

抗菌素发酵染菌的防止

沈 义 童 村 編

化学工业出版社

92

~~67.383~~

Q939.02

3766

~~048/62~~

抗菌素发酵染菌的防止

(实况介绍、原因分析及解决方法)

沈 义 童 村 编

化学工业出版社

本书作者积累历年从事抗菌素生产經驗，根据上海制药三厂六年来抗菌素发酵染菌记录以及收集近百余批染菌原因編写而成。內容共分八篇六章，每章又包括若干节。

书中主要内容列举造成发酵染菌的原因与死角(设备、操作、管理等方面的)，并作了詳細分析，同时将有效解决染菌的方法也作了詳細介紹。此外，并附有图表說明，使讀者更能了解当时情况，可判別所找的原因与处理方法是是否正确。本书可供抗菌素研究人員与抗菌素厂的技术人員等参考。

本书由华东化工学院抗菌素教研室馬譽激教授审閱。

抗菌素发酵染菌的防止

(实况介紹、原因分析及解决方法)

沈 义 童 村 編

化学工业出版社出版 北京安定門外和平北路

北京市书刊出版业营业許可証出字第092号

化学工业出版社印刷厂印刷 新华书店发行

开本：850×1168毫米 $1/32$ 1959年12月第1版

印张：4 $\frac{26}{32}$ 1969年4月第1版第2次印刷

字数：113千字 印数：2301—4600

定价：(10)0.76元 书号：15063·0573

目 录

第一篇 緒論	5
第二篇 消毒操作介紹	8
(一) 实罐消毒	8
(二) 空罐消毒	8
(三) 空气过滤器消毒	8
(四) 泡沫油罐和苯醋酸罐的消毒	8
(五) 接种管路消毒	9
第三篇 染菌的主要原因	12
第一章 死角	12
第一节 搅拌轴承支架的死角	12
第二节 法兰盘的死角	13
(一) 焊接口的死角	13
(二) 垫层的死角	14
第三节 排气口安装挡板引起的染菌	16
第四节 渣滓的堆积	16
(一) 罐底蛇形管造成的堆积	17
(二) 渣滓层在消毒罐形成障碍	18
第五节 接种和接种管路	19
第六节 接种管路的染菌和改进	22
第七节 空气分布管	23
(一) 分布管气孔过小与染菌	24
(二) 培养液的发臭	25
(三) 培养液的倒回	26
(四) 开口式分布管的效果	27
(五) 分布管因固体培养基堵塞而致染菌	29
第八节 铁制种子罐用不锈钢衬里造成死角	36
第二章 罐体和管件引起染菌	38
第一节 罐体的渗漏	38
(一) 蛇形管的穿孔	38
(二) 罐体的穿孔	39
(三) 试漏經驗	39

第二节	管件的滲漏	40
(一)	旋塞的滲漏	40
(二)	閥的滲漏	41
1.	閥心軋坏	41
2.	閥填料的滲漏	42
3.	蒸汽的磨損	42
(三)	閥球心改进	43
1.	閥的装置	43
2.	装双重閥	43
(四)	橡胶隔膜閥的試制和应用	44
(五)	閥滲漏的染菌	45
(六)	連接口的滲漏	47
(七)	填料盒的損漏	48
1.	填料損漏的原因	49
2.	填料盒的改进	50
3.	填料与染菌的关系	51
(八)	排汽与下水	51
1.	压力表管路的危害	51
2.	废气互窜	53
3.	废气逆流	54
4.	下水的水封	59
第三章	蒸汽压力与消毒	61
第一节	温度与染菌	61
第二节	管路的改进和試驗	63
(一)	5000升罐改进管路試驗	64
(二)	5000升罐的試驗	64
(三)	5000升罐蒸汽管路改进的效果	66
(四)	160升罐的試驗 (27号罐)	68
(五)	1600升罐的試驗	69
(六)	10000升罐的試驗	70
(七)	蒸汽总管压力差試驗	75
(八)	試驗的結論	76
第三节	怎样观察准确的压力差	83
第四节	出料管的缺点	84

第五节	冲视镜管路的带入杂菌	86
第四章	空气过滤器	88
第一节	空气过滤器棉花的焚化和活性炭的灰化	88
第二节	10000 升罐空气过滤器棉花的翻身和上下串动	90
第三节	棉花的填充和质量问题	91
第四节	过滤器夹层蒸汽阱的堵塞	93
第五节	冷凝水的带入过滤器	94
第六节	介质干燥与效力	95
第七节	空气总过滤器	96
第八节	填充物质的改进	96
第五章	空罐不消毒	99
第一节	两罐同时放罐的染菌	103
第二节	竖装管路的倒回	104
第三节	放罐后压力的急速降落	105
第四节	“刹车”作用造成出料管线的逆流	107
第六章	操作和管理	109
第一节	操作的改进	110
(一)	蒸汽使用上的改进(改进蒸汽使用的演变和效果)	110
(二)	压力差的观察和记录	111
(三)	压力温度和阀的规定(正确压力差的保证)	111
(四)	从沸腾现象观察进汽情况	111
(五)	观察安全阀之放汽	111
(六)	排汽操作的改进	112
(七)	蒸汽阱(trap) 失灵的发觉	112
(八)	放冷凝水	113
(九)	管件渗漏	113
(十)	发现阀渗漏	113
(十一)	趁热接种	114
(十二)	倒压	114
(十三)	空气过滤器的填充	114
(十四)	防止泡沫油或苯醋酸倒回	114
(十五)	开启压力表上放气旋塞	114
(十六)	清洗堆积物质	115
(十七)	接种管路消毒操作的改进	115

第二节	操作引起的染菌	116
(一)	罐的負压	116
(二)	罐压的控制	117
1.	培养液倒向空气过滤器	117
2.	豆油倒回入空气过滤器	119
(三)	污水逆流	119
(四)	填料染菌	121
(五)	配料染菌	122
1.	56号罐的染菌	122
2.	54号罐的染菌	124
3.	直接投料配料	125
4.	热水配料	126
5.	淀粉的配料	126
第三节	发酵罐染霉菌	127
第四节	管理方面	130
(一)	检修制度的制訂	130
(二)	消毒工的培养	130
(三)	組織工人技术学习	131
(四)	崗位操作法的修訂	131
(五)	监消制度	132
(六)	奖惩制度	132
(七)	清洁卫生制	132
第四篇	廣譜抗菌素发酵染菌情况	133
第五篇	染菌率的后顧与前瞻	136
第六篇	存在的問題	141
第七篇	討論	146
第八篇	結論	151

第一篇 緒 論

抗菌素生产的致命伤，就是发酵过程染菌，尤其是青霉素发酵染菌后，杂菌能产生一种酶，专能很快并完全地破坏青霉素，因此这个问题一日不得解决，生产总是受到威胁。抗菌素发酵是一个新型工业，仅有十余年历史，有关制造资料不多，偶有发表，对于染菌情况与解决方法，在我们所能看到文献中更属罕见。在任何国家发展抗菌素工业的历史上，都难免有染菌发生，不过它们有工业基础，在制造发酵设备时考虑较为周密，在操作上能善于掌握，同时又能运用生物工程的技术发现染菌的原因，故发酵罐偶然染了菌，很快地就能得到解决。

我国生产青霉素已有六年历史，虽在生产上不断有所改进，其发展速度也很快，但从防止染菌方面来看，就显得力量薄弱，例如800升发酵罐染菌问题尚未获得解决，却又遭到5000升发酵罐染菌。由于设备上改进与操作渐臻熟练，这两型罐就少有染菌，但在这个阶段中，160升种籽罐仍偶有染菌。由于党和上级领导的督促与鼓励，群众具有坚决消灭染菌的毅力与发酵罐是可以不染杂菌的信念，因此经过几年的努力，终于使厂中所有发酵罐染菌得以基本防止。现在把这六年的染菌情况与解决方法，凭记忆与根据记录作出总结。其中经验教训，在管理人员来看，对发酵染菌的原因可有一个系统概念；对操作人员来讲，可以使他们了解，在消毒过程中那些地方是绝对不可以疏忽的，并如何使修缮保养工作配合得更好，争取做到安全生产；在消毒干部培训方面，可以作为培训教材，使他们在未参加实际工作前，已有充分准备，即对今后设计、制造与安装更大型抗菌素发酵设备，亦可作为参考资料。

回忆六年前的情况，掌握机械者无细菌常识，而通晓微生物的又不熟悉机械，经过双方共同研究，才确定管路安装与消毒方法。但未想到发酵罐结构与管路，甚至也未想到连棉子粉与花生粉也会造出这么多次数的染菌。最初罐小管路简单，到5000升与10000升发酵罐投入生产时，就感觉复杂了。我们也曾想到一些染菌的可能，例

如管路严密程度，死角問題，孢子无菌接触技术，接种管路的特殊閥門，罐身与冷却管的滲漏以及空气过滤器填充物的干燥等。我們以为，这几項原則性的問題若是注意到了，染菌是可以避免的。同时我們又依靠了自动仪表，记录消毒温度与時間，認為更可以保証彻底消毒。熟知消毒温度并不是彻底消毒的指示針，部份消毒不彻底的地方是会存在的，能否造成染菌就全凭当时消毒情况而定，如蒸汽进量如何，死角情况如何，抗热杂菌的多寡等。所以在最初的一段染菌就找不出原因，每逢染菌不是指向空气，就是認為接种有問題。以后摸出些經驗来，就認為，这两方面問題不大，可能还是操作有問題。在前几年，每有染菌，我們提不出很多意見，所以也不能作到全面地彻底的来消灭染菌。

发酵罐染了菌找原因是困难的，但一經查出，解决方法是比較容易而且迅速的。有些罐染菌未能查出原因，也不曾采取任何措施，但繼續生产就不再发生，这很可能是由于操作不慎而造成的。有时一个发酵罐連染了几次菌，或几个罐都染了菌，經過检查发现了缺陷立刻修理，以后就不再染菌了。有时在一个罐及其附属设备发现几处漏隙，这些漏隙同时改正后，染菌即不再发生，因之就不易肯定那个漏隙是主要毛病。因为染菌造成損失很大，生产上不容許边改边試的办法，所以就在小型发酵罐作些試驗，有些結果是可以用来解释当时发酵罐染菌的原因。

我們搜集了近百余批染菌原因，把它們归納为八篇六章，每章又包括若干节。本书主要内容是列举设备上与操作上的缺点，用实例来表达并尽可能用图解來說明，使讀者能了解当时情况，可以判別我們所找出的原因与处理方法是否正确。

个别罐染菌不易找原因，也难肯定措施效果。当一个罐連續染了菌，或几个罐繼續染菌，观察现象，分析检查結果，归納可能因素，就能肯定染菌原因并确定措施效果。过去有过六个严重染菌阶段，第一次是在5000升发酵罐試車两个月以后；第二次是在5000升发酵罐投入生产的初期；第三次是在5000升发酵罐使用到第七个月的时候；第四次是在10000升发酵罐投入生产初期；第五次是在1955年大检修后160升种籽罐染菌更趋严重；第六次可以說是末一次，

在1956年春。上述各次染菌的原因，如何被发现与怎样解决，本文都作詳細叙述。

我們使用160—10000升发酵罐時間較久，經驗也較多，所以分析就限于这几种罐型上。

金霉素虽投入生产不久，但染菌的經驗教訓是值得介紹的，但由于它的制菌范围較广，人們認為它能消灭由外界侵入的杂菌，其实不然。我們虽有防止青霉素发酵染菌的基础，但开始时仍不能避免染菌，染菌在金霉素发酵中还是經常遇到的。

现将六年来染菌情况作詳細介紹，并将原因作一分析，同时将有效的解决方法亦介紹給讀者，以資参考。

第二篇 消毒操作介紹

(一) **实罐消毒** 发酵罐或消毒罐配料就绪以后，先以活蒸汽通入罐之蛇形管或夹层加热，如图 1 所示。俟培养基之温度升高到 90°C 以上时，各进汽口如放样、罐底、分布管等相继冲入活蒸汽，使温度即速升高。将近到达 120°C 时，开启所有放汽口，如接种、消沫油罐和苯醋酸罐、压力表等阀放汽，进行各放汽口消毒，并开启排气阀，调节罐压力到 $0.984-1.125$ 公斤/厘米²●，使罐温保持 120°C ，维持半小时。以后顺序关闭各放汽口，隔断各蒸汽进口，停止蒸汽冲入罐里，并自过滤器引入无菌空气，使发酵罐保持一定压力，再通冷却水进行冷却，将温度降至 25°C 为止。

(二) **空罐消毒** 空罐消毒，蛇形管或夹层则不通蒸汽，各进汽口直接通入蒸汽，各放汽口放汽，维持温度 120°C 15—30 分钟，然后先通入无菌空气保持罐压，逐渐通入冷却水冷却，防止罐压的急骤降落所可能引起的抽吸。

(三) **空气过滤器消毒** 空气过滤器的消毒为一小时，消毒时保持压力在 1.758 公斤/厘米² 以上，消毒的方法是空气过滤器夹层先通入蒸汽，当夹层压力达到 $1.758-2.109$ 公斤/厘米² 时，过滤器用直接活蒸汽先由下端向上冲半小时，然后改由上往下冲半小时。消毒时上下放汽口均同时放汽，以达到过滤器填充介质灭菌之目的。消毒完毕以后，过滤器夹层仍须保持 $0.352-0.703$ 公斤/厘米² 左右的压力进行烘烤 5—10 分钟，以使棉花干燥，增加滤菌效率。冲入过滤器之活蒸汽则改向冲入分布管。实罐消毒时，空气过滤器的消毒一般应在发酵罐预热若干时间以后，才可以进行。空气过滤器消毒完毕时，培养液温度应该在 $90-100^{\circ}\text{C}$ 左右，这样使冲入空气过滤器的活蒸汽在它消毒完毕时，即可改向冲入罐里，不致间断。空罐消毒，空气过滤器则先行消毒。

(四) **消沫油罐和苯醋酸罐的消毒** 消沫油罐和苯醋酸罐的加热是在发酵罐消毒前几分钟先开始，在发酵罐消毒进行中，它的夹

● 本文所引用的压力是从英制磅/吋²折算，小数点后第三位可以不計。

层压力一直保持在1.758—2.109公斤/厘米²左右,罐压约在1.406公斤/厘米²左右,俟发酵罐消毒完毕以后,再用直接活蒸汽消毒,各放汽口同样进行放汽消毒一小时。消沫油罐的消毒,前后总共约三小时以上,因为油传热慢,且无搅拌,长时间消毒是必需的。

(五) 接种管路消毒 接种管路消毒为一小时,操作的开始则根据培养液冷却的速度而定:5000升伍式●发酵罐在培养液冷却到

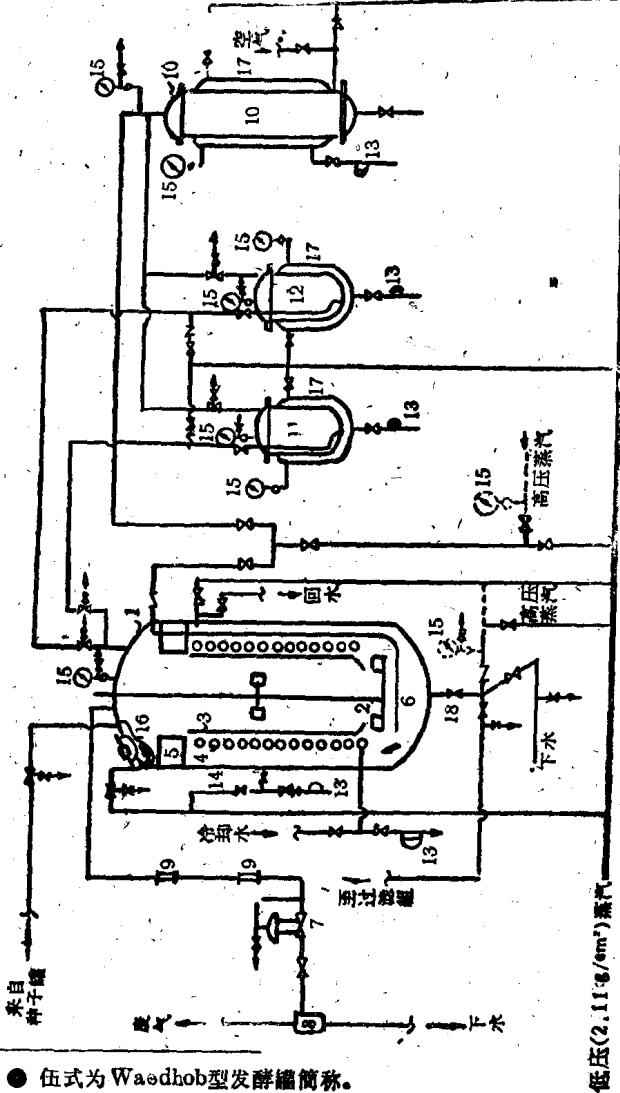


图 1 罐底出料伍式发酵罐(5000升)及其管路

- 1—罐体; 2—涡轮式搅拌器; 3—拉力筒; 4—蛇形管; 5—挡板; 6—空气分布管;
- 7—排气阀; 8—气水分离器; 9—玻璃管; 10—空气过滤器; 11—油罐; 12—酸罐;
- 13—蒸汽穿; 14—取样管; 15—压力表; 16—冲酸罐; 17—夹层; 18—出料管

注: 罐底出料标准式种子罐其管路之连接与图1同。

● 伍式为 Waadhob 型发酵罐简称。

低压(2.11g/cm²)蒸汽

70°C左右时开始消毒。它的操作亦很简单，从繁殖罐罐底的接种管路一端通以活蒸汽，在发酵罐接种阀的放汽口放汽，消毒一小时，即可保证无菌。

消毒用的蒸汽压力一般均在3.515公斤/厘米²以上，用减压阀调节。

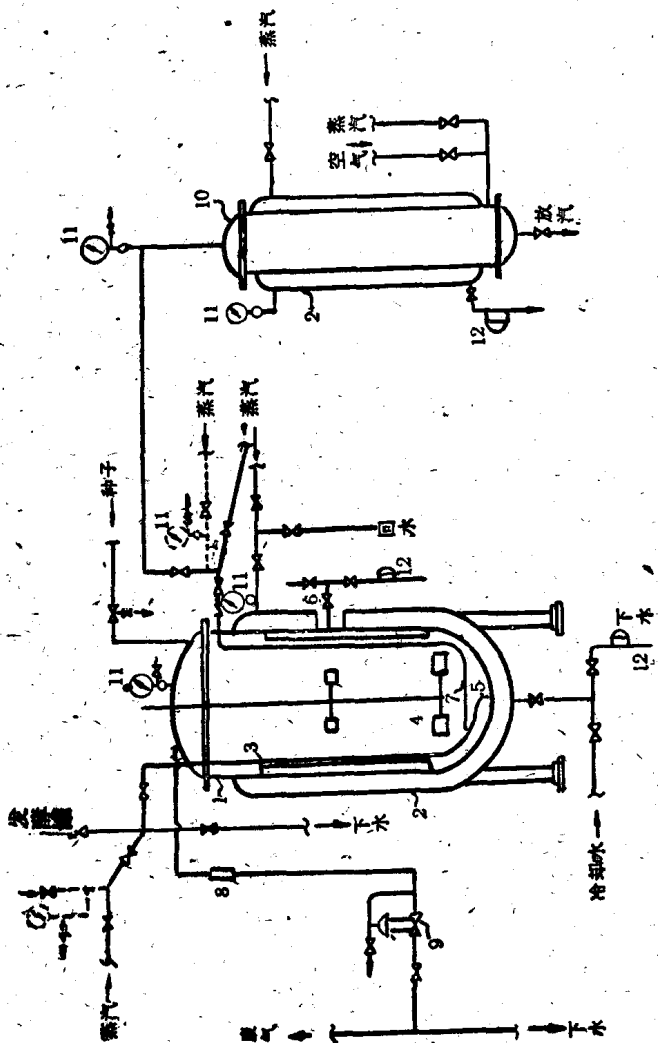


图 2 罐顶出料标准式种子罐(1600升)及其管路

- 1—罐体；2—挡板；4—覆种器；5—出料管；6—取样管；7—空气分布管；8—玻璃管；9—排气阀；10—空气过滤器；11—压力表；12—蒸汽

注：10000升罐顶出料伍式发酵罐，其出料管路之装置与图2同。

图1、2所示虚线管路，为直接连接在“高压”总管路上的管綫，即所謂“高压管路”。借閥的开启大小来調节該管路所需要的压力，与减压閥調节压力有截然不同的地方。虚綫所示的管路即高压蒸汽管路，其压力表为視察蒸汽压力差之用，根据压力差以判別蒸汽冲入罐里的畅通程度。



标准式种子罐的消毒操作，基本上和伍式发酵罐的消毒操作相同。

第三篇 染菌的主要原因

第一章 死 角

罐里或管路有死角，是灭菌工作中最可怕的。死角随时随地皆可造成，所谓死角，是最简单可是又是常常遇到的毛病。然而当人们灭菌经验还不够丰富的时候，死角还是常常滑过我们的眼睛而遗留下来，危害生产。以往几年中，这样的弊病却是很多，最明显的例子如第一节所述搅拌轴承支架的死角。

第一节 搅拌轴承支架的死角

发酵罐的搅拌多为上起式，搅拌轴靠罐顶支架和轴承支持，自罐之顶部垂直地插到罐的底部。为了防止搅拌轴在搅拌时发生摆动，罐底亦同样有一轴承支架，其形状如图3所示。支架用电焊焊接，固定在罐底铁板上A处成“”形，恒为发酵液菌丝或污物所堆积，日久成为硬性不导热固体。消毒时活蒸汽从出料管路箭头方向冲入管里。轴承支架成“”形状，蒸汽只能从1'、1''两面冲出。A的死角部分得不到活蒸汽的直接消毒，只靠罐里液体传导的热量予以消毒。固体物质导热较差，不易达到消毒的目的。再加上罐底部分无夹层或蛇形管的加热设备，罐底散热面积大，灭菌更难达到彻底。因此亦有引起染菌事故。如56号罐在试车过程中，即有因此而染菌的发生。图4所示为改进以后的轴承支架，即在原有的支架死角部分钻了几个大孔，以消除上述的弊病。因为当消毒活蒸汽从出料管口箭头方向冲入罐里时，就不单从1'、1''单向冲出，而是冲向四面八方的，原来所谓死角部分，亦就得到了充分的活蒸汽，即使这些地方，在发酵过程中偶而堆积了菌丝，在消毒时无论如何亦该为强有力的活蒸汽冲刷殆尽。

轴承支架的死角部分，钻孔以后，虽不复存在，但在消毒方法改变时，却仍有造成死角的可能。例如实罐消毒改为空罐消毒，消毒蒸汽由(图3)出料管路箭头的反方向流出，当支架A、A部分堆

积有渣滓时,蒸汽受到堆积物的阻力,由1'、1''箭头的反方向流动,便形成这部分的死角,不利于消毒。如果能事先预测到,解决并不

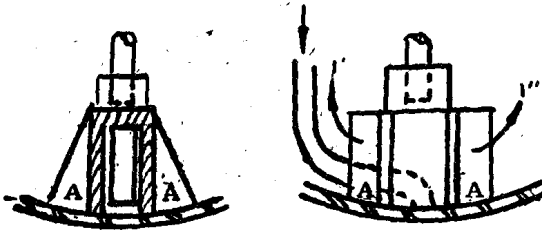


图 3 轴承支架的死角

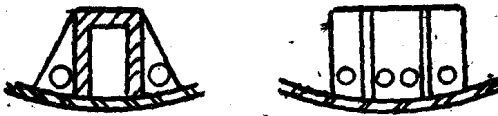


图 4 改进后的轴承支架

难,即空罐消毒时,仍由出料管路箭头方向通入蒸汽,借蒸汽冲力破坏堆积达到彻底消毒。由此可见,一个操作的改变,或采用新的消毒方法,事先慎密的考虑是极其重要的。

第二节 法兰盘的死角

(一) 焊接口的死角 安装工程人员,对于染菌常识是缺乏的。既往或甚至直到10000升发酵罐安装时为止,仍有很多管路上法兰的焊接是不合发酵要求的。很多管路的法兰接口中,发现有焊

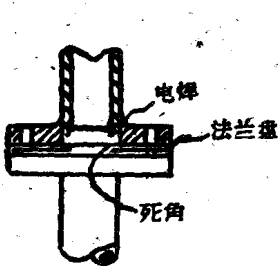


图 5 法兰的死角

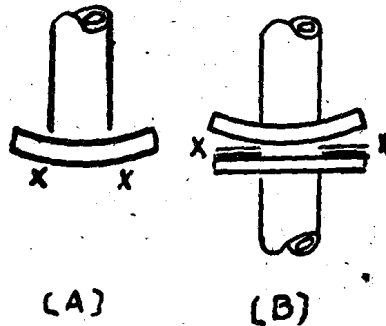


图 6 焊接后变形之法兰

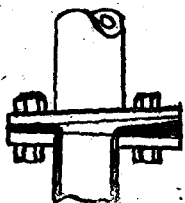


图7 单边上紧螺絲后的法兰

接不妥所造成的法兰接口死角部分。为了基建任务的急于完成，忽视了整个工程的质量，对生产是不利的。法兰焊接不妥所造成的死角就是一个具体的例子。图5所示为法兰的死角部分，在A处会堆积污物不易消毒。

图6(A)所示为一焊接后变形的法兰，连接在管路上成为图6(B)形状。橡皮垫为法兰所压紧的面不多，这样很容易被蒸汽冲漏，是不合规格的。

两法兰盘相迭用螺栓连接时，螺栓必须对角逐渐的拧紧，才能使橡皮垫与法兰均匀而紧紧吻合。图7所示为一单边拧紧螺絲后的法兰情形。橡皮垫的一边与法兰盘紧紧相贴，而另外一边压得不够紧，亦容易被蒸汽冲漏之虑，安装时均应注意。

连接法兰盘，法兰盘平面与橡皮垫必须保持清洁。有污物或油腻粘附其上，应予以刮平和擦洗干净。绝对禁止涂以黄油，或其他润滑油脂等，使橡皮垫损坏。如拆装不慎，或将法兰平面敲毛起凹凸不平之形状，安装时应先用锉刀，锉去凸面，使其平整，而后装上使用，可以保证不漏。从以上细小事例中，可以说明，要消灭染菌，不仅对消毒人员要求具有丰富消毒知识，而且也要求安装人员应该工作细致，只有这样，始可收其成效。

用作法兰垫的材料甚多，最普通的有橡皮、石棉纸（俗称红纸版）两种，前者质软，即使法兰平面稍有凹凸，法兰螺絲拧紧后，亦不易渗漏。石棉纸版质硬，经受热冷却会收缩，不如橡皮为好。惟发酵罐上法兰所用橡皮，需耐高温，受热后不会粘附。橡皮中间不要有纤维物。最理想的是化学合成的橡皮，因其能耐高温。石棉纸板和夹有纤维的橡皮，中间带有很多毛细孔，在真空的状况下，外界的空气，仍有可能由毛细孔流窜过去。

(二) 垫层的死角 橡皮垫，一般均采用整块橡皮，照法兰盘样子用冲头或剪刀剪制而成。安装时要平整服贴，这是一件容易理解的常识。但是由于操作粗枝大叶，将法兰橡皮垫剪制不好，安装不妥，亦能造成染菌事故。800升(104号罐)罐罐底管路的装置如图8