

Korzyści wynikające z zastosowania sterylizacji ciągłej podłoża do produkcji gibreskolu

Jan Iciek¹
Urszula Cywińska²
Paweł Stolarek²

1. Wprowadzenie

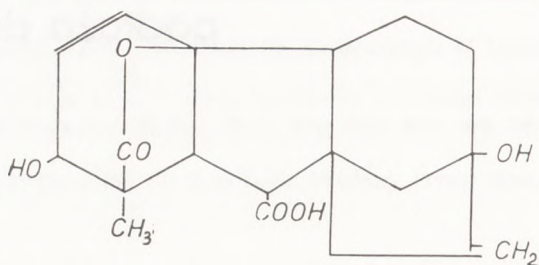
Zwiększenie produkcji żywności na całym świecie jest koniecznością oczywistą. Osiąganie wyższych plonów wyłącznie przez stosowanie coraz większych ilości nawozów ma już właściwie ograniczone możliwości (1). Zarówno naukowcy jak i praktycy duże nadzieje wiążą ze stosowaniem substancji stymulujących wzrost, a także rozwój roślin. Dużą rolę w przemianie materii i ontogenezie roślin wyższych odgrywają gibereliny (2, 3). Największe zainteresowanie budzi obecnie kwas giberelinowy, nazywany również gibereliną A₃ (rys. 1).

Próby stosowania giberelin prowadzone są we wszystkich dziedzinach rolnictwa i sadownictwa, a także w przemyśle spożywczym. Przykładowo, opryskiwanie kwitnących kiści winorośli (głównie bezpestkowych) wodnym 0,002 – 0,003% roztworem kwasu giberelinowego, powoduje zwiększenie plonów o 50 – 150%, przy czym nie zmienia się jakość produktu (1, 2). Moczenie bulw ziemniaka przed wysiewem w czasie około 10 min w roztworze wodnym zawierającym 0,0001 – 0,0005% kwasu giberelinowego, powoduje wcześniejszy wzrost pędów i zwiększenie plonów nawet o 100% w zależności od rejonu uprawy i gatunku ziemniaka. Stosowanie gibreskolu zwiększa plony ziarna pszenicy jarej o 20 – 70%, a kukurydzy o 13 – 18%; zwiększa również wzrost roślin pastewnych (głównie pierwszego i niekiedy drugiego pokosu), oraz roślin drzewiastych. Opryskiwanie kwiatów ozdobnych roztworem o zawartości około 0,001% kwasu giberelinowego w odstępach miesięcznych od pojawienia się pierwszych pędów przyspiesza kwitnienie, zwiększa wielkość i ilość kwiatów oraz wydłuża łodygę.

W browarnictwie, traktowanie ziarn jęczmienia bardzo silnie rozcieńczonymi roztworami powoduje skrócenie czasu słodowania o około 30%. Browar-

¹ Instytut Chemicznej Technologii Żywności PŁ

² Wydział Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska PŁ



Rys. 1. Wzór strukturalny gibreskolu.

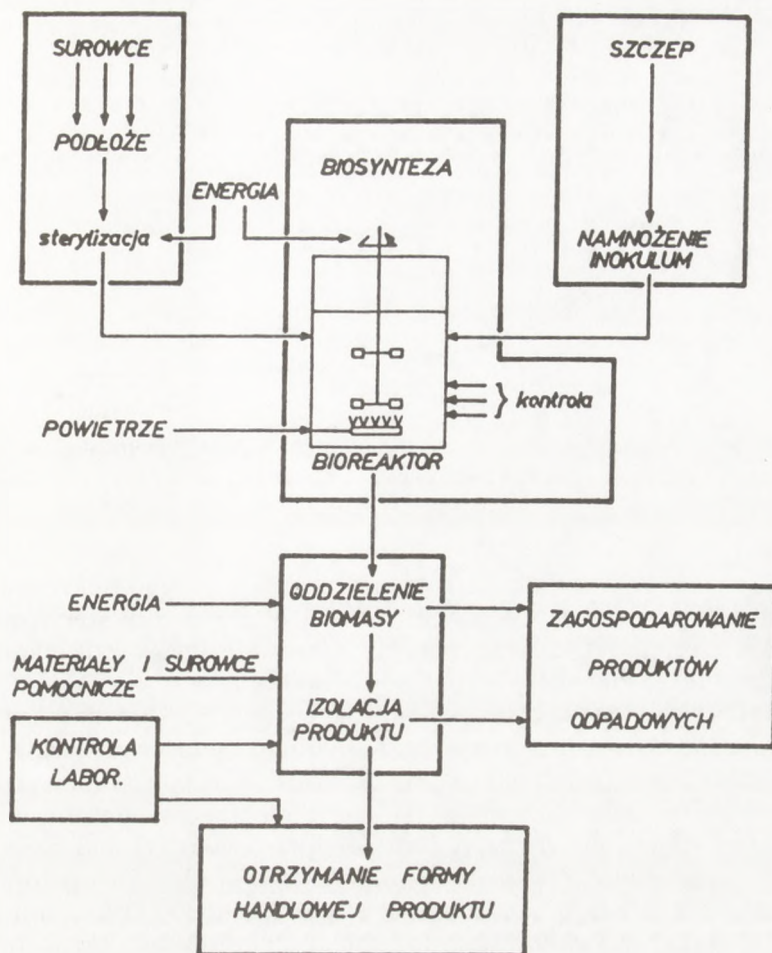
nictwo jest głównym odbiorcą gibreskolu w Polsce, a Zakłady Przemysłu Farmaceutycznego „Polfa” w Kutnie są jedynym jego producentem w kraju.

Gibereliny produkowane są na skalę przemysłową metodą fermentacyjną (rys. 2) jako płynna kultura *Fusarium moniliforme* (*Gibberella fujikuroi* — wyselekcjonowany mutant). Proces fermentacji jest długi, trwa kilkadziesiąt godzin. Wydajność biosyntezy zależna jest od wielu parametrów prowadzenia procesu fermentacji między innymi od aktywności stosowanego szczepu, składu pożywki, temperatury, czasu, pH itp. (4). Zasadniczym warunkiem wydajnego procesu biosyntezy giberelin jest rodzaj i stężenie źródła azotu oraz właściwe proporcje między stężeniem źródła azotu a stężeniem źródła węgla w podłożu produkcyjnym (5). Poza badaniami mikrobiologicznymi, które np. doprowadziłyby do otrzymania bardziej wydajnych szczepów, czy doboru optymalnego składu podłoża, możliwości ulepszenia procesu biotechnologicznego należy szukać w usprawnieniu procesów towarzyszących. Udoskonalenie procesu sterylizacji podłoża dla biotechnologii ma znaczenie podstawowe.

W Polsce, tradycyjną metodą sterylizacji brzeczki fermentacyjnej jest sterylizacja okresowa całej szarży, co właściwie oznacza, że wszystkie składniki pożywki są mieszane i wprowadzane do fermentora, a następnie w nim sterylizowane. Tego typu sterylizacja ma szereg wad takich jak:

- potrzeba dużej ilości pary i wody chłodzącej,
- długi czas przygotowywania do właściwej fermentacji, gdyż fermentor służy jako sterylizator, a zatem nie jest wykorzystywany w tym czasie do produkcji,
- obniżenie jakości podłoża w wyniku długotrwałej obróbki termicznej.

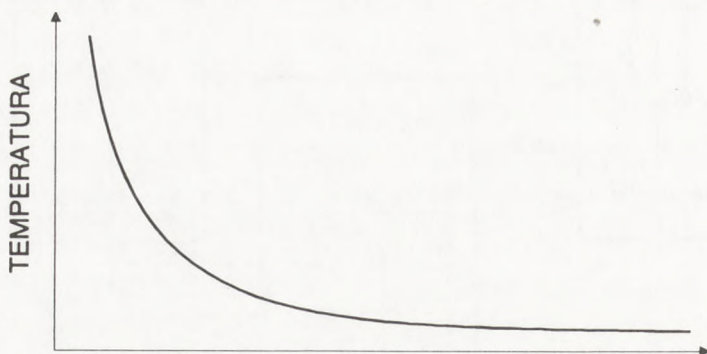
Analizując tendencje światowe (6,7,8) w dziedzinie sterylizacji termicznej należy uznać, że zastosowanie ciągłej sterylizacji pozwala wyeliminować wymienione wady i uzyskać znacznie wyższą ekonomikę procesu. Z krzywej (rys. 3), określającej po jakim okresie następuje zniszczenie przetrwalników wynika, że czas ten maleje znacznie przy wzroście temperatury. Z tego też powodu sterylizację ciągłą prowadzi się przy temperaturze powyżej 135°C (sterylizacja UHT — *Ultra High Temperature*). W porównaniu do sterylizacji wewnątrz fermentora sterylizacja ciągła ma następujące zalety:



Rys. 2. Ogólny schemat technologiczny procesu biosyntezy mikrobiologicznej (5).

- pewna sterylizacja przy łagodnej obróbce pożywki zapewniającej zachowanie jej pierwotnych właściwości,
- oszczędność energii i wody chłodzącej, tańsze i bardziej ujednoczone wymagania urządzeń dostarczających czynniki energetyczne,
- krótszy czas cyklu produkcyjnego,
- mniejsze zużycie elementów fermentora.

Ad a) Ciągły sterylizator zapewnia dokładną kontrolę sterylizacji — eliminuje powstawanie „zimnych” stref, w których występuje niedostateczna obróbka cieplna produktu. Stąd wyższa skuteczność sterylizacji. Dodatkowo znacznie krótszy czas obróbki cieplnej pozwala uzyskać lepszą niż w fermentorze jakość wysterylizowanej pożywki.



Rys. 3. Wpływ warunków obróbki termicznej na przeżywalność przetrwalników.

Ad b) Sterylizacja wewnątrz fermentora wymaga dużego i okresowo zmiennego zapotrzebowania pary i wody chłodzącej. W przypadku sterylizacji ciągłej zużycie tych czynników jest znacznie mniejsze. Możliwość odzyskania ciepła umożliwia redukcję zużycia pary i wody chłodzącej o około 60 – 80% w stosunku do sterylizacji wewnątrz fermentora. Dlatego można zastosować kilkakrotnie mniejsze wytwornice pary dla tej samej objętości pożywki.

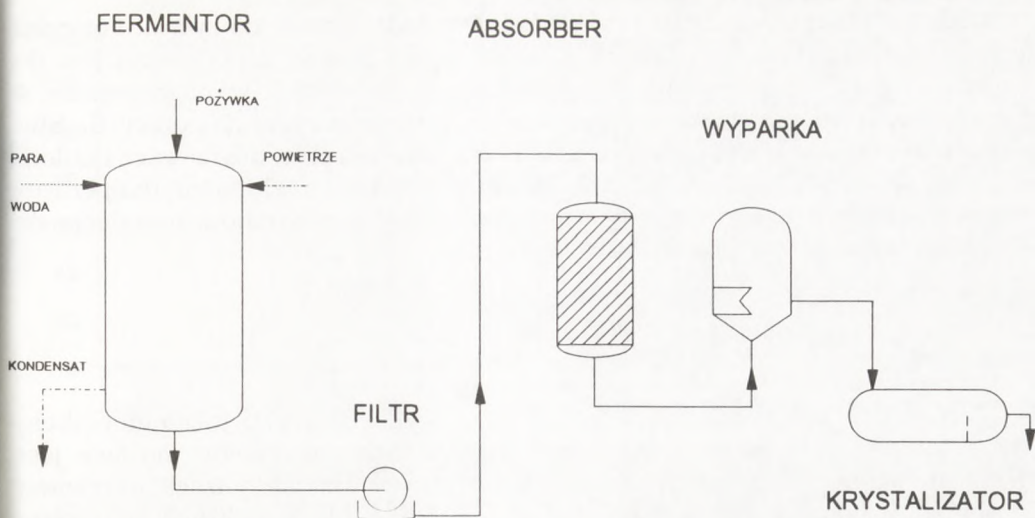
Ad c) Stosowanie sterylizacji wewnątrz fermentora powoduje wyłączenie go z produkcji. Zarówno podgrzewanie jak i schładzanie fermentora, w szczególności o dużej objętości, wymaga bardzo dużo czasu. Dzięki zastosowaniu sterylizacji ciągłej można najpierw wysterylizować pusty fermentor, a następnie wprowadzić do niego uprzednio wysterylizowaną i schłodzoną pożywkę. Oznacza to, że czas przygotowania do fermentacji może być skrócony, a przez to lepiej wykorzystany fermentor i większa wydajność procesu.

Ad d) Istotną zaletą ciągłej sterylizacji jest znacznie mniejsze zużycie elementów fermentora, np. elektrod pH i innych elementów czułych na wysokie temperatury.

Celem pracy jest wykazanie, jakie korzyści przynieść może sterylizacja podłoża do produkcji gibreskolu w sposób ciągły. Okresowy sposób sterylizacji stosowany w ZPF „Polfa” w Kutnie porównano z jednym z rozwiązań sterylizacji ciągłej proponowanych przez firmę α -Laval.

2. Schematy porównywanych instalacji

Proces produkcji gibreskolu w ZPF „Polfa” w Kutnie przedstawiono schematycznie na rys. 4. W pierwszej fazie prowadzenia procesu następuje parowanie (sterylizacja) fermentora (3 h). Następnie, do fermentora wlewana jest



Rys. 4. Instalacja do produkcji gibreskolu.

woda i dodawana pożywka. Czas przygotowania pożywki wynosi 4 godziny. Tak przygotowany roztwór poddany jest sterylizacji okresowej (temperatura 121°C, czas 13 h) w fermentorze. Czas sterylizacji obejmuje podgrzanie cieczy do temperatury sterylizacji, utrzymanie cieczy w tej temperaturze przez 1,5 h i schłodzenie do temperatury 30°C. Po wysterylizowaniu podłoża następuje szczepienie trwające 30 min, a później proces fermentacji trwający 96 godzin. Po zakończeniu procesu fermentacji i odfiltrowaniu brzezki na próżniowym filtrze obrotowym, wyodrębnia się gibereliny z filtratu metodą sorpcji. W dalszej fazie procesu gotowy produkt poddawany jest zateżnieniu, a następnie krystalizacji z octanu etylu. Tak jak widać z opisu, proces technologiczny jest bardzo długi, a to poważnie ogranicza jego wydajność. Zastosowanie ciągłej sterylizacji pożywki do produkcji gibreskolu pozwoli skrócić w sposób wyraźny czas sterylizacji, a przez to zwiększyć wydajność procesu.

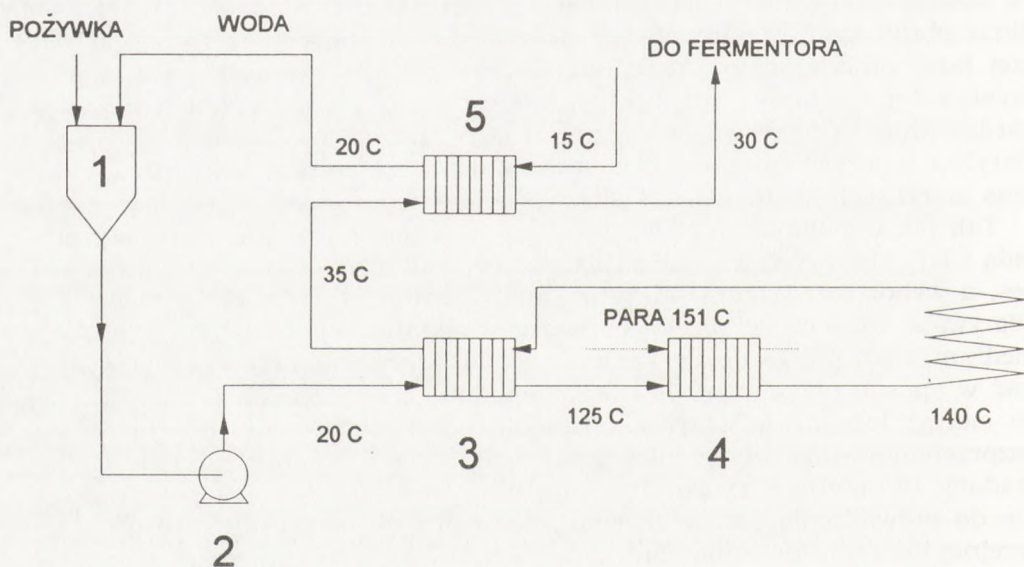
Tak jak wspomniano, ciągłą sterylizację termiczną można realizować metodą UHT. Możliwych jest wiele rozwiązań technicznych realizujących ten proces, a wybór rozwiązania zależy od wielu czynników, z których główną rolę odgrywają właściwości fizykochemiczne i mikrobiologiczne sterylizowanego medium. Sam proces dogrzewania do temperatury sterylizacji można realizować w sposób przeponowy lub bezprzeponowy poprzez iniekcję (wtrysk pary do cieczy) lub infuzję (wtrysk cieczy do pary). Ogrzewanie (i schładzanie) bezprzeponowe ma szereg zalet, szczególnie tę, że powoduje najmniejszą degradację termiczną sterylizowanego medium. Jednakże jest znacznie trudniejsze do prowadzenia pod względem procesowym, wymaga odpowiedniej pary grzejnej i oprzyrządowania kontrolno-pomiarowego. Dlatego często proces ten realizuje się w sposób przeponowy, z wykorzystaniem płytowych (dla cieczy czystych) lub spiralnych (dla zawiesin) wymienników ciepła.

Jedno z takich rozwiązań firmy α -Laval przedstawiono na rys. 5. Pożywka jest przygotowywana w zbiorniku 1, a następnie pompą 2 podawana jest do regeneratora 3, dogrzewana do temperatury sterylizacji w dogrzewaczu 4 i schładzana do przewidzianej technologią temperatury w chłodnicy 5. Sterylna brzeczka kierowana jest do fermentora. Regenerator, dogrzewacz i chłodnica są wymiennikami płytowymi. Rozwiązanie to z rozkładem temperatur przedstawionym na rys. 5, przyjęto do obliczeń i porównano z instalacją do sterylizacji okresowej pracującą w Kutnie.

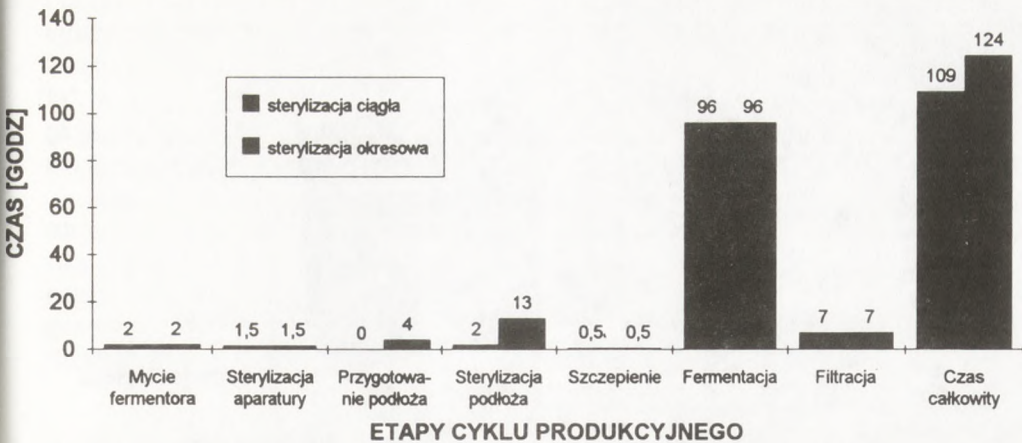
3. Porównanie obu rozwiązań

Porównanie czasu poszczególnych etapów cyklu produkcyjnego gibreskolu do momentu opróżnienia fermentora (tj. do momentu, kiedy możliwe jest ponowne rozpoczęcie cyklu) w przypadku stosowania sterylizacji okresowej i ciągłej podłoża przedstawiono na rys. 6. Dane dla sterylizacji okresowej dotyczą stosowanego w ZPF „Polfa” w Kutnie fermentora okresowego o pojemności 60 m³.

W przypadku zastosowania sterylizacji ciągłej możliwe jest przygotowywanie podłoża na bieżąco podczas procesu sterylizacji w zbiorniku zasilającym 1 (rys. 5). Sterylizacja instalacji ciągłej jest prowadzona równoległe z parowaniem (sterylizacja) fermentora, trwa około 1h i w zasadzie jest limitowana czasem sterylizacji fermentora (około 1,5 h). Z diagramu widać, że czynności wstępne, takie jak mycie fermentora przed rozpoczęciem cyklu produkcyjnego



Rys. 5. Instalacja do ciągłej sterylizacji mediów firmy α -Laval.

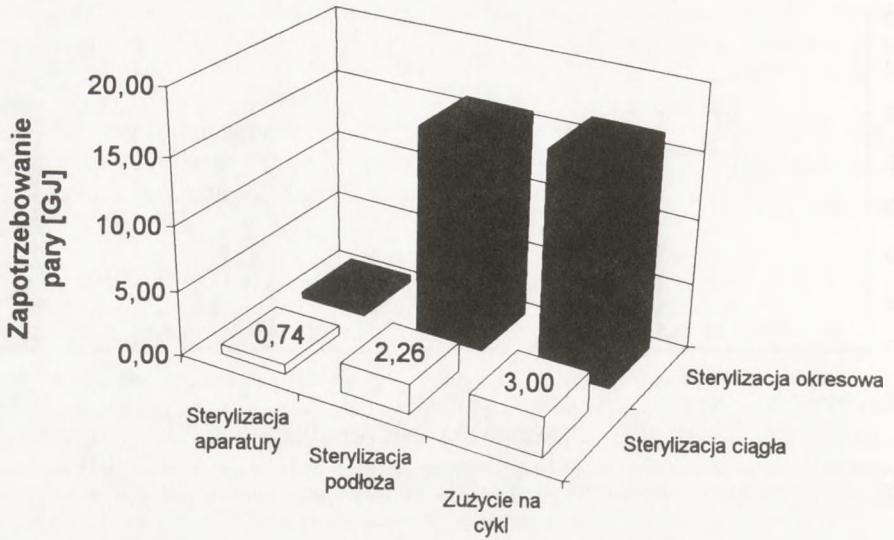


Rys. 6. Porównanie czasów trwania poszczególnych etapów cyklu produkcyjnego gibreskolu.

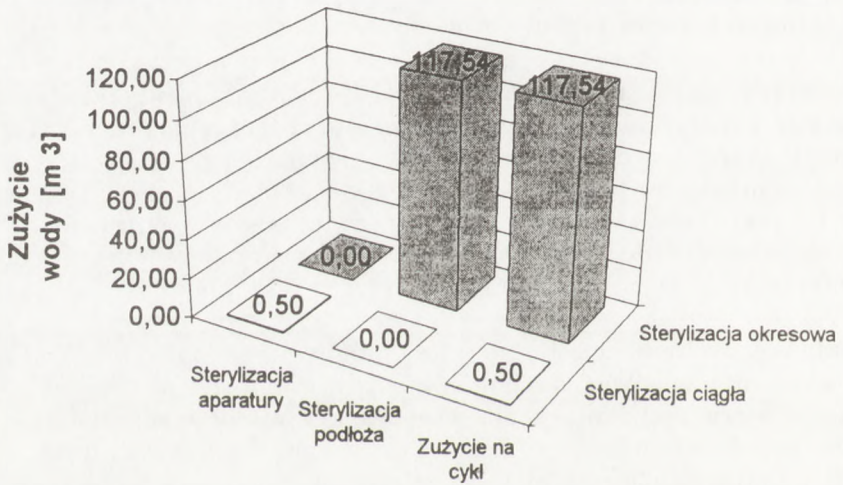
czy sterylizacja aparatury, a następnie fermentacja, opróżnianie fermentora i filtracja są takie same zarówno w przypadku zastosowania aparatury ciągłej jak i okresowej. Z tego też powodu w dalszych rozważaniach wzięto pod uwagę tylko fazy produkcji związane ze sterylizacją aparatury, przygotowaniem i sterylizacją samego podłoża i dla nich przeprowadzono bilans zużycia pary i wody.

Na podstawie znanych w literaturze (9, 10) równań można obliczyć zużycie pary grzejnej i wody chłodzącej w poszczególnych etapach pracy fermentora okresowego. Przydatne do tych obliczeń są pewne dane procesowe z działających już fermentorów (wykorzystano dane pochodzące z ZPF „Polfa” w Kutnie). Na tej podstawie obliczono zużycie pary w poszczególnych fazach procesu, a co za tym idzie energii cieplnej wykorzystanej w jednej szarży. To samo dotyczy zużycia wody chłodzącej. Wyniki tych obliczeń przedstawiono na rys. 7 i 8.

Zakłada się, że instalacja do sterylizacji ciągłej UHT powinna być tak zaprojektowana aby zapewnić napełnienie fermentora w ciągu 2 godzin. Dobór parametrów sterylizacji zależy od właściwości mikrobiologicznych podłoża i powinien być doświadczalnie określony na instalacji pilotowej. Jeżeli z uwagi na skład i konsystencję podłoża do produkcji gibreskolu przyjąć warunki sterylizacji takie jak dla podłoża do produkcji bacytracyny (temperatura 140°C, czas 6 s (11)), to można dokonać obliczeń bilansowych pozwalających określić zużycie pary i wody chłodzącej dla zadanego rozkładu temperatury. Można też dokonać obliczeń zużycia pary do sterylizacji samej instalacji UHT, która jest sterylizowana wodą w obiegu zamkniętym (temp. 130°C i czas 2 min). Zużywa się tutaj parę jedynie do podgrzania objętości wody wypełniającej instalację i pokrycie strat ciepła do otoczenia. Sam proces obróbki termicznej podłoża w instalacji UHT trwa kilka minut.



Rys. 7. Porównanie zapotrzebowania pary przy produkcji gibreskolu w instalacjach z ciągłą i okresową sterylizacją podłoża.



Rys. 8. Porównanie zapotrzebowania wody chłodzącej przy produkcji gibreskolu w instalacjach z ciągłą i okresową sterylizacją podłoża.

Wyniki obliczeń zużycia pary grzejnej i wody chłodzącej dla instalacji ze sterylizacją ciągłą podłoża przedstawiono na rys. 7 i 8. Przeprowadzono obliczenia pozwalające oszacować zyski wynikające z zastosowania sterylizacji

ciągłej, a związane z mniejszym zużyciem wody i pary oraz skróceniem czasu cyklu produkcyjnego, a tym samym zwiększeniem produkcji w skali roku. Zastosowanie sterylizacji ciągłej podłoża do biosyntezy gibreskolu w ZPF „Polfa” w Kutnie dałoby dodatkowo 9 cykli produkcyjnych w ciągu roku. Można przewidywać, że całkowity zysk wyniósłby zdecydowanie powyżej 1 mld zł rocznie (wg obecnych cen).

Wyniki te nie uwzględniają wzrostu wydajności procesu spowodowanego mniejszą degradacją wartościowych składników podłoża w efekcie zastosowania sterylizacji ciągłej. Przeprowadzone przez autorów wstępne badania dotyczące sterylizacji ciągłej podłoża do produkcji bacytracyny (11) pozwalają sugerować, że byłby to wzrost nawet do 80%. Oszacowanie tego wzrostu w produkcji gibreskolu wymaga dodatkowych badań.

4. Podsumowanie

Proponowana sterylizacja ciągła podłoża do produkcji gibreskolu w porównaniu do stosowanej w ZPF „Polfa” w Kutnie metody okresowej pozwoli uzyskać:

1. Skrócenie czasu cyklu produkcyjnego o 15 godzin (co daje dodatkowo 9 cykli produkcyjnych rocznie).
2. Oszczędność w zużyciu energii cieplnej (5-krotna).
3. Zmniejszenie zużycia wody chłodzącej (zużycie wody w sterylizacji ciągłej jest minimalne; w okresowej — znaczne, związane z chłodzeniem fermentora).
4. Wzrost wydajności procesu spowodowany mniejszą degradacją podłoża (szacunkowo do 80%).

Literatura

1. Heropolitański R., (1978), *Przem. Ferment. i Owocowo-Warzywny*, 7, 7 – 11.
2. Muromcev G. S., Pieńkow L. A., (1964), *Gibereliny*, PWRiL, Warszawa.
3. Muromcev G. S., Agnistikova V. N., (1973), *Gormony rastenii gibbereliny*, Nauka, Moskwa.
4. Fusca J., Kuhr R. i in., (1961), *Folia Microbiol.*, 6, 51.
5. Chmiel A., (1985), *Biotechnologia środków leczniczych*, cz. II, skrypt AM, Łódź.
6. Ciągła sterylizacja, (1989), *Materiały seminarium firmy α -Laval*.
7. Deindoerfer F. H., (1957), *Appl. Microbiol.*, 5, 221 – 228.
8. Deindoerfer F. H., Humphrey A. E., (1959), *Appl. Microbiol.*, 7, 264 – 270.
9. Hobler T., *Ruch ciepła i wymienniki*, (1986), WNT, Warszawa.
10. Aiba S., Humphrey A. E., Millis N. F., (1977), *Inżynieria biochemiczna*, WNT, Warszawa.
11. Iciek J., Cywińska U., Chmiel A., Stolarek P., (1993), *Biotechnologia*, 2(21), 76 – 83.

Advantages of the application of continuous media sterilization in gibberelic acid production

Summary

The paper presents advantages of the application of continuous thermal sterilization of media for gibberelic acid production. It is estimated that the profit resulting from the application of continuous thermal sterilization of this medium in the Pharmaceutical Plant „Polfa” at Kutno will exceed 1 billion zlotys a year.

key words:

continous sterilization, gibberelic acid.

Praca została wykonana w ramach projektu badawczego KBN Nr 30 097 9101 pt. „Warunki i kinetyka ciągłej sterylizacji termicznej cieczy oraz zawiesin”.

Adres dla korespondencji:

Jan Iciek, Instytut Chemicznej Technologii Żywności, Politechnika Łódzka, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź.