

微生物发酵制药工艺与市场前景分析

邵光魁 康宏元 张海勇 蒋广源 (齐鲁安替制药有限公司, 山东 济南 250100)

摘要: 微生物发酵制药工艺具有高效、经济等优点, 在制药工业中有重要优势和地位, 对促进绿色低碳生产有至重要意义。随着人口增长和老龄化社会的到来, 医药产品需求量不断增加, 微生物发酵工程在制药领域的应用需求将持续攀升。本文对微生物发酵制药工艺进行初步探讨并对其市场前景进行简要分析。

关键词: 微生物发酵; 制药工艺; 市场前景

0 引言

微生物发酵技术起源于古代酿酒和发酵食品生产, 随着现代生物技术的发展, 微生物发酵在制药工业中的应用得到极大扩展。微生物发酵制药是控制微生物的生长繁殖及新陈代谢, 经过分离、纯化, 制备药品的过程^[1]。其类型主要分为: 微生物制备疫苗、原核微生物制药及真菌制药。从实际工业化生产来说, 微生物发酵制药的工艺流程包括: 生产菌种选育、种子扩大培养、微生物发酵培养和药物分离纯化等过程。本文对微生物发酵制药工艺进行初步探讨并对其市场前景进行简要分析。

1 生产菌种选育

生产菌种的选育是进行微生物发酵制药的首要条件。自然界中的原始菌种只能产生微克级的药物, 不具备生产价值。需要对菌种进行选育及筛选, 获得高效的适用于工业化生产的菌种^[2]。现代制药行业选育菌种的主要采用以下方法:

1.1 自然界分离选育

从自然界分离制药菌种包括样品的采集预处理、分离培养、活性药物筛选、活性物质结构确定。样品采集之后需要对其进行预处理, 可以使微生物富集便于提取。采用不同的温度、不同的溶剂进行提取, 也可以得到不同的菌种; 分离培养过程最重要的是选择适宜的培养基; 活性药物的筛选目的是测定培养物是否具有生物活性, 在此过程需要详细记录化合物的分离纯化过程, 为后期工业化生产提供数据支持; 活性物质的结构确定, 经过筛选的菌种应妥善保存, 将其得到的活性物质用液相色谱技术、气相色谱技术、核磁共振等技术进行分析, 并对其理化性质进行详细表征。

1.2 诱变育种

诱变育种是采用化学或物理诱变剂使菌种遗传基因发生突变从而获得优良菌种的技术。在此过程中, 诱变剂的选择和诱变效应的筛选是非常重要的。诱变

育种具有方法简单、速度快等优点, 但是缺乏导向性。常用的化学诱变剂有脱氨剂、碱基类似物、嵌合剂和烷化剂。物理诱变剂有各种能够引起导致基因突变的射线和紫外线等。在实际育种过程中, 一般不是单独诱变, 而是采用交叉、组合方式进行诱变。另外, 诱变剂量大小和诱变时间长短也会对菌种选育产生重要影响。

1.3 基因工程与基因重组技术育种

基因工程技术是指对某组基因进行过量表达或抑制表达、调控代谢过程, 进而得到可高效表达药物菌种的技术。其在维生素、抗生素菌种的选育过程具有重要应用。基因重组技术是将不同性质的细胞融合、发生基因重组, 从而得到新菌种的过程。其基本过程分为: 通过高通量筛选, 建立形状优良的突变株库; 优良菌种基因重组, 再生细胞壁; 发酵筛选, 得到理想融合菌种。

2 微生物发酵培养

2.1 发酵工艺参数的控制

发酵工艺参数是指影响微生物生长和生产的生物学、物理、化学参数。生物学参数包括生产菌的菌体浓度、形态特征、酶活性、细胞代谢、基因表达、和噬菌体等; 物理参数包括温度、压力、搅拌转速、反应体积、空气流量等; 化学参数包括供氧、pH、基质浓度、产物浓度等参数。

微生物发酵工艺是各种参数不断变化的过程, 其控制策略基于过程参数及菌种生长动力学。随着计算机技术的发展, 应对各参数进行综合调控, 使菌种生产始终处于产能优化环境之中。

2.2 菌种形态与浓度的控制

生产菌体形态、浓度、活性是发酵过程检测的主要生物学参数, 同时要严格检测菌体污染。在发酵培养过程中微生物的形态可能发生变化, 这是生理代谢过程发生变化的外在表征。在不同培养阶段, 应在取

样后用显微镜进行跟踪观察；菌体浓度影响产物形成速率。对于氨基酸、维生素等初级代谢产物发酵，菌体浓度应控制在临界菌体浓度，菌体浓度超过此值，产率会迅速下降。菌体浓度主要靠调节基质浓度、控制溶解氧量进行控制，来实现最佳工业生产水平。

另外，杂菌污染将严重影响到产品的产量和质量，防止染菌是非常重要的工艺控制内容。传统检测染菌方法有显微镜观察法、平板划线法等。发酵罐中染菌的原因很复杂，实际生产中需要建立标准操作规范、完善管理制度来避免染菌的发生。

2.3 发酵 pH 控制

发酵液的 pH 为微生物生长和产物积累提供了适宜的环境，因此 pH 控制不当将严重影响菌体生长及产物合成，维持合适的 pH 已经成为发酵工程最为关键的控制措施。不同微生物的最适生长和生产的 pH 是不同的，如细菌生长适宜的 pH 为弱碱性，真菌生长适宜的 pH 为弱酸性。在工艺化生产中，发酵液 pH 的控制往往采用调整培养基配方、酸碱调节、补料流加等策略，把 pH 控制在适宜范围。培养基配方研究和优化阶段，需要考虑不同碳源和氮源利用速度及其对发酵 pH 的影响。碳酸钙能与酸反应起到中和作用，一般发酵培养基中都含有碳酸钙，其用量要根据菌体产酸能力及实验研究来确定。酸碱调节，由于培养基对 pH 的调节能力有限，所以在生产过程中直接补加酸碱是非常有效和常用的方法。强酸、强碱对菌体的伤害大，可以使用生理酸碱性物质硫酸铵、氨水等，这样不仅调节 pH 还补加氮源。补料流加，补料控制 pH 的原理在于营养物质的供应程度影响了细胞的生长和代谢。营养物质越丰富，细胞生长和代谢越旺盛，有机酸积累多，发酵 pH 低，反之 pH 升高。

2.4 发酵温度控制

温度对发酵的影响表现在三个方面：影响菌体生长、药物代谢方向及稳定性。温度影响菌体生长，主要是影响细胞酶催化活性、细胞膜流动性。高温导致酶变性、引起微生物死亡，低温会导致酶活降低，只有最适应的温度条件才能对微生物生长有益；温度影响药物合成代谢方向，不同温度下会产生不同的产物；温度还影响产物的稳定性，温度过高会引起产物降解及微生物失活，这时候需要降温操作保障生产平稳运行。另外，微生物最适生长温度与最适生产温度往往不一致，生长阶段的温度应适宜菌体生长，生产阶段的温度要适宜产物生产，因此，可以采用对发酵过程进行变温控制的方法来提高产量。

2.5 发酵溶解氧控制

溶解氧浓度是指溶解于发酵体系中的氧浓度，可以用相对饱和氧浓度或绝对含氧量来表示。临界氧浓度是不影响呼吸或产物合成的最低溶解氧浓度。由于微生物制药绝大多数是好氧发酵，因此发酵体系的溶解氧浓度应该大于临界氧浓度。在发酵过程中溶解氧是不断变化的，在发酵初期，菌体繁殖旺盛，溶解氧浓度较低；发酵后期，菌体代谢减慢、耗氧减少，溶解氧浓度较高。发酵溶剂氧控制是指发酵过程中供氧与耗氧平衡，不同菌种对溶解氧浓度的需求不同。溶解氧浓度由发酵罐的供养和微生物的需氧两个方面决定，前者大于后者才能使发酵工艺正常进行。从发酵工艺角度分析，主要有增加氧推动力、控制菌体浓度和综合控制等措施。通过增加通气速率、加大通气流量，可以维持良好的推动力，提高溶解氧浓度。通过控制适宜的菌体浓度，可以实现耗氧与供氧的平衡；综合控制，实际工业化生产中常常将搅拌、通气、补料、菌体生长及 pH 等多个因素综合起来进行控制。

2.6 补料与发酵终点的控制

补料是补加新鲜培养基的过程，具有补充营养物质、避免高浓度基质对微生物、生长抑制、调节培养液的 pH、改善发酵液流变学性质从而使微生物处于适宜环境中的作用。放料是放出一部分培养物的过程，其作用在于解除产物反馈机制和分解产物的阻遏机制。补料和放料往往同时进行。

发酵终点是发酵反应结束的时间点。发酵终点的选择应该与发酵工艺研究相结合。分批式发酵可根据总生产周期求得效益最大化时间。微生物发酵速率较小导致产量增长有限，延长时间使药物平均产量下降及设备能耗增加；发酵终点还应考虑下游分离纯化工艺及末端处理的要求。营养物残留过多增加后续分离纯化、废水处理难度。发酵时间太长，不仅会导致菌体自溶、改变发酵液理化性质，也会引起产物的降解和杂质的升高。此外，如遇到染菌、代谢异常等情况，应采用相应措施、终止发酵并及时处理。

3 药物分离纯化

3.1 发酵药物分离纯化基本过程

分离纯化是发酵制药工艺的最终步骤，微生物发酵产物存在于发酵液中，只有经过分离纯化才能得到所需要的药物。分离纯化步骤应选择操作条件温和、反应时间短、选择性强、安全绿色的工艺路线。

3.2 发酵液的预处理工艺

发酵液成分非常复杂，里面含有目标产物及大量

杂质。预处理的主要目的是使体系中菌体细胞与其他成分分离,以便后续分离工艺的进行。其内容主要包括去除重金属离子、热源、毒性物质、色素等。主要的方法包括絮凝、沉淀、助滤、加热和调剂pH等方法。

3.3 初级分离工艺

初级分离工艺包括过滤、吸附、沉淀、萃取和离子交换等。过滤是对固液相进行分离的基本方法,通过过滤很容易将液体和菌体进行分离,在实际生产过程中,常用真空旋转过滤机和平板过滤器进行过滤操作。吸附是吸附产物,从而使产物进行富集的操作,可分为物理吸附和交换吸附,相对于物理吸附而言,交换吸附具有选择性较好的优点。生产上常用活性炭、吸附树脂等吸附剂进行发酵产物的吸附分离。

3.4 纯化精制工艺

纯化精制工艺包括:浓缩、脱色、结晶、干燥和无菌处理等。浓缩过程是利用真空减压浓缩器或膜蒸发浓缩器去除溶媒^[1]。通过降低液体压力或形成薄膜,可以在较低温度下实现对料液的浓缩,减少高温下产物的降解与杂质的产生;脱色过程主要使用活性炭和离子交换树脂,在此过程中需要注意脱色剂用量、脱色时间与温度等参数;结晶是制备高纯度药物的常用方法,具有选择性好、操作简便、设备简单等优点,操作关键在于结晶条件的确定^[4];干燥是去除水分和溶剂的操作,常用的干燥方法包括真空减压干燥、喷雾干燥、冷冻干燥及辐射干燥,在实际生产过程中,需要根据药品不同的理化性质选择不同的干燥方式。

4 微生物发酵制药工艺的市场应用前景

随着人口增长和老龄化社会的到来,医药产品的需求量不断增加。根据市场研究报告,全球生物制药市场预计将在未来几年内高速增长。尤其是微生物发酵制药领域,由于其在抗生素、疫苗和营养补充剂等方面的广泛应用,市场需求将持续攀升。在北美和欧洲等发达国家和地区,微生物发酵制药技术已经相对成熟,市场份额较大,而在亚太地区,随着经济的发展和技术的进步,微生物发酵制药市场正处于快速增长期。这些地区的巨大人口基数和医疗需求为市场的发展提供了广阔空间。

影响微生物发酵制药市场前景的几个关键因素:第一是技术进步,现代生物技术如基因工程、代谢工程和系统生物学的发展等为微生物发酵制药提供了新的技术支持,这些技术的应用使新型微生物发酵工程具有更高的产量、更短的发酵周期和更强的环境适应性,使微生物发酵制药的效率和产量进一步提高,生

产成本进一步降低。第二是环保优势,相比传统化学合成方法,微生物发酵具有环保、可持续的优势,发酵过程产生的废弃物较少,对环境污染小,随着环保法规的日益严格,微生物发酵制药将获得更多的发展机遇。第三是政策支持,各国政府对生物医药产业的支持政策,如研发资金支持、税收优惠等,为微生物发酵制药的发展提供了有力的政策保障。

基于其广阔的市场前景,未来微生物发酵制药工程的几个发展趋势:一是生物制药的个性化,随着精准医疗的推进,个性化药物的需求将不断增加,微生物发酵制药能够灵活调整生产工艺,满足个性化药物的生产需求。二是注重环保与可持续发展,随着环保意识的增强,绿色制药将成为行业发展的重要方向,微生物发酵制药技术以其低污染、高效率及高选择性优势,将在绿色制药领域发挥更大的作用。三是主动参与国际合作与竞争,全球化的深入,国际间的技术合作与竞争将更加激烈,微生物制药企业需要加强技术创新和市场拓展,提高国际竞争力。

尽管微生物发酵制药具有广阔的市场前景,但也面临一些挑战,如菌种的选育和优化、发酵过程的控制、产品的分离纯化等。通过加强基础研究,提升技术水平,解决这些问题,将进一步推动微生物发酵制药的发展。

5 结束语

微生物发酵制药工艺具有高效、经济等优点,并对绿色低碳生产有至关重要意义。本文对微生物发酵制药工艺生产菌种选育、微生物发酵培养和药物分离纯化等流程进行探讨,并对其市场前景进行简要分析,旨在促进国内微生物发酵制药行业的共同进步。

参考文献:

- [1] 白立勇,葛新霞,王建华.微生物发酵制药技术[J].医药化工,2020,46(10):148-149.
- [2] 吕孙燕,汪祎,陈金芸,王鸿,章华伟.药用微生物育种技术及其应用进展[J].发酵科技通讯,2021,50(1):6-13.
- [3] 韩秋敏,膜分离技术在药物分离纯化中的应用[J].化工管理,2018,(14):90.
- [4] 肖鹏,李尊华,罗杰.药物共结晶过程的影响因素研究进展[J].山东化工,2020,51(23):92-95.

作者简介:

邵光魁,男,汉,硕士,工程师,研究方向:药物合成研究。