

发酵行业空气除菌方法及介质

大部分食品发酵都是好氧发酵，需要不断地通过空气以提供微生物繁殖和代谢所需要的氧；以酵母为发酵微生物的酒类等厌氧发酵过程，在酵母繁殖阶段也需要供氧；在发酵罐空罐灭菌或培养基实罐灭菌后的降温保压过程也需要通入压缩空气。所有这些过程所通入的空气都应该是无菌的，否则容易引起杂菌污染，导致发酵失败。

表 3-1 为抗生素工厂发酵染菌的分析和资料统计结果。由表 3-1 可知，由于空气系统带菌而导致的污染占整个污染事件的 19.96%，所以对发酵用空气进行除菌是非常重要的。

表 3-1 抗生素工厂发酵染菌的分析和资料统计

染菌原因	比例/%	染菌原因	比例/%
1. 种子染菌	9.64	8. 接种管道渗透	0.39
2. 接种子罐压跌零	0.19	9. 阀门泄露	1.45
3. 培养基灭菌不彻底	0.79	10. 搅拌轴封泄露	2.09
4. 空气系统带菌	19.96	11. 罐盖泄露	1.54
5. 泡沫升至灌顶	0.48	12. 其他设备泄露	10.15
6. 夹套穿孔	12.36	13. 操作问题	10.15
7. 蛇管穿孔渗透	5.89	14. 原因不明	24.91

注：引自陈国豪《生物工程设备》，2007。

本文将首先介绍空气除菌的方法、机理与过滤介质，然后再介绍与空气过滤除菌相关的设备与过滤除菌流程。

一、发酵对无菌空气的要求：

(一) 空气中的微生物

空气中的微生物主要来自于土壤与水体，数量大致在 $10^3 \sim 10^4$ 个/ m^3 ，数量上的差异受到所在地区、环境、气候条件、季节、人口密度以及人类活动的影响。通常情况下，空气中的微生物数量，寒冷干燥的北方少于潮湿温暖的南方，人口稀少的农村少于人口稠密的城市，冬季少于夏季，高空少于地平面。

空气中由于没有微生物存活所需要的营养，同时又受到阳光中紫外线的直线照射，因此，单独微生物在空气中存活的可能性不大。空气中的微生物大多数是通过依附或黏附在空气中的微细尘埃上或微细水雾的表面而存活的。因此只要能有效地除去空气中的尘埃与水雾，就能得到一定级别的无菌空气。空气中常见的微生物是细菌及其芽孢，还有一定数量的霉菌、酵母和病毒等。

表 3-2 是空气中常见微生物种类及其大小。由表 3-2 可知，除病毒外，微生物粒径大于 $0.5 \mu m$ ，加上其存活于空气之中所依附的尘埃或水雾的粒径就远远大于这个长度。所以一般认为，只要能除滤掉空气中一定数量的 $0.5 \mu m$ 以上的尘埃和水雾，就能得到无菌空气。当然，要除去存在于空气中的病毒，则需更精密除菌方法。

表 3-2 空气中常见微生物种类及其大小

单位： μm

种类	细胞		芽孢	
	宽	长	宽	长
金黄色葡萄球菌	0.51~1.0			
产气杆菌	1.0~1.5	1.0~2.5		
腊样芽孢杆菌	1.3~2.0	8.1~25.8		
普通变形杆菌	0.5~1.0	1.0~3.0		
巨大芽孢杆菌	0.9~2.1	2.0~10.0	0.6~1.2	0.9~1.7
霉状分枝杆菌	0.6~1.6	1.6~13.6	0.8~1.2	0.8~1.8
枯草芽孢杆菌	0.5~1.1	1.6~4.8	0.5~1.0	0.9~1.8
酵母菌	3~5	5~19	2.5~3.0	
病毒	0.0015~0.225	0.0015~0.28		

注：引自白秀峰《发酵工艺学》，2003。

(二) 发酵对无菌空气的要求

1. 对无菌空气洁净程度的要求

由于所用菌种的生产能力、生长速度、发酵周期、分泌物性质以及培养基的营养成分与 pH 等的差异, 发酵对空气的洁净程度有不同的要求。对于菌种繁殖快、发酵周期短的发酵, 即使空气中含有少量杂菌, 它们也很难在短时间形成优势菌群, 对发酵不会带来多大危害, 所以对无菌空气的洁净程度要求较低; 对于培养基起始 pH 值低或发酵过程产酸的发酵, 由于杂菌可以被低 pH 的环境所抑制, 所以对无菌空气的洁净程度要求也较低; 另外, 对于一些碳源特殊(例如纤维素、油脂、甘油)或培养基营养成分较差的情况, 由于绝大部分杂菌难以利用这些成分或因为营养不足, 所以对无菌空气的洁净程度要求不高; 还有, 菌种的代谢产物为杀虫剂或抗生素的发酵, 在发酵后期对无菌空气的洁净程度要求也不高。

2. 无菌空气的性能指标

发酵对无菌空气的压强、流量、温度、湿度以及洁净度都有一定的要求。一般要求空气压缩机出口的空气压强(表压)控制在 0.2~0.35MPa; 空气流量应根据发酵工厂或者发酵车间发酵罐的总体容积来确定; 为了降低空气的相对湿度, 一般控制进发酵罐的压缩空气的温度比发酵湿度高 10~15℃; 由于过滤介质受潮后过滤效果会大大下降, 所以相对湿度一般控制在 60%~70%; 而对于空气的洁净度, 在发酵工业中所谓的“无菌空气”是指通过除菌处理后空气的含菌量降低到零或达到洁净度 100 级的洁净空气, 通常染菌率控制在 10^{-3} , 即 1000 个发酵周期所用的无菌空气只允许 1~2 次染菌。

二、空气除菌方法与机理:

空气除菌就是除去或杀灭空气中的微生物。常用的除菌方法包括化学杀菌、辐射杀菌、加热杀菌、静电吸附除菌与过滤除菌。其中后面四类方法又属于物理杀菌或物理除菌方法。从杀菌机理看, 化学杀菌、辐射杀菌和加热杀菌都是通过使蛋白质和核酸等生物活性物质变性, 从而杀灭空气中的微生物; 而过滤除菌和静电吸附除菌则是通过分离的方法将微生物除去。下面将对这些方法及其作用机理分别进行叙述。

(一) 化学杀菌

化学杀菌是利用化学药剂对微生物的蛋白质和核酸等生理活性物质的变性作用来杀死微生物的方法。本方法多用于固定环境, 例如房间、无菌室、病房、发酵车间内的空气除菌。常用的化学药剂包括甲醛、苯酚和臭氧等。甲醛杀菌是将一定量(一般为 $10\text{mL}/\text{m}^3$)的甲醛加热成甲醛蒸气, 封闭消毒 2h 后, 打开门窗或用换气扇换气, 并用氨气吸收空气中残留的甲醛; 苯酚杀菌是将 2%~5%的苯酚溶液喷雾于密闭空气进行杀菌, 该药剂对皮肤有一定的刺激作用, 因此应注意采取防护措施; 臭氧杀菌通常是采用臭氧发生器发生臭氧, 另外, 在紫外线杀菌过程中也会产生一定量的臭氧。

(二) 辐射杀菌

从理论上讲, 声能、高频阴极射线、X 射线、 γ 射线、紫外线、超声波、 β 射线等都能破坏蛋白质和核酸等的活性而起到杀菌作用, 但是, 紫外线是应用最为广泛的空气消毒与杀菌射线。当波长在 253.7~265nm 时杀菌能力最强, 杀菌能力与紫外线的强度成正比, 与距离的平方成反比。紫外线通常用于无菌室和医药手术室等空气对流不大的环境中的消毒与杀菌, 但是一般杀菌效率低, 杀菌时间长, 所以常需结合甲醛或苯酚杀菌法, 以保证空气洁净程度。

(三) 加热杀菌

加热杀菌是一种有效、可靠的杀菌办法。例如, 细菌芽胞虽然耐热能力很强, 但是悬浮在空气中时, 218℃保温 24s 就可以被杀死。但是如果采用蒸汽或电来加热大量的空气, 以达到杀菌目的, 则需要消耗大量的能源和增设许多换热设备。这在工业生产上是很不经济的, 所以通常利用空气在压缩过程中放出的热烈进行杀菌。假设压缩机空气进口气体压力为常压, 温度为 21℃, 当压力达到 0.7MPa 时, 出口温度可达到 187~198℃, 因此保温一段时间就可起到杀菌目的。然而, 在生产实践中, 该加热杀菌工艺使用较少, 一方面是因为随着节能意识的增强, 现在很少有厂家将开启压缩到 0.35MPa 以上, 所以空气经压缩后, 温度并不会升得很高; 另一方面现在新型的空气压缩机采用多级压缩, 每级压缩后都会对压缩空气进行降温处理, 因此在空气排出压缩机前就已经将温度冷却下来了。

(四) 静电除菌

近年来一些工厂采用静电除尘法去除空气中的水雾、油雾、尘埃和微生物。在最佳条件下, 采用静电除尘法对 1

μm 微粒的去除率高达 99%，而且消耗能量小，每处理 1000m³ 空气只耗电 0.2~0.8kW，空气压力损失也小，一般仅为 30~150Pa，对设备的大小、维护和安全技术措施要求也不高。本方法常用于洁净工作台与工作室所需无菌空气的预处理，并常与高效过滤器配合使用。

(五) 过滤除菌

空气过滤除菌是目前发酵工业中最常使用的空气除菌方法，它采用过滤介质对微尘和微生物进行拦截，从而达到除菌的目的。根据过滤除菌的机理不同，分为绝对过滤除菌与相对过滤除菌。所谓绝对过滤除菌是指过滤介质的孔径小于被过滤的微尘与微生物等的粒径，当空气通过这类介质时，微尘与微生物被截留于介质上从而实现除菌的方法。而相对过滤除菌是指过滤介质的孔径大于被过滤微粒的粒径的过滤除菌方法。关于相对过滤除菌的机理比较复杂。在相对过滤除菌中，常采用由多层棉花、活性炭、玻璃纤维、石棉等过滤介质形成滤层。空气中微粒的粒径一般为 0.5~10 μm，过滤介质棉花纤维直径为 16~20 μm，玻璃纤维直径为 5~19 μm，纤维之间的空隙大约为 50 μm，微粒随空气流通过滤层时，滤层纤维所形成的网格阻碍气流前进，使气流无数次改变运动速度和运动方向，绕过纤维前进，这些改变引起微粒对滤层纤维产生惯性冲击、拦截、布朗扩散、重力沉降和静电吸引等作用而使微粒滞留在纤维表面，从而实现过滤除菌。

过滤除菌是目前发酵工业最常用的空气除菌方法，过去主要是采用深层介质的相对过滤机理进行除菌，如今绝对过滤在发酵工业上的应用逐渐增多，传统的深层过滤介质和过滤器正逐渐被绝对过滤介质和过滤器所取代，它可以出去 0.2 μm 左右的粒子，故可把细菌等微生物与微粒全部过滤除去。最近还开发成功了可除去 0.01 μm 微粒的高效绝对过滤器，可有效除去空气中的噬菌体等病毒。

目前比较常用的微孔滤膜包括两大类：一类是能有效除去 0.22 μm 大小微粒的滤膜，博滤工业生产的 0.22 μm 的膜式过滤器，主要由可耐蒸汽杀菌的 PVDF（聚偏氟乙烯）或 PTFE（聚四氟乙烯）组成，它可以有效地去除细菌、酵母、霉菌等微生物，但不能除去噬菌体等病毒；另一类是可除去小至 0.01 μm 微粒的滤膜，博滤工业研制的绝对空气过滤器，它的过滤介质由直径 0.5 μm 的超细玻璃纤维制成（Bio-x 滤材）或膨化 PTFE 制成，可 100% 地过滤除去 0.01 μm 以上的微粒，可耐 121℃ 反复加热杀菌，被公认是最保险、最安全的空气除菌过滤器，能除去噬菌体等病毒。

在微孔滤膜方面也获得了长足的进步，博滤工业研制成功聚四氟乙烯复合膜（DMF）、玻璃纤维复合毡（DGF）型 YUD 预过滤器滤芯、聚偏二氟乙烯（JPF-A）、硼硅酸涂氟（JPF-B）和聚四氟乙烯（JPF-C）型膜折叠式空气过滤器滤芯，具有国际先进水平。图 3-4 是 JPF 型膜折叠式空气过滤器滤芯的结构图，它主要是由微孔滤膜、内外撑层、不锈钢芯柱和外筒等构成。其中微孔滤膜是其核心构件，它具有以下特点：①滤膜的疏水性好，在干燥和潮湿条件下均能保证满足绝对过滤的要求；②滤膜多褶成堆，过滤面积大，气体通量大，过滤压降小；③耐高温，可反复蒸汽灭菌；④抗撞强度高，可耐气流冲击；⑤过滤精度达 0.01 μm，过滤效率 99.9999%；⑥安装与更换方便。目前，JPF 型膜折叠式空气过滤器已经在我国发酵工业中得到较广泛的应用。



南京博滤工业 气滤事业部

ALL.....