

3. STERILIZÁLÁS

A mikroba tenyésztésénél általában arra törekszünk, hogy a be-
rendezésben kizárólag a kiválasztott mikroba törzs szaporodjon.
A környezet, azaz a fermentor, a tápoldat, minden anyag viszont
sokféle mikrobával szennyezett – ezeket a folyamat megkezdé-
se előtt el kell pusztítani – ez a sterilizálás.

Fogalmak:

Sterilizálás: adott rendszerben lévő összes mikroba elpusztítása
Aszeptikus: a mikroba távoltartása a rendszertől (csíramen-
tes állapot fenntartása)

→ aszeptikus működés = steril működés

Elszigetelés/izolálás: a mikroba távol tartása a környezettől



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

1

STERILIZÁLÁS

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

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

Miért pusztulnak el a mikroorganizmusok magas hőmérsékleten?

- Fehérjéik denaturálódnak
- Membránszerkezeteik megolvadnak, elfolyhatnak, felbomlanak



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

Sterilizálás 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, túlnyo-
más alatt. Ehhez a hőmérséklethez ~1,2 bar túlnyomás
tartozik.

Pasztörözés: maximum 100 °C-os hőkezelés, amely csak
a mikroba vegetatív alakjait pusztítja el, a spórásokat
nem.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

A hőpusztulási sebesség

Állandó hőmérsékleten a hőpusztulás kinetikája elsőrendű:

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

N: élő csíraszám [db/térfogat]
k: hőpusztulási sebességi állandó [1/min]

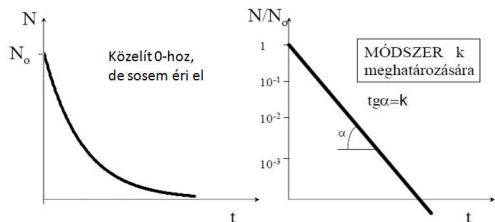
k függ:

- > a hőmérséklettől
- > a mikroba fajtájától
- > a vegetatív sejtek érzékenyebbek, mint a baktériumspórák
- > a közegtől



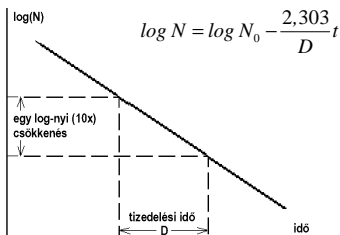
A hőpusztulási sebesség

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



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.



$$\log N = \log N_0 - \frac{2,303}{D} t$$

$$t = \frac{D}{2,303} \cdot \log \frac{N_0}{N}$$



A hőpusztulási sebesség

A hőpusztulási sebességi állandó függ a hőmérséklettől:
Arrhenius egyenlet:

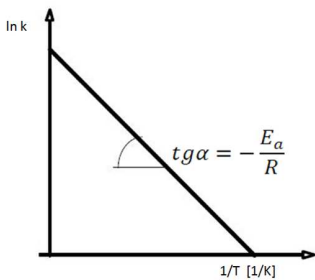
$$k = A \cdot e^{-\frac{E_a}{RT}} \quad \ln k = \ln A - \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T}$$

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



A hőpusztulási sebesség

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

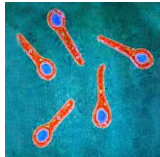


A hőpusztulási sebesség

A k értéke függ a mikroba fajtájától és állapotától is.
A legellenállóbbak a baktériumspórák.
Az N_0 megállapításánál a jelen lévő sokféle mikroba sejtjeit számolják meg együttesen (összcsíraszám). A méretezésnél nem veszik figyelembe az eltérő hőűrést, hanem mindegyiket nagyon ellenálló spóráknak tekintik, mint pl.:

Bacillus stearothermophilus

Clostridium botulinum



a k és D értékek ezekre ismertek



A hőpusztulási sebesség

A sejteket körülvevő közeg is befolyásolja a hőpusztulást:

- Már enyhén savas közegben is gyorsabban pusztulnak, mint semleges pH-n.
- Tömény a cukoroldatokban (pl. melasz) lassabban pusztulnak a mikrobák, mint felhígított formában.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

10

A hőpusztulás valószínűségi értelmezése

Az exponenciális kifejezésből kitűnik, hogy a végső csíraszám sohasem éri el a nullát. Teljes sterilításhoz végtelen hőkezelési idő kellene. Ezért egy végesen kicsi értéket választanak célértéknek.

Sterilizálás kritériuma a biotechnológiai iparban:

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

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

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

11

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 kevésbé bomlanak el,
- energetikailag is kedvezőbb.

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

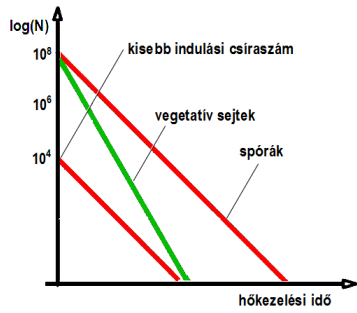
12

A hőpusztulási sebesség

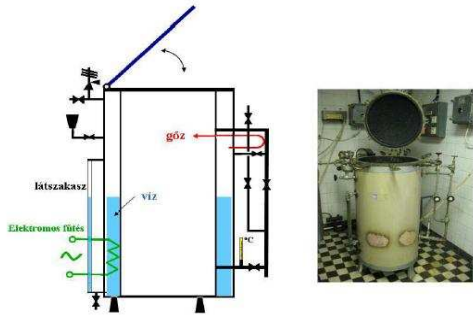
A mikrobátípus és a kiindulási csíraszám hatása:

Azonos fertőzöttség mellett a spórák elpusztításához hosszabb idejű hőkezelés szükséges.

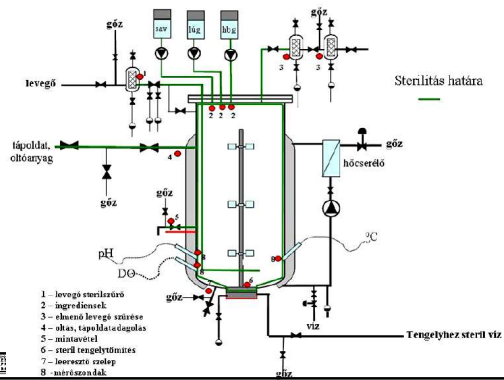
Kiseb csíraszám lerövidíti a sterilizációs időt.



Hagyományos laboratóriumi autokláv



Ipari fermentor steril zárású szerelvényei



Konzervkészítmények sterilizése

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 sajátságait (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 halmazállapotától, hővezetőképességétől, valamint a termék alakjától és méretétől.



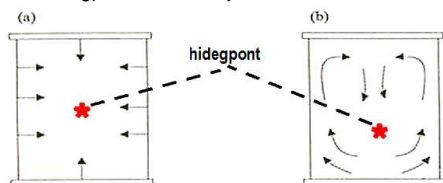
Hidegpont

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 sterilizést 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) kétféle módon történhet: szilárd vagy pépes készítményeknél túlnyomórészt hővezetéssel, míg a folyadékokban a konvekciós (áramlásos) hőtranszport a jellemző.



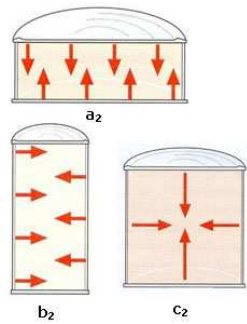
Hidegpont

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



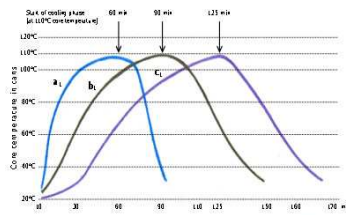
A termék alakjának hatása

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



A termék méretének hatása

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



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 zárárszakadást eredményezhet.

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



Nyomásviszonyok, hatónyomás

A hatónyomás csökkenthető, ha:

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

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

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

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Szakaszos sterilizálás

A szakaszos sterilizálás méretezésénél külön kell választani a három szakaszt. Az egy szakaszok végpontjához rendeljük hozzá a maradék csíraszámokat ($N_0, N_1, N_2, N_{végső}$).

A három szakaszban együttesen kell eljutni a mért kiindulási csíraszámhoz a tervezett végső csíraszámig (általában 10^{-3} élő csíra/fermentor)

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

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Szakaszos sterilizálás

A levezetett összefüggés szerint a k-t szorzatok összege adja az eredő pusztulást.

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

Az állandó hőmérsékletű hőtartási szakaszban a k értéke állandó, így egyszerűen a szorzattal számolhatunk.

A felfűtési és lehűtési szakaszban viszont a hőmérséklet változik, és vele együtt a k értékek is. Itt a szorzat helyett a k-t függvény integráljával kell számolni.

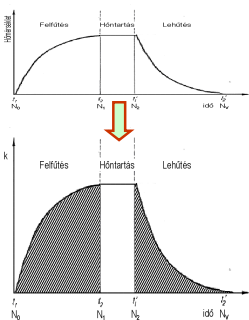
$$k \cdot t = \int k(T) dt$$



Szakaszos sterilizálás

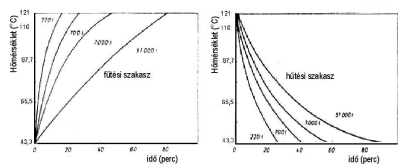
Ehhez ismerni kellene a k – t függvényt. Ezt létrehozhatjuk a megmért T – t függvény átszerkesztésével. Minden hőmérsékletre ismerjük a standard spórás mikroorganizmusok k értékeit, így kiszámíthatjuk a k – t függvény pontjait. Az integrálok értékei numerikusan kiszámíthatók.

A gyakorlatban a felfűtési és lehűtési szakaszok adottak (az adott berendezés jellemzői), így a méretezés csak a hőtartási szakasz idejének meghatározására irányul.



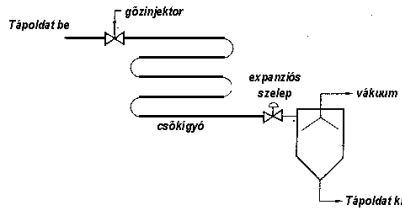
Folytonos sterilizálás

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



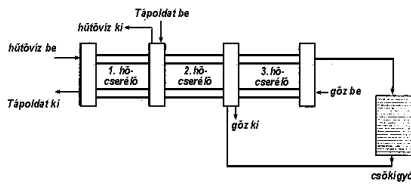
Gőzinjektoros megoldás

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 hőtartást a hőszigetelt csőkiyóban eltöltött 1-2 perces idő jelenti. A lehűtés expanziós szelepen való átlépéssel jön létre: a nyomás alól a folyadék vákuumtérbe lép át, felforr, és egy része elpárolog. Az elvont párolgáshó leviszi a hőfokot ~80 fokra.



Hőcserélős megoldás

A hőcsere az igen jó hőtadadású lemezes hőcserélőkben történik. A hideg oldatot a 2. hőcserélőben előmelegíti a kilépő forró steril tápanyag. A 3. egységben gőzfűtéssel másodpercek alatt eléri a 140-145 fokot, ezt a hőfokot a csőkiyón áthaladva ~2 percig tartja, majd két lépésben lehűl. Előbb a 2. egységben adja át hőjének egy részét, majd az 1.-ben hűtővízzel hűtik le a kívánt hőfokra.



A folytonos sterilizálás méretezése

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

