

---

国家计量技术规范规程制订

# 《摇摆式生物反应器性能测试规范》

(征求意见稿)

编制说明

南京市计量监督测试院

中国计量科学研究院

中国计量测试学会

黑龙江省计量检定测试研究院

上海市计量测试技术研究院

2022年9月

---

# 《摇摆式生物反应器性能测试规范》（征求意见稿）

## 编写说明

### 一、任务来源

根据国家市场监督管理总局 2020 年国家计量技术法规计划立项，由南京计量监督检测院、中国计量科学研究院、中国计量测试学会、黑龙江省计量检定测试研究院、上海市计量测试技术研究院承担《摇摆式生物反应器性能测试规范》的制定工作。

### 二、规范制定的必要性

细胞培养是指取出生物有机体的某一部分组织，在体外条件下，模拟体内生理环境，在无菌、适当温度和一定培养条件下，使其能够生存和生长，并进行生化代谢维持其结构和功能的方法。随着医学科学研究飞速发展，细胞培养技术广泛应用于病毒学、免疫学、细胞生物学、分子生物学、遗传学、毒理学和药理学等学科中。除了传统的应用，细胞培养技术也是单克隆抗体生产、疫苗生产、细胞治疗等必备手段。

目前主流的细胞培养仪器除了传统的静置贴壁式培养之外，主要分搅拌式培养和摇摆式培养两种。摇摆式细胞培养是新兴的细胞培养模式，摇摆式细胞培养是采用非介入的波浪式摇动混合，细胞核培养液置于无菌封闭的细胞培养袋中，放在摇动平台上，在摇动过程中产生波浪，提供培养物的低剪切力的充分混合和表面高效传氧，形成细胞生长的立项环境，改善细胞状态以提高产量。较传统的生物发酵罐及搅拌式培养有混合方式温和高效、传氧效率高、易保持无菌状态等优点，越来越多地应用于生物制药、疫苗生产中。

细胞由于其特性，对于外界的各项参数及其敏感，摇摆式生物反应器是摇摆式细胞培养中最关键的设备，在细胞培养中，对于温度、溶氧、pH、通气量的控制都会直接影响细胞的培养效率和结果，从而直接影响后续的生产以及工艺研究。因此，为了保证培养分析结果的准确，十分有必要对摇摆式生物反应器的性能进行校准和质量控制。目前由于细胞培养技术还属于新技术，迄今为止，国家尚未出台有关摇摆式生物反应器的计量技术规范，并且对于该仪器的需求和数量随着生物制药的兴起成指数级增长，为确保细胞培养的结果能达到预期的结果，有必要对仪器性能进行校准和质量控制。因此，急需对摇摆式生物反应器的

---

计量特性指标及其校准方法进行研究，并整理形成相关技术规范。

### 三、《摇摆式生物反应器性能测试规范》制定过程

1、2020 年国家市场监督管理总局计量司批准全国生物计量技术委员关于《摇摆式生物反应器性能测试规范》的立项，由南京计量监督检测院、中国计量科学研究院、中国计量测试学会、黑龙江省计量检定测试研究院、上海市计量测试技术研究院共同起草，项目正式启动。

2、2020 年 7 月 南京计量监督检测院《摇摆式生物反应器性能测试规范》起草组就规范的架构设定、校准项目、具体指标等广泛听取了仪器生产厂家和相关领域专家的建议和意见。

3、2021 年 6 月 根据实验数据，规范起草小组在南京召开中期审查会议，中对规范的进展进行讨论，最终确定规范主要技术依据和项目指标。

4、2022 年 9 月 规范起草小组完成征求意见稿编写，广泛争取各领域专家意见。

### 四、规范制定的主要技术依据及原则

#### 4.1 技术依据

JJG 705—2014 液相色谱仪检定规程

JJF 1547-2015 在线 pH 计校准规范

#### 4.2 制定原则

##### 4.2.1 架构

架构上按照引言、范围、引用文献、术语和计量单位、概述、计量特性、校准条件、校准项目和校准方法、校准结果、复校时间间隔表达 10 个部分制定《摇摆式生物反应器性能测试规范》。

##### 4.2.2 术语与计量单位的选择

术语和计量单位、计量特性、通用技术要求与校准项目和校准方法、原则上与 JJF 1071-2010 国家计量校准规范编写规则保持一致。

术语方面，对生物反应器的定义给出明确的定义。

##### 4.2.3 计量特性确定原则

根据摇摆式生物反应器在实际应用中的主要功能和性能指标，并结合一定数量、具有代表性的不同型号、不同厂家生产的特定蛋白分析仪上的实验，形成本规范确定的计量特性。

---

摇摆式生物反应器（以下简称反应器）是基于振摇原理培养细胞或其他生物体的仪器。

摇摆式细胞培养是采用非介入的波浪式摇动混合，细胞核培养液置于无菌封闭的细胞培养袋中，放在摇动平台上，在摇动过程中产生波浪，提供培养物的低剪切力的充分混合和表面高效传氧，形成细胞生长的立项环境，改善细胞状态以提高产量。较传统的生物发酵罐及搅拌式培养有混合方式温和高效、传氧效率高、易保持无菌状态等优点，越来越多地应用于生物制药、疫苗生产中。分析仪主要由振摇系统、输液系统、检测系统、数据处理系统、配套的反应袋和其他配件组成。

在振摇系统中，主要涉及的是温度控制系统、以及振动系统。在温度控制系统中一般在振摇板上设有加热模块，仪器可以设置相应的温度达到控温的目的。所以在计量特性中规定了温度示值误差和温度稳定性。针对振动系统，计量特性规定了振摇频率和振摇角度。振摇频率是控制振摇板的摇摆速度，振摇角度是控制仪器振摇的角度。

在输液系统中，主要是流量控制模块，流量控制模块控制气体流量和液体流量，给予反应袋进行补料和补气。所以针对此特点，设置计量特性包括气体流量和液体流量，用于对输液系统的计量特性控制。

对于检测系统，由于摇摆式生物反应器的检测器一般都是一次性的探头置于一次性反应袋中，都是一次性使用探头，故一般不需要计量控制。

#### 4.2.4 校准设备及标准物质选择的原则

根据选择的计量特性，规范中给出了不同的计量器具。

针对振摇系统中温度加入模块，规范确定数字温度计，要求的测量范围包括（-10~100）℃，最大允许误差为±0.3℃。振摇模块一般设置为（30~40）℃，而由于一般要求温度为±1.0℃，由于温度精度不高，所以选择三分之一原则，设置MPE为±0.3℃。振摇模块选择光电转速表测量振摇速度，使用电子水平仪测量测量角度。

### 五、规范制定说明

《摇摆式生物反应器性能测试规范》共分为引言、范围、引用文献、术语和计量单位、概述、计量特性、校准条件、校准项目和校准方法、校准结果、复校

---

时间间隔表达 10 个部分

## 5.1 范围

本规范适用于基于振摇培养的方式的摇摆式生物反应器的计量性能的测试。

## 5.2 引用文献

《摇摆式生物反应器性能测试规范》主要依据本规范引用了下列文件：

JJG 705—2014 液相色谱仪检定规程

JJF 1547-2015 在线 pH 计校准规范

## 5.3 术语和计量单位

生物反应器，是指利用自然存在的微生物或具有特殊降解能力的微生物接种至液相或固相的反应系统。

在计量单位方面，摇摆式生物反应器选择的计量单位都是常规单位，不需要特殊说明。

## 5.4 概述

在概述部分，主要对摇摆式生物反应器的用途、原理和仪器组成进行了简要介绍。

## 5.5 计量特性

在计量特性部分，主要针对摇摆式生物反应器的特点，选择一定数量的、不同型号的仪器进行试验测试。通过分析在一定数量、具有代表性的不同型号、不同厂家生产的摇摆式生物反应器实验数据的基础上，综摇摆式生物反应器在实际应用中的主要功能和性能指标，考虑其具体应用的要求，形成本规范确定的计量项目和校准方法，包括加温度示值误差、温度稳定性、流量示值误差、流量稳定精度、摇摆频率示值误差、摇摆角度示值误差。

## 5.6 校准条件

在校准条件部分，主要针对摇摆式生物反应器的使用状况，规定了相关使用环境条件，并规定了校准用的标准物质和其他设备。

## 5.7 校准项目和校准方法

根据计量特性部分确定的计量项目，确定相关计量校准方法。

### 5.7.1 温度示值误差和稳定性

在生物反应过程中温度的控制十分重要，故需要对整个温度加热模块进行测

试。

将温度计探头固定在振摇盘和细胞培养袋相应的位置，将反应器通电，设置为常用的培养温度。待温度稳定后，记录下温度计温度读数并开始计时，每隔 2min 记录一次读数，共计 15 次，求出平均值。根据公式（1）计算温度示值误差。根据公式（2）计算温度稳定性。

$$\Delta T = T_d - \bar{T} \quad (1)$$

式中：

$\Delta T$  —— 温度示值误差，单位摄氏度（℃）；

$T_d$  —— 分析仪设置温度，单位摄氏度（℃）；

$\bar{T}$  —— 15 次测量的平均值，单位摄氏度（℃）。

$$\Delta T_f = T_{0\max} - T_{0\min} \quad (2)$$

式中：

$\Delta T_f$  —— 温度稳定性，单位摄氏度（℃）；

$T_{0\max}$  —— 15 次测量中的最高温度，单位摄氏度（℃）；

$T_{0\min}$  —— 15 次测量中的最低温度，单位摄氏度（℃）。

### 5.7.2 气体示值误差和稳定性

摇摆式生物反应器在培养过程中，需要实时供给生物体需要的气体，所以需要 对气体流量系统进行校准。

将标准气体流量计串联进入摇摆式生物反应器的气路系统，将生物反应器的气体流量控制系统设置为用户常用的流量点，进行校准，按公式（3）计算气体流量示值误差，按公式（4）计算气体流量稳定性。

$$\Delta V = V_d - \bar{V} \quad (4)$$

式中：

$\Delta V$  —— 流量示值误差，单位 ml/min；

$V_d$  —— 反应器设置流量值，单位 ml/min；

$\bar{V}$  —— 5 次测量的平均值，单位 ml/min。

$$\Delta V_f = V_{0\max} - V_{0\min}$$

(4)

式中：

$\Delta V_f$  —— 流量稳定性，单位 ml/min；

$V_{0\max}$  —— 5 次测量中的最高温度，单位 ml/min；

$V_{0\min}$  —— 5 次测量中的最低温度，单位 ml/min。

### 5.7.3 液体流量设定值误差和流量稳定性

在生物培养过程，还需要定期补料以保证微生物正常生长，所以对于流量的控制也十分重要。

用专用管路连接仪器的出口、入口，以脱过气的水做流动相，通过管路冲洗系统，使系统中充满水。将温度计插入流动相内，测量试验温度。设定适当的流量，当输液泵运行稳定后，在泵测量范围中均匀取三个测量点，用合适的干燥的容量瓶（事先清洗、干燥后称重）分别接收规定时间流出的流动相。测量次数、时间、使用容量瓶规格如下表所示。将测量得到的容量瓶分别在分析天平上称重，重复三次，按公式(5)计算流量的实测值，按公式(6)计算流量设定值误差 SS，按公式(7)计算流量稳定性误差 SR。

表 1 泵流速测定参数表

泵流速设定值 (mL/min)	0.2~1.0	1.0~10	10~100
测量次数	3	3	3
流动相收集时间 (min)	10~20	5~10	5
使用容量瓶大小(ml)	25	100	1000

$$F_m = (W_2 - W_1) / (\rho_t \times t) \quad (5)$$

式中：

$F_m$  —— 流量实测值，mL/min；

$W_2$  —— 容量瓶加流动相的质量，g；

$W_1$  —— 容量瓶的质量，g；

$\rho_t$  —— 实验温度下流动相的密度，g/cm<sup>3</sup>，(不同温度下流动相的密度参见附录 C)；

录 C)；

$t$  —— 收集流动相的时间，min。

$$S_s = \frac{\overline{F_m} - F_s}{F_s} \times 100\% \quad (6)$$

式中：

$S_s$  —— 流量示值误差，%；

$\overline{F_m}$  —— 同一设定流量 3 次测量值的算术平均值，mL/min；

$F_s$  —— 流量设定值，mL/min。

$$S_R = \frac{F_{\max} - F_{\min}}{\bar{F}_m} \times 100\% \quad (7)$$

式中：

$S_R$  ——流量稳定性，%；

$F_{\max}$  ——同一设定流量 3 次测量值的最大值，mL/min；

$F_{\min}$  ——同一设定流量 3 次测量值的最小值，mL/min；

$\bar{F}_m$  ——同一设定流量 3 次测量值的算术平均值，mL/min。

#### 5.7.4 特定蛋白测量示值误差

特定蛋白测量示值误差是特定蛋白分析仪检测结果的直接表现。对特定蛋白分析仪示值误差的校准，是确保特定蛋白分析仪结果准确的有效手段。示值误差的校准使用的标准物质如前所述，可以根据用户特定蛋白的检测项目和现有的特定蛋白标准物质综合考虑进行选择。具体校准方法如下：

分别选取高、低两个浓度特定蛋白有证标准物质（以下简称标准物质），每个浓度在仪器上连续测量 3 次，记录每次测定值，该浓度下示值误差按公式（6）计算。

$$\delta = \frac{\bar{c} - c_s}{c_s} \times 100\% \quad (6)$$

式中：

$\bar{c}$  ——测定的特定蛋白含量的平均值，选择的标准物质单位；

$c_s$  ——特定蛋白标准物质标准值，选择的标准物质单位；

$\delta$  ——特定蛋白分析仪示值误差，%。

#### 5.7.4 摇摆速率

摇摆速率是摇摆式生物反应器在反应器开始培养时需要设置的参数，具体校准方法如下：

将反光纸贴在反应器的振动盘上，将反应器在振荡区间内选取 3 点（通常为 10 r/min、20 r/min、30 r/min），将反应器开启振摇，使用光电计数表测量反应器的摇摆速率，测量时间 30s，将测量的平均摇摆速率作为实测摇摆速率，按式（8）计算反应器的摇摆速率示值误差。

$$\Delta n = n_s - \bar{n} \quad (8)$$

式中：

$\Delta n$  ——摇摆速率示值误差，r/min；

$n_s$ ——摇摆速率设置值, r/min;

$\bar{n}$ ——摇摆速率实测值, r/min。

### 5.7.5 摇摆角度

摇摆式生物反应器的摇摆角度是控制整个振摇幅度的最重要的参数,校准方法如下。

将反应器放置在水平桌面上,并将电子水平仪置于振动盘上,归零。将反应器选择最低摇摆速率,开启振摇。将仪器停在摇摆最大角度处,读取电子水平仪的读数,作为反应器的最大摇摆角度。查仪器说明书得到仪器最大的摇摆角度。按公式(9)计算摇摆角度示值误差。

$$\Delta\alpha = \alpha_t - \alpha_s \quad (9)$$

式中:

$\Delta\alpha$ ——摇摆角度示值误差,度;

$\alpha_t$ ——反应器摇摆角度最大值,度;

$\alpha_s$ ——反应器摇摆角度实测值,度。

## 6 不确定度评定

### 6.1 测量方法

采用温度测量装置对摇摆式生物反应器的温度进行测量,并与反应器设置温度进行比较。

### 6.2 测量模型

温度上偏差公式可由公式(B.1)给出

$$\Delta t_{\max} = t_{\max} - t_s \quad (B.1)$$

式中:

$\Delta t_{\max}$ ——温度上偏差,单位摄氏度(°C);

$t_{\max}$ ——各测量点规定时间内测量的最高温度,单位摄氏度(°C);

$t_s$ ——设备设定温度,单位摄氏度(°C)。

### 6.3 不确定度来源

- (1) 摇摆式生物反应器测量重复性引入的不确定度。
- (2) 温度测量标准器引入的不确定度。

### 6.4 不确定度分量的估算

- (1) 摇摆式生物反应器测量重复性引入的不确定度  $u_{\tau}$

选定一台摇摆式生物反应器，使用温度测量装置在 22℃ 校准点，连续测量 10 次，得到一组测量值：22.3℃，22.2℃，22.1℃，22.3℃，22.4℃，22.2℃，22.3℃，22.1℃，22.4℃，22.3℃，。

则单次测量结果的实验标准差  $s(x_i)$ ：

$$s(x_i) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \approx 0.11 \text{ } ^\circ\text{C}$$

$$\text{则 } u_1 = \frac{s(x_i)}{\sqrt{10}} = 0.04 \text{ } ^\circ\text{C}$$

(2) 温度测量标准器引入的不确定度分量  $u_c$ 。

由标准物质引入的不确定度分量  $u_c$  主要由标准器温度分辨力引入的不确定度，标准器修正值引入的不确定度，标准器稳定性引入的不确定度组成。

标准器分辨力为 0.01℃，不确定度区间半宽 0.005℃，服从均匀分布，则分辨力引入的标准不确定度分量：

$$u_2 = \frac{0.005}{\sqrt{3}} \approx 0.003 \text{ } ^\circ\text{C}$$

标准器温度修正值的不确定度  $U=0.04 \text{ } ^\circ\text{C}$ ， $k=2$ ，则标准器温度修正值引入的标准不确定度分量：

$$u_3 = U / k = 0.04 / 2 = 0.02 \text{ } ^\circ\text{C}$$

标准器稳定性引入的标准不确定度分量，本标准器相邻两次校准温度修正值最大变化为 0.10℃，由此引入的标准不确定度分量为：

$$u_4 = \frac{0.10}{\sqrt{3}} \approx 0.06 \text{ } ^\circ\text{C}$$

## 6.5 标准不确定度一览表

标准不确定度一览表见表 B.1。

表 B.1 摇摆式生物反应器温度测定结果标准不确定度一览表

标准不确定度分量 $u(x_i)$	不确定度来源	标准不确定度值
$u_1$	温度测量重复性	0.04℃
$u_2$	标准器分辨力	0.003℃

---

$u_3$	标准器修正值	0.02℃
$u_4$	标准器稳定性	0.06℃

#### 6.6 合成标准不确定度 $u_c$

由于各不确定度输入量不相关，故

$$u_c = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2 + u_4^2} = 0.08^\circ\text{C}$$

#### 6.7 扩展不确定度

取  $k=2$ ，则仪器示值误差的扩展不确定度为  $U=2u_c=0.16^\circ\text{C}$ 。

### 7 计量器具控制

在计量器具控制部分，主要对摇摆式生物反应器的校准条件、标准物质、其他要求进行了具体的描述和限制。

《摇摆式生物反应器性能测试规范》规范制定起草小组

2022年9月