Research Article

DOI: 10.22034/ijche.2023.389481.1296

This journal is an open access journal licensed under an Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International license(CC BY-NC-ND 4.0).

Studying and Simulating the Separation Process of the Production Unit of Tissue Plasminogen Activator

S. Barzegar[1], M. Hayati-Ashtiani[2*]

1- M. Sc. in Chemical Engineering, Faculty of Engineering, University of Kashan, Iran

2- Assistant Professor of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, University of Kashan, Iran

Email: hayati@kashanu.ac.ir

Abstract

Tissue plasminogen activator is a recombinant protein for treatment. The main industrial production process of this tissue plasminogen activator mainly includes laboratory growth, fermentation, and separation. This study examines the equipment used in separation process, namely centrifuge, ultrafilter, microfilter, chromatography column, ER column, bottler, freeze dryer and mixing tanks, and the unit operations of this section. Retrofitting such as process debottlenecking (time debottlenecking of freeze dryer) and parallelization of the operations for each batch (1.6 kg product) was carried out and the minimum production time was reduced from 12 to less than 7 days and 23 hours for each batch. A storage tank was also installed to prevent the unit shutdown during the freeze-drying failure. The economic analysis shows the share of the direct costs including raw materials, utilities, etc. is 61.73% per batch and the share of indirect costs including lab charges, marketing, research and development, etc. is 38.27%. Arginine includes 97% of the total $247,000 of raw materials costs. Costs of investment, purchase, equipment installation and essentials needed are estimated to be $39,000,000. This cost is mainly for bottling and freeze-dryer systems.

Received: 13 March 2023
Accepted: 11 July 2023
Page Number: 20-29

Keywords:
Economic Analysis,
Process Design,
Retrofitting,
Separation,
Simulation,
Tissue Plasminogen Activator

Please Cite this Article Using:

Barzegar, S., & Hayati-Ashtiani, M. (2024). Studying and Simulating the Separation Process of the Production Unit of Tissue Plasminogen Activator. *Iranian Chemical Engineering Journal*, *23*(134), 20-29, [In Persian].

مقـــالـــــه پـــــژوهشی

DOI: 10.22034/ijche.2023.389481.1296

This journal is an open access journal licensed under an Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International license(CC BY-NC-ND 4.0).

مطالعه و شبیه‌سازی بخش جداسازی فرایند تولید فعال‌کنندهٔ پلاسمینوژن بافتی

سام برزگر[۱]، مجید حیاتی‌آشتیانی[۲*]

۱- کارشناس ارشد مهندسی شیمی، دانشگاه کاشان

۲- استادیار مهندسی شیمی، دانشگاه کاشان

پیام‌نگار: hayati@kashanu.ac.ir

چکیده

فعال‌کنندهٔ پلاسمینوژن بافتی، پروتئینی نوترکیب برای درمان است. فرایند اصلی تولید دارو دربردارندهٔ قسمت‌های رشد آزمایشگاهی، تخمیر و جداسازی است. این تحقیق به مطالعهٔ قسمت جداسازی فرایند تولید شامل تجهیزاتی مانند سانتریفوژ، اولترافیلتر، میکروفیلتر، ستون کروماتوگرافی، ستون زهرآبه‌زدا، بطری‌پرکن، خشک‌کن انجمادی، مخازن اختلاط و عملیات واحدهای این بخش می‌پردازد. طراحی اصلاحی دربارهٔ رفع تنگناهای فرایندی (رفع تنگنای زمان خشک‌کن انجمادی) و موازی‌سازی عملیات‌ها در هر بار تولید ناپیوسته ۱/۶ کیلوگرم محصول انجام پذیرفت و زمان کمینهٔ تولید از ۱۲ روز به ۷ روز و ۲۳ ساعت تنزل یافت. مخزن ذخیره‌ای در زمان خرابی خشک‌کن انجمادی به‌منظور جلوگیری از بسته‌شدن واحد تعبیه شد. تجزیه‌وتحلیل اقتصادی نشان می‌دهد که سهم هزینه‌های مستقیم شامل مواد مصرفی، سرویس جانبی و غیره در هر تولید ناپیوسته ۶۱/۷۳٪ و سهم هزینه‌های غیرمستقیم شامل آزمایشگاهی، بازاریابی، تحقیق و توسعه و غیره ۳۸/۲۷٪ است. آرژینین ۹۷٪ کل هزینهٔ مواد مصرفی را که حدود ۲۴۷ هزار دلار است، شامل می‌شود. هزینهٔ سرمایه‌گذاری، خرید و نصب تجهیزات و ملزومات مورد نیاز، حدود ۳۹ میلیون دلار است. قسمت عمدهٔ این هزینه صرف سامانهٔ بطری‌پرکن و خشک‌کن انجمادی می‌شود.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۲۰

شماره صفحات: ۲۰ تا ۲۹

کلیدواژه‌ها:

مطالعهٔ اقتصادی،

جداسازی،

طراحی فرایند،

طراحی اصلاحی،

فعال‌کنندهٔ پلاسمینوژن بافتی

* کاشان، دانشگاه کاشان، دانشکدهٔ مهندسی، گروه مهندسی شیمی

استناد به مقاله:

برزگر، سام، و حیاتی‌آشتیانی، مجید. (۱۴۰۳). مطالعه و شبیه‌سازی بخش جداسازی فرایند تولید فعال‌کنندهٔ پلاسمینوژن بافتی، *نشریه مهندسی شیمی ایران*، ۲۳(۱۳۴)، ۲۰-۲۹.

۱. مقدمه

تولید پروتئین‌های نوترکیب[1] از فناوری‌های مهم و تأثیرگذار دههٔ ۷۰ میلادی است که رشد سریعی یافت[۱]. فعال‌کنندهٔ پلاسمینوژن بافتی[2] نیز نوعی پروتئین نوترکیب درمانی است که شامل زنجیره‌ای از آمینواسیدها است و اولین پروتئین نوترکیب درمانی است که از سلول‌های پستانداران تولید می‌شود، اما از سلول‌های باکتریایی هم قابل تولید است که استخراج زیست‌مولکولی پروتئین آن برمبنای کروماتوگرافی است[۲]. این دارو برای درمان بیماری‌های حاصل‌از لختگی خون- مانند سکتهٔ قلبی، اختلالات حاد قلبی، انسداد ریوی و دیگر بیماری‌های قلبی- عروقی به‌کار می‌رود و به حل‌شدن لخته‌های خونی کمک می‌کند[۳]. اثبات شده‌است که تزریق وریدی این پروتئین نوترکیب درمانی، یک درمان دارویی مؤثر برای جریان یافتن مجدد جریان خون است[۴]. کارکرد فعال‌کنندهٔ پلاسمینوژن بافتی در بدن فعال‌سازی پلاسمینوژن است. پلاسمینوژن فعال پلاسمین را آزاد می‌کند. پلاسمین که نوعی آنزیم است، فیبرین را که مادهٔ پروتئینی رشته‌مانند و غیر محلول است حل می‌کند. تشکیل فیبرین باعث نگه‌داشتن لخته‌های خون در یک مکان می‌شود. جریان خون هنگامی‌که لخته‌های مسدودکننده حل می شود، ازنو برقرار می‌شود.

در تولید فعال‌کنندهٔ پلاسمینوژن بافتی، توالی[3] DNA که از فعال‌کنندهٔ پلاسمینوژن بافتی تولید شده‌است به‌وسیلهٔ توده با منشأ سلولی[4] تکثیر[5] می‌شود. این مادهٔ دارویی از سال ۱۹۸۶ در شرکت Genetech تولید می‌شود که قیمت هر دوز آن mg ۱۰۰/۲۰۰۰$ است و میزان فروش آن برابر با ۳۰۰ میلیون دلار در سال است[۵]. در تحقیقی از دو شبیه‌ساز تجاری Bioprocess Simulator (BPS) و SuperPro Designer (SPD) در مطالعهٔ فرایند دارویی تولید tPA از CHO، شبیه‌سازی، توسعه، ارزیابی و افزایش مقیاس فرایند آن استفاده شده‌است. آنچه از شبیه‌سازی یافت شد این است که هزینه‌های جداسازی در محیط کشت بدون سرم که در آن هورمون رشد حاوی سایر مواد مغذی مورد نیاز است، ۸۰-۷۰٪ کاهش می‌یابد. در آن تحقیق، از دو روش مختلف در تولید tPA استفاده شد که روش اول، حالت پایه و روش دوم، روش جای‌گزین است که تفاوت این دو روش در سه نکته است: ۱) در روش اول (حالت پایه) سرم ۱۰٪ به‌کار گرفته‌شده، اما در روش دوم سرم به‌کار نرفته‌است. ۲) نمودار جریان فرایند روش دوم (روش جای‌گزین) نسبت به روش اول، سه دستگاه کمتر دارد ۳) در روش جای‌گزین، ستون تبادل یونی، جای‌گزین ستون گران‌قیمت کروماتوگرافی در حالت اول شد[۶].

در فناوری‌های زیستی، از فرایندهای تزریق متنوعی برای تعویض محیط کشت در حالت پایدار می‌توان بهره برد که برتری‌ها آن شامل ازدیاد چگالی سلول و هم‌چنین تولید راکتورزیستی است. در تحقیقی، از فرایندهای تزریق عمیق در تولید پروتئین‌های نوترکیب استفاده شد؛ نتایج نشان داد که در روش تزریق در عمق، میزان تولید tPA از شرایط نبود سامانهٔ تزریق بیشتر است[۷]. در تولید tPA از فیبروبلاست[6]های انسانی (سلول ریهٔ جنین انسان) در راکتور زیستی به‌همراه ستون جذب پرشده، استفاده شد. tPA کمی تولید شد؛ درنتیجه، به‌منظور افزایش تولید tPA باید غلظت آنزیم‌های خارج سلولی کم‌ترین مقدار شود و برای رسیدن به این هدف یک ستون جذب پرشده پیشنهاد شد که رزین‌های آن خواصی مشابه با tPA داشته‌باشد، قابل اتوکلاو شدن و مشابه با tPA آب‌گریز باشد[۸].

نرم‌افزارهای خانوادهٔ Aspen از شرکت AspenTech دارای کاربردهای متنوعی در شبیه‌سازی هستند[۹]. پژوهشگران در تحقیقی به‌منظور مقایسهٔ قابلیت‌های نرم‌افزار SuperPro Designer با Aspen Batch Plus ه یکی از نرم‌افزارهای خانوادهٔ Aspen است نشان دادند که هر دو نرم‌افزار، شبیه‌سازی‌های خاص را انجام می‌دهند؛ اما توانایی شبیه‌سازی تمامی پدیده‌های فرایندهای زیست‌فناوری را ندارند. هر دو نرم‌افزار در مباحث مدیریت فرایند، موازنهٔ جرم و انرژی، برنامه‌ریزی تولید و تحلیل اقتصادی موفق عمل می‌کنند. توانایی نرم‌افزارها در پیش‌بینی بزرگ‌سازی[7] مقیاس فرایندی و بهینه‌سازی محدود است. لازم به ذکر است که نرم‌افزار SuperPro Designer به اطلاعات کمتری برای انجام شبیه‌سازی نیاز دارد[۱۰].

هدف از انجام این پژوهش، پس‌از شرح فرایند قسمت جداسازی، شبیه‌سازی قسمت جداسازی به‌کمک نرم‌افزار Aspen Batch Plus و ارائهٔ طرح اصلاحی به‌منظور کاهش زمان تولید هر فرایند ناپیوسته از

1. Recombinant Protein
2. Tissue Plasminogen Activator
3. Sequence
4. Melanoma
5. Clone
6. Fibroblasts
7. Scale-up

۱۲ به ۸ روز و ارزیابی اقتصادی قسمت جداسازی واحد تولید فعال‌ساز پلاسمینوژن بافتی است. موازی‌سازی‌های مناسب مراحل یکی از نوآوری‌های این پژوهش است که باعث کاهش زمان جداسازی شد. در نوآوری دیگر، مخزن ذخیره‌سازی و مبدل حرارتی آماده‌به‌کار تعبیه شد که احتمال خرابی محصول با ارزش را کاهش دهد.

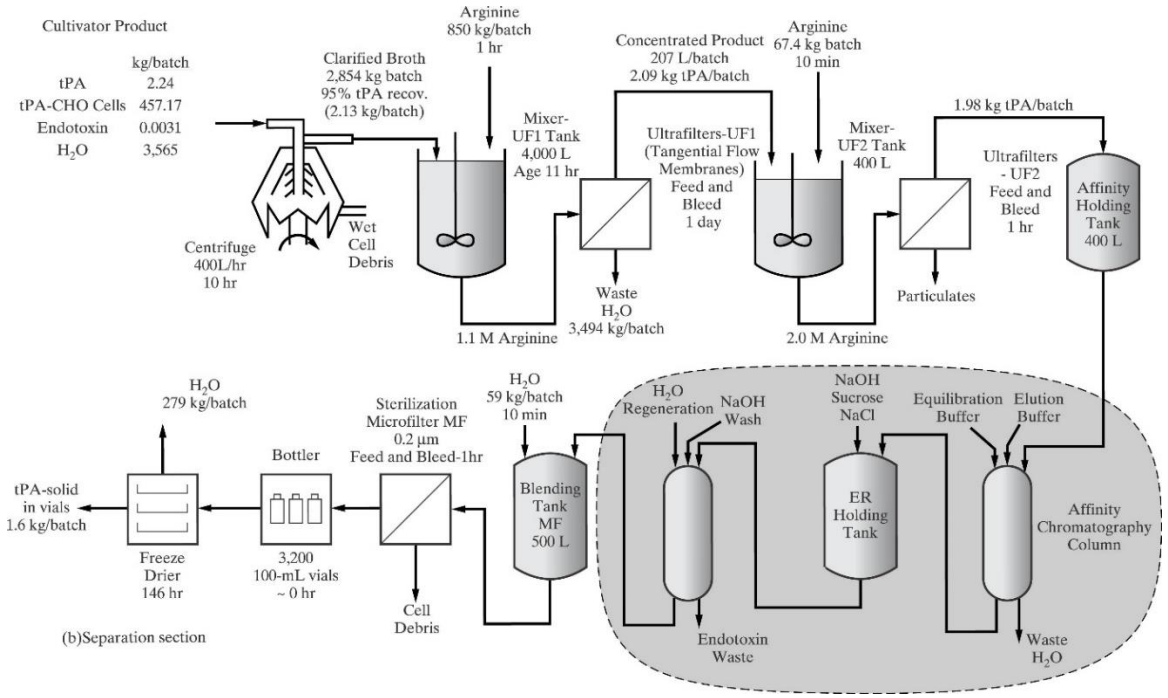
۲. روش کار

۲-۱ شرح فرایند

تخلیص مولکول‌های فعال زیستی، عملیاتی هزینه‌بر و سخت است و دست کم ۴۰٪ هزینهٔ تولید را شامل می‌شود[۱۱]. وظیفهٔ سخت جداسازی tPA از ترکیبات پیچیدهٔ زیست‌شیمیایی موجود در محیط کشت، برعهدهٔ فرایند جداسازی است. در فرایند تولید سلول‌های زنده، هزاران پروتئین با ساختار، اندازه و فعالیت شیمیایی مختلف حاصل می‌شود. هرکدام از این تفاوت‌ها برای حصول به محصولی خالص و پایدار، باید از بین برود. در عملیات جداسازی محصولات، به‌منظور اجتناب از تلف‌شدن فعالیت پروتئین‌ها، سرد نگاه داشته‌می‌شوند. دمای بالا (مانند دمای محیط که برای پروتئین‌ها بالا است) منجربه کاستن از اثر پروتئین‌ها، خنثی‌شدن و تغییر چیستی پروتئین می‌شود. دمای بالا منجربه تغییر ساختاری پروتئین می‌شود که برروی عمل‌کرد مناسب پروتئین‌ها مؤثر است. بدین علت سامانهٔ تهویهٔ مطبوع، دمای کل فرایند قسمت جداسازی را در ۴ °C نگه می‌دارد.

فرایند جداسازی واحد تولید فعال‌کنندهٔ پلاسمینوژن بافتی که شامل ۶ مرحله است در شکل (۱) ارائه شده‌است[۵]. الف) در این مرحله سلول‌های معیوب و مرطوب در سانتریفیوژ ابتدایی شکل (۱) که برای حجم‌های ناپیوسته کم درنظر گرفته‌شده، جداسازی می‌شود. در اثر سرعت بالای چرخش سانتریفیوژ، سلول‌های مرطوبی که شامل همهٔ سلول‌های tPA-CHO، ۵٪ وزنی از tPA، ۲۰٪ وزنی از آب و بدون زهرآبه هستند، به بیرون دفع و سانتریفوژ این مواد را حذف می‌کند. گوشت‌آبهٔ[1] شفاف از راه مجرای بالاسری وسط سانتریفوژ خارج می‌شود. ب) در مرحلهٔ دوم، محلول گوشت‌آبه به مخزن اختلاطی که دارای محلول آرژینین[2] هیدروکلراید است می‌رود و سپس به میکروفیلتر به‌منظور جداسازی پساب ارسال می‌شود. آرژینین به‌منظور اجتناب tPA از متراکم و لخته‌شدن در محلول‌های غلیظ به‌کار می‌رود. محصول غلیظ که حاوی tPA، آرژینین هیدروکلراید و آب است در دومین مخزن اختلاط با آرژینین تازه مخلوط می‌شود که محلول M ۲ آرژینین حاصل می‌شود. این محلول پیش از ارسال به مخزن نگهداری قبل دستگاه کروماتوگرافی، برای حذف ذرات جامد معلق، از میکروفیلتر عبور می‌کند. ج) محلول خروجی از میکروفیلترکه حاوی tPA، آرژینین، زهرآبه و آب است به ستون کروماتوگرافی کششی[3] می‌رود که در آنجا tPA و زهرآبه کاملاً و هم‌چنین ۲٪ وزنی آب و آرژینین جذب سطحی می‌شود. ستون‌کروماتوگرافی‌کششی قلب فرایند جداسازی است که پروتئین مورد نظر ما را از سایر ناخالصی‌های محیط کشت جدا می‌کند. د) تقریباً همهٔ tPA جذب شده که ۱/۶۹ kg/Batch است، به‌وسیلهٔ جریان شامل گلیسین (دارای گلیسین، آرژینین و آب) شست‌وشو داده و به مخزن فرستاده می‌شود. این مخزن حاوی tPA، گلیسین، زهرآبه، آرژینین و آب است. گلیسین یا آمینواستیک‌اسید، ساده‌ترین اسیدآمینه است و عنصری مهم در بافر شست‌وشوی ستون کروماتوگرافی کششی است. بافر شست‌وشو، ۸۵٪ وزنی tPA و زهرآبه را از رزین بازیافت می‌کند. پس‌از اضافه‌کردن مخلوط سود سوزآور و ساکارز به مخزن نگهداری، مخلوط در ستون حذف زهرآبه بارگذاری می‌شود. ساکارز به‌منظور این‌که همهٔ زهرآبهٔ موجود در ستون زهرآبه‌زدایی حذف شود، قبل از ستون زهرآبه‌زدا به فرایند تزریق می‌شود. ستون زهرآبه‌زدایی ۱۵/۷ لیتر حجم دارد و در آن زهرآبه‌ها جذب سطحی می‌شوند و با شست‌وشو به‌وسیلهٔ محلول سود سوزآور حذف می‌شوند. ستون زهرآبه‌زدا به‌وسیلهٔ آب، احیا (بازیابی) می‌شود. ه) در ادامه، محلول عاری از زهرآبه به مخزن نگه‌داری دارای همزن فرستاده می‌شود و در مخزن نگهداری ۵۹ kg/Batch آب اضافه می‌شود. پس از استریل و گندزدایی‌کردن محلول با میکروفیلتراسیون، tPA به‌میزان ۹۹/۷٪ بازیابی و سلول‌های معیوب باقی از آن جدا می‌شود. و) درپایان، محلول حاصل به بخش پرکردن بطری‌ها ارسال می‌شود تا آن‌جا بطری‌های ۱۰۰ mL با ۱۰۰ mg از tPA پرشوند و برای تبخیر آب به خشک‌کن انجمادی منتقل شوند.

1. Broth
2. Argenine
3. Affinity Chromatography



شکل ۱. نمودار جریان فرایند بخش جداسازی فرایند تولید tPA [۵].

Figure 1. Process Flow Diagram of Separation Section for the tPA Production Process [5].

۲-۲ شبیه‌سازی

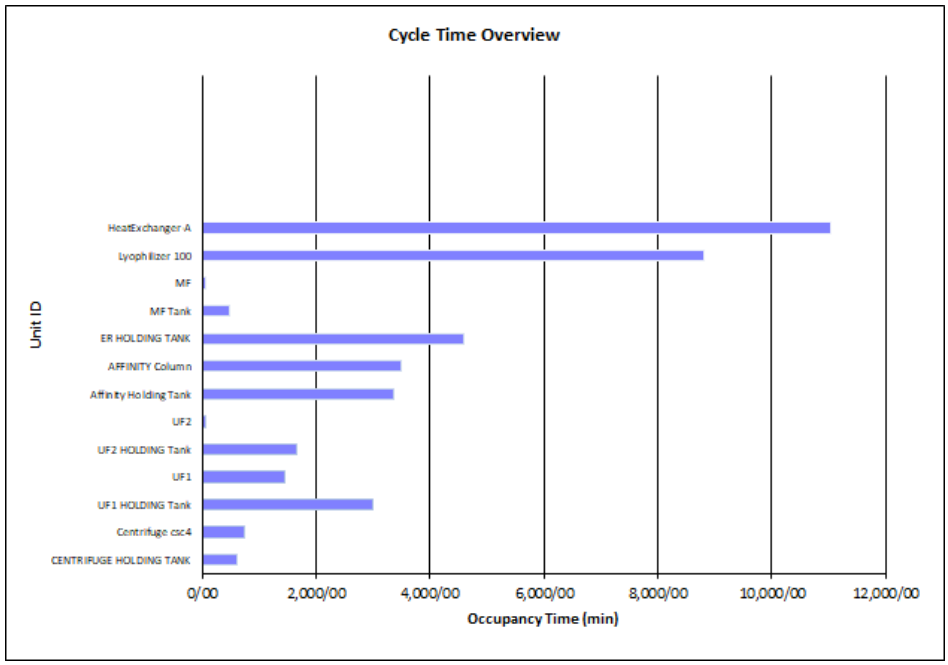
نرم‌افزار شبیه‌سازی فرایند Aspen Batch Plus (ABP) V10 بستهٔ نرم‌افزاری طراحی‌شده برای صنایع دارویی و زیست‌فناوری است که در این پژوهش استفاده شد. هدف‌گذاری طراحی فرایندی، تولید ۸۰ kg از tPA در سال است. فرایندهای جداسازی و راکتورهای زیستی، به‌صورت دو بخش موازی است که یک سانتریفیوژ دارند و هر دسته تولید ناپیوستهٔ کل فرایندهای جداسازی و راکتورهای زیستی (تخمیر)، ۱۴ روز طول می‌کشد و مقدار ۱/۶ kg/Batch تولید می‌شود؛ لذا، باتوجه‌به این‌که دو دستهٔ موازی به‌صورت هم‌زمان در مجموعه شروع می‌شود، ۳/۲ kg از tPA در پایان مدت ۱۴ روز تولید می‌شود. درنتیجه، برای رسیدن به میزان تولید ۸۰ kg/year به ۲۵ تولید ناپیوسته به‌وسیلهٔ این دو سری مشابه و موازی جداسازی و راکتورهای زیستی نیاز است[۱۱].

در حالت اصلاحی فرایند، از موازی‌سازی برخی مراحل فرایند بخش جداسازی استفاده‌شد. تحلیل حالت پایه نشان داد که خشک‌کن انجمادی گلوگاه فرایندی است و باتوجه‌به هزینهٔ بالای آن، امکان افزودن یک خشک‌کن دیگر به‌صورت موازی صرفهٔ اقتصادی نداشت. بنا بر این، برای رفع تنگنای فرایند، از یک مخزن ذخیرهٔ جدید استفاده‌شد. باتوجه‌به حساسیت بالای فرایند به دما که باید فرایند را در حداقل دمای ۴ °C نگه داشت مبدل حرارتی دیگری بدین منظور در حالت آماده‌به‌کار در طرح اصلاحی شبیه‌سازی شد.

۳. نتایج و بحث

۳-۱ تجزیه‌وتحلیل حالت پایه

نتیجهٔ زمان‌بندی واحد جداسازی بیانگر آن است که مدت زمان هر فرایند جداسازی ناپیوسته برای حالت پایه (شکل (۱)) برابر با ۱۲ روز است. شکل (۲)، برنامهٔ زمان‌بندی عمل‌کرد هر یک از دستگاه‌های فرایندی و درنتیجه برنامهٔ کل زمان‌بندی تولید کل فرایند را که از ۱۲ روز در حالت پایه به کمتر از ۸ روز (حدود ۷ روز و ۲۳ ساعت یا حدود ۱۱/۵۰۰ دقیقه) در حالت اصلاحی کاهش‌یافته، نشان می‌دهد. شکل (۲) که نمودار زمان کل کارکرد تجهیزات است برای یافتن زمان کارکرد هر دستگاه و هم‌چنین مشخص‌کردن گلوگاه‌های فرایندی به‌لحاظ زمان عمل‌کرد رسم شده‌است. باتوجه‌به شکل (۲)، مبدل حرارتی و سپس خشک‌کن انجمادی بیشترین زمان کارکرد را در طی فرایند دارند.

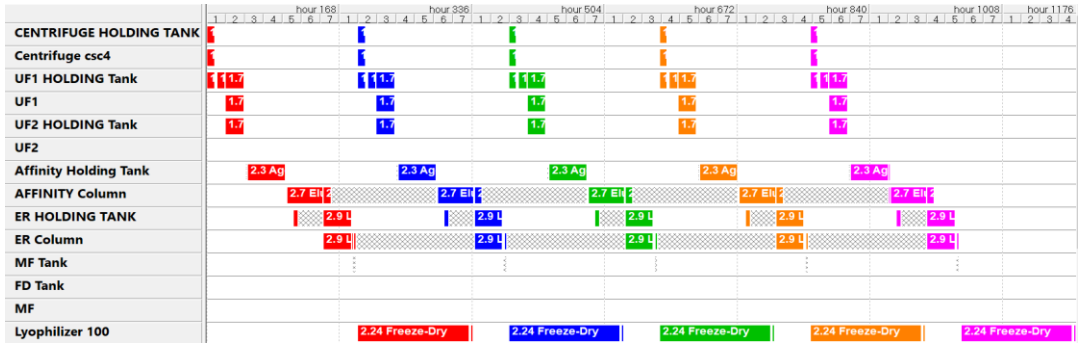


شکل ۲. زمان کل کارکرد تجهیزات فرایند.

Figure 2. Total Operation Time of Process Equipment.

نمودار گانت[1] ابزاری برای مدیریت صحیح زمان‌بندی پروژه است و شامل فعالیت‌هایی است که برای برنامه‌ریزی، پی‌گیری و کنترل پروژه انجام می‌شود. نمودار گانت فرایند جداسازی که نمودار میله‌ای است در شکل (۳) رسم شده‌است.

شکل (۳) نشان می‌دهد که اصلی‌ترین گلوگاه فرایندی، خشک‌کن انجمادی است که خشک‌کن انجمادی Lyophilizer، آب را از محلول نهایی tPA حذف و محصول جامد پایدار را تولید می‌کند. محصول نهایی از آن رو کاملاً خشک می‌شود تا به‌مدت نامحدود، پایدار و فعال باقی بماند. این جامد باید به‌سادگی در آب، دوباره حل شود. باتوجه‌به اهمیت خشک‌کن در سامانهٔ جداسازی، درصورت اشکال در این‌گونه دستگاه‌ها، زمان‌بندی فرایند تولید دچار اختلال خواهدشد. این نکته بیانگر این واقعیت است که به اصلاح فرایند جداسازی نیاز است تا زمان تولید ۱۲ روزه حالت پایه کاهش یابد. از این رو، عملیات‌های شست‌وشو، استریل، خوراک‌دهی و مانند، هم‌زمان با شروع عملیات واحد بالاسری انجام‌پذیرفته تا درنتیجهٔ این اصلاح و موازی‌سازی فرایندی، حد اقل زمان مورد نیاز تولید ناپیوسته ۷ روز و ۲۳ ساعت شود. باتوجه‌به این‌که در طراحی اصلاحی نسبت‌به حالت پایه، ۴ روز در زمان‌بندی صرفه‌جویی شده‌است، درصورت بروز اختلال، زمان کافی برای رفع اشکال فراهم آمده‌است و می‌توان به میزان تولید مطلوب رسید.



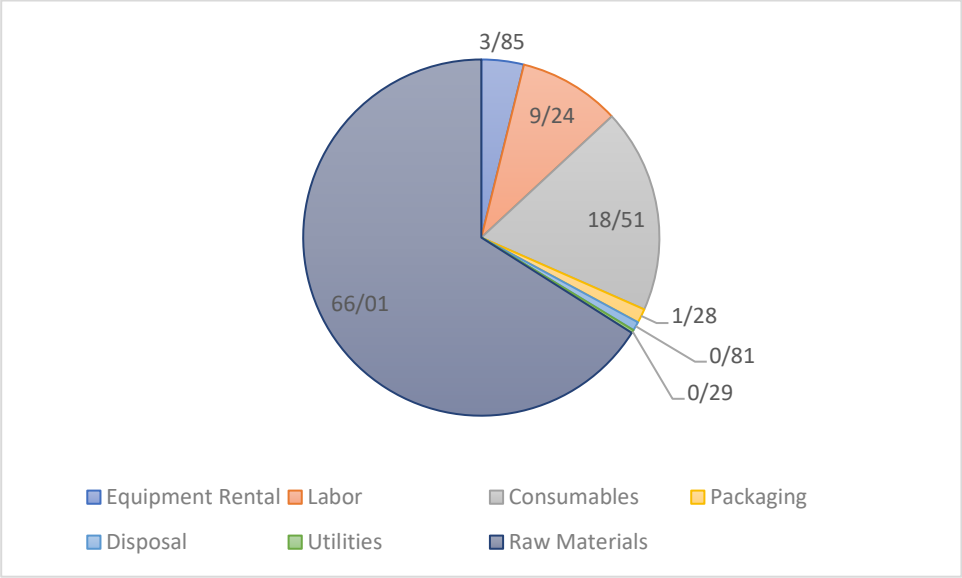
شکل ۳. نمودار گانت عملیات واحدها.

Figure 3. Gantt Chart of Unit Operations.

1. Gantt Chart

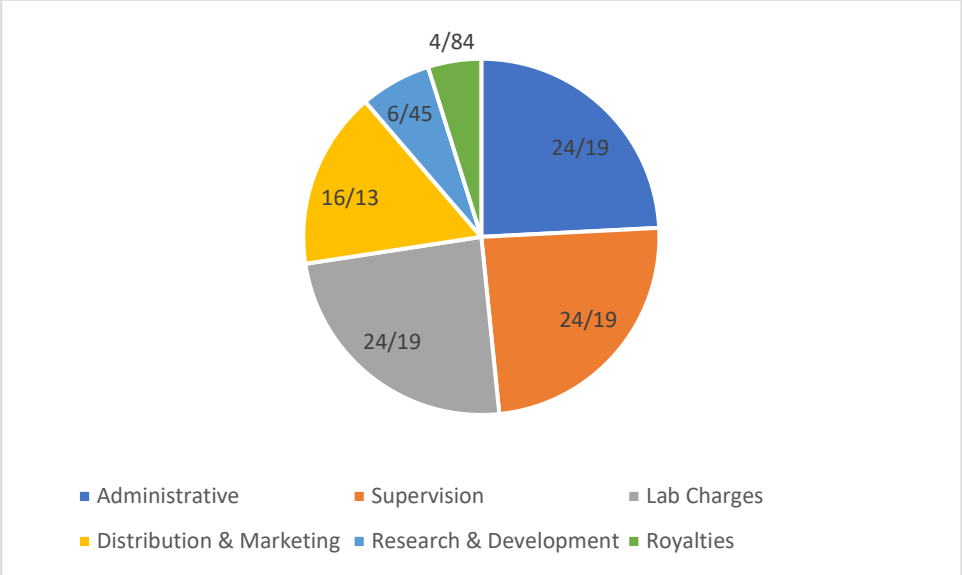
مطالعات امکان‌سنجی طرح به‌کمک نرم‌افزار در شکل (۴) نشان می‌دهد که هزینهٔ مستقیم برای هر تولید ناپیوسته ۳۷۴۲۹۹ دلار برآورد می‌شود که شامل هزینه‌های اجارهٔ تجهیزات، نیروی کار، مواد مصرفی، بسته‌بندی، اسقاط، سرویس‌های جانبی و مواد خام است. در بین هزینه‌های مستقیم، هزینهٔ مواد خام با ۶۶/۰۱٪ بیشترین و هزینهٔ اسقاط با ۰/۸۱٪ کمترین درصد از کل هزینهٔ مستقیم را شامل می‌شود.

هزینه‌های غیرمستقیم در هر تولید ناپیوسته که دربردارندهٔ هزینه‌های اداری، بازرسی، آزمایشگاهی، توزیع و بازاریابی، تحقیق و توسعه و حق امتیاز (حقوق دولتی) است، حدود ۲۳۲ هزار دلار تخمین زده می‌شود (شکل (۵)). در بین هزینه‌های غیرمستقیم، هزینهٔ بازرسی و آزمایشگاهی هرکدام با ۲۴/۱۹٪ بیشترین و هزینهٔ حق امتیاز با ۴/۸۴٪ کمترین درصد از کل هزینهٔ غیرمستقیم را شامل می‌شود.



شکل ۴. درصد هزینه‌های مستقیم.

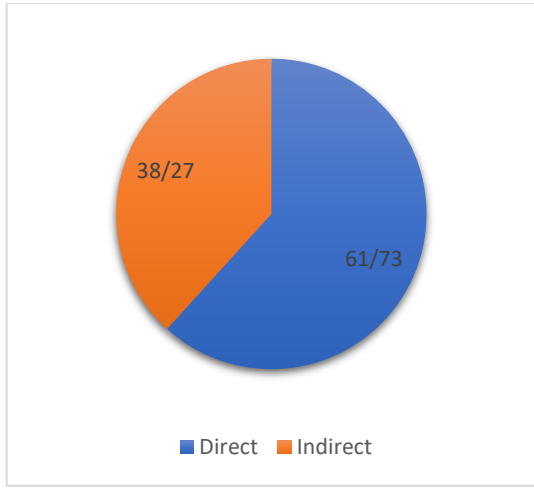
Figure 4. Percent of Direct Costs.



شکل ۵. درصد هزینه‌های غیرمستقیم.

Figure 5. Percent of Indirect Costs.

باتوجه‌به موارد قبل، مجموع هزینه‌های مستقیم و غیرمستقیم که هزینهٔ کل یک تولید ناپیوسته را می‌سازد، برابر با ۶۰۶ هزار دلار حساب می‌شود که در آن سهم هزینه‌های مستقیم ۶۱/۷۳٪ و سهم هزینه‌های غیرمستقیم ۳۸/۲۷٪ است (شکل (۶)).



شکل ۶. درصد هزینه‌های مستقیم و غیرمستقیم از هزینهٔ کلی.

Figure 6. Percent of Direct and Indirect Costs from Total Cost.

درصد و قیمت مواد خام استفاده‌شده در قسمت جداسازی در جدول (۱) گزارش شده‌است. هزینهٔ مواد خام طبیعی به‌غیر از رزین کروماتوگرافی، رزین زهرآبه‌زدا و پادتن tPA برای هر تولید ناپیوسته، حدود ۲۴۷ هزار دلار است. این هزینه دربردارندهٔ هزینهٔ تمامی مواد خام طبیعی استفاده‌شده در فرایند جداسازی است. آرژینین حدود ۹۷٪ این هزینه را در بین همهٔ مواد خام شامل می‌شود (جدول (۱)). هزینهٔ جمع آوری و دفع زباله، ۱/۷۹دلار به‌ازای هر گالون درنظر گرفته شده‌است که درنهایت هزینهٔ مبلغی معادل بر ۳ هزار دلار در ازای هر بار تولید ناپیوسته می‌شود. رزین‌ها و پادتن، هزینهٔ عمدهٔ دیگر است که به‌ازای هر بار تولید، هزینهٔ آن حدود ۶۹ هزار دلار می‌شود. بخش اصلی این هزینه به‌علت پادتن tPA است.

هزینهٔ سرمایه‌گذاری خرید و نصب تجهیزات و ملزومات مورد نیاز، حدود ۳۹ میلیون دلار است (جدول (۲)) که قسمت عمدهٔ آن شامل هزینهٔ سامانهٔ بطری‌پرکن و خشک‌کن انجمادی است (شکل (۷)).

جدول ۱. درصد و قیمت مواد خام استفاده‌شده در فرایند جداسازی.

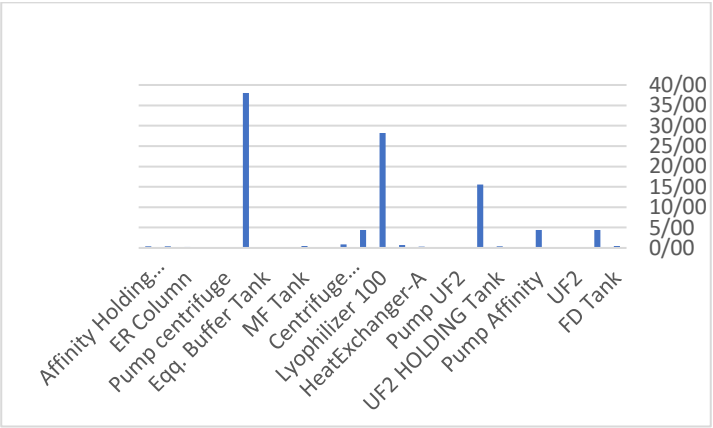
Table 1. Percent and Cost of Raw Materials Used in Separation Process.

Stream	Component	Unit Cost (USD/kg)	Percent Cost (%)
1.1. Charge-1	Total	0.00	0.00
	tPA		
	tPA-CHO Cell		
	Water		
	Endotoxin		
1.3. Mix-8	Total Arginine	213.00	73.27
1.10. Mix-20	Total Arginine	213.00	5.81
2.1. Charge-34	Total Arginine	213.00	19.61
2.1. Charge-35	Total Water	1.00	0.11
2.1. Charge-36	Total Glycine	77.00	0.36
2.2. Charge-38	Total PBS	9.06	0.02
2.2. Charge-39	Total Sodium-Chloride	32.00	0.36
2.2. Charge-40	Total Water	1.00	0.23
2.8. Charge-58	Total Sodium-Chloride	32.00	0.00
2.8. Charge-59	Total Sodium-Chloride	32.00	0.00
2.8. Charge-60	Total Sucrose	1.79	0.00
2.10. Charge-74	Total Sodium-Chloride	32.00	0.09
2.10. Charge-75	Total Water	1.00	0.07
2.12. Regenerate-Column-87	Total Water	1.00	0.02
2.16. Mix-91	Total Water	1.00	0.02
Total			100.00

جدول ۲. هزینهٔ کل و درصد هزینه.

Table 2. Total Cost and Percent Cost.

Unit ID	Class	Capacity (liter)	Size Utilized	Total Cost (USD)	Percent Cost (%)
FD Tank	Mixer	500.00	460.72	188,332.00	0.48
Pump ER	Pump	-	-	1,711,240.00	4.39
UF2	Ultrafilter	400.00		16,252.00	0.04
ER Buffer Tank	Tank	4,000.00	1,822.05	-	-
Pump Affinity	Pump	-	-	1,711,240.00	4.39
Pump MF	Pump	-	-	45,457.80	0.12
UF2 HOLDING Tank	Mixer	400.00	275.36	154,011.60	0.40
Centrifuge csc4	Centrifuge - Tubular-Bowl	500.00	-	6,074,902.00	15.60
Pump UF2	Pump	-	-	45,457.80	0.12
MF	Microfilter	500.00	-	755.24	0.00
HeatExchanger-A	Heat Exchanger	-	-	111,374.00	0.29
UF1 HOLDING Tank	Mixer	4,000.00	3,665.25	290,910.80	0.75
Lyophilizer 100	Lyophilizer	500.00	460.72	10,994,000.00	28.23
AFFINITY Column	Column - Chromatography	58.00	27.54	1,711,240.00	4.39
Centrifuge Holding Tank	Mixer	5,000.00	3,940.32	325,135.60	0.83
Elution buffer tank	Tank	8,000.00	5,247.84	-	-
MF Tank	Mixer	500.00	460.95	188,332.00	0.48
Pump UF1	Pump	-	-	45,457.80	0.12
Eqq. Buffer Tank	Tank	3,000.00	600.36	-	-
Vials Filling Machine	Filling System	-	-	14,818,000.00	38.04
Pump centrifuge	Pump	-	-	55,610.52	0.14
UF1	Ultrafilter	4,000.00	-	13,431.80	0.03
ER Column	Column - Chromatography	15.70	402.76	106,116.00	0.27
ER Holding Tank	Mixer	400.00	407.05	171,124.00	0.44
Affinity Holding Tank	Mixer	400.00	269.79	171,124.00	0.44
Total	-	-	-	38,949,504.96	100.00



شکل ۷. درصد قیمت تجهیزات از کل هزینهٔ سرمایه‌گذاری.

Figure 7. Percent of Equipment costs from Total Capital Cost.

در این تحقیق از نرم‌افزار Aspen Batch Plus در شبیه‌سازی استفاده شده‌است؛ اما نرم‌افزارهای دیگر مانند SuperPro Designer نیز هست که به‌صورت تخصصی برای شبیه‌سازی فرایندهای دارویی و زیست‌فناوری طراحی شده‌است. مقایسهٔ این نرم‌افزار با نرم‌افزار مورد استفاده در این پژوهش، نشان می‌دهد که درزمینه‌های موازنهٔ جرم و زمان‌بندی تولید، کاملاً و درزمینه‌های ارائهٔ نتایج و گزارش‌ها و هم‌چنین موازنهٔ انرژی، نسبتاً بهتر از SuperPro Designer است. نرم‌افزار SuperPro Designer درزمینهٔ شبیه‌سازی عملیات واحدها از برتری نسبی در برابر Aspen Batch Plus برخوردار است[۱۰].

رووف و همکارانش به بررسی تولید ۱۱۰ kg/year از tPA پرداختند

که kg/year ۳۰ بیشتر از مبنای درنظرگرفته‌شده در این تحقیق است[۶]. نرم‌افزار SuperPro Designer هزینهٔ ستون کروماتوگرافی کششی را که مهم‌ترین دستگاه قسمت جداسازی است، ۲۵٪ کل هزینه‌ها در تحقیق انجام‌شده گزارش کرده‌است که براساس جدول (۲) به‌میزان ۲۱٪ بیشتر از هزینهٔ دستگاه حساب‌شده به‌وسیلهٔ Aspen Batch Plus در این تحقیق است. در نرم‌افزار اول Media مقدار ۹۴٪ هزینهٔ کل مواد شیمیایی است، درحالی‌که در نرم‌افزار دوم این مقدار ۳٪ هزینهٔ مواد خام مورد استفاده‌است و ۹۷٪ هزینهٔ باقی‌مانده به آرژینین اختصاص یافته‌است.

۴. نتیجه‌گیری کلی

در پژوهشی که با انجام شبیه‌سازی فرایند درحالت پایه آغاز شد، زمان جداسازی در بخش جداسازی فرایند تولید فعال‌کنندهٔ پلاسمینوژن بافتی ۱۲ روز شد و در طرح اصلاحی، با موازی‌سازی عملیات واحدها و رفع تنگنای حاصل‌از خشک‌کن انجمادی با افزودن مخزن و مبدل، این زمان جداسازی به ۷ روز و ۲۳ ساعت کاهش یافت. طبق اهداف تعیینی برای تولید همان ۸۰ کیلوگرم tPA در سال، در طراحی پایه به ۳۰۰ روز کاری نیاز است؛ درحالی‌که این زمان در طرح اصلاحی به ۱۹۴ روز در شرایط یکسان می‌رسد که از تفاوت زمانی ایجادشده می‌توان برای افزایش میزان تولید استفاده کرد. تجزیه‌وتحلیل اقتصادی نشان داد که حدود ۶۲٪ هزینه‌های مستقیم و ۳۸٪ باقی‌مانده مربوطبه هزینه‌های غیرمستقیم است که هزینه‌های مواد خام در بخش مستقیم و آزمایشگاهی در بخش غیرمستقیم بیشترین است. پرهزینه‌ترین مادهٔ خام اولیهٔ مورد استفاده، آرژینین و بعد پادتن tPA است. در بخش هزینهٔ سرمایه‌گذاری خرید و نصب تجهیزات و ملزومات مورد نیاز، بطری پرکن و خشک‌کن انجمادی بیشترین هزینه‌ها را دارند.

نمادها

ABP	Aspen Batch Plus	
BPS	BioProcess Simulator	
CHO	Chinese Hamster Ovary	
SPD	SuperPro Designer	
tPA	tissue Plasminogen Activator	فعال‌کنندهٔ پلاسمینوژن بافتی

مراجع

[1] Bose, K. (2022). Textbook on Cloning, Expression and Purification of Recombinant Proteins. Springer, Singapore, 2.

[2] Raji, F., & Rahbar Kelishami, R. (2020). A Review of DNA Purification Methods: Microfluidics Systems. *Iranian Chemical Engineering Journal*, 19: 55-80. 20.1001.1.17355400.1399.19.111.5.3

[3] Khedr, E. M., Abdelwarith, A., Moussa, G., & Saber, M. (2023).Recombinant tissue plasminogen activator (rTPA) management for first onset acute ischemic stroke with covid -19 and non-covid -19 patients. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Disease*, 32: 1–10. 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2023.107031

[4] Xu, Y., Chen, D., Liu, P., Hu, Y., Peng, S., Chen, S., Li, Y., Lin, W., Jiang, L., Yuan, C., & Huang, M. (2023).A triple fusion tissue-type plasminogen activator (TriF-ΔtPA) enhanced thrombolysis in carotid embolism-induced stroke model. *International Journal of Pharmaceutics*, 637: 122878. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.122878

[5] Seider, W. D., Seader, J. D., Lewin, D. R., & Vidalgoo, S. (2016).Product and Process Design Principles: Synthesis, Analysis and Evaluation. Fourth edition, John Wiley & Sons, New Jersey, 37.

[6] Rouf, S., Douglas, P., Moo-Young, M., & Scharer, J. (2001). Computer simulation for large scale bioprocess design. *Biochemical Engineering Journal*, 8: 229-234. 10.1016/S1369-703X(01)00112-7

[7] Choi, S. K., Chang, H., & Oh, D. J. (1995). Continuous Production of Tissue Plasminogen Activator from Recombinant CHO Cells in a Depth Filter Perfusion System. *Biotechnology Techniques*, 9: 567-572. https://doi.org/10.1007/BF00152445

[8] Mitsuda, S., Mitsuda, N., Kobayashi, N., Suzuki, A., Itagaki, Y., Kumazawa, E., & Kawanishi, G. (1991).Tissue Plasminogen Activator (t-PA) production by human fibroblasts using a bioreactor with t-PA adsorption column. *Bioprocess Engineering*, 7: 137-140. https://doi.org/10.1007/BF00369425

[9] Ghazizahedi, Z., & Hayati-Ashtiani, M. (2022). Investigating the Application of Heat Pump in Isomerization Unit to Decrease the Energy Consumption by Means of Pinch Technology. *Iranian Chemical Engineering Journal*, 20: 53-63, In Persian. 10.22034/ijche.2021.283622.1110

[10] Shanklin, T., Roper, K., Yegneswaran, P. K., & Marten, M. R. (2001). Selection of Bioprocess Simulation Software for Industrial Applications. *Biotechnology and Bioengineering*, 72: 483-489. https://doi.org/10.1002/1097-0290(20010220)72:4<483::AID-BIT1010>3.0.CO;2-3

[11] Audette, M., Metallo, C., Nootong, K. (2000). Human tissue plasminogen activator, Department of Chemical & Biomolecular, University of Pennsylvania, USA.