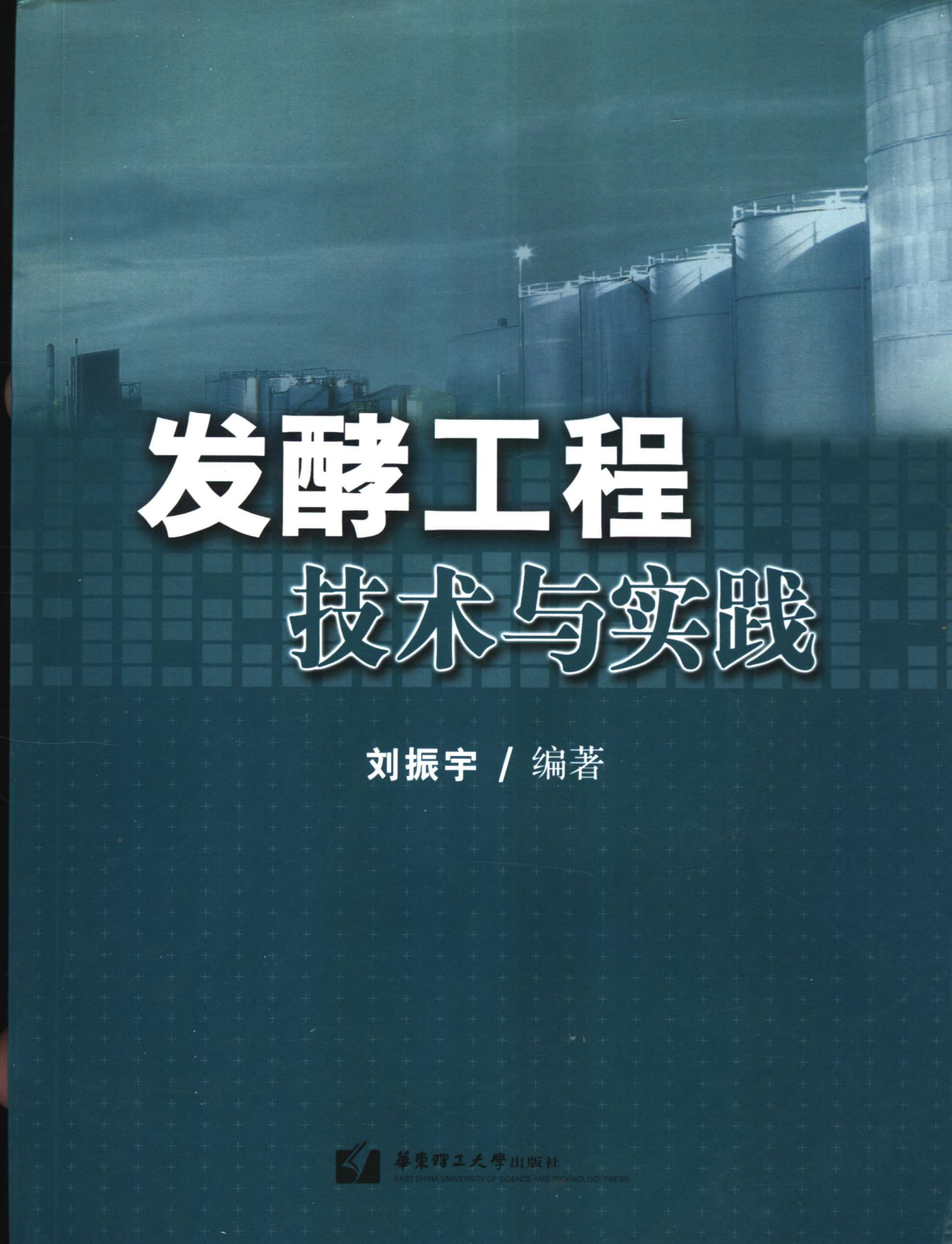




发酵工程 技术与实践

刘振宇 / 编著



华东理工大学出版社

EAST CHINA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY PRESS

图书在版编目(CIP)数据

发酵工程技术与实践/刘振宇编著. —上海:华东理工大学出版社, 2007. 1

ISBN 978-7-5628-2014-7

I. 发... II. 刘... III. 发配工程 IV. TQ92

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 146316 号

发酵工程技术与实践

编 著 / 刘振宇

责任编辑 / 胡 景

封面设计 / 王晓迪

责任校对 / 张 波

出版发行 / 华东理工大学出版社

地址:上海市梅陇路 130 号, 200237

电话:(021)64250306(营销部)

传真:(021)64252707

网址:www.hdlgpress.com.cn

印 刷 / 上海展强印刷有限公司

开 本 / 787mm×960mm 1/16

印 张 / 14.75

字 数 / 263 千字

版 次 / 2007 年 1 月第 1 版

印 次 / 2007 年 1 月第 1 次

印 数 / 1—4050 册

书 号 / ISBN 978-7-5628-2014-7/TQ·111

定 价 / 32.00 元

(本书如有印装质量问题,请到出版社营销部调换)

序

20 世纪 40 年代初,青霉素形成工业大规模生产后,解决了工业规模生产的两个主要技术问题,即液体深层培养时的供氧问题以及纯种培养技术,其中包括如高效通气搅拌供氧技术、无菌空气过滤技术、大型发酵罐培养基灭菌技术、发酵罐防杂菌污染技术等。从此,微生物发酵以大规模工业生产的崭新面貌出现,即所谓发酵工程,标志着发酵工业进入了一个新阶段。

长期以来,发酵工程研究的重点在通气搅拌和无菌操作的装备技术上。随着发酵工业的急剧发展,发酵工程趋向设备大型化、高效和自动化,发酵产品新品种、新工艺、新技术和新设备不断出现,但上述以青霉素为代表的抗生素工业的基本操作模式没有变。即在工业发酵生产时,在几十立方米或上百立方米的发酵罐内包括葡萄糖等原材料在高温灭菌后接入生产菌,控制合适的温度、pH 或其他条件,就可以进行发酵产品生产。但是在实验室获得某发酵产品初步结果后,在发酵过程大规模生产培养时并不一定得到人们预期的效果。发酵工厂投资者为了追求经济效益,必须降低投资风险,提高市场竞争能力,为此,除对发酵工程的过程优化和放大技术提出了要求外,对规模化的生产工艺操作和装备设计也提出了更高的要求;而且随着设备规模日趋扩大,技术难度也越来越高。要解决以上问题,除了加深对生物过程研究以及其他学科领域的技术进步和支持外,最终还要落实到发酵工程装备与设计技术的进步。

必须注意到,这些技术进步还需要依靠人们大量的生产实践与探索才能逐渐积累,工厂生产的需求往往是第一推动力。刘振宇工程师的这本专著就是源于实践和勇于探索的长期积累。我国最大的发酵制药厂——华北制药厂的历史发展为他提供了最好的实践舞台。作为华北制药厂装备技术的核心人物之一,他长期处于工程实践第一线,在总结自己的一生经验时,这是一份不可多得的财富。其中有些数据似乎不很显眼,但它们是花费了大量的心血而积累的教训。有的经验或表格叙述,似乎过于平淡,但在反复实践对照时,才明白其中的道理。在当前生物技术产业化迅速发展的时代,当我们讨论工程化项目配套上马或从事发酵工程车间生产技术管理时,建议不妨先读一下这本书,会少走一些弯路。

以发酵工程为核心内容的生物技术在不断发展,特别是 20 世纪 70 年代重组 DNA 技术等生物技术的出现,从根本上扩大了生物系统的应用范围,已发展成现代生物技术产业和传统生物技术产业。当前,借助于微生物培养进行产品生产已涉及医药、化工、轻工、食品、农业、海洋、能源、环保等领域。特别重要的是随着煤、石油等能源的耗竭以及环境保护的急需,人们已经开始意识到将由碳氢化合物经济时代进入到碳水化合物经济时代,发酵工程将起到不可替代的作用。虽然产品工艺路线各异,但是,人们在研究工程化配套时,不得不研究它们的共性,特别需要能与实际生产密切联系的内容。本书虽然以抗生素青霉素发酵为主要内容,作者本人的经历也着重在工程化生产设备与操作方面,但是在生产实际中的很多原理与经验是通用的,相信能给大家一个很好的启示。此外,科学技术发展无止境,随着进一步的深入实践,各学科技术领域的最新发展必将提供更先进的技术成果,通过学科交叉解决发酵工程所遇到的问题,该书是一个很好的开端,相信还有更多的内容可以总结。

张嗣良

2006. 11

于华东理工大学

目 录

第 1 章 发酵过程染菌的

防止	1	1.5.2 连续消毒灭菌方面	37
1.1 与消毒灭菌相关的名词		1.6 造成染菌的设备因素	44
解释	2	1.6.1 蒸汽的质量和蒸汽管路的	
1.2 灭菌方法的选择	5	合理安装	45
1.2.1 化学灭菌法	5	1.6.2 无菌空气系统引起的	
1.2.2 物理灭菌法	6	染菌	50
1.3 消毒灭菌工艺控制点选择的		1.6.3 绝对过滤高效空气滤芯	
依据	8	的应用	59
1.3.1 被消毒灭菌物料的		1.6.4 物料消毒系统引起的	
性质	9	染菌	62
1.3.2 消毒灭菌的设备及		1.6.5 冷水冷却系统引起的	
特殊点	10	染菌	68
1.3.3 消毒灭菌物料的		1.6.6 罐上的死角引起的	
体积	11	染菌	71
1.3.4 细菌的致死温度和		1.7 及时、准确地寻找染菌原因	77
致死时间	11	1.7.1 发酵罐染菌后的异常	
1.3.5 总蒸汽的质量和		表现	78
压力	12	1.7.2 从染菌时间上分析	
1.3.6 消毒灭菌后营养成分		原因	80
的破坏	15	1.7.3 从染菌菌型上分析	
1.4 染菌的菌型分类和杂菌的		原因	81
生存条件	16	1.7.4 从染菌规模上分析	
1.4.1 微生物的生存条件	16	原因	84
1.4.2 各类微生物存活的		1.8 正确地识别和使用各类	
环境	19	阀门	84
1.5 造成染菌的人为因素	23	1.8.1 阀门的分类、型号及	
1.5.1 实罐消毒灭菌方面	24	标识	85
		1.8.2 各类阀门的性能和用途	90

1.8.3 阀门的一般维护和故障处理	97	2.3.1 无菌空气的监测方法	114
1.9 消毒灭菌操作中的安全		2.3.2 无菌空气的标准	115
防范	98	2.4 无菌空气制取的工艺流程及设备要求	116
1.9.1 发酵罐进罐检查的安全规范	99	2.4.1 无菌空气制取的工艺要求	116
1.9.2 耐压容器工作时的安全规范	99	2.4.2 空气制取、除滤设备的设计要求	116
1.9.3 耐压容器防止负压抽瘪	100	2.5 无菌空气系统设备的故障处理	122
1.9.4 发酵罐上玻璃视镜的安全规范	100	2.5.1 空气中的带油、带水	122
1.9.5 防止空气过滤器消毒时着火	101	2.5.2 总空气过滤器在设计及安装过程中的弊病	123
1.10 发酵制服染菌是企业的重要组成	102	2.6 无菌空气的净化管理	125
1.10.1 染菌率的高低是发酵工厂综合素质的体现	102	2.6.1 空气过滤器填装介质的选择	125
1.10.2 消灭染菌的组织管理、制度管理、目标管理	103	2.6.2 空气过滤器填充率的计算	126
1.10.3 消灭染菌的外围必控点	104	2.6.3 总空气过滤器的介质填装	126
1.10.4 消灭染菌相关的管理制度	105	2.6.4 总空气过滤器的定期灭菌	126
1.10.5 消灭染菌相关的规定	105	2.6.5 总空气过滤器灭菌时易出现的问题及防范措施	127
1.10.6 当前染菌的几个主要原因	107	2.6.6 总空气系统防止倒流的措施	128
第2章 空气除滤设备的设计及空气净化管理	110	2.6.7 空气系统防止积水的措施	129
2.1 抗生素发酵过程中通入空气的前提条件	110	2.6.8 空气系统定期监测的制度	130
2.2 空气中微生物存活的形式	113	2.7 空气系统带菌造成染菌的原因分析	130
2.3 微生物粒径与空气中尘埃粒径的比较	114	第3章 发酵设备的计算	132
		3.1 传热装置的计算	132

3.2 培养基加热设备的计算	135	4.3 电机、搅拌功率的放大及设计 应用	170
3.3 喷淋冷却器的计算	136	4.3.1 搅拌功率放大引起的 启示	171
3.4 发酵罐台数的确定	137	4.4 种子罐改造的独特之处	172
3.5 发酵罐的几何尺寸放大 计算	138	4.5 无菌空气系统设备的改造	173
3.6 空气预过滤器的基本条件	139	4.5.1 介质除滤设备的设计 要求	174
3.7 发酵设备圆筒壁厚的计算	140	4.5.2 绝对过滤、高效膜滤器的 应用	174
3.8 总空气过滤器气流速度的 计算	141	4.5.3 高效膜空气过滤器系统的 设计	174
3.9 发酵设备的常规知识	142	4.5.4 高效滤芯的安装及使用 要点	176
3.10 发酵产量、进度、物料、电耗的 常规计算	158	4.5.5 高效膜过滤器滤芯检测的 几种方法	177
3.11 饱和蒸汽压力温度对照表	161		
3.12 发酵罐椭圆封头的相关 数据	161		
第4章 案例:青霉素发酵过程 中的技术进步	165	第5章 抗生素发酵专业技能 考核题	179
4.1 抗生素的定义及发酵工艺的 变革	165	5.1 菌种制备部分	179
4.1.1 菌种及工艺控制的 变革	166	5.2 发酵消毒部分	193
4.1.2 关于 NCPC 菌种的引进、 消化、应用	167	5.3 发酵工艺控制部分	203
4.1.3 倍达公司的再造工程	168	附录 I 重大项目的实施过程及 规范要求	213
4.2 发酵罐的罐体放大及设备 改造	168	附录 II 对新建抗生素制造厂的 考察提纲	220
4.2.1 不同发酵罐的结构 尺寸	169	附录 III 150 m³ 发酵罐罐体及搅拌 减速机系统安装控制 标准	221
4.2.2 发酵罐制造过程中的教训 及经验	170		

第 1 章 发酵过程

染菌的防止

抗生素发酵的消毒灭菌是抗生素生产过程中的重要环节,而发酵的染菌则直接威胁和影响抗生素的产量和质量。同时,消毒灭菌后的培养基质量,不仅关系到是否染菌,还影响产生菌的代谢和发酵工艺控制的正常进行。因此,消灭染菌以及消灭染菌方法的探讨和研究是发酵生产工艺中一直需要认真解决的重要课题。

造成发酵染菌的原因有很多,人为的操作因素仅仅是一个方面。发酵染菌的原因还包括:设备结构的不合理,工艺管线的不合理安装,设备存在的泄漏及死角,消灭染菌管理工作的不严格等。为了消灭染菌,着重抓好以上各项工作是远远不够的,需要强调的是,为彻底解决发酵的染菌问题,必须从建厂初期的基本设计抓起,这就要做到“发酵设备、工艺管线的零染菌率设计”。这个问题将在以后的章节里重点论述。

作为发酵岗位的消毒工,应该具有严格的工作责任心和较高的操作技能,但是仅此是不够的。因为发酵染菌的原因极多,有人为的操作问题,有设备的泄漏和死角,也有管理上的不当和混乱。在错综复杂的染菌原因面前,消毒工必须充实自己的专业知识,在努力提高专业知识的同时,提高操作技能和分析解决问题的能力;除不断认真总结染菌的教训外,还应当认真学习微生物学的基础知识,掌握微生物的生长生存条件以及致死条件;还应当掌握发酵设备的知识,懂得设备的结构和原理,避免设备消毒中死角的形成。只有提高了技术理论水平和实际操作水平,才能做到分析问题准确,采取措施得力,消灭染菌有成效。

发酵罐一旦染菌,会造成很大的经济损失。从这个意义上讲,我们是以经济代价的付出而换取教训的。因此重视分析自己及别人的染菌原因,教训互补尤为重要。

发酵的消灭染菌是从实践中产生的科学,是总结提高到理论,再回到实践中去解决问题的一门学科。它来不得半点虚假,否则染菌就会狠狠地教训我们。

因此,“实践—认识—再实践—再认识”是消灭染菌工作的座右铭,我们应该牢牢记住这个真理。

1.1 与消毒灭菌相关的名词解释

微生物:是对所有形体微小,单细胞或个体结构为简单多细胞,甚至没有细胞结构的低等生物的通称。

发酵:指微生物活细胞在一定的培养环境中,分解、利用各类有机物质,生物合成抗生素的过程。其主要特点是,单一微生物的培养过程,不允许任何杂菌的污染。

染菌:指发酵生产过程中污染了其他杂菌,破坏了单一微生物生长培养的环境。

培养基:是人工配制的用于微生物生长繁殖或积累代谢产物的营养物质。

革兰氏染色法:1884年丹麦微生物学者革兰姆(Christian Cram)发明的一种细菌鉴别染色法。其过程为:涂片—干燥—固定—草酸铵结晶紫初染—碘液媒染—95%乙醇脱色—番红复染—水洗—干燥,最后镜检。如菌体呈深紫色,称革兰氏阳性菌(G^+);如菌体呈红色,称革兰氏阴性菌(G^-)。

真核细胞型微生物:其细胞内的细胞核分化较高,有核膜、核仁和染色体,细胞内有完整的细胞器。主要指真菌中的酵母菌、霉菌、原生动物和单细胞藻类。

原核细胞型微生物:这类生物的细胞中仅有原始的细胞核,没有核膜与核仁的分化,缺乏细胞器。主要指细菌、放线菌、产甲烷细菌、蓝细菌、支原体、衣原体、立克次氏体和螺旋体等。

非细胞型微生物:这类生物个体极小,不具备细胞结构,为蛋白质和核酸,只能活在细胞内复制。如植物病毒、动物病毒、人类病毒和噬菌体等。

芽孢:某些细菌在其生长一定阶段,在细胞内形成一个圆形、椭圆形或圆柱形结构,对不良环境及条件有较强抵抗性的休眠体。这种休眠体叫做芽孢。

菌落:细菌在固体培养基上生长繁殖,由于受固体表面或深层的限制而形成肉眼可见的细菌群体称菌落。

消毒:用物理和化学的方法杀灭物体上的病原微生物,使之不能成为传染源即为消毒。消毒的概念来自于卫生工作,指餐具、用具的消毒,环境的消毒等。换言之,消毒的作用是毁灭引起感染的病原微生物,而不一定能毁灭一切微生物

和孢子。

灭菌:用物理和化学的方法,杀灭和除去所有微生物的繁殖体和芽孢,使之完全无菌即为灭菌。换言之,灭菌的作用是指杀灭一切微生物及其孢子。

杀菌:用物理和化学的方法,对微生物在短时间内起杀灭作用即为杀菌。

抑菌:指抑制微生物繁殖体的生长及繁殖,使其处于代谢抑制状态,遇适宜环境还可恢复其生命活动。

无菌试验:在纯种发酵过程中,检查和发现有无杂菌污染,并鉴别杂菌类型,以便及时采取有效措施的一种方法。

细菌的致死时间:指在一定温度下,杀死细菌所需要的最短时间。

细菌的致死温度:指在一定时间内,杀死细菌所需要的最低温度。

化学灭菌法:使用化学药剂进行杀菌的方法即为化学灭菌法。它的特点是杀菌效果好,但在使用时必须充分注意,化学药剂的适当浓度,合适的处理时间,微生物对化学药剂的敏感性以及对外界环境的影响。

物理灭菌法:利用物理因素如高温加热、辐射射线、介质除滤或过滤、干燥等方法进行灭菌的一种方法。

干热灭菌法:利用火焰及热空气杀菌的方法即为干热灭菌法。它的特点是简单有效,但局限性大。适用于玻璃器皿、金属用具的灭菌。

湿热灭菌法:根据灭菌物品的性质不同,选择不同温度的湿热蒸汽进行灭菌的一种方法。原理是通过蒸汽加热,温度上升到细菌的致死温度,使菌体蛋白质及酶类变性,凝固而死亡。

汽化潜热:当被灭菌物体的温度比蒸汽温度低时,蒸汽在物体表面上凝结为水,同时放出的热量为潜热,它能迅速提高灭菌物体的温度。

消毒灭菌安全系数:以杀灭芽孢杆菌的致死时间为依据,在此基础上再增加50%的余量,就等于消毒灭菌的保温时间。

湿饱和蒸汽:在蒸汽输送过程中,由于一部分热量损失形成无数细微的水滴混悬在蒸汽之中,称之为湿饱和蒸汽。它的特点是热含量低,穿透力弱,灭菌效果差。

饱和蒸汽:饱和蒸汽的温度与水的沸点相当,当压力达到平衡时,此时蒸汽中不含有细微的水滴。它的特点是热含量高,穿透力强,灭菌效果好。

过热蒸汽:蒸汽中的水分完全蒸发后,再继续加热,即成为过热蒸汽。其特点是热含量高,穿透力差,灭菌效果差。

热对流:依靠液体或气体本身的流动而实现的热传递的过程叫做热对流。

热传导:沿物体内部或物体与物体接触部分发生的热传递叫做热传导。

辐射:能量通过空间传递称为辐射。

表压:管道内或容器内介质的压强在仪表上的反映。

压强:作用于单位面积上的垂直力叫做压强。

公式:

$$p = F/A$$

式中 p ——压强;

F ——法向力(垂直力);

A ——面积。

大气压:相当于 760 毫米汞柱所产生的压强,为一个标准大气压。以 0.1 MPa 表示。

绝对压强:表压与大气压之和为绝对压强。

$$p_{\text{绝}} = H + p_{\text{表}}$$

它常用于工程的设计和计算。

死角:在消毒灭菌过程中蒸汽高温所达不到或消不透的部位称死角,主要指设备结构上的死角和人在操作中构成的死角两大类。

物料流速:当物体在管路里流动时,在单位时间内从某一截面流过的距离,称为物料流速。

物料流量:当物体在管路里流动时,在单位时间内从某一截面流过的体积,称为物料流量。

介质过滤:利用填充介质的密度拦截或捕集空气中微小尘埃及微生物的一种方法。

绝对过滤:过滤介质的空隙小于被滤除微生物或颗粒的直径,流体经过过滤介质时微生物或颗粒被滤除,称为绝对过滤。

相对湿度:在一定温度下,空气中水蒸气的绝对湿度与同一温度时水的饱和蒸气压之比,叫做空气的相对湿度。通常相对湿度用百分数表示,若用 p 表示空气的绝对湿度,用 $p_{\text{饱和}}$ 表示同温度下水的饱和蒸气压, φ 表示相对湿度,则:

$$\varphi = p/p_{\text{饱和}} \times 100\%$$

绝对湿度:在大气中有一部分是水蒸气的压强,大气中水蒸气的分压就叫做

空气的绝对湿度。

露点:降低空气的温度,可使空气中的水蒸气接近饱和。空气中水蒸气达到饱和时的温度叫做露点。

介质的虚重量:即为填装介质的装量,可称填装重量。

介质的实重量:即为填装介质的相对密度。

介质填装系数:空气过滤器介质填装系数=填装虚重量/介质的实重量。

过滤效率:被捕集的尘埃颗粒数与空气中原有的颗粒数之比。

实罐消毒灭菌三要素:

- (1) 需灭菌的设备、阀门及管路无泄漏,无堵塞,无死角。
- (2) 发酵罐冷却部位的冷水彻底汽化排除。
- (3) 进发酵罐的蒸汽要分主、次。

连续消毒灭菌三要素:

- (1) 连消系统管路及阀门无泄漏,无堵塞,无死角。
- (2) 严格控制打料流速,尤其是开泵后 5 min 内的流速。
- (3) 注意冷水开启时间,防止倒抽。

以上与消毒灭菌相关的名词是从事发酵工艺及消毒灭菌操作的有关人员必须掌握的基础知识,应当牢记。

1.2 灭菌方法的选择

发酵过程的消毒灭菌,是要凝固微生物细胞内的蛋白质,钝化其酶系统,造成细胞及其微生物的死亡,而达到有目的地培养单一微生物的良好条件。换句话说讲,发酵过程的消毒灭菌,既是发酵工艺的首要选择,又是发酵消毒工的最基本工作职责。

消毒灭菌属于工艺操作的科学范畴,它既有基础理论知识,又包含着丰富的实践经验,两者的有机结合是使这一专业知识升华、提高的根本。常用的消毒灭菌方法有两大类,一类是化学灭菌法,另一类是物理灭菌法。关于这两大类方法阐述如下。

1.2.1 化学灭菌法

化学灭菌法,是使用化学药剂进行杀菌的一种方法。凡是可以杀死致病和

其他有害的微生物的化学药品,均称为化学消毒剂。

在使用化学制剂杀菌的时候,必须充分考虑以下三个要素。

(1) 药剂的浓度。适当的药剂浓度可以杀菌,低浓度的药剂是抑菌剂,高浓度的药剂则能凝固细胞膜表层,或其周围的蛋白质,从而影响渗入微生物体内的能力,达不到灭菌的目的。

(2) 处理时间的长短。一般药剂作用时间越长,杀菌效果越好。但在停止药剂消毒,开始无菌操作后,则受到时间的限制。工作时间越长,带入杂菌的可能性也就越多。

(3) 细菌的敏感性。不同的微生物对各种消毒剂有不同的敏感性,这主要与微生物的细胞结构有关。

在发酵工业生产中,常用的化学消毒剂有以下几种:

石炭酸。2%~5%的溶液是常用的消毒剂,用于器械和环境的喷雾消毒。来苏尔比石炭酸对皮肤的刺激性小,2%的溶液用于皮肤消毒。

乙醇。乙醇的杀菌力和浓度有关,常用70%的乙醇作为皮肤消毒用。浓度过高,会使菌体表面形成一层膜,影响乙醇进入细胞体内,达不到灭菌的效果。

甲醛(福尔马林)。主要是气体杀菌。在发酵生产中常用于染菌罐的发酵厂房内部环境的定期消毒灭菌上。一般每立方米空间可用10 mL 甲醛。因为甲醛有强烈的刺激气味,同时又有凝固蛋白质的作用,所以使用时要特别注意安全,尤其防止甲醛溅入眼睛。

新洁尔灭。只有在稀释浓度小的时候才有杀菌作用。一般5%原液使用时稀释为0.25%的水溶液,在发酵生产中常用于无菌室的喷雾消毒和皮肤、器械的表面消毒。

漂白粉。10 mL 漂白粉加水100 mL 配制成的10%溶液,常用于环境及发酵车间内的下水道、地沟等污染源地段的消毒。

由于化学药剂在使用上受到三要素的约束,所以化学灭菌法就直接涉及灭菌的区域性和灭菌的彻底性,并且化学药剂价格较昂贵,因此化学药剂灭菌法在发酵的工业生产中,只能用于无菌室或实验室的净化消毒灭菌,或用于发酵车间的环境消毒灭菌,而不能应用于发酵工业生产的设备和物料的消毒灭菌。

1.2.2 物理灭菌法

物理因素指的是辐射、干燥、过滤、温度等方面。用这些方法进行消毒灭菌

就是物理灭菌法。

辐射 能量的空间传递称为辐射。与微生物学有关的射线是可见光、紫外线、X射线、 γ 射线。利用辐射杀菌的原理是：大多数微生物除光合细菌外，均不需要光线，它们在黑暗中生长良好。太阳光直射能杀死许多细菌，紫外线有较强的杀菌作用。紫外线的波长范围是150~390 nm，其中波长为260 nm左右的紫外线杀菌作用最强。由于紫外线的穿透力差，容易被固形物吸收，不能透过普通的玻璃，并且对深层、内部的微生物灭菌效果很差，因此紫外线一般用于无菌室的环境空间及表面的消毒，它是一种简单易行的灭菌方法。

干燥 微生物正常生活需要水分，细胞失水将降低代谢活动，同时细胞内盐分浓度增高或蛋白质变性，从而导致生命活动的降低和死亡。微生物在干燥条件下，代谢处于抑制状态而并未死亡。一般干燥方法普遍应用于食品的保存。

过滤 在发酵生产中使用过滤的方法只能吸附、拦截细菌，不能灭菌。如空气过滤器中的颗粒活性炭和超细纤维纸以及高效膜滤芯等过滤介质，只能起到吸附、拦截细菌的作用。在这些过滤介质中，当尘埃和微生物积累达到饱和的时候，必须使用蒸汽对过滤介质进行定期消毒灭菌，以达到吸附、拦截不失效果的目的。

温度 温度对微生物的生长代谢影响极大。适当的温度能促进微生物代谢及生长，而低温起到抑制微生物生长的作用，高温起到杀菌的作用。在高温杀菌过程中分为两种方法，即干热灭菌法和湿热灭菌法。

干热灭菌法 它是利用火焰和热空气进行灭菌的一种方法。直接可以在火焰上烧灼灭菌的有金属接种针、钩，试管口，三角瓶口等。在发酵生产中，种子罐的接种普遍采用火焰保护开口式接种法。不能直接利用火焰进行烧灼的有棉塞和玻璃器皿，这些可以放入烤箱，利用热空气进行杀菌。干热灭菌法简单有效，但局限性很大，所以不能用于发酵生产的消毒灭菌。

湿热灭菌法 它是根据灭菌物品的性质不同，选择不同温度的湿热蒸汽进行灭菌的一种方法。湿热灭菌的原理是，通过蒸汽加热，温度上升到微生物致死范围，菌体蛋白质和酶类变性、凝固而死亡。

在同一温度下，湿热比干热灭菌效果好。这是因为在湿热条件下，菌体吸收水分，蛋白质容易在高温下凝固。凝固蛋白质所需要的温度与蛋白质的含水量有关，如表1-1所示。

表 1-1 蛋白质含水量和凝固温度关系

蛋白质含水量/%	30 min 内凝固温度/℃
50	56
25	74~80
18	80~90
6	145
0	160~170

由表 1-1 可以看出,蛋白质含水分越多越不耐热;在同一温度下,湿热灭菌使菌丝及蛋白质易于凝固。

同时,湿热蒸汽的穿透力要比干热蒸汽的穿透力强得多,如表 1-2 所示。

表 1-2 干热与湿热的穿透力比较

	温度 /℃	时间 /h	透过布层温度/℃		
			20 层	40 层	100 层
干热	130~140	4	85	72	70 以下
湿热	105.3	3	101	101	101.5

由表 1-2 可以看出,湿热要比干热的穿透力强得多,主要表现在温度上几乎不因层次的多少而受到影响。

同时,湿热蒸汽制取简便,获得量大,成本低廉。

总而言之,我们可以得出这样的结论,湿热蒸汽有较强的穿透力,能够杀死各种细菌包括耐热的芽孢杆菌,而且来源经济、方便,所以在发酵生产的设备、物料消毒灭菌操作中被广泛地采用。

1.3 消毒灭菌工艺控制点选择的依据

发酵生产过程中的消毒灭菌工艺控制点,指的是发酵设备、物料及相关的消毒灭菌的温度、压力、时间的控制,以及与此相关的特定操作方法的选择。作为一名消毒工要清楚地知道,消毒灭菌工艺控制点的产生,是全面考虑了发酵过程的各方面因素和长期实践经验的积累而作出的规定。那么,消毒灭菌工艺控制点是怎样选择的,依据是什么呢?首先应该关注以下几个问题:被消毒灭菌物料的性质,消毒灭菌的设备及特殊点,消毒灭菌物料的体积,细菌的致死温度和致

死时间,总蒸汽的质量和压力以及消毒灭菌后营养成分的破坏。

下面就以上六个问题逐一进行阐述。

1.3.1 被消毒灭菌物料的性质

微生物发酵是通过菌种在消毒灭菌后的培养基中生长代谢的一个过程,不同菌种的发酵有着不同的培养基原材料成分的内容。综合培养基的成分不外乎碳源(C)物质、氮源(N)物质、无机盐类、前体以及微量元素。因此,不同的培养基原材料,就应当使用不同的灭菌方法。

培养基中的蛋白质含量越高,微生物被杀死的速度越慢。因为,蛋白质在加热时,凝固在菌体外面形成一层膜,增强了菌体对外界不良环境及条件的抵御力。所以,在发酵培养基消毒灭菌中,凡含氮量较高的物质,如玉米浆、麸质粉、麸质水、花生饼粉、黄豆饼粉、蛋白胨等原材料,均要特别注意控制消毒的温度、时间、压力。

在培养基基础料和中间补料液消毒过程中,往往会遇到两种情况,一种是易于消透的物料,另一种是难于消透的物料。比如,发酵工艺上为了获得较好的发酵效果,往往在培养基配比和配方上采用高糖、高氮、高浓度的丰富培养基。这种丰富培养基在消毒灭菌过程中,不可以采用高温、高压、长时间,否则营养成分会受到极大的破坏。但是,如果按照相对纯净的物料进行灭菌,丰富培养基中的大量细菌是不会彻底杀灭的。丰富培养基中的玉米浆、麸质粉等物料本身就含有大量的蛋白质并且寄生大量的杂菌,尤其是芽孢杆菌。所以,在消毒灭菌这类物料的时候,一方面要照顾到营养成分的最少破坏,另一方面还要充分考虑细菌的致死温度及致死时间,以此制定消毒灭菌的温度、时间和压力,从而取得无菌的效果。以实罐消毒为例,以上这样的物料,加热升温 40 min,控制 125 °C, 0.12 MPa 压力,保温 30 min 就可以了。

消毒灭菌易于挥发的物料,如尿素、硫酸铵等,这些物料本身相对比较纯净,物料本身含杂菌相对较少;同时,高温灭菌又会破坏以上物料本身的成分。所以,当消毒以上物料时,应以较低温度、压力和较短时间为宜。仅以实罐消毒为例,就可以控制加热升温 20 min, 105 °C ~ 110 °C, 0.05 MPa 压力,保温 10 min 就足够了。

对于一般葡萄糖、淀粉、花生饼粉、无机盐类的培养基,一般配制后浓度比较小,物料本身相对较为纯净,因此被视为易于消透的物料。消毒这种物料时,以

实罐消毒为例,只要加热升温 40 min,控制 120 °C,0.10~0.12 MPa 压力,保温 20 min 就可以了。

再比如,对空气过滤设备进行消毒灭菌,空气过滤器中的基本介质以活性炭、棉花、玻璃棉或者超细纤维纸为主,这些介质本身具有吸附、拦截尘埃和微生物的作用,当容尘量达到饱和数量时,容易产生拦截失效。所以,定期对过滤设备进行消毒,是非常必要的,而且空气过滤器长时间处于无菌空气的压力之下,对空气过滤器的消毒一般控制在 0.12 MPa,120 °C,30 min。

对高效膜过滤器的消毒,更应当慎重选择灭菌控制点。因为,高效膜的材质大部分采用聚四氟乙烯(PTFE)制造,这些材质本身遇热后易变形。所以,在对高效膜过滤器消毒时,采用 0.10 MPa,115 °C,30 min 就可以了。

综上所述,不同性质的原材料,不同的培养基及介质内容,应当选择不同的消毒灭菌控制点,千万不可生搬硬套一个模式、一个方法,同时一定要避免盲目地使用高温、高压、长时间消毒灭菌的方法。

1.3.2 消毒灭菌的设备及特殊点

消毒灭菌的设备,在这里泛指发酵的设备及一切管路。特殊点指的是设备结构上不容易消透或容易产生死角的地方,另外还包括设备的严密度和设备的维修。

消毒灭菌前要充分考虑发酵设备的具体结构。比如,发酵罐容积的大小,罐体内的不同结构,发酵罐各种管路的接管形式,罐内的管路连接,各管路的蒸汽连接及蒸汽量的保证,都是制定消毒灭菌工艺点应当充分考虑的部位。

更应当强调指出的是,发酵罐的夹层和蛇形管内的积水是否彻底排除干净,是制定消毒灭菌开始加热时间的关键所在。许多工厂,为了增加产量,使发酵罐容积增大,随之罐内冷却面积也增加,由此带来了冷却设备内的大量积水无法排除干净的问题。在制定消毒灭菌工艺控制点时要考虑这一点,在设备改造方面也要充分注意这一点。

同样,连续消毒系统设备以及物料连消,一定要充分考虑设备内易于结垢形成的死角,即要充分考虑连消设备的形式。比如,连消塔及维持罐在连续高温状态下易于构成焦化物质,它同时又构成染菌的威胁。另外,连消塔及维持罐设备的结构形式、径高比例、管径及接管方式都同时存在着染菌的威胁。因此,适当地控制连消时的物料流量和物料温度,是在制定消毒灭菌工艺点上着重考虑的。