

5. STERILEZÉS

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

Fogalmak:

Sterilizés: adott rendszerben lévő összes mikroba elpusztítása
Aszeptikuság: a mikrobák távoltartása a rendszertől (csíramentes állapot fenntartása)

→ aszeptikus működés = steril működés

Elszigetelés/izolálás: a mikrobáink távol tartása a környezettől



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

1

Sterilizés hővel:

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

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

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

4

STERILEZÉS

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



aszék

2

A hőpusztulási sebesség

Állandó hőmérsékleten a hőpusztulás kinetikája elsőrendű:

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

N: élő csíraszám [db/térfogat]

k: hőpusztulási sebességi állandó [1/min]

A k értéke függ:

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

5

STERILEZÉS

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

Miért pusztulnak el a mikroorganizmusok magas hőmérsékleten?

- Fehérjéik denaturálódnak
- Membránszerkezeteik megolvadnak, elfolynak, felbomlanak

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

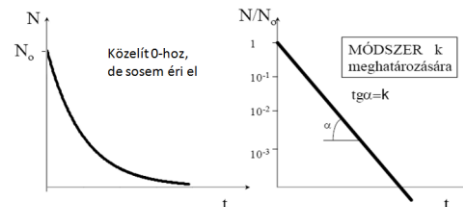


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

A hőpusztulási sebesség

Állandó k esetén (állandó hőmérsékleten) az egyenlet integrálható, melynek megoldása: $\ln \frac{N}{N_0} = -k \cdot t$ $N = N_0 e^{-kt}$



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

A hőpusztulási sebesség

A hőpusztulási sebességi állandó függ a hőmérséklettől:
Arrhenius egyenlet:

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

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

7

A hőpusztulási sebesség

A k értéke függ a mikroba fajtájától és állapotától is.

A legellenállóbbak a baktériumspórák.

Az N₀ megállapításánál a jelen lévő sokféle mikroba sejtjeit számolják meg együttesen (összcsovszám). A méretezésnél nem veszik figyelembe az eltérő hőtűrést, hanem mindegyiket nagyon ellenálló spórának tekintik, mint pl.:

Bacillus stearothermophilus

Clostridium botulinum



a k és D értékek ezekre ismertek

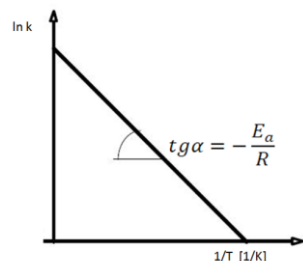


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

10

A hőpusztulási sebesség

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

8

A hőpusztulási sebesség

A sejteket körülvevő közeg is befolyásolja a hőpusztulást:

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

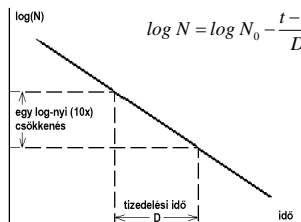


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

11

A hőpusztulási sebesség

Másik megközelítés: a tizedelési idő. Tíz-es alapú logaritmus skálán ábrázolva a pusztulást értelmezhető a 90%-os csíraszám-csökkenéshez tartozó idő, avagy tizedelési idő. A kívánt mértékű előlés nagyságrendjével (tíz-hatványával) szorozva kapható meg a szükséges sterilizációs idő.



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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

9

A hőpusztulás valószínűségi értelmezése

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

P₀ a valószínűsége annak, hogy a sterilizés az adott tételnél sikerül

1-P₀ a valószínűsége annak, hogy a sterilizés az adott tételnél nem sikerül, a tétel fertőzött marad.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

12

A hőpusztulás valószínűségi értelmezése

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

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

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

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



Hagyományos élelmiszeripari autokláv



A hőkezelési idő: $t = \frac{1}{k} \ln \frac{N_0}{N}$

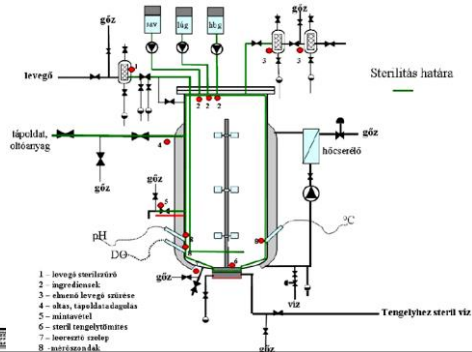
A hőkezelés idejét célszerű minél rövidebbre választani:

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

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



Ipari fermentor steril zárású szerelvényei

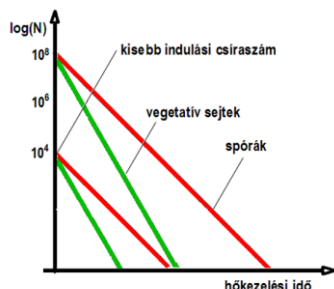


A hőpusztulási sebesség

A mikrobátípus és a kiindulási csíraszám hatása:

Azonos fertőzöttség mellett a spórák elpusztításához hosszabb idejű hőkezelés szükséges.

Kisebbs csíraszám lerövidíti a sterilizációs időt.



Konzervkészítmények sterilizálása

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

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



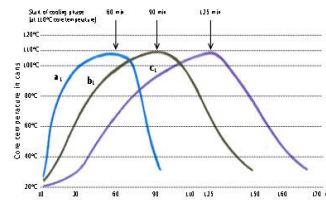
Hidegpont

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



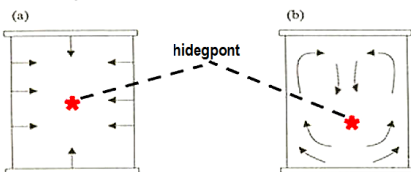
A termék méretének hatása

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



Hidegpont

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



Nyomásviszonyok, hatónyomás

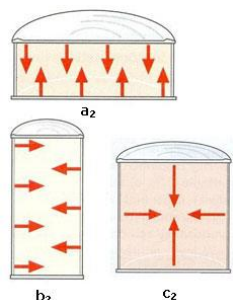
A zárt csomagolású terméken belül és kívül kialakuló hőmérsékletkülönbség miatt nyomáskülönbség is létrejön. Ez a **hatónyomás**. A belső nyomás mindig nagyobb, mint a külső, mert a dobozban maradt bezárt levegő nyomása hozzáadódik a belső gőznyomáshoz. Ez feszíti a csomagolást, néha a doboz, vagy üveg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

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



A termék alakjának hatása

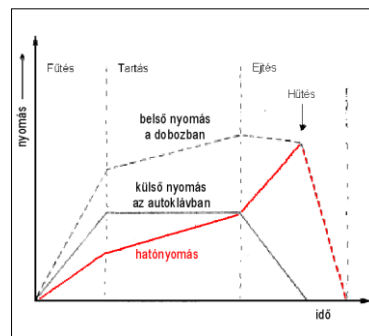
A hőpenetráció szempontjából a termék legkisebb mérete, „vékonysága” számít, ez határozza meg a hőterjedés úthosszát.



Nyomásviszonyok, hatónyomás

A hatónyomás csökkenthető, ha:

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



Táploldatok sterilizálása

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

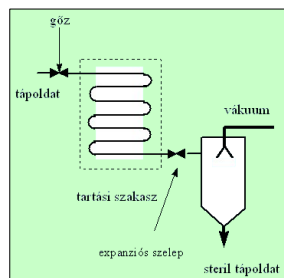
Ezek megvalósítása kétféleképpen történhet:

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



Gőzinjektoros megoldás

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

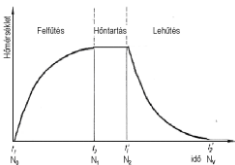


Szakaszos sterilizálás

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

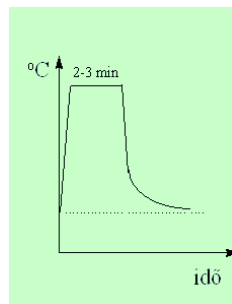
$$\ln \frac{N_0}{N_v} = \ln \frac{N_0}{N_1} + \ln \frac{N_1}{N_2} + \ln \frac{N_2}{N_v}$$

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



A folytonos sterilizálás méretezése

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



Folytonos sterilizálás

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

