

Fermentációs technológiák az élelmiszeriparban

1. Történelmi áttekintés

A fermentáció (erjesztés) több ezer évre visszanyúló egyik legrégebbi biotechnológiai eljárás. Történelem előtti időktől készít az ember fermentációval élelmiszereket, mint kenyeret, sajtot, sört és bort (1. táblázat). A gyümölcskivonatok és malátázott gabonák habzó megjelenése ihlette a fermentáció kifejezést, amely a latin *fervere* (forr) igéből származik. A "habzást" a folyamatos gáztermelés okozza, ugyanis az élesztő a fermentálás során az alkoholdermélés melléktermékeként CO₂-ot szabadít fel.

1. táblázat: A fermentálás történetének legfontosabb eseményei

Fermentálási folyamat	Időszak
Sajtkészítés tehén- és kecsketejből (Közel-Keleten)	i.e. 6000
Pékélesztővel kelesztett kenyér és borkészítés (egyiptomiak)	i.e. 4000
Sörkészítés árpából (sumérok)	i.e. 1750
Antibiotikus hatású penészes szójatúró - tofu készítése (kínaiak)	i.e. 500
Borkészítés, a Római császár által szorgalmazva	III. század
Élesztő-fermentálás (Erxleben)	1818
Tejsavfermentálás (Pasteur)	1860
Enzimek fermentálása élesztőben (Buchner)	1897
Penicillin felfedezése (Alexander Fleming)	1929
Egyéb antibiotikumok felfedezése	1945-től napjainkig

Az 1850-es években Louis Pasteur, a modern mikrobiológia atyja, megfejtette az élesztőgombák erjedésben való szerepét, nevezetesen azt, hogy anaerob körülmények között a cukrokat alkohollá fermentálva szén-dioxidot szabadítanak fel. Ez indította el az ipari érdeklődést a mikrobáknak az élelmiszer-, italgyártásban és gyógyászatban való felhasználására. A XX. század első felében kidolgoztak olyan technológiákat, amelyekkel ipari mennyiségben lehetett alkoholt, ecetsavat, tejsavat, citromsavat, glükonsavat, acetont, butanolt és glicerint

előállítani. Ebben az időben az anaerob fermentációra szubmerz (folyadékkultúrás) tenyésztést alkalmaztak, míg az aerob tenyésztés ún. felületi, szilárd fázison történt. Az egyre növekvő igény miatt a pékélesztő és különböző szerves savak előállítására kifejlesztették a kevert-levegőztetett reaktorokat. A II. világháború alatt kifejlesztették a penicillin ipari előállítását is. A háború utáni időszakban viszont egy visszaesés következett be a termékek fermentációval való előállításában a különböző kémiai technológiák előtérbe kerülésével, mert pl. a kémiai szintézis által olcsóbban lehetett előállítani termékeket, mint fermentációval. A század vége fele a biológiai folyamatok fokozatos megismerésével egyre hatékonyabb fermentációs rendszereket fejlesztettek ki a különböző biokémiai termékek előállítására.

2. Fermentációs koncepció

A fermentáció a mikroorganizmusoknak optimális tápanyagkörülmények közötti tenyésztése, amelynek során különböző hasznos metabolitokat állítanak elő. Ezt a kapacitását egy adott organizmusnak az anyagcsere-útvonalainak rendszere határozza meg. A XIX. században Louis Pasteur demonstrálta és leírta a borképződés és savasodás folyamatát, amely folyamatok élesztőgombák vagy különböző káros baktériumok tevékenységeinek a következményei. A fermentáció fogalmát eleinte anaerob folyamatokra használták, amit ma anaerob fermentációnak neveznek. Jelenleg a fogalom kiterjedt az aerob folyamatokra is, amit ma aerob fermentációnak neveznek. A metabolikus mintázatát egy organizmusnak a sokféle reakció mutatja, amely egy fermentációs folyamat során lejátszódik, amelyeket alapvetően az organizmus számára hozzáférhető energiaellátás határoz meg. Annak a módját, ahogyan a mikrobák megszerzik a növekedéshez szükséges energiát a következőképpen lehet osztályozni:

- **autotróf** mikroorganizmusok: külső energiaforrást használnak, ilyen lehet a napenergia vagy szerves anyag oxidációja (kemoszintézis).
- **heterotróf** mikroorganizmusok: energiájukat redukált szerves szubsztrátokból nyerik, oxidációs–redukációs reakciók során.

Az élelmiszeriparban és a biotechnológiai folyamatokban alkalmazott mikroorganizmusok általában heterotrófok. Ezért néhány általánosítás tehető az aerob fermentációs folyamatokkal kapcsolatban:

- a folyamat kezdetén szerves szubsztrátok vannak jelen, amelyek oxidáción keresztül a növekedéshez szükséges energiát biztosítják, függően az oxigén elérhetőségtől.
- a metabolikus útvonal képviseli a folyamatot, amely termeli az anyagokat, amelyek oxidáltabbak, mint a folyamat kezdetén jelenlevők.
- a levegő jelenlétében lejátszódó oxidatív folyamat energetikailag sokkal hatékonyabb, mint az anaerob folyamat.
- aerob fermentáció esetében szén-dioxid, víz és biomassa a végtermék, valamint extracelluláris anyagcseretermékek, amelyek tovább nem oxidálhatók az adott rendszerben.
- anaerob fermentáció esetében szén-dioxid, víz és biomassa a végtermék, valamint extracelluláris anyagcseretermékek meglehetősen magas koncentrációban. Ezeknek a metabolitoknak magasabb a redukáltsági fokuk (pl. etanol), mint az aerob fermentációból marad termékeknek.

Általánosítva az aerob folyamatok reakcióit (figyelman kívül hagyva egy esetleges másodlagos metabolikus útvonalat), ezt írhatjuk fel:



Egyszerű cukrok, mint a glükóz és a szukróz, a leggyakoribb energiaforrást biztosító szerves anyagok, amelyek egy ilyen reakcióban résztvesznek. A fenti egyenlet a következőket képviseli:

- redox reakció.
- égési reakció.

- igaz minden aerob fermentációra, attól függetlenül, hogy szubmerz vagy szilárd fázisú fermentációról van-e szó, mert a metabolikus útvonalat nem a fermentációs technológia szabja meg.
- a reakció sztöchiometriája szerint a glükóz vagy más szerves anyag fogyasztási sebessége összefügg a biomassza szintézissel, az O₂ fogyasztással és a CO₂ képződéssel.

3. Fermentációs kinetika

A „kinetika” kifejezés arra utal, hogy néhány változó esetében változás vagy módosulás történik az idő függvényében. Ebben az értelemben, bármelyik rendelkezésre álló (mért) változó kiválasztható a kinetikus jellemzők meghatározására. A változóknak és azoknak esetlegesen más faktorokkal való kapcsolatainak az azonosítása vezetnek el oda, hogy különböző folyamatokat vagy részfolyamatokat leíró modelleket fel lehessen állítani. Ezeknek az ismeretében lehet folyamat-optimalizációs tanulmányokat végezni, valamint ellenőrzési kritériumokat meghatározni. A fermentációban a leggyakrabban alkalmazott változó a biomassza-szintézis.

A biomassza változását a folyamat futási ideje alatt számos faktor befolyásolja:

$$\frac{dx}{dt} = f(x, s, T, stb.)$$

x a biomassza koncentrációja (g/L), t az idő (h), s a szubsztrát-koncentráció (g/L), T a hőmérséklet (°C).

Monod (1949) az első tudósok közé tartozott, akik matematikailag jellemeztek egy fermentációs folyamatot. Egy olyan modellt javasolt, amely kapcsolatba hozta a biomassza-képződést a szubsztráttal. Ez a következő volt:

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_s + S}$$

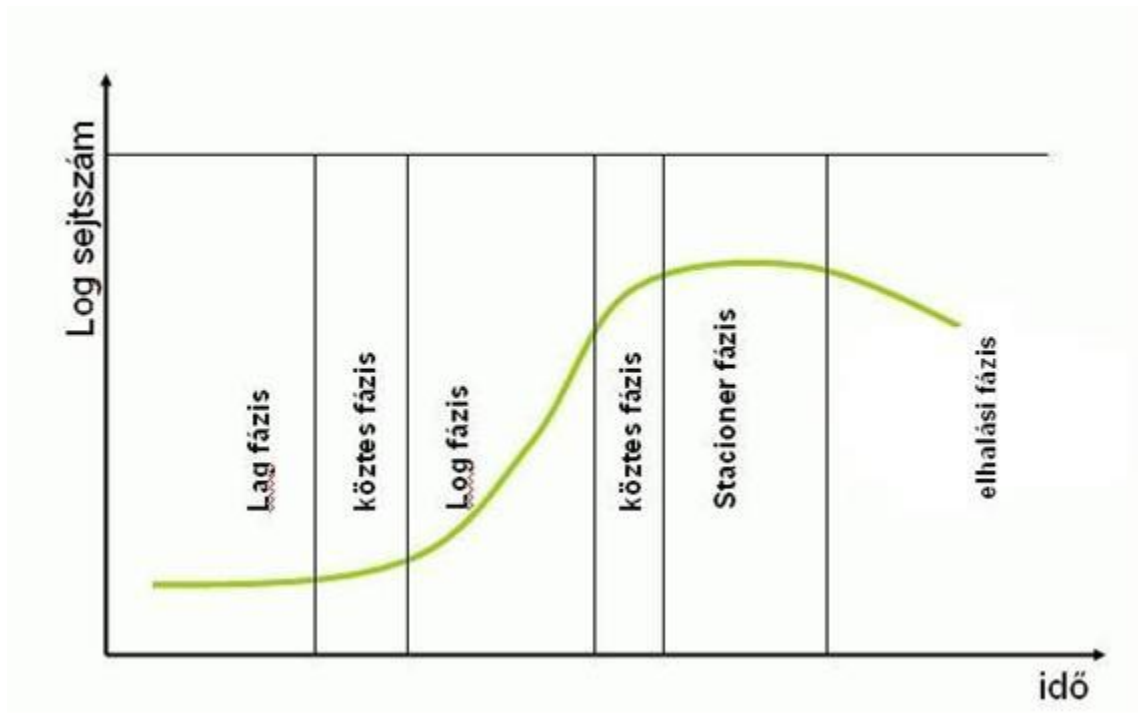
ahol μ a specifikus növekedési ráta (h⁻¹), μ_{max} a maximális specifikus ráta (h⁻¹), S a szubsztrát-koncentráció (g/L), és K_s affinitáskonstans (g/L). A Monod által javasolt egyenletben az idő nem

jelenik meg kifejezetten, de be van építve a specifikus növekedési ráta kifejezésbe (μ), amely a következőképpen fejezhető ki:

$$\mu = \frac{1}{x} \frac{dX}{dt}$$

ahol X adott időpontban a biomassa-koncentráció (g/L), t az idő (h), és μ a specifikus növekedési ráta (h^{-1}). A specifikus növekedési ráta egy sebességi kifejezés egy adott biomassa-mennyiségen, azaz egy intenzitás kifejezés. A μ_{max} és K_s paraméterek határozzák meg az értékeket egy adott folyamatban. A specifikus növekedési ráta kifejezés bevezetése megengedte a mikrobiális növekedés kinetikus mintázatának az ábrázolását, azaz a különböző növekedési szakaszok-fázisok (1. ábra) megkülönböztetését, amelyek a következők:

- **Lag (lappangó) fázis:** ebben a fázisban a növekedés gyakorlatilag nulla ($\mu \approx 0$), mert még a mikrobiális osztódás nem kezdődött el. A fázis hossza több paramétertől is függ, a mikroba fiziológiai állapotától, a környezettől, az inokulum típusától és sok más faktortól is.
- **Gyorsuló növekedési fázis:** ebben a fázisban indul meg a növekedés, vagyis a sejtosztódás révén az új sejtek szintézise ($\mu > 0$). Ez a teljes ciklus idejéhez viszonyítva egy nagyon rövid szakasz.
- **Log (vagy exponenciális) növekedési szakasz:** jellemző rá, hogy a sejtek elérik a maximális reprodukciós rátát, és egy konstans növekedési sebességet mutatnak az egész szakasz során. Ez az a paraméter, amely elsősorban jellemez kinetikai szempontból egy fermentációs folyamatot.
- **Lassuló növekedési fázis:** csökken a biomassa-szintézis sebessége, de $\mu_{max} > \mu > 0$.
- **Stacionárius szakasz:** ebben a fázisban levő kultúrában egy mennyiségi egyensúly alakul ki a szaporodni képes és a szaporodni már nem képes vagy életképtelen sejtek között. Erre a fázisra jellemző, hogy $\mu = 0$.
- **Regressziós (vagy végső) szakasz:** ebben a szakaszban eltolódik az egyensúly a szaporodó-képességüket veszített vagy életképtelen sejtek irányába, azaz ezek lesznek túlsúlyban. Ebben a fázisban a növekedésre jellemző, hogy $\mu < 0$.



1. **ábra:** Baktérium-tenyészet növekedési görbéje

Noha a biomassza-szintézis volt az első paraméter, amellyel egy fermentációs folyamat kinetikáját meg lehetett határozni, számos más, a kinetikai analízist kiegészítő vagy éppenséggel a biomassza-szintézist felváltó változó használható:

- szubsztrátfogyás
- speciális anyagcseretermékek képződése
- O_2 fogyás vagy CO_2 képződés
- hőmérséklet vagy pH változás

Bármelyik változót (vagy akár többet is) választjuk is ki egy fermentációs folyamat kinetikai paramétereinek a meghatározására szükségünk van egy berendezésre, amely megfelelő módon méri a változót vagy változókat. Ez a berendezés a fermentor vagy reaktor.

Tágabb értelemben reaktor lehet egy Erlenmeyer flaska vagy egy Petri-csésze is, mert mindkettő biztosítani tudja a szükséges elszigetelt körülményeket a mikroorganizmusok fejlődése számára. De egy fermentor sokkal fejlettebb berendezés, egy olyan reaktor, amely lehetőséget biztosít a folyamat változóinak méréséhez és kontrollálásához. Laboratóriumi

környezetben a leggyakrabban alkalmazott fermentortípus, szubmerz fermentációk számára, a kevert tankfermentor, melynek részletes leírását lásd alább.

Egy fermentációs folyamatnak a kinetikus ábrázolása fontos, mert ezáltal lehet fontos paramétereket meghatározni és a folyamatot optimalizálni, úgy mint:

- a specifikus növekedési ráta
- a hozam
- a folyamat termelékenysége
- a folyamat során képződött hő
- aerob fermentáció során az oxigénigény
- a széndioxid-képződés

A kinetikai paraméterek tükrében lehet egy folyamat vezérlési kritériumait meghatározni, stratégiát kidolgozni bizonyos specifikus metabolitok előállítására, és az ipari alkalmazáshoz szükséges (scale-up) számításokat elvégezni.

Egy fermentációs folyamat megfelelő kinetikai jellemzése a változók megfelelő monitorozásával lehetséges.

4. Fermentáció az élelmiszeripari biotechnológiában

Az erjesztésen alapuló termelés fontos része az élelmiszer-előállításnak. A legtöbb élelmiszerünk fermentációval készül, ami egyben az egyik legősibb élelmiszer-tartósítási technika. A legősibb fermentációs eljárások, amelyeket az emberiség az élelmezésben használ, a pékélesztővel kelesztett kenyér, a sörfőzés, borkészítés, joghurt és sajtkészítés. A biotechnológia az a tudományág, amely az ősi technikákat képes bizonyos mértékben javítani pl. a rekombináns DNS technológia révén a gabonaszemek és a starter kultúra minősége révén, a különböző enzimek készítmények segítségbevételén keresztül és nem utolsósorban a különböző fermentációs technológiák kidolgozása és fejlesztése révén. Az fermentálás egyik fő célja az élelmiszerek tartósítása. Ugyanakkor a fermentáció folyamatán átment élelmiszereknek szigorú minőségi feltételeknek kell megfelelniük.

5. Fermentációs technológiák

A biokémikusok a fermentációt egyrészt olyan energiatermelő folyamatnak tekintik, amelyben a szerves anyagok elektrondonor és -akceptor szerepet is játszanak, másrészt olyan anaerob folyamatnak, amelyben az energia oxigén vagy más szervesetlen elektronakceptor nélkül képződik. Az ipari mikrobiológusok szerint fermentáció minden olyan (aerob és anaerob) folyamat, amelyben a terméket a mikroorganizmusok tömegkultúrája állítja elő, akkor is, ha a végső elektronakceptor nem szerves anyag.

A fermentáció folyamatának két fázisát különböztetjük meg: **up-** és **downstream** folyamatok. Az előbbi fázis az előkészítéstől a termékképzésig tart, azaz ez foglalkozik magával a fermentáció folyamatával, míg utóbbi a végtermék kinyerésével. Ez a tananyag a későbbiek során az upstream folyamatokkal foglalkozik.

A közeget tekintve a fermentációkat két nagy csoportba lehet sorolni: **szubmerz (folyadékkultúrás)** és **szilárd fázisú** fermentációk.

Folyadékkultúrás (szubmerz) fermentáció: A folyadékkultúrás fermentáció gyakran alkalmazott technika, amelyben a mikroorganizmusok széles spektrumát alkalmazzák sokféle termék előállítására. Technikailag a fermentorban a mikroorganizmusok a növekedéshez szükséges összes tápanyagot tartalmazó vizes oldatban vannak és általában jól feldolgozott összetevőket tartalmaz a tápoldat, ezért a fertőtlenítésre különösen ügyelni kell, hisz hajlamos a befertőződésre. Ebben az eljárásban magas szubsztrát-koncentrációnál limitáló faktor lehet a gáz- és folyadékfázis közötti anyagátadás, de a megfelelő kevertetés megoldja az esetlegesen diffúzióból adódó korlátozott tápanyagellátást. A fermentációs folyamat kontrollját ún. online érzékelőkkel lehet javítani.

Szilárd fázisú fermentáció: A mikroorganizmusokat szilárd, nedves felületen tenyésztik, szabad vizes fázis jelenlétében. A szilárd közeg olyan szubsztrát (rizs-, búzakorpa vagy gabona), amely nem igényel különösebb feldolgozást. A kisebb vízigénynek köszönhetően a befertőződés esélye is kisebb. A rendszer energiaigénye is alacsonyabb. Az elégtelen keveredés, a korlátozott tápanyag-diffúzió, metabolikus hő felhalmozódása, hatástalan folyamatszabályozás okozza, hogy a szilárd fázisú fermentálás alacsony termelékenységet mutat. Ugyanakkor a megfigyelése

és szabályozása is nehezebb ezeknek a rendszereknek. Ebben az eljárásban tápoldattal átitatott inert felületeket tudnak alkalmazni a hozam növelése érdekében.

A jelenlegi ipari fermentációk túlnyomó többsége folyadékfázisú. A folyadékkultúrák fermentációs eljárásokkal könnyedén lehet ipari mennyiségben alkoholt, szerves savakat, enzimeket, antibiotikumokat, vitaminokat és aminosavakat előállítani. A szilárd fázisú fermentációt főleg különböző metabolitok előállítására alkalmazzák, de nagyüzemi alkalmazása nehézségekbe ütközik. A folyadékkultúrák fermentációs eljárásoknak többféle típusa van attól függően, hogy hányszor történik betáplálás a rendszerbe, illetve hogy hogyan változik a fermentációs kultúra nettó térfogata. Ezek az eljárástípusok a következők: a **szakaszos** (batch), a **folytonos** (continuous) és a **rátáplálásos-szakaszos** (fed-batch) fermentálások.

A **szakaszos** fermentáció egy egyszerű zárt rendszerben történik, amely esetében a reaktánsokat, egyszer a fermentáció elején adják a rendszerhez, ezért termék- vagy szubsztrátgátlás előfordulhat. A steril kultúrát a megfelelő mikroorganizmussal beoltják és továbbiakban a reakcióelegyhez nem adnak hozzá friss kultúrát, és nem távolítanak el kimerült kultúrát sem, tehát nincs a reakcióelegynek nettó térfogatváltozása. Ebben az eljárásban a fermentáció során végül is a mikroorganizmusok elszaporodásának és életfolyamatainak köszönhetően kimerülnek a tápanyagok és felhalmozódnak a toxikus melléktermékek. Az ilyen véges térfogatú tenyészetekben a mikrobák szaporodása szigmoid mintázatot mutat, a növekedés alatt a következő négy fázist lehet megkülönböztetni: lag, log, stationer és pusztuló fázisok (1. ábra). Ezen kultúrákból minden sejtet azonos fázisban gyűjtenek be. Előnye ennek a fermentálási módozatnak, hogy kisebb a befertőződés veszélye.

Rátáplálásos-szakaszos fermentáció a szakaszos egy változata, amely során időszakosan a tápanyagot juttatnak a bioreaktorba a kimerülés és szubsztrátgátlás elkerülése végett, de nem távolítanak el kultúrát egészen a reakció végéig. Ez az eljárás kontrollált tápanyagbevittelt jelent, de így nő a reakcióelegy nettó térfogata. Összességében nincs a rendszerbe egy folyamatos áramlás, de a paraméterek tekintetében egy félig nyitott rendszer. A rátáplálásos rendszer előnye, hogy elkerülhető ezáltal a szubsztrát túladagolás, amelynek gátló hatása lehet a baktériumok növekedésére. Nagy hátránya, hogy nehéz így a kultúra paramétereit ellenőrizni,

nagyobb a veszélye a befertőződésnek és magasabbak is a költségei az eljárásnak. A kereskedelemben a pékélesztőt állítják elő ezzel a módszerrel.

A fenti két módszerrel ellentétben a **folytonos** vagy folyamatos fermentáció egy nyitott rendszer, amekkora térfogatnyi kultúrát juttatnak be, ugyanakkora térfogatnyit el is távolítanak belőle. Így a fermentálás során folyamatosan frissül a rendszer, mert új mikroorganizmusokat és tápanyagokat visznek be, és a kimerült kultúrát folyamatosan ugyanakkora térfogatban el is vonják a rendszerből. A paraméterek állandóak maradnak, a nettó térfogat nem változik és a rendszer kiegyensúlyozott, hisz az eltávolított fermentlével kivont sejteket újakkal pótolják. Ez az eljárás meghosszabbítja a mikroba-populáció exponenciális növekedési fázisát, mert a tápanyagfrissülés és a metabolitok, illetve salakanyagok eltávolítása kedvez a szaporodásnak. A folytonos fermentációt kétféle módon lehet megvalósítani: vezérléssel (kemosztát), illetve szabályozással (turbidosztát). A kemosztát módszerben a kultúra többletmennyiségű tápanyagot tartalmaz, kivéve egy komponenst, amely így limitálja a növekedést. Az elv az, hogy a környezet fizikai és kémiai paramétereit állandó értéken tartásuk. Állandósult (steady-state) állapotban a biomassa mennyisége konstans, ugyanazzal a sebességgel áramlik be és ki a fermentlé. (a rendszert visszacsatolás nélkül tartják fenn, azáltal, hogy a környezet fizikai és kémiai paramétereit állandó értéken tartják).

A turbidosztát módszerben a kultúra többletmennyiségű tápanyagot tartalmaz, tehát a mikroba-szaporulat a maximális értéket mutatja. (visszacsatolás elvén működnek: a biomassa mennyiségét a reaktorban folyamatosan monitorozzák, és a tömegáramra gyakorolt negatív visszacsatolással tartják állandó szinten). A reaktor tartalmaz egy turbiditásmérő fotocellát, amely a biomassa mennyiségét folyamatosan monitorozza, és ez alapján kontrollálja a betáplált kultúra mennyiségét.

A folytonos fermentációnak előnye a nagy hozam, alacsony költség és a kísérleti paraméterek jó szabályozhatósága. Hátránya, hogy jóval nagyobb a befertőződés veszélye és az, hogy a hosszú idejű kultiváció alatt a törzsek degradációja miatt a stabilitás csökken. A folytonos fermentáció esetében kifinomult és automatizált műszerezettségre van szükség, ezért általában nem használják nagyüzemi termelésnél. Viszont előszeretettel alkalmazzák különböző szerves oldószerek (aceton, butanol) előállításában és annak megértésére, hogy a különböző változók

milyen hatással vannak a fermentációra, azaz hogyan befolyásolják a mikroorganizmusok növekedését és terméshozamát.

A különböző típusú, alakú és méretű, ill. különböző anyagokból (üveg, fa, beton, acél és rozsdamentes acél) készült reaktorokat teszteltek már a mikrobiális fermentációban, amelyeknek mind megvoltak a maguk előnyei és hátrányai. A továbbiakban az élelmiszeriparban alkalmazott fermentorokról vagy bioreaktorokról lesz szó.

6. Bioreaktor (fermentor) konfigurációk

Fermentornak vagy bioreaktornak nevezik azokat a berendezéseket, amelyekben enzimkatalizálta vagy mikrobiális fermentációkat végeznek. A fermentoros tenyésztéssel a leggazdaságosabb a termék-előállítás. Fermentorban a mikrobákon kívül emlős és növényi sejtek is tenyészthetők. A fermentor az a „tenyésztőedény”, amelyben szennyeződés nélkül, ideális körülmények között és kontrollált módon lehet biokatalizátorok segítségével különböző termékeket előállítani. Egy fermentor teljesítményét a tervezési elve és a működtetése szabja meg. A mikrobiológiai iparban használt fermentációs-egység analóg a kémiai üzemekben használt egységeknek, annak a figyelembevételével, hogy az előbbi egy biológiai folyamat. Ezért bioreaktoroknak is nevezik azokat a fermentorokat, amelyekben biológiai reakciók zajlanak. A bioreaktorok tehát mikroorganizmusok (vagy más sejtek) tenyésztésére alkalmas berendezések. A különböző bioreaktorok nagy méret- és komplexitásbeli különbségeket mutatnak, a 10 ml-es kémcsőben tenyésztett kultúrától a több, mint 100 m³-es, szigorúan kontrollált tenyésztésig. A különböző fermentorok kapacitásai a következőképpen változnak: laboratóriumi léptékű (1-25 liter), kísérleti méretű (2000 gallonig) és ún. termelési méretű (5000-100000 gallon közötti). Alapvető feladatuk tehát a fermentoroknak, hogy alkalmas körülményeket teremtsenek a hatékony termeléshez.

A termék lehet maga a sejt biomassza, lehetnek enzimek, különböző anyagcseretermékek vagy épp valamilyen biokonvertált termékek. A fermentorok típusai változatosak, az egyszerű tartályoktól az integrált, automatikusan kontrollált rendszerekkel bezárólag sokféle komplexitású fermentort terveztek már. Néhány jól ismert fermentorgyártó: B. Braun Biotech-

Sartorius (Németország), New Brunswick Scientific (Amerikai Egyesült Államok), Applikon (Hollandia), Bioengineering és INFORS (Svájc).

A legfontosabb összetevői egy fermentornak a következők:

- A fermentor teste, azaz maga a **tartály**. A laboratóriumi fermentorok üvegből vagy rozsdamentes acélból, míg a nagyobb kapacitásúak általában csak rozsdamentes acélból készülnek. Sterilt körülmények közötti fermentációs folyamatokhoz hagyományosan fa (pl. néhány gyártó az alkoholgyártásban) vagy beton tartályokat alkalmaznak. (tartály méretarány?).
- **Keverők**: legfontosabb szerepük a levegő- és gázfázisok megfelelő összekeverése. A keverők üreges vagy tömör keverőtengelyből és lapátkerekekből állnak. A keverőlapát-tengely szivárgásmentes reaktortestbe építésének kétféle tömítési módja létezik, a tömszelence (Teflon® PTFE tömítőszinórral) és a mechanikus tömítés.
- **Lapátkerekek**: a keverőtengely lapátkerekei végzik a mikroorganizmusok és tápanyagok, illetve a levegő keveredését a reakcióelegyben, és így egyenletes tömeg és hőeloszlást biztosítanak. Formájukat tekintve többféle keverőlapát-típus létezik. A legújabb fejlesztéseknek köszönhetően, újabb nagyobb hatékonyságú lapátkerekeket is terveztek, ilyen a MIG (ellenáramú lapátkerék) és ennek egy módosulata, az Intermig. Ezekkel már 25 és 40 %-al kevesebb energia-befektetéssel a turbina típusú kerekekkel azonos fokú keverést lehet elérni.
- **Terelőlapok**: szerepük, hogy megakadályozzák az örvények kialakulását és segítsék a levegőztetést. A terelőlapok a fermentortartály belsejében, a függőleges falak mentén helyezkednek el és méretük 1/10-e a tartály átmérőjének. A terelőlapok és a fermentortartály belső fala között távolságnak kell lennie, ami megakadályozza a mikrobák kirakódását.
- **Levegő- vagy gázelosztó készülék**: szerepe levegőbuborékok bekeverése a reaktortérbe, mégpedig alulról. A bejutatott levegő általában sok kis buborék formájában hatásos.

- **Köpeny:** a fermentor hűtés–fűtésére szolgáló térrész a tartály körül. Nagy térfogatú fermentorok esetében, ezt a fermentortér belsejébe vezetett spirálcsővel kombinálják, tehát külső-belső termosztálást alkalmaznak.
- **Szelepek és gőzcsapdák:** a sterilitást követő beoltás, illetve ráadagolás megvalósításához számos szeleppel rendelkezik egy fermentor, olyanokkal, mint pl. gömbszelep, kapuszelep, tűszelep, labdaszelep, dugószelep, hengerszelep, pillangószelep, nyomásszabályozó szelep, biztonsági szelep stb. Steril működtetéshez főleg diafragma- és fojtószelepek alkalmasak.
- **Szondák:** a fermentáció paramétereinek követésére és kontrolljára szolgálnak, olyanoknak, mint, pH, hőmérséklet, habzás és oldott oxigén.

6.1. Laboratóriumi és ipari szubmerz bioreaktorok (Submerged fermentation – SMF)

Laboratóriumi körülmények között a szubmerz fermentációkat flaskában vagy jelentősebb mennyiségben üveg vagy rozsdamentes acél tankreaktorokban végzik. Követelmény a fermentortank anyagával szemben, hogy ne szennyezze a mintát és ne legyen toxikus a mikroorganizmusokra nézve, legyen elég masszív és könnyen sterilizálható. Ezen kívül fontos hogy szivárgásmentes legyen és esetleg a tenyésztés vizuális monitorozására is adjon lehetőséget, valamint könnyen és biztonságosan mintát lehessen venni a reakcióelegyből.

Laboratóriumi körülményekre kidolgozott fermentációs folyamatot ipari méretekre skálázni kell, ami nem csupán a reakcióelegy megnövelését, hanem inkább a megnövelt méretekhez alkalmazott technikai megoldásokat jelenti.

Az optimális működtetése egy fermentornak függ az alkalmazott biomassza mennyiségétől, a sterilitás fenntarthatóságától, hő- és anyageloszlás hatékonyságától. A biokémiai folyamatától függően a bioreaktorok három nagy csoportba sorolhatók:

1. Keverés és levegőztetés nélküli bioreaktorok (anaerob körülmény, pl. sör és borkészítés).
2. Kevert és levegőztetett bioreaktorok (aerob körülmény pl. citromsav és penicillin előállítás).

3. Levegőáramos, nem kevertetett bioreaktor (aerob fermentációban, pl. élelmiszeripari enzimek előállítására).

Az iparban alkalmazott fermentorokat formájuk és konfigurációjuk alapján kategorizálják. Oxigént igénylő fermentációk esetében nagyon gyakran a legnagyobb kihívást a megfelelő kevertetés és levegőztetés biztosítása jelenti. Anaerob reakciókhoz használt fermentorok sokkal egyszerűbb felépítésűek, kevertetés és levegőztetés nélküliek.

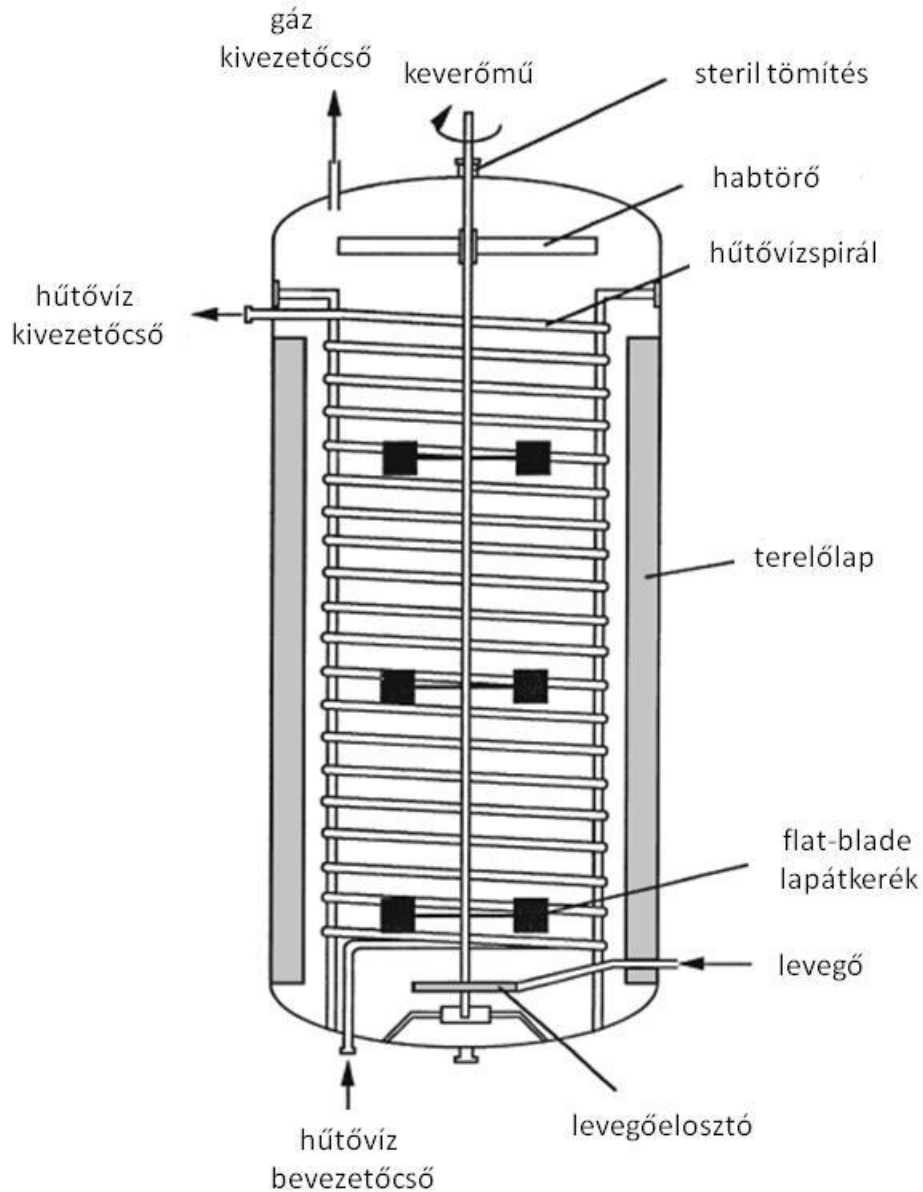
Továbbiakban olyan típusfermentorokat tárgyal a tananyag, amelyekben optimális körülményeket lehet teremteni a különféle aerob fermentációk számára.

6.1.1. Kevert tankfermentorok

Ipari termelésre a leginkább alkalmas bioreaktortípus. Egy konvencionális, levegőztetett bioreaktor sematikus rajza látható az 2. ábrán. A keverés és levegőelosztás mechanikus módon történik, amelynek nagy a térfogategységre vonatkoztatott energiaigénye.

A leglényegesebb jellemzői ennek a típusnak a következők:

- homogén rendszer.
- megfelelő kevertetés mellett jó hő-és anyagátadás valósul meg.
- többféle operációs módja lehet: szakaszos, folytonos, rátáplálásos-szakaszos és sejtcirkulációs.
- ellenőrizhető bennük a hőmérséklet, a pH, a levegőellátottság, a keverési sebesség és a habzás.



2. ábra: Aerob fermentációban alkalmazott tipikus kevert tankfermentor

Henger alakú tartályuk van, amelyek jellemzően 2:1 és 6:1 – magasság:átmérő – arányokkal rendelkeznek. Motor hajtotta, lapátokkal ellátott keverőtengely vagy agitátor biztosítja a homogenizálást. A keverőlapátok megválasztása fermentációtól függ. Különböző keverési mintázatokat tudnak elérni a sokféle alakú és méretű lapátkerék típusossal. A magas tartályú fermentorok tengelyein több lapátkereket is elhelyeznek, ahhoz hogy egyenletes keverést lehessen elérni. Az agitátor tengelye lehet fentről vagy lentől belépő a tartályba, praktikussági okokból az előbbi a gyakoribb. A levegőztetést a fermentortartály aljába

bevezetett kör alakú, perforált levegőelosztó végzi. A keverés hatékonyságát a tartály belső falára függőlegesen elhelyezett terelőlapok végzik, azáltal, hogy megakadályozzák az örvénylés kialakulását. A kevert tankreaktorokban az intenzív levegőztetésnek köszönhetően magas biomassza hozamot lehet elérni, ami minden sikeres aerob fermentálási folyamatnak az alapja. A kevertetett fermentorok tartályait maximális kapacitásuk 70-80%-ig töltik fel kultúrával, így elég hely marad az esetlegesen képződő hab számára és megelőzhető, hogy folyadékcseppek szabaduljanak ki a fermentorból a kiáramló gázzal együtt. Egy kiegészítő ún. habtörő lapátkerékkel lehet a habzást csökkenteni, ha az problémát jelent a fermentálás során. Kémiai anyagokat is lehet habzástgátlóként alkalmazni, csak ezek rontják az oxigéntranszfer sebességét, ezért csak abban az esetben alkalmazzák, ha elégtelen lenne a mechanikai keverés.

A kevert fermentorok tankjának méretaránya (átmérő:magasság) széles skálán változik. Legolcsóbb előállítási és fenntartási költségük azoknak a fermentoroknak vannak, amelyek méretaránya közel egy, ezek rendelkeznek a legkisebb felület/térfogataránnyal. Intenzívebb levegőztetést igénylő fermentációkhoz a nagyobb méretarányú fermentorok alkalmasak. Ezekben időznek leghosszabb ideig a felszálló buborékok és járják át a legintenzívebben a fermentlevet. Ezekben a fermentorokban tartály aljában nagyobb a hidrosztatikus nyomás, ami fokozza az oxigén oldódását. A kevert tankfermentorokban a hőátadásra és hőmérséklet-szabályozásra többféle megoldás létezik. Termosztálásra tehát külső vagy belső hűtőspirált, tartály körüli vízköpenyt és hőcserélőt is alkalmaznak, mindenkinek megvan a maga előnye, ill. hátránya. Tankreaktorok alkalmazhatók szabad sejtes és enzimes, ill. rögzített sejtes és enzimes fermentációkban is. Elővigyázatosan lehet csak alkalmazni ezeket olyan fermentációkban, ahol a katalizátort valamilyen szilárd szemcse felületére rögzítik, de akár állati és növényi sejtes fermentációkban is, amelyek kevésbé ellenállóak az intenzív kevertetés hatására fellépő nyíróerőkkel szemben.

A laboratóriumi kevert tankfermentorok tartályai 1-100 L térfogatúak, boroszilikát üvegből készülnek, rozsdamentesacél-tetővel és fentről bevezetett keverővel vannak ellátva. Speciális igények esetén használnak kiváló minőségű, rozsdamentesacél-tartályú fermentorokat laboratóriumban is. A tartály belső falának tapadásmentesen csiszoltnak kell lennie, sima felszínű illesztésekkel. Hagyományosan a szőlőlé erjesztését fahordókban vagy betontankokban

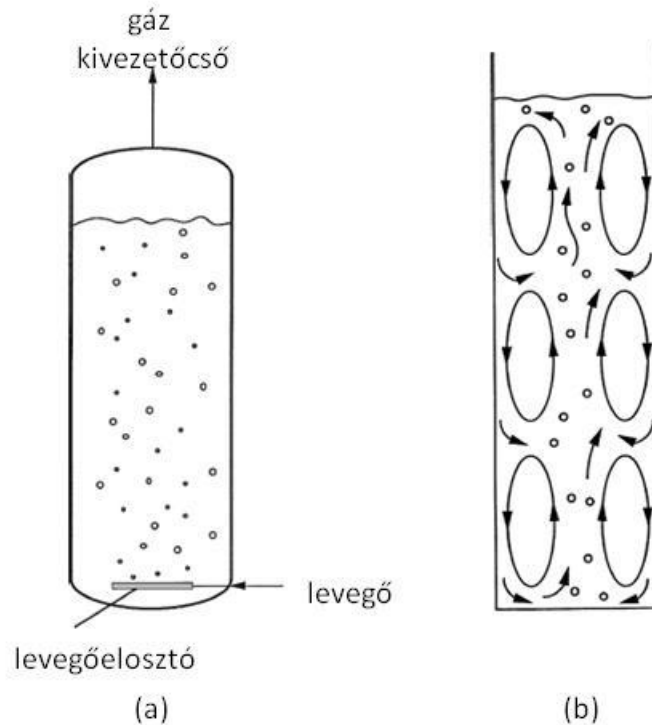
végzik, de a modern borászatokban kifinomultabb kontrollált körülmények közötti fermentálást lehetővé tevő számos érzékelővel ellátott rozsdamentes acél fermentorokat alkalmaznak.

Az alábbiakban néhány példa található a kevert tankfermentorok laboratóriumi léptéken való alkalmazására. Kevert tankfermentorban állítanak elő ecetsavat *Aspergillus niger* GCBT7 felhasználásával. Szakasos fermentálással New Brunswick bioreaktorban probiotikus biomasszát állítanak elő *Lactobacillus plantarum* BS1 és BS3 törzsekből. A fermentálás körülményei: 37°C, 5,50 pH, homogenizálás 12 óránként negyedórás kevertetés 100-as fordulatszámra. Öt literes kevert tankfermentorban α -amilázt termeltetnek *Bacillus amyloliquefaciens*-el (Biostat B-5, B. Braun Biotech-Sartorius, Melsungen, Németország). Ez egy 3 literes hasznos térfogatú, 12 mm széles terelőlapos, két hatlapátos Rushton-turbina típusú lapátkerekes 1:1,66 hasznos térfogat:tartálytérfogatú, 160 mm belső átmérőjű és 250 mm magasságú akril tartályos fermentor. Rushton-turbina típusú lapátkerék paraméterei 64 mm átmérő, 13 mm lapátmagasság és 19 mm lapátszélesség. A keverőtengelyen elhelyezkedő lapátkerek közötti távolság 110 mm, illetve 80 mm a legalsó lapátkerék távolsága a tartály aljától. Az 52 mm átmérőjű gyűrű alakú, 16 darab 1 mm-es átmérőjű lyukkal ellátott levegőelosztónak a távolsága a tartály aljától 5 mm. Az elosztó áramlási sebessége 1,5 vvm (percenként bejuttatott levegő és a reaktor térfogatának hányadosa). A fermentáció 37 °C történt, hőmérséklet-érzékelő által automatikusan szabályozott módon. Kerámia bevonatú habzsgátló érzékelővel monitorozták a habzást és kókuszolajat alkalmaztak habzsgátlónak. A maximális hozam érdekében az oldott oxigén koncentrációját 100%-on kell tartani, amit egy sterilizált polarográfiás elektródával (Mettler-Toledo InPro 6000 Series, Greifensee, Svájc) monitoroznak.

6.1.2. Buborékoszlop bioreaktorok

A kevert tankfermentorok alternatívái, amelyekben nem alkalmaznak keverőlapátos mechanikai keverést. Ezekben a keverést és a megfelelő szellőzést különböző típusú gáz- vagy levegőelosztók végzik, ez a megoldás lényegesen kevesebb energiát igényel. Akárcsak a kevert tankfermentorokban ezekben is problémát okoz a habzás, ezért mechanikus diszperzióra vagy kémiai habzsgátlóra lehet szükség.

A buborékoszlop fermentorok egyszerű felépítésűek, levegőelosztón kívül más belső struktúra nem is található a tartályokban (3. ábra, a.). Alulról a fermentortérbe jutató buborékok olyan turbulens áramlást hoznak létre, amely elegendő a fermentálé (folyadék vagy folyadék-szilárd szuszpenzió) optimális keveredéséhez. A gáz bekeverés általi folyadékmozgatás egy energia-takarékos megoldás. Hengeres tartályuk magassága több, mint a kétszerese az átmérőjüknek.



3. ábra: Buborékoszlop bioreaktor (a), a buborékoszlop bioreaktorban kialakuló heterogén áramlás (b)

Ezeket a reaktorokat gyakran használják többfázisú kontaktoroknak és reaktoroknak a kémiai, biokémiai, petrokémiai iparban és a kohászatban. Az iparban buborékoszlop fermentorokat alkalmaznak pékélesztő, sör és ecet előállítására. De különböző oxidációs, polimerizációs, klórozási, alkilálási, és hidrogénezési kémiai reakciókban, szintetikus üzemanyagok előállításában, enzimek, egyéb fehérjék, antibiotikumok stb. fermentációjában és a biológiai szennyvíztisztításban is. A pékélesztő előállítására használt buborékoszlop fermentorok tartályának méretaránya jellemzően 3:1 (magasság:átmérő) Más termékek előállítására pedig még nagyobb, 6:1 arányú, toronytartályokat alkalmaznak.

A buborékoszlop fermentorok hidrodinamikai és anyagátadási jellemzőit teljes mértékben a levegőelosztóból felszabaduló buborékok viselkedése határozza meg. Különböző áramlási rendszerek alakulnak ki a kultúrában attól függően, hogy milyen a beáramló gáz sebessége, az elosztó formája, az oszlop átmérője és a folyadékkultúra viszkozitása. Homogén áramlás van akkor, ha a gázáram sebessége alacsony és a felszálló buborékok egyenletesen oszlanak el a folyadékoszlop keresztmetszetében. Ekkor minden buborék egyenletes sebességgel halad felfele az oszlopban, és szinte nincs vagy csak minimális a visszakeveredés, ezért a keveredés korlátolt, amit kizárólag a felszálló buborékáram végez. Szabályos működtetési körülmények között, nagy gázsebességnél kaotikus folyadékáramok alakulnak ki, ami heterogén áramláshoz vezet. A buborékok és a folyadék az oszlop központjában haladnak felfele, falak mentén pedig lefele (3. ábra, b.). A lefele irányuló folyadék magával visz buborékokat is, aminek következtében némi gáz-visszakeveredés is történik. Heterogén áramlási rendszerben a felfele áramló folyadék sebességére a következő egyenletet lehet megadni, ha $0,1 < D < 7,5$ m és $0 < u_G < 0,4$ m s⁻¹:

$$u_L = 0,9(g D u_G)^{0,33}$$

ahol u_L a lineáris folyadéksebesség, g a gravitációs gyorsulás, D az oszlop átmérője, u_G a gáz felszíni áramlási sebessége. Az u_G atmoszférikus nyomáson mérve a gáz térfogati áramlási sebessége osztva az oszlop keresztmetszeti területével. A fenti egyenletből kiindulva felírhatjuk a keverési időre (t_m) a következő képletet:

$$t_m = 11 \frac{H}{D} (g u_G D^{-2})^{-0,33}$$

ahol H az oszlop magassága.

Az anyagátadás együtthatója gáz- és folyadékfázisok között nagymértékben függ a buborékok méretétől. Alacsony viszkozitású folyadékban ez kizárólag a gáz áramlási sebességétől függ. Mivel a buborékoszlop fermentorokban sem a buborékok pontos mérete, sem a folyadék keringési mintázata nem ismert, az anyagátadási koefficiens pontos meghatározása nagyon nehéz. Nem viszkózus folyadékban a heterogén áramlásra a következő összefüggés írható fel:

$$k_L a \approx 0,32u_G^{0,7}$$

ahol $k_L a$ az egyesített térfogati anyagátadási együttható. A fenti összefüggés 6 mm átlagátmérőjű buborékokra érvényes $0,08 < D < 11,6$ m, $0,3 < H < 21$ m és $0 < u_G < 0,3$ m s⁻¹. Ha az levegőelosztóból ennél kisebb buborékok szabadulnak fel és a folyadék nem újraegyesítő, akkor a $k_L a$ értéke nagyobb lesz a fenti egyenletből kiszámolhatónál, különösen alacsony, kevesebb, mint 10⁻² m s⁻¹, u_G értéknél.

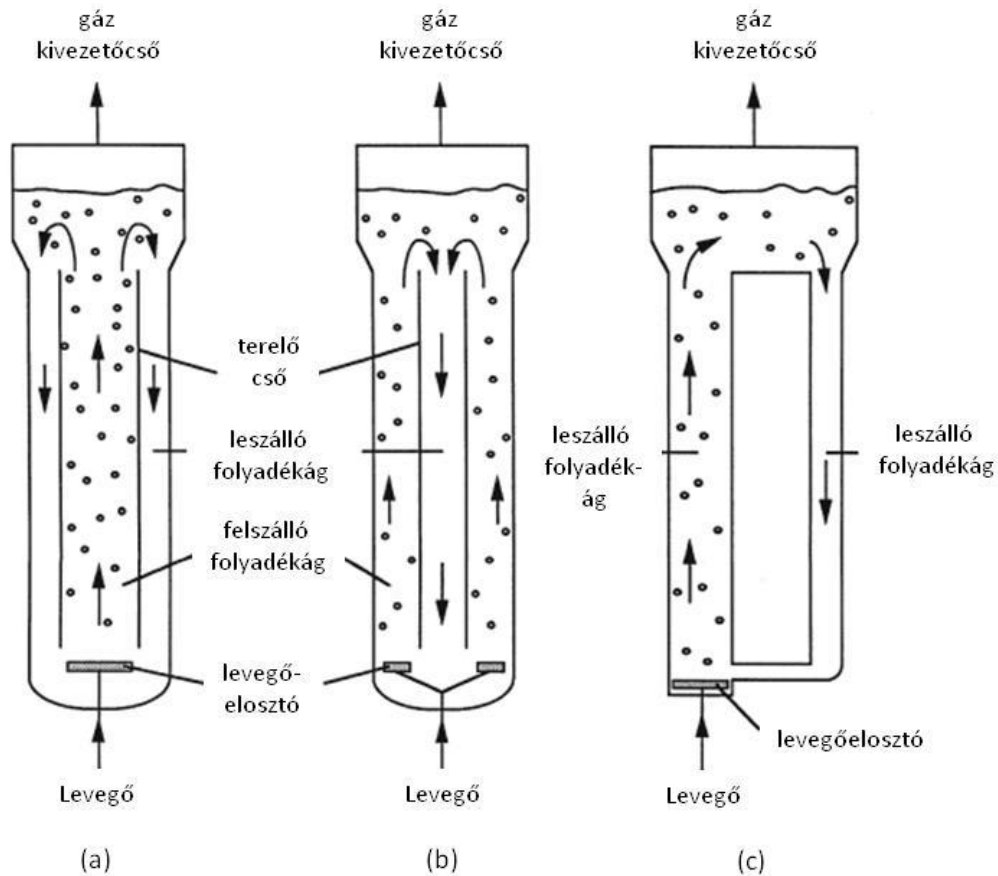
Számos előnnyel rendelkeznek a buborékoszlop reaktorok. Kiváló bennük például a hő- és anyagátadás, kevés karbantartást igényelnek, alacsony költséggel üzemeltethetőek és kompaktságukból, valamint a mozgó alkatrészek hiányából kifolyólag hosszú életidejűek.

6.1.3. Levegőliftes („airlift”) fermentorok

A levegőliftes fermentorok hengeres tartályába, akár csak a buborékoszlop fermentorokba alulról juttatnak be levegőt. Különbség a buborékoszlop fermentorokhoz képest, hogy sokkal meghatározottabb a folyadék áramlásának mintázata, annak köszönhetően, hogy a felfele és lefele irányuló áramlatok fizikailag jól elkülönülnek egymástól. A mintázat hatékonyabb kialakításáért a tartály különböző struktúrái járulnak hozzá, mint terelőlapok és terelőcsövek, amelyek egymástól részben elválasztott zónákat hoznak létre. A levegőztetéssel való keverés úgy hozható létre, hogy az ily módon elválasztott térrészek egyikébe juttatják a levegőt vagy valamilyen gázt. Számos változatuk létezik, amelyek a keverési mintázatban különböznek egymástól (4. ábra). A bejuttatott gáz felhajtóereje és a folyadék csökkent sűrűsége alakítja ki a felszálló ágat. A levegőliftes fermentorokban a fel- és leszálló ágakat úgy alakítják ki, hogy a buborékokat a tartálynak csak egy részében áramoltatják felfele, ezt nevezik a felszálló ágának. A folyadékoszlop tetején kiszabadulnak a buborékok és a visszamaradó nehezebb víz végzi a recirkulációt a leszálló ágon keresztül. A keringést tehát a fel- és leszálló ágak folyadéksűrűség-különbségei tartják fenn. Ez az áramlás elégséges a fermentlé hatékony mozgatásához.

A 4. ábra a leggyakoribb levegőliftes fermentorokat mutatja be. Ezeknek a fermentoroknak kétféle - belső (4. ábra a és b) és külső hurkos (4. ábra c) - konfigurációjuk lehet. Mivel a külső hurkos fermentorokban a fel- és leszálló ágak messze vannak egymástól a levegőztetéssel való keverés sokkal hatékonyabb. Kevesebb buborék áramlik vissza a leszálló

ágon, a két ág egymáshoz viszonyított folyadéksűrűség különbsége nagyobb, az áramlás pedig gyorsabb. Általában a keveredés is jobb ezekben a típusokban.



4. ábra: Levegőliftes fermentor-konfigurációk: belső hurkos (a) és (b), külső hurkos (c)

A folyadékliftes reaktorokban általában jobb a keveredés, mint a buborékoszlop típusúakban, különösen akkor, ha ez utóbbiban a 3. (b) ábrán látható heterogén áramlás alakul ki, kivéve akkor, ha alacsony a folyadékáramlás. Ezen kívül a folyadékliftes reaktorokban a kialakult áramlási mintázatok stabilabban maradnak meg, nagyobb áramlási sebesség érhető el annak veszélye nélkül, hogy működési zavar lép fel. Ezen reaktorok esetében a folyadékáram sebességének, a keringési és keveredési időnek a kiszámolására számos tapasztalati összefüggést írtak fel, noha az eredmények között jelentős eltérések vannak. Hidrodinamikai modellekből származó egyenletek is vannak, amelyek viszonylag elég bonyolultak, mert a folyadéksebesség és a gáz felhajtóerő (gas hold-up) nem függetlenek egymástól, és ismétlődő

numerikus megoldásokat követelnek. A gáz felhajtóerő és a gáz – folyadék anyagátadási sebesség a belső hurkos és folyadékoszlop fermentorokban nagyon hasonló. A külső hurkos fermentorokban, a közel teljes buborékleválásnál (bubble disengagement – felszabadulásnál) a tartály felső részén csökken a gáz felhajtóerő, így azonos gáz sebességnél az anyagátadás sebessége kisebb, mint a folyadékoszlop fermentorokban. [However, in external loop devices, near-complete bubble disengagement at the top of the vessel decreases the gas hold-up so that mass transfer rates at identical gas velocities are lower than in bubble columns] Ezért a külső hurkos levegőliftes fermentorra a következő összefüggés igaz:

$$k_L a < 0,32u_G^{0,7}$$

A külső hurkos fermentortípust ritkán alkalmazzák az iparban. Steril légköri levegőt alkalmaznak aerob és inert gázokat anaerob mikroorganizmusok esetében. A levegőztetés enyhe módja a keverésnek, ezt alkalmazzák pl. penészgombák fermentációja esetén, amikor a kevertetés túl nagy stresszt jelentene a mikrobák számára és károsíthatja őket. A levegőztetett fermentorok esetében könnyebb fenntartani a sterilitást és adott esetben a reakcióelegy oxigén-koncentrációja is nagyobb, mint egy kevertetett fermentorban. Hátrányt jelent a magas beruházási és fenntartási költsége egy levegőliftes fermentornak, az intenzív habzás, ami szintén okozhatja a mikrobák károsodását. Ezek a fermentorok 6:1-es magasság:átmérő aránnyal rendelkeznek.

Levegőliftes fermentort alkalmaznak citromsav előállításra *Aspergillus niger* gomba felhasználásával. A fermentortartály anyagát tekintve savállóknak kell lennie, ezért erre legalkalmasabb a rozsdamentes acél. A fermentálást pedig nagy térfogatban (pl. 900 m³) érdemes végezni, ugyanis a rozsdamentes acél sem teljesen ellenálló a savassággal szemben, és a korróziója gátolja a fermentálást, amit így minimálisra lehet csökkenteni. A felület:térfogatarány csökkentésén túl, megoldás az is, ha az acéltartályt bevonják egy védő műanyagréteggel. A termelési fázisban 0,2–1 vvm levegőztetéssel érik el, hogy az oldott oxigénszaturáció a 20-25%-os érték alá ne csökkenjen.

A bakteriális eredetű egy-sejt-fehérje (single cell protein - SCP) élelmiszeripari táplálék-kiegészítőnek metanolból való előállítását ma az Imperial Chemical Industries (ICI, Egyesült

Királyság) legfejlettebb technológiával végzi. A fermentációt nagyméretű levegőliftes fermentorban végzik, patogenitásra és toxicitásra tesztelt *Methylophilus methylotrophus* baktériumokkal. Nitrogénforrásként ammóniát használnak és a terméket Pruteennek nevezik. A Pruteen 72% tiszta fehérjét tartalmazó kiegyensúlyozott fehérjeforrásként lett forgalomba hozva, amely energia, vitamin és ásványianyag forrás is. Különösen a metionin és lizin aminosav tartalma miatt annyira kedvező, ugyanis ezáltal hasonló a fehérhúsúhal-tartalmú élelmiszerekhez.

6.1.4. A kevertetett és levegőhajtotta (pneumatikusan kevertetett) fermentorok üzemi sajátosságainak összehasonlítása

Ezekben a fermentorokban megfelelő keveredés és anyagátadás érhető el alacsony viszkozitású folyadékok esetében. Amikor nagy térfogatban (50-500 m³) fermentálunk a buborékoszlop fermentor a jó választás, ami az egyszerűséget és az olcsóságot illeti. A mechanikusan kevertetett reaktorok 500 m³ térfogat felett már nem praktikusak, mert rendkívül sok energiát kell befektetni a megfelelő keveredéshez.

Nagy viszkozitású oldatok esetében a mechanikusan kevertetett fermentorok jobban teljesítenek, jobb bennük a keveredés és az anyagátadás. Ezekkel sokkal nagyobb erő fejthető ki. Mindazonáltal az anyagátadás gyorsan csökken ezekben is 50-100 cP viszkozitás felett.

Döntő lehet a kétféle fermentor közötti választásban a hőátadási tulajdonságuk. A mechanikai keverés ugyanis sokkal több hőt fejleszt, mint a sűrített gázzal való bekeverés. A súrlódás okozta hőtermelés problémát jelenthet a kevertetett fermentorokban különösen akkor, amikor eleve sok hő képződik a lejátszódó reakcióból, ilyen pl. az SCP előállítás metanolból, ezekben az esetekben a levegőhajtotta bioreaktorok a preferáltak.

A mechanikusan kevertetett fermentorokat hagyományosan széles körben használják, noha jó néhány korláttal rendelkeznek a gáz vagy levegő befecskendezéssel, pneumatikusan kevert fermentorokhoz képest. Hátrányuk, hogy szerkezeti és mechanikai komplexitásukból fakadóan nehezen tisztíthatóak, ami megnöveli a beszennyeződés lehetőségét, ill. nagyobb a meghibásodás lehetősége is. A mechanikai keverés okozta nyíróerők miatt problémásabb bennük a gombák, a genetikailag módosított érzékeny mikrobák és az immobilizált sejtek

tenyésztése. Nagy előnyük viszont a működtetési flexibilitásuk, azaz az, hogy változtathatók a lapátkerekek és a gáz áramlási sebessége.

A pneumatikusan kevertetett fermentorokban egyenletesebb az anyageloszlás, mint a mechanikusan kevert fermentorokban. Ez utóbbiban az eloszlás, különösen viszkózus oldatok esetén, a lapátkerekek okozta örvénylés miatt nem egyenletes (2. táblázat).

2. táblázat: Mechanikusan és pneumatikusan kevertetett bioreaktorok összehasonlítása

	Mechanikusan kevertetett bioreaktor	Pneumatikusan kevertetett bioreaktor
Felépítés	Komplex	Egyszerű
Nyíróerő	Nagy	Kicsi
Tisztítás	Nehéz	Könnyű
Keverés	Nem egyenletes	Egyenletes
Flexibilitás	Nagy	Korlátolt

Aerob kultúrák esetében a fermentorok túlnyomó többsége mechanikusan kevertetett vagy levegő hajtotta konfigurációval bír, de bizonyos folyamatokhoz sokféle más fermentor-konfiguráció is létezik.

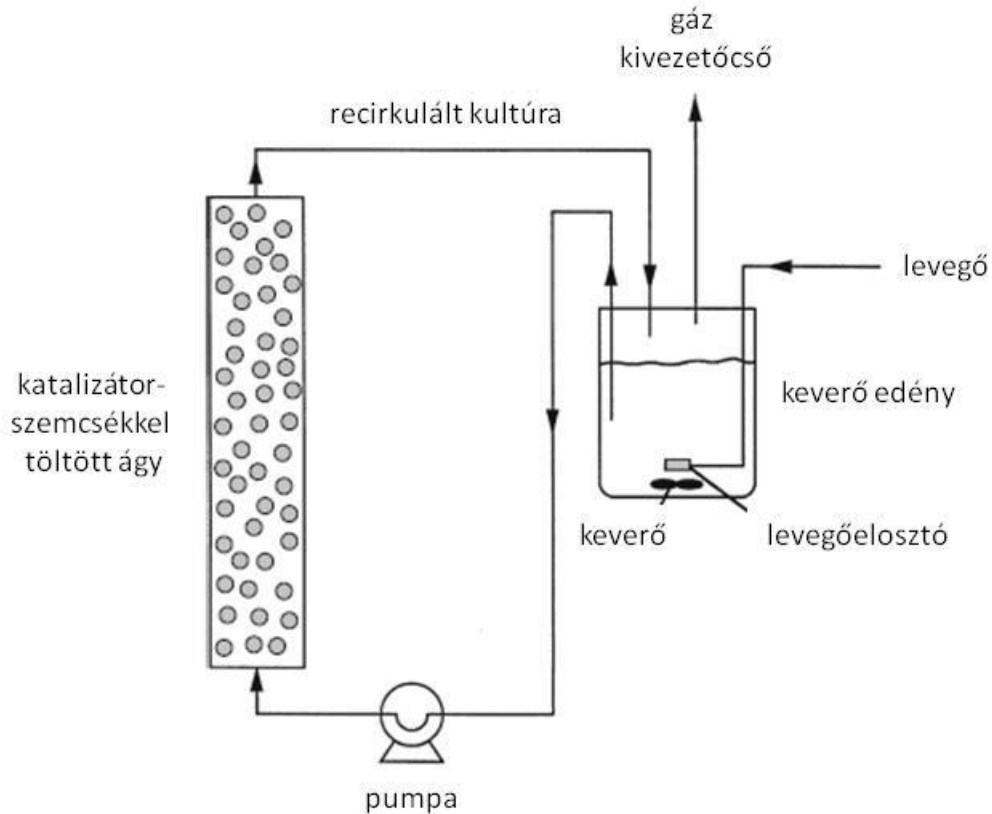
6.1.5. Toronyfermentorok

Keverő nélküli, egyszerűsített tankreaktorok. Hengeres tartályuk van egy alsó bemenettel, a tartály tetején egy kivezetővel és hőmérséklet-szabályozásra alkalmas köpennyel. Ezek a reaktorok pékélesztő, sör és egy-sejt-fehérje folyamatos tenyésztésére alkalmasak. A hengerkúpos tartályú fermentorokat a 70-es évek óta használják a sörgyártásban, a hagyományos 2-3 m mély, nyitott négyszögletes tartályok helyett. A zárt tetejű fermentorok alkalmasabbak gázok, mint pl. a CO² befogására és csökkentik a befertőződés esélyét is. A fermentáció utolsó szakaszában leülepedett élesztősejteket a hengerkúpos formából sokkal könnyebb visszanyerni. Ezen kívül a kúpos forma segít a cefre erőteljesebb keveredésében, ezáltal gyorsítva a fermentálást is. Levegőztetésre nincs is szükség, mert az élesztősejtek életfolyamata során termelt szén-dioxid kellő mértékű keverést biztosít.

6.1.6. Töltött ágyas („packed bed”) bioreaktorok

Ezekben a fermentorokban a biokatalizátorokat immobilizálják, úgy, hogy hordozórészecskék felületére rögzítik. A fermentor tartálya általában egy szemcsékkel töltött függőlegesen elhelyezett cső. Az oszlopban a kultúra mind felülről, mind alulról táplálható, amely egy folyamatos folyadékfázist alkot a szemcsék között. Ezekben a csőreaktorokban, a mechanikusan kevertetett fermentorokhoz képest minimális a kopás okozta sérülés. A kereskedelemben töltött ágyas fermentorokat alkalmaznak immobilizált sejtekkel és enzimekkel való aszpartát és fumarát előállítására, ill. aminosav-izomerek elválasztására.

Az anyagátadást a folyadékkultúra és szilárd hordozóhoz rögzített katalizátor között megkönnyíti az ágyon áthaladó folyadék nagy áramlási sebessége. Általában a töltött ágyas fermentorokban a folyadékot visszakeringtetik (5. ábra). A kifolyónál ráccsal akadályozzák meg, hogy a szemcsék kijussanak az oszlopból. A szemcséknek gyakorlatilag összenyomhatatlanoknak és deformálhatatlanoknak kell lenniük, és fontos, hogy ne zárják el a folyadék útját. Az eltömődés elkerülése végett a recirkulált folyadéknak tisztának és törmelékmentesnek kell lennie. A levegőztetés egy különálló edényben történik, ha levegőt direkt juttatnák a töltött ágyra az összeálló buborékok ún. gáz zsebeket hoznának létre a szemcsék között, ami a folyadékáramlásban zavart okoz. Ezért ez a típus alkalmatlan olyan folyamatokra, amelyek során nagy mennyiségű szén-dioxid vagy egyéb gázok képződhetnek.



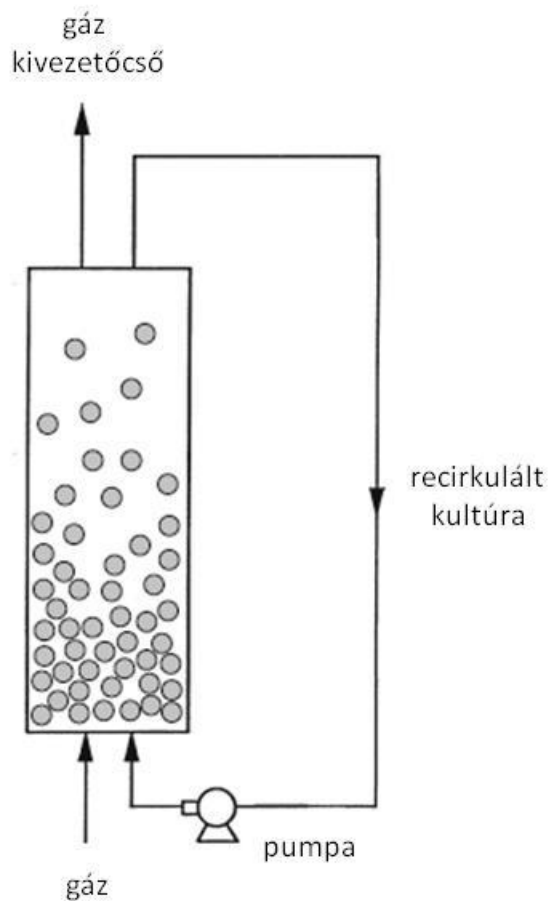
5. **ábra:** Recirkuláltatott kultúrával működő töltött ágyas („packed bed”) bioreaktor

6.1.7. Folyadékágyas („fluidised-bed”) bioreaktorok

Töltött ágyas fermentornak az a változata, amikor az áramlás letről felfele történik. A megfelelő méretű és sűrűségű katalizátorokat tartalmazó szemcsék nagy folyadékáramlási sebességnél szétválnak egymástól (6. ábra). Az ágy eltömődése szemcsék állandó mozgása miatt nem jelent veszélyt, ezért a levegő közvetben bevezethető a reaktorcsőbe. Folyadékágyas fermentorokat alkalmaznak a hulladékkezelésben például olyan homok vagy ehhez hasonló töltettel, amely kevert mikroba-populációt tartalmaz. Ezt a típusú bioreaktort alkalmazzák flokkuláló organizmusokkal ecet és sör gyártásához is.

A fluidágyas fermentorok tartályainak felső része kiszélesedik, ahonnan folyamatosan elvezethető a fermentlé, ezt keringtetve vagy akár friss médiummal pótolva folyadékot lehet juttatni a fermentortartály aljába. A keringtetett vagy frissen bejuttatott folyadékáram sebessége segít a sziládrészek oldatban tartásában. Ezekben a reaktorokban a kevertetés pumpával van megoldva. A sejtek vagy enzimek könnyű szilárd részecskék felületén rögzülnek,

amely részecskéket a pumpálás által fenntartott folyadékáram tart mozgásban. A pompa hajtotta felfele irányuló mozgását a részecskének a gravitáció okozta ülepedés oly módon ellensúlyozza, hogy a folyadék elvezetésével ne mosódjanak ki a részecskék. Aerob fermentáláshoz a hatékony levegőztetést levegőelosztó biztosítja.



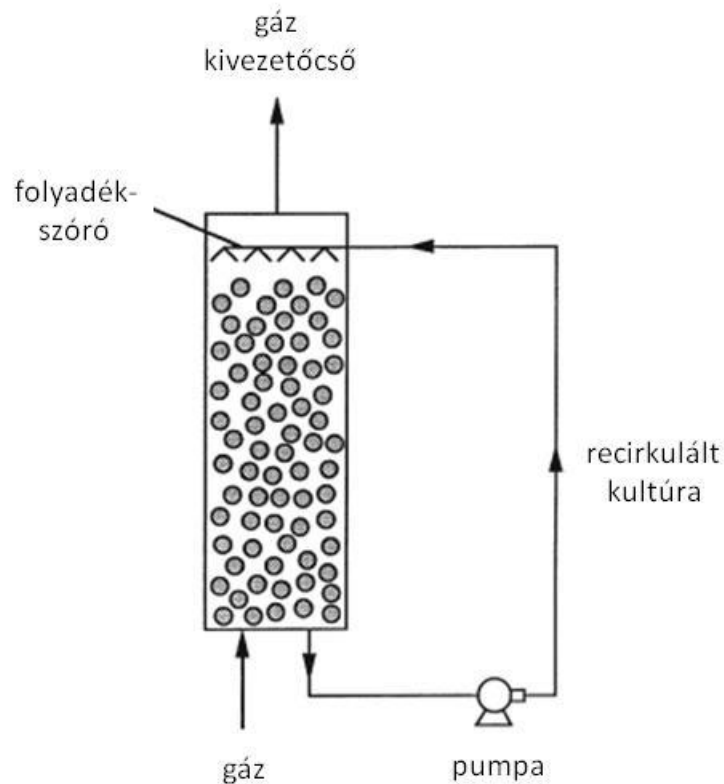
6. ábra: Folyadékágyas („fluidised-bed”) bioreaktor

Ez a reaktortípus alkalmas arra, hogy folyamatos fermentálásban magas biomassza mennyiség mellett jó anyagátadási sebességet lehessen fenntartani, viszonylag alacsony károsodást okozó nyíróerők mellett. Ezzel a módszerrel lehet pékélesztővel hatékonyan etanol fermentálni.

6.1.8. „Trickle Bed” bioreaktorok

Egy másik variánsa a töltött ágyas reaktornak. A folyadékot az álló töltet felületére permetezik, amely kis patakok formájában végigszivárog a tölteten 7. ábra. A levegőt alulról is

be lehet juttatni, mert a folyadékfázis nem folyamatos az oszlopban, a levegő vagy más gázok relatív könnyen átjutnak a tölteten. Ezeket a reaktortípusokat széles körben alkalmazzák aerob körülmények közötti szennyvíz-kezelésre.



7. ábra: „Trickle Bed” bioreaktor

6.1.9. Membrán bioreaktorok

Cellulóz acetátból, akril kopolimerből vagy poliszulfonátból készült üreges-rostos hálózat alkotja a membránt. Ezeken a membránokon rögzítik a fermentációt végző mikrobákat és enzimeket. Az üreges-rostos membránfermentorokban nagy sejtsűrűség érhető el. A rendszer lényege, hogy a termék már a fermentálás során elválasztható a biomasszától, ezáltal a biokatalizátor visszamarad a rendszerben. Hátránya, hogy nehéz monitorozni és kontrollálni a sejtnövekedést és a túlzott sejtnövekedésnek eredményeként sérülhet a membrán, ill. éppen a nagy biokatalizátor-sűrűségnek köszönhetően az oxigéntranszfer lassabb. Az üreges-rostos rendszerek mikrobáinak metabolikus aktivitását a toxikus termékek is gátolhatják. A membrán bioreaktorokat probiotikus sejtenyészetek előállítására is alkalmazták, és a rendszer nagy

sejtszámhozamot és termelékenységet mutatott, pl. *Bifidobacterium longum*-mal végzett kísérlet hétszeres biomassza-termelést mutatott, a szakaszos szabadsejtes fermentáláshoz képest. Nagy teljesítményű membrán bioreaktorokat alkalmaznak tejsav, etanol és szerves savak fermentációjára is. Igazolt pl. hogy egy duplatartályú membrán bioreaktorban hatékonyabb a borkészítés, kevesebb a maradék cukor, mint egy hagyományos folytonos fermentálású rendszerben.

6.2. Laboratóriumi és ipari szilárd közegű bioreaktorok (Solid-state fermentation - SSF)

A szilárd közegű fermentáció egy régi fermentációs technika, azóta ismert, amióta az emberiség tartósítja vagy fermentációval átalakítja az élelmiszereket.

A szubmerz fermentáció egy ősidők óta gyakran alkalmazott fermentációs módszer bor, sör, fermentált tejtermékek és más élelmiszerek előállítására. Az SSF módszert pedig a kenyér és sajtgyártásban valamint a halfeldolgozásban is alkalmazzák. Lényegében nincs arra utaló bizonyíték, hogy az élelmiszergyártásban az SMF módszer vagy a folyadék-fermentáció általánosan alkalmazott lett volna az SSF technikát megelőzően.

Az SSF a természetben jelenlevő olyan mechanizmus, amellyel a mikroorganizmusok túlélnek és fejlődnek. Ez a folyamat lejátszódik a gyümölcsök romlásakor, a mikrobákkal fertőzött élelmiszerekben, talajszennyezésben. Szóval a módszer létezik a természetben, az ember csak létrehozott olyan állandó eljárásokat vagy technikákat, amelyekkel kihasználhatja a mikrobiális anyagcserét. Mindkét technikának a kifejlesztése kétség kívül megfigyeléseken és próbálkozásokon keresztül valósult meg. Kezdetben, amíg kielégítő eredmények nem születtek, az élelmiszerek tartósítását és átalakítását kézműves eljárásokkal végezték. Ezeket a technikákat, amelyeket akkoriban csak úgy „művészetnek” neveztek, a kidolgozóik generációról generációra adták át egymásnak tudományos magyarázatok nélkül. A tudományban valaminek a művészete, valaminek az ismeretévé alakult. Napjainkban jó néhány különböző diszciplína (mikrobiológia, biológia, biokémia, a genetika, és biomérnöki) szolgáltat ismereteket a különböző biotechnológiai eljárásokhoz.

6.2.1. SSF fermentációs koncepció

A szilárd közegű fermentációban meghatározás szerint a mikroorganizmusok meghatározott páratartalom (nedvesség vagy vízaktivitás) mellett szilárd szubsztráton (mátrixon) vagy annak felületén növekszenek, szabad víz hiányában. A jellemző, amely megkülönbözteti az SSF fermentációs technikát az SMF-től, a szolid mátrix.

Az SSF technikának a következők jellemzői vannak:

- porózus vagy nem porózus szilárd szemcsék jelenléte.
- a szemcsék alakja lehet teljesen különböző, de lehetnek tökéletes gömbformájúak is.
- heterogén rendszer.
- a heterogén jellemvonásnak köszönhetően bizonyos paraméterek esetében (hőmérséklet, biomassa, O_2 , CO_2) grádiensek alakulnak ki. ezért a hő- és anyagátadás jelenségeknek a mechanizmusai egészen eltérőek az SMF fermentációs folyamatokétól.
- a mikroorganizmusok növekedéséből származó biomassa-termelés alig elkülöníthető a visszamaradó szilárd mátrixtól.
- a biomassa növekedés állandó változásokat generál a fermentációs közegben, úgy mint, megváltoztatja a szemcseágy porozitását, a szemcsék alakját és ún. levegőcsatornákat alakít ki.
- a rendszer kinetikáját direkt, a biomassa-változáson keresztül nem lehet meghatározni, azzal összefüggő indirekt módszerekkel már igen. Ezekre a mikrobiális sejtes összetétel (olyan anyagokon keresztül, amelyek nem voltak eredetileg jelen a fermentációs közegben), hőfejlődés, oxigénfogyás, és más változók monitorozásán keresztül is következtetni lehet.
- a kinetikai paraméterek meghatározásának nehézségei a folyamatok nagyon gyenge ábrázolásához vezetnek, amelyek megnehezítik azt, hogy a történésekről egy kvalitatív magyarázatot lehessen adni.
- a szilárd mátrix nedvességszintje (víz aktivitása) releváns a folyamat fejlődése szempontjából.

Az SSF folyamatok megfelelő leírásához a fenti szempontokat egy bioreaktor tervezésénél mind figyelembe kell venni.

6.2.2. Laboratóriumi SSF bioreaktor

Egy hatékony SSF bioreaktornak a következő fő jellemzői vannak:

- megfelelően elszigetelt rendszer, amely garantálja a szennyeződés-mentességét a folyamatnak.
- hőmérsékletkontrollt biztosító rendszer.
- a megfelelő levegőztető rendszer, amely esetlegesen, mint hőhordozó közeg működik.
- folyamatosan vagy szakaszosan működő keverőrendszer, amely a kialakult grádienseket megszünteti és a levegőztetést is segíti. A keverés akkor alkalmazható, ha a mikroorganizmusok nem érzékenyek a nyíróerőkre.

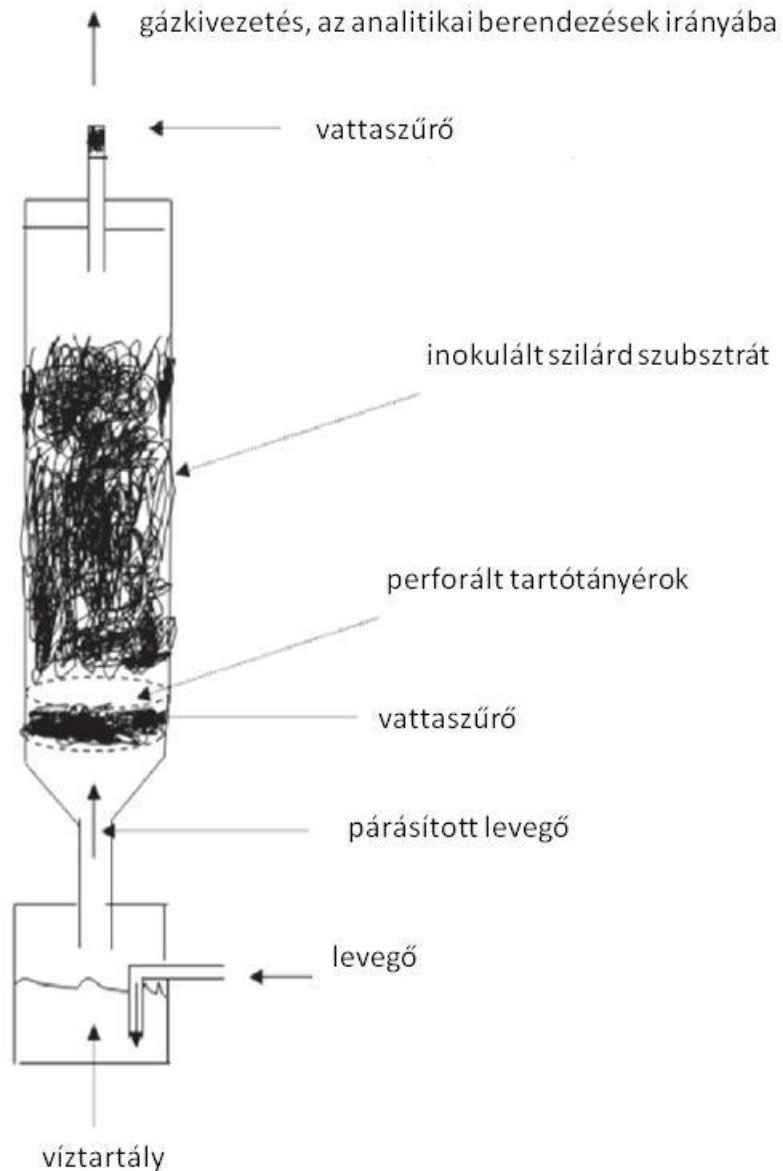
Raimbault (ORSTOM) oszlopreaktor (8. ábra) volt az egyike az első olyan SSF berendezéseknek, amelyek megfelelő kinetikai paraméterei által jól ábrázolta a folyamatot.

Ez a reaktor a következő fő jellemvonásokkal rendelkezik:

- számos részből áll.
- termosztálás érdekében az oszlop vízfürdőbe helyezhető.
- telíteni lehet a levegőt, amennyiben azt egy párasító berendezésen engedik át, mielőtt az oszlopba érne.
- egy automata mintavevővel ellátott berendezés, amely az oszlop levegőjéből rutinszerű mintavételezést követően gázkromatográffal monitorozza az oxigénfogyást és a széndioxid-képződést.

Következésképpen meg lehet állapítani egy bizonyos folyamat kinetikai jellemzőit, különösen a biomassza-szintézist, direkt vagy indirekt módszerekkel. Direkt módszer esetén minden egyes oszlop a folyamatnak egy bizonyos pontját képviseli egy meghatározott időben. Amikor a fehérjeszintézist alkalmazzák a biomassza becslésre figyelembe kell venni, hogy a folyamat elején a szilárd mátrix jelentős mennyiségű fehérjét tartalmaz. Ugyanúgy figyelembe

kell venni a szilárd mátrix összetételét, ha bármely más mikroorganikus komponenst használnak a biomassza meghatározására. Biztosítva, hogy minden oszlop azonos módon legyen feltöltve, egy előre elkészített és inokulált szilárd szubsztrátból, elkerülhető a szegényes mintaábrázolási probléma, amely a rendszer heterogén jellegéből adódhat.



8. ábra: Raimbault (ORSTOM) oszlopreaktor, laboratóriumi léptékű SSF berendezés

Az előbbi módszer indirekt módja a biomassza ábrázolásnak, hisz nem a sejtek megszámlálásából, száraz tömegből, vagy esetleg más SMF technikában használt módon lett

meghatározva, ugyanis, a legtöbb esetben, lehetetlen a biomassza és a szilárd szubsztrát szétválasztása.

Létezik egy indirekt módszer, amely kielégítően ábrázolja a folyamat kinetikáját, az ún. gázegyensúly módszer. Ez a módszer lehetővé teszi az oxigén fogyásának és a szén-dioxid képződésének a meghatározását, hiszen ezen gázok mennyiségi változásai direkt módon kapcsolódnak a biomassza-szintézishez. A módszer előnye, hogy a mintavételezés hiánya miatt elkerülhetők az esetlegesen abból származó hibák, amely hibák a rendszer heterogén jellege miatt akár statisztikailag is megváltoztathatják az eredményeket. Így a kapott eredmények a teljes folyamatot képviselik.

A gázegyensúly módszert alkalmazva az alábbi két egyenletet lehet felírni. Ezek az egyenletek lehetővé teszik, hogy a fermentáció során fogyott oxigén és termelt szén-dioxid térfogati értékeit meghatározzuk:

$$V_{O_2 \text{ fogyott}} = \left(0,209 - \frac{0,791 \%O_2}{(100 - \%O_2 - \%CO_2)} \right) F_e$$

$$V_{CO_2 \text{ képződött}} = \frac{0,791 \%CO_2}{(100 - \%O_2 - \%CO_2)} F_e$$

ahol a $V_{O_2 \text{ fogyott}}$ az elfogyasztott oxigén térfogata (L/h), a $V_{CO_2 \text{ képződött}}$ a képződött szén-dioxid térfogata (L/h), a $\%O_2$ a kimenő gáz oxigén-koncentrációja (%), a $\%CO_2$ a kimenő gáz széndioxid-koncentrációja (%) és az F_e a fermentor bejáratánál mért térfogati levegőáram (L/h).

Itt az a feltételezés, hogy a bemenő levegő 20,9% oxigénből és 79,1% nitrogénből áll, és a széndioxid-koncentrációja jelentéktelen.

Amint a fogyott oxigén és a képződött szén-dioxid térfogatáramai meg vannak határozva, az ideális gáztörvény alkalmazásával könnyedén kiszámíthatók a hozzátartozó moláris koncentrációk vagy gravimetrikus áramlások, mol/L és g/L -ben.

Az oxigénfogyás anyagmérlege kimondja, hogy:

$$\begin{aligned} \text{fogyott } O_2 &= a \text{ biomassza szintézisre elhasznált } O_2 \\ &+ \text{endogén folyamatokban részvevő } O_2 \end{aligned}$$

A fenti egyenlet a következőképpen is kifejezhető:

$$\frac{\Delta O_2}{\Delta t} = \frac{1}{Y_{x/o}} \frac{\Delta X}{\Delta t} + mX$$

ahol $a \frac{\Delta O_2}{\Delta t}$ az oxigénfelvétel sebessége adott időtartam alatt (g O₂/h), a $Y_{x/o}$ az oxigénfogyásra alapozott biomassza-szintézis hozama adott idő alatt (g biomassza/g O₂), a ΔX az adott idő alatt szintetizált biomassza (g), az m a fenntartási együttható (g O₂/g biomassza h) és a Δt a figyelembe vett időintervallum (h).

A fenti egyenletben az oxigénfelvétel sebessége ($\frac{\Delta O_2}{\Delta t}$) kifejezés összefügg a hozam együtthatóval, ami az oxigénfogyáson ($Y_{x/o}$) és a fenntartási együtthatón alapszik (m). Ezt a hozamot definiálni lehet, mint $\Delta x / \Delta O_2$, ahol a ΔO_2 mint szubsztrát szerepel, amely a biomassza szintézisben felhasználódik (Δx). A fenntartási együttható (m) azt az energia-mennyiséget jelenti, amelyet egy sejt saját aktivitásának fenntartására használ.

A fenti differenciálegyenletnek nincs analitikai megoldása, tehát egy numerikus módszer, a trapéz szabály alkalmazásával oldható meg, ami ezt eredményezi:

$$X_n = \left(Y_{x0} \Delta t \left(\frac{1}{2} \left(\left(\frac{dO_2}{dt} \right)_{t=0} + \left(\frac{dO_2}{dt} \right)_{t=n} \right) + \sum_{i=1}^{i=n-1} \left(\frac{dO_2}{dt} \right)_{t=i} \right) + \left(1 - \frac{a}{2} \right) X_0 - a \sum_{i=1}^{i=n-1} X_i \right) / \left(1 + \frac{a}{2} \right)$$

ahol $\left(\frac{dO_2}{dt} \right)_{t=i}$ az az oxigénfelvétel sebessége vagy az oxigénfogyás $t=i$ intervallumban (g O₂/h), az n az **utolsó/végső?** időintervallum, Δt a becsléshez figyelembe vett időintervallum (h), az X_0 a biomassza mennyisége az időintervallum elején Δt (g) és az X_n a biomassza mennyisége az időintervallum végén Δt (g). A fenti egyenlethez az fogyott oxigén mennyiségén alapuló

hozamot vették figyelembe és a fenntartási együtthatót (m), amely konstans marad az időintervallum alatt, $Y_{x/o} = k_1$ and $m = k_2$. Emellett az egyenletben megjelenő a kifejezés az egyenlet megoldásából származik, és egyszerűen a kifejezések csoportosításának a következménye, ami a következő összefüggésben írható fel, $a = Y_{x/o} m \Delta t$. Az a kifejezés szintén egy konstans, ha az oxigén fogyását és a fenntartási együtthatón alapuló hozamok is állandók. A fenti egyenlet lehetővé teszi, hogy az oxigénfogyásból nyert adatokból a biomassza tartalmát is becsülni lehessen. Figyelembe kell venni, hogy a számítások lépésről-lépésre történnek, előbb az x_1 -t határozzák meg aztán az x_2 -t és x_3 -t és így tovább.

Egy másik rendkívül fontos paraméter, amit a gázegyensúly módszerrel meg lehet határozni, a légzési együttható (Q):

$$Q = \frac{\text{képződött } CO_2}{\text{fogyott } O_2}$$

Magától értetődően a Q dimenzió nélküli és értéke 1, ha az oxigént és a szén-dioxidot mol/L-ben mérjük. Más egységben mérve a Q -nak van egy másik konstans értéke. Ezen logika alapján, a következő stratégiákat feltételezhetjük:

- ha megfigyelt, hogy egy specifikus időintervallumon belül a légzési hányados hozzávetőlegesen 1, amikor a szubsztrát egyszerű cukor vagy hasonló anyag, feltételezni lehet, hogy aerob fermentációban az oxigénfogyás ($Y_{x/o}$) és fenntartási együtthatón (m) alapuló hozam konstans marad a folyamat egész időtartama alatt.
- ha az adatok egy határozott tendenciát mutatnak arra, hogy a légzési hányados kisebb, mint nulla ($Q < 1$), akkor igaz, hogy egy vagy több nem konstitutív vagy újonnan indukált metabolit termelődött. Ebben az esetben szükségessé válik az $Y_{x/o}$ és az m -re új értékek kiszámolása, mert a korábbi értékek már nem lesznek érvényesek.
- ha a levegőztetett fermentációs rendszerben a légzési hányados értékei nagyobbak, mint 1, akkor az oxigénhez képest megnövekedett széndioxid-termelés anaerob zónák jelenlétét jelzi a fermentorban. Ezek az anaerob zónák a levegőztető rendszer hibájából vagy a levegő esetleges csatornázottságából, a mikrobanövekedésből származó rendszerbeli kompaktságból, többlet mennyiségű vízpárolgásból adódó

rendszerzsugorodásból vagy sok más okból adódhatnak. Ezekben az esetekben a rendszer nem tekinthető aerobnak, ezért korigálni kell.

Észben kell tartani, hogy a fentiek akkor érvényesek, ha szubsztrátként egyszerű cukrokat, vagy más hasonló szénhidrátokat vagy poliszacharidokat alkalmaznak. Más szubsztrátok esetében a szubsztrát tulajdonságát és annak metabolikus útvonalát is figyelembe kell venni ahhoz, hogy a légzési hányadosra a megfelelő értéket kaphassuk.

Kétségtől a fogyott oxigén vagy a képződött szén-dioxid mennyiségének megmérése relatív nem-invazív módja annak, hogy az SSF fermentációs technika kinetikai paramétereit jellemezni lehessen. Ezen változók követésének előnye tehát az, hogy nem visznek be változást a rendszerbe. Ezért előnyös egy alap laboratóriumi SSF bioreaktor számára, ha rendelkezik egy gáz elemzésére szolgáló berendezéssel a kimenetnél.

Egy másik nagy problémája az SSF technikának, annak a módnak a hiánya, amellyel kimenthető a rendszerben termelődött energia. Kétségtől ennek a problémának a megoldása nemcsak a folyamat fejlődésére van hatással, de ugyanakkor gazdasági hatással is bír. Amint várható a fermentáció során termelt energia számos faktort befolyásolhat, mint a rendszer hőmérsékletének az emelkedését, a levegőigényt, a mikroorganizmusok specifikus növekedési rátáját, sőt a reaktortípus megválasztását is. Ebben az értelemben rendkívül fontos végrehajtani egy átfogó energiaegyensúly-vizsgálatot, amely segíthet abban, hogy a tárgyalt faktorok közötti viszonyokat meg lehessen állapítani.

A rendszer hőmérséklet-kontrollját két faktor is bonyolítja:

- a rendszer heterogenitása.
- a levegő minősége.

A rendszer heterogenitása grádiensek létrejöttét okozhatja, amely hatással van az energia-és anyagátadásra a reaktorban. A grádiensek kialakulása megszüntethető időszakos vagy folyamatos kevertetéssel.

A levegő egy SSF folyamatban a következő három fontos szerepet játssza:

- biztosítja a kívánt mennyiségű oxigént.

- a fermentáció során termelt hőnek egy részét a gázfázisba szállítja.
- eltávolítja a szén-dioxidot és más illékony gázt, ami a szilárd mátrixból termelődhet.

Az aerob fermentációban az oxigén létfontosságú tényező. Az elsődleges szempont a szubmerz fermentortervezésben a gázfázisból egy hatékony folyadékfázisba való oxigéntranszfernek a megoldása. Ezt a folyamatot egy gáz-folyadék anyagtranszfer együttható (K_La) képviseli, amely a legfontosabb paramétere egy SMF „scale-up” folyamatnak. Egy gáz-folyadék anyagtranszfer együtthatónak (K_La) a meghatározására az SSF folyamatokban számos próbálkozás történt. Az SSF technika esetében a levegő nemcsak a mikrobák növekedéséhez szükséges oxigént szállítja, hanem a folyamat során főlegesen termelt hő elszállításra is szolgál. Sokáig nem volt bizonyítva, hogy a K_La -nek nagyobb hatása van az aerob SSF fejlesztésre, mint a folyamat során képződött hő általi hőmérséklet-emelkedésnek. Voltaképpen egy SSF folyamat során a hűtéshez szükséges levegő mennyisége hozzávetőlegesen háromszor akkora, mint amennyivel az oxigént fedezni lehet a sejtek működése számára.

A folyamat makro energiaegyensúlyából meg lehet határozni a keletkezett hő és szükséges levegő közötti viszonyt. A következő egyenlet írja le ezt a viszonyt:

$$W_g = \frac{Q_m - hA(T_{out} - T_{in})}{0,24(T_{out} - T_{in}) + \lambda(H_{out} - H_{in})}$$

ahol W_g a száraz levegő sebessége (kg száraz levegő/h), Q_m a folyamat során képződött metabolikus hő (kcal/h), h a fermentorfal hőtranszfer-koefficiens (kcal/m²/h/°C), A a fermentorfal felülete (m²), T_{out} a kiáramló levegő hőmérséklete (°C), T_{in} a bemenő levegő hőmérséklete (°C), λ a víz párolgásából adódó rejtett hővesztés (kcal/kg víz), H_{out} a fermentor kijáratánál mért abszolút levegőnedvesség (kg víz/kg száraz levegő), H_{in} fermentor bemenetnél mért abszolút levegőnedvesség (kg víz/kg száraz levegő). A fenti egyenlet a hőtranszfer két mechanizmusát képviseli:

- metabolikus hőtranszfer, amint a hő a szilárd szubsztrátból az áthaladó levegőnek átadódik.

- a fermentor falán keresztül a környezetbe jutott hő.

Az első mechanizmus estében fontos figyelembe venni a levegő páratartalmát, hőmérsékletét és a levegő áramlását. A második mechanizmust a hőtranszfer együttható (h) irányítja a fermentor falán keresztüli hőmérséklet-grádiensen keresztül, ez utóbbi a rendszer és a környezet közötti hőmérséklet-különbségből adódik. A hőelvonást párolgással való hűtéssel is meg lehet oldani, de ez kizárítja a szilárd mátrixot, ami a bioreaktor teljesítményét csökkenti. A fermentor falán keresztüli hőtranszfert javítani lehet, olyan bioreaktorral, amelynek a falán keresztül hatékony a hőcserélés, pl. lehet kevertetni a folyamat során vagy kontrollálni lehet a környező hőmérsékletet hideg víz keringtetésével a fermentor falát körülvevő köpenyben.

A 8. ábra alapján az SSF reaktorban a folyamatra ható paraméterek közül néhányat változtatni lehet, pl. a levegő minőségét, a páratartalmat, de a hőtranszfer a fermentor falán keresztül nem javítható, amit a kevertetés javítana. A fenti képlet mutatja, hogy a levegőigény nemcsak a mikroorganizmusok növekedése szabja meg, hanem a reaktor hűtése is. Ha a fermentor falán keresztüli hőtranszfer együttható értéke nem elég a metabolikus hő eltávolításhoz és a hőmérséklet állandó szinten tartásához, a víz párolgása hűtő mechanizmussá alakul. A fenti egyenlet azt is demonstrálja, hogy léghűtés alkalmával a folyamat által felhasznált levegő nagyobb értéket mutat, mint amennyi a metabolikus hőelvezetéshez igényelt.

A rendszerben használt levegő nedvességtartalma változhat, ennek beállítása a megfelelő párasító vagy szárító berendezéssel történik. Telítetlen levegő alkalmazása befolyásolja a rendszert, a csökkent vízaktivitás miatt. A telített levegő alkalmazása óhatatlanul hőmérséklet-emelkedéshez vezet. Ezért van ellentmondás abban, hogy mi az optimális levegőminőség egy SSF folyamatban. A páratartalom-esést meg lehet akadályozni azzal, ha a megfelelő ellenőrzési mechanizmusok mellett vizet permeteznek a szilárd mátrix felszínére.

Az odafigyelés az alapfelszereltség típusára az első lépés ahhoz, hogy egy SSF folyamat számára valamiképp kevertetett szubmerz körülményhez hasonló feltételeket lehessen teremteni. A gázanalizátorral és esetlegesen keverővel ellátott oszlopreaktor lehet egy ilyen berendezés. Noha, laboratóriumi méretekben más reaktorokat is alkalmaznak, mint a 8. ábrán bemutatott, ezek a főként a következők:

- Erlenmeyer lombikok
- tálcák
- dobreaktorok, keveréssel vagy forgatással és ezek nélkül.

Az Erlenmeyer lombikok használatáról az SSF fermentációban számos szakirodalmi beszámoló van, de ezek sajnálatos módon csak kezdeti leírásai bizonyos termékek fejlesztésének. A tálcás és dobreaktorokat alkalmazzák nagyobb léptékű fermentációkban, és bizonyos esetekben ezek el is vannak látva a megfelelő berendezésekkel, amelyek a hőmérséklet és levegőáram kontrollját vagy regisztrációját végzik. Ezen kívül a nagyobb léptékű SSF rendszerek tartalmaznak szilázs-feldolgozó berendezést, az oxigénellátást és a szén-dioxid távozását segítő lyukakkal ellátott zsákokat, és a légáramlás segítő zsákokat. Viszont ezekben a rendszerekben szinte nincs mód a fermentációs folyamat ellenőrzésére és irányítására.

Az SSF folyamatokban a szilárd mátrix kezelése különösen fontos. Sajnos a szilárd fázist nem lehet pumpálni, mint a folyadékot, ezért ez könnyebben szennyeződik. Ennek veszélyét csökkenteni lehet:

- *in situ* sterilizálással.
- az inokulumot sterilizált szilárd szubsztrátra oltják.

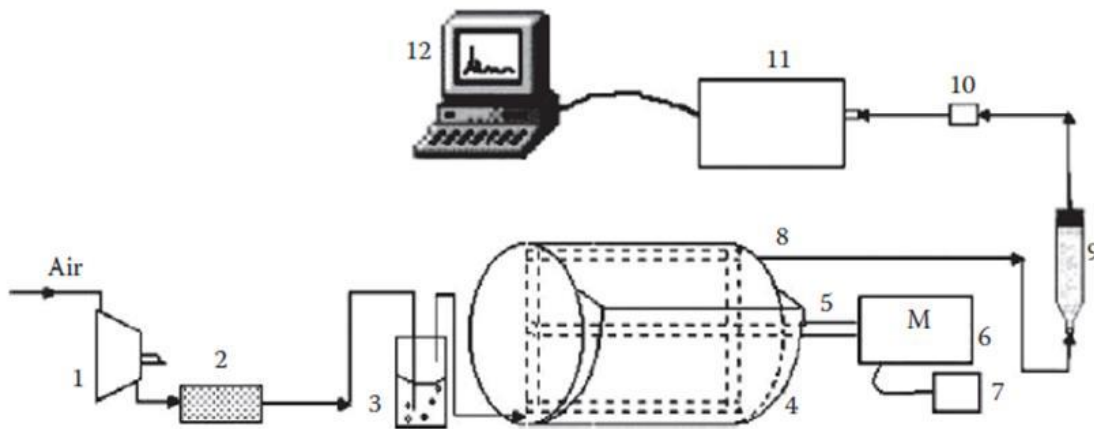
A szilárd szubsztrát *in situ* sterilizálása sokkal könnyebb, ha kevertetéssel hatékony homogenizálást lehet biztosítani. Sterilitást lehet elérni páratartalommal telített forró levegő megfelelő ideig való alkalmazásával, addig, amíg minden szennyező mikroorganizmus elpusztul, majd forró száraz levegővel be lehet állítani a kívánt nedvességtartalmat a szilárd mátrixban. Az inokulálás pedig nem bonyolult akkor, ha az inokulum folyadék halmazállapotú és a reaktort kevertetni lehet.

A 9. ábra egy dobreaktort alkalmazó rendszert mutat be, amely a fent tárgyalt funkciókkal rendelkezik. Sokmindent figyelembe kell venni egy megfelelő SSF fermentor tervezésénél:

- a reaktornak a lehető legegyszerűbbnek kell lennie, pl. a különböző belső levegőeloszló vagy keverő részek sterilizációs komplikációkat okozhatnak.

- a „scale-up” kritériumokat is figyelembe kell venni, a működési méretek figyelmen kívül hagyásával nem lehet SSF reaktort tervezni, nem lehet tervezéskor a későbbi működést illetően az intuícióra és a próba-szerencsére hagyatkozni.

Ezen felül néhány jó eredménnyel működő oszlop- és tálcareaktorokon alapuló kísérleti vagy nagyobb léptékű SSF rendszert terveztek már.

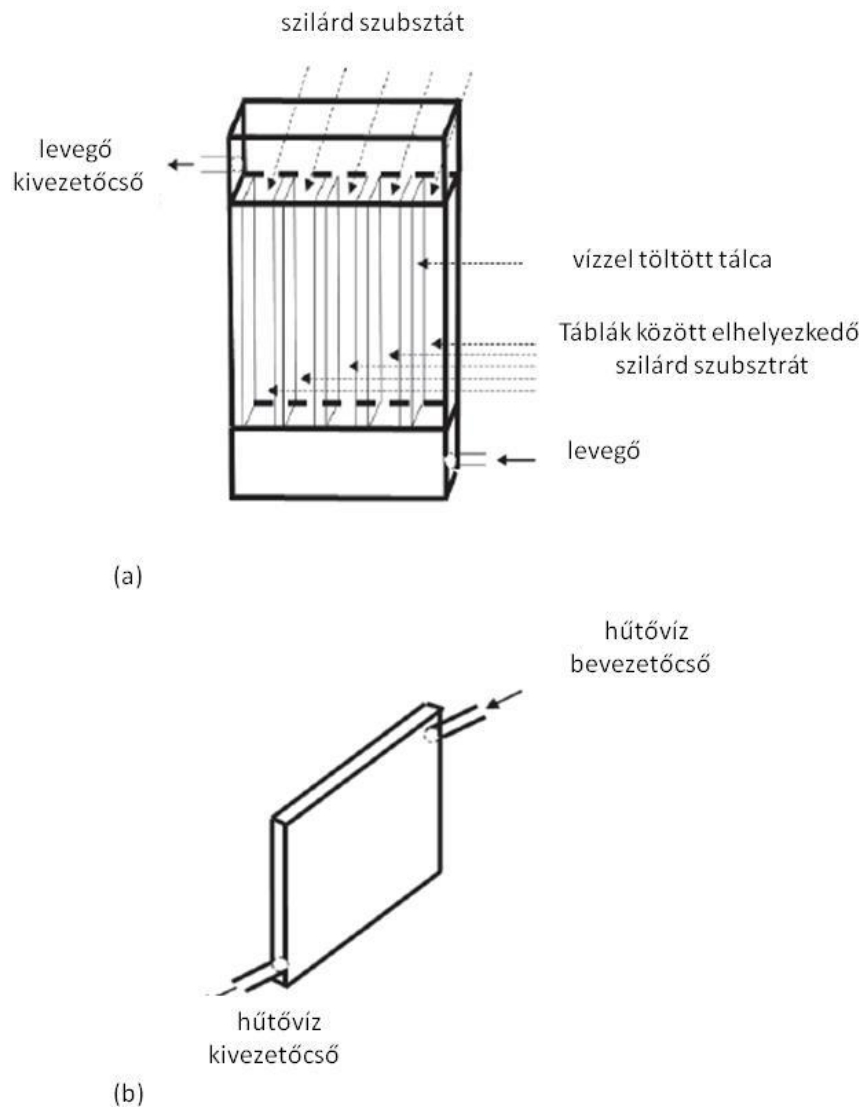


9. ábra: Adatfeldolgozó rendszerrel összekötött SSF dob típusú bioreaktor sematikus ábrája
 1. kompresszor, 2. szűrő, 3. párásító, 4. bioreaktor, 5. keverő, 6. és 7. motor, 8. gázkivezetőcső, 9. szűrő, 10. szén-dioxid és oxigén szenzor, 11. kontrolláló berendezés, 12. számítógép

Zymotis egy eltérő, gombaspórák előállításra alkalmazott reaktor. Ez a reaktor hőcserélő lemezeket tartalmaz (belső hűtővízáramlással), függőleges táblákból áll. A szubsztrátot a függőleges táblák közé juttatják, és minden táblában a hideg víz átáramoltatásával érik el a megfelelő termosztálást a reaktorban. A 10. ábra sematikus bemutatja a Zymotis SSF fermentort. Ezen felül jőpár oszlop- és tálcareaktort terveztek. Legnagyobb problémája ennek a típusnak, hogy ipari méretekben nagyon nehéz a szilárd mátrix kezelése.

Egy másik, újabb típusú SSF rendszer vagy reaktor a levegőnyomással pulzáló szilárd fázisú bioreaktor (air pressure pulsation solid-state bioreactor - APP-SSF). Előnye hogy kedvező benne a hő- és anyagtranszfer úgy, hogy a gombák micéliumait nem teszi tönkre a kevertetés, az

enzim metabolitok termelése is igen kedvező bennük. Az APP-SSF fermentorok számos tálcán, egy a sűrített levegő be- és kiáramlását kontrolláló rendszeren és a levegő benmaradását szabályozó térrészen alapszik. A megfelelő feltételeket alkalmazva és sűrített levegőt bejuttatva el lehet érni a kívánt mértékű vízpárolgást, anélkül, hogy a folyamatot befolyásolnánk. Viszont a levegő nedvességszintjét vagy a szilárd mátrix vízaktivitását figyelembe kell venni. Megjegyzendő, hogy a fenti rendszer hatékony lehet a tálcás reaktorokon túl más reaktortípusok esetében is, ha a megfelelő kontrollberendezéseket alkalmazzák hozzá.



10. ábra: A Zymotis SSF bioreaktor sémája (a), a Zymotis bioreaktor egy táblája (b)

6.3. „Scale-up” kritériumok

Amikor egy laboratóriumi körülményekre kidolgozott folyamatot ipari méretekre kell emelni kritikus ismerni a procedúrát, ahhoz, hogy a legjobb eredményeket érhessük el. Figyelembe kell venni számos faktort, ahhoz, hogy garantálni lehessen, a folyamat közel azonos hatékonysággal működik majd, mint laboratóriumi körülmények között működött. Ezek a faktorok lényegesek mind a felépítés, mind a működés szempontjából.

A legtöbb SSF folyamat esetében a szakirodalomban közölt kinetikai modellek arra hivatottak, hogy a termékképződést ún. szemi-kvalitatív módon írják le (ilyenek, mint pl. a statisztikus-empirikus modellek vagy a grafikus ábrázolás). Ezért nagyon fontos a jó felszereltsége a laboratóriumi fermentoroknak. Az SSF folyamatokat laboratóriumi méretekben helyesen leíró matematikai modellek információi szűkösek, amennyiben ipari vagy félipari alkalmazásokat kell jellemezni. Egy laboratóriumi méretű fermentor ipari méretű SSF hasonmásának alkalmazásakor néhány problémával kell megküzdeni, úgy mint a megváltozott hőtranszferrel és szellőzéssel, valamint az esetlegesen a kevertetés miatt előálló nyíróerőkkel. Az SSF fermentációs folyamatok „scale-up” próbálkozásai azon alapulnak, amit művészetnek neveznek, ez egy jó adag szubjektivitást és a pontosabb alapok hiányát is jelenti.

Számos olyan módszert írtak már le az SMF folyamatok „scale-up” stratégiájaként, amelyekben a szubjektivitást minimális szerepet kap. Ezek a stratégiák három különböző és nagyon fontos jelenséget hangsúlyoznak ki: a termodinamikát, a transzport jelenségeket és a kinetikát.

A szubmerz fermentációban a „scale-up” kritériumok elsősorban a keveréssel, a szellőzéssel, az oxigén- és hőtranszferrel, az egységnyi térfogatba bevitt keverő energiával - P/V , a térfogati tömegtranszfer együtthatóval - $K_L a$, a keverési sebességgel és az oldott oxigén koncentrációjával kapcsolatos paramétereken alapulnak. Ezeket a faktorokat önmagukban vagy egymással kombinálva kell tekinteni, és dimenzió nélküli számokként ábrázolják őket, mint pl. N_p - teljesítményszám, N_{Re} – Reynolds szám. A dimenzió nélküli számokat dimenzióval rendelkező számos faktor vagy mennyiség közötti összefüggésként határozzák meg, de ezeken az összefüggéseken keresztül a végeredmény egy dimenzió nélküli kifejezés. Hatásuk az ilyen

dimenzió nélküli társulásoknak nyilvánvaló; mint dimenzió nélküli kapcsolatok, a kifejezések így skálafüggetlenek lesznek.

SSF esetében a levegőellátás (L/h), amint korábban bizonyítva volt egy szignifikáns értékkel rendelkezik, és nemcsak a mikroorganizmusok számára való oxigén szállításban, hanem hasonlóan a folyamat során termelődött hő elvezetésében. Viszont a levegőellátás egy átfogó faktor, és skálafüggő. Mindazonáltal, ha a levegőellátás a kezdeti szilárd mátrixra vagy szubsztrátra vonatkozik (száraz vagy nedves), akkor egy intenzív faktort eredményez, amelyet VKgM-nek vagy levegőáram intenzitásnak neveznek (L levegőellátás/szubsztráttömeg/perc), tehát egy skálafüggetlen faktort ad. Sajnos erről a faktorról csak néhány tudományos folyóiratcikk számol be. A faktor, amelyet könnyű kiszámolni, a levegőellátást és a kezdeti szilárd szubsztrátot veszi figyelembe. A VKgM mivel egy intenzív faktor, „scale-up” kritériumnak tekinthető.

Továbbá, egy dimenzió nélküli szám is származtatható az ágysűrűséggel (ρ), szorzott levegőáram intenzitásból (VKgM). Figyelembe véve azt, hogy az ágysűrűséget (kg/L) a szilárd szubsztrát és a valódi fermentációs térfogat aránya adja. A multiplikációt követően a megfelelő dimenzió $perc^{-1}$. Ha a specifikus növekedési ráta (μ) inverzét is figyelembe vesszük a következő három faktor között ez az összefüggés írható fel:

$$\left(\frac{\rho VKgM}{\mu} \right)$$

ami egy dimenzió nélküli számot eredményez.

Ez a dimenzió nélküli szám arra utal, hogy nemcsak a levegő intenzitását (VKgM), hanem az töltet sűrűségét is (és ezért a porozitást és a részecskeeloszlást is) figyelembe kell venni egy SSF „scale-up” folyamatban. Megjegyzendő, hogy eredetileg a kevertetésből és rázatásból származó nyíróerők okozta minimális veszteségek nem voltak figyelembe véve, de esetlegesen a „scale-up” kritériumok kiegészítéseképpen ezeket is be lehet iktatni a számításokba.

Következésképpen, elmondható, hogy a „scale-up” folyamatban a levegőáram intenzitás egy jó kritérium, különösen akkor, ha a töltet sűrűsége és a specifikus növekedési ráta (μ) egy dimenzió nélküli számban össze vannak kapcsolva, amely fontos lehet a jövőbeli „scale-up” tanulmányokban vagy bármely méretű SSF fermentor kezelésében.

Összegzésképpen, íme néhány karakterisztika, amivel egy laboratóriumi fermentor, egy kísérleti üzem, vagy egy ipari fermentor általában rendelkezik:

- megfelelő anyagból kell felépülnie, ami üveg vagy polírozott acél.
- rendelkezhet egy vízűtést lehetővé tevő köpennyel.
- rendelkezhet keverést vagy rázatást lehetővé tevő berendezéssel.
- el kell legyen látva a megfelelő izolálást lehetővé tevő tömítéssel.
- jó, ha alkalmas az *in situ* sterilizálásra
- rendelkeznie kell megfelelő minőségű, steril levegő bejuttatására alkalmas berendezéssel.
- rendelkeznie kell az oxigén és a szén-dioxid koncentrációinak mérésére alkalmas berendezéssel, mert ezek ismerete szükséges a kinetikai paraméterek meghatározásához.
- ideális esetben jó, ha a rendszer össze van kapcsolva az adatok gyűjtésére és feldolgozására alkalmas programokat futtató számítógéppel.

Megjegyzendő, hogy az a reaktor, amely a típustól függetlenül (oszlop, dob vagy tálca) a fenti leírásnak megfelel, lehetővé teszi azon paraméterek meghatározását, amely által a tanulmányban leírt koncepció alkalmazható, ide értve a nagyobb léptékű fermentorok „scale-up” folyamatához és kezeléséhez bevezetett dimenzió nélküli számokkal való munkát is.

Hivatkozások listája:

1. SOCCOL C.R., PANDEY A. és LARROCHE C.: ***Fermentation processes engineering in the food industry***, CRC Press, **2013**.
2. DORAN PAULINE M.: ***Bioprocess Engineering Principles***, második kiadás, Academic Press, **1995**.
3. SHETTY K.; PALIYATH G.; POMETTO A.; LEVIN R.E.: ***Food Biotechnology***, második kiadás, CRC Press., **2006**.
4. <http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tkt/fermentacios/ch01s04.html>