

Application Note AN-NIR-099

Control de calidad de caldos de fermentación

Determinación multiparamétrica en un minuto

Los procesos de fermentación celular son un método de producción fiable para moléculas pequenas e ingredientes farmacéuticos activos (API) basados en proteínas, lo que permite a las empresas farmacéuticas optimizar el proceso de producción y reducir el tiempo de comercialización. El proceso de fermentación requiere la monitorización de muchos parámetros diferentes para garantizar una producción óptima. Estos parámetros de calidad incluyen (pero no se limitan a) pH, contenido bacteriano, potencia, glucosa y concentración de azúcares reductores. El análisis de laboratorio tradicional toma una cantidad significativa de tiempo y requiere diferentes técnicas analíticas para monitorear estos parámetros de calidad en el proceso de fermentación.

La espectroscopía del infrarrojo cercano (NIRS) ofrece una alternativa más rápida y económica a los métodos tradicionales para determinar parámetros críticos en los caldos de fermentación en cualquier fase del proceso de fermentación.

EQUIPO EXPERIMENTAL

Las muestras de caldo de fermentación tomadas en diferentes tiempos de fermentación se midieron en modo de reflexión con el analizador de sólidos Metrohm DS2500. Debido a que las muestras eran de color oscuro (amarillo-marrón), se midieron sin necesidad de usar el reflector dorado y no requirieron preparación de muestras. El paquete de software Metrohm Vision Air Complete se utilizó para toda la adquisición de datos y el desarrollo del modelo de predicción.



Figure 1. Analizador de sólidos DS2500.

Tabla 1. Descripción general del equipo de hardware y software

Equipo	Número de metrohmios
Analizador de sólidos DS2500	2.922.0010
Recipiente de transflexión NIRS	6.7401.000
Portavasos de muestra mini NIRS para DS2500	6.7430.040
Vision Air 2.0 completo	6.6072.208

RESULTADOS

Los espectros Vis-NIR obtenidos (Figura 2) se utilizaron para crear modelos de predicción para la cuantificación de la concentración de bacterias, glucosa y azúcares reductores, así como el pH y la potencia. La calidad de los modelos de predicción se evaluó mediante el diagrama de correlación, que muestra una alta correlación entre la predicción Vis-NIR y los valores de referencia. Las respectivas cifras de mérito (FOM) muestran la precisión esperada de una predicción durante el análisis de rutina. Potencia (Figuras 7 y 8) se midió con dos métodos de laboratorio diferentes como se describe en Tabla 8.

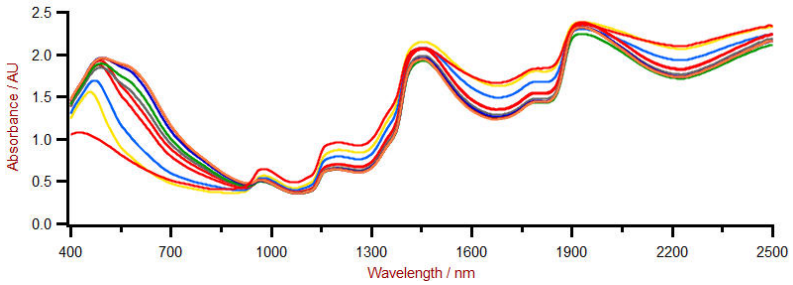


Figure 2. Espectros Vis-NIR de muestras de caldo de fermentación tomadas en diferentes tiempos de fermentación y analizadas en un analizador de sólidos DS2500.

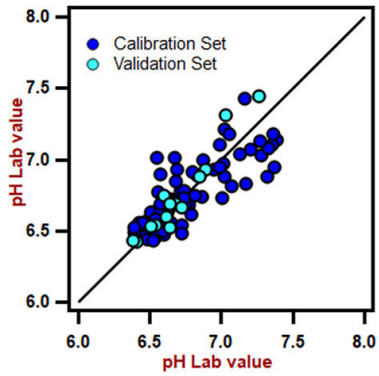


Figure 3. Diagrama de correlación para la predicción del pH en caldo de fermentación utilizando un analizador de sólidos DS2500. El valor de laboratorio se evaluó usando un medidor de pH.

Tabla 2. Cifras de mérito para la predicción del pH en caldo de fermentación utilizando un analizador de sólidos DS2500.

Figuras de merito	Valor
R^2	0,6461
Error estándar de calibración	0,1645
Error estándar de validación cruzada	0,1686
Error estándar de validación	0,0997

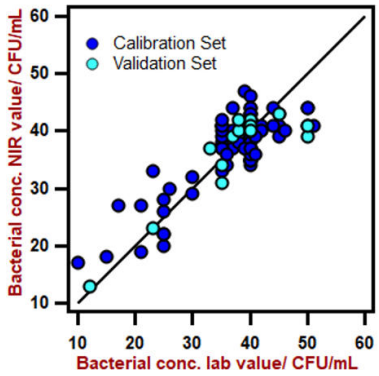


Figure 4. Diagrama de correlación para la predicción de la concentración bacteriana en caldo de fermentación utilizando un analizador de sólidos DS2500. El valor de laboratorio se evaluó mediante espectrofotometría UV-Vis.

Tabla 3. Cifras de mérito para la predicción de la concentración bacteriana en caldo de fermentación utilizando un analizador de sólidos DS2500.

Figuras de merito	Valor
R^2	0,7086
Error estándar de calibración	4,6884 UFC/mL
Error estándar de validación cruzada	4,7429 UFC/mL
Error estándar de validación	5,0916 UFC/mL

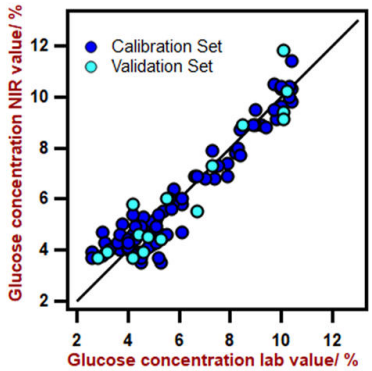


Figure 5. Diagrama de correlación para la predicción de la concentración de glucosa en caldo de fermentación utilizando un analizador de sólidos DS2500. El valor de laboratorio se evaluó usando HPLC.

Tabla 4. Cifras de mérito para la predicción de la glucosa contenido en caldo de fermentación utilizando un analizador de sólidos DS2500.

Figuras de merito	Valor
R^2	0,9165
Error estándar de calibración	0,6938%
Error estándar de validación cruzada	0,7896%
Error estándar de validación	0,8628%

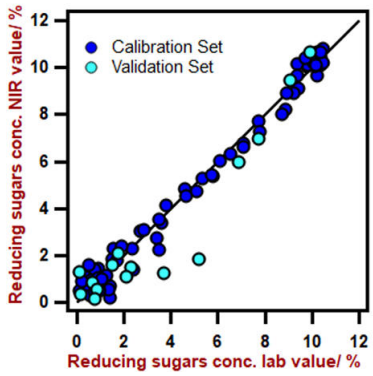


Figure 6. Diagrama de correlación para la predicción de azúcares reductores en caldo de fermentación utilizando un analizador de sólidos DS2500. El valor de laboratorio se evaluó usando HPLC.

Tabla 5. Cifras de mérito para la predicción de azúcares contenido en caldo de fermentación utilizando un analizador de sólidos DS2500.

Figuras de merito	Valor
R^2	0,9863
Error estándar de calibración	0,4767%
Error estándar de validación cruzada	0,6821%
Error estándar de validación	1,2429%

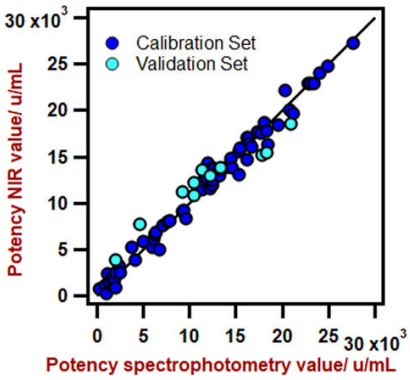


Figure 7. Diagrama de correlación para la predicción de potencia en caldo de fermentación utilizando un analizador de sólidos DS2500. El valor de laboratorio se evaluó mediante espectrofotometría UV-Vis.

Tabla 6. Figuras de mérito para la predicción de potencia en caldo de fermentación utilizando un analizador de sólidos DS2500.

Figuras de merito	Valor
R^2	0,9083
Error estándar de calibración	2295 u/mL
Error estándar de validación cruzada	2968 u/mL
Error estándar de validación	2089 u/mL

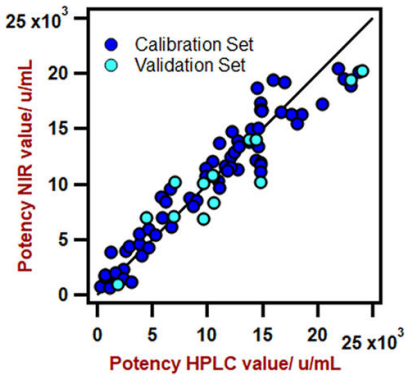


Figure 8. Diagrama de correlación para la predicción de potencia en caldo de fermentación utilizando un analizador de sólidos DS2500. El valor de laboratorio se evaluó mediante HPLC + PCR.

Tabla 7. Figuras de mérito para la predicción de potencia en caldo de fermentación utilizando un analizador de sólidos DS2500.

Figuras de merito	Valor
R^2	0,9156
Error estándar de calibración	1913 u/mL
Error estándar de validación cruzada	2172 u/mL
Error estándar de validación	1168 u/mL

CONCLUSIONES

Esta nota de aplicación demuestra la viabilidad de determinar parámetros clave del control de calidad del proceso de fermentación con espectroscopia NIR. Las principales ventajas de la espectroscopia Vis-NIR sobre los métodos químicos húmedos son que los costos de funcionamiento son significativamente más bajos y el tiempo de obtención de resultados se reduce significativamente. Además, no se requieren productos químicos y la técnica no es destructiva para las muestras.

Tabla 8. Visión general del tiempo de obtención de resultados para los diferentes parámetros de calidad

Parámetro	Método	tiempo de resultado
pH	medidor de pH	3–5 minutos
Concentración bacteriana	UV-Vis	8 horas (preparación de muestra) + 1 minuto (UV-Vis)
Concentración de glucosa y azúcares reductores	HPLC	30–45 minutos
Potencia	UV-Vis	7 minutos (preparación de muestra) + 1 minuto (UV-Vis)
Potencia	HPLC + PCR	1 hora (preparación de muestra) + 20 minutos (HPLC + PCR)

Internal reference: AW NIR CN-0017-112021

CONTACT

Metrohm Argentina S.A.
Avda. Regimiento de
Patricios 1456
1266 Buenos Aires
info@metrohm.com.ar



DS2500 Solid Analyzer

Sólida espectroscopía del infrarrojo cercano para control de calidad en laboratorio y entorno de producción.

El DS2500 Analyzer es la solución probada y flexible para los análisis rutinarios de sólidos, cremas y, opcionalmente, también líquidos a lo largo de toda la cadena de producción. Su diseno robusto hace que el DS2500 Analyzer sea resistente al polvo, la humedad, las vibraciones y los cambios de temperatura, lo que hace que sea especialmente adecuado para el uso en entornos de producción muy difíciles.

El DS2500 cubre toda la gama espectral de 400 a 2500 nm y proporciona en menos de un minuto resultados precisos y reproducibles. El DS2500 Analyzer cumple los requisitos de la industria farmacéutica y gracias a su manejo sencillo ayuda al usuario a realizar las tareas rutinarias diarias.

Gracias a los accesorios perfectamente adaptados al aparato se logran los mejores resultados posibles incluso con los tipos de muestra más difíciles, por ejemplo, la materia sólida de grano grueso como los gránulos o las muestras semilíquidas como las cremas. Al medir la materia sólida, se puede aumentar la productividad con el uso de la MultiSample Cup, que permite realizar medidas automatizadas en serie de hasta 9 muestras.



Recipiente de transflexión NIRS, ópticamente plano

Recipiente de transflexión ópticamente plano para la medida espectral de líquidos. Se puede combinar con los siguientes aparatos:

- NIRS DS2500 Analyzer (**número de pedido: 2.922.0010**)
- NIRS XDS MasterLab Analyzer (**número de pedido: 2.921.131**0)
- NIRS XDS MultiVial Analyzer (**número de pedido: 2.921.1120**)
- NIRS XDS RapidContent Analyzer (**número de pedido: 2.921.1110**)
- NIRS XDS RapidContent Analyzer – Solids (**número de pedido: 2.921.1210**)



Soporte DS2500

Soporte para el uso con:

- Vasos de muestras pequenos (**6.7402.030**)
- DS2500 Iris (**6.7425.100**)



Vision Air 2.0 Complete

Vision Air - Software de espectroscopía universal.

Vision Air Complete es una solución de software moderna y fácil de usar para su empleo en entornos regulados.

Las ventajas de Vision Air son las siguientes:

- Aplicaciones de software individuales con interfaces de usuario personalizadas para garantizar un manejo intuitivo y fácil
- Fácil creación y mantenimiento de procedimientos operativos
- Base de datos SQL para una gestión de datos segura y sencilla

La versión Vision Air Complete (66072208) incluye todas las aplicaciones para el aseguramiento de la calidad mediante la espectroscopía Vis-NIR:

- Aplicación para la gestión de datos y aparatos
- Aplicación para el desarrollo de métodos
- Aplicación para análisis rutinarios

Más soluciones Vision Air Complete:

- 66072207 (Vision Air Network Complete)
- 66072209 (Vision Air Pharma Complete)
- 66072210 (Vision Air Pharma Network Complete)