

# A TUDOMÁNY ÉS A TERMÉSZET EGYESÍTÉSE A BAKTÉRIUMGYÁRTÁSBAN

## BEVEZETÉS

Míg egyes baktériumok patogének, addig az emberiség több ezer éve használja a hasznos baktériumokat az élelmiszerek előállításánál (sajt, joghurt, ecet, kenyér, savanyú káposzta, stb.). Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723), Holland kereskedő, 1674-ben fedezte fel a baktériumokat és más mikroorganizmusokat, amikor egy csepp tóvizet vizsgált üveglencsén keresztül. A modern tudomány lehetővé tette az emberek számára a mikroorganizmusok szelekcióját, azonosítását, élő baktériumok előállítását, melyek számos területen hasznosak, a humán gyógyásztól a takarmány oltóanyagokig. A takarmány oltóanyagok használata biztosítja a gyors erjedést, vagy csökkenti az aerob romlást. A szilázs- és szenázsoルトóanyagok baktériumai élő sejtek, így tehát különböznek a legtöbb takarmány-kiegészítőtől, és ez jelenti az előállításuk nehézségét is. A holt baktériumoknak nincs előnyös hatása az állati takarmányozásban. A szilázs oltóanyagok minősége, hatékonysága ebből következően a baktériumok életképességén és vitalitásán múlik (ez a baktérium biológiai aktivitása, mely a termékek előnyös hatásaiért felelős). Az életképesség függ a baktériumtörzstől (a belső tulajdonságoktól) csakúgy, mint a gyártási folyamatok minőségétől, a technológiai lépésektől, a specifikációktól, a starter tárolhatóságától és a tárolási körülményektől. Az élő baktérium-előállítás szakértelmet és szigorú minőségellenőrzést igényel a teljes gyártási folyamat során. A világon csak néhány cég birtokolja az élő baktériumok üzemi szintű előállításának, technológiájának know-how-ját, ami garantálja, hogy ami a címkén szerepel, valójában a csomagoláson belül is az van: tiszta, élő, stabil, speciális és meghatározott baktériumtörzs (törzsek) egyenletes keveréke, garantált sejtszámmal.

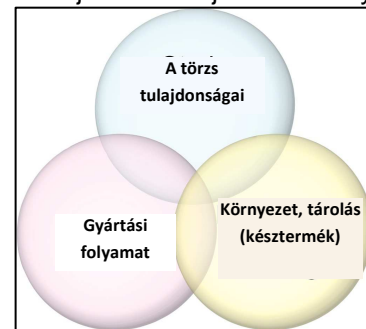
## 1. A KULCS AZ ELLENŐRZÉS

Évente több száz tonna tejsavbaktérium terméket állítanak elő a Lallemand üzeimben, mely grammonként 100 milliárd élő baktériumot tartalmaz! A gyártás mindig az egyes törzsek sejtbanki fiolájának néhány száz mikroliteréből indul, amely körülbelül egy teli szemcseppentőnek felel meg. Ez a kis mennyiségű élő baktérium nagyon szigorúan ellenőrzött, steril körülmények között sorozatos sokszorozódáson megy keresztül, először laboratóriumi lombikban, majd ipari fermentorokban – ahol a végső mennyiség megközelítően 8 tonna!

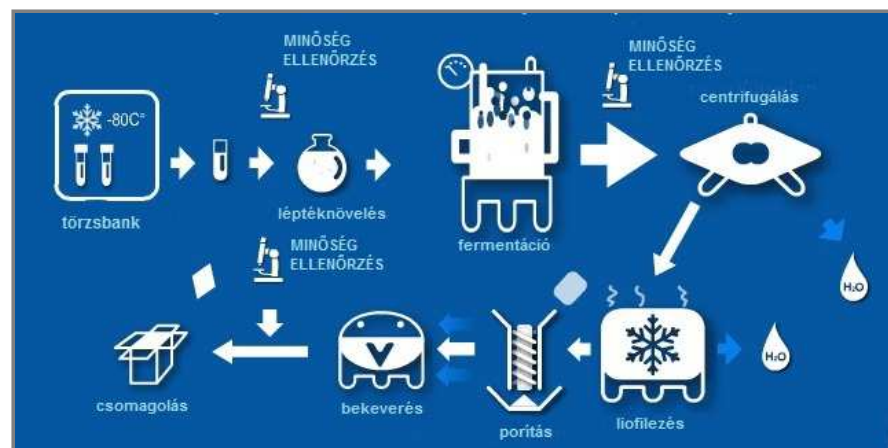
Ennek tudatában könnyű megérteni a szigorú minőség-ellenőrzés fontosságát, ami a folyamat egészét végigkíséri, hiszen bármilyen szennyezés vagy változás a szaporodás körülményeiben, hatással van a baktériumok viselkedésére vagy fiziológiájára. Az előzőek nemkívánatos mikroorganizmusok starterkultúrában való megjelenéséhez vezethetnek, és hatással lehetnek a végtermék tisztaságára, aktivitására és hatékonyságára.

A steril környezet fenntartása a gyártási folyamat során, és a szigorú minőségi kontroll a folyamat minden egyes lépése után, nélkülözhetetlen a szennyezésmentesség biztosításához, hogy a baktériumkultúra tiszta maradjon, optimális körülmények között szaporodhasson. A gyártás minden egyes lépésénél szigorú szabványok szerint vizsgálják a baktériumokat, beleértve az optimális sejtállapotot, a DNS vizsgálatot is. Ezek a vizsgálatok biztosítják a végtermék hatékonyságát és tisztaságát. A törzsazonosság vizsgálatot négy alkalommal végzik a törzstisztaságra és sűrűsége vonatkozóan, mielőtt a végterméket előállító főfermentoros szaporítást megkezdik. A gyártás alatt még háromszor végzik el az előző műveleteket.

A szelektált, tiszta színtenyészeteket baktérium-törzsgyűjteményekben, törzsbankokban tárolják (pl. NCIMB, Pasteur Intézet). Ezek a színtenyészetek tiszta oltóanyagként tarthatók fenn, amiből bármikor üzemi mennyiséget lehet előállítani. Itt kulcsfontosságú tényező, hogy a törzsbankban az adott baktériumtörzs



**A baktérium-stabilitásra ható tényezők**



**A baktérium-előállítás folyamatábrája**

szigorúan törzsazonosan szaporodjon a korábban szelektált egysejttenyészetből. Ez biztosítja a tárolt tenyészet tisztaságát, megfelelő sűrűségét, melyből minden új tétel előállításra kerül. A törzsbanki tenyészetek gyártásra történő kiadásánál minden egyes sarzsnál genetikai profilt vizsgálnak, hogy ellenőrizzék a kultúra tisztaságát és biztosítsák a tárolt kultúrával való genetikai azonosságot.

## 2. A BAKTÉRIUMGYÁRTÁS

### 2.1. SZAPORÍTÁS

Minden néhány baktériumból indul el a sejtbanki fiolából, majd a szaporítás léptéknöveléssel történik a lombiktól az üzemi fermentorokig.

A lombikba tett oltóanyag steril körülmények között adaptálódik, aktiválódik és elkezd szaporodni. Ekkor a tenyészetet egy nagyobb tárolóba helyezik át. Ezután a szaporítási lépés után, a következő léptéknövelés előtt minőségellenőrzést végeznek.

### 2.2 LÉPTÉKNÖVELÉS

Először a minőséget és a tisztaságot ellenőrzik, majd steril körülmények között a tenyészet átkerül a prefermentorba, ahol a szaporodási körülmények folyamatos kontroll alatt vannak (pH, hőmérséklet, nyomás). Minden baktériumtörzs a saját szaporodási görbéjének és időlefutásának megfelelően sokszorozódik. Minden szaporodási görbe tartalmaz egy exponenciális szakaszt (sokszorozódás), melyet a stacioner fázis követ, majd a pusztulási szakaszban (sejtpusztulás) a populáció csökken. Az a cél, hogy a baktérium-szaporodást akkor állítsák meg, amikor azok a legaktívabbak. Ez azonban nem az a pillanat, ami a maximális baktériumkihozatalt jelenti. Valójában a populáció maximuma éppen a hanyatlásuk kezdete előtt érhető el, ami nem optimális az anyagcsere aktivitás szempontjából. Azok a gyártók, akik a stacioner szakaszban lévő baktériumoknál maximálják a kihozatalt, a minőség és az aktivitás rovására teszik azt. A baktériumok szaporodásának megfigyelésére a tenyészet átlagos optikai sűrűségváltozását mérik.



A sejtbanki fiola

A prefermentor leállítása után további minőségellenőrzést végeznek. Megvizsgálják a tenyészetet, majd a baktériumok átkerülnek az ipari fermentorokba, melyek kapacitása 2-20 m<sup>3</sup>, a piaci igényektől függően. A szaporítás a biológiai aktivitás szempontjából optimális szakaszban kerül leállításra, nem pedig a maximális kihozatalnak megfelelően.

### 2.3. AZ ÉLŐ BAKTÉRIUMOK KINYERÉSE

Az élő baktériumokat centrifugával szeparálják a tenyészetből: ebben a fázisban a víz 75 %-a kerül eltávolításra, így az élő baktériumok 50-100-szorosra koncentrálhatók. Újabb minőségellenőrzést végeznek ebben a szakaszban is. Szilázs oltóanyag előállítására esetén 8 tonna baktérium-szaporulatból a kihozatal megközelítően 3000 db 250 grammos tasak kereskedelmi terméket jelent.



Elő-fermentor



Főfermentor

### 2.4. FAGYASZTVA SZÁRÍTÁS

A baktériumok stabilitása szempontjából a legjobb tartósítási eljárás a fagyasztva szárítás vagy más néven liofilezés. A fagyasztva szárítás során először nagyon alacsony hőmérsékletre hűtik a terméket, így a maradék víz alacsony nyomáson szublimál (a szublimáció: az anyag szilárd fázisból gáz fázisba alakul át folyadékátmenet nélkül). A fagyasztva szárítást először az inkák használták, mintegy 600 évvel ezelőtt élelmiszerek tartósítására. Élő baktériumok esetében az 1940-es években a kanadai Rosell Intézetben kísérleteztek ezzel az eljárással. Itt fejlesztették ki az élő tejsavbaktériumok fagyasztva szárításának eljárását, forradalmasítva a baktériumok tartósítását és ipari alkalmazását.

A liofilezés a baktériumok szempontjából nagyon kényes lépés. Ezek a mikrobák nagyon érzékenyek az extrém hőmérsékletekre, ami hatással van a végső életképességre. A fagyasztva szárítás előtt a baktériumokat összekeverik egy adaptációt segítő hővédő anyaggal. Minthogy ezek élő szervezetek könnyű megérteni azt, hogy minden baktériumtörzs különbözőképpen viselkedik, és eltérő az érzékenysége a liofilezési technológiára. Az élő baktériumoknál a fagyasztva szárítás kivitelezése nem könnyű feladat. A Lallemand-nál komoly kutatás-fejlesztési forrásokat szentelnek a védőanyag összetétel optimalálására, és az egyes baktériumtörzsek liofilezési eljárásának precíz kidolgozására.



Baktériumok a fagyasztva szárítóban

## 2.5. PORÍTÁS, KEVERÉS, CSOMAGOLÁS

A fagyasztva szárítás után a baktériumok szilárd torta formát vesznek fel, ami 2-4% vizet tartalmaz. Ez az alapja a jó, tömör por elérésének. Az őrléses porítás, a keverés és a csomagolás során a nedvességtartalmat, páratartalmat és a hőmérsékletet szigorúan ellenőrizni kell.

Az így elkészített baktériumpor felhasználásra vagy továbbfelhasználásra kész. Tárolása nagy egységcsomagokban történik. A több alkotóból álló készítmények esetén további összetevőkkel való keverésre használják, szigorú hőmérséklet és páratartalom ellenőrzés mellett. Egyéb komponenseket kevernek hozzá, pl. a silóstarterek esetében enzimeket vagy más baktériumtörzseket, vagy egyéb hordozóanyagokat, hogy a kívánt termék-koncentrációt be tudják állítani.

Végül következik a csomagolás, ami szigorúan ellenőrzött feltételek között, a legalkalmasabb csomagolóanyagok felhasználásával történik.

A baktériumok túlélése szempontjából a légmentes és nedvességmentes tárolás nagyon fontos, mivel az élő baktériumok nagyon érzékenyek a nedvességre. A levegőből származó párákat, nedvességet ki kell zárni a tárolás ideje alatt, így a csomagolás során szigorú hőmérséklet és nedvességtartalom szabályozást kell végezni, hogy biztosítsuk a termék hosszú távú stabilitását és aktivitását. A csomagolóanyagok is különösen fontosak: fény-, lég- és nedvességzárónak kell lenniük, illetve a gyűjtőcsomagolás maga jó hőszigetelő anyagból készül. A Lallemand a baktériumtermékeit gázátneremesztő többrétegű csomagolásban hozza forgalomba. Ez ugyanaz a csomagolás, amit az USA hadserege használ érzékeny anyagok hosszú idejű tartósítására, csomagolására. Ez a csomagolás kizárja az oxigént, a gázokat és a nedvességet. Minden zacskó inert gázzal, nitrogénnel töltött, mely kiszorítja az oxigént a csomagból, így tartva nyugalmi állapotban a termék baktériumtörzseit.

## ÖSSZEFOGLALÁS

A baktérium előállítás egyedülálló és komplex eljárásokat foglal magában, ami folyamatos kutatás-fejlesztést igényel: a szaporítás, liofilizálás paramétereinek finombeállítását, a csomagolási körülményeket, a felhasznált csomagolóanyagokat és mindezek együttes alkalmazását a különböző törzsek előállításánál.

A szigorú minőség-ellenőrzés a teljes gyártási folyamat során elengedhetetlen annak érdekében, hogy a végtermék baktériumtörzseinek azonossága a címkén feltüntetett baktériumtörzsekkel meg legyen, és a baktériumok erejük teljében, teljesen startra készen legyenek lecsomagolva.

Amikor a silózást végző végfelhasználó kiválasztja a baktérium starter beszállítóját, fontos meggyőződni arról, hogy a gyártó szigorú minőségbiztosítás szerint dolgozik-e, illetve, hogy az akkreditációi napra készek-e, és a termék teljesen nyomonkövethető kell, hogy legyen. Ezen túlmenően pedig érdemes a „saját szemünkkel” meggyőződni az adott termék hatékonyságáról, tehát a kipróbálás, alkalmazás megfelelően legyen nyomonkövetve.

Sylvie Roquefeuille  
újságíró

Julien Sindou  
Lallemand INC

Kovácsné Berár Olga  
Kokoferm Kft

Dr. Kovács Tamás  
Kokoferm Kft

### **A Lallemand és a baktériumgyártás: hosszú történet**

*Az egyik vezető fejlesztő és gyártó cég az állati takarmányozás, sütőipar, borászat és gyógyszeripar területén a Lallemand, amely azonban az egyetlen olyan nagy élesztő és baktériumgyártó, amely elsődleges előállítója mind az élesztőknek, mind a baktériumoknak. A baktériumok kutatásának, fermentációjának, gyártásának területén szerzett 75 éves tapasztalatával a Lallemand három nagy gyártókapacitást működtet a világon, Franciaországban (Aurillac), Kanadában (Montreal) és az USA-ban (Milwaukee). A vállalat a kutatás-fejlesztésre erősen fókuszálva, folyamatosan alapvető energiákat fektet a baktériumok gyártási és tartósítási folyamatainak optimalizálására, a Toulouse-i bázisú kutató-fejlesztő kísérleti üzemében és laboratóriumában. A petricsészétől a csomagolt termékig a cég ellenőrzi a teljes gyártási folyamatot, biztosítva a végtermékek tisztaságát, nyomonkövethetőségét, átláthatóságát és állandó minőségét. A magas minőségű belső szabványok következtében minden Lallemand baktérium gyártó üzem cGMP besorolású, illetve a takarmányozási és élelmiszeripar legmagasabb szintű szabványelírásainak megfelelő: FAMI-QS, HACCP, ISO9001, AIB, AFIA SF/SF. A franciaországi üzem gyógyszeripari összetevőket is gyárt (API), és így gyógyszer GMP minősítése is van.*

*A Saint-Simon-i baktériumgyártó üzemben történő virtuális túrához nézze meg az alábbi linket [http://stsimon.lallemand.com/tour\\_canim.htm](http://stsimon.lallemand.com/tour_canim.htm)*