最小二乘法用于高压灭菌器温度与压力的拟合研究

董 礼，李 波，杨 坤，张惠铭，韩 宇，韩瑞萍
（辽宁成大生物股份有限公司，辽宁沈阳 110000）

摘要：为考察常用高压灭菌器中饱和蒸汽温度与压力的关系，采用国际上公认的安托万方程进行数据拟合。以非线性最小二乘法求解，通过误差平方和(SSE)、均方根误差(RMSE)、相关系数(R^2)、残差来判断拟合效果的优劣，并用本公司的高压灭菌器蒸汽管路系统对最小二乘法的拟合结果进行验证，结果显示其具良好的适合性及一致性，为高压灭菌器的验证提供了参考。

关键词：高压灭菌器；最小二乘法；饱和蒸汽；温度；压力；数据拟合
中图分类号：TP214；TQ460.5 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255(2022)09-1355-05
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.09.019

Research on Temperature and Pressure Fitting of Autoclave by Least Square Method

DONG Li, LI Bo, YANG Kun, ZHANG Huiming, HAN Yu, HAN Ruiping
(*Liaoning Chengda Biology Co., Ltd., Shenyang 110000*)

ABSTRACT: The data for temperature and pressure was fitted in the internationally recognized Antoine equation to investigate the relationship between temperature and pressure of saturated steam in commonly used autoclaves. The nonlinear least square method was used to solve the problem. The quality of the fitting effect was evaluated by the sum of square of error (SSE), root mean square error (RMSE), correlation coeffictent (R^2), and residual in statistics. For verification, the least squares method was brought into our company's sterilizer steam pipeline system. The results showed that the fitting had good suitability and consistency. This study provides reference suggestions for the verification of autoclaves.

Key Words: autoclave; least square method; saturated steam; temperature; pressure; data fitting

近年来，连续发生的传染性非典型肺炎、禽流感、甲型 H1N1 流感及目前流行的新型冠状病毒肺炎均时时刻刻威胁着民众身体健康，但也促使了消毒与灭菌技术飞速发展。目前，国内的消毒与灭菌技术适用于传染病控制、医院感染控制、食品卫生、生物医疗、环境卫生和饮用水卫生等各领域[1]。

2008 年原国家食品药品监督管理局发布了行业标准《小型蒸汽灭菌器 自动控制型：YY 0646—2008》，规定小型自动控制蒸汽灭菌器的性能要求和试验方法，包含了饱和蒸汽温度的时间要求及不同装载的要求[2]，要求灭菌器容积不超过 60 L，主要用于医疗用品材料及器械的灭菌，未涉及密闭性液体的灭菌要求。同年，国家质量监督检验检疫总局、国家标准化管理委员会发布了国家标准《大型蒸汽灭菌器技术要求 自动控制型：GB 8599—2008》，对容积大于 60 L 的灭菌器型式、基本参数、要求、试验方法进行了规定，确保了设计的合理性和使用的安全性[3]。

2010 年原国家食品药品监督管理局颁布的药品生产质量管理规范（GMP）指南附录《无菌药品》第十章规定了可以使用化学或生物指示剂监控灭菌工艺，但不得替代物理测试[4]，并增加了液体灭菌的要求、灭菌时间、温度或压力的控制。

2016 年原国家食品药品监督管理总局进一步规

收稿日期：2022-02-24
作者简介：董 礼(1993—)，男，硕士，从事医疗器械的验证及LED非成像光学研究。
E-mail：yuzubinglei@163.com

范了过程挑战装置有效性验证相关的行业标准，即《医疗器械蒸汽灭菌过程挑战装置适用性的测试方法（YY/T 1402—2016）》[5]，对医疗器械（medical equipment，MD）采用的过程挑战装置（process challenge device，PCD）进行监测[6]，常用的 PCD 有 Bowie-Dick（B-D）试验标准包（灭菌器排除冷空气效果检测）、物理 PCD（温度验证仪）、化学 PCD（试纸）、模拟生物 PCD（生物指示剂）等。本研究采用安托万方程进行数据拟合，以最小二乘法求解对高压灭菌器中饱和蒸汽温度和压力关系进行考察，以期为高压灭菌器的有效性验证提供参考。

1　常用的消毒灭菌设备

2018 版《医疗器械分类目录》第 11 项消毒和灭菌设备器具包含 5 个子目录，常见的湿热、干热消毒灭菌设备管理等级较严，属于Ⅱ类，详情见表 1。

生物制品企业最常用的是湿热消毒灭菌设备中的压力蒸汽灭菌器。高温蒸汽灭菌的原理为利用饱和蒸汽与灭菌物品充分接触，促进蛋白质等生物大分子的高速运动，使分子间氢键断裂，发生变性而丧失活性[4]。蛋白质及核酸的这种变性是可逆的，虽然微生物功能性结构被破坏，若氢键破裂的数量未达到微生物死亡的临界值，则其分子可能复性，微生物依然可存活。为了有效灭菌，采用高压蒸汽灭菌时就需要提供足够温度和持续时间的水蒸气，水分子由规律紧密结合转变为散乱结构，大量的疏水基暴露在分子表面后相互结合、凝固、沉淀，最终达到灭菌的目的[7]。

压力蒸汽灭菌器根据冷空气的排放方式不同分为 3 类：预真空式、脉动真空式、重力置换式（下排气）。预真空式是在注入灭菌蒸汽之前，抽空灭菌器内的空气，再注入蒸汽。脉动真空式是在预真空方式的基础上，注入蒸汽，然后抽真空、注入蒸汽，重复上述操作 3 次，本质上也属于预真空的一种，优势在于通过反复抽真空 - 注入蒸汽的过程，可以使灭菌器内残留的空气最小化，从而保证灭菌效果。重力置换式是利用腔室内的冷空气比进入的蒸汽重，因此会下沉到腔室的底部，通过持续使蒸汽进入灭菌器的腔室内而迫使冷空气从腔室底部的排水管排出（即冷凝水气通过疏水阀排出）。排除冷空气的成功与否取决于疏水阀的正确运行和蒸汽分布，蒸汽通过导流板或散流器（多孔管）注入灭菌器腔内，如果蒸汽进入过快或分布不合理，装载的顶部或周围可能会夹带空气层；如果进入过于缓慢，则冷空气受热而扩散入蒸汽中，会使空气排除更加困难[8]。

2　高压灭菌器中温度与压力的理论分析

理想气体状态方程见式①。

$$PV=nRT \qquad ①$$

式中，R 是摩尔气体常数，P 为理想气体压强，V 为气体体积，n 为气体物质的量，T 为体系温度。

密封容器中水蒸气压力 P_w 与温度 T 的关系可以用克劳修斯 - 克拉珀龙方程（式②）描述[9]，这是单元系统在相平衡时物理量的变化方程，能定量分析单元系统在物质的量相同时物质体积、温度、压强之间的关系。

$$\frac{\mathrm{d}\ln P_w}{\mathrm{d}T}=\frac{\Delta H}{RT^2} \qquad ②$$

式中，ΔH 为标准摩尔生成焓，考虑到 ΔH 对温度的依赖性，将其简化为式③。

$$\Delta H=a+bT+cT^2 \qquad ③$$

表 1　消毒与灭菌设备器具分类

Tab.1　Classification of Disinfection and Sterilization Equipment and Instruments

序号	名称	品名举例	管理类别
1	湿热消毒灭菌设备	蒸汽消毒器、煮沸消毒器、压力蒸汽灭菌器	Ⅱ
2	干热消毒灭菌设备	热空气消毒器、热空气灭菌器、热辐射灭菌器	Ⅱ
3	化学消毒灭菌设备	酸性氧化电位水生成器、臭氧消毒器、环氧乙烷灭菌器、甲醛灭菌器、过氧化氢灭菌器、其他化学消毒灭菌器	Ⅱ
4	紫外线消毒设备	紫外线消毒器	Ⅱ
5	高压电离灭菌设备	清洗消毒器、医用清洗器	Ⅰ

将式②取对数得到式④。

$$\ln P_w = \frac{A}{T} + B\ln T + C\,T + D \qquad ④$$

式中，A、B、C、D 都为常数，在较窄的温度范围内式④可以用安托万方程（式⑤）描述[10]。

$$\log P_w = A - \frac{B}{T+C} \qquad ⑤$$

此方程是工程上广泛使用的、与试验数据吻合得较好的经验方程，是最简单的三参数蒸汽压方程，适用的饱和蒸汽压范围为 1.5 ～ 200 kPa，忽略了表面张力、流体静压力、重力和电磁场等因素的影响。其中，P_w 对应的是温度 T 下纯液体饱和蒸汽压。为了方便计算，将蒸汽压看成自变量，同时将温度 T 写成相对温度的形式，单位为℃，式⑤可化简可得式⑥。

$$T = \frac{B}{A - \log P_w} - (273.15+C) \qquad ⑥$$

根据化学工艺设计手册[11]，在疫苗生产行业中，最常用的饱和蒸汽温度为 100 ～ 135 ℃。《疫苗学》中阐述：细菌在 100 ℃下灭菌 10 min 可完全杀灭[12]。杨健报道采用脉动真空灭菌器 115 ℃灭菌 30 min，生物指示剂挑战测试结果均为阴性，阳性对照检验结果为阳性，说明 115 ℃灭菌 30 min 对芽孢和微生物有较好的杀灭效果[13]。《药品生产质量管理规范（2010 年修订）》附录《无菌药品》中定义 121 ℃灭菌 15 min 为过度杀灭，可以杀死大多数微生物，达到产品的无菌保证水平[14]。赵德胜等报道采用湿热灭菌方法对培养基灭菌时，加热的温度和时间对微生物的死亡和营养成分的破坏均有作用，采用 128 ℃灭菌 1.5 min 的高温快速灭菌方法，既可杀死培养基中全部有生命的有机体，又可减少营养成分的破坏[15]。王舰兵等报道了在疫苗生产过程中，132 ℃灭菌 8 min 有较好的安全性，灭菌效果也全部符合灭菌保证水平和现行 GMP 的要求[16]。表 2 列举了常用的湿热灭菌条件及其针对的微生物。

3 高压灭菌器中温度与压力拟合分析

最小二乘法（又称最小平方法）是一种数学优化技术，可简便地求得未知数据，并使这些求得的数据与实际数据之间误差的平方和为最小[17]。饱和蒸汽温度与压力的曲线拟合就属于非线性最小二乘问题，将其转化成约束优化问题的形式，见式⑦。

$$\min f(x) = \frac{1}{2}\left\| r(x) \right\|^2 \qquad ⑦$$

式中，r 为残差向量，见式⑧。

$$r(x) = [r_1(x),\ r_2(x),\ r_3(x),\ \cdots,\ r_m(x)]^T \qquad ⑧$$

采用 Matlab 2017b 软件中的 Levenberg-Marquardt（LM）算法，也叫阻尼最小二乘法，对每一个拟合点的权重进行调整，得到问题的近似解 x^*，并用相关系数 R^2（越接近 1 表示拟合精度越高、拟合方案越好[18]）评价拟合情况。误差情况可由误差的平方和（sum of squares of error，SSE）、均方根误差（root mean squared error，RMSE）、残差（residual，r）表示。

根据化学工艺设计手册中 100 ～ 135 ℃饱和蒸汽温度与压力的数据绘制散点图[11]，采用上述方法进行拟合（图 1），图 2 是对应的残差图。

将散点值输入 Matlab 2017b 软件中，利用最小二乘算法进行拟合，得到 A=6.99、B=85.25、C=－357.50，代入方程⑥，得方程⑨。

$$T = \frac{52.25}{6.99 - \log P_w} + 84.35 \qquad ⑨$$

表 2 常见的湿热灭菌条件及相应对象

Tab.2 Common Conditions of Moist Heat Sterilization and Corresponding Objects

序号	灭菌对象	装载物品	灭菌参数
1	细菌、病毒	含细菌、病毒的器械	脉动3次，100 ℃，灭菌10 min
2	孢子、芽孢、微生物	织物、辅料、器械	脉动3次，115 ℃，灭菌30 min
3	孢子、芽孢、微生物	织物、辅料、器械	脉动3次，121 ℃，灭菌15 min
4	孢子、芽孢、微生物	织物、辅料、器械	脉动3次，132 ℃，灭菌10 min
5	孢子、芽孢、微生物	培养基	脉动3次，128 ℃，灭菌1.5 min

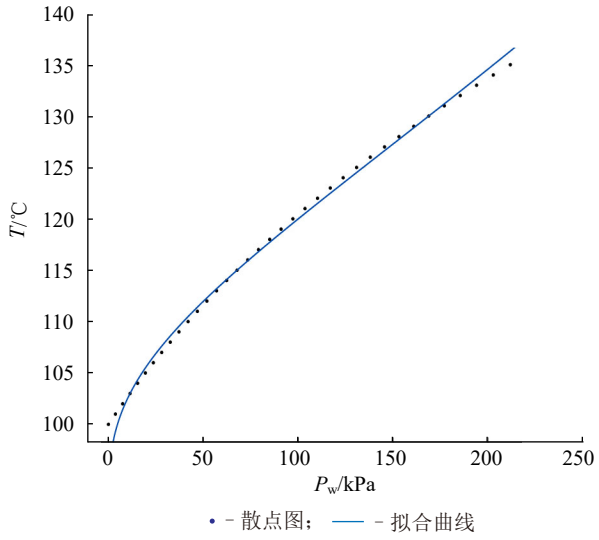


图 1　100 ～ 135 ℃下饱和蒸汽温度与压力的散点图及拟合曲线图

Fig.1　Scatter Diagram and Fitting Curve of Saturated Steam Temperature and Pressure at 100 - 135 ℃

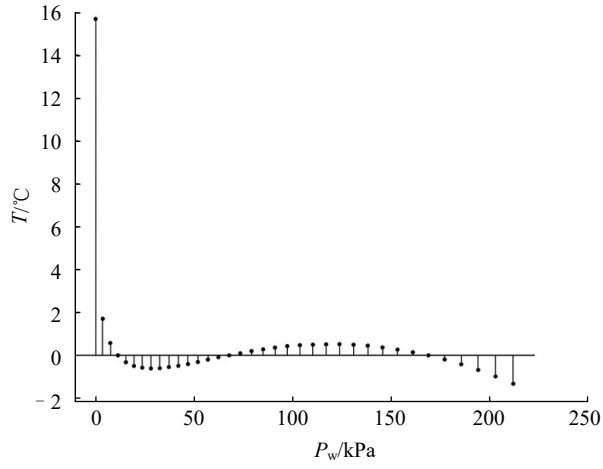


图 2　不同温度点处的残差值

Fig.2　Residual Values at Different Temperatures

在拟合曲线中可见，拟合曲线在首尾段拟合的误差较大（图 1），在 0 kPa 下残差为 15.6 ℃，3.7 和 211.8 kPa 下残差分别为 1.7 和 - 1.2 ℃，三参数安托万方程可以很好地拟合 100 ～ 135 ℃的饱和蒸汽压力数据，R^2=0.994 9，SSE=19.95，RMSE=0.777 6，达到了较好的拟合效果。

4　实际温度数据拟合对比

实际调研了本公司脉动真空灭菌器的使用情况，该设备主要用于杀死孢子、芽孢、微生物等，采用 121 ℃灭菌 30 min 的灭菌方式，灭菌稳定阶段用温度探头和压力探头记录 120.1 ～ 123.5 ℃饱和蒸汽的压力。图 3、4 分别表示 120.1 ～ 123.5 ℃饱和蒸汽的压力散点图、拟合图和残差图。

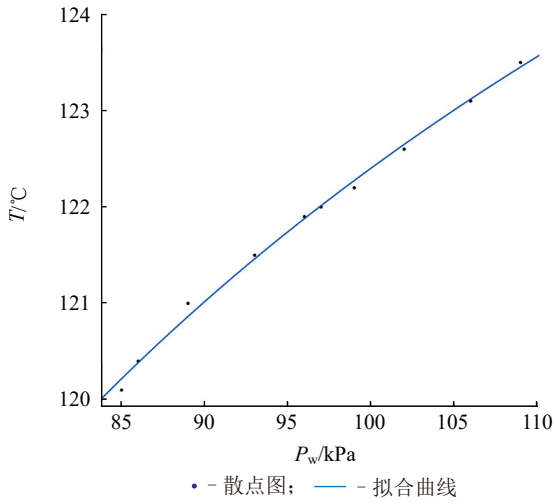


图 3　120.1 ～ 123.5 ℃下饱和蒸汽温度与压力的散点图和拟合曲线图

Fig.3　Scatter Diagram and Fitting Curve of Saturated Steam Temperature and Pressure at 120.1 - 123.5 ℃

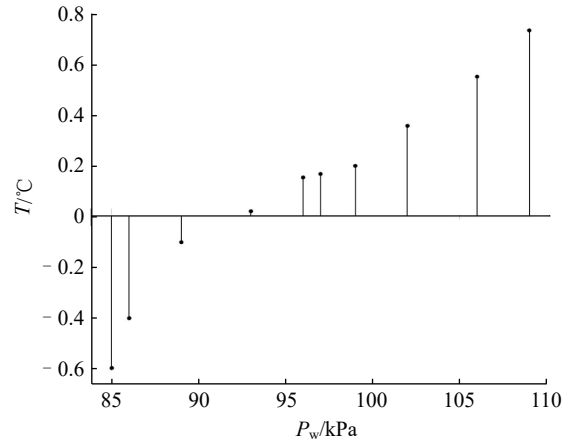


图 4　不同温度点处的残差值

Fig.4　Residual Values at Different Temperatures

经拟合得到 A=2.01、B=84.85、C= - 428.20，代入方程⑥，得式⑩。

$$T=\frac{2.01}{84.85-\log P_w}+155.05 \qquad ⑩$$

三参数的安托万方程可以很好地拟合 120.1 ～ 123.5 ℃下的饱和蒸汽压力数据，R^2=0.995 9，SSE=0.045 2，RMSE=0.080 3。由图 3 可见，实际测试中得到的蒸汽并不是饱和的（拟合曲线不是幂函数），可能的原因有：生产的蒸汽纯度不够，存在一定杂质；设备的气密性不够，测试中存在漏气现象；采用的温度传感器精度不够，测量数据存在一定偏差。

5 结论

采用最小二乘法拟合的三参数安托万方程在理论和实际中都取得了很好的拟合效果。高压灭菌器常根据可编程逻辑控制器（programmable logic controller，PLC）控制压力来达到控制温度的目的。在日常实际使用过程中，需要定期利用温度验证仪对灭菌器的物理参数进行检测。此外，物理参数不应局限于温度数据，还可采用压力探头对压力进行监测。通过温度与压力的拟合方程可以很好地判断温度或压力是否发生偏离，只有当物理检测、生物检测、化学检测全部合格，才能证明被灭菌的物品是无菌、安全的。本研究为医药行业高压灭菌器的验证工作提出了参考性建议。

参考文献：

[1] 张 宇. 消毒灭菌技术的发展现状及方向[J]. 口岸卫生控制, 2006, **11**(1): 2-5.

[2] 郑 威. 蒸汽灭菌器检测设备和方法的研究[D]. 北京: 清华大学硕士学位论文, 2012.

[3] 国家标准化管理委员会. 大型蒸汽灭菌器技术要求自动控制型: GB 8599-2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[4] 国家食品药品监督管理局药品认证管理中心. 无菌药品: 药品GMP指南[M]. 中国医药科技出版社, 2011: 178-179.

[5] 国家食品药品监督管理局. 医疗器械蒸汽灭菌过程挑战装置适用性的测试方法: YY/T 1402-2016[S]. 北京: 国家食品药品监督管理总局, 2016.

[6] 顾菁华, 张继英, 陆龙喜, 等. 高温高压记录仪对真空压力蒸汽灭菌器的监测研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, **26**(21): 5022-5024.

[7] 雷建军. 高温蒸汽灭菌器基本原理及维修实例[J]. 医疗装备, 2017, **30**(8): 50-51.

[8] 陈 琦. 湿热灭菌及验证综述性探讨[J]. 机电信息, 2016, (11): 1-9.

[9] 弗里德 V, 哈梅卡 H F, 布卢克斯 U. 物理化学[M]. 薛宽宏, 等, 译. 北京: 高等教育出版社, 1983.

[10] 唐欣昀, 张 明, 赵海泉, 等. 高压蒸汽灭菌器中温度与压力的关系[J]. 微生物学通报, 2003, (3): 14-17.

[11] 中石化上海工程有限公司. 化学工艺设计手册下册[M]. 北京: 化学工业出版社, 1996: 660-661.

[12] 张延龄, 张 辉. 疫苗学[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 360-361.

[13] 杨 健. 探讨蒸汽安瓿检漏灭菌器灭菌性能验证方法[J]. 科技资讯, 2018, **16**(15): 99-100.

[14] 国家食品药品监督管理局药品认证管理中心. 无菌药品: 药品GMP指南[M]. 中国医药科技出版社, 2011: 177-178.

[15] 赵德胜, 韩文清, 张明斗. 培养基灭菌温度与时间的选择[J]. 价值工程, 2010, **29**(5): 205-206.

[16] 王舰兵, 李 铎, 徐 康, 等. 132 ℃灭菌法在疫苗生产中的灭菌效果验证[J]. 中国消毒学杂志, 2017, **34**(5): 419-421.

[17] 曹连江. 电子信息测量及其误差分析校正的研究[M]. 长春: 东北师范大学出版社, 2017.

[18] 董 礼. LED 阵列的发光特性分析及其应用[D]. 包头: 内蒙古科技大学硕士学位论文, 2019.