nel luogo in cui è installata la strumentazione in modo da bloccare un'eventuale fuoriuscita di ozono, se rilevata.
- L'ozono viene iniettato attraverso un distributore installato nella parte bassa del serbatoio di stoccaggio e

Foto 1 - Impianto Stilmas installato presso Micro-Sphere

Fig. 2 - Esempio di impianto di stoccaggio e distribuzione di PW



sempre sotto il livello dell'acqua. L'ozono presente nella fase gas all'interno del serbatoio è sufficiente per sanitzare tutte le superfici che non sono normalmente a contatto con acqua ozonizzata.

Nell'impianto descritto, due punti di analisi sono usati contemporaneamente:

- Durante la fase di esercizio (lampada UV accesa), il punto di analisi a valle della lampada UV deve verificare l'efficacia della stessa (concentrazione di ozono zero), mentre il punto a monte deve verificare la concentrazione di ozono per garantire la continua sanitzazione del serbatoio di stoccaggio.
- Durante la fase di sanitzazione (lampada UV spenta), il punto di analisi a valle della lampada UV è necessario per verificare la concentrazione di ozono all'interno del loop di distribuzione.

Attuali sistemi di misura: difetti e limiti

Il monitoraggio dell'ozono su acque pure si è quasi sempre basato su tecniche di analisi amperometriche con sensori selettivi a membrana: la maggior parte dei sensori disponibili sul mercato, però, non è adatta all'impiego farmaceutico, soprattutto per la scarsa precisione su basse concentrazioni, che rende problematico il poter discriminare anche pochi ppb. Il punto di misura più critico, dopo la lampada UV, è quindi anche quello in cui il sensore amperometrico può fallire: se il campione è privo di ozono per lungo tempo (ad esempio una settimana), il sensore diventa "cieco" ed insensibile a piccoli valori di ozono, mentre dà risposte lente e fluttuanti al crescere della concentrazione di ozono in fase di sanitzazione. Inoltre, questa tipologia di sonde richiede una manutenzione non banale che deve essere svolta periodicamente da un tecnico esperto.

I principali punti deboli della misura amperometrica, però, risultano la calibrazione e la verifica della misura. Per eseguire la calibrazione, infatti, si possono percorrere due strade, entrambe poco agevoli anche per un operatore esperto:

- Calibrazione "in aria": impiega la concentrazione atmosferica di O_2 come standard, ma richiede una successiva fase di polarizzazione di diverse ore, senza considerare che la calibrazione viene in realtà eseguita in condizioni operative diverse da quelle normali, ovvero misura di ossigeno in aria invece che ozono in acqua.
- Calibrazione di processo: per confronto con uno strumento fotometrico, tecnica comunque non facile da eseguire manualmente a causa dell'instabilità dell'ozono e per la necessità di avere almeno 100 ppb di O_3 per una misura attendibile.

Pertanto, l'impiego di una tecnica di analisi automatica di tipo colorimetrico permette di eliminare le criticità so-

praticite tipiche di un sistema di misura amperometrico.

Una valida alternativa: AMI Codes-II O_3

Il Monitor AMI Codes-II O_3 , come il consolidato AMI Codes-II, applica online il collaudato metodo standard colorimetrico in accordo con la norma DIN38408-3 (DPD), ma è ottimizzato per la determinazione di basse concentrazioni di ozono e adattato alle esigenze dell'industria farmaceutica.

La reazione è in realtà complessa ma, in condizioni ideali e in un sistema tamponato, può essere schematizzata come in figura 3.

L'ozono di per sé è molto reattivo, quindi una sua reazione diretta con il DPD porterebbe in parte ad altri prodotti di ossidazione: per evitare reazioni collaterali indesiderate, dapprima si aggiunge ioduro in eccesso, che viene ossidato a iodio; l'eccesso di ioduro evita una successiva ossidazione dello iodio, per esempio a iodato. Lo iodio reagisce poi

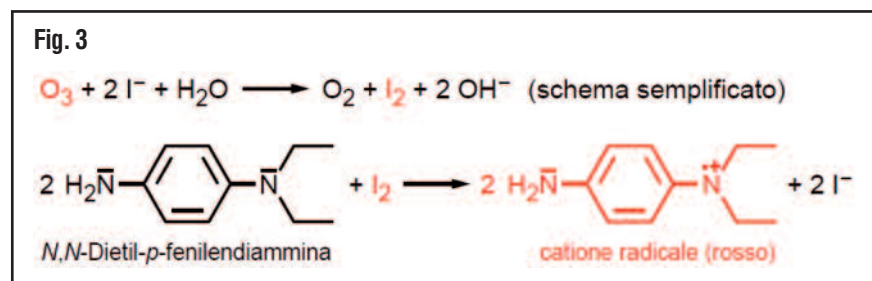


Fig. 4 - Una valida alternativa: AMI Codes-II O_3

- Ottimizzato dosaggio reagente: limite di misura 1 ppb
- La misura non influenzata dall'eventuale presenza di bolle esclude valori anomali
- Tracciabilità della calibrazione di fabbrica
- Range: 0 - 500 ppb
- Intervallo di misura 5 min, il contenitore reagenti dura un mese
- Dettagliata autodiagnosi dei principali parametri strumentali e del flusso campione

in rapporto 1:2 con la N,N-Dietil-p-fenilendiammina (DPD), ben nota e utilizzata in svariate procedure standard: il catione radicale che si forma ha colore rosso e viene quantificato misurandone l'assorbanza di una luce verde.

Novità dell'AMI Codes-II O₃

L'AMI Codes-II O₃ è dotato di interessanti novità:

- Limite di misura abbassato a 1 ppb migliorando il sistema di dosaggio dei reagenti: ideale per dimostrare l'assenza di ozono dopo l'abbattimento con raggi UV.
- L'algoritmo usato per processare i dati del fotometro è stato perfezionato in modo da evitare valori anomali dovuti alle bolle d'aria contenute nel campione che passa attraverso il fotometro.
- Tracciabilità della calibrazione di fabbrica, basata sull'assorbimento UV dell'ozono, misurato con spettrometro ad alta precisione.

Caratteristiche generali dell'AMI Codes-II O₃

- Limite massimo di misura 500 ppb, più che sufficiente per tutti i punti di campionamento nei sistemi di distribuzione e stoccaggio di acqua farmaceutica, in cui la concentrazione di ozono durante la sanitizzazione non supera mai i 150 ppb.
- Tempo di risposta = intervallo di misura: l'intervallo minimo di misura, che garantisce condizioni di flusso-saggio fotometro ottimali per raggiungere bassi valori è 5 minuti, che corrispondono ad una sostituzione dei reagenti ogni mese. Nel caso fosse scelto un intervallo di misura più lungo, con un avviso a display l'AMI Codes-II O₃ ricorda all'utente di sostituire i reagenti, nel caso si deteriorassero.
- Dettagliata autodiagnosi dei principali parametri strumentali e del flusso campione, che esclude qual-

Fig. 5 - AMI Codes-II O₃ vs. attuali sensori amperometrici

Calibrazione / Accuratezza con AMI Codes-II O₃

- *Calibrato in fabbrica – misura fotometrica stabile*
- *Semplice verifica dei componenti principali con un set di standard secondari di precisione certificati (kit di verifica):*
accuratezza e linearità del fotometro + elettronica

Con gli attuali sensori amperometrici

- Calibrazione indiretta in aria in differenti condizioni operative
- Scomode misure colorimetriche di riferimento richiedono alte concentrazioni di ozono
- Deriva della calibrazione

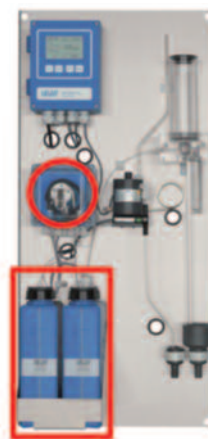


Manutenzione con AMI Codes-II O₃

- *Attività limitata a pochi minuti:*
1/mese sostituzione reagenti, 1/6 mesi sostituzione tubi pompa peristaltica
- *Procedure semplici – applicabili dell'utente*
- *Immediatamente operativo*

Con gli attuali sensori amperometrici

- Polarizzazione del sensore lenta e variabile
- Richiesta di Ozono per polarizzare il sensore
- Intervallo da 6 mesi a 1 anno
- richiede tecnico specializzato



siasi malfunzionamento strumentale non rilevato.

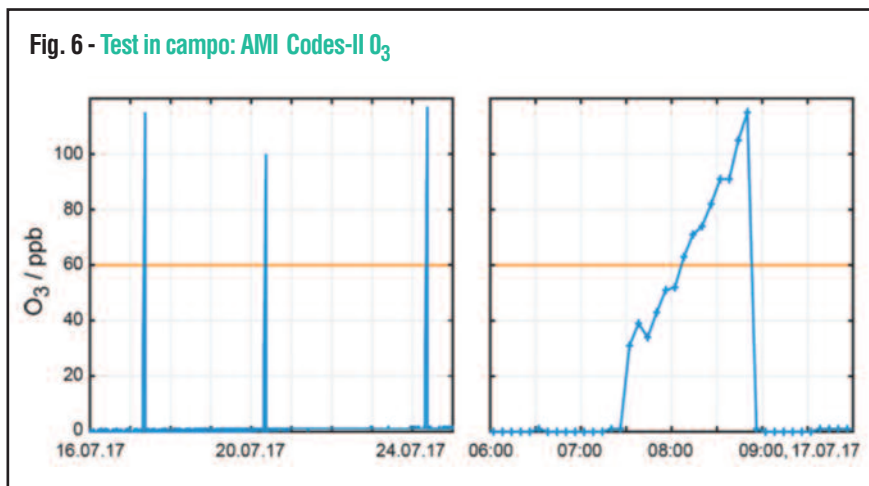
Requisiti per l'industria farmaceutica

- Disponibile con "Validation Package", che include i protocolli IQ/OQ/PQ e un'analisi del rischio (altri contenuti/modelli: piano di manutenzione, training per l'utente, SOP ecc.) per un'agevole integrazione dell'impianto ed una validazione senza intoppi.
- Audit trail incluso nel software AMI.
- Tracciabilità dei reagenti assicurata dai rispettivi certificati di produzione, disponibili su richiesta.
- Pannello in acciaio inox, non espressamente richiesto ma comune a tutti gli strumenti Swan destinati ad applicazioni per acqua ad elevata purezza.

Manutenzione & Calibrazione

La manutenzione dell'AMI Codes-II O₃ presenta diversi vantaggi rispetto ai tradizionali strumenti amperometrici: il funzionamento dell'analizzatore viene interrotto solo per una manciata di minuti, una volta al mese per rinnovare i reagenti e una volta ogni sei mesi per la facile sostituzione dei tubetti della pompa peristaltica; trattandosi di applicazione in acqua ultrapura, inoltre, non è richiesta alcuna attività di pulizia. Rispetto a quella di un sensore amperometrico, la manutenzione risulta quindi decisamente più rapida ed economica e lo strumento torna immediatamente operativo. La calibrazione dell'AMI Codes-II O₃ avviene in fabbrica nelle migliori condizioni di esercizio e non varia nel tempo, essendo la reazione chimica

Andamento della misura dell'assenza di ozono in un sistema di distribuzione di acqua farmaceutica



sempre identica; inoltre la misura dell'assorbanza è stabile e precisa grazie anche alla funzione di autozero prima di ogni misura. È comunque possibile per l'utente eseguire una calibrazione di processo con un fotometro portatile e verificare accuratezza e linearità nel range di applicazione con un set di standard secondari di precisione certificati e ad assorbanza nota: 250 e 500 ppb O₃.

Applicazione sul campo

L'AMI Codes-II O₃ è stato recentemente testato in Svizzera in una primaria ditta farmaceutica e in figura 6 sono riportati i risultati.

Il grafico a sinistra raccoglie i dati di un periodo di nove giorni, durante il quale sono state svolte tre sanitizzazioni; il grafico a destra, invece, è il dettaglio di una sanitizzazione: si notano chiaramente il momento in cui viene spenta la lampada UV (h 7.30), l'aumento della produzione di ozono fino alle 8.45 circa, quando la lampada UV viene riaccesa e la concentrazione di ozono scende immediatamente a zero.

Conclusioni

L'attenzione di Swan nel perfezionamento del già collaudato AMI Codes-II si è concentrata principalmente su:

- miglioramento del limite minimo di rilevabilità, sceso così a 1 ppb;
- stabilizzazione della misura a bassi valori, eliminando il rischio di false misure dovute a bolle nel campione;
- definizione di un sistema che non necessita di calibrazione periodica e che può essere facilmente verificato in accuratezza e linearità in ogni momento con un kit di verifica.

Il risultato dell'attività di ricerca e sviluppo, l'AMI Codes-II O₃, ripaga in modo deciso ed evidente tutti gli sforzi profusi e soddisfa pienamente le indicazioni delle farmacie e le aspettative del cliente finale. ●