



生物安全实验室 气流组织形式的实验研究

中国建筑科学研究院 张益昭[☆]

中国人民解放军第 302 医院 于玺华

中国建筑科学研究院 曹国庆* 许钟麟 温 风 赵 力

刘 华 赵 辉 姚 丹 崔 磊 刘 京

摘要 为了比较上送上排和上送下排气流组织形式的优劣,在生物安全模型实验室内进行了微生物气溶胶的发菌实验,对两种气流组织形式下室内工作区微生物气溶胶的浓度场和实验室自净时间进行了研究。实验结果表明,上送下排对室内污染物的排除效果明显优于上送上排。

关键词 生物安全实验室 气流组织形式 上送上排 上送下排 微生物气溶胶 浓度场 自净时间

Experimental study on air distribution modes in biosafety laboratories

By Zhang Yizhao[★], Yu Xihua, Cao Guoqing, Xu Zhonglin, Wen Feng, Zhao Li,
Liu Hua, Zhao Hui, Yao Dan, Cui Lei and Liu Jing

Abstract To compare the effects of contamination control between up-supply and up-discharge and up-supply and down-discharge, carries out a microbe aerosol dispensing experiment in a biosafety model laboratory. Studies the concentration field of the microbe aerosol and the self-cleaning time of the laboratory. The results show that the latter mode is much better than the former one in contamination elimination.

Keywords biosafety laboratory, air distribution mode, up-supply and up-discharge, up-supply and down-discharge, microbe aerosol, concentration field, self-cleaning time

★ Institute of Air Conditioning, China Academy of Building Research, Beijing, China

①

0 引言

随着医药、生化领域科学技术的飞速发展,作为该领域科学研究的环境设施保障——生物安全实验室日益凸显其重要性,尤其是 SARS 疫情发生以后,有关生物安全问题已经成为关系到国计民生的大事。作为生物安全实验室内污染控制有利措施的气流组织形式引起了人们广泛的关注。我国规范《生物安全实验室建筑技术规范》(GB 50346—2004)、《实验室生物安全通用要求》(GB

19489—2004)推荐的气流组织形式是上送下排^[1-2],这是根据气溶胶的传播规律来规定的,即气流方向应尽可能适合气溶胶重力沉降的方向^[3]。国外的有关标准规范均未涉及气流组织形式,已建

①☆ 张益昭,女,1951年10月生,大学,教授级高工
100013 北京市北三环东路30号建研院空调所
(010) 64517663

* E-mail: cgq78@163.com

收稿日期:2006-09-19

修回日期:2006-10-08

生物安全实验室的气流组织形式既有上送下排,也有上送上排。两种气流组织形式对于污染控制而言究竟孰优孰劣是值得研究的课题。

在生物安全实验室内,对污染源的操作一般在生物安全柜内进行,安全柜相对实验室一般均具有较大的负压,污染物不会泄漏到室内,且由于生物安全实验室一般均采用全新风系统,新风要经过三级过滤,因此正常情况下,生物安全实验室无论采用上送上排还是上送下排均能进行很好的污染控制。因此气流组织形式的优劣更多地体现在当实验室内发生操作意外时(如操作人员不慎将装有菌液、病毒液等污染源的容器打翻或跌落至工作台或地面,致使污染物扩散至室内),哪种气流组织形式可以更好地保护操作人员,更好地进行污染控制。国内外在此方面的研究文献较少。

为了验证气流组织形式的优劣,通常可采用大气尘气溶胶和微生物气溶胶进行实验。由于大气尘气溶胶本身不稳定,且在生物安全实验室内进行污染控制的研究对象正是微生物气溶胶,因此需引入微生物气溶胶发生系统。为此,本文通过发菌实验的方法模拟操作意外情况下的微生物气溶胶扩散,并在生物安全模型实验室内对两种气流组织形式下工作区微生物气溶胶的浓度场进行了大量的实验研究,以期能对生物安全实验室气流组织形式的优劣进行正确判断。

1 室内生物微粒的运动

细菌、病毒类微生物在空气中是不能单独存在的,常附着在比它们大数倍的尘粒表面^[4],因此研究微生物微粒的运动可以简化为研究室内微粒的运动。据有关实测数据及分析计算结果发现,在洁净场所微生物气溶胶的沉降等价直径为 1~5 μm ^[5]。

力是运动状态改变的原因,对于洁净室的污染控制来说,作用于微粒上的力主要有气流力、重力、惯性力、分子扩散力。微粒在重力、惯性力和扩散力作用下,自身的运动速度和运动距离是很微小的,对于 1 μm 微粒来说,每 s 运动距离分别为 0.006, 0.006, 0.000 4 cm 左右,而室内气流的速度一般在 0.1 m/s 以上^[5],在运动的气流中,小微粒几乎以完全相同的速度跟随气流运动^①。

根据理论计算,密度为 1 g/cm³ 的微粒,当粒径为 5 μm 时,跟随气流的速度相当于气流速度的

90%;粒径为 1 μm 时为 99.9%^[5]。即使密度增大 1 倍,跟随速度只降低 10%,对于 5 μm 粒径的微粒,仍有 80% 的跟随速度。因此室内空气中的微粒运动状况主要是由气流分布作用决定的,室内微粒的作用气流主要有送风气流、排风气流、人行走时引起的气流和热对流气流。

关于微粒在室内气流作用下速度的合成及运动在文献[3]中已有详细描述,本文不再赘述,并将其引用至本文实验结果的部分解释说明中。

2 实验研究

2.1 实验材料

实验采用的菌种为枯草杆菌黑色芽孢变种(菌号 ATCC:15442;1.334 3),此菌种培养出来后呈淡黄色,和空气中的杂菌有明显的颜色差别,从而避免了空气中其他杂菌对实验结果计数的影响。另外,此菌种对实验人员没有伤害。采用此菌种,实验前不需要自净。

发菌浓度需预先估计,然后通过反复实验找到最佳浓度,因为发菌浓度过高,会造成采样器中菌量过大,从而无法计数;发菌浓度过小,采样器采集不到,不能说明问题。对于本文研究的生物安全实验室而言,通过反复实验发现,在打气机压力为 98 066.5 Pa(1 kgf/cm²),发菌压缩空气流量约 16 L/min 的条件下,菌液浓度为 10⁸ cfu/mL 是较合适的。

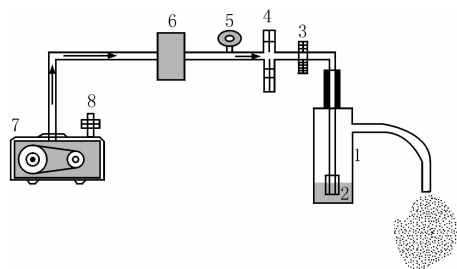
2.2 实验装置

实验所用主要设备有打气机、流量计、国际 Collison 标准喷雾器、JWL-I 型采样器、Andersen 国际标准化采样器、普通营养琼脂、玻璃及塑料平皿等。

所采用的微生物气溶胶发生系统如图 1 所示,打气机供气压力稳定,通过调节打气机后的调节阀来调节供气量,在发菌前先通过流量计调节气体的流量到发生器所需的流量。发生器宜略向上倾斜,这样可以使发菌时所带出的较大液珠撞击喷口时凝结产生的液滴流回发生器内,发生的微生物气溶胶通过连接管垂直射流至地面或工作台。同时注意观察发生器内的液量,始终保持发生器金属柱的小孔一直处于液面之下,以保持发菌的连续性。

2.3 模型实验室

① 舒玮. 湍流中散射粒子的跟随性. 天津大学科技情报资料, 1979



1 喷雾器 2 菌液 3,8 过滤器 4 流量计
5 压力表 6 缓冲箱 7 打气机

图1 微生物气溶胶发生系统

生物安全模型实验室的实际几何尺寸为 $3.47\text{ m} \times 2.48\text{ m} \times 2.4\text{ m}$ (长 $\times$ 宽 $\times$ 高), 布局如图2所示, 送风口尺寸为 $550\text{ mm} \times 550\text{ mm}$, 排风口尺寸为 $500\text{ mm} \times 300\text{ mm}$ 。为了模拟真实情况, 在排风口下(或前)摆放一个桌子代替安全柜, 另外为了测量不同高度截面上的沉降菌浓度, 室内布置一轻型框架。

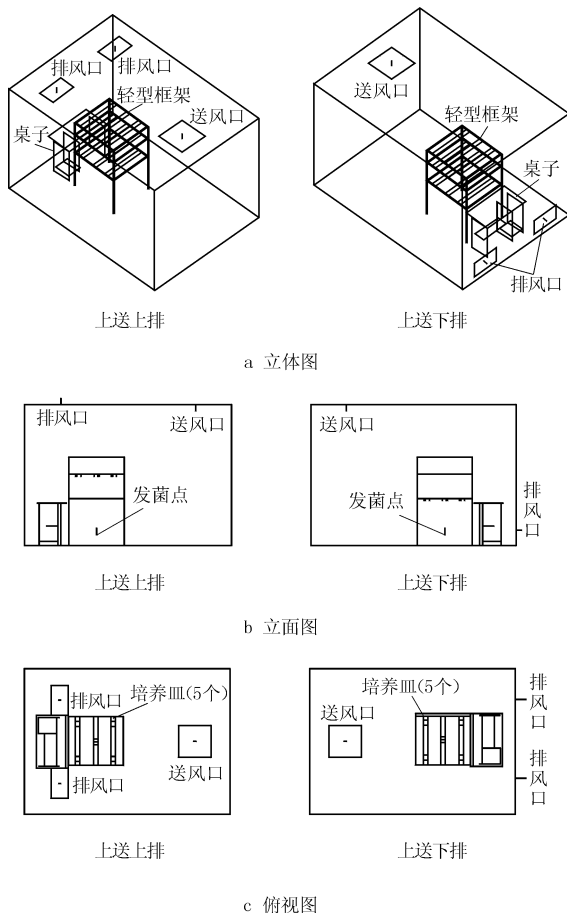


图2 模型实验室两种气流组织形式下的室内布局

2.4 实验条件

送风量为 $640\text{ m}^3/\text{h}$, 换气次数约为 31 h^{-1} ; 排

风量为 $350\text{ m}^3/\text{h} + 350\text{ m}^3/\text{h} = 700\text{ m}^3/\text{h}$; 室内外压差为 -10 Pa ; 室外温度为 $24.3\text{ }^\circ\text{C}$, 相对湿度为 49.3% ; 实验室内温度为 $21.9\text{ }^\circ\text{C}$, 相对湿度为 58.7% ; 菌液浓度为 10^8 cfu/mL ; 微生物气溶胶发生系统的打气机压力为 $98\,066.5\text{ Pa}$ (1 kgf/cm^2), 压缩空气流量为 16 L/min , 菌液消耗量为 0.64 mL/min 。

2.5 实验项目及方法

为了比较生物安全实验室内两种气流组织形式的优劣, 所作实验主要包括室内工作区污染物浓度场实验和实验室自净时间实验。室内工作区污染物浓度场实验主要是通过改变发菌高度分别模拟研究菌液跌落至地面和工作台飞溅后的工作区沉降菌、浮游菌浓度; 实验室自净时间实验是在改变发菌时间、发菌地点、采样地点的基础上继续研究浮游菌浓度随时间的变化, 从而研究两种气流组织形式在发生污染物泄漏后的自净效果和自净时间的差异。

2.5.1 室内工作区污染物浓度场实验

2.5.1.1 沉降菌测定

在生物安全实验室内, 生物安全柜、动物隔离器等装置一般安装在排风口附近, 处于气流方向的下游, 而操作人员工作区一般位于离安全柜 300 mm 左右以外的区域, 假定安全柜的宽度为 600 mm , 培养皿(直径 90 mm)在轻型框架上(见图2)的放置位置如图3所示, 布置3层, 分别距地面 $0.8, 1.2, 1.5\text{ m}$, 每层布置5个培养皿, 同时在整个测试房间的地面也布置5点(四角加中心)。发菌点的相对位置如图3所示(即轻型框架中心处), 分别距地面 0.2 m 和 0.9 m 向下发菌, 此时的发菌高度可以保证发生的微生物气溶胶既有部分扩散至室内, 又有部分撞击到地面或工作台, 以模拟实际菌液落至地面或工作台飞溅时的情形。

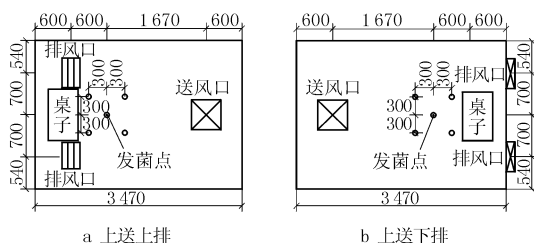


图3 工作区污染物浓度场实验中两种气流组织形式下培养皿的布置

发菌实验前采用丝线法或发烟法测试工作区

的气流流向,以确定测定沉降菌时培养皿的放置方向,本实验培养皿的放置方向为迎着气流与水平方向交角 15° 。在迅速打开各培养皿瓶盖后开始发菌,连续发菌 10 min 后停止,沉降菌采样 30 min 结束,由穿戴好洁净衣帽、口罩的操作人员进入房间迅速盖好平皿盖,最后将培养皿在 $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ 环境下培养 48 h 后进行观察计数。

2.5.1.2 浮游菌测定

在测定沉降菌的过程中,从发菌开始计时后第 5,15,20,30 min 分别进行浮游菌测定,采样所用时间分别为 10,60,120,120 s,采样地点为发菌点的正上方距地 1.2 m (人的呼吸区高度为 1.1~1.5 m)。所用采样仪器为 JW1-I 型采样器(采样流量为 30 L/min)和 Andersen 国际标准化采样器(采样流量为 28.3 L/min),两者可以互相对比校正。

从上面的描述可以看出,本实验对浮游菌采样在不同时刻所选择的采样周期不尽相同,这是因为浮游菌的采样周期是根据 Andersen 采样器的采样范围及微生物气溶胶浓度进行设计的。因为如果微生物气溶胶浓度太大,采样的时间又过长,则使许多微生物在撞击点处重叠,产生较大误差;如果环境的微生物浓度太小,采样时间又太短以至于采样器未采到微生物,就不能正确评价室内微生物气溶胶的浓度^[6]。

2.5.2 实验室自净时间实验

生物安全实验室自净时间的测定可通过研究室内浮游菌浓度的变化来实现,通过改变发菌时间、发菌地点和采样地点来继续研究浮游菌浓度随时间的变化。本次实验微生物气溶胶的发菌点及采样点的布置如图 4 所示。进行两种情况下的对

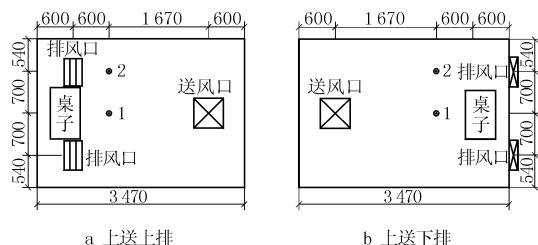


图 4 实验室自净时间实验中两种气流组织形式下发菌点和采样点的布置

比测试:1)发菌点位于图 4 所示的点 1 (在送风口中心所在截面,距地 0.2 m,向下发菌 1 min),采样点位于点 1 的正上方距地 1.2 m 处,分别于发菌开始计时后第 1,3,5,7,10 min 采样,采样时间分别

为 10,30,60,120,120 s;2)发菌点位于图 4 所示的点 2 (在回风口中心所在截面,距地 0.2 m,发菌 1 min),采样点位于点 2 的正上方距地 1.2 m 处,分别于发菌开始计时后第 1,3,5,7,10 min 采样,采样时间分别为 10,30,60,120,120 s。

将发菌时间定为 1 min,观察浮游菌浓度 10 min 内的变化规律,这是为了更好地模拟实际操作中不慎将菌液容器跌落至地面的情况,一般而言发生此种情况时,细菌的挥发扩散需 1 min 左右,人员要安全撤离实验室需要 6 min 左右。发菌点、采样点的变化是考虑了实际的生物安全实验室内生物安全柜的两种可能安放位置(如图 4 中的 1,2 点)。

2.6 实验结果分析

2.6.1 室内工作区污染物浓度场实验结果

2.6.1.1 沉降菌测定结果

图 5 给出了距地面 0.2 m 和 0.9 m 发菌 10 min 时,两种气流组织形式下工作区不同高度截面上的沉降菌浓度,表 1 给出了相应数值。其中, UU0.2(UU0.9)表示距地面 0.2 m(0.9 m)发菌,气流组织形式为上送上排; UD0.2(UD0.9)表示距地面 0.2 m(0.9 m)发菌,气流组织形式为上送下排,下同。

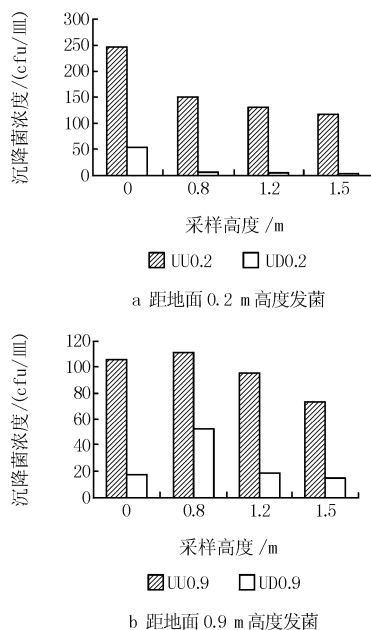


图 5 工作区不同高度截面上的沉降菌浓度(发菌 10 min)

从图 5 及表 1 可以看出:

1) 无论距地 0.2 m 还是 0.9 m 发菌,在工作

表 1 工作区不同高度截面上的沉降菌浓度

采样高度/m	沉降菌浓度/(cfu/皿)			
	UU0.2	UD0.2	UU0.9	UD0.9
0	248.0	55.0	105.2	17.1
0.8	149.0	3.2	110.8	51.7
1.2	128.8	1.8	95.8	18.7
1.5	115.2	1.6	73.6	14.1

区不同高度截面上都有沉降菌存在,说明两种气流组织形式下室内均存在涡流,使得微生物气溶胶得以跟随气流运动至各高度截面。

2) 无论距地 0.2 m 还是 0.9 m 发菌,从各相应高度截面上污染物浓度的对比来看,上送下排对污染物控制的效果总是优于上送上排。两种气流组织形式下的室内沉降菌浓度相差很大,尤其是距地 0.2 m 发菌时,两者甚至存在数量级的差异,对于呼吸区(1.1~1.5 m)的污染物浓度而言,距地 0.2 m 发菌时,两者相差 70 倍左右;距地 0.9 m 发菌时,两者相差 5 倍左右。说明上送下排可以把产生的污染物迅速压向排风区域并经排风口处的高效过滤器除去;而上送上排容易造成气流短路,使一部分送风不能参与全室的作用,致使房间污染物浓度相对较高。

3) 当距地 0.2 m 发菌时,两种气流组织形式下工作区污染物浓度都随室内高度的增加而下降。对于上送下排而言,不论是大微粒的沉降还是小微粒跟随气流的运动都基本是向下的,故底部污染物浓度大,气流基本将污染物控制在高度较低的区域,工作人员的呼吸区几乎没有受到污染;对于上送上排而言,所发生的微生物气溶胶微粒远离排风口,作用在微粒上的送风气流力大于或基本相当于排风气流力,微粒将水平或向下运动,故下部污染物浓度依然大于上部。

4) 当距地 0.9 m 发菌时,两种气流组织形式下室内各高度截面上污染物的浓度随高度的变化规律基本相同,均是 0.8 m 高度处的污染物浓度最高,1.5 m 高度处的污染物浓度最低,地面污染物浓度与 1.2 m 高度处污染物浓度相差不大。由于发菌点位于 0.9 m 高度处,故 0.8 m 高度处的污染物浓度最大,其他高度处污染物浓度的变化规律和涡流有较大关系。

5) 上送上排对距地 0.9 m 发菌的污染物控制效果优于距地 0.2 m 发菌,而上送下排对距地 0.2 m 发菌的污染物控制效果优于距地 0.9 m 发菌,

这与气流组织本身特性有关,可见气流组织形式的选择对于生物安全实验室的实际通风效果具有决定性的作用。如果误操作发生在柜口或柜外,模拟距地 0.2 m 发菌是更符合实际情况的,如上所述,此时在呼吸区两种气流组织形式下的污染物浓度相差 70 倍左右,故上送下排应是生物安全实验室中首选的气流组织形式。

6) 对地面沉降菌浓度进行分析可知,两种气流组织形式下距地 0.2 m 发菌时的地面沉降菌浓度均高于距地 0.9 m 发菌时的情况,这是合乎情理的,因为距地 0.9 m 发生的细菌更容易跟随气流运动,沉降或滞留在地面附近的细菌相对较少。

2.6.1.2 浮游菌测定结果

图 6 给出了距地面 0.2 m 和 0.9 m 发菌 10 min 时,两种气流组织形式下工作区 1.2 m 高度截面上的浮游菌浓度随时间的变化曲线,表 2 给出了相应数值。若将两种气流组织形式下浮游菌浓度达到某同一数值时(如 100 cfu/m³)认为达到自净,则通过对浮游菌浓度的测定可以分析得出两种气流组织形式下实验室自净时间的差异。

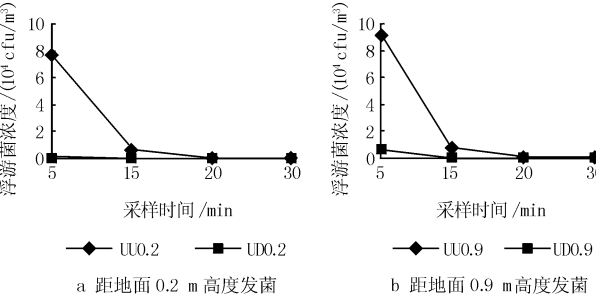


图 6 工作区 1.2 m 高度截面上的浮游菌浓度(发菌 10 min)

表 2 工作区 1.2 m 高度截面上的浮游菌浓度

采样时间	浮游菌浓度/(cfu/m ³)			
	UU0.2	UD0.2	UU0.9	UD0.9
第 5 min	77 333.3	1 200.0	93 333.3	6 200.0
第 15 min	6 000.0	100.0	7 666.7	200.0
第 20 min	333.3	33.3	366.7	33.3
第 30 min	100.0	0	133.3	0

从图 6 及表 2 可以看出:

1) 无论距地 0.2 m 还是 0.9 m 发菌,两种气流组织形式下经过一定时间均可达到自净,说明气流对污染物的控制与排除作用明显,这是生物安全实验室控制污染必不可少的措施之一。

2) 上送下排对污染物的排除效果明显优于上送上排,自净时间相对较少,上送下排的自净时间基本为上送上排的一半,说明上送下排是生物安全

实验室最可取的气流组织形式。

3) 上送下排对距地 0.2 m 发菌的污染物排除效果优于距地 0.9 m 发菌;上送上排对距地 0.2 m 发菌的污染物排除效果与距地 0.9 m 发菌相当,这与沉降菌的规律略有不同,说明浮游菌与沉降菌之间虽有内在联系,但关系复杂,两者之间的关系式可以考虑气流组织因素的修正项。

2.6.2 实验室自净时间实验结果

图 7 给出了位于图 4 中的 1 点距地面 0.2 m 高度处发菌 1 min 时,两种气流组织形式下在工作区 1.2 m 高度截面上采样经 48 h 培养后的菌落数变化情况。经观察计数后,进行相应计算可得出各时刻的浮游菌浓度。

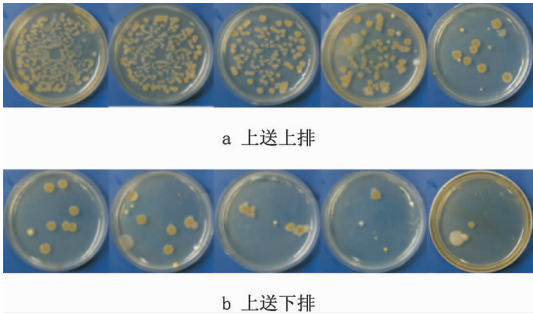


图 7 分别于 1,3,5,7,10 min 时采样经培养后的枯草杆菌示意图

图 8 给出了在图 4 中的 1,2 两点处距地面 0.2 m 发菌 1 min 时,两种气流组织形式下工作区 1.2 m 高度截面上的浮游菌浓度在 10 min 内的变

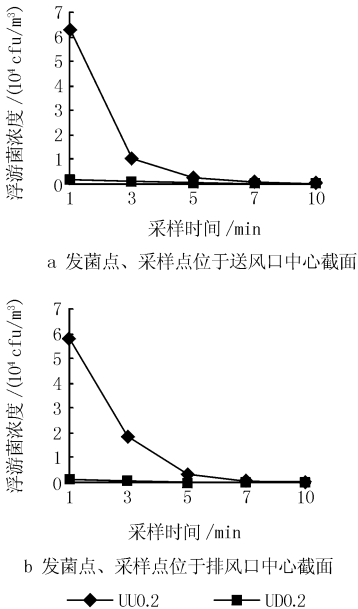


图 8 工作区 1.2 m 高度截面上 10 min 内的浮游菌浓度 (距地面 0.2 m 发菌 1 min)

化曲线,表 3 给出了相应数值。

表 3 工作区 1.2 m 高度截面上 10 min 内的浮游菌浓度

采样时间	浮游菌浓度/(cfu/m ³)			
	UU0.2(1)	UD0.2(1)	UU0.2(2)	UD0.2(2)
第 1 min	63 180.2	1 908.1	58 091.9	1 272.1
第 3 min	10 247.3	989.4	18 515.9	848.1
第 5 min	2 402.8	353.4	3 427.6	141.3
第 7 min	335.7	0	706.7	0
第 10 min	106.0	0	247.3	0

注:(1)和(2)分别表示在点 1 和点 2 发菌的情况。

从图 7、图 8 及表 3 可以看出:

1) 两种发菌地点,两种气流组织形式下,实验室经过一定时间均可达到自净,说明气流作用明显。

2) 两种气流组织形式下,发菌点无论位于图 4 中的点 1 还是点 2,其正上方距地 1.2 m 高度处的浮游菌浓度相差不大。说明在满足生物安全柜放置于下风侧的前提下,沿着排风口布置方向(即两个排风口中心点连线所在的方向)上的安全柜位置变化对室内污染物的控制与排除影响不大。

3) 对两种气流组织形式下的自净时间进行分析,若将浮游菌浓度达到某一数值时(如 100 cfu/m³)认为达到自净,可以发现上送下排的自净时间基本为上送上排的一半。

3 实验可重复性验证

为了验证实验的可重复性,将实验所用菌液保存在冰箱中以防止微生物细菌生长,每隔一段时间(15 d 以上)在相同的实验条件下作实验,各次实验所得沉降菌、浮游菌浓度变化趋势基本相同,但具体数值存在差异,图 9~11 给出了某次实验所得结果,与图 5,6,8 进行对比可以发现本文所述实验具有较强的可重复性。

对比图 5,6,8 与图 9~11 可以看出:

1) 两次实验所得两种气流组织形式下沉降菌、浮游菌浓度变化趋势基本相同,都可以看出上送下排对室内污染物的控制与排除效果明显优于上送上排。

2) 两次实验条件下,所得沉降菌、浮游菌浓度数值在各相应时刻(或位置)存在差异,这虽然与操作误差等因素有关,但仔细对比会发现两者差异较大,笔者对此进行了深入分析,发现存在两种可能原因:一是与保存在冰箱中的菌液有关,由于冰箱偶尔会被人为断电,存在细菌灭亡的可能,使得菌液浓度下降;二是与微生物气溶胶发生装置的打气机工作压力不稳定有关。

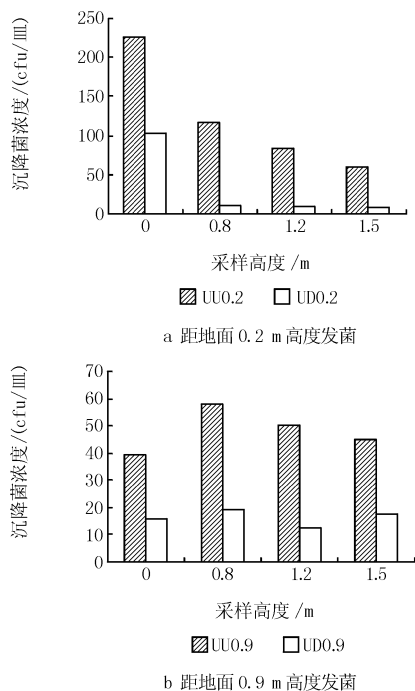


图 9 工作区不同高度截面上的沉降菌浓度(发菌 10 min)

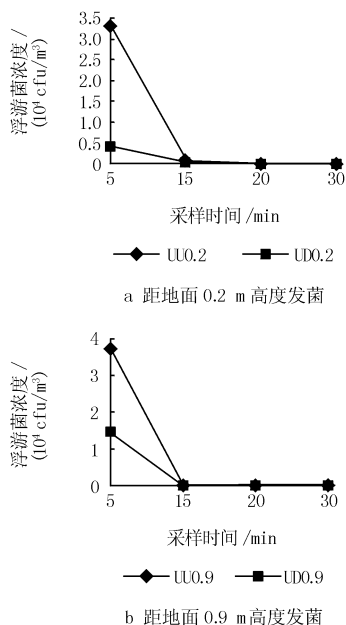


图 10 工作区 1.2 m 高度截面上的浮游菌浓度(发菌 10 min)

4 结论

4.1 生物安全实验室就是为了保证在万一发生致命微生物气溶胶泄漏事故时能有效防范,因此,生物安全实验室气流组织形式的确定也应立足于防范这个“万一”。

4.2 上送下排与上送上排相比,在发生气溶胶泄漏时,呼吸区气溶胶浓度相差 70 倍左右,上送下排的

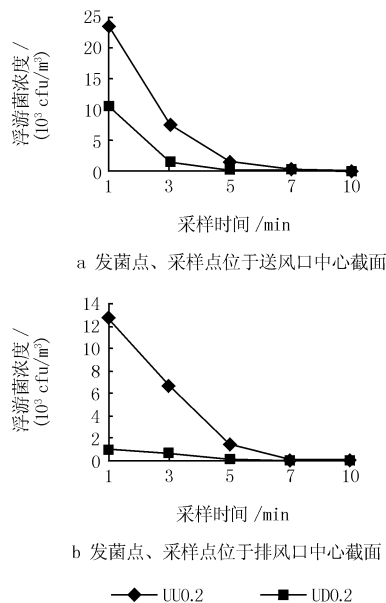


图 11 工作区 1.2 m 高度截面上 10 min 内的浮游菌浓度 (距地面 0.2 m 发菌 1 min)

浓度远低于上送上排。因此,气流组织形式对于生物安全实验室的实际通风效果具有决定性的作用。

4.3 有害气溶胶发生泄漏时,上送下排的自净时间仅是上送上排的一半左右。

4.4 上送下排的气流组织形式符合生物安全实验室规范中定向气流的原则要求,而上送上排易形成气流短路和气流弯曲,不太符合定向流的原则。

4.5 上送下排应是生物安全实验室中首选的气流组织形式。若由于工艺或建筑施工的原因无法做到上送下排时,则可在增加良好的个人防护的条件下,采用上送上排。

参考文献

- [1] 中华人民共和国建设部. GB 50346—2004 生物安全实验室建筑技术规范[S]. 北京:中国建筑工业出版社,2004
- [2] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB 19489—2004 实验室生物安全通用要求[S]. 北京:中国标准出版社,2004
- [3] 许钟麟,张益昭,张彦国,等. 关于生物安全实验室送、回风口上下位置问题的探讨[J]. 洁净与空调技术, 2005(4):15-20
- [4] Wiebe H A, Partain C L. An investigation of the importance of air flow in control of postoperative infections[J]. ASHRAE J, 1975(2): 27-33
- [5] 许钟麟. 空气洁净技术原理[M]. 3 版. 北京:科学出版社,2003
- [6] 于玺华. 现代空气微生物学[M]. 北京:人民军医出版社,2002:101-112