

工艺与设备

用于发酵工程的灭菌技术

麦浩荣

(广东省石油化工设计院, 广东 广州 510130)

摘要:介绍了发酵工程中培养基灭菌及空气灭菌的基本方法和灭菌装置,结合蒸汽喷射连续灭菌装置及板式热交换器灭菌装置的特点,提出了将上述 2 种装置组合的培养基连续灭菌流程;通过采用玻璃纤维过滤器和金属过滤器对空气除菌,除菌率达 99.999%。

关键词:灭菌技术;发酵;培养基;灭菌装置

中图分类号:TQ920.6

文献标识码:A

文章编号:0253-4320(2004)07-0047-03

Germ-killing technology for fermentation engineering

MAI Hao-rong

(Guangdong Petrochemical Engineering Design Institute, Guangzhou 510130, China)

Abstract: The basic methods and equipment of the germ-killing technology of both culture and air in the fermentation engineering were introduced. Based on the characteristics of continuous germ-killing equipment by spraying vapor and panel heat exchanger, a continuous germ-killing flow process of culture was put forward, which combined the two above-mentioned devices. By using fiberglass filter and metal filter to kill the germs in air, the rate of germ-killing reached by 99.999%.

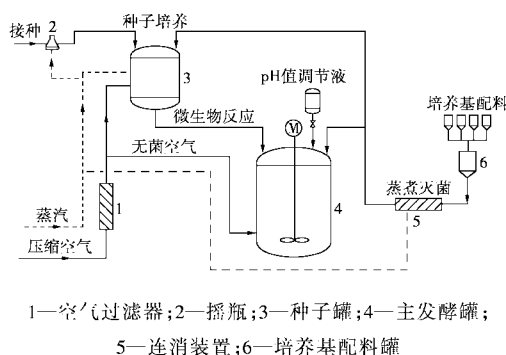
Key words: germ-killing technology; fermentation; culture; germ-killing equipment

笔者参与一项生物工程的设计工作,该工程是把科研成果直接设计转化为工业化大规模生产。所生产的产品为透明质酸聚合物(PHA),是生物可降解塑料产品的添加剂。该生物工程包括配料、发酵、絮凝、压滤、造粒、提取、产品干燥回收、溶剂回收等工序,其中配料与发酵属于生物工程,而絮凝及后面的工序属于化学工程。这里主要介绍发酵工程的灭菌技术。

1 灭菌技术^[1]

生物化学工程是以活细胞或由细胞提取出来的酶为催化剂的反应过程,所以必须进行纯种培养,也就是只允许生产菌存在、生长和繁殖,不允许其他微生物共存。由于生物反应系统中通常含有丰富的营养物质,易受杂菌污染,造成生产能力下降、收率降低、产品质量下降、反应介质的 pH 值改变等,所以整个发酵过程必须强调无菌操作。除了设备应严格按照要求,保证没有死角,没有构成感染的可能因素外,必须对培养基和生产环境进行严格的灭菌和消毒,防止杂菌和噬菌体污染,达到无菌要求。

常用的发酵工艺流程如图 1 所示。



1—空气过滤器;2—摇瓶;3—种子罐;4—主发酵罐;
5—连消装置;6—培养基配料罐

图 1 典型的微生物分批培养工艺流程图

1.1 培养基灭菌

培养基灭菌是指杀灭培养基中具有生活能力的细菌营养体及其孢子,工业规模上的液体培养基灭菌比除去杂菌更为常用,其中热灭菌最为简便、有效和经济。微生物受热被杀死,主要原因是高温能使蛋白质变性。这种反应属于单分子一级反应,死亡速率与残存的微生物数量成正比。

对于液体培养基的热灭菌,工程上所要解决的课题是将培养基中的杂菌总数 N_0 杀灭到可以接受的总数 N ,需要的温度和时间取决于杂菌孢子的热死灭动力学、反应器的形式、操作方法以及培养基中

有效成分受热破坏的可接收范围。

1.1.1 分批灭菌

分批灭菌也称实罐灭菌,全过程包括升温、保温、降温 3 个阶段,这 3 个阶段分别对孢子的杀灭和培养基有效成分的破坏做出不同的贡献。灭菌主要在保温过程实现,但升温的后期和冷却的初期培养基的温度高,因而也有一定的灭菌效果。

分批灭菌的温度随时间的变化($T-t$)过程不是任意给定的,它取决于加热方式、换热面积的大小、传热系数的高低、换热介质的温度、培养基的质量等因素。要尽可能加快换热速度,以缩短升温 and 冷却的时间,延长保温时间,从而确保细菌孢子的杀灭和培养基中有效成分的最大保留。在本设计中,一、二级种子罐灭菌是采用分批灭菌的方式来进行的。

细菌孢子的热灭动力学与营养体细胞的热灭动力学有所不同,细菌孢子壁具有较大的热阻,但霉菌孢子壁的热阻比细菌的小得多,这可能与孢子壁的化学成分及结构有关。当温度超过 120°C 时,热阻极强的嗜热脂肪芽孢杆菌孢子的热死灭动力学也接近一级反应规律。表 1 列出了典型发酵环境中各种微生物对温热灭菌的相对热阻。

表 1 典型发酵环境中各种微生物对温热灭菌的相对热阻

生物体种类	相对热阻
营养体细胞和酵母	1
细菌孢子	3×10^6
霉菌孢子	2~10
病毒与噬菌体	1~5

由表 1 可知,对培养基进行灭菌必须以细菌孢子为杀灭对象。营养体细胞易于受热死亡,表明其热死速率常数 k 值很高,在 120°C 灭菌,其 k 值可大至 $10^{10}(\text{min}^{-1})$ 数量级,而细菌孢子的 k 值在 120°C 时只有 10^0 数量级。

k 值除了取决于菌体的种类及存在形式外,还是温度 T 的函数。由于微生物的热死灭接近于化学反应的一级动力学,因此,热死灭速率常数 k 与灭菌温度 T 的关系可用阿累尼乌斯方程来表示。反应的死亡活化能(ΔE)愈高, $\ln k$ 对 T 的变化率愈大,亦即 T 的变化对 k 的影响愈大。

培养基灭菌既要杀死杂菌的孢子,又要保存其中的有效成分。试验证明,细菌孢子热死灭反应的 ΔE 很高,而有些有效成分热破坏反应的 ΔE 较低,因而提高灭菌温度 T 会加快细菌孢子的死亡速率,从而缩短高温下的灭菌时间,由于其他有效成分的

死亡活化能很低,温度提高只能稍微增大其热破坏程度,但灭菌时间显著缩短,其结果是有效成分的破坏量反而大为减少。

1.1.2 连续灭菌

连续灭菌的加热、保温和冷却 3 个阶段分别在不同的专用设备中进行。由于培养基能在短时间内被加热到保温温度,并能很快被冷却,因此可在比分批灭菌更高的温度下灭菌。灭菌时间缩短,有利于减少营养物质的破坏。连续灭菌所用蒸汽压力一般高于 $5 \times 10^5 \text{ Pa}$ (表压)。

连续灭菌具有 2 种基本的灭菌装置:板式热交换器连续灭菌装置和蒸汽喷射连续灭菌装置,前者用管式或板式换热器把培养基间接加热和冷却,后者则用蒸汽把培养基加热到灭菌温度,经保温后,再进行闪急冷却。这 2 种装置的装置图分别见图 2 和图 3。

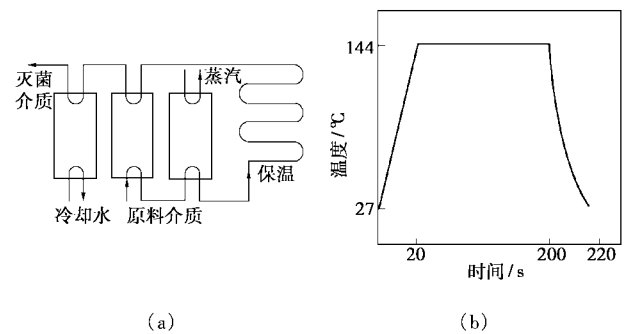


图 2 板式热交换器连续灭菌装置

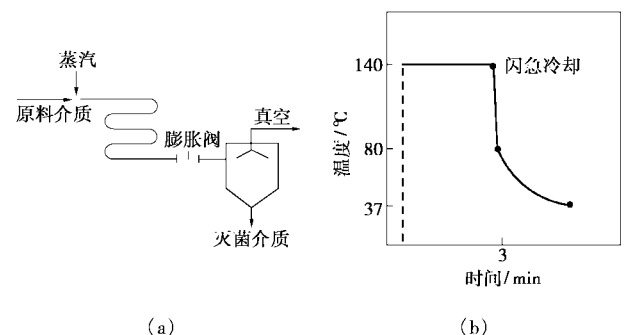


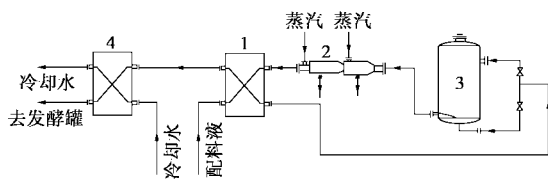
图 3 蒸汽喷射连续灭菌装置

板式热交换器连续灭菌装置的特点是单位体积的热交换器具有较高的传热面积,且可根据生产需要改变其换热面积的大小;蒸汽喷射连续灭菌装置的特点是加热、冷却极为短暂,缺点是培养基会被蒸汽的冷凝水稀释。

在本设计里,培养基的灭菌装置采用以上 2 种方式的组合形式^[2],并加以改进,流程见图 4。

在该流程中,将蒸汽直接通进连消塔,使配料液的温度迅速升高,并维持罐内保温,既缩短了灭菌时

间,也省去了闪急冷却装置。



1,4—板式换热器;2—连消塔;3—维持罐

图4 改进的配料液连续灭菌流程图

1.2 空气除菌^[1]

在发酵过程中,微生物的生长和繁殖需要大量的氧气,这就需要输入大量的空气来提供氧气。空气中的微生物多为细菌、细菌孢子,也有真菌、酵母和病毒,其大小从几微米到几百微米不等,小的微生物附在空气中的灰尘上,灰尘的平均尺寸约为 $0.1\ \mu\text{m}$ 。粗滤器可将粗的微粒除去, $0.5\sim 2.0\ \mu\text{m}$ 的微粒及细菌微生物由空气过滤器除去。

1.2.1 空气除菌方法

(1)加热灭菌。利用空气被压缩时所产生的热来灭菌,为了保证压缩后的空气具有较高的温度,将压缩空气出口管包裹保温层。在单级绝热压缩机(294.2 kPa)运转时,吸进的空气温度为20或27℃时,压缩后出口空气的温度分别上升到150或270℃。这种灭菌方法必须保证有足够的灭菌时间,为了彻底除菌,必须在罐前安装1个空气过滤器。

(2)辐射灭菌。波长226.5~328.7 nm的紫外线对空气中微生物的杀菌效力最强,但设备投资高,在发酵工业中还很少应用。

(3)化学灭菌。使空气在杀菌剂溶液中通过或将杀菌剂溶液喷洒于空气中的微生物上,但必须除去带杀菌剂的水气和雾后才能应用。

(4)静电除尘。静电除尘的特点是能量消耗少,空气的压头损失小,为400~2 000 Pa;对 $1\ \mu\text{m}$ 的尘粒捕集效率可达99%以上,缺点是设备庞大。

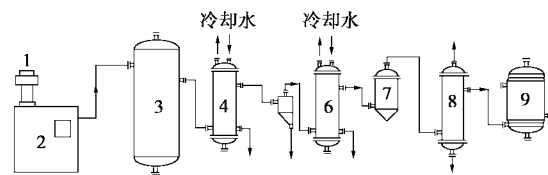
(5)介质过滤。发酵工业制备无菌空气广泛采用纤维过滤器。在本工程设计中,就是采用玻璃纤维过滤器加金属过滤器来制备无菌空气的。

1.2.2 空气除菌流程

比较理想的空气除菌流程应具备以下特点:①高空采风,吸气风管设置在工厂上方高为20~30 m处,减少吸入空气的细菌含量;②在空压机空气入口处安装中效或高效前置过滤器,以减轻总过滤器的负荷;③采用无油润滑压缩机,减少压缩后空气中的油雾污染;④压缩机后部采用冷却型的空气储罐,

可降低空气的温度,同时除去部分润滑油;⑤采用二级冷却二级旋风分离器,使油水分离较完全;⑥采用旋风金属网除雾器,除去空气中的雾滴;⑦用蒸汽加热器将空气加热至约50℃,使空气的相对湿度低于60%,再进入总过滤器,以保证总过滤器保持干燥状态;⑧空气经总过滤器进入分过滤器,再进入发酵罐,空气的除菌程度达到99.999%。

图5是一个典型的除菌流程,在本设计中基本上采用该流程。



1—粗过滤器;2—压缩机;3—储罐;4,6—冷却器;
5—旋风分离器;7—丝网分离器;8—加热器;9—总过滤器

图5 两级冷却、加热除菌流程图

2 阀门的选用

发酵罐物料对输送阀门的要求甚严,既要保证运行时绝对不漏(否则将造成整批物料的染菌),同时又要承受定期蒸汽灭菌高温的影响。为了使管道上死角降低到最低限度,一些厂家为发酵工程设计了专用的抗生素二通道阀门,用于发酵罐的空气、物料、排气和蒸汽管道的开启、切断和调节。该二通阀可根据要求在阀门中开设排气口。在本设计中,对抗生素阀门进行了改动。采用不锈钢隔膜阀,在阀的底部两端各开1个排气阀。这种阀在通蒸汽消毒时可以分别控制阀门两侧管道的消毒。隔膜阀的特点^[4]有:①仅有阀体和隔膜与物流接触,其他部分全部隔离,可用蒸汽对阀门进行彻底灭菌;②具有自身排净能力;③可在线维修;④管径范围大,基本满足生物工程领域的需要。

由于隔膜阀中的隔膜在灭菌过程中要长时间与蒸汽接触,故为隔膜阀的薄弱环节。不过近年来随着隔膜稳定性和使用寿命的提高,隔膜阀已经是生物工程领域中应用最广泛的阀门。

在生物工程领域使用较多的还有球阀和蝶阀。球阀启闭迅速,但由于阀芯无法彻底灭菌,故只能应用在一些洁净度不高的管线上。不锈钢卫生级蝶阀具有结构简单、外形尺寸小、质量轻等优点,但由于

(下转第52页)

解制乙炔,在能量需求上具有特殊优势。

3 燃煤电站实施新工艺的经济性分析

采用模糊综合评价方法对煤在等离子反应器中热解制乙炔工艺的技术经济进行分析,其基本原理如下^[5]:应用德尔菲法,即运用领域专家的知识、智慧、经验、信息和价值观,对初步拟出的评价指标体系进行匿名评议,提出修改意见。先把初步拟出的评价指标体系表、说明及指标重要度咨询表请领域专家发表意见,并按事先规定的指标重要度的级数和量值给出各指标的重要度,将重要度分为 5 级,量值为 1~5,量值越小越重要。

确定综合评价指标体系有 2 个判据:①专家意见集中度,按领域专家给出的重要度和给出此重要度的专家人数加权平均值计算;②专家意见离散度,用标准方差来计算。在指标体系中,各指标对其相关目标的重要程度是不同的,当衡量各指标对其指标相关目标的贡献时,应赋予不同的权值。根据制乙炔工艺的不同技术方案指标体系的特点,采用层次分析法确定指标权重。

设 U 为评价指标集合, $U = \{u_i | i = 1, 2, \dots, m\}$, T 为所选方案集合, $T = \{t_j | j = 1, 2, \dots, n\}$, 采用评价矩阵 R 表示域 U 和域 T 之间的模糊关系:

$$R = \begin{bmatrix} R_1 \\ R_2 \\ \vdots \\ R_n \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} r_{11} & r_{12} & \cdots & r_{1n} \\ r_{21} & r_{22} & \cdots & r_{2n} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ r_{m1} & r_{m2} & \cdots & r_{mn} \end{bmatrix}$$

r_{ij} 表示评价指标 U_i 衡量所选方案 t_j 的最优技术隶属度,各评价指标的权重分配可视为其上的模糊集: $A = \{a_1, a_2, \dots, a_n\} \in F(U)$, a_i 表示第 i 个评价指标 u_i 的权重,它们满足归一化条件,由模糊矩

阵复合运算得到综合评判模型 $B = \{b_1, b_2, \dots, b_n\} = A \cdot R$, 综合评判向量 B 是综合评判结果,选 b_j 最大的方案为最优方案。

根据燃煤电站利用煤在热等离子体条件下生成乙炔的工艺过程,引入以下指标作为综合经济性指标的评价指标:电能消耗指标、物料消耗指标、对发电过程的影响指标、对环境的影响指标、输出物料的再利用指标、技术发展前景指标、产业政策影响指标、劳动就业指标。

选取燃煤电站利用煤在等离子反应器中热解制乙炔方案、独立的煤在等离子反应器中热解制乙炔方案、利用煤→电石→乙炔方案这 3 个方案进行技术经济比较分析,采用某燃煤电站利用煤在等离子反应器中热解制乙炔、独立的煤在等离子反应器中热解制乙炔及现行的电石法制乙炔作为示例得综合评判向量:

$$B = A \cdot R = \{0.846, 0.763, 0.584\}$$

由此可以得出燃煤电站利用煤在等离子反应器中热解制乙炔方案是优良的方案。

随着国家产业政策的逐步落实及煤在等离子反应器中热解制乙炔工艺的工业化,燃煤电站利用煤在等离子反应器中热解制乙炔方案将更具优越性。

参考文献

- [1] 谢克昌,田亚竣,陈宏刚,等.[J].化学学报,2001,52(6):516-521.
- [2] 田原宇,黄伟,鲍卫仁,等.[J].现代化工,2002,22(2):7-10.
- [3] Xie K C, Lu Y K, Tian Y J, et al. [J]. Energy Sources, 2002, 24(12), 1093-1098.
- [4] Chen H G, Xie K C. [J]. Energy Sources, 2002, 24(6), 575-580.
- [5] 汪应洛.系统工程理论、方法与应用[M].北京:高等教育出版社,1992.18-50. ■

(上接第 49 页)

密封材料的原因,最高使用温度一般不超过 100℃。

3 结语

对培养基及有关设备、物料和空气管道各环节的灭菌消毒都参照了比较成熟的工艺,并根据其他一些厂家的实际使用经验做出一些改进。经过多次投料生产,均无染菌现象发生。因此该设计满足发酵过程的无菌要求,做到了纯种发酵,保证了产品的

质量。

参考文献

- [1] 邱生鲁.化学工程师技术全书(上册)[M].北京:化学工业出版社,2003.55-67.
- [2] 于信令.味精工业手册[M].北京:中国轻工业出版社,1995.758-761.
- [3] 汪镇安.化工工艺设计手册(上册)[M].北京:化学工业出版社,2003.2-68.
- [4] 刁晓文.[J].化工设计,2002,12(2):31-33. ■