

安徽诺为生物技术有限公司
生物酶制剂项目
竣工环境保护验收监测报告

安徽诺为生物技术有限公司

二〇二五年三月

目录

一、前言	1
二、验收依据	3
2.1 建设项目环境保护相关法律、法规和规章制度	3
2.2 建设项目竣工环境保护验收技术规范	3
2.3 建设项目环境影响报告书及其批复部门批复决定	3
2.4 验收评价标准	4
2.5 其他标准、规范	4
三、工程建设情况	5
3.1 地理位置及平面布置	5
3.2 工程建设内容	7
3.3 主要原辅材料及设备	13
3.4 水源及水平衡	20
3.5 生产工艺	22
3.6 项目变动情况	73
四、环境保护设施	76
4.1 污染物治理/处置设施	76
4.2 其他环境保护设施	80
4.3 环境管理检查情况	84
4.4 环保措施落实情况	88
五、环评主要结论与建议及批复要求	92
5.1 环评结论	92
5.2 生态环境局对环评报告的批复	97
六、验收执行标准	101
6.1 废水排放标准	101
6.2 废气排放标准	102
6.3 噪声排放标准	102
6.4 固废控制标准	103
6.5 总量控制指标	103
七、验收监测内容	104

7.1 环境保护设施调试运行效果	104
7.2 监测布点图	105
八、质量保证及质量控制	107
8.1 监测分析方法	107
8.2 监测仪器	109
8.3 人员能力	110
8.4 水质监测分析过程中的质量保证和质量控制	110
8.5 气体监测分析过程中的质量保证和质量控制	110
8.6 噪声监测分析过程中的质量保证和质量控制	111
九、验收监测结果	112
9.1 生产工况	112
9.2 环境保护设施调试效果	112
9.3 环评批复落实情况	122
十、验收监测结论	125
10.1 环保设施调试运行效果	125
10.2 总结论	126
10.3 后续要求	126
十一、建设项目竣工环境保护“三同时”验收登记表	127

一、前言

安徽诺为生物技术有限公司于 2022 年 8 月注册成立，是一家集研发、生产、销售及服务为一体的专业酶制剂企业。公司产品主要应用于体外诊断、制药工业等领域。安徽诺为生物技术有限公司投资 1000 万元，建设“安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目”（以下简称“本项目”），项目位于安徽省合肥市高新区石莲南路 116 号全盟电力科技园 5 楼。本项目租赁全盟电力科技园的厂房，全盟电力科技园占地约 11240m²（16.86 亩），园区设置 1 栋 6 层 23.7m 高的丙级厂房和 1 栋 4 层 16.5m 高的办公研发楼，建筑面积分别为 10563.27m²和 3180.85m²，本项目租赁丙级厂房的 5 层，建筑面积约 1670m²（2.505 亩），新建 1 条年产 500g 的酶制剂生产线（含生产区、研发实验室、成品仓库、原料仓库、办公室等相关配套设施）。

2022 年 8 月 19 日，合肥市高新技术产业开发区经济贸易局同意本项目备案，（项目代码：2208-340161-04-05-634033）。

2023 年 3 月，安徽诺为生物技术有限公司委托安徽睿晟环境科技有限公司编制完成《安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目环境影响报告书》。

2023 年 6 月 7 日，合肥市生态环境局以“环建审（2023）10042 号”文《关于对“安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目”环境影响报告书的审批意见》对本项目予以批复。

2023 年 6 月本项目开工建设，2023 年 9 月本项目完成建设，2023 年 11 月本项目及其配套的附属工程和环保工程进行调试运行。

2023 年 11 月 21 日，安徽诺为生物技术有限公司完成排污许可证申领工作；2024 年 5 月 23 日，安徽诺为生物技术有限公司完成排污许可证变更工作，证书编号：91340100MA8PBJ2U48001V，有效期限为 2023 年 11 月 21 日至 2028 年 11 月 20 日。

2025 年 3 月 19 日，安徽诺为生物技术有限公司完成企业突发环境事件应急预案备案工作，风险级别为一般风险，备案编号为 340171-2025-015L。

根据《建设项目环境保护管理条例》（国务院第 682 号令）、《建设项目竣工环境保护验收暂行办法》（试行）（国环规环评〔2017〕4 号文），安徽诺为生物技

术有限公司对“安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目”进行竣工环境保护验收工作。企业于2024年3月组织技术人员对该工程进行现场踏勘，了解了本项目工程配套环境保护设施的落实及运行情况，结合实地踏勘，查阅有关文件和技术资料，编写了本项目竣工环境保护验收监测方案。并委托第三方检测公司对本项目进行了竣工环保验收监测，根据监测结果和现场环境管理情况编制了本项目竣工环境保护验收监测报告。

本次针对“安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目”进行整体验收，主要验收内容包含：本项目租用安徽全盟电力科技股份有限公司的全盟电力科技园5楼，租用面积为1670m²（2.505亩），设置1条酶制剂生产线，项目建成后可形成年生产酶制剂500g的生产规模，同步配套有菌种室、制品间、研发区、原料仓库、化学品库、一般固废暂存间、成品仓库、危废间、纯水机房、配液间、培养室、接种间、发酵间、分离间、纯化室、外包间等生产用室及其他生产配套装置。

二、验收依据

2.1 建设项目环境保护相关法律、法规和规章制度

1. 《中华人民共和国环境保护法》（2015 年 1 月 1 日起实施）；
2. 《中华人民共和国水污染防治法》（2018 年 1 月 1 日起实施）；
3. 《中华人民共和国大气污染防治法》（2018 年 10 月 26 日修订）；
4. 《中华人民共和国噪声污染防治法》（2022 年 6 月 5 日实施）；
5. 《中华人民共和国固体废物污染环境防治法》（2020 年 9 月 1 日起实施）；
6. 《建设项目竣工环境保护验收暂行办法》（试行）（国环规环评〔2017〕4 号文）（2017 年 11 月 20 日起实施）；
7. 《建设项目环境保护管理条例》（国令第 682 号文）（2017 年 10 月 1 日修订）；
8. 《安徽省环境保护条例》（2018 年 1 月 1 日期实施）。

2.2 建设项目竣工环境保护验收技术规范

1. 《建设项目竣工环境保护验收技术规范 制药》（HJ 792-2016）；
2. 《建设项目竣工环境保护验收技术指南 污染影响类》（公告 2018 年第 9 号，2018 年 5 月 16 日）；
3. 《关于印发制浆造纸等十四行业建设项目重大变动清单的通知（制药建设项目重大变动清单（试行））》（环办环评〔2018〕6 号，2018 年 1 月 30 日）；
4. 关于印发《污染影响类建设项目重大变动清单（试行）》的通知（环办环评函〔2020〕688 号，2020 年 12 月 13 日）。

2.3 建设项目环境影响报告书及其批复部门批复决定

1. 《安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目备案表》，合肥市高新技术产业开发区经济贸易局，项目代码：2208-340161-04-05-634033，2022 年 8 月 19 日；
2. 《安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目环境影响报告书》，安徽睿晟环境科技有限公司，2023 年 3 月；
3. 《关于对“安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目”环境影响报告书的审

批意见》，合肥市生态环境局，环建审（2023）10042号，2023年6月7日；

2.4 验收评价标准

1. 《制药工业大气污染物排放标准》（DB34/310005-2021）；
2. 《大气污染物综合排放标准》（GB 16297-1996）；
3. 合肥西部组团污水处理厂接管标准；
4. 《生物工程类制药工业水污染物排放标准》（GB21907-2008）；
5. 《工业企业厂界环境噪声排放标准》（GB 12348-2008）；
6. 《一般工业固体废物贮存和填埋污染控制标准》（GB 18599-2020）；
7. 《危险废物贮存污染控制标准》（GB 18597-2023）。

2.5 其他标准、规范

1. 《排污许可证申请与核发技术规范 制药工业生物药品制品制造》（HJ1062-2019）；
2. 《排污单位自行监测技术指南 总则》（HJ 819-2017）；
3. 《固定污染源排气中颗粒物测定与气态污染物采样方法》（GB/T 16157-1996）；
4. 《固定源废气监测技术规范》（HJ/T 397-2007）；
5. 《大气污染物无组织排放监测技术导则》（HJ/T 55-2000）；
6. 《污水监测技术规范》（HJ/T 91.1-2019）。

三、工程建设情况

3.1 地理位置及平面布置

本项目位于安徽省合肥市高新区石莲南路 116 号全盟电力科技园 5 楼。项目地理位置见图 3.1-1。

本项目租赁全盟电力科技园的丙级厂房的 5 层,建筑面积约 1670m²(2.505 亩),含生产区、研发实验室、成品仓库、原料仓库、办公室等相关配套设施。厂区总平面布置见附图 2。



图 3.1-1 项目地理位置图

3.2 工程建设内容

3.2.1 项目建设基本概况

项目名称：安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目；

建设单位：安徽诺为生物技术有限公司；

项目性质：新建；

行业类别：C2761 生物药品制造；

建设地点：安徽省合肥市高新区石莲南路 116 号全盟电力科技园 5 楼；

投资总额：项目投资 1000 万元，其中环保投资 100 万元，占总投资额的 10%；

建设内容：本项目租用安徽全盟电力科技股份有限公司的全盟电力科技园 5 楼，租用面积为 1670m²（2.505 亩），设置 1 条酶制剂生产线，项目建成后可形成年产酶制剂 500g 的生产规模，同步配套有菌种室、制品间、研发区、原料仓库、化学品库、一般固废暂存间、成品仓库、危废间、纯水机房、配液间、培养室、接种间、发酵间、分离间、纯化室、外包间等生产用室及其他生产配套装置。

劳动定员及工作制度：项目劳动定员 9 人，两班制，年工作 240 天，每班日工作 8 小时，年工作时间是 3840 小时。

全盟电力科技园于 2014 年 4 月由合肥市环境保护局以环建审〔2014〕83 号予以批复，2017 年 9 月由合肥市环境保护局以合环验〔2017〕22 号予以验收。

项目环评建设与工程实际建设内容比对详见表 3.2-1：

表 3.2-1 环评工程建设与实际建设情况对照表

工程类别	单项工程名称	环评工程内容及规模	本次实际工程内容及规模	备注
主体工程	酶制剂生产车间	配液灭菌室（配液间）	GMP 厂房，位于厂区中西部，主要用于配液和高压灭菌，建筑面积约 15m ² 。	本项目生产车间为洁净车间
		接种小量培养室（接种间）	GMP 厂房，位于配液灭菌室东侧，主要用于菌种接种和小量培养（过夜培养），建筑面积约 15m ² 。	
		发酵培养室（发酵间）	GMP 厂房，位于接种小量培养室东侧，主要用于菌种发酵培养，建筑面积约 21m ² 。	
		收菌室（分离间）	GMP 厂房，位于接种发酵室东侧，主要用于菌种发酵培养后的收集，建筑面积约 14m ² 。	
		菌体破碎离心室（分离间）	GMP 厂房，位于接种收菌室东侧，主要用于菌种的破碎和低温离心，建筑面积约 17m ² 。	
		纯化室	GMP 厂房，位于菌体破碎离心室东侧，主要用于菌种的过滤、亲和层析、换液和浓缩，建筑面积约 23m ² 。	
		外包间	GMP 厂房，位于纯化室北侧，主要用于成品的初步外包装，建筑面积约 20m ² 。	
		分装、冷冻、压盖间（制品间）	GMP 厂房，位于外包间东侧，主要用于酶制剂的冷冻干燥、分装、压盖，建筑面积约 31m ² 。	
		研发实验室（研发区）	GMP 厂房，位于菌种室北侧，主要用于产品的研发和相关实验，建筑面积约 53m ² 。	
		仪器室（研发区）	位于研发实验室东侧，主要用于实验仪器，建筑面积约 11m ² 。	
		培养室	位于仪器室东侧，主要用于菌种培养，建筑面积约 11m ² 。	
		理化室（研发区）	GMP 厂房，位于仪器室南侧，主要用于成品质检和其他相关理化实验，建筑面积约 50m ² 。	
		洁净预留区	位于理化室东侧，主要用于实验准备，预留建设准备间、无菌室、限度室、阳性对照室和，	

工程类别	单项工程名称		环评工程内容及规模	本次实际工程内容及规模	备注
			建筑面积约 62m ² 。	室、阳性对照室和，建筑面积约 62m ² 。	
		IVD 预留区	位于洁净预留区南侧，预留建设体外诊断医药原料酶生产区。	位于洁净预留区南侧，预留建设体外诊断试剂生产区。	
辅助工程	办公区		位于厂区西侧，主要包括办公室、会议室、洽谈室、档案室、茶水间、侯梯厅、前台、等候区、员工办公区、卫生间等，主要用于办公办，建筑面积约 606m ² 。	位于厂区西侧，主要包括办公室、会议室、洽谈室、档案室、茶水间、侯梯厅、前台、等候区、员工办公区、卫生间等，主要用于办公办，建筑面积约 606m ² 。	与环评一致
	设备室		位于发酵培养室南侧，主要用于暂存设备具，建筑面积约 5m ² 。	位于发酵培养室（发酵间）南侧，主要用于暂存设备具，建筑面积约 5m ² 。	与环评一致
	控制室		位于设备室北侧，主要用于放置实验室监控，建筑面积约 8m ² 。	位于设备室北侧，主要用于放置实验室监控，建筑面积约 8m ² 。	与环评一致
	更衣室		厂区更衣室主要设置在菌种生产区入口处，设置有男女更衣室、脱鞋间，主要用于实验前后的更换实验服，建筑面积共 10m ² 。	厂区更衣室主要设置在菌种生产区入口处，设置有更衣室、脱鞋间，主要用于实验前后的更换实验服，建筑面积共 10m ² 。	与环评一致
	登记室		位于菌种室北侧，主要用于外购菌种、其他进入菌种室的菌种和药品的登记，建筑面积约 5m ² 。	位于菌种室北侧，主要用于外购菌种、其他进入菌种室的菌种和药品的登记，建筑面积约 5m ² 。	与环评一致
	接收室		位于登记室室东侧，主要用于菌种接收和简单处理，建筑面积约 5m ² 。	位于登记室室东侧，主要用于菌种接收和简单处理，建筑面积约 5m ² 。	与环评一致
储运工程	成品仓库		位于无菌室东侧，用于储存成品，成品仓库中设置有冰箱，成品批次暂存于冰箱中，温度设置为-18℃，成品仓库建筑面积约 44m ² 。	位于无菌室东侧，用于储存成品，成品仓库中设置有冰箱，成品批次暂存于冰箱中，温度设置为 2-8℃，成品仓库建筑面积约 44m ² 。	/
	菌种室		位于更衣室东侧，主要用于储存菌种，建筑面积约 11m ² 。	位于更衣室东侧，主要用于储存菌种，建筑面积约 11m ² 。	与环评一致
	原料仓库		位于纯水机房东侧，用于储存原料，建筑面积 78m ² 。	位于纯水机房东侧，用于储存原料，建筑面积 78m ² 。	与环评一致
	化学品库		位于原料仓库西北角，用于存放化学药品，建筑面积 8m ² 。	位于原料仓库西北角，用于存放化学药品，建筑面积 8m ² 。	与环评一致
	一般固废暂存间		本项目设置 1 处一般固废暂存间，位于危废暂存间西侧，用于一般固废暂存，建筑面积 5m ² 。	本项目设置 1 处一般固废暂存区，位于危废暂存间西侧，用于一般固废暂存，建筑面积	与环评一致

工程类别	单项工程名称	环评工程内容及规模	本次实际工程内容及规模	备注
			5m ² 。	
	危废暂存间	本项目设置 1 处危废暂存间，位于一般固废暂存间东侧，主要用于存放危废，建筑面积 8m ² 。	本项目设置 1 处危废暂存间，位于一般固废暂存间东侧，主要用于存放危废，建筑面积 8m ² 。	与环评一致
公用工程	供水	项目用水由内市政供水管网供给，年用水量为 78.6273t/a。	项目用水由内市政供水管网供给。	/
	纯水房	本项目生产过程中所需纯水由厂区内设置纯水机房生产供应，纯水机房内设置 2 台纯水制备装置，产水流速分别为 3L/min 和 2L/min，项目纯水用量约 29.9125t/a，纯水机房位于成品仓库东侧，建筑面积 28m ² 。	本项目生产过程中所需纯水由厂区内设置纯水机房生产供应，纯水机房内设置 1 台纯水制备装置，产水流速为 3L/min，纯水机房位于成品仓库东侧，建筑面积 13m ² 。	设置 1 台纯水制备装置，纯水机房建筑面积减小
	排水	雨污分流，雨水收集后进入市政雨水管网，污水收集后接入市政污水管网，废水排放量为 39.94368t/a。	雨污分流，雨水收集后进入市政雨水管网，污水收集后接入市政污水管网。	/
	供电	采用市政供电电网供电，年用电量 2 万 kwh。	采用市政供电电网供电。	/
	公辅设备间	位于厂区东侧，原料仓库南侧，主要包括电井、空调管井和排烟井，建筑面积 20m ² 。	位于厂区东侧，原料仓库南侧，主要包括电井、空调管井和排烟井，建筑面积 20m ² 。	与环评一致
	货物周转运输	厂区内设置货梯，用于货物周转。	厂区内设置货梯，用于货物周转。	与环评一致
环保工程	废气治理	①质检过程涉及生物安全作业均在超净工作台内进行，超净作业台自带高效过滤器，产生的少量气溶胶废气、HCl 和有机废气，少量气溶胶废气经过自带高效过滤器处理后通过排气筒 25m 高 DA001 外排，HCl 和有机废气通过“碱洗+二级活性炭吸附”净化装置处理后经 25m 高排气筒排放（DA001）”； ②细胞发酵培养过程均在密闭发酵罐内进行作业，菌体发酵培养过程中产生的臭气经发酵罐的排气口处小型高效过滤器处理后排放； ③配液灭菌室、菌体破碎离心室、纯化室、危废暂存间、研发实验室、理化试验室等设置整体抽	①质检过程涉及生物安全作业均在超净工作台内进行，超净作业台自带高效过滤器，产生的少量气溶胶废气、HCl 和有机废气，经“碱洗+干燥+二级活性炭吸附”净化装置处理后通过 25m 高排气筒（DA001）排放； ②大肠杆菌发酵培养过程均在密闭发酵罐内进行作业，菌体发酵培养过程中产生的臭气经“碱洗+干燥+二级活性炭吸附”净化装置处理后通过 25m 高排气筒（DA001）排放； ③配液间、接种间、发酵间、分离间、纯化间、危废暂存间设置抽气装置，采用微负压收集，研发区设置通风橱，废气经收集后引至楼顶经	发酵罐排气口未设置小型高效过滤器，菌体发酵培养过程中产生的臭气经“碱洗+干燥+二级活性炭吸附”净化装置处理后通过 25m 高排气筒（DA001）排放

工程类别	单项工程名称	环评工程内容及规模	本次实际工程内容及规模	备注
		风装置，产生废气收集后经过空气净化系统处理（中/高效过滤装置）后引至楼顶经“碱洗+二级活性炭吸附”净化装置处理后经 25m 高排气筒排放（DA001）。 ④厂区内生产区设置空调净化系统，生产区产生废气经空调系统收集处理后排放。	过 1 套“碱洗+干燥+二级活性炭吸附”净化装置处理，通过 25m 高排气筒（DA001）排放。 ④厂区内生产区设置空调净化系统，生产区产生废气经空调系统收集处理后排放。	
	废水治理	本项目主要有生产工艺废水、员工办公生活污水；含活性成分的生产工艺废水经高温灭活后进入厂区内实验室废水处置一体机进行处理，处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度净化。生活污水经化粪池预处理达到合肥西部组团污水处理厂的接管标准以及《生物工程类制药工业水污染物排放标准》（GB21907-2008）中表 2 新建企业污染物排放限值要求后，接入市政污水管网，经污水处理厂处理达到《巢湖流域城镇污水处理厂和工业行业主要水污染物排放限值》（DB34/2710-2016）标准要求后排到派河。	本项目主要有生产工艺废水、员工办公生活污水；涉及菌体的容器/器皿先通过高压灭菌锅灭活后再清洗，过程中产生清洗废水与不涉及生物活性的设备排水、润洗废水、保洁废水、浓水一并进入厂区内实验室废水处置一体机进行处理，处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理。生活污水经化粪池预处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理。废水排放执行合肥西部组团污水处理厂接管限值以及《生物工程类制药工业水污染物排放标准》（GB21907-2008）中表 2 新建企业污染物排放限值要求。	设备排水、润洗废水、保洁废水、浓水不涉及生物活性，不进行高温灭菌
	噪声治理	选用低噪声设备、设置减震基础、厂房隔声，使厂界噪声达标	选用低噪声设备、设置减震基础、厂房隔声，使厂界噪声达标	与环评一致
	固废处置	①危险废物：生产过程中产生的废试剂混合液（废缓冲液、废洗脱液、废培养基、废发酵液、质检废液、废消毒液和废试剂）、实验废物、废蔗糖、废活性炭、废层析介质、废层析柱等沾染生物成分的废液高温灭菌后密封桶装暂存于危废暂存间，喷淋塔废液、废活性炭等危险废物收集后暂存于危废暂存间，废滤芯定期更换时由生产厂家回收，危废暂存间内暂存危废定期委托有资质的单位进行处理。 ②一般固废：废 RO 膜、废离子交换树脂和废	①危险废物：分离纯化废液、废培养基、废发酵液、质检废液、废消毒液、实验废物包括（废吸头、废称量纸、废过滤膜、废药瓶、废透析袋、废注射器和废冻存管）、废层析柱、废蔗糖、废过滤层析介质等经高温灭菌后密封暂存于危废暂存间，废活性炭、喷淋塔废液收集后暂存于危废暂存间，定期交由有资质单位处理处置；废滤芯定期更换后交由厂家回收。 ②一般固废：废 RO 膜、废离子交换树脂和	与环评一致

工程类别	单项工程名称	环评工程内容及规模	本次实际工程内容及规模	备注
		过滤膜由厂家更换后带走处理，废包装材料等一般固废收集后暂存于一般固废库，定期交由物资综合利用单位处理。 ③生活垃圾：收集后委托环卫部门统一清运。	废过滤膜由厂家更换后带走处理，废包装材料、废标签纸等一般固废收集后暂存于一般固废库，定期交由物资综合利用单位处理。 ③生活垃圾：收集后委托环卫部门统一清运。	
	风险防范	①全盟电力科技园已设置容积 792m³ 的事故池 1 座，本项目事故废水依托园区现有事故池，同时设置事故废水截断措施。②危废库采取重点防渗措施。	①2025 年 3 月 19 日，安徽诺为生物技术有限公司完成企业突发环境事件应急预案备案工作，风险级别为一般风险，备案编号为 340171-2025-015L；企业自建了一座 1000m³ 的事故池，位于负一楼，并设置了事故废水截断措施。②危废库已采取重点防渗措施。	企业自建了一座 1000m³ 的事故池
	地下水防治	重点防渗区防渗要求为等效黏土防渗层 Mb≥6.0m，K≤1×10 ⁻⁷ cm/s；或 2mm 厚高密度聚乙烯，或至少 2mm 厚的其它人工材料，渗透系数 K≤1×10 ⁻¹⁰ cm/s；或参照 GB18597-2023 执行。一般防渗区防渗要求为等效黏土防渗层 Mb≥1.5m，防渗系数 k≤1×10 ⁻⁷ cm/s；或参照 GB16889 执行；	重点污染防治区主要包括危险废物暂存间、化学品库、原料仓库、纯化室、研发区等，地面采用环氧树脂地坪进行防渗、防腐处理，设置等效黏土防渗层 Mb≥6.0m，K≤1×10 ⁻⁷ cm/s 的防渗层；一般防渗区主要包括一般固废间、接种间、发酵间、分离间、菌种室、培养室及其他生产区、生产区通道等，设置等效黏土防渗层 Mb≥1.5m，K≤1×10 ⁻⁷ cm/s 的防渗层；简单防渗区主要办公区、纯水房、其他公共区域等，做一般地面硬化	与环评一致

3.3 主要原辅材料及设备

3.3.1 产品方案

厂区内设置 1 条酶制剂生产线，主要从事酶制剂生产，项目生产的酶制剂主要为体外诊断的医疗原料酶，酶制剂一用于糖化血红蛋白检测（糖尿病），酶制剂二用于同型半胱氨酸检测（心血管疾病），酶制剂三用于肌酸激酶检测（心肌炎），酶制剂四用于血清氨基转移酶活性检测（肝功）项目，本项目主要产品方案见下表。

表 3.3-1 本项目产品方案一览表

序号	生产线名称	产品名称	环评年设计产能（g）	实际年设计产能（g）	性状	备注
1	酶制剂生产线	酶制剂一	350	350	固态粉状	产品外售
2		酶制剂二	50	50	固态粉状	产品外售
3		酶制剂三	50	50	固态粉状	产品外售
4		酶制剂四	50	50	固态粉状	产品外售
合计			500	500	/	/

3.3.2 主要原料及用量

项目生产过程中使用的主要原辅材料情况见表 3.3-2:

表 3.3-2 主要原辅材料使用情况一览表

序号	原辅料名称	环评年耗量 (kg)	实际年耗量 (kg)	形态	规格	一次最大 贮存量	位置
1	酵母提取物 (99%)	65.54	67	固态	500g/瓶	5.5kg	原料仓库
2	蛋白胨 (99%)	91.32	89.3	固态	250g/瓶	7.75kg	原料仓库
3	氨苄青霉素 (99%)	0.4158	0.3	固态	25g/瓶	0.075kg	化学品库
4	2-巯基乙醇 (99%)	1.2036	1.2	液态	500ml/瓶	500ml	化学品库
5	丙烯酰胺 (98%)	3	3	固态	500g/瓶	2.5kg	化学品库
6	博来霉素 (99%)	0.0453	0.04	固态	50g/瓶	0.05kg	化学品库
7	冰醋酸 (99.8%)	42	40	液态	500ml/瓶	13.5L	化学品库
8	蛋白酶 (99%)	0.2	0.2	固态	25g/瓶	0.1kg	菌种室
9	二硫苏糖醇 (99%)	1.848	1.8	固态	1kg/瓶	2kg	原料仓库
10	甘氨酸 (99%)	37.6	39	固态	500g/瓶	3.5kg	原料仓库
11	甘油 (99.5%)	171.67088	172	液态	25kg/桶	50kg	原料仓库
12	过硫酸铵 (98.5%)	0.02	0.02	固态	500g/瓶	0.5kg	化学品库
13	谷胱甘肽 (99%)	0.3	0.4	固态	100g/瓶	0.1kg	原料仓库
14	三羟甲基氨基甲烷 (99.5%)	41.602	42	固态	25kg/袋	25kg	化学品库
15	甲醇 (99.9%)	130.1195	127	液态	500ml/瓶	30kg	化学品库
16	考马斯亮蓝 (99%)	0.5	0.5	固态	500g/瓶	0.5kg	原料仓库
17	磷酸二氢钾 (99.5%)	16.2	16	固态	1kg/瓶	6kg	化学品库
18	磷酸氢二钠 (98%)	16.2	15	固态	1kg/瓶	6kg	化学品库
19	硫酸镁 (99%)	4.05	4.0	固态	100g/瓶	1.4kg	化学品库
20	硫酸钠 (99%)	2.025	2	固态	500g/瓶	1kg	化学品库
21	硫酸镍 (99%)	4.48	4	固态	500g/瓶	1.5kg	化学品库
22	氯化铵 (99.5%)	12.15	12	固态	500g/瓶	4.5kg	化学品库

23	氯化钙（96%）	2.652	2.6	固态	500g/瓶	1kg	化学品库
24	氯化镁（99%）	2.28	3	固态	500g/瓶	1kg	化学品库
25	氯化钠（99%）	212.4	212	固态	500g/瓶	20kg	原料仓库
26	麦芽糖（99%）	0.5	0.5	固态	500g/瓶	0.5kg	原料仓库
27	咪唑（99%）	54.48	54	固态	100g/瓶	3.5kg	化学品库
28	尿素（99%）	9.6	9.7	固态	500g/瓶	2.5kg	化学品库
29	葡萄糖（99%）	11.265	10.9	固态	1kg/瓶	4kg	原料仓库
30	七水合硫酸亚铁（99%）	6.72	6.3	固态	500g/瓶	1kg	化学品库
31	氢氧化钠（99%）	0.2	0.19	固态	500g/瓶	0.5kg	化学品库
32	琼脂粉（99%）	0.21	0.2	固态	500g/瓶	0.5kg	原料仓库
33	乳糖（99%）	202.5	200	固态	25kg/桶	75kg	原料仓库
34	十二烷基硫酸钠（99%）	2.036	2	固态	500g/瓶	1kg	化学品库
35	四甲基乙二胺（99%）	0.02	0.02	液态	250ml/瓶	0.25L	化学品库
36	溴酚蓝（99%）	0.0008	0.001	固态	10g/瓶	10	化学品库
37	亚甲基双丙烯酰胺（98%）	0.1	0.08	固态	100g/瓶	0.1kg	化学品库
38	盐酸（37%）	24.63776	24	液态	500ml/瓶	6L	化学品库
39	盐酸胍	114.6	113	固态	500g/瓶	4.5kg	化学品库
40	乙二胺四乙酸二钠（99%）	10.08	10	固态	250g/瓶	1.25kg	化学品库
41	带有酶制剂表达基因的大肠杆菌菌种	3	3	固态	2mL 冻存管	3 支	菌种室
42	带有酶制剂表达基因的质粒的酵母菌	1	1	固态	2mL 冻存管	1 支	菌种室
43	蔗糖	500	497	固态	5kg/袋	45kg	原料仓库
44	无水乙醇（98%）	157.86	158	液态	500ml/瓶	10L	化学品库
45	蛋白 Marker	1	1	液态	10ml/支	5 支	菌种室
46	质粒小量提取试剂	5	5	固态	20g/盒	5 盒	菌种室
47	胶回收试剂	5	4	固态	20g/盒	5 盒	菌种室
48	BSA（牛血清白蛋白）（98%）	0.1	0.1	固态	100g/瓶	100g	菌种室
49	琼脂糖（99%）	0.1	0.1	固态	100g/瓶	100g	研发实验室

50	FAD（黄素腺嘌呤二核苷酸）（98%）	0.1	0.1	固态	100g/瓶	100g	菌种室
51	磷酸吡哆醛（PP）（99%）	0.1	0.1	固态	100g/瓶	100g	研发实验室
52	三氯乙酸（99%）	0.1	0.1	固态	100g/瓶	100g	研发实验室
53	茚三酮（99%）	0.1	0.1	固态	100g/瓶	100g	研发实验室
54	丙酮酸（99%）	0.1	0.09	固态	100g/瓶	100g	研发实验室
55	异丙醇（99.9%）	0.1	0.1	固态	100g/瓶	100g	研发实验室
56	山梨醇（99%）	0.1	0.1	固态	100g/瓶	100g	研发实验室
57	DNA 染料（100%）	0.1	0.14	固态	100g/瓶	100g	研发实验室
58	硼酸（99.9%）	0.1	0.1	固态	100g/瓶	100g	研发实验室
59	NADH（烟酰胺腺嘌呤二核苷酸）（99%）	0.1	0.1	固态	100g/瓶	100g	研发实验室
60	NADPH（烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸）（99%）	0.1	0.1	固态	100g/瓶	100g	研发实验室
61	草酰乙酸（99%）	0.1	0.1	固态	100g/瓶	100g	研发实验室
62	过氧化物酶（100%）	0.1	0.1	固态	100g/瓶	100g	研发实验室
63	TritonX100	0.1	0.1	固态	100g/瓶	100g	研发实验室
64	二氧化碳	16.9141	16.5	液态	5kg/瓶	2 个瓶	原料仓库
65	氧气	2.9298	2.7	液态	5kg/瓶	1 个瓶	原料仓库

3.3.3 主要仪器设备

本项目主要生产设备详见表 3.3-3~3.3-4:

表 3.3-3 主要生产设备一览表 (环评)

序号	位置	设备名称	数量 (台/套)	功能	备注
1	纯水机房	纯水设备	1	制备纯水	产水流速: 3L/min
2		实验室废水处置一体机	1	工艺废水处理	200L/d
3	菌种室	超低温冰箱	1	贮存菌种	500L
4		超净台	1		15000×1000×2000mm
5	配液灭菌室	高压灭菌锅	1	高温灭菌	70L, 罐体材质不锈钢, 470×528×1003mm
6		超声波清洗仪	1	清洗	22.5L, 500×300×150mm
7		大量程天平	1		量程 5kg, 精度 0.1g
8		纯水仪	1	制备纯水	产水流速: 2L/min, 500×500×250mm
9		通风橱	1	安全防护	规格: 2000×1500mm×2000mm
10		恒温干燥箱	1	干燥	60L
11		冰箱	1	贮存	250L
12		磁力搅拌器	1	搅拌	200×200×100mm
13		pH 计	2	检测	/
14	接种小量培养室	超净台	1	接种、小量培养	1500*1000*2000mm
15		恒温水浴锅	1		室温~100℃
16		小型台式离心机(常温)	1		225×243×352mm
17		恒温培养箱	1		双层, 温度范围: 4~60℃, 500×500×1000mm
18		小摇床	1		温度范围: 4~60℃, 1000*1000*1500mm
20		大摇床	1		双层, 温度范围: 4~60℃; 1500×1000*1500mm
21		冰箱	1		250L
22		分光光度计	1		1000*500*300mm
23		酒精灯	2		/
24	发酵培养室	小发酵罐	3	发酵培养	3L
25		中发酵罐	2		50L
26	收菌室	大容量离心机	1	收菌	最大有效容量 9 升, 内腔不锈钢, 860×710×860mm
27		冷冻冰柜	1		300L
28		大量程天平	1		量程 5kg, 精度 0.1g
29	菌体破碎离心室	高压破碎仪(配冷却水循环机)	1	菌体破碎、离心	流量 6L/h, 功率 2.2kW
30		大量程天平	1		量程 5kg, 精度 0.1g
31		制冰机	1		502×622×780mm
32	纯化室	中空纤维系统	1	过滤、蛋白质柱层析、浓缩	处理量 20~10000L; 滤膜面积: 0.92~52m ²
33		层析柜	1		1450L, 1500×900×20mm
34		蠕动泵	1		285×107×180mm

35		台式离心机 (小型冷冻高速)	1		不锈钢内胆, 330×295×445mm
36		蛋白纯化仪	1		流速: 0.001~100.000ml/min, 压力: 0~10MPa, 收集器: 13mm, 90 管
37		冰箱	1		250L
38		层析柱	20 个		20mL, 200mL
39		凝胶填料	10 瓶		每瓶 1L
40	冷冻干燥	冻干机	1	冷冻干燥	780×520×480mm, 冷凝温度 -58/-88℃,
41	外包间	精密天平	1	包装	量程 200g, 精度 0.0001g
42		封盖机	1		200×245×540mm
43	理化室	电泳仪	1	质检	295×235×95mm
44		垂直电泳槽	1		300×160×300mm
45		脱色摇床	1		350×250×150mm
46		通风橱	1		2000×1500×2000mm
47		微波炉	1		300×500×400mm
48		紫外可见分光光度计	1		470×370×180mm
49		恒温水浴锅	1		容积: 2.1L×3, 内胆尺寸: 150×125×110mm, 外形尺寸: 490×245×310mm, 控温范围: 室温~ 99℃
50	研发实验室	PCR 仪	1	研发	470×340×260mm
51		水平电泳槽	1		365×165×130mm
52		台式浓缩离心机	1		不锈钢内胆, 362×625×660mm
53		高速冷冻离心机	1		不锈钢内胆, 860×710×860mm
54		超声破碎仪	1		电源机箱尺寸:430×255×300mm, 隔 音箱尺寸:345*340*570mm
55	成品仓库	冰箱	1	成品暂存	250L
56	生产区	风机	3	废气收集	1000m ³ /h

表 3.3-4 主要生产设备一览表 (实际)

序号	位置	设备名称	数量(台/套)	功能	备注
1	纯水机房	超纯水机	1	制备纯水	产水流速: 3L/min
2		实验室废水处置一体机	1	工艺废水处置	200L/d
3	菌种间	超低温冰箱	1	贮存菌种	500L
4	配液间	高压灭菌锅	1	高温灭菌	70L, 罐体材质不锈钢, 470×528×1003mm
5		超声波清洗器	1	清洗	22.5L, 500×300×150mm
6		天平	1	称量	精度 0.01g
7		恒温干燥箱	1	干燥	60L
8		冰箱	1	贮存	308L

9		大容量磁力搅拌器	1	搅拌	200×200×100mm
10		pH 计	1	检测	/
11	接种间	超干净工作台	1	提供无尘、无菌工作环境	1500*1000*2000mm
12		知楚摇床	1	培养	双层,温度范围: 4~60℃; 1500×1000*1500mm
13		冰箱	1	贮存	308L
14		分光光度计(可见光)	1	测量可见光下的吸收、透射和反射现象	1000*500*300mm
15		蒸汽发生器	1	加热, 蒸发	额定蒸汽压力: 0.7Mpa
16	发酵间	发酵罐	1	发酵培养	50L
17	设备间	静音无油空压机	1	空气压缩, 提供纯净气源	560*600*920mm
18		冷水机组	1	冷却水温	总功率:3.27KW
19		冷干机, 过滤器及空气加热系统	1	冷冻或加热空气, 干燥, 过滤	780×520×480mm, 冷凝温度-58/-88℃, 加热 50℃
20	分离间	台式离心机	1	分离液体混合物中的固体颗粒或液体成分	225×243×352mm
21		涡旋混合器	1	使溶液快速、充分的混合	功率: 40w; 最高转速: 2800rpm
22		冷冻冰柜	1	低温贮存	300L
23		冷冻离心机	1	溶液分离、浓缩或提纯	不锈钢内胆, 860×710×860mm
24		高压均质机(配工业冷水机)	1	菌体破碎、离心	流量 6L/h, 功率 2.2kW
25	纯化间	中空纤维系统	1	过滤	处理量 20~10000L; 滤膜面积: 0.92~52m ²
26		层析柜	1	冷藏保存	1450L, 1500×900×20mm
27		大容量磁力搅拌器	1	搅拌、蛋白质柱层析、浓缩	200×200×100mm
28		紫外分光光度计	1	质检	470×370×180mm
29		制冰机	1	制冰	502×622×780mm
30		蠕动泵	1	定量或计量输送、分配	285×107×180mm
31	冷冻干燥	冻干机	1	冷冻干燥	780×520×480mm, 冷凝温度-58/-88℃,
32		精密天平	1	包装	量程 200g, 精度 0.0001g
33		封盖机	1	/	200×245×540mm
34	研发区	天平	1	称量	精度 0.01g
35		水平脱色摇床	1	电泳凝胶分离谱带的固定, 考马斯蓝染色和脱色时的振荡摇晃, 染色的固定、染色、显影等	350×250×150mm

36		分光光度计 (可见光)	1	测量可见光下的吸收、透 射和反射现象	1000*500*300mm
37		电泳仪	1	适用于普通蛋白, 核算电 泳, 并适宜一机多槽	295×235×95mm
38		通风橱	1	排风排气	规格: 2000×1500mm×2000mm
39		金属加热块	1	精确控制温度	输出功率:60.0w
40		垂直电泳槽	1	凝胶电泳	300×160×300mm
41		冰箱	1	贮存	308L
42		微波炉	1	解冻、加热	300×500×400mm
43		恒温水浴锅	1	蒸发、干燥、浓缩、恒温 加热	容积: 2.1L×3, 内胆 尺寸: 150×125×110mm, 外 形尺寸: 490×245×310mm, 控 温范围: 室温~99°C
44	培养间	恒温培养箱	1	接种、小量培养	双层, 温度范围: 4~ 60°C, 500×500×1000mm
45	成品库	冷藏展示柜	1	贮存	有效容积: 304L
46	原料库	冰箱	1	贮存	308L
47	废水在线 监测站房	COD 在线监 测仪	1	监测水体中 COD 的浓度 变化, 实时监测和数据记 录	(0-100) mg/L
48		氨氮在线监 测仪	1	快速、准确的监测废水中 氨氮含量	(0-1000) mg/L

备注: 部分设备型号及放置位置发生变化, 不影响产品生产及产能变化。

3.4 水源及水平衡

本项目给水由高新区市政给水管网供给, 给水分为: 生活给水系统、生产给水系统。项目主要用水工序包括纯水制备用水、试剂调配用水、设备用水、润洗用水、清洗用水、保洁用水、质检用水、喷淋塔补水和办公生活用水等。本项目废水主要包括生产工艺废水、员工办公生活污水; 涉及菌体的容器/器皿先通过高压灭菌锅灭活后再清洗, 过程中产生清洗废水与不涉及生物活性的设备排水、润洗废水、保洁废水、浓水一并进入厂区内实验室废水处置一体机进行处理, 处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理。生活污水经化粪池预处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理。废水排放执行合肥西部组团污水处理厂接管限值以及《生物工程类制药工业水污染物排放标准》(GB21907-2008) 中表 2 新建企业污染物排放限值要求。

本项目水平衡详见图 3.4-1:

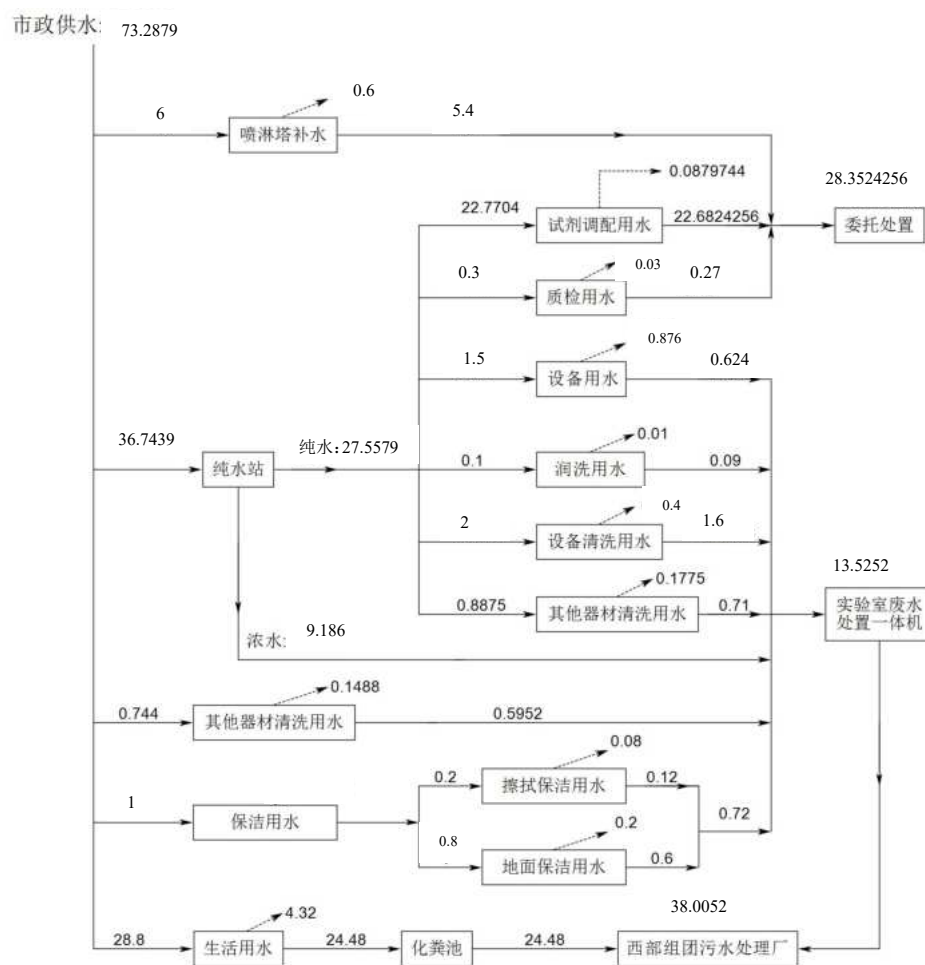


图 3.4-1 本项目水平衡图 (t/a)

3.5 生产工艺

3.5.1 项目生产工艺流程分析

项目主要从事酶制剂的生产，项目设 1 条酶制剂生产线，年产酶制剂 500g，具体生产工艺见如下分析。

工艺说明：拟建项目生产的酶制剂采用外购带有酶制剂表达基因的大肠杆菌和带有酶制剂表达质粒的酵母菌为原料，然后通过菌种复苏和小量培养、发酵培养、菌体收集、菌体破碎、低温离心、过滤分离、亲和层析、离子交换层析、分子筛纯化、换液和浓缩、冷冻干燥、分装、质检及密封包装等工序产出酶制剂成品。

本项目主要生产 4 种酶制剂，主要原料均为大肠杆菌、带有酶制剂表达基因的质粒和带有酶制剂表达质粒的酵母。

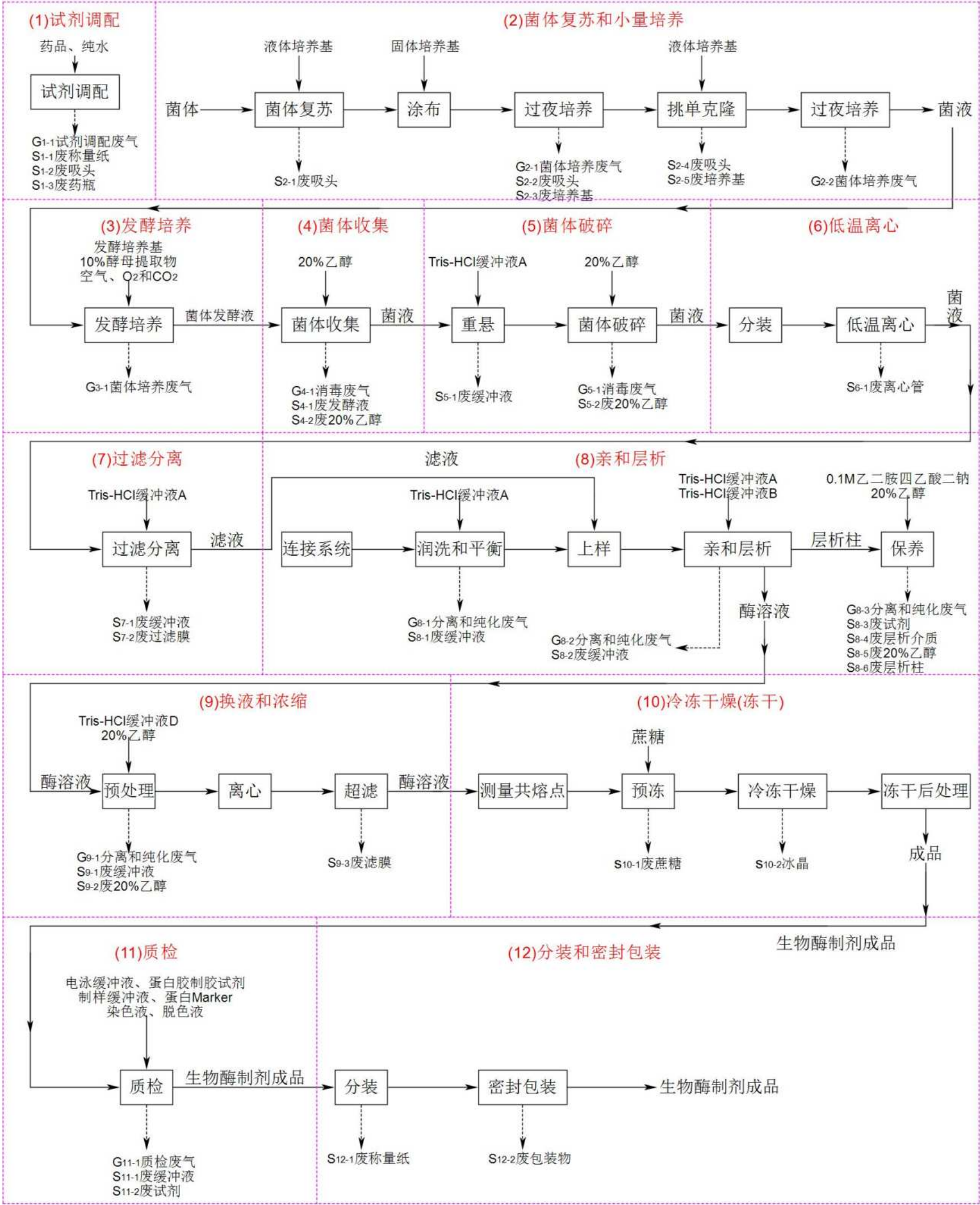


图 3.5-1 项目生物酶制剂生产工艺流程图

(一) 酶制剂一生产工艺流程及产污环节

(1) 试剂调配

该工序主要调配的试剂包括液体培养基、固体培养基、发酵培养基、Tris-HCl 缓冲液 A、Tris-HCl 缓冲液 B、电泳缓冲液、染色液、脱色液、0.1M 硫酸镍、0.1M 乙二醇四乙酸二钠、0.1M 氢氧化钠、蛋白胶制胶试剂、制样缓冲液、10%酵母提取物、20%乙醇等。上述试剂配置过程中主要产生 G1-1 试剂调配废气，S1-1 废称量纸、S1-2 废吸头、S1-3 废药瓶。

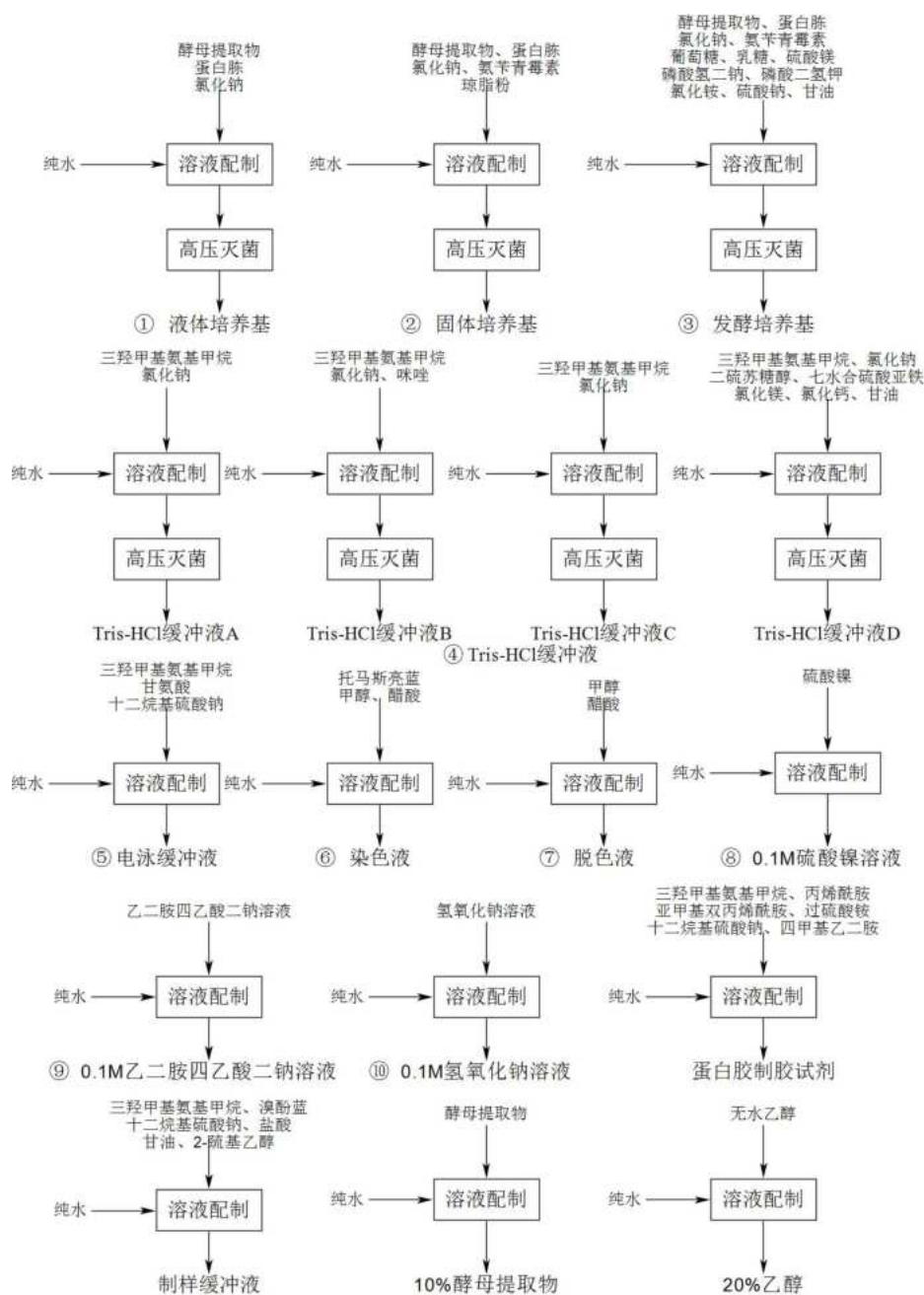


图 3.5-2 项目试剂配置工艺流程示意图

①液体培养基配置

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)依次称取 5g 酵母提取物(99%)、10g 蛋白胨(99%)、10g 氯化钠(99%)和 0.1g 氨苄青霉素, 逐次将上述药品依次放入烧杯中, 加入适量纯水, 使用磁力搅拌器加热搅拌直至烧杯中药品溶解。将溶解后药品缓慢倒入容量瓶中, 加入纯水定容至 1L 后混匀静置, 转入试剂瓶中。

将配置好的液体培养基拧松盖子后置于高压灭菌锅内, 设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa, 灭菌时间为 15~20min, 当高压灭菌锅显示锅内温度达到 121℃ 时开始计时, 使温度稳定在 121℃ 以上, 灭菌完成后, 切断电源, 让高压灭菌锅自然冷却, 当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa, 培养基冷却至 50℃ 以下(手持瓶子可感觉热, 但能握得住), 然后置于 4℃ 冰箱保存。

高压灭菌锅工作原理: 通过电热丝加热升温, 产生蒸汽, 并保持在一定的温度压力下达到杀菌的目的。

构成: 高压灭菌锅由罐体、压力表、罐盖、排气阀、安全阀以及电热丝组成, 压力表主要是指示压力的, 排气阀是用来排气, 调节罐内压力的, 安全阀主要是防止压力过高的, 当压力过高, 安全阀就会打开排气; 电热丝是用来加热。

使用方法:

高压灭菌锅的整体使用流程: 加水——堆放——密封——设定灭菌温度及时间——加热(排放冷空气)——灭菌——结束

1)加水: 打开灭菌器盖, 取出灭菌桶, 向容器内注入蒸馏水至水位线标志处;

2)堆放: 堆放时物品之间应保持适当空隙;

3)密封: 物品堆放好后, 将灭菌器盖盖好, 将手轮按顺时针方向旋紧, 使盖与口密合, 但不宜太紧, 以免损坏密封圈;

4)设定灭菌温度及时间: 调节设定键设定所需灭菌温度及时间;

5)加热(排放冷空气): 接通电源, 电源指示灯及加热指示灯亮。开始加热前将放气阀旋至放气位置, 待冷空气充分逸出后, 关闭放气阀;

6)灭菌: 当温度、压力升至预置灭菌温度值时, 加热灯灭, 仪器进入恒温控制状态进行灭菌, 计时器自动计时;

7)结束: 待灭菌时间到达设置时间后, 蜂鸣器发出警报, 灭菌结束。关闭电源, 待压力降至零位时, 打开放气阀, 待蒸汽完全放出后, 打开容器, 取出灭菌物品。

注意事项:

压力蒸汽灭菌器的容器中存在着一一定的压力和温度，属于特种设备，如果使用操作不当，容易造成人身伤害事故，所以使用时应注意。经常检查灭菌器电源线的接地是否良好，以确保人身安全。

灭菌器应置于通风干燥、无易燃易爆物品的室内使用。安全阀、排气阀出厂时已校定位置，阀上的铅封及螺丝不得任意拆启。

对堆放物品不得超过总容积的 4/5 位置。密封圈切勿附油，以免损坏胶质而造成漏气。严禁对与蒸汽介质接触引起爆炸或突然升压性的化学物品灭菌。堆放灭菌器物品时，严禁堵塞安全阀、排气阀的出气孔，必须留出空位确保空气畅通，否则安全阀和排气阀因出气孔堵塞不能工作，造成事故。灭菌液体时，应将液体灌装在耐热玻璃瓶中，以不超过 3/4 体积为好，瓶口选用棉花纱塞。切勿使用打孔的橡胶或软木塞。

在灭菌结束后，不准立即释放蒸汽，必须待压力表指针回零后方可排放余气。对不同类型、不同灭菌要求的物品，如敷料和液体等，切勿放在一起灭菌，以免造成损失。压力表使用日久后，压力指示不正确或不能回复零位，应及时予以更换，平时应定期送有资质的单位进行校验，若不正常，应换上新表。安全阀应定期检查可靠性，如压力表指针已超过 0.165Mpa 时安全阀不起跳则必须立即停止使用并更换合格的安全阀。

消毒器使用时应消毒室内，有专人操作，不得在公共场所使用。插座必须装有连接地线应确保电源插头插入牢固。切勿损坏电线或使用非指定的电源线。电源线连接上的弹簧片为保护接地，应保持接触良好。安全阀和压力表使用期限满一年应送法定计量检测部门鉴定。消毒器物品之间留有间隙，顺序地堆放在消毒器内的筛板上，这样有利于蒸汽的穿透，可提高灭菌成效。加热时注意把电源线插头插紧，使插头接地铜片与护罩紧密接触，确保使用安全。加热开始时打开排气阀，消毒器内冷空气会随着加热由阀孔溢出。当阀孔有急的蒸汽冲出时，将排气阀关闭。消毒器压力达到所需范围时，适当调整或通断热源，使之维持恒压，并开始计算消毒时间，按不同的物品和包装保持所需消毒的时间。敷料、器械和器皿等消毒后需要干燥时，可在消毒终了时将消毒器内的蒸汽由排气阀排出，当压力表指针回复到零位后稍待 1~2 分钟，将盖打开，并继续加热几分钟，这样能使物品达到干燥目的。溶液培养基等若在消毒后立即放汽，会因压力突然下降引起瓶子爆破或消毒器内装溶液溢出等严重事故。所以在消毒终后不应立即放汽，

而应停止加热使其自然冷却 20~30 分钟, 使内在压力冷却而下降至零位(压力表指针回到零位)后数分钟, 将排气阀打开, 然后略微打开盖子(开一条缝), 人离开消毒室, 待其自然冷却到一定程度再取出。

②固体培养基配置

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)依次称取 1g 酵母提取物(99%)、2g 蛋白胨(99%)、2g 氯化钠(99%)、0.02g 氨苄青霉素(99%)和 3g 琼脂粉(99%), 逐次将上述药品依次放入烧杯中, 加入适量纯水, 使用磁力搅拌器加热搅拌直至烧杯中药品溶解, 将培养基煮沸后加入称量好的琼脂, 继续加热直至完全融化, 并不断搅拌, 避免琼脂糊底烧焦。将溶解后药品缓慢倒入试剂瓶, 加入纯水定容至 200ml 后混匀静置, 转入试剂瓶中。

将配置好的培养基拧松盖子后置于高压灭菌锅内, 设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa, 灭菌时间为 15~20min, 当高压灭菌锅显示锅内温度达到 121℃时开始计时, 使温度稳定在 121℃以上, 灭菌完成后, 切断电源, 让高压灭菌锅自然冷却, 当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa, 培养基冷却至 50℃以下(手持瓶子可感觉热, 但能握得住), 然后拧紧盖子, 置于 4℃冰箱保存。

③发酵培养基配置

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)依次称取 10g 酵母提取物(99%)、10g 蛋白胨(99%)、10g 氯化钠(99%)、0.1g 氨苄青霉素(99%)、0.5g 葡萄糖(99%)0.5 克、50g 乳糖(99%)、1g 硫酸镁(99%)、4g 磷酸氢二钠(98%)、4g 磷酸二氢钾(99.5%)、3g 氯化铵(99.5%)、3g 硫酸钠(99%), 5g 甘油(99.5%), 逐次将上述药品依次放入烧杯中, 加入适量纯水, 使用磁力搅拌器加热搅拌直至烧杯中药品溶解, 将培养基煮沸后加入称量好的琼脂, 继续加热直至完全融化, 并不断搅拌, 避免琼脂糊底烧焦。将溶解后药品缓慢倒入容量瓶, 加入纯水定容至 1L 后混匀静置, 转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需发酵培养基 45L, 重复上述操作 45 次, 配置发酵培养基。

将配置好的发酵培养基拧松盖子后置于高压灭菌锅内, 设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa, 灭菌时间为 25~30min, 当高压灭菌锅显示锅内温度达到 115℃时开始计时, 使温度稳定在 115℃以上, 灭菌完成后, 切断电源, 让高压灭菌锅自然冷却, 当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa, 培养基冷却至 50℃以下(手持瓶子可感觉热, 但能握得住), 然后拧紧盖子, 置于试剂架, 室温保存。

④Tris-HCl 缓冲液配置

1)Tris-HCl 缓冲液 A

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)依次称取 2.42g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、11.7g 氯化钠(99%), 逐次将上述药品依次放入烧杯中, 加入适量纯水, 用移液枪吸取 1.5ml(约 1.785g)的盐酸(37%)置入烧杯中, 使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解, 将溶解后药品缓慢倒入容量瓶, 加入纯水定容至 1L 后混匀静置, 转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需要 100LTris-HCl 缓冲液 A, 重复上述操作 100 次, 配置 100L 该缓冲液。

将配置好的缓冲液拧松盖子后置于高压灭菌锅内, 设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa, 灭菌时间为 25~30min, 当高压灭菌锅显示锅内温度达到 115°C 时开始计时, 使温度稳定在 115°C 以上, 灭菌完成后, 切断电源, 让高压灭菌锅自然冷却, 当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa, 培养基冷却至 50°C 以下(手持瓶子可感觉热, 但能握得住), 由于蒸发, 少部分水以水蒸气的形式蒸发脱离溶液, 高压灭菌后加水定容至 1L, 然后拧紧盖子, 置于试剂架, 室温保存。

2)Tris-HCl 缓冲液 B 配置

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)依次称取 2.42g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、11.7g 氯化钠(99%)个 34.05g 咪唑(99%), 逐次将上述药品依次放入烧杯中, 加入适量纯水, 用移液枪吸取 1.5ml(约 1.785g)的盐酸(37%)置入烧杯中, 使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解, 将溶解后药品缓慢倒入容量瓶, 加入纯水定容至 1L 后混匀静置, 转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需要 20LTris-HCl 缓冲液 B, 重复上述操作 20 次, 配置 20L 该缓冲液。

将配置好的缓冲液拧松盖子后置于高压灭菌锅内, 设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa, 灭菌时间为 25~30min, 当高压灭菌锅显示锅内温度达到 115°C 时开始计时, 使温度稳定在 115°C 以上, 灭菌完成后, 切断电源, 让高压灭菌锅自然冷却, 当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa, 培养基冷却至 50°C 以下(手持瓶子可感觉热, 但能握得住)。由于蒸发, 少部分水以水蒸气的形式蒸发脱离溶液, 高压灭菌后加水定容至 1L, 然后拧紧盖子, 置于试剂架, 室温保存。

⑤电泳缓冲液

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)依次称取 3.1g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、18.8g 甘氨酸(99%), 1g 十二烷基硫酸钠(99%), 逐次将上述药品依次放

入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 20L 电泳缓冲液，重复上述操作 20 次，配置 20L 该缓冲液。配置好的电泳缓冲液于阴凉处避光保存。

⑥染色液

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)称取 2.5g 托马斯亮蓝，使用量筒称取 400ml(约 316.4g)甲醇(99.9%)和 100ml(约 105g)冰醋酸(99.8%)，逐次将上述药品依次放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 2L 染色液，重复上述操作 2 次，配置 2L 染色液。配置好的染色液于阴凉处避光保存。

⑦脱色液

使用量筒称取 400ml(约 316.4g)甲醇(99.9%)和 100ml(约 105g)冰醋酸(99.8%)，逐次将上述药品依次放入烧杯中，加入适量纯水，将混匀后的药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 2L 脱色液，重复上述操作 2 次，配置 2L 该脱色液。配置好的脱色液于阴凉处避光保存。

⑧0.1M 硫酸镍溶液

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)称取 28g 硫酸镍(99%)，将上述药品放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 2L 0.1M 硫酸镍，重复上述操作 2 次，配置 2L 该溶液。配置好的 0.1M 硫酸镍溶液于阴凉处避光保存。

⑨0.1M 乙二胺四乙酸二钠溶液

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)称取 16.8g 乙二胺四乙酸二钠(99%)溶液，将上述药品放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入聚乙烯试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 2L 0.1M 乙二胺四乙酸二钠溶液，重复上述操作 2 次，配置 2L 该溶液。配置好的 0.1M 乙二胺四乙酸二钠溶液于阴凉处避光保存。

⑩0.1M 氢氧化钠溶液

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)称取 4g 氢氧化钠(99%), 将上述药品放入烧杯中, 加入适量纯水, 使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解, 将溶解后药品缓慢倒入容量瓶, 加入纯水定容至 1L 后混匀静置, 转入试剂瓶中。配置好的 0.1M 氢氧化钠溶液于阴凉处避光保存。

⑪蛋白胶制胶试剂

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)称取 100g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、150g 丙烯酰胺(98%)、5g 亚甲基双丙烯酰胺(98%)、1g 过硫酸铵(98.5%)、1g 十二烷基硫酸钠(99%)、1g 四甲基乙二胺(99%), 将上述药品放入烧杯中, 加入适量纯水, 使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解, 将溶解后药品缓慢倒入容量瓶, 加入纯水定容至 1L 后混匀静置, 转入聚乙烯试剂瓶中, 配置好的蛋白胶制胶试剂于阴凉处避光保存。

⑫制样缓冲液

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)称取 0.15g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、0.02g 溴酚蓝(99%)和 0.4g 十二烷基硫酸钠(99%), 使用移液枪吸取 0.1ml(约 0.119g)盐酸(37%)、2ml(约 2.522g)甘油(99.5%)和 0.7ml(0.7805g)2-巯基乙醇(99%), 将上述药品逐次放入烧杯中, 加入适量纯水, 使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解, 将溶解后药品缓慢倒入容量瓶, 加入纯水定容至 10ml 后混匀静置, 转入试剂瓶中, 配置好的制样缓冲液于 4℃冰箱保存。

⑬10%酵母提取物

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)称取 100g 酵母提取物(99%), 将上述药品放入烧杯中, 加入适量纯水, 使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解, 将溶解后药品缓慢倒入容量瓶, 加入纯水定容至 1L 后混匀静置, 转入聚乙烯试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 2L10%酵母提取物, 重复上述操作 2 次, 配置 2L 该溶液。配置好的 10%酵母提取物于阴凉处避光保存。

⑭20%乙醇

使用量筒量取 0.6L 无水乙醇和 2.4L 的纯水(体积比 1:5), 一同加入容量瓶中, 使用玻璃棒进行搅拌, 促使其充分混匀后静置, 储存于避光阴凉处。

(2)菌体复苏和小量培养

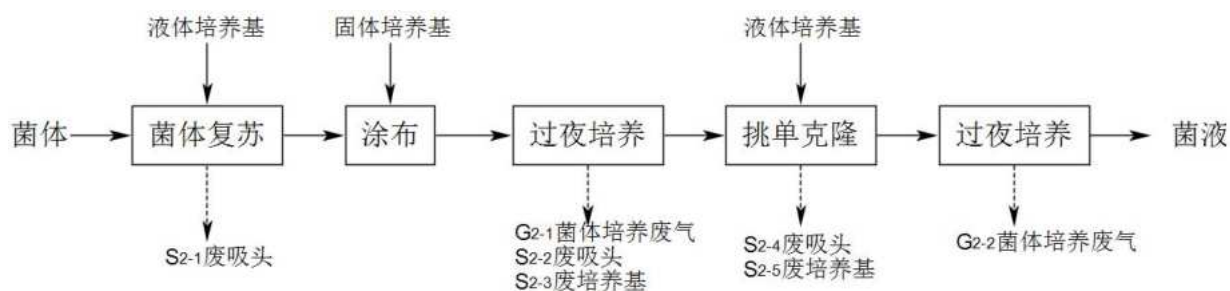


图 3.5-3 项目菌体复苏和小量培养工艺流程示意图

①菌体复苏

从超低温冰箱中拿出装有菌种的冻存管，从冻存管中抽取菌种进入离心管，并向离心管中加入液体培养基，混匀。该过程严格按照无菌操作进行，将离心管插于悬浮板中，打开摇床电源，设置温度为 37℃，转速为 200rpm，震荡培养时间为 1h，打开摇床，将悬浮板插于弹簧中，避免正当过程中脱落，开启震荡按钮，进行菌体复苏。

②涂布

菌体复苏结束后，取出悬浮板及离心管置于超净工作台内。拿出涂布有固体培养基的平板，使用移液枪吸取菌液进行涂布，点燃酒精灯，灼烧涂布棒，待涂布棒冷却后，使用涂布棒涂布，涂布过程中每 30° 旋转一次进行涂布，确保涂布均匀，该过程严格进行无菌操作。

③过夜培养

涂布结束后，打开培养箱，设置温度为 37℃，转速为 200rpm，将涂布有固体培养基和菌液的平板放置于培养箱中倒置培养过夜。

④挑单克隆

在 37℃ 培养箱过夜培养后取出平板，观察菌落数目和形态，挑选单菌落，放在超净工作台内，点燃酒精灯，准备接入液体培养基培养。取出已灭菌的液体培养基 800ml，使用移液器吸取液体培养基置于离心管中，使用移液枪挑取单菌落接入离心管中，每个管中加入甘油(99.5%)盖紧盖子后，对离心管进行标记。挑单克隆过程中严格进行无菌操作。

⑤过夜培养

挑单克隆结束后，打开摇床电源，设置温度为 37℃，转速为 200rpm，震荡培养时间为 12h，打开摇床，插于弹簧中，避免正当过程中脱落，开启震荡按钮，进

行过夜培养。

菌体复苏和小量培养工序产生废物主要包括 G2-1、G2-2 菌体培养废气、S2-1、S2-2、S2-4 废吸头、S2-3、S2-5 废培养基。

(3) 发酵培养

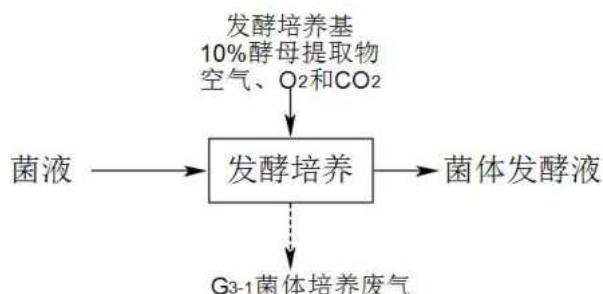


图 3.5-4 发酵培养工艺流程示意图

通过小试实验，进一步确认菌种的发酵培养条件和菌种的发酵培养结果。将过夜培养的 600ml 菌液与 40L 培养基一起接入经灭菌冷却后的 50L 发酵罐中进行扩大培养，发酵罐使用前采用乙醇进行消毒。发酵培养过程中补料：10%酵母提取物 2L。通入压缩空气、O₂ 和 CO₂，并将温度控制在 35℃±0.5℃范围，二氧化碳浓度控制在 7±1%范围内，以使菌体能够正常繁殖。

发酵培养工序主要产生废 G3-1 菌体培养废气。

(4) 菌体收集

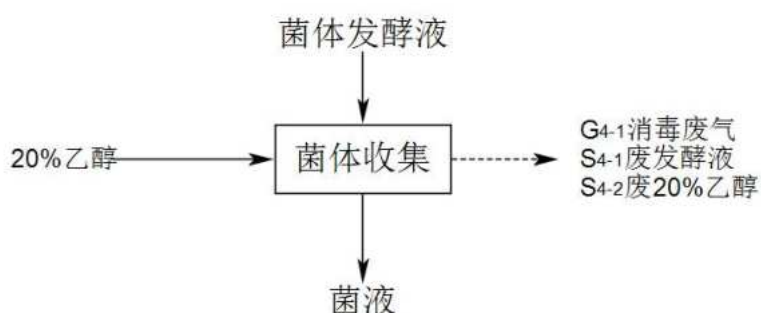


图 3.5-5 菌体收集工艺流程示意图

该工序采用管式离心机收集菌体，管式离心机利用菌体不同密度或粒度的固体颗粒在液体中，通过不同的沉降速度去进行一系列的分离。主要处理工艺原理为：菌体混合液位于转鼓中心处进料管加入转鼓，电机带动管式离心机转鼓高速旋转产生离心力，悬浮液从转鼓底部中心位置进入，在离心力场的作用下，密度较大的固体迅速沉降在转鼓内侧形成固体层，澄清的液体在转鼓中轴位置上，向上从澄清液口引出，从而实现固液分离。

接通主电源，打开开关，显示屏正常显示，待处理的菌体发酵液在一定压力($3 \times 10^4 \text{Pa}$ 左右)下由进料管经底部空心轴进入转鼓底，靠圆形折转挡板散布于鼓的四周。在转鼓内设有十字形挡板，防止液体脱离转鼓壁，液体在转鼓内由挡板被加快到转鼓速度，在离心力场下，浮浊液(或悬浮液)沿轴向上流动的过程中被分层成轻液相和重液相(或液相和固相)。并经过上方环状溢流口排出。改动转鼓上端别离环的内径可调节重液相和轻液相的分层界面。处理悬浮液时，可将管式离心剂的重液口封闭，只留有中心轻液溢流口，则固体在离心力场下沉积于转鼓壁上，到达一定数量后，停机后人工清除。

该工序主要产生 G4-1 消毒废气、S4-1 废发酵液、S4-2 废 20%乙醇。

(5)菌体破碎

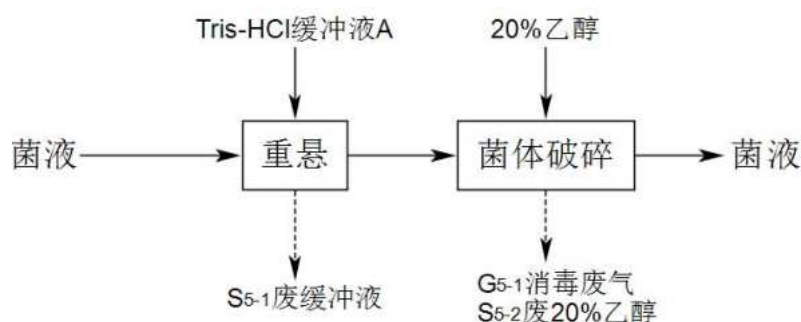


图 3.5-6 菌体破碎工艺流程示意图

将收集的菌液用 Tris-HCl 缓冲液 A 重悬后，进入细胞破碎仪(超声)，对菌体进行破碎，菌体破碎过程中要控制温度在 4°C 及以下温度，最好采用冰浴破碎。具体操作流程如下：打开细胞粉碎仪的电源开关，待指示灯亮后设定破碎时间、间隔时间、工作次数(超声 3s，间歇 2s)。根据样品量选用适配容器(试管、烧杯及离心管)，固定好后，调节隔音箱内的升降台来确定高低位置，使变幅杆末端插入样品液面 1~1.5cm 并使其在容器的中心位置，不得让变幅杆与容器壁相接触；变幅杆末端离容器一般应大于 30mm，量小时，功率开小的情况下可大于 10mm(视容器而定)。将收集的菌体用缓冲液 A 重悬后，进行破碎。破碎后使用专用的乙醇冲洗仪器进行冲洗。

该工序主要产生 G5-1 消毒废气、S5-1 废缓冲液和 S5-2 废 20%乙醇。

(6)低温离心

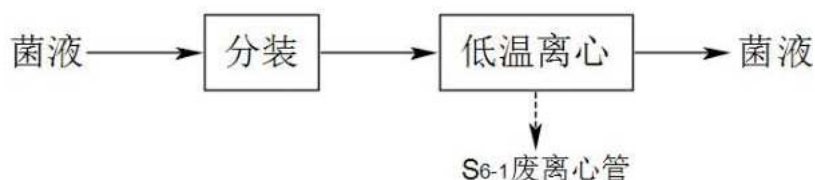


图 3.5-7 菌体低温离心工艺流程示意图

在超净工作台内，将菌体破碎后菌液分装到 50ml 离心管中，拧好瓶盖，插入冰中，重复操作。低温离心工序采用低温高速离心机，使用前预冷到 4℃，离心机采用摇篮式转子，离心机管配平后对称放置。盖上离心机盖，设置转速 4000rpm，离心时间 10min，打开开关进行离心。离心结束后观察离心管底的菌体沉淀情况(上清液和菌体沉淀)。取出离心管，将离心管插入冰内。

(7)过滤分离

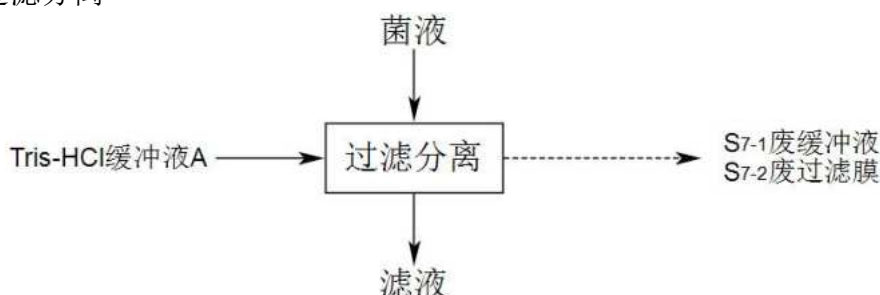


图 3.5-8 过滤分离工艺流程示意图

通过低温离心，菌液被分离成上清液和菌体沉淀，上清液中含有粗酶，利用过滤器将大分子的菌体沉淀截留在过滤器中，粗酶进入滤液中，具体如下：

低温离心的上清液和菌体沉淀混合液，利用过滤器将上清液和菌体沉淀分离，采用过滤器将菌体、菌体碎片截留在过滤材料中，上清液中的粗酶进入滤液，后续继续进行亲和层析，pH 值在 7.2~7.3 范围，过滤温度控制在 4℃ 以下，全程过滤时间约 4h。过滤分离工序采用 Tris-HCl 缓冲液 A，该过程会产生废缓冲液。

该工序主要产生 S7-1 废缓冲液和 S7-2 废过滤膜。

(8)亲和层析

亲和层析原理：将具有特殊结构的亲和分子制成固相吸附剂放置在层析柱中，当含有目的蛋白的混合液通过层析柱时，与吸附剂具有亲和能力的目的蛋白就会被吸附而滞留在层析柱中，之后采用缓冲液将其洗出，产生含目的蛋白的洗脱液进入下一工序。无亲和力的杂质蛋白质由于不被吸附，直接流出从进入废水而与目的蛋白分开。层析介质采用有机树脂，可再生循环使用，定期更换(约 1 次/年)按固废处置，更换量 5kg/次。

本工序采用镍柱亲和层析对粗酶液进行纯化。由于组氨酸是具有杂环的氨基酸，每个组氨酸含有一个咪唑(99%)集团，这个化学结构带有很多额外电子，对于带正电的化学物质有静电引力，亲和层析是利用这个原理进行吸附的。亲和配体上的阳离子(镍离子)带正电，对组氨酸有亲和作用，金属 Ni 离子有 6 个螯合价位，与 Ni-NTA 螯合了 4 个价位，剩余 2 个价位与多聚组氨酸结合，由于镍离子对多聚组氨酸有强烈的吸引力，利用固定化金属螯合层析就可分离纯化，重组蛋白。

基本流程如下：首先让收集的菌体上清液过亲和 Ni 柱，大部分杂蛋白就以穿透液的形式流出亲和柱，而含有多聚组氨酸的蛋白就被挂在或吸附在 Ni 柱上，接下来，通过洗液洗涤除去其他杂蛋白，最后选择洗脱液对组氨酸的类似物咪唑(99%)进行竞争性洗脱，就可以将挂在亲和柱上的目的蛋白回收，而获得的目的蛋白中含有咪唑(99%)分子，可以通过凝胶层析或者透析、超滤的方法将之去除。纯化蛋白的 Ni 柱有较高的载量，每毫升的 Ni 柱可以提取 5~10mg 的蛋白。

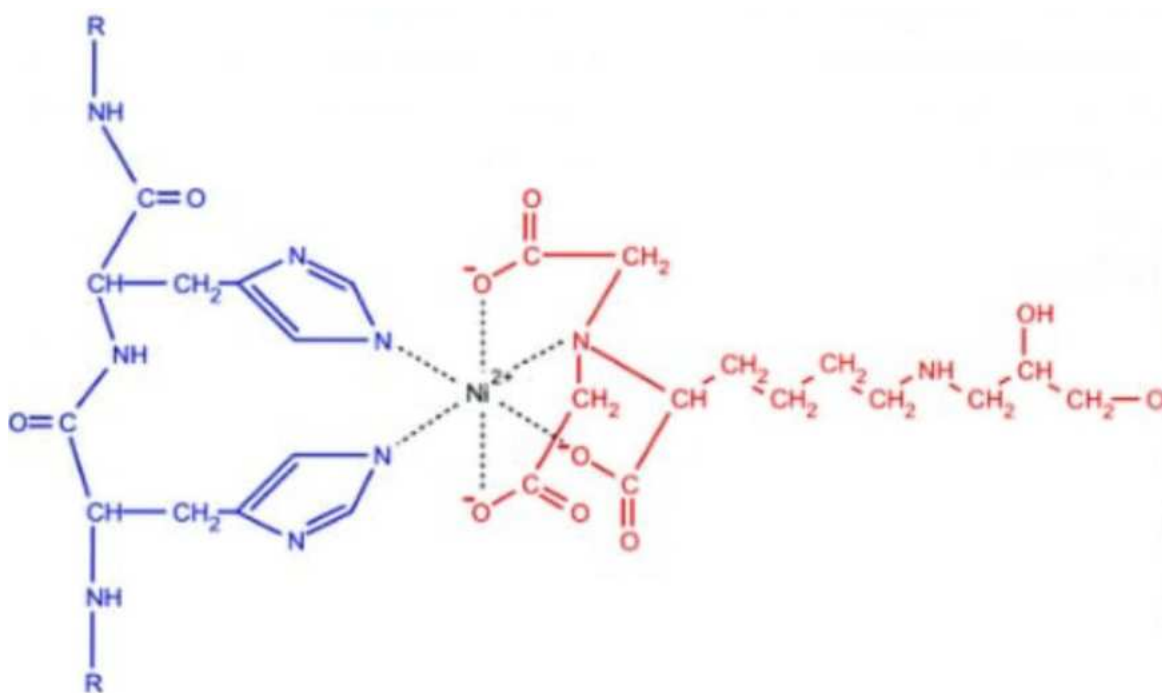


图 3.5-9 镍与组氨酸结合原理图

过滤分离获得的过滤液通过亲和层析进行初步的纯化,过滤液的 pH 值在 7.2~7.3 范围,层析操作温度控制在 4℃ 以下,层析时间约 8h。层析后有不含酶的上清废液和消毒液、平衡液、洗脱液、清洗液等产生。

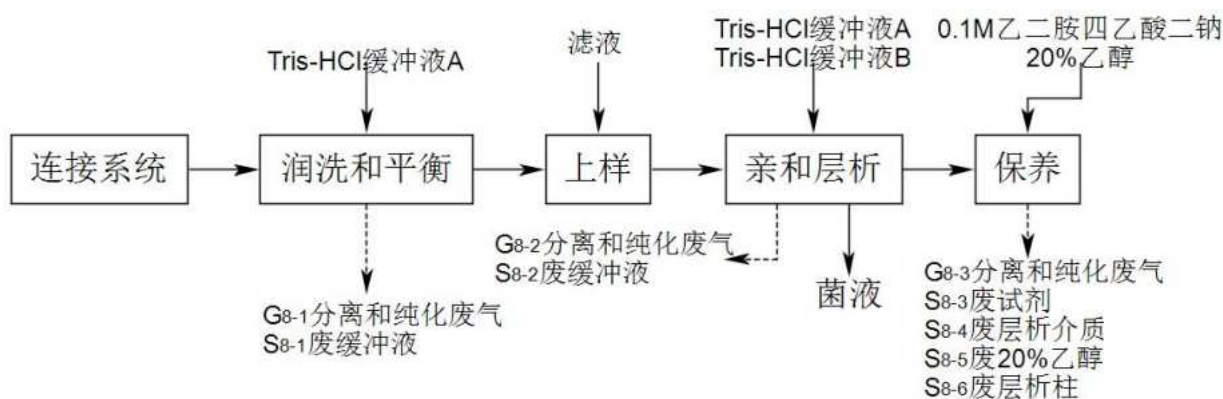


图 3.5-10 亲和层析工艺流程示意图

具体流程如下：

①确认亲和层析系统、层析柱及填料信息，连接层析系统和层析柱。

②在层析前，采用 Tris-HCl 缓冲液 A 对层析系统进行润洗和平衡，直至 pH 中性。

③将上工序的过滤液上样，上样量为柱床体积的 1%~5%，项目纯化柱规格有 20ml 和 200ml 两种，本项目过滤液的组氨酸(酶)吸附在层析柱上，其余杂质蛋白质随着细胞废液进入废水系统；过滤液上样结束后，继续用 Tris-HCl 缓冲液 A 洗涤 Ni 柱，进一步将其他杂蛋白洗去，最终采用含有咪唑(99%)的 Tris-HCl 缓冲液 B 将挂在 Ni 柱上的目的蛋白(酶)回收，目的蛋白最终在亲和层析收集液。

④亲和层析柱可再生处理循环使用，再生步骤如②、③相同。定期更换(约 1 次/年)。亲和层析柱使用层析柱料需要采用 0.1M 乙二胺四乙酸二钠冲洗后，采用 20%乙醇进行冲洗。层析介质需要更换，更换周期约 1 次/年，会产生废层析介质(5kg/次)。

镍柱进行蛋白纯化时注意事项：

- 1)避免缓冲液中有高浓度的电子供体基团，比如：甘氨酸(99%)，精氨酸等；
- 2)各种缓冲液中不能有强螯合剂，如 EDTA，EGTA 等；
- 3)各种缓冲液里不能有高浓度的强还原剂，比如 DTT，防止二价 Ni 被还原；
- 4)不能含离子型的去垢剂，比如 SDS，防止 Ni 流失；
- 5)在破碎细胞的时候建议加入蛋白酶(99%)抑制剂，比如 0.1-1mM 的 PMSF，防止目的蛋白被降解；

6)缓冲液里可以加入甘油(99.5%)，防止蛋白之间由于疏水相互作用而发生聚集沉淀，甘油(99.5%)浓度最高可达 50%(v/v)；

7)应避免含碳酸氢钠, 柠檬酸等物质;

8)缓冲液里 NaCl 的浓度应在 100mM 到 2M 之间;

9)可加入变性剂促溶, 盐酸胍(最高可 6M)、尿素(99%)(最高可 8M);

10)可加入非离子型去垢剂, 如 Triton, Tween, NP-40 等, 最高 2%, 可以减少背景蛋白污染和去除核酸污染。

该过程会产生 G8-1、G8-2、G8-3 分离和纯化废气、S8-1、S8-2 废缓冲液、S8-3 废试剂和 S8-4 废层析介质、S8-5 废 20%乙醇、S8-6 废层析柱。

(9)换液和浓缩

换液和分离采用膜分离技术对层析后获得的含酶溶液进一步地浓缩和纯化。

膜是一种起分子级分离过滤作用的介质, 当溶液或混和气体与膜接触时, 在压力下, 或电场作用下, 或温差作用下, 某些物质可以透过膜, 而另些物质则被选择性的拦截, 从而使溶液中不同组分, 或混和气体的不同组分被分离, 这种分离是分子级的分离。

膜分离技术是对液、气、固体系中不同组分进行分离与富集的新兴技术。膜分离技术是用半透膜作为选择障碍层, 允许某些组分透过而保留混合物中其它组分, 从而达到分离目的的技术。它具有设备简单、操作方便、无相变、无化学变化, 处理效率高和节省能源等特点。

超滤是一种以压力差为推动力, 按粒径选择分离溶液中所含的微粒和大分子的膜分离操作。一般孔径在 0.0015~0.2 μ m, 截留相对分子质量范围为 500~105 道尔顿(相对分子质量截留值: 阻截率达 90%以上的最小被截留物质的相对分子质量, 表示每种超滤膜所额定的截留溶质相对分子质量的范围, 大于这个范围的溶质分子绝大多数不能通过该超滤膜), 跨膜压差为 0.1~0.2MPa, 适用于大分子(蛋白质、胶体等)与小分子(无机盐及低大分子有机物质等)溶液的分离。一般通常用于大分子物质的脱盐和浓缩以及大分子溶剂系统的交换平衡, 大分子物质的纯化, 大分子物质的分级分离, 生化制剂或其他制剂的去热原处理。具体流程如下:

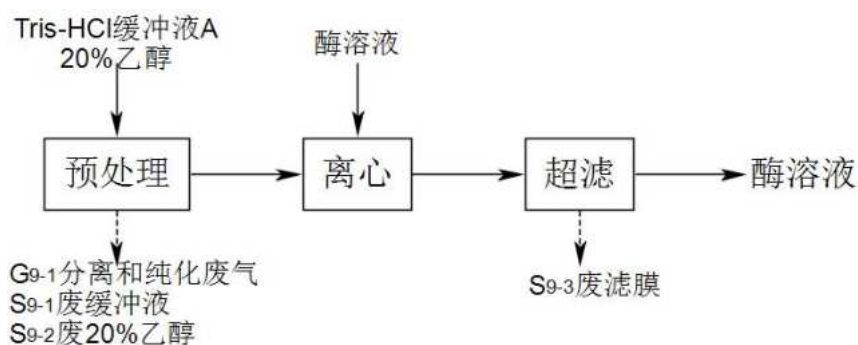


图 3.5-11 换液和浓缩工艺流程图

①预处理：在超滤前，须对过滤系统进行消毒，采用 20%乙醇消毒液对过滤系统进行浸泡消毒，消毒后通过液泵将 Tris-HCl 缓冲液 A 缓慢的加入过滤系统中，缓慢增加控制流速，循环 5min，以平衡系统，pH 值在 7.2~7.3 范围，操作温度在 4℃以下。

②离心：在超滤前可采用台式冷冻离心机对含酶溶液进行离心，转速 4000rpm，控制温度在 4℃以下，便于进一步过滤去除杂质。

③超滤：向过滤系统中的贮槽中加入含酶溶液，记录初始酶溶液体积，启动蠕动泵，过滤系统升压至 0.04MPa，被超滤膜截留下来的溶液循环回流至贮槽中，而透过液流入收集槽，周而复始，待反复循环至贮藏槽中酶溶液体积较少为原来的 25%时，可停止超滤，超滤时间约 8h，分别记录贮槽和收集槽中的液体体积，并取样测定各自酶活性。经过滤系统浓缩后的精制酶溶液进入冷冻干燥工序。

该工序主要产生 G9-1 分离和纯化废气、S9-1 废缓冲液、S9-2 废 20%乙醇、S9-3 废滤膜，产生废缓冲液可循环使用，每批次生产结束后更换，超滤膜可重复使用，定期更换周期约每年/次。浓缩后的精制酶溶液进入冷冻干燥工序。

(10)冷冻干燥(冻干)

本项目换液和浓缩工序后产出的精制酶溶液采用冷冻干燥法进行冷冻干燥。冷冻干燥法：将含有大量水分的生物活性物质先行降温冻结成固体，再在真空和适当加温条件下使固体水分直接升华成水汽抽出，最后使生物活性物质形成疏松、多孔样固体粉末。该技术特点：整个冻干过程在低温真空条件下进行，能有效地保护热敏生物的生物活性，如酶、微生物、激素等经冻干后生物活性仍能得到保留；能有效地降低氧分对酶、微生物等的作用，保持物质原来的性状；干燥物呈海绵状结构，体积几乎不变，加水后迅速溶解，并恢复原来状态；干燥能排出 95% 以上的水分，使干燥后的产品能够长期保存且不致变质。

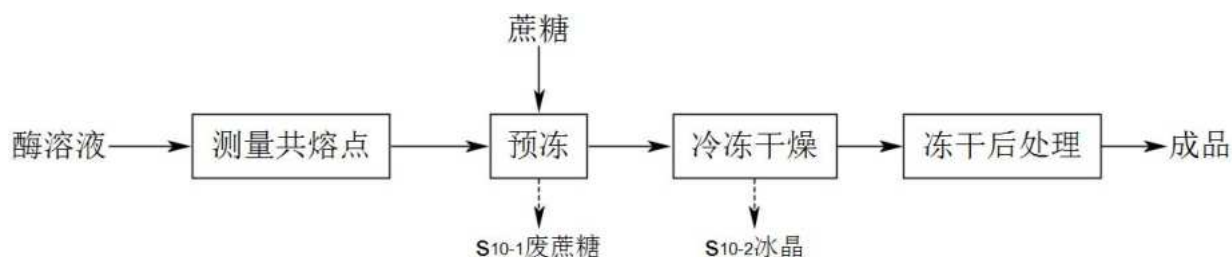


图 3.5-12 冷冻干燥工艺流程图

①测量共熔点

精制酶溶液随温度降低而凝固冻结，达到全部凝固冻结的温度称为凝固点或共晶点。不同物质的凝固点不同，实质上也是该物质的熔化点，故该温度又是共熔点。准备冻干的精制酶溶液在升华前，必须达到共熔点以下的温度，否则将严重影响产品质量。精制酶溶液因其组成成分不同而异，需要测定每种产品的共熔点才能进行冻干工序，测定共熔点的原理是依据导电溶液的电阻与温度有关，当温度降低时，电阻增大，当降低到共熔点时，电阻会突然增大，此时的温度该含酶溶液的共熔点。共熔点测定的主要流程如下：

取部分精制酶溶液，加入蔗糖，将一对电极插入精制酶溶液中，并插入一致热电阻温度计，并将电极、温度计、仪表与记录仪连接，然后将含酶溶液冷冻至 -50°C 以下，观察、记录电阻值，随后缓慢升温直至电阻值忽然降低，记录下该温度和电阻值，该温度即为精制酶溶液的共熔点。根据建设单位生产经验，本项目精制酶溶液的共熔点约在 -40°C 左右。

②预冻

冷冻干燥之前，先将精制酶溶液在低温下冻结，将加入蔗糖的精制酶溶液放入超低温冰箱冻结后，再移至冷冻干燥机进行冷冻干燥。预冻容器的装量在20%~25%之间，预冻后厚度不超过10mm，预冻时间设定为3~4h，预冻后温度约 -50°C 。该过程主要产生S10-1废蔗糖。

③冷冻干燥

启动冷冻干燥机，设定冷冻干燥温度为 -45°C ，设置压强为20Pa，当装置达到预设条件后，将预冻后的含酶溶液移入冷冻干燥机进行冷冻干燥。该过程主要产生S10-2冰晶，冰晶融化后产生设备排水。

④冻干后处理

冻干工序结束后，冻干箱仍处于真空状态，放入无菌干燥空气或氮气后，才能打开箱门，取出成品。干燥制品一旦暴露在空气中，即迅速吸收空气中水分而

潮解，并增高成品的含水量，或因氧气侵入而引起不可逆的氧化作用。因此，必须迅速加塞和压盖。

本项目采用特殊装置的冻干箱和特制的瓶与塞相配合，冻干箱配有液压或气压压塞的动力装置，具有四脚的丁醛胶塞安置在冻干瓶口上，在真空或放入惰性气体下进行自动压塞。

冷冻干燥机工作原理：冷冻干燥是先将物料冻结到共晶点温度以下，使物料中的水分变成固态的冰，然后在适当的真空度下，使冰直接升华为水蒸气。再用真空系统中的水汽凝结器(捕水器)将水蒸汽冷凝，从而获得干燥制品的技术。冷冻干燥过程分为预冻、升华干燥、解析干燥 3 个过程。

构成：冷冻干燥机也称为冻干机、真空冷冻干燥机，主要由干燥箱、冷凝器(捕水器)、加热系统、真空系统、制冷系统和电气控制系统六大部件组成。

1)干燥箱

干燥箱是一种能抽真空和加热的密闭器，物料的升华干燥过程是在干燥室内完成的，物料是放在干燥室内搁板上的不锈钢托盘内的，按每平方托盘面积 8-12 公斤的比例装料，每一层搁板上都有一个可供测量物料温度的探头，用以监测整个冻干过程中的物料温度。门采用橡胶密封条，应注意关门时要把门上的手柄拧紧，确保箱内密封。

2)冷凝器(捕水器)

冷凝器是凝结升华水气的密闭装置，内部有一个较大面积的金属吸附面，从干燥箱物料中升华出来的水蒸气可凝结吸附在其金属表面上，吸附面的工作温度可达 $-45^{\circ}\text{C}\sim-55^{\circ}\text{C}$ ，冷凝器外形是不锈钢或铁制成的圆筒，内部盘有冷凝管，分别与制冷机组相连，组成制冷循环系统。冷凝器与干燥箱连接采用真空蝶阀；采用不锈钢管与真空泵组连接组成真空系统，筒内冷凝管上部装有化霜喷水管，它通过真空隔膜阀与水管连接，这是为了保证化霜水等不进入干燥箱和真空管道。在冷凝器外部采用泡沫塑料板保温绝热，最外层包以不锈钢板。

3)加热系统

冷冻干燥机加热系统的作用是对干燥箱内物料进行加热，以便使物料不断地得到升华热，使物品以达到规定的含水率要求，冻干机加热系统有不同的加热方法，在接触式加热中，我们采用的是循环介质加热法。循环加热系统由管道泵、循环介质箱、加热器、进出管路、液温控制器等组成。循环液可由水 4 份、乙醇 2

份，乙二醇 4 份配置成循环不冻液，其凝固点为 -120°C ，在使用时液温最高不超过 60°C ，现大部分冻干设备已经采用硅油作为循环液。当加热系统工作时，先对循环液进行加热，液温通过液箱控制调节仪选定的温度自动控制加热，管道泵开启后，可将循环液送入干燥箱内搁板中，对搁板加热，然后返回液箱进行加热循环。而在辐射或加热中我们采用蒸气加热最高温度为 120°C ，由蒸气电磁阀自动控制温度。

4)真空系统

真空系统有旋片真空泵或水环泵和罗茨真空泵组成，罗茨泵为增压泵不能单独使用，必须首先启动旋片泵或水环泵，使其工作一段时间，当系统中的真空度达到 1Kpa 以下时，再自动启动罗茨泵。旋片泵结构、罗茨泵结构等见说明书。该真空系统的真空表可使用电接点真空表，可根据预先选定的真空度值，自动控制罗茨泵的启动。干燥箱与冷凝器之间真空管道中，装有真空蝶阀，可根据使用要求随时开、关。真空泵管路上，装有电磁放气截止阀，当真空泵停止工作时可自动关闭真空管路，同时将空气放入泵内，避免真空泵油因负压作用回放至真空管路中，真空泵的连接管路之间装有波纹软管，防止运转时的振动。

5)制冷系统

冷冻干燥机制冷系统由制冷压缩机组(包括：水冷冷凝器、油分离器、高压管路、干燥过滤器、膨胀阀、蒸发器、低压管路组成)，制冷机组使冻干品速冻用的制冷系统和捕水器制冷系统。当系统工作，接触加热方式中搁板温度可降至 -35°C 。当制冷系统工作时，冷凝盘管的表面温度可达 $-35\sim-55^{\circ}\text{C}$ ，根据客户需要采用单级或双级制冷压缩机组，制冷效果好。

6)电气控制系统

冷冻干燥机的电气控制系统由电脑显示记录仪、控制台、控制仪表、调节仪表等自动装置和电路组成。它的功能是对冷冻干燥机进行手动或自动控制，控制设备正常运转。控制台式温度、真空度巡检仪的记录控制仪表及各机组开关的集中集团，控制台的仪表板装有温度，真空度巡检仪，干燥箱和真空泵的真空计，温度指示调节仪，液温控制调节仪，计时钟等。按钮板上装有各机组的开关等。冻干机还设有连锁保护装置，如前箱制冷时加热管不能工作；真空表不到设定值，罗茨泵不能启动；冷却水未提供，制冷机组不启动；真空泵、电磁阀带放气截止阀与真空泵电源表连在一起，同时工作；搁板加热恒温，由温度指示调节仪控制。

(11)质检

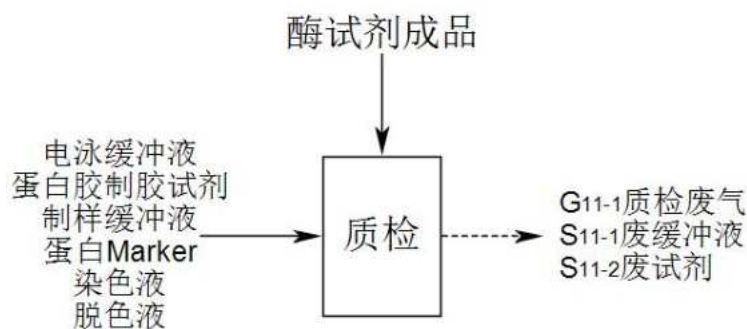


图 3.5-13 质检工艺流程图

质检项目：pH、精制酶溶液浓度、酶活力、质量、细度。

上述检测项目采用《蛋白酶制剂》(GB/T23527-2009)中的检测方法进行检测。

该工序主要产生 G11-1 质检废气、S11-1 废缓冲液、S11-2 废试剂等。

(12)分装和密封包装

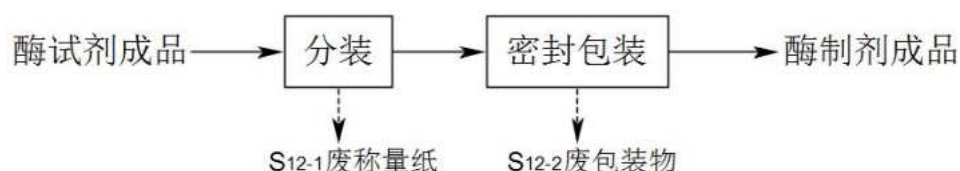


图 3.5-14 分装和密封包装工艺流程图

使用精密天平和称量勺称量产品，分装到容器中，采用封盖机密封包装，贴好标签后储存于冰箱中 4℃保存，待售。该工序主要产生 S12-1 废称量纸、S12-2 废包装物。

(二) 酶制剂二生产工艺流程及产污环节

酶制剂二的生产与酶制剂一的生产工序基本相同，使用的是带有酶制剂表达质粒的酵母菌为原料，不需要进行质粒转化工序，使用的培养基、培养液有所不同。

(1)试剂调配

该工序主要调配的试剂包括 YD 培养基、YPD 固体培养基、YPD 发酵培养基、Tris-HCl 缓冲液 A、Tris-HCl 缓冲液 B、电泳缓冲液、染色液、脱色液、0.1M 硫酸镍、0.1M 乙二胺四乙酸二钠、0.1M 氢氧化钠、蛋白胶制胶试剂、制样缓冲液、10% 酵母提取物、20%乙醇等。上述试剂配置过程中主要产生 G1-1 试剂调配废气，S1-1 废称量纸、S1-2 废吸头、S1-3 废药瓶。

①YPD 培养基配置

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)依次称取 20g 蛋白胨(99%)、20g 葡萄糖(99%)、100mg 博来霉素(99%), 逐次将上述药品依次放入烧杯中, 加入适量纯水, 使用磁力搅拌器加热搅拌直至烧杯中药品溶解。将溶解后药品缓慢倒入容量瓶中, 加入纯水定容至 1L 后混匀静置, 转入试剂瓶中。

将配置好的液体培养基拧松盖子后置于高压灭菌锅内, 设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa, 灭菌时间为 15~20min, 当高压灭菌锅显示锅内温度达到 121℃时开始计时, 使温度稳定在 121℃以上, 灭菌完成后, 切断电源, 让高压灭菌锅自然冷却, 当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa, 培养基冷却至 50℃以下(手持瓶子可感觉热, 但能握得住), 然后置于 4℃冰箱保存。

②YPD 固体培养基配置

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)依次称取 4g 蛋白胨(99%)、4g 葡萄糖(99%)、20mg 博来霉素(99%)和 0.4g 琼脂粉(99%), 逐次将上述药品依次放入烧杯中, 加入适量纯水, 使用磁力搅拌器加热搅拌直至烧杯中药品溶解, 将培养基煮沸后加入称量好的琼脂, 继续加热直至完全融化, 并不断搅拌, 避免琼脂糊底烧焦。将溶解后药品缓慢倒入试剂瓶, 加入纯水定容至 200ml 后混匀静置, 转入试剂瓶中。

将配置好的培养基拧松盖子后置于高压灭菌锅内, 设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa, 灭菌时间为 15~20min, 当高压灭菌锅显示锅内温度达到 121℃时开始计时, 使温度稳定在 121℃以上, 灭菌完成后, 切断电源, 让高压灭菌锅自然冷却, 当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa, 培养基冷却至 50℃以下(手持瓶子可感觉热, 但能握得住), 然后拧紧盖子, 置于 4℃冰箱保存。

③YPD 发酵培养基配置

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)依次称取 10g 酵母提取物(99%)、20g 蛋白胨(99%)、20g 葡萄糖(99%)、0.1g 氨苄青霉素(99%)、5ml 甲醇(99.9%)(约 7.91g), 逐次将上述药品依次放入烧杯中, 加入适量纯水, 使用磁力搅拌器加热搅拌直至烧杯中药品溶解, 将培养基煮沸后加入称量好的琼脂, 继续加热直至完全融化, 并不断搅拌, 避免琼脂糊底烧焦。将溶解后药品缓慢倒入容量瓶, 加入纯水定容至 1L 后混匀静置, 转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需发酵培养基 45L, 重复上述操作 45 次, 配置发酵培养基。

将配置好的发酵培养基拧松盖子后置于高压灭菌锅内，设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa，灭菌时间为 15~20min，当高压灭菌锅显示锅内温度达到 121℃时开始计时，使温度稳定在 121℃以上，灭菌完成后，切断电源，让高压灭菌锅自然冷却，当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa，培养基冷却至 50℃以下(手持瓶子可感觉热，但能握得住)，然后拧紧盖子，置于试剂架，室温保存。

④Tris-HCl 缓冲液配置

1)Tris-HCl 缓冲液 A

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)依次称取 2.42g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、11.7g 氯化钠(99%)，逐次将上述药品依次放入烧杯中，加入适量纯水，用移液枪吸取 1.5ml(约 1.785g)的盐酸(37%)置入烧杯中，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需要 100LTris-HCl 缓冲液 A，重复上述操作 100 次，配置 100L 该缓冲液。

将配置好的缓冲液拧松盖子后置于高压灭菌锅内，设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa，灭菌时间为 25~30min，当高压灭菌锅显示锅内温度达到 115℃时开始计时，使温度稳定在 115℃以上，灭菌完成后，切断电源，让高压灭菌锅自然冷却，当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa，培养基冷却至 50℃以下(手持瓶子可感觉热，但能握得住)，由于蒸发，少部分水以水蒸气的形式蒸发脱离溶液，高压灭菌后加水定容至 1L，然后拧紧盖子，置于试剂架，室温保存。

2)Tris-HCl 缓冲液 B 配置

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)依次称取 2.42g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、11.7g 氯化钠(99%)和 34.05g 咪唑(99%)，逐次将上述药品依次放入烧杯中，加入适量纯水，用移液枪吸取 1.5ml(约 1.785g)的盐酸(37%)置入烧杯中，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需要 20LTris-HCl 缓冲液 B，重复上述操作 20 次，配置 20L 该缓冲液。

将配置好的缓冲液拧松盖子后置于高压灭菌锅内，设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa，灭菌时间为 25~30min，当高压灭菌锅显示锅内温度达到 115℃时开始计时，使温度稳定在 121℃以上，灭菌完成后，切断电源，让高压灭菌锅自然冷却，当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa，培养基冷却至 50℃以下(手持瓶子可感觉热，

但能握得住)。由于蒸发，少部分水以水蒸气的形式蒸发脱离溶液，高压灭菌后加水定容至 1L，然后拧紧盖子，置于试剂架，室温保存。

⑤电泳缓冲液

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)依次称取 3.1g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、18.8g 甘氨酸(99%)，1g 十二烷基硫酸钠(99%)，逐次将上述药品依次放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 20L 电泳缓冲液，重复上述操作 20 次，配置 20L 该缓冲液。配置好的电泳缓冲液于阴凉处避光保存。

⑥染色液

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)称取 2.5g 托马斯亮蓝，使用量筒称取 400ml(约 316.4g)甲醇(99.9%)和 100ml(约 105g)冰醋酸(99.8%)，逐次将上述药品依次放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 2L 染色液，重复上述操作 2 次，配置 2L 染色液。配置好的染色液于阴凉处避光保存。

⑦脱色液

使用量筒称取 400ml(约 316.4g)甲醇(99.9%)和 100ml(约 105g)冰醋酸(99.8%)，逐次将上述药品依次放入烧杯中，加入适量纯水，将混匀后的药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 2L 脱色液，重复上述操作 2 次，配置 2L 脱色液。配置好的脱色液于阴凉处避光保存。

⑧0.1M 硫酸镍溶液

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)称取 28g 硫酸镍(99%)，将上述药品放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 2L 0.1M 硫酸镍，重复上述操作 2 次，配置 2L 该溶液。配置好的 0.1M 硫酸镍溶液于阴凉处避光保存。

⑨0.1M 乙二醇四乙酸二钠溶液

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)称 16.8g 硫酸镍(99%)，将上述药品放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解

后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入聚乙烯试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 2L 0.1M 乙二胺四乙酸二钠溶液，重复上述操作 2 次，配置 2L 该溶液，配置好的 0.1M 乙二胺四乙酸二钠溶液于阴凉处避光保存。

⑩0.1M 氢氧化钠溶液

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)称取 4g 氢氧化钠(99%), 将上述药品放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中，配置好的 0.1M 氢氧化钠溶液于阴凉处避光保存。

⑪蛋白胶制胶试剂

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)称取 100g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、150g 丙烯酰胺(98%)、5g 亚甲基双丙烯酰胺(98%)、1g 过硫酸铵(98.5%)、1g 十二烷基硫酸钠(99%)、1g 四甲基乙二胺(99%)，将上述药品放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入聚乙烯试剂瓶中，配置好的蛋白胶制胶试剂于阴凉处避光保存。

⑫制样缓冲液

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)称取 0.15g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、0.02g 溴酚蓝(99%)和 0.4g 十二烷基硫酸钠(99%)，使用移液枪吸取 0.1ml(约 0.119g)盐酸(37%)、2ml(约 2.522g)甘油(99.5%)和 0.7ml(0.7805g)2-巯基乙醇(99%)，将上述药品逐次放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 10ml 后混匀静置，转入试剂瓶中，配置好的制样缓冲液于 4℃冰箱保存。

⑬10%酵母提取物

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)称取 100g 酵母提取物(99%)放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入聚乙烯试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 2L 10%酵母提取物，重复上述操作 2 次，配置 2L 该溶液，配置好的溶液于阴凉处避光保存。

⑭20%乙醇

使用量筒量取 0.6L 无水乙醇和 2.4L 的纯水，一同加入容量瓶中，使用玻璃棒

进行搅拌，促使其充分混匀后静置，储存于避光阴凉处。

(2)菌体复苏和小量培养

①菌体复苏

从超低温冰箱中拿出装有质粒转化后菌种的冻存管，从冻存管中抽取菌种进入离心管，并向离心管中加入 YPD 液体培养基，混匀。该过程严格按照无菌操作进行，将离心管插于悬浮板中，打开摇床电源，设置温度为 37℃，转速为 200rpm，震荡培养时间为 1h，打开摇床，将悬浮板插于弹簧中，避免正当过程中脱落，开启震荡按钮，进行菌体复苏。

②涂布

菌体复苏结束后，取出悬浮板及离心管置于超净工作台内。拿出涂布有 YPD 固体培养基的平板，使用移液枪吸取菌液进行涂布，点燃酒精灯，灼烧涂布棒，待涂布棒冷却后，使用涂布棒涂布，涂布过程中每 30°旋转一次进行涂布，确保涂布均匀，该过程严格进行无菌操作。

③过夜培养

涂布结束后，打开培养箱，设置温度为 37℃，转速为 200rpm，将涂布有 YPD 固体培养基和菌液的平板放置于培养箱中倒置培养过夜。

④挑单克隆

在 37℃培养箱过夜培养后取出平板，观察菌落数目和形态，挑选单菌落，放在超净工作台内，点燃酒精灯，准备接入 YPD 液体培养基培养。取出已灭菌的液体培养基 800mlYPD 液体培养基，使用移液器吸取液体培养基置于离心管中，使用移液枪挑取单菌落接入离心管中，每个管中加入甘油(99.5%)盖紧盖子后，对离心管进行标记。挑单克隆过程中严格进行无菌操作。

⑤过夜培养

挑单克隆结束后，打开摇床电源，设置温度为 37℃，转速为 200rpm，震荡培养时间为 12h，打开摇床，插于弹簧中，避免正当过程中脱落，开启震荡按钮，进行过夜培养。

菌体复苏和小量培养工序产生废物主要包括 G2-1、G2-2 菌体培养废气、S2-1、S2-2、S2-4 废吸头、S2-3、S2-5 废培养基。

(3)发酵培养

通过小试实验，进一步确认菌种的发酵培养条件和菌种的发酵培养结果。将

过夜培养的 600ml 菌液与 40LYPD 发酵培养基一起接入经灭菌冷却后的 50L 发酵罐中进行扩大培养，发酵罐使用前采用乙醇进行消毒。发酵培养过程中补料：10% 酵母提取物。通入压缩空气、O₂ 和 CO₂，并将温度控制在 35°C±0.5°C 范围，二氧化碳浓度控制在 7±1% 范围内，以使菌体能够正常繁殖。

发酵培养工序主要产生废 G3-1 菌体培养废气。

(4) 菌体收集

该工序采用管式离心机收集菌体，管式离心机利用菌体不同密度或粒度的固体颗粒在液体中，通过不同的沉降速度去进行一系列的分离。主要流程如下：

接通主电源，打开开关，显示屏正常显示，待处理的发酵混合液在一定压力 (3×10⁴Pa 左右) 下由进料管经底部空心轴进入转鼓底，靠圆形折转挡板散布于鼓的四周。在转鼓内设有十字形挡板，防止液体脱离转鼓壁，液体在转鼓内由挡板被加快到转鼓速度，在离心力场下，浮浊液(或悬浮液)沿轴向上流动的过程中被分层成轻液相和重液相(或液相和固相)。并经过上方环状溢流口排出。改动转鼓上端别离环的内径可调节重液相和轻液相的分层界面。处理悬浮液时，可将管式离心剂的重液口封闭，只留有中心轻液溢流口，则固体在离心力场下沉积于转鼓壁上，到达一定数量后，停机后人工清除。

该工序主要产生 G4-1 消毒废气、S4-1 废发酵液。

(5) 菌体破碎

将收集的菌体用 Tris-HCl 缓冲液 A 重悬后，进入细胞破碎仪(超声)，对菌体进行破碎，菌体破碎过程中要控制温度在 4°C 及以下温度，最好采用冰浴破碎。具体操作流程如下：打开细胞粉碎仪的电源开关，待指示灯亮后设定破碎时间、间隔时间、工作次数(超声 3s，间歇 2s)。根据样品量选用适配容器(试管、烧杯及离心管)，固定好后，调节隔音箱内的升降台来确定高低位置，使变幅杆末端插入样品液面 1~1.5cm 并使其在容器的中心位置，不得让变幅杆与容器壁相接触；变幅杆末端离容器一般应大于 30mm，量小时，功率开小的情况下可大于 10mm(视容器而定)。将收集的菌体用缓冲液 A 重悬后，进行破碎。破碎后使用专用的乙醇冲洗仪器进行冲洗。

该工序主要产生 S5-1 废缓冲液和 S5-2 废 20%乙醇。

(6) 低温离心

在超净工作台内，将菌体破碎后菌液分装到 50ml 离心管中，拧好瓶盖，插入

冰中，重复操作。低温离心工序采用低温高速离心机，使用前预冷到 4℃，离心机采用摇篮式转子，离心机管配平后对称放置。盖上离心机盖，设置转速 4000rpm，离心时间 10min，打开开关进行离心。离心结束后观察离心管底的菌体沉淀情况(上清液和菌体沉淀)。去除离心管，将离心管插入冰内。

(7)过滤分离

通过低温离心，菌液被分离成上清液和菌体沉淀，上清液中含有粗酶，利用过滤器将大分子的菌体沉淀截留在过滤器中，粗酶进入滤液中，具体流程如下：

低温离心的上清液和菌体沉淀混合液，利用过滤器将上清液和菌体沉淀分离，采用过滤器将菌体、菌体碎片截留在过滤材料中，上清液中的粗酶进入滤液，后续继续进行亲和层析，pH 值在 7.2~7.3 范围，过滤温度控制在 4℃以下，全程过滤时间约 4h。过滤分离工序采用 Tris-HCl 缓冲液 A，该过程会产生废缓冲液。

该工序主要产生 S7-1 废缓冲液和 S7-2 废过滤膜。

(8)亲和层析

本工序采用镍柱亲和层析对粗酶液进行纯化。具体流程如下：

①确认亲和层析系统、层析柱及填料信息，连接层析系统和层析柱。

②在层析前，采用 Tris-HCl 缓冲液 A 对层析系统进行润洗和平衡，直至 pH 中性。

③将上工序的过滤液上样，上样量为柱床体积的 1%~5%，项目纯化柱规格有 20ml 和 200ml 两种，本项目过滤液的组氨酸(酶)吸附在层析柱上，其余杂质蛋白质随着细胞废液进入废水系统；过滤液上样结束后，继续用 Tris-HCl 缓冲液 A 洗涤 Ni 柱，进一步将其他杂蛋白洗去，最终采用含有咪唑(99%)的 Tris-HCl 缓冲液 B 将挂在 Ni 柱上的目的蛋白(酶)回收，目的蛋白最终在亲和层析收集液。

④亲和层析柱可再生处理循环使用，再生步骤如②、③相同。定期更换(约 1 次/年)。亲和层析柱使用层析柱料需要采用 0.1M 乙二胺四乙酸二钠冲洗后，采用 20%乙醇进行冲洗。层析介质需要更换，更换周期约 1 次/年，会产生废层析介质(5kg/次)。

该过程会产生 G8-1、G8-2、G8-3 分离和纯化废气、S8-1、S8-2 废缓冲液、S8-3 废试剂和 S8-4 废层析介质、S8-5 废 20%乙醇、S8-6 废层析柱。

(9)换液和浓缩

换液和分离采用膜分离技术对层析后获得的含酶溶液进一步地浓缩和纯化。

具体流程如下：

①离心：在超滤前可采用台式冷冻离心机对含酶溶液进行离心，转速 4000rpm，控制温度在 4℃以下，便于进一步过滤去除杂质。

②预处理：在超滤前，须对过滤系统进行消毒，采用 20%乙醇消毒液对过滤系统进行浸泡消毒，消毒后通过液泵将 Tris-HCl 缓冲液 A 缓慢的加入过滤系统中，缓慢增加控制流速，循环 5min，以平衡系统，pH 值在 7.2~7.3 范围，操作温度在 4℃以下。

③超滤：向过滤系统中的贮槽中加入含酶溶液，记录初始酶溶液体积，启动蠕动泵，过滤系统升压至 0.04MPa，被超滤膜截留下来的溶液循环回流至贮槽中，而透过液流入收集槽，周而复始，待反复循环至贮藏槽中酶溶液体积较少为原来的 25%时，可停止超滤，超滤时间约 8h，分别记录贮槽和收集槽中的液体体积，并取样测定各自酶活性。经过滤系统浓缩后的精制酶溶液进入冷冻干燥工序。

该工序主要产生 G9-1 分离和纯化废气、S9-1 废缓冲液、S9-2 废 20%乙醇、S9-3 废滤膜，产生废缓冲液可循环使用，每批次生产结束后更换，超滤膜可重复使用，定期更换周期约每年/次。浓缩后的精制酶溶液进入冷冻干燥工序。

(10)冷冻干燥(冻干)

本项目换液和浓缩工序后产出的精制酶溶液采用冷冻干燥法进行冷冻干燥。

①测量共熔点

精制酶溶液随温度降低而凝固冻结，达到全部凝固冻结的温度称为凝固点或共晶点。

②预冻

冷冻干燥之前，先将精制酶溶液在低温下冻结，将加入蔗糖的精制酶溶液放入超低温冰箱冻结后，再移至冷冻干燥机进行冷冻干燥。预冻容器的装量在 20%~25%之间，预冻后厚度不超过 10mm，预冻时间设定为 3~4h，预冻后温度约 -50℃。该过程主要产生 S10-1 废蔗糖。

③冷冻干燥

启动冷冻干燥机，设定冷冻干燥温度为-45℃，设置压强为 20Pa，当装置达到预设条件后，将预冻后的含酶溶液移入冷冻干燥机进行冷冻干燥。该过程主要产生 S10-2 冰晶，冰晶融化后产生设备排水。

④冻干的后处理

冻干工序结束后，冻干箱仍处于真空状态，放入无菌干燥空气或氮气后，才能打开箱门，取出成品。干燥制品一旦暴露在空气中，即迅速吸收空气中水分而潮解，并增高成品的含水量，或因氧气侵入而引起不可逆的氧化作用。因此，必须迅速加塞和压盖。

本项目采用特殊装置的冻干箱和特制的瓶与塞相配合，冻干箱配有液压或气压压塞的动力装置，具有四脚的丁醛胶塞安置在冻干瓶口上，在真空或放入惰性气体下进行自动压塞。

(11)质检

质检项目：pH、精制酶溶液浓度、酶活力、质量、细度。

上述检测项目采用《蛋白酶制剂》(GB/T23527-2009)中的检测方法进行检测。该工序主要产生 G11-1 质检废气、S11-1 废缓冲液、S11-2 废试剂等。

(12)分装和密封包装

使用精密天平和称量勺称量产品，分装到容器中，采用封盖机密封包装，贴好标签后储存于冰箱中 4℃保存，待售。该工序主要产生 S12-1 废称量纸、S12-2 废包装物。

(三)酶制剂三生产工艺流程及产污环节

酶制剂三的生产与酶制剂一的生产工序基本相同，使用大肠杆菌和带有酶制剂表达的质粒为原料，质粒与酶制剂一不同，酶制剂三生产过程中增加了 GST 缓冲液、GST 洗脱液和 6M 盐酸胍，纯化过程中采用 GST 凝胶亲和层析工艺。主要生产工序如下：

(1)试剂调配

该工序主要调配的试剂包括液体培养基、固体培养基、发酵培养基、Tris-HCl 缓冲液 A、GST 缓冲液、GST 洗脱液、电泳缓冲液、染色液、脱色液、6M 盐酸胍、0.1M 氢氧化钠、蛋白胶制胶试剂、制样缓冲液、10%酵母提取物、20%乙醇等。上述试剂配置过程中主要产生 G1-1 试剂调配废气，S1-1 废称量纸、S1-2 废吸头、S1-3 废药瓶。

①液体培养基配置

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)依次称取 5g 酵母提取物(99%)、10g 蛋白胍(99%)、10g 氯化钠(99%)，逐次将上述药品依次放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器加热搅拌直至烧杯中药品溶解。将溶解后药品缓慢倒入容量瓶中，

加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。

将配置好的液体培养基拧松盖子后置于高压灭菌锅内，设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa，灭菌时间为 15~20min，当高压灭菌锅显示锅内温度达到 121℃时开始计时，使温度稳定在 121℃以上，灭菌完成后，切断电源，让高压灭菌锅自然冷却，当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa，培养基冷却至 50℃以下(手持瓶子可感觉热，但能握得住)，然后置于 4℃冰箱保存。

②固体培养基配置

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)依次称取 1g 酵母提取物(99%)、2g 蛋白胨(99%)、2g 氯化钠(99%)、0.02g 氨苄青霉素(99%)和 3g 琼脂粉(99%)，逐次将上述药品依次放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器加热搅拌直至烧杯中药品溶解，将培养基煮沸后加入称量好的琼脂，继续加热直至完全融化，并不断搅拌，避免琼脂糊底烧焦。将溶解后药品缓慢倒入试剂瓶，加入纯水定容至 200ml 后混匀静置，转入试剂瓶中。

将配置好的培养基拧松盖子后置于高压灭菌锅内，设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa，灭菌时间为 15~20min，当高压灭菌锅显示锅内温度达到 121℃时开始计时，使温度稳定在 121℃以上，灭菌完成后，切断电源，让高压灭菌锅自然冷却，当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa，培养基冷却至 50℃以下(手持瓶子可感觉热，但能握得住)，然后拧紧盖子，置于 4℃冰箱保存。

③发酵培养基配置

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)依次称取 10g 酵母提取物(99%)、10g 蛋白胨(99%)、10g 氯化钠(99%)、0.1g 氨苄青霉素(99%)、0.5g 葡萄糖(99%)0.5 克、50g 乳糖(99%)、1g 硫酸镁(99%)、4g 磷酸氢二钠(98%)、4g 磷酸二氢钾(99.5%)、3g 氯化铵(99.5%)、3g 硫酸钠(99%)克，5g 甘油(99.5%)，逐次将上述药品依次放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器加热搅拌直至烧杯中药品溶解，将培养基煮沸后加入称量好的琼脂，继续加热直至完全融化，并不断搅拌，避免琼脂糊底烧焦。将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需发酵培养基 45L，重复上述操作 45 次，配置发酵培养基。

将配置好的发酵培养基拧松盖子后置于高压灭菌锅内，设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa，灭菌时间为 25~30min，当高压灭菌锅显示锅内温度达到 115℃

时开始计时,使温度稳定在 121℃以上,灭菌完成后,切断电源,让高压灭菌锅自然冷却,当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa,培养基冷却至 50℃以下(手持瓶子可感觉热,但能握得住),然后拧紧盖子,置于试剂架,室温保存。

④Tris-HCl 缓冲液配置

1)Tris-HCl 缓冲液 A

使用称量勺和天平(量程 2kg,精度 0.01g)依次称取 2.42g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、11.7g 氯化钠(99%),逐次将上述药品依次放入烧杯中,加入适量纯水,用移液枪吸取 1.5ml(约 1.785g)的盐酸(37%)置入烧杯中,使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解,将溶解后药品缓慢倒入容量瓶,加入纯水定容至 1L 后混匀静置,转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需要 50LTris-HCl 缓冲液 A,重复上述操作 50 次,配置 50L 该缓冲液。

将配置好的缓冲液拧松盖子后置于高压灭菌锅内,设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa,灭菌时间为 25~30min,当高压灭菌锅显示锅内温度达到 115℃时开始计时,使温度稳定在 121℃以上,灭菌完成后,切断电源,让高压灭菌锅自然冷却,当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa,培养基冷却至 50℃以下(手持瓶子可感觉热,但能握得住),由于蒸发,少部分水以水蒸气的形式蒸发脱离溶液,高压灭菌后加水定容至 1L,然后拧紧盖子,置于试剂架,室温保存。

⑤GST 缓冲液

使用称量勺和天平(量程 2kg,精度 0.01g)依次称取 2.42g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、11.7g 氯化钠(99%)、3.36g 乙二醇四乙酸二钠(99%),使用移液器吸取 1.5ml 盐酸(37%),逐次将上述药品依次放入烧杯中,加入适量纯水,使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解,将溶解后药品缓慢倒入容量瓶,加入纯水定容至 1L 后混匀静置,转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 100L GST 缓冲液,重复上述操作 100 次,配置 100L 该缓冲液。

将配置好的缓冲液拧松盖子后置于高压灭菌锅内,设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa,灭菌时间为 25~30min,当高压灭菌锅显示锅内温度达到 115℃时开始计时,使温度稳定在 115℃以上,灭菌完成后,切断电源,让高压灭菌锅自然冷却,当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa,培养基冷却至 50℃以下(手持瓶子可感觉热,但能握得住),由于蒸发,少部分水以水蒸气的形式蒸发脱离溶液,高压灭菌后加水定容至 1L,然后转入聚乙烯试剂瓶,拧紧盖子,置于 4℃冰箱保存。

⑥GST 洗脱液

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)依次称取称取 2.42g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、11.7g 氯化钠(99%)、3.36g 乙二胺四乙酸二钠(99%)、3g 含谷胱甘肽(99%)和 1g 蛋白酶(99%), 使用移液器吸取 1.5ml 盐酸(37%)和 1ml 2-巯基乙醇(99%), 逐次将上述药品依次放入烧杯中, 加入适量纯水, 使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解, 将溶解后药品缓慢倒入容量瓶, 加入纯水定容至 1L 后混匀静置, 转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 10L GST 洗脱液, 重复上述操作 10 次, 配置 10L 洗脱液。

⑦电泳缓冲液

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)依次称取 3.1g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、18.8g 甘氨酸(99%), 1g 十二烷基硫酸钠(99%), 逐次将上述药品依次放入烧杯中, 加入适量纯水, 使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解, 将溶解后药品缓慢倒入容量瓶, 加入纯水定容至 1L 后混匀静置, 转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 20L 电泳缓冲液, 重复上述操作 20 次, 配置 20L 该缓冲液, 配置好的电泳缓冲液于阴凉处避光保存。

⑧染色液

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)称取 2.5g 托马斯亮蓝, 使用量筒称取 400ml(约 316.4g)甲醇(99.9%)和 100ml(约 105g)冰醋酸(99.8%), 逐次将上述药品依次放入烧杯中, 加入适量纯水, 使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解, 将溶解后药品缓慢倒入容量瓶, 加入纯水定容至 1L 后混匀静置, 转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 2L 染色液, 重复上述操作 2 次, 配置 2L 染色液。配置好的染色液于阴凉处避光保存。

⑨脱色液

使用量筒称取 400ml(约 316.4g)甲醇(99.9%)和 100ml(约 105g)冰醋酸(99.8%), 逐次将上述药品依次放入烧杯中, 加入适量纯水, 将混匀后的药品缓慢倒入容量瓶, 加入纯水定容至 1L 后混匀静置, 转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 2L 脱色液, 重复上述操作 2 次, 配置 2L 脱色液。配置好的脱色液于阴凉处避光保存。

⑩6M 盐酸胍

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)称取 573g 硫酸胍, 将上述药品放入烧杯中, 加入适量纯水, 使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解, 将溶解后药

品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 10L6M 硫酸镍(99%)，重复上述操作 10 次，配置 10L 该缓冲液。配置好的 6M 盐酸胍溶液于阴凉处避光保存。

⑪0.1M 氢氧化钠溶液

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)称取 4g 氢氧化钠(99%)，将上述药品放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中，配置好的 0.1M 氢氧化钠溶液于阴凉处避光保存。

⑫蛋白胶制胶试剂

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)称取 100g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、150g 丙烯酰胺(98%)、5g 亚甲基双丙烯酰胺(98%)、1g 过硫酸铵(98.5%)、1g 十二烷基硫酸钠(99%)、1g 四甲基乙二胺(99%)，将上述药品放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入聚乙烯试剂瓶中，配置好的蛋白胶制胶试剂于阴凉处避光保存。

⑬制样缓冲液

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)称取 0.15g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、0.02g 溴酚蓝(99%)和 0.4g 十二烷基硫酸钠(99%)，使用移液枪吸取 0.1ml(约 0.119g)盐酸(37%)、2ml(约 2.522g)甘油(99.5%)和 0.7ml(0.7805g)2-巯基乙醇(99%)，将上述药品逐次放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 10ml 后混匀静置，转入试剂瓶中，配置好的制样缓冲液于 4℃冰箱保存。

⑭10%酵母提取物

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)称取 100g10%酵母提取物(99%)放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入聚乙烯试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 2L10%酵母提取物，重复上述操作 2 次，配置 2L 该溶液。配置好的 10%酵母提取物于阴凉处避光保存。

⑮20%乙醇

使用量筒量取 0.6L 无水乙醇和 2.4L 的纯水，一同加入容量瓶中，使用玻璃棒

进行搅拌，促使其充分混匀后静置，储存于避光阴凉处。

(2)菌体复苏和小量培养

①菌体复苏

从超低温冰箱中拿出装有质粒转化后菌种的冻存管，从冻存管中抽取菌种进入离心管，并向离心管中加入液体培养基，混匀。该过程严格按照无菌操作进行，将离心管插于悬浮板中，打开摇床电源，设置温度为 37℃，转速为 200rpm，震荡培养时间为 1h，打开摇床，将悬浮板插于弹簧中，避免正当过程中脱落，开启震荡按钮，进行菌体复苏。

②涂布

菌体复苏结束后，取出悬浮板及离心管置于超净工作台内。拿出涂布有固体培养基的平板，使用移液枪吸取菌液进行涂布，点燃酒精灯，灼烧涂布棒，待涂布棒冷却后，使用涂布棒涂布，涂布过程中每 30°旋转一次进行涂布，确保涂布均匀，该过程严格进行无菌操作。

③过夜培养

涂布结束后，打开培养箱，设置温度为 37℃，转速为 200rpm，将涂布有固体培养基和菌液的平板放置于培养箱中倒置培养过夜。

④挑单克隆

在 37℃培养箱过夜培养后取出平板，观察菌落数目和形态，挑选单菌落，放在超净工作台内，点燃酒精灯，准备接入液体培养基培养。取出已灭菌的液体培养基 800ml，使用移液器吸取液体培养基置于离心管中，使用移液枪挑取单菌落接入离心管中，每个管中加入甘油(99.5%)盖紧盖子后，对离心管进行标记。挑单克隆过程中严格进行无菌操作。

⑤过夜培养

挑单克隆结束后，打开摇床电源，设置温度为 37℃，转速为 200rpm，震荡培养时间为 12h，打开摇床，插于弹簧中，避免正当过程中脱落，开启震荡按钮，进行过夜培养。

菌体复苏和小量培养工序产生废物主要包括 G2-1、G2-2 菌体培养废气、S2-1、S2-2、S2-4 废吸头、S2-3、S2-5 废培养基。

(3)发酵培养

通过小试实验，进一步确认菌种的发酵培养条件和菌种的发酵培养结果。将

过夜培养的 600ml 菌液与 40L 发酵培养基一起接入经灭菌冷却后的 50L 发酵罐中进行扩大培养，发酵罐使用前采用乙醇进行消毒。发酵培养过程中补料：10%酵母提取物 2L。通入压缩空气、O₂ 和 CO₂，并将温度控制在 35°C±0.5°C 范围，二氧化碳浓度控制在 7±1% 范围内，以使菌体能够正常繁殖。

发酵培养工序主要产生废 G3-1 菌体培养废气。

(4)菌体收集

该工序采用管式离心机收集菌体，管式离心机利用菌体不同密度或粒度的固体颗粒在液体中，通过不同的沉降速度去进行一系列的分离。主要流程如下：

接通主电源，打开开关，显示屏正常显示，待处理的发酵混合液在一定压力 (3×10⁴Pa 左右) 下由进料管经底部空心轴进入转鼓底，靠圆形折转挡板散布于鼓的四周。在转鼓内设有十字形挡板，防止液体脱离转鼓壁，液体在转鼓内由挡板被加快到转鼓速度，在离心力场下，浮浊液(或悬浮液)沿轴向上流动的过程中被分层成轻液相和重液相(或液相和固相)。并经过上方环状溢流口排出。改动转鼓上端别离环的内径可调节重液相和轻液相的分层界面。处理悬浮液时，可将管式离心剂的重液口封闭，只留有中心轻液溢流口，则固体在离心力场下沉积于转鼓壁上，到达一定数量后，停机后人工清除。

该工序主要产生 G4-1 消毒废气、S4-1 废发酵液。

(5)菌体破碎

将收集的菌体用 Tris-HCl 缓冲液 A 重悬后，进入细胞破碎仪(超声)，对菌体进行破碎，菌体破碎过程中要控制温度在 4°C 及以下温度，最好采用冰浴破碎。具体操作流程如下：打开细胞粉碎仪的电源开关，待指示灯亮后设定破碎时间、间隔时间、工作次数(超声 3s，间歇 2s)。根据样品量选用适配容器(试管、烧杯及离心管)，固定好后，调节隔音箱内的升降台来确定高低位置，使变幅杆末端插入样品液面 1~1.5cm 并使其在容器的中心位置，不得让变幅杆与容器壁相接触；变幅杆末端离容器一般应大于 30mm，量小时，功率开小的情况下可大于 10mm(视容器而定)。将收集的菌体用 10 升缓冲液 A 重悬后，进行破碎。破碎后使用专用的乙醇冲洗仪器进行冲洗(1L20%乙醇)。

该工序主要产生 S5-1 废缓冲液和 S5-2 废 20%乙醇。

(6)低温离心

在超净工作台内，将菌体破碎后菌液分装到 50ml 离心管中，拧好瓶盖，插入

冰中，重复操作。低温离心工序采用低温高速离心机，使用前预冷到 4℃，离心机采用摇篮式转子，离心机管配平后对称放置。盖上离心机盖，设置转速 4000rpm，离心时间 10min，打开开关进行离心。离心结束后观察离心管底的菌体沉淀情况(上清液和菌体沉淀)。去除离心管，将离心管插入冰内。

(7)过滤分离

通过低温离心，菌液被分离成上清液和菌体沉淀，上清液中含有粗酶，利用过滤器将大分子的菌体沉淀截留在过滤器中，粗酶进入滤液中，具体流程如下：

低温离心的上清液和菌体沉淀混合液，利用过滤器将上清液和菌体沉淀分离，采用过滤器将菌体、菌体碎片截留在过滤材料中，上清液中的粗酶进入滤液，后续继续进行亲和层析，pH 值在 7.2~7.3 范围，过滤温度控制在 4℃以下，全程过滤时间约 4h。过滤分离工序采用 Tris-HCl 缓冲液 A，该过程会产生废缓冲液。

该工序主要产生 S7-1 废缓冲液和 S7-2 废过滤膜。

(8)GST 凝胶亲和层析

本工序采用 GST 凝胶亲和层析对粗酶液进行纯化。GST 亲和纯化原理：GST 亲和层析是利用 GST 融合蛋白与固定的谷胱甘肽(99%)(GSH)通过硫键共价亲和，通过 GSH 交换洗脱的原理来进行纯化。该纯化柱中，凝胶手臂上通过硫键结合一个谷胱甘肽(99%)。然后利用谷胱甘肽(99%)与谷胱甘肽(99%)巯基转移酶(即 GST-tag(26KDa))之间酶和底物的特异性作用力，使得带 GST 标签的融合蛋白能够与凝胶上的手臂谷胱甘肽(99%)结合，从而将带标签的蛋白与其他蛋白分离开。谷胱甘肽(99%)通常有氧化型 GSSG 和还原型 GSH，当我们使用 GSH 洗脱时，GSH 会与凝胶上的谷胱甘肽(99%)竞争结合融合蛋白，从而将目标蛋白洗脱。GST 标签蛋白可直接从细菌裂解液中利用含有还原型谷胱甘肽(99%)琼脂糖(99%)凝胶 (Glutathionesepharose)亲和树脂进行纯化。GST 标签蛋白可在温和、非变性条件下洗脱，因此保留了蛋白的抗原性和生物活性。GST 在变性条件下会失去对谷胱甘肽(99%)树脂的结合能力，因此不能在纯化缓冲液中加入强变性剂如：盐酸胍或尿素(99%)等。如果蛋白表达在包涵体中，可复性后再纯化。此外要去除 GST 标签，可用位点特异性蛋白酶(99%)切除。GST 蛋白纯化原理如下图所示。

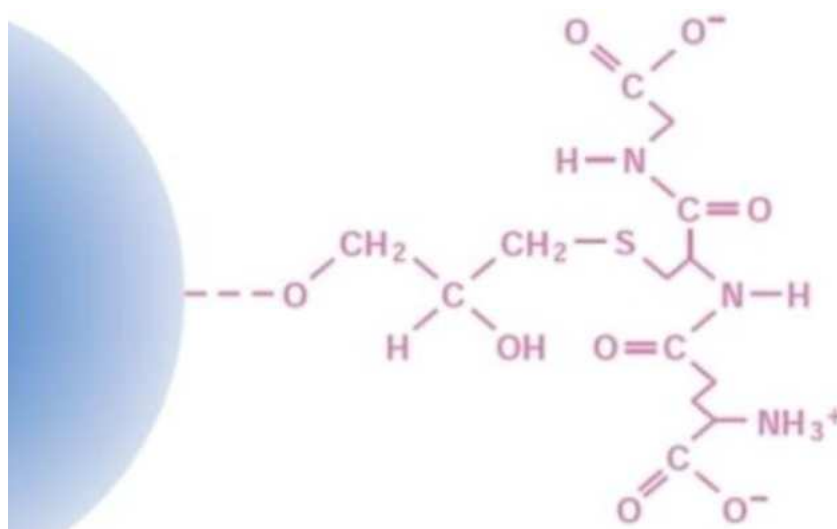


图 3.5-15 GST 蛋白纯化原理图

具体流程如下：

- ①确认 GST 凝胶亲和层析系统、层析柱及填料信息，连接层析系统和层析柱。
- ②在层析前，采用 GST 缓冲液对层析系统进行润洗和平衡，直至 pH 中性。
- ③将上工序的过滤液上样，上样量为柱床体积的 1%~5%，项目纯化柱规格有 20ml 和 200ml 两种，本项目过滤液的组氨酸(酶)吸附在层析柱上，其余杂质蛋白质随着细胞废液进入废水系统；过滤液上样结束后，采用 GST 洗脱液进行洗脱，并收集洗脱液。

④GST 凝胶亲和层析柱可再生处理循环使用，GST 凝胶亲和层析采用 6M 盐酸胍冲洗后，采用 20%乙醇进行冲洗。层析介质需要更换，更换周期约 1 次/年，会产生废层析介质(5kg/次)。

GST 柱进行蛋白纯化时注意事项：

- ①在细胞裂解时，加入终浓度 1-10mMDTT 可以显著提高 GST 融合蛋白的结合效率，在 BindingBuffer 和 ElutionBuffer 中加入 1-10mMDTT，可以提高蛋白纯度，但是会导致其产率降低；
- ②超声太剧烈或时间过长会引起蛋白变性，导致蛋白不能与介质结合；
- ③在 pH 值低于 6.5 或高于 8.0 结合效率会降低，使用前需用 pH6.5-8.0 的 Buffer 如 PBS 进行平衡；
- ④ElutionBuffer 的 pH 值调至 pH8-9 可以提高洗脱效率而不需要增加 glutathione 的浓度；
- ⑤增加 ElutionBuffer 的离子强度。加入 0.1–0.2MNaCl 能提高洗脱效率；

⑥ElutionBuffer 中加入非离子型变性剂。非特异性的疏水作用可能会阻碍 GST 融合蛋白从介质上增溶和洗脱。加入 0.1%TritonX-100or2%N-octylglucoside 可以显著增加洗脱效率。

该过程会产生 G8-1、G8-2、G8-3 分离和纯化废气、S8-1、S8-2 废缓冲液、S8-3 废试剂和 S8-4 废层析介质、S8-5 废 20%乙醇、S8-6 废层析柱。

(9)换液和浓缩

换液和分离采用膜分离技术对层析后获得的含酶溶液进一步地浓缩和纯化。具体流程如下：

①离心：在超滤前可采用台式冷冻离心机对含酶溶液进行离心，转速 4000rpm，控制温度在 4℃以下，便于进一步过滤去除杂质。

②预处理：在超滤前，须对过滤系统进行消毒，采用 20%乙醇消毒液对过滤系统进行浸泡消毒，消毒后通过液泵将 Tris-HCl 缓冲液 D 缓慢的加入过滤系统中，缓慢增加控制流速，循环 5min，以平衡系统，pH 值在 7.2~7.3 范围，操作温度在 4℃以下。

③超滤：向过滤系统中的贮槽中加入含酶溶液，记录初始酶溶液体积，启动蠕动泵，过滤系统升压至 0.04MPa，被超滤膜截留下来的溶液循环回流至贮槽中，而透过液流入收集槽，周而复始，待反复循环至贮藏槽中酶溶液体积较少为原来的 25%时，可停止超滤，超滤时间约 8h，分别记录贮槽和收集槽中的液体体积，并取样测定各自酶活性。经过滤系统浓缩后的精制酶溶液进入冷冻干燥工序。

该工序主要产生 G9-1 分离和纯化废气、S9-1 废缓冲液、S9-2 废 20%乙醇、S9-3 废滤膜，产生废缓冲液可循环使用，每批次生产结束后更换，超滤膜可重复使用，定期更换周期约每年/次。浓缩后的精制酶溶液进入冷冻干燥工序。

(10)冷冻干燥(冻干)

本项目换液和浓缩工序后产出的精制酶溶液采用冷冻干燥法进行冷冻干燥。

①测量共熔点

精制酶溶液随温度降低而凝固冻结，达到全部凝固冻结的温度称为凝固点或共晶点。

②预冻

冷冻干燥之前，先将精制酶溶液在低温下冻结，将加入蔗糖的精制酶溶液放入超低温冰箱冻结后，再移至冷冻干燥机进行冷冻干燥。预冻容器的装量在

20%~25%之间，预冻后厚度不超过 10mm，预冻时间设定为 3~4h，预冻后温度约 -50℃。该过程主要产生 S10-1 废蔗糖。

③冷冻干燥

启动冷冻干燥机，设定冷冻干燥温度为-45℃，设置压强为 20Pa，当装置达到预设条件后，将预冻后的含酶溶液移入冷冻干燥机进行冷冻干燥。该过程主要产生 S10-2 冰晶，冰晶融化后产生设备排水。

④冻干的后处理

冻干工序结束后，冻干箱仍处于真空状态，放入无菌干燥空气或氮气后，才能打开箱门，取出成品。干燥制品一旦暴露在空气中，即迅速吸收空气中水分而潮解，并增高成品的含水量，或因氧气侵入而引起不可逆的氧化作用。因此，必须迅速加塞和压盖。

本项目采用特殊装置的冻干箱和特制的瓶与塞相配合，冻干箱配有液压或气压压塞的动力装置，具有四脚的丁醛胶塞安置在冻干瓶口上，在真空或放入惰性气体下进行自动压塞。

(11)质检

质检项目：pH、精制酶溶液浓度、酶活力、质量、细度。

上述检测项目采用《蛋白酶制剂》(GB/T23527-2009)中的检测方法进行检测。该工序主要产生 G11-1 质检废气、S11-1 废缓冲液、S11-2 废试剂等。

(12)分装和密封包装

使用精密天平和称量勺称量产品，分装到容器中，采用封盖机密封包装，贴好标签后储存于冰箱中 4℃保存，待售。该工序主要产生 S12-1 废称量纸、S12-2 废包装物。

(四)酶制剂四生产工艺流程及产污环节

酶制剂四的生产与酶制剂一的生产工序基本相同，采用大肠杆菌和带有酶制剂表达的质粒为原料，酶制剂四生产增加了 MBP 缓冲液、MBP 洗脱液、8M 尿素、6M 盐酸胍。酶制剂四纯化工序采用 MBP 亲和层析工艺。主要生产工序如下：

(1)试剂调配

该工序主要调配的试剂包括液体培养基、固体培养基、发酵培养基、Tris-HCl 缓冲液 A、Tris-HCl 缓冲液 C、Tris-HCl 缓冲液 D、MBP 缓冲液、MBP 洗脱液、电泳缓冲液、染色液、脱色液、8M 尿素、6M 盐酸胍、0.1M 乙二胺四乙酸二钠、

0.1M 氢氧化钠、蛋白胨制胶试剂、制样缓冲液、10%酵母提取物、20%乙醇等。上述试剂配置过程中主要产生 G1-1 试剂调配废气，S1-1 废称量纸、S1-2 废吸头、S1-3 废药瓶。

①液体培养基配置

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)依次称取 5g 酵母提取物(99%)、10g 蛋白胨(99%)、10g 氯化钠(99%)，逐次将上述药品依次放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器加热搅拌直至烧杯中药品溶解。将溶解后药品缓慢倒入容量瓶中，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。

将配置好的液体培养基拧松盖子后置于高压灭菌锅内，设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa，灭菌时间为 15~20min，当高压灭菌锅显示锅内温度达到 121℃时开始计时，使温度稳定在 121℃以上，灭菌完成后，切断电源，让高压灭菌锅自然冷却，当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa，培养基冷却至 50℃以下(手持瓶子可感觉热，但能握得住)，然后置于 4℃冰箱保存。

②固体培养基配置

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)依次称取 1g 酵母提取物(99%)、2g 蛋白胨(99%)、2g 氯化钠(99%)、0.02g 氨苄青霉素(99%)和 3g 琼脂粉(99%)，逐次将上述药品依次放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器加热搅拌直至烧杯中药品溶解，将培养基煮沸后加入称量好的琼脂，继续加热直至完全融化，并不断搅拌，避免琼脂糊底烧焦。将溶解后药品缓慢倒入试剂瓶，加入纯水定容至 200ml 后混匀静置，转入试剂瓶中。

将配置好的培养基拧松盖子后置于高压灭菌锅内，设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa，灭菌时间为 15~20min，当高压灭菌锅显示锅内温度达到 121℃时开始计时，使温度稳定在 121℃以上，灭菌完成后，切断电源，让高压灭菌锅自然冷却，当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa，培养基冷却至 50℃以下(手持瓶子可感觉热，但能握得住)，然后拧紧盖子，置于 4℃冰箱保存。

③发酵培养基配置

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)依次称取 10g 酵母提取物(99%)、10g 蛋白胨(99%)、10g 氯化钠(99%)、0.1g 氨苄青霉素(99%)、0.5g 葡萄糖(99%)0.5 克、50g 乳糖(99%)、1g 硫酸镁(99%)、4g 磷酸氢二钠(98%)、4g 磷酸二氢钾(99.5%)、

3g 氯化铵(99.5%)、3g 硫酸钠(99%)克, 5g 甘油(99.5%), 逐次将上述药品依次放入烧杯中, 加入适量纯水, 使用磁力搅拌器加热搅拌直至烧杯中药品溶解, 将培养基煮沸后加入称量好的琼脂, 继续加热直至完全融化, 并不断搅拌, 避免琼脂糊底烧焦。将溶解后药品缓慢倒入容量瓶, 加入纯水定容至 1L 后混匀静置, 转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需发酵培养基 45L, 重复上述操作 45 次, 配置发酵培养基。

将配置好的发酵培养基拧松盖子后置于高压灭菌锅内, 设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa, 灭菌时间为 25~30min, 当高压灭菌锅显示锅内温度达到 115°C 时开始计时, 使温度稳定在 121°C 以上, 灭菌完成后, 切断电源, 让高压灭菌锅自然冷却, 当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa, 培养基冷却至 50°C 以下(手持瓶子可感觉热, 但能握得住), 然后拧紧盖子, 置于试剂架, 室温保存。

④Tris-HCl 缓冲液配置

1)Tris-HCl 缓冲液 A

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)依次称取 2.42g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、11.7g 氯化钠(99%), 逐次将上述药品依次放入烧杯中, 加入适量纯水, 用移液枪吸取 1.5ml(约 1.785g)的盐酸(37%)置入烧杯中, 使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解, 将溶解后药品缓慢倒入容量瓶, 加入纯水定容至 1L 后混匀静置, 转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需要 100LTris-HCl 缓冲液 A, 重复上述操作 100 次, 配置 100L 该缓冲液。

将配置好的缓冲液拧松盖子后置于高压灭菌锅内, 设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa, 灭菌时间为 25~30min, 当高压灭菌锅显示锅内温度达到 115°C 时开始计时, 使温度稳定在 121°C 以上, 灭菌完成后, 切断电源, 让高压灭菌锅自然冷却, 当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa, 培养基冷却至 50°C 以下(手持瓶子可感觉热, 但能握得住), 由于蒸发, 少部分水以水蒸气的形式蒸发脱离溶液, 高压灭菌后加水定容至 1L, 然后拧紧盖子, 置于试剂架, 室温保存。

2)Tris-HCl 缓冲液 C 配置

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)依次称取 2.42g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、58.5g 氯化钠(99%), 逐次将上述药品依次放入烧杯中, 加入适量纯水, 用移液枪吸取 1.5ml(约 1.785g)的盐酸(37%)置入烧杯中, 使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解, 将溶解后药品缓慢倒入容量瓶, 加入纯水定容至 1L 后混匀静置,

转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需要 20L Tris-HCl 缓冲液 C，重复上述操作 20 次，配置 20L 该缓冲液。

将配置好的缓冲液拧松盖子后置于高压灭菌锅内，设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa，灭菌时间为 25~30min，当高压灭菌锅显示锅内温度达到 115℃时开始计时，使温度稳定在 121℃以上，灭菌完成后，切断电源，让高压灭菌锅自然冷却，当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa，培养基冷却至 50℃以下(手持瓶子可感觉热，但能握得住)。由于蒸发，少部分水以水蒸气的形式蒸发脱离溶液，高压灭菌后加水定容至 1L，然后拧紧盖子，置于试剂架，室温保存。

3) Tris-HCl 缓冲液 D 配置

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)依次称取 2.42g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、11.7g 氯化钠(99%)、1.54g 二硫苏糖醇(99%)、5.6g 七水合硫酸亚铁(99%)，1.9g 氯化镁(99%)和 2.21g 氯化钙(96%)，逐次将上述药品依次放入烧杯中，加入适量纯水，用移液枪吸取 1.5ml(约 1.785g)的盐酸(37%)置入烧杯中，使用量筒取 100ml(126.1g)甘油(99.5%)缓慢倒入烧杯中，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 120L Tris-HCl 缓冲液 D，重复上述操作 120 次，配置 120L 该缓冲液。

将配置好的缓冲液拧松盖子后置于高压灭菌锅内，设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa，灭菌时间为 25~30min，当高压灭菌锅显示锅内温度达到 115℃时开始计时，使温度稳定在 115℃以上，灭菌完成后，切断电源，让高压灭菌锅自然冷却，当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa，培养基冷却至 50℃以下(手持瓶子可感觉热，但能握得住)。由于蒸发，少部分水以水蒸气的形式蒸发脱离溶液，高压灭菌后加水定容至 1L，然后拧紧盖子，置于试剂架，室温保存。

⑤ MBP 缓冲液

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)依次称取 2.42g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、11.7g 氯化钠(99%)，3.36g 乙二胺四乙酸二钠(99%)，使用移液器吸取盐酸(37%)1.5mL，逐次将上述药品依次放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 100L MBP 缓冲液，重复上述操作 100 次，配置 100L 该缓冲液。

将配置好的缓冲液拧松盖子后置于高压灭菌锅内，设置高压灭菌锅的压强为 0.1034MPa，灭菌时间为 25~30min，当高压灭菌锅显示锅内温度达到 115℃时开始计时，使温度稳定在 115℃以上，灭菌完成后，切断电源，让高压灭菌锅自然冷却，当高压灭菌锅内压强降至 0.05MPa，培养基冷却至 50℃以下(手持瓶子可感觉热，但能握得住)，由于蒸发，少部分水以水蒸气的形式蒸发脱离溶液，高压灭菌后加水定容至 1L，然后转入聚乙烯试剂瓶，拧紧盖子，置于 4℃冰箱保存。

⑥MBP 洗脱液

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)依次称取 2.42g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、11.7g 氯化钠(99%)、3.36g 乙二胺四乙酸二钠(99%)、5g 麦芽糖(99%)和 1g 蛋白酶(99%)，使用移液器吸取盐酸(37%)1.5mL，逐次将上述药品依次放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 10LMBP 洗脱液，重复上述操作 10 次，配置 10L 该洗脱液。

⑦电泳缓冲液

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)依次称取 3.1g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、18.8g 甘氨酸(99%)，1g 十二烷基硫酸钠(99%)，逐次将上述药品依次放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 20L 电泳缓冲液，重复上述操作 20 次，配置 20L 该缓冲液。配置好的电泳缓冲液于阴凉处避光保存。

⑧染色液

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)称取 2.5g 托马斯亮蓝，使用量筒称取 400ml(约 316.4g)甲醇(99.9%)和 100ml(约 105g)冰醋酸(99.8%)，逐次将上述药品依次放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 2L 染色液，重复上述操作 2 次，配置 2L 染色液。配置好的染色液于阴凉处避光保存。

⑨脱色液

使用量筒称取 400ml(约 316.4g)甲醇(99.9%)和 100ml(约 105g)冰醋酸(99.8%)，逐次将上述药品依次放入烧杯中，加入适量纯水，将混匀后的药品缓慢倒入容量

瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 2L 脱色液，重复上述操作 2 次，配置 2L 脱色液。配置好的脱色液于阴凉处避光保存。

⑩8M 尿素

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)称取 480g 尿素(99%)，将上述药品放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 2L8M 尿素，重复上述操作 2 次，配置 2L 该溶液。配置好的 8M 尿素溶液于阴凉处避光保存。

⑪6M 盐酸胍

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)称取 573g 硫酸胍，将上述药品放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 10L6M 硫酸镍(99%)，重复上述操作 10 次，配置 10L 该溶液。配置好的 6M 盐酸胍溶液于阴凉处避光保存。

⑫0.1M 氢氧化钠溶液

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)称取 4g 氢氧化钠(99%)，将上述药品放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入试剂瓶中，配置好的 0.1M 氢氧化钠溶液于阴凉处避光保存。

⑬蛋白胶制胶试剂

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)称取 100g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、150g 丙烯酰胺(98%)、5g 亚甲基双丙烯酰胺(98%)、1g 过硫酸铵(98.5%)、1g 十二烷基硫酸钠(99%)、1g 四甲基乙二胺(99%)，将上述药品放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入聚乙烯试剂瓶中，配置好的蛋白胶制胶试剂于阴凉处避光保存。

⑭制样缓冲液

使用称量勺和天平(量程 2kg, 精度 0.01g)称取 0.15g 三羟甲基氨基甲烷(99.5%)、0.02g 溴酚蓝(99%)和 0.4g 十二烷基硫酸钠(99%)，使用移液枪吸取 0.1ml(约 0.119g)盐酸(37%)、2ml(约 2.522g)甘油(99.5%)和 0.7ml(0.7805g)2-巯基乙醇(99%)，将上述

药品逐次放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 10ml 后混匀静置，转入试剂瓶中，配置好的制样缓冲液于 4℃冰箱保存。

⑮10%酵母提取物

使用称量勺和天平(量程 2kg，精度 0.01g)称取 100g10%酵母提取物(99%)放入烧杯中，加入适量纯水，使用磁力搅拌器搅拌直至烧杯中药品溶解，将溶解后药品缓慢倒入容量瓶，加入纯水定容至 1L 后混匀静置，转入聚乙烯试剂瓶中。每批次酶制剂生产需 2L10%酵母提取物，重复上述操作 2 次，配置 2L 该溶液。配置好的 10%酵母提取物于阴凉处避光保存。

⑯20%乙醇

使用量筒量取 0.6L 无水乙醇和 2.4L 的纯水，一同加入容量瓶中，使用玻璃棒进行搅拌，促使其充分混匀后静置，储存于避光阴凉处。

(2)菌体复苏和小量培养

①菌体复苏

从超低温冰箱中拿出装有质粒转化后菌种的冻存管，从冻存管中抽取菌种进入离心管，并向离心管中加入液体培养基，混匀。该过程严格按照无菌操作进行，将离心管插于悬浮板中，打开摇床电源，设置温度为 37℃，转速为 200rpm，震荡培养时间为 1h，打开摇床，将悬浮板插于弹簧中，避免正当过程中脱落，开启震荡按钮，进行菌体复苏。

②涂布

菌体复苏结束后，取出悬浮板及离心管置于超净工作台内。拿出涂布有固体培养基的平板，使用移液枪吸取菌液进行涂布，点燃酒精灯，灼烧涂布棒，待涂布棒冷却后，使用涂布棒涂布，涂布过程中每 30°旋转一次进行涂布，确保涂布均匀，该过程严格进行无菌操作。

③过夜培养

涂布结束后，打开培养箱，设置温度为 37℃，转速为 200rpm，将涂布有固体培养基和菌液的平板放置于培养箱中倒置培养过夜。

④挑单克隆

在 37℃培养箱过夜培养后取出平板，观察菌落数目和形态，挑选单菌落，放在超净工作台内，点燃酒精灯，准备接入液体培养基培养。取出已灭菌的液体培

培养基 800ml, 使用移液器吸取液体培养基置于离心管中, 使用移液枪挑取单菌落接入离心管中, 每个管中加入甘油(99.5%)盖紧盖子后, 对离心管进行标记。挑单克隆过程中严格进行无菌操作。

⑤过夜培养

挑单克隆结束后, 打开摇床电源, 设置温度为 37°C, 转速为 200rpm, 震荡培养时间为 12h, 打开摇床, 插于弹簧中, 避免正当过程中脱落, 开启震荡按钮, 进行过夜培养。

菌体复苏和小量培养工序产生废物主要包括 G2-1、G2-2 菌体培养废气、S2-1、S2-2、S2-4 废吸头、S2-3、S2-5 废培养基。

(3)发酵培养

通过小试实验, 进一步确认菌种的发酵培养条件和菌种的发酵培养结果。将过夜培养的 600ml 菌液与 40L 发酵培养基一起接入经灭菌冷却后的 50L 发酵罐中进行扩大培养, 发酵罐使用前采用乙醇进行消毒。发酵培养过程中补料: 10%酵母提取物 2L。通入压缩空气、O₂ 和 CO₂, 并将温度控制在 35°C±0.5°C范围, 二氧化碳浓度控制在 7±1%范围内, 以使菌体能够正常繁殖。

发酵培养工序主要产生废 G3-1 菌体培养废气。

(4)菌体收集

该工序采用管式离心机收集菌体, 管式离心机利用菌体不同密度或粒度的固体颗粒在液体中, 通过不同的沉降速度去进行一系列的分离。主要流程如下:

接通主电源, 打开开关, 显示屏正常显示, 待处理的发酵混合液在一定压力(3×10⁴Pa 左右)下由进料管经底部空心轴进入转鼓底, 靠圆形折转挡板散布于鼓的四周。在转鼓内设有十字形挡板, 防止液体脱离转鼓壁, 液体在转鼓内由挡板被加快到转鼓速度, 在离心力场下, 浮浊液(或悬浮液)沿轴向上流动的过程中被分层成轻液相和重液相(或液相和固相)。并经过上方环状溢流口排出。改动转鼓上端别离环的内径可调节重液相和轻液相的分层界面。处理悬浮液时, 可将管式离心剂的重液口封闭, 只留有中心轻液溢流口, 则固体在离心力场下沉积于转鼓壁上, 到达一定数量后, 停机后人工清除。

该工序主要产生 G4-1 消毒废气、S4-1 废发酵液。

(5)菌体破碎

将收集的菌体用 30L Tris-HCl 缓冲液 A 重悬后, 进入细胞破碎仪(超声), 对菌

体进行破碎，菌体破碎过程中要控制温度在 4℃及以下温度，最好采用冰浴破碎。具体操作流程如下：打开细胞粉碎仪的电源开关，待指示灯亮后设定破碎时间、间隔时间、工作次数(超声 3s，间歇 2s)。根据样品量选用适配容器(试管、烧杯及离心管)，固定好后，调节隔音箱内的升降台来确定高低位置，使变幅杆末端插入样品液面 1~1.5cm 并使其在容器的中心位置，不得让变幅杆与容器壁相接触；变幅杆末端离容器一般应大于 30mm，量小时，功率开小的情况下可大于 10mm(视容器而定)。将收集的菌体用 10 升缓冲液 A 重悬后，进行破碎。破碎后使用专用的乙醇冲洗仪器进行冲洗(1L20%乙醇)。

该工序主要产生 S5-1 废缓冲液和 S5-2 废 20%乙醇。

(6)低温离心

在超净工作台内，将菌体破碎后菌液分装到 50ml 离心管中，拧好瓶盖，插入冰中，重复操作。低温离心工序采用低温高速离心机，使用前预冷到 4℃，离心机采用摇篮式转子，离心机管配平后对称放置。盖上离心机盖，设置转速 4000rpm，离心时间 10min，打开开关进行离心。离心结束后观察离心管底的菌体沉淀情况(上清液和菌体沉淀)。去除离心管，将离心管插入冰内。

(7)包涵体变复性

通过低温离心，菌液被分离成上清液和菌体沉淀，上清液中含有粗酶，使用变性剂将沉淀中的蛋白溶解，再透析除去变性剂，变为可溶蛋白。具体流程如下：

低温离心的上清液和菌体沉淀混合液，利用 8M 尿素和 6M 盐酸胍将菌体沉淀中的蛋白溶解，然后使用透析袋除去混合溶液中的变性剂，混合溶液中主要为可溶蛋白。混合液中的粗酶(蛋白)后续继续进行亲和层析，pH 值在 7.2~7.3 范围，过滤温度控制在 4℃以下，全程过滤时间约 2h。过滤分离工序采用 Tris-HCl 缓冲液 A，该过程会产生废缓冲液。

该工序主要产生该工序主要产生 S7-1 废缓冲液、S7-3 废透析袋和 S7-4 废试剂。

(8)MBP 凝胶亲和层析

本工序采用 MBP 凝胶亲和层析对粗酶液进行纯化。MBP(麦芽糖结合蛋白 maltosebindingprotein)，残基数 346，分子量 42.5KDa，由大肠杆菌 K12 的 malE 基因编码，构建时刻放在 N 端，用来提高可溶性(尤其是真核蛋白)。MBP 的折叠需要 DnaK-DnaJ-GrpE 和 GroEL-GeoES 两个分子伴侣系统的帮助，这可以使这些分子伴侣聚集到目的蛋白的附近帮助其正确折叠。另外，以标签蛋白形式存在的麦

芽糖(99%)结合蛋白可以减少目的蛋白的降解，提高表达产物的水溶性，也为以后对目的蛋白的纯化提供了基础。麦芽糖(99%)结合蛋白能够被多糖树脂吸附，因此在过柱时，能够使融合蛋白与其它蛋白成份分离。

具体流程如下：

- ①确认 MBP 凝胶亲和层析系统、层析柱及填料信息，连接层析系统和层析柱。
- ②在层析前，采用 MBP 缓冲液对层析系统进行润洗和平衡，直至 pH 中性。
- ③将上工序的过滤液上样，上样量为柱床体积的 1%~5%，项目纯化柱规格有 20ml 和 200ml 两种，本项目过滤液的组氨酸(酶)吸附在层析柱上，其余杂质蛋白质随着细胞废液进入废水系统；过滤液上样结束后，采用 MBP 洗脱液进行洗脱，并收集洗脱液。
- ④MBP 凝胶亲和层析柱可再生处理循环使用，MBP 凝胶亲和层析采用 6M 盐酸胍冲洗后，采用 20%乙醇进行冲洗。层析介质需要更换，更换周期约 1 次/年，会产生废层析介质(5kg/次)。

该过程会产生 G8-1、G8-2、G8-3 分离和纯化废气、S8-1、S8-2 废缓冲液、S8-3 废试剂和 S8-4 废层析介质、S8-5 废 20%乙醇、S8-6 废层析柱。

(9)换液和浓缩

换液和分离采用膜分离技术对层析后获得的含酶溶液进一步地浓缩和纯化。具体流程如下：

- ①离心：在超滤前可采用台式冷冻离心机对含酶溶液进行离心，转速 4000rpm，控制温度在 4℃以下，便于进一步过滤去除杂质。
- ②预处理：在超滤前，须对过滤系统进行消毒，采用 20%乙醇消毒液对过滤系统进行浸泡消毒，消毒后通过液泵将 Tris-HCl 缓冲液 D 缓慢的加入过滤系统中，缓慢增加控制流速，循环 5min，以平衡系统，pH 值在 7.2~7.3 范围，操作温度在 4℃以下。
- ③超滤：向过滤系统中的贮槽中加入含酶溶液，记录初始酶溶液体积，启动蠕动泵，过滤系统升压至 0.04MPa，被超滤膜截留下来的溶液循环回流至贮槽中，而透过液流入收集槽，周而复始，待反复循环至贮藏槽中酶溶液体积较少为原来的 25%时，可停止超滤，超滤时间约 8h，分别记录贮槽和收集槽中的液体体积，并取样测定各自酶活性。经过滤系统浓缩后的精制酶溶液进入冷冻干燥工序。

该工序主要产生 G9-1 分离和纯化废气、S9-1 废缓冲液、S9-2 废 20%乙醇、

S9-3 废滤膜，产生废缓冲液可循环使用，每批次生产结束后更换，超滤膜可重复使用，定期更换周期约每年/次。浓缩后的精制酶溶液进入冷冻干燥工序。

(10)冷冻干燥(冻干)

本项目换液和浓缩工序后产出的精制酶溶液采用冷冻干燥法进行冷冻干燥。

①测量共熔点

精制酶溶液随温度降低而凝固冻结，达到全部凝固冻结的温度称为凝固点或共晶点。

②预冻

冷冻干燥之前，先将精制酶溶液在低温下冻结，将加入蔗糖的精制酶溶液放入超低温冰箱冻结后，再移至冷冻干燥机进行冷冻干燥。预冻容器的装量在20%~25%之间，预冻后厚度不超过10mm，预冻时间设定为3~4h，预冻后温度约-50℃，该过程主要产生S10-1 废蔗糖。

③冷冻干燥

启动冷冻干燥机，设定冷冻干燥温度为-45℃，设置压强为20Pa，当装置达到预设条件后，将预冻后的含酶溶液移入冷冻干燥机进行冷冻干燥。该过程主要产生S10-2 冰晶，冰晶融化后产生设备排水。

④冻干的后处理

冻干工序结束后，冻干箱仍处于真空状态，放入无菌干燥空气或氮气后，才能打开箱门，取出成品。干燥制品一旦暴露在空气中，即迅速吸收空气中水分而潮解，并增高成品的含水量，或因氧气侵入而引起不可逆的氧化作用。因此，必须迅速加塞和压盖。

本项目采用特殊装置的冻干箱和特制的瓶与塞相配合，冻干箱配有液压或气压压塞的动力装置，具有四脚的丁醛胶塞安置在冻干瓶口上，在真空或放入惰性气体下进行自动压塞。

(11)质检

质检项目：pH、精制酶溶液浓度、酶活力、质量、细度。

上述检测项目采用《蛋白酶制剂》(GB/T23527-2009)中的检测方法进行检测。该工序主要产生G11-1 质检废气、S11-1 废缓冲液、S11-2 废试剂等。

(12)分装和密封包装

使用精密天平和称量勺称量产品，分装到容器中，采用封盖机密封包装，贴

好标签后储存于冰箱中 4℃保存，待售。该工序主要产生 S12-1 废称量纸、S12-2 废包装物。

3.6 项目变动情况

对照本项目环评报告书及审批部门批复内容，项目变动情况为：

1、原环评中纯水机房内设置 2 台纯水制备装置，产水流速分别为 3L/min 和 2L/min，纯水机房位于成品仓库东侧，建筑面积 28m²；实际建设中纯水机房内设置 1 台纯水制备装置，产水流速为 3L/min，纯水机房位于成品仓库东侧，建筑面积 13m²；纯水机房建筑面积减小，项目纯水用量约 28t/a,每天运行工作时间为 0.7h, 1 台纯水制备装置就能满足企业实际生产需求。

2、原环评中细胞发酵培养过程均在密闭发酵罐内进行作业，菌体发酵培养过程中产生的臭气经发酵罐的排气口处小型高效过滤器处理后排放；实际建设中大肠杆菌发酵培养过程均在密闭发酵罐内进行作业，菌体发酵培养过程中产生的臭气经“碱洗+干燥+二级活性炭吸附”净化装置处理后通过 25m 高排气筒（DA001）排放；不会导致新增污染物且污染物排放量不会增加，不属于重大变动；

3、原环评中配液灭菌室、菌体破碎离心室、纯化室、危废暂存间、研发实验室、理化试验室等设置整体抽风装置，产生废气收集后经过空气净化系统处理（中/高效过滤装置）后引至楼顶经“碱洗+二级活性炭吸附”净化装置处理后经 25m 高排气筒排放（DA001）；实际建设中配液间、接种间、发酵间、分离间、纯化间、危废暂存间设置抽气装置，采用微负压收集，研发区设置通风橱，废气经收集后引至楼顶经过 1 套“碱洗+干燥+二级活性炭吸附”净化装置处理，通过 25m 高排气筒（DA001）排放；不会导致新增污染物且污染物排放量不会增加，不属于重大变动；

4、原环评及环评批复中设备排水、润洗废水、清洗废水、保洁废水、浓水经收集后通过高压灭菌锅灭活后进入厂区内实验室废水处置一体机进行处理(高温灭活+调节 pH+絮凝沉淀+电化学催化+MBR+消毒),处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理；实际建设中涉及菌体的容器/器皿先通过高压灭菌锅灭活后再清洗，过程中产生清洗废水与不涉及生物活性的设备排水、润洗废水、保洁废水、浓水一并进入厂区内实验室废水处置一体机进行处理，处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理；不会导致新增污染物且污染物排放量不会增加，不属于重大变动；

参照《关于印发制浆造纸等十四个行业建设项目重大变动清单的通知（制药

建设项目重大变动清单（试行）》（环办环评〔2018〕6号）文件内容，本项目不属于重大变动。

表 3.6-1 项目重大变动清单对照表

序号	重大变动清单（试行）		变动内容及原因分析	是否属于重大变动
1	规模	中成药、中药饮片加工生产能力增加 50%及以上；化学合成类、提取类药品、生物工程类药品生产能力增加 30%及以上；生物发酵制药工艺发酵罐规格增大或数量增加，导致污染物排放量增加。	无	/
2	建设地点	项目重新选址；在原厂址附近调整（包括总平面布置变化）导致防护距离内新增敏感点。	无	/
3	生产工艺	生物发酵制药的发酵、提取、精制工艺变化，或化学合成类制药的化学反应（缩合、裂解、成盐等）、精制、分离、干燥工艺变化，或提取类制药的提取、分离、纯化工艺变化，或中药类制药的净制、炮炙、提取、精制工艺变化，或生物工程类制药的工程菌扩大化、分离、纯化工艺变化，或混装制剂制药粉碎、过滤、配制工艺变化，导致新增污染物或污染物排放量增加。	无	/
4		新增主要产品品种，或主要原辅材料变化导致新增污染物或污染物排放量增加。	无	/
5	环境保护措施	废水、废气处理工艺变化，导致新增污染物或污染物排放量增加（废气无组织排放改为有组织排放除外）。	1、原环评中细胞发酵培养过程均在密闭发酵罐内进行作业，菌体发酵培养过程中产生的臭气经发酵罐的排气口处小型高效过滤器处理后排放；实际建设中大肠杆菌发酵培养过程均在密闭发酵罐内进行作业，菌体发酵培养过程中产生的臭气经“碱洗+干燥+二级活性炭吸附”净化装置处理后通过 25m 高排气筒（DA001）排放；2、原环评中配液灭菌室、菌体破碎离心室、纯化室、危废暂存间、研发实验室、理化试验室等设置整体抽风装置，产生废气收集后经过空气净化系统处理（中/高效过滤装置）后引至楼顶经“碱洗+二级活性炭吸附”净化装置处理后经 25m 高排气筒排放（DA001）；实际建设中配液间、	不属于重大变动

序号	重大变动清单（试行）	变动内容及原因分析	是否属于重大变动
		接种间、发酵间、分离间、纯化间、危废暂存间设置抽气装置，采用微负压收集，研发区设置通风橱，废气经收集后引至楼顶经过1套“碱洗+干燥+二级活性炭吸附”净化装置处理，通过25m高排气筒（DA001）排放；3、原环评及环评批复中设备排水、润洗废水、清洗废水、保洁废水、浓水经收集后通过高压灭菌锅灭活后进入厂区内实验室废水处置一体机进行处理(高温灭活+调节pH+絮凝沉淀+电化学催化+MBR+消毒)，处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理；实际建设中涉及菌体的容器/器皿先通过高压灭菌锅灭活后再清洗，过程中产生清洗废水与不涉及生物活性的设备排水、润洗废水、保洁废水、浓水一并进入厂区内实验室废水处置一体机进行处理，处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理。	
6	排气筒高度降低10%及以上。	无	/
7	新增废水排放口；废水排放去向由间接排放改为直接排放；直接排放口位置变化导致不利环境影响加重。	无	/
8	风险防范措施变化导致环境风险增大。	无	/
9	危险废物处置方式由外委改为自行处置或处置方式变化导致不利环境影响加重。	无	/

四、环境保护设施

4.1 污染治理/处置设施

4.1.1 废气

本项目产生的废气主要为试剂调配废气、消毒废气、分离和纯化废气、质检废气、灭活废气、菌体培养呼吸废气和危废暂存间废气。主要污染物为非甲烷总烃、氯化氢、甲醇、臭气浓度。

配液间、接种间、发酵间、分离间、纯化间、危废暂存间设置抽气装置，采用微负压收集，研发区设置通风橱，废气经收集后引至楼顶经过1套“碱洗+干燥+二级活性炭吸附”净化装置处理，通过25m高排气筒（DA001）排放。

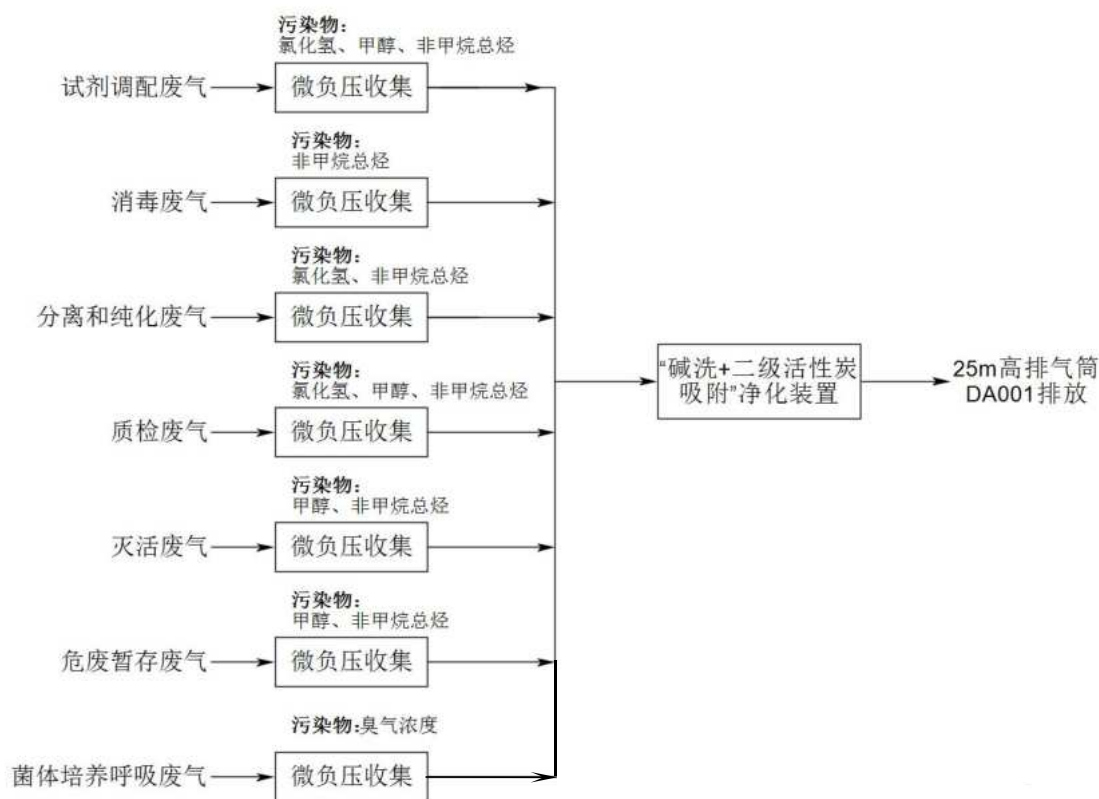


图 4.1-1 本项目废气收集处理流程图



4.1.2 废水

本项目主要有生产工艺废水、员工办公生活污水；涉及菌体的容器/器皿先通过高压灭菌锅灭活后再清洗，过程中产生清洗废水与不涉及生物活性的设备排水、润洗废水、保洁废水、浓水一并进入厂区内实验室废水处置一体机进行处理（调节 pH+絮凝沉淀+电化学催化+MBR+消毒），处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理。生活污水经化粪池预处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理。废水排放执行合肥西部组团污水处理厂接管限值以及《生物工程类制药工业水污染物排放标准》

（GB21907-2008）中表 2 新建企业污染物排放限值要求。



污水处理设施

4.1.3 噪声

本项目噪声源主要来自废水处置一体机、高压灭菌锅、超声波清洗机、磁力搅拌器等设备运行时产生的机械噪声。

采取治理措施有：优先采用低噪音设备，加隔音罩密闭处理，风机出口设消音器，机座铺设防震、吸音材料，按时保养及维修设备，避免机械超负荷运转，降低噪声设备对厂界的影响。

4.1.4 固体废物

本项目产生的固废主要为生活垃圾、废包装物、废标签纸、废 RO 膜、废离子交换树脂、废过滤膜、分离纯化废液、废培养基、废发酵液、质检废液、废消毒液、废吸头、废称量纸、废过滤膜、废药瓶、废透析袋、废注射器、废冻存管、废过滤层析介质、废层析柱、废蔗糖、废过滤芯、喷淋塔废液和废活性炭等。

生活垃圾交由当地环卫部门处理；废包装物、废标签纸定期交由一般工业固废处置单位处置，废 RO 膜、废离子交换树脂和废过滤膜由生产厂家回收；分离纯化废液、废培养基、废发酵液、质检废液、废消毒液、实验废物包括（废吸头、废称量纸、废过滤膜、废药瓶、废透析袋、废注射器和废冻存管）、废过滤层析介质、废层析柱、废蔗糖、废过滤芯、喷淋塔废液和废活性炭等属危险废物，其中分离纯化废液、废培养基、废发酵液、质检废液、废消毒液、实验废物包括（废吸头、废称量纸、废过滤膜、废药瓶、废透析袋、废注射器和废冻存管）、废层析柱、废蔗糖、废过滤层析介质等经高温灭菌后密封暂存于危废暂存间，废活性

炭、喷淋塔废液收集后暂存于危废暂存间，定期交由有资质单位处理处置；废过滤芯定期更换后交由厂家回收。

表 4.1-1 本项目固体废物处置情况一览表

序号	固体废物名称		产生工序	形态	主要成分	是否属于危废	预计年产生量（t/a）
1	废包装物		包装	固态	塑料、包装盒	否	0.1
2	废标签纸		全厂	固态	标签纸	否	0.1
3	废 RO 膜		纯水制备	固态	废 RO 膜	否	0.1
	废离子交换树脂				废树脂		0.03
	废过滤膜				废过滤膜		0.01
4	废试剂混合液	分离纯化废液	分离纯化工序	液态	分离纯化废液	是	15
5		废培养基	菌体培养	液态	废培养基	是	0.2
6		废发酵液	发酵培养	液态	废发酵液	是	5
7		质检废液	质检	液态	质检废液	是	0.27
8		废消毒液	消毒	液态	废消毒液	是	0.2
9	实验废物		全厂	固态	实验废物	是	1
10	废过滤层析介质		纯化工序	固态	废过滤层析介质	是	0.02
11	废层析柱		纯化工序	固态	废层析柱	是	0.07
12	废蔗糖		冷冻干燥	固态	蔗糖	是	0.4
13	废滤芯		废气处理	固态	废滤芯	是	0.03
14	喷淋塔废液		废气处理	液态	废液	是	5.4
15	废活性炭		废气处理	固态	有机物、纤维	是	0.45
16	生活垃圾		办公、生活	固态	生活垃圾	否	0.8



危废库

4.2 其他环境保护设施

4.2.1 环境风险防范设施

(1) 风险防范措施

2025年3月19日，安徽诺为生物技术有限公司完成企业突发环境事件应急预案备案工作，风险级别为一般风险，备案编号为340171-2025-015L。企业采取的风险防范措施有：企业自建了一座1000m³的事故池，位于负一楼，并设置了事故废水截断措施，用于收集项目事故条件下生产废水；重点区域进行了重点防渗，危险废物收集、厂内转运、贮存、转运出厂、运输及最终处置全过程符合《危险废物收集贮存运输技术规范》、《危险废物贮存污染控制标准》、《危险废物转运联单管理办法》的要求。

企业成立“突发环境事件应急救援指挥部”，由董志侠任总指挥，王永强任副指挥，全权负责应急救援工作。指挥部下设四个应急小组，分别为现场处置组、抢险救援及安全警戒组、物资保障组和信息联络组（详见表4.2-1）。企业根据事故应急抢险救援需要，落实配备消防、堵漏、通讯、工具、防护、急救等各类所需应急抢险装备器材。企业现有应急物资见表4.2-2。

表 4.2-1 应急组织机构一览表

组织机构		姓名	手机号	职位
应急指挥部	总指挥	董志侠	15011320707	总经理
	副总指挥	王永强	13856969122	生产车间负责人
现场处置组	组长	刘海萍	18610567868	研发技术人员
	成员	陈红	13721066207	财务
		韩淑玉	18256418973	行政
抢险救援及安全警戒组	组长	徐谷峰	15955158970	研发技术人员
	成员	莫一鸣	17719497311	生产间技术人员
		焦娇	19156228533	生产间技术人员
物资保障组	组长	刘海萍	18610567868	研发技术人员
	成员	韩淑玉	18256418973	财务
		陈红	13721066207	行政
信息联络组	组长	王永强	13856969122	生产间负责人
	成员	冯运飞	15846164878	生产间技术人员

表 4.2-2 企业应急物资一览表

一级目录	应急物资名称	数量	储存位置	责任人
消防设施	消防栓	5 个	办公室及生产车间主要通道	各区域负责人
	灭火器	11 具	办公室及生产车间主要通道	
职业防护装备	防毒面具	5 副	生产车间各应急物资柜	
	防护服	5 套	生产车间各应急物资柜	
	过滤式消防自救器	5 个	生产车间各应急物资柜	
	防护靴	5 双	生产车间各应急物资柜	
	消防头盔	5 个	生产车间各应急物资柜	
应急照明设施	应急照明灯	13 个	办公室及生产车间主要通道	
	应急手电筒	2 个	生产间及办公室	
医疗用品	碘伏	1 瓶	前台	
	创可贴	3 盒	前台	
	医用胶布	5 卷	前台	
	消毒洗手液	3 瓶	前台	
	烫伤膏	1 盒	前台	
	吸附棉	1 箱	前台	
事故废水收集、截留设施	应急事故池	1000m ³	位于地下一层	
	截留阀	3 个	雨水、污水排口处	



	
应急事故池	截留阀

(2) 地下水防渗措施

本项目厂区划分为重点防渗区、一般防渗区和简单防渗区，不同的污染区，采取不同等级的防渗措施。

重点污染防治区主要包括合危险废物暂存间、化学品库、原料仓库、纯化室、研发区等，地面采用环氧树脂地坪进行防渗、防腐处理，设置等效黏土防渗层 $Mb \geq 6.0m$ ， $K \leq 1 \times 10^{-7} cm/s$ 的防渗层；一般防渗区主要包括一般固废间、接种间、发酵间、分离间、菌种室、培养室及其他生产区、生产区通道等，设置等效黏土防渗层 $Mb \geq 1.5m$ ， $K \leq 1 \times 10^{-7} cm/s$ 的防渗层；简单防渗区主要办公区、纯水房、其他公共区域等，做一般地面硬化。

表 4.2-3 厂区污染区划分及防渗技术指标一览表

类别	建筑	实际防渗措施	防渗技术要求	是否满足要求
重点防渗区	危险废物暂存间	地面采用环氧树脂地坪进行防渗、防腐处理	等效黏土防渗层 $Mb \geq 6.0m$ ， $K \leq 1.0 \times 10^{-7} cm/s$ ；或参照 GB18598 执行	是
	化学品库、原料仓库、纯化室、研发实验室等			
一般防渗区	一般固废间、接种小量培养室、发酵培养室、菌体破碎离心室、菌种室、培养室及其他生产区、生产区通道等	地面在抗渗混凝土面层中掺水泥基渗透结晶型防水剂，其下铺砌砂石基层，原土夯实达到防渗目的。	等效黏土防渗层 $Mb \geq 1.5m$ ， $K \leq 1.0 \times 10^{-7} cm/s$ ；或参照 GB16889 执行	是
简单防渗	办公区、纯水房、其他公共区域等	一般地面硬化	/	是

4.2.2 规范化排污口、监测设施及在线监测装置

1. 规范化排污口、监测设施及在线监测装置

(1) 废水排放口

安徽诺为生物技术有限公司在实验室污水处理设备出口安装了废水在线监测装置，监测因子为 pH、COD、NH₃-N、流量，排口在线设备已于 2024 年 8 月完成验收。



废水在线监测站房

(2) 废气排放口

本项目设有 1 个固定污染源废气排口(碱洗+干燥+二级活性炭吸附装置出口); 废气排气筒高度符合规定的高度。废气管道开设采样监测孔，排口张贴生态环境部制定的排口标识牌。



废气排气筒+标识牌

4.3 环境管理检查情况

4.3.1 环境管理制度落实情况

4.3.1.1 环境管理组织机构设立

为了进一步加强公司环境保护工作，建立健全环境管理机制，贯彻落实国家关于环境保护的方针、政策和法律法规，全面提高公司自主环境管理水平，建设单位设立了环境管理机构，配备专业环保管理人员，负责环境监督管理工作，同时要加强对管理人员的环保培训。

4.3.1.2 运行期环境管理

企业建立完善的环境管理制度体系，将环保纳入考核体系，确保在日常运行中将环保目标落实到实处。

（1）“三同时”制度

本项目需要配套建设的环境保护设施，与主体工程同时设计、同时施工、同时投产使用。项目竣工后，建设单位应当按照国务院环境保护行政主管部门规定的标准和程序，对配套建设的环境保护设施进行验收，编制验收报告。建设单位在环境保护设施验收过程中，应当如实查验、监测、记载建设项目环境保护设施的建设和调试情况，不得弄虚作假，验收报告应依法向社会公开。本项目配套建设的环境保护设施经验收合格，方可投入生产或者使用。

（2）排污许可证制度

本项目依法按照排污许可证申请与核发技术规范提交排污许可申请，申报排放污染物种类、排放浓度等，测算并申报污染物排放量。建设单位严格执行排污许可证的规定，禁止无证排污或不按证排污。

（3）环保台账制度

执行记录制度和档案保存制度，记录和台帐包括设施运行和维护记录、危险废物进出台帐、废水、废气污染物监测台帐、突发性事件的处理、调查记录等，妥善保存所有记录、台帐及污染物排放监测资料、环境管理档案资料等。

（4）污染治理设施管理制度

污染处理设施的管理与生产经营活动一起纳入单位日常管理工作的范畴，落

实责任人、操作人员、维修人员、运行经费、设备的备品备件和其他原辅材料。同时建立岗位责任制、制定操作规程、建立管理台帐。

（5）固体废物环境保护制度

①建设单位通过“安徽省危险废物动态管理信息系统”进行危险废物申报登记。将危险废物的实际产生、贮存、利用、处置等情况纳入生产记录，建立危险废物管理台账和企业内部产生和收集、贮存、转移等部门危险废物交接制度。

②明确建设单位为固体废物污染防治的责任主体，企业需建立风险管理及应急救援体系，执行环境监测计划、转移联单管理制度及国家和省有关转移管理的相关规定、处置过程安全操作规程、人员培训考核制度、档案管理制度、处置全过程管理制度等。

③规范建设危险废物贮存场所并按照要求设置警告标志，危废包装、容器和贮存场所应按照《危险废物贮存污染控制标准》（GB 18597-2023）有关要求张贴标识。安装视频在线监控系统。

（6）报告制度

执行月报制度。月报内容主要为污染治理设施的运行情况、污染物排放情况以及污染事故或污染纠纷等。厂内环境保护相关的所有记录、台帐及污染物排放监测资料、环境管理档案资料等应妥善保存并定期上报，发现污染因子超标，要在监测数据出来后以书面形式上报公司管理层，快速果断采取应对措施。

建设单位定期向当地政府环保部门报告污染治理设施运行情况、污染物排放情况以及污染事故、污染纠纷等情况，便于环保部门和企业管理人员及时了解企业污染动态，利于采取相应的对策措施。本项目的性质、规模、地点、生产工艺和环境保护措施等发生变动的，必须向环保部门报告，并履行相关手续，如发生重大变动并且可能导致环境影响显著变化（特别是不利环境影响加重）的，应当重新报批环评。

（7）环保奖惩制度

企业加强宣传教育，提高员工的污染隐患意识和环境风险意识；制定员工参与环保技术培训的计划，提高员工技术素质水平；设立岗位责任制，制定严格的

奖、罚制度。建议企业设置环境保护奖励条例，纳入人员考核体系。对爱护环保设施、节能降耗、改善环境者实行奖励；对环保观念淡薄、不按环保管理要求，造成环保设施损坏、环境污染及资源和能源浪费者一律处以重罚。

（8）信息公开制度

建设单位在环评编制、审批、排污许可证申请、竣工环保验收、正常运行等各阶段均应按照有关要求，通过网站或者其他便于公众知悉的方式，依法向社会公开本项目污染物排放清单，明确污染物排放的管理要求。包括工程组成及原辅材料组分要求，建设项目拟采取的环境保护措施及主要运行参数，排放的污染物种类、排放浓度和总量指标，排污口信息，执行的环境标准，环境风险防范措施以及环境监测等相关内容。

4.3.2 排污许可管理要求落实情况

2023年11月21日，安徽诺为生物技术有限公司完成排污许可证申领工作；2024年5月23日，安徽诺为生物技术有限公司完成排污许可证变更工作，证书编号：91340100MA8PBJ2U48001V，有效期限为2023年11月21日至2028年11月20日。根据《排污单位自行监测技术指南 总则》（HJ819-2017）、《排污许可申请与核发技术规范制药工业生物药品制品制造》（HJ1062-2019）制定本项目自行监测计划。自行监测计划详见下表4.3-1：

表 4.3-1 本项目自行监测计划信息一览表

类别	监测点位	监测指标	监测频次
废水	废水排放口	流量、pH、化学需氧量、氨氮	自动监测
		BOD ₅ 、SS、TP、TN、总余氯、粪大肠菌群	1次/季度
		色度、急性毒性(HgCl ₂ 毒性当量)、总有机碳、动植物油	1次/半年
废气	DA001 出口	非甲烷总烃	1次/月
		甲醇	1次/半年
		HCl、臭气浓度	1次/年
	厂界	HCl、臭气浓度	1次/半年
	门窗或通风口、其他开口（孔）等排放口外 1m	NMHC	1次/半年
噪声	/	等效连续 A 声级	1次/季度

4.3.3 环境保护距离

本项目环境保护距离为厂界外 100m 范围内。根据现场查看，项目环境保护距离内未新建学校、医院、住宅等环境敏感建筑。

本项目环境保护距离见图 4.3-1。



图 4.3-1 项目环境保护距离图

4.4 环保措施落实情况

表 4.4-1 本项目污染治理措施及“三同时”验收一览表

项目	污染工序	污染物	环评环保设施	验收要求	实际建设	环保实际投资 (万元)
废气	试剂调配	氯化氢	①质检过程涉及生物安全作业均在超净工作台内进行，超净作业台自带高效过滤器，产生的少量气溶胶废气经过自带高效过滤器处理后排至车间； ②菌体培养过程均在密闭反应器内进行作业，生物反应器的通气口和排气口处设小型高效过滤器，培养过程产生的呼吸废气经过高效过滤器处理后排至车间； ③配液灭菌室、发酵培养室、收菌室、纯化室、理化室、研发实验室等按照 GMP 车间要求设置洁净车间，为 10 万级设置，车间内部为负压设置，车间设置整体抽风装置，厂房内各类生产废气(试剂调配废气、菌体培养过程呼吸废气、消毒废气、分离和纯化废气、质检废气、灭活废气、危废暂存间产生的废气收集后经过空气净化系统处理(中/高效过滤装置)后引至楼顶经 1 套“碱洗+二级活性炭吸附”净化装置处理后经 25m 高排气筒排放(DA001)，收集效率 90%。	安徽省地方标准《制药工业大气污染物排放标准》(DB34/310005-2021)中排放限值；对生物安全无影响；	①质检过程涉及生物安全作业均在超净工作台内进行，超净作业台自带高效过滤器，产生的少量气溶胶废气、HCl 和有机废气，经“碱洗+干燥+二级活性炭吸附”净化装置处理后通过 25m 高排气筒(DA001)排放； ②大肠杆菌发酵培养过程均在密闭发酵罐内进行作业，菌体发酵培养过程中产生的臭气经“碱洗+干燥+二级活性炭吸附”净化装置处理后通过 25m 高排气筒(DA001)排放； ③配液间、接种间、发酵间、分离间、纯化间、危废暂存间设置抽气装置，采用微负压收集，研发区设置通风橱，废气经收集后引至楼顶经过 1 套“碱洗+干燥+二级活性炭吸附”净化装置处理，通过 25m 高排气筒(DA001)排放。	40
		甲醇				
		非甲烷总烃				
	消毒	非甲烷总烃				
	分离和纯化	氯化氢				
		非甲烷总烃				
	质检	氯化氢				
		非甲烷总烃				
	灭活	氯化氢				
		甲醇				
		非甲烷总烃				
	危废暂存	非甲烷总烃				
		甲醇				

废水	生产工艺废水、生活污水	pH、化学需氧量、五日生化需氧量、悬浮物、氨氮、总氮、总磷、色度、动植物油类、总氯（总余氯）、粪大肠菌群、急性毒性（HgCl ₂ 毒性当量）、总有机碳	①高压灭菌锅； ②化粪池 1 座； ③实验室废水处置一体机； ④废水总排口安装流量、pH、COD 和氨氮在线监控设备；	合肥西部组团污水处理厂的接管标准及《生物工程类制药工业水污染物排放标准》(GB1907-2008)中表 2 中标准要求；	本项目主要有生产工艺废水、员工办公生活污水；涉及菌体的容器/器皿先通过高压灭菌锅灭活后再清洗，过程中产生清洗废水与不涉及生物活性的设备排水、 润洗废水、保洁废水、浓水一并进入厂区内实验室废水处置一体机进行处理，处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理。生活污水经化粪池预处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理。废水排放执行合肥西部组团污水处理厂接管限值以及《生物工程类制药工业水污染物排放标准》（GB21907-2008）中表 2 新建企业污染物排放限值要求。安徽诺为生物技术有限公司在实验室污水处理设备出口安装了废水在线监测装置，监测因子为 pH、COD、NH ₃ -N、流量，排口在线设备已于 2024 年 8 月完成验收	10
地下水	/	重点防渗区：危废暂存间、事故池、化学品库、原料仓库、纯化室、研发实验室、理化试验室等；	等效黏土防渗层 Mb≥6.0m，K≤10 ⁻⁷ cm/s；或参照 GB18598 执行	重点污染防治区主要包括合危险废物暂存间、化学品库、原料仓库、纯化室、研发区等，地面采用环氧树脂地坪进行防渗、防腐处理，设置等效黏土防渗层 Mb≥6.0m， K≤1×10 ⁻⁷ cm/s 的防渗层；一般防渗区主要包括一般固废间、接种间、发酵间、分离间、菌种室、培养室及其他生产区、生产区通道等，设置等效黏土防渗层 Mb≥1.5m， K≤1×10 ⁻⁷ cm/s 的防渗层；简单防渗区主要为办公区、纯水房、其他公共区域等，做一般地面硬化	20	
		一般防渗区：一般固废间、接种小量培养室、发酵培养室、收菌室、菌体破碎离心室、菌种室、培养室及其他生产区、生产区通道；	等效黏土防渗层 Mb≥1.5m，K≤10 ⁻⁷ cm/s；或参照 GB18598 执行			
		简单防渗：办公区、纯水房和其他公共区域等；	地面硬化			
		厂内设 1 个地下水水质监测点	/			

噪声	设备噪声	隔声、减振、降噪，厂区周边加强绿化	厂界噪声执行《工业企业厂界环境噪声排放标准》(GB12348-2008)中 3 类标准；	选用低噪声设备、设置减震基础、厂房隔声，使厂界噪声达标	5
固体废物	危险废物	①暂存于危废暂存间，定期交由有资质单位处理处置，建筑面积为 8m ² 的危废暂存间 1 座，分别用于储存生产过程产生的危废； ②危废委托处置协议； ③危废记录台账；	暂存执行《危险废物贮存污染控制标准》(GB18597-2023)	生活垃圾交由当地环卫部门处理；废包装物、废标签纸定期交由一般工业固废处置单位处置，废 RO 膜、废离子交换树脂和废过滤膜由生产厂家回收；分离纯化废液、废培养基、废发酵液、质检废液、废消毒液、实验废物包括（废吸头、废称量纸、废过滤膜、废药瓶、废透析袋、废注射器和废冻存管）、废过滤层析介质、废层析柱、废蔗糖、废滤芯、喷淋塔废液和废活性炭等属危险废物，其中分离纯化废液、废培养基、废发酵液、质检废液、废消毒液、实验废物包括（废吸头、废称量纸、废过滤膜、废药瓶、废透析袋、废注射器和废冻存管）、废层析柱、废蔗糖、废过滤层析介质等经高温灭菌后密封暂存于危废暂存间，废活性炭、喷淋塔废液收集后暂存于危废暂存间，定期交由有资质单位处理处置；废滤芯定期更换后交由厂家回收。危废暂存间建筑面积为 8m ²	15
	一般固废	废 RO 膜、废离子交换树脂和废过滤膜由厂家回收处理、废包装材料和废标签纸交由一般工业固废处置单位处置。	符合《一般工业固体废物贮存和填埋污染控制标准》(GB18599-2020)标准要求；		
	生活垃圾	交由环卫部门统一清运。	/		
环境风险	事故防范措施	①事故应急池：依托园区一个有效容积 792m ³ 的事故应急池； ②事故废水截断措施； ③编制突发环境风险应急预案。	符合《突发环境事件应急预案管理暂行办法》有关要求	2025 年 3 月 19 日，安徽诺为生物技术有限公司完成企业突发环境事件应急预案备案工作，风险级别为一般风险，备案编号为 340171-2025-015L；企业自建了一座 1000m ³ 的事故池，位于负一楼，并设置了事故废水截断措施。	10
环境管理	排污口(排气筒+污水排放口)		符合《排污口规范化整治技术要求(试行)》	废气管道开设采样监测孔，排口张贴生态环境部制定的排口标识牌	/

	环保图形标志牌	符合(GB 15562.2-1995)的规定		
--	---------	------------------------	--	--

五、环评主要结论与建议及批复要求

5.1 环评结论

5.1.1 项目建设概况

项目名称：安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目；

建设单位：安徽诺为生物技术有限公司；

项目性质：新建；

行业类别：C2761 生物药品制造；

建设地点：安徽省合肥市高新区石莲南路 116 号全盟电力科技园 5 楼，
E117.287446、N32.559436；

投资总额：项目投资 1000 万元，其中环保投资 99 万元。

建设内容：项目占地 1670m²（2.505 亩），共设有酶制剂生产线 1 条，年生产酶制剂 500g，同步配套建设主辅工程。

5.1.2 区域环境质量

1、环境空气

根据《2021 年合肥市环境状况公报》可知，2021 年，评价区大气中 SO₂ 年平均浓度值、NO₂ 年平均浓度值、PM_{2.5}、PM₁₀ 年平均浓度值、CO₂₄ 小时平均第 95 百分位数浓度值、O₃ 最大 8 小时滑动平均值第 90 百分位数浓度值均可满足《环境空气质量标准》（GB3095-2012）及修改单中二级标准，由此可知，合肥市属于达标区。根据引用数据可知，区域环境空气中，氯化氢、甲醇的监测结果均可满足《环境影响评价技术导则-大气环境》（HJ2.2-2018）附录 D 标准，非甲烷总烃可以满足《大气污染物综合排放标准详解》中标准要求。本项目排放的废气主要成分为非甲烷总烃、HCl，排放量很小，总体不会改变区域空气环境功能。

2、地表水环境

本项目最终受纳水体为派河，根据《2021 年合肥市环境状况公报》，派河水质满足《地表水环境质量标准》（GB3838-2002）中的Ⅲ类标准要求。

3、声环境

监测结果表明，项目区域各监测点声环境质量能满足《声环境质量标准》

（GB3096-2008）中 3 类标准。

4、地下水环境

监测结果和引用数据表明，各监测点位的监测因子均可满足《地下水质量标准》（GB/T14848-2017）中 III 类标准限值要求。

5、土壤环境

项目周建设用地土壤环境质量能够满足《土壤环境质量建设用地土壤污染风险管控标准（试行）》（GB36600-2018）中第二类用地要求筛选值要求。

5.1.3 产业政策与相关规划符合性

（1）产业政策符合性

本项目属于 C2761 生物药品制造，根据《产业结构调整指导目录（2019 年本）》及《国家发展改革委关于修改〈产业结构调整指导目录（2019 年本）〉的决定》，拟建项目属于第一类“鼓励类”中第十三条“医药”中第 2 项“重大疾病防治疫苗、抗体药物、基因治疗药物、细胞治疗药物、重组蛋白质药物、核酸药物，大规模菌体培养和纯化技术、大规模药用多肽和核酸合成、抗体偶联、无血清无蛋白培养基培养、发酵、纯化技术开发和应用，纤维素酶、碱性蛋白酶、诊断用酶等酶制剂，采用现代生物技术改造传统生产工艺”。

且本项目已于 2022 年 8 月 19 日经合肥市高新技术产业开发区经济贸易局备案，项目代码编码为 2208-340161-04-05-634033。

综上所述，拟建项目符合国家产业政策。

（2）规划符合性

根据《合肥高新技术产业开发区规划（2019-2035）》中用地布局规划图可知，项目用地属于工业用地，本项目为 C2761 生物药品制造，由此可知，项目用地符合《合肥高新技术产业开发区规划（2019-2035）》中用地布局规划要求。

本项目符合《合肥高新技术产业开发区规划》、《合肥高新技术产业开发区规划环境影响评价报告书》及其审查意见、《合肥高新技术产业开发区规划环境影响跟踪评价报告书》及其审查意见中要求，符合园区产业定位和总体规划。

（3）其他规划符合性分析

经与《制药工业污染防治技术政策》、《安徽省重点行业挥发性有机物治理环境管理技术规范第 10 部分：制药工业》、《巢湖流域水污染防治条例》、《巢湖综合治理绿色发展总体规划》（2018 年-2035 年）、国务院《关于全面打造水清

岸绿产业优美丽长江（安徽）经济带的实施意见（升级版）》等相关政策文件进行对比分析可知，本项目符合相关规划要求。

（4）“三线一单”符合性分析

建设项目所在区域不涉及生态红线，本项目建设不突破区域环境质量底线、资源利用上线，不属于环境准入负面清单中所列的行业，符合“三线一单”要求。

5.1.4 环境影响预测与评价

1、地表水环境影响分析

本项目主要有生产工艺废水、员工办公生活污水；生产工艺废水主要包括设备排水、润洗废水、清洗废水、保洁废水、浓水，生产工艺废水经高温灭活后进入厂区内实验室废水处置一体机进行处理，处理达标后通过园区污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度净化。生活污水经化粪池预处理达到合肥西部组团污水处理厂的接管标准以及《生物工程类制药工业水污染物排放标准》（GB21907-2008）中表2新建企业污染物排放限值要求后，接入市政污水管网，经污水处理厂处理达到《巢湖流域城镇污水处理厂和工业行业主要水污染物排放限值》（DB34/2710-2016）标准要求后排到派河”，不会对附近地表水体产生明显的不利影响。

2、废气环境影响分析

（1）项目生产区置整体抽风设施，生产过程中菌体发酵培养在发酵罐内进行，产生少量呼吸废气经过高效过滤器处理后外排；酶制剂生产过程中产生的试剂调配废气、消毒废气、分离和纯化废气、质检废气、灭活废气和危废暂存间废气经收集后引至楼顶经过1套“碱洗+二级活性炭吸附”净化装置处理，处理达标后经25m高排气筒（DA001）排放，各废气有组织排放浓度均可满足安徽省地方标准《制药工业大气污染物排放标准》（DB34/310005-2021）表2中排放限值。

（2）本项目排放的污染物最大地面空气质量浓度占标率为 $P_{\max}=0.65\%<1\%$ ，根据《环境影响评价导则大气环境》（HJ2.2-2018）有关规定，大气环境影响评价工作等级大气评价等级为三级，酶制剂生产过程中产生的废气污染物主要为氯化氢、甲醇和非甲烷总烃，通过DA001有组织外排的排放量分别为0.0003t/a、0.0012t/a和0.0096t/a。

（3）大气环境防护距离：本项目厂界浓度限值达标，排放的污染物对周边大气环境的影响较小。结合项目大气环境防护距离、卫生防护距离以及风险防控距

离可知，项目需设置 100m 环境防护距离，根据现场踏勘可知，本项目周边 100m 范围内均规划为工业用地，不存在环境敏感点，因此，项目建设满足环境防护距离要求，本环评要求环境防护距离范围内不得建设居民区、学校、医院等敏感点。

3、噪声环境影响分析

本项目实施后，生产设备选型较小，因此生产设备产生的噪声较小，产噪设备主要为各类公辅设施，噪声值约为 55~90dB（A）之间。采取建筑物隔声、减震以及消声等措施后，厂界噪声可以达到《工业企业厂界环境噪声排放标准》（GB12348-2008）中的 3 类标准，不改变评价区域声环境质量现状声功能区级别。

4、固废环境影响分析

（1）危险废物

本项目产生的危险废物主要为废试剂混合液、实验废物、废过滤层析介质、废层析柱、废蔗糖、废滤芯、液喷淋塔废液和废活性炭，废试剂混合液包括废缓冲液、废洗脱液、废培养基、废发酵液、质检废液、废消毒液和废试剂等，实验废物包括废吸头、废称量纸、废过滤膜、废药瓶、废透析袋、废注射器和废冻存管等。废试剂混合液收集后，高温灭菌后密封桶装暂存于危废暂存间，定期交由有资质单位处置，实验废物、废过滤层析介质、废层析柱、废蔗糖收集后，高温灭菌后密封分类暂存于危废暂存间，定期交由有资质单位处置，废活性炭、喷淋塔废液收集后，密封桶装暂存于危废暂存间，定期交由有资质单位处置。高效过滤器更换滤芯产生的废滤芯由生产厂家回收处置，不在厂区暂存。

（2）一般工业固废

本项目生产准备及工艺过程中产生的一般工业固体废物主要为废包装物、废标签纸、废 RO 膜、废离子交换树脂和废过滤膜，废包装物、废标签纸定期交由一般工业固废处置单位处置，废 RO 膜、废离子交换树脂和废过滤膜由生产厂家回收。

（3）生活垃圾

主要来自于办公室和职工日常生活过程中产生的垃圾，存储于指定的垃圾桶内，由环卫部门统一收集处置。

因此，项目产生的固体不会对周围环境产生明显的不利影响。

5、地下水环境影响分析

由预测结果可知，污染物泄漏会对地下水造成影响，但整体影响范围主要集中在地下水径流的下游方向，污染物在地下水对流作用的影响下，污染中心区域

向下游方向迁移，同时在弥散作用的影响下，污染羽的范围向四周扩散。由于项目所在区域地下水水力梯度较小，污染物迁移速度也较慢，且位于全盟电力科技园 5 楼，楼板的厚度满足等效黏土防渗层 $Mb \geq 6.0m$ ， $K \leq 1.0 \times 10^{-7}cm/s$ ；或 GB18598 中相应要求，非正常工况下，项目实施对区域地下水环境缺少影响途径，即使贮存于危废暂存间的工艺废水发生泄漏，也不会导致废水泄漏下渗进入地下水，对地下水造成影响。

5.1.5 环境风险

(1) 根据《建设项目环境风险评价技术导则》(HJ169-2018)，本项目环境风险潜势为 I 级，因此本项目评价环境风险评价工作等级为简单分析。

(2) 拟建项目的建设不可避免会存在一定的环境风险。对此，建设单位必须高度重视。做到风险防范警钟常鸣，环境安全管理常抓不懈；严格落实各项风险防范措施，不断完善风险管理体系。只有这样，才能有效降低风险事故发生概率、杜绝特大事故的发生隐患。

(3) 拟建项目各类环境风险事故的风险值，均在行业可接受范围内；厂址选址可行；项目需从风险防范、事故处置、应急预案三个层面，建立、制定、完善的风险管理体系。

(4) 企业依托园区设置的 $792m^3$ 的事故池 1 座，并在厂区雨水排口设置切断闸阀，危废暂存间、事故池、化学品库、原料仓库、纯化室、研发实验室、理化试验室等进行重点防渗处理，企业运营后编制突发环境事故应急预案。

综上所述，本评价认为，在有效落实风险防范措施和事故应急预案的前提下，从环境风险角度评价，项目建设是可行的。

5.1.6 环境经济损益分析

项目采用国际较为先进的生产工艺和设备，各污染物可保证达标排放，采取的环境保护措施为妥善良好的污染防治措施，技术可行、经济合理。项目总投资 1000 万元，其中环保资金 99 万元，占总投资额的 9.9%。为企业创造经济效益的同时，还可以上缴较高的地方财税，对于振兴区域经济，提高人民生活水平做出了较大贡献，同时又增加了该企业内部及其附近居民的就业机会，对社会也有贡献。

5.1.7 总量控制

项目实施后，废水接管至合肥西部组团污水处理厂，废水中污染物总量指标纳入合肥西部组团污水处理厂总量指标内，无需重新申请；本项目废气总量控制指标为 VOCs: 0.0108t/a。

5.1.8 结论

综上所述，安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目符合国家和地方产业政策要求，项目选址位于安徽省合肥市高新区石莲南路 116 号全盟电力科技园 5 楼，选址符合区域总体规划，项目符合《巢湖流域水污染防治条例》、《关于全面打造水清岸绿产业优美丽长江（安徽）经济带的实施意见（升级版）》、《长江经济带发展负面清单指南（试行）》、《制药工业污染防治技术政策》等相关政策要求，项目建设符合“三线一单”要求。

项目生产过程中遵循清洁生产理念，所采用的各项污染防治措施技术可行、经济合理，能保证各类污染物长期稳定达标排放，不会降低评价区域大气、地表水和声环境质量原有功能级别；在公众参与调查期间，未收到反馈意见；在有效落实风险防范措施和事故应急预案的前提下，从环境风险评价角度来看，项目环境风险可以防控。

综上所述，拟建项目在建设和生产运行过程中，切实落实报告书提出的各项污染防治措施及“三同时”制度的前提下，从环境影响角度分析，项目建设可行。

5.2 生态环境局对环评报告的批复

安徽诺为生物技术有限公司：

安徽诺为生物技术有限公司报来的《生物酶制剂项目环境影响报告书》(以下简称“《报告书》”)及要求出具审批的《报告》已经收悉。经现场勘验和资料审核，审批意见如下：

一、经审核，拟建项目位于安徽省合肥市高新区石莲南路 116 号全盟电力科技园 5 楼。项目租用安徽全盟电力科技股份有限公司的全盟电力科技园 5 楼，租用面积约为 1670m²，设置 1 条酶制剂生产线，同步配套有称量室、配置室、菌种室、冷冻室、研发实验室、理化室、原料仓库、化学品库、一般固废暂存间、成品仓库、危废间、纯水机房、配液灭菌室、培养室、接种小培养室、发酵培养室、

收菌室、菌体破碎离心室、纯化室、分装室、外包室等生产用室及其他生产配套装置。项目建成后可形成年产酶制剂 500g 的生产规模。

二、项目设计、建设及营运过程中应重点做好以下工作：

1、在落实环境影响评价文件和本批复提出的各项生态环境保护措施后，项目导致的不利生态环境影响可以得到缓解和控制。合肥市生态环境局原则同意安徽睿晟环境科技有限公司编制的环境影响评价文件的总体评价结论和拟采取的生态环境保护措施。

2、落实水环境保护措施。项目排水实行雨、污分流，项目废水主要为职工生活污水、设备排水、润洗废水、清洗废水、保洁废水、浓水。生活污水经化粪池预处理达标后接入市政污水管网，排至合肥西部组团污水处理厂深度处理；设备排水、润洗废水、清洗废水、保洁废水、浓水经收集后通过高压灭菌锅灭活后进入厂区内实验室废水处置一体机进行处理(高温灭活+调节 pH+絮凝沉淀+电化学催化+MBR+消毒，日处理量为 200L/d)，处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理。

3、严格落实大气污染防治措施。项目产生的废气主要为试剂调配废气、消毒废气、分离和纯化废气、质检废气和危废暂存间废气。生产区设置抽气装置，采用微负压收集，废气经收集后引至楼顶经过 1 套“碱洗+干燥+二级活性炭吸附”净化装置处理，通过 25m 高排气筒(DA001)排放。本项目以厂界为边界设置 100m 的卫生防护距离。

4、项目噪声源主要来自废水处置一体机、高压灭菌锅、超声波清洗机、磁力搅拌器等设备运行时产生的机械噪声，应选用低噪声设备并采取隔声、减振等减噪措施，确保厂界噪声达标排放。

5、严格按照有关规定，分类处理、处置固体废物，做到资源化、减量化、无害化。项目固体废物主要为生活垃圾、废包装物、废标签纸、废 RO 膜、废离子交换树脂、废过滤膜、分离纯化废液、废培养基、废发酵液、质检废液、废消毒液、废吸头、废称量纸、废过滤膜、废药瓶、废透析袋、废注射器、废冻存管、废过滤层析介质、废层析柱、废蔗糖、废过滤芯、喷淋塔废液和废活性炭等。生活垃圾实行分类袋装化，由环卫部门处理；废包装物、废标签纸定期交由一般工业固废处置单位处置，废 RO 膜、废离子交换树脂和废过滤膜由生产厂家回收；分离纯化废液、废培养基、废发酵液、质检废液、废消毒液、废吸头、废称量纸、废过

滤膜、废药瓶、废透析袋、废注射器和废冻存管、废过滤层析介质、废层析柱、废蔗糖、废过滤芯、喷淋塔废液和废活性炭等属危险废物，其中分离纯化废液、废培养基、废发酵液、质检废液、废消毒液，废吸头、废称量纸、废过滤膜、废药瓶、废透析袋、废注射器、废冻存管、废层析柱、废蔗糖、废过滤层析介质等经高温灭菌后密封，存在按照国家规范建设的危险废物暂存场所，定期交由有资质单位处理处置；废活性炭、喷淋塔废液收集后，密封桶装存在按照国家规范建设的危险废物暂存场所，定期交由有资质单位处理处置；废过滤芯定期更换后交由厂家回收。危险废物在项目区内临时贮存应严格执行《危险废物贮存污染控制标准》(GB18597-2001)及其 2013 年修改单内容的有关要求，设置危险废物识别标志，并做好三防措施等工作；其转运严格执行危险废物转移联单管理等要求。

6、项目依托园区一座 792m³ 事故池，并在厂区雨水排口设置切断闸阀，满足事故状态下事故水收集要求。

7、有关本项目的其他环境影响的减缓措施，按环评文件要求认真落实。

三、项目施工期间废气主要来源于现有厂房改造及运输车辆所排放的废气，产生的废气主要为扬尘。生活污水经临时化粪池处理后接入城市污水管网。施工过程中严格落实工地周围设置连续、密闭硬质围挡，场区道路硬化处理等“六个百分百”相关要求，采取有效措施防治施工现场扬尘污染。施工过程选用低噪声施工机械设备，对产噪设备应采取隔声、消声、减振等综合降噪措施，合理安排施工时间和合理布局高噪声设备，避免扰民事件发生，施工机械尽量远离环境敏感目标，在环境敏感目标附近施工时，应设置围挡设施和临时隔声屏障。严格执行《建筑施工场界环境噪声排放标准》(GB12523-2011)中的有关规定，减缓施工的噪声影响。施工中产生的建筑垃圾、工程土石方和生活垃圾等必须按照相关主管部门要求及时清运至指定地点，防止产生二次污染。施工中产生的生活垃圾应集中收集，送环卫部门统一处理。

四、项目建设须严格执行项目配套的环境保护设施与主体工程同时设计、同时施工、同时投入使用的环境保护“三同时”制度，各项环境管理措施应一并落实。项目建成后，必须严格执行排污许可制度，在发生实际排污行为前申领排污许可证，并按照规定组织竣工环保验收。

五、项目的环境影响评价文件经批准后，若该项目的性质、规模、地点、生产工艺和环保设施发生重大变动的，建设单位应当重新报批该项目的环境影响评价文件。

六、环评执行标准

1、环境质量标准：

地表水派河执行《地表水环境质量标准》(GB3838-2002)III类标准。

环境空气质量基本污染物执行国家《环境空气质量标准》(GB3095-2012)二级标准、氯化氢、甲醇参照执行《环境影响评价技术导则大气环境》(HJ2.2-2018)附录 D 中浓度限值，非甲烷总烃参照执行《大气污染物综合排放标准详解》中的建议值。

声环境执行《声环境质量标准》(GB3096-2008)3 类标准。

地下水环境质量执行《地下水质量标准》(GB/T14848-2017)中 III 类标准。

土壤环境执行《土壤环境质量建设用地土壤污染风险管控标准》(GB36600-2018)第二类用地筛选值。

2、污染物排放标准：

废水排放执行西部组团污水处理厂接管限值及《生物工程类制药工业水污染物排放标准》(GB21907-2008)中表 2 新建企业污染物排放限值。

废气排放执行安徽省地方标准《制药工业大气污染物排放标准》(DB34/310005-2021)中表 1、表 2、表 6 和表 7 中排放限值要求。

营运期噪声排放执行《工业企业厂界环境噪声排放标准》(GB12348-2008)中的 3 类标准。

一般工业固体废物执行《一般工业固体废物贮存和填埋污染控制标准》(GB18599-2020)相关规定；危险废物临时贮存执行国家《危险废物贮存污染控制标准》(GB18597-2001)及 2013 年修改单内容的有关规定。

六、验收执行标准

污染物排放执行标准经合肥市生态环境局以“环建审（2023）10042号”文《关于对“安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目”环境影响报告书的审批意见》、安徽诺为生物技术有限公司排污许可证（编号：91340100MA8PBJ2U48001V）确认如下：

6.1 废水排放标准

本项目主要有生产工艺废水、员工办公生活污水；涉及菌体的容器/器皿先通过高压灭菌锅灭活后再清洗，过程中产生清洗废水与不涉及生物活性的设备排水、润洗废水、保洁废水、浓水一并进入厂区内实验室废水处置一体机进行处理，处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理。生活污水经化粪池预处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理。废水排放执行合肥西部组团污水处理厂接管限值以及《生物工程类制药工业水污染物排放标准》（GB21907-2008）中表2新建企业污染物排放限值要求。具体标准值见表6.1-1。

表 6.1-1 废水排放标准一览表

编号	污染物名称	最高允许排放浓度（mg/L）	依据标准
1	pH	6~9	合肥西部组团污水处理厂接管限值
2	COD	350	
3	BOD ₅	180	
4	SS	250	
5	NH ₃ -N	35	
6	总磷	6	
7	TN	50	
8	色度（稀释倍数）	50	《生物工程类制药工业水污染物排放标准》（GB21907-2008）
9	动植物油	5	
10	总余氯（以Cl计）	0.5	
11	粪大肠菌群数（MPN/L）	500	
12	急性毒性（HgCl ₂ 毒性当量）	0.07	
13	总有机碳（TOC）	30	
14	单位产品基准排水量（m ³ /kg）	80	

6.2 废气排放标准

本项目有组织废气非甲烷总烃、氯化氢、甲醇、臭气浓度排放执行《制药工业大气污染物排放标准》（DB34/310005-2021）中规定的排放限值要求。

厂界无组织废气氯化氢、臭气浓度排放执行《制药工业大气污染物排放标准》（DB34/310005-2021）表 7 中排放限值要求，非甲烷总烃排放执行《大气污染物综合排放标准》（GB 16297-1996）表 2 中排放限值要求，厂区内 VOCs 无组织排放执行《制药工业大气污染物排放标准》（DB34/310005-2021）表 6 中排放限值要求。

具体标准值详见 6.2-1~表 6.2-3。

表 6.2-1 废气排放标准一览表

污染物	排放限值 (mg/m ³)	排放速率 (kg/h)	污染物排放 监控位置	依据标准
NMHC	60	/	车间或生产 设施排气筒	《制药工业大气污染物 排放标准》 (DB34/310005-2021)
氯化氢	10	/		
甲醇	50	/		
臭气浓度	1000 (无量纲)	/		

表 6.2-2 厂区内 VOCs 无组织排放最高允许限值

污染物 名称	监控点限值 (mg/m ³)	限值含义	无组织排放监控 位置	依据标准
NMHC	6	监控点处 1h 平均浓度值	在厂房外设置监 控点	《制药工业大气污染物 排放标准》 (DB34/310005-2021)
	20	监控点处任意一次浓度 值		

表 6.2-3 企业边界大气污染物浓度限值

污染物名称	限值 (mg/m ³)	依据标准
氯化氢	0.2	《制药工业大气污染物排 放标准》 (DB34/310005-2021)
臭气浓度	20	
非甲烷总烃	4.0	《大气污染物综合排放标 准》(GB 16297-1996)

注：臭气浓度，无量纲，为最大一次值

6.3 噪声排放标准

厂界噪声执行《工业企业厂界环境噪声排放标准》（GB 12348-2008）中 3 类标准限值要求，详见表 6.3-1。

表6.3-1 噪声排放标准

标准名称和类别	噪声限值[dB (A)]	
	昼间	夜间
《工业企业厂界环境噪声排放标准》 (GB12348-2008) 3 类标准	65	55

6.4 固废控制标准

建设项目固体废物贮存执行《中华人民共和国固体废物污染环境防治法》（2020 年 4 月 29 日修订），其中危险废物临时贮存执行《危险废物贮存污染控制标准》（GB 18597-2023）；一般工业固体废物贮存参照执行《一般工业固体废物贮存和填埋污染控制标准》（GB18599-2020）标准要求。

6.5 总量控制指标

由环评文件中可知本项目废气总量控制指标为 VOCs：0.0108t/a；

本项目涉及总量控制指标为氨氮和 COD，废水接管至合肥西部组团污水处理厂，废水中污染物总量指标纳入合肥西部组团污水处理厂总量指标内，可不进行申请。

七、验收监测内容

7.1 环境保护设施调试运行效果

本次竣工验收监测是对安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目的建设、运行和管理情况进行全面考核，对环保设施的处理效果和排污状况进行现场监测，以检查各类污染防治措施是否达到设计能力和预期效果，并评价其污染物排放是否符合设计要求和国家标准。监测内容主要包括废水监测、有组织废气监测、无组织废气监测、厂界噪声监测等。

7.1.1 废水监测

项目废水监测点位、项目及频次见表 7.1-1。

表7.1-1 废水监测内容一览表

点位编号	点位名称	检测因子	检测频次
F1	实验室污水处理设备进口	pH、化学需氧量、五日生化需氧量、悬浮物、氨氮、总氮、总磷、色度、动植物油类	监测 2 天， 每天 4 次
F2	实验室污水处理设备出口	pH、化学需氧量、五日生化需氧量、悬浮物、氨氮、总氮、总磷、色度、动植物油类、总氯（总余氯）、粪大肠菌群、急性毒性（HgCl ₂ 毒性当量）、总有机碳	
F3	园区废水总排口	pH、化学需氧量、五日生化需氧量、悬浮物、氨氮、总氮、总磷、色度、动植物油类、总氯（总余氯）	

7.1.2 有组织废气监测

项目有组织废气监测点位、项目和频次见表 7.1-2。

表 7.1-2 有组织废气监测内容一览表

点位编号	点位名称	检测因子	检测频次
Y1	碱洗+干燥+二级活性炭吸附装置出口	非甲烷总烃、氯化氢、甲醇、臭气浓度	监测 2 天， 每天 3 次

7.1.3 无组织废气监测

项目无组织废气监测点位、项目和频次见表 7.1-3。

表 7.1-3 无组织废气监测内容一览表

点位编号	点位名称	检测因子	检测频次
G1	厂区上风向	非甲烷总烃、氯化氢、臭气浓度	监测 2 天， 每天 3 次
G2	厂区下风向		
G3	厂区下风向		
G4	厂区下风向		
G5	厂房门口处	非甲烷总烃	监测 2 天，1h 内等时间间隔采集 3 个 样品

7.1.4 厂界噪声监测

项目噪声监测点位及频次见表 7.1-4。

表 7.1-4 噪声监测内容一览表

编号	监测点位	监测因子	监测频次
N1	项目区东厂界	厂界环境噪声	监测 2 天， 昼、夜各 1 次
N2	项目区南厂界		
N3	项目区西厂界		
N4	项目区北厂界		

7.2 监测布点图

项目监测布点图见图 7.3-1：



图 7.3-1 本项目验收监测布点图

八、质量保证及质量控制

本次验收监测采样及样品分析均严格按照《污水监测技术规范》（HJ91.1-2019）、《固定源废气监测技术规范》（HJ/T397-2007）、《大气污染物无组织排放监测技术导则》（HJ/T55-2000）等要求进行，实施全程序质量控制。具体质控要求如下：

- 1、生产处于正常。监测期间生产稳定运行，各污染治理设施运行基本正常。
- 2、合理布设监测点位，保证各监测点位布设的科学性和可比性。
- 3、监测分析方法采用国家颁布标准（或推荐）分析方法，监测人员均持证上岗，所有监测仪器经过计量部门检定并在有效期内。
- 4、监测数据严格实行三级审核制度。

8.1 监测分析方法

监测分析方法详见表 8.1-1：

表 8.1-1 监测分析方法一览表

样品类别	检测项目	检测依据	检出限
废水	pH	水质 pH 值的测定 电极法 HJ 1147-2020	——
	化学需氧量	水质 化学需氧量的测定 快速消解分光光度法 HJ/T 399-2007	3.0mg/L
	五日生化需氧量	水质 五日生化需氧量（BOD ₅ ）的测定 稀释与接种法 HJ 505-2009	0.5mg/L
	悬浮物	水质 悬浮物的测定 重量法 GB/T 11901-1989	4mg/L
	氨氮	水质 氨氮的测定 纳氏试剂分光光度法 HJ 535-2009	0.025mg/L
	总氮	水质 总氮的测定 碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法 HJ 636-2012	0.05mg/L
	总磷	水质 总磷的测定 钼酸铵分光光度法 GB/T 11893-1989	0.01mg/L

续表 8.1-1 监测分析方法一览表

样品类别	检测项目	检测依据	检出限
废水	色度	水质 色度的测定 稀释倍数法 HJ 1182-2021	2 倍
	动植物油类	水质 石油类和动植物油类的测定 红外分光光度法 HJ 637-2018	0.06mg/L
	总氯 (总余氯)	水质 游离氯和总氯的测定 N, N-二乙基-1, 4-苯二胺分光光度法 HJ 586-2010	0.03mg/L
	粪大肠菌群	水质 总大肠菌群和粪大肠菌群的测定 纸片快速法 HJ 755-2015	20MPN/L
	总有机碳	水质 总有机碳的测定 燃烧氧化-非分散红外吸收法 HJ501-2009	0.1mg/L
	急性毒性	水质 急性毒性的测定 发光细菌法 GB/T 15441-1995	——
有组织废气	非甲烷总烃	固定污染源废气 总烃、甲烷和非甲烷总烃的测定 气相色谱法 HJ 38-2017	0.07mg/m ³
	氯化氢	固定污染源废气 氯化氢的测定 硝酸银容量法 HJ 548-2016	2mg/m ³
	甲醇	固定污染源排气中甲醇的测定 气相色谱法 HJ/T 33-1999	2mg/m ³
	臭气浓度	环境空气和废气 臭气的测定 三点比较式臭袋法 HJ1262-2022	——
无组织废气	非甲烷总烃	环境空气 总烃、甲烷和非甲烷总烃的测定 直接进样-气相色谱法 HJ 604-2017	0.07mg/m ³
	氯化氢	环境空气和废气 氯化氢的测定 离子色谱法 HJ 549-2016	0.02mg/m ³
	臭气浓度	环境空气和废气 臭气的测定 三点比较式臭袋法 HJ1262-2022	——
噪声	厂界环境噪声	工业企业厂界环境噪声排放标准 GB 12348-2008	——

8.2 监测仪器

本次监测所用采样及实验室分析仪器详见表 8.2-1：

表 8.2-1 监测仪器一览表

序号	仪器名称	仪器型号	实验室编号	检定有效期
1	pH/ORP/电导率/溶解氧测量仪	上海三信 SX751 型	WST/CY-239	2025/6/25
2	大流量烟尘（气）测试仪	青岛明华 YQ3000-D	WST/CY-042	2025/8/24
3	恒温恒流大气/颗粒物采样器	青岛明华 MH1205 型	WST/CY-061	2025/3/7
4	全自动大气/颗粒物采样器	青岛明华 MH1200	WST/CY-021	2025/8/24
5	全自动大气/颗粒物采样器	青岛明华 MH1200	WST/CY-022	2025/8/24
6	全自动大气/颗粒物采样器	青岛明华 MH1200	WST/CY-023	2025/8/24
7	全自动大气/颗粒物采样器	青岛明华 MH1200	WST/CY-024	2025/8/24
8	多功能声级计	杭州爱华 AWA5688	WST/CY-012	2025/6/23
9	声校准器	杭州爱华 AWA6221B	WST/CY-015	2025/6/16
10	精密酸度计	上海仪电 PHSJ-4A	WST/SY-012	2025/8/25
11	离子色谱仪	赛默飞 ICS-600	WST/SY-005	2026/11/28
12	气相色谱仪	安捷伦 7820A	WST/SY-001	2026/8/26
13	红外分光测油仪	北京博海星源 EP-600	WST/SY-007	2025/8/26
14	恒温恒湿培养箱	上海一恒 LHS-80HC-1	WST/SY-020	2025/8/25
15	紫外可见分光光度计	北京普析 T6 新世纪	WST/SY-006	2025/8/25
16	万分之一天平	岛津 ATX224	WST/SY-038	2025/8/25
17	紫外可见分光光度计	北京普析 T6 新世纪	WST/SY-037	2025/8/25
18	生化培养箱	上海三发 SHP-160	WST/SY-019	2025/8/25
19	紫外可见分光光度计	北京普析 T6 新世纪	WST/SY-057	2025/8/25
20	气相色谱仪	福立 GC9790II	WST/SY-184	2025/11/30
21	气相色谱仪	ThermoFisher TRACE1300	WST/SY-041	2026/6/20
22	总有机碳分析仪	上海元析 TOC-5000RN	WST/SY-196	2025/6/16

8.3 人员能力

本次监测所有的采样及检测分析人员均经过培训和考核。

8.4 水质监测分析过程中的质量保证和质量控制

本次监测的质量保证以《环境水质监测质量保证手册》（第四版）作为依据，实施全过程质量控制。按质控要求水质样品增加 10% 的现场平行样，分析过程中以测定盲样、标准点或加标回收率作为质控措施，平行检测结果详见表 8.4-1，盲样分析结果详见表 8.4-2：

表 8.4-1 监测项目平行检测结果

单位：mg/L

监测项目	样品编号	平行样测定					
		测定值 1	测定值 2	均值	相对偏差 (%)	参考范围 (%)	是否合格
总磷	1-F-1	0.08	0.08	0.08	0.0	±10	是
氨氮	1-F-1	1.51	1.50	1.50	0.3	±5	是

表 8.4-2 监测项目盲样检测结果

监测项目	盲样编号	单位	标准值	测定值	是否合格
总磷	标准点	mg/L	0.50±0.025	0.48	是
氨氮	标准点	mg/L	0.800±0.08	0.813	是

8.5 气体监测分析过程中的质量保证和质量控制

(1) 采样系统在现场连接安装好以后，对采样系统进行气密性检查，发现问题及时解决。

(2) 采样位置选择气流平稳的管段。

(3) 采样嘴先背向气流方向插入管道，采样时采样嘴对准气流方向；采样结束时先将采样嘴背向气流，迅速抽出管道，防止管道负压将尘粒倒吸。

(4) 定期对采样仪器流量计进行校准，校核结果详见表 8.5-1：

表 8.5-1 大流量烟尘测试仪及大气采样器校准记录一览表

校准日期	仪器型号	实验室编号	校准气路	校准前读数 (L/min)	校准后读数 (L/min)	标定流量点 (L/min)	示值误差 (%)	误差范围 (%)	是否合格
2024.03.17	MH1200	WST/CY-021	A路	0.896	0.899	0.900	-0.1	±2.5	是
			B路	0.596	0.599	0.600	-0.2	±2.5	是
			粉尘路	100	100	100	0.0	±2	是
	MH1200	WST/CY-022	A路	0.896	0.899	0.900	-0.1	±2.5	是
			B路	0.596	0.599	0.600	-0.2	±2.5	是
			粉尘路	100	100	100	0.0	±2	是
	MH1200	WST/CY-023	A路	0.896	0.899	0.900	-0.1	±2.5	是
			B路	0.596	0.599	0.600	-0.2	±2.5	是
			粉尘路	100	99	100	-1.0	±2	是
	MH1200	WST/CY-024	A路	0.896	0.899	0.900	-0.1	±2.5	是
			B路	0.596	0.599	0.600	-0.2	±2.5	是
			粉尘路	101	100	100	0.0	±2	是
	YQ3000-D	WST/CY-042	烟尘路	49.8	49.9	50.0	-0.2	±2.5	是
	MH1205	WST/CY-061	A路	0.596	0.599	0.600	-0.2	±2.5	是
			B路	0.307	0.302	0.300	0.7	±2.5	是
			C路	0.199	0.200	0.200	0.0	±2.5	是
			D路	0.203	0.201	0.200	0.5	±2.5	是
			E路	100.1	100.0	100.0	0.0	±2	是

8.6 噪声监测分析过程中的质量保证和质量控制

噪声仪在使用前用标准声源进行了校准，校准值与采样后校准器测定值相差小于 0.5dB（A），仪器正常，校准记录详见表 8.6-1：

表 8.6-1 噪声仪校准记录表

校准日期	声级校准（dB（A））				
	采样前校准值	采样后校准器测量值	示值偏差	示值偏差范围	是否合格
2024.03.21 昼间	93.6	93.6	0.0	±0.5	是
2024.03.21 夜间	93.7	93.6	-0.1	±0.5	是
2024.03.22 昼间	93.7	93.7	0.0	±0.5	是
2024.03.22 夜间	93.8	93.5	-0.3	±0.5	是

九、验收监测结果

9.1 生产工况

安徽世标检测技术有限公司于 2024 年 3 月 21 日~3 月 22 日、8 月 15 日~8 月 16 日对安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目进行验收监测。

验收监测期间工况情况详见表 9.1-1:

表 9.1-1 生产工况表

监测日期	产品名称	实际产能 (克/天)	设计产能 (克/天)	工况负荷 (%)
2024.03.21	酶制剂一	1.58	1.67	94.61
2024.03.22		1.56	1.67	93.41
2024.08.15		1.61	1.67	96.41
2024.08.16		1.54	1.67	92.22

9.2 环保设施调试效果

9.2.1 污染物达标排放监测结果

9.2.1.1 废水

废水处理设施监测结果见表 9.2-1:

表 9.2-1 废水监测结果表 （单位：mg/L，pH 无量纲，色度：倍，粪大肠菌群：MPN/L）

采样日期	检测点位	检测频次	pH	化学需氧量	五日生化需氧量	悬浮物	氨氮	总氮	总磷	动植物油类	总余氯	色度	粪大肠菌群	总有机碳	急性毒性
2024.08.15	实验室污水处理设备进口	第一次	7.9	36.3	4.4	4L	1.50	4.11	0.08	0.06L	——	2L	——	——	——
		第二次	8.0	38.4	5.0	4L	1.42	4.22	0.07	0.06L	——	2L	——	——	——
		第三次	7.7	40.2	5.5	4L	1.58	3.94	0.06	0.06L	——	2L	——	——	——
		第四次	7.7	39.6	5.1	4L	1.48	4.04	0.06	0.06L	——	2L	——	——	——
	日均值（范围）		7.7~8.0	38.6	5.0	4L	1.50	4.08	0.07	0.06L	——	2L	——	——	——
	实验室污水处理设备出口	第一次	7.3	16.5	2.0	4L	0.500	1.06	0.03	0.06L	0.03L	2L	20L	12.7	0.02
		第二次	7.1	17.1	2.1	4L	0.464	1.02	0.03	0.06L	0.03L	2L	20L	12.4	0.03
		第三次	7.0	15.9	2.0	4L	0.480	1.07	0.04	0.06L	0.03L	2L	20L	13.3	0.03
		第四次	7.1	16.8	2.2	4L	0.489	1.02	0.04	0.06L	0.03L	2L	20L	12.7	0.02
	日均值（范围）		7.0~7.3	16.6	2.1	4L	0.483	1.04	0.04	0.06L	0.03L	2L	20L	12.8	0.02
	标准限值		6~9	350	180	250	35	50	6	5	0.5	50	500	30	0.07
	达标情况		达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标
	处理效率（%）		/	57.0	58.0	/	67.8	74.5	42.9	/	/	/	/	/	/

续表 9.2-1 废水监测结果表 (单位: mg/L, pH 无量纲, 色度: 倍, 粪大肠菌群: MPN/L)

采样日期	检测点位	检测频次	pH	化学需氧量	五日生化需氧量	悬浮物	氨氮	总氮	总磷	动植物油类	总余氯	色度	粪大肠菌群	总有机碳	急性毒性
2024.08.16	实验室污水处理设备进口	第一次	7.5	44.3	5.7	4L	2.18	4.26	0.06	0.06L	——	2L	——	——	——
		第二次	7.5	42.5	5.1	4L	2.00	3.90	0.05	0.06L	——	2L	——	——	——
		第三次	7.6	45.5	5.7	4L	2.06	4.30	0.05	0.06L	——	2L	——	——	——
		第四次	7.6	44.9	5.8	4L	2.12	4.04	0.05	0.06L	——	2L	——	——	——
	日均值 (范围)		7.5~7.6	44.3	5.6	4L	2.09	4.12	0.05	0.06L	——	2L	——	——	——
	实验室污水处理设备出口	第一次	7.1	19.5	2.4	4L	0.690	1.10	0.02	0.06L	0.03L	2L	20L	16.0	0.01
		第二次	7.2	18.3	2.1	4L	0.714	1.16	0.01	0.06L	0.03L	2L	20L	16.1	0.02
		第三次	7.2	18.9	2.5	4L	0.704	1.10	0.01	0.06L	0.03L	2L	20L	15.6	0.02
		第四次	7.2	19.2	2.4	4L	0.727	1.05	0.02	0.06L	0.03L	2L	20L	16.2	0.01
	日均值 (范围)		7.1~7.2	19.0	2.4	4L	0.709	1.10	0.02	0.06L	0.03L	2L	20L	16.0	0.02
	标准限值		6~9	350	180	250	35	50	6	5	0.5	50	500	30	0.07
	达标情况		达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标
	处理效率 (%)		/	57.1	57.1	/	66.1	73.3	60.0	/	/	/	/	/	/

续表 9.2-1 废水监测结果表

(单位: mg/L, pH 无量纲, 色度: 倍)

采样日期	检测点位	检测频次	pH	化学需氧量	五日生化需氧量	悬浮物	氨氮	总氮	总磷	动植物油类	总余氯	色度
2024.08.15	园区废水总排口	第一次	7.6	172	24.8	18	27.8	40.2	3.20	2.87	0.03L	40
		第二次	7.7	140	21.0	14	27.4	39.0	3.24	2.83	0.03L	20
		第三次	7.6	177	24.4	16	26.8	39.0	3.18	2.68	0.03L	40
		第四次	7.6	161	26.9	16	28.0	40.8	3.31	2.82	0.03L	30
	日均值 (范围)		7.6~7.7	162	24.3	16	27.5	39.8	3.23	2.80	0.03L	32
	标准限值		6~9	350	180	250	35	50	6	5	0.5	50
	达标情况		达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标
2024.08.16	园区废水总排口	第一次	7.4	255	37.5	21	27.6	43.8	4.72	2.13	0.03L	40
		第二次	7.4	248	35.1	23	27.9	42.5	4.64	2.10	0.03L	30
		第三次	7.5	250	37.3	22	27.1	41.0	4.92	2.06	0.03L	40
		第四次	7.6	240	33.4	18	28.3	43.5	4.86	2.04	0.03L	40
	日均值 (范围)		7.4~7.6	248	35.8	21	27.7	42.7	4.78	2.08	0.03L	38
	标准限值		6~9	350	180	250	35	50	6	5	0.5	50
	达标情况		达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标	达标

监测结果表明: 验收监测期间, 实验室污水处理设备出口 pH7.0~7.3, 化学需氧量日均浓度最大值为 19.0mg/L, 五日生化需氧量日均浓度最大值为 2.4mg/L, 氨氮日均浓度最大值为 0.709mg/L, 总氮日均浓度最大值为 1.10mg/L, 总磷日均浓度最大值为 0.04mg/L, 悬浮物、动植物油类、总余氯、粪大肠菌群、色度均未检出, 总有机碳日均浓度最大值为 16.0mg/L, 急性毒性日均浓度最大值为 0.02mg/L; 园区废水总排口 pH7.4~7.7, 化学需氧量日均浓度最大值为 248mg/L, 五日生化需氧量日均浓度最大值为 35.8mg/L, 悬浮物日均浓度最

大值为 21mg/L，氨氮日均浓度最大值为 27.7mg/L，总氮日均浓度最大值为 42.7mg/L，总磷日均浓度最大值为 4.78mg/L，动植物油类日均浓度最大值为 2.80mg/L，总余氯未检出，色度日均浓度最大值为 38 倍；废水监测结果均满足合肥西部组团污水处理厂接管限值以及《生物工程类制药工业水污染物排放标准》（GB21907-2008）中表 2 新建企业污染物排放限值要求。

9.2.1.2 有组织废气

（1）有组织废气

废气监测结果见表 9.2-2：

表 9.2-2 废气监测结果表

采样日期	检测项目	检测频次	碱洗+干燥+二级活性炭吸附装置出口			达标情况	
			标干流量 (Nm³/h)	实测浓度 (mg/m³)	排放速率 (kg/h)	排放浓度限值 (mg/m³)	是否达标
2024.03.21	非甲烷总烃	第一次	1281	3.23	0.004	60	达标
		第二次	1349	3.25	0.004		
		第三次	1172	2.98	0.003		
	氯化氢	第一次	1281	<2	<0.003	10	达标
		第二次	1349	<2	<0.003		
		第三次	1172	<2	<0.002		
	甲醇	第一次	1281	6	0.008	50	达标
		第二次	1349	<2	<0.003		
		第三次	1172	<2	<0.002		
	臭气浓度	第一次	1281	269（无量纲）	/	1000	达标
		第二次	1349	112（无量纲）	/		
		第三次	1172	269（无量纲）	/		

续表 9.2-2 废气监测结果表

采样日期	检测项目	检测频次	碱洗+干燥+二级活性炭吸附装置出口			达标情况	
			标干流量 (Nm³/h)	实测浓度 (mg/m³)	排放速率 (kg/h)	排放浓度限值 (mg/m³)	是否达标
2024.03.22	非甲烷总烃	第一次	1414	1.94	0.003	60	达标
		第二次	1296	2.20	0.003		
		第三次	1255	2.17	0.003		
	氯化氢	第一次	1414	<2	<0.003	10	达标
		第二次	1296	<2	<0.003		
		第三次	1255	<2	<0.003		
	甲醇	第一次	1414	<2	<0.003	50	达标
		第二次	1296	<2	<0.003		
		第三次	1255	2	0.003		
	臭气浓度	第一次	1414	151（无量纲）	/	1000	达标
		第二次	1296	269（无量纲）	/		
		第三次	1255	269（无量纲）	/		

监测结果表明：验收监测期间，碱洗+干燥+二级活性炭吸附装置出口非甲烷总烃排放浓度最大值为 $3.25\text{mg}/\text{m}^3$ ，氯化氢未检出，甲醇排放浓度最大值为 $6\text{mg}/\text{m}^3$ ，臭气浓度排放浓度最大值为 269；有组织废气非甲烷总烃、氯化氢、甲醇、臭气浓度监测结果均满足《制药工业大气污染物排放标准》（DB34/310005-2021）中规定的排放限值要求。

9.2.1.3 无组织废气

无组织废气监测期间气象参数详见表 9.2-3，无组织排放监测结果详见表 9.2-4~表 9.2-6：

表 9.2-3 监测期间气象参数表

采样日期	天气状况	气温 ($^{\circ}\text{C}$)	气压 (hPa)	风速 (m/s)	风向
2024.03.21	晴	22.3~25.2	1002.7~1005.6	2.3~2.5	南
2024.03.22	晴	21.2~25.7	1002.2~1006.3	2.2~2.4	南

表 9.2-4 无组织废气氯化氢监测结果表 (单位: mg/m^3)

采样日期	检测点位	检测频次		
		第一次	第二次	第三次
2024.03.21	G1 上风向南厂界	0.079	0.078	0.077
	G2 下风向西北厂界	0.087	0.086	0.092
	G3 下风向北厂界	0.077	0.084	0.089
	G4 下风向东北厂界	0.080	0.081	0.087
	达标限值	0.2		
	达标情况	达标		
2024.03.22	G1 上风向南厂界	0.080	0.079	0.072
	G2 下风向西北厂界	0.090	0.092	0.077
	G3 下风向北厂界	0.077	0.078	0.090
	G4 下风向东北厂界	0.086	0.078	0.078
	达标限值	0.2		
	达标情况	达标		

表 9.2-5 无组织废气臭气浓度监测结果表 (单位: 无量纲)

采样日期	检测点位	检测频次		
		第一次	第二次	第三次
2024.03.21	G1 上风向南厂界	<10	<10	<10
	G2 下风向西北厂界	<10	<10	<10
	G3 下风向北厂界	<10	<10	<10
	G4 下风向东北厂界	<10	<10	<10
	达标限值	20		
	达标情况	达标		
2024.03.22	G1 上风向南厂界	<10	<10	<10
	G2 下风向西北厂界	<10	<10	<10
	G3 下风向北厂界	<10	<10	<10
	G4 下风向东北厂界	<10	<10	<10
	达标限值	20		
	达标情况	达标		

表 9.2-6 无组织废气非甲烷总烃监测结果表 (单位: mg/m³)

采样日期	检测点位	检测频次		
		第一次	第二次	第三次
2024.03.21	G1 上风向南厂界	0.75	0.62	0.63
	G2 下风向西北厂界	0.92	0.93	0.85
	G3 下风向北厂界	1.37	1.36	1.20
	G4 下风向东北厂界	0.92	0.92	0.96
	达标限值	4.0		
	达标情况	达标		
2024.03.22	G1 上风向南厂界	0.80	0.60	0.67
	G2 下风向西北厂界	1.08	1.11	0.98
	G3 下风向北厂界	1.20	1.24	1.22
	G4 下风向东北厂界	1.06	1.03	0.69
	达标限值	4.0		
	达标情况	达标		

续表 9.2-6 无组织废气非甲烷总烃监测结果表 (单位: mg/m³)

采样日期	检测点位	检测频次			1h 平均 浓度值	达标 限值	达标 情况
		第一次	第二次	第三次			
2024.03.21	G5 厂房 门口处	1.64	1.47	1.58	1.56	6	达标
2024.03.22	G5 厂房 门口处	1.62	1.55	1.55	1.57	6	达标

监测结果表明：验收监测期间，厂界无组织废气非甲烷总烃排放浓度最大值为 1.37mg/m³，氯化氢排放浓度最大值为 0.092mg/m³，臭气浓度未检出；厂界无组织废气氯化氢、臭气浓度监测结果均满足《制药工业大气污染物排放标准》（DB34/310005-2021）表 7 中排放限值要求，非甲烷总烃监测结果满足《大气污染物综合排放标准》（GB 16297-1996）表 2 中排放限值要求。

厂房门口处非甲烷总烃排放浓度最大值为 1.57mg/m³，监测结果均满足《制药工业大气污染物排放标准》（DB34/310005-2021）表 6 中排放限值。

9.2.1.4 厂界噪声

噪声监测结果详见表 9.2-7：

表 9.2-7 噪声监测结果表 (单位: dB (A))

点位 编号	检测点位	2024.03.21		2024.03.22	
		昼间	夜间	昼间	夜间
N1	项目区东厂界	52	50	53	46
N2	项目区南厂界	61	54	52	50
N3	项目区西厂界	52	50	53	46
N4	项目区北厂界	56	46	56	41
达标限值≤		65	55	65	55
达标情况		达标	达标	达标	达标

监测结果表明：验收监测期间，厂界昼间噪声值为 52~61dB (A)，厂界夜间噪声值为 41~54dB (A)，监测结果满足《工业企业厂界环境噪声排放标准》（GB12348-2008）中 3 类标准限值要求。

9.2.1.5 总量核算

由环评文件中可知本项目废气总量控制指标为 VOCs: 0.0108t/a;

本项目涉及总量控制指标为氨氮和 COD, 废水接管至合肥西部组团污水处理厂, 废水中污染物总量指标纳入合肥西部组团污水处理厂总量指标内, 可不进行申请。总量核算见表 9.2-8:

表 9.2-8 废气总量核算表

控制因子	最大排放 速率 (kg/h)	运行时间 (h)	验收核定排放量 (t/a)	核定排放量 (t/a)	是否 符合
VOCs	0.004	1920	0.0077	0.0108	是

根据企业提供信息, 废气处理设施每天运行 8h

综上所述, 本项目有组织 VOCs 年排放量为 0.0077 吨, 满足本项目环评文件及总量核定表中提出的总量控制要求。

9.3 环评批复落实情况

项目批复落实情况详见表 9.3-1:

表 9.3-1 批复落实情况表

序号	批复要求	落实情况
1	落实水环境保护措施。项目排水实行雨、污分流，项目废水主要为职工生活污水、设备排水、润洗废水、清洗废水、保洁废水、浓水。生活污水经化粪池预处理达标后接入市政污水管网，排至合肥西部组团污水处理厂深度处理；设备排水、润洗废水、清洗废水、保洁废水、浓水经收集后通过高压灭菌锅灭活后进入厂区内实验室废水处置一体机进行处理(高温灭活+调节 pH+絮凝沉淀+电化学催化+MBR+消毒，日处理量为 200L/d)，处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理。	本项目主要有生产工艺废水、员工办公生活污水；涉及菌体的容器/器皿先通过高压灭菌锅灭活后再清洗，过程中产生清洗废水与不涉及生物活性的设备排水、润洗废水、保洁废水、浓水一并进入厂区内实验室废水处置一体机进行处理（调节 pH+絮凝沉淀+电化学催化+MBR+消毒），处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理。生活污水经化粪池预处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理。验收监测期间，废水监测结果均满足合肥西部组团污水处理厂接管限值以及《生物工程类制药工业水污染物排放标准》（GB21907-2008）中表 2 新建企业污染物排放限值要求。
2	严格落实大气污染防治措施。项目产生的废气主要为试剂调配废气、消毒废气、分离和纯化废气、质检废气和危废暂存间废气。生产区设置抽气装置，采用微负压收集，废气经收集后引至楼顶经过 1 套“碱洗+干燥+二级活性炭吸附”净化装置处理，通过 25m 高排气筒(DA001)排放。本项目以厂界为边界设置 100m 的卫生防护距离。	本项目产生的废气主要为试剂调配废气、消毒废气、分离和纯化废气、质检废气、灭活废气、菌体培养呼吸废气和危废暂存间废气。配液间、接种间、发酵间、分离间、纯化间、危废暂存间设置抽气装置，采用微负压收集，研发区设置通风橱，废气经收集后引至楼顶经过 1 套“碱洗+干燥+二级活性炭吸附”净化装置处理，通过 25m 高排气筒（DA001）排放。验收监测期间，有组织废气非甲烷总烃、氯化氢、甲醇、臭气浓度监测结果均满足《制药工业大气污染物排放标准》（DB34/310005-2021）中规定的排放限值要求，厂界无组织废气氯化氢、臭气浓度监测结果均满足《制药工业大气污染物排放标准》（DB34/310005-2021）表 7 中排放限值要求，非甲烷总烃监测结果满足《大气污染物综合排放标准》（GB 16297-1996）表 2 中排放限值要求。厂房门口处非甲烷总烃监测结果满足《制药工业大气污染物排放标准》（DB34/310005-2021）表 6 中排放限值。本项目环境防护距离为厂界外 100m 范围内。根据现场查看，项目环境防护距离内未新建学校、医院、住宅等环境敏感建筑。
3	项目噪声源主要来自废水处置一体	本项目噪声源主要来自废水处置一

序号	批复要求	落实情况
	机、高压灭菌锅、超声波清洗机、磁力搅拌器等设备运行时产生的机械噪声，应选用低噪声设备并采取隔声、减振等减噪措施，确保厂界噪声达标排放。	体机、高压灭菌锅、超声波清洗机、磁力搅拌器等设备运行时产生的机械噪声。采取治理措施有：优先采用低噪声设备，加隔音罩密闭处理，风机出口设消音器，机座铺设防震、吸音材料，按时保养及维修设备，避免机械超负荷运转，降低噪声设备对厂界的影响。验收监测期间，噪声监测结果均满足《工业企业厂界环境噪声排放标准》（GB12348-2008）3 类标准要求。
4	严格按照有关规定，分类处理、处置固体废物，做到资源化、减量化、无害化。项目固体废物主要为生活垃圾、废包装物、废标签纸、废 RO 膜、废离子交换树脂、废过滤膜、分离纯化废液、废培养基、废发酵液、质检废液、废消毒液、废吸头、废称量纸、废过滤膜、废药瓶、废透析袋、废注射器、废冻存管、废过滤层析介质、废层析柱、废蔗糖、废过滤芯、喷淋塔废液和废活性炭等。生活垃圾实行分类袋装化，由环卫部门处理；废包装物、废标签纸定期交由一般工业固废处置单位处置，废 RO 膜、废离子交换树脂和废过滤膜由生产厂家回收；分离纯化废液、废培养基、废发酵液、质检废液、废消毒液、废吸头、废称量纸、废过滤膜、废药瓶、废透析袋、废注射器和废冻存管、废过滤层析介质、废层析柱、废蔗糖、废过滤芯、喷淋塔废液和废活性炭等属危险废物，其中分离纯化废液、废培养基、废发酵液、质检废液、废消毒液、废吸头、废称量纸、废过滤膜、废药瓶、废透析袋、废注射器、废冻存管、废层析柱、废蔗糖、废过滤层析介质等经高温灭菌后密封，存在按照国家规范建设的危险废物暂存场所，定期交由有资质单位处理处置；废活性炭、喷淋塔废液收集后，密封桶装存在按照国家规范建设的危险废物暂存场所，定期交由有资质单位处理处置；废过滤芯定期更换后交由厂家回收。危险废物在项目区内临时贮存应严格执行《危险废物贮存污染控制标准》(GB18597-2001)及其 2013 年修改单内容的有关要求，设置危险废物识别标志，并做好三防措施等工作；其转运严格执行危险废物转移联单管理等要求。	本项目产生的固废主要为生活垃圾、废包装物、废标签纸、废 RO 膜、废离子交换树脂、废过滤膜、分离纯化废液、废培养基、废发酵液、质检废液、废消毒液、废吸头、废称量纸、废过滤膜、废药瓶、废透析袋、废注射器、废冻存管、废过滤层析介质、废层析柱、废蔗糖、废过滤芯、喷淋塔废液和废活性炭等。生活垃圾交由当地环卫部门处理；废包装物、废标签纸定期交由一般工业固废处置单位处置，废 RO 膜、废离子交换树脂和废过滤膜由生产厂家回收；分离纯化废液、废培养基、废发酵液、质检废液、废消毒液、实验废物包括（废吸头、废称量纸、废过滤膜、废药瓶、废透析袋、废注射器和废冻存管）、废过滤层析介质、废层析柱、废蔗糖、废过滤芯、喷淋塔废液和废活性炭等属危险废物，其中分离纯化废液、废培养基、废发酵液、质检废液、废消毒液、实验废物包括（废吸头、废称量纸、废过滤膜、废药瓶、废透析袋、废注射器和废冻存管）、废层析柱、废蔗糖、废过滤层析介质等经高温灭菌后密封暂存于危废暂存间，废活性炭、喷淋塔废液收集后暂存于危废暂存间，定期交由有资质单位处理处置；废过滤芯定期更换后交由厂家回收。
5	项目依托园区一座 792m ³ 事故池，并在厂区雨水排口设置切断闸阀，满足事故状态下事故水收集要求。	2025 年 3 月 19 日，安徽诺为生物技术有限公司完成企业突发环境事件应急预案备案工作，风险级别为一般风险，备案编号为 340171-2025-015L；企业自建了一座 1000m ³ 的事故池，位于负一楼，并设置了事故废水截断措施。

序号	批复要求	落实情况
6	项目施工期间废气主要来源于现有厂房改造及运输车辆所排放的废气，产生的废气主要为扬尘。生活污水经临时化粪池处理后接入城市污水管网。施工过程中严格落实工地周围设置连续、密闭硬质围挡，场区道路硬化处理等“六个百分百”相关要求，采取有效措施防治施工现场扬尘污染。施工过程选用低噪声施工机械设备，对产噪设备应采取隔声、消声、减振等综合降噪措施，合理安排施工时间和合理布局高噪声设备，避免扰民事件发生，施工机械尽量远离环境敏感目标，在环境敏感目标附近施工时，应设置围挡设施和临时隔声屏障。严格执行《建筑施工场界环境噪声排放标准》(GB12523-2011)中的有关规定，减缓施工的噪声影响。施工中产生的建筑垃圾、工程土石方和生活垃圾等必须按照相关主管部门要求及时清运至指定地点，防止产生二次污染。施工中产生的生活垃圾应集中收集，送环卫部门统一处理。	项目施工期间废气主要来源于现有厂房改造及运输车辆所排放的废气，产生的废气主要为扬尘。生活污水经临时化粪池处理后接入城市污水管网。施工过程中已严格落实工地周围设置连续、密闭硬质围挡，场区道路硬化处理等“六个百分百”相关要求。施工过程选用低噪声施工机械设备，对产噪设备应采取隔声、消声、减振等综合降噪措施，合理安排施工时间和合理布局高噪声设备，避免扰民事件发生，施工机械远离环境敏感目标，在环境敏感目标附近施工时，设置了围挡设施和临时隔声屏障。严格执行《建筑施工场界环境噪声排放标准》(GB12523-2011)中的有关规定，减缓施工的噪声影响。施工中产生的建筑垃圾、工程土石方和生活垃圾等已按照相关主管部门要求及时清运至指定地点，防止产生二次污染。施工中产生的生活垃圾应集中收集，送环卫部门统一处理。
7	项目建设须严格执行项目配套的环境保护设施与主体工程同时设计、同时施工、同时投入使用的环境保护“三同时”制度，各项环境管理措施应一并落实。项目建成后，必须严格执行排污许可制度，在发生实际排污行为前申领排污许可证，并按照规定组织竣工环保验收。	项目建设严格执行项目配套的环境保护设施与主体工程同时设计、同时施工、同时投入使用的环境保护“三同时”制度。2023年11月21日，安徽诺为生物技术有限公司完成排污许可证申领工作；2024年5月23日，安徽诺为生物技术有限公司完成排污许可证变更工作，证书编号：91340100MA8PBJ2U48001V，有效期限为2023年11月21日至2028年11月20日。

十、验收监测结论

10.1 环保设施调试运行效果

2024年3月21日~3月22日、8月15日~8月16日对安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目进行验收监测，根据现场勘察、资料整理及监测结果分析，得出结论如下：

1、验收监测期间，实验室污水处理设备出口 pH7.0~7.3，化学需氧量日均浓度最大值为 19.0mg/L，五日生化需氧量日均浓度最大值为 2.4mg/L，氨氮日均浓度最大值为 0.709mg/L，总氮日均浓度最大值为 1.10mg/L，总磷日均浓度最大值为 0.04mg/L，悬浮物、动植物油类、总余氯、粪大肠菌群、色度均未检出，总有机碳日均浓度最大值为 16.0mg/L，急性毒性日均浓度最大值为 0.02mg/L；园区废水总排口 pH7.4~7.7，化学需氧量日均浓度最大值为 248mg/L，五日生化需氧量日均浓度最大值为 35.8mg/L，悬浮物日均浓度最大值为 21mg/L，氨氮日均浓度最大值为 27.7mg/L，总氮日均浓度最大值为 42.7mg/L，总磷日均浓度最大值为 4.78mg/L，动植物油类日均浓度最大值为 2.80mg/L，总余氯未检出，色度日均浓度最大值为 38 倍；废水监测结果均满足合肥西部组团污水处理厂接管限值以及《生物工程类制药工业水污染物排放标准》（GB21907-2008）中表 2 新建企业污染物排放限值要求。

2、验收监测期间，碱洗+干燥+二级活性炭吸附装置出口非甲烷总烃排放浓度最大值为 3.25mg/m³，氯化氢未检出，甲醇排放浓度最大值为 6mg/m³，臭气浓度排放浓度最大值为 269；有组织废气非甲烷总烃、氯化氢、甲醇、臭气浓度监测结果均满足《制药工业大气污染物排放标准》（DB34/310005-2021）中规定的排放限值要求。

3、验收监测期间，厂界无组织废气非甲烷总烃排放浓度最大值为 1.37mg/m³，氯化氢排放浓度最大值为 0.092mg/m³，臭气浓度未检出；厂界无组织废气氯化氢、臭气浓度监测结果均满足《制药工业大气污染物排放标准》（DB34/310005-2021）表 7 中排放限值要求，非甲烷总烃监测结果满足《大气污染物综合排放标准》（GB 16297-1996）表 2 中排放限值要求。

厂房门口处非甲烷总烃排放浓度最大值为 1.57mg/m³，监测结果均满足《制药

工业大气污染物排放标准》（DB34/310005-2021）表 6 中排放限值。

4、验收监测期间，厂界昼间噪声值为 52~61dB(A)，厂界夜间噪声值为 41~54dB(A)，监测结果满足《工业企业厂界环境噪声排放标准》（GB12348-2008）中 3 类标准限值要求。

5、本项目废气总量控制指标为 VOCs：0.0108t/a。本项目有组织 VOCs 年排放量为 0.0077 吨，满足本项目环评文件及总量核定表中提出的总量控制要求。

10.2 总结论

综上所述，安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目较好地执行了环境影响评价制度和环保“三同时”制度，项目建设内容按照环评报告书及相关审批决定要求基本落实了污染防治措施，主要污染物达标排放，完成排污许可证申请工作，不存在《建设项目竣工环境保护验收暂行办法》中九条不予验收的情形，本项目竣工环境保护验收合格。

10.3 后续要求

- （1）规范厂区危废的收集、暂存及管理工作；
- （2）加强环境监管，环保设备的维护，确保各项污染治理设施正常运转，确保各种污染物都能达标排放，做好相关台账记录；
- （3）建立严格的管理制度，落实岗位责任制，加强现场管理。

十一、建设项目竣工环境保护“三同时”验收登记表

填表单位（盖章）：安徽诺为生物技术有限公司

填表人（签字）：

项目经办人（签字）：

建设项目	项目名称		安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目					项目代码		2208-340161-04-05-634033		建设地点		安徽省合肥市高新区石莲南路 116 号 全盟电力科技园 5 楼			
	行业类别（分类管理名录）		C2761 生物药品制造					建设性质		☒ 新建 ☐ 改扩建 ☐ 技术改造			项目厂区中心经度/纬度		E117°7'12.26”， N31°48'7.48”		
	设计生产能力		年产 500g 酶制剂					实际生产能力		年产 500g 酶制剂		环评单位		安徽睿晟环境科技有限公司			
	环评文件批复机关		合肥市生态环境局					批复文号		环建审（2023）10042 号文		环评文件类型		报告书			
	开工日期		2023 年 6 月					竣工日期		2023 年 9 月		排污许可证申领时间		2023 年 11 月 21 日			
	环保设施设计单位		/					环保设施施工单位		/		本工程排污许可证编号		91340100MA8PBJ2U48001V			
	验收单位		安徽诺为生物技术有限公司					环保设施监测单位		安徽世标检测技术有限公司		验收监测时工况		正常生产			
	投资总概算（万元）		1000					环保投资总概算（万元）		99		所占比例（%）		9.9			
	实际总投资（万元）		1000					实际环保投资（万元）		100		所占比例（%）		10			
	废水治理（万元）		10	废气治理（万元）		40	噪声治理（万元）		5	固体废物治理（万元）		15	绿化及生态（万元）		/	其他（万元） 30	
	新增废水处理设施能力		/					新增废气处理设施能力		/		年平均工作时间		3840h			
运营单位		安徽诺为生物技术有限公司				运营单位社会统一信用代码（或组织机构代码）				91340100MA8PBJ2U48		验收时间		2024 年 3 月 21 日~3 月 22 日、8 月 15 日~8 月 16 日			
污 染 物 排 放 达 标 与 总 量 控 制	污 染 物	原有排放量（1）	本期工程实际排放浓度（2）	本期工程允许排放浓度（3）	本期工程产生量（4）	本期工程自身削减量（5）	本期工程实际排放量（6）	本期工程核定排放总量（7）	本期工程“以新带老”削减量（8）	全厂实际排放总量（9）	全厂核定排放总量（10）	区域平衡替代削减量（11）	排放增减量（12）				
	废 气																
	烟（粉）尘																
	二氧化硫																
	氮氧化物																
	非甲烷总烃		3.25	60				0.0077	0.0108		0.0077	0.0108		+0.0077			

注：1、排放增减量：（+）表示增加，（-）表示减少。2、（12）=（6）-（8）-（11），（9）=（4）-（5）-（8）-（11）+（1）。3、计量单位：废水排放量——万吨/年；废气排放量——万标立方米/年；工业固体废物排放量——万吨/年；水污染物排放浓度——毫克/升。

附图：

附图 1 厂区雨污管网图

附图 2 项目平面布置图

附图 3 现场采样照片

附件：

附件 1 项目备案表

附件 2 项目环评批复

附件 3 排污许可证

附件 4 废水在线监测系统验收意见

附件 5 危废处置协议及危废处置单位资质

附件 6 验收监测期间工况证明

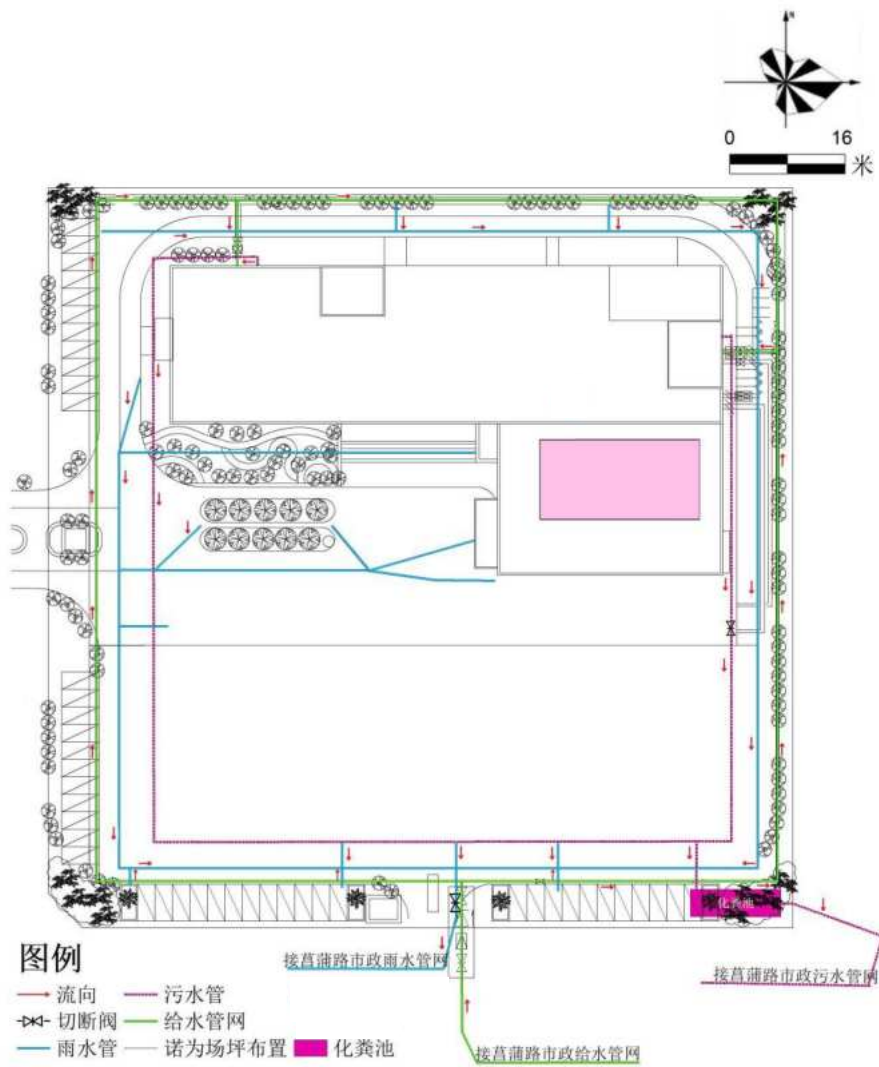
附件 7 厂房租赁合同

附件 8 应急预案备案表

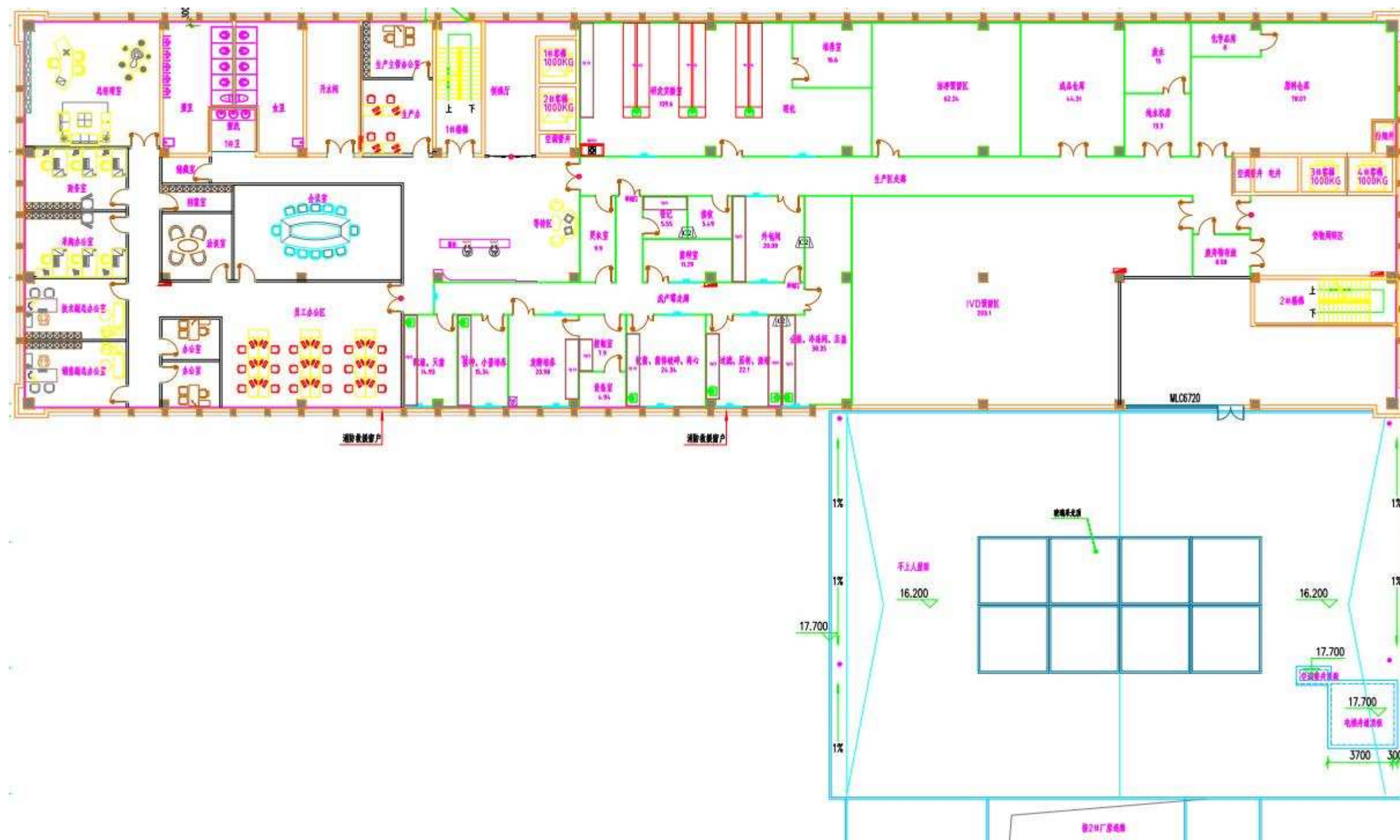
附件 9 项目废水环评要求与实际处理情况对照表

附件 10 验收监测报告

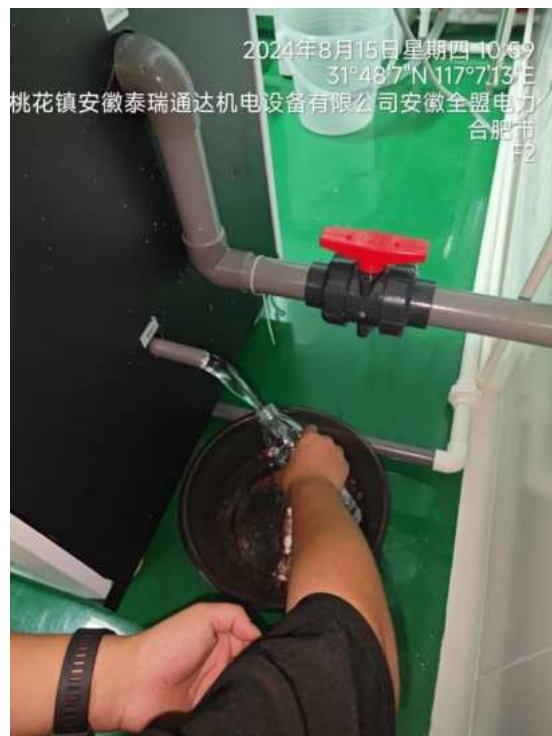
附图 1 厂区雨污管网图



附图 2 项目平面布置图



附图3 现场采样照片



废水监测



附件 1 项目备案表

附件 2 备案文件

2022/8/19 上午9:46 59.203.5.50:8081/tzxmpaill/tzxmappp/pages/approve/doWorkitem/gwbaProjectInfo.jsp?PROJECTUUIID=00264e9c1a6541...

合肥高新区经贸局项目备案表

项目名称	安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目			项目代码	2208-340161-04-05-634033		
项目法人	安徽诺为生物技术有限公司			经济类型	其他		
法人证照号码	91340100MA8PB2U468						
建设地址	安徽省:合肥市_合肥高新技术产业开发区			建设性质	新建		
所属行业	医药			国标行业	生物药品制造		
项目详细地址	项目位于安徽省合肥高新区石莲南路116号全盟电力科技园5楼						
建设内容及规模	1.我可依托技术团队雄厚的科研实力和独特的技术优势，通过筛选和设计特定功能酶的独特基因，所生产的酶制剂产品具有高活性、高特异性、高稳定性的特点，且能突破或规避国外专利，通过运用先进的生产工艺，实现了酶制剂的规模化生产，活性和稳定性均达到或超过同类进口酶水平。团队成员具备多年酶制剂研发经验，可研发和生产多种酶制剂。主要内容包包括：体外诊断和医药原料酶的研发、生产和销售、生物技术开发、技术服务、技术咨询和成果转让、相关产品和技术进出口；2.项目建设周期为：2022年8月至2025年7月；3.项目建成达产后，预计达产年产值3000万元，新增利润300万元，新增税收100万元。						
年新增生产能力	500g						
项目总投资 (万元)	1000	含外汇 (万美元)	0	固定资产投资 (万元)	300		
资金来源	1、企业自筹(万元)			1000			
	2、银行贷款(万元)			0			
	3、股票债券(万元)			0			
	4、其他(万元)			0			
计划开工时间	2022年		计划竣工时间	2025年			
备案部门	合肥高新区经贸局 2022年08月19日						
备注	项目应优化设备和工艺，禁止使用产业政策限制和淘汰类设备或技术，涉及国土、规划、环保、安全生产、消防等问题，须按国家有关规定办理相关手续，落实各项建设条件后，方可组织实施。						

注：项目开工后，请及时登录安徽省投资项目在线审批监管平台，如实报送项目开工建设、建设进度和竣工等信息。

合肥市生态环境局

关于对“安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂 项目”环境影响报告书的审批意见

环建审〔2023〕10042 号

安徽诺为生物技术有限公司：

你公司报来的《生物酶制剂项目环境影响报告书》
(以下简称“《报告书》”)及要求出具审批的《报告》
已经收悉。经现场勘验和资料审核，审批意见如下：

一、经审核，拟建项目位于安徽省合肥市高新区石莲
南路 116 号全盟电力科技园 5 楼。项目租用安徽全盟电力
科技股份有限公司的全盟电力科技园 5 楼，租用面积约为
1670m²，设置 1 条酶制剂生产线，同步配套有称量室、配置
室、菌种室、冷冻室、研发实验室、理化室、原料仓库、
化学品库、一般固废暂存间、成品仓库、危废间、纯水机
房、配液灭菌室、培养室、接种小培养室、发酵培养室、
收菌室、菌体破碎离心室、纯化室、分装室、外包室等生
产用室及其他生产配套装置。项目建成后可形成年产酶制
剂 500g 的生产规模。

二、项目设计、建设及营运过程中应重点做好以下工
作：

1、在落实环境影响评价文件和本批复提出的各项生态

环境保护措施后，项目导致的不利生态环境影响可以得到缓解和控制。我局原则同意安徽睿晟环境科技有限公司编制的环境影响评价文件的总体评价结论和拟采取的生态环境保护措施。

2、落实水环境保护措施。项目排水实行雨、污分流，项目废水主要为职工生活污水、设备排水、润洗废水、清洗废水、保洁废水、浓水。生活污水经化粪池预处理达标后接入市政污水管网，排至合肥西部组团污水处理厂深度处理；设备排水、润洗废水、清洗废水、保洁废水、浓水经收集后通过高压灭菌锅灭活后进入厂区内实验室废水处置一体机进行处理（高温灭活+调节 pH+絮凝沉淀+电化学催化+MBR+消毒，日处理量为 200L/d），处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理。

3、严格落实大气污染防治措施。项目产生的废气主要为试剂调配废气、消毒废气、分离和纯化废气、质检废气和危废暂存间废气。生产区设置抽气装置，采用微负压收集，废气经收集后引至楼顶经过 1 套“碱洗+干燥+二级活性炭吸附”净化装置处理，通过 25m 高排气筒 (DA001) 排放。本项目以厂界为边界设置 100m 的卫生防护距离。

4、项目噪声源主要来自废水处置一体机、高压灭菌锅、超声波清洗仪、磁力搅拌器等设备运行时产生的机械噪声，应选用低噪声设备并采取隔声、减振等减噪措施，确保厂界噪声达标排放。

5、严格按照有关规定，分类处理、处置固体废物，做到资源化、减量化、无害化。项目固体废物主要为生活垃圾、废包装物、废标签纸、废 RO 膜、废离子交换树脂、废过滤膜、分离纯化废液、废培养基、废发酵液、质检废液、废消毒液、废吸头、废称量纸、废过滤膜、废药瓶、废透析袋、废注射器、废冻存管、废过滤层析介质、废层析柱、废蔗糖、废过滤芯、喷淋塔废液和废活性炭等。生活垃圾实行分类袋装化，由环卫部门处理；废包装物、废标签纸定期交由一般工业固废处置单位处置，废 RO 膜、废离子交换树脂和废过滤膜由生产厂家回收；分离纯化废液、废培养基、废发酵液、质检废液、废消毒液、废吸头、废称量纸、废过滤膜、废药瓶、废透析袋、废注射器和废冻存管、废过滤层析介质、废层析柱、废蔗糖、废过滤芯、喷淋塔废液和废活性炭等属危险废物，其中分离纯化废液、废培养基、废发酵液、质检废液、废消毒液，废吸头、废称量纸、废过滤膜、废药瓶、废透析袋、废注射器、废冻存管、废层析柱、废蔗糖、废过滤层析介质等经高温灭菌后密封，存在按照国家规范建设的危险废物暂存场所，定期交由有资质单位处理处置；废活性炭、喷淋塔废液收集后，密封桶装存在按照国家规范建设的危险废物暂存场所，定期交由有资质单位处理处置；废过滤芯定期更换后交由厂家回收。危险废物在项目区内临时贮存应严格执行《危险废物贮存污染控制标准》(GB18597-2001) 及其 2013 年修改单

内容的有关要求，设置危险废物识别标志，并做好三防措施等工作；其转运严格执行危险废物转移联单管理等要求。

6、项目依托园区一座792m³事故池，并在厂区雨水排口设置切断闸阀，满足事故状态下事故水收集要求。

7、有关本项目的其他环境影响的减缓措施，按环评文件要求认真落实。

三、项目施工期间废气主要来源于现有厂房改造及运输车辆所排放的废气，产生的废气主要为扬尘。生活污水经临时化粪池处理后接入城市污水管网。施工过程中严格落实工地周围设置连续、密闭硬质围挡，场区道路硬化处理等“六个百分百”相关要求，采取有效措施防治施工现场扬尘污染。施工过程选用低噪声施工机械设备，对产噪设备应采取隔声、消声、减振等综合降噪措施，合理安排施工时间和合理布局高噪声设备，避免扰民事件发生，施工机械尽量远离环境敏感目标，在环境敏感目标附近施工时，应设置围挡设施和临时隔声屏障。严格执行《建筑施工场界环境噪声排放标准》（GB12523—2011）中的有关规定，减缓施工的噪声影响。施工中产生的建筑垃圾、工程土石方和生活垃圾等必须按照相关主管部门要求及时清运至指定地点，防止产生二次污染。施工中产生的生活垃圾应集中收集，送环卫部门统一处理。

四、项目建设须严格执行项目配套的环境保护设施与

主体工程同时设计、同时施工、同时投入使用的环境保护“三同时”制度，各项环境管理措施应一并落实。项目建成后，必须严格执行排污许可制度，在发生实际排污行为前申领排污许可证，并按照有关规定组织竣工环保验收。

五、项目的环境影响评价文件经批准后，若该项目的性质、规模、地点、生产工艺和环保设施发生重大变动的，建设单位应当重新报批该项目的环境影响评价文件。

六、环评执行标准

1、环境质量标准：

地表水派河执行《地表水环境质量标准》（GB3838-2002）III类标准。

环境空气质量基本污染物执行国家《环境空气质量标准》（GB3095-2012）二级标准、氯化氢、甲醇参照执行《环境影响评价技术导则大气环境》（HJ2.2-2018）附录D中浓度限值，非甲烷总烃参照执行《大气污染物综合排放标准详解》中的建议值。

声环境执行《声环境质量标准》（GB3096-2008）3类标准。

地下水环境质量执行《地下水质量标准》（GB/T14848-2017）中III类标准。

土壤环境执行《土壤环境质量 建设用地土壤污染风险管控标准》（GB36600-2018）第二类用地筛选值。

2、污染物排放标准：

废水排放执行西部组团污水处理厂接管限值及《生物工程类制药工业水污染物排放标准》（GB21907-2008）中表 2 新建企业污染物排放限值。

废气排放执行安徽省地方标准《制药工业大气污染物排放标准》（DB34/310005-2021）中表 1、表 2、表 6 和表 7 中排放限值要求。

营运期噪声排放执行《工业企业厂界环境噪声排放标准》（GB12348-2008）中的 3 类标准。

一般工业固体废物执行《一般工业固体废物贮存和填埋污染控制标准》（GB18599-2020）相关规定；危险废物临时贮存执行国家《危险废物贮存污染控制标准》（GB18597-2001）及 2013 年修改单内容的有关规定。

2023 年 06 月 07 日



排污许可证

证书编号：91340100MA8PBJ2U48001V

单位名称：安徽诺为生物技术有限公司

注册地址：安徽省合肥市高新区石莲南路116号全盟电力科技园5楼

法定代表人：董志侠

生产经营场所地址：安徽省合肥市高新区石莲南路116号全盟电力科技园5楼

行业类别：生物药品制造

统一社会信用代码：91340100MA8PBJ2U48

有效期限：自2023年11月21日至2028年11月20日止



发证机关：（盖章）合肥市生态环境局

发证日期：2023年11月21日

附件 4 废水在线监测系统验收意见

表 8 验收结论

安徽诺为生物技术有限公司安装的CODcr、NH₃-N、PH、流量计废水在线检测设备,已完
成安装调试、联网测试;在线比对和计量校
准,符合HJ354-2019标准要求,建议通过
验收。

李善 丁

2024.8.5.

安徽诺为生物技术有限公司

废水在线自动监测系统自主验收会参会人员签到表

姓名	工作单位	职称/职务	联系电话
王淑玉	安徽诺为生物技术有限公司	行政	18251418973
陈红	安徽诺为生物技术有限公司	行政	13701066207
李菁	安徽省合肥市生态环境局	高级工程师	13965196222
李如	安徽省合肥市生态环境局	高级工程师	13866182368
吴敬	安徽维环科技有限公司	商务	17311588848
波记	安徽维环科技有限公司	运维	188531056



安徽浩悦生态科技有限责任公司

合 同 书

单位名称： 安徽诺为生物技术有限公司

合同编号： HSW202313 第 0185 号

建档时间： 年 月 日



危险废物委托处置合同

甲 方：安徽诺为生物技术有限公司

乙 方：安徽浩悦生态科技有限责任公司

甲乙双方根据《中华人民共和国固体废物污染环境防治法》《危险废物道路运输污染防治若干规定》《危险废物贮存污染控制标准》《中华人民共和国民法典》等有关法律法规，经友好协商，甲方现将生产经营过程中产生的危险废物委托乙方安全处置，并签订本合同。

一、权利、义务

- 1、甲方须向乙方提供准确的危险废物理化特性分析结果。
- 2、依据相关法律法规的规定，甲方在本合同签订后，须及时在线向环保部门提交危险废物转移申请，经备案后，方可进行危险废物转移。
- 3、甲方设置的危险废物贮存场所应保证乙方危险废物收运车辆正常进出并顺利开展收运工作。
- 4、甲方应根据所产生的危险废物特性、状态及双方的约定，妥善选用包装物，包装后的危险废物不得发生外泄、外露、渗漏、扬散等可能造成二次污染的现象。
- 5、甲方应将危险废物按其特性分类包装、分类贮存，并在危险废物包装物上张贴规范标签（标签应标明产废单位名称、危废名称、编号、成分、注意事项等），同一包装物内不可混装不同品种危险废物。
- 6、甲方须将化学试剂空瓶、化学原料空瓶及其他废液空桶等倒空，不得留有残液，须按双方约定化学试剂接收清单内容进行分类。压力容器须先行卸压处理。
- 7、甲方须确保所转移危险废物与合同约定一致，不得隐瞒乙方将不在本合同内的危险废物装车。
- 8、甲方须在乙方派专业车辆到达甲方现场半小时内安排相应的人员、工具开始装车，中途不得无故暂停。
- 9、甲方须按规范完成产废单位电子转移联单填报工作。
- 10、甲方须按乙方要求提供危险废物相关信息资料并加盖公章，如产废单位《营业执照》、环评中危废判定情况及危险废物明细表等。同时，甲方有权要求乙方提供《营业执照》、《危险废物经营许可证》、《危险货物道路运输许可证》等相关证件，但不可用于本合同以外任何用途。
- 11、本合同期内甲方应按国家规范安全贮存，危险废物连同包装物不得随意弃置。凡属于本合同约定的废物品种及重量，甲方须连同包装物全部交由乙方处置，不得自行处理或交由第三方处置，如出现类似情况，视为甲方违约，并承担相应责任。
- 12、乙方须遵守法律、法规，在本合同及危险废物转移申请未完成环保部门备案前，不得进行收运。



13、乙方须保证在合同有效期内所持许可证、执照等相关证件合法有效。

14、乙方须遵守国家有关危险货物运输管理的规定，使用有危险废物标识的、符合环保及运输部门相关要求的专用车辆。

15、乙方须按国家环保规范要求及双方约定，及时收运。

16、乙方收运人员须严格按照国家规定进行危险废物收集运输工作。

17、乙方在运输途中须确保安全，不得丢弃、遗撒危险废物。

18、乙方须按国家法律规定的环保要求，对危险废物进行贮存、处理处置。

19、乙方须按规范要求对甲方产生的危险废物进行特性分析，如：热值、元素、PH值等。

20、乙方对危险废物处置应达到《危险废物焚烧污染控制标准》《危险废物贮存污染控制标准》《危险废物填埋污染控制标准》等相关规范要求。

二、双方约定

(一) 危废名称、产生量、包装方式与处置方式：

序号	废物名称	计划年转移量 (吨)	废物代码	包装方式	形态	主要含有害成分	备注
1	分离纯化废液	15	276-001-02	桶装封口	液态	盐酸胍、乙二胺四乙酸二钠	
2	废层析柱	0.06	276-004-02	袋装封口	固态	细菌	
3	废发酵液	4.9	276-002-02	桶装封口	液态	10%酵母提取物	
4	废蔗糖	0.4	276-002-02	袋装封口	固态	蔗糖	
5	废过滤层析介质	0.02	276-004-02	袋装封口	固态	细菌	
6	废培养基	0.12	276-002-02	桶装封口	液态	蛋白胍 细菌	
7	喷淋塔废液	7.2	900-047-49	桶装封口	液态	氢氧化钠	
8	质检废液	2.5	900-047-49	桶装封口	液态	蛋白胶制胶试剂	
9	实验废物	1	900-041-49	袋装封口	固态	细菌	
10	废活性炭	0.45	900-039-49	袋装封口	固态	非甲烷总烃	
11	废消毒液	0.14	900-041-49	桶装封口	液态	20%乙醇	
合计		31.79 吨	甲方对列表中的废物种类与产生量实行规范管理与纳入集中处置；对部分需提供样品但暂时无法提供的，待甲方实际产生危废后，需送样至乙方检测分析，根据结果确定能否处置及必要时调				

	
处置方式	整处置价格 处置方式由乙方根据危险废物的特性采取适宜的方式进行。

(二) 包装方式说明

1、袋装封口：固体废物须袋装封口，选用编织袋、复合袋（有液体渗出的固体废物须选用），不包括薄膜塑料袋。

2、桶装封口：液态废物须桶装封口，所盛液态容积≤容器的 80%，且须配密封盖，确保运输途中不泄露。

3、箱装封口无缝隙：日光灯管或其他化学玻璃空瓶应无破损，装箱时应选取适当填充物固定，防止灯管或玻璃瓶在运输途中破损，导致二次污染。

(三) 处置费用：处理费（包括但不限于处置费、运输费、危废特性分析费等），详见附件（报价单）。

(四) 收运方式：

1、收运频次：合同期 每三吨收运 1 次。

2、经双方协商确定以下收运方式：

甲方应根据双方的约定及废物产生量提前 七 个工作日将收运清单（收运品种及各品种重量）以书面或电子邮件方式告知乙方，乙方接到甲方通知之日起 七 个工作日安排车辆到甲方上门收运，甲方安排相应的人员及必要的工程车辆负责装车。

(五) 转移交接：

1、计量称重：甲乙双方在贮存收运现场进行计量称重，由甲方提供合法计量工具并承担由此产生的费用。若甲方无法提供合法计量工具，将以乙方合法计量工具称重为准。

2、交接事项核对：在收运过程中，甲、乙双方经办人应在收运现场对危险废物进行仔细核对并确认，尤其是转移的废物名称、种类、成分、重量等信息，废物的重量为乙方结算处置费及调整处置费的凭证，若甲方未对联单上的重量进行确认，乙方则停止收运，由此而造成处置费的增加或其他经济损失，由甲方负责。

3、填写电子联单：按照国家规范要求认真执行电子联单制度，甲方须及时完成电子联单在线填报工作，电子联单作为双方核对废物种类、数量、结算，接受环保、运管、安全生产等部门监管的唯一凭证。

(六) 费用结算：

1、按照谁委托处置谁付费的原则，甲方支付履约保证金 / 元，本合同签订时以转账或现金方式支付乙方。

2、处理费支付：经双方协商确定按下列 (2) 执行

(1) 预付处理费：甲方根据危废种类、数量和收费标准，于收运前支付处理费，乙方收到处理费后根据双方约定安排收运，收运完成后，根据实际收运数量开具增值税专用发票，预付费用多退少补。

(2) 根据收运情况，每月结算一次，乙方根据双方确认的废物种类、数量和收费标准与甲方结算，



甲方在收到增值税专用发票后十五日内以转帐或现金方式向乙方支付处理费。

3、自本合同开始时间算起,每12个月内,在首次收运本合同约定的危废品种时收取一次特性分析费。

4、本合同期内,乙方根据甲方需求,在甲方具备收运条件时,乙方每12个月最少提供一次危废处置服务,甲方合同履约率=合同期危废处置总量/(合同约定年处置量*合同年限)。若甲方最终合同履约率未达到80%,甲方将被视作违约,甲方的履约保证金将作为违约金处理不予退还。

(七)本合同期内,若甲方产生新的危险废物需要委托处置,在同等条件下,乙方享有优先处置权。

(八)合同有效期内,若一方因故停业,应及时书面通知对方,以便采取相应的应急措施;乙方若遇设备检修、保养、雨雪天气等不可抗力因素导致无法收运,应及时通知甲方,甲方须具备危险废物安全暂存能力。

三、违约责任:

1、若甲方未及时完成环保备案手续,导致本合同不能正常履行,视为甲方违约,甲方承担一切责任且甲方向乙方支付的履约保证金不予退还。

2、甲方若逾期支付处置费,乙方有权暂停收运,且每逾期一日,甲方应当向乙方支付相当于届时应付未付处置费的万分之三的违约金;逾期超过三十日仍未支付的,乙方有权解除合同,并要求甲方承担由此造成的一切损失。

3、收运现场出现如下情况,乙方有权拒绝收运,并收取车辆放空费用,每100公里以内1500元,超过100公里的,另增加费用1.2元/吨/公里(起步按1吨计算)。

① 甲方贮存点不符合收运条件,又未将危险废物送至乙方车辆能够收运的地点的。

② 甲方未按照国家法律规定及合同约定对危险废物进行分类存放的。

③ 甲方未按照合同约定对危险废物进行规范包装的。

④ 甲方未在危险废物包装物上贴有详细标签的。

⑤ 甲方将不同种危险废物混装的。

⑥ 甲方未在乙方车辆到达现场后半小时内安排装车的。

⑦ 双方已约定收运时间,甲方未在收运前三个工作日内通知乙方取消收运的。

⑧ 甲方的危险废物与合同列明的危险废物成分不符的。

4、运输途中,因甲方危险废物包装或混装等不符合合同约定要求,造成外泄、外漏、渗漏、扬散等二次污染、安全事故、人身财产损失的,乙方有权立即终止合同,由此造成的一切经济损失和法律责任(包括但不限于乙方因甲方前述行为而遭受的人身、财产损失以及向第三方承担的赔偿责任、主管部门处罚等)由甲方承担。

5、甲方将不属于合同范围内的其他危废,隐瞒乙方进行装车时,若乙方在收运现场发现立即停止收运,若乙方在运回处置场后发现,甲方须在乙方告知后24小时内安排专业车辆运回。若造成安全事故或人身财产等损害的,一切损失由甲方承担,并承担相应的法律责任。

6、如乙方已完成收运,经检测,发现甲方的危险废物与合同列明的危险废物成分不符的,若乙方可



以处置,乙方将提出新《报价单》,甲乙双方协商同意后,由乙方进行处置。若乙方无法处置或甲乙双方协商无果,甲方须在乙方告知后 24 小时内安排专业车辆运回该批次危险废物,并承担运输费用。如甲方有异议,应在运回前向乙方书面提出异议申请,同时可申请有资质的第三方检测机构进行检测。如检测符合合同约定,乙方应承担检测费用,并安全妥善处置该危险废物。如检测不符合合同约定,甲方须承担检测费,并在 24 小时内安排专业车辆运回该批次危险废物,承担运输费用。

7、本合同期内,未征得乙方同意,甲方如将合同列入的品种部分或全部危险废物连同包装擅自交由第三方处置的,乙方除追究其违约责任外,将按合同约定数量的减少部分要求甲方作经济赔偿。

8、乙方在收运、处置甲方所产生的危险废物过程中,应当按照规范要求实施操作,不得将所收运的危险废物违法处置,否则,因此造成任何污染或损害将由乙方负责解除或减轻危害,并承担相应的法律责任。

9、乙方收运人员在收运过程中,不得有影响甲方正常工作秩序的不良行为,如劝阻无效,甲方有权要求乙方暂停收运并向乙方及上级主管部门投诉。

10、合同期限内,如甲方无违约行为,合同到期后,甲方需返还履约保证金收据,乙方退还履约保证金。如甲方有违约行为发生,已支付的履约保证金作违约金处理,且乙方有权提前终止合同。

11、自合同起始日起,7 个月内甲方必须完成环保部门要求的危险废物转移在线备案工作,否则视为甲方违约,甲方自行承担危险废物无法转移的责任,已支付的履约保证金作违约金处理,且乙方有权提前终止合同。

四、其他

1、若甲方或乙方有不符合环保安全等规范要求行为的,另一方均有权向环保、安全等主管部门如实反映情况。

2、若甲方产生新的废物,或者废物性状发生较大的变化,或因为某种特殊原因导致某批次废物性状发生重大变化,甲方应及时书面告知乙方,并重新取样,重新确认废物名称、废物成分、包装容器和处置费用等事项,甲乙双方应结合实际情况签订补充合同并对处置费进行调整。

3、甲乙双方均不得向第三方(不包括相关主管部门)泄露本合同内容,否则因此引起的一切责任和损失由泄密方承担。

4、本合同如遇国家有关合同内容的政策调整与其条款不符的,按新政策要求实施,双方签订补充合同。对于协商无法达成一致的,本合同自动终止。

5、其他约定: /

6、本合同执行中发现未尽事宜及发生有争议的需另行协商。协商无果的,可向原告方所在地人民法院提起法律诉讼。守约方因诉讼发生的费用(包括但不限于诉讼费、律师费、保全费、仲裁费等)全部由违约方承担。

7、账户信息:

1) 甲方:



户名：安徽诺为生物技术有限公司

纳税人识别号：91340100MA8PB2U48

地址和电话：安徽省合肥市高新区石莲南路116号全盟电力科技园5楼 0551 63860602

开户行和账户：招商银行合肥创新大道支行 551907874210901

经办人及联系方式：韩淑玉 18256418973

2) 乙方：

户名：安徽浩悦生态科技有限责任公司

纳税人识别号：91340124MA2NJMBW7J

地址和电话：安徽省合肥市庐江县龙桥镇工业园 0551-62697262

开户行和账户：中国光大银行合肥阜阳北路支行 79490188000131918

经办人及联系方式：樊海宁 0551-62697253

8、本合同经甲乙双方盖章后生效，附件为合同的重要组成部分，合同期间，任一方账户信息变动，需及时书面告知另一方，否则因此引起的一切责任和损失由隐瞒方承担。

9、合同期限：自 2023 年 09 月 21 日至 2025 年 09 月 20 日止；合同期满，双方若愿续订合同，须在合同期满前一个月另行协商，续订合同。

10、本合同经甲乙双方盖章后生效，一式 叁 份，甲方持 壹 份，乙方持 贰 份。

甲 方（盖章）：安徽诺为生物技术有限公司

法定代表（签字）：

或委托代理人（签字）：

联系部

联系电话



乙 方：安徽浩悦生态科技有限责任公司

法定代表（签字）：

或委托代理人（签字）：

联系部 门：市场开发部

联系电话：0551-62697262, 0551-62697260



签约时间：2023年9月25日

签约地点：安徽省合肥市淮河路278号商会大厦西五楼

附件

报 价 单

客户名称：安徽诺为生物技术有限公司

(盖章)

时 间：2023 年 09 月

序号	废物名称	废物代码	计划年转移量(吨)	处置费单价 (元/公斤, 含税、含运费)	处置方式	特性分析费(元)	备注
1	分离纯化废液	276-001-02	15	3.2	焚烧	免收	
2	废层析柱	276-004-02	0.06	3.2	焚烧	免收	
3	废发酵液	276-002-02	4.9	3.2	焚烧	免收	
4	废蔗糖	276-002-02	0.4	3.2	焚烧	免收	
5	废过滤层析介质	276-004-02	0.02	3.2	焚烧	免收	
6	废培养基	276-002-02	0.12	3.2	焚烧	免收	
7	喷淋塔废液	900-047-49	7.2	3.2	焚烧	免收	
8	质检废液	900-047-49	2.5	3.2	焚烧	免收	
9	实验废物	900-041-49	1	3.2	焚烧	免收	
10	废活性炭	900-039-49	0.45	3.2	焚烧	免收	
11	废消毒液	900-041-49	0.14	3.2	焚烧	免收	
账户信息		户 名	安徽浩悦生态科技有限责任公司 (盖章)				
		账 号	79490188000131918				
		开户行	中国光大银行合肥阜阳北路支行				
联系电话			0551-62697262	0551-62697260			

备注:

1、根据相关法律法规,处置单位必须对收运的危险废物进行特性分析,特性分析费于收运前按处置方式收取,每品种仅收取一次(焚烧处置和其他方式处置分析项目:热值、含水率、灰分、氯、氮、溴、硫、氟、闪点;物化处置分析项目:酸碱度、COD、氰化物、氨氮、总磷、铅、砷、汞、镉、总铬、六价铬、铜、镍、锌;填埋处置分析项目:PH、含水率、铅、砷、汞、镉、总铬、六价铬、铜、镍、锌、氰化物、氟)。另:特性分析费甲方如可提供具有CMA认证的分析检测报告,报告内容显示上述指标的,乙方不再收取相关项目的特性分析费用。



- 2、费用收取方式按照合同第二条第（六）款“费用结算”执行。
- 3、处置工艺为其他方式处置的，在安徽省固体废物信息管理系统中按照物化处置方式（D9）进行备案。
- 4、年处置费预计（元）=计划年转移量（吨）*处置费单价（元/公斤）*1000+特性分析费（元）

二山



安徽浩悦环境
Anhui Haoyue Environmental



安徽浩悦环境
Anhui Haoyue Environmental

有限公司



安徽浩悦环境
Anhui Haoyue Environmental



危险废物

经营许可证

编 号:

340124002

发证机关:



发证日期:

2023年9月1日

法人名称: 安徽皖北生态科技有限责任公司

法定代表人: 朱俊

住 所: 合肥市庐江县龙桥镇工业园

经营设施地址: 合肥市庐江县龙桥镇工业园

核准经营方式: 收集、贮存、处置

核准经营危险废物类别:

HW01、HW02、HW03、HW04、HW05、HW06、HW07、HW08、HW09、HW11、HW12、HW13、HW14、HW16、HW17、HW19、HW21、HW22、HW23、HW24、HW26、HW29、HW31、HW32、HW33、HW34、HW35、HW38、HW39、HW40、HW45、HW46、HW47、HW48、HW49、HW50, 共 272 个危险废物代码 (详见许可文件), 其中焚烧处置 5.94 万吨/年 (含医疗废物 3000 吨/年), 物化处置 6.62 万吨/年。

核准经营规模: 125600 吨/年

有效期限: 自 2023 年 9 月 1 日至 2026 年 5 月 31 日

初次发证日期: 2021 年 6 月 1 日

危险废物经营许可证

(副本)

说明

1. 危险废物经营许可证是经营单位取得危险废物经营资格的法律文件。
2. 危险废物经营许可证的正本和副本具有同等法律效力,许可证正本应放在经营设施的醒目位置。
3. 禁止伪造、变造、转让危险废物经营许可证。除发证机关外,任何单位和个人不得扣留、收缴或者吊销。
4. 危险废物经营单位变更法人名称、法定代表人和住所的,应当自工商变更登记之日起15个工作日内,向原发证机关申请办理危险废物经营许可证变更手续。
5. 改变危险废物经营方式、增加危险废物类别,新、改、扩建原有危险废物经营设施的,经营危险废物超过批准经营规模20%以上的,危险废物经营单位应当重新申请领取危险废物经营许可证。
6. 危险废物经营许可证有效期届满,危险废物经营单位继续从事危险废物经营活动的,应当于危险废物经营许可证有效期届满前30个工作日内向原发证机关申请换证。
7. 危险废物经营单位终止从事危险废物经营活动的,应当对经营设施、场所采取污染防治措施,并对未处置的危险废物作出妥善处理,并在20个工作日内向发证机关申请注销。
8. 转移危险废物,必须按照国家有关规定填报《危险废物转移联单》。

发证机关:

发证日期:

初次发证日期:



编号: 340124002

法人名称: 安徽浩悦生态环境科技有限公司

法定代表人: 朱俊辰

住所: 合肥市庐江县庐城镇工业园区

经营设施地址: 合肥市庐江县庐城镇工业园区

核准经营方式: 收集、贮存、处置

核准经营危险废物类别:

HW01、HW02、HW03、HW04、HW05、HW06、HW07、HW08、HW09、HW11、HW12、HW13、HW14、HW16、HW17、HW19、HW21、HW22、HW23、HW24、HW26、HW29、HW31、HW32、HW33、HW34、HW35、HW38、HW39、HW40、HW45、HW46、HW47、HW48、HW49、HW50, 共272个危险废物代码(详见许可文件)。其中,焚烧处置5.94万吨/年(含医疗废物3000吨/年)、物化处置6.62万吨/年。

核准经营规模: 125600吨/年

有效期限: 自2023年9月1日至2026年5月31日

附件 6 验收监测期间工况证明

工况证明

安徽世标检测技术有限公司于 2024 年 3 月 21 日~3 月 22 日、8 月 15 日~8 月 16 日对安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目进行验收监测。验收监测期间本项目正常运行，各项污染物处理设施运行状况良好。

生产工况表

监测日期	产品名称	实际产能 (克/天)	设计产能 (克/天)	工况负荷 (%)
2024.03.21	酶制剂一	1.58	1.67	94.61
2024.03.22		1.56	1.67	93.41
2024.08.15		1.61	1.67	96.41
2024.08.16		1.54	1.67	92.22

特此证明

安徽诺为生物技术有限公司
2024 年 8 月 17 日



附件7 厂房租赁合同

附件3 厂房租赁合同

房屋租赁合同

出租方: 安徽全盟电力科技股份有限公司

联系电话: 18356537885 (魏福品)

承租方: 安徽诺为生物技术有限公司

联系电话: 15011320707 (董晓燕)

根据《中华人民共和国民法典》及相关法律、法规,为明确甲、乙双方的权利和义务,经真实、自愿、友好协商一致,签订本合同。

第一条 租赁房屋名称、面积与用途

甲方将合肥高新区石莲南路116号安徽全盟电力大楼五层,系面积计1670平方米(具体面积以实际测量的建筑面积为准)的框架结构房屋(房屋产权证书、租赁房屋平面图复印件见附件,复印件与原件内容一致),租赁给乙方作为科研、生产、仓储和办公场所使用。

第二条 租赁期限

- 1、租赁期限:自2022年11月1日起至2027年11月1日止。本租赁期满后,甲方有权收回出租房屋,乙方有同等价格优先续租权,甲方免费两个半月时间给乙方装修(即:2022年8月16日-2022年10月31日,装修期水电按实际发生计算收费。)
- 2、该租赁房屋作为研发、生产、仓储、办公使用,不得用于其他用途。

第三条 租金及交纳期限

- 1、租金:本租赁期内租金及物业综合服务费单价每月15.4元/平方米(含税价),租金在租赁后第2年开始每年5%递增/平方米(租赁面积)。
- 2、支付方式:按照先付后用的原则,乙方向甲方支付租金的方式为:押一付六,实行半年度付款,通过银行转账支付。首期租金:人民币180026元(大写:壹拾捌万零贰

拾陆元整), 其中包括房租押金 25718 元(大写: 贰万伍仟柒佰壹拾捌元整); 须在合同签订后七个工作日内支付给甲方。其余期次租金应于房租期到期前十天内支付。

(乙方向甲方支付押金 25718 元, 用于保证乙方履行本合同。乙方违约解除本合同的, 押金不予退还; 乙方违反本合同约定, 致使甲方未能如期收取租金或发生其他费用或损失的, 甲方有权扣除部分或全部押金予以抵付。若押金不足以抵付有关费用或损失时, 乙方须在接到甲方发出的付款通知书后十天内补足, 否则甲方有权解除本合同, 并追究乙方违约责任; 租赁期限内, 如乙方有违反或不履行本合同的其他行为, 给甲方造成损失的, 甲方发出要求乙方纠正该行为并赔偿损失或支付相应违约金的书面通知后十天内, 如乙方拒不纠正该行为且不赔偿损失或支付违约金, 甲方有权直接从押金中抵扣赔偿款或违约金, 以补偿甲方因乙方该行为而造成的损失或者损害, 押金不足以支付上述数额的, 甲方在前述抵扣行为发生后十日内书面告知乙方。乙方应在收到前款所述书面抵扣通知的七日内向甲方补足被扣除部分的押金。否则, 甲方有权解除合同, 无需向乙方承担损失, 并追究乙方的违约责任。

承租期满或合同解除后, 乙方完全履行了本合同所约定的义务, 并已经按照本合同约定将场所恢复原状或双方达成一致后归还甲方, 押金将不计利息退还乙方。)

3、本租金为含税金额, 开具 9% 的增值税专用发票。

第四条 水电费用及其交纳期限

合同期内甲方为乙方提供办公场地用电及生活用水。水电收费标准, 双方自行商议(水费: 9 元每立方, 电费: 1 元每度), 每月根据水电表实际用量计算。水电费每季度结算一次。

第五条 租赁期间房屋装修、修缮

1、乙方进行室内装修, 不得损坏房屋主体和墙体结构, 不得破坏地面, 否则甲方有权要求乙方将损坏部分恢复, 乙方拒不恢复的, 甲方有权解除本合同。

2、甲方有义务联系和督促物业公司对水电线路（自然老化）、门窗（玻璃破碎、人为损坏的除外）、屋顶、外立面和公共部分进行维护，物业管理单位维修房屋时，乙方应配合维护维修施工。

3、乙方应在入住时充分考虑现有电源容量，合理选配用电设备，保证用电安全。如乙方需要扩容，须经甲方同意，且在已有线路允许范围之内，扩容费用由乙方自行承担。

4、乙方需设置户外招牌、广告的，需提出书面申请，并经甲方书面同意，按甲方统一规定和要求办理。

5、乙方退房时，室内装修的固定隔墙用的分隔物等相关装修系列设备及物品归乙方所有，乙方在不破坏原主体的情况下也可自行带走或处理，恢复原状返还房屋。甲方如需要乙方装饰装修、设施设备的，可与乙方协商折算价格清算。

第六条 甲方和乙方的权利与义务

1、甲、乙双方有义务共同维护楼体的环境整洁、卫生、安全和安静。

3、乙方有义务配合甲方提供相关政府需要统计材料和相关申请政府支持的项目相关材料，甲方不得以任何形式向任何第三人泄露乙方的商业秘密。

4、乙方必须按期交纳房租费、物业费、水电费等相关费用。

5、乙方保证在租赁的房屋内合法经营，不从事危害公共安全、他人安全等的行为，乙方保证不使用或允许他人使用该房屋作任何违法或不道德的用途，或做出危害该房屋、甲方或相邻房屋的任何举动。

6、本合同签订前，乙方对房屋现状及周边情况已做了充分的考察，知晓房屋性质、面积、结构、装饰装修、电容、水压等情况。乙方与甲方签订本合同，即表示乙方全面认可房屋现状，认可房屋能够满足其经营需要。

7、乙方承担房屋的防火、反盗等的法律责任，做到防范于未然，发现问题及时处理。

8、乙方认可房屋具备安全防护条件，租赁期间，乙方或与乙方有关人员的人身、财产

安全由乙方负责。如乙方认为房屋窗口需要加装防护网的，经甲方书面认可后可加装。

9、乙方不当使用至设施设备损坏或故障的，乙方应立即维修，乙方不予维修的，甲方自行维修的费用由乙方承担，并有权从保证金中扣除，给甲方造成损失的，应承担赔偿责任，并有权从保证金中扣除。

10、乙方按合同约定正常终止合同的，甲方应全额退还乙方的房租押金、保证金及剩余房屋租金、综合服务费。

第七条 转让与续租

1、乙方不得擅自将房屋转租、分租给第三方使用，否则甲方有权解除合同。

2、若合同期满不续租，双方应及时办理结清手续，乙方必须先结清所有费用后方可搬出，乙方屋内家具、设备自行清理。乙方不续租应提前一个月向甲方书面申请，逾期不申请致甲方房屋未及时出租他人的，乙方应承担未出租期间的租金损失。

3、乙方如需继续承租，应提前两个月与甲方协商续租事宜，双方协商后，应在续约前一个月与甲方签订续租合同并交纳相关费用。

4、若合同到期后乙方逾期超过2个月不办理相关手续，则视为双方继续执行原合同条件，租期转为不定期租赁。

第八条 违约责任

1、发生本合同约定及下列情况之一，甲方除加收乙方违约金外，还有权单方终止合同收回乙方承租的房屋。

(1) 乙方逾期2个月不付房屋租金、综合服务费，甲方每天加收乙方应付款总额1%的违约金。逾期三个月仍不交纳房屋租金，甲方有权停电、停水和解除合同。

(2) 乙方无故逾期不付水电费超过六个月，甲方有权协助物业公司采取相应措施催其交纳，乙方仍不支付的，甲方有权解除合同。

乙方违反本合同约定或违约行为致甲方合同目的无法实现的，甲方有权解除合同，出

约定的违约责任外，甲方有权要求乙方承担租赁期间内总租金的 20% 的违约金，并承担甲方损失。甲方主张权利所产生的诉讼费、保全费、保函费、律师费等由乙方承担。

2、甲方违约解除合同的，应向乙方承担赁期间内总租金的 20% 的违约金。乙方主张权利所产生的诉讼费、保全费、保函费、律师费等由乙方承担。

第九条合同终止

乙方有下列情形之一的，甲方可以终止合同并收回房屋。乙方如不配合甲方收回房屋，不按时清理房屋内留存物品并搬离房屋的，甲方视为乙方将房屋内所留物品作弃物，甲方有权开门清理并处置乙方弃物。

- 1、乙方擅自将房屋转租或分租给第三方。
- 2、乙方利用承租房屋进行非法或损害公共利益的活动或擅自改变房屋用途。
- 3、租赁期满，乙方不再续租。
- 4、违反本合同其他条款，导致甲方终止合同的。

第十二条 本合同未尽事宜，经双方共同协商做出补充约定，补充约定与本合同具有同等效力。因履行本合同发生纠纷的，应协商解决，协商不成的，应在房屋所在地人民法院诉讼。

第十三条 本合同一式两份，甲、乙双方各执一份，经双方签字盖章后生效。

甲方(章): 安徽全盟电力科技股份有限公司 乙方(章): 安徽诺为生物技术有限公司

委托人: 魏福品

委托人: 董晓磊

电话: 18355537885

电话: 15011320707

开户银行: 徽商银行股份有限公司

开户银行:

合肥合作化路支行

帐 号: 1021001021000842536

帐 号:

2022 年 8 月 16 日

2022 年 8 月 16 日

附件 8 应急预案备案表

企业事业单位突发环境事件应急预案备案表

单位名称	安徽诺为生物技术有限公司	机构代码	91340100MA8PBJ2U48
法定代表人	董志侠	联系电话	
联系人	董志侠	联系电话	15011320707
传真		电子邮箱	
地址	安徽省合肥市高新区石莲南路 116 号全盟电力科技园 5 楼		
预案名称	安徽诺为生物技术有限公司突发环境事件应急预案		
风险级别	一般风险		
本单位于_签署发布了突发环境事件应急预案，备案条件具备，备案文件齐全，现报送备案。 本单位承诺，本单位在办理备案中所提供的相关文件及其信息均经本单位确认真实，无虚假，且未隐瞒事实。			
预案签署人	王永强	报送时间	2025-03-12
突发环境事件应急预案备案文件目录	1. 环境应急预案（签署发布文件、环境应急预案文本）； 2. 环境风险评估报告； 3. 环境应急资源调查报告； 4. 编制说明（编制过程概述、重点内容说明、征求意见及采纳情况说明、评审情况说明）； 5. 环境应急预案评审意见（专家意见、签到表、打分表）； 6. 突发环境事件应急预案备案表		
备案意见	该单位的突发环境事件应急预案备案文件已于 2025-03-19 收讫，文件齐全，予以备案 合肥高新技术产业开发区生态环境分局 2025-03-19		

备案编号	340171-2025-015L		
报送单位	安徽诺为生物技术有限公司		
受理部门负责人意见	同意	经办人意见	同意

附件 9 项目废水环评要求与实际处理情况对照表

表1 项目废水环评要求与实际处理情况对照表

环评要求	实际处理情况	一致性
落实水环境保护措施。项目排水实行雨、污分流，项目废水主要为职工生活污水、设备排水、润洗废水、清洗废水、保洁废水、浓水	落实水环境保护措施。项目排水实行雨、污分流，项目废水主要为职工生活污水、设备排水、润洗废水、清洗废水、保洁废水、浓水。	一致
生活污水经化粪池预处理达标后接入市政污水管网，排至合肥西部组团污水处理厂深度处理；	生活污水经化粪池预处理达标后接入市政污水管网，排至合肥西部组团污水处理厂深度处理；	一致
设备排水、润洗废水、清洗废水、保洁废水、浓水经收集后通过高压灭菌锅灭活后进入厂区内实验室废水处置一体机进行处理(高温灭活+调节pH+絮凝沉淀+电化学催化+MBR+消毒，日处理量为200L/d)，处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理。	涉及菌体的容器/器皿先通过高压灭菌锅灭活后再清洗，过程中产生清洗废水与不涉及生物活性的设备排水、润洗废水、保洁废水、浓水一并进入厂区内实验室废水处置一体机进行处理(调节pH+絮凝沉淀+电化学催化+MBR+消毒，日处理量为1t/d)，处理达标后通过市政污水管网进入合肥西部组团污水处理厂进行深度处理。	设备排水、润洗废水、保洁废水、浓水不涉及生物活性，不进行高压灭菌

表2 涉及菌体的生产工艺流程及器皿一览表

涉及菌体的生产工艺流程		涉及菌体的容器/器皿 (灭菌后清洗，进入实验室 废水处置一体机)	涉及菌体的培养基/营养液 (废培养基/营养液灭菌后当 危废处置，不进入实验室废 水处置一体机)
菌体复苏和 小量培养	菌体复苏	冻存管、离心管	液体培养基
	涂布	离心管、移液枪头、涂布棒、培养皿	固体培养基、菌液
	过夜培养	培养皿	固体培养基、菌液
	挑单克隆	培养皿、移液器、离心管、接种棒、移液枪头	液体培养基、单菌落
	过夜培养	摇匀瓶	菌液
发酵培养		发酵罐、烧杯、移液枪头、比色皿	菌液、液体培养基
菌体收集		离心瓶、药勺、烧杯、滴管	菌体发酵液
菌体破碎		试管、烧杯、离心管	菌液、缓冲液





231012341148



正本

检测报告

TEST REPORT

编号: HY240813050

检测类别:

委托检测 (送样)

样品类别:

废水

委托单位:

安徽世标检测技术有限公司

苏州环优检测有限公司

Suzhou Huanyou Testing Co.LTD

二〇二四年八月二十六日





声 明

- 一、本报告无本公司检测专用章及骑缝章无效，无授权签字人签字无效。
- 二、假若该客户准备利用本公司所签发的报告在司法或仲裁程序上，该客户于要求采样或者呈交样品予本公司作测试前必须明确阐述此用途。
- 三、本公司对于由于利用本公司所签发的任何报告或通讯内的资料而造成的损失，概不会承担任何责任。
- 四、假若该报告被不适当地运用，本公司将会保留权利撤回该报告，及采取任何适当的措施。
- 五、当本公司收到该客户的请求，本公司可以电子媒介传递有关测试服务的结果，但该客户应注意，电子媒介传递不能保证其所含资料不会流失、延缓或被其他方截取。对于电子媒介传递导致其所含的任何资料出现泄露、差误或遗漏，本公司将不会负任何责任。
- 六、采样的样品，检测结果只代表检测当时污染物排放状况；送检的样品，样品及样品信息由客户提供确认，本公司不负责证实样品的真伪性，不承担证实客户提供信息的准确性、适当性和（或）完整性责任。本机构仅对送达到本实验室样品的检测结果负责，不对样品来源及可控范围之外发生的样品质量或其它特征的变化承担责任。
- 七、对报告若有异议，有法律法规规定的，依照法律法规执行。其它委托类型报告应于收到报告之日起十五天内向本公司以书面方式提出，逾期不予受理。
- 八、任何对本报告未经授权之涂改、伪造、变更及不当使用均属违法，其责任人将承担相关法律及经济责任，我公司保留对上述违法行为追究法律责任的权利。
- 九、本报告未经本公司书面批准，不得以任何方式部分复制；经同意复制的复制件，应由本公司加盖检测专用章确认。
- 十、不包含CMA资质认定标志的报告，检测数据和结果仅作为科研、教学或内部质量控制之用，不具有对社会证明作用。中英文报告内容以中文为准。

苏州环优检测有限公司

地 址：苏州市吴中区木渎镇珠江南路211号一幢6楼1627室	邮政编码：215100
电 话：0512-65028547	传 真：0512-68361607
电子邮件：hy@hyhjje.cn	网 址： http://www.hyhjje.cn

报告编号: HY240813050

苏州环优检测有限公司

检测报告

委托单位	名称	安徽世标检测技术有限公司	联系人	单艳
	地址	安徽省合肥市经济开发区九龙路 168 号东湖创新中心 1#楼 6 层	联系电话	18856935802
受检单位	名称	安徽诺为生物技术有限公司	项目名称	安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目废水检测
	地址	安徽省合肥市高新区石莲南路 116 号全盟电力科技园 5 楼		
样品类别		废水	样品来源	送样
检测单位		苏州环优检测有限公司	送样人	单艳
接样日期		2024.08.16-08.17	检测周期	2024.08.16 - 2024.08.17
检测目的		为安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目废水检测提供检测数据。		
检测内容		废水: 急性毒性, 共计 1 项。		
检测依据		见附表 1。		
主要检测仪器		毒性分析仪等。		
检测结果		1.检测结果见后附页; 2.本公司委托检测(送样)报告不提供结果判定; 3.此样品为客户送样, 本机构仅对送达到本实验室样品的检测结果负责, 不对样品来源及送检样品受控状态负责; 4.采样点位名称及其与样品名称的对应关系均为客户提供, 本机构不对其真实性负责。		
编制: 徐静静		检测机构 (报告专用章) 签发日期 2024 年 8 月 26 日		
审核: 刘瑞青				
签发: 李纪				

苏州环优检测有限公司						
废 水 检 测 结 果						
接样日期			2024.08.16			
样品名称			2-F-1	2-F-2	2-F-3	2-F-4
样品编号（HY240813050）			WS0001	WS0002	WS0003	WS0004
样品描述			无色、透明			
样品状态			棕色玻璃瓶（液体）			
检测项目	单位	检出限	检测结果			
急性毒性	mg/L (HgCl ₂ 毒性当量)	/	0.02	0.03	0.03	0.02

苏州环优检测有限公司						
废 水 检 测 结 果						
接样日期			2024.08.17			
样品名称			2-F-5	2-F-6	2-F-7	2-F-8
样品编号（HY240813050）			WS0005	WS0006	WS0007	WS0008
样品描述			无色、透明			
样品状态			棕色玻璃瓶（液体）			
检测项目	单位	检出限	检测结果			
急性毒性	mg/L （HgCl ₂ 毒性当量）	/	0.01	0.02	0.02	0.01

附表 1:

检测项目名称	检测依据	方法检出限	主要检测仪器/型号	仪器编号
废水				
急性毒性	水质 急性毒性的测定 发光细菌法 GB/T 15441-1995	/	毒性分析仪/Microtox-LX	SZHY-S-088

报告正文结束



231212050951

检 测 报 告

报 告 编 号: WST20240315-02Y

委托单位: 安徽诺为生物技术有限公司

项目名称: 安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂

项目竣工环保验收监测

报告日期: 2024 年 9 月 12 日

安徽世标检测技术有限公司



声明

- 一、本报告未盖 CMA 章、“检验检测专用章”及骑缝章无效；
- 二、本报告无编制人、审核人、批准人签字无效；
- 三、本报告发生任何涂改后均无效；
- 四、本报告检测结果仅对被测地点、对象及当时情况有效，送样委托检测结果仅对所送委托样品有效；
- 五、委托方应对提供的检测相关信息的完整性、真实性、准确性负责。本公司实施的所有检测行为以及提供的相关报告以委托方提供的信息为前提，若委托方提供信息存在错误、偏离或与实际情况不符，本公司不承担由此引起的责任；
- 六、本报告未经授权，不得擅自部分复印；
- 七、委托方对检测报告有任何异议的，应于收到报告之日起十五日内提出，逾期视为认可检测结果。



地址：安徽省合肥市经济技术开发区
九龙路 168 号东湖创新中心 1#楼 5-6 层
电话：0551-62887795
邮政编码：230601

一、基本情况

任务单编号	WST20240315-02Y
项目名称	安徽诺为生物技术有限公司生物酶制剂项目竣工环保验收监测
检测类别	验收检测
委托单位	安徽诺为生物技术有限公司
项目地址	安徽省合肥市高新区石莲南路 116 号全盟电力科技园 5 楼
采样日期	2024 年 3 月 21 日~3 月 22 日、8 月 15 日~8 月 16 日

二、检测方法与检出限

表 2-1 检测方法与检出限一览表

样品类别	检测项目	检测依据	检出限
废水	pH	水质 pH 值的测定 电极法 HJ 1147-2020	——
	化学需氧量	水质 化学需氧量的测定 快速消解分光光度法 HJ/T 399-2007	3.0mg/L
	五日生化需氧量	水质 五日生化需氧量（BOD ₅ ）的测定 稀释与接种法 HJ 505-2009	0.5mg/L
	悬浮物	水质 悬浮物的测定 重量法 GB/T 11901-1989	4mg/L
	氨氮	水质 氨氮的测定 纳氏试剂分光光度法 HJ 535-2009	0.025mg/L
	总氮	水质 总氮的测定 碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法 HJ 636-2012	0.05mg/L
	总磷	水质 总磷的测定 钼酸铵分光光度法 GB/T 11893-1989	0.01mg/L
	色度	水质 色度的测定 稀释倍数法 HJ 1182-2021	2 倍
	动植物油类	水质 石油类和动植物油类的测定 红外分光光度法 HJ 637-2018	0.06mg/L
	总氯 （总余氯）	水质 游离氯和总氯的测定 N，N-二乙基-1，4-苯二胺分光光度法 HJ 586-2010	0.03mg/L
	粪大肠菌群	水质 总大肠菌群和粪大肠菌群的测定 纸片快速法 HJ 755-2015	20MPN/L

续表 2-1 检测方法与检出限一览表

样品类别	检测项目	检测依据	检出限
废水	总有机碳	水质 总有机碳的测定 燃烧氧化-非分散红外吸收法 HJ501-2009	0.1mg/L
有组织废气	非甲烷总烃	固定污染源废气 总烃、甲烷和非甲烷总烃的测定 气相色谱法 HJ 38-2017	0.07mg/m ³
	氯化氢	固定污染源废气 氯化氢的测定 硝酸银容量法 HJ 548-2016	2mg/m ³
	甲醇	固定污染源排气中甲醇的测定 气相色谱法 HJ/T 33-1999	2mg/m ³
	臭气浓度	环境空气和废气 臭气的测定 三点比较式臭袋法 HJ1262-2022	——
无组织废气	非甲烷总烃	环境空气 总烃、甲烷和非甲烷总烃的测定 直接进样-气相色谱法 HJ 604-2017	0.07mg/m ³
	氯化氢	环境空气和废气 氯化氢的测定 离子色谱法 HJ 549-2016	0.02mg/m ³
	甲醇	甲醇的测定 气相色谱法 《空气和废气监测分析方法》（第四版） 国家环境保护总局（2003 年）	0.1mg/m ³
	臭气浓度	环境空气和废气 臭气的测定 三点比较式臭袋法 HJ1262-2022	——
噪声	厂界环境噪声	工业企业厂界环境噪声排放标准 GB 12348-2008	——

三、主要检测设备一览表

表 3-1 主要仪器设备一览表

序号	仪器名称	仪器型号	实验室编号
1	pH/ORP/电导率/溶解氧测量仪	上海三信 SX751 型	WST/CY-239
2	大流量烟尘（气）测试仪	青岛明华 YQ3000-D	WST/CY-042
3	恒温恒流大气/颗粒物采样器	青岛明华 MH1205 型	WST/CY-061
4	全自动大气/颗粒物采样器	青岛明华 MH1200	WST/CY-021
5	全自动大气/颗粒物采样器	青岛明华 MH1200	WST/CY-022
6	全自动大气/颗粒物采样器	青岛明华 MH1200	WST/CY-023
7	全自动大气/颗粒物采样器	青岛明华 MH1200	WST/CY-024
8	多功能声级计	杭州爱华 AWA5688	WST/CY-012
9	声校准器	杭州爱华 AWA6221B	WST/CY-015
10	精密酸度计	上海仪电 PHSJ-4A	WST/SY-012
11	离子色谱仪	赛默飞 ICS-600	WST/SY-005
12	气相色谱仪	安捷伦 7820A	WST/SY-001
13	红外分光测油仪	北京博海星源 EP-600	WST/SY-007
14	恒温恒湿培养箱	上海一恒 LHS-80HC-1	WST/SY-020
15	紫外可见分光光度计	北京普析 T6 新世纪	WST/SY-006
16	万分之一天平	岛津 ATX224	WST/SY-038
17	紫外可见分光光度计	北京普析 T6 新世纪	WST/SY-037
18	生化培养箱	上海三发 SHP-160	WST/SY-019
19	紫外可见分光光度计	北京普析 T6 新世纪	WST/SY-057
20	气相色谱仪	福立 GC9790II	WST/SY-184
21	气相色谱仪	ThermoFisher TRACE1300	WST/SY-041
22	总有机碳分析仪	上海元析 TOC-5000RN	WST/SY-196

四、废水检测结果

表 4-1 废水检测结果表

(单位: mg/L, pH 无量纲)

采样日期	检测 点位	检测 频次	样品性状	pH	化学需 氧量	五日生化 需氧量	悬浮物	氨氮	总氮	总磷	动植物油类	总氯(总 余氯)
2024.08.15	实验室 污水处理 设备 进口	第一次	无色、无味、微浊	7.9 (29.2℃)	36.3	4.4	4L	1.50	4.11	0.08	0.06L	—
		第二次	无色、无味、微浊	8.0 (29.0℃)	38.4	5.0	4L	1.42	4.22	0.07	0.06L	—
		第三次	无色、无味、微浊	7.7 (29.0℃)	40.2	5.5	4L	1.58	3.94	0.06	0.06L	—
		第四次	无色、无味、微浊	7.7 (29.2℃)	39.6	5.1	4L	1.48	4.04	0.06	0.06L	—
	实验室 污水处理 设备 出口	第一次	无色、无味、微浊	7.3 (31.4℃)	16.5	2.0	4L	0.500	1.06	0.03	0.06L	0.03L
		第二次	无色、无味、微浊	7.1 (31.2℃)	17.1	2.1	4L	0.464	1.02	0.03	0.06L	0.03L
		第三次	无色、无味、微浊	7.0 (31.0℃)	15.9	2.0	4L	0.480	1.07	0.04	0.06L	0.03L
		第四次	无色、无味、微浊	7.1 (31.2℃)	16.8	2.2	4L	0.489	1.02	0.04	0.06L	0.03L
	园区 废水 总排口	第一次	黄色、无味、微浊	7.6 (30.4℃)	172	24.8	18	27.8	40.2	3.20	2.87	0.03L
		第二次	黄色、无味、微浊	7.7 (30.4℃)	140	21.0	14	27.4	39.0	3.24	2.83	0.03L
		第三次	黄色、无味、微浊	7.6 (30.2℃)	177	24.4	16	26.8	39.0	3.18	2.68	0.03L
		第四次	黄色、无味、微浊	7.6 (30.0℃)	161	26.9	16	28.0	40.8	3.31	2.82	0.03L

续表 4-1 废水检测结果表												(单位: mg/L, pH 无量纲)	
采样日期	检测 点位	检测 频次	样品性状	pH	化学需 氧量	五日生化 需氧量	悬浮物	氨氮	总氮	总磷	动植物 油类	总氮	
2024.08.16	实验室 污水处 理设备 进口	第一次	无色、无味、微浊	7.5 (29.3℃)	44.3	5.7	4L	2.18	4.26	0.06	0.06L	—	
		第二次	无色、无味、微浊	7.5 (29.8℃)	42.5	5.1	4L	2.00	3.90	0.05	0.06L	—	
		第三次	无色、无味、微浊	7.6 (30.2℃)	45.5	5.7	4L	2.06	4.30	0.05	0.06L	—	
		第四次	无色、无味、微浊	7.6 (30.3℃)	44.9	5.8	4L	2.12	4.04	0.05	0.06L	—	
	实验室 污水处 理设备 出口	第一次	无色、无味、微浊	7.1 (31.2℃)	19.5	2.4	4L	0.690	1.10	0.02	0.06L	0.03L	
		第二次	无色、无味、微浊	7.2 (31.4℃)	18.3	2.1	4L	0.714	1.16	0.01	0.06L	0.03L	
		第三次	无色、无味、微浊	7.2 (31.7℃)	18.9	2.5	4L	0.704	1.10	0.01	0.06L	0.03L	
		第四次	无色、无味、微浊	7.2 (31.7℃)	19.2	2.4	4L	0.727	1.05	0.02	0.06L	0.03L	
	园区 废水 总排口	第一次	黄色、无味、微浊	7.4 (30.2℃)	255	37.5	21	27.6	43.8	4.72	2.13	0.03L	
		第二次	黄色、无味、微浊	7.4 (30.2℃)	248	35.1	23	27.9	42.5	4.64	2.10	0.03L	
		第三次	黄色、无味、微浊	7.5 (30.7℃)	250	37.3	22	27.1	41.0	4.92	2.06	0.03L	
		第四次	黄色、无味、微浊	7.6 (30.8℃)	240	33.4	18	28.3	43.5	4.86	2.04	0.03L	

续表 4-1 废水检测结果表 （单位：mg/L，粪大肠菌群：MPN/L）

采样日期	检测点位	检测频次	粪大肠菌群	总有机碳
2024.08.15	实验室污水处理设备出口	第一次	20L	12.7
		第二次	20L	12.4
		第三次	20L	13.3
		第四次	20L	12.7
2024.08.16	实验室污水处理设备出口	第一次	20L	16.0
		第二次	20L	16.1
		第三次	20L	15.6
		第四次	20L	16.2

续表 4-1 废水检测结果表 （单位：倍）

采样日期	检测点位	检测 频次	色度		
			pH	颜色特征	检测结果
2024.08.15	实验室污水处理设备 进口	第一次	7.8	白、浅色、浑浊	2L
		第二次	7.8	白、浅色、浑浊	2L
		第三次	7.7	白、浅色、浑浊	2L
		第四次	7.6	白、浅色、浑浊	2L
	实验室污水处理设备 出口	第一次	7.2	白、浅色、浑浊	2L
		第二次	7.0	白、浅色、浑浊	2L
		第三次	7.0	白、浅色、浑浊	2L
		第四次	7.1	白、浅色、浑浊	2L
	厂区废水 总排口	第一次	7.5	黄、浅色、浑浊	40
		第二次	7.7	黄、浅色、浑浊	20
		第三次	7.6	黄、浅色、浑浊	40
		第四次	7.5	黄、浅色、浑浊	30
2024.08.16	实验室污水处理设备 进口	第一次	7.4	白、浅色、浑浊	2L
		第二次	7.5	白、浅色、浑浊	2L
		第三次	7.5	白、浅色、浑浊	2L
		第四次	7.6	白、浅色、浑浊	2L
	实验室污水处理设备 出口	第一次	7.2	白、浅色、浑浊	2L
		第二次	7.1	白、浅色、浑浊	2L
		第三次	7.1	白、浅色、浑浊	2L
		第四次	7.2	白、浅色、浑浊	2L
	厂区废水 总排口	第一次	7.3	黄、浅色、浑浊	40
		第二次	7.5	黄、浅色、浑浊	30
		第三次	7.4	黄、浅色、浑浊	40
		第四次	7.5	黄、浅色、浑浊	40
备注：“L”表示低于检出限。					

五、有组织废气检测结果

表 5-1 有组织废气检测结果表

采样日期	检测点位	检测项目	检测频次	标干流量 (Nm ³ /h)	实测浓度 (mg/m ³)	排放速率 (kg/h)
2024.03.21	碱洗+干燥+ 二级活性炭吸 附装置出口	非甲烷总烃	第一次	1281	3.23	0.004
			第二次	1349	3.25	0.004
			第三次	1172	2.98	0.003
		氯化氢	第一次	1281	<2	<0.003
			第二次	1349	<2	<0.003
			第三次	1172	<2	<0.002
		甲醇	第一次	1281	6	0.008
			第二次	1349	<2	<0.003
			第三次	1172	<2	<0.002
		臭气浓度	第一次	1281	269 (无量纲)	/
			第二次	1349	112 (无量纲)	/
			第三次	1172	269 (无量纲)	/

备注：（1）排气筒管径 0.3m；排气筒高度 25m，由企业提供；
（2）检测点位示意图如下：

集气装置

净化装置

排气筒

测点

续表 5-1 有组织废气检测结果表

采样日期	检测点位	检测项目	检测频次	标干流量 (Nm³/h)	实测浓度 (mg/m³)	排放速率 (kg/h)
2024.03.22	碱洗+干燥+ 二级活性炭吸 附装置出口	非甲烷总烃	第一次	1414	1.94	0.003
			第二次	1296	2.20	0.003
			第三次	1255	2.17	0.003
		氯化氢	第一次	1414	<2	<0.003
			第二次	1296	<2	<0.003
			第三次	1255	<2	<0.003
		甲醇	第一次	1414	<2	<0.003
			第二次	1296	<2	<0.003
			第三次	1255	2	0.003
		臭气浓度	第一次	1414	151 (无量纲)	/
			第二次	1296	269 (无量纲)	/
			第三次	1255	269 (无量纲)	/

备注：（1）排气筒管径 0.3m；排气筒高度 25m，由企业提供；
（2）检测点位示意图如下：

集气装置

净化装置

排气筒

测点

六、无组织废气检测结果

表 6-1 检测期间气象条件

采样日期	天气状况	气温 (°C)	气压 (hPa)	风速 (m/s)	风向
2024.03.21	晴	22.3~25.2	1002.7~1005.6	2.3~2.5	南
2024.03.22	晴	21.2~25.7	1002.2~1006.3	2.2~2.4	南

表 6-2 无组织废气非甲烷总烃检测结果表 (单位: mg/m³)

采样日期	检测点位	检测频次		
		第一次	第二次	第三次
2024.03.21	G1 上风向南厂界	0.75	0.62	0.63
	G2 下风向西北厂界	0.92	0.93	0.85
	G3 下风向北厂界	1.37	1.36	1.20
	G4 下风向东北厂界	0.92	0.92	0.96
	G5 厂房门口处	1.64	1.47	1.58
2024.03.22	G1 上风向南厂界	0.80	0.60	0.67
	G2 下风向西北厂界	1.08	1.11	0.98
	G3 下风向北厂界	1.20	1.24	1.22
	G4 下风向东北厂界	1.06	1.03	0.69
	G5 厂房门口处	1.62	1.55	1.55

表 6-3 无组织废气氯化氢检测结果表 (单位: mg/m³)

采样日期	检测点位	检测频次		
		第一次	第二次	第三次
2024.03.21	G1 上风向南厂界	0.079	0.078	0.077
	G2 下风向西北厂界	0.087	0.086	0.092
	G3 下风向北厂界	0.077	0.084	0.089
	G4 下风向东北厂界	0.080	0.081	0.087
2024.03.22	G1 上风向南厂界	0.080	0.079	0.072
	G2 下风向西北厂界	0.090	0.092	0.077
	G3 下风向北厂界	0.077	0.078	0.090
	G4 下风向东北厂界	0.086	0.078	0.078

表 6-4 无组织废气甲醇检测结果表 (单位: mg/m³)

采样日期	检测点位	检测频次		
		第一次	第二次	第三次
2024.03.21	G1 上风向南厂界	<0.1	<0.1	<0.1
	G2 下风向西北厂界	<0.1	<0.1	<0.1
	G3 下风向北厂界	<0.1	<0.1	<0.1
	G4 下风向东北厂界	<0.1	<0.1	<0.1
2024.03.22	G1 上风向南厂界	<0.1	<0.1	<0.1
	G2 下风向西北厂界	<0.1	<0.1	<0.1
	G3 下风向北厂界	<0.1	<0.1	<0.1
	G4 下风向东北厂界	<0.1	<0.1	<0.1

表 6-5 无组织废气臭气浓度检测结果表 (单位: 无量纲)

采样日期	检测点位	检测频次		
		第一次	第二次	第三次
2024.03.21	G1 上风向南厂界	<10	<10	<10
	G2 下风向西北厂界	<10	<10	<10
	G3 下风向北厂界	<10	<10	<10
	G4 下风向东北厂界	<10	<10	<10
2024.03.22	G1 上风向南厂界	<10	<10	<10
	G2 下风向西北厂界	<10	<10	<10
	G3 下风向北厂界	<10	<10	<10
	G4 下风向东北厂界	<10	<10	<10

七、噪声检测结果

表 7-1 噪声检测结果表

(单位: dB (A))

点位 编号	检测点位	2024.03.21		2024.03.22	
		昼间 Leq	夜间 Leq	昼间 Leq	夜间 Leq
N1	项目区东厂界	52	50	53	46
N2	项目区南厂界	61	54	52	50
N3	项目区西厂界	52	50	53	46
N4	项目区北厂界	56	46	56	41

八、检测布点图



图 8-1 检测点位示意图

*** 报告结束 ***

报告编制人: 张亚立 审核人: 程怀均 签发人: 张亚立 日期: 2024.9.12