

4. FERMENTÁCIÓK LEVEGŐZTETÉSE



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

1

A mikrobák oxigénigénye

Az oxigénigény szempontjából a mikrobákat több csoportba sorolhatjuk:

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

Levegőztetni értelemszerűen csak az aerob mikrobák tenyésztését kell.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

Az oxigén felhasználása

Az anyagcserében kétféleképpen hasznosul az oxigén:

- A terminális oxidáció során vízzé alakul
- direkt oxidációs folyamatokban beépül a mikroba sejtanyagába (csak 1-2%)

A cukrok hasznosítása (energiatermelés) során széndioxid és víz keletkezik. A CO₂ oxigénje a cukorból ered, a vízé az O₂-ből.

Az oxigén a mikroba számára egy szubsztrát.



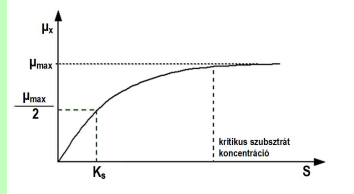
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

Az oxigén mint szubsztrát

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

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



Értelmezhető a kritikus oxigén koncentráció is ↑



Az oxigén mint szubsztrát

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

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

A hozamkonstans is felírható O_2 -re:

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

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

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

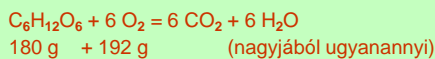


Miért kell folyamatosan levegőztetni?

Az oxigén (apoláris molekula) a vízben (poláris oldószer) rosszul oldódik: ~5 mg/l = 5 milliomod rész.

Mennyi oxigénre van szükség?

Glükóz hasznosításánál:



Ha tehát a elfogy ~10% cukor, ahhoz ~11% oxigén kellene.

Ennyi nem oldódik → folyamatosan kell bevinni → ez a levegőztetés.

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



Az oxigén útja

Az oxigén molekula útja több szakaszra osztható:

A buborék belseje (tömbfázis) - (gáz)diffúzió
 Gázoldali határreteg - (gáz)diffúzió
 Folyadékoldali határreteg - diffúzió folyadékban
 Folyadék tömbfázis (fermentlé) - konvektív (áramlási) transzport
 Folyadék határreteg a mikrobák felületén - diffúzió folyadékban

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 7

Az oxigénátadás sebessége

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

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

Az adott esetre:

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

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

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 8

A levegőztetést befolyásoló paraméterek

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

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 9

C^* - telítési oxigén koncentráció, függ:

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

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

Technológiai lehetőségek:

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



C^* - telítési oxigén koncentráció, függ:

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

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

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

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



A két fázis határfelülete:

úgy növelhető, hogy a buborékok összfelületét növeljük → apró buborékok, nagy fajlagos felület.

- eleve apró buborékokat vezetnek be (apró furatok, fúvókák)
- ha nagyobb méretben lépnek be, akkor intenzív, nyíró keveréssel aprítjuk a buborékokat.
- több levegőt nyomtatunk be, ennek egységes mértéke a VVM (Volumen/Volumen/Minutum) $VVM = m^3$ bevitt levegő / m^3 fermentáló / perc. Értéke általában 1 körüli (0,5-2 közé esik).
- a buborékokat visszatartjuk a folyadékban, nem hagyjuk őket egyenesen felszállni, keveréssel és terelő lemezekkel spirális pályára kényszerítjük.



K_L : folyadékoldali anyagátadási tényező

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

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

Mi befolyásolja a keverés intenzitását (turbulenciáját)?

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

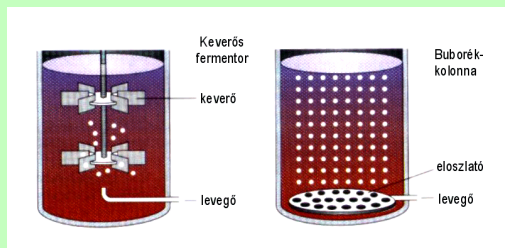


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

13

Keverős és toronyfermentor összehasonlítása

Hasonlítsunk össze két fermentációs levegőztetési megoldást!



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14

Keverős és toronyfermentor összehasonlítása

Keverős fermentor: a keverő turbulens áramlást hoz létre,

- vékonyabb a határreteg → javul a K_L
- eloszlatja a buborékokat, nagyobb az érintkezési felület,
- keverő és motor kell: drágább a beruházás és üzemeltetés

Toronyfermentor:

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

15

Mikrobák oxigénigényének meghatározása

1. Gázelemzéssel

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

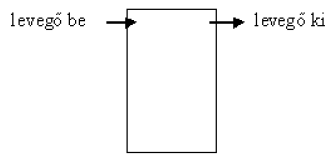
$$Q = \frac{\Delta C \cdot W}{V \cdot X}$$

Δc - O₂ koncentráció különbség a be- és kijövő gázáramban

W - a levegő térfogatárama

V - a fermentálé térfogata

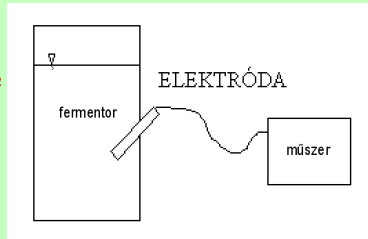
X - mikroba koncentráció



Q dinamikus mérése

A folyadékban lévő oldott O₂ mérése alkalmas elektródával folyamatosan mérjük az oldott oxigén koncentrációját.

Fermentáció közben 2-3 percre elzárjuk a levegő betáplálást, és a mért O₂ változásból határozzuk meg a Q-t.



Q dinamikus mérése

Fermentáció közben az oldott O₂ koncentráció (DO) változását a következő mérlegegyenlettel írhatjuk le:

változás = beoldódás – a mikrobák fogyasztása

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

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

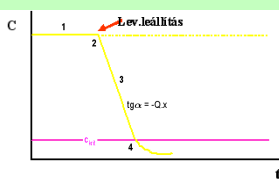
$$\frac{dc}{dt} = -Q \cdot x$$

Az O₂ szint csökkenésének meredeksége a Q-val arányos.




Q dinamikus mérése

1. A fermentáció során nagyon lassan változik az O₂ koncentrációja, ez a vízszintes vonal.
2. A levegőt elzárjuk, a mikroba csak az oldott O₂-t tudja fogyasztani és emiatt csökken a koncentráció.
3. A kezdeti szakasz egyenes, mert a Q.x meredekség állandó.
4. amikor eléri a kritikus O₂ koncentrációt, elgömbül, mert Q már nem állandó.
5. A Qx -ből a Q kiszámítható



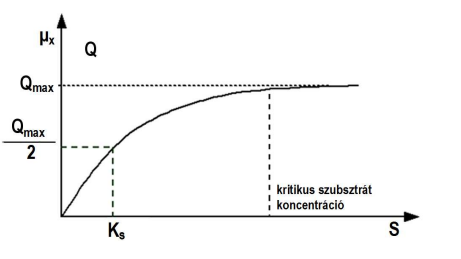
$$Q = Q_{max} \frac{C_{O_2}}{K_{O_2} + C_{O_2}}$$




BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

19

Q dinamikus mérése



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




BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

20

K_La meghatározása

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

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

21

Kilevegőztetés (gassing out)

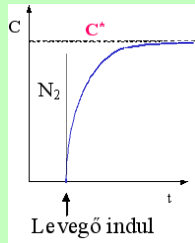
E mérés során tiszta N₂ gáz átbuborékolásával kihajtják az oldott oxigént a bioreaktorban lévő vízből, majd a N₂-ről átkapcsolnak levegőztetésre. Eközben folytonosan mérik az oldott oxigén koncentrációjának alakulását.

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

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

Szétválasztással integrálva:

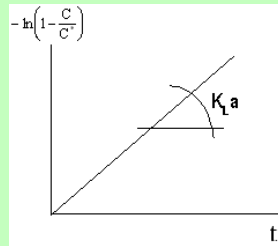
$$-\ln\left(1 - \frac{C}{C^*}\right) = K_L a \cdot t$$



Kilevegőztetés (gassing out)

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

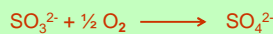
értékeket az idő függvényében ábrázolva a kapott egyenes meredeksége adja meg a $K_L a$ értékét.



Szulfioxidációs módszer

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

Az oxigénabszorpció szempontjából vizsgálni kívánt bioreaktort Na₂SO₃ oldattal töltjük meg és levegőztetjük (és kevertetjük). Ekkor a



reakció játszódik le.

Ez pillanatszerűen gyors és teljesen végbemegy → a buborékokból beoldódott O₂ azonnal elreagál → ameddig a szulfit el nem fogy, addig az oldott O₂ koncentrációja nulla.



Szulfitoxidációs módszer

A beoldódás egyenlete 0 oxigén mellett leegyszerűsödik:

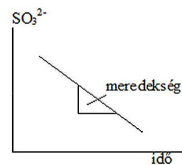
$$\frac{dC}{dt} = K_L a (C^* - C) = K_L a C^*$$

A kapott szorzat a **szulfitszám (S)**.

C* ismeretében a K_La kiszámítható.

$$S = K_L a C^*$$

A reakció során a szulfid fogy, a csökkenő koncentrációt néhány percnkénti mintavételezéssel, titrálással mérik. A szulfidfogyás sebessége pontosan megegyezik az O₂ beoldódás sebességével (dC/dt), az ábrázolt egyenes meredeksége a szulfitszám.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

25

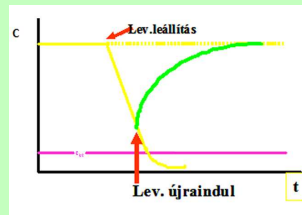
Dinamikus K_La meghatározás

A mérést az oxigénigény méréséhez hasonlóan végezzük, csak ez esetben a DO görbének a levegő visszacsatolás utáni felszálló ágát vizsgáljuk. Itt az O₂ mérlegegyenlet teljes alakja érvényes:

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

átrendezve:

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



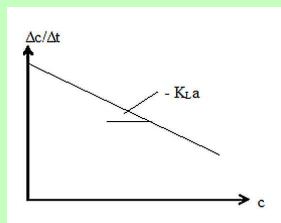
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

26

Dinamikus K_La meghatározás

Ha a Δc/Δt értékeket ábrázoljuk a c koncentráció függvényében, egyenest kapunk, amelynek meredeksége (-K_La.)

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

27

A levegőztetés technikai megoldásai

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

A kémcsöveket tálcába állítják, a tálcát ferde tengely körül lassan forgatják, ezáltal a kémcsőben lévő folyadék is mozog → így levegő oldódik a folyadékba.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

28

A levegőztetés technikai megoldásai

2.) *Rázólombik*

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

A rázógépet általában termosztált szekrényben helyezik el.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

29

A levegőztetés technikai megoldásai

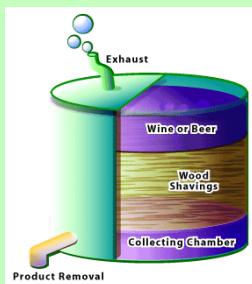
3.) *Felületi tenyészet*

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

Példa: ecetsav gyártás, bükkfa forgáccsal töltött toronyban.

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

A levegő szabadon áramlik felfelé a töltet hézagaiban.



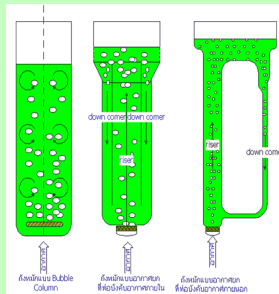
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

30

A levegőztetés technikai megoldásai

4.) Air lift levegőztetés

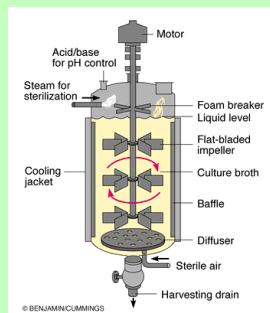
Azonos a már tárgyalt toronyfermentorral, nincs keverője, csak a bevitt levegő keveri, mozgatja a folyadékot. A felszálló buborékok áramlást, cirkulációt hozhatnak létre a készülékben. Az áramlások iránya szerint többféle megoldása lehet:



A levegőztetés keveréssel

A keverés:

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

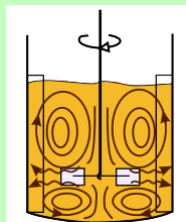


A levegőztetés keveréssel

5.) Flat-blade (síklapátos keverő)

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

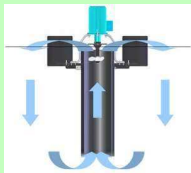
6 db sík lapát, radiálisan:



A levegőztetés keveréssel

6.) Felületi levegőztető

olyan turbínaszivattyú, amely felszívja és kidobja a folyadékot. A víz áramlik és nagy felületen érintkezik a levegővel, sok O₂ tud beoldódni. Nem steril megoldás, szennyvíztisztítóknál használják.





Kiegészítő berendezések

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

A dugattyús nem jó, mert az olajmentes nagyon drága.

A centrifugális nem elég nagy és erős.

Helyettük:

Csavarkompresszor →



Hátránya: visít



Kiegészítő berendezések

Levegőszűrők:

a levegőt sterilre kell szűrni (a baktériumokat nem engedheti át) → szűrőmembrán

Hőálló, víztaszító anyagból készült, nemezelt, itatóspapírszerű szerkezet.

Harmonikaszzerűen összehajtogatják, és ezt is henger alakúra formálják = szűrőgyertya →