

## II. Biomérnöki m veletek

### 1. Bevezetés

A vegyipari m veletek áttekintése után foglalkozunk a biomérnöki m veletekkel. A biológiai vagy biotechnológiai iparban az eddig tárgyalt m veleteken túl speciális, az él anyag jellegzetességeinek megfelelő m veleteket alkalmaznak, ezek rövid áttekintését adja ez a tanulmányrész.

Mi is egyáltalán ez a biotechnológiai ipar? Kezdjük a biotechnológiával. A tudományos definíció szerint a biotechnológia a természettudományok és a m szaki tudományok integrálását jelenti, annak érdekében, hogy organizmusokat, sejteket, vagy azok részeit, illetve molekula analógjait alkalmazzuk a termelésben vagy szolgáltatásban.

Mit jelent az, hogy organizmusokat, sejteket, vagy azok részeit használja?

Ez az iparág jellemzően mikroorganizmusokat, vagy állati és növényi szervezetek elkülönített sejtjeit szaporítja el, és ezek anyagcseréjét használja fel a kívánt folyamatok végrehajtására. A sejtek részei alatt legtöbbször enzimeket, a sejtekben képződő fehérjéket értünk, amelyek a sejtek nélkül is képesek kémiai átalakítások végrehajtására.

Mik ezek a termékek? Hol találkozunk velük a mindennapi életben?

- a konyhában: élelmiszerek (kenyér, tejtermékek, savanyúság, szeszes italok, ételízesítők)
- a fürdőszobában (mosóporok, lefolyótisztító)
- a gyógyszeres fiókban (antibiotikumok, fogamzásgátlók, inzulin).

Hogyan áll össze egy ilyen mikrobiológiai technológia? Milyen lépésekben áll?

**Törzsnemesítés.** Elsőként a megfelelő tulajdonságú sejttenyészetet kell megkeresni (a természetben), vagy létrehozni (géntechológiai úton). Ezeket törzsgyűjteményekben, génbankokban tartósítva tárolják, hogy a későbbiekben bármikor elérhessenek a meghatározott genetikai tulajdonságú tözseket.

**Inokulumkészítés.** A törzsbankból kiadott ampullányi/kémcsnyi tenyészetet több lépésben elszaporítják, létrehoznak egy oltótenyészetet, amivel a termelés fermentációt indítják.

**Táptalajkészítés.** A sejtek az esetek túlnyomó többségében folyadékban lebegve fejlődnek (szubmerz tenyészet). Ez a folyadék a tápoldat, amely minden olyan szerves és szervetlen anyagot tartalmaz, amire a tenyészetnek szüksége van az anyagcseréjéhez.

**Sterilizálás.** A biológiai folyamatok során feltétel az, hogy csak az általunk bevitt sejtek (mikroorganizmusok vagy emlős sejtek) legyenek a reaktorban, idegen törzsek ne zavarják a folyamatot. A természetes környezetben minden (a levegő, a víz, a szilárd anyagok) rengeteg mikroorganizmust hordoz, ami befertőzheti, tönkretelheti a technológiát. Ennek érdekében a beoltás előtt mind a készüléket, mind a tápoldatot (vagy a kettőt együtt) sterilizálják, azaz elpusztítják a benne lévő összes élő sejtet. A sterilitást a technológia során is meg kell őrizni, olyan zárttságot kell biztosítani, hogy a környezetből ne juthassanak be a mikrobák, sőt a reaktorból se juthassanak ki a külvilágba.

A gyártáshoz szükséges a megfelelő speciális **bioreaktorok** megtervezése, megépítése és üzemeltetése.

A reaktorokban hajtjuk végre a technológiai folyamatot, amely egyszer több esetben egy **enzimes reakció**, összetettebb esetben **fermentáció** (sejtek szaporítása, illetve termékképzése).

A sejtek légzéséhez szükséges oxigént folyamatosan biztosítani kell a tápoldatban, ennek bevitele a **levegőztetés** m velete.

A biológiai folyamat végén a lében már ott van az elvárt mennyiség termék, ezt egy műveletsorral ki kell nyerni a bonyolult összetétel fermentléb l. Ezek a feldolgozási műveletek már hasonlóak a vegyészmérnöki szakma műveleteihez, csak a biológiai anyagok speciális tulajdonságai, érzékenysége miatt tárgyaljuk külön.

A bemutatott technológiai lépéssort két szakaszra szokták osztani. Az első szakasz az indulástól a termékképzés befejezéséig tart, ekkor kerül sor a fermentáció „vágására”, azaz a levet kivezetik a fermentorból és feldolgozásra (= második szakasz) továbbítják. A két szakasz megnevezésére az angol szakirodalom kifejezéseit használjuk, mert jelentésük magyar nyelven nehezen adható vissza.

upstream processing | downstream processing

A kettő közötti határ az a pont, amikor a tenyésztésnek vége van, a megtermelt hatóanyag koncentrációja már nem nő tovább. Ekkor a kész fermentlevet feldolgozzák, a kívánt anyagot a kívánt tisztaságban kinyerik belőle. A két szakaszban más-más műveleteket alkalmaznak:

upstream processing	downstream processing
Törzsnemesítés	szűrés
Inokulumkészítés	centrifugálás
Táptalajkészítés	sejtfeltárás
Sterilezés	extrakció
Enzimreakció	adszorpció
Mikrobaszaporítás	membránszűrés
Termékképzés	csapadékképzés
Bioreaktorok	kristályosítás
Levegőtétel	kromatográfia

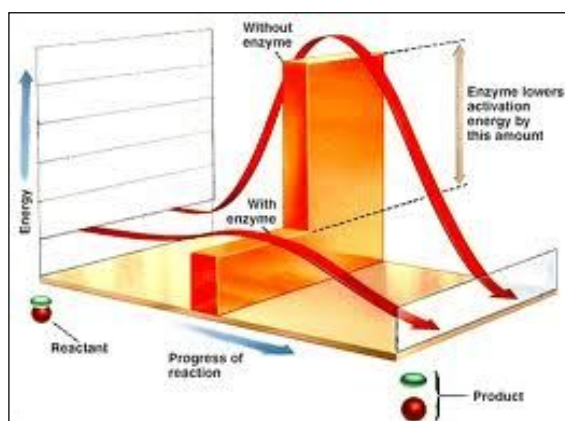
Az előadások során különböző részletességgel tárgyaljuk az egyes felsorolt műveleteket.

## 2. A biológiai rendszerek kinetikája

A kinetika a folyamatok időbeli lefolyását, azaz sebességét leíró tudomány, a fizikában a testek mozgásával foglalkozó területet hívják így. A kémiában reakciókinetikának hívják azt a rész tudományt, amely a kémiai átalakulások sebességével (az anyagok létrejöttének, illetve fogyásának sebességével) foglalkozik. A biológiai rendszerek kinetikai törvényszerűségei a kémiai reakciókinetikára támaszkodnak, de attól nagyon sok esetben eltérnek. Ebben a fejezetben az enzimkinetikát, a mikrobák növekedésének kinetikáját és a termék képződési kinetikát, valamint folytonos fermentációs rendszerek kinetikai törvényszerűségeit tárgyaljuk. Az enzimkinetika tárgyalása a tiszta enzim reakciójára korlátozódik, amely gyakran nagyon távol áll pl. az egész sejt, vagy a fermentáció kinetikájától, amely számtalan egymást követő és elágazó enzimes reakcióútból tevődik össze. Az enzimes reakciók kinetikájának ismerete hasznos a növényi és állati szöveteket és szöveteket feldolgozó iparoknál (gyógyszer, élelmiszer), a fermentációs iparoknál és a biológiai könnyű iparoknál is.

### 2.1 Az enzimes reakció kinetikája

Élő szervezetekben a reakciókat enzimek katalizálják. A katalizátorok által gyorsítják meg az adott kémiai reakciót, hogy csökkentik a folyamat megindulását akadályozó aktiválási energia nagyságát. Erre a biokatalízisre azért van szükség, mivel a legtöbb reakció az élő szervezet által biztosított körülmények között nem, vagy csak igen lassan menne végbe. (pl. a szacharóz savanyú közegben gyorsan hidrolizálódik, de a reakció pH=6-8 között - ami az élő rendszerekre jellemző érték - gyakorlatilag nem megy végbe). Az enzimes reakciók jellemzőit az alábbi pontokban foglalhatjuk össze:



- Az enzimek csak termodinamikailag lehetséges, szabadenergia csökkenéssel járó reakciókat katalizálnak.
- az átalakított molekulák számához képest elenyésző mennyiségben is hatékony (katalitikus mennyiség)
- Az enzimek a reakciók egyensúlyi állapotát nem változtatják meg, csak ennek az egyensúlyi állapotnak elérését siertetik.
- Az enzimek fehérje természetűek lehetnek, a specifikus aktív centrumok kialakulását és ebben következik a pH- és hőmérséklet érzékenység, ill. optimum is.
- Az enzim reakcióspecifikus katalizátor (csak egyféle biokémiai reakciót katalizál, pl. csak hidrolizál, vagy oxidál, vagy peptidkötést hoz létre)

#### Alapfogalmak:

**Szubsztrát (S):** a reakcióban átalakuló molekula.

**Termék (P):** a reakcióban keletkező molekula.

**Koenzim:** olyan reakciópartner molekula, amely egyes enzimes reakcióhoz nélkülözhetetlen, és ennek során maga is átalakul. Nem katalizátor, ezért helyesebb koszubsztrátnak nevezni. A reakcióhoz sztöchiometrikus mennyiségben kell jelen lennie, vagy folyamatosan regenerálni kell.

**Köt hely, aktív centrum:** az enzim felületének az a része, ahol a szubsztrát megkötődik, illetve átalakul.

**Reakciósebesség:** az időegység alatt átalakított anyag mennyisége (mértékegysége pl.:  $\mu\text{mol/perc}$ ).

A reakció általános leírása:

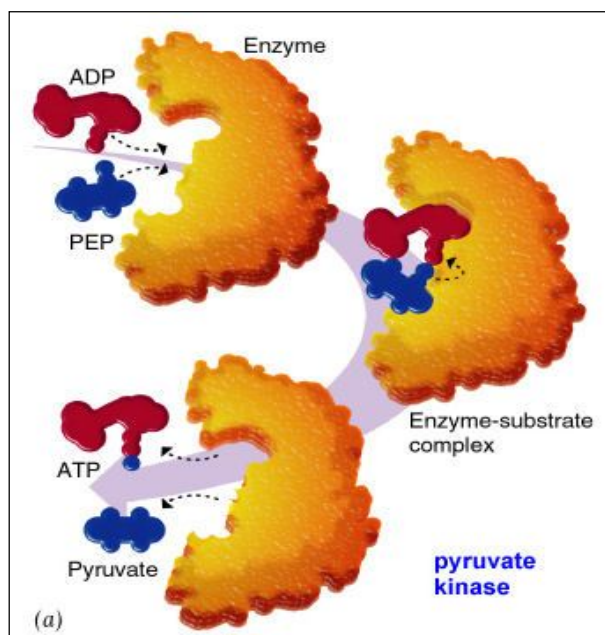


Az enzimet alkotó bonyolult fehérjemolekula aminosavsorrendje és térbeli szerkezete révén olyan molekulafelület jön létre, amely alakja és töltésmintázata miatt más molekulák (szubsztrát, koenzim) megkötésére képes (köt hely, aktív centrum).

Az itt megkötődő szubsztrát molekula átalakul, és termék formájában távozik a felületről. A megkötődés az aktív centrumon szelektív: csak egy bizonyos molekula vagy bizonyos típusú molekulák kötődnek (specifitás). A specifitás szintjei: **szubsztrátspecifitás:** az adott enzim csak egyfajta molekula megkötésére (átalakítására) képes, más hasonlókkal nem, máshogy vagy csak elenyésző mértékben lép kölcsönhatásba.

**csoportspecifitás:** az enzim a szubsztrát molekulának csak bizonyos csoportját „ismeri fel”, függetlenül a molekula többi részétől. (Pl. az észter-hidrolázok az észterkötést bontják fel, a sav és az alkohol szénláncossága kevéssé befolyásolja a reakciót.)

**sztereospecifitás:** egy adott molekula sztereoizomerjei közül csak az egyik kötődik az aktív centrumon. (Például az élő szervezetek csak a D-glükózt hasznosítják, a többi cukrot nem).



### 2.1.1. Az enzimreakció sebességét befolyásoló tényezők

Az enzimreakciókat a következő tényezők befolyásolják: pH, hőmérséklet, szubsztrát-, enzim- és a különböző inhibitor vegyületek koncentrációja. Ha az enzimreakciók kinetikáját akarjuk tárgyalni, akkor ezen tényezők hatását kell matematikailag megfogalmaznunk.

$$v = f(\text{pH}, T, E, S, I)$$

ahol :

v = reakciósebesség

T = hőmérséklet

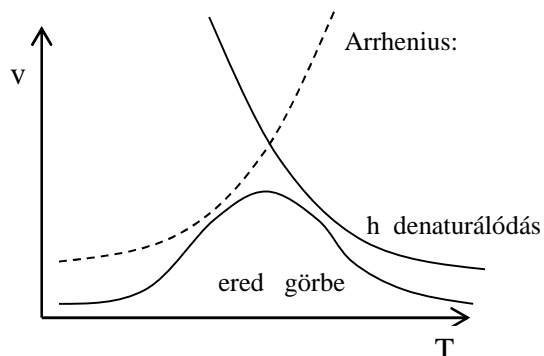
pH = kémhatás

S = szubsztrátkoncentráció

E = enzimkoncentráció

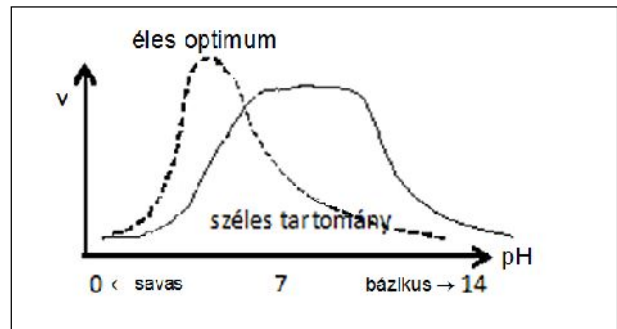
I = inhibitor (gátlóanyag) koncentrációja

**Hőmérsékletfüggés:** Mint általában a kémiai reakcióknál, úgy az enzimek által katalizált reakcióknál is a hőmérséklet növelésével - az Arrhenius összefüggésnek megfelelően - a reakció sebessége. (3. ábra). Az enzimek azonban fehérjék, amelyek nagyobb hőmérsékleten fokozatosan denaturálódnak, így az enzimes reakciókra az jellemző, hogy a hőmérséklet növelése egy tartományban a reakció-

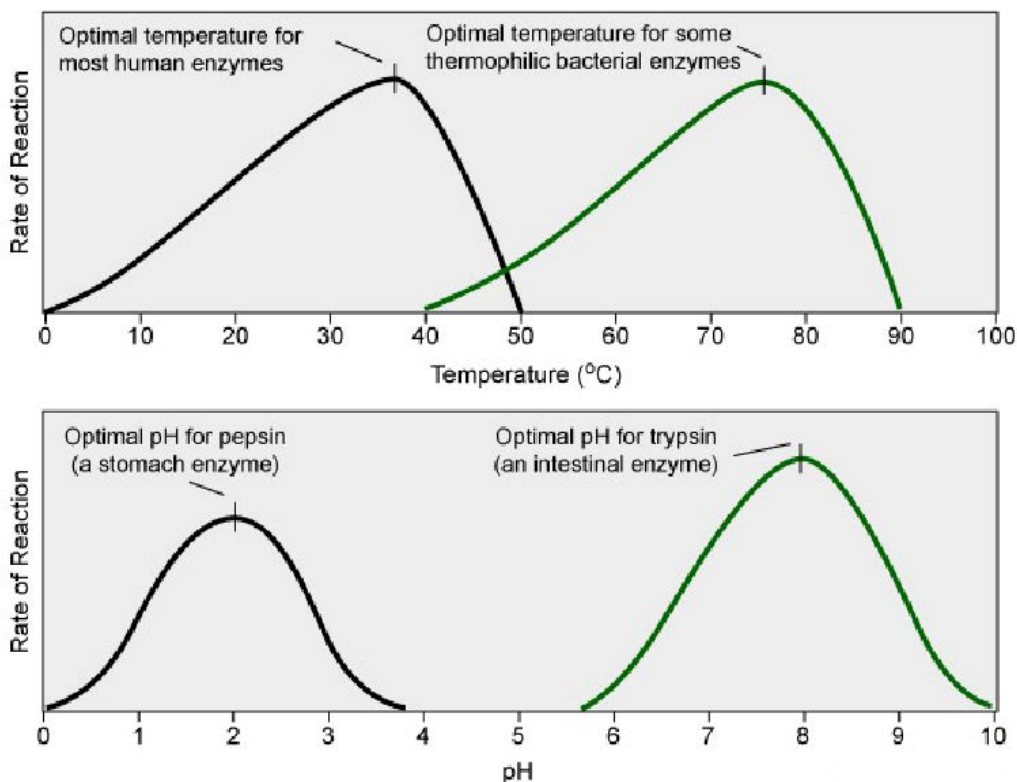


sebesség növekedését, egy ponton túl azonban annak gyors csökkenését eredményezi. Ha tehát az enzim reakció sebességét és a hőmérséklet kapcsolatát ábrázoljuk, akkor a két hatás eredőjeként egy hőmérséklet-optimumot észlelünk. Ez az optimum elsősorban az enzim természetétől, de kisebb mértékben a kísérleti körülményektől is függ (pH, ionerősség, stb).

**Kémhatás:** Az enzimek hatása jelentősen függ a közeg pH-jától. Szélsőséges pH-nál (erősen savas vagy lúgos közegben) az enzimfehérje denaturálódik, esetleg ki is csapódik, azaz nincs reakció. Ha a reakció sebességét a pH függvényében ábrázoljuk, akkor egy maximumos görbét kapunk. A görbe maximumát az illető enzim pH-optimumának nevezzük. Az egyes enzimek pH-optimuma különböző. Néha egészen éles az optimum, az enzim hatása csak egy szűk pH tartományra korlátozódik, ennél kissé savasabb vagy lúgosabb közegben az enzim inaktív. Más enzimeknél viszont széles pH-optimumot találunk, az enzim hatása kevésbé függ a pH-tól és az aktív tartomány szélesebb.

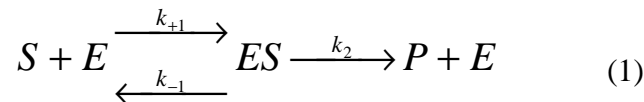


A különböző enzimek optimuma az evolúció során alkalmazkodott a működési körülményekhez:



### 2.1.1.1. A szubsztrát koncentráció hatása

Az enzimek által katalizált reakciók kinetikáját - pontosabban a szubsztrát koncentráció hatását a reakció sebességre - először Leonor Michaelis és Maud Menten értelmezte és magyarázta kielégítően, még 1913-ban. Abból indultak ki, hogy az enzim a szubsztráttal (S) egy intermediér komplexet képez. Ez az enzim-szubsztrát komplex (ES) alakul át azután a reakció végtermékévé (P), miközben az enzim (E) regenerálódik.



A reakció felírásánál feltételeztük, hogy a második lépés irreverzibilis. Feltételezzük továbbá azt, hogy a rendszerben a teljes enzimkoncentráció (mennyiség) állandó, azaz:

$$(E_t) = (E) + (ES) \quad (2)$$

ahol  $(E_t)$  = a teljes enzimkoncentráció  
 $(E)$  = a szabad állapotban levő enzim koncentrációja  
 $(ES)$  = az  $(ES)$  komplexben levő enzim koncentrációja.  
 (Ezután a zárójelbe tett jelölések minden esetben koncentrációt jelentenek.)

A fenti (1)-es sztöchiometriai egyenletben szereplő tagokra fel lehet írni négy kinetikai differenciálegyenletet, amelyekkel leírható  $P$ ,  $ES$  és  $S$  változása az időben. Az egyenletek egzakt megoldása csak számítógéppel végezhető el, így Michaelis és Menten 1913-ban csak egyszerű feltételek bevezetésével tudták megoldani. A levezetés mellőzésével a végső összefüggés:

$$v = \frac{k_2 \cdot (E_t)(S)}{K_m + (S)} \quad (3)$$

Ahol  $v$  – reakciósebesség  
 $k_2$  – reakciósebességi állandó  
 $K_m$  – Michaelis-Menten állandó,  $= k_{+1}/k_{-1}$

Vizsgáljuk meg (3) egyenletet. Tételezzük fel, hogy  $(S) \gg K_m$ . Ekkor a nevezőben  $K_m$ -et elhanyagolhatjuk és így:

$$v = k_2 \cdot (E) = V_{\max} \quad ((S) \gg K_m) \quad (4)$$

más szavakkal: nagy szubsztrátkoncentráció esetén az enzim teljes mennyisége az  $(ES)$ -komplexben található, így a reakciósebesség maximális, és a rendszer 0-rendű kinetikával jellemezhető (mivel  $v$  nem függ  $S$ -től). A  $v_{\max}$  bevezetésével a (3) egyenlet átírható

$$v = \frac{V_{\max} (S)}{K_m + (S)} \quad (5)$$

formába.

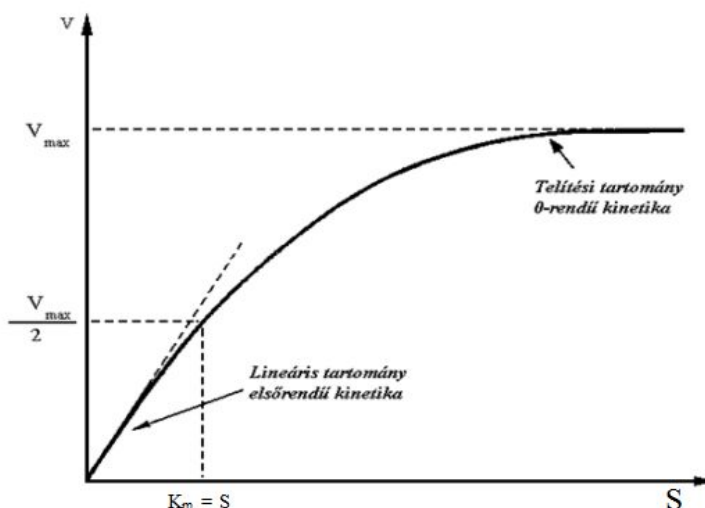
Ha  $(S) = K_m$  akkor  $v = \frac{V_{\max}}{2}$ , azaz  $K_m$  azzal a szubsztrátkoncentrációval egyenlő,

amelynél  $\frac{V_{\max}}{2}$  reakciósebességet mérhetünk. Ez egyben lehetőséget ad a  $K_m$  numerikus értékének meghatározására.

$S$  nagyon kis értékénél, amikor  $S \ll K_m$ , a nevezőben  $(S)$  elhanyagolható, és ekkor:

$$v = \frac{V_{\max}}{K_m} \cdot (S) = k' \cdot (S) \quad [(S) \ll K_m] \quad (6)$$

Ez azt jelenti, hogy kis szubsztrátkoncentrációnál a reakciósebesség egyenesen arányos a szubsztrátkoncentrációval, más szavakkal a reakció az első kinetikai törvényszerűt követi. A nagy koncentrációk tartományában, ahol  $K_m$  válik elhanyagolhatóvá az  $(S)$  értékek mellett, a reakciósebesség már alig növekszik. Azt a reakciót, amelynek sebessége nem függ a kiindulási anyag koncentrációjától, nulladrendű reakciónak nevezik. (Magyarázat: elsőrendű reakciónál a sebesség a koncentráció első hatványától függ ( $S^1 = S$ , lineáris függés), nulladrendűnél a koncentráció nulladik hatványától ( $S^0 = 1$ , nincs változás).) Az enzimes reakciók mindkettőt egyesítik a különböző koncentráció tartományokban. A Michaelis-Menten egyenlet (5), egy derékszögű hiperbola egyenlete, amelynek aszimptotája a  $v_{max}$  érték. Az elmondottakat foglalja össze a 6. ábra.



6. ábra Az enzímreakció sebességének függése a szubsztrát koncentrációtól

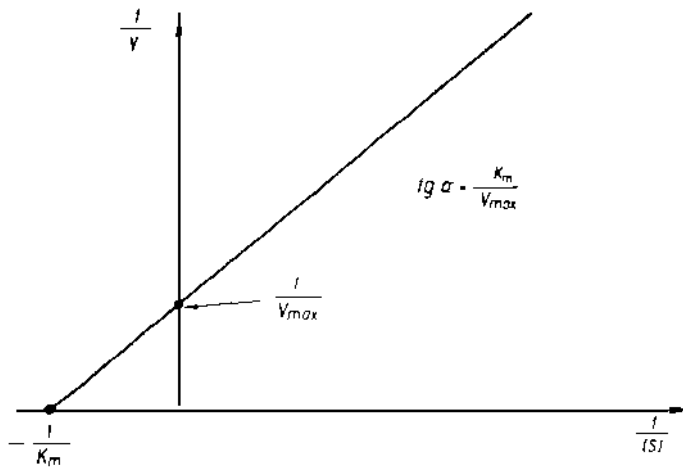
A kísérleti adatok illesztése a görbéhez kissé körülményes. A görbe aszimptotájának ( $V_{max}$ ) meghatározása grafikusán nehéz és pontatlan, így  $\frac{V_{max}}{2}$ -b 1 szerkesztett  $K_m$  értéke is bizonytalan. Numerikus módszerekkel számolhatunk hiperbolikus regressziót, de számítógép használata nélkül is megkaphatjuk a paramétereket, ha egyszer átrendezzéssel linerizáljuk az egyenletet. Lineweaver-Burk például a változók reciprokát vette, ekkor a hiperbola egyenlete egyenessé válik. A (5) egyenlet inverze:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{max}} \cdot \frac{1}{(S)} + \frac{1}{V_{max}} \quad (7)$$

alakú, amely egy egyenes egyenlete, ha a változókat  $1/v$  illetve  $1/S$  alakban értelmezzük.

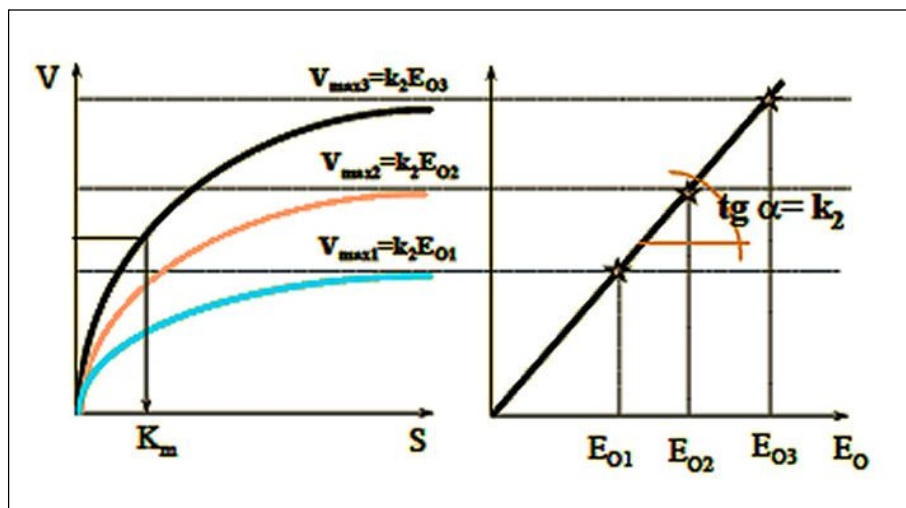
Az egyenes iránytangensének és a tengelymetszetek jelentése a 7. ábrán látható, valamint az is, hogy az egyenlet állandóit ( $V_{max}$  és  $K_m$ ) milyen egyszer en és pontosan lehet ilyen módon meghatározni.



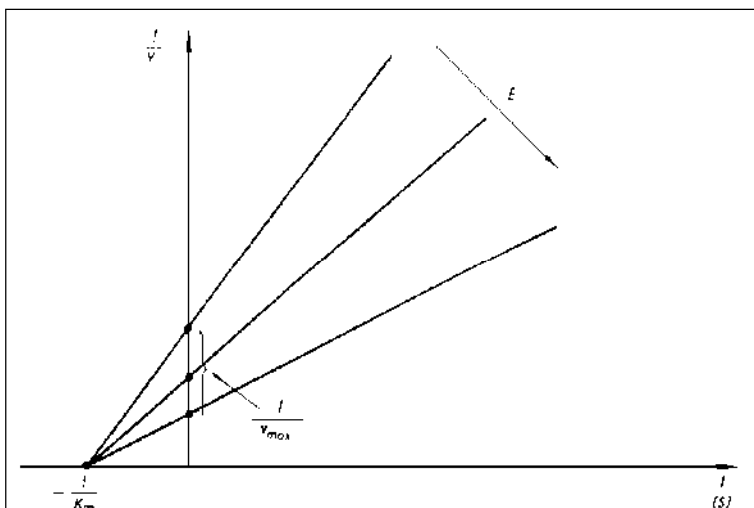


7. ábra Az enzimreakció sebességének függése a szubsztrát koncentrációtól (Lineweaver-Burk ábrázolás)

Az enzimkoncentráció hatását a reakciósebességre a (3) egyenlet és implicita a (5) egyenlet is megadja. Látható, hogy az enzimkoncentráció növelésével lineárisan nő a reakciósebesség, és – mivel nő az (ES)-komplex mennyisége – arányosan nő a  $V_{max}$  is (8. ábra). De amint az ábrán is látható, a  $K_m$  értéke nem változik.



8. ábra Az enzimreakció sebességének függése az enzim- és a szubsztrát koncentrációtól



Ez azt jelenti, hogy a  $K_m$  valódi állandó és bármely enzimkoncentrációnál meghatározható. A 9. ábrán tüntettük fel a különböző enzimmennyiségeknél mért reakciósebességi értékeket a könnyen kezelhető és szemléletes Lineweaver-Burk ábrázolásban.

9. ábra Az enzimreakció sebességének függése az enzim- és a szubsztrát koncentrációtól (Lineweaver-Burk ábrázolás)



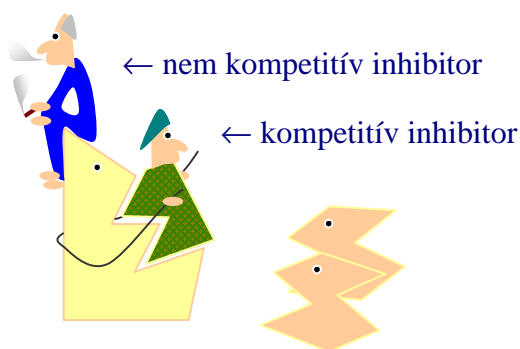
Az elmondottakból következik, hogy ha nagy szubsztrátkoncentrációnál mérjük a reakciósebességet, akkor a mért reakciósebesség ( $V_{\max}$ ) arányos lesz az enzimkoncentrációval:

$$v = V_{\max} = k_2 (E)_t \quad (\text{ha } S \text{ nagy}) \quad (8)$$

és az arányossági tényező  $k_2$ . A fenti egyenlet ill. a 8. ábra az alapja minden enzimaktivitás (enzim-koncentráció) meghatározásnak.

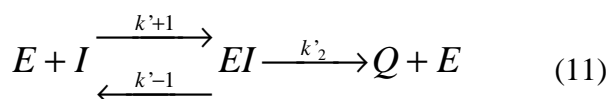
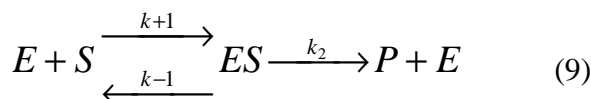
### 2.1.1.2 Enzim inhibíciós kinetika

Inhibitornak nevezzük azt az anyagot, amely egy enzim működését akadályozza, tehát a reakciósebességet csökkenti. Az inhibitorok hatásmechanizmusa eltér lehet. Egyes vegyületek, inhibitorok (I) határozott affinitással rendelkeznek bizonyos enzimek aktív centrumához. Az ilyen molekulák szerkezetileg nagyon hasonlítanak a szubsztráthoz (S) és így a kérdéses enzim aktív centrumához kapcsolódhatnak, enzim-inhibitor komplexet hozva létre.



Ezt a vegyületcsoportot kompetitív inhibitornak nevezzük, mivel az I és S verseng egymással az enzim aktív centrumához történő kapcsolódásban. Az S ill. az I kapcsolódása vagylagos természetű. Kompetitív inhibíciónál az enzim komplexet vagy S-el, vagy I-vel képez. A kettő egyidejű kapcsolódása kizárt. Ez jól szemlélteti a versengést, azaz a kompetitív inhibíciót. Az inhibíciós vegyületek másik csoportja, a nem kompetitív inhibitorok hatásmechanizmusa ettől eltér. Az inhibitor nem csak a szabad enzimmel, hanem az ES komplexszel is képes kombinálódni, ESI hármaskomplexet hozva létre.

Az első esetben az EI kapcsolat lehetetlenné teszi a szubsztrát molekula kötődését az enzim aktív centrumába, a második esetben az ESI komplexből, a szterikus gátlás következtében, a termék nem tud kiszabadulni. A következőkben egy egyszerű modellt mutatunk be, amely a különböző mechanizmusú inhibitorok kinetikai tárgyalását lehetővé teszi. Az összefüggések levezetéséhez az alábbi egyenletekből induljunk ki:



A (9) formula azonos a Michaelis-Menten kiindulási egyenlettel. A (10) és (11) egyenlet szerint az I az enzimhez reverzibilisen kapcsolódhat. Ha  $k'_2 = 0$ , akkor az I az enzim valódi (angol szakkifejezéssel: dead end) inhibitora. Ha viszont  $k'_2 \neq 0$ , azaz I is átalakul, akkor ez a molekula az enzim alternatív szubsztrátja, amely a reakció során egy másik, Q terméket (alternatív termék)

eredményez. Jelenléte ez esetben is lassítja az alapreakciót, mivel az enzimek véletlenszerűen találkoznak a kétféle szubsztráttal, és „idejük” egy részét a „másik” reakció katalízisével „töltik”.

Ezek az általános egyenletek az alapjai az alternatív szubsztrát, és a kompetitív inhibíciós kinetikai levezetéseknek. Ez utóbbiak tárgyalásához a  $K_m$ -hez hasonlóan bevezethetjük az inhibíciós állandót, ami valódi inhibitor esetén az  $E + I \rightleftharpoons EI$  folyamat egyensúlyi állandója:

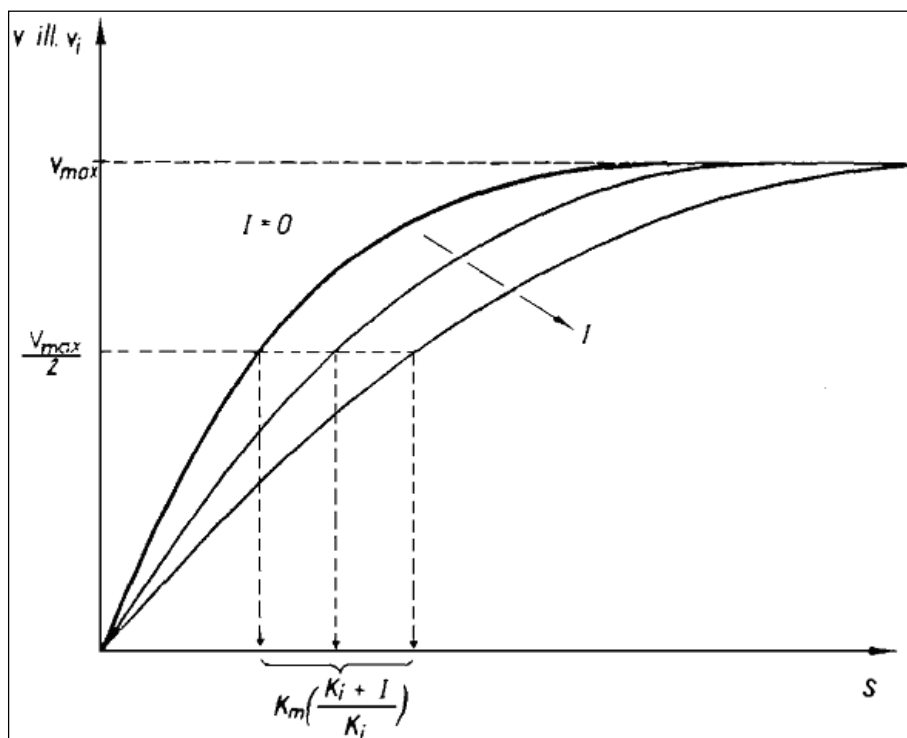
$$K_i = \frac{k'_{-1}}{k'_{+1}} \quad (12)$$

Ekkor az (5) egyenlet a következő alakban írható fel:

$$V_i = \frac{V_{\max}(S)}{K_m \left[ \frac{K_i + (I)}{K_i} \right] + (S)} \quad (13)$$

Hasonlítsuk össze a (5) és a (13) egyenletet. Látható, hogy az inhibitor jelenlétében mérhető reakció sebesség ( $v_i$ ) az inhibitor nélkül mérhető sebességi egyenlettel csak abban különbözik, hogy a  $K_m$  mellett van a  $\left[ \frac{K_i + (I)}{K_i} \right]$  szorzótényező. Ha  $I = 0$ , akkor a tört értéke egy,  $v_i = v$ , azaz

nincs inhibíció. Az is világos, hogy ha  $S \gg K_m \left[ \frac{K_i + (I)}{K_i} \right]$ , akkor a nevezőben ez utóbbi az  $S$  mellett elhanyagolható és így  $I$  jelenlétében is  $V_{\max}$  reakció sebességet mérünk. A (13) egyenlet tehát megadja a kompetitív reakciósebességet ( $I$ ) az ( $S$ ) függvényében. Növelve az  $I$ -koncentrációt, a  $V_{\max}/2$ -höz tartozó tengelymetszet értéke növekszik (11. ábra).

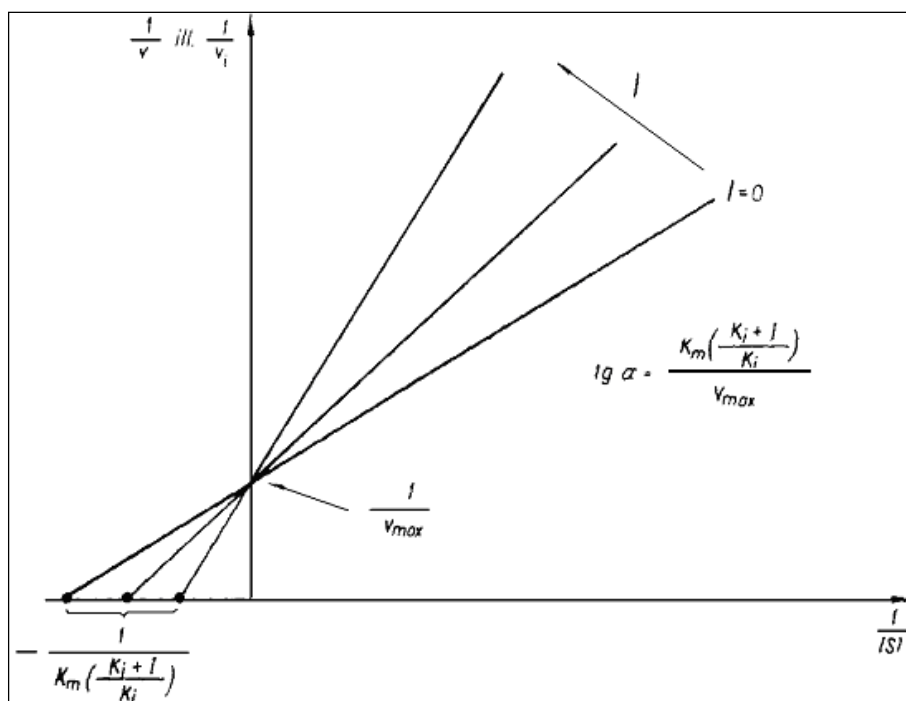


11. ábra Kompetitív inhibíciós görbék

A linearizáláshoz a reciprok egyenlet a következő képpen alakul:

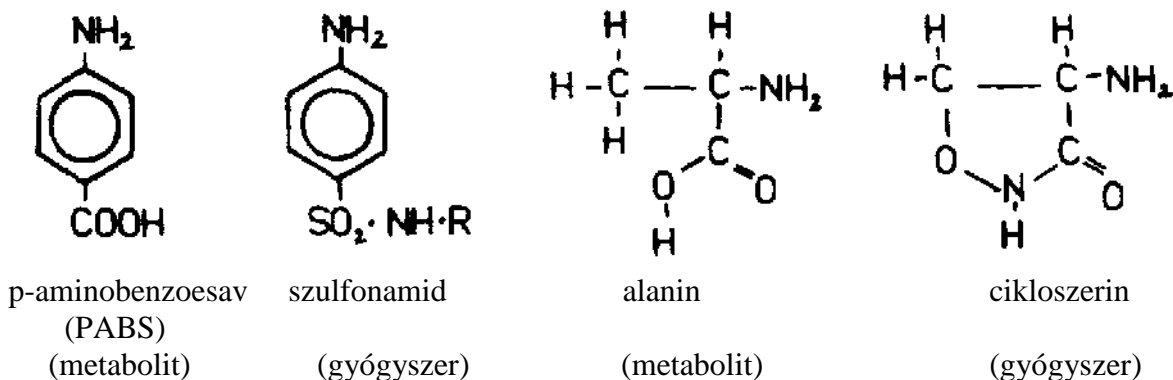
$$\frac{1}{V_i} = \frac{K_m \left[ \frac{K_i + (I)}{K_i} \right]}{V_{max}} \cdot \frac{1}{(S)} + \frac{1}{V_{max}} \quad (14)$$

A Lineweaver-Burk ábrázolásban, az (I) növelésével nő az egyenes iránytangense, miközben az 1/v tengelymetszet azonos marad ( $V_{max} = \text{konstans}$ ), de a 1/S tengelymetszet változik, egyre közelebb kerül az origóhoz (12. ábra).



12. ábra A kompetitív inhibíció kinetikája Lineweaver-Burk ábrázolásban

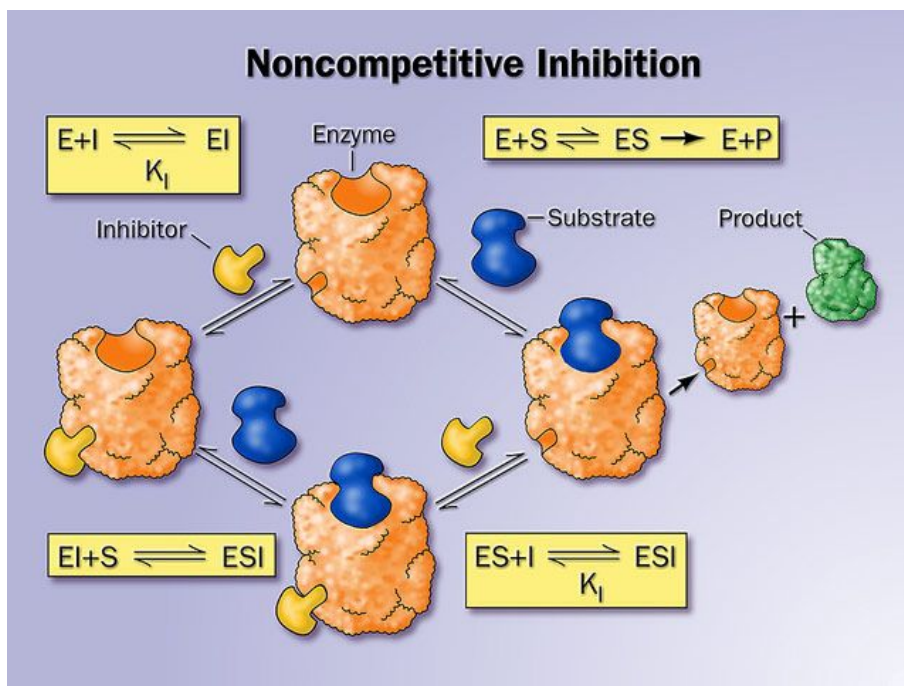
Nagyon sok gyógyszer hatása alapul a kompetitív inhibíción. Ezek a gyógyszerek az élő sejtekben előforduló egyes természetes molekulákhoz hasonló szerkezetűek, hasonlítanak egy enzim szubsztrátjához, és az enzim aktív centrumához kapcsolódva lefékezhetnek egyes biokémiai folyamatokat. Ilyen szerkezeti analógok például a következő gyógyszerek:



A szulfonamid és a cikloszerin gyógyszerekhez hasonló szerkezetű PABS és alanin létfontosságú köztitermékei egy-egy patogén, kórokozó mikroorganizmus anyagcseréjének. Ha a gyógyszerek jelen vannak, azok kompetíciós hatásmechanizmussal lefékezik (vagy teljesen meg is állítják) a

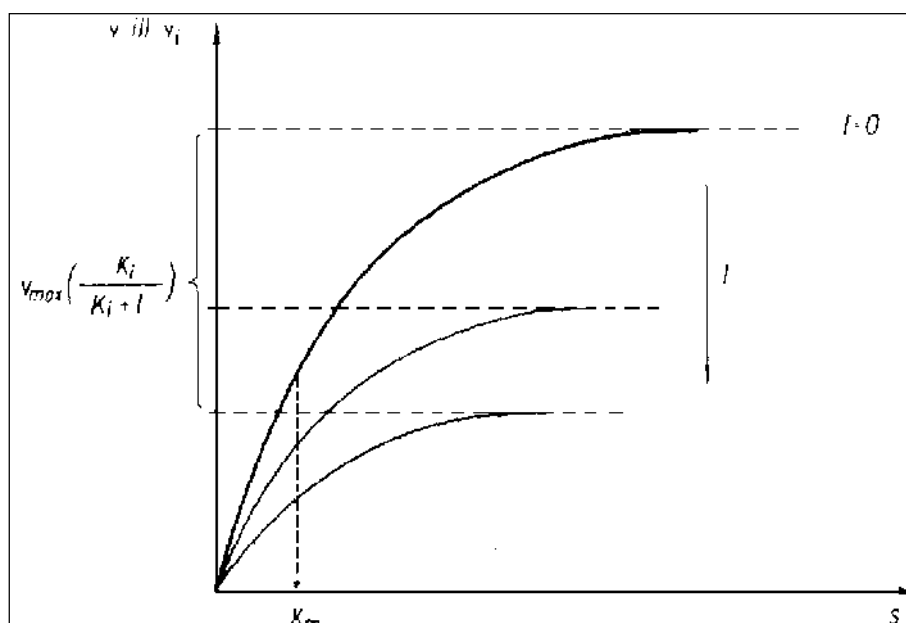
természetes metabolitot továbbalakító enzim működését, és ezáltal a mikroorganizmus életképességét. Ennek a kompetíciós hatásmechanizmusnak a felismerése a racionális gyógyszertervezés alapját vetette meg. Számos új és hatékony gyógyszer ennek a munkahipotézisnek köszönheti megszületését.

A nem kompetitív inhibíció esetét tárgyaljuk ( $k'=k''=0$ ), az EI és ESI komplex egyaránt inaktív (tehát nem eredményez terméket), tehát az I az S valódi inhibitora. Ebben az esetben nincs versengés az I és S között a kapcsolódásban, amit úgy képzelhetünk el, hogy az I és S kapcsolódási helye más és más.



Az általános (5) egyenlet ebben az esetben a következő alakba hozható:

$$V_i = \frac{\left[ \frac{K_i}{K_i + (I)} \right] V_{\max}(S)}{K_m + (S)} \quad (15)$$



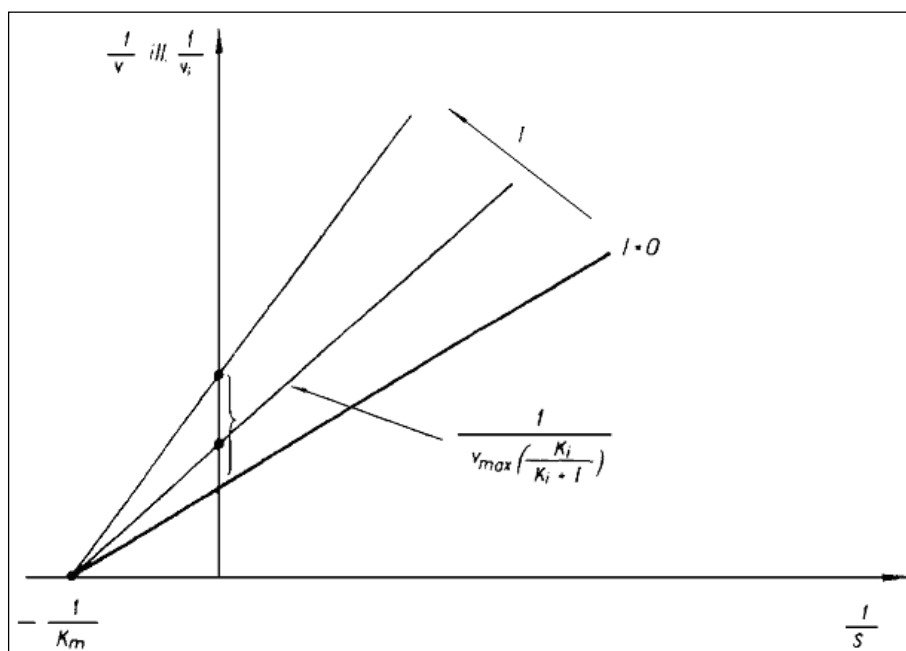
### 15. ábra Nem-kompetitív inhibíció sebességi görbéi

Látható, hogy  $K_m$  nem változik az inhibitor koncentrációval, de  $V_{max}$  értéke igen; az inhibitor jelenlétében a zárójeles tényező egynél kisebb érték, csökkenti a maximális sebességet. Állandó  $I$ -koncentrációknál a sebesség adatokat  $v$ - $S$  diagramban ábrázolva a 15. ábrán látható képet kapjuk.

A reciprok egyenlet felírása:

$$\frac{1}{V_i} = \frac{K_m}{\left[ \frac{K_i}{K_i + (I)} \right] \cdot V_{max}} \cdot \frac{1}{(S)} + \frac{1}{\left[ \frac{K_i}{K_i + (I)} \right] \cdot V_{max}} \quad (16)$$

Ennek ábrázolása látható a 16. diagramon.



16. ábra A nem-kompetitív inhibíció Lineweaver-Burk ábrázolásban

Hasonlítsuk össze a nem kompetitív inhibíciós görbéket a különböző enzimkoncentrációknál felvett sebességi görbékkel! A szembevetés hasonlóságot úgy értelmezhetjük, hogy a nem-kompetitív inhibitorok lényegében a módosított enzim koncentrációját csökkentik azáltal, hogy az enzimhez kapcsolódva azt átmenetileg „kivonják a forgalomból”.

A nagyszámú nem kompetitív inhibitor-vegyület közül a magasabb rendű szervezetekre ható mérgeket említjük meg. Így a nehézfémek, pl. a Hg-vegyületek mérgező hatásukat úgy fejtik ki, hogy valamelyik létfontosságú SH-enzimen a cisztein aminosav -SH csoportjához kapcsolódva a módosított enzim gátolják.

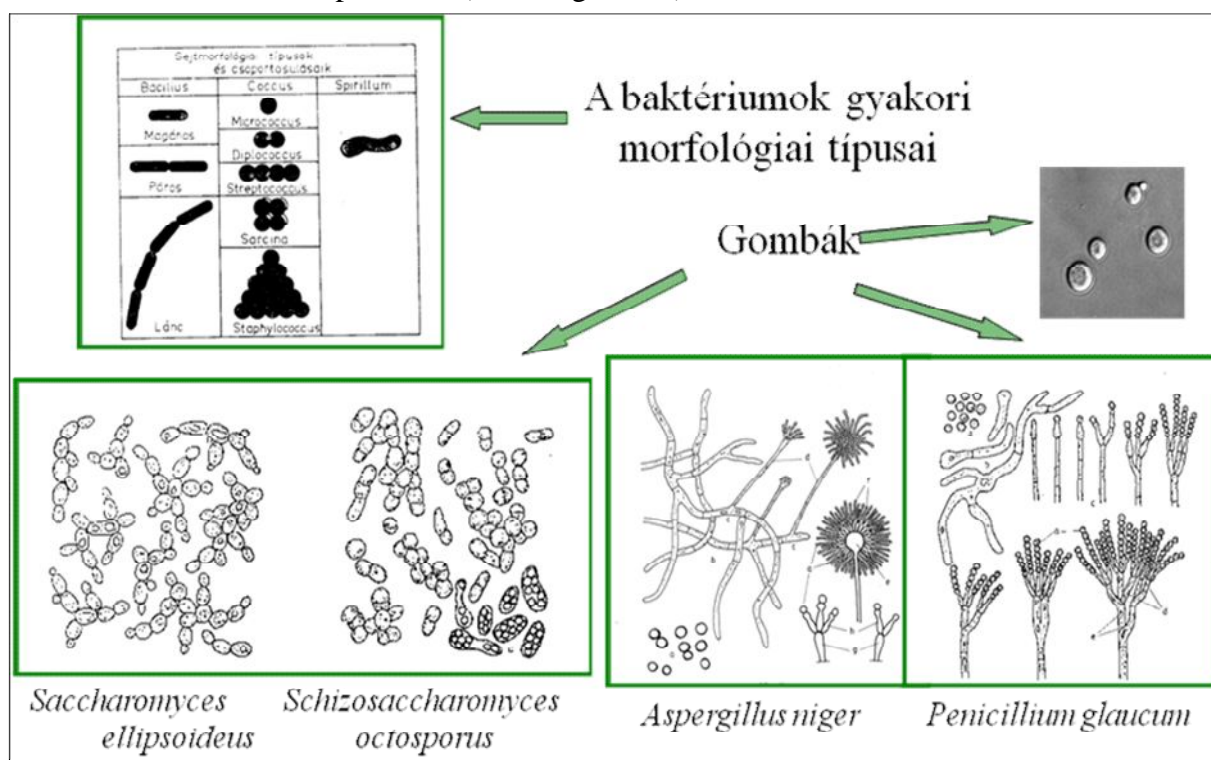
## 2.2. A mikrobaszaporodás kinetikája

### 2.2.1 Mikrobiológiai összefoglaló

#### 2.2.1.1 A mikroorganizmusok típusai

Az ipari jelentőségű mikroorganizmusok típusai a:

baktériumok és aktinomiceták (sugárgombák),  
 élesztő és  
 penészek (fonalas gombák)



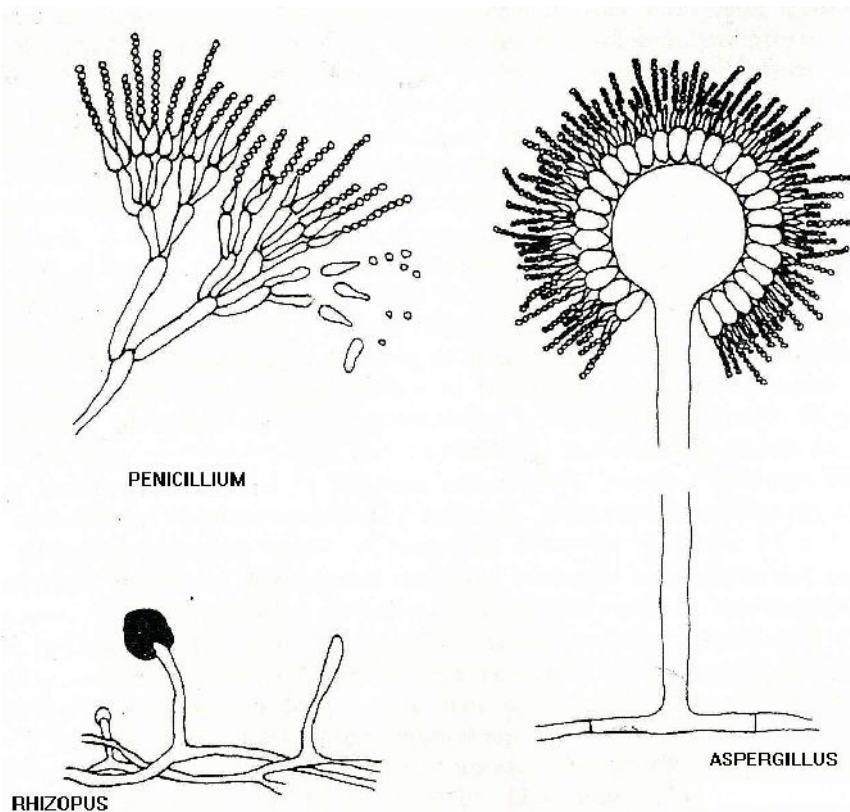
A baktériumok egysejtű élőlények, nagyságuk általában 0,5-5 µm. Morfológiailag lehetnek gömb (kokkus), pálcika (bacillus) vagy csavarodott (spirillum, spiroheta, vibrio) alakúak.

A baktérium jellemző aszexuális szaporodásmódja a hasadás. A vegetatív sejt tömege növekszik, a sejtfal megnyúlik a protoplazma növekedésének megfelelően, a DNS állomány megduplázódik és a megnyúlt sejt két ellenkező oldalára polarizálódik. A hosszirányban megnyúlt sejt közepén fokozatosan válaszfal képződik és végül a két sejt elválik. A folyamat alatt az eredeti sejt két biológiailag azonos egyed keletkezik. A pálcika alakú baktériumok egy csoportjára jellemző a spóráképzés. Ilyen szervezetek esetén, ha a sejt kedvezőtlen körülmények közé kerül (tápanyaghiány, nagy hőmérséklet), a citoplazmamembrán befűződésével a citoplazma egy része fokozatosan elkülönül. Ebbe a részbe koncentrálódik a sejt szárazanyagának jelentős része és az örökítőanyag. A folyamat elrehaladásával ez a rész teljesen befűződik és körülötte több rétegű burok alakul ki. A kialakult spóra a vegetatív sejtnél sokkal ellenállóbb a kedvezőtlen külső behatásokkal szemben. Ha a spóra kedvezőtlen körülmények közé kerül, „kicsírázik” és vegetatív sejt alakul. A baktériumspórák képviselik a mikroorganizmusok legellenállóbb formáit, ezért a sterilizációhoz (teljes csírámentesítéshez) szükséges kezelésmértékét ezek szabják meg. Míg az penészeknél és alacsonyabb rendű növényeknél a spóráképzés a szaporodást szolgálja, a baktériumok endospórái az egyednek a kedvezőtlen körülmények közötti fennmaradását biztosítják (szaporító képlet-túlélő képlet).

Az aktinomiceták átmenetet képeznek a baktériumok és a penészek között. Az aktinomiceták vékony (0,5-1,4 mikron átmérőjű) elágazó fonalak. A prokariota sejtszerkezet, a sejtmag hiánya, a sejtfal összetétele és a kis átmérő a baktériumokhoz hasonló sajátosságok, a fonalas (micéliumos) alak viszont a penészekhez hasonló tulajdonság. Ide tartoznak az antibiotikumok gyártásában jelentős *Streptomyces* törzsek is.

Az élesztők 5-20 µm nagyságú ovális alakú szervezetek. Sejtfelépítésük alapján az eukariota sejtekhez tartoznak. Jellemző szaporodásmódjuk a sarjadás. Ennek során az élesztő sejteken egy kis dudorodás képződik, amely fokozatosan nagyobbodik. A sejtmagállomány megkétszereződik és egyik fele az újonnan képződött sejtbe (leánysejt) kerül, ez aztán befűződik és elválik a kiindulási sejtől (anyasejt).





18. ábra Fontosabb penésztípusok

A penészek 4-20  $\mu\text{m}$  átmérőjű, elágazó fonalakkal állnak. Ezeket a fonalakat hifáknak nevezik; a hifa-fonalak együttesen alkotják micéliumot. A hifafonalak egyes fajtáknál (Eumycetes) válaszfalakkal (szeptumok) sejtekre tagolódnak, más fajtáknál (Phycomycetes) a válaszfalak hiányoznak és a hifafonál több sejtmagot tartalmaz. A penészgombák vegetatív növekedése a hifavégekben történik. Az aszexuális szaporodást a fajokra jellemző spóráképletekben kialakuló nagyszámú spóra biztosítja. A gombáknál gyakran meggy végbe szexuális szaporodás is, ennek során a két haploid mag egyesülésével diploid zigóta keletke-

zik, és ennek redukciós osztódásával alakulnak ki ismét a haploid sejtek. Egyes gombák életciklusában az aszexuális és szexuális szaporodási szakaszok, stádiumok váltakoznak.

### 2.2.1.2. A mikroorganizmusok fejlődését, növekedését befolyásoló tényezők

A mikroorganizmusok különböző tápanyagok és megfelelő energiaforrás felhasználásával képesek növekedni.

Mint minden élő sejt fejlődéséhez, a mikrobasejtek fejlődéséhez is szükséges a víz jelenléte.

A gombák fejlődéséhez a szubsztrátumban szükséges minimális víztartalom 12 %, a baktériumok esetén legalább 20%. A fejlődéshez szükséges a makrotápelemek: a szén, oxigén, hidrogén, nitrogén, kén, foszfor, kálium, kalcium, magnézium és vas jelenléte. Egyes mikroorganizmusok mikrotápelemeket (mangán, molibdén, cink, réz, kobalt, nikkel, vanádium, bór, klór, nátrium és szilícium) is igényelnek. A mikrotápelemek általában kis koncentrációban szükségesek és sok esetben elegendő a tápoldatok készítésére felhasznált anyagokban szennyezésként jelenlévő mennyiség. Egyes mikroorganizmusok tenyésztéséhez vitaminok jelenléte is szükséges. A mikroorganizmusok fejlődéséhez szükséges vitaminokat gyakran növekedési faktornak nevezik.

Szénforrásnak nevezzük azt a táptalaj komponenst, amelynek szénatomjait a mikrobák beépítik saját anyagaikba. A szénforrás sokszor azonos az energiaforrással, például a cukrok lebontásával energiát termelnek, ugyanakkor a cukrok szénatomjai épülnek be a sejtek fehérjéibe és egyéb anyagaiba. Más a helyzet a fotoszintetizáló növényeknél, itt az energiaforrás a fény, a szénforrás pedig a széndioxid. Az élő lényeket a fejlődésükhöz szükséges szénforrás és energiaforrás alapján több táplálkozási típusra osztják. Alapvető kategóriák az autotróf és heterotróf anyagcsere.

A heterotróf szervezetek csak szerves szénvegyületeket tudnak felhasználni szén- és energiaforrásként. Ide sorolhatók az állati szervezetek, és a lebontó mikroorganizmusok.

Az autotróf szervezetek szénforrása a  $\text{CO}_2$ , szerves vegyületeket nem igényelnek. Ide sorolha-



tók a fotoszintézist végző magasabb rendű növények, amelyek fényenergia segítségével alakítják ki szerves anyagaikat.

A mikroorganizmusoknál a helyzet bonyolultabb, még egy kategóriát különítenek el. Fotoautotróf szervezeteknek nevezik a fényenergiát hasznosító szervezeteket (kékmoszatok, zöldalgák), kemoautotrófoknak az energiát szerves redox-reakciókból fedező organizmusokat (kénbaktériumok, vasbaktériumok).

Az iparban szénforrásként a mikroorganizmusok tenyésztésénél leggyakrabban szénhidrátokat alkalmaznak. A szénhidrát lehet keményítő, vagy lebontási termékei (glükóz, dextrin), szacharóz, tiszta állapotban vagy a cukorgyártás melléktermékeként keletkező melasz alakjában, laktóz (tejcukor) és egyes mikrobák esetén pentózok (öt szénatomos cukrok). Bizonyos mikroorganizmusok alkoholosokat, szerves savakat és szénhidrogéneket is képesek szénforrásként felhasználni.

Nitrogénforrásként szerves és szervetlen vegyületek szerepelnek. Szervetlen nitrogénforrásként az ipari méretű tenyésztésnél olcsó, m. trágya minőségű sókat (ammónium-nitrát, pécisó) alkalmaznak. Szerves nitrogénvegyületeként nagyobb mennyiségű fehérjét, vagy hidrolizált fehérjéket tartalmazó anyagokat alkalmaznak. Gyakran használnak olajmentesített szójalisztet, mogyorólisztet a nitrogénhiányt fedezésére, valamint a keményítőgyártás melléktermékeként keletkező „kukoricalekvárt”. Ez utóbbi a kukorica savas áztatásánál a szemekből kioldódó anyagokat tartalmazza.

A mikroorganizmusok oxigénigénye eltér. A mikrobák jelentős része csak a levegő oxigénjének felhasználásával képes növekedni. Ezt aerob anyagcsere névelik. Az oxigén nélkül is fejlődő mikroorganizmusokat anaeroboknak nevezik. Azok a szervezetek, amelyek csak az oxigén teljes kizárásával tenyészhetnek, az obligát anaerobok. Számukra az oxigén mérgező anyag. A fakultatív anaerobok mindkét típusú anyagcsere-re képesek, oxigén jelenlétében és anélkül is fejlődnek. Jellemzőes aerob szervezetek a penészek és az aktinomiceták; a baktériumok között aerob, anaerob és mikroaerofil típusok is előfordulnak. Az élesztők aerob és anaerob körülmények között is képesek szaporodni. Aerob viszonyok között a szénforrást teljesen oxidálják széndioxiddá és vízzé, így nagy mennyiségű szén-dioxid képződik; anaerob viszonyok között a hexózokat alkohollá alakítják és a szénhidrátban megkötött energiának csak kis hányadát használják fel szén-dioxidra (alkoholos erjesztés: az oxigént a konyogóval zárják el az erjedő levelet). A mikroaerofil szervezetek kis mennyiségű oxigén jelenlétében tenyészhetnek.

A fejlődésre optimális hőmérséklet szerint megkülönböztethetők pszichrofil, mezofil és termofil mikroorganizmusok. A pszichrofil (hidegkedvelő) szervezet hőmérséklet optimuma 20 Celsius fok alatt van, a mezofil szervezeteké 20 és 45 között, a termofil (melegkedvelő) mikroorganizmusoké pedig 45 fölött van. Termotoleránsnak nevezik azokat a fajokat, amelyek hőmérséklet optimuma a mezofil tartományban van, de 45 fok fölött is képesek szaporodni.

A mikroorganizmusok fejlődését nagymértékben befolyásolja a tápoldat pH-ja. A baktériumok és aktinomiceták semleges vagy gyengén lúgos közegben fejlődnek jól. Kivételt képeznek a savképző baktériumok (pl. a tejsavbaktériumok), amelyek gyengén savanyú közeget elviselnek. Néhány acidofil baktérium erősen savanyú közeget igényel (pl. a gyomorban élő *Helicobacter pylori*, a gyomorfekély okozója). A penészek és élesztők gyengén savanyú közegben fejlődnek jól.

Sok fermentációs folyamatnál a mikroorganizmusok szaporodásához szükséges optimális feltételek nem azonosak a termékképzés optimális feltételeivel.

### 2.2.1.3. A mikrobák kémiai összetétele

A mikroorganizmusok kémiai összetétele bizonyos mértékig függ a mikroba típusától, a tenyésztéshez használt tápaltól, a tenyésztés korától és a tenyésztés körülményeitől függően. A mikroorganizmusok víztartalma 70 és 85 % között mozog. Az 1. táblázat a különböző mikroba típusokra vonatkozó átlagos adatokat tünteti fel.

A baktériumok és élesztők szárazanyagra vonatkoztatva mintegy 50 % fehérjét tartalmaznak. A fehérjetartalom jelentős hányada enzimfehérje. A bonyolultabb felépítésű penészek esetén a fehér-

jetartalom az egysejt szervezetekhez képest csökken és összetételükben nagyobb súllyal szerepelnek a sejtfal felépítésben résztvevő poliszacharidok. Egyes mikroorganizmusok meghatározott tenyésztési körülmények között a megadott átlagos értékeknél lényegesen nagyobb mennyiség lipidet tartalmaznak.

Különböző mikroorganizmus típusok kémiai összetétele, tenyésztésüknél elérhető sejtszám és szárazanyag súly

Organizmus	Összetétel a szárazanyag %-ában			Koncentráció a tenyésztetben sejt/ml	A tenyésztet szárazanyag súlya g/100 ml
	Fehérje	Nukleinsav	Lipid		
Baktériumok	40-50	13-25	10-15	$2 \cdot 10^8 - 2 \cdot 10^{11}$	0,02-2,9
Élesztő	40-50	4-10	1-6	$1 - 4 \cdot 10^8$	1-5
Fonalgombák	10-25	1-3	2-7	nem értelmezhető	3-5

1. táblázat

### 2.2.2. Törzsszelekció, törzsjavítás, törzsfenntartás

A fermentációs eljárások célja lehet mikrobasesztőanyag előállítás (pékélesztő, takarmányélesztő gyártása), a mikroorganizmusok primer vagy szekunder anyagcseretermékeinek előállítás (alkohol, szerves savak, vitaminok, enzimek, aminosavak, és antibiotikumok gyártása), aktív rekombináns fehérjék (hormonok, immunfehérjék) termelése, esetleg szerves anyagok lebontása (biológiai szennyvíztisztítás).

A fermentációs eljárás kidolgozásának első lépése a megfelelő mikroorganizmus törzs kiválasztása vagy létrehozása. Ennek elérésére számos törzsgyűjteményből származó, vagy a környezetből (talaj, bomló szerves anyagok, (szenny)víz) izolált mikroorganizmust próbálnak ki a kialakítandó fermentációs eljárás körülményei között és kiválasztják a kívánt terméket legnagyobb mértékben képző törzseket. Az eljárást törzsszelekciónak (screenelésnek) nevezik. Általában a törzsszelekcióval csak mérsékelt termelésű törzsek izolálhatók. A szelektált mikroorganizmusok termelési képességének fokozására szolgálnak a törzsjavítási eljárások. A törzsjavítási vagy törzsfelnevelési munka során a kiindulási törzs genetikai állományának megváltoztatásával érik el a nagy termelési képességet.

A genetikai változások kétféle megközelítéssel idézhetőek elő. A mutáció a genetikai információt hordozó DNS bázisaiban bekövetkezett pontszerű változás. Ilyen változás környezeti tényezők hatására a természetes körülmények között igen kis gyakorisággal következik be (spontán mutáció). Különböző besugárzással vagy kémiai anyagokkal végzett kezelésekkel a mutációk gyakorisága növelhető (indukált mutáció). A mutáció véletlenszerűen, statisztikusan jön létre, emiatt a létrejött mutánsok nagy része nem termel többet a kívánt anyagból, sőt legtöbbször kevesebbet. Csak igen kis hányadban jönnek létre fokozott termelésű mutánsok. Ezeket munkaigényes módszerekkel lehet csak kiválasztani (ez is törzsszelekció). Ráadásul egy lépésben rendszerint a termelési képesség csak kis mértékben emelkedik. A legjobb mutánsok további indukált mutációjával a hatóanyagtermelés tovább növelhető. A mutációs-szelekciós lépések türelmes és következetes ismétlésével több fermentációs eljárásnál is sikerült a termelési képességet több nagyságrenddel javítani. A törzsjavítási munka másik lehetősége a génmanipulációs (rekombinációs) eljárások alkalmazása. Ezeknél olyan idegen géneket viszünk be a fermentálni kívánt sejtekbe, amelyek ott eredetileg nem voltak jelen. Az így manipulált sejt termelni kezdi az idegen gén által kódolt fehérjét, olyan anyagot gyárt, amit eredetileg nem volt képes előállítani.

Ha már rendelkezésre áll egy megfelelő mikroorganizmus törzs egy ipari eljáráshoz, fontos

feladat a mikrobakultúra fenntartása a maximális termelési képesség megőrzésével. A törzsfenntartás legegyszerűbb módja a folyamatos szaporítás, rendszeres időközönként új tápoldatra való áttöltés. Ez a módszer viszont különösen a mutánsok esetén a termelési képesség csökkenéséhez vezet. A spontán fellépő változások az eredeti, természetben élő, „vad” törzs irányába alakítják vissza a genetikai állományt. Az ismételt áttöltések során fellépő biokémiai tulajdonságváltozások elkerülését célozzák a tartósított tenyészetek.

A törzskonzervek készítésének általánosan használt módszere a fagyasztás és szárítás (liofilizálás). A kis maradék nedvességtartalomig liofilizált tenyészetek vákuumban, leforrasztott ampullákban tárolva több éven át megtartják életképességüket és eredeti tulajdonságaikat. A liofilizálás alatt bekövetkező életképességcsökkenés elkerülésére a liofilizálendő tenyészetekhez gyakran védő kolloidokat (pl. tej, vérszérum-fehérje, poliszacharidok) adagolnak.

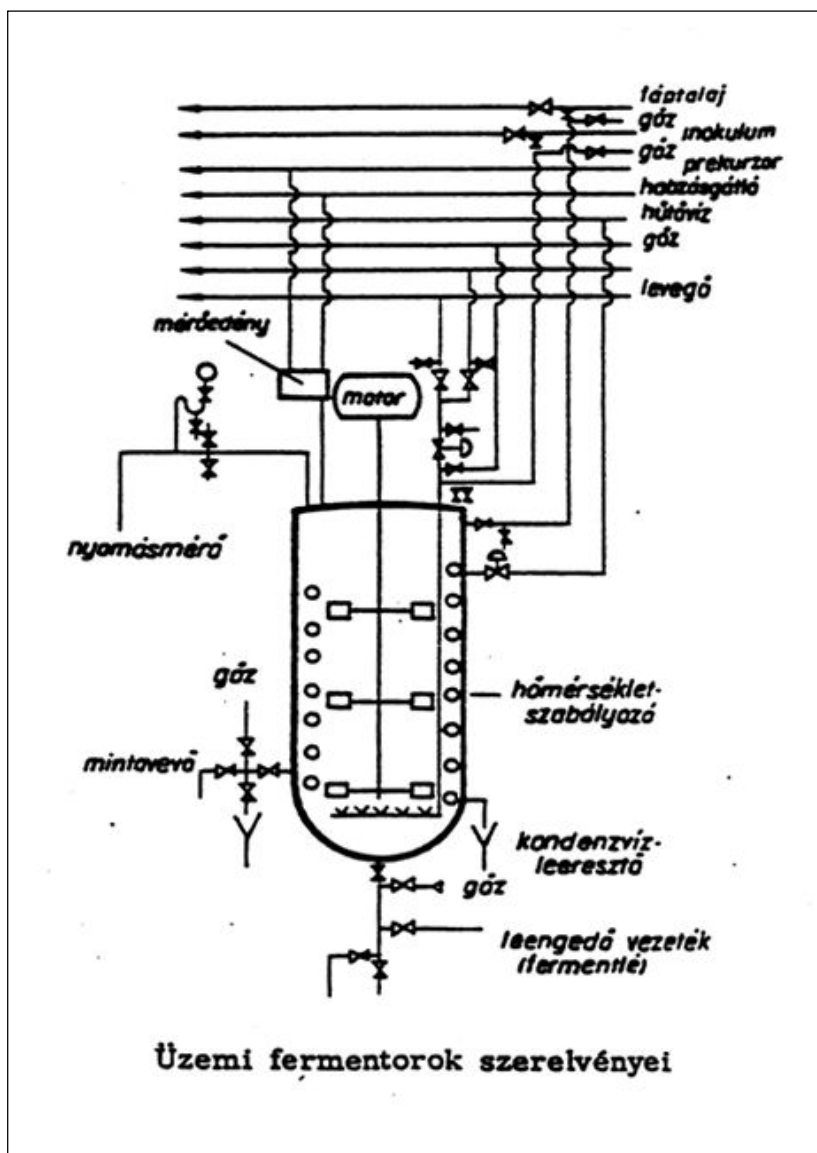
Hatékony konzerválási módszer a tenyészet lefagyasztása és tárolása cseppfolyós nitrogénben (-180 °C-on) is.

### 2.2.3. A mikroorganizmusok ipari tenyésztése

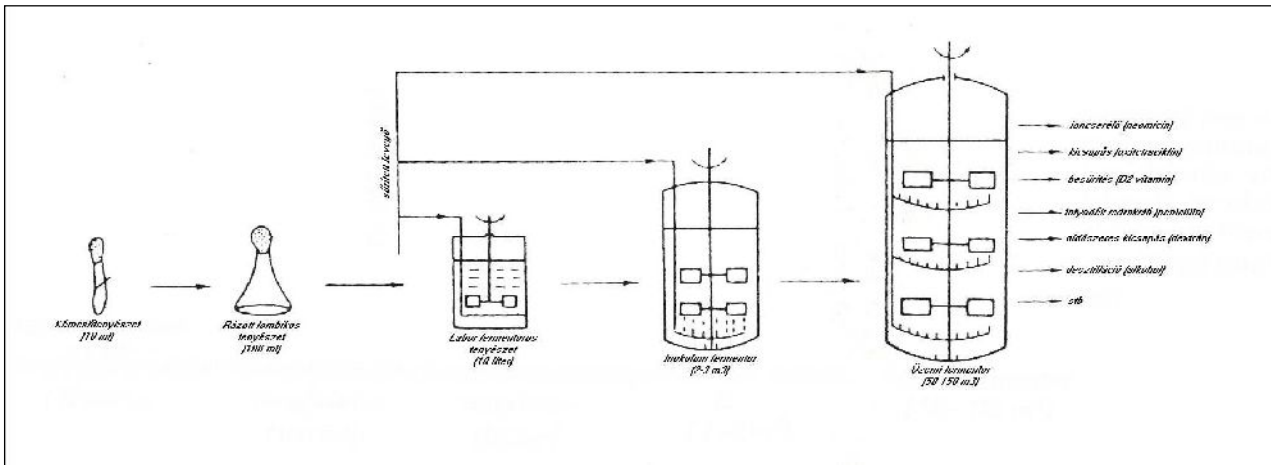
A mikroorganizmusok ipari tenyésztésénél általában arra törekszünk, hogy tiszta tenyészeteket szaporítsunk, azaz a berendezésben kizárólag a kiválasztott mikroba szaporodjon, más törzsek ne zavarják a folyamatot. (Sterilitás elve) Környezetünkben mindenhol (levegőben, vízben, talajban, minden szilárd test felületén) nagyszámú és sokféle mikroorganizmus van, ezért a szaporító berendezést és a bevitt tápanyagokat a szaporítás indítása előtt csíramentesíteni kell. A sterilizálás megvalósításával részletesen külön fejezetben foglalkozunk.

Az ipari gyakorlatban nagy, néha 100 m<sup>3</sup>-es térfogatot meghaladó tenyésztési edényeket – fermentorokat – alkalmaznak. Anaerob mikroorganizmusok tenyésztésénél a fermentorokban csak a hőmérséklet, esetleg pH szabályozást lehet végezni, ezért speciális szerelvények szükségesek. Aerob mikroorganizmusok esetén ezen túlmenően a fermentorokban a levegő bevezetésének biztosítására levegőbevezető berendezést és az oxigén beoldódását elősegítő keverőt alkalmaznak. A levegőbevezetés hatására fellépő habzás csökkentésére habzásgátló adagolására alkalmas szerelvények is szükségesek. A 19. ábra egy üzemi fermentor fő szerelvényeit mutatja be.

19. ábra Üzemi fermentorok szerelvényei



A törzskonzerv kevés sejtet tartalmaz, annyival nem lehet egy üzemi méret fermentációt beoltani, elindítani. A sejteket lépcs zetesen egyre nagyobb – tízszeres, néha százszoros – térfogatban szaporítják el, így jutnak el az ipari méret fermentorig (= lépcs zetes szaporítás elve.)



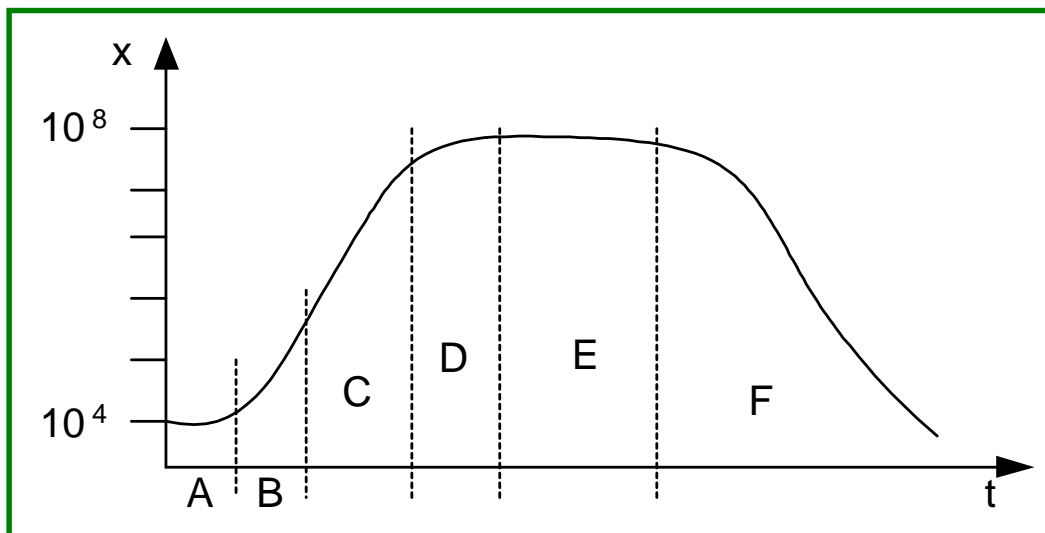
20. ábra Az oltóanyag elszaporításának lépései

Egy fermentációs folyamat szaporítási lépéseit mutatja be a 20. ábra. A fermentációt végző mikroorganizmust a laboratóriumban rendszerint szilárdított táptalajon készített kémcs tenyésztetben tartják fenn. A kémcs tenyészettel oltják az 0,5 - 1 literes Erlenmeyer lombikban lévő ~100 ml térfogatú folyékony táptalajt. Ilyen térfogatban a levegő ellátást rázóasztalon végzett rázatással biztosítják. Amikor a rázott tenyésztet megfelelően kifejlődött, ezzel oltanak néhány liter térfogatú tenyésztet. Ebben a lépésben a levegőztetés történhet ugyancsak rázóasztalon, vagy az ábrán feltüntetett módon laboratóriumi méretű levegőztetett és keveredett fermentorban. A következő lépés a fermentor beoltására szánt oltóanyag előállítására szolgáló inokulum fermentorban történő tenyésztés, az előző lépésben kifejlődött tenyésztet használva fel oltóanyagul. Amikor az inokulum fermentorban a tenyésztet kellően kifejlődött, ezt használják fel az üzemi méretű fermentor oltására. Az egyes lépéseknél a tápoldat beoltására a térfogatának 5-10 %-át kitevő, az előző lépésben 1 szármaszó oltóanyagot használnak (egy nagyságrendnyi térfogatnövelés). A folyamat középső lépéseinél néha két nagyságrendnyi ugrás (~ százszoros térfogatváltás) is alkalmazható. Igen nagy térfogatoknál az inokulum fermentor és üzemi fermentor közé egy közepes fermentor lépés beiktatása szokásos. A szaporító lépésekben általában bonyolultabb összetételű, drágább, a mikroorganizmus gyors fejlődését elősegítő tápoldatot használnak, az üzemi fermentorban általában egyszerűbb, a termékéretté válásához kedvező összetételű tápoldatot alkalmaznak.

#### 2.2.4. Mikroorganizmusok növekedésének kinetikája

A mikroorganizmusok növekedésének kinetikai törvényszerűségeit a baktériumok növekedésén keresztül mutatjuk be. Az itt megismert törvényszerűségek jórészt alkalmazhatók más mikroba-típusok növekedésénél is.

Ha egy baktériumsejtet új, megfelelő környezetbe helyezünk, akkor bizonyos lag-fázis után növekedni, sokszorozódni kezd, miközben a kultúra maximális növekedési sebességet ér el. Ez a maximális növekedési sebesség azonban csak bizonyos ideig tartható fenn, végül csökkenni kezd, majd teljesen megáll. A növekedést a növekedési sebességek változásai szerint jellemző szakaszokra lehet bontani. Ha az élő baktériumok számát ill. az összbaktériumszámot az idő függvényében ábrázoljuk, akkor az úgynevezett baktériumnövekedési görbét kapjuk (21. ábra), amely szakaszokra



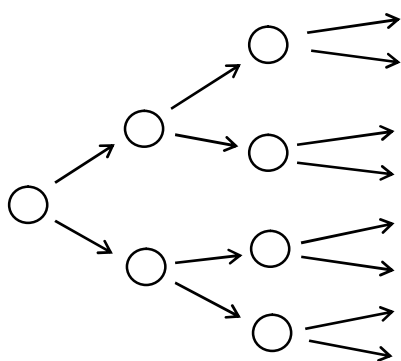
bontható.

21. ábra  
Mikroorganizmusok növekedési görbéje

A	lappangási, vagy "lag"-periódus:	nagyon hosszú generációs id
B	gyorsuló növekedési szakasz:	csökken generációs id
C	exponenciális, logaritmusos szakasz:	minimális és állandó a generációs id
D	lassú szaporodási szakasz:	növekv generációs id
E	stacionárius, megállapodási szakasz:	a szaporodás egyensúlyban van az elhalással
F	pusztulási, hanyatlási szakasz:	a szaporodást felülmúlja az elhalás

Gyakorlatban a növekedési görbe ábrázolásánál inkább a baktériumok számának logaritmusát szokás felvinni. Ha az él baktériumszám logaritmusait ábrázoljuk az idő függvényében (féllogaritmusos ábrázolás), akkor inflexiók görbét kapunk, ahol az exponenciális növekedési szakasz lineáris, egyenessé válik.

A most megismert növekedési görbe számunkra legfontosabb szakasza a logaritmusos periódus. Láttuk, hogy a baktériumsejt alkalmas környezetbe kerülve osztódni kezd. A két egymást követő osztódás között átlagosan eltelt idő  $t$  generációs időnek nevezzük. Nagyszámú baktérium-egyedet tartalmazó populációban az egyes baktériumok generációs ideje eltérést mutat, de mivel a baktériumtenyészetekben rendszerint több millió baktérium van, az átlagos generációs idő a tenyészetekre nézve jellemző és állandó. Ezt az átlagos generációs időt adják meg általában egy mikroorganizmus jellemzésére. A generációs idő függ a mikroba fajtától, a tenyésztési körülményektől (tápanyag, hőmérséklet, pH, stb.), és még egy adott tenyésztés folyamán is változik.



Az osztódás során a mikrobajeltek két egyenértékű utódsejtet képeznek. A jelenlévő sejtek száma minden generációval megduplázódik. Ha  $x_0$  baktériumszámmal inokulálunk, oltunk be egy tápanyagot, akkor egy generáció elteltével  $2x_0$  sejt lesz a tenyészetben. A második generációs idő végén  $4x_0$  (vagy  $2 \cdot 2 \cdot x_0$ ) számú baktérium lesz jelen, és az  $n$ -edik generáció végén  $2^n \cdot x_0$

Jelöljük:  
 $x_0$  - a kiindulási mikrobakoncentráció  
 $n$  - a generációk száma  
 $t_g$  - a generációs idő

$$x_0 \longrightarrow 2x_0 \longrightarrow 4x_0 \longrightarrow \dots \longrightarrow 2^n x_0$$

Az n-edik generáció után

$$x = x_0 \cdot 2^n \quad (17)$$

átrendezve:

$$\ln x = \ln x_0 + n \cdot \ln 2$$

$$n = \frac{\ln x - \ln x_0}{\ln 2}$$

A generációk száma kifejezhető az eltelt idő és a generációs idő hányadosaként is:

$$\frac{t}{t_g} = n$$

és ebből

$$\frac{\ln x - \ln x_0}{t} = \frac{\ln 2}{t_g} \quad (18)$$

A generációs idő a (17) egyenlethez könnyen meghatározható, csak a  $t$ ,  $x$  és a  $x_0$  értékek ismeretére van szükségünk, amelyeket kísérletileg meg tudunk határozni. Hangsúlyoznunk kell, hogy ilyen módon csak akkor kapunk helyes generációs értékeket, ha az  $x$  és  $x_0$  érték is a logaritmikus szakaszból való. Ezt az  $\ln 2/t_g$  mennyiséget fajlagos szaporodási sebességnek ( $\mu$ ) is nevezzük.

E mennyiséghez egy másik gondolatmenet alapján is eljuthatunk: ha a növekedés számára minden feltétel biztosított, akkor a növekedési sebesség ( $dx/dt$ ) arányos a jelenlévő mikrobamennyiséggel ( $x$ ):

$$\frac{dx}{dt} = \mu \cdot x \quad (19)$$

ahol a  $\mu$  paraméter az egységnyi mikroba tömegre vonatkoztatott növekedési sebességet jelenti.

$$\frac{1}{x} \cdot \frac{dx}{dt} = \mu \quad (20)$$

melyet fajlagos növekedési sebességnek nevezünk. Ha  $\mu$  állandó, akkor a (3) egyenletet szétválasztással integrálva kapjuk:

$$\ln x - \ln x_0 = \mu \cdot t \quad (21)$$

ahol  $x_0$  jelenti a sejttömeget  $t = 0$  esetén. Összehasonlítva megállapíthatjuk, hogy lényegében a (18) egyenletet kaptuk vissza. A  $\ln x$  értékeket ábrázolva az idő függvényében egyenest kapunk, melynek iránytangense  $\mu$ . A (21) egyenletet rendezve:

$$\ln \left( \frac{x}{x_0} \right) = \mu \cdot t \quad (22)$$

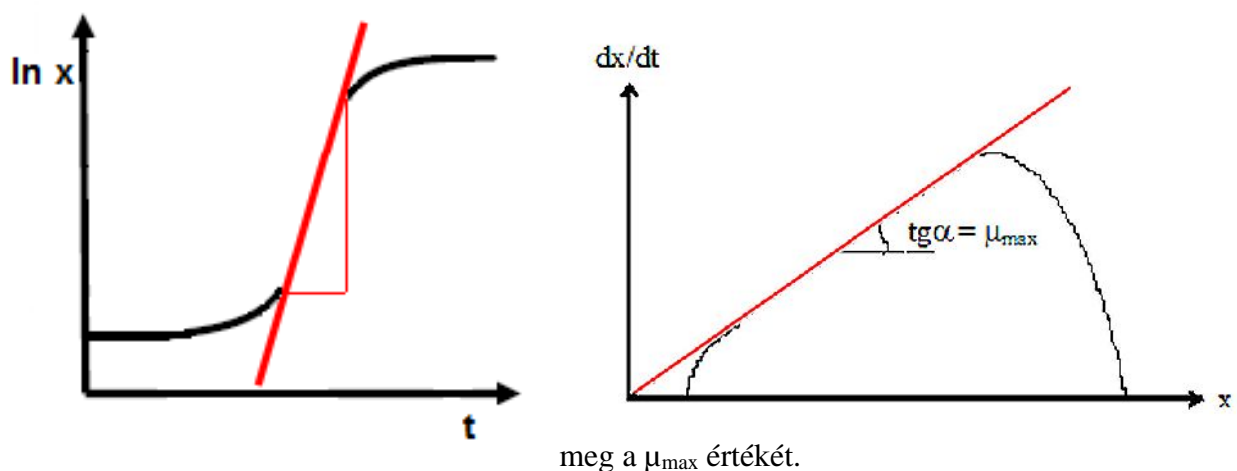
és ebből következik, hogy:

$$x = x_0 \cdot e^{\mu t} \quad (23)$$

A növekedésnek azt a szakaszát, amelyben érvényes a fenti törvényszerűség, exponenciális vagy logaritmikus növekedésnek nevezzük. A korlátlan kiegyensúlyozott növekedés szakaszában a  $\mu$  értéke állandó és maximális. Ha minden tápanyag és egyéb körülmény optimális, akkor a tenyészet a genetikai potenciálja által megszabott maximális sebességgel szaporodik. A  $\mu$  értéke maximális, a generációs idő a fordított arányosságnak megfelelően minimális. A különféle mikroorganizmusok minimális generációs ideje eltér. Leggyorsabban a baktériumok szaporodnak, ezeknél kedvező körülmények között akár 20 percenként is végbemehet az osztódás. Az élesztőknél 1-2 óra, a fonális gombáknál még hosszabb idő alatt duplázódik meg a sejttömeg. Ha mérésekkel követjük a tenyészet szaporodását, az adatokból két úton is meg tudjuk határozni a  $\mu_{max}$  értékét.

Egyrészt a növekedési görbét féllogaritmikusan ábrázolva az exponenciális növekedési szakasz egyenes, lineáris lesz, amelynek meredeksége megadja a  $\mu_{max}$  értékét. A kapott szigmoid görbe egyenes szakasza egybeesik az inflexiós érintővel, ennek meredekségét keressük meg a görbeillesztés során.

A  $\mu$  meghatározásának egy másik módja a következő: a kapott szaporodási görbe mindenkor meredeksége az adott sejtszámnál mérhető baktérium-szaporodási sebességgel  $\left(\frac{dx}{dt}\right)$  egyenlő. Ha ezeket az abszolút (nem fajlagos) szaporodási sebességértékeket a baktériumszám függvényében ábrázoljuk, akkor ezzel az átszerkesztéssel az ún. szakaszos sebességi görbéhez jutunk (22. ábra). A tenyészet a szaporítás során végigmegy a görbén, hiszen az  $x$  (sejtszám) értékek folyamatosan növekednek. Bármelyik kiválasztott ponthoz megszerkeszthetjük a hozzá tartozó  $\mu$  értéket, mivel az origóból az adott ponthoz húzott egyenes meredeksége megadja a  $\mu$  értékét. Az ábrán is bejelölt legmeredekebb egyenes, - az érintő -, amelynek csak egy közös pontja van a görbével - iránytangense adja



22. ábra Szakaszos növekedés sebességi görbe

A specifikus növekedési sebesség és a generációs idő kapcsolatát a (24) egyenlet adja meg:

$$t_g = \frac{\ln 2}{\mu} = \frac{0,693}{\mu} \quad (24)$$

A  $\mu$  értéke jellemző az illető mikroorganizmusra és arra a táptalajra amelyen a szaporítást végeztük. A specifikus növekedési sebesség azonban csak akkor állandó, ha a növekedéshez szükséges minden tápanyag elegendő koncentrációban van jelen. Monod volt az első, aki kimutatta hogy a  $\mu$  és valamely nélkülözhetetlen tápanyagkomponens koncentrációja között egyszeres összefüggés van, amelyben a  $\mu$  arányos a tápanyag koncentrációjával, ha ez kicsi, de nagy tápanyagkoncentráci-

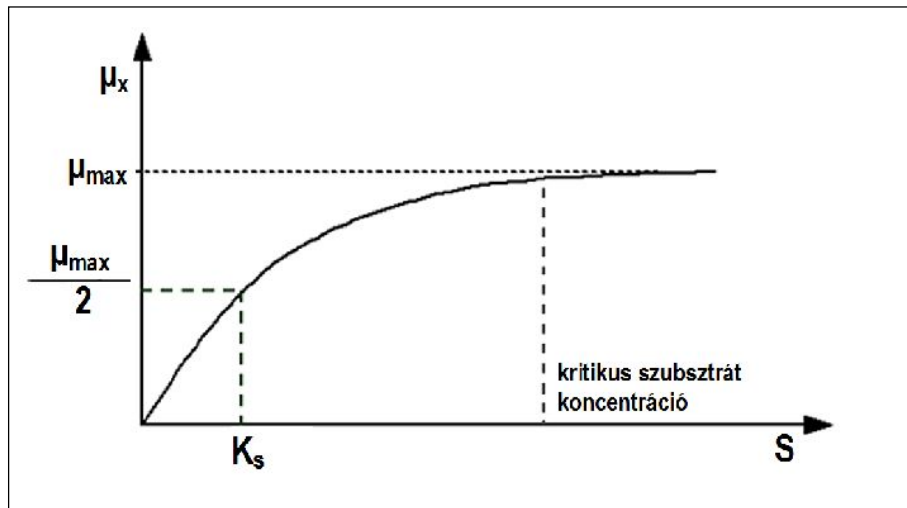


óknál az alábbi egyenlet értelmében korlátozó, telítettségi értéket ér el.

$$\mu = \mu_{\max} \frac{(S)}{K_s + (S)} \quad (25)$$

$S$  a szubsztrát-koncentrációja, a  $\mu_{\max}$  a  $\mu$  maximális értéke abban az esetben, ha a tápanyag a telítettségi koncentráció szintjén van,  $K_s$  pedig a telítési állandó, amely numerikusan megegyezik azzal a tápanyag koncentrációval, amelynél a  $\mu = \frac{\mu_{\max}}{2}$ . A  $K_s$  értéke általában igen kicsi. Baktériumoknál pl. glükóz esetében 3-7 mg/l. Aminosavak esetében pedig néhány mikrogramm/liter tartományban van.

A (25) egyenletre azonnal látható, hogy formailag teljesen megegyezik a Michaelis-Menten féle egyenlettel, amellyel a tiszta enzimek kinetikáját írtuk le. Nem nehéz ezt a hasonlóságot értelmezni. Egy olyan rendszerben, amelyben csak egy szubsztrát van kis, limitáló koncentrációban jelen, nyilvánvaló, hogy a mikroba növekedését ennek a korlátozó tápanyagnak a hasznosítási sebessége szabja meg. Ez a hasznosítási metabolizmus folyamat természetesen enzimes folyamat, amelyre a Michaelis-Menten féle kinetikai törvényszerűség érvényes.



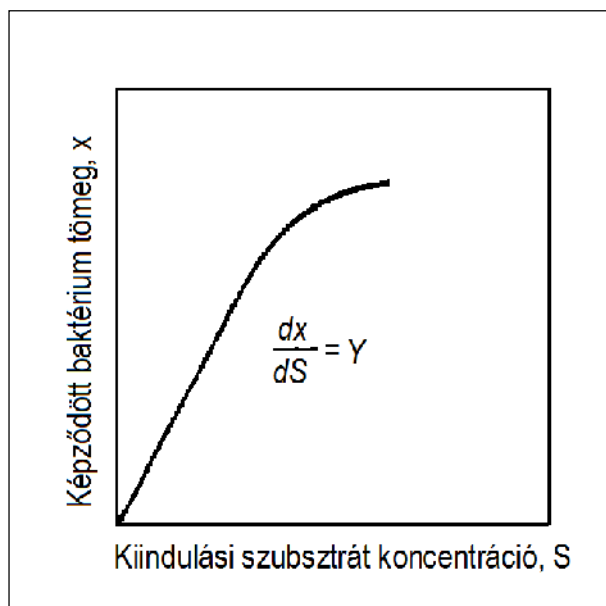
23. ábra A  $\mu$  és a szubsztrátkoncentráció kapcsolata

A kritikus szubsztrátkoncentráció fölött a szaporodási sebesség állandó és maximális. Ha a tenyésztés során a mikroba tápanyagfogyasztása következtében az adott szubsztrát koncentrációja a kritikus alá csökken, akkor kezdi korlátozni, limitálni a növekedést.

Ezáltal a tenyészet átlép az exponenciális fázisból a hanyatló szakaszba.

Egy adott mikrobánál a  $\mu_{\max}$  értéke állandó, de a  $K_s$  és  $S_{\text{krit}}$  koncentrációk minden egyes szubsztrátra mások és mások.

Ha egy tenyészetben a képződött populációt (sejttömeget) a kiindulási táptalaj tápanyagkoncentrációjának függvényében ábrázoljuk, akkor bizonyos tápanyagkoncentráció tartományban lineáris összefüggést kapunk, azaz a kezdeti szakasz iránytangense  $\left(\frac{dx}{ds}\right)$  állandó (24. ábra).



24. ábra A baktériumtömeg és a szubsztrát koncentráció kapcsolata

Másképpen fogalmazva, a növekedés és tápanyagfelhasználás között egyenes arányosság van:

$$\frac{dx}{dt} = -Y * \frac{ds}{dt} \quad (27)$$

ahol az Y (angolul: yield) az ún. hozamkonstans. Így a növekedés bármely idő szakára:

$$Y = -\frac{dx}{ds} = \frac{\text{a keletkezett baktériumtömeg súlya}}{\text{a felhasznált tápanyag súlya}}$$

azaz azonos asszimilált tápanyag mennyiségben 1 a tenyésztés során azonos mennyiség sejtananyag képződik.

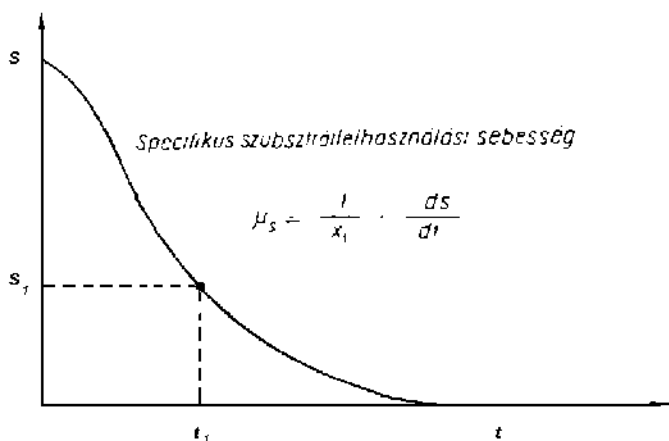
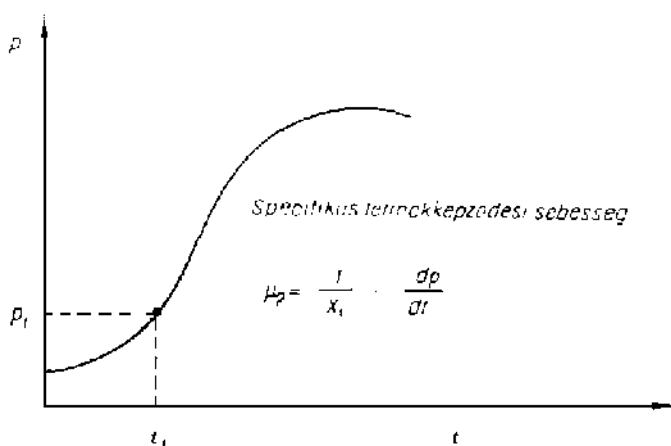
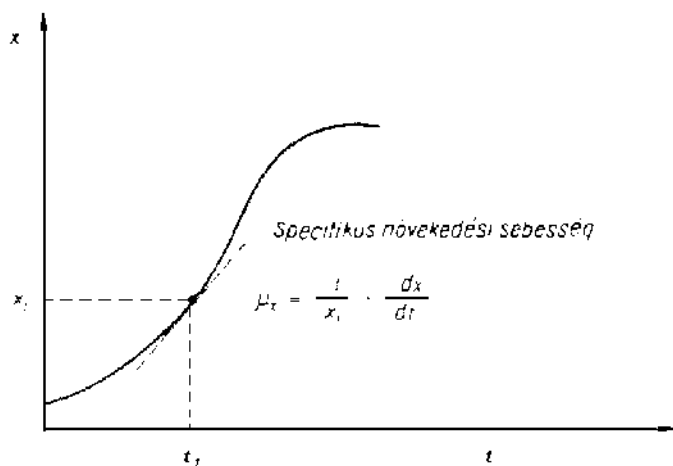
Ha a három növekedési állandó ( $K_s$ ,  $\mu_{max}$ , Y) értéke ismeretes, akkor a (3) és (11) egyenlet a szakaszos tenyésztés növekedési ciklusának teljes kvantitatív leírását adja.

Ugyanezek az egyenletek és állandók egyformán alkalmazhatók folytonos tenyésztések elméleti tárgyalására is. Bár eddig csak a baktériumnövekedés tárgyalására szorítkoztunk, hasonlóan lehet az élesztő, sőt a penészek növekedését is leírni.

### 2.2.5. Termékképzési kinetika

Nagyon sokszor nem magának a mikrobatömegnek az elállítása a cél, hanem a mikroorganizmus valamelyik metabolit termékét akarjuk üzemi méretekben elállítani. Ilyen esetben természetesen tudni kell azt is, hogy a mikroorganizmus növekedésének a törvényszerűségei milyen kapcsolatban vannak a termékképzéssel. Ez a kapcsolat nagyon sok esetben távolról sem egyszerűen lineáris, ezért külön kell tanulmányoznunk a termékképzési és a növekedési kinetika kapcsolatát.

A 24. ábra mutatja be szemléletesen egy olyan fermentáció során lejátszódó mikrobaszám (x), termékkoncentráció (P) és szubsztrát koncentráció (S) változását, amelyenél nem magának a mikrobatömegnek az elállítása a cél, hanem a metabolit-termékeknek. Az ordinátán a megfelelő koncentráció értékek láthatók, míg az abszcisszán a fermentáció ideje van feltüntetve. A növekedés-,



24. ábra

csak jóval később kezd dik, amikor már a mikroba növekedése és a tápanyagok felhasználása csaknem befejeződött. Az ilyen fermentációt növekedéshez nem kapcsolódó fermentációnak nevezzük. A keletkező termék mennyisége itt nem a szaporodástól függ, hanem a jelenlévő sejtek számától, koncentrációjától.

A bonyolultabb organizmusok kedvező körülmények között, egyes tápanyagok hiányában olyan anyagcsereutakat indítanak be, amelyek a kedvező körülmények között nem működnek. Ezek látszólag szükségtelen anyagokat termelnek, mégis ezek a kényszerpályák teszik lehetővé az életfolyamatok fenntartását nehéz körülmények között is. Ilyen, látszólag haszontalan termékek a pig-

termékképzési és szubsztrátfelhasználás specifikus sebessége a  $t_1$  időpontban az ábrán értelmezhető. Látható, hogy a specifikus sebességi értékek az időtől függenek. A specifikus növekedési sebesség a logaritmikus szakaszban éri el a maximális értéket, ott végig állandó marad, majd ismét csökken. Ha a specifikus sebességi értékeket az időfüggvényében ábrázoljuk a különböző fermentációknál, akkor igen érdekes képet kapunk. (25. ábra) Az összes termék-elállítást célzó fermentációt két típusba sorolhatjuk: az első típusba azok a fermentációk tartoznak, amelyeknél a termékképzési sebesség párhuzamosan fut a növekedéssel, más szóval, a termékképzési sebesség lineáris kapcsolatban van a szaporodási sebességgel. (Ilyen típusú fermentáció pl. az alkoholos erjesztés és a tejsavfermentáció.) Ezek az ún. növekedéshez kötött termékképzési fermentációk. A folyamat biokémiai háttere az, hogy ezeket az anyagokat az állandóan működő anyagcsere-folyamatok (elsőleges anyagcsere) termelik, amelyek sorosan kötődnek az organizmus energiatermeléséhez, vagy növekedéséhez. (Elsőleges anyagcsere-termékek, primer metabolitok.)

A második típusú fermentációnál a termékképzési

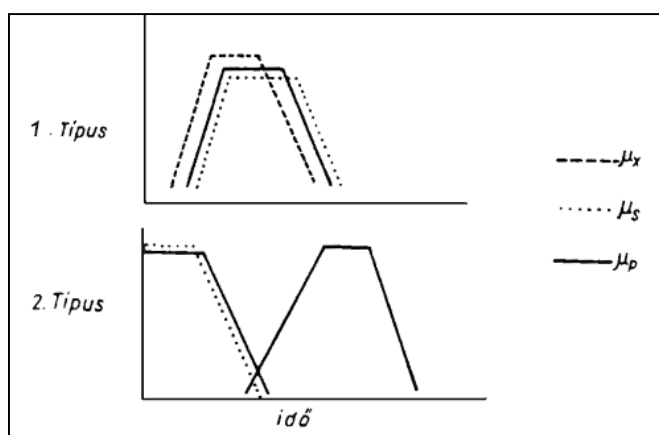
mentek, antibiotikumok, nyálka és tokanyagok, alkaloidok, stb. A biotechnológus viszont gyakran éppen e másodlagos anyagcseretermékek (szekunder metabolitok) termelésére használja e törzseket. A legtöbb antibiotikum-fermentáció (pl. penicillin, sztreptomycin, neomicin stb.), valamint néhány ipari enzim-fermentáció is ebbe a csoportba tartozik.

A termékképzés leírására az eddigi fajlagos sebességek analógiájára bevezetjük a fajlagos termékképzési sebességet:

$$\frac{1}{x} * \frac{dp}{dt} = \mu_p$$

azaz egységnyi mikrobamennyiség által idő egység alatt létrehozott termék mennyisége.

A kétféle fermentációs termékképzési típus görbéinek jellemző lefutását láthatjuk a 25. ábrán.



25. ábra Különböző fermentációs típusok a  $\mu_x$ ,  $\mu_p$  és  $\mu_s$  lefutása

A növekedéshez kötött termékképzést felírhatjuk az alábbi formában:

$$\frac{dp}{dt} = \alpha \frac{dx}{dt} \quad \text{illetve} \quad \mu_p = \alpha \mu_x \quad \text{alakban}$$

A sejtszámhoz kötött termékképzés leírása még egyszer így:

$$\frac{dp}{dt} = \beta * x \quad \text{átszorozva:} \quad \mu_p = \beta$$

Ahol  $\alpha$  és  $\beta$  a törzstől, a terméktől és a pH-tól függő empirikus konstansok.

A két termékképzési típus ritkán fordul elő tisztán, a legtöbbször valamilyen arányban egymás mellett jelentkeznek. Ezt nevezik vegyes típusú termékképzésnek, amelynek leírását az egyenletek egyesítésével kapjuk meg:

$$\frac{dp}{dt} = \alpha \frac{dx}{dt} + \beta * x \quad (28)$$

illetve leg:

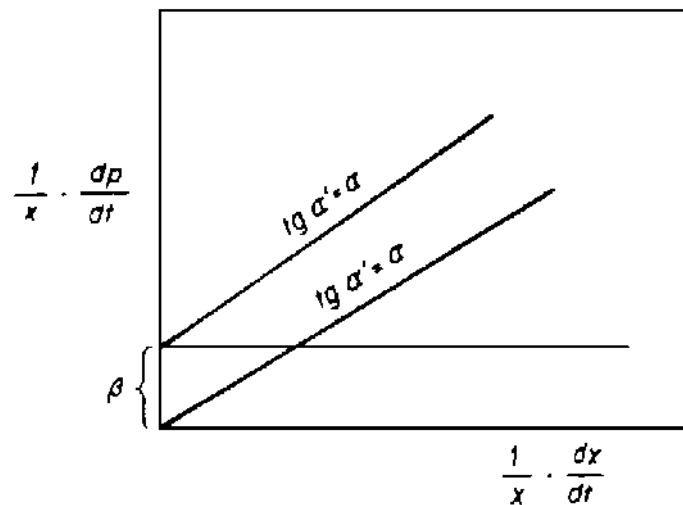
$$\frac{1}{x} * \frac{dp}{dt} = \alpha \frac{1}{x} * \frac{dx}{dt} + \beta = \alpha \mu_x + \beta \quad (13.)$$

$$\mu_p = \alpha \mu_x + \beta$$

Ha a mért  $x$  és  $P$  értékekből kiszámítjuk a fajlagos növekedési sebességet ( $\mu_x$ ) és a fajlagos termékképzési sebességet ( $\mu_p$ ), és ezeket egy koordináta rendszerben ábrázoljuk (26. ábra), egy egyenes egyenletét kapjuk, amelynek iránytangense  $\alpha$ , tengelymetszete pedig  $\beta$ .

Ezt a felírást, illetve ábrázolást kidolgozó után Lineweaver-Burk modellnek nevezzük.

A három egyenes megfelel a három termékképzési típusnak. Az origóból induló egyenes a tisztán növekedéshez kötött, a vízszintes egyenes a tisztán sejtszámhoz kötött, végül a tengelymetszettel rendelkező egyenes a vegyes típusú termékképzés egyenletének leképezése.



Mérési adatokból lineáris regressziószámítással az  $\alpha$  és  $\beta$  konstansok meghatározhatók.

Látható, hogy a (12) egyenlet jobb oldalán szereplő tagok közül az első a növekedéssel kapcsolatos termékképzési részt, míg a második tag a növekedéshez nem kapcsolódó termékképzési részt adja meg.

26. ábra Különböző termékképzési típusok Lineweaver-Burk ábrázolásban

### 2.2.6 Fermentációs rendszerek osztályozása

A fermentációk végrehajtásánál többféle technikai megoldást alkalmazhatunk, ezek elsősorban a tápanyag bevitel és kész fermentum elvétele szerint osztályozhatók.

- **Szakaszos fermentáció** (angol szakkifejezéssel: batch). A legegyszerűbb technika, az eddigiekben csak ennek leírásával foglalkoztunk. A tápanyagokat a tenyésztés elején bevisszük a készülékbe, inokulum-tenyészettel beoltjuk, és a továbbiakban nincs anyagforgalom a fermentáció végéig, amikor is a keletkezett fermentumot a benne lévő termékekkel együtt teljes egészében eltávolítjuk és feldolgozásra továbbítjuk.

- **Rátáplálásos szakaszos fermentáció** (angolul: fed batch). Annyiban tér el a szakaszostól, hogy a tenyésztés során az elfogyasztott tápanyagokat adagolással pótolják. Így nem, vagy csak sokkal később lephet fel a szubsztrátlimitáció, a tápanyagok hiánya nem csökkenti a folyamat produktivitását. A fermentorokat rendszerint csak a teljes térfogat háromnegyedéig töltik fel a habzás miatt, ennél a technikánál viszont még kisebb az induló térfogat, hogy a későbbi adagolásoknak helyet biztosítsanak.

- Félfolytonos fermentáció (angolul: semicontinuous). Ez ismétlődő szakaszos fermentációk sorozatának fogható fel. Az egyes fermentációs ciklusok között a fermentort nem ürítik ki teljesen, nincs tisztítás, új táptalaj, sterilizálás, oltás. Ehelyett a szakaszos tenyésztés végén a kész fermentum kb. 90 százalékát lefejtik, majd a készüléket friss, steril tápoldattal töltik fel. A tenyésztés újra indul, a mikroorganizmusok elszaporodása és termékképzése után újabb lefejtés-feltöltés következik. Ez a ciklus elvileg korlátlanul ismételhető. A gyakorlatban azonban vagy műszaki, vagy genetikai problémák miatt a félfolytonos tenyésztést elhagyják, inkább utóbbi le kell állítani, 10-20 ciklus megvalósítása már jó eredménynek számít.

- Folytonos fermentáció (angolul: continuous). Úgy működik, mint a vegyipar más területein a folytonos reaktorok. Folyamatos a tápoldat betáplálása és fermentum elvétele. A két térfogatáram egymással egyenlő, a készülékben lévő fermentum térfogata is állandó. Hosszabb-rövidebb tranzienst követően a rendszerben állandósult állapot alakul ki, azaz minden paraméter értéke állandóvá válik. A folytonos tenyésztésnek több előnye is van az előzőekhez képest:

- a) A folytonos fermentációs rendszer produktivitása 5-10-szer nagyobb mint a szakaszos tenyésztésé.
- b) Nagy az automatizálási lehetőség. A technológiai paraméterek állandó értéken tartása egyszerűbb feladat, mint hosszú időprogram szerinti változtatásuk.
- c) Ezzel a technológiával az üzem egésze folytonossá tehető (ebben a szempontból a fermentáció jelenti a legnagyobb problémát).
- d) Egyenletes terméket biztosít.

A folytonos rendszerek kinetikájával külön fejezetben foglalkozunk.

- Többlépcsős folytonos fermentáció. Ezeket két vagy több, folytonos fermentorból álló lánc alkotja. Az első reaktorból elvett fermentumot a második fermentorba vezetik. A tápanyag betáplálása vagy csak az első fokozatban történik, vagy néha a többi fokozatban is. A többfokozatú rendszerek felhasználása igen kívánatosnak látszik olyan fermentációknál, amelyekben a sejtnövekedés és termékképzés nem párhuzamos lefutású, ill. amikor a két folyamat optimális viszonyát nem azonosak, vagy sebességüket bizonyos tényezők nem azonos módon befolyásolják (másodlagos anyagcseretermékek, sejtszámhoz kötött termékképzés). Az első fermentorban valószínűleg megvalósítják a sejtszaporítást, ennek megfelelő körülmények között, a másodikban a termékképzést, az arra optimális viszonyok között. Fontos gyakorlati alkalmazás a biológiai szennyvíztisztítás, ahol a szennyvíz több medencén átfolytatva fokozatosan megtisztul, ahogy a mikrobák (eleveniszap) lebontják a különböző szennyező anyagokat.

Sejtrecirkulációs folytonos fermentáció. Ebben a rendszerben az eltávozó sejtek egy részét állandóan visszavezetjük a fermentorba egy folytonosan működő centrifuga, ülepitő tank, vagy megfelelő kiképzésű fermentor segítségével. Ezáltal megnövelhető a reaktorban a sejtkoncentráció, így sokkal intenzívebben zajlanak le a biokémiai folyamatok. Leggyakoribb alkalmazása szintén a biológiai szennyvíztisztítás, ahol az elfolyó tisztított vízből elválasztják a sejteket, és egy részüket visszavezetik a tisztítóba. A visszatáplálásnak mindig kevesebbnek kell lennie 100 %-nál, különben nem jön létre állandósult állapot.

### ***2.2.7 Folytonos fermentációs rendszerek kinetikája***

A folytonos fermentációs rendszerek közül ebben a fejezetben csak egylépcsős, ideálisan kevert reaktor kinetikai törvényszerűségeivel foglalkozunk. A többi, bonyolultabb rendszer matematikai tárgyalása - hasonló elvek alapján - szintén megoldható. A folytonos fermentációs rendszerek matematikai elemzésében a Nobel-díjas francia Monod, az angol Herbert és a magyar származású Szilárd Leó végzett kimagasló munkát.

Minden folytonos rendszer lényegében valamilyen reaktorból áll, melybe a reagáló anyagok állandó sebességgel ( $W$ ) áramlanak be, ott a mikroba elvégzi a megfelelő átalakítást, majd a termékek ugyanolyan sebességgel távoznak, mert egy szintszabályozó a tenyésztés térfogatát állandó értékre tartja.

ken tartja. A tartály tartalmát erélyesen keverjük, hogy a tartályba belépő tápközeg az egész tartályba azonnal és egyenletesen oszoljék szét.

Ilyen tenyészetben a folyadék tartózkodási idejét nem a betáplálás sebességének és a tenyészet térfogatának abszolút értéke fogja meghatározni, hanem ezek aránya, a

$$\text{tartózkodási id} = \frac{V}{W} \quad \text{hígítási sebesség} = D = \frac{W}{V}$$

A számításoknál nem ezt, hanem ennek reciprokát használjuk, amelyet a vegyipari műveletekben térésebességnek, a fermentációs technológiában hígítási sebességnek ( $D = \text{dilution rate}$ ) nevezünk. A hígítási sebesség dimenziója  $1/\text{id}$ , tulajdonképpen az id egységenként végbemen teljes térfogatcsere számát jelenti.

Tegyük fel, hogy a baktériumok a fermentorban nem osztódnak. Ebben az esetben  $D$  hígítási sebesség egyenlő az ún. kimosási sebességgel, vagyis a reaktorban kezdetben jelenlevő mikroorganizmusok ezzel a sebességgel mosódnak ki a rendszerből:

$$-\frac{dx}{dt} = D \cdot x \quad (15.)$$

A mikrobák azonban szaporodnak is, mégpedig a (3)-as egyenlet által leírt sebességgel és egyidejűleg a fermentorból a (15)-ös egyenlet által leírt sebességgel mosódnak ki. A mikroorganizmusok koncentráció növekedésének tényleges sebességét az alábbi egyszerű mérleg egyenlet adja meg:

$$\text{változás} = \text{szaporodás} - \text{kimosás}$$

egyenletben:

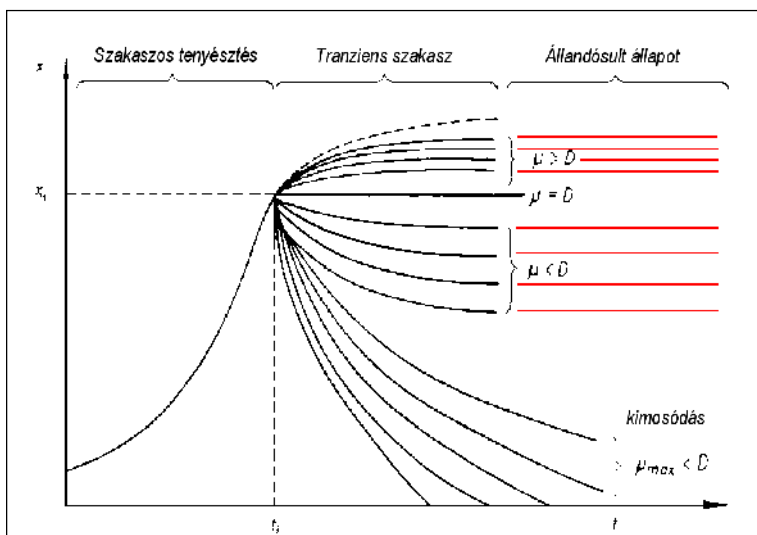
$$\frac{dx}{dt} = \mu \cdot x - D \cdot x \quad (16)$$

Állandósult állapotban a sejtkoncentráció is állandóvá válik, így  $dx/dt = 0$ . Az egyenlet így leegyszerűsödik:

azaz

$$\mu = D$$

a fajlagos szaporodási sebesség egyenlővé válik a hígítási sebességgel. A hígítási sebesség műszaki paraméter, amit mi választunk meg (egy szivattyú beállított szállítási teljesítménye), ez rögzített érték. A szaporodó tenyészet ehhez alkalmazkodik, egy tranzienst (átmeneti) szakasz után a szaporodási sebessége egyenlővé válik a kimosásával. A tranzienst szakaszok lehetséges viselkedését segít megérteni a 29. ábra. A folytonos tenyésztés minden esetben szakaszos tenyésztéssel kezdődik. Amikor a szakaszos görbe  $t_1$  időpontban eléri a  $x_1$  mikroba-koncentrációt, akkor folytonosítjuk a rendszert, azaz  $D$  hígítási sebességgel adagolni kezdjük a friss tápoldatot.





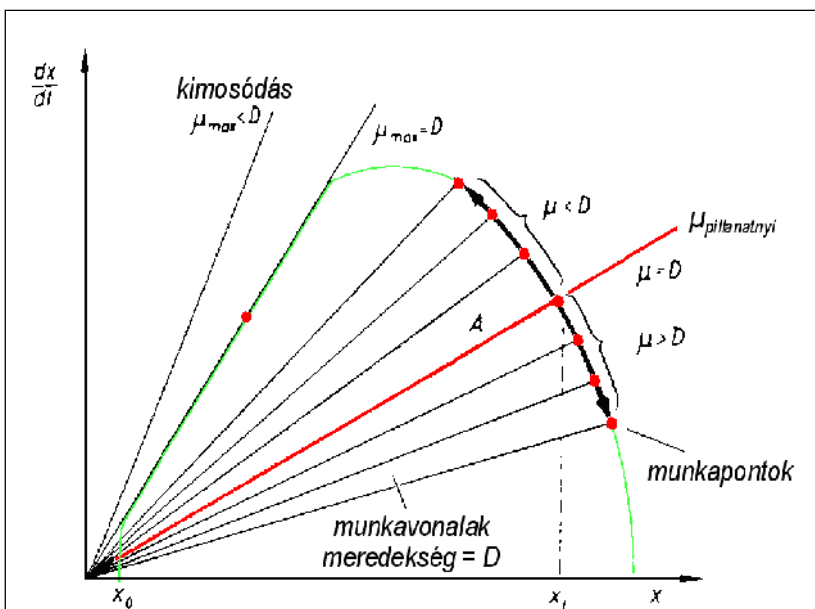
29. ábra Átmenetek a szakaszos fermentációból a folyamatosba

Vizsgáljuk meg a rendszer viselkedését különböző beállított  $D$  értékeknél. Ha  $D = 0$ , akkor nincs betáplálás, nincs elvétel, a rendszer szakaszos tenyészetként működik. Ha a beállított  $D$  értéke nagyobb, mint 0, de kisebb, mint a folytonosítás pillanatában észlelhető  $\mu_{pill}$ , akkor a mérlegegyenlet baloldán álló változás tag pozitív lesz, azaz a sejtkoncentráció növekedni kezd, a szaporodási sebesség pedig csökken, minaddig, amíg egyenlővé nem válik a  $D$ -vel. Egyre nagyobb  $D$ -ket vizsgálva eljutunk addig a pontig, amikor a  $D$  éppen egyenlő lesz  $\mu_{pill}$ -val. Ekkor a mérlegegyenlet két tagja éppen egyenlő, azonnal beáll az állandósult állapot. (Ezt nehéz eltalálni).

Még nagyobb  $D$  beállításánál a kimosás sebessége nagyobb, mint a szaporodásé, ez pedig a sejtkoncentráció csökkenését eredményezi, minaddig, amíg a szaporodás fel nem gyorsul annyira, hogy ellensúlyozza az elvételt. A fajlagos szaporodási sebességnek van felső korlátja ( $\mu_{max}$ ), ezt a technológiában is tiszteletben kell tartani. Ha ugyanis nagyobb hígítási sebességet állítunk be, mint a  $\mu_{max}$  értéke, akkor a tenyészet még a maximális szaporodási sebesség mellett sem tud annyi sejtet termelni, mint amennyit elveszünk. Ez azt jelenti, hogy nincs egyensúlyi, állandósult állapot, a sejtkoncentráció folyamatosan csökken, végül teljesen eltűnnek a sejtek rendszerből (kimosódás).

Ugyanezt a vizsgálatot elvégezhetjük a már korábban tárgyalt szakaszos sebességi görbén (30. ábra) is. Ezen a diagramon is feltüntettük az  $x_1$  sejtkoncentrációt, amely a görbe A pontjának  $x$  koordinátája. Kimutattuk, hogy az origóból az A ponthoz húzott egyenes iránytangense egyenlő az  $x_1$  sejtkoncentrációnál mérhető specifikus növekedési sebességgel ( $\mu_{pill}$ -val).

A beállított  $D$  értékeket is az origóból induló egyenesekkel (munkavonal) jellemezhetjük, amelyek kimetszik a görbén munkapontot, ahol a rendszer állandósult állapotban üzemelni fog. Ha az  $x_1$  sejtkoncentrációnál  $D = \mu$ , akkor a (16) egyenletről következik, hogy  $\frac{dx}{dt} = 0$ , azaz ilyen hígítási sebességnél azonnal állandósult állapot alakul ki, vagyis  $x_1$  sejtkoncentrációnál stabilizálódik a rendszer. Ha  $\mu > D$ , akkor  $dx/dt =$  pozitív, tehát a mikrobakoncentráció növekedni fog, ez azt jelenti a sebességi diagram alapján, hogy az A pontból a görbén lefelé mozdul el a rendszer. Ez viszont  $\mu$  csökkenését eredményezi ( $tg \alpha$  csökken), mindaddig, amíg az egyre csökkenő  $\mu$  egyenlővé nem válik  $D$ -vel. Itt ennél az új  $x$  értéknél stabilizálódik, állandósul a rendszer.  $\mu < D$  esetben  $dx/dt =$  negatív, ez az  $x$  értékének csökkenését jelenti,  $x$  csökkenése – az előzőekben elmondottak alapján a  $\mu$  növekedését eredményezi. Ennek a tartománynak azonban  $\mu_{max}$  a határértéke, tehát ha  $\mu_{max} < D$ , akkor nem érünk el stabil, állandósult állapotot, a rendszer ebben az esetben kimosódik.



30. ábra  
Folytonos fermentáció munkavonalának szerkesztése szakaszos tenyésztés sebességi görbéjén

Vizsgáljuk meg, hogy a hígítási sebesség hogyan befolyásolja a tápanyag koncentrációját a fermentorban. Mint már említettük (9). egyenlet), a  $\mu$  értéke függ az s-t l. A tápanyag a fermentorban  $S_0$  koncentrációban lép be, majd a reaktorból S koncentrációban távozik. A tápanyag-koncentráció változásának tényleges (nettó) sebességét a következő egyensúlyi egyenletből kapjuk meg:

növekedés = bevitel - kimosás - fogyasztás

$$\frac{dS}{dt} = D \cdot S_0 - D \cdot S - \frac{\mu \cdot x}{Y} \quad (17.)$$

mivel:  $\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y} \cdot \frac{dx}{dt}$  és  $\frac{dx}{dt} = x\mu$

A (16) és (17)-es képlet a folytonos tenyésztés alapegyenleteit fejezik ki. Ha a fenti egyenletekbe behelyettesítjük  $\mu$  értékeit, akkor:

$$\frac{dx}{dt} = x \left[ \mu_{max} \left( \frac{S}{K_s + S} \right) - D \right] \quad (18.)$$

$$\frac{dS}{dt} = D \cdot (S_0 - S) - \frac{\mu_{max} \cdot x}{Y} \left[ \frac{S}{K_s + S} \right] \quad (19.)$$

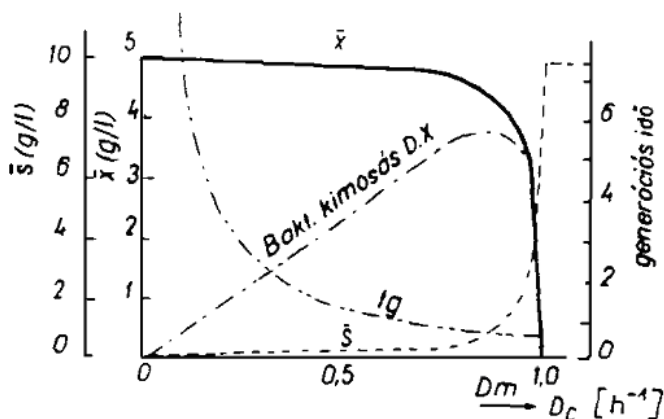
Ha állandósult állapotot tételezzük fel  $dx/dt = 0$ ,  $dS/dt = 0$ , és megoldjuk az egyenletet S-re és x-re, akkor az állandósult állapot mikroba (x) és szubsztrát (S) koncentrációja, az alábbi két egyenlettel definiálható:

$$S = K_s \cdot \left( \frac{D}{\mu_{max} - D} \right) \quad (20.)$$

$$x = Y \cdot (S_0 - S) = Y \left[ S_0 - K_s \left( \frac{D}{\mu_{max} - D} \right) \right] \quad (21.)$$

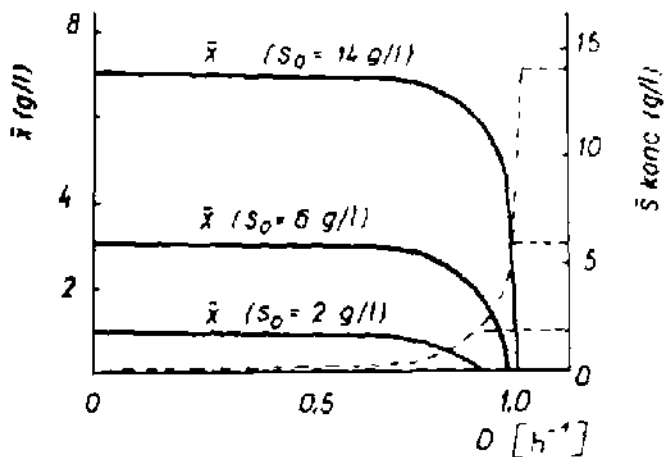
Ezekből az egyenletekből a sejtek és a szubsztrát állandósult állapotú koncentrációi a fermentorban előre becsülhetők, a D hígítási sebesség ill. a befolyó szubsztrát  $S_0$  bármilyen kísérleti értékénél, feltéve, hogy a mikroba növekedési konstansai,  $\mu_{max}$ ,  $K_s$  és Y ismertek.

Az állandósult állapot fenti két egyenletét grafikusán is lehet ábrázolni, amelyet az alábbi két diagram szemléltet (31. és 32. ábra).



Az állandósult állapot fenti két egyenletét grafikusán is lehet ábrázolni, amelyet az alábbi két diagram szemléltet (31. és 32. ábra).

31. ábra A folytonos fermentációs rendszer viselkedése a D függvényében



32. ábra A folytonos fermentációs rendszer viselkedése különböző  $S_0$  koncentrációknál

A (20) egyenlet szerint az állandósult állapot szubsztrát koncentrációja csak a hígítási sebességtől függ, mivel a képletben szereplő  $K_s$  és  $\mu_{max}$  értéke konstans. A mikroba állandósult állapotú koncentrációja ((21). egyenlet) nemcsak a hígítási sebességtől, hanem a friss táptalaj szubsztrát koncentrációjától ( $S_0$ ) is függ. Ha a különböző hígítási sebességeknél mérhet  $\bar{x}$  és  $\bar{s}$

értékeket nézzük, akkor azt láthatjuk, hogy elég nagy hígítási sebességváltozás ellenére a mikroba- és a szubsztrát-koncentráció értékei viszonylag állandóak maradnak. Ez úgy értelmezhető, hogy a hígítási sebesség növelésével fellépő baktériumkoncentráció-csökkenést a 31. ábrán is látható mikroba generációs idő ( $t_g$ ) csökkenés ellensúlyozza. A hígítási sebesség növelésével ugyanis a rendszerben levő mikroorganizmus generációs ideje jelentősen csökken. Bármely hígítási sebességnél tehát a tenyészet állandósult állapota következik be, amikor a tápanyagkoncentráció és a mikrobaszám állandó marad mindaddig, amíg a beáramló közeg összetétele és sebessége meg nem változik. Az állandósult állapotban a mikroba növekedési sebessége egyenlő a hígítási sebességgel ( $\mu=D$ ).

Látható, hogy ha a hígítási sebességet változtatjuk, de a beáramló szubsztrát koncentrációja közben állandó értéken marad ( $S_0 = \text{konstans}$ ), akkor az állandósult állapotok végtelen sora alakul ki, egészen a  $\mu_{max}$ -ig.

E felett a kritikus növekedési sebesség felett, ha a hígítási sebességet növeljük, a mikrobák kimosódása következik be. Ekkor ugyanis  $D_c$  egyenlő azzal a maximális  $\mu$  értékkel ( $\mu_{max}$ ), amely az adott rendszerben egyáltalán elképzelhető.  $\mu$  akkor maximális, amikor  $S = S_0$ , és ekkor:

$$D_c = \mu_{max} * \left( \frac{S_0}{K_s + S_0} \right) \quad (22.)$$

$$D_c = \mu_{max}, \quad \text{mivel:} \quad S_0 \gg K_s$$

Az is látható, hogy bizonyos hígítási sebesség tartományban a szubsztrát állandósult állapotú koncentrációja a fermentorban és így az elfolyó lében is igen kicsi. Tehát a szubsztrát csaknem teljesen felhasználódik. Csak a kritikushoz közelálló hígítási sebességnél jelenik meg az elfolyó fermentlében jelentős mennyiségben fel nem használt szubsztrát (31. ábra). Ha a sejtek eltávozását (azaz a sejtkoncentráció és a hígítási sebesség eredőjét ( $D \cdot x$ -et) a hígítási sebesség függvényében ábrázoljuk, akkor látható, hogy a görbe a  $D_m$ -nél maximummal rendelkezik, amely a sejtképzés optimális hígítási sebességének tekinthető.

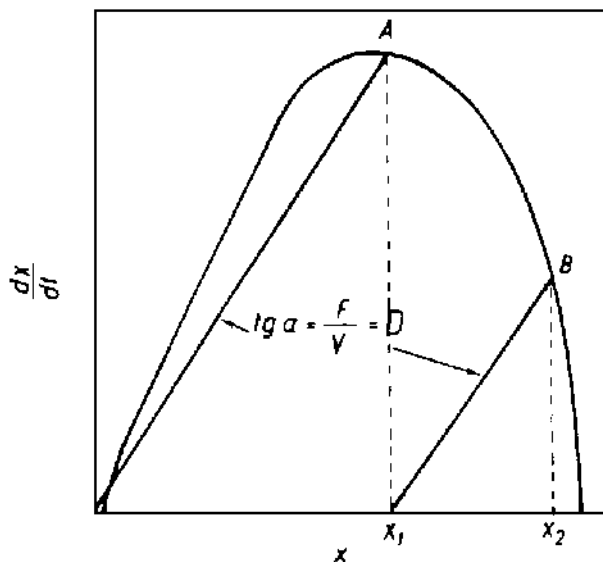
### 2.2.8 A szakaszos és a folytonos fermentáció kapcsolata

A szakaszos fermentáció kinetikai tanulmányozása során kapott adatokat ( $\mu_{max}$ ,  $K_s$ ,  $Y$ ) jól fel lehet használni a folytonos fermentáció elrebecslésére. A (20) és (21) egyenletből látható, hogy ha ezeket az adott fermentációra jellemző adatokat ismerjük és megadjuk a folytonos fermentációnál

belép táptalaj szubsztrát-koncentrációját ( $S_0$ ), akkor bármelyik hígítási sebességnél ( $D$ ) ki tudjuk számítani az állandósult állapot szubsztrát - ( $S$ ) - és mikrobakoncentrációját ( $\bar{x}$ ).

A szakaszos és folytonos fermentáció eredményeinek egybevetéséből ill. a szakaszos kinetikai eredményekből a folytonos rendszer viselkedésére vonatkozó becslésre egy másik, a reakciókinetikában általánosan használatos módszer is alkalmas. Ez a következő: a szakaszos tenyésztés során az idő függvényében meghatározzuk a mikrobaszám ( $x$ ) értékeket.

Ezekből az adatokból megszerkesztjük a  $dx/dt$ -t, a sebességi értékeket és ezeket ábrázoljuk az  $x$  függvényében (33. ábra). Az így kapott görbe alkalmas a folytonos fermentációs rendszer állandósult állapotú mikrobaszámának grafikus meghatározására. Ha ugyanis a szakaszos fermentációval teljesen azonos körülményeket (azonos levegőztetést, azonos kever fordulatszámot, azonos hőmérsékletet és fermentációs térfogatot) tételünk fel, akkor a tetszőleges hígítási sebességhez meghatározni az  $x$  értéket. Ha a hígítási sebességnek megfelelő iránytangens egyenest szerkesztünk az origóból kiindulva (munkavonal), akkor ez az egyenes a  $dx/dt$ - $x$  görbét az A pontban metszi (munkapont), és ehhez az A ponthoz tartozó  $x_1$  érték adja meg az első folytonos fermentorban mérhető baktériumkoncentrációt.



A sebességi diagram alkalmas többlépcsős, kaskád rendszer folytonos fermentációs rendszerek viselkedésének becslésére is. Az első lépcsőben kialakuló állandósult állapotú mikrobakoncentrációt ( $x_1$ -t) az előzőekhez hasonló módon kapjuk meg.

33. ábra A folytonos fermentáció becslése grafikus módszerrel

Ismételve ezt az eljárást,  $x_2$ ,  $x_3$  stb. értéket lehet kapni, amely mikrobakoncentráció értékek a 2,3,...,n-ik folytonos fermentorlépcsőben kialakuló állandósult állapotnak megfelelő  $\bar{x}$  koncentráció értékekre utalnak. Nyilvánvaló, hogy ha egy folytonos fermentoregységet tartalmazó láncban az egyik tag térfogatát megváltoztatjuk ( $V_1$ ,  $V_2$ ), akkor a grafikus szerkesztésnél ennek megfelelően megváltozik az egyenes hajlásszöge.

33. ábra A folytonos fermentáció becslése grafikus módszerrel

Az ismertetett grafikus módszer a következő megfontolásokon alapszik. Ismert (1. (16) egyenletet), hogy:

$$\mu = \frac{f}{V} = D = \frac{1}{x_1} * \left( \frac{dx_1}{dt} \right)$$

ill: 
$$\frac{dx_1}{dt} - \frac{f}{V} x_1 = 0$$

ebb l: 
$$x_1 = \frac{\frac{dx_1}{dt}}{\frac{f}{V}}$$

hasonlóan: 
$$\left( \frac{dx_2}{dt} \right) - \frac{f}{V} (x_1 - x_2) = 0$$

$$x_2 - x_1 = \frac{\left( \frac{dx_2}{dt} \right)}{\left( \frac{f}{V} \right)}$$

Ezzel a módszerrel tehát a többlépcsős folytonos fermentáció is méretezhető. A két hígítási sebesség nem feltétlenül azonos. Az átfolyó térfogatáramoknak azonosnak kell lenniük (anyagmegmaradás), ettől a D-k még különbözhetnek, ha a reaktorok térfogata különbözik. Nagyobb térfogatú fermentorban nagyobb a tartózkodási idő, azaz kisebb a hígítási sebesség.

### 3. Sterilizés

Sterilizés alatt azt a fizikai eszközökkel végrehajtott műveletet értjük, amelynek során a szerves anyagokban, rendszerint biológiai eredetű anyagokban levő élő mikroorganizmusok elpusztulnak. A sterilizálás talán az egyik legfontosabb biológiai ipari művelet. Az élelmiszeripar minden ága kiterjedten alkalmazza. A csíramentesítési eljárásoknak nagy jelentősége van a gyógyszeriparban is, ahol nemcsak az olyan ipari fermentációknál használják, ahol tiszta kultúrával dolgoznak (antibiotikumok, vitaminok, stb. előállításánál), hanem a kész gyógyszerek végső csíramentesítésénél is. A helytelenül végzett sterilizációs művelet óriási károkat okoz. Elég ezen állítás bizonyítására arra utalni, hogy ha egy konzervgyárban egyetlen autoklávban, egyetlen töltésnél a húskonzervet rosszul sterilizálják, és azok megromlanak, akkor sok százezer forint értékű anyag megy tönkre. Hasonló példa, ha egy gyógyszergyárban egy 100 m<sup>3</sup>-es fermentorban levő táptalajt hibásan sterilizálják és a fermentáció a fertőzés miatt nem zajlik le, akkor ez terméketlenül több millió forintos termékvesztést jelent. (A tönkrement nyersanyag ára ennek 10-60%-a.)

Csíramentesítésre fel lehet használni: hőkezelést, szűrést, sugárzási energiát, ultrahangot és bizonyos típusú kémiai ágenseket, dezinficiáló anyagokat is. Mivel ipari méretekben a hőkezelés eredményezi a legmegbízhatóbb sterilizálást - és egyben a legkönnyebben kivitelezhető eljárás is - ezért az ipari gyakorlatban a sterilizálásra jelenleg általában gőzfűtést használnak. A sugárzásos csíramentesítés egyelőre még nincs kellően kidolgozva, bár az újabb közleményekben biztató konzervipari felhasználási kísérletekről találunk leírásokat. A többi eljárás pedig elsősorban laboratóriumi szinten realizálható.

Minden hővel történő sterilizálásnál az a kérdés, hogy az anyagot milyen hosszú ideig szükséges bizonyos hőmérsékleten tartani, hogy a benne lévő mikroorganizmusok elpusztuljanak. Az élelmiszerkészítményekben előforduló legfontosabb inaktiválható mikroorganizmusokat foglalja össze az 5. táblázat.

A jó növekedés hőmérséklettartománya	Az élelmiszer savassága	
	3.7 < pH < 4.5	pH > 4.5
Termofilek (55 °C fölött)	<i>B. coagulans</i>	<i>C. nigrificans</i> <i>C. thermosaccharolyticum</i> <i>B. stearothermophilus</i>
Mezofilek	<i>C. butyricum</i> <i>C. pasteurianum</i> <i>B. macerans</i> <i>B. polymyxa</i>	<i>C. botulinum</i> A és B <i>C. sporogenes</i> <i>B. licheniformis</i> <i>B. subtilis</i>
Pszichrofilek (20 °C alatt)		<i>C. botulinum</i>

A mikroorganizmusok inaktiválásához szükséges időt matematikai módszerekkel határozhatjuk meg. Ehhez szükséges ismerni a hőhatását a mikrobákra és a hővel sterilizálni kívánt anyag (élelmiszer, tápoldat, gyógyszer) komponenseire. Két típusú információra van szükségünk:

1. ismerni kell a vizsgálati körülmények között a reakciósebességi állandókat
2. és ezek h mérsékletfüggését.

### 3.1 Reakciókinetikai alapok

A sterilizálás hatására bekövetkező bomlási, inaktiválódási reakciók jól ismertek. A mikroorganizmusok inaktiválódása, a tápanyagok és a minőségi faktorok- (szín, íz, stb. ), valamint az enzimek bomlása első rendű kinetika szerint megy végbe. Ez azt jelenti, hogy a bomlási sebesség arányos a kérdéses anyag (vagy mikroorganizmus) koncentrációjával. Mivel a mikrobapusztulás az alapja minden sterilizációs szánvitásnak, ezért mikrobainaktiválódással foglalkozunk, ezen keresztül mutatva be az első rendű kinetikát. Ennek matematikai megfogalmazása:

$$-\frac{dN}{dt} = k \cdot N \quad (1)$$

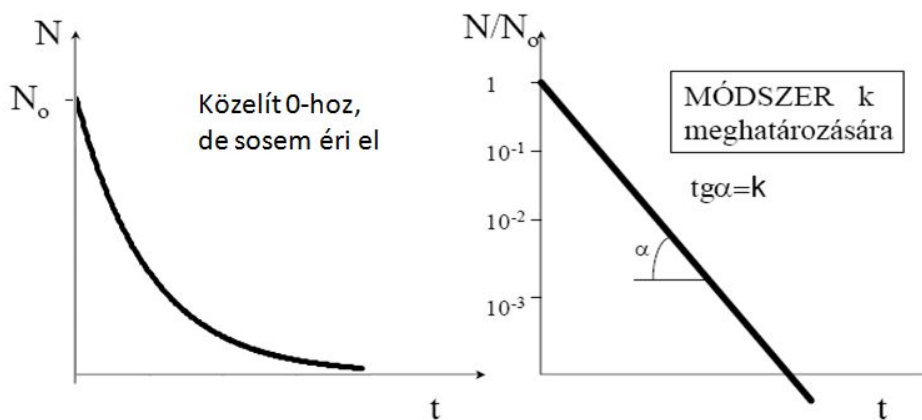
ahol  $N$  = a mikroba koncentráció, vagy a rendszerben lévő összes élő mikrobaszám  
 $k$  = reakciósebességi állandó (h pusztulási sebességi állandó)

A fenti egyenlet integrálva  $N_0$  és  $N$ , valamint  $t_0$  és  $t$  időhatárok között, kapjuk:

$$-\int_{N_0}^N \frac{dN}{N} = k \int_{t_0}^t dt$$

$$N = N_0 e^{-kt}$$

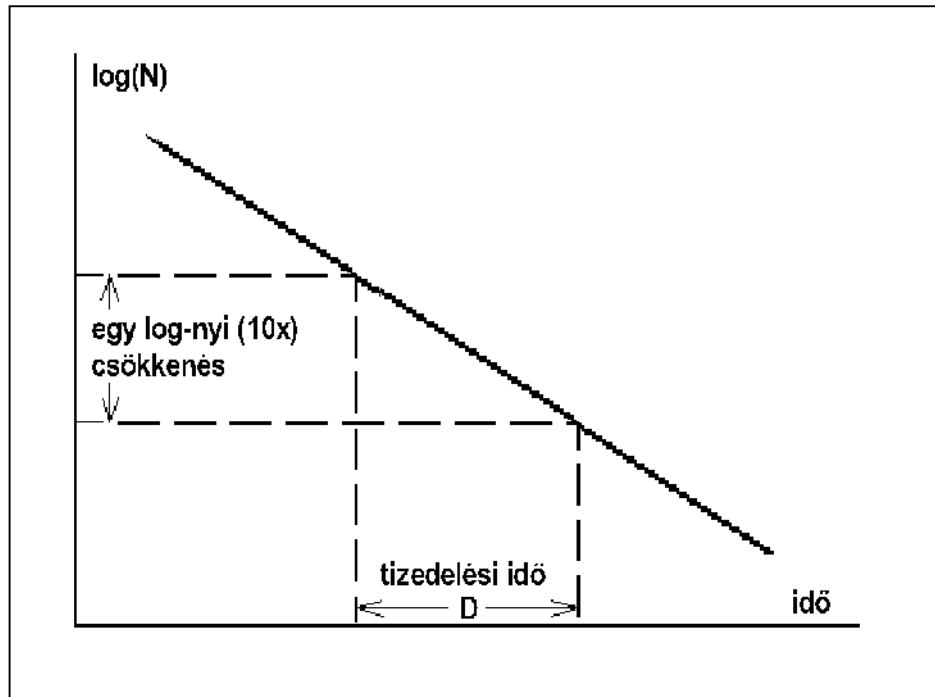
$$\ln \frac{N_0}{N} = k \cdot t \quad \text{vagy} \quad t = \frac{1}{k} \cdot \ln \frac{N_0}{N} \quad (2)$$



A (2) egyenlet grafikus képei láthatók a 34. ábrán.



A  $h$  pusztulás jellemzésére gyakran szokás a  $k$  helyett az ún. tizedelési idő  $t$  megadni:



Az ábrából és a (2) képletből világos, hogy az az idő, amely alatt a mikrobaszám egy tizedére csökken (azaz logaritmikus skálán egységnyit csökken):

$$D = \frac{2.303}{k} \quad \text{mivel} \quad D = \frac{2.303}{k} * \log \frac{100}{10} = \frac{2.303}{k} * 1 \quad (3)$$

(2,303 a tízes alapú és a természetes alapú logaritmus váltószáma.)

a  $k$  ill. a  $D$  értékét a (2) és a (3) egyenlet segítségével meghatározhatjuk egy adott  $h$  mérsékleten. Meg kell határozni a kezdeti ( $N_0$ ) és a  $t$   $h$  kezelési idő után életbemaradt ( $N$ ) mikrobaszámot. Az adatok ismeretében  $k$  és ebből  $D$  meghatározható. Néhány baktériumspóra  $h$  pusztulási sebességi állandójának ill. tizedelési idejének értékeit 121 °C-on a 6. táblázatban adjuk meg:

6. táblázat

Törzs neve	$k$ [perc <sup>-1</sup> ]	$D$ [perc]
<i>Bacillus subtilis</i>	3,8 - 2,6	0,6 - 0,9
<i>B. stearothermophilus</i>	0,77	3
<i>Clostridium sporogenes</i>	1,8	1,3

A 34. ábrán bemutatott túlélési v. mikrobapusztulási görbe egy adott  $h$  mérsékletre vonatkozik. A konzervek vagy egyéb készítmények sterilizálásánál a mikrobákat nem egy konstans  $h$  mérséklet hatásának tesszük ki, hanem a készítmények  $h$  mérséklete változik az időben. Ezért is ismerünk kell a  $k$  függését a  $h$  mérséklettől. Két módszer ismeretes a  $h$  mérsékletfüggés megadására:

1. az Arrhenius-egyenlet,
2. a  $h$  pusztulási idő görbe.

A reakciósebességi állandó hőmérsékletfüggését az Arrhenius egyenlet fejezi ki:

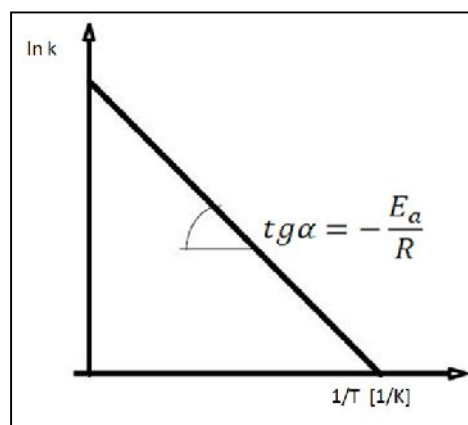
$$k = a \cdot e^{-E_a/RT} \quad (4)$$

ahol  $a$  = empirikus állandó (perc<sup>-1</sup>)  
 $E_a$  = aktiválási energia (Joule/mol)  
 $T$  = abszolút hőmérséklet (K°)

A (4) egyenletet logaritmálva:

$$\ln k = \ln a - E_a / RT \quad (5)$$

Az (5) egyenlet egy egyenes egyenlete ( $\ln k - \frac{1}{T}$  koordináta rendszerben), melynek tengelymetszete  $\ln(a)$  és iránytangense  $E_a/R$ . Néhány különböző hőmérsékleten ( $T$ ) megmért ( $k$ ) értékből regresszióval meghatározhatjuk az 36. ábrán látható egyenest és ennek segítségével bármelyik hőmérséklethez tartozó  $k$  értéket megkaphatjuk. A görbe meredekségéből a vizsgált mikroorganizmusra jellemző pusztulási aktiválási energia is kiszámítható.



36. ábra

Néhány baktériumspóra pusztulási aktiválási energiája a 7. táblázatban látható:

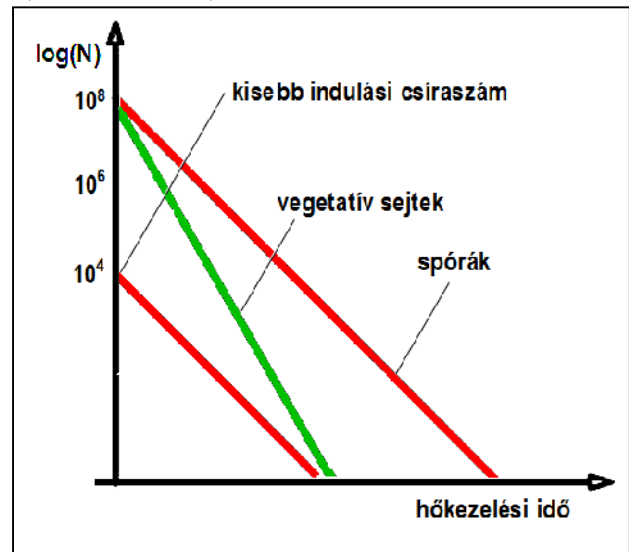
Törzs neve	$E_a$	
	kcal/mol	Joule/mol
<i>B. stearothermophilus</i>	67.4	$2.84 \cdot 10^5$
Anaerob putrefikáló (rothasztó) törzs	72.4	$3.03 \cdot 10^5$
<i>Clostridium botulinum</i>	82.1	$3.44 \cdot 10^5$

Két fontos, koncepcionális következménye van annak, hogy a mikrobák inaktiválódását a (2) logaritmikus egyenlet írja le:

1. minél kisebb a kezdeti baktériumkoncentráció, annál rövidebb a kezelési idő szükséges a kívánt végkoncentráció eléréséhez
2. a pusztulási görbe sosem érheti el  $N=0$  értéket.

Az első megállapítás azt jelenti, hogy egy standard hőkezelés elégséges, vagy elégtelen is lehet egy készítménynél a kezdeti csíraszámától függően (37. ábra). Pl.  $10^{10}$  sejtszámnál 30 perc, míg  $10^6$  kiindulási sejtszámmal fertőzött élelmiszereknél már 18 perc is elegendő azonos mérvű sterilizáció biztosításához. Az elmondottakból az következik, hogy az élelmiszereket és egyéb biológiai eredetű nyersanyagokat igyekeznünk kell úgy kezelni (pl. hővel), hogy a kezdeti csíraszámunk minél

kiseb legyen. Ekkor ui. rövidebb sterilizációs időre lesz szükség, ami azzal az elnyel is jár, hogy az élelmiszerekben nem következnek be nemkívánatos elváltozások (íz-, szín-változás, vitamin inaktiválódás. A (2.) egyenlet szerint ha  $N=0$ , akkor  $t$  (sterilizációs idő)  $= \infty$ , tehát  $N$  nem lehet nulla, mert akkor végtelen hosszú hőkezelést kellene alkalmaznunk. Ezért  $N$  értékre biztonsági okokból kis számot adunk meg ( $10^{-2}$ ,  $10^{-4}$ ), ez azt jelenti, hogy csak minden századik ill. ezredik rendszerben engedjük meg, hogy egy élő sejt maradjon a sterilizálás után. (Ebben az esetben  $N$  nem egyszerűen koncentrációt jelent, hanem a zárt egységre (konzervdoboz, fermentor) vonatkoztatott csiraszámot.) A zárt egység méretében igen nagy különbségek is lehetnek, az 1 cm<sup>3</sup>-es ampullától a 100 m<sup>3</sup>-es fermentorig. A negatív tízhatvány egyúttal valószínűséget is jelent, annak valószínűségét, hogy a sterilizálás az adott egységben nem sikerül. Az 37. ábra szemléletesen mutatja be a spórák és a vegetatív sejtek inaktiválódásához szükséges idő különbségét is.



37. ábra

Látható, hogy végtelen számú idő-hőmérsékletkombináció eredményezhet elfogadható kereskedelmi sterilitást. Az élelmiszerkészítmények gyártásánál azonban nemcsak a sterilitás, az eltarthatóság a cél, hanem a készítmények táplálkozási, minőségi jellemzőinek maximális megővése is. Ezért a minőségi jellemzőkben és a táplálkozási értékben szerepet játszó anyagok hőhatására bomlási, kinetikai adatait is szükséges ismernünk. A tapasztalatok szerint a hőmérséklet emelése a mikroorganizmusoknál gyorsabb inaktiválódást eredményez, mint a minőségi faktoroknál. Ezt a felismerést hasznosítják a nagy hőmérsékletű, rövid idejű hőkezelési eljárások. (Pl. 132 °C-on a mikroorganizmusok pusztulási sebessége minimum tízszerese, a tápanyagok bomlási sebessége pedig csak 2-3-szorosa a 121 °C-on mért értékeknek.)

### 3.2 A konzervkészítmények sterilizációja

Az élelmiszerek, konzervek hőkezeléses tartósításának alapvető technológiai m. velete abban áll, hogy a tartósítani kívánt élelmiszert fémdobozba, üvegbe légmentesen lezárva, olyan hőmérsékleten és annyi ideig hevítjük, ameddig az élelmiszerben levő mikroorganizmusok elpusztulnak. A túlzott hőhatás az élelmiszer eredeti sajátságait (állomány, élvezeti érték, íz, stb.) is megváltoztatja. Ezért a hőkezelési időt a biztonságos minimumra kell csökkenteni. Ebből a szempontból fontosak az előző fejezetben ismertetett hőpusztulási törvényszerűségek. A sterilizációs idő kiszámításához elengedhetetlenek azok az ismeretek, amelyek a konzervekbe való hőbehatolásra, penetrációra vonatkoznak. A konzervek sterilizálásának problémakörénél több kérdéssel kell foglalkozni:

- a) a konzervkészítmények hőpenetrációjával
- b) a szükséges sterilizációs idő meghatározásával

#### 3.2.1. Hőpenetráció

A zárt edényben (doboz, üveg) elhelyezett tartósítandó terméket forróvíz vagy gőz segítségével hevítik. A konzervdobozon belül uralkodó hőátadási viszonyok leírása nehéz. A legnagyobb probléma az, hogy az élelmiszeripari nyersanyagok nem egységesek. Még olyan esetben is, ha pl.

szilárd élelmiszerről van szó (májkrem, húskonzerv), az sok esetben sem összetételében, sem fizikai állapotában nem homogén. Még bonyolultabb a helyzet, ha egy dobozon belül darabos, szilárd részek mellett folyékony fázis is jelen van.

Az esetek túlnyomó többségében a hő mind vezetés, mind áramlás útján terjed, azonban a kétféle hőterjedés aránya változó lehet. Szilárd anyagoknál, amelyek főleg csak vezetés útján melegednek, el kell nyomnia azokat rázni, forgatni, ugyanis akkor áramlásos hővezetés is bekövetkezik.

A hő behatolást számos tényező befolyásolja:

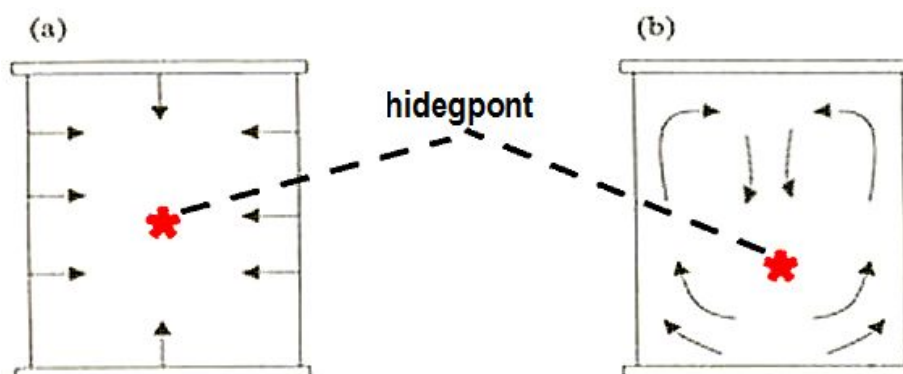
a) a termék fizikai sajátosságai. A termék sűrűsége, viszkozitása nagy hatással van a felmelegedés gyorsaságára. A cukortartalom, de még inkább a keményítő és egyéb kolloid oldatot eredményező anyagok jelenléte csökkenti a hőterjedést a dobozban. Hasonló hatása van a szilárd konzervkomponenseknek is.

b) A hevítendő anyag és a hevítő tér közötti hőfokkülönbség a hőterjedés egyik legfontosabb tényezője. Minél kisebb ez a különbség, annál lassúbb a hőterjedés. Ahogy a termék melegszik, úgy ez a különbség csökken, végül a folyamat teljesen lelassul és a hevítendő anyag hőfoka aszimptotikusan közelíti meg a hevítő tér hőmérsékletét. Ha tehát gyorsítani akarjuk a hőterjedést, és így csökkenteni a kezeléshez szükséges időt, akkor a külső tér hőfokát kell növelni.

A hőterjedést a konzerv-edény anyaga és nagysága is befolyásolja. Az edény anyag fém vagy üveg szokott lenni. Az üveg rossz hővezető, így lassan enged át a hőt. Az edény anyaga olyan termékénél jön komolyan számításba, ahol termék belsejében a hőtranszfer áramlásos úton történik, tehát gyors a hőközlés. Ilyen esetben az edény hővezető képessége a hővezetés sebességét megszabó korlátozó tényező. Ilyen termékek például a borsó, ennél a konzervnél ugyanis a szemeket szabadon mozgó folyadék veszi körül. Itt üvegedényben gyakran kétszer hosszabb hőkezelés szükséges, mint a fémdobozos konzervnél. Ahol a hőterjedés az edényben első sorban vezetéssel történik, például a húskészítménynél, ott az edény anyaga nem játszik nagy szerepet.

Az edény nagyságától is függ a hőbehatolás sebessége. Nagyobb térfogatnál hosszabb hevítési idő szükséges. Az elmondottakat a hőbehatolási görbék segítségével lehet kvantitatívan leírni.

Mielőtt azonban ezek tárgyalására térnénk, meg kell ismerkednünk a hidegpont fogalmával. A konzervedényben belül a hőmérsékleteloszlás nem egyenletes, adott pillanatban az egyes pontok hőmérséklete különböző. Tehát a hőmérsékletváltozás nemcsak az időnek, hanem a helyzetnek a függvénye. Egy edényben belül hidegpontnak azt a pontot nevezzük, melynek a hőmérséklete adott felmelegítési körülmények között a legalacsonyabb. A hőbehatolás mérésekor tehát feltétlenül meg kell határozni a hidegpont hőmérsékletét a hőkezelési időfüggvényében, és a sterilizálás számításánál ennek a pontnak a hőmérséklet alakulásából kell kiindulni.

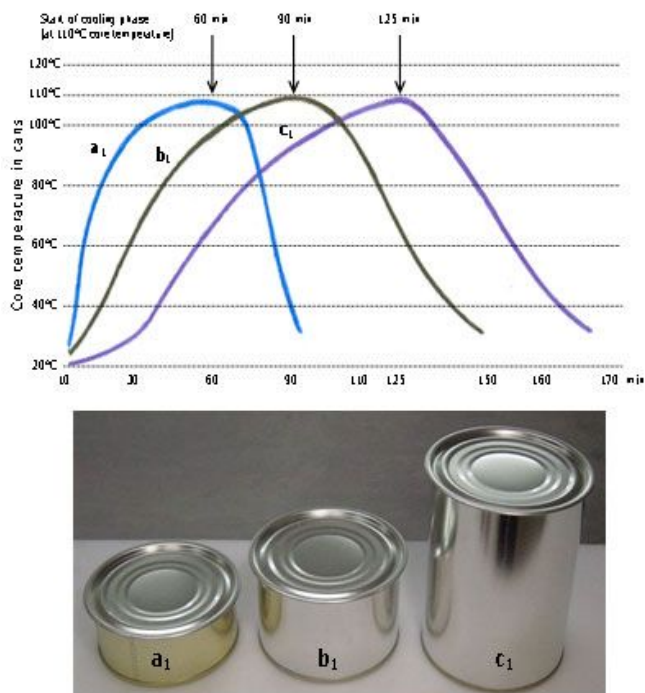


38. ábra

A hidegpont helyének meghatározása a hővezetés útján melegedő termékénél a legkönnyebb, akkor ugyanis ennek a helye az edény geometriai középpontja. Amennyiben a hőátadás áramlás útján történik, akkor a viszonyok bonyolultabbak.

Tekintve, hogy az áramlás során a nagyobb  $h$  mérséklet folyadék részek (kisebb  $s$   $r$  ség!) a doboz teteje felé áramlanak. Az edényben cirkuláció jön létre, a tengelyben lefelé áramló folyadék a hidegpontot lefelé mozdítja el. Ekkor a hidegpont a rendszer geometriai tengelyvonalában, a fenék közelében található. Ilyen esetekben, és különösen a többkomponens konzerveknél, a hidegpont helyének pontos megállapítása csak kísérleti úton történhet. Erre a célra kis méretű elektromos  $h$  mérőket építenek be a készítménybe, amelyek folyamatosan mérik az egyes pontok  $h$  mérsékletét a sterilizálás m velete során.

A  $h$  behatolási görbe a hevített termék egy-egy pontjának  $h$  mérsékletváltozását mutatja a  $h$  kezelési idő függvényében. Sterilizációs szempontból természetesen legfontosabb a hidegpont  $h$  behatolási görbéjének ismerete. A görbék szerkesztése történhet empirikus úton úgy, hogy az adott ponton mért  $h$  mérsékletet ábrázoljuk az idő függvényében. De történhet számítás segítségével is, amikor a  $h$  kezelés paramétereinek és az anyag  $h$  technikai tulajdonságainak ismeretében matematikai összefüggések segítségével kapjuk meg a kérdéses  $h$  mérsékleti értékeket.



39. ábra

A tartósítandó konzerv  $h$  kezelését jellemző  $h$  mérséklet görbe három szakaszra osztható. Az első rész a felmelegedés időszaka, amikor a konzervdoboz tartalma a kiindulási  $h$  mérsékletre  $t_1$  a mikroorganizmusok  $h$  pusztulásához szükséges  $h$  mérsékletre emelkedik. A következő szakasz az ún. tartási szakasz, amely során a  $h$  mérséklet állandónak vehető, és végül a harmadik a befejező vagy  $h$  tési szakasz, amikor is  $h$  téssel a konzervet a sterilizációs  $h$  mérsékletéről a tárolás  $h$  fokára  $h$  tik.

### 3.2.2 A $h$ kezelési idő meghatározása

Amint már említettük a konzervek sterilizálásánál a konzervdobozokban jelenlevő összes mikroorganizmust el kell pusztítani. Ehhez tehát az edényt bizonyos  $h$  mérsékleten meghatározott ideig kell  $h$  kezelni. Kérdés, hogy az edényeket milyen hosszú ideig kell a  $h$  hatásnak kitenni ahhoz, hogy biztos sterilítást érjünk el.

### 3.2.3 $H$ kezel berendezések

A sterilizációt és ennek megfelelően a sterilizációs berendezéseket is többféle elv szerint lehet osztályozni, egyrészt különbséget lehet tenni aszerint, hogy a sterilizációt  $100^\circ\text{C}$  alatt, vagy felett véghezvük. A forráspont alatt végzett sterilizációs eljárásokat pasztörizációnak is szokás nevezni.

Ennek lényege az, hogy a tartósítandó terméket csak kíméletesebb, enyhébb  $h$  kezelésnek vetik alá, amely a jelenlevő mikroorganizmusok vegetatív alakjait feltétlenül elpusztítja, de a spórák egy része életben marad. Ez azt is jelenti azonban, hogy a pasztörizáció nem eredményez teljesen steril árut, azaz teljesen biztos tartósságot. A pasztörizált tej néhány napig, a sör néhány hétig-hónapig tartható el, azután megjelenhetnek benne a túlélő spórákból kicsírázott mikroorganizmu-

sok. 100 °C felett végzett 'igazi' sterilizálás természetesen a spórák baktérium alakokat is teljesen inaktiválja, ez az eljárás tehát teljeskörű sterilizálást eredményez.

A sterilizálási módok osztályozását aszerint is elvégezhetjük, hogy a hevítendő anyag egy tömegben, vagy kis edényekbe adagolva kerül sterilizálás alá. Ennél a felosztásnál általában az első csoportba folyékony halmazállapotú, szivattyúzható termékek (tej, gyümölcslé, sör, stb.) tartoznak, míg a második csoportba dobozolt, vagy üvegbe rakott konzervek.

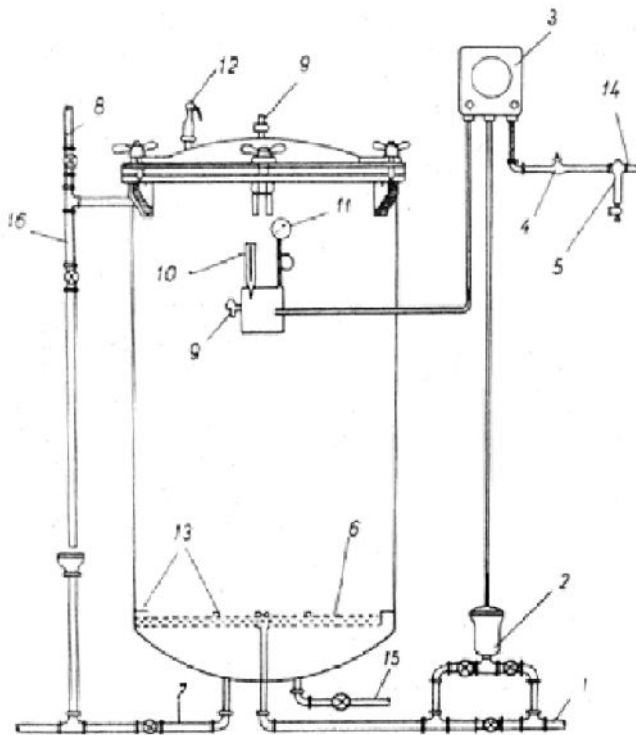
### 3.2.3.1 Pasztörizációs berendezések

A pasztörizálásnál általában a terméket 65-95 °C-ra melegítik fel, és ezen a hőfokon tartják elírt ideig. A pasztörizálás csak kis pH-ju termékeknél szokás alkalmazni pl. befőttknél, gyümölcsleveknel, paradicsomnál, tejnél stb. A módszer alkalmazhatóságának további feltétele az, hogy a készárút olyan körülmények között kell tárolni a felhasználásig, amely az életben maradt spórák csírázását és az így képződött baktériumok elszaporodását megakadályozza. (Hűtőház, a tejtermékeknel alkalmazott hűtési lánc.)

Újabban egyre szívesebben alkalmazzák az ún. gyors pasztörizációt (pillanatpasztörizációt), melynél olyan készüléket használnak, amelyben a termék hőmérséklete jóval 100 °C fölé emelkedik, de ez csak néhány másodpercig tart. Ez a mód csak a nevében pasztörizálás, hatásában sterilizálás. Éppen ezért a pasztörizálás és a sterilizálás közötti különbséget az újabb megfogalmazás szerint nem abban látjuk, hogy 100 °C alatt, vagy az felett történik-e a hőkezelés, hanem, hogy a hőkezelés teljes sterilizálást, vagy csak fiziológiailag inaktív alakokra kiterjed, tehát csak részleges sterilizálást eredményez-e.

### 3.2.3.2 Sterilizációs berendezések

A 100 °C feletti hőkezelésnél a folyadékállapot csak nyomás alatt tartható meg, tehát teljesen zárt rendszerben történik. Az erre a célra használatos készülékek közül csak az autoklávval foglalkozunk.



40. ábra  
Állóhengeres autokláv

Az autokláv a legegyszerűbb, a legrégebbi, a legkisebb felhasználás és más szempontból is a legrosszabb sterilizációs berendezés. A hagyományos konzervgyárak azonban még ma is nagyon gyakran használják ezt az elavultnak mondható, szakaszos hőkezelési eljárást. Az autokláv álló vagy fekvő hengerből áll, mely henger nyomásbiztosan lezárható, és az 40. ábrán látható szerelvényekkel van ellátva.

40. ábra  
Az állóhengeres autokláv szerelvényei



Jelölések:

- |                           |                              |
|---------------------------|------------------------------|
| 1. g z                    | 9. légtelenít szelep         |
| 2. szabályozószelep       | 10. h mér                    |
| 3. szabályozó m szer      | 11. manométer                |
| 4. redukáló-szelep, leveg | 12. biztonsági szelep        |
| 5. légsz r                | 13. autokláv-kosár támasztók |
| 6. g zelosztó             | 14. leveg a szabályozóhoz    |
| 7. vízelvezetés           | 15. víz                      |
| 8. kifúvató               | 16. túlfolyó.                |

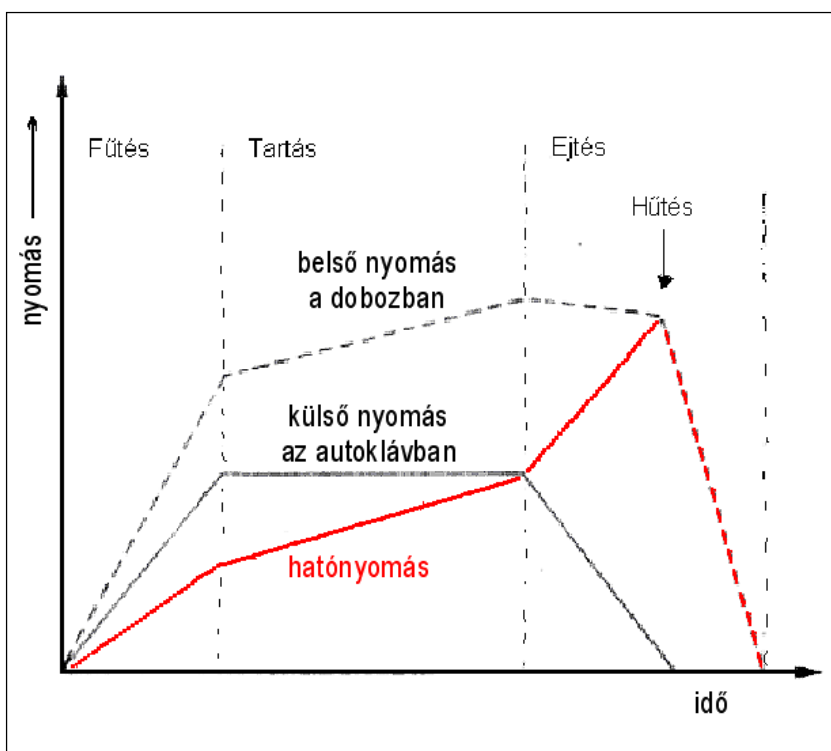
Az autokláv szokásos mérete 100-1500 liter, ezért nagyobb teljesítmény eléréséhez 10-20 autokláv egységbe álló csoport is szükséges lehet. A dobozolt konzervek sterilizálása a következőképpen történik: a dobozokkal megrakott autokláv kosarakat, elektromos szállítóberendezéssel berakják az autoklávba, melybe el z leg 1/3 magasságig vizet engedtek, és a vizet g z bevezetésével felforralták. Ezután az autokláv fedelét lezárják, és a szorító csavarokat szorosra meghúzzák, majd kinyitják a légtelenít szelepet és a g z szelepet. A beöml g z kihajtja a leveg t az autoklávból. Amikor a légtelenít szelepen már csak g z áramlik ki, ezt a szelepet is lezárják és folytatják a felmelegítést egészen az el irt h mérsékletig (felmelegítési szakasz). A telített g z h mérséklete és nyomása közötti összefüggést a 11. táblázat tartalmazza.

11. táblázat

A telített g z absz. nyomása (ata)	A telített g z túlnyomása (atü)	A telített g z h - foka C°
1,0	0,0	100
1,25	0,25	105
1,5	0,5	111
1,75	0,75	117
2,00	1,0	120
2,25	1,25	126
2,5	1,5	128

Ha elérték a sterilizálás el irt h mérsékletét, azt meghatározott ideig állandó értéken tartják (tartási id ). A h mérsékletet állandóan ellen rzik és a g z hozzávezetésével szabályozzák. A sterilizálási id eltelte után a g z szelepet lezárják és a kifúvató szelepen keresztül a g zt el irt id alatt fokozatosan leengedik (ejtési szakasz). Ezután a dobozokat hideg vízzel leh tik. A hideg vizet közvetlenül az autoklávba vezetik és ebb l egy túlfolyón keresztül folyik ki. Másik megoldás szerint a dobozokat az autoklávból kosárral együtt kiemelik és hideg vizes zuhannyal h tik le.

A doboz belsejében sterilizálás közben mindig nagyobb nyomás uralkodik, mint amennyi az autokláv térben van. A dobozban maradt bezárt leveg nyomása ugyanis hozzáadódik a bels rész h mérsékletének megfelelő vízg znyomáshoz. A dobozon belüli- és az autoklávban lev nyomás különbsége az úgynevezett hatónyomás, ami belülr l kifelé ható igénybevételt gyakorol a doboz anyagára. A nyomás viszonyok alakulását egy autoklávban az 41. ábra mutatja. Az autokláv nyomás csökkenési, ejtési periódusában láthatjuk a hatónyomás csúcsát. Ennek az oka, hogy a doboz csak lassan h l le. Ez az igénybevétel néha a doboz, vagy üveg szétrobbanását, deformálódását (bombásodás) esetleg zárásfelszakadást eredményezhet.



A hatónyomást két úton lehet csökkenteni:

- ha a konzervek lezárását forrón vagy vákuumban végzik,
- ha az ejtési szakaszban túlnyomást alkalmaznak az autoklávban. Ezt vízzel vagy sűrített levegővel lehet megoldani. Ez azt jelenti, hogy a hűtési periódus elkezdésekor, amikor a gőz kezdi kiengedni, egy másik ponton komprimált levegőt vezetnek az autoklávba, és így a benne uralkodó nyomás állandó marad, mert az eltávozó gőz helyét a sűrített levegő foglalja el. Ezzel párhuzamosan folyik a konzervdobozok vizes hűtése.

41.ábra Nyomásviszonyok a sterilizálás során

### 3.2.3 Fermentációs tápoldatok sterilizálása

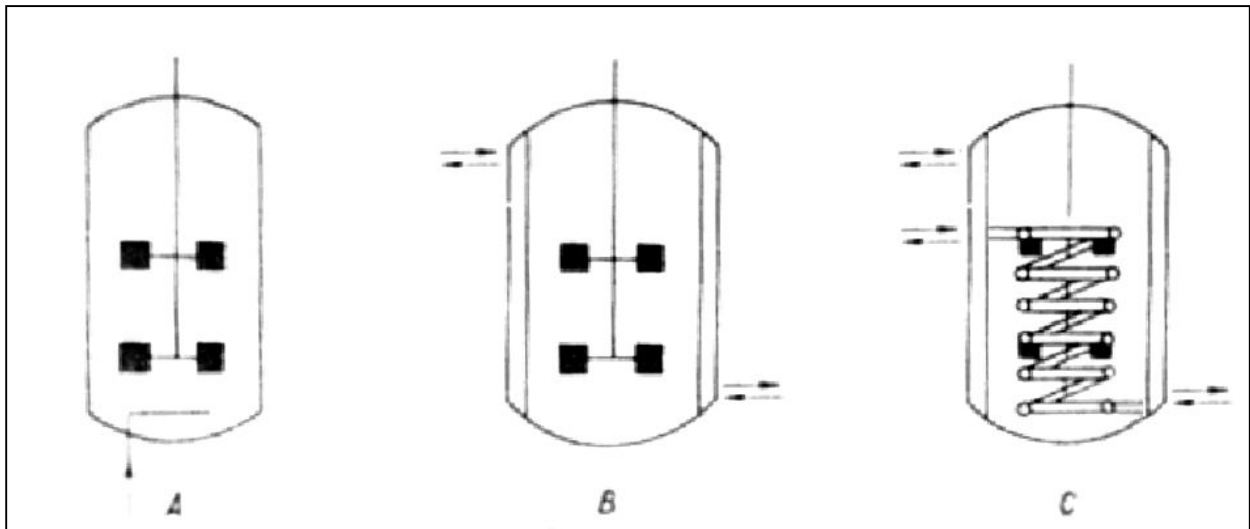
A fermentációs tápoldatok sterilizálásának az olyan ipari fermentációknál van jelentősége, ahol egy kiválasztott és „feljavított” mikrobatorzset szaporítanak a vad törzsek kizárásával. A tápoldatokat kétféle technikával lehet sterilizálni:

- szakaszos sterilizációval
- folytonos sterilizáló berendezésben.

#### 3.2.3.1 Tápoldatok szakaszos sterilizálása

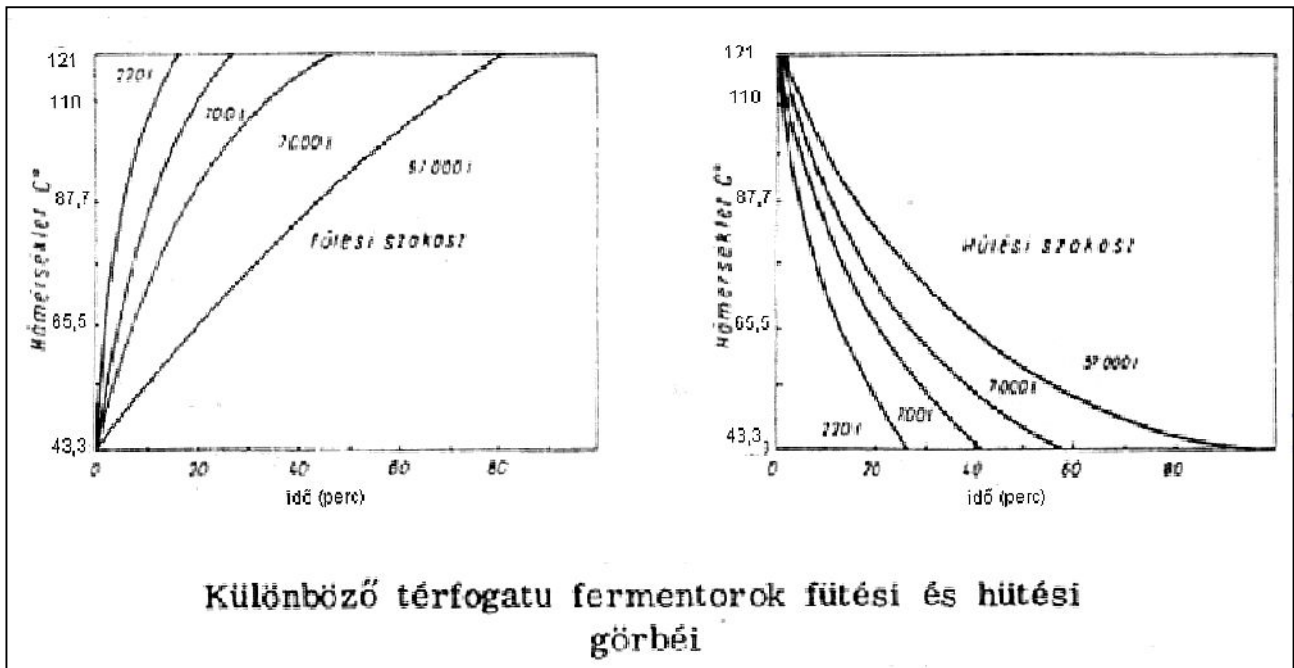
A tápoldatok sterilizálásánál kisebb térfogatoknál leggyakrabban a szakaszos sterilizációs módszert alkalmazzák. A tápoldatot ilyenkor megfelelő összetételben a fermentorba töltik, így a fermentor belsejét, a szerelvényeit és a tápoldatot egyszerre sterilizálják. A sterilizálásnál alkalmazható fűtési és hűtési rendszereket a 42. ábra foglalja össze. Látható, hogy lehet közvetlen gőzbevezetéssel (A) és hűtő felületen keresztül: duplikátoros (B) vagy csigás megoldással (C) is hűtést bevezetni. A gőzbevezetésnél természetesen figyelembe kell venni a gőz kondenzálódásából adódó hígulást, illetve a gőzbevezetés esetleges szennyező anyagokat. A duplikátoros megoldást önmagában csak kisebb, néhány köbméteres fermentoroknál használják, a nagyobbaknál ki kell egészíteni a csigás megoldással. Hűtésnél szintén duplikátoros és/vagy csigás megoldást lehet alkalmazni. A hűtésre és fűtésre ugyanazokat a hűtő felületeket használják (B, C.)





42. ábra Fermentork h közlési megoldásai

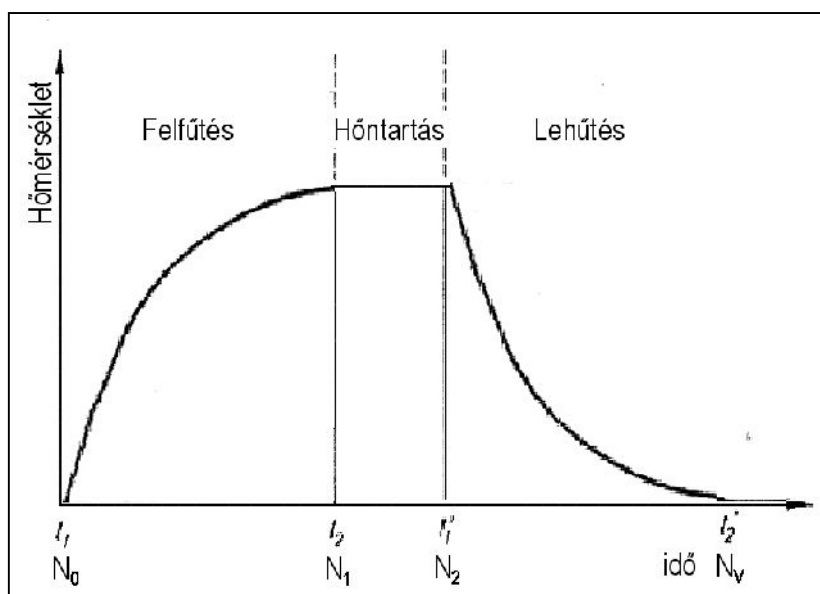
A szakaszos sterilizésnél az egész rendszert (tápotdat+fermentor) meghatározott ideig bizonyos  $t_h$  mérsékleten kell tartani. Jelentékeny azonban az az idő, amely a sterilizési  $t_h$  mérséklet eléréséhez, és - a sterilizési idő letelte után - a fermentációs  $t_h$  mérsékletre való lehűtéshez szükséges. Ez a  $t_f$  tési, illetve  $t_h$  tési ciklus nagytérfogatú fermentoroknál hosszabb, mint maga a sterilizési idő. A 43. ábrán a különböző térfogatú fermentorok fűtési, illetve lehűtési idő-diagramjai láthatók. A  $t_f$  tés  $43^\circ\text{C}$ -ról indul, mivel a táptalaj készítésénél meleg vizet használnak. A különbségek a  $t_h$  átadási viszonyok romlásával magyarázhatók. A lépték növelésénél a térfogat a lineáris méret harmadik hatványa szerint növekszik, a felület, amin keresztül a  $t_h$  átadódik, viszont csak a második hatvány szerint. Emiatt a nagy készülékek  $t_h$  átadása rosszabb, mint a kisebbeké. A  $t_f$  t felület növelése, például cs kigyók formájában, vagy a közvetlen g z befúvatás javít valamit, de így sem lehet a csökkenést teljesen kompenzálni. A  $t_f$  tési és a  $t_h$  tési periódus hossza a nagy térfogatoknál jelentősen megnyúlik.



54843. ábra

Szakaszos sterilizésnél a szükséges  $h$  kezelés meghatározása azért bonyolultabb, mert a  $h$  mérséklet időben változik, és ezzel a  $h$  pusztulás sebessége is változik. A felfűtési és a lehűtési szakaszt nem hagyhatjuk figyelmen kívül, mert ezek alatt is pusztulnak a mikrobák. Általában a 100 fok feletti szakaszt szokták figyelembe venni, alacsonyabb  $h$  fokon a  $h$  pusztulás elhanyagolható.

A három szakaszt külön vesszük számításba, és az eredeti pusztulást ezek összegeként írjuk fel.



44. ábra

A szakaszhatároknál bevezetjük az  $N_1$  és  $N_2$  közöttes élő csíraszámot. Eredeti egyenletünk így három tagra bontható:

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

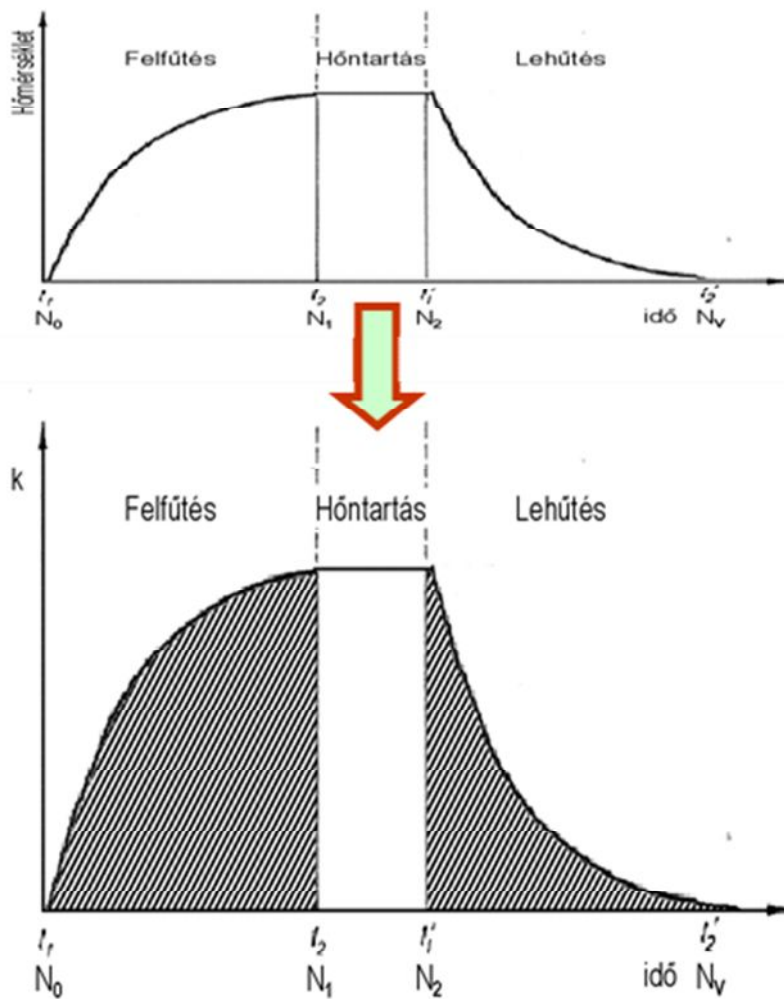
A három tag felírható k·t szorzatok összegeként:

$$\ln \frac{N_0}{N_v} = k_f \cdot t_f + k_h \cdot t_h + k_l \cdot t_l$$

A hőntartási szakasz ténylegesen egy egyszerű szorzat, hiszen itt a  $k$  értéke állandó. A felfűtési és lehűtési szakaszban viszont a  $k$  érték változik, így szorzat helyett integrált kell helyettesíteni:

$$k \cdot t = \int k(T) dt$$

Ehhez viszont szükség van a  $k - t$  függvényre. Ezt a megmért hőmérséklet – idő görbéből (hőpenetrációs görbe) származtathatjuk. Minden egyes hőmérséklet értékhez numerikusan hozzárendeljük azt a  $k$  értéket, amit a standardként használt, nagyon ellenálló mikroorganizmusokra már kimértek és a kézikönyvekben megtalálható. Így átszerkesztjük a T-t görbét k-t görbévé, amit adatsor formájában kapunk meg. Ez már numerikusan integrálható, a görbe alatti területek adják a k·t értékeket.



45. ábra

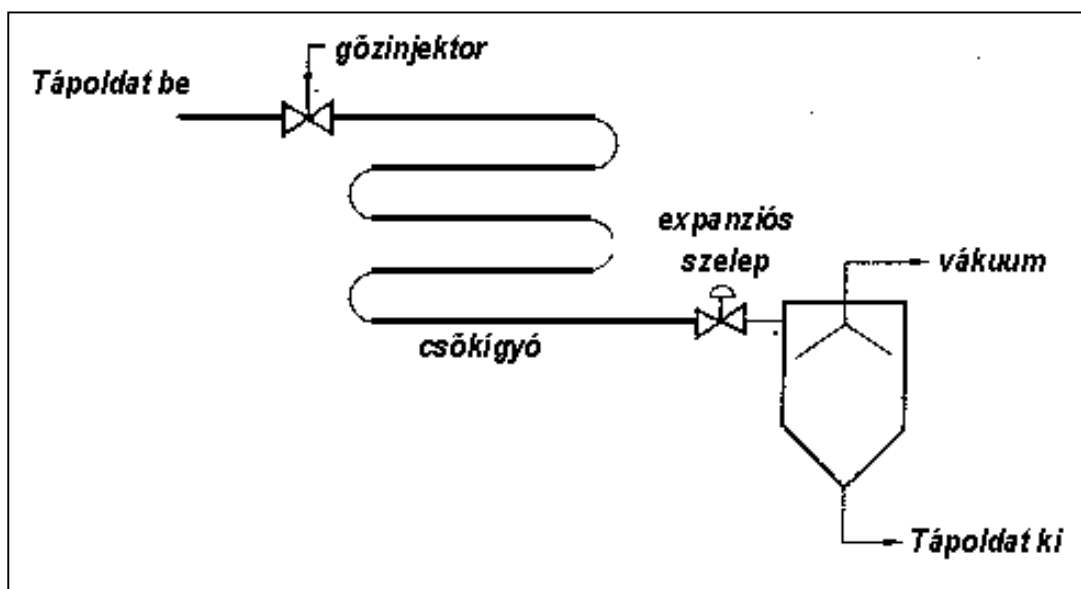
A méretezési feladat általában fordított. Nem a végső csíraszámot keressük, hanem egy előre meghatározott végső csíraszám eléréséhez szükséges hőkezelést számoljuk. Ebben az esetben a hőtartási szakasz hosszának meghatározása a feladat. A felfűtési és lehűtési szakaszon mérnökiileg nem lehet sokat változtatni. Adott készülékben, adott hőmérséklettel, illetve a vízrel kell dolgozni, így nincs sok mozgástér a technológiában. Az egyedüli szabadon változtatható paraméter a tartási idő hossza.

A sterilizációnál a hőnek nemcsak kedvező hatása (baktérium pusztulás), hanem kedvezőtlen, negatív hatása is van. A legtöbb táptalaj esetén a túlzott hőkezelés csökkenti a kívánt termék koncentrációját, illetve a termékképzés sebességét, ezért a sterilizációs időt ésszerű minimumra kell csökkenteni. A táptalaj bizonyos komponensei ugyanis hő hatására bomlanak, pl. a B-vitamin komponensek inaktíválódnak. Szakaszos sterilizációnál nem lehet a csíramentesítést a tápközeg tápértékének jelentékeny vesztesége nélkül elvégezni, mivel a szokásos üzemi fermentor nem engedi meg nagyobb hőmérséklet, illetve nagyobb nyomás alkalmazását. Nagyobb hőmérsékleten ugyanis a növekedési faktorok, illetve vitaminok inaktíválódásának sebessége kisebb, mint a baktérium pusztulási sebessége. A nagyobb hőmérsékleten történő sterilizáció elnyeli a folytonos sterilizációnál hasznosíthatjuk.

### 3.2.3.2 Tápoldatok folytonos sterilizációja

Tárgyaltuk, hogy a nagyobb méretű fermentoroknál a felfűtési és lehűtési idő jelentősen megnő. Ez rontja a gazdaságosságot, mert ezeknek az óriási, drága készülékeknek az üzemórája olyan költséges, hogy ezt nem érdemes hűtésre „fecsérelni”. Ezért dolgozták ki a folyamatos tápoldat sterilizációt, aminek az a lényege, hogy a tápoldatot és az üres fermentort külön sterilizik és a csírámentes tápoldatot a már steril fermentorba vezetik. A folyadék sterilizációja átfolyó rendszerben, folyamatosan történik. A folyamat három szakasza nem időben, hanem térben követi egymást. Ez a sterilizációs módszer egyre népszerűbb lesz, mivel sok elnyel rendelkezik a szakaszos eljárással szemben. A folytonos tápoldat sterilizációját a két alaptípusát mutatjuk be:

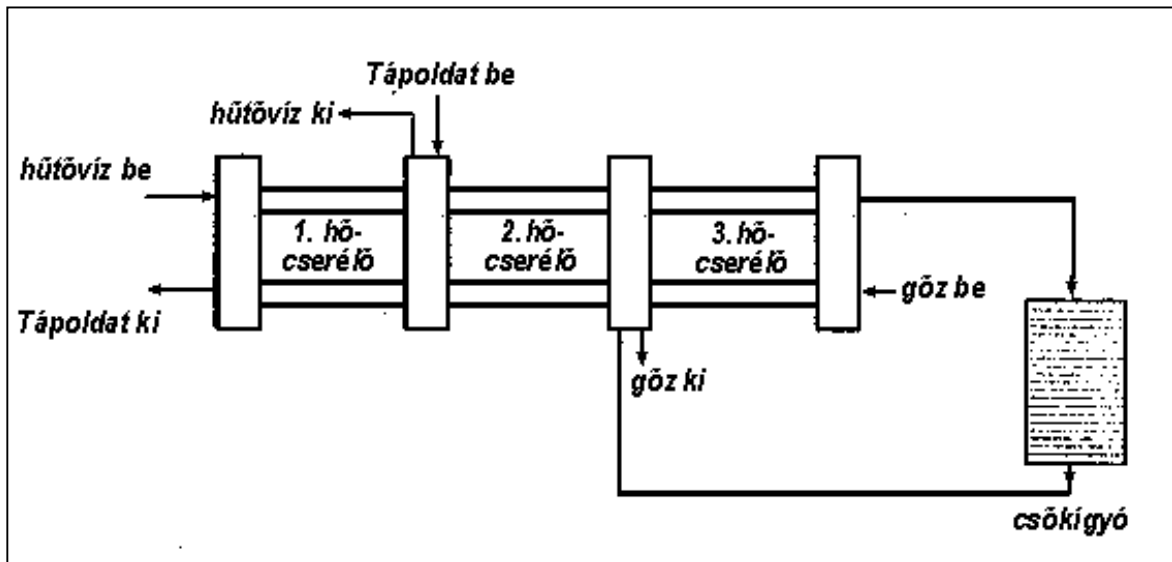
A gőz-injektoros típusú sterilizációban (A) a tápoldat egy gőz-injektoron halad keresztül, ahol a különleges kialakítású szelep gőzt kever a folyadékhoz. A gőz azonnal lekondenzál és a kondenzációs hőjét teljes egészében átadja a folyadéknak. Ekkor a hőmérséklet pillanatszerűen a sterilizációs hőmérsékletre (135-140 °C) emelkedik. A nyomás ennek megfelelően 3-3,5 bar. A második szakasz a hőtartás, ezt egy hőszigetelt csőhálózatban tartják a tápoldatot, az áthaladás ideje adja a hőtartási időt. A hőmérséklet megint hirtelen hirtelen megváltozik, pillanatszerűen megkezdődik. A nagy nyomású, forró folyadék egy expanziós szelepen keresztül vákuumtérbe lövell, ahol egy jelentős része elpárolog, ezzel elvonja a hőt. A gőzt a vákuumszivattyú távolítja el, a folyadék a tartály aljában gyűlik össze. A folyadék kb. 80 °C-ra hűl, a továbbiakban vagy hőcserélőn átengedve, vagy a fermentorban kevertetve hűtik a fermentációs hőmérsékletére.



46. ábra

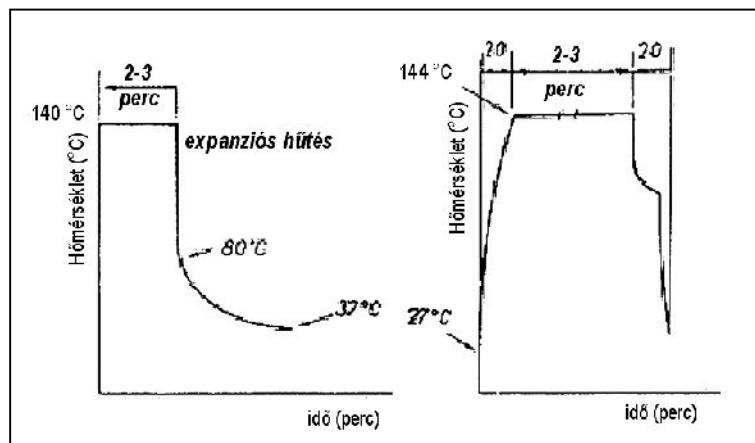
Egy másik megoldás a hőcserélést az igen jó hőátadású lemezes hőcserélővel oldja meg. Ezt a megoldást a tejiparból vették át („ultrapasztörzés”) és egyre szívesebben alkalmazzák a fermentációs iparban is.

A hideg oldatot a 2. hőcserélőben előmelegíti a forró, steril tápoldat. A 3. egységben gőzfűtéssel másodpercek alatt eléri a 140-145 °C-ot, ezt a hőmérsékletet a csőhálózatban áthaladva ~2 percig tartja, majd két lépésben lehűti. Először a 2. egységben adja át a hőmérsékletét egy részét, majd az 1.-ben hűtővízzel hűtik le a kívánt hőmérsékletre. Ez a kialakítás hőátadási teljesítmény szempontjából kissé kedvezőlebb, mint az gőz-injektoros, mert a hőcserélő fém fala ellenállást jelent a hőútjában. Ugyanakkor a hőcserélőben a bevitt hő nagy részét vissza lehet nyerni, míg a másiknál ez nem lehetséges. A hőcserélő megoldásnál nem kerül kondenzvíz a folyadékba, ami megengedhetetlen lenne pl. a tejultrapasztörzésénél.



47. ábra

A folytonos sterilizálásban beállított hőmérsékletváltozásokat mutatja a 48. ábra. Látható, hogy a folytonos sterilizációs rendszer nagyobb hőmérsékleten dolgozik (140 °C), mint a szakaszos eljárás, ez teszi lehetővé az igen rövid sterilizációs időt. Az egész folytonos sterilizációs ciklus a szakaszos sterilizációs idő szükségletének csak kb. 1-2 %-a.



A folytonos sterilizációs idővel számítása egyszerűbb, mint a szakaszos sterilizációs eljárásé, mivel a táptalaj pillanatokat átéli a sterilizációs hőmérsékletet és így a fűtési és hűtési periódus hatása a csíraszámra elhanyagolható. A számítások csak az állandó hőmérséklet szakaszt kell figyelembe venni, egyszerűen a  $k \cdot t$  szorzattal. Általában a folytonos sterilizációs készülék szigetelt csővezeték részének hossza adott, ezért a különböző tartózkodási időket a táploldat áramlási sebességének változtatásával állíthatjuk be.

## 4. FERMENTÁCIÓK LEVEG ZTETÉSE

### 4.1 Mikrobák oxigénfelhasználása

#### 4.1.1. A mikrobák csoportosítása oxigénigényük szempontjából:

aerob mikroorganizmusok: növekedésükhöz oxigént igényelnek, enélkül nem tudnak energiát termelni, szaporodni (az legtöbb ipari folyamat ilyen mikrobákat használ)

anaerob mikroorganizmusok: anyagcseréjükhöz, szaporodásukhoz nem igényelnek oxigént.

(Léteznek olyan mikrobák is, amelyek számára az oxigén mérgező, jelenlétében elpusztulnak.)

fakultatív anaerob mikroorganizmusok: olyan mikrobák, amelyek mindkét módon képesek anyagcserét folytatni (pl.: élesztő)

*Az oxigén felhasználása*

Az anyagcserében kétféleképpen hasznosul az oxigén:

- A terminális oxidáció során vízzé alakul
- direkt oxidációs folyamatokban beépül a mikroba sejtanyagába (csak 1-2%)

A cukor hasznosítása során széndioxid és víz keletkezik. A CO<sub>2</sub> oxigénje a cukorból ered, a vízé az O<sub>2</sub>-ból.

A sejtek nem a levegőből veszik fel az oxigént, hanem az oldott oxigént vízben (táptalamban) oldott formában lévő O<sub>2</sub> molekulákat hasznosítják. (A vízi állatok is így jutnak oxigénhez a kopolyúton keresztül.)

Az oxigén a mikroba számára egy a felhasznált szubsztrátok közül, ugyanúgy mint pl. a szénforrás. Szubsztrát, tehát érvényesek rá a második eladási adásban bevezetett összefüggések. Értelmezhető a

fajlagos szubsztrátlebontási sebesség: 
$$\mu_s = \frac{1}{x} \cdot \frac{dc_{O_2}}{dt} = Q$$

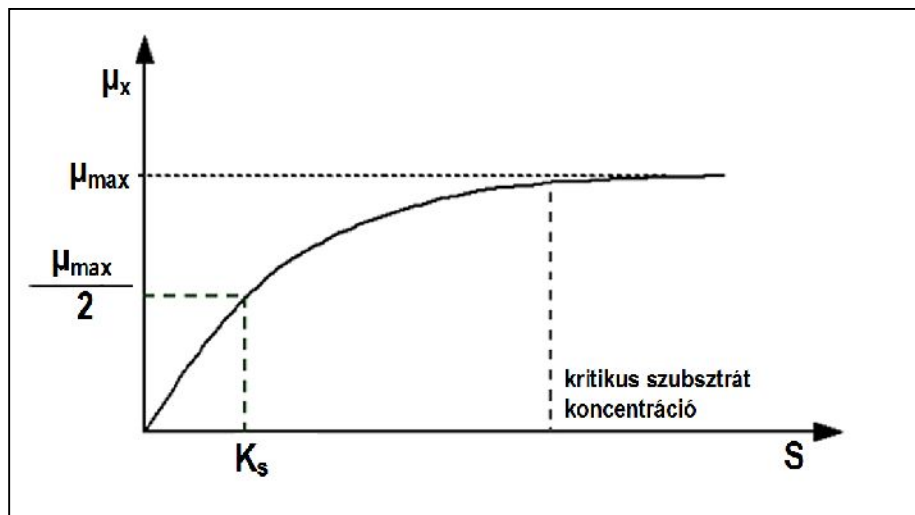
amit az oxigén esetében a szakirodalomban  $\mu_s$  helyett  $Q$ -val jelölnek. Definíció szerint egységnyi mikrobamennyiség által egységnyi idő alatt elfogyasztott oxigén mennyiségét jelenti, azaz a tenyésztés légzési intenzitására jellemző.

A mikrobák szaporodása arányos a szubsztrátfogyasztással, az arányossági tényező a hozamkonstans:

$$Y = \frac{dx}{ds} = \frac{\mu_x}{\mu_s} \qquad Q = \frac{\mu_x}{Y}$$

Ebből következik, hogyha a szaporodás a Monod-kinetika szerint függ a szubsztrát koncentrációjától, akkor a fajlagos oxigénfogyasztási sebesség is analóg módon függ az oldott O<sub>2</sub> koncentrációjától:

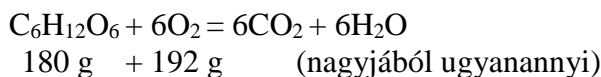
$$\mu_x = \mu_{max} \frac{S}{K + S} \qquad Q = \frac{\mu_x}{Y} = \frac{\mu_{max}}{Y} \frac{C_{O_2}}{K_{O_2} + C_{O_2}} = Q_{max} \frac{C_{O_2}}{K_{O_2} + C_{O_2}}$$



Az oldott oxigénre is értelmezhető a  $C_{krit}$  kritikus szubsztrát koncentráció. Az a szubsztrát koncentráció, amely felett a növekedési sebesség gyakorlatilag már nem függ a szubsztrát koncentrációjától. Ez minden mikrobára és minden szubsztrátra más és más érték. Ha maximális anyagcsere sebességet akarunk elérni, akkor célszerű a koncentrációt a kritikus érték fölé tartani.

Az oxigén oldhatósága vízben nagyon rossz, mert az  $O_2$  nagyon apoláros (hidrofób, víztaszító) molekula, „nem érzi jól magát” a vízmolekulák között. Az oldhatóság  $C^* \sim 1-5 \text{ mg/l}$  (1-5 milliommód rész  $\rightarrow$  nagyon kevés).

Mennyi oxigén kell az anyagcseréhez? Nézzük a cukor és oxigén arányát:

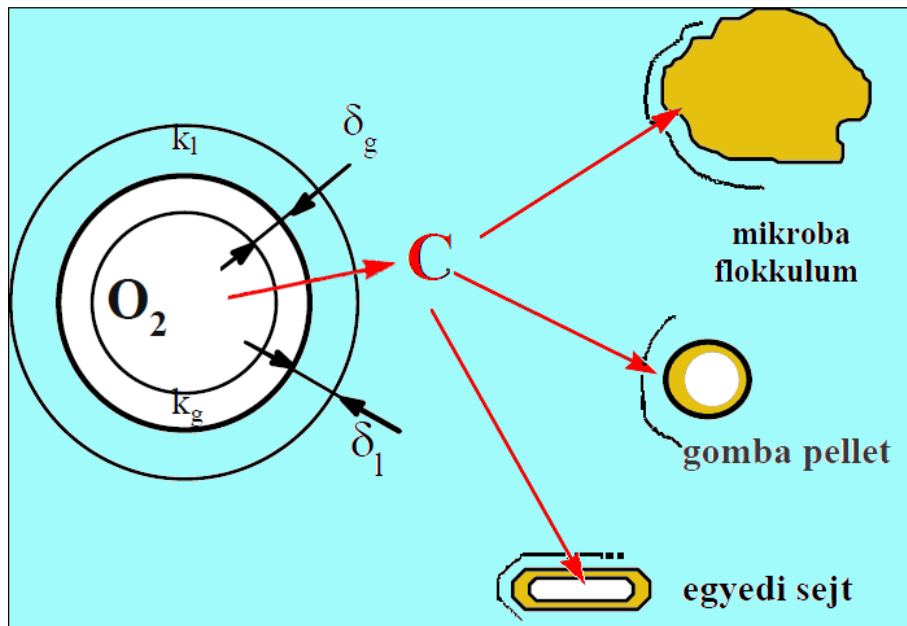


Tíz százalék cukor hasznosításához tehát  $\sim 11\%$  oxigén kellene, de ennyit nem lehet beoldani, csak milligrammokat. Emiatt kell az oxigént folyamatosan bevinni a folyadékba  $\rightarrow$  ez a levegő zetezés. Általában levegőt buborékolatunk át a fermentlén, ebből oldódik be a gáz a folyadékba. (Analogia: megint a halak: az akváriumoknál is szoktak levegőt buborékolatni.)

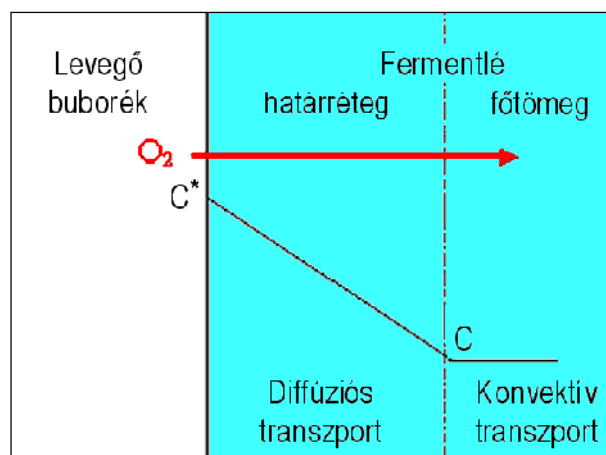
## 4.2. Az oxigén beoldódása

A buborékból az  $O_2$  molekulának el kell jutnia a sejtekig. Ez több lépéses folyamat, ahol az egyes szakaszokban különböző mechanizmussal történik az anyagátadás. A fluid fázisokban a Vegyipari m veletek anyagrézben tanultaknak megfelelően elkülönítjük a tömbfázist, ahol a fázis mozgása, turbulenciája, keveredése miatt mindenütt egyforma a koncentráció; és a falak, fázishatárok felületén kialakuló határréteget/filmréteget, ahol nincs keveredés, és koncentráció különbségek is kialakulhatnak. A két térben az anyag- (és a  $h$ ) -átadás mechanizmusa eltér. A mozgó folyadékban a közeg együtt mozog a benne oldott anyagokkal, magával viszi őket, ezt nevezik szállítási vagy konvektív transzportnak. Az álló filmrétegekben ez a mechanizmus nem működhet, ezért itt az anyagátadás tisztán diffúzióval történik. Az  $O_2$  molekula útjának szakaszai:

A buborék belseje (tömbfázis)	- (gáz)diffúzió
Gázoldali határréteg	- (gáz)diffúzió
Folyadékoldali határréteg	- diffúzió folyadékban
Folyadék tömbfázis (fermentlé)	- konvektív (áramlási) transzport
Folyadék határréteg a mikrobák felületén	- diffúzió folyadékban



Az egymást követő lépések közül mindig a leglassabb a sebességmeghatározó – ez a diffúzió a folyadékoldali határrétegben. Az oxigén beoldódási sebességének kiszámításához elegendő ezt a folyamatot leírni, a többivel nem foglalkozunk. Ezt az egy részfolyamatot kinagyítva:



A diffúzió általános egyenlete (Fick törvény):

$$\frac{dc}{dt} = -D \frac{\Delta c}{\Delta x}$$

ahol: c - koncentráció  
 x - diffúziós úthossz  
 D - diffúziós állandó  
 T - id

Adott esetben az oxigén koncentrációja a folyadékfilm két oldalán  $C^*$  és  $C_t$ . A buborék oldalon  $C^*$ , mert itt a koncentráció eléri a telítési értéket, amennyi adott körülmények között egyáltalán oldódni tud, ez a telítés, vagy oldhatósági határ. A másik oldalon  $C_t$  a tömbfázisban kialakuló egyenes koncentráció. A két szélső érték között lineáris koncentrációprofil alakul ki.  $\Delta C$  tehát  $(C^* - C_t)$ ,  $\Delta x$  pedig a felületi határréteg vastagsága. Behelyettesítve:



$$\frac{dc}{dt} = \frac{D}{x} (c^* - c_t)$$

A konstansokat összefoglalva:

$$\frac{dc}{dt} = K_L \cdot a (c^* - c)$$

$K_L$  - tömegátviteli tényező (L: liquid – folyadékhalmi)  
 $a$  - a két fázis érintkezési felülete (a buborékok összegzett felülete)

#### 4.2. A levegőztetést befolyásoló technológiai paraméterek

Az alapegyenlethez levezethető, hogy melyik paraméter hogyan befolyásolja a levegőztetést:

$c^*$  - a telítési oxigén koncentráció (oldhatóság) – növeli az anyagátadás hajtóerejét

$a$  - a levegő és a fermentálé érintkezési felülete, a buborékok összes felülete - növeli az anyagátadás keresztmetszetét

$K_L$  - tömegátadási tényező, a felületi határréteg „vezetőképessége”  $O_2$ -re – növelése javítja az anyagátadást

$C^*$  (telítési oxigén koncentráció), értéke függ:

» Henry törvény: minden gáz oldhatósága arányos a *parciális nyomással*.

$$C^* = \frac{1}{H(t)} \cdot p_i$$

$H(t)$ : Henry konstans (h mérsékletfüggő)  
 $p_i$ : az adott gázkomponens *parciális nyomása*

Parciális nyomás = résznyomás, gázelegyeknél egy gázkomponens résznyomása az össznyomáson belül. A komponensek parciális nyomásainak összege adja ki az össznyomást. A parciális nyomás arányos a koncentrációval, pl. a levegő 21% oxigént tartalmaz, és így az  $O_2$  parciális nyomása 21%-a az össznyomásnak. Technológiai lehetőségek  $p_i$  növelésére:

- nyomás növelése a készülékben: ahogy az össznyomás növekszik, vele nő a parciális is (mindig 21%-a az össznyomásnak). (Nagyobb, ipari készülékekben a nyomás nem azonos: lent: a fejnnyomás, lent: fejn + hidrosztatikai nyomás összege (sokszor ~10 m folyadékoszlop nyomása adódik hozzá). Ettől lent nagyobb a  $C^*$ , de ehhez nagyobb kompresszor kell, nagyobb az energiafogyasztás.
- tiszta oxigénnel lehet dúsítani a bevitt levegőt. A tiszta oxigén ipari gyártása megoldott, de drága.

»  $H$  mérséklet növelésével a gázok oldhatósága romlik. Eszerint alacsonyabb  $h$  mérsékleten kellene fermentálni, de a  $h$  fokot a mikroba optimumára kell állítani.

» *Egyéb oldott anyagok* jelenléte is rontja a gázok oldhatóságát. Minél tisztább a víz, illetve hígabb a tápoldat, annál nagyobb a  $C^*$  értéke. De: itt is a mikroba igénye a döntő, erre kell optimalni az összetételt.

### a - két fázis határfelülete

úgy növelhet, hogy a buborékok összfelületét növeljük

- apró buborékok, nagy fajlagos felület:
  - eleve apró buborékokat vezetek be (apró furatok, fúvókák)
  - ha nagyobb méretben lépnek be, akkor intenzív, nyíró keveréssel aprítjuk a buborékokat.
- több levegőt táplálunk be. Több buborék, nagyobb összes felület. Ennek standard mérőszáma a VVM (Volumen/Volumen/Minutum). Értelmezése:  $VVM = \text{m}^3 \text{ bevitt levegő} / \text{m}^3 \text{ fermentálé} / \text{perc}$ . Értéke az ipari fermentációknál általában 1 körüli (0,5-2 közé esik).
- a buborékokat visszatartjuk a folyadékban, nem hagyjuk, hogy egyenesen felszállni, keveréssel és terelőlemezekkel spirális pályára kényszerítjük. Ezzel egyidejűleg több buborék tartózkodik a folyadékban, ezáltal nagyobb az érintkezési felület.

Nagy készülékeknél: ahogy a buborék fölfelé halad, a hidrosztatikai nyomás egyre kisebb, → a buborék kitágul → a felülete nő

### $K_L$ - folyadékoltsági tényező

A  $K_L$  eredetileg  $D/x$ , azaz a diffúziós állandó és a határreteg vastagságának hányadosa. Eszerint függ:

- $D$ -től (a diffúzió gyorsítaná a magasabb hőmérséklet, de a hőmérséklet optimuma a mikrobától függ)
- $x$ -től (felületi határreteg vastagságát a fázis tömegáramlásának turbulenciája befolyásolja). Minél turbulensebb a keverés, annál vékonyabb a film, annál gyorsabb az anyagátadás a felületen.

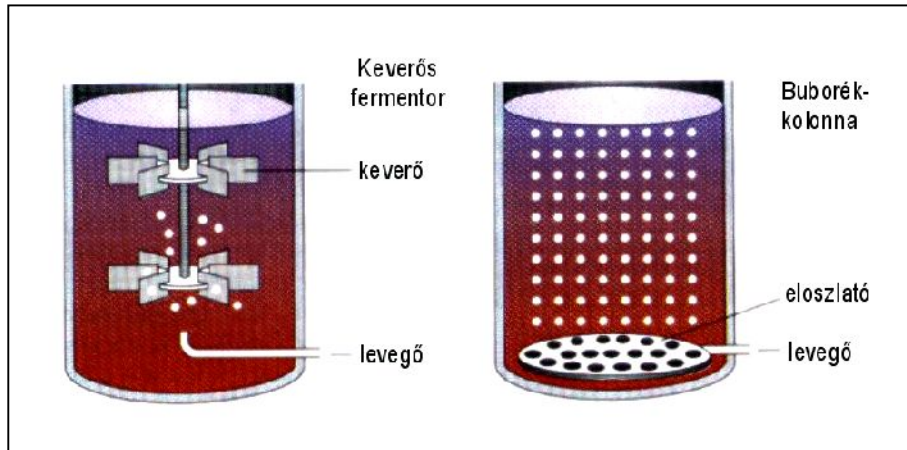
A keverést többféle módon lehet jellemezni:

- a keverési Reynolds számmal,
- a bekevert teljesítménnyel ( $P/V$ ,  $\text{kW}/\text{m}^3$ );

Mi befolyásolja a keverés intenzitását (turbulenciáját)?

- a készülék kialakítása (pl. a keverő méretei, fordulatszám, keverő k. száma, lapátok száma, típusa, stb.)
- a folyadék jellemzői (reológia): a  $Re$  számban is benne van a viszkozitás és a sűrűség

#### 4.2.1. Összehasonlítás levegőztetés szempontjából:



Keverős fermentor: a keverő turbulens áramlást hoz létre,

- vékonyabb a határreteg → javul a  $K_L$
- eloszlatja a buborékokat, nagyobb az érintkezési felület, keverő és motor kell: drágább a beruházás és üzemeltetés

Toronyfermentor:

- nincs benne keverő → olcsóbb gyártás és üzemeltetés
- keverő nélkül rosszabb a  $K_L$
- a vízoszlop magassága nagyobb → alul nagy nyomáson lépnek be a buborékok →  $c^*$  nagy.
- a buborékok felszállva kitágulnak és hosszabb az útjuk, több időt töltenek a folyadékban → nagyobb az érintkezési felület → jobb lesz az anyagátadás.
- nagyobb nyomású levegőre van szükség → nagyobb nyomású kompresszor kell → ez drágább

### 4.3. Mérési módszerek

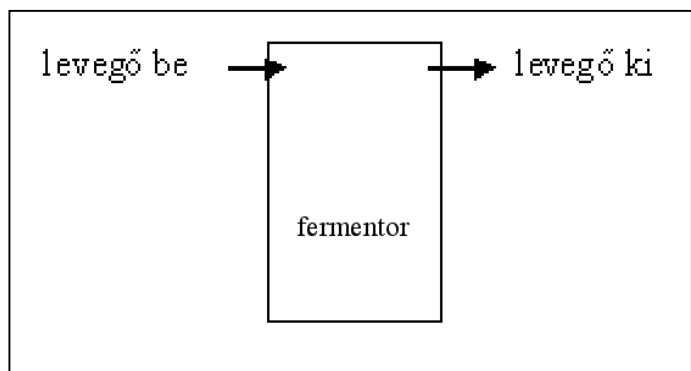
#### 4.3.1. Mikroba oxigénigényének ( $Q$ ) meghatározása

##### 1. Gázelemzéssel

Ehhez olyan módszert használnak, amely a gázfázisban képes megmérni az  $O_2$  koncentrációt (ehhez az oxigén molekula mágneses tulajdonságát használják ki). A méréseket a fermentoron kívül, két ponton, a bemenő és elmenő levegőnél végezzük. A két különbsége „bent maradt” a rendszerben = ennyit fogyasztott el a tenyészet → ebből számítható  $Q$  (kg  $O_2$ / kg sejt/idő).

$$Q = \frac{\Delta C \cdot W}{V \cdot X}$$

- $\Delta c$  -  $O_2$  koncentráció különbség a be- és kijövő gázáramban (kg  $O_2$ /m<sup>3</sup> levegő)
- $W$  - a levegő térfogatárama (m<sup>3</sup> levegő /idő)
- $V$  - a fermentálé térfogata (m<sup>3</sup> lé)
- $X$  - mikroba koncentráció (kg sejt/m<sup>3</sup> lé)

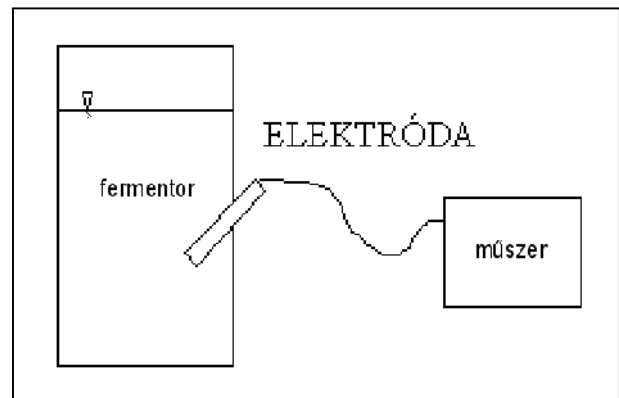


Az áramló gáz térfogata alig változik az átáramlás során, mert az oxigén egy része elt nik ugyan a leveg ztetés során, de a helyébe a termelt CO<sub>2</sub> kerül.

## 2. Dinamikus méréssel

A folyadékban lévő oldott O<sub>2</sub> mérésére alkalmas elektródával folyamatosan mérjük az oldott oxigén koncentrációját.

Fermentáció közben 2-3 percre elzárjuk a leveg betáplálást, és a mért O<sub>2</sub> változásból határozzuk meg a Q-t.



Fermentáció közben az oldott O<sub>2</sub> koncentráció (DO) változását a következő mérlegegyenlettel írhatjuk le:

változás = beoldódás – a mikrobák fogyasztása

$$\frac{dc}{dt} = K_L a (C^* - C) - Q \cdot x$$

oxigén beoldódása a mikroba fogyasztása

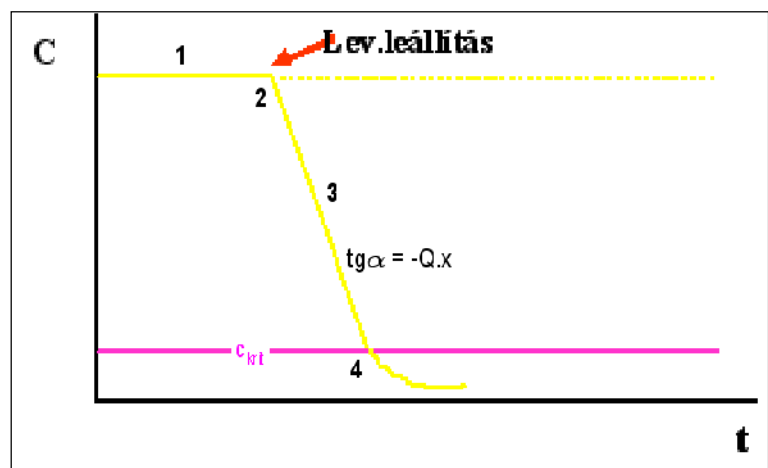
Ha elzárjuk a leveg ztetést, az egyenlet beoldódás tagja nullává válik:

$$\frac{dc}{dt} = -Q \cdot x$$

Az O<sub>2</sub> szint csökkenésének meredeksége a Q-val arányos. Az O<sub>2</sub> mér vel folyamatosan mérjük a koncentrációt, analóg vagy digitális módon regisztráljuk,

Az oldott oxigén koncentráció alakulása a mérés során:

1. A fermentáció során nagyon lassan változik az O<sub>2</sub> koncentrációja, ez a vízszintes vonal.
2. A leveg t elzárjuk, a mikroba csak a fermentlében oldott O<sub>2</sub> -t tudja fogyasztani és emiatt csökken a koncentráció.
3. A kezdeti szakasz egyenes, mert a Q·x meredekség állandó.
4. amikor eléri a kritikus O<sub>2</sub> koncentrációt, elgörbül, mert Q már nem állandó.
5. A Q<sub>x</sub> -ből a Q kiszámítható

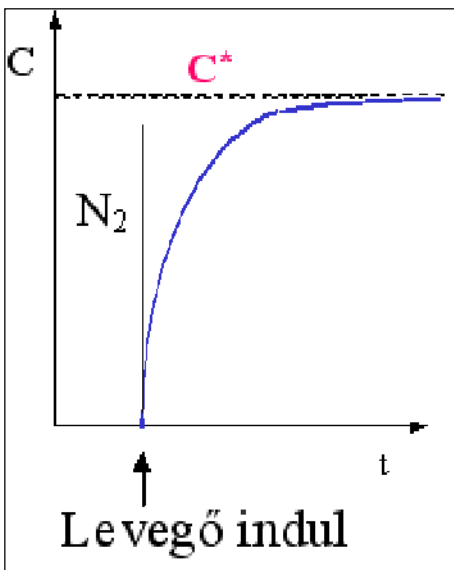


Gyakori kérdés: Miért van ez a változás a  $c_{krit}$ -nál? Válasz: az 51. oldalon szerepelt, hogy a  $Q$  értéke a  $c_{krit}$  fölött állandó, alatta pedig csökken.

### 4.3.2. $K_{La}$ meghatározása:

#### 1. Mikroba nélküli mérések:

Kileveg ztetés (gassing out): a fermentorba tiszta vizet (néha tápoldatot) töltünk, és azt leveg ztetjük a vizsgálni kívánt körülmények (fordulatszám, nyomás, stb.) között. A mérés indításánál tiszta nitrogén gázzal leveg ztetünk, ezzel egy-két perc alatt ki lehet öblíteni az oldott oxigént a folyadékból. Az oldott oxigént (DO) mér m szerünkkel ellen rizzük, hogy a koncentráció nulla. Ezután átkapcsolunk nitrogén helyett leveg re, elindítjuk a leveg ztetést és regisztráljuk az oldott oxigén koncentráció változását.



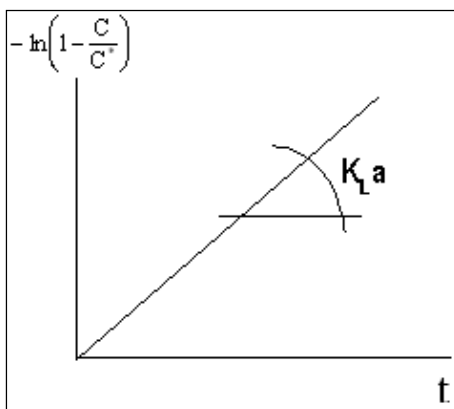
A leveg ztetés alap (differenciál) egyenletét erre a speciális esetre megoldva egy logaritmusos modellt kapunk, amelyből a  $K_{La}$  meghatározható.

$$\frac{dc}{dt} = K_L \cdot a (c^* - c)$$

$$\frac{dc}{(c^* - c)} = K_L a \cdot dt$$

$$\ln \frac{c^*}{c^* - c} = K_L a \cdot t$$

$$- \ln \left( 1 - \frac{c}{c^*} \right) = K_L a \cdot t$$



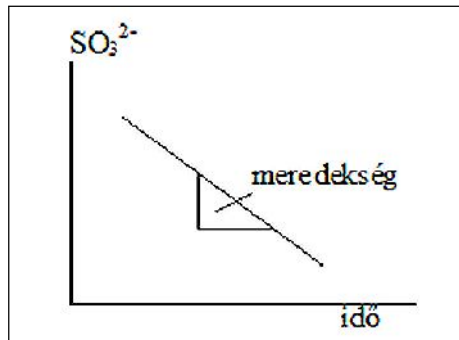
A koncentráció értékekből minden pontra kiszámíthatjuk a fenti  $\ln$  értékeket. Ezeket az idő függvényében ábrázolva egyenest kapunk, amelynek meredeksége megadja a keresett  $K_{La}$  értéket.

#### Szulfitoxidációs mérés

Szintén tiszta vízzel végezzük a meghatározást. A méréshez azt a kémiai reakciót használjuk fel, hogy a nátrium-szulfit pillanatszerén reagál az oxigénnel, szulfát lesz belőle



Ha a nátrium-szulfid oldatot levegőztetjük, a bevitt oxigén azonnal, pillanatszerűen elreagál → amíg szulfid van a rendszerben, addig nulla marad a koncentráció. A reakció során a szulfid is fogy, ennek koncentrációját pár percenként kivett mintákból a vegyészek meg tudják határozni. Állandó levegőztetésnél percenként mindig ugyanannyi oxigén oldódik be, azaz mindig azonos mennyiség szulfid fogy, a koncentráció lineárisan csökken. A reagáló szulfid mennyiségéből kiszámítható vele reagáló oxigén mennyisége, ez pedig egyenlő a levegőztetésnél bevitt oxigén mennyiségével.



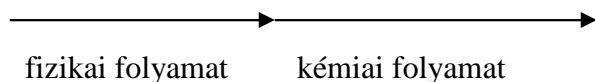
$$\frac{dc}{dt} = K_L \cdot a(c^* - c)$$

$$\frac{dc}{dt} = K_L \cdot a \cdot c^*$$

Az alapegyenletben az aktuális koncentráció nulla, ezért a jobb oldalon  $K_L a c^*$ -ra egyszerűsödik. Ez az egyenes meredekségéből számítható, ezt nevezik **szulfidszámnak**. A telítési oxigén koncentrációval elosztva megkapjuk a  $K_L a$ -t.

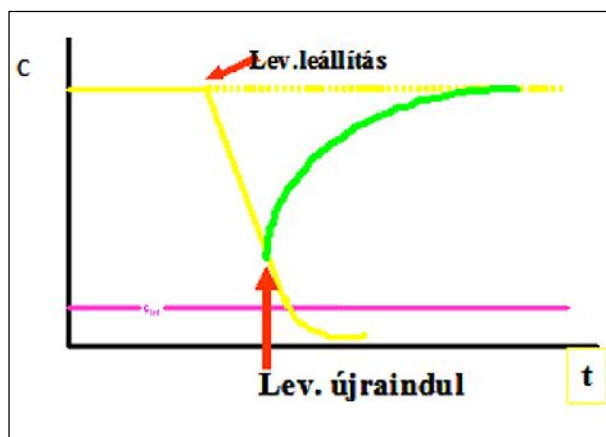
$$S = K_L a \cdot c^* = \text{szulfidszám}$$

Itt egy kémiai reakció sebességét mérjük, mégis egy fizikai folyamat – oxigén beoldódása – sebességét számoltuk ki. Hogy lehet ez? A két folyamat egymást követi (konzekutív). Itt is a leglassabb folyamat, a beoldódás sebessége határozza meg az utána következő kémiai reakció sebességét.



## 2. $K_L a$ mérés tenyésztés közben, a mikrobák jelenlétében

A mérést a dinamikus  $Q$  meghatározásához hasonlóan a levegőztetés ideiglenes elzárásával hajtjuk végre, de itt a görbe második, felszálló ágát elemezzük.

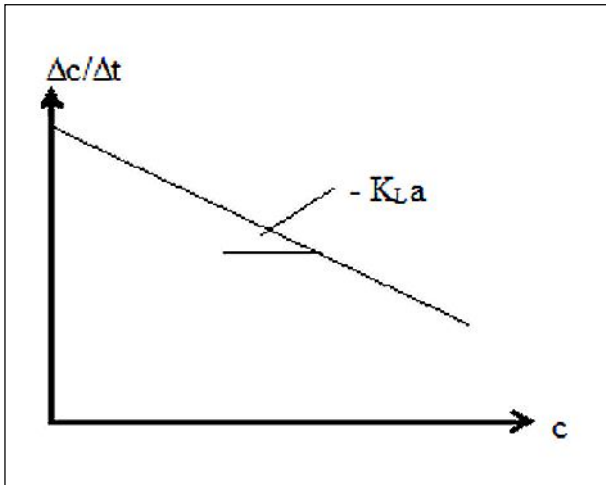


A számoláshoz írjuk fel újra az oxigén anyagmérlegét a fermentálásra nézve:

$$\frac{dc}{dt} = K_L a (C^* - C) - Q \cdot x$$

Átrendezve:

$$\frac{dc}{dt} = (K_L a C^* - Qx) - K_L a C$$



A  $c$  és  $t$  adatok ismeretében többféle módszerrel is meghatározhatjuk a  $K_L a$  értékét. Megoldhatjuk a differenciálegyenletet (a megoldás itt is exponenciális), de egyszerűbb, ha az adatokat  $\Delta c/\Delta t - c$  diagramban ábrázoljuk. Egy egyenest kapunk, melynek meredeksége  $-K_L a$ , tengelymetszete pedig  $(K_L a c^* - Qx)$ .

#### 4.4. A levegőztetés technikai megoldásai

##### 4.4.1. Levegőztetés keverő nélkül

1/ *Kémcső forgató*: a tenyészetek kezelésének legkisebb mértéke a kémcső. A kémcsöveket tálcába állítják, a tálcát ferde tengely körül lassan forgatják, ezáltal a kémcsőben lévő folyadék is mozog → így levegő oldódik a folyadékba.



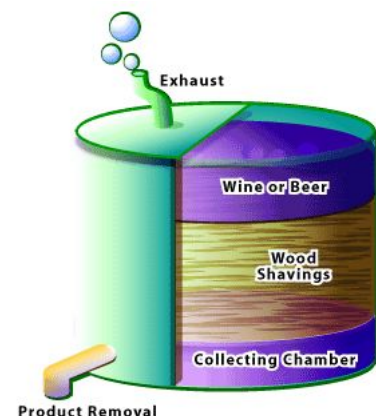
##### 2/ *Rázólombik*

Kúpos alakú (Erlenmeyer) lombikba kevés (kb. negyedrészt) tápfolyadékot töltenek. Ezt a rázógépet tálcájára rögzítik, ami körkörösén mozog (mint egy szita). A lögybölést folyamatosan beoldódik az oxigén. A rázógépet általában termosztált szekrényben helyezik el.



##### 3/ *Felületi tenyésztés*

A mikrobák valaminek a felületén nőnek. Ez lehet folyadék (nagy tepsikben folyadék, a felületén vastagon nő a penész), vagy töltött oszlop (inert töltet – lehet bükkfagorgács, vagy akár zúzottkő is – felületén vékony filmben csorog a tápoldat, és ebben a vékony filmben nőnek a töltethez tapadó mikrobák. Annyi levegőt kap, amennyi a folyadékfilmen átdiffundál.)

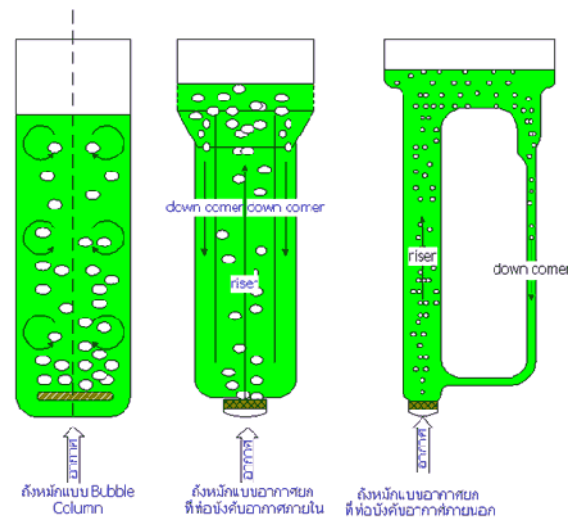


4/ *Torony fermentorok:*

Ld. 55. oldal, összehasonlítás. Nem kell keverőt beépíteni, a felszálló buborékok keverik a rendszert. Nagy teljesítmény kompresszor kell a belépő levegő nyomásának biztosítására. Alul nagy hidrosztatikai nyomás (nagy  $c^*$ ), a felszálló buborékok egyre nagyobbak, nagy a felületük - hatékony lesz a levegőztetés.

5/ *Mamut szivattyúk*

Függőleges, fermentáléval teli csőbe alul sok levegőt fúvatnak be. Buborékból és folyadékból álló oszlop jön létre, a felszálló buborékok felfelé mozgatják a folyadékot is (emelő hatás miatt nevezik és használják szivattyúnak). Ez egy cirkulációt indít meg a fermentoron belül. Ahol a levegő és a víz érintkezik - jó lesz a levegőztetés. Egy reaktor köré több mamutszivattyú is telepíthető - több cirkulációs hurok. Akkor működik, ha a csőben a beáramló levegő nagy mennyiségű a folyadékhoz képest.



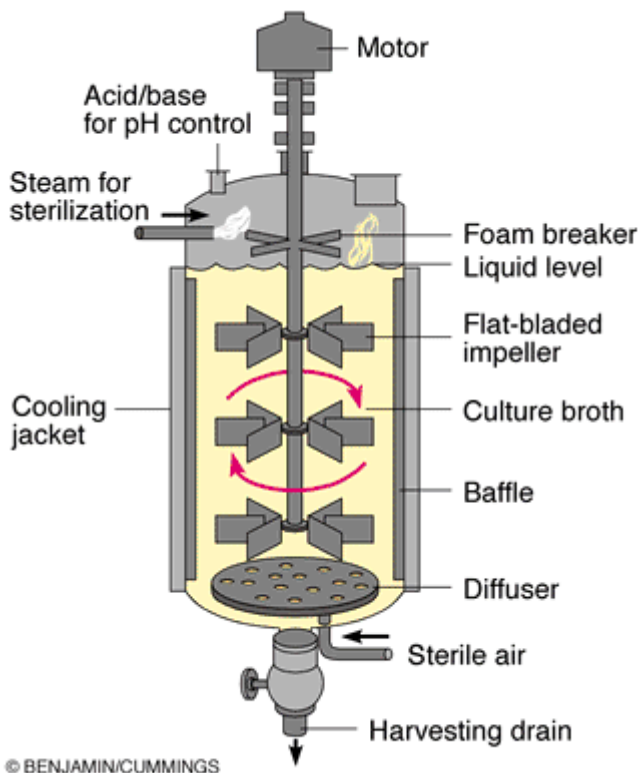
6/ *„Le Francois” élesztő gyári levegőztető rendszer*

Az előbbi változata. A területi hengert a készülék közepébe építik. A befúvatott levegő felszállva cirkulációt indít meg, középen fölfelé áramlik a lé, a szélén viszont lefelé.

4.4.2. *Levegőztetői rendszerek keverővel:*

- aprítja a buborékokat
- visszatartja a buborékokat, hogy sokára találjanak ki a felszínre és keringjenek
- erős turbulenciát hoz létre

1/ *Flat-blade keverő (síklapátos keverő)*



Sík egyenes lapátok radiálisan (6 db)

Egyszerű, de hatékony keverő, nagy homlokfelület, éles szélén turbulenciát hoz létre

→ örvények, erős teljes cirkuláció

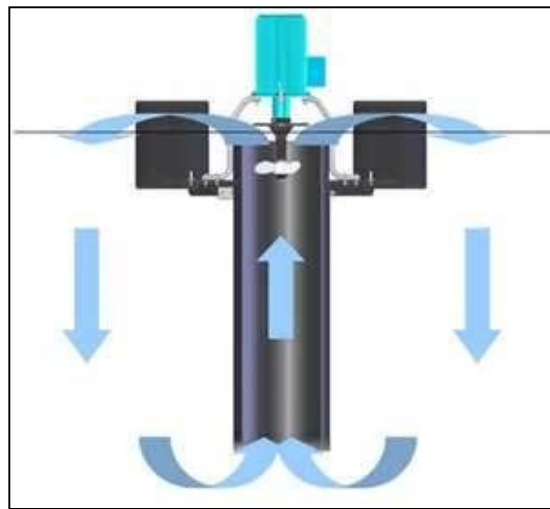
Ha megforgatjuk, intenzív áramlást kelt.

A tengelyt a reaktor fala felé dobja a folyadékot. Általában 3-at szoktak egy fermentorba építeni ⇒ 3 szint keverés ⇒ többszörös hurokáramlás



## 2/ Felületi levegőztetés

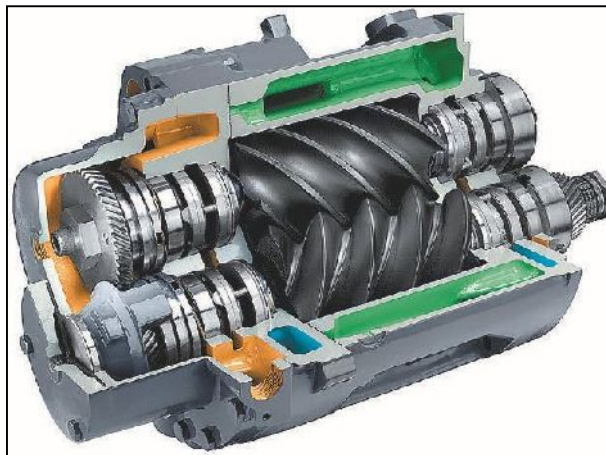
Szennyvíztisztító medence felületére szerelik, olyan turbinaszivattyú, amely felszívja és kidobja a folyadékot. Nagy ívben kidobja a vizet a felületre → a víz nagy felületen érintkezik a levegővel, sok  $O_2$  tud beoldódni. Hátrány: a fröcskölő szennyvízből aeroszolt csinál, fertőzésveszélyes. Nagyon jó anyagátadást biztosít. Hátránya, hogy nagyon jó a hőátadás is, így pl.  $-2\text{ }^\circ\text{C}$ -nál a levegő hőmérsékletét átveszi a víz és egy fagyos hajnalon a medence váratlanul befagyhat.



Kiegészítő berendezések:

A levegőztetéshez szükség van még: kompresszorra és légszűrőre.

Kompresszor: nagy teljesítmény, középnyomású kompresszor kell, olajmentes levegőt kell adnia. A dugattyús nem jó, mert az olajos levegőt ad, illetve az olajmentes nagyon drága. A centrifugális nem elég nagy és erős. Helyettük: csavarkompresszor. Két-három dugóhúzószereken kiképzett acélrúd (csavar) forog párhuzamosan egy házban, a hajlatok által közrefogott terekben viszi a levegőt a forgástengellyel párhuzamosan. Olajmentes levegőt biztosít, de visít.



Levegőszűrők: a levegőt sterilre kell szűrni (levegő átmegy, baktérium nem) → szűrőmembránok. Hőálló (mert hővel sterilizálják), víztaszító anyagból készül (hogy a kondenzvíz ne nedvesítse), nemezelt, papírszerű szerkezet. A helyigény miatt nem sík lapban használják, hanem harmonikaszerűen összehajtogatják, és ezt is henger alakúra formálják (szűrőgyertya).



## 5. A TERMÉKIZOLÁLÁS M VELETEI

A mikrobiológiai technológiákat (fermentácók) két szakaszra szokták osztani:

upstream processing | downstream processing

A kettő közötti határ az a pont, amikor a tenyésztésnek vége van, a megtermelt hatóanyag koncentrációja már nem nő tovább. Ekkor a kész fermentlevet feldolgozzák, a kívánt anyagot a kívánt tisztaságban kinyerik belőle. A két szakaszban más-más műveleteket alkalmaznak:

Törzsnemesítés	szűrés,
Inokulumkészítés	centrifugálás
Táptalajkészítés	sejtfeltárás
Sterilizálás	extrakció
Enzimreakció	adszorpció
Mikrobaszaporítás	membránszűrés
Termékképzés	csapadékképzés
Bioreaktorok	kristályosítás
Levegőtisztítás	kromatográfia

Eddig az első szakasszal foglalkoztunk, most a feldolgozási műveletek következnek.

A biológiai úton keletkezett levelek jellemzői

- híg vizes oldatokban (fermentlé) képződik a termék
- léptékek változatosak (néhány gramm –  $10^5$  tonna/év)
- sokféle feldolgozó műveletet tartalmaz
- sokféle zavaró anyag

### 5.2. A feldolgozás fázisai

A feldolgozás a technológiák túlnyomó többségénél nem egyetlen művelet, hanem műveletsor. Az egyes lépések egymásra épülésére nincsenek kötelező szabályok, nincs egységes séma, de a gyakorlatban kialakult egy logikai sorrend, amit a technológiák kialakításánál érdemes legalább ajánlasként figyelembe venni.

#### 1. A sejtek/szilárd fázis elválasztása

A fermentlé többfázisú rendszer. A jelenlévő sejtek elkülönült szilárd fázisnak tekinthetők. Levegőszilárd fázist képezhet még a tápoldattal bekerült és megmaradt szilárd szemcsék (szójadara, kukoricadara, szemcsés mezőgazdasági termékek), esetleg a savkötésként beadagolt mészkőliszt. Külön fázist képezhetnek a habgátló olaj cseppjei is.

#### (1/b. Sejtfeltárás)

A sejtek létező elválasztása után a hasznos termék az esetek túlnyomó részében a lében van (extracelluláris), de az is előfordul, hogy a sejtekben marad (intracelluláris termék). Ha a sejtekben van a hatóanyag, kinyeréséhez a sejtek feltárására van szükség. Ha a lében van a hatóanyag, akkor ez a művelet felesleges.

## 2. Koncentrálás

Először a nagy mennyiségben jelen lévő, és nagyon eltérő tulajdonságú anyagokat választjuk el. Általában a legnagyobb mennyiségben jelen lévő „szennyező” anyag a víz, ezt elkerüljük meg- szabadulni. Ezért nevezzük ezeket koncentrálni való anyagoknak.

## 3. Tisztítás

A koncentrálni való anyag mellett még ott vannak a szennyezők, a továbbiakban ezeket el tisztítjuk meg. Két anyagot akkor lehet fizikai módszerekkel elválasztani, ha valamely fizikai tulajdonságuk különbözik. Például a centrifugálás sűrűség-különbségen alapul, a desztilláció forráspont-különbsé- gen, a kioldás oldhatóság-különbségen, stb.

## 4. Végtisztítás

Cél: a minőségi előírásoknak való megfelelés, a tisztaságot a piaci előírásoknak megfelelőre kell beállítani. Ilyenek pl. gyógyszerkönyvi előírások, szabványok, élelmiszer-törvény, stb.

Mi a különbség a harmadik és negyedik szakasz között (mind a két tisztítás)?

- A harmadik lépésben a hatóanyag minél teljesebb (lehetőleg 100%-os) megtartása mellett a szennyeződések eltávolítása volt a cél (mérnöki megközelítés).
- A negyedikben a megfelelő tisztaságot akkor is el kell érni, hogy ha a hatóanyag egy része elveszik (a terméket eladható formába kell hozni – gazdasági megközelítés).

### **5.3. Az egyes fázisokban jellemző elválasztási módszerek**

Ezek után tekintsük át az egyes fázisokat abból a szempontból, hogy melyikben milyen módszerekkel találkozhatunk. Ezek sem kötelező érvényű szabályok, inkább ajánlásoknak, heurisztikus elvek- nek tekinthetők.

#### **5.3.1. A sejtek elválasztása**

Ez klasszikus szilárd-folyadék elválasztási feladat, módszerei:

- Sűrűség (membránsűrűség): méret szerinti elválasztás
- Centrifugálás: sűrűség különbségen alapuló elválasztás

Ezek törvényszerűségeit a vegyipari módszerek anyagrész tárgyalta, itt nem részletezzük jobban.

#### 1/b. Sejteltávolítás

A sejteltávolításnak tucatnyi különböző módszere van, ezekkel nem foglalkozunk részletesen

#### **5.3.2. Koncentrálás**

A víz elválasztására többféle módszer alkalmazható.

Extrahálás: kézenfekvő megoldás, hogy a hasznos anyagot átoldjuk egy vízzel nem elegyedő szerves oldószerbe (pl. benzol, olaj, stb.). A fermentációban oldott molekulák közül az apoláros/ hidrofób jellegűek átoldódnak az oldószerbe.

Megvalósításánál összekeverjük a két folyadékot, a határfelületen keresztül végbemelegítjük az átoldódást, ezután a két folyadék a sűrűségkülönbség szerint szétválik, rétegződik, így elválaszthatók egymástól.

A két érintkezési fázisban az oldott anyagok **megoszlanak**, mindkét közegben oldódnak valamilyen mértékben. A poláros molekulájú oldott anyagok a vizes fázisban oldódnak jobban, ott lesz nagyobb a koncentrációjuk, az apoláros anyagoknál fordítva. Rövid időn belül beáll a megosz-

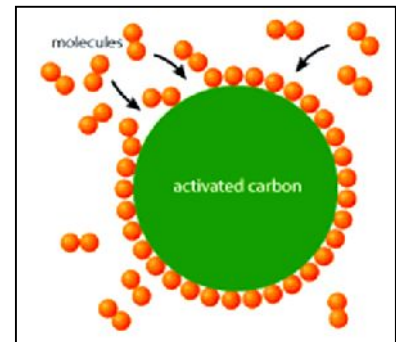


lási egyensúly, ekkor a két fázisban mérhető koncentrációk aránya egy állandó érték, amit megoszlási hányadosnak nevezünk:

$$K = C_{oldósz} / C_{víz}$$

Adszorpció: termékünk úgy is kivonható a vizes közegből, hogy valamilyen szilárd anyag (adszorbens) felületén kötjük meg. Ez lehet pl. aktív szén, vagy ioncserélő gyanta. Egy következő lépésben más oldószert adunk hozzá, az anyagot a felületről oldjuk fel.

Nem keverendő össze az abszorpcióval, amelynél nem a felületen, hanem a fázis belsejében történik a megkötés, pl. gázok elnyelése folyadékban.



Csapadékképzés/kicsapás: a céltermék úgy kivonható vizes közegből, hogy az oldatot valamilyen anyag hozzáadásával túltelítetté tesszük, ettől csapadék (amorf szerkezet, nem kristályos szilárd anyag) válik ki. A csapadékot szűrővel vagy centrifugálással elválasztjuk, így szabadulunk meg a víztől. Ilyen kicsapó szer lehet:

- Sav/lúg (pH állítás) (hétköznapi példa: amikor a tej megsavanyodik, fehérjetartalma a keletkező tejsav hatására kicsapódik)
- Sók („kisózás”)
- Oldószert (vízzel elegyedik: alkoholok, aceton)

Membránveledek: tágabb értelemben vett szűrőrést valósítanak meg. A membránok nem csak szilárd részecskéket (pl. sejteket) tarthatnak vissza, hanem bizonyos tulajdonságú, méretű oldott anyagokat, molekulákat is kiszűrhetnek az átáramló folyadékból. A **membrán** általánosabb meghatározás szerint egy közben két fázis között, amelyen keresztül szelektív anyagtranszport folyik. A fluidumok halmazállapota, a folyamat hajtóereje és a permeáló részecskék mérete szerint sokféle membránvelet van.

A feldolgozási membránveleknek ebbe a fázisába azért sorolják, mert ha a víz, és a kis molekulák átmennek a membránon, de a termékünk nem, betöményíthetjük és tisztíthatjuk az oldatot.

Az anyagok membránon való átáramlásának többféle hajtóereje lehet:

- nyomáskülönbség ( $\Delta p$ )
- koncentrációkülönbség ( $\Delta c$ )
- potenciálkülönbség ( $\Delta U$ )

A membrános elválasztások csoportosítása:

	Belép fluidum	Kilép fluidum	Hajtóer	Átlép	Visszamarad
Gázpermeáció	gáz	gáz	koncentráció v. parciális nyomás	gáz	
Pervaporáció	oldat	gáz	koncentráció v. parciális nyomás	gáz	
Dialízis	oldat	oldat	koncentráció különbség	kismol. anyagok	nagymol. anyagok
Elektrodialízis	oldat	oldat	elektromos tér	ionok	
Reverz omózis	oldat	oldat	nyomás	oldószer	
Ultrasz rés	oldat	oldat	nyomás	kismol. anyagok	nagymol. anyagok
Mikrosz rés	szuszpenzió	oldat	nyomás	nagymol. anyagok	kolloid részecskék
Sz rés	szuszpenzió	szuszpenzió	nyomás	kolloid részecskék	makro-részecskék

### *Gázpermeáció*

A gázpermeációs membránokon a különböző gázhalmazállapotú anyagok molekulái eltérő sebességgel hatolnak át. Ennek következtében egyes komponensek feldúsíthatók a gázelegyben (pl. a nehezebb nemesgázok). Biotechnológiai alkalmazása alig van.

### *Pervaporáció*

A pervaporáció ( szó szerinti fordításban: át g zölgés) estében a membrán egyik oldalán folyadék (fermentlé), a másikon gáz (legtöbbször vákuum) van. A lé komponensei anyagi minőségük t függ mértékben oldódnak be a membrán anyagába, és a túloldalon gáz, pontosabban g z formájában jelennek meg.

Biotechnológiai alkalmazása: pl. az etanol fermentációnál. A szesziparban az élesztő csak bizonyos alkohol koncentrációig képesek az erjesztésre. Ennek elérésénél a folyamat leáll, pedig a tenyészet még képes lenne további fermentációra. Ha a fermentorhoz egy pervaporációs membránmodult kapcsolunk, annak membránján keresztül az etanol át g zölög. Ezt a g zt kondenzáltatva egyrészt folyamatosan eltávolíthatjuk az etanolt a rendszerből, tehát az élesztő m ködése nem áll le, több cukrot konvertál alkohollá, másrészt töményebb alkoholt kapunk, ami megtakarítást hoz a desztillációnál is.

### *Dialízis*

A dialízis hajtóereje a koncentráció-különbség, mechanizmusa a diffúzió. A dializáló membránok megfelelnek a klasszikus „féláteresztő hártyának”, a kis molekulákat átengedik, a nagyokat visszatartják.

A dialízis a fehérjék kis molekulatömegű szennyezéseinek (pl. só, koenzim, szubsztrát, stb.) eltávolítására alkalmas egyszerű módszer. A fehérjék számára a dializáló hártya átjárhatatlan, a kis szennyezések viszont könnyen átjutnak, és a koncentráció gradiensnek megfelelő irányban eltávoznak a fehérje mellől.

Orvosi alkalmazás: máj vese: a páciens vérének egy dializáló modulon vezetik keresztül. Itt a vérben eltávoznak azok a kis molekulájú káros anyagcseretermékek, amelyeket a beteg vese nem tud kiválasztani (pl. karbamid), míg a vérfehérjéket és vérszöveteket a membrán visszatartja.

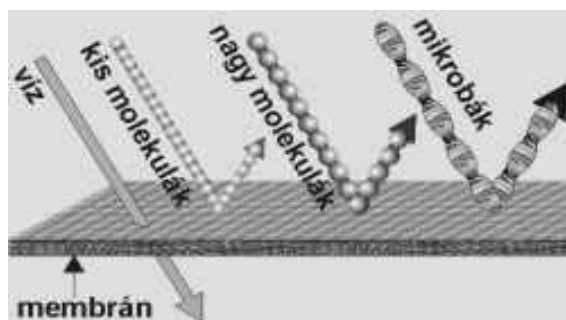
### Elektrodialízis

Az elektrodialízis olyan membránvelet, mellyel két, membránnal elválasztott oldat között elektromos tér hatására ionáramlás jön létre. A készülékben felváltva helyeznek el anion- és kationcserélő membránokat. A membránok között sóoldatot vezetnek keresztül, miközben a készülékre egyenfelesültséget kapcsolnak. Az elektromos tér hatására az anionok az anód, a kationok a katód felé mozognak. Mozgásuk közben az anionok csak az anioncserélő, a kationok pedig csak a kationcserélő membránokon képesek áthaladni, a velük azonos töltésű membránokon viszont az elektromos taszítás miatt nem. A folyamat eredményeképpen minden második membránközben a bevezetett oldat ionokban elszegényedik, míg a köztes folyadék sótartalma növekszik. Első sorban tengervíz sótalanítására használják.

### Membránveletek molekulaméret szerinti elválasztásra

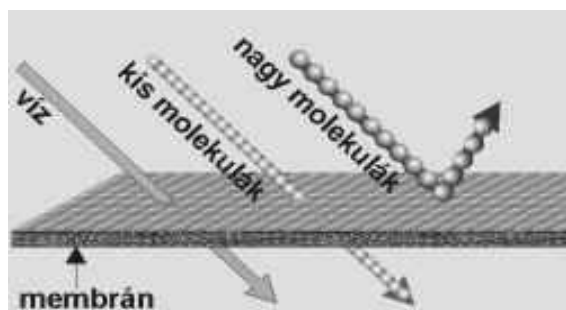
#### Fordított (reverz) ozmózis (RO)

A hajtóereje a nyomás, jellemző mérettartománya 50-500 Dalton. Más megfogalmazásban az oldószer és az oldott anyag molekulatömege között kb. egy nagyságrendnyi különbség van. A membrán anyagán gyakorlatilag csak a vízmolekulák hatolnak át. Az alkalmazott nyomás elérheti a 20-100 bar-t is. A víz fluxusa még ilyen nagy nyomáskülönbség mellett is viszonylag kicsi. A fordított ozmózist első sorban sók eltávolítására alkalmazzák, pl. a Közel-Keleten tengervíz sótalanítására, de alkalmazzák kazántápvíz előkészítésére, és különlegesen tiszta víz előállítására a gyógyszeriparban.



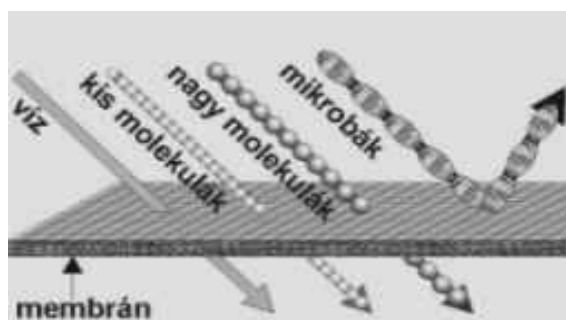
#### Ultraszűrés (UF)

Molekulatömeg szerint az 500 - 100 000 Daltonos tartományban működik, bár egyes szerzők a felső határt lényegesen magasabban adják meg. Az ultraszűrő membránokon valódi pórusok vannak (a jellemző átmérő 1 - 1000 nm) és méret szerinti elválasztást valósít meg. Alkalmos egyrészt fehérjeoldatok betöményítésére, és/vagy sótalanítására (mint a dialízis), valamint különböző méretű makromolekulák elválasztására.



#### Mikroszűrés

Az elválasztandó részecskék már nem oldott molekulák, hanem lebegő szilárd részecskék. A pórusok a 0,1 - 1,0 µm tartományba esnek. A pórusokon szabadon áthaladnak az oldott anyagok, a kis és nagy molekulák egyaránt, valamint a kolloid részecskék egy része. Teljes visszatartás érhető el az élő sejtekre, ami lehetővé teszi különféle oldatok (bor, sör, gyümölcslé) sterilizálását.





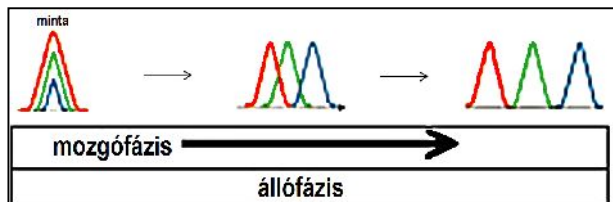
### 5.3.3. Tisztítás

A tisztítás fázisában is sokféle módszer alkalmazható:

- az elzárható lépcsős az összes módszer alkalmazható
- kromatográfia (nagy felbontású elválasztási módszer, amit részletesebben tárgyalunk)

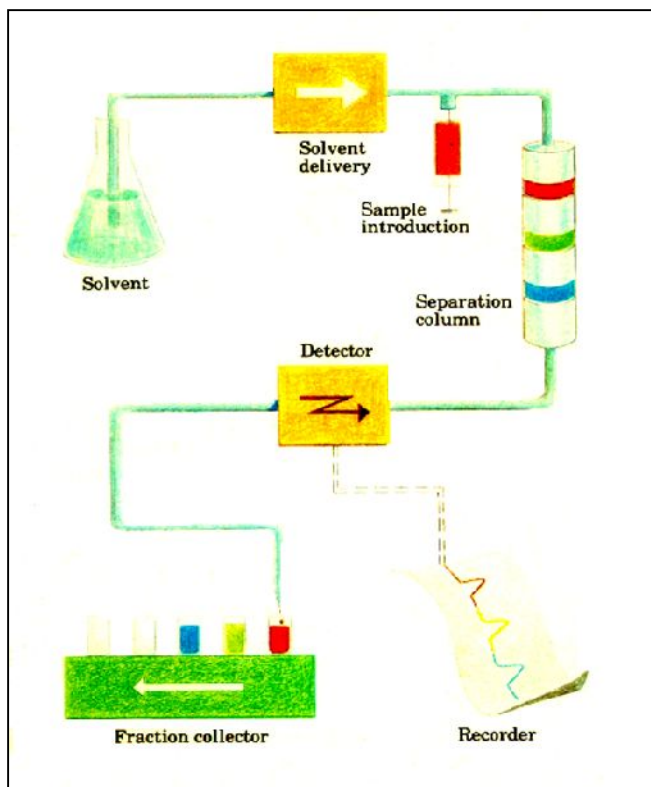
#### Kromatográfia:

Működési elve: a kromatográfiai oszlopban van egy álló és egy mozgó fázis (az áramló folyadék vagy gáz áthatol a mozdulatlan szilárd tölteten), ez a két anyag folyamatosan érintkezik. A töltet általában nagy felületű, porózus anyag.



A mintát (szennyezett anyag, azaz több anyag keveréke) a mozgó fázisba adagolják be. A mozgó fázis viszi magával az molekulákat, azok végigvándorolnak a tölteten. Ezek valamilyen mértékben megtapadnak a szilárd fázis felületén. Megkötődik, leoldódik, megkötődik, leoldódik – dinami-

kus egyensúlyban van. A leoldódott molekulákat az áramló folyadék tovább viszi, a következő megkötődés már odébb, az oszlop egy távolabbi helyén következik be. Így az erősebben kötődő anyagok lassabban vándorolnak az oszlopban, a gyengén kötődők gyorsabbak, a nem kötődők pedig a mozgó fázissal együtt haladnak. Az oszlop végén az egyes komponensek külön-külön jelennek meg, előbb a gyorsan vándorlók, aztán a lemaradók. A kijövő anyagok észlelésére érzékelő szerrel, detektort illesztnek a készülékhez. Az észlelés alapján az egyes szétválasztott komponensek külön tárolóba gyűjthetők.



A kromatográfiai berendezések általános felépítése:

- Oldószer szállítás (pl. szivattyúk)
- Minta adagolás (injektálás)
- Oszlop (töltete az állófázis)
- Érzékelő (általában optikai, UV, RI) (számítógépes adatfeldolgozás)
- Frakció gyűjtés (mechanikai mozgatóval)

Ipari kromatográfia: nagy kolonnákon ( $\varnothing$  0.5-1 m, h: 2-10 m) hasonló molekulák szétválasztása, pl. glükóz-fruktóz elegy elválasztása.

Analitika (laboratóriumi méretben): nagyon érzékeny vizsgálati módszerek:

Gázkromatográfia: a mozgó fázis gáz, pl. argon, az oszlop egy vékony acél kapilláris, 100 fok feletti hőmérsékleten végzik. Csak analitikára jó, de arra nagyon. Pl. egy borból száznál több

aromakomponenst lehet így kimutatni.

HPLC = nagy nyomású folyadék kromatográfia. A töltet szemcséi nagyon kicsik (1-10  $\mu$ m), a nyomás 100 bar is lehet, emiatt acél csövekkel áll az egész készülék. A módszer felbontása annál jobb, minél kisebbek a töltet szemcséi, viszont ettől megnövekszik a szükséges nyomás. Nagyon jó felbontású és érzékeny vizsgáló eszköz, minden módszer ellenében a laborban van.

#### 5.4.4. Végtisztítás

Ebben a végső fázisban a terméket a piaci igényeknek megfelelő tisztaságig kell tisztítani. Ugyanazt a végterméket többféle tisztaságban is forgalomba lehet hozni. Legtisztábbak a gyógyszerként alkalmazott anyagok (gyógyszerkönyvi tisztaság), kevésbé szigorúak az élelmiszer minőség követelményei, a skála másik végén van a „technikai” minőség, ezeket más gyártások alapanyagaként használják fel. Az ár is változik a tisztasággal, úgyhogy gazdasági számításokkal előre meg kell határozni, hogy melyik tisztasági szinten mennyire gazdaságos a gyártás, és eszerint kitűzni az elérendő tisztaságot.

Az alkalmazható műveleteknél itt is előre kell bocsátani, hogy az előző lépcső kb. 1 az összes művelet használható végtisztításban is. Ezen kívül tipikusan a feldolgozási technológia legvégén alkalmazott műveletek:

#### Szárítás

Gyakorlatilag minden anyag tartalmaz valamennyi nedvességet, ennek mennyiségét szigorúan előírják, mert fennáll a lehetsége annak, hogy a vevő vizet vesz a hasznos anyag árában.

A víztartalmat szárítással csökkentjük, ennek során a nedves anyagot folyamatosan meleg levegővel érintkeztetjük (minél nagyobb felületen), ami elpárologtatja és pára formájában elviszi az vizet. A levegő hőátad le (ez fedezi a víz párologtató hőjét) és anyagot (vízgőzt) vesz fel → egyidejű hő- és anyagátadás, nehéz számolni. Ismerni kell hozzá a belépő és kilépő levegő állapotát (hőmérsékletét, páratartalmát).

A biológiai anyagok gyakran hőérzékenyek, ügyelni kell a szárító levegő hőmérsékletére.

#### Kristályosítás

Hasonlít a csapadékképzéshez, mert itt is túltelített oldatból válik ki az anyag. De: itt az anyag rendezett, kristályos szerkezetű, nem amorf. A túltelítés létrehozása:

- Bepárlással tömény oldatot hozunk létre
- Lehetővé az oldhatóság csökken, az oldat túltelítetté válik.

A kristályosítás során nem csak a vizet szabadulunk meg, hanem nagymértékben tisztul is az anyag. A kristályosodás során a kristályrácsba csak egyféle molekula tud beépülni a rács szigorú szerkezete miatt, idegen molekulák nem. Ezért az egykristály teljesen tiszta anyag. De a tisztaság mégsem tökéletes, mert a kristályok felületén, és a zárványokban maradnak szennyezések. Ezért elválasztás után a kristályokat mossák, ezzel távolítják el a felületen filmszerűen megtapadó szennyezéseket.



## Tartalomjegyzék

II. Biomérnöki m veletek.....	1
1. Bevezetés.....	1
2. A biológiai rendszerek kinetikája.....	3
2.1 Az enzimreakció kinetikája.....	3
2.1.1. Az enzimreakció sebességét befolyásoló tényez k.....	4
2.1.1.1. A szubsztrát koncentráció hatása.....	5
2.1.1.2 Enzim inhibíciós kinetika.....	9
2.2. A mikrobaszaporodás kinetikája.....	13
2.2.1 Mikrobiológiai összefoglaló.....	13
2.2.1.1 A mikroorganizmusok típusai.....	13
2.2.1.2. A mikroorganizmusok fejl dését, növekedését befolyásoló tényez k.....	15
2.2.1.3. A mikrobák kémiai összetétele.....	16
2.2.2. Törzsselekcio, törzsjavítás, törzsfenntartás.....	17
2.2.3. A mikroorganizmusok ipari tenyésztése.....	18
2.2.4. Mikroorganizmusok növekedésének kinetikája.....	19
2.2.5. Termékképz ési kinetika.....	24
2.2.6 Fermentációs rendszerek osztályozása.....	27
2.2.7 Folytonos fermentációs rendszerek kinetikája.....	28
2.2.8 A szakaszos és a folytonos fermentáció kapcsolata.....	32
3. Sterilizés.....	35
3.1 Reakciókinetikai alapok.....	36
3.2 A konzervkészítmények sterilizése.....	39
3.2.1. H penetráció.....	39
3.2.2 A h kezelési id meghatározása.....	41
3.2.3 H kezel berendezések.....	41
3.2.3.1 Paszt röz berendezések.....	42
3.2.3.2 Steriliz berendezések.....	42
3.2.3 Fermentációs tápoldatok sterilizése.....	44
3.2.3.1 Tápoldatok szakaszos sterilizése.....	44
3.2.3.2 Tápoldatok folytonos sterilizése.....	48
4. FERMENTÁCIÓK LEVEG ZTETÉSE.....	50
4.1 Mikrobák oxigénfelhasználása.....	50
4.1.1. A mikrobák csoportosítása oxigénigényük szempontjából:.....	50
4.2. Az oxigén beoldódása.....	51
4.2. A leveg ztetést befolyásoló technológiai paraméterek.....	53
4.2.1. Összehasonlítás leveg ztetés szempontjából:.....	55
4.3. Mérés módszerek.....	55
4.3.1. Mikrobák oxigénigényének (Q) meghatározása.....	55
4.3.2. K <sub>L</sub> a meghatározása:.....	57
4.4. A leveg ztetés technikai megoldásai.....	59
4.4.1. Leveg ztetés kever nélkül.....	59
4.4.2. Leveg ztetési rendszerek kever vel:.....	60
5. A TERMÉKIZOLÁLÁS M VELETEI.....	62
5.2. A feldolgozás fázisai.....	62
5.3. Az egyes fázisokban jellemz elválasztási m veletek.....	63
5.3.1. A sejtek elválasztása.....	63
5.3.2. Koncentrálás.....	63
5.3.3. Tisztítás.....	67
5.4.4. Végtisztítás.....	68