

## SEJTFELTÁRÁS

Ismétlés: nincs rögzített művelési sorrend, de vannak általános irányelvek:

(1/b **SEJTFELTÁRÁS**: csak akkor szükséges, ha a termék intracelluláris)

Milyen erős a sejtfa?

Az állati sejtek kipukkanak a deszt vízben, a mikroorganizmusok nem – a sejtfa kibírja az ozmózisnyomást.  
Mekkora ez?

→ 0,9 %-os NaCl → ~1/6 mól → ~ 1/3 ozmól → p~ 24/3 = 8 bar → nyomástartó edény

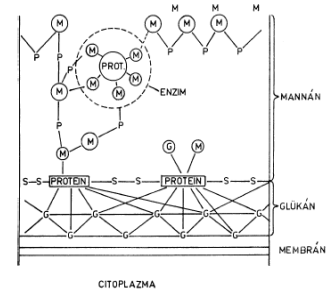


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

1

## AZ ÉLESZTŐK SEJTFALA

Glükán- és mannán-fehérje komplex rétegek

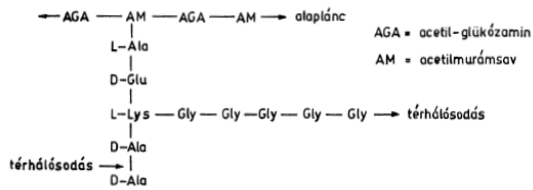


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

4

## A SEJTFAL

A Gram pozitív baktériumok sejtfalának szerkezete:  
Szénhidrát alaplánc, peptid oldalláncok



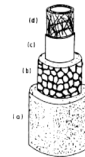
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

## A PENÉSZEK SEJTFALA

Több réteg, változatos kémiai összetétel:

- β-glükán
- kítin
- kitozán
- cellulóz
- peptidoglükán



A *Neurospora crassa* sejtfalának vázlatos szerkezete.  
 Az egyes rétegek:  
 (a) külső α- és β-glükán réteg.  
 (b) glükoprotein hálózat, benyúló glükán részekkel  
 (c) túlyomrészlet fehérjéből álló réteg  
 (d) kítines réteg, fehérjébe ágyazott mikrofibrillumok

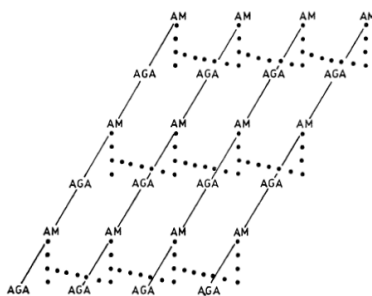


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

5

## A SEJTFAL

Térhálósodás:  
a peptid oldalláncokon keresztül  
(penicillin!)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

## A SEJTFELTÁRÁS KINETIKÁJA

A beltartalom kiszabadulását a feltárási módszertől függetlenül elsőrendű kinetikával lehet leírni:

$$\frac{dP_1}{dt} = -kP_1$$

$P_1$  a sejtben lévő termék koncentrációja

Szétválasztással integrálva a  $P_1$  időben exponenciálisan csökken.

$$\int_{P_0}^{P_1} \frac{dP_1}{P_1} = - \int_0^t k dt$$

Praktikusan inkább a kinyert termékmennyiséget fejezzük ki:

$$R = P_{10} - P_1$$



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

### A SEJTFELTÁRÁS KINETIKÁJA

A kinyert termék mennyisége ekkor így alakul:

$$R = P_{10} [1 - e^{-kt}]$$

Ugyanakkor a termék is károsodhat (bomlás, denaturálódás), amit szintén elsőrendű kinetikával közelíthetünk:

$$\frac{dS}{dt} = -K_d S$$

ahol:  
S – specifikus aktivitás

7

### A SEJTFELTÁRÁS MÓDSZEREI

**Mechanikai**

Nyírás folyadékokban

Nyírás szilárd fázisban

Örlés (golyós malom)

Nyomás (X-press)

Ultrahang

Mechanikai keverés (Dyna-Mill)

Átnyomatás folytáson (Braun-Lubbe, Manton-Gaulin, Alpha-Laval homogenizátor)

**Nem-mechanikai**

Száritás (levégőn, vákuumban, fagyasztva, oldószeres)

Lízis

Fizikai oszmotikus sokk, hősokk, oldható gázok, fagyasztás, felolvasztás

Kémiai detergenssek, oldószeres, kaotrópikus sók, antibiotikumok

Biológiai enzimek, fágok, autolízis, genetikai manipuláció

10

### A SEJTFELTÁRÁS KINETIKÁJA

Az inaktíválódás is exponenciálisan megy végbe:

$$S = S_0 e^{-K_d t}$$

Az eredő termékkihozatal a két tényező kombinációjával fejezhető ki:

$$R_e = RS$$

azaz:

$$R_e = P_{10} [1 - e^{-kt}] [S_0 e^{-K_d t}]$$

A konstansokat összevonva:

$$R_e = K(1 - e^{-kt}) e^{-K_d t}$$

8

### ULTRAHANGOS FELTÁRÁS

„Szonikálás”  
15-25 kHz  
Kavitációs mechanizmus  
Melegsik → hűtés  
szabad gyökök

Csak laborban.

SONOPULS HD 2070

11

### A SEJTFELTÁRÁS KINETIKÁJA

Kísérleti eredmények: van optimális feltárási idő

9

### GYÖNGYMALMOK

Festékipari pigment-homogenizátorok

0,1-2 mm kopásálló üveggyöngyök

Dörzsölő-koptató hatás



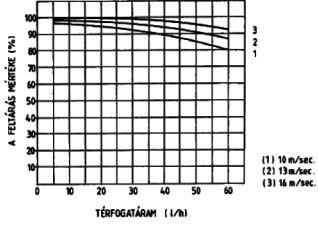
Tárcsás keverők

- SZUSZPENZIÓ
- ⇒ ÜVEGGYÖNGYÖK
- HŐFOKSZABÁLYOZÁS

12

### GYÖNGYMALMOK

Tárcsás keverők, nagy fordulatszám

(1) 10 m/sec.  
(2) 15 m/sec.  
(3) 16 m/sec.

13

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék


### GYÖNGYMALMOK

**Előnyök:**

- Folytonosítható
- Léptéknövelhető

**Hátrányok:**

- Nagy energiafogyasztás (+ hűtés)

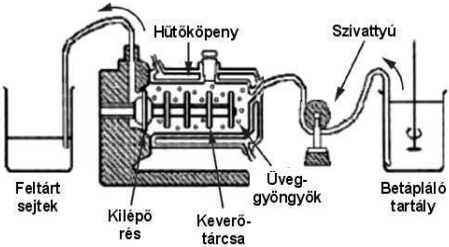


16

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

### GYÖNGYMALMOK

Folyamatosan üzemeltethetők – az üvegyöngyöket vissza kell tartani.  
Hűtés



14

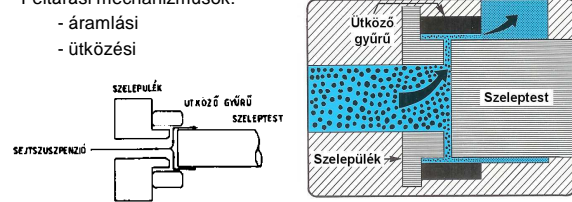
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

### NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

Speciálisan kialakított fojtáson (homogenizáló szelep) nagy nyomással (200 - 600 - 1000 bar) átnyomják a szuszpenziót. Eredetileg tejipari berendezés.

**Feltárási mechanizmusok:**

- áramlási
- ütközési



17

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

### IPARI BERENDEZÉSEK

## DYNO-MILL

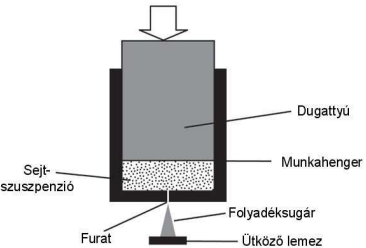
	Technische Daten		Technical Data		Données techniques			
DYNO-Mill Typ/Type	KDL	KDL SPECIAL	KDL PILOT	KD 5	KD 15	KD 50 CN	KD 200 C	KD 250 C
Málbehátár Grinding container Réceptartó és broyage	0,6 cont. 0,3 batch 0,15 batch	0,6	1,4	5	15	49	215	275
Motor Mótor Moteur	kW	1,85	3,3	11	17,5	30	55	75
Mélység Hauteur	mm	470	470	520	1475	1680	1920	2090
Länge Longueur	mm	520	520	520	935	1040	1440	2220
Breite Width Largeur	mm	600 710	600 710	520 650	665	840	1050	1230
Gewicht ca. Approx. weight	kg	82	82	95	330	550	1050	2800

15

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

### NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

Szakaszos megoldás (French press)



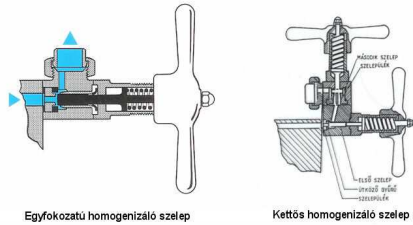
Hidraulikusan mozgatott dugattyú préseli át a folyadékot a nyíláson. A folyadéksugarat fém felületnek ütköztetik.

18

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

### NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

Folytonos megoldás: szabályozható szelepek  
Egyfokozatú (200 – 600 bar) és  
Kétfokozatú (600 -1000 bar) homogenizátorok



Egyfokozatú homogenizáló szelep

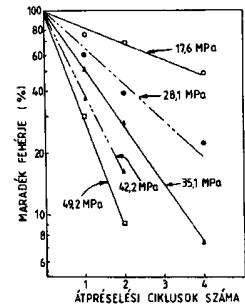
Kétfokozatú homogenizáló szelep

### NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

Rendszerint többszöri átnyomatásra, cirkuláltásra van szükség (Hűtés!)

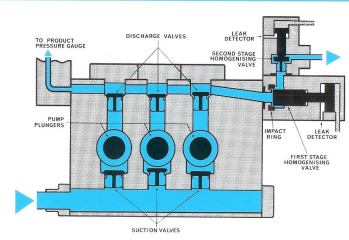
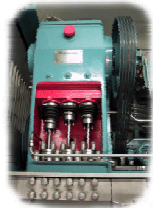
$$\ln \left[ \frac{1}{1-R} \right] = k N_p P^a$$

ahol: N - átnyomatások száma  
P – nyomás  
a – mikroba konstans  
k – sebességi állandó



### NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

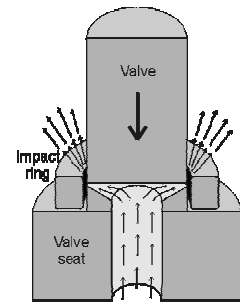
Milyen szivattyú képes ilyen nyomást létrehozni?  
Csak a dugattyús.  
Az egyenletesebb működés érdekében 3 dugattyú dolgozik, fázistolással



### NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

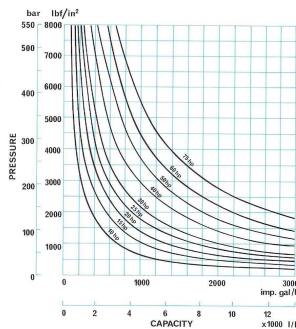
Előnyök:  
➢ Folytonosítható  
➢ Léptéknövelhető

Hátrányok:  
➢ Nagy energiafogyasztás  
➢ masszív szerkezet  
➢ eltömődésveszély



### NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

A homogenizátor működési jelleggörbéje lényegében azonos a szivattyúéval.

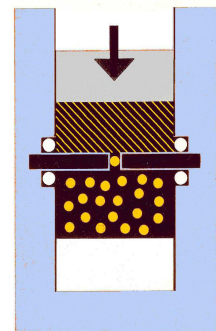


### X-PRESS

A sejtuszpenziót fagyott állapotban préselik át egy furaton.

Hogyan lehetséges ez?

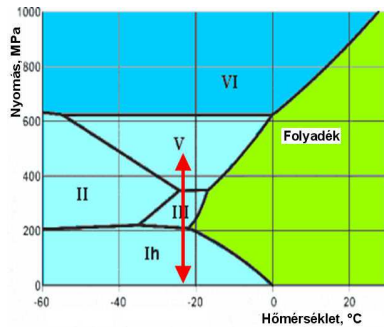
Kellően nagy (2000 – 6000) bar nyomáson a jég összenyomható, és így deformálható.



## A JÉG FÁZISDIAGRAMJA

Az első hármaspont:  
-22 °C, 211,5 MPa

A kristályok sűrűsége:  
Jég-1 → 0,92  
térf. csökkenés: -19%  
Jég-3 → 1,14  
térf. csökkenés: -7%  
Jég-5 → 1,23



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

25

## FIZIKAI MÓDSZEREK

Ozmotikus sokk: nem sókkal, hanem neutrális vegyületekkel (glikolok, glicerin, glükóz)

Oldószerekkel:

- Szárítás acetonnal, majd éteres kezelés
- Élesztő autolízis toluollal

Detergenszekkel:

- Beépülnek a sejtmembránba és rongálják annak szerkezetét.
- Kationos és anionos egyaránt
- Epesavak

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

28

## X-PRESS

Előnyök:

- Nagyon jó hatások
- Nincs denaturálódás, bomlás
- Nagyon tömény szuszpenziót is lehet kezelni

Hátrányok:

- Szakaszos
- Robosztus szerkezet
- Nem léptéknövelhető



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

26

## FIZIKAI MÓDSZEREK

Dekompresszió

Henry törvény:

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

Nagy nyomáson sok gáz oldódik a folyadékban (a sejten belül is).

A nyomás csökkenésével az oldhatóság lecsökken – a gáz buborékok formájában távozik (szódavíz, keszonbetegség)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

29

## FIZIKAI MÓDSZEREK

Szárítás:

A klasszikus hővel való szárítás egyrészt rossz feltárási hatásokkal, másrészt számos terméket denaturál. Inkább:

Fagyasztva szárítás (liofilizálás) (védőközzel - törzsel tartás, enélkül - sejteltárás) nincs denaturálódás

Oldószeres szárítás (acetonpor) készítés (kombinálható éterrel)

Fagyasztás – felolvasztás

Hősokk - vízben



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

27

## ENZIMES MÓDSZEREK

Sejtfalat bontó specifikus enzimek

- baktériumok - lizozim
- élesztők - mannanáz (Yeast Lyase, *Cytophaga sp.*)
- penészek - kitináz, celluláz
- növényi sejtek - celluláz

Több komponensű készítmények

- csigaenzim - emésztőnedv
- *Trichoderma* indukált enzimek

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

30

## GENETIKAI MÓDSZEREK

Lizogén fágokkal

A lizogénia indukálható

Indukált autólízis, apoptózis

