

在线检测优化生物发酵过程



梅特勒-托利多
姚军, June 2

METTLER TOLEDO

发酵过程为什么要使用过程分析？

过程分析可以帮助您 ...

- 优化生长环境 (生化)
- 通过优化控制通气量节省能源(生化)
- 便于工艺人员更好的了解工艺过程
- 保证批次间的一致性
- 保证工艺更加可靠
- 自动化程度更高
- 增加产率
- 降低投资成本
- 符合相关规则

规章制度

6σ



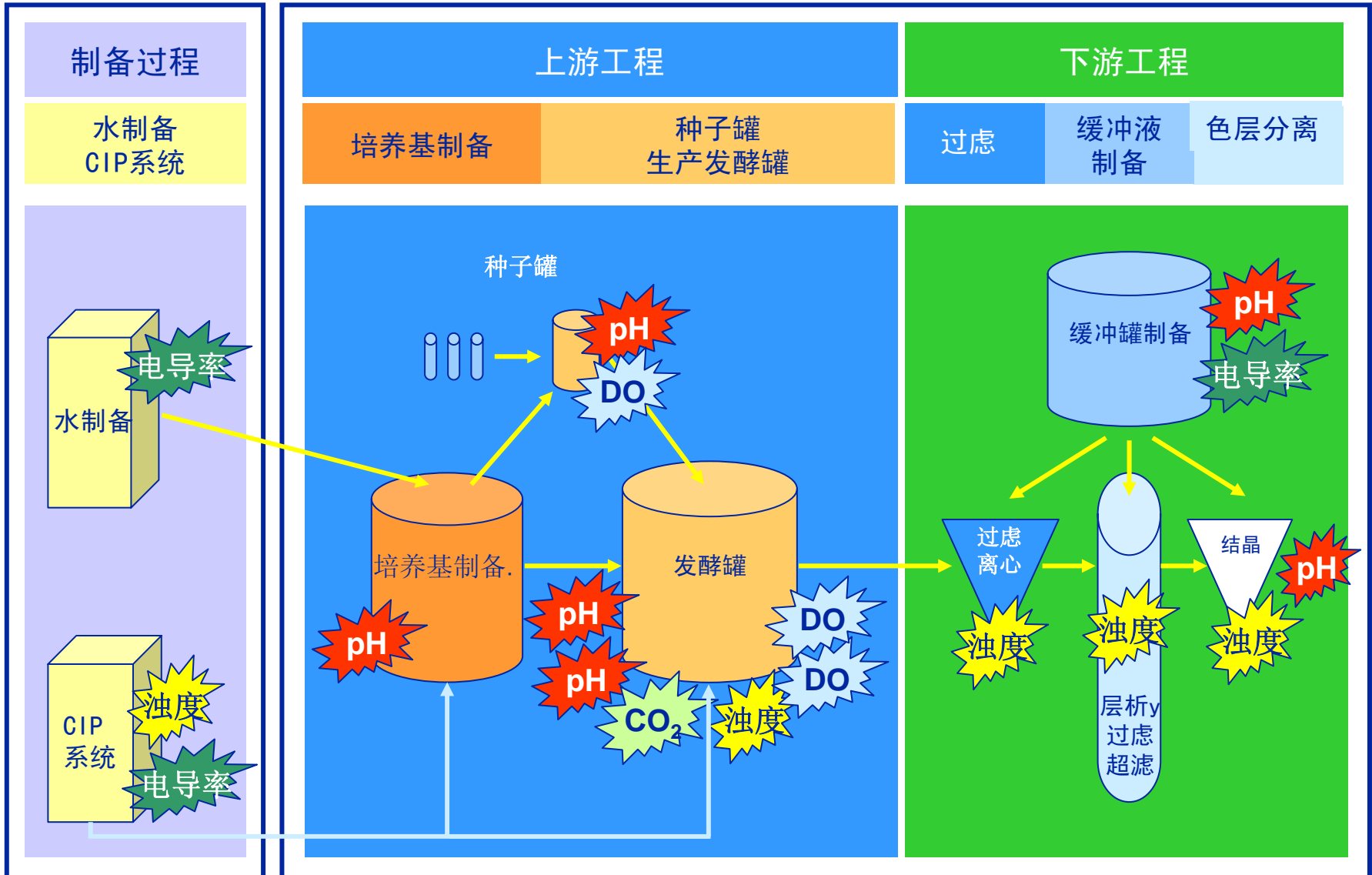
American Society for
Testing and Materials

Guidance for Industry
PAT — A Framework for
Innovative Pharmaceutical
Development, Manufacturing,
and Quality Assurance



International
Organization for
Standardization

生化测量参数



Example: traditional mammalian cell GMP process

发酵过程测量参数

上游过程

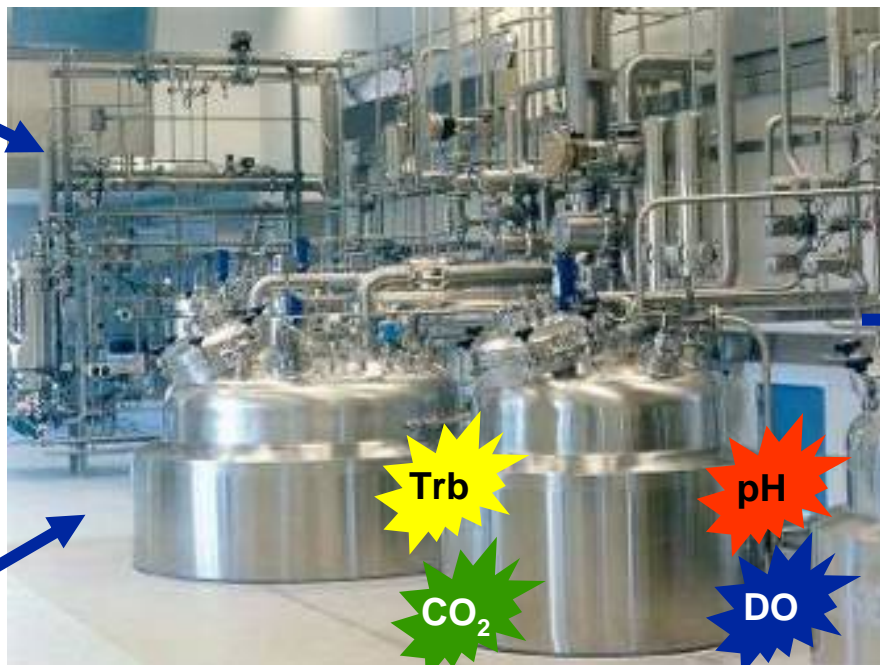
细胞库



种子罐



培养基制备



生产大罐

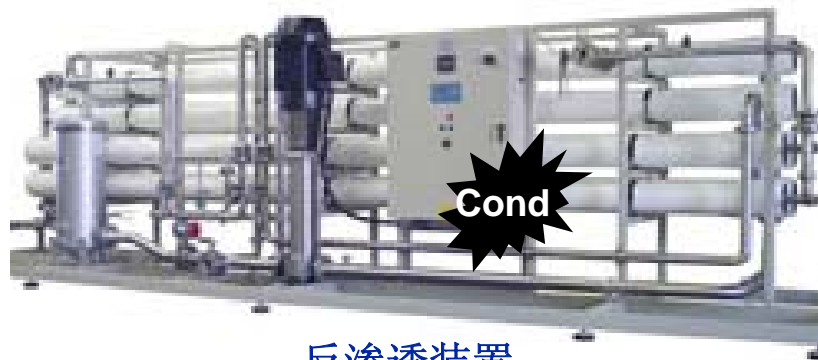
下游处理工艺

发酵辅助过程测量参数

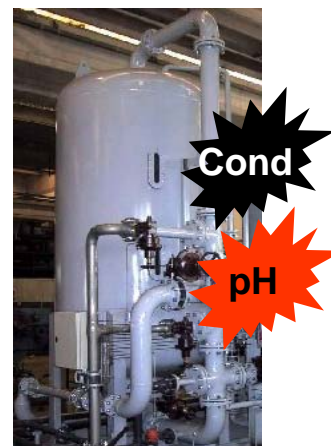
辅助过程



CIP清洗



反渗透装置



混床离子交换

发酵罐

试验用小罐

1 -25升



研发阶段
微生物生长动力学优化

临床前试验

中试罐

25 – 100升



培养基和工艺优化

临床试验 1+2

生产放大罐

100 – 1000+ 升



生产

临床试验 2+3, 市场

pH 和 DO 在菌种培养中的控制

Aux

Upstream

Downstream



菌种室摇瓶培养

过程步骤

- 一安瓿的工作细胞用于培养生成几百毫升的细胞量。
- 生长后，实验室规模的培养菌用来在小罐上生成几升的量。

为什么要测 pH ?

- 正确的 pH 是优化生长条件的关键
- 不正确的 pH 会改变新陈代谢



小试

为什么要测 DO ?

- 好氧微生物的新陈代谢需要氧气 - 呼吸

通过正确的 pH 和 DO 控制优化菌种制备阶段的产出和细胞浓度

小试 / 中试 / 菌种制备

Aux

Upstream

Downstream



应用

- 发酵过程 pH 控制
- 发酵过程 DO 控制

典型条件和要求

- 小型到中型生物反应器
- 原位灭菌或高压灭菌
- 符合FDA 要求的材料
- 批次发酵工艺

INGOLD 解决方案

- 可高温高压消毒的 pH 和 DO 电极
- 卫生型设计的电极和护套
- 顶插或斜插
- 一台变送器同时控制 pH 和 DO

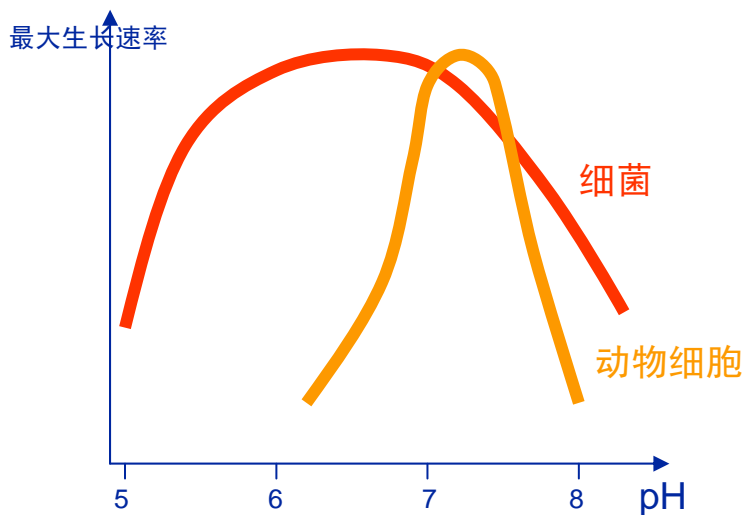


发酵生产过程 pH 控制

Aux

Upstream

Downstream



典型 pH :

细菌	pH 7.0 - 7.2
酵母	pH 5.0
动物细胞	pH 7.2 - 7.4

过程步骤

- 微生物生长过程产生有价值的产物

为什么要测 pH ?

- pH 影响酶的活性
- pH 影响生物特性和新陈代谢

其他过程参数

- 酸的形成

控制功能

- 酸或碱的添加量
- 营养物的添加 (恒化器模式)

优化生长条件 - 提高产率 - 减少调节用酸/碱加入量

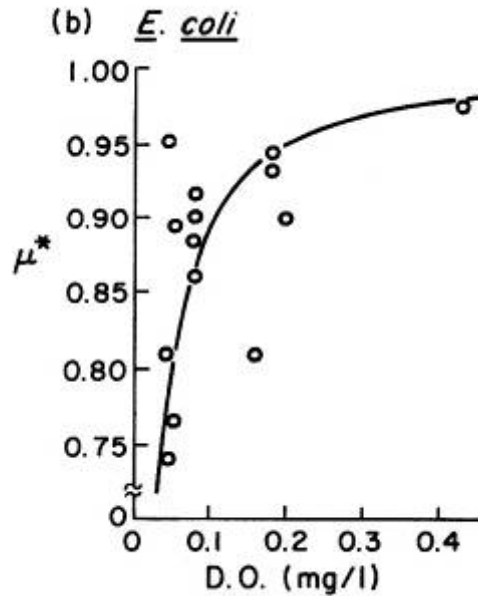
pH 测量的意义

菌体对pH值变化非常敏感，pH变化影响菌体生长及半成品的质量。

发酵液的pH值在一个理想的范围内可以保证菌种获得最佳生长曲线，从而提高生产率。

可以大大减少异常情况，节约生产成本。

为实现pH值自控提供了前提条件，可以减少人工工作量，降低生产劳动强度。



大肠杆菌生长与 DO 的关系

过程步骤

- 微生物生长过程中产生有价值的产物

为什么要 DO 控制？

- 为微生物呼吸提供足够的氧气

其他过程参数

- 氧传送速率

控制功能

- 改变空气流量
- 改变搅拌速度
- 改变气体组份
- 改变压力

优化生长条件 – 空气压缩机减少能耗 – 提高产率

DO 测量的意义

发酵液中的含氧量是菌种生长环境的主要参数指标之一。

DO 浓度必须控制在一定范围, 过高或过低都会产生负影响.

合理控制DO值可以让生产收率有一个明显的提高。

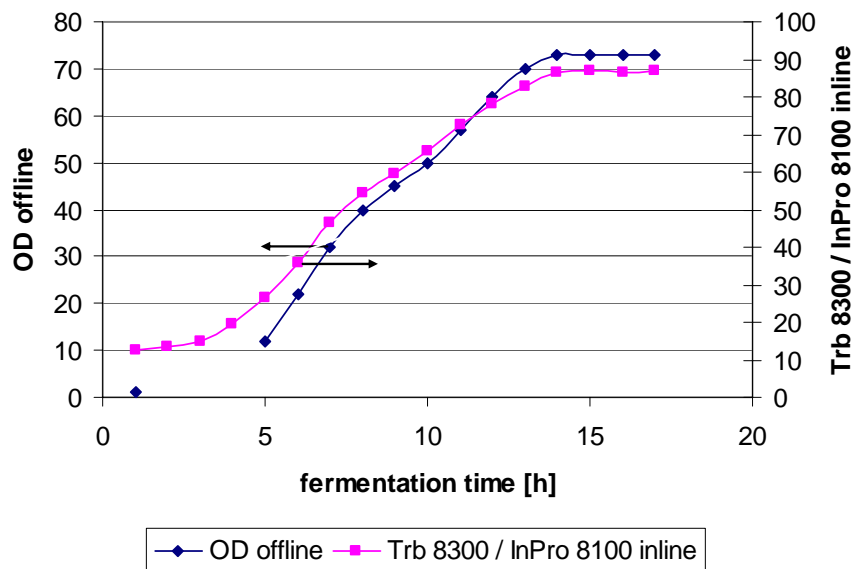
DO 浓度控制不是一成不变的, 而是随着发酵周期的变化而变化的。

发酵过程在线浊度测量

Aux

Upstream

Downstream



与光密度测量比较，有很好的相关性

过程步骤

- 发酵过程
- 微生物生长过程中产生有价值的产物

为什么要浊度测量？

- 获得细胞浓度的连续信息
- 无需取样

其他过程参数

- 细胞密度，生物量，光密度

控制功能

- 恒化器模式中营养物质的添加速率
- 指示发酵终点
- 指示生长异常情况

连续的微生物生长监测，可以使其始终保持优化的生长条件

测量浊度的优势

Aux

Upstream

Downstream

Production-scale fermentation

- 通过优化每一批的生长，增加产出
- 通过及时、连续的细胞浓度监测，减少罐批风险
- 通过优化和精确添加营养物，节省费用
- 通过在线测量，相对实验室取样节省费用

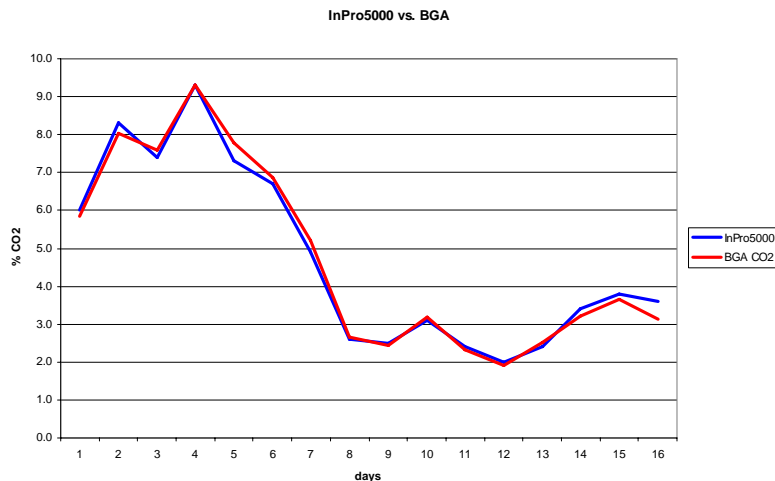
减少费用 / 提高质量 / 增加产出： 提高效益

CO₂ 在发酵生产中的控制

Aux

Upstream

Downstream



动物细胞培养基

过程步骤

- 发酵过程
- 微生物生产过程中产生有价值的产物

为什么控制 CO₂ ?

- 监测 CO₂ 浓度
- 提供合适的新陈代谢环境

其他过程参数

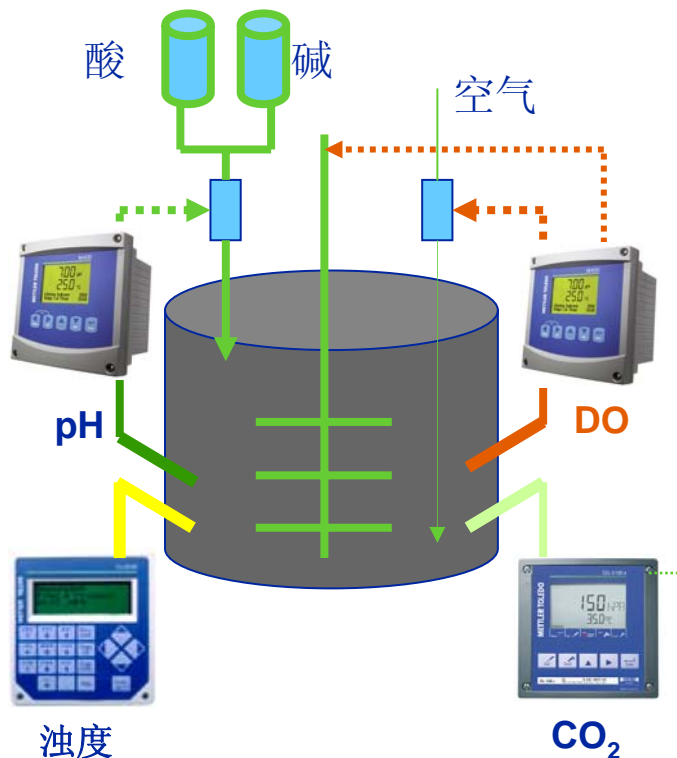
- 呼吸熵

控制功能

- 气体组份
- 搅拌速度

通过 CO₂ 在线控制，细胞能在优化的环境下生长

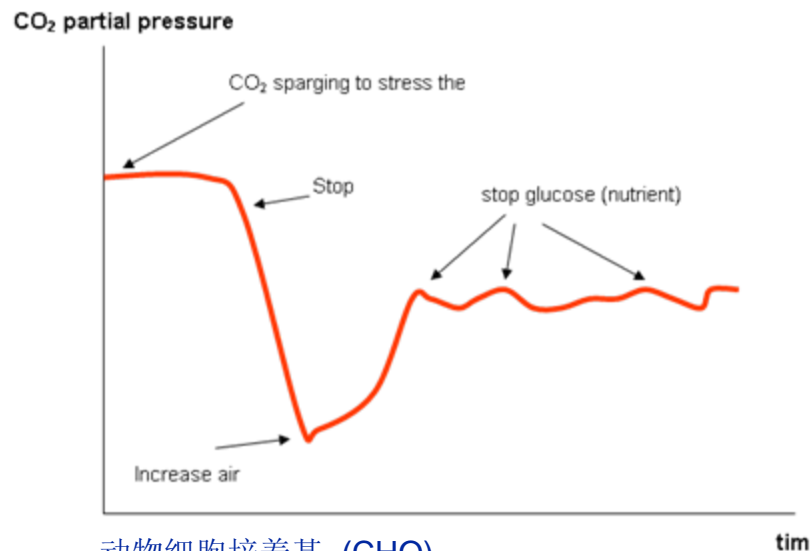
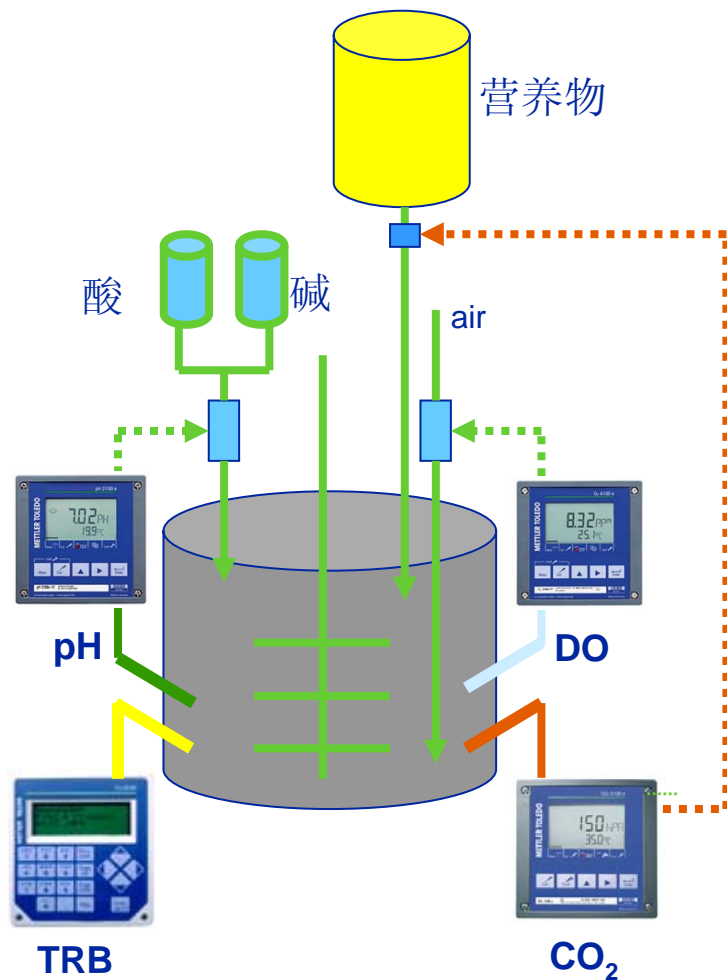
批次发酵



批次发酵的典型模式

- 密闭的系统
- 培养基的组份，生物量，代谢物的浓度不断发生变化
- 发酵期间除了通氧气、消泡剂，以及加入的酸和碱调整pH外，不加其他物质
- 可以用浊度来监控生长速率
- 通过调整通空气、搅拌速度、压力和/或气体组份，控制氧的水平

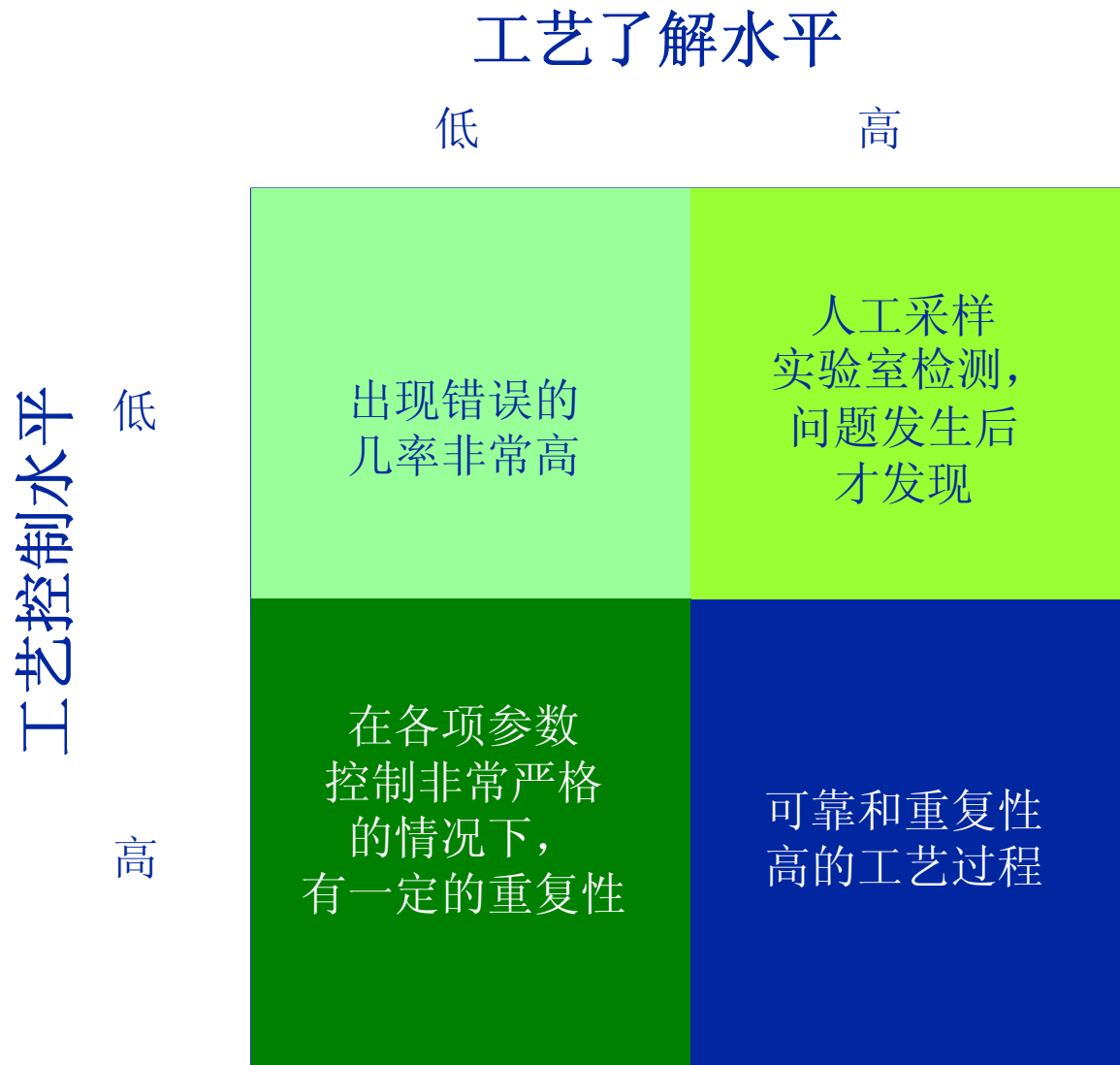
半连续模式： 批次添加模式



动物细胞培养基 (CHO)

- 在发酵过程中添加营养物质
- 在发酵初期只加入少量的营养物质
- 此类发酵模式与批次模式比较可获得较高的细胞密度和产率
- CO₂ 传感器控制葡萄糖的添加和防止中毒
- CO₂ 作为一种间接葡萄糖传感器

评估您目前的状态



质量风险管理和控制策略



感谢您的参与!