



CGF2094 - Ferramentas e Conceitos empregados nos Processos Industriais Farmacêuticos e Biotecnológicos I

Análise Técnico-econômica de Processos Farmacêuticos (ênfase em Bioprocessos)

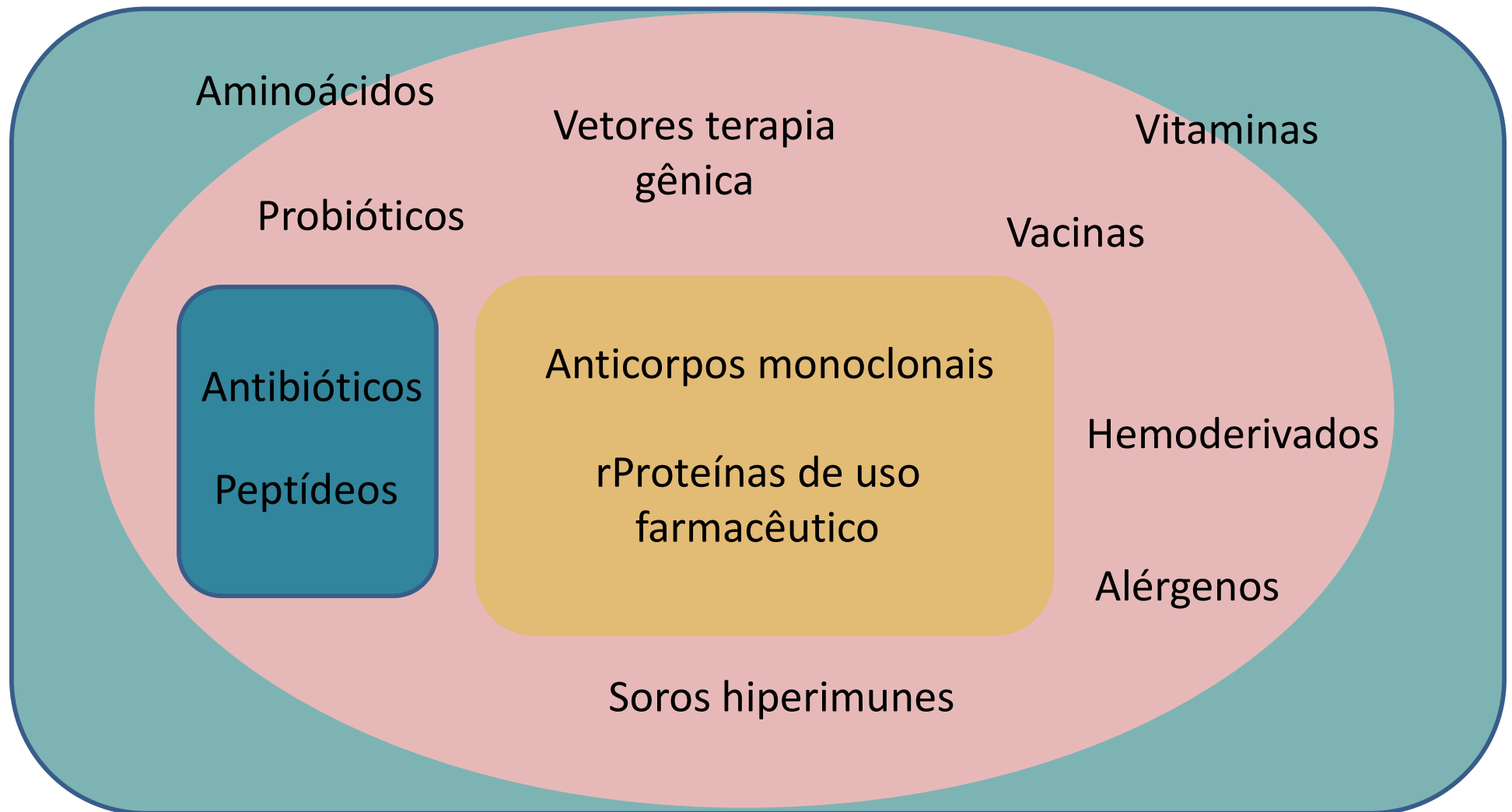
Prof. Adriano Rodrigues Azzoni
Grupo de Engenharia de Bioprocessos
Departamento de Engenharia Química
Escola Politécnica da Universidade de São Paulo

Outubro de 2023

Objetivo da Aula

Apresentar aos alunos os conceitos básicos sobre o desenho e simulação de bioprocessos farmacêuticos visando à avaliação do desempenho técnico e econômico de uma planta. Introdução à análise técnico-econômica por meio do software SuperPro Designer.

Bioprodutos de Aplicação Farmacêutica



■ Bioprodutos ■ Uso farmacêutico ■ Pequenas moléculas ■ Biofármacos

Como representar um Bioprocesso?

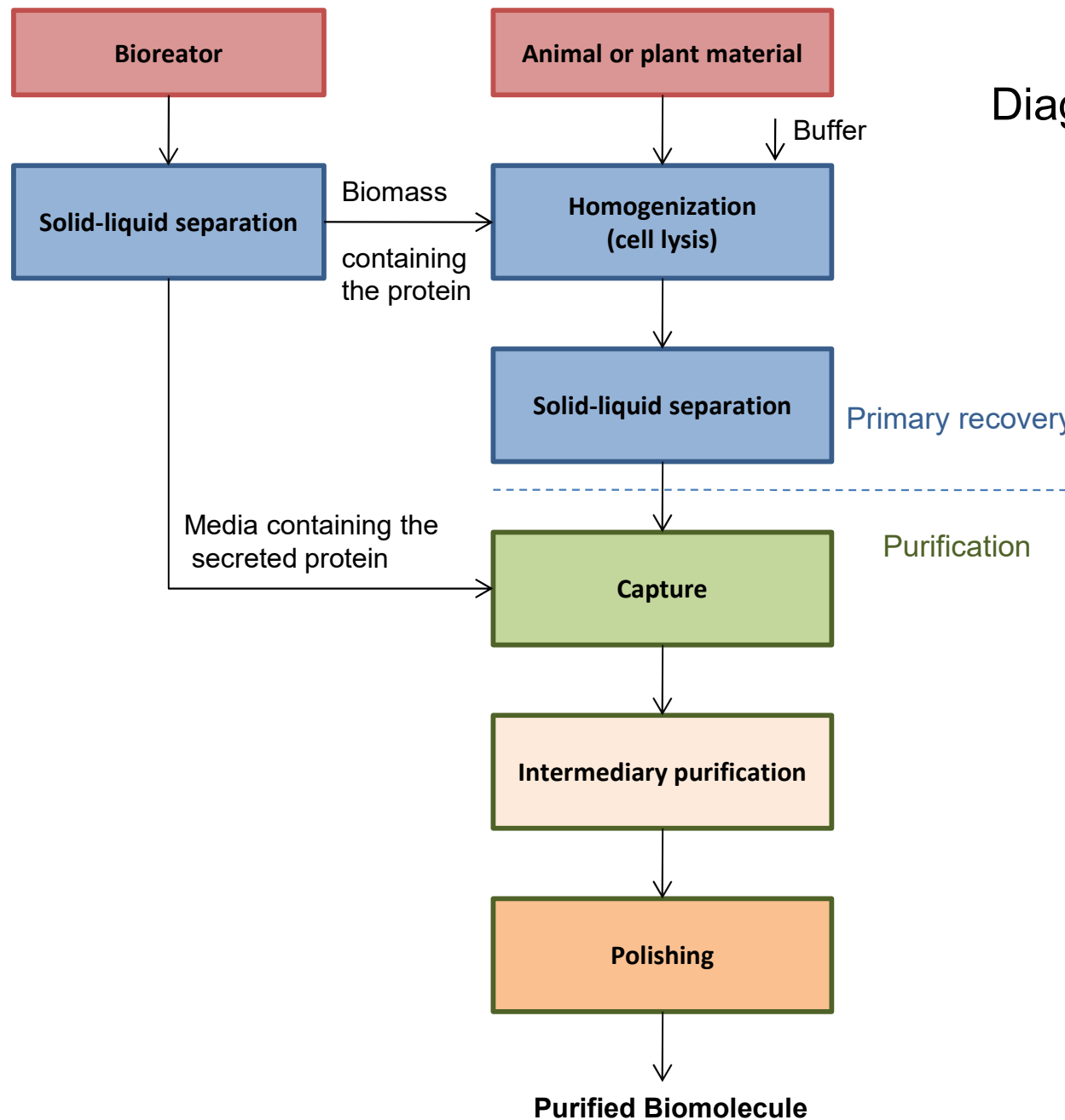
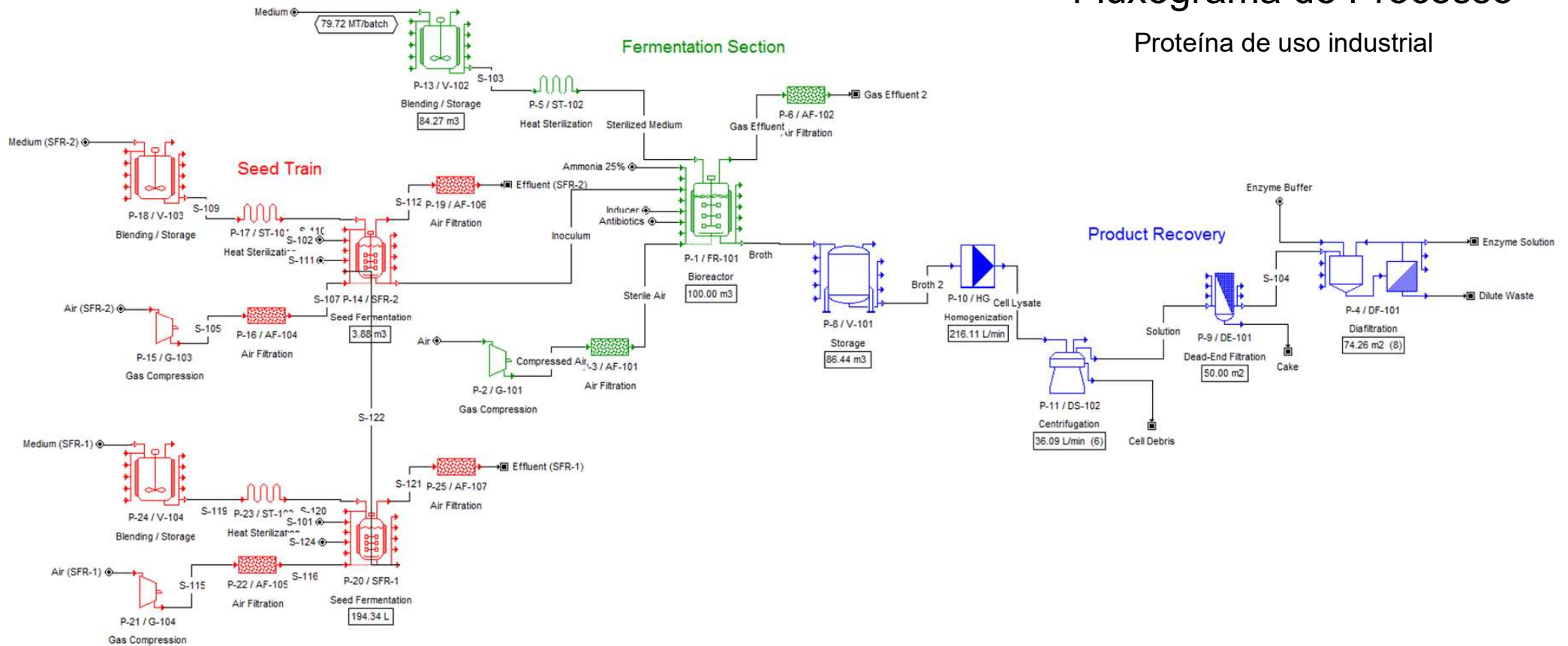


Diagrama de Blocos

Como representar um Bioprocesso?

Fluxograma de Processo

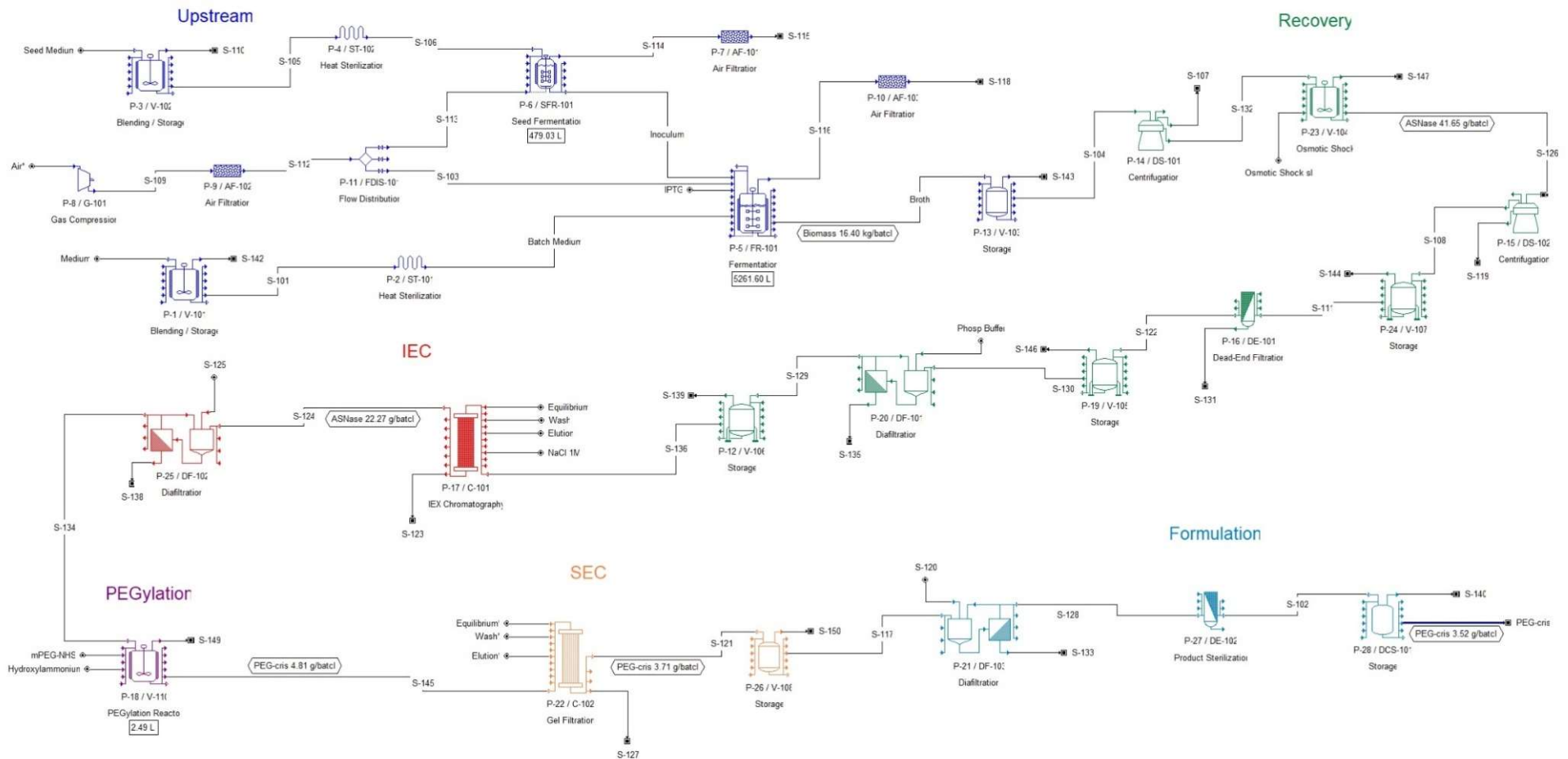
Proteína de uso industrial



Fonte: Ferreira et al. (2018)

Fluxograma de Processo

Proteína de uso farmacêutico



Fonte: Adamo da Silva Ferreira, Estudo de Mestrado, USP (em andamento)

A eficiência global de um processo depende da eficiência de cada etapa

Além da escolha correta, a eficiência de cada etapa deve ser maximizada de forma a manter o rendimento global em valores aceitáveis. Lembrando que o rendimento global será o produto dos rendimentos unitários de cada operação.

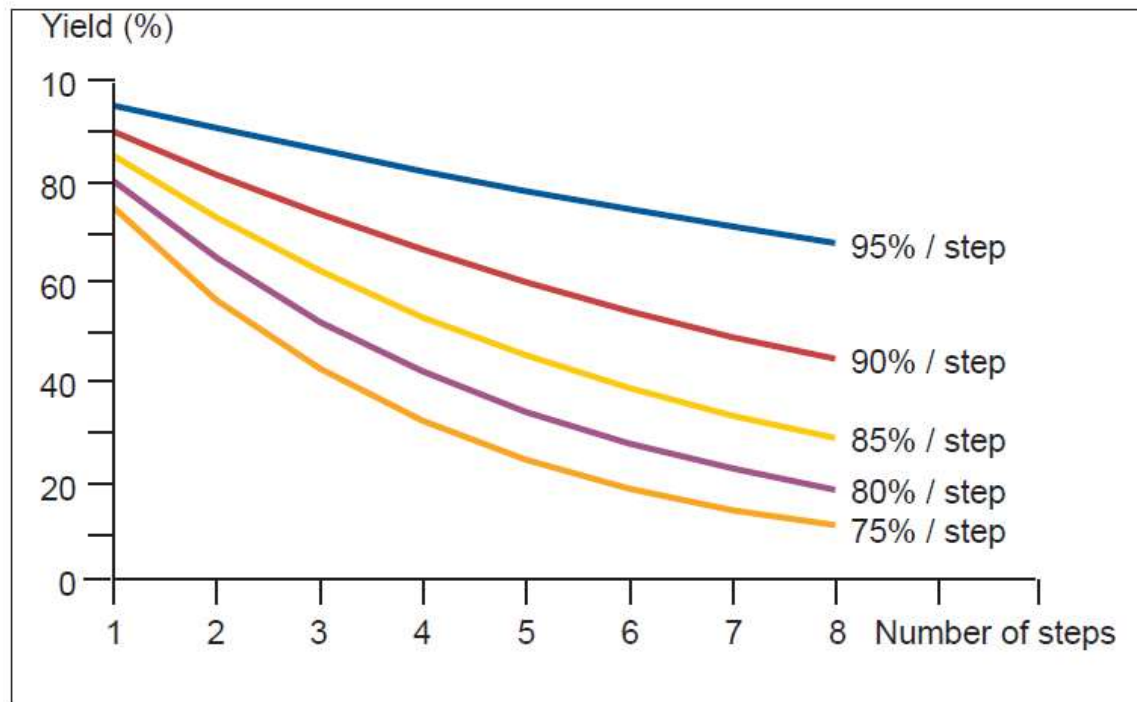


Fig.1. Yields from multi-step purifications.

Exemplo: Processo de produção em larga escala de rHSA (albumina humana recombinante) utilizando *P. pastoris*

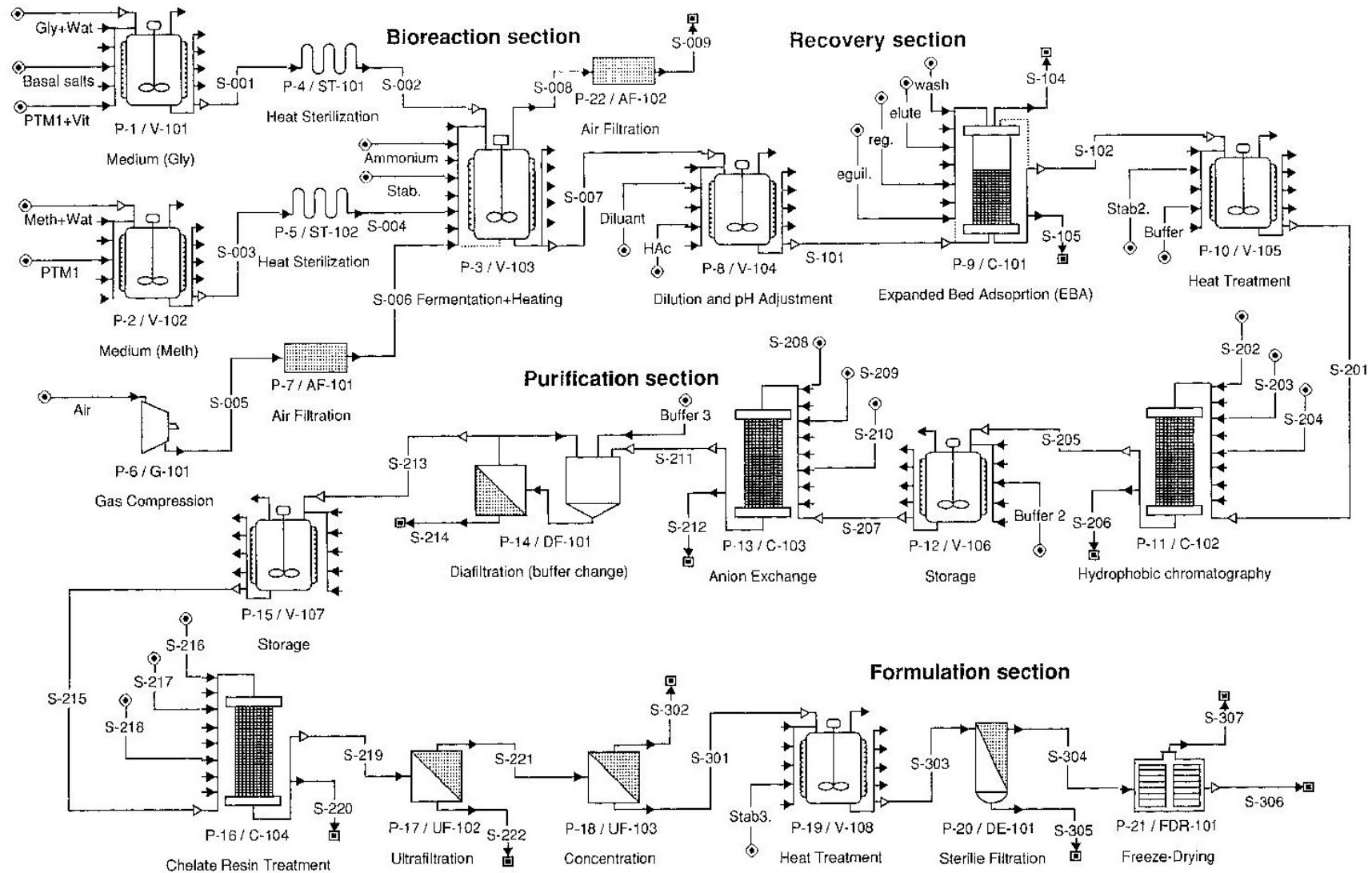


Figure 11.1 Process flow diagram of the production and purification of rHSA using expanded-bed adsorption (EBA)

Desenvolvimento de Bioprocessos e Análise Técnico-Econômica

A avaliação da viabilidade de um processo de produção de biomoléculas trás consigo perguntas importantes como:

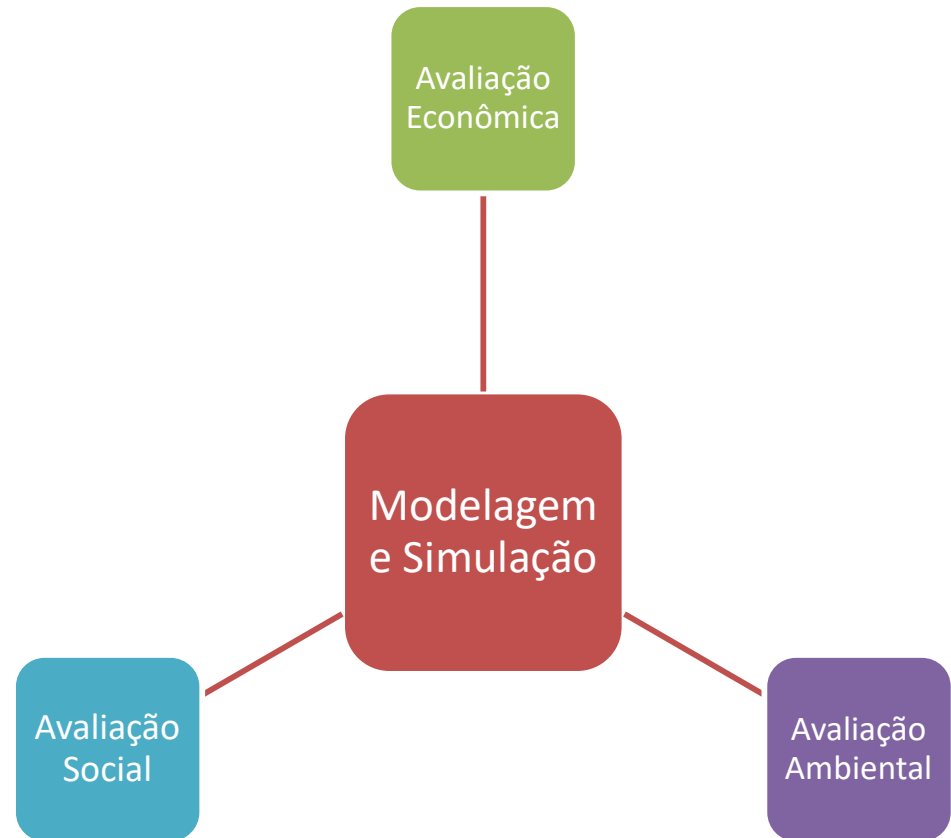
- Qual a quantidade de **recursos** para se construir uma planta de produção, capaz de produzir uma certa quantidade anual da biomolécula?
- Quais os custos em equipamentos, produção por batelada, tempo de batelada, custos laborais, etc?
- Custo de produção do produto? Rendimento final em larga escala?
Estimativa de impacto ambiental? Quanto de energia será consumida na produção?
- Quais seriam os principais “gargalos” técnicos do processo?



Simulação de Bioprocessos

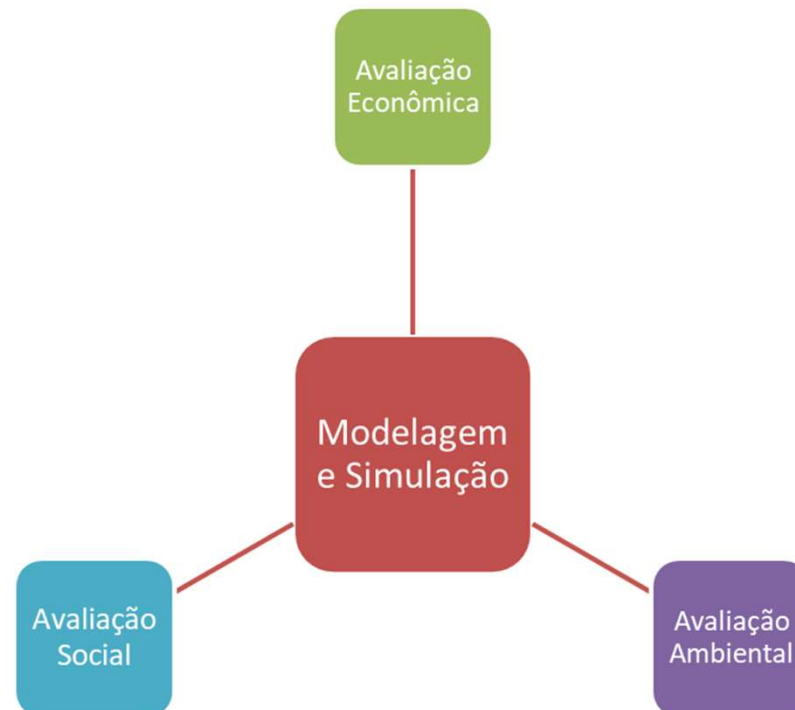
Simulação de Processos

- As simulações permitem:
 - Agrupar e organizar informações
 - Avaliação, comparação entre processos
 - Otimização, orientação de esforços experimentais
 - Avaliação técnico-econômica
- Origem na indústria petroquímica: otimização → \$\$\$
- Crescente uso em indústrias de maior valor agregado
- Simuladores comerciais: Aspen, SuperPro Designer

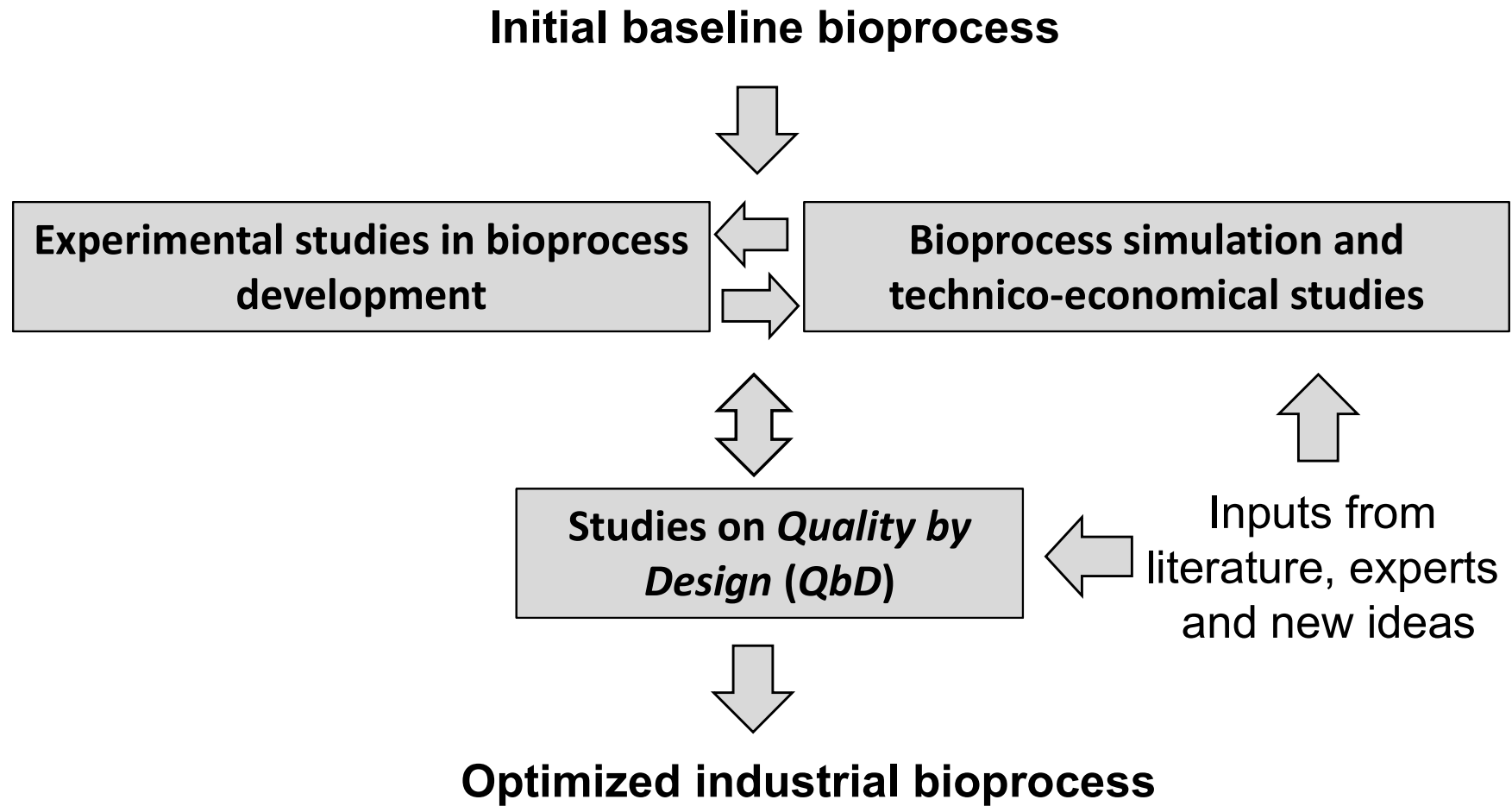


Simulação de Processos

Importante: Um **modelo** científico é uma idealização simplificada de um sistema que possui maior complexidade, mas que ainda assim supostamente reproduz na sua essência o comportamento do sistema complexo que é o alvo de estudo. ([Wikipédia](#))

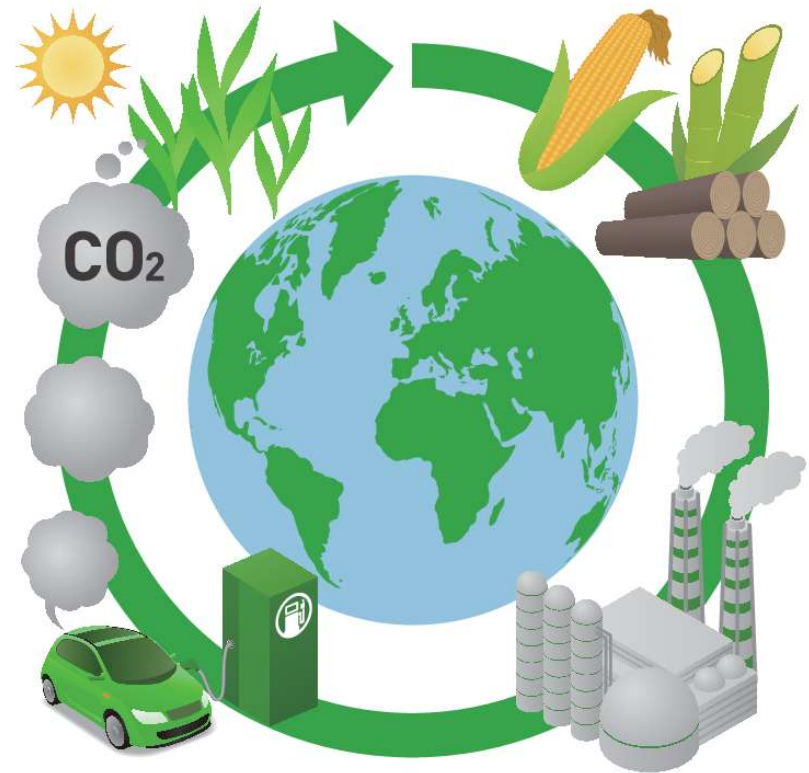


Fluxo de ações e informações durante o desenvolvimento e avaliação técnico-econômica de um processo em larga escala para a produção de bioprodutos farmacêuticos:

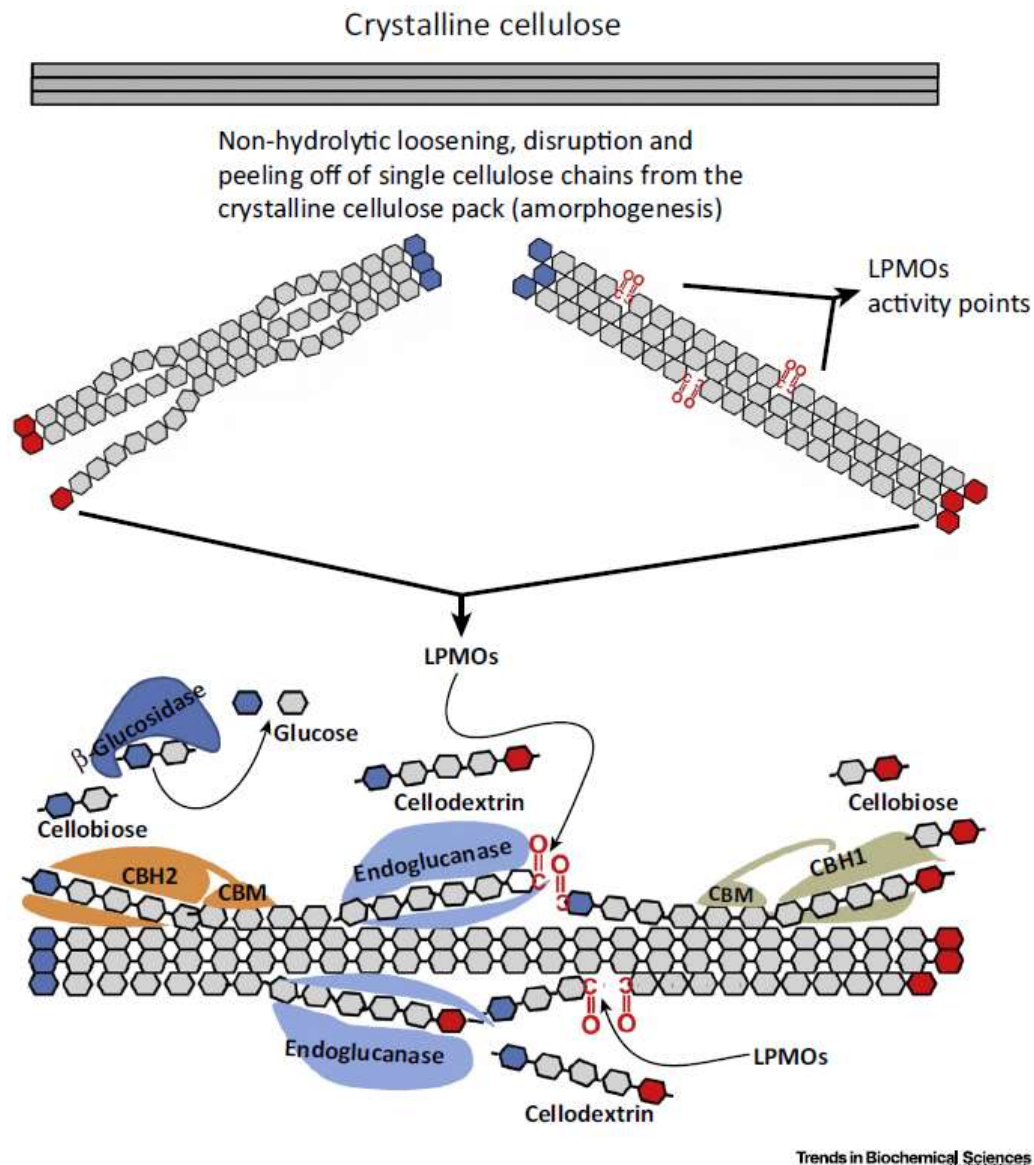


Exemplo: O caso da enzima β -glicosidase (BGL)

- A BGL é uma enzima que, em conjunto com outras enzimas, é capaz de transformar a celulose presente na biomassa vegetal em glicose
- Em princípio, essa glicose pode ser usada para a produção de etanol e diversos outros produtos químicos, de maneira renovável



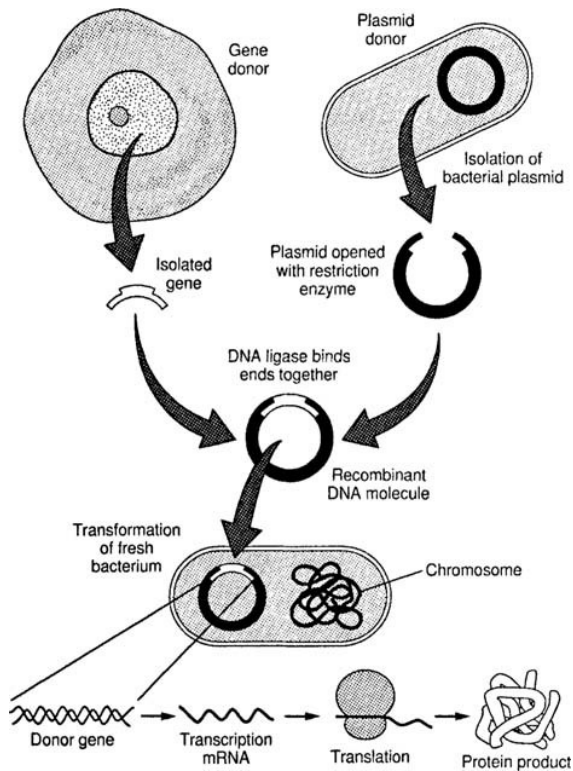
BGL: mecanismo de ação



Trends in Biochemical Sciences

- Família das Celulases:
 - Endoglicanase
 - Celbiohidrolases (CBH1 e CBH2)
 - β -glicosidase
 - LPMOs (oxidorreductases)
- Fungo *Trichoderma reesei*
 - produtor de celulases mais utilizado
 - porém deficiente em β -glicosidase, gerando acúmulo de celobiose

Produção de Proteínas Recombinantes em *E. coli*



Vantagens

- crescimento rápido em meio simples e barato
- fisiologia e genética bem conhecidas
- alta densidade e produtividade

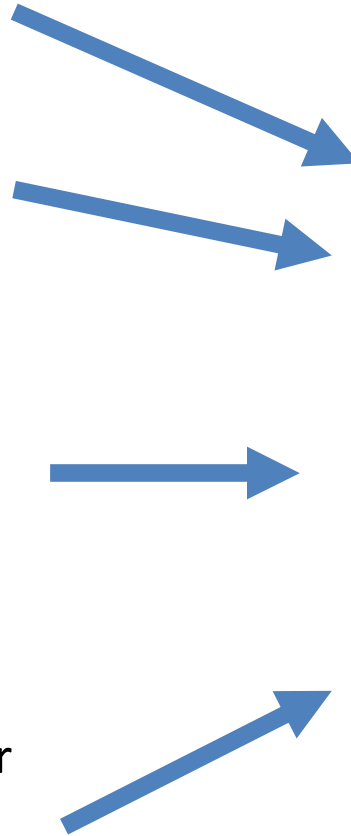
Desvantagens

- produção intracelular
- possível agregação ou truncamento
- antibiótico para manutenção plasmidial
- não realiza modificações pós-traducionais

Seria a produção de BGL em *E. coli* recombinante economicamente interessante?

Questões específicas (natureza técnica)

- O custo do antibiótico é relevante?
- O custo do indutor (IPTG) é relevante?
- Qual a maneira mais econômica de isolar a proteína produzida intracelularmente, após a lise? Centrifugação? Microfiltração?
- Qual a maneira mais econômica de produzir o inóculo para um biorreator de grande porte (100.000 L)?



Base do Design (Premissas)

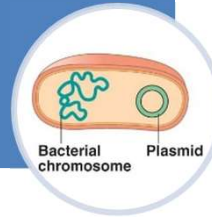
- Planta integrada a usina de açúcar e etanol de médio porte
- Estado de SP, Brasil
- Biorreator principal de 100 m³
- Enzima a 15 g/L

Planta



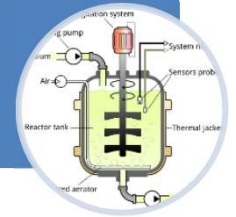
- *E. coli* BL21(DE3)
- pET28a
 - β -glicosidase (*bglA*)
 - Operador *lac*
 - Resistência a antibiótico (kanamicina)

Microrganismo & Plasmídeo

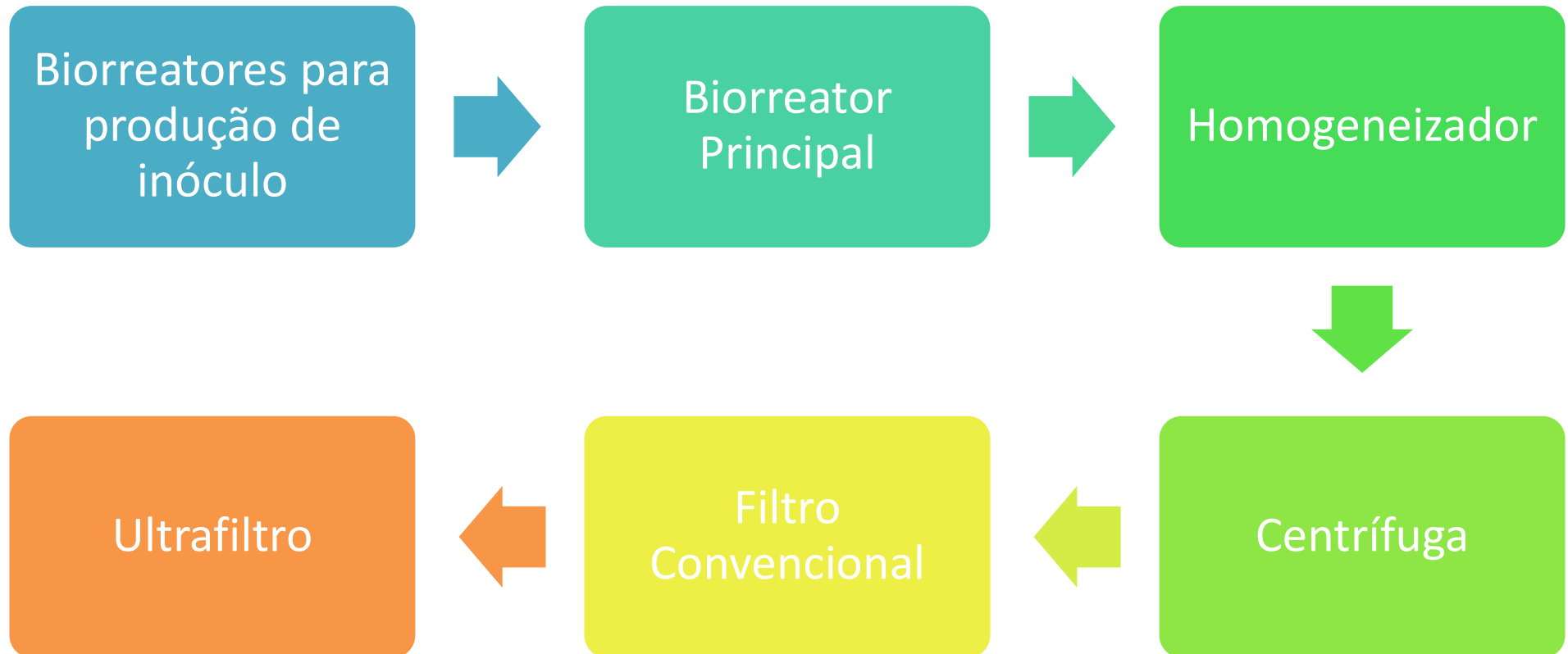


- Batelada alimentada
- t = 30 h
- T = 28 °C
- Meio definido (HDF) c/ glicose
- Indutor IPTG
- Inóculo de 5% (v/v)

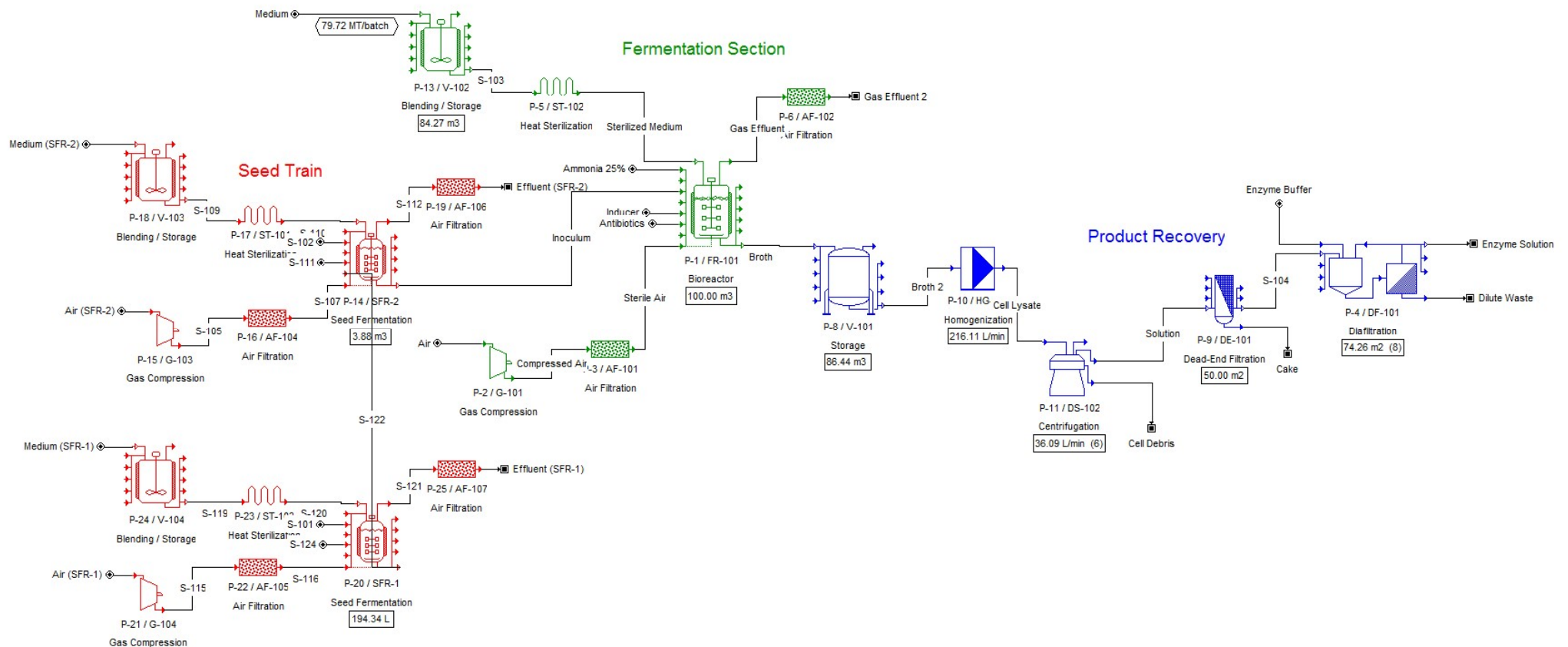
Cultivo



Esquema do Processo-Base



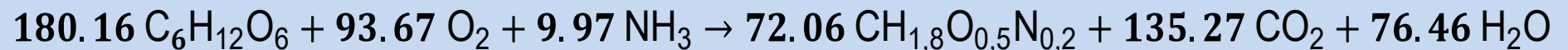
Criação do processo no simulador



Fluxograma do processo de produção de β -glicosidase (caso-base); as cores distinguem as três principais seções do processo.

Modelagem do crescimento

- Equação estequiométrica a partir de:
 - Fórmula empírica da biomassa: $\text{CH}_{1.8}\text{O}_{0.5}\text{N}_{0.2}$
 - Fator de conversão de glicose em biomassa: 0.4 g células/g glicose)
 - Balanço atômico (C, H, O, N)

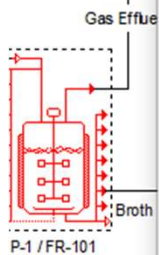


Equações cinéticas que representem o processo também podem ser utilizadas.



Modelagem no Simulador

ation Section



P-1 / FR-101
Bioreactor
100.00 m3

FERMENT (Batch Stoich. Fermentation) in P-1

Oper.Cond's | Volumes | Fed Batch | Reactions | Vent/Emissions | Labor, etc. | Description | Batch Sheet | Scheduling

Reaction Data

Name: Fermentation #1 | Parallel?

Reaction Limiting Comp.: Glucose

Conversion Achieved: 100.00 %

Reaction Progress

Set Conversion: 100.00 %

Based on: Reaction Limiting Component

Ref. Comp.: (none)

Conversion Achieved: 0.00 %

Calculate to Achieve Target Concentration

100.0000 g/L of Biomass

Reaction Heat | Ignore

Assume zero reaction heat at the enthalpy calculation reference temperature (0.0 °C).

Fermentation Mass Stoichiometry

9.97 Ammonia + 180.16 Glucose + 93.67 Oxygen →
68.46 Biomass + 135.27 Carb. Dioxide + 3.60 Enzyme + 76.46 Water

Reaction Sequence

S Fermentation #1

Stoichiometry Balance for Fermentation #1

Reactants

	Component	Mass Coeff.
1	Ammonia	9.9700
2	Glucose	180.1600
3	Oxygen	93.6700

Total Mass: 283.800

Products

	Component	Mass Coeff.
1	Biomass	68.4600
2	Carb. Dioxide	135.2700
3	Enzyme	3.6000
4	Water	76.4600

Total Mass: 283.790

Stoichiometric Coefficients: Mass Molar

OK Cancel

OK Canceler Ajuda

Coleta de dados econômicos

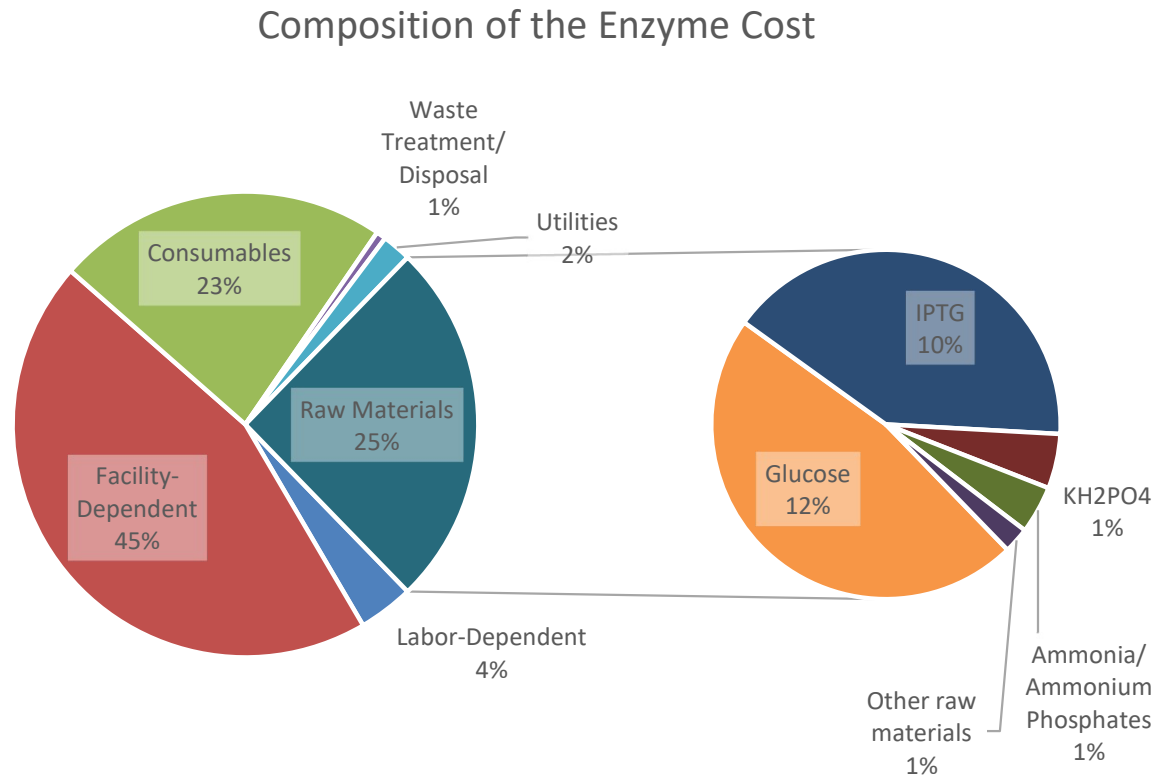
- Dados de custo
 - Equipamentos
 - Matérias-Primas
 - Mão-de-obra
 - Salários
 - Utilidades
 - Tratamento de resíduos
 - Índices de Preço ao Produtor
 - Juros (financiamento)



O Simulador costuma conter uma base de dados razoável. Contudo, cabe ao profissional completar e atualizar os valores com base no cenário onde a planta será instalada e operada.

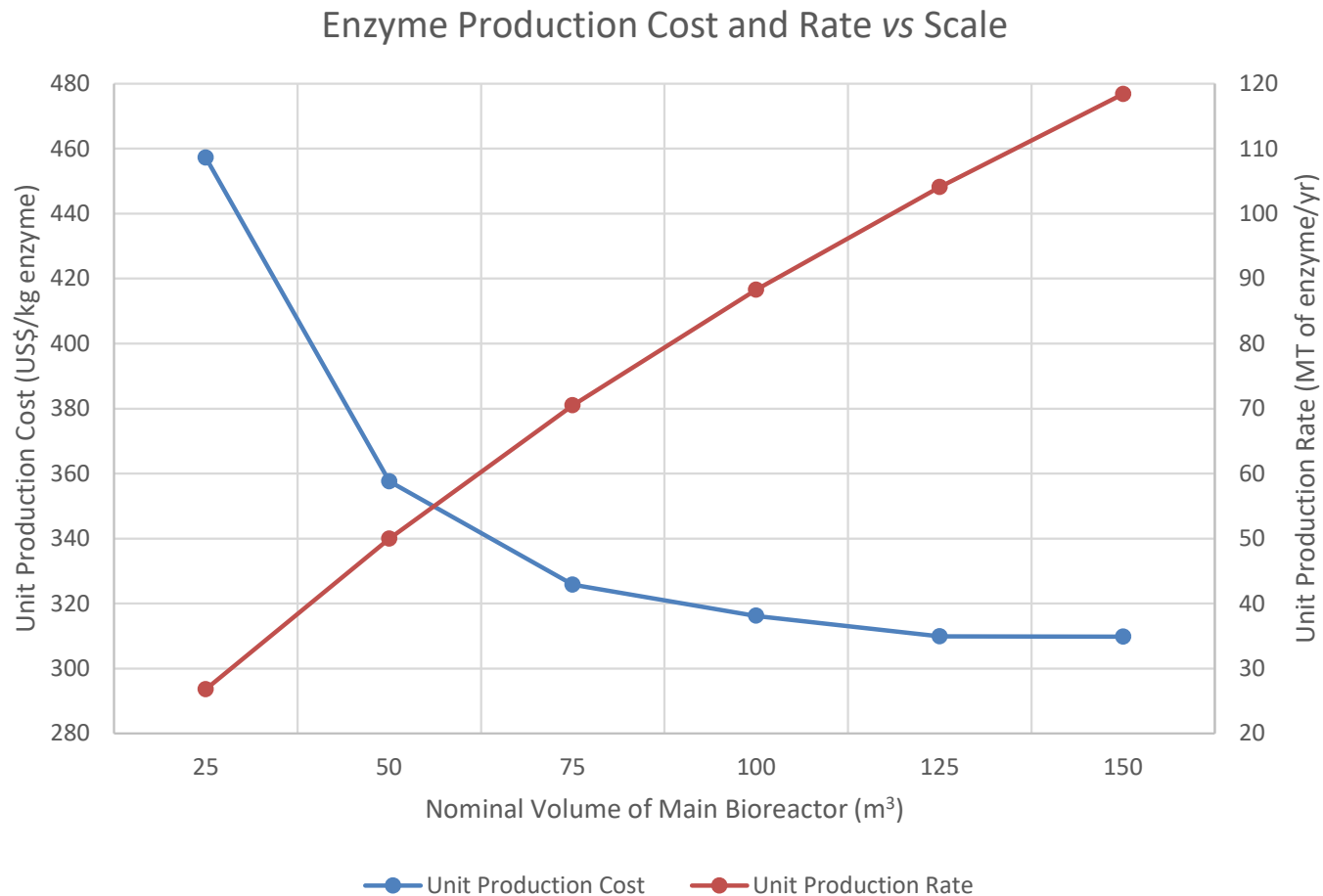
Resultados: Custo da Enzima

- Custo unitário de produção: 316 US\$/kg de proteína
- Principais responsáveis: equipamentos, consumíveis, glicose e IPTG
- Antibiótico: desprezível!



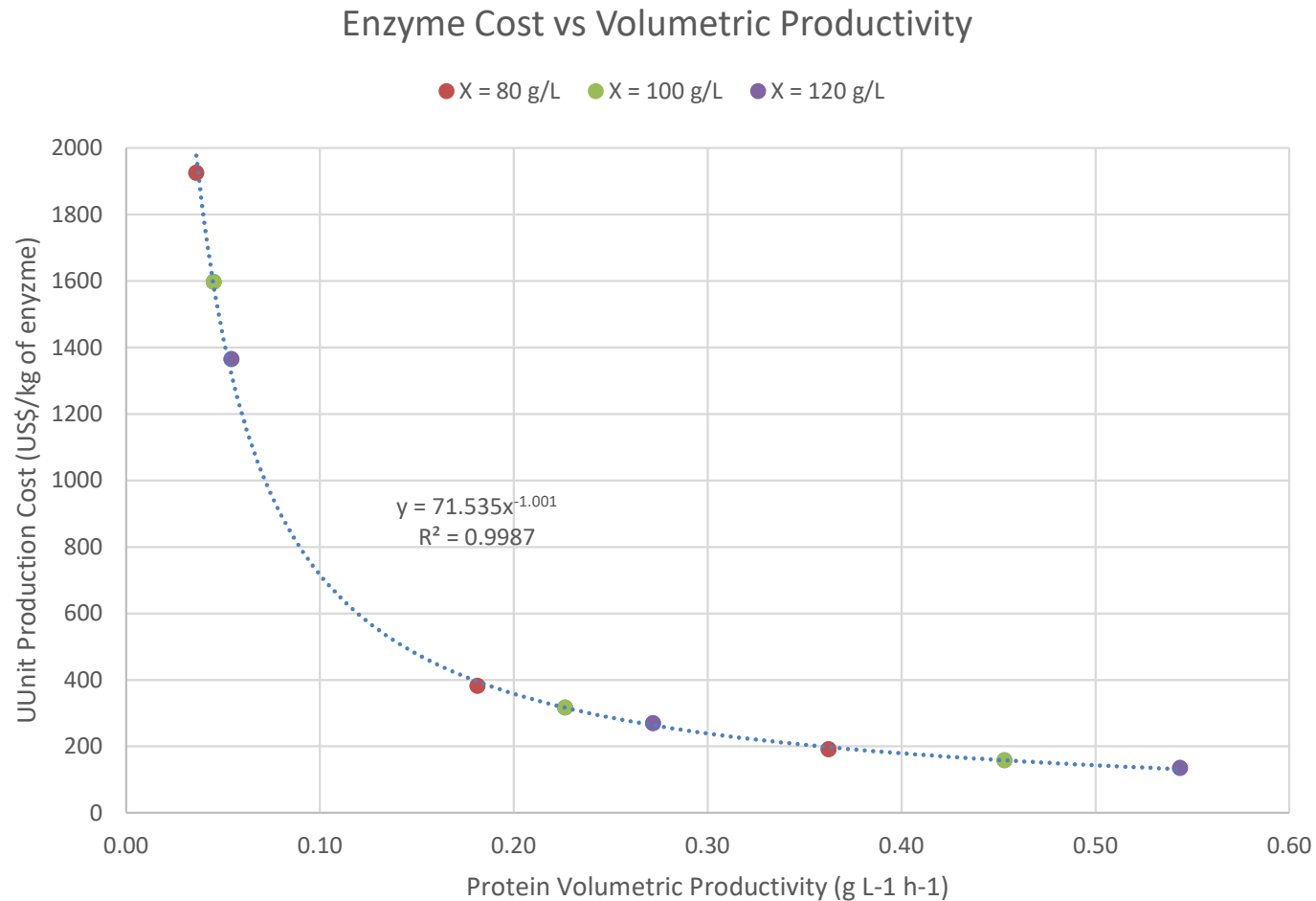
Custo da Enzima: Efeito da Escala

- Ganhos de escala até ~125 m³



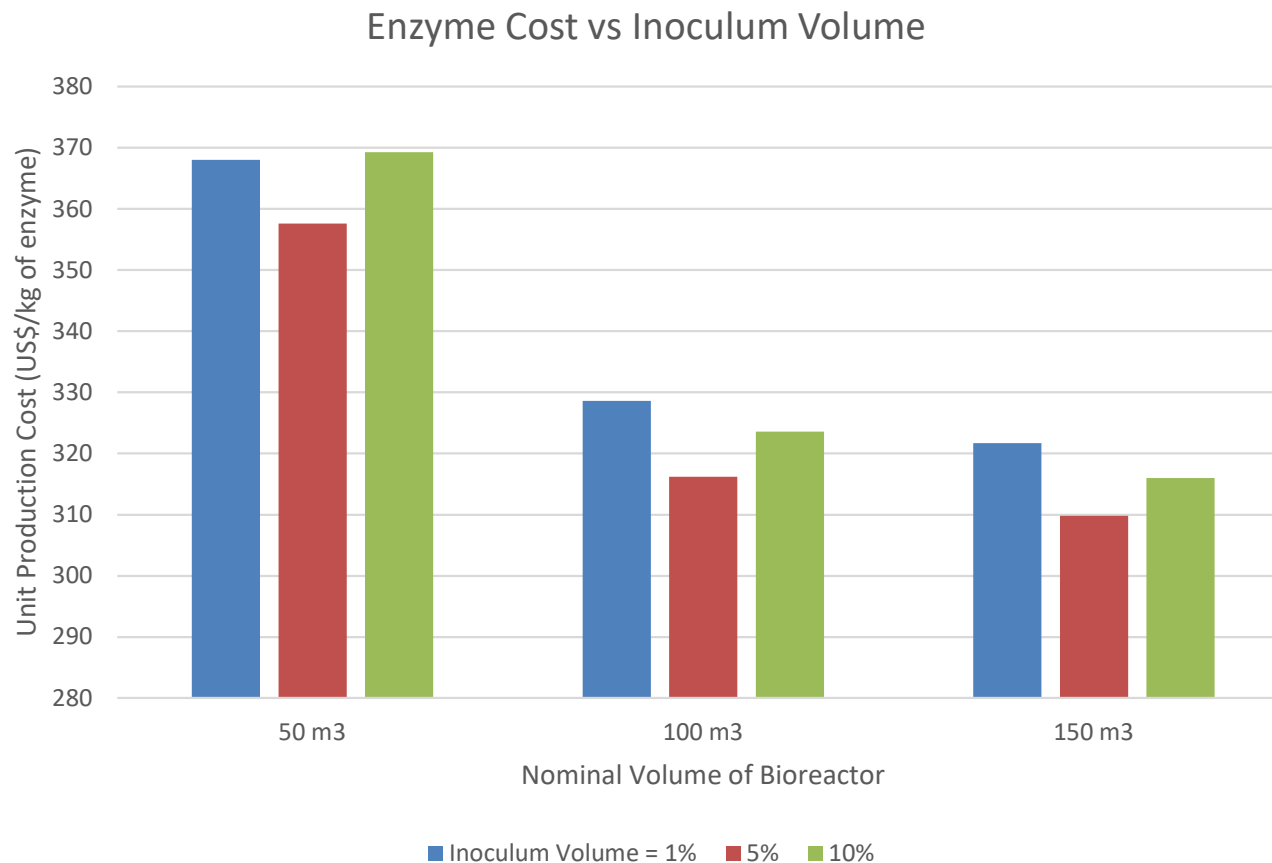
Custo da Enzima: Efeito da Produtividade

- Custo inversamente proporcional à produtividade volumétrica



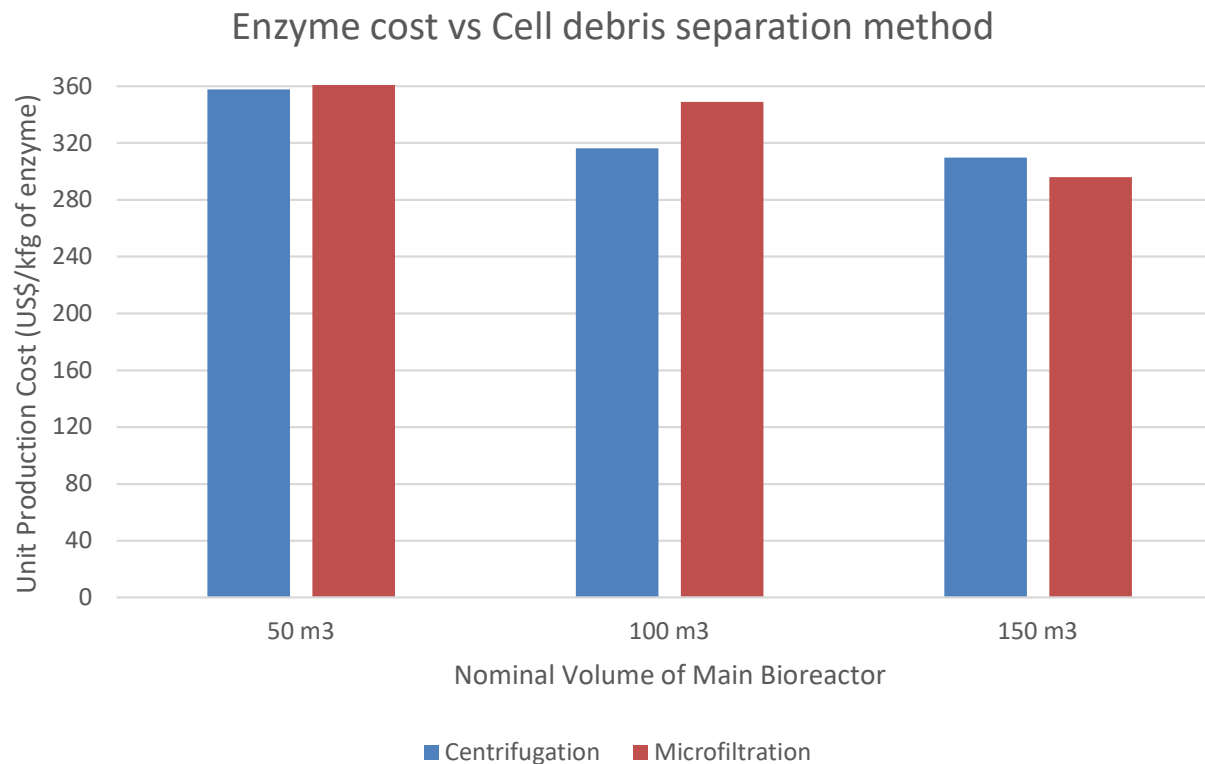
Custo da Enzima: Volume de Inóculo

- Volume de inóculo determina número de biorreatores auxiliares > efeito significativo



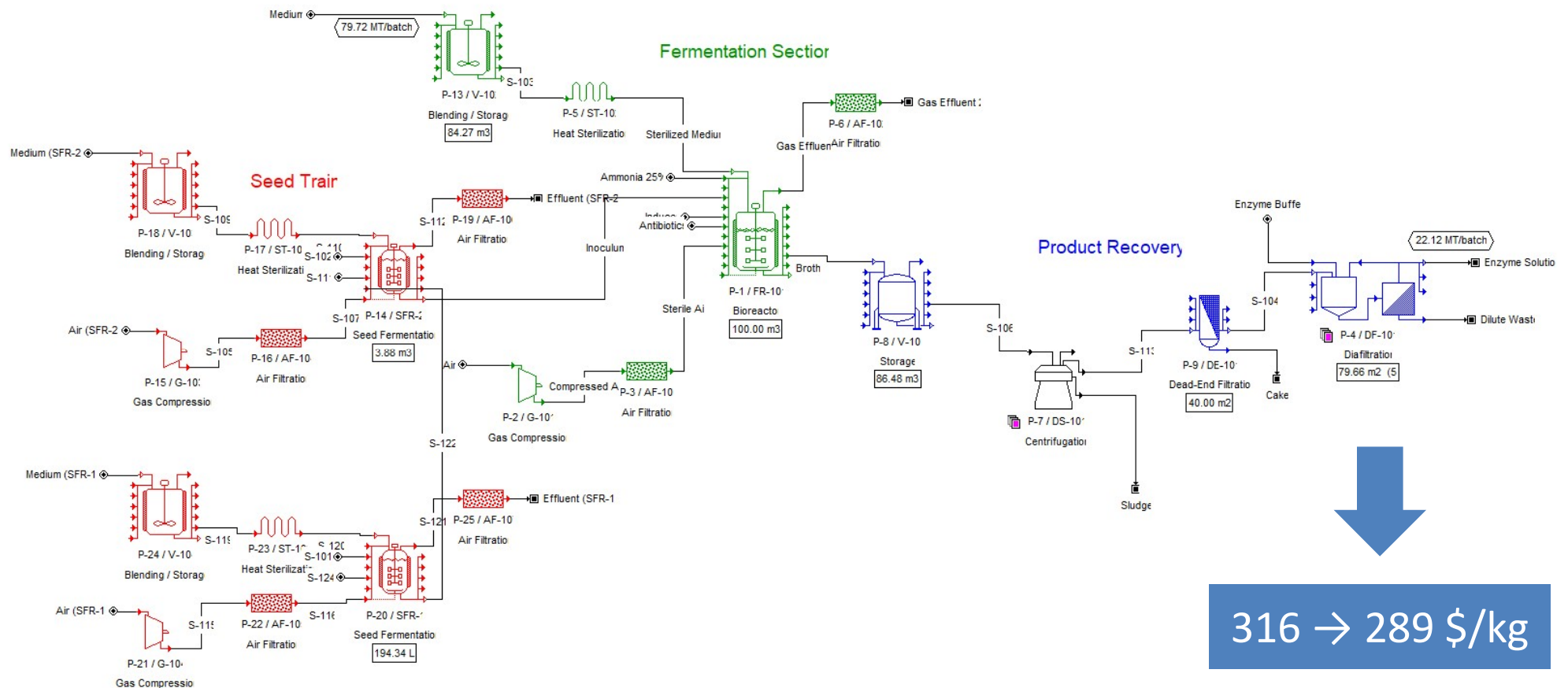
Custo da Enzima: Remoção de Debris

- Escolha entre centrifugação e microfiltração depende da escala



Cenários alternativos: produção extracelular

- E se a produção fosse extracelular?



Cenários alternativos: caso “ideal”



Conclusões do Estudo de Caso

- Custo elevado no caso-base (316 \$/kg) em comparação ao coquetel fúngico (10 \$/kg); porém variadas frentes de redução possíveis e caso “ideal” chega a 37 \$/kg;
- Equipamentos, matérias-primas (IPTG, glicose) e consumíveis são os principais fatores de custo (antibiótico não teve o impacto esperado);
- Efeitos de escala e produtividade volumétrica são os mais significativos;
- *Seed train* impacta significativamente no custo final.

Ferreira et al. *Biotechnol Biofuels* (2018) 11:81
<https://doi.org/10.1186/s13068-018-1077-0>

Biotechnology for Biofuels

RESEARCH

Open Access



Techno-economic analysis of the industrial production of a low-cost enzyme using *E. coli*: the case of recombinant β -glucosidase

Rafael da Gama Ferreira¹, Adriano Rodrigues Azzoni^{1*} and Sindelia Freitas^{2,3*}

Abstract

Relatórios de Análise Econômica

Economic Evaluation Report for BGL_baseline_v9.0 (2)

outubro 17, 2021

1. EXECUTIVE SUMMARY (2016 prices)

Total Capital Investment	69,804,000 \$
Capital Investment Charged to This Project	69,804,000 \$
Operating Cost	27,791,000 \$/yr
Revenues	35,318,000 \$/yr
Batch Size	334.45 kg MP
Cost Basis Annual Rate	88,295 kg MP/yr
Unit Production Cost	314.76 \$/kg MP
Net Unit Production Cost	314.76 \$/kg MP
Unit Production Revenue	400.00 \$/kg MP
Gross Margin	21.31 %
Return On Investment	16.06 %
Payback Time	6.23 years
IRR (After Taxes)	16.48 %
NPV (at 7.0% Interest)	42,303,000 \$

MP = Flow of Component 'Enzyme' in Stream 'Enzyme Solution'

Estimativa do Custo de Capital e Investimento

Table 4.1 Calculation of the total capital investment based on purchased equipment cost and multipliers, shown for the training case of cellulase production

Cost item	Multiplier	Base	Cost (\$ thds.)
Delivered purchased equipment cost (PC)			3290
Installation	variable	PC	1060
Process piping	0.35		1150
Instrumentation/control	0.4		1320
Insulation	0.03		100
Electrical systems	0.10		330
Buildings	0.45		1480
Yard improvement	0.15		490
Auxiliary facilities	0.4		1320
Total plant direct cost (TPDC)			10550
Engineering	0.25	TPDC	2640
Construction	0.35		3690
Total plant indirect cost (TPIC)			6330
Total plant cost (TPC) = TPDC + TPIC			16880
Contractor's fee	0.05	TPC	840
Contingency	0.1		1690
Direct fixed capital cost (DFC)			19410
Land	0.015	DFC	290
Start up and validation	0.05		970
Working capital	30 days	-	270
Total capital investment (TCI)			20650

Multiplicadores para as Estimativas de Custo

Table 4.2 Average values of the economic multipliers for different process types. The values for chemical and enzymatic processes are mainly taken from Peters et al. [4.3]. PC = Equipment purchase cost; TLC = Total Labor Cost; * The multipliers for these cost items often depend more on the type of product (pharmaceutical, etc.) than on the process type (mammalian cell culture, microbial system, chemical process). The multipliers for mammalian cell culture and microbial production are own estimates based on experience and educated guesses

Cost item	Mammalian cell culture			Microbial systems			Chemical and enzymatic processes		
	Average	Min	Max	Average	Min	Max	Average	Min	Max
Total plant direct cost (TPDC)									
Installation	$0.6 \times PC^*$	0.2	1.5	0.5	0.2	1.2	0.47	0.25	0.55
Process piping	$0.75 \times PC$	0.3	0.8	0.7	0.3	0.8	0.68	0.30	0.8
Instrumentation/control	$0.8 \times PC$	0.2	1.0	0.5	0.1	0.8	0.26	0.08	0.5
Insulation	$0.05 \times PC$	0.01	0.08	0.05	0.01	0.08	0.085	0.08	0.09
Electrical systems	$0.15 \times PC$	0.1	0.2	0.15	0.1	0.2	0.11	0.1	0.4
Buildings	$2.5 \times PC$	1.0	4.0	0.5	0.8	2.0	0.18	0.1	0.7
Yard improvement	$0.15 \times PC$	0.05	0.2	0.15	0.05	0.2	0.1	0.1	0.2
Auxiliary facilities	$0.8 \times PC$	0.2	1.2	0.7	0.2	1.2	0.55	0.4	1.0
Overall factor	5.8	2.1	9.0	3.3	1.8	6.5	2.4	1.4	4.2
Total plant indirect cost (TPIC)									
Engineering	$0.25 \times TPDC$	0.2	0.55	0.25	0.2	0.55	0.3	0.05	0.3
Construction	$0.35 \times TPDC$	0.3	0.55	0.35	0.3	0.55	0.35	0.3	0.55
Total plant cost (TPC) = TPDC + TPIC									
Contractor's fee	$0.06 \times TPC$	0.03	0.08	0.06	0.03	0.08	0.06	0.03	0.08
Contingency	$0.1 \times TPC$	0.07	0.15	0.1	0.07	0.15	$0.08 \times DFC$	0.05	0.15
Direct fixed capital cost (DFC)									
Start-up and validation	$0.05 \times DFC$	0.03	0.08	0.05	0.03	0.08	0.05	0.03	0.08
for pharmaceuticals	$0.2 \times DFC$	0.2	0.3						
Working capital	30 days			30 days			$0.15 \times DFC$	0.1	0.2
Operating cost multipliers									
Insurance	$0.01 \times DFC$	0.004	0.01	0.01	0.004	0.01	0.01	0.004	0.01
Local tax	$0.02 \times DFC$	0.01	0.04	0.02	0.01	0.04	0.02	0.01	0.04
Maintenance	$0.07 \times DFC$	0.02	0.1	0.07	0.02	0.1	0.07	0.02	0.1
Laboratory/QA/QC*	$0.6 \times TLC$	0.5	1.0	0.6	0.5	1.0	0.15	0.1	0.2

Estimativa do Custo Operacional

Table 4.3 Annual total production cost of cellulase production (annual production: 456 metric tons)

Cost item	Multiplier	Cost (\$ thds./year)
Variable costs		
Raw materials		256
Consumables		112
Labor	25 840 h/year	
Basic labor cost (BLC)	\$26/h	672
Fringe benefits	0.4 BLC	269
Supervision	0.2 BLC	134
Administration	0.5 BLC	336
Total labor cost (TLC)		1410
Operating supply	0.1 BLC	67
Laboratory/QC/QA	0.15 TLC	222
Utilities		1161
Waste treatment and disposal		64
Royalties		
Fixed costs		
Depreciation period	9.5 years	
Depreciation	0.095 DFC	1840
Insurance	0.01 DFC	194
Local tax	0.02 DFC	388
Maintenance and repair	equipment specific	1280
Plant overhead cost	0.05 DFC	970
General expenses		
Distribution and marketing		
Research and development		
Total product cost		6990

Leitura Complementar (disponível no e-disciplinas)

Ferreira et al. *Biotechnol Biofuels* (2018) 11:81
<https://doi.org/10.1186/s13068-018-1077-0>

Biotechnology for Biofuels

RESEARCH

Open Access

Techno-economic analysis of the industrial production of a low-cost enzyme using *E. coli*: the case of recombinant β -glucosidase



Rafael da Gama Ferreira¹, Adriano Rodrigues Azzoni^{1*} and Sindelia Freitas^{2,3*}

Abstract

Literatura Recomendada

1. Ferreira, R.G.; Azzoni, A.R.; Freitas, S. Techno-Economic Evaluation of Biotechnological Processes and Pharmacoeconomic Analysis. In: Adalberto Pessoa; Michele Vitolo; Paul Frederick Long. (Org.). Pharmaceutical Biotechnology: A Focus on Industrial Application. 1ed. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2021, v. 1, p. 355-368.
2. Freitas, S.S.; Santos, J.A. L.; Prazeres, D.M.F.T. Plasmid DNA. In: Elmar Heinzle; Arno Biber; Charles Cooney. (Org.). Development of Sustainable Bioprocesses - Modeling and Assessment. 1 ed. West Sussex: John Wiley & Sons, 2006.