

5. STERILIZÁLÁS

A mikrobák tenyésztésénél általában arra törekszünk, hogy a be-rendezésben kizárólag a kiválasztott mikrobafaj 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
 Aseptikus állapot: a mikrobák távoltartása a rendszertől (csíramentes állapot fenntartása)

→ aseptikus 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

STERILIZÁLÁS

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

Sterilizés 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).

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



A hőpusztulási sebesség

Állandó hőmérsékleten a hőpusztulás kinetikája elsőrendű:

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

N: élő csiraszám [db/térfogat]

k: hőpusztulási sebességi állandó [1/min]

A k értéke függ:

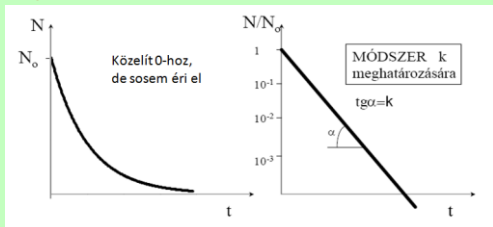
- > a hőmérséklettől (magasabb hőfokon nagyobb)
- > a mikroba fajtájától (a termofilek ellenállóbbak)
- > a vegetatív sejtek érzékenyebbek, mint a baktériumspórák
- > a közegtől



A hőpusztulási sebesség

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

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



A hőpusztulási sebesség

A hőpusztulási sebességi állandó függ a hőmérséklettől:
Arrhénius egyenlet:

$$k = A \cdot e^{-\frac{E_a}{RT}} \quad \ln k = \ln A - \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T}$$

A: empirikus állandó
E_a: a hőpusztulás látszólagos aktiválási energiája [KJ/mol]
T: abszolút hőmérséklet [K]

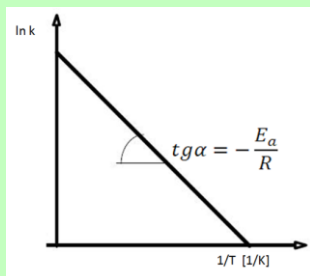


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

7

A hőpusztulási sebesség

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

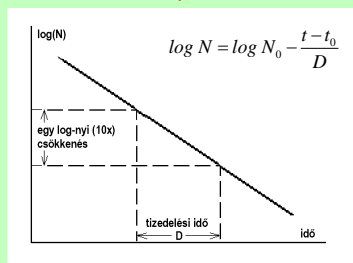


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

8

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 elölés 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 hőűrést, hanem mindegyiket nagyon ellenálló spóráknak 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 mikroba, mint felhígított formában.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

11

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 sterilizálást 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.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

12

A hőpusztulás valószínűségi értelmezése

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

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

Pl.: $1 - P_0(t) = 10^{-3}$ 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)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

13

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.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

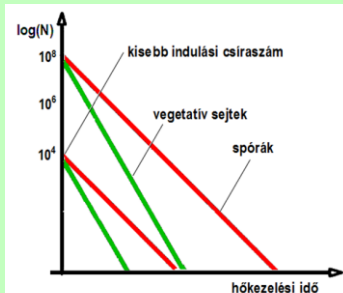
14

A hőpusztulási sebesség

A mikrobátípus és a kiindulási csíraszám hatása:

Azonos fertőzöttség mellett a spórák elpusztításához hosszabb idejű hőkezelés szükséges.

Kisebbségi csíraszám lerövidíti a sterilizációs időt.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

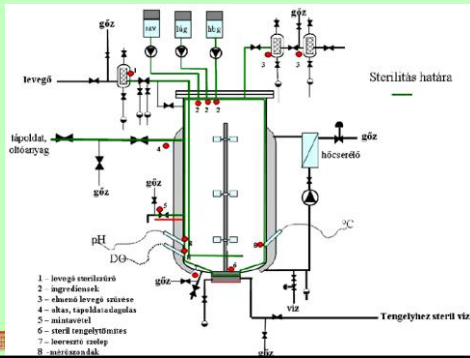
15

Hagyományos élelmiszeripari autokláv



16

Ipari fermentor steril zárású szerelvényei



17

Konzervkészítmények sterilizációja

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 sajátosságait (állomány, élvezeti érték, íz, stb.) is megváltoztatja, ezért a hőkezelési időt a biztonságos minimumra kell csökkenteni.

A hőközlés során a konzerveket kívülről valamilyen hűtőközzel melegítjük. A felfűtés sohasem pillanatszerű, hanem a hűtőköz 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 sterilizációt 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) két-féle módon történhet: szilárd vagy pépes készítményeknél túlnyomórészt hővezetéssel, míg a folyadékokban a konvekció (áramlásos) hőtranszport a jellemző.

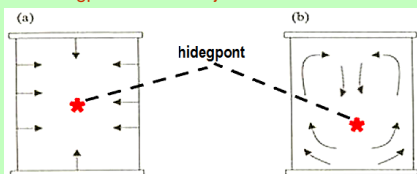


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

19

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.

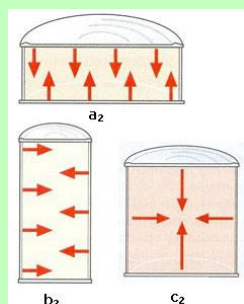


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

20

A termék alakjának hatása

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

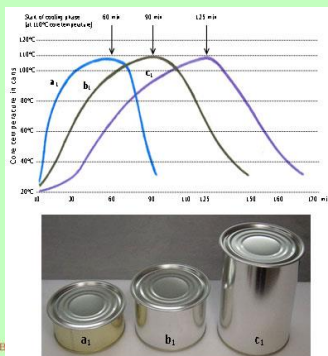


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

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.



Nyomásviszonyok, hatónyomás

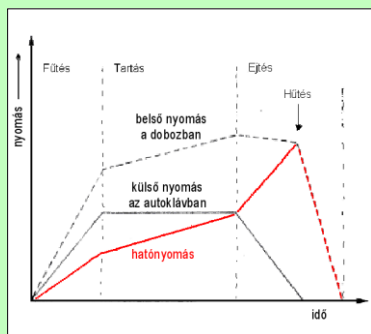
A zárt csomagolású terméken belül és kívül kialakuló hőmérsékletkülönbség miatt nyomáskülönbség is létrejön. Ez a hatónyomás. A belső nyomás mindig nagyobb, mint a külső, mert a dobozban maradt bezárt levegő nyomása hozzáadódik a belső gőznyomáshoz. Ez feszíti a csomagolást, néha a doboz, vagy üveg szétrobbanását,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



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

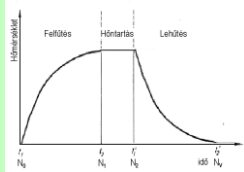


Szakaszos sterilizálás

A szakaszos sterilizálás méretezésénél külön kell választani a három szakaszt. Az egyes szakaszok végpontjához rendeljük hozzá a maradék csíraszámokat (N₀, N₁, N₂, N_{vég}).

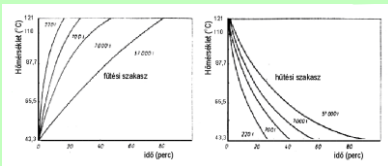
$$\ln \frac{N_0}{N_v} = \ln \frac{N_0}{N_1} + \ln \frac{N_1}{N_2} + \ln \frac{N_2}{N_v}$$

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



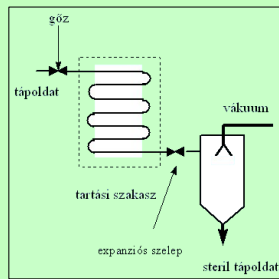
Folytonos sterilizálás

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



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 hőtartást a hőszigetelt csőigényben eltöltött 1-2 perces idő jelenti. A lehűtés expanziós szelepen való átlépéssel jön létre: a nyomás alól a folyadék vákuumtérbe lép át, felforr, és egy része elpárolog. Az elvont párolgáshő leviszi a hőfokot ~80 fokra.

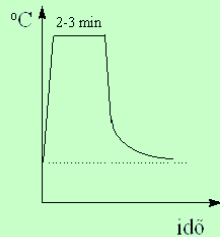


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

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 hőtartási idő elegendő.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

29
