

## 4. FERMENTÁCIÓK LEVEGŐZTETÉSE



### A mikrobák oxigénigénye

Az oxigénigény szempontjából a mikrobákat több csoportba sorolhatjuk:

- Aerob mikroorganizmusok – anyagcseréjükhöz szükségük van oxigénre
- Anaerob mikroorganizmusok – anyagcseréjükhöz nincs szükségük oxigénre, a levegőtől elzárva is szaporodnak
- Fakultatív aerob mikroorganizmusok – mindkét típusú anyagcserére képesek (pl. élesztők)

Levegőztetni értelemszerűen csak az aerob mikrobák tenyésztését kell.



## 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%)

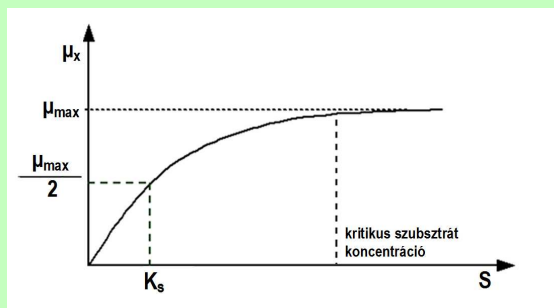
A cukrok hasznosítása (energiatermelés) során széndioxid és víz keletkezik. A CO<sub>2</sub> oxigénje a cukorból ered, a vízé az O<sub>2</sub>-ből.  
Az oxigén a mikroba számára egy szubsztrát.



## Az oxigén mint szubsztrát

Az oxigén a mikroba számára egy szubsztrát, tehát érvényesek rá az ott bevezetett összefüggések. Mikroba fajlagos szaporodási sebessége függ az oxigén koncentrációjától:

$$\mu = \mu_{max} \frac{C_{O_2}}{K_{O_2} + C_{O_2}}$$



Értelemzhető a kritikus oxigén koncentráció is ↑



## Az oxigén mint szubsztrát

Az oxigénre is értelmezhető a fajlagos szubsztrátlebontási sebesség, amit a szakirodalomban  $\mu_s$  helyett  $Q$ -val jelölnek:

$$\mu_s = \frac{1}{x} \frac{dc_{O_2}}{dt} = Q$$

A hozamkonstans is felírható  $O_2$ -re:

$$Y = \frac{\mu_x}{Q} = \frac{dx}{dc_{O_2}}$$

Ezeket egyesítve az  $O_2$  fogyasztás sebessége függ a jelenlévő  $O_2$  koncentrációjától:

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

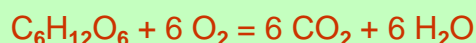


## Miért kell folyamatosan levegőztetni?

Az oxigén (apoláris molekula) a vízben (poláris oldószer) rosszul oldódik:  $\sim 5 \text{ mg/l}$  = 5 milliomod rész.

Mennyi oxigénre van szükség?

Glükóz hasznosításánál:



180 g + 192 g (nagyjából ugyanannyi)

Ha tehát a elfogy  $\sim 10\%$  cukor, ahhoz  $\sim 11\%$  oxigén kellene.

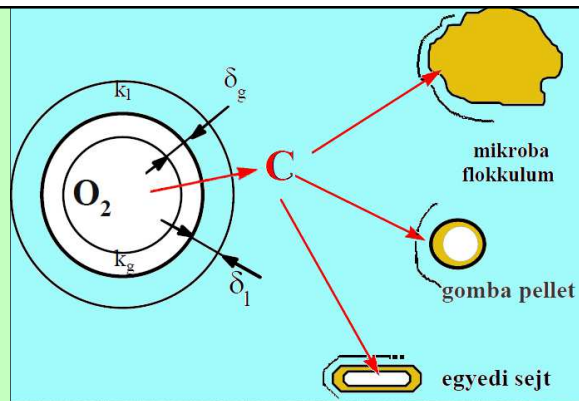
Ennyi nem oldódik  $\rightarrow$  folyamatosan kell bevinni  $\rightarrow$  ez a levegőztetés.

Megoldása: a fermentlén levegőt buborékoltatunk át, ebből oldódik át az oxigén.



## Az oxigén útja

Az oxigén molekula útja több szakaszra osztható:



- 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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

7

## Az oxigénátadás sebessége

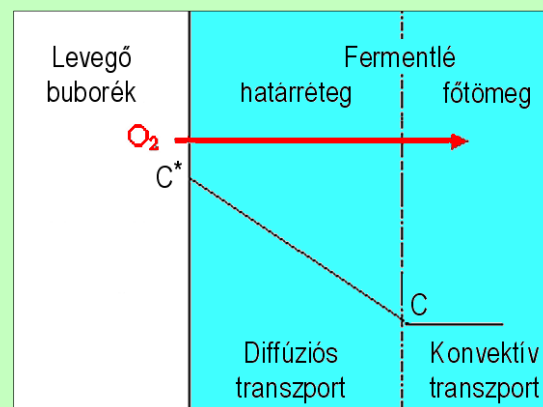
Az egymást követő lépések közül mindig a leglassabb a sebességmeghatározó – ez a diffúzió a folyadékoldali határrétegben.  
A diffúzió általános egyenlete:

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

Az adott esetre:

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

- $c^*$  - telítési  $O_2$  koncentráció
- $c$  -  $O_2$  koncentráció a lében
- $a$  – a két fázis határfelülete
- $K_L$  – tömegátadási tényező



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

8

## A levegőztetést befolyásoló paraméterek

1.  $c^*$  - a telítési oxigén koncentráció (oldhatóság) – növeli az anyagátadás hajtóerejét
2.  $a$  - a levegő és a fermentlé érintkezési felülete, a buborékok összes felülete - növeli az anyagátadás keresztmetszetét
3.  $K_L$  - tömegátadási tényező, a felületi határréteg „vezetőképessége”  $O_2$ -re – növelése javítja az anyagátadást



## $c^*$ - telítési oxigén koncentráció, függ:

1. A folyadékkal érintkező gázban lévő oxigén parciális nyomásától. A két koncentráció egyensúlyát a Henry törvény írja le:

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

Technológiai lehetőségek:

- nyomás növelése a készülékben: ahogy az össznyomás növekszik, vele nő a parciális is (mindig 21%). (Nagyobb, ipari készülékeknél a nyomás nem egyforma: fent fejnomás, lent fej + hidrosztatikai nyomás) Hátránya: nagyobb kompresszor kell, nagyobb az energiafogyasztás.
- tiszta oxigénnel lehet dúsítani a bevitt levegőt (a tiszta oxigén ipari gyártása megoldott, de drága.)



## $c^*$ - telítési oxigén koncentráció, függ:

2. A hőmérséklet függvényében változik a gázok oldhatósága  
→ romlik. Eszerint alacsony hőmérsékleten kellene fermentálni.

Technológiai lehetőségek: nincsenek, mert a hőmérsékletet a mikroba optimumára kell állítani.

3. Egyéb oldott anyagok jelenléte rontja az  $O_2$  oldhatóságát.  
Tömény tápoldatokban rosszabbul oldódik.

Technológiai lehetőségek: nincsenek, mert a tápoldat összetételét a mikroorganizmus igényei határozzák meg.



## A két fázis határfelülete:

úgy növelhető, 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 nyomtatunk be, ennek egységes mértéke a VVM (Volumen/Volumen/Minutum)  $VVM = m^3$  bevitt levegő /  $m^3$  fermentlé / perc. Értéke általában 1 körüli (0,5-2 közé esik).

→ a buborékokat visszatartjuk a folyadékban, nem hagyjuk őket egyenesen felszállni, keveréssel és terelő lemezekkel spirális pályára kényszerítjük.



## $K_L$ : folyadékoldali anyagátadási tényező

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

- D-től (a diffúziót gyorsítja a magasabb hőmérséklet, de az a mikrobáktól függ)
- x-től (felületi határreteg vastagságát a főtömeg áramlásának turbulenciája befolyásolja). Minél turbulensebb a keverés, annál vékonyabb a film, annál gyorsabb az anyagátadás a felületen.

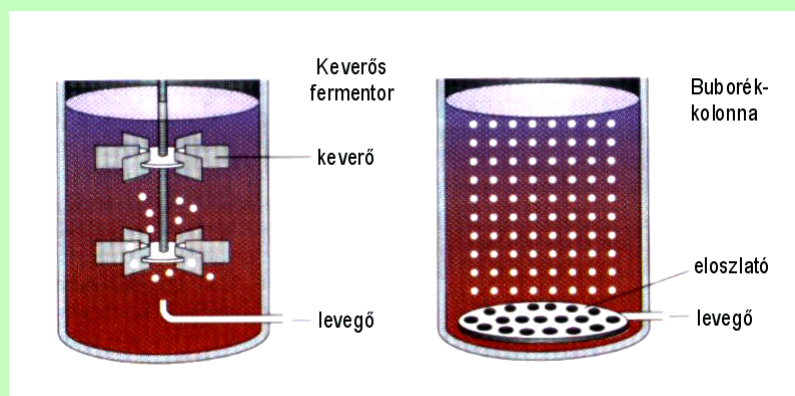
Mi befolyásolja a keverés intenzitását (turbulenciáját)?

- a készülék kialakítása (pl. a keverő méretei, fordulatszám, keverők száma, lapátok száma, típusa, stb.)
- a folyadék jellemzői: a Re számban is szerepel  $\mu$  és  $\rho$



## Keverős és toronyfermentor összehasonlítása

Hasonlítsunk össze két fermentációs levegőztetési megoldást!



## Keverős és toronyfermentor összehasonlítása

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:

- keverő nélkül rosszabb a  $K_L$
- a vízoszlop magassága nagyobb → alul nagy nyomáson lépnek be a buborékok →  $c^*$  nagy.
- a buborékok felszállva kitérnek és hosszabb az útjuk, több időt töltenek a folyadékban → nagyobb az érintkezési felület → jobb lesz az anyagátadás.
- nagyobb nyomású kompresszor kell → drágább



## Mikrobák oxigénigényének meghatározása

### 1. Gázelemzéssel

Az oxigénkoncentráció méréseket a fermentoron kívül, a bemenő és elmenő levegőből végezzük. A kettő különbsége „bent maradt” a rendszerben = ennyit fogyasztott el a tenyészet =  $Q$

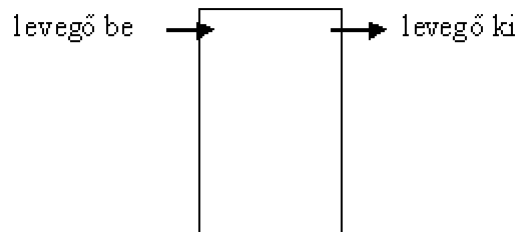
$$Q = \frac{\Delta C \cdot W}{V \cdot X}$$

$\Delta c$  -  $O_2$  koncentráció különbség a be- és kijövő gázáramban

$W$  - a levegő térfogatárama

$V$  - a fermentor térfogata

$X$  - mikroba koncentráció

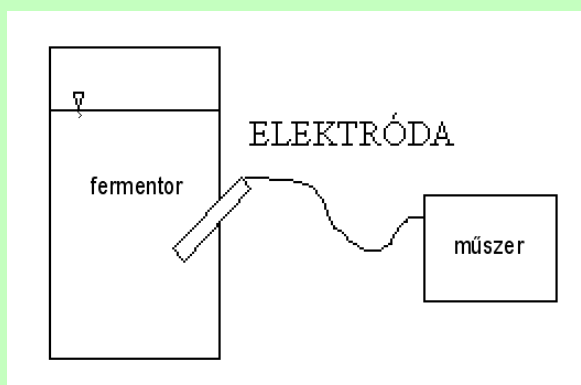




## Q dinamikus mérése

A folyadékban lévő oldott  $O_2$  mérésére alkalmas elektródával folyamatosan mérjük az oldott oxigén koncentrációját.

Fermentáció közben 2-3 percre elzárjuk a levegő betáplálást, és a mért  $O_2$  változásból határozzuk meg a Q-t.



## Q dinamikus mérése

Fermentáció közben az oldott  $O_2$  koncentráció (DO) változását a következő mérlegegyenlettel írhatjuk le:

változás = beoldódás – a mikrobák fogyasztása

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

Ha elzárjuk a levegőztetést, az egyenlet beoldódás tagja nullává válik:

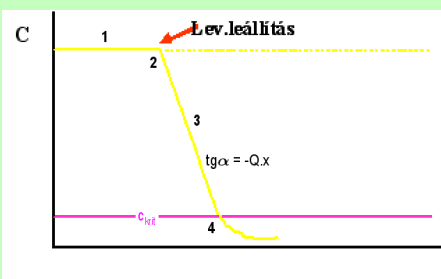
$$\frac{dc}{dt} = -Q \cdot x$$

Az  $O_2$  szint csökkenésének meredeksége a Q-val arányos.



## Q dinamikus mérése

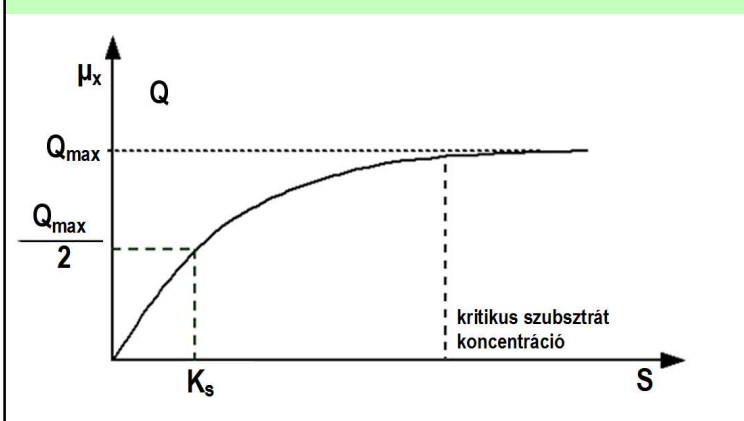
1. A fermentáció során nagyon lassan változik az  $O_2$  koncentrációja, ez a vízszintes vonal.
2. A levegőt elzárjuk, a mikroba csak az oldott  $O_2$ -t tudja fogyasztani és emiatt csökken a koncentráció.
3. A kezdeti szakasz egyenes, mert a  $Q \cdot x$  meredekség állandó.
4. amikor eléri a kritikus  $O_2$  koncentrációt, elgörbül, mert  $Q$  már nem állandó.
5. A  $Qx$ -ből a  $Q$  kiszámítható



$$Q = Q_{max} \frac{C_{O_2}}{K_{O_2} + C_{O_2}}$$



## Q dinamikus mérése



$$Q = Q_{max} \frac{C_{O_2}}{K_{O_2} + C_{O_2}}$$



## $K_L$ meghatározása

A  $K_L$  és a  $a$  értékét külön-külön csak bonyolult mérésekkel lehet meghatározni. Egyszerűbb a szorzatot kimérni, és ez jól használható a gyakorlatban. A méréseket végezhetjük:

- Modell oldatokkal, mikrobák nélkül
- Fermentáció közben, mikrobák jelenlétében



## Kilevegőztetés (gassing out)

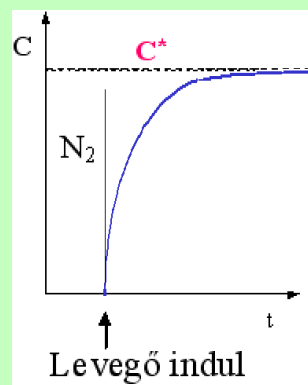
E mérés során tiszta  $N_2$  gáz átbuborékolatásával kihajtják az oldott oxigént a bioreaktorban lévő vízből, majd a  $N_2$ -ről átkapcsolnak levegőztetésre. Eközben folytonosan mérik az oldott oxigén koncentrációjának alakulását.

A görbe egyenlete:  $\frac{dc}{dt} = K_L \cdot a(c^* - c)$  és alakja:

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

Szétválasztással integrálva:

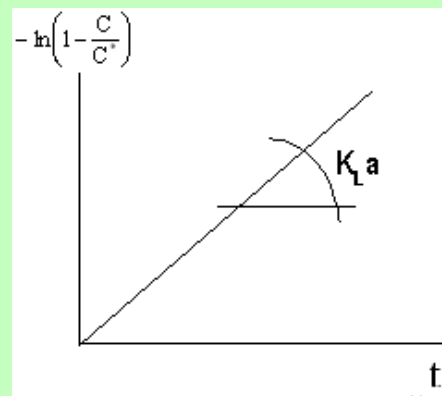
$$-\ln\left(1 - \frac{C}{C^*}\right) = K_L a \cdot t$$



## Kilevegőztetés (gassing out)

A mérési adatokból kiszámítható  $-\ln\left(1 - \frac{C}{C^*}\right)$

értékeket az idő függvényében ábrázolva a kapott egyenes meredeksége adja meg a  $K_L a$  értékét.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

23

## Szulfitoxidációs módszer

A szulfitmérés során az oxigén abszorpció sebességének mérését egy kémiai reakció sebességének mérésére vezetjük vissza.

Az oxigénabszorpció szempontjából vizsgálni kívánt bioreaktort  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  oldattal töltjük meg és levegőztetjük (és kevertetjük). Ekkor a



reakció játszódik le.

Ez pillanatszerűen gyors és teljesen végbemegy  $\rightarrow$  a buborékokból beoldódott  $\text{O}_2$  azonnal elreagál  $\rightarrow$  ameddig a szulfit el nem fogy, addig az oldott  $\text{O}_2$  koncentrációja nulla.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

24

## Szulfitoxidációs módszer

A beoldódás egyenlete 0 oxigén mellett leegyszerűsödik:

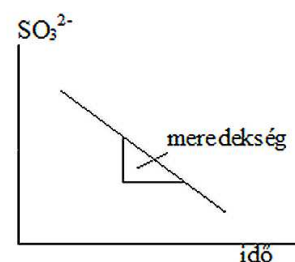
$$\frac{dC}{dt} = K_L a (C^* - C) = K_L a C^*$$

A kapott szorzat a szulfitszám (S).

$$S = K_L a C^*$$

$C^*$  ismeretében a  $K_L a$  kiszámítható.

A reakció során a szulfit fogy, a csökkenő koncentrációt néhány percenkénti mintavételezéssel, titrálással mérik. A szulfitfogyás sebessége pontosan megegyezik az  $O_2$  beoldódás sebességével ( $dC/dt$ ), az ábrázolt egyenes meredeksége a szulfitszám.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

25

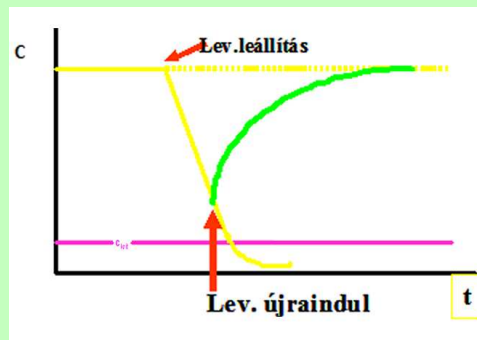
## Dinamikus $K_L a$ meghatározás

A mérést az oxigénigény méréséhez hasonlóan végezzük, csak ez esetben a DO görbének a levegő visszakapcsolás utáni felszálló ágát vizsgáljuk. Itt az  $O_2$  mérlegegyenlet teljes alakja érvényes:

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

átrendezve:

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



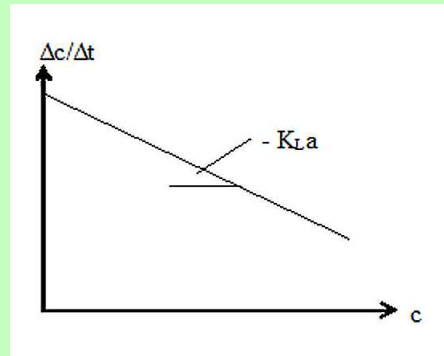
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

26

## Dinamikus $K_L a$ meghatározás

Ha a  $\Delta c/\Delta t$  értékeket ábrázoljuk a  $c$  koncentráció függvényében, egyenest kapunk, amelynek meredeksége ( $-K_L a$ .)

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

27

## A levegőztetés technikai megoldásai

1.) *Kémcső forgató*: a tenyészetek legkisebb léptéke 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.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

28

## A levegőztetés technikai megoldásai

### 2.) Rázólombik

Kúpos alakú (Erlenmeyer) lombikba kevés (20 – 30%-nyi) tápfolyadékot töltenek. Ezt a rázógépet tálcájára rögzítik, ami körkörösén mozog (mint egy szita). A lötyböléstől folyamatosan beoldódik az oxigén.

A rázógépet általában termosztált szekrényben helyezik el..



## A levegőztetés technikai megoldásai

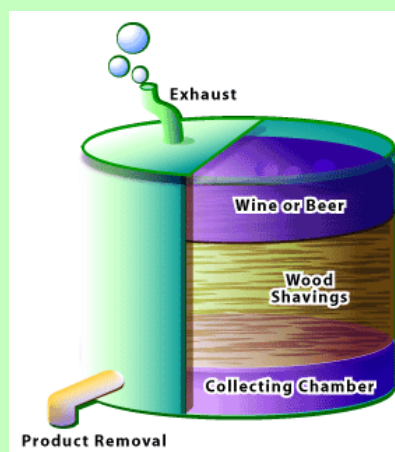
### 3.) Felületi tenyészet

A tenyészetet valamilyen hordozó felületén, vagy csak egyszerűen a folyadék felszínén szaporítjuk el.

Példa: ecetsav gyártás, bükkfa forgáccsal töltött toronyban.

A felülről lefolyó alkoholos oldatot a felületen képződő tenyészet – biofilm – ecetsavvá alakítja.

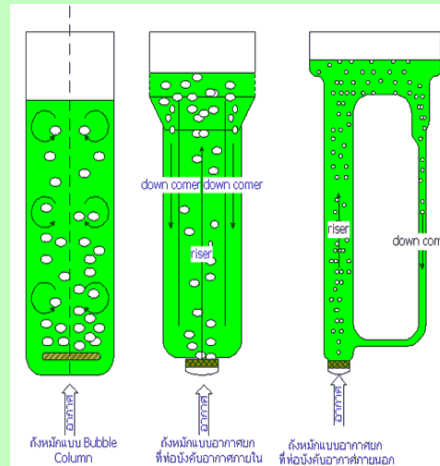
A levegő szabadon áramlik fölfelé a töltet hézagaiban.



## A levegőztetés technikai megoldásai

### 4.) Air lift levegőztetés

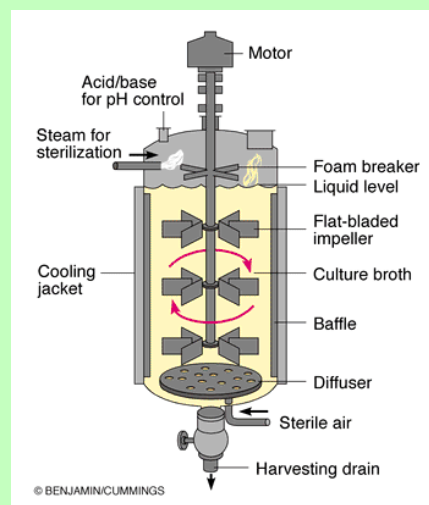
Azonos a már tárgyalt toronyfermentorral, nincs keverője, csak a bevitt levegő keveri, mozgatja a folyadékot. A felszálló buborékok áramlást, cirkulációt hozhatnak létre a készülékben. Az áramlások iránya szerint többféle megoldása lehet:



## A levegőztetés keveréssel

### A keverés:

- Erős turbulenciát hoz létre → vékony felületi határreteg → jó anyagátadás → nagy  $k_L$
- Aprítja és visszatartja a buborékokat → nagyobb a határfelület (a)



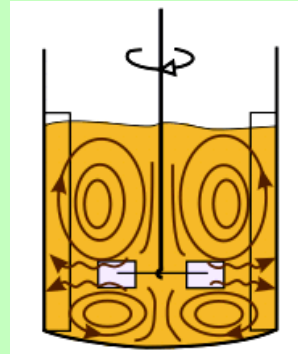
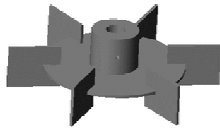


## A levegőztetés keveréssel

### 5.) Flat-blade (síklapátos keverő)

Egyszerű, de hatékony keverő, erős turbulenciát hoz létre. A tengelytől a reaktor fala felé áramoltatja a folyadékot, erőteljes függőleges cirkuláció is kialakul.

6 db sík lapát, radiálisan:



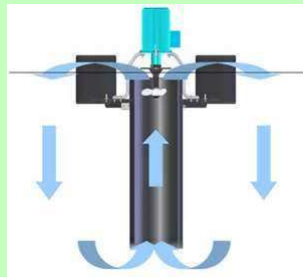
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

33

## A levegőztetés keveréssel

### 6.) Felületi levegőztető

olyan turbínaszivattyú, amely felszívja és kidobja a folyadékot. A víz áramlik és nagy felületen érintkezik a levegővel, sok  $O_2$  tud beoldódni. Nem steril megoldás, szennyvíztisztítóknál használják.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

34



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

35

## Kiegészítő berendezések

Kompresszor: nagy teljesítményű, középnyomású (3-6 bar), olajmentes levegőt kell adnia.

A dugattyús nem jó, mert az olajmentes nagyon drága.

A centrifugális nem elég nagy és erős.

Helyettük:

Csavarkompresszor →



Hátránya: visít



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

36

## Kiegészítő berendezések

### Levegőszűrők:

a levegőt sterilre kell szűrni (a baktériumokat nem engedheti át) → szűrőmembrán  
Hőálló, víztaszító anyagból készül, nemezelt, itatóspapírszerű szerkezet.

Harmonikaszerűen összehajtják, és ezt is henger alakúra formálják = szűrőgyertya →

