

## SEJTFELTÁRÁS

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

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

Milyen erős a sejtfal?

Az állati sejtek kipukkannak a deszt vízben, a mikroorganizmusok nem – a sejtfal kibírja az ozmózisnyomást.

Mekkora ez?

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

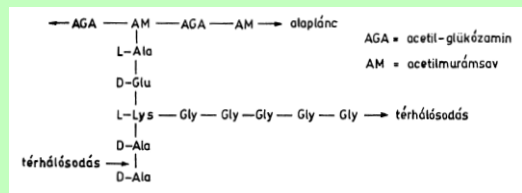


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

1

## A SEJTFAL

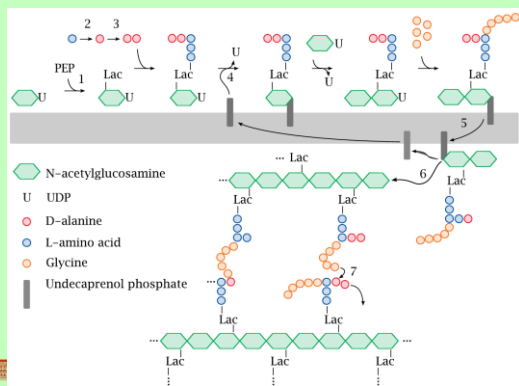
A Gram pozitív baktériumok sejtfalának szerkezete:  
Szénhidrát alaplánc, peptid oldalláncok



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

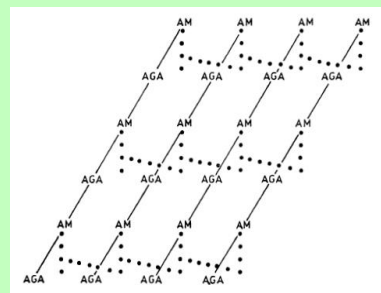
## A SEJTFAL BIOSZINTÉZISE



3

## A SEJTFAL

Térhálósodás:  
a peptid oldallán-  
cokon keresztül  
(penicillin!)

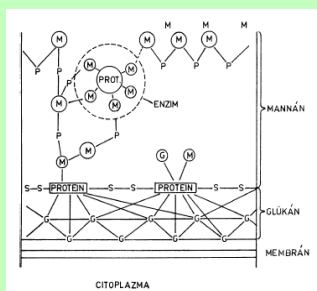


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

4

## AZ ÉLESZTŐK SEJTFALA

Glükán- és mannán-  
fehérje komplex rétegek



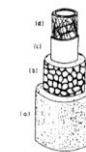
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

5

## A PENÉSZEK SEJTFALA

Több réteg, változatos  
kémiai összetétel:

- β-glükán
- kitin
- kitozán
- cellulóz
- peptidoglükán



A *Neurospora crassa* sejtfalának vázlatos szerkezete.  
Az egyes rétegek:  
(a) kitin és β-glükán réteg.  
(b) glikoprotein hálózat, benyúló glükán részekkel  
(c) túlnyomórészt fehérjéből álló réteg  
(d) kitines réteg, fehérjébe ágyazott mikrofibrillumok



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

## A SEJTFELTÁRÁS KINETIKÁJA

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

$$\frac{dP_i}{dt} = -kP_i$$

$P_i$  a sejten lévő termék koncentrációja

$$\int_{P_{i0}}^{P_i} \frac{dP_i}{P_i} = - \int_0^t k dt$$

Sztérválasztással integrálva a  $P_i$  időben exponenciálisan csökken.

Praktikusan inkább a kinyert termékennyiséget fejezzük ki:

$$R = P_{i0} - P_i$$



## A SEJTFELTÁRÁS KINETIKÁJA

A kinyert termék mennyisége ekkor így alakul:

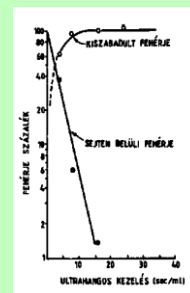
$$R = P_{i0} [1 - e^{-kt}]$$

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

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

ahol:

$S$  – specifikus aktivitás



## A SEJTFELTÁRÁS KINETIKÁJA

Az inaktiválódás is exponenciálisan megy végbe:

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

Az eredő termékkihozatal a két tényező kombinációjával fejezhető ki:

$$R_e = RS$$

azaz:

$$R_e = P_{i0} [1 - e^{-kt}] [S_0 e^{-K_d t}]$$

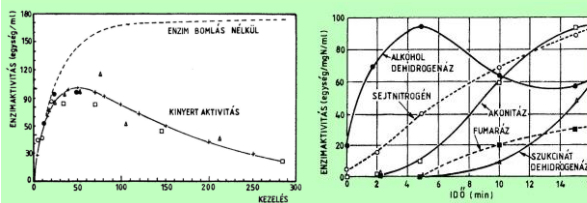
A konstansokat összevonva:

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

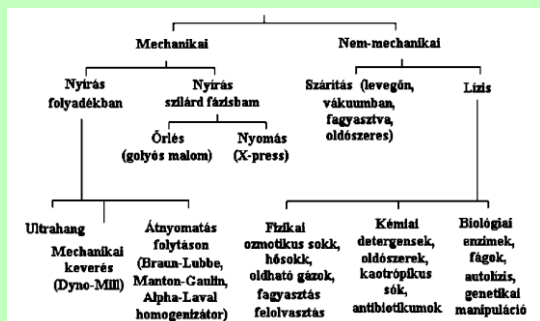


## A SEJTFELTÁRÁS KINETIKÁJA

Kísérleti eredmények: van optimális feltárási idő



## A SEJTFELTÁRÁS MÓDSZEREI



## ULTRAHANGOS FELTÁRÁS

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

Csak laborban.



SONOPULS HD 2070



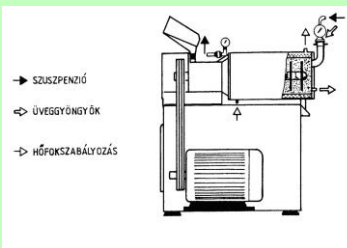
### GYÖNGYMALMOK

Festékipari pigment-homogenizátorok

0,1-2 mm kopásálló üvegyöngyök

Dörzslő-koptató hatás

Tárcsás keverők

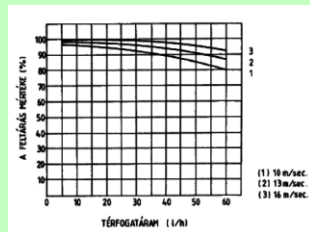
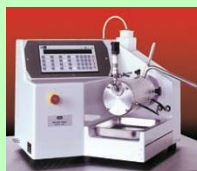


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

13

### GYÖNGYMALMOK

Tárcsás keverők, nagy fordulatszám



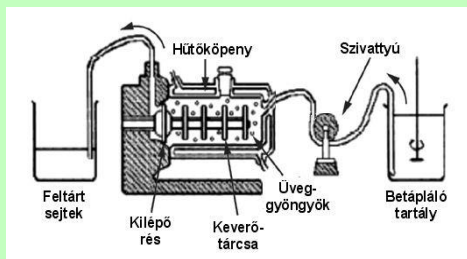
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14

### GYÖNGYMALMOK

Folyamatosan üzemeltethetők – az üvegyöngyöket vissza kell tartani.

Hűtés



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

15

### IPARI BERENDEZÉSEK

#### DYNO-MILL

	Technical Data		Données techniques					
DYNO-Mill Type	KDL	KDL SPECIAL	KDL FLUCT	KD 5	KD 15	KD 50 CN	KD 200 C	KD 250 C
Maillinhéaltier Grinding container Réceptier de broyage	Liter 0.6 cont. 0.3 batch 0.15 batch	0.6	1.4	5	15	49	216	276
Motor Moteur	kW 1.85	1.85	3.3	11	17.5	30	55	75
Motor Height Hauteur	mm 470	470	520	1475	1680	1920	2090	
Length Longueur	mm 520	520	520	935	1040	1440	2220	2730
Width Largeur	mm 600 710	600 710	520 650	665	840	1050	1230	
Weight ca. Poids approx weight	kg 82	82	95	390	550	1050	2160	2800



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

16

### GYÖNGYMALMOK

Előnyök:

- Folytonosítható
- Léptéknövelhető

Hátrányok:

- Nagy energiaigény ( + hűtés)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

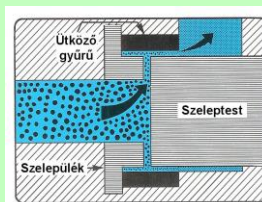
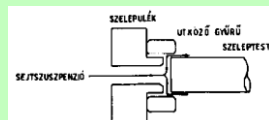
17

### NAGNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

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

Feltárási mechanizmusok:

- áramlási
- ütközési



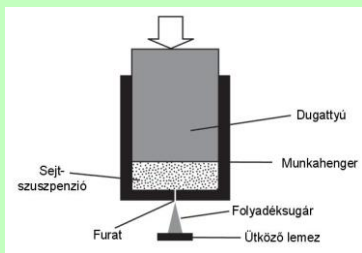
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

18

## NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

Szakaszos megoldás (French press)

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

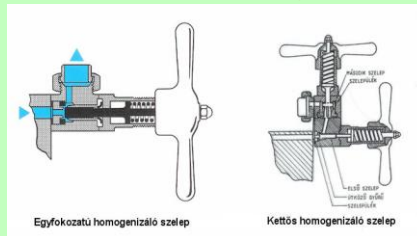


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

19

## NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

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



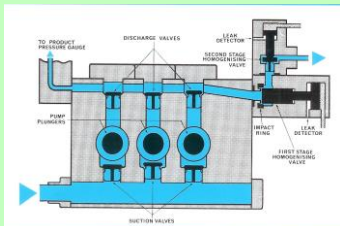
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

20

## NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

Milyen szivattyú képes ilyen nyomást létrehozni?  
Csak a dugattyús.

Az egyenletesebb működés érdekében 3 dugattyú dolgozik, fáziseltolással

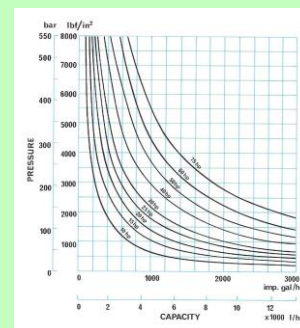


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

21

## NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

A homogenizátor működési jelleggörbéje lényegében azonos a szivattyúéval.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

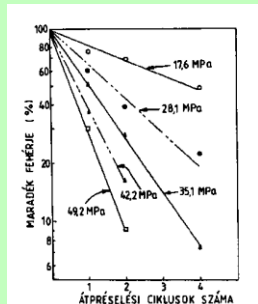
22

## NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

Rendszerint többszöri átnyomatásra, cirkuláltásra van szükség (Hűtés!)

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

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

23

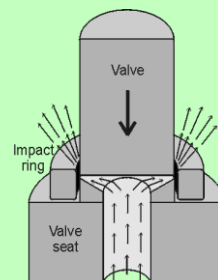
## NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

Előnyök:

- Folytonosítható
- Léptéknövelhető

Hátrányok:

- Nagy energiafogyasztás
- masszív szerkezet
- eltömődésveszély



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

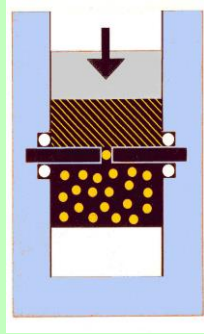
24

## 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.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

25

## A JÉG FÁZISDIAGRAMJA

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

A kristályok sűrűsége:

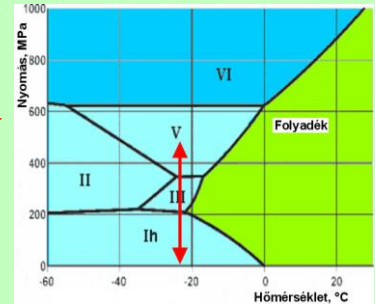
Jég-1 → 0,92

tf csökkenés: -19%

Jég-3 → 1,14

tf csökkenés: -7%

Jég-5 → 1,23



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

26

## X-PRESS

Előnyök:

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

Hátrányok:

- Szakaszos
- Robosztus szerkezet
- Nem léptéknövelhető



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

27

## FIZIKAI MÓDSZEREK

Szárítás:

A klasszikus hővel való szárítás egyrészt rossz feltárási hatásfokú, másrészt számos termék denaturál. Inkább:

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

Oldószeres szárítás (acetonpor) készítés (kombinálható éterral)

Fagyasztás – felolvasztás

Hősokok - vízben



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

## FIZIKAI MÓDSZEREK

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

Oldószerekkel:

- Szárítás acetonnal, majd éteres kezelés
- Élesztő autólízis toluollal

Detergenssekkel:

Beépülnek a sejtmembránba és rongálják annak szerkezetét.

- Kationos és anionos egyaránt
- Epesavak



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

29

## FIZIKAI MÓDSZEREK

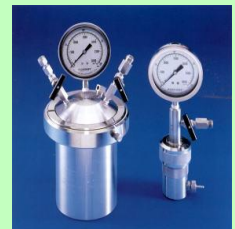
Dekompresszió

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

30

## 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



## GENETIKAI MÓDSZEREK

Lizogén fágokkal → a lizogénia indukálható

Indukált autolízis, apoptózis

