

5. STERILEZÉS

A mikrobák tenyésztésénél általában arra törekszünk, hogy a be-rendezésben kizárólag a kiválasztott mikrotörzs szaporodjon. A környezet, azaz a fermentor, a tápoldat, minden anyag viszont sokféle mikrobával szennyezett – ezeket a folyamat megkezdése előtt el kell pusztítani – ez a sterilizálás.

Fogalmak:

Sterilizálás: adott rendszerben lévő összes mikroba elpusztítása

Aszeptikus állapot: a mikrobák távoltartása a rendszertől (csíramentes állapot fenntartása)

→ aszeptikus működés = steril működés

Elszigetelés/izolálás: a mikrobáink távol tartása a környezettől



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

1

STERILIZÁLÁS

A mikroorganizmusokat többféle módszerrel is elpusztíthatjuk, használhatunk fizikai módszereket, illetve kémiai anyagokat.



2

STERILIZÁCIÓ

Fizikai módszerek a hőkezelés, a szűrés, nagy energiájú besugárzás (UV, γ). Ipari méretekben a hőkezelés a legkönnyebben kivitelezhető eljárás, ezért az ipari gyakorlatban a sterilizációra általában gőzfűtést használnak.

Miért pusztulnak el a mikroorganizmusok magas hőmérsékleten?

- Fehérjéik denaturálódnak
- Membránszerkezeteik megolvadnak, elfolynak, felbomlanak

Emlékeztető: a mikrobák növekedése az optimális hőmérséklet felett lelassul, majd megáll, azután pusztulásba fordul.



Sterilizáció hővel:

Száraz hő: a tárgyakat szárazon, levegőben hőkezeljük (150-160 fokon, ~2 órán keresztül)

Nedves hő: az anyagokat (víz)gőztérben hőkezeljük (120-122 fokon 20-30 percig). (Táp)oldatokat is lehet, túlnyomás alatt. Ehhez a hőmérséklethez ~1,2 bar túlnyomás tartozik (autokláv, kukta).

Pasztőrözés: maximum 100 °C-os hőkezelés, amely csak a mikrobák vegetatív alakjait pusztítja el, a spórákat nem (tej, sör pastőrözése).



A hőpusztulási sebesség

Állandó hőmérsékleten a hőpusztulás kinetikája elsőrendű:

$$\frac{dN}{dt} = -kN$$

N: élő csíraszám [db/térfogat]

k: hőpusztulási sebességi állandó [1/min]

A k értéke függ:

- a hőmérséklettől (magasabb hőfokon nagyobb)
- a mikroba fajtájától (a termofilek ellenállóbbak)
- a vegetatív sejtek érzékenyebbek, mint a baktériumspórák
- a közegtől



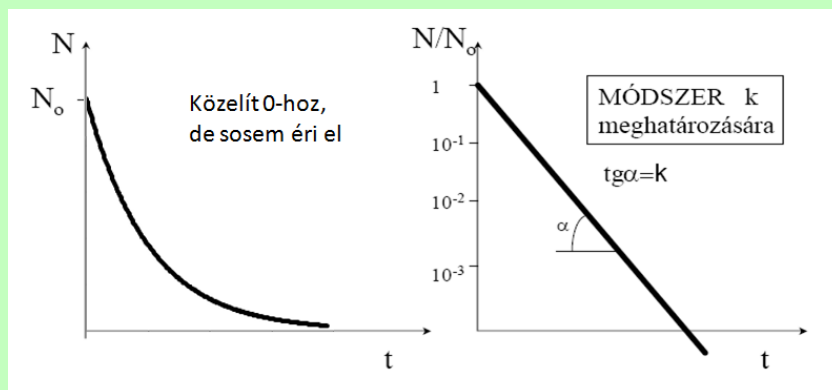
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

5

A hőpusztulási sebesség

Állandó k esetén (állandó hőmérsékleten) az egyenlet integrálható, melynek megoldása:

$$\ln \frac{N}{N_0} = -k \cdot t \quad N = N_0 e^{-kt}$$



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

A hőpusztulási sebesség

A hőpusztulási sebességi állandó függ a hőmérséklettől:
Arrhénus egyenlet:

$$k = A \cdot e^{-\frac{E_a}{RT}}$$

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T}$$

A: empirikus állandó

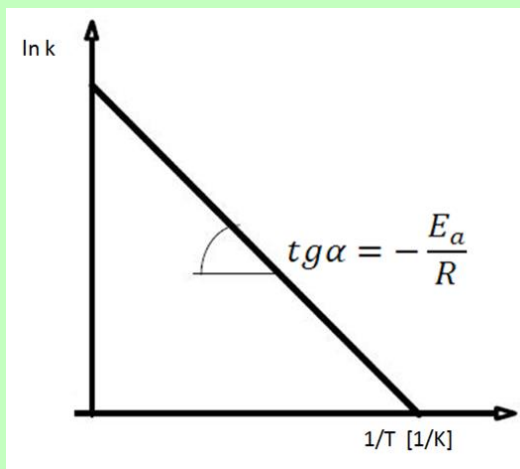
E_a : a hőpusztulás látszólagos aktiválási energiája [KJ/mol]

T: abszolút hőmérséklet [K]



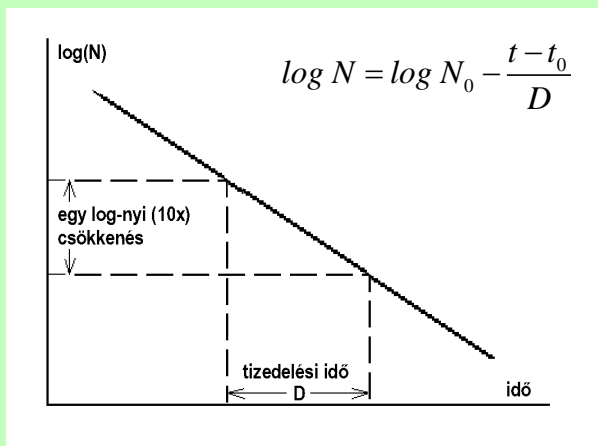
A hőpusztulási sebesség

Az egyenlet féllogaritmusos ábrázolásban egyenest ad. Néhány pont meghatározásával az egyenes felvehető, és ennek alapján bármely hőmérsékletre kiszámítható a k értéke.



A hőpusztulási sebesség

Másik megközelítés: a tizedelési idő. Tíz-es alapú logaritmus skálán ábrázolva a pusztulást értelmezhető a 90%-os csíraszám-



csökkenéshez tartozó idő, avagy tizedelési idő. A kívánt mértékű elérés nagyságrendjével (tíz-hatványával) szorozva kapható meg a szükséges sterilizációs idő.

$$k = \frac{2,303}{D}$$



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

9

A hőpusztulási sebesség

A k értéke függ a mikroba fajtájától és állapotától is.

A legellenállóbbak a baktériumspórák.

Az N_0 megállapításánál a jelen lévő sokféle mikroba sejtjeit számolják meg együttesen (összcsíraszám). A méretezésnél nem veszik figyelembe az eltérő hőtűrést, hanem mindegyiket nagyon ellenálló spóranak tekintik, mint pl.:

Bacillus stearothermophilus



Clostridium botulinum



a k és D értékek ezekre ismertek



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

10

A hőpusztulási sebesség

A sejteket körülvevő közeg is befolyásolja a hőpusztulást:

- Már enyhén savas közegben is gyorsabban pusztulnak, mint semleges pH-n. (a savanyúságok – ecetsavas, tejsavas közeg – tartósak, nem romlanak meg)
- Tömény a cukoroldatokban (pl. melasz) lassabban pusztulnak a mikrobák, mint felhígított formában.



A hőpusztulás valószínűségi értelmezése

Az exponenciális kifejezésből kitűnik, hogy a végső csíraszám sohasem éri el a nullát. Teljes sterilításhoz végtelen hőkezelési idő kellene. Ezért a sterilizést valószínűségi változóként kezelik:

P_0 a valószínűsége annak, hogy a sterilizálás az adott tételnél sikerül

$1-P_0$ a valószínűsége annak, hogy a sterilizálás az adott tételnél nem sikerül, a tétel fertőzött marad.



A hőpusztulás valószínűségi értelmezése

A teljes sterilitáshoz végtelen hőkezelési idő kellene. Ezért egy végesen kicsi értéket választanak célértéknek. PI. a biotechnológiai iparban a sterilizálás kritériuma:

$$1 - P_0(t) = 10^{-2} - 10^{-4}$$

PI.: $1 - P_0(t) = 10^{-3}$ akkor $1 - 10^{-3} = 0,999 \rightarrow$ ezer sterilizálásból egy nem sikerül, azaz marad túlélő sejt a rendszerben.

A sterilizálás kritériuma egyszersmind a végső csíraszámot (N) adja meg, mértékegysége: túlélő csíra/zárt egység. (Mindegy, hogy mekkora: ampulla \leftrightarrow konzerv \leftrightarrow fermentor)



A hőkezelési idő:

$$t = \frac{1}{k} \ln \frac{N_0}{N}$$

A hőkezelés idejét célszerű minél rövidebbre választani:

- a kezelt rendszerben lévő biológiailag értékes anyagok (vitaminok, fehérjék) kevésbé bomlanak el,
- energetikailag is kedvezőbb.

Az összefüggésből látható, hogy a hőkezelési idő nem csak a k értékétől függ, hanem az N_0 értékével is befolyásolható. Az anyagok mikrobiológiai szennyezettsége csökkenthető az általános higiénia javításával, illetve hűtéssel.

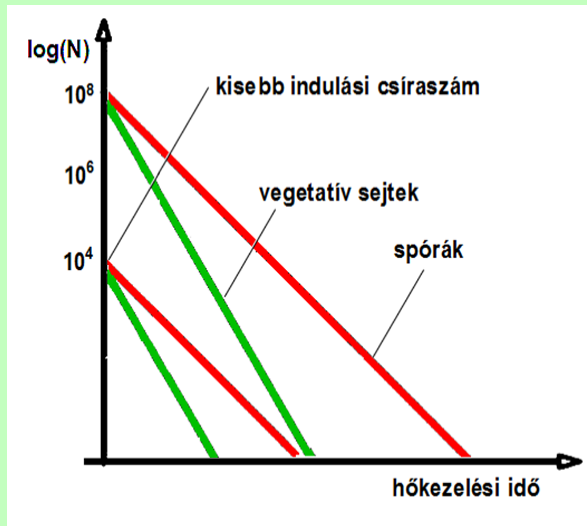


A hőpusztulási sebesség

A mikrotípus és a kiindulási csíraszám hatása:

Azonos fertőzöttség mellett a spórák elpusztításához hosszabb idejű hőkezelés szükséges.

Kisebb csíraszám lerövidíti a sterilizációs időt.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

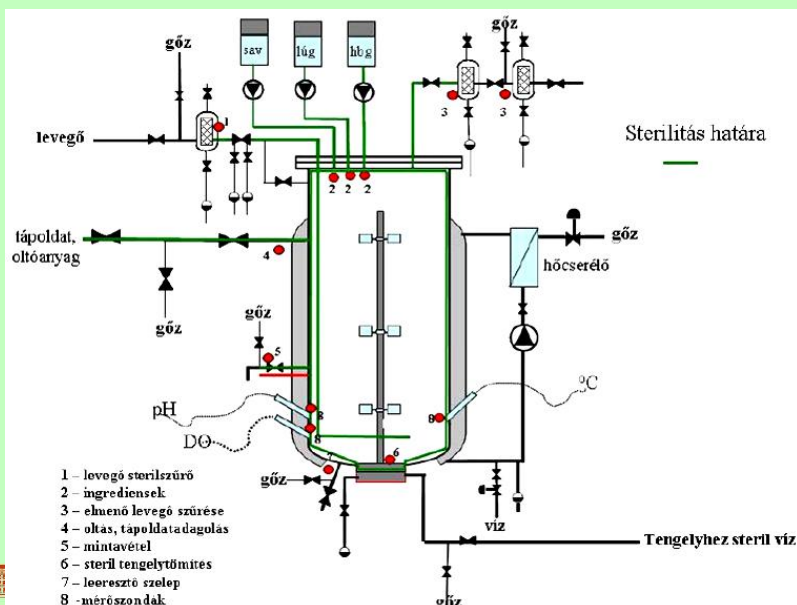
15

Hagyományos élelmiszeripari autokláv



16

Ipari fermentor steril zárású szerelvényei



17

Konzervkészítmények sterilizálása

Az élelmiszerek, konzervek hőkezeléses tartósításának alapvető technológiai művelete abban áll, hogy a tartósítani kívánt élelmiszert légmentesen fémdobozba, vagy üvegbe zárva, olyan hőmérsékleten és annyi ideig hőkezeljük, amíg az élelmiszerben levő mikroorganizmusok el nem pusztulnak. A túlzott hőhatás az élelmiszer eredeti sajátságait (állomány, élvezeti érték, íz, stb.) is megváltoztatja, ezért a hőkezelési időt a biztonságos minimumra kell csökkenteni.

A hőközlés során a konzerveket kívülről valamilyen hőátadó közeggel melegítjük. A felfűtés sohasem pillanatszerű, hanem a hőátadás mechanizmusától függő késéssel megy végbe. A melegítés sebessége függ a töltet halmazállapotától, hővezetőképességétől, valamint a termék alakjától és méretétől.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

18

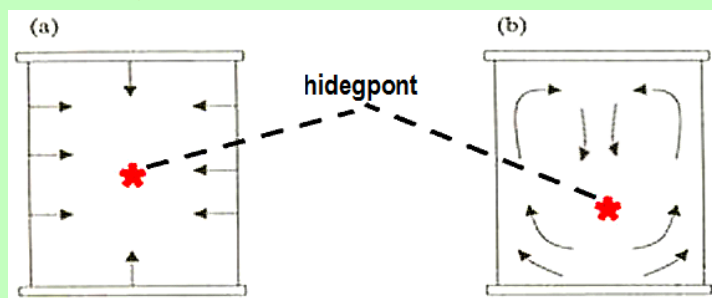
Hidegpont

A termék kívülről befelé fokozatosan melegszik át, a közepén található a hidegpont, ahol a legalacsonyabb a hőmérséklet. Itt a legnagyobb a hőfokkésés, felmelegítésnél ezt melegszik fel utoljára, lehűtésnél viszont ez hűl le legvégül. A sterilizést úgy kell méretezni, hogy a hidegpontban is megfelelő legyen a hőkezelés, ott is elpusztuljanak a mikroorganizmusok. A hidegpont helye a hőtranszporttól függ. A hő behatolása (= hőpenetráció) kétféle módon történhet: szilárd vagy pépes készítményeknél túlnyomórészt hővezetéssel, míg a folyadékokban a konvekció (áramlásos) hőtranszport a jellemző.



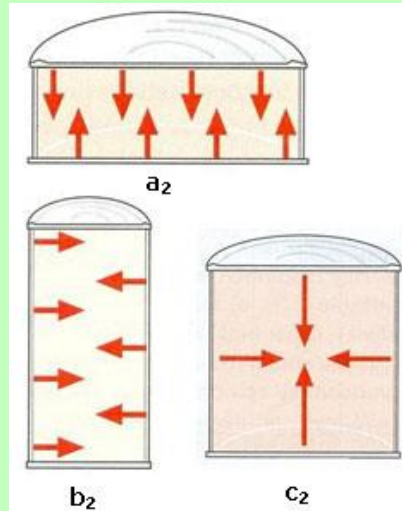
Hidegpont

- Hővezetésnél minden irányból egyformán terjed a hő, így utoljára a geometriai középpont melegszik fel.
- Konvekciónál a függőleges falak mentén felmenő áramlások alakulnak ki, ezek a tengelyben lefelé irányuló áramlást okoznak, ami a hidegpontot lefelé tolja.



A termék alakjának hatása

A hőpenetráció szempontjából a termék legkisebb mérete, „vékonysága” számít, ez határozza meg a hőterjedés úthosszát.

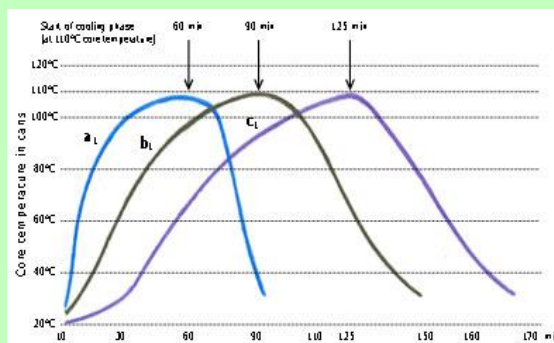


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

21

A termék méretének hatása

A hőkezelési görbéken is jól látható, hogy minél nagyobb méretű a termék, annál tovább tart a hő behatolása a hidegpontig.



BME Alkalmazott B



Nyomásviszonyok, hatónyomás

A zárt csomagolású terméken belül és kívül kialakuló hőmérsékletkülönbség miatt nyomáskülönbség is létrejön. Ez a hatónyomás. A belső nyomás mindig nagyobb, mint a külső, mert a dobozban maradt bezárt levegő nyomása hozzáadódik a belső gőznyomáshoz. Ez feszíti a csomagolást, néha a doboz, vagy üveg szétrobbanását, deformálódását (bombásodás) esetleg zárásfelszakadást eredményezhet.

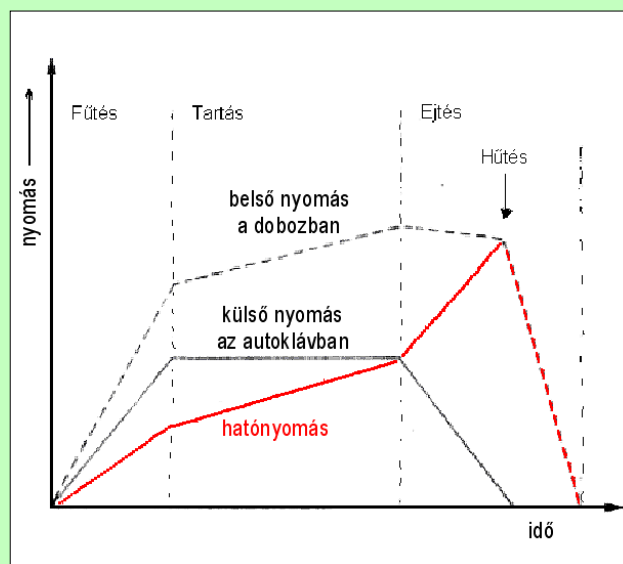
A maximális értékét a lehűtési szakaszban éri el, amikor a külső nyomás már nulla, a belső forró anyag gőznyomása viszont még nagy.



Nyomásviszonyok, hatónyomás

A hatónyomás csökkenthető, ha:

- a konzerveket forrón, vagy vákuumban zárják le
- a hűtési szakaszban sűrített levegővel pótolják a külső gőznyomást.



Tápanyagok sterilizálása

Ebben az esetben nem kis egységeket, hanem nagy mennyiségű (1 – 100 m³) homogén folyadékot kell sterilizálni. A hőkezelés menete hasonló, szakaszai a: - felfűtés, - hőntartás, - lehűtés.

Ezek megvalósítása kétféleképpen történhet:

- szakaszos sterilizációval: a tápanyagot a fermentorba töltik, és a fermentor belső terét, a szerelvényeit és a táptalajt egyszerre sterilizálják.
- folytonos sterilizáló berendezésben: a tápanyagot külön sterilizáló rendszerben, nagy hőmérsékleten, rövid ideig hőkezelik, és a gőzzel előzetesen üresen sterilizált fermentorba vezetik.

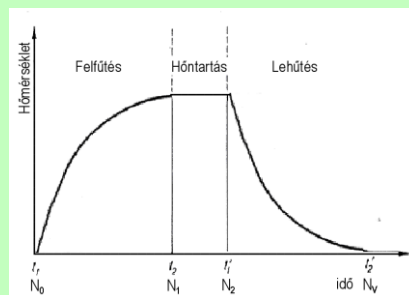


Szakaszos sterilizálás

A szakaszos sterilizálás méretezésénél külön kell választani a három szakaszt. Az egyes szakaszok végpontjához rendeljük hozzá a maradék csíraszámokat (N_0 , N_1 , N_2 , $N_{végső}$).

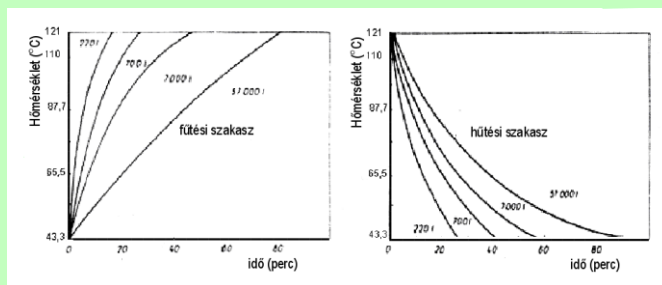
$$\ln \frac{N_0}{N_v} = \ln \frac{N_0}{N_1} + \ln \frac{N_1}{N_2} + \ln \frac{N_2}{N_v}$$

A három szakaszban együttesen kell eljutni a mért kiindulási csíraszámától a tervezett végső csíraszámig (általában 10⁻³ élő csíra/fermentor)



Folytonos sterilizálás

Nagy méretű fermentoroknál, ahol nagy tömegű tápoldatot kell sterilizálni, nagyon megnő a felfűtés, és különösen a lehűtés időtartama. Az értékes üzemórák megtakarítása érdekében ezeknél külön sterilizálják az üres készüléket és tápoldatot. A folyadék sterilizálása átfolyó rendszerben, folyamatosan történik. A folyamat három szakasza nem időben, hanem térben követi egymást.

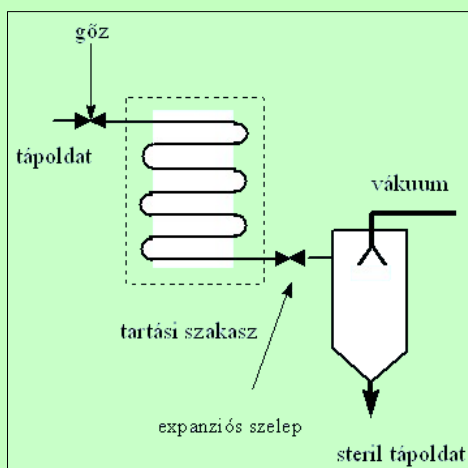


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

27

Gőzinjektoros megoldás

A csővezetékben áramló folyadék felmelegítését direkt gőz bevezetésével oldják meg. A lekondenzáló gőz pillanatszerűen felviszi a hőmérsékletet 130-140 fokra, a nyomás ~4 barra emelkedik. A hőntartást a hőszigetelt csőhálózatban eltöltött 1-2 perces idő jelenti. A lehűtés expanziós szelepen való átlépéssel jön létre: a nyomás alóli a folyadék vákuumtérbe lép át, felforr, és egy része elpárolog. Az elvont párolgáshő leviszi a hőfokot ~80 fokra.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

28

A folytonos sterilizálás méretezése

A felfűtési és lehűtési szakasz sejtpusztító hatása a rövid idő miatt elhanyagolható, így állandó hőfokú sterilizálással számolhatunk. A magas hőmérséklet miatt igen rövid hőntartási idő elegendő.

