

1. Bevezetés

A tananyag címe „Fermentációs feldolgozási műveletek”, a biomérnök képzés egy fontos területét fedi le. Mit jelent ez a cím, és hol helyezkedik el a biomérnöki tudomány egészében?

A fermentáció gyűjtő fogalom, olyan biotechnológiai folyamatokat, technológiákat jelent, amelynek során élő sejteket tenyésztünk nagy léptékben valamilyen anyag (ez lehet maga a sejtömeg is) termelése, vagy lebontása érdekében. A fermentációs technológiák két egymást követő szakaszra oszthatók:

- a fermentáció előkészítésétől a szaporítás, a termékképzés végéig terjed az „**UPSTREAM-PROCESSING**”. Ez magában foglalja az inokulum-készítést, a tápoldat-készítést, a sterilizést, a mikrobaszaporítást, levegőztetést, mindent a fermentáció végéig, amikor már rendelkezésünkre áll kész fermentlé, amely tartalmazza a kívánt mennyiségű végterméket. Ezt a pontot nevezik a fermentáció „vágásának”. Ezekkel a műveletekkel foglalkozik részletesen a „Biomérnöki műveletek és folyamatok” tantárgy és a hozzá készült digitális tananyag.
- a „vágás” után következik a végtermék izolálása, amelynek során a sok-komponensű fermentléből a tiszta (tisztított) végtermék felhasználásra alkalmas formába kerül. Ezt a feldolgozási műveletsort nevezik „**DOWN-STREAM PROCESSING**”-nek, ennek műveleteivel foglalkozik ez a digitális tananyag. Ezek az angol kifejezések nehezen fordíthatók le, a downstream processing magyar megfelelője „fermentlevek feldolgozása”, vagy „biotermékek izolálása” lehetne.

Mit jelent az utolsó szó, a művelet? A biológiai iparok technológiái - hasonlóan vegyipari technológiákhoz - olyan lépések, műveletek soraként foghatók fel, amely lépések a különféle technológiákban hasonlóak, és a konkrét technológiák és anyagok tulajdonságaitól függetlenül, azonos törvényszerűségekkel írhatók le. A művelet kifejezés tehát egy technológiai lépést jelent, ami egy fizikai (fizikai-kémiai) folyamaton alapul (pl. ülepedés, megoszlás, halmazállapot változás, elválasztás, fázisátmenet), annak törvényszerűségeivel, egyenleteivel írható le.

Az „elválasztás” kifejezést kettős értelemben használjuk. Beleértjük a fázisok szétválasztását, valamint a komponensek (anyagok, molekulák) szétválasztását. Az anyagkomponensek szétválasztása a molekulák eltérő fizikai tulajdonságain (méret, töltés, polaritás/oldhatóság, forráspont) alapul. Minél nagyobb a különbség egy paraméterben a két anyag között, annál könnyebben választhatók szét. Megfordítva ugyanezt a gondolatot, az elválasztás megtervezéséhez keressük meg az anyagoknak azt a jellemzőjét, amelyben a legnagyobb az eltérés, és eszerint válasszunk műveletet.

A „Fermentációs feldolgozási műveletek” tehát a downstream processing műveleteit tárgyalja egyenként. Ezzel megalapozza a „Biotermék technológia” tárgyat, ahol a legfontosabb bioipari termékek gyártástechnológiáját tárgyaljuk, ahol a tanult műveletek már műveletsorrá, technológiává integrálódnak.

Első lépésként vizsgáljuk meg, milyen közös, illetve eltérő jellemzőket találunk a down-stream technológiákban. A fermentlevek közös tulajdonságai:

- a termék vizes közegben van (nem szerves oldószerben)
- a termék koncentrációja viszonylag kicsi (csak néhány technológiánál éri el 10 százalékot, de sokszor csak néhány g/liter)
- többfázisú rendszer (a vizes fázisban diszpergálva ott vannak a sejtek, és egyéb lehetséges szemcsék, olajcseppek maradhatnak a habgátló olaj adagolásából, vagy kőolaj alapú szénforrásból. A levegőztetés során buborékokat is juttatunk a fermentlébe, de ezek a feldolgozásig eltávoznak.)
- sok-komponensű a rendszer, bonyolult a mátrix, amiből a terméke(ke)t el kell különíteni. Már a tápoldatban biológiai eredetű komplex anyagokat (melasz, kukoricalekvár, szójadara, stb.) alkalmaznak, ezekből a sejtek anyagcsereútjai több száz intermediert és végterméket állítanak elő.

A technológiák célja, hogy a főtermék mennyiségével kiemelkedjen ebből a háttérből, de a zavaró komponensek nagy száma és változatos tulajdonságai sokszor gondot okoznak.

A feldolgozó üzemek igen sokfélék, mert:

- szélsőségesek a léptékek. Vannak nagy léptékben gyártott termékek (pl.: citromsav, glutaminsav: több százezer tonna/év) és kis mennyiségben előállított anyagok (pl.: emberi növekedési hormon, tumor nekrozis faktor, urokináz: a világpiac egy-két kg/év)
- sokféle elválasztási műveletet használnak. Míg például a petrokkémiában szinte csak desztillálnak; a szintetikus (gyógyszer és intermedier) vegyiparban a bepárlás, kristályosítás, szűrés hármasa jellemző; a biológiai termékek kinyerése során viszont tucatnyi különféle művelet, ezen belül szakaszos és folytonos, egyensúlyi és kinetikai, állandósult és tranziens elvű egyaránt előfordul.

A fermentlé feldolgozására nehéz általános sémát adni, mivel minden technológia más és más. A műveletsorozaton belül azonban funkcionálisan elkülöníthetők bizonyos szakaszok. Ezek sorrendje legtöbbször azonos, néhány esetben egy-egy lépcső kimaradhat.

1. SZILÁRD-FOLYADÉK ELVÁLASZTÁS: a fermentlé folyadékfázisától különítik el a sejttömeget, és/vagy a táptalaj szilárd szemcséit, esetleg a kikristályosodott terméket.

Jellemző műveletek:

- szűrés/mikroszűrés
- ülepítés/centrifugálás

(1/b) (SEJT FELTÁRÁS) Erre a műveletre csak akkor van szükség, ha a kinyerni kívánt anyag a sejteken belül található (intracelluláris). Ekkor a sejtek falát és membránját el kell roncsolni ahhoz, hogy a termék molekulák kiszabaduljanak, homogén vizes fázisba kerüljenek.

2. IZOLÁLÁS/KONCENTRÁLÁS: a legnagyobb mennyiségű idegen anyagokat, azaz elsősorban a vizet távolítják el, általában fázisváltással.

Jellemző műveletek:

- Extrakció (a termék átvitele szerves oldószer fázisba, a vizes fázis elválasztása)
- Adsorpció (a termék átvitele felületi kötött fázisba, elválasztás a vizes fázistól)
- Csapadékképzés (a termék átvitele szilárd fázisba, elválasztás a vizes fázistól)
- Membránszűrés (molekula méret szerinti elválasztás)

(a biológiai iparban ritkábban alkalmazott víztelenítő műveletek: bepárlás, desztilláció)

3. TISZTÍTÁS: a termék és a szennyező anyagok elválasztása

Jellemző műveletek:

- a fentiek bármelyike
- (ipari) kromatográfia (folyadék-kromatográfias elválasztást nem csak analitikai léptékben/céltól lehet alkalmazni, hanem ipari léptékben is, pl.: aminoglikozid antibiotikumok elválasztása, glükóz-fruktóz elválasztás)

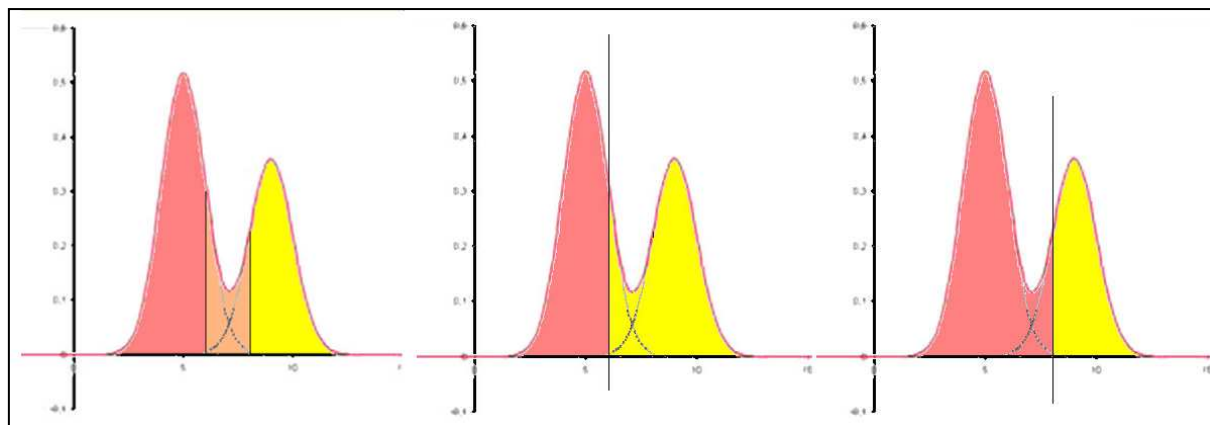
4. VÉGTISZTÍTÁS: a terméket a kereskedelmi forgalomba hozás előírásainak megfelelő tisztaságig tisztítják.

Jellemző műveletek:

- a fentiek bármelyike
- kristályosítás (a csapadékképzéstől eltérően kristályosítás nagymértékű tisztítással jár együtt, az egykristály gyakorlatilag egykomponensű anyag, amely csak a felületén, illetve zárványaiban tartalmaz szennyezéseket)

- szárítás (minden termék-specifikáció a nedvességtartalom megadásával kezdődik, ennek beállítása a szárítással történik)

A tisztítás és végtisztítás első pillantásra nagyon hasonlóknak tűnnek, nem is éles köztük a választóvonal. A két szakasz szemléletében tér el egymástól. A tisztítás során a termék maximális kihozatalára törekednek, miközben a szennyezések mennyiségét csökkentik (mérnöki-műszaki szemlélet). A végtisztításnál viszont az előírt tisztaság elérése a cél, még azon az áron is, hogy esetleg a kívánt termék egy része elvesz, vagy visszakerül a feldolgozás egy korábbi lépcsőjére. A végtisztításnál a felhasználási célnak megfelelő tisztaságot kell elérni, amit általában előírások (gyógyszerkönyvek, szabványok, élelmiszerminőségi előírások) fogalmaznak meg, és a piac az ezeknek megfelelő tisztaságú terméket fizeti meg (piaci-közgazdasági szemlélet).



A kétféle szemlélet közötti különbséget egy kromatográfiás elválasztás példáján szemléltethetjük. Átfedő csúcsok esetén technológiai döntés kérdése, hogy mely frakciókat egyesítjük (pool-ozzuk), ezzel változik a kihozatal és a termék tisztasága. Ha a kihozatal elsődleges (tisztítási szakasz), akkor a jobboldali ábrán látható módon gyűjtjük a frakciókat. A pirossal jelölt célterméket teljes egészében visszanyerjük, viszont jelentős mennyiségű egyéb anyag (sárgával jelölve) is bekerül az oldatba. A végtisztításnál a termék tisztasága a kötött paraméter. Ha a sárga komponens nem jelenhet meg a céltermékben, akkor a középső ábrán bemutatott pontig egyesíthetjük a frakciókat. Tiszta anyagot kapunk, de az értékes anyag egy jelentős része a kevert zónában lesz, ami veszteség. Javíthatja a helyzetet, ha ezt az oldatot visszavihetjük a feldolgozási technológia egy korábbi fázisába, vagy egyszerűen újrakromatografáljuk.

Ugyanazt a terméket különböző mértékben megtisztítva különböző célokra lehet eladni, általában minél tisztább, annál magasabb áron. A tisztaság - ár lépcsős függvény, amiből az is következik, hogy nem érdemes a terméket „túltisztítani”, mert az alaposabb tisztítás többletköltségeit a piac nem fizeti meg.

A tisztasági igényeket sorba állítva fő vonalakban a következő csökkenő sorrend állítható fel:

- Humán injekciós készítmény, nagy terápiás dózisu (a készítmény egyenesen a véráramba/ sejt közötti folyadékba kerül - nem tartalmazhat semmilyen testidegen komponenst)
- Humán injekciós készítmény, kis dózisu (a kisebb összesített terápiás dózis kisebb bevitt térfogatot jelent, ezáltal a bevitt minor komponensek mennyisége kisebb)
- Humán enterális gyógyszerek (a szájon át szedett gyógyszerek tisztasági szintje valamivel több szennyezést enged meg, mert az emésztőcsatornából nem minden komponens szívódik fel, és a felszívódó anyagok is a máj méregtelenítő rendszerén áthaladva jutnak el a szervezet egészébe)

- Állatorvosi gyógyszerek (az emberi és állatorvosi készítmények tisztasági követelményei közti különbség egyre csökken, de az gazdasági szempontok - a kevésbé tiszta hatóanyag olcsóbb - jobban érvényesülnek)
- Élelmiszerek, élelmiszeradalékok (az élelmiszerekre vonatkozó szabályozás más jellegű, mint a gyógyszereké, másra irányul - pl. az élelmiszereket nem vizsgálják pirogénekre, de előírják a növényvédőszer maradványok és az aflatoxinok szintjét)
- Külsődleges alkalmazású gyógyszerek (a kenőcsök, szemcseppek, fülcseppek anyagai nem jutnak be a szervezet egészébe - lokális, topikális készítmények - az esetleges szennyezések veszélyessége kisebb)
- Kozmetikumok (ezek is a test felületére kerülő készítmények, az előírások is hasonlóak. A szabályozás különbséget tesz a „bőrön maradó” és a „le mosandó” készítmények között. A rövid kontaktidejű készítményekben a megengedett koncentrációk magasabbak.)
- Technikai minőségű anyagok (más gyártások alapanyagául szolgálnak, előírt tisztaságuk a vevő igényeitől függ)

A továbbiakban a fenti négylépcsős séma szerint vesszük sorra az elválasztási műveleteket.

A feldolgozási technológia kidolgozása során nem az egyes műveletek, hanem az egész technológiai sor gazdasági optimumát kell keresni. A mérnöki szemlélet hajlamos az egyes lépéseket valamilyen műszaki paraméter (hatásfok, kihozatal, koncentráció) szerint optimalizálni, ez általában nem esik egybe az egész műveletsor optimumával.

A teljes optimalizálás viszont munkaigényes, mert:

- minden egyes paraméter megváltoztatásánál az egész lépéssor költségét kell vizsgálni
- léptéknövelésnél az optimalizálási iterálást előlről kell kezdeni.

Szerencsére már hozzáférhetőek olyan számítógépes (flowsheeting) programok, amelyek alkalmasak a teljes folyamat számítására és újraszámolására.

A laboratóriumi folyamatok ipari léptékre való átvitelében (léptéknövelés - scale up) gyakori az a hiba, hogy a laboratóriumi lépéseket és készülékeket próbálják felnagyítani. A helyes eljárás eleve az ipari léptékű eljárás kidolgozása. Célszerű megbecsülni a maximális piaci üzemenagyságot, ehhez tervezni a lépéssort, a műveleteket és berendezéseket, és ehhez kell elvégezni a kis léptékű kísérleteket (scale down - léptékcsökkentés). Új, kiforratlan technológiák bevezetésénél gyakori eljárás az, hogy a tervezett nagy, pl. százezer tonna/év kapacitású üzem megépítése előtt megépítenek egy mindenben hasonló, de jóval kisebb (a végleges üzemenagyság 1-2 %-a, pl. 1-2000 tonna/év) pilot/modell üzemet, és ennek fél-egy éves próbaüzeméből nyert adatok/tapasztalatok alapján tervezik újra, és építik meg a termelő üzemet.

A tervezéshez célszerű minél több fizikai, kémiai és termodinamikai adatot begyűjteni.

Egy új technológia megtervezésénél többféle gondolatmenetet követhetünk:

- a. Másolás – hasonló anyaghoz hasonló technológia. Gyökeresen új problémákat így nem lehet megoldani
- b. Heurisztikus – nem merev szabályok, hanem tapasztalati ajánlások, alapelvek. A tervezés kezdeti, induló döntésinél segítenek, nem a finomításban. Inkább kizár, mint állít. A tipikust írja le, nem az egyedit.
- c. Szakértői rendszerek – számítógépes programban feldolgozott tapasztalat, IF – THAN döntések sorozatával közelíti a megoldást. Nem zárt algoritmus, sok a kvalitatív ítélet. Megfelelő programozással olyan esetre is helyes tanácsot ad, amire nincs bevitt tapasztalat.

- d. Matematikai modell – sok paraméter és összefüggés szerepel benne, emiatt bonyolult. Olyan sok mért adat kell hozzá, hogy mire az összegyűlik, addigra rendszerint az optimum a modell nélkül is adódik.

A gyakorlatban ezek kombinációját alkalmazzák. Másolnak, ha lehet, emellett az általános sémából indulnak ki, és annak elemeit variálják.

A felsorolásban szó esett a heurisztikus tervezési elvekről. Ezek közül röviden bemutatunk néhányat, amely hasznos lehet a feldolgozási műveletsor kialakításánál.

Tervezési elvek:

- Kis felbontású lépés előre, nagy felbontású hátra a műveletsorban (a nagyon eltérő tulajdonságú anyagok elválasztására a kis felbontás is megfelelő, a hasonló szennyezések elkülönítésére viszont nagy felbontású művelet szükséges)
- Az olcsóbb elválasztást vedd előre, a költségesebbet hátra (a feldolgozandó anyagmennyiség a folyamat során csökken, a költséges művelettel kisebb mennyiséget kell feldolgozni)
- A kívánt terméket válaszd el utoljára (törekedjünk a termék minél nagyobb mértékű továbbvitelére a szennyezések leválasztása során)
- A nagy kihozatalú lépést tedd hátra (a sok művelettel, sok költséggel már megtisztított anyagból minél kevesebbet veszítsünk)

Műveletválasztási elvek:

- kerülj a vákuumot és a hűtést (költséges)
- inkább atmoszférikus desztilláció, mint vákuum (költséges)
- inkább membránszűrés, mint centrifugálás (költséges)
- először a nagy tömegű anyagot válaszd el (pl. vizet = a koncentráció előzze meg a tisztítást)

Anyagi tulajdonságok szerint:

- keresd a legnagyobb különbséget a termék és a szennyezések tulajdonságai között, és ennek alapján válaszd el (így lehet hatékony az elválasztás)
- egymást követő lépéseknél különböző elveket használj (nem célszerű azonos elven - méretkülönbség, töltéskülönbség, stb. - alapuló műveleteket ismételni)
- a veszélyes és korrozív anyagokat minél hamarabb tüntesd el (az ilyen anyagokkal való munka költséges, minél hamarabb ártalmatlanítják ezeket, annál olcsóbb a technológia)

Összetételi elvek:

- vizsgálj a végtermék összetételét gazdaságilag (a „túltisztítást” a piac nem fizeti meg, csak annyira érdemes tisztítani, hogy éppen megfeleljen a követelményeknek)
- több termék esetén a legnagyobb tömegűt válaszd el először (ez esetben a tovább menő anyagáram kisebb, kevesebb anyagból kell kinyerni a minor komponenseket)

A feldolgozási műveletsor egységes tárgyalása után térjünk át az egyes műveletek részletes leírására.