

Příklad modernizace fermentačního zařízení

579.661 663.4

Ing. LADISLAV CHLÁDEK, CSc., Pivovary a sladovny, koncern Praha

Klíčová slova: fermentor, kultivace, rekonstrukce, filtrace, vzduch, sterilita, temperace, dispergace, kyslík, odpěňovač, filtr, měření, parametr.

Vývoj fermentačních zařízení spolu s nezbytným souborem měřicích a regulačních technik nedílně souvisí s bouřlivým vývojem biotechnologií. Některá fermentační zařízení, instalovaná v našich závodech, nevyhovují již svou konstrukcí z hlediska aseptičnosti, intenzivního míchání, temperace a odběru vzorků současným požadavkům. Výroba v těchto zařízeních bývá někdy velmi komplikovaná a náročná z hlediska obsluhy a často přes veškeré úsilí získaný produkt má nízkou výtěžnost, nebo je částečně, popř. zcela kontaminován. Možným způsobem řešení tohoto problému je částečná nebo celková rekonstrukce takového zařízení. V článku je popsán způsob rekonstrukce fermentačního zařízení, které již nevyhovovalo uvedeným požadavkům.

Původní fermentační zařízení

Fermentační zařízení se skládalo z nádoby s klenutým víkem, vyrobené z nerezavějící oceli. Na víku byla excen-

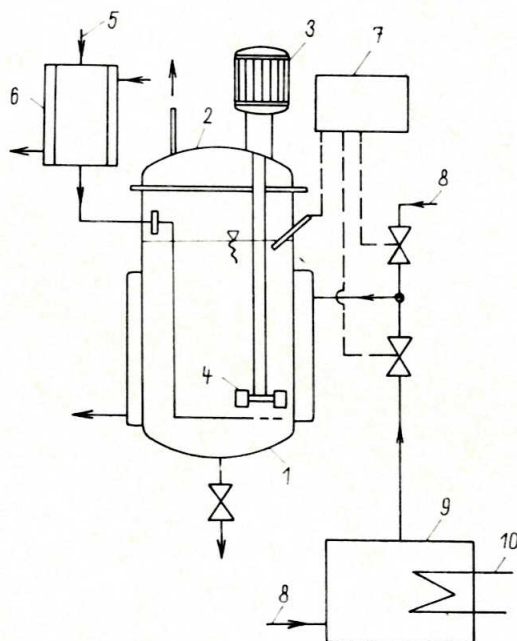
tricky umístěna náhonová jednotka, tvořená přírubovým převodovým elektromotorem, který je pevnou spojkou spojen s hřídelem míchadla. Tento hřídel byl proti víku těsněn měkkou ucpávkou, tvořenou grafitovou šňůrou. Během dalšího provozu se ucpávka podstatně zahřívala a úkapem se vsádka často kontaminovala. Míchadlo bylo šestilopátkové, turbínového typu a systém pohonu neumožňoval eventuální změnu frekvence otáčení.

Usazení náhonové jednotky přímo na víku značně zvyšovalo jeho hmotnost a podstatně ztěžovalo manipulaci při zvedání.

Klenuté víko bylo dále opatřeno průzorem, který však byl zaslepen a adaptován jako vzorkovač. Jednalo se o průchozí trubku s kohoutem. Při vzorkování se kohout otevřel a vnitřním přetlakem se vytlačilo potřebné množství vzorku. Tento způsob však nevyklučoval možnost zpětné kontaminace během odběru vzorků.

Filtrace vzduchu pro aeraci vsádky probíhala na prů-

chozím filtru s náplní skelné vaty. Pro sterilaci tohoto filtru a aeračního potrubí se používal profuk ostrou párou. Mokrý náplň filtru se pak sušila nepřímým ohřevem. Nevýhodou tohoto uspořádání však bylo nebezpečí kontaminace vsádky během provzdušňování, neboť profukem párou se snižuje filtrační schopnost skelné vaty, takže může procházet filtrem nesterilní vzduch. Tím se rekontaminuje sterilní úsek aeračního potrubí mezi vzduchovým filtrem a fermentorem. Při kultivačním procesu se pak vsádka kontaminací částečně nebo úplně znehodnocuje.



Obr. 1. Schéma původního fermentačního zařízení
1 — nádoba fermentoru, 2 — víko, 3 — elektromotor míchadla, 4 — míchadlo, 5 — přívod tlakového nefiltrovaného vzduchu, 6 — regulátor teploty, 8 — přívod studené vody, 9 — zásobník horké vody, 10 — parní smyčka

Aerační potrubí vstupovalo do nádoby fermentoru v horní části válcové nádoby, uvnitř nádoby bylo dělené, pro spoj byla použita příruba. Při plnění fermentační nádoby, zejména vláknitou vsádkou, se někdy zadržovaly částice vsádky v prostoru mezi touto přírubou a stěnou fermentoru. Při ohřevu vsádky na potřebnou teplotu nebyl tento podíl sterilován a mohl proto v průběhu další kultivace negativně ovlivnit sterilitu vsádky.

Ve válcové části fermentační nádoby byla též umístěna jímka teploměru. Ta však byla konstruována tak, že obsahovala mrtvé kouty, které nejsou pro zajištění sterility funkce přijatelné.

Pro dispergaci vzduchu do vsádky byla použita děrovaná trubka, která byla svinuta a umístěna pod míchadlem. Při přerušení dodávky sterilního vzduchu do vsádky, např. při výpadku elektrické energie, mohla vniknout vsádka do aeračního potrubí, které se pak jen velmi obtížně čistilo. Další nevýhodou tohoto uspořádání byla v důsledku různého stupně zanesení otvorů aeračního potrubí nejednotná velikost bublin vzduchu, vstupujícího do vsádky. Tím byl negativně ovlivněn i přenos kyslíku do vsádky, neboť tento proces závisí na velikosti bubliny.

Pro sterilaci vsádky se používal nepřímý ohřev topnou párou, vedenou do duplikátorového pláště nádoby. Nevhodný byl systém temperace vsádky po ukončení sterilizačního procesu. Ve zvláštní nádrži se parní smyčkou připravovala horká voda. Tepelný regulátor během temperačního procesu do duplikátorového pláště připouštěl podle okamžité teploty vsádky horkou vodu z této nádrže nebo studenou vodu z vodovodního řadu. Při tomto způ-

sobu regulace teplota vsádky kolísala kolem nastavené hodnoty a navíc vznikaly značné ztráty tepelné energie i vody, neboť použitá studená i horká voda necirkulovala, ale byla odváděna do kanalizace.

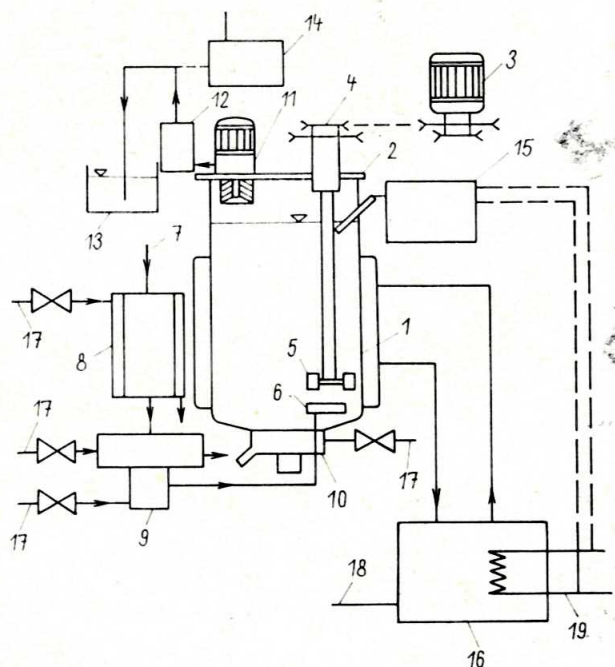
REKONSTRUOVANÉ FERMENTAČNÍ ZAŘÍZENÍ

Fermentační nádoba

Vlastní nádoba byla v horní části válcovitého pláště opatřena otvory pro uchycení nově konstruovaných držáků sond pH, kyslíku a teploty a dalších přídavných sond. Dosavadní aerační potrubí bylo z válcové části nádoby odstraněno a průchozí otvor zaslepen. Dno nádoby bylo opatřeno soustředným kruhovým otvorem pro umístění tělesa vypusti.

Ucpávka hřídele míchadla

Pro těsnění hřídele míchadla se použila dvoustranná mechanická ucpávka. Lze použít standardní typ, např. originální výrobek anglické firmy Crane nebo jejího licenčního výrobku, vyráběného v n. p. Sigma. Z ekonomických důvodů byla však použita dvoustranná mechanická ucpávka vlastní konstrukce, která se u obdobných typů plně osvědčila. Podstatu ucpávky tvoří těleso, do jehož horní válcové části je našroubována horní vložka



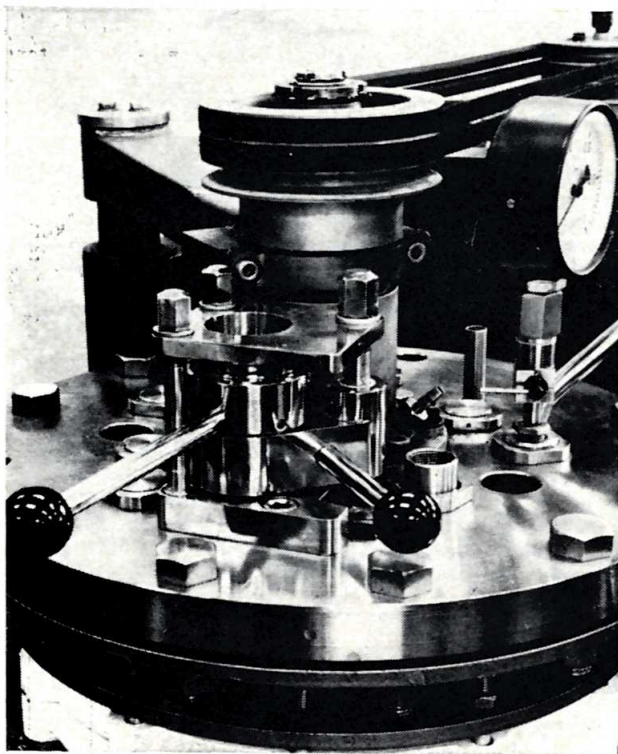
Obr. 2. Schéma rekonstruovaného fermentačního zařízení
1 — nádoba fermentoru, 2 — víko, 3 — elektromotor míchadla, 4 — stupňové řemenice, 5 — míchadlo, 6 — dispergátor, 7 — přívod nefiltrovaného vzduchu, 8 — vatový filtr, 9 — vzduchový filtr, 10 — výpust a odběr vzorků, 11 — mechanický separátor pěny, 12 — kondenzátor, 13 — jímka s dezinfekčním roztokem, 14 — analyzátor kyslíku, 15 — regulátor teploty, 16 — temperační nádrž, 17 — přívod páry, 18 — přívod studené vody, 19 — elektrické topení

a do jeho spodní válcové části pouzdro, v jehož vnitřním závitu je uložena spodní vložka, přičemž mezi horní a spodní vložkou jsou umístěny dva rotující kroužky, jejichž vzájemný přítlak na těsnící manžety je vyvozován spirálovými pružinami, vyrobenými z nerezavějícího drátu. Tyto pružiny jsou střídavě umístěny s unášecími koly v otvorech unášecích kroužků. Výhoda této ucpávky spočívá ve snadném nastavení vhodného přítlaku ro-

tujících kroužků a při volbě kvalitních materiálů pro pevný a pohyblivý kroužek lze vypustit mazací a chladič okruh ucpávky.

Rychloulzávěř

Rychloulzávěř víka usnadňuje plnění vsádky bez nutnosti snímat víko. Toto zařízení tvoří podložná deska s dostatečně dimenzovaným otvorem pro průchod vsádky, která je přes těsnicí element připevněna k víku fermentoru závrtnými šrouby. Na jednom z nich je posuvný



Obr. 3. Rychloulzávěř

a otočně uložena uzavírací deska, v jejímž vybrání je uložena šroubová pružina, která nadzvedává uzavírací desku a tím usnadňuje její otáčení. Na horní části závrtných šroubů je maticí upevněna horní deska s průchozím otvorem téhož průměru jako v podložné desce, která má na válcové části závit. Na něm je našroubována matice s pákou a třemi kladičkami. Ty při pohybu matice směrem dolů přitlačí uzavírací desku přes těsnicí element na podložnou desku. Toto je uzavírací fáze rychloulzávěře. Při jeho otevírání se matice pohybem páky asi o 90° vyšroubuje nahoru natolik, že kladičky uvolní uzavírací desku, kterou díky pružině lze snadno otočit kolem osy, tvořené jedním závrtným šroubem. Tím se uvolní průchozí otvory v horní i podložné desce, fermentor se naplní, poté se otočí uzavírací deska zpět a zajistí opačným postupem. Výhodou tohoto způsobu je vedle odstranění namáhavé manipulace s víkem i možnost pozdější instalace automatizace.

Mechanický separátor pěny

Mechanický separátor pěny pracuje na odstředivém principu. Je tvořen náhonovou jednotkou, která přes klínový řemen pohání dutý hřídel vlastního odpěňovače. Na jeho spodním konci je pevně uložena sada vyvážejících kuželových talířů. Hřídel odpěňovače je oproti tělesu těsněn dvoustrannou mechanickou ucpávkou obdobného typu jako u hřídele míchadla. Výstupní proud vzduchu, obsahující značnou část stržené kapalně fáze, prochází úzkým prostorem, tvořeným dvojicí rotujících talířů a roztáčí se. Odstředivá síla vynáší těžší kapalino-

vu fázi zpět do fermentačního prostoru. O kapalinu částečně ochuzený vzduch postupuje ke středu talířů, prochází dutým hřídelem a zvláštní armaturou opouští mechanický separátor pěny. K dalšímu dočištění tohoto vzduchu lze výhodně využít kondenzátor brýdových par.

Inokulační armatura

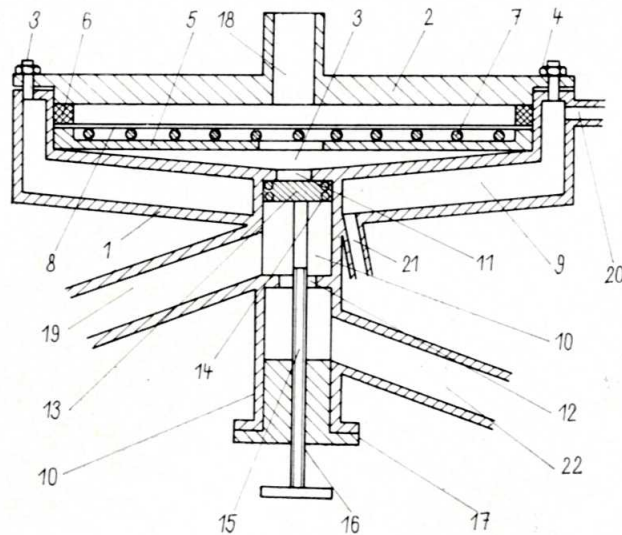
Inokulační armatura je určena pro aseptický transport inokulátu. Tuto armaturu tvoří dutá trubka se speciálním uzavíracím elementem, umožňující za aseptických podmínek přetlačení inokulátu z přípravného tanku nebo pod otevřeným propan-butanovým plamenem vlití z kultivačních baněk. Inokulační armaturu lze též použít pro aplikaci metody přikrmovací kultivace, tzv. „fed batch“.

Vzduchové hospodářství

Velká pozornost byla věnována systému přípravy sterilního vzduchu a jeho dispergaci do vsádky. Doposud používaný vzduchový filtr s náplní ze skelné vaty byl ponechán jako předřazený stupeň, pro finální filtraci byl vyvinut filtr nové koncepce.

Vzduchový filtr

Vzduchový filtr je tvořen tělesem s kuželovým dnem a víkem, spojeným s tělesem šrouby. V horní duté části tělesa je uložena nosná deska s centrálním otvorem a těsněním. Na nosné desce je uložen rošt a speciální filtrační papír FV, výrobce Irapa Štětí. Horní část tělesa je opatřena duplikátorem. Spodní část tělesa je tvořena výstupní částí duplikátorové nádoby, na kterou navazuje horní sedlo a válec. Válec svou horní částí zasahuje do duplikátoru. Dále je válec opatřen pístem s těsnicími elementy na horní a dolní části. Píst je ovládán pístnicí, jejíž dolní závitová část prochází maticí, upevněnou ke spodní části válce. Ve víku je umístěna trubka pro přívod nefiltrovaného vzduchu, ve střední části válce je situován odvod filtrovaného vzduchu a spodní sedlo. Spodní část válce je opatřena přívodem sterilizační páry. Duplikátor má dva otvory, horním se přivádí topná pára, spodní je určen pro odvod kondenzátu.



Obr. 4. Vzduchový filtr

1 — těleso filtru, 2 — víko filtru, 3 — kuželová část filtru, 4 — šrouby víka, 5 — podložka, 6 — těsnění, 7 — rošt, 8 — filtrační papír, 9 — duplikátor, 10 — střední část válce, 11 — horní sedlo, 12 — dolní sedlo, 13 — píst, 14 — těsnicí element, 15 — pístnice, 16 — závitová část, 17 — spodní matice, 18 — přívod nefiltrovaného vzduchu, 19 — odvod sterilního vzduchu, 20 — přívod topné páry, 21 — odvod kondenzátu, 22 — přívod sterilizační páry

Před sterilací vzduchového filtru se pístnicí přesune píst do horní polohy, při které uzavírá přes těsnicí element horní sedlo a otevírá spodní sedlo. Tepelná sterilace probíhá současně dvěma způsoby, tj. přímým a nepřímým ohřevem. Přímý ohřev probíhá sterilací párou, která steriluje spodní sedlo, střední část válce, odvod filtrovaného vzduchu a navazující úsek aeračního potrubí včetně dispergátoru. Nepřímým ohřevem, tj. topnou párou přes duplikátor, se steriluje výstupní část duplikátorové nádoby, nosná deska, rošt s filtračním papírem, horní sedlo a horní část válce. Při nepřímém ohřevu slouží nosná deska a rošt jako rozváděč tepla do filtračního papíru.

Po uplynutí požadované doby tepelné sterilace se uzavře přívod topné a sterilizační páry, pístnicí se přestaví píst tak, že přes druhý těsnicí element uzavře spodní sedlo a otevře horní sedlo. Poté se otevře přívod tlakového vzduchu, částečně profiltrovaného průchodem předřazeným filtrem. Vzduch se průchodem filtračním papírem dočišťuje na požadovanou hodnotu, prochází roštem, centrálním otvorem nosné desky, výstupní částí duplikátorové nádoby, horním sedlem, střední částí válce, odvodem filtrovaného vzduchu, aeračním potrubím do dispergátoru, kterým je rozptylován do vsádky. Během kultivačního procesu lze duplikátorem dosoušet navlhly filtrační papír. Tímto uspořádáním lze dosáhnout vysoké čistoty aeračního potrubí i vzduchu.

Dispergátor vzduchu

Dispergátor vzduchu je opět nové koncepce. Je umístěn obdobně jako u předcházejícího zařízení pod míchadlem, avšak přívodní potrubí sterilního vzduchu prochází tělesem výpusti, takže délka aeračního potrubí se ve srovnání s původním uspořádáním podstatně zkrátí. Dispergátor se skládá z dutého přívodního potrubí, které je na dolním konci opatřeno rozváděcí deskou s výstupními otvory. Na rozváděcí desku jsou z obou stran nasazeny membrány kruhového tvaru, vyrobené ze silikonové pryže. Mezi membrány je na obvodu vložen mezikruhový kotouč, jehož obvod je opatřen radiálními zářezy. Ty jsou střídavě ohnuty o 180° nahoru a dolů tak, že vytvoří příchytky, které navzájem přitlačují membrány na me-

zikruhový kotouč. Ve střední části jsou obě membrány fixovány na rozváděcí desku dvojicí matic, které jsou přišroubovány na závitovou část přívodního potrubí. Sterilní vzduch se přivádí dutým přívodním potrubím, otvory v rozváděcí desce vstupuje do prostoru mezi oběma membránami. V úseku mezi dvěma příchýtkami se vnitřním přetlakem vytvořeným přiváděným sterilním vzduchem membrána deformuje a vzniklou štěrbinou mezi membránou a mezikruhovým kotoučem proudí vzduch do vsádky. Vzhledem k tomu, že příchýtky jsou střídavě rozděleny v horní i dolní části mezikruhového kotouče, může vzduch do vsádky proudit po celém obvodu membrán. Obvodová velikost zářezu (jejich počet) se řídí požadavkem na velikost bubliny, neboť při větší mezeře se průměr bubliny zvětšuje a naopak. Podle empirických zkušeností se za optimální velikost považuje $\varnothing 3$ mm a ze zkoušek byla určena rozteč zářezů. Při přerušení dodávky vzduchu poklesne tlak v prostoru mezi membránami, které vialsní pružností uzavřou štěrbinu a zamezí vniknutí vsádky do aeračního potrubí.

Odběr vzorků

Vzorkovač pro aseptický odběr vzorků je kombinován s výpustí. V tělese výpusti je umístěn přívod páry, kterou se steriluje výpustní potrubí. Odběr vzorku probíhá pod clonou páry, která vylučuje zpěnou kontaminaci. Po provedení odběru se opět profukem ostré páry celý vzorkovač sanituje.

MĚŘENÍ A REGULACE PARAMETRŮ KULTIVACE

Teplota vsádky

Pro měření vsádky se používá odporový teploměr, zasunutý v jímce válcové části nádoby. Regulátor spíná topení temperační lázně. Ta je umístěna v izolované nerezavějící nádobě, vybavené elektrickým odporovým topením, odstředivým čerpadlem pro cirkulaci temperační vody, plovákovým ventilem pro přívod studené vody, přepadem a výpustí. Temperační voda se vede do duplikátoru fermentační nádoby, přihřívá vsádku a vrací se zpět. Vzhledem k tomu, že vstup a výstup do duplikátoru je shodný s přívodem topné páry, je účelné pro blokování jednoho média použít třicestné pneumatické ventily.

Měření kyslíku

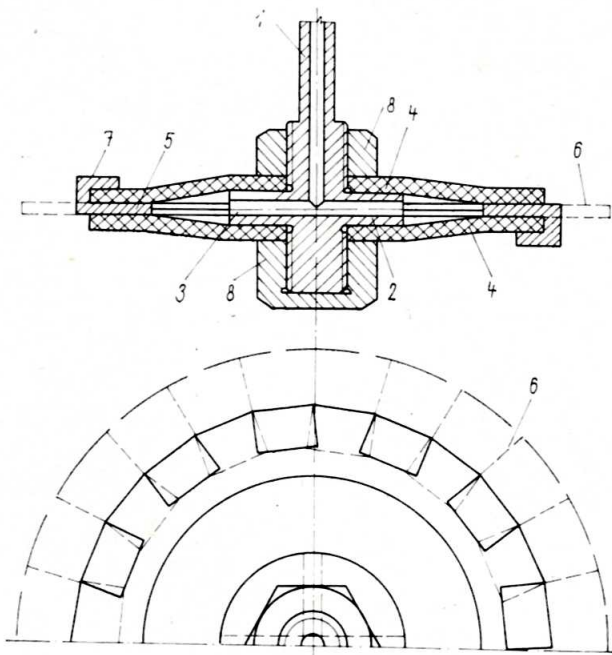
Pro měření obsahu kyslíku se předpokládá bilanční metoda měření množství O_2 ve vstupní a výstupní větvi aeračního potrubí, tedy stanovení úbytku kyslíku, způsobeného metabolismem kultivovaného mikroorganismu. Pro toto měření se vybrala metoda, založená na využití vlastností oxidu zirkoničitého. Trubice, vyrobená z tohoto pórovitého materiálu, vytváří elektromotorické napětí, úměrné množství difundujícího kyslíku. Přesnost této metody vzrůstá s teplotou a jako optimální se udává hodnota 700 °C.

Měřicí aparatura se skládá z elektricky vytápěné pícky, v níž je umístěna sonda ve formě trubky, kterou proudí vzduch z výstupního nebo vstupního proudu. Teplotu pícky ovládá zvláštní tepelný regulátor, který snímá hodnotu termočládku, umístěného v pícce. Proud vzduchu před vstupem do sondy se suší průchodem silikonovým vlnem. Jeho množství se ovládá škrticím ventilem podle údaje rotometru. Elektrické napětí, získané z dvou trubic, umístěných na vstupním a výstupním proudu, se vyhodnocuje zvláštní aparaturou.

Měření pH

Uvažuje se sterilovatelná sonda pH, umístěná v obdobném držáku jako teploměr. Údaj sondy vyhodnocuje regulační pH-metr.

V další fázi se připravuje automatické dávkování alkalie nebo kyseliny, ovládané tímto přístrojem. Pro umístění dávkovače je určen jeden z prozatímne zaslepených otvorů víka. Další zaslepené otvory jsou určeny pro eventuální instalaci vhodných sond pro měření rozpuštěného kyslíku, enzymové sondy apod.



Obr. 5. Dispergátor vzduchu

1 — přívod sterilního vzduchu, 2 — rozváděcí deska, 3 — otvory rozváděcí desky, 4 — membrána, 5 — mezikruhový kotouč, 6 — příchýtky v rozvinutém stavu, 7 — zahnuté příchýtky, 8 — matice

Výdech fermentoru

Výstupní proud z fermentoru prochází mechanickým odpěňovačem, kondenzátorem do jímky, naplněné dezinfekčním prostředkem, který probublává do ovzduší. Tímto způsobem je omezena možnost zpětné kontaminace.

Chládek L.: Příklad modernizace fermentačního zařízení. Kvas. prům., 32, 1986, č. 4, s. 80—84.

Článek popisuje způsob rekonstrukce hlavních funkčních uzlů nevyhovujícího fermentačního zařízení. Nově byl řešen způsob přípravy sterilního vzduchu, jeho dispergace do vsádky, temperace vsádky, měření obsahu O_2 bilanční metodou využitím vlastností oxidu zirkoničitého, mechanický separátor pěny.

Хладек, Л.: Пример модернизации ферментационной установки. Квас. прум. 32, 1986, № 4, стр. 80—84.

Приводится описание способа восстановления главных функционирующих узлов отстающей ферментационной установки. Новым способом было решено получение стерильного воздуха, его диспергирование в загрузку, темперирование загрузки, измерение O_2 при помощи

метода баланса с использованием свойств двуокиси циркония, далее механический сепаратор пены.

Chládek, L.: Example of Innovation of Fermentation Equipment. Kvas. prům. 32, 1986, No. 4, pp. 80—84.

The reconstruction of the main function parts of the nonapplicable fermenter is described in the article. The new construction of air sterilization, its dispergation into the medium, the heating and cooling of the medium, the oxygen measurement using the balance method and the probe with zirconium oxide, the mechanical foam separator.

Chládek, L.: Ein Beispiel der Modernisierung von Fermentations-Anlagen. Kvas. prům. 32, 1986, Nr. 4, S. 80—84.

Der Artikel beschreibt die Methode der Rekonstruktion der Hauptfunktionselemente einer nicht entsprechenden Fermentations-Anlage. Neu werden die folgenden Elemente gelöst: Verfahren der Aufbereitung steriler Luft, die Dispergierung der sterilen Luft in das Anstellgut, Temperierung des Anstellguts, Messung von O_2 mittels der Bilanzmethode und bei Ausnützung der Eigenschaften des Zirkoniumdioxids, mechanischer Schaumseparator.