

可控冻融系统在生物原液上的应用

刘超 张鹏宇 陈苏玲

东富龙科技集团股份有限公司

摘要：生物原液如抗体、疫苗等作为生物活性制品，其生产过程和保存条件对冷冻温度和速度有着严格的要求，这些因素直接决定了原液的质量。大批量的生物原液生产，对现有的冷冻和复融技术提出了严峻的挑战。可控冻融系统可实现生物原液制品的快速冷冻、有效复融、大批量处理和快速投产等要求，显著提升产品质量。

关键词：冻融系统；速冻；复融；生物原液；抗体；疫苗

1 前言

1.1 基本概念

冻融，从字面意义可理解为冷冻及冷冻后的解冻。除了地质领域土壤的冻融现象外，这一术语也广泛应用于生物制品领域。生物制品（如抗体、疫苗等）大多对温度敏感，在不适宜的温度条件下容易失活。而低温冷冻，正是有效保持活性的常规应用方法。

1.2 某疫苗产品的应用

以某疫苗产品为例，在遇到下述情况和条件时，需要使用冻融。

1.2.1 时间问题

在疫苗生产过程中，时间管理不仅影响疫苗原液的生物活性和质量，还与市场需求和生产效率紧密相关。以下是关于时间问题的具体分析：

- 该疫苗原液是分批产出的，而下游制剂分装的能力受限于设备的速度，当批次产出的疫苗原液未能在有限时间内完成分装，并置于合适条件下保存，其生物活性等指标会明显下降；
- 下游制剂分装量还受到市场需求的制约，当市场需求旺盛或供过于求时，制剂分装对原液的需求量有明

显区别，即原液是否分装、分装多少，在一定程度上取决于市场需求；在市场需求萎缩时，产出的原液需要及时冷冻保存。

1.2.2 空间问题

在疫苗生产与分装的流程中，空间因素同样对生产效率和产品质量产生重要影响。无论是同一家公司内部的生产环节，还是不同厂家之间的跨区域合作，空间距离都可能带来一系列挑战，尤其是在原液的转运和保存过程中。以下是关于空间问题的具体分析：

- 当同一家公司的原液生产和制剂分装在空间上存在距离时，需要进行远距离转运，为了有效保持原液活性等指标，需要进行冻融操作；
- 当不同厂家在跨区域、跨国等合作时，这一点体现得更加明显；例如，国内厂家制作的新冠疫苗原液，低温冷冻后转运到国外合作单位进行复融、

分装，此时也需要进行冻融操作。

2 常规冷冻及复融方式

2.1 冷冻

生物原液的常规冷冻方式包括使用超低温冰箱或冷库^[1]（见图1），在冷冻过程中存在以下问题：

2.1.1 制冷系统相关

在将生物原液放入低温冰箱或冷库冷冻前，需要考虑以下因素：

- 低温冰箱或冷库是空载状态还是已有其他制品在冷冻；
 - 已有冷冻制品的量、温度及空间分布。
- 对于待冷冻的生物原液需要考虑的因素：
- 待冷冻的产量；
 - 每个容器内的装量；
 - 待摆放在冰箱或冷库内的空间位置。



图1 低温冰箱和冷库

作者简介：刘超，工程师，主要从事制药类相关冷冻工艺的研究。

2.1.2 容器相关

不同规格尺寸的装载容器,包括大小、厚度、材质的变化,都会对内部生物原液的冷冻效果产生明显影响。即便规格尺寸一致,容器材质的不同也会导致冷冻效果产生明显变化。

2.2 复融

生物原液的常规复融方式是采用室温解冻或水浴锅(见图2)内复融,这些方式面临的问题和上文提及的冰箱/冷库冷冻类似,在此不再赘述。



图2 水浴锅

2.3 小结

通过分析现有的操作方式,可以直观地看出,现有的冷冻和复融工艺是一个不可控的工艺过程,在一致性和扩大再生产方面面临诸多问题^[2]。

2.3.1 批次一致性问题

以下是关于批次一致性问题的具体分析:

- 同一批次中,不同容器内或同一容器内不同位置的冷冻和复融效果不一致;
- 不同批次之间,更无法保证冷冻和复融效果的一致性。

批次一致性无法得到保障,意味着最终生物原液成品的一致性无法得到保障^[3],这将导致生物制品对广大接种者的功效出现差异。

2.3.2 工艺放大问题

以下是关于工艺放大问题的具体分析:

● 如上所述,不同批次之间,甚至同一批次之间,无法保证冷冻和复融效果的一致性,因此每次得到的冷冻工艺曲线都是参差不齐,没有明显的规律,在小试和中试阶段无法为工艺放大提供完善的工艺支持;

● 采用不同规格、材质的容器,以及不同装量的情况下,其冷冻和复融的工艺曲线也不一致。同样,在小试和中试阶段无法为工艺放大提供完善的工艺支持。

因此,市场需要一种可控的冷冻和复融设备,以保证冻融过程的可控及重演性,确保批次一致性,并可有效进行工艺放大,实现规模生产。

3 可控冻融系统

市面上常见的可控冻融系统,包括卧式平板冻融系统、立式平板冻融系统以及罐式冻融系统,它们应用场景上各有特色。

3.1 卧式平板冻融系统

卧式平板冻融系统由原液分装站、卧式冻融机、转运装置等组成,市面常规规格为100 L每批,由于原液袋在冻融机内水平放置在换热平板上进行冷冻和复融,因此称为卧式平板冻融机(见图3)。

在装载和卸载时,换热平板间距拉开,便于操作;在冷冻和复融时,相邻换热板夹持到设定位置,使得冻融袋上下表面均与换热板接触,有效增加换热面积,加快冷冻和复融速率。



图3 卧式平板冻融机

3.2 立式平板冻融系统

立式平板冻融系统由原液分装站、立式冻融机、转运装置等组成,市面常规规格为100 L每批,因为原液袋在冻融机内竖直放置于换热平板间进行冷冻和复融,因此称为立式平板冻融机(见图4)。



图4 立式平板冻融机

在装载和卸载时,换热平板间距拉开,便于操作;在冷冻和复融时,相邻换热板夹持到设定位置,使得冻融袋左右表面均与换热板接触,有效增加换热面积,加快冷冻和复融速率。

立式冻融系统相比卧式冻融系统具有的优势:

- 在复融过程中,可携带夹具和冻融袋一起摇晃,加快原液的混合,使得复融更加均匀、快速;
- 在原液产量有偏差以及冻融袋内存在未排尽气体时,具有更明显的优势,受影响较小。

3.3 罐式冻融系统

罐式冻融系统同样由原液分装站、罐式冻融机、转运装置、清洗站、灭菌站等工位组成,市面常规规格为100 L和300 L,因原液直接在冻融罐内进行冷冻、复融,因此称之为罐式冻融系统(见图5)。



图5 罐式冻融系统

与平板冻融系统相比，罐式冻融系统摆脱了对耗材（冻融袋）的限制，增加了清洗、灭菌、验证等环节。它在批次处理量上具有一定的优势，但是在冷冻和复融速率上，存在一定的劣势。

3.4 可控冻融与传统冷冻、复融方式对比

可控冻融与传统冷冻、复融方式的对比，汇总如表 1 所示。

表 1 可控冻融与传统冷冻、复融方式的对比

序号	项目	传统冷冻、复融	可控冻融
1	升降温可控	×	✓
2	批次一致性	×	✓
3	工艺放大	×	✓
4	效率	×	✓
5	风险	×	✓

4 在某疫苗原液生产中的应用

在某疫苗原液生产中，冻融设备的应用有着明确的场景和重要的作用。以下是该设备在某疫苗原液生产中的具体应用情况。

4.1 应用场景

某疫苗产线主要分为两个步骤：首先是疫苗原液的制备，其次是制剂分装。在从原液到制剂的过程中，若遇到特定情况，需要使用冻融设备将两者有效连接。其应用场景如图 6 所示。

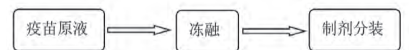


图 6 冻融系统在某疫苗产线中的应用场景

4.2 核心工艺参数

在确定冻融工艺的核心参数时，首先需要考虑的是原液批次产量，这将直接影响后续的工艺设计和设备选择。以下是具体的核心工艺参数分析。

4.2.1 原液批次产量

根据批次总产量及分装产量，可以计算出分装成几部分，再结合容器规格尺寸，进而估算出冷冻及复融所需的处理空间。

4.2.2 容器选择

容器的选择对于生物制药工艺的稳定性和产品的安全性至关重要。以下将重点介绍冻融袋及其他储存容器的选择要点。

4.2.2.1 冻融袋的选择

在选择冻融袋时，需要综合考虑多个因素，以确保其能够满足特定的工艺需求和质量标准，具体如下：

- 膜材：市面上的冻融袋大多为五层生物制药膜，由于涉及低温冷冻，冻融袋相比普通储液袋对膜材提出了新的要求，以避免在低温状态下膜材变硬、脆裂等质量风险；

- 接头等附件：根据需要选配接管数量、接头类型等；

- 规格：考虑到操作便利性及冷冻复融速度的要求，生产型冻融系统以满载容积 10 L 和 20 L 的冻融袋为主，实验型冻融系统以满载容积 5 L 的袋子为主；

- 样式：对于配套夹具的冻融袋，适用于卧式、立式平板冻融系统；对于自带边框模盒的冻融袋，适用于卧式平板冻融系统；对于自带完整模盒的冻融袋，由于冻融袋无法与换热平板直接接触，需要通风或具有对流性质的冻融设备，如图 7 所示；

- 其他：在选用冻融袋前，还需进行生物相容性测试、泄露测试、内毒素测试、可见异物测试等相关指标。

4.2.2.2 其他储存容器

对于罐式冻融系统，无需冻融袋，只需选用匹配的冻融罐容积即可。

4.2.3 冷冻及复融温度需求

以下是针对冷冻及复融温度需求的分析：

- 冷冻：常规疫苗的冷冻温度为 $-30 \sim -40^{\circ}\text{C}$ ，使用常规的制冷机组、制冷剂、导热油即可满足需求。但某些疫苗产品，如辉瑞公司的新冠疫苗，声称需要保存在 -70°C 以下，此时要使用多级复叠机组、特定的制冷剂和导热油，才可达达到制冷需求。但市面上常规的冷库温度为 $-30 \sim -40^{\circ}\text{C}$ ，而 -70°C 的冷库建造成本和运营成本都会非常高，因此可以考虑使用冻融机进行冷冻后，再将疫苗存放在超低温冰箱内；

- 复融：常规的复融温度为 $25 \sim 30^{\circ}\text{C}$ ，不宜过高，需考虑疫苗的耐受温度。

4.2.4 冷冻及复融时间需求

结合产能、批次处理量以及疫苗在室温下的耐受时间，可以计算出冷冻和复融的时间需求；即保证批次疫苗原液在限定的时间内能够完全冷冻，并且复融后的原液能够在限定的时间内完成分装等操作，进而再次进入适宜的环境内存储。

4.2.5 冻融设备选型

结合上述几点，以及现有几种冻融设备在不同装载量情况下的冷冻和复融参考时间，可以最终确定项目所需的冻融设备类型、容器规格及装载



图 7 三种冻融袋类型



图8 原液分装站

量。至此,可以进行厂房工艺布局设计,考虑人流、物流通道等细节问题。

4.3 实例

4.3.1 基本信息

某疫苗产线,原液产量约为180 L 每批,选配两台标准100 L 立式平板冻融系统,冻融袋采用满载容积20 L 的配夹具的冻融袋。

4.3.2 原液分装

采用原液分装站将疫苗原液按设置的分装量定量分装到配夹具的冻融袋内。分装过程需考虑连接管路的排气、原液取样、尾料处理及打印批次等内容。原液分装后采用配套的转运车,转运至冻融间,准备冷冻。

4.3.3 冷冻

冷冻过程涉及工艺参数设定、温度监测以及取样验证,以下是具体的操作步骤和要求。

4.3.3.1 工艺参数设定

为了确保冷冻过程的稳定性和疫苗原液的质量,需要精确设定以下关键工艺参数:

- 产品需求温度:该疫苗原液设置冷冻温度为 -40°C ;
- 降温方式:采用阶梯式降温,一级阶梯,设置阶梯温度及时间;
- 换热板温度设定:设置导热油温

度,即换热板冷冻温度,需考虑有足够的温差又要保证节能效果。

4.3.3.2 温度监测

冷冻前,将制品探头通过冻融袋的测温口插入,确保探头位置处于疫苗原液中心层;启动冷冻自动程序,结束后,形成冷冻曲线和报表;根据曲线和报表判断疫苗原液内部是否在设定时间内,达到设定温度要求。

4.3.3.3 取样验证

通过对冷冻后的疫苗原液进行取样验证,取样分布如下:

- 在一次性冻融袋上均匀取点,如选定9个取样点;
- 每个点,按照设定高度取样,复融后分析料液特性。
- 依据实验测试结果分析得出,该疫苗产品在连续三次冻融后,原液的纯度、pH 值、不溶性微粒及生物学活性等均未发生明显改变,原液蛋白质含量受冷冻浓缩效应引起不符合预期的下降趋势可能性小,该冷冻工艺与该疫苗原液匹配。

4.3.4 低温储存

将冷冻后的疫苗原液,通过转运车转入 -40°C 冷库进行储存,储存时间按疫苗原液可能需要在冷库中存放的最长时间来设定。待达到设定时间后,

我们在全球生物制药、食品饮料领域的下磁力搅拌合作伙伴 - KEST

拥有超过 30 年 市场经验的下磁 力搅拌制造商

产品线完整,可提供适用于不同工况的产品,性能可靠,低维护,寿命长



设计特点

- 开放式桨叶设计,提高 CIP/SIP 效率
- 采用 SiC 阴轴承、 ZrO_2 阳轴承,减少磨损,延长寿命
- 无菌设计,阴轴承采用热收缩压制技术、无螺纹连接、无需粘合剂
- 专利的 Kest-Lock 连接方式,安装拆卸便捷
- 直流电机,交流电机

材质

EN 1.4435/316L;
904L; SMO254;
HC22; Ti2; PP



诺戈(上海)贸易有限公司

地址:上海市松江区小昆山镇光华路489号3幢

电话:021-51688300

传真:021-51688380

www.kest.se

www.neumo-Vargus.com.cn



图9 冷冻完成

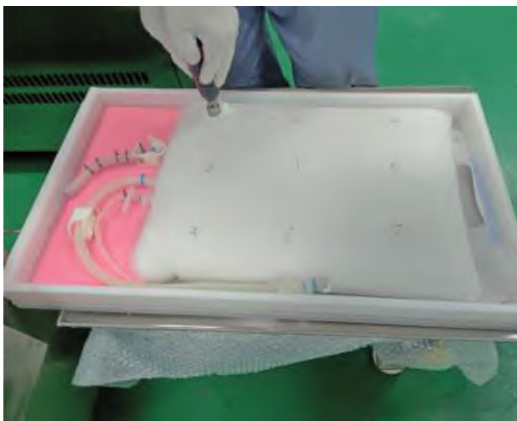


图10 原液冷冻取样



图11 取样结果

从冷库取出，准备复融操作。

4.3.5 复融

复融过程的工艺参数的设定和验证步骤至关重要，以下是详细的操作流程。

4.3.5.1 工艺参数设定

为了确保疫苗原液在复融过程中保持其稳定性和活性，需要设定以下工艺参数：

- 产品需求温度：该疫苗原液需复融至 8℃ ；
- 升温方式：采用阶梯式升温，一级阶梯，设置阶梯温度及时间；



图12 复融完成

●换热板温度设定：设置导热油温度，即换热板复融温度，需考虑有足够的温差又要保证疫苗原液活性不受影响。

4.3.5.2 验证

复融前，将制品温度探头通过冻融袋的测温口插入，确保探头位置被冷冻疫苗原液包围；启动复融自动程序，等待复融结束，结束后（见图 12），形成复融曲线和报表；判断疫苗原液内部是否在设定时间内达到设定温度要求；

4.3.5.3 取样分析

取样，测试冷冻、复融后原液的相关特性，如 pH 值、等电点、肽图、蛋白含量、纯度、单体峰面积与主峰面积、不溶性微粒等指标，判断冷冻前后原液特性的变化情况以及该冻融工艺是否达到预期效果。

5 结语

本文从冻融的概念出发，介绍了常规的冷冻和复融工艺设备及面临的问题，随后介绍了 3 种专用的可控冻融系统及其对比分析，最后结合某实际的疫苗产线，详细阐述了可控冻融系统及冻融袋的选型、工艺参数设定和摸索以及实际的使用操作流程，详尽阐述了可控冻融系统在疫苗生产中的应用。

参考文献：

- [1] 郭全举，刘超. 基于生物原液的可控冻融装置及其应用特性[J]. 化工与医药工程，2020，41(6): 41-44.
- [2] 刘超，“可控”冻融系统在现代生物制品生产中的应用[J]. 医药&装备，2020，02(18): 28-31.
- [3] 梁玮，王美霞，刘宝林. 低温保存对生物样本及其生物大分子的影响[J]. 中国生物医学工程学报，2017(05): 615-621.