

I. A fertőtlenítő hatás fokozatai:

- Csíraszámcsökkentő hatás (szanációs effektus)
- Baktériumszaporodást gátló hatás (bakteriosztatikus hatás)
- Baktériumölő hatás (baktericid effektus)
- Spóraölő hatás (sporicid effektus)
- Vírusinaktiváló hatás (virucid effektus)
- Gombaelemek pusztító hatás (fungicid effektus)
- Parazitákat pusztító hatás (paraziticid effektus)

II. A fertőtlenítő eljárás csoportosítása:

- Kémiai
- Fizikai
- Kombinált fertőtlenítő eljárások

STERILEZÉS



Csíramentesítés, pusztítás ill növ. gátlás módszerei :

Fizikai

mechanikai módszerek: **szűrés,**

elektromágneses besugárzás:

UV, röntgen , gammasugár

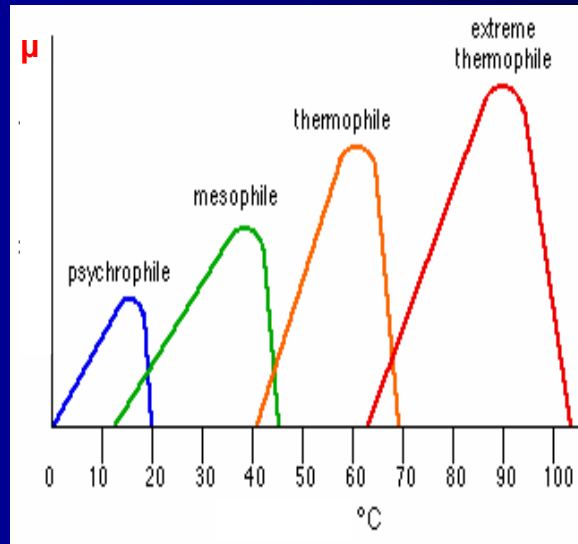
hőhatás.

Kémiai módszerek: **dezinficiálás**

Mikrobák hőpusztulásának törvényszerűségei



MIKROORGANIZMUSOK
szaporodási hőfok tartományai



- a hőérzékenység függ a mikroba fajtájától
- vegetatív sejtek sokkal érzékenyebbek a hőhatásra, mint a "kondenzált létformájú" (csökkent szabad víztartalmú) baktériumspórák

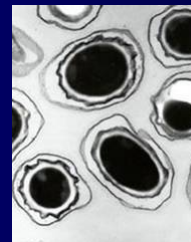
Vegetatív baktérium és élesztősejtek 1



Fonalgomba konidiospórák 2-10



Baktérium spórák ~10⁻⁶



Vírusok-bakteriofágok 1-5



-a hőérzékenység még adott spéciesz esetén is több tényezőtől függ:
a sejt előéletétől, korától
(így az exponenciális növekedési fázis sejtjei
érzékenyebbek a stacionárius fázis sejtjeinél)

-valamennyi sejt szenzitívebb **nedves** hővel szemben,
mint **száraz** hővel szemben

-a hőérzékenység (a hőpusztulás) nő a hőmérséklet emelkedésével,

-a hőérzékenység függ a mikrobasetet hordozó közegtől
táplolat pH-jától, viszkozitásától, ozmózis nyomásától,
védőanyagok jelenlététől, edény falától



HŐPUSZTULÁS KINETIKÁJA ÁLLANDÓ HŐMÉRSÉKLETEN

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

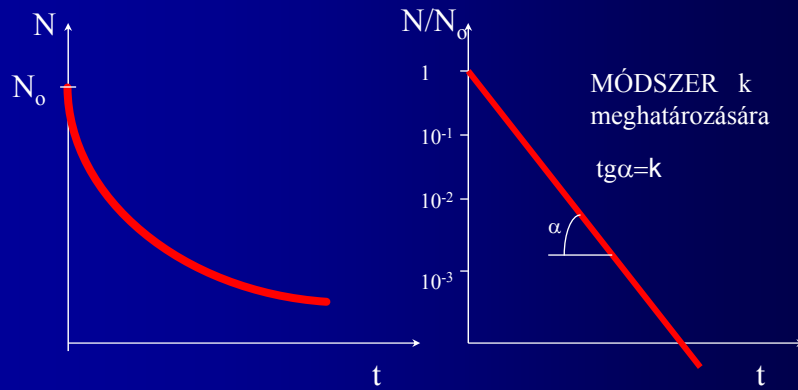
N élő csíraszám [db/cm³]

k hőpusztulási sebességi állandó [min⁻¹].

$$\ln \frac{N}{N_0} = -kt$$

$$\int_{N_0}^N \frac{dN}{N} = \int_{N_0}^N d \ln N = - \int_0^t k dt \rightarrow \left\{ \right.$$

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

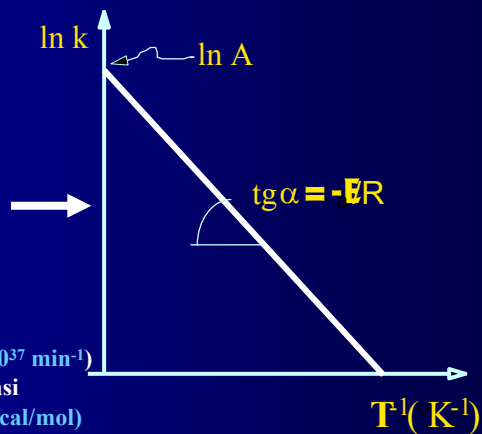


MITŐL FÜGG k ? Mikrobafajta és „forma”
Közeg
hőmérséklet

Arrhenius-egyenlet

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

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



A empirikus állandó; (G.st.: $9,5 \cdot 10^{37} \text{ min}^{-1}$)
 E_a - hőpusztulás látszólagos aktiválási energiája [KJ/mol] (G.st.: 70 kcal/mol)

Módszer a meghatározásra



Mikroba	T[°C]	k[min^{-1}]	Ea [KJ/mol]
<i>Bacillus subtilis</i> (vegetatív)	110	27	310
<i>Bacillus subtilis</i> (spórák)	121,1	3	-
<i>Bacillus</i> <i>stearothermophilus</i> (spórák)	104	0,051	283
	125	6,06	283
	130	17,52	283
<i>Clostridium botulinum</i> (spórák)	104	0,42	344
Hemoglobín (hődenaturáció)	68	$6,3 \cdot 10^{-3}$	312

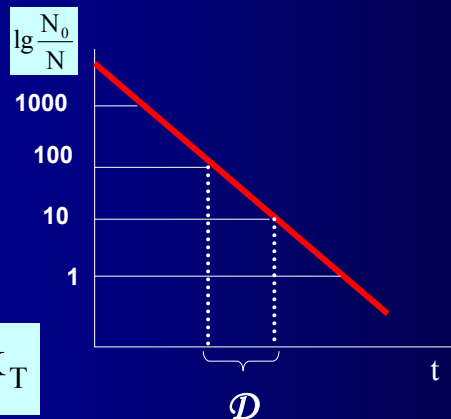
Tápanyag komponensek hőbomlásának látszólagos aktiválási energiája [kJ/mol]

Szénhidrátok és fehérjék közötti reakció	130,6
B ₁ vitamin bomlása	87,9
B ₂ vitamin bomlása	98,8



$$\frac{1}{k} = \bar{t} \quad \text{Átlagos élettartam}$$

$$\frac{2,3}{k} = \mathcal{D} \quad \text{Tizedelési idő= decimal reduction time}$$



$$k_{(T+10 \text{ } ^\circ\text{C})} = Q_{10} \cdot k_T$$



A hőpusztulás valószínűségi értelmezése

Kinetikai leírás ha $N_0 \gg 1$ JÓ! Ha nem, egyre rosszabb!!!
EZ IS sztohasztikus folyamat,

Definíció: egy csíra élettartama alatt azt az adott hőfokon értelmezett időtartamot értjük, amely alatt a csíra még életben marad.

populáció átlagélettartama

$$\bar{t} = \frac{1}{N_0} \sum_{i=1}^{\infty} N_i t_i \quad \text{Life span}$$

N_0 élő csírák kezdeti száma

N_i a t_i élettartamú csírák száma

Átlagos hőpusztulási sebességi állandó

$$\frac{1}{\bar{t}} = \bar{k}$$



Ha a hőmérséklet mindenütt azonos,
növekedés nincs,
az egyes csírák sorsa független a többi csírától.

annak valószínűsége, hogy adott t időpontban a túlélők száma éppen N
(ahol $N = 0, 1, 2, \dots, N_0$), binomális eloszlást követ:

$$P_N(t) = \binom{N_0}{N} [p(t)]^N [1 - p(t)]^{(N_0 - N)}$$

$p(t) = e^{-\bar{k}t}$ annak a valószínűsége, hogy *egy* csíra az adott t időpontban még túlélő

$$P_N(t) = \frac{N_0!}{(N_0 - N)! N!} (e^{-\bar{k}t})^N (1 - e^{-\bar{k}t})^{(N_0 - N)}$$



$$P_N(t) = \frac{N_0!}{(N_0 - N)!N!} (e^{-\bar{k}t})^N (1 - e^{-\bar{k}t})^{(N_0 - N)}$$

Mi annak a valsege, hogy *valamennyi* mikrobasejt elpusztult egy t időpontban?

$$P_0(t) = (1 - e^{-\bar{k}t})^{N_0} < 1$$

Mindíg 0-nál nagyobb annak a valószínűsége, hogy legalább egy túlélő csíra marad:

$$1 - P_0(t) = 1 - (1 - e^{-\bar{k}t})^{N_0} > 0$$

Sterilezésnél $N_0 \gg 1$

$$1 - P_0(t) \cong 1 - e^{-N}$$

amelyben $N = N_0 e^{-\bar{k}t}$.

$$\rightarrow = 1 - e^{-N_0 e^{-\bar{k}t}} \approx N_0 e^{-\bar{k}t}$$

$e^{-x} \sim 1 - x + \dots$ sorfejtés szerint



Mit jelent tehát a sterilizálás biztonsága? Pl.:

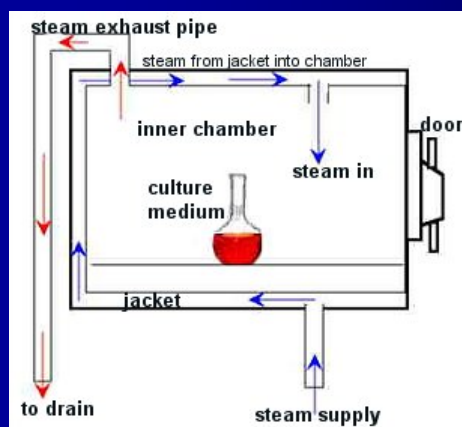
$$99,9\% \rightarrow P_0(t) = 0,999 \rightarrow 1 - P_0(t) = 0,001 = 10^{-3}$$

- ✦ Annak valsege, hogy a sterilizálás nem sikerült, azaz maradt (legalább 1 túlélő: 10^{-3})
- ✦ Annak valsege, hogy a sterilizálás sikerült, azaz nem maradt 1 túlélő sem :0,999
- ✦ Minden ezredik sterilizálásnál megengedett egy sikertelen sterilizálás
Valószínűleg ezer sterilizálásból egy nem sikerül
- ✦ Sterilizálás után a rendszerben maradt élő csírák száma (db)



Technikai megvalósítás:
Szárak hővel hőlésterilizátor

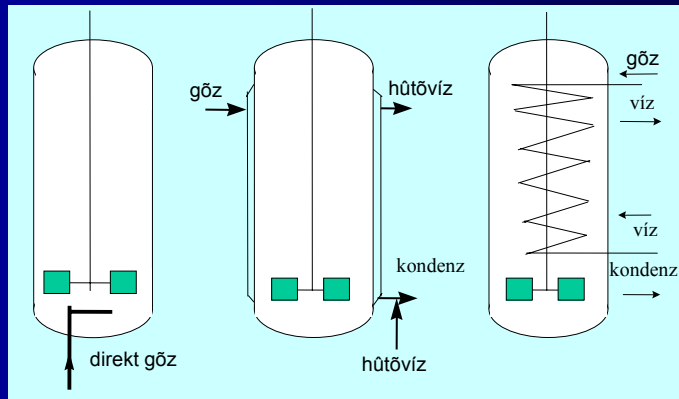
Nedves hővel (telített vízgőz)
autokláv
szakaszos to. sterilizés
folytonos to. sterilizés



STERILEZÉS



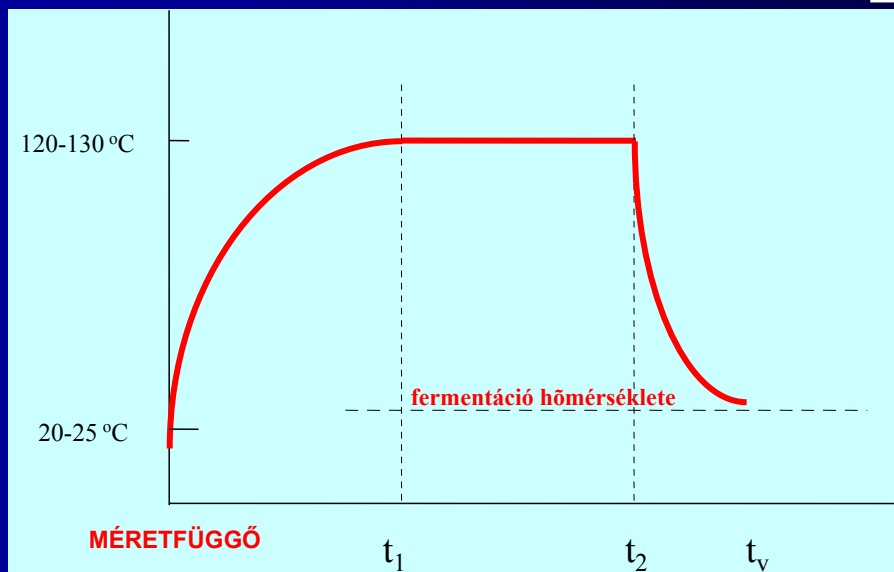
Fermentációs tápoldatok szakaszos sterilizációja



STERILEZÉS



Hőpenetrációs görbe Összemérhető szakaszok!





hőpusztulás a fűtés alatt:

$$\ln \frac{N_0}{N} = \int_0^{t_1} k dt = \nabla_{\text{fűtés}}$$

hőpusztulás a hőntartás alatt:

$$\ln \frac{N_1}{N_2} = k_{\text{tartás}} \cdot (t_2 - t_1) = \nabla_{\text{tartás}}$$

hőpusztulás a hűtési szakasz alatt:

$$\ln \frac{N_2}{N_v} = \int_{t_2}^{t_v} k dt = \nabla_{\text{hűtés}}$$

$$\nabla = \nabla_{\text{fűtés}} + \nabla_{\text{tartás}} + \nabla_{\text{hűtés}}$$

$$\ln \frac{N_0}{N_v} = \ln \left(\frac{N_0}{N_1} \frac{N_1}{N_2} \frac{N_2}{N_v} \right) = \ln \frac{N_0}{N_1} + \ln \frac{N_1}{N_2} + \ln \frac{N_2}{N_v}$$

Például: 0,20 0,75 0,05



$$\nabla_{\text{faktor}} = \ln \frac{N_0}{N} \quad \text{Méretérzékeny!}$$

$$10^{-3} \quad N_0 = 10^5 / \text{ml}$$

100 liter	$\frac{10^5 \cdot 10^5}{10^{-3}} = 10^{13}$	$\nabla = 32,2$
10 m ³	$\frac{10^5 \cdot 10^4 \cdot 10^3}{10^{-3}} = 10^{15}$	$\nabla = 36,8$
100 m ³	$\frac{10^5 \cdot 10^5 \cdot 10^3}{10^{-3}} = 10^{16}$	$\nabla = 39,2$

10x-enként 2,3-mal nő



Fermentációs tápoldatok folytonos sterilizése

Fermentor méret határ

Kihasználtság: (kg termék/fermentor.m³.év).

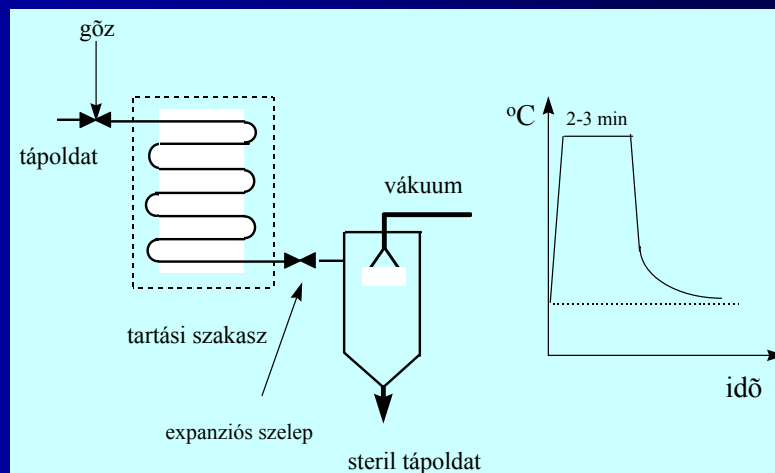
Folytonos művelet előnyei:

- nagyobb hőmérsékleten (135-150 °C) végezhető
- a rövidebb idejű sterilizálás
- sterilizálás biztonsága nő, egyenletes: st-st-ben működik
- kisebb a tápoldat komponensek hőbomlása
- nem kell keverni a st. alatt (nem lev. kev telj. nagyobb)
- fehérjéket, cukrokat külön lehet sterilizálni és keverőtartályban egyesíteni
- a folytonos folyamat reprodukálható,
- egyforma minőségű steril tápoldatot szolgáltat
ez növeli a fermentációs hozamot,
- a folytonos sterilizáló berendezések, a művelet könnyen szabályozhatók, automatizálhatók.



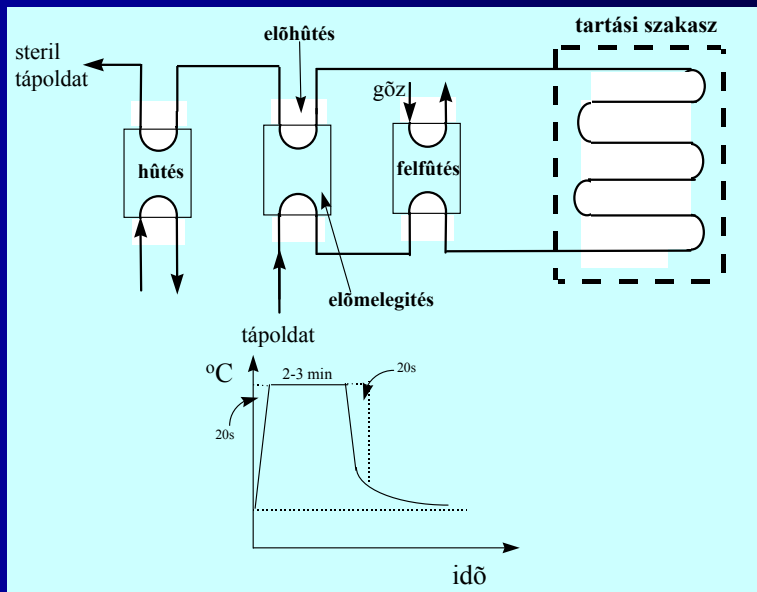
Műveleti megoldások:

GŐZINJEKTOROS

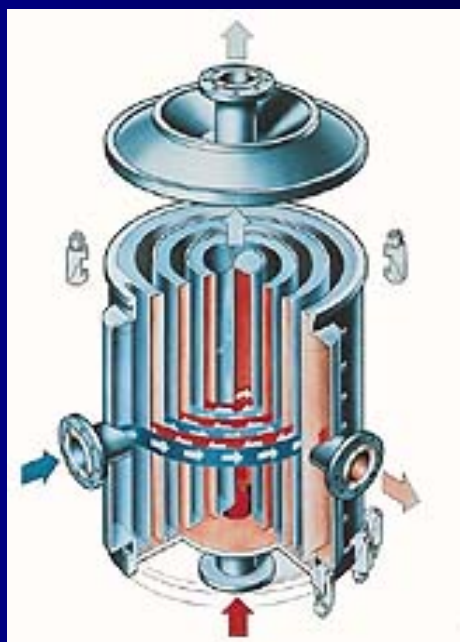


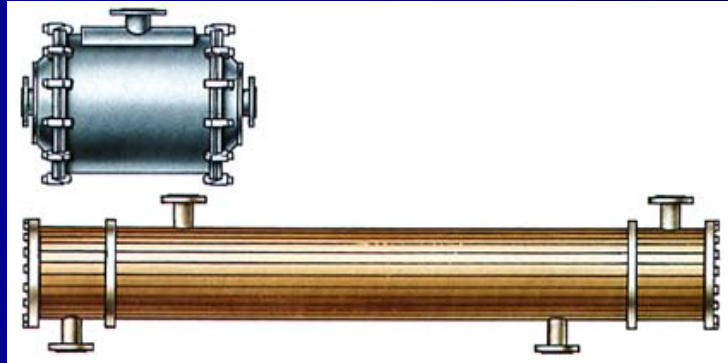


LEMEZES HŐCSERÉLŐS



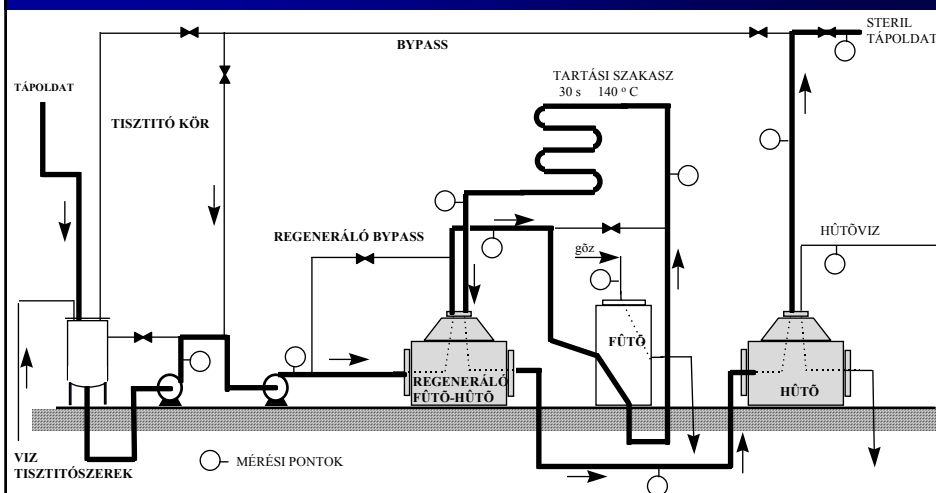
SPIRÁLHŐCSERÉLŐS







Folytonos sterilizáló állomás kapcsolása



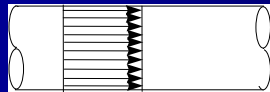


Folytonos tápoldat sterilizáló (tervezési) számítása

A tartási szakaszra:
$$\ln \frac{N_0}{N_v} = k\Delta t = k \frac{L}{\frac{w}{q}}$$

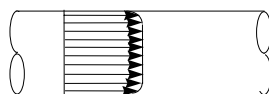
L - tartási szakasz hossza (m)
w - tápoldat térfogatárama (m³/min)
q - tartási szakasz cső keresztmetszete (m²)

DE!!!



Dugóáram (plug flow)

$$\bar{u} = u_{\max}$$



Turbulens áramlás

$$\bar{u} = 0,82 * u_{\max}$$



Lamináris áramlás

$$\bar{u} = 0,5 * u_{\max}$$



$$\frac{N(L)}{N_0} = \frac{4y \cdot \exp(\text{Pe}/2)}{(1+y)^2 \exp\left(\frac{y\text{Pe}}{2}\right) - (1-y)^2 \exp\left(-\frac{y\text{Pe}}{2}\right)}$$

$$y = \left(1 + \frac{4\text{Da}}{\text{Pe}}\right)^{1/2}$$

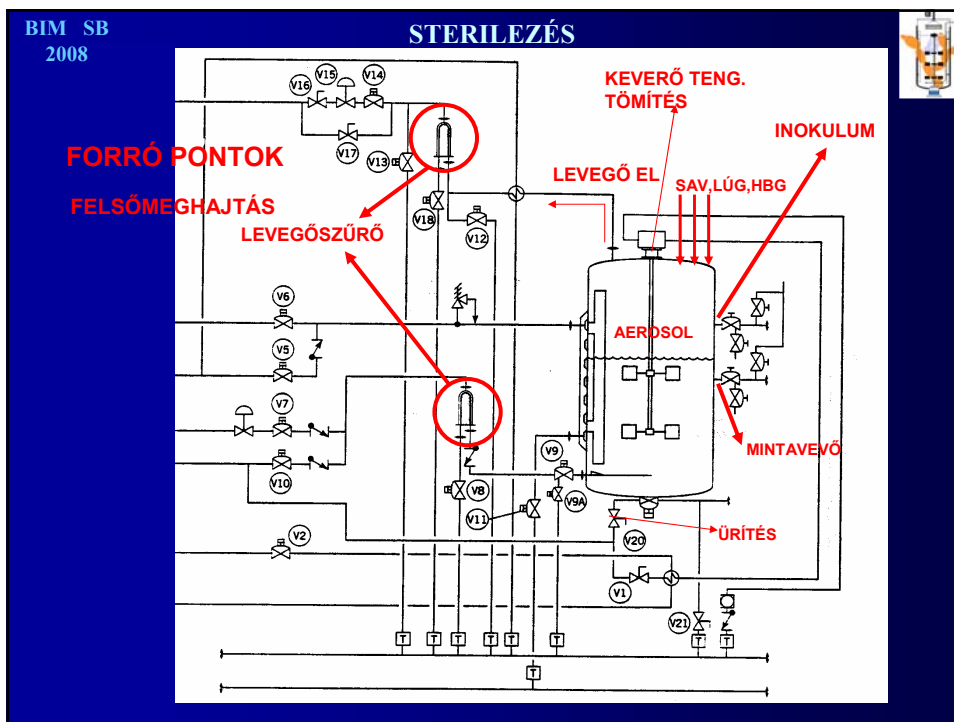
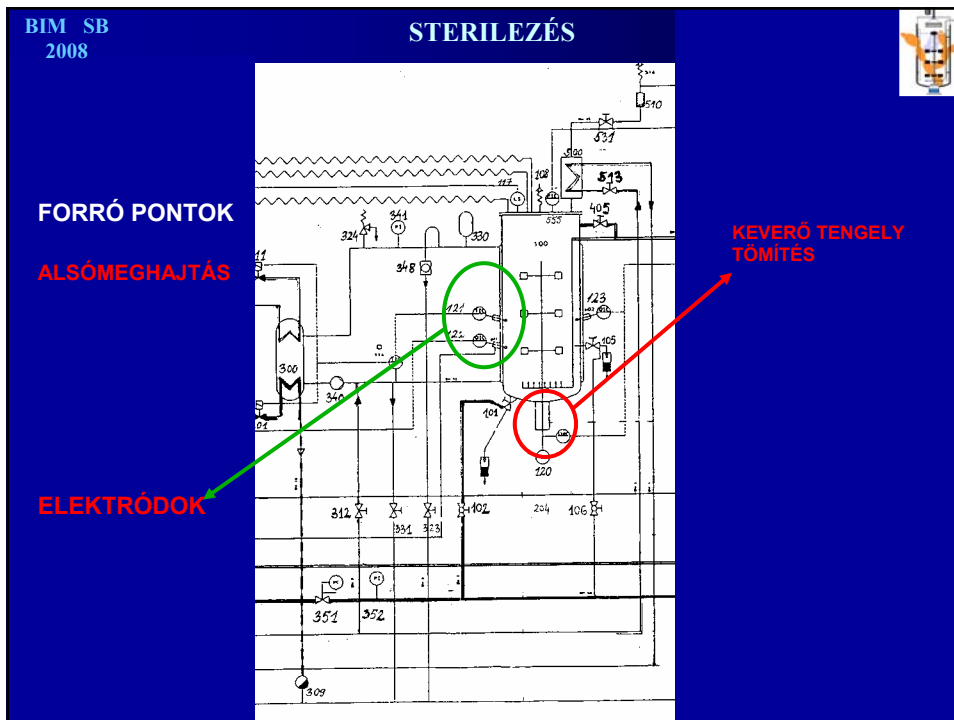
Da = kL / \bar{u} Damköhler szám vagy reakciószám,

Pe = $\bar{u}L / D$ Peclet szám.

A dugóáramtól való kis eltérés esetén (1/Pe kicsi)
$$\frac{N(L)}{N_0} = \exp\left(-\text{Da} + \frac{\text{Da}^2}{\text{Pe}}\right)$$

Ha $\text{Pe} = \infty$, dugóáram jellemzi az áramlási viszonyokat

$$\frac{N(L)}{N_0} \exp(-\text{Da}) = \exp\left(-k \frac{L}{\bar{u}}\right) = \exp(-k\bar{t})$$



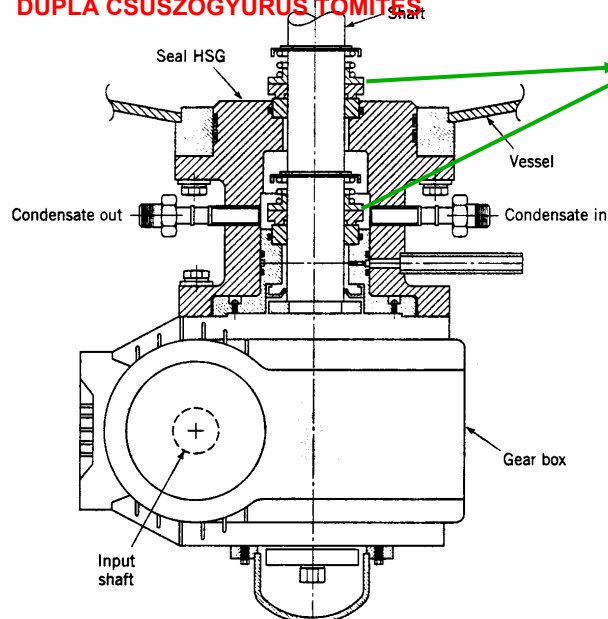


**KEVERŐTENGELY
BE-,KI-LEVEGŐ
ADALÉKOK:
CSÖVEK
SZELEPEK
INOKULUM VONAL
SZENZOROK
SZIVATTYÚK**

**DOWN-STREAM: STERIL
NEMSTERIL**



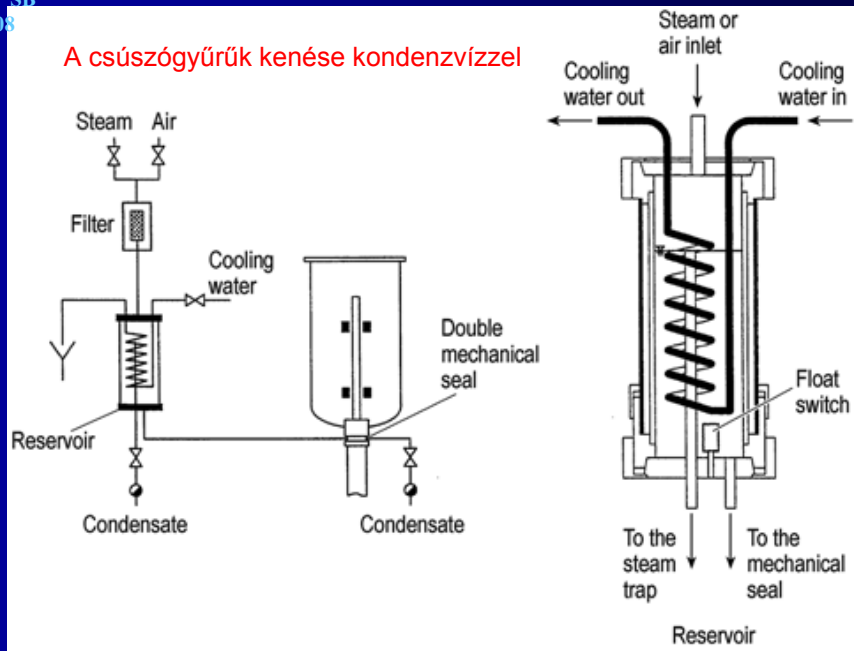
DUPLA CSÚSZÓGYŰRŰS TÖMÍTÉS



CSÚSZÓ FELÜLET

STERIL VÍZ - KENÉS

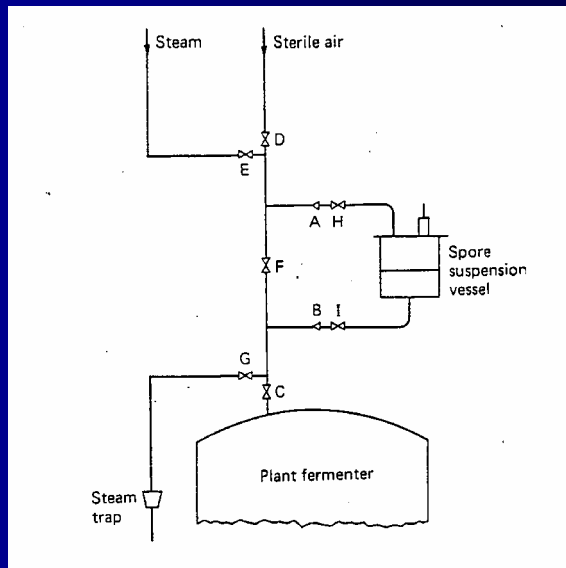
A csúszógyűrűk kenése kondenzvízzel



STERILEZÉS

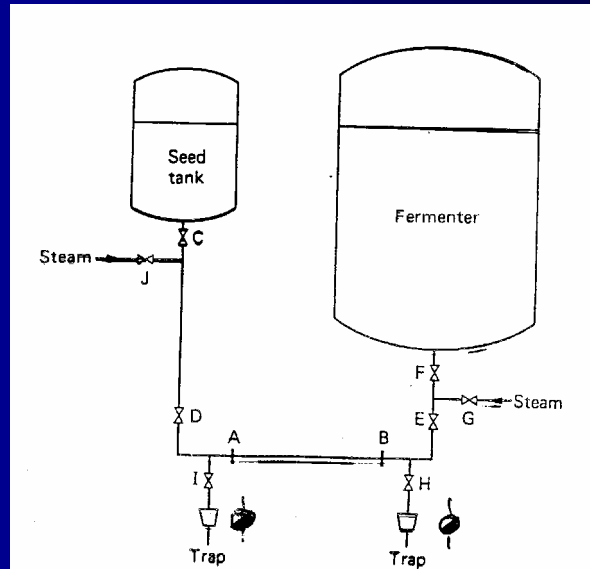


STERIL OLTÁS

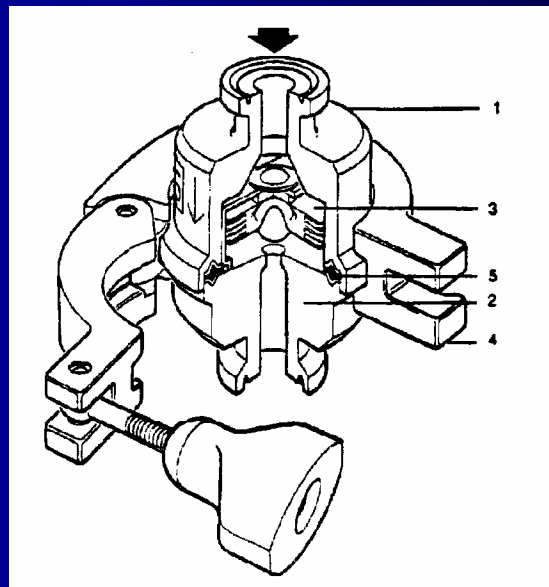


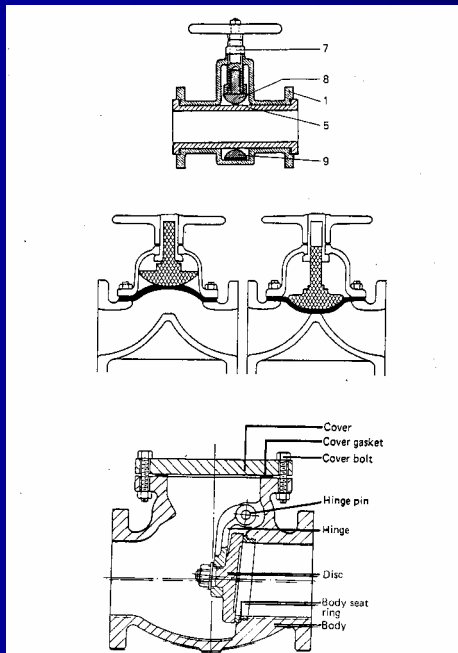


STERIL OLTÁS 2



TERMODINAMIKUS KONDENZEDÉNY





MEMBRÁNSZELEPEK

VISSZACSPÓSZELEP

BIM SB „A gőzsterilizálás alapjai jól ismertek, de egy aktuális, jól működő rendszert
2008 megtervezni mégis nagy kihívás”

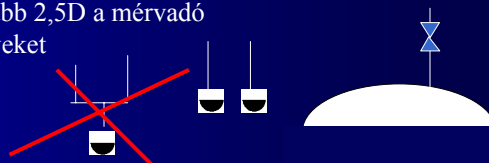
30 év, W.D.Wise (Eli Lilly), ChemicalProcessing.com

Mit tegyünk?

- légtelenítés (telített gőz!), a levegő „higítja” a gőzt, légszákok
- pre-vákuum ciklusok:csövekből, porózus alkatrészekből, vattadugó, géz
- minden alacsonyan lévő ponthoz kondenzedény, v. k-lefúvató.
- csövek a legalacsonyabb pont felé lejtjenek, hőmérők az alacsony pontokra
- A túlnyomás nem elég: ha lyuk van pl. steril levegővezetékben, be fog fertőződni
(Venturi effektus beszívja a nem st. levegőt)
- St után, ellennyomás st.levegővel vákuum elkerülésére (gőz kondenzál → vákuum!)
- Könnyen tisztítható kivitelek

Mit ne tegyünk?

- Légszákok „6D szabály”, ma inkább 2,5D a mérvadó
- Ne használjunk közös elvezető csöveket
- Ne legyen stagnáló felső szakasz



- Ne hidd, hogy a levegő leszáll, mert nehezebb a gőznél

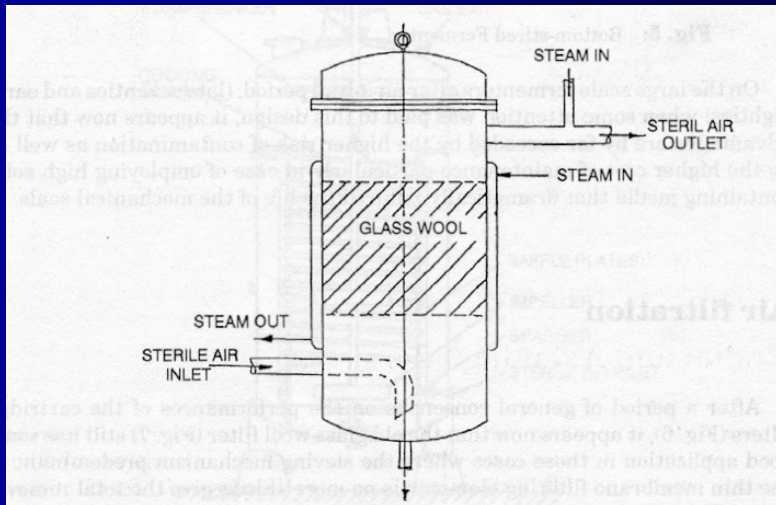


Fig. 7: Depth filter.

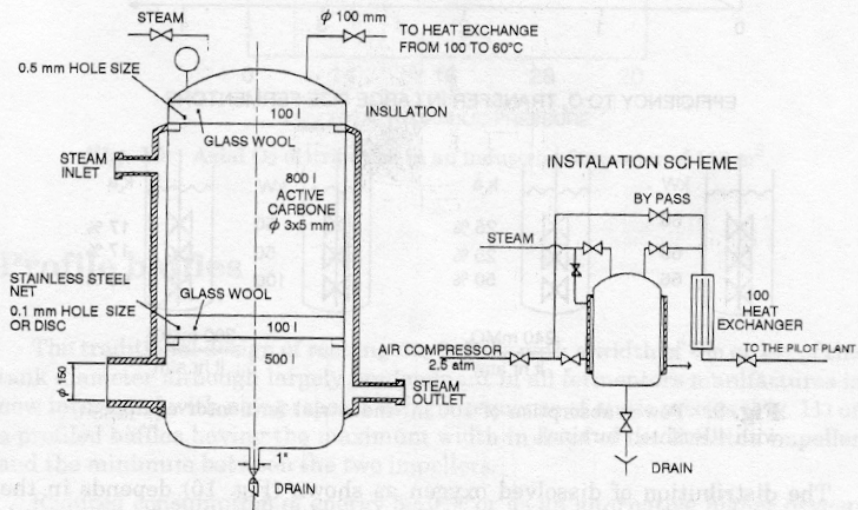
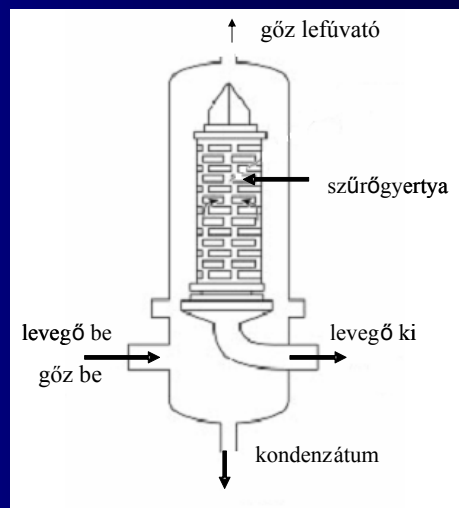
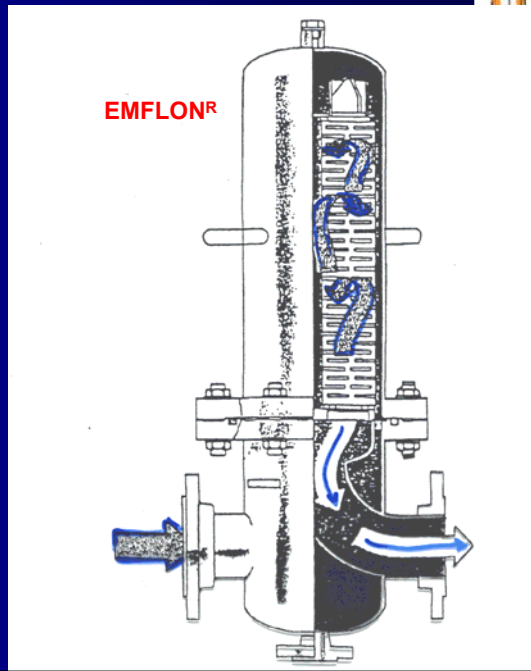
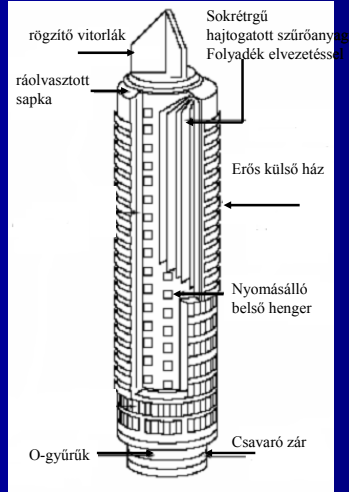
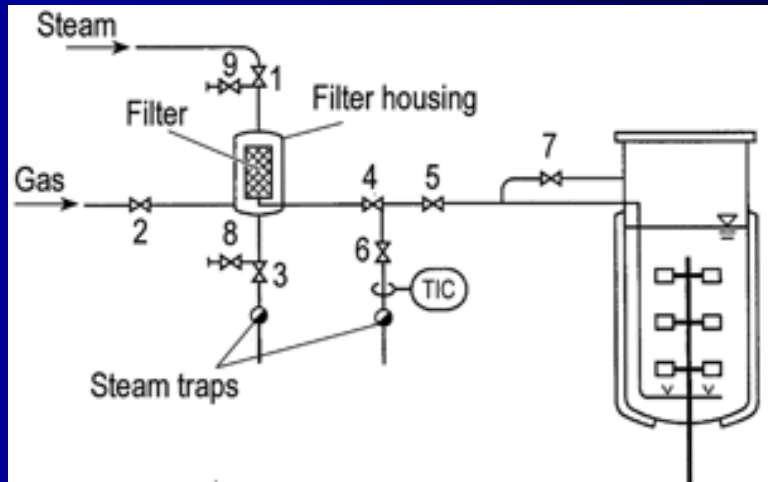


Fig. 8: Antiphage system.

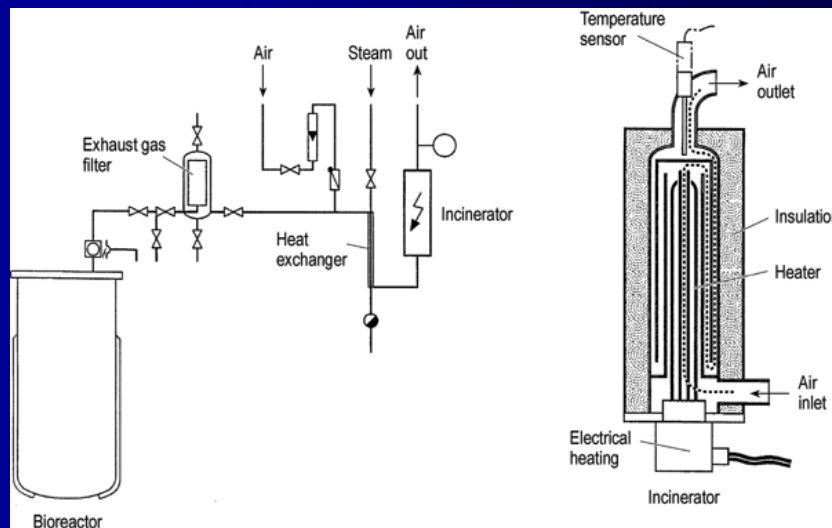


A gázsűrő sterilizációja.

A tápoldattal egyszerre, vagy külön.
fontos: hőmérséklet monitorálása, integritástervezetek!!



Incinerator: elmenő gáz sterilizációja



CIP
(CLEANING IN PLACE)

STERILEZÉS

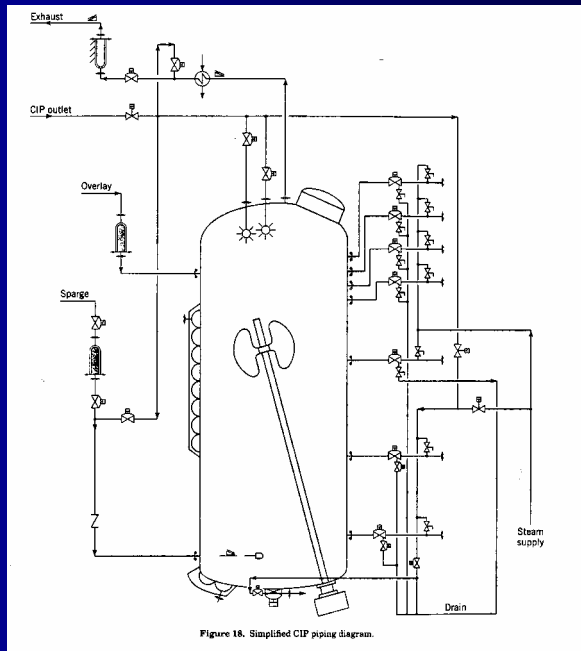
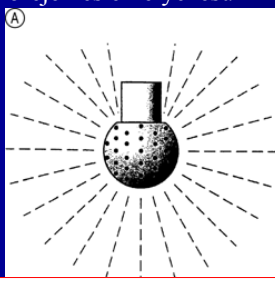
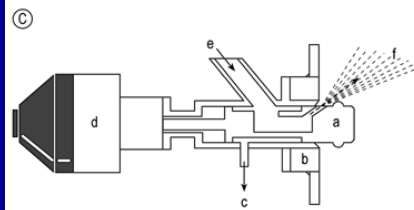
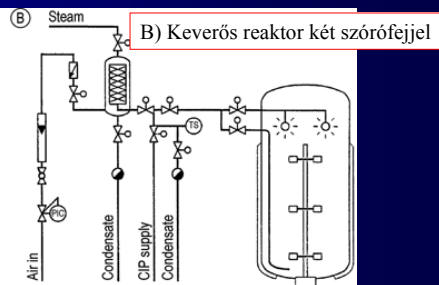


Figure 18. Simplified CIP piping diagram.

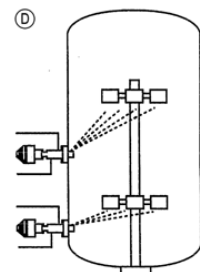
Szórófejek és elhelyezésük



A) Szórófej 360°-os szórással, 1-15 m³/h;

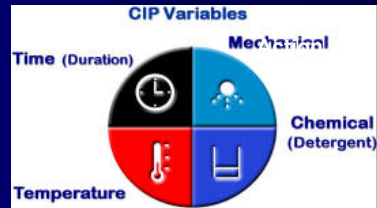


C) Szóró szelep;
a) szórófej kilépés; b) tartályba szerelés;
c) kondenz el; d) Pneumatikus aktuátor;
e) tisztító detergens vagy gőz;
f) tisztító detergens kilépés



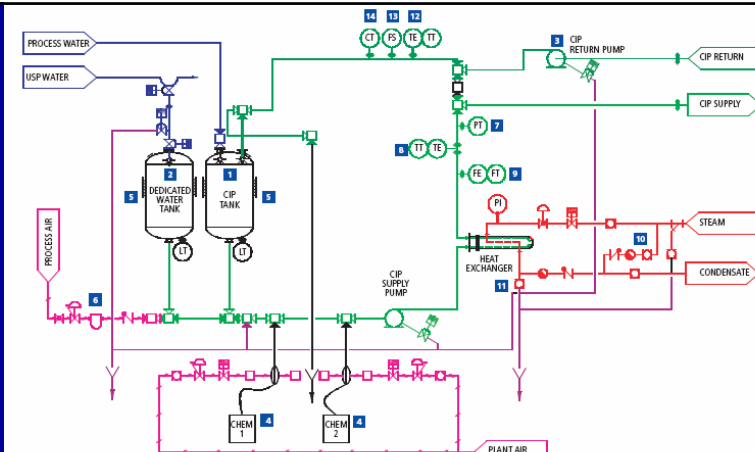
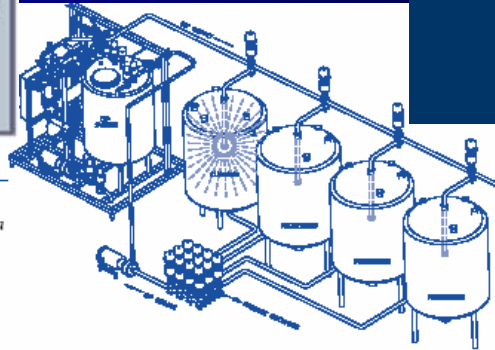
D) szórószelepek közvetlenül a tisztítandó kritikus felületre irányítva

BIM SB
2008



The CIP Skid controls the cleaning (“T.A.C.T.”) parameters of Temperature, Action (velocity/pressure), Chemical concentration and Time of exposure.

Matrix Piping
Integration of a
CIP System



- | | | |
|--|--------------------------------------|--|
| 1 CIP tank | 6 Air blow | 12 CIP return temperature transmitter |
| 2 Secondary dedicated water tank | 7 CIP supply pressure transmitter | 13 CIP return flow switch |
| 3 CIP return pump with low point drain valve | 8 CIP supply temperature transmitter | 14 CIP return conductivity transmitter |
| 4 Chemical addition system(s) | 9 CIP supply flow transmitter | |
| 5 Tank insulation | 10 Steam supply condensate drip leg | |
| | 11 Heat exchanger drain | |

Kémiai sterilizálás = dezinfekció

A legfontosabb hatóanyagok:

- Etilénoxid
- Ózon
- Alkoholok
- Fenol
- Formaldehid
- Glutáraldehid
- Guanidinek
- Hidrogén peroxid
- Jodofórok
- Klór és klórvegyületek
- Kvaterner ammónium vegyületek
- Ortoftálaldehid
- Perecetsav

Gázsterilizálás: **Etilén oxid** (ETO)

forráspont 10.4°C azaz gáz halmazállapotú szobahőmérsékleten

EtO reagál aminosavakkal, proteinekkel, DNS-sel → reprodukciót megakadályozza.

Sterilizálás után kilevegőztetés a gáznyomok eltávolítására,

Műanyagba csomagolt edények: Petri csészék, pipetták, injekciós fecskendők, -tűk, egyéb orvosi felszerelés



gázsterilizáló

Ózon sterilizáció:

$O_2 \rightarrow$ elektromos mező \rightarrow O atomok $\rightarrow O_3$
víz (ivó és szennyvíz) és élelmiszerek (hús, tojás) dezinficiálása

Mind folyadék mind gáz formában

Los Angeles a világ legnagyobb ózonos víz-kezelő üzemét üzemelteti

Uszodák, palackozott vizek konténereinek sterilizése

Antiszeptikum: olyanok, amelyek kevésbé veszélyesek: bőr, nyálkahártya,
de nem megehető!!!

alkoholok, Hg, ezüstnitrát, I_2 -oldat, detergensek

Dezinficiálószer: megölik a mikrobákat de spóráikat nem feltétlenül.
Nem biztonságosak emberi szövetekre
Élettelen felületek, padló, fal...

hipokloritok, $CuSO_4$, kvaterner ammónium vegyületek,
formalin, fenolok

Dezinficiálás: Cu, Hg, Ag történeti,
alkoholok, szerves savak (tartósítás: tejsav,
ecetsav, szalicilsav, benzoosav)

Klór-leadó vegyületek: NaOCl pH> 9
Na.diklór-izocianurát pH=7 0,5-1%

H_2O_2 : 4% oldat \longrightarrow $\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ }
Percetsav : 3% oldat \longrightarrow Evetsav+ O_2 } biocidok

Kvaterner ammóniumvegyületek: min 0,2 %

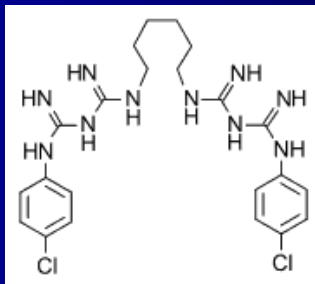
benzalkónium klorid,
Alkil-dimetilbenzil-ammónium kloridok keveréke;
alkoholos polivinilpirrolidon-iodid (10% w/v, szappan)
Na- lauryl ether szulfát (25 % w/v);

Glutáraldehid : baktericid, sporocid, virucid, fungicid 2% , lúgos pH:8,3 oldatban

Klórhexidin: kémiai antiszeptikum. Klórhexidin-diglukonát
Elpusztítja a (baktericid) a gram-pozitív és gram-negatív mikroorganizmusokat,
bakteriosztatikum is. 0,05%

Mechanizmus: *membrán roncsolás.*

Klorhexidin termékek nagy cc-ban **szemtől és fültől távoltartani** ,
de kontaktlencse is: 0,005-0,006 %os cc-ben



Formaldehid: sporocid, virucid, fungicid 0,5-1% vizes oldat, v gőzök ill gáz.

Etanol, izopropanol : 70%, nem sporocid! Csak a csírázó spórákat pusztítja

Table I: Methods of sanitization and sterilization.

Method	Concentration of Active Ingred.	Temperature (F/C)	Contact Time (min)	Effective Against Live Bacteria	Effective Against Spores
Boiling	heat	>175/80	15-30	+	-
Autoclave/ pressure cooker	heat	250/121	15-30	+	+
Dry heat/ Oven	heat	350/177	60-180	+	+
Incinerator	heat	>700/370	<0.1	+	+
UV radiation	400 W/cm ²		10-30	+	+/-
Detergent	1% (v/v)		5-30	+/-	-
Chlorine	0.01-5% (v/v)		10-30	+	+
Alcohol	70-85% (v/v)		10-30	+	-