

## 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 ozmól →  $p \sim 24/3 = 8 \text{ bar}$  → nyomástartó edény



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

1

---

---

---

---

---

---

---

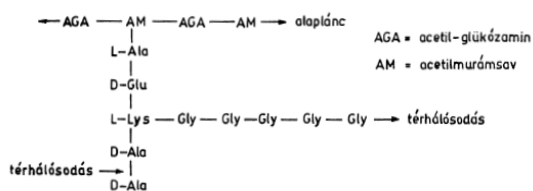
---

---

---

## A SEJTFAL

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

---

---

---

---

---

---

---

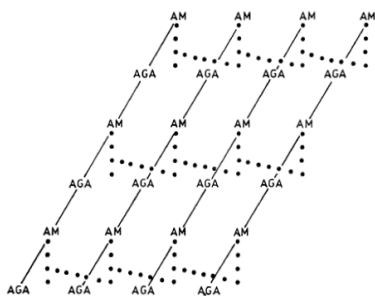
---

---

---

## A SEJTFAL

Térhálósodás:  
a peptid oldalláncokon keresztül  
(penicillin!)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### AZ ÉLESZTŐK SEJTFALA

Glükán- és mannán-fehérje komplex rétegek

CITOPLAZMA

MANNÁN  
GLUKÁN  
MEMBRÁN

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

### A PENÉSZEK SEJTFALA

Több réteg, változatos kémiai összetétel:

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

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

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

### A SEJTFELTÁRÁS KINETIKÁJA

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

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

$P_1$  a sejten belül lévő termék koncentrációja

Szétválasztással integrálva a  $P_1$  időben exponenciálisan csökken.

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

Praktikusan inkább a kinyert termékmennyiséget fejezzük ki:

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

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

### 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 elsőrendű kinetikával közelíthetünk:

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

ahol:  
S – specifikus aktivitás

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

7

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### 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:

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

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

8

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### A SEJTFELTÁRÁS KINETIKÁJA

Kísérleti eredmények: van optimális feltárási idő

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

9

---

---

---

---

---

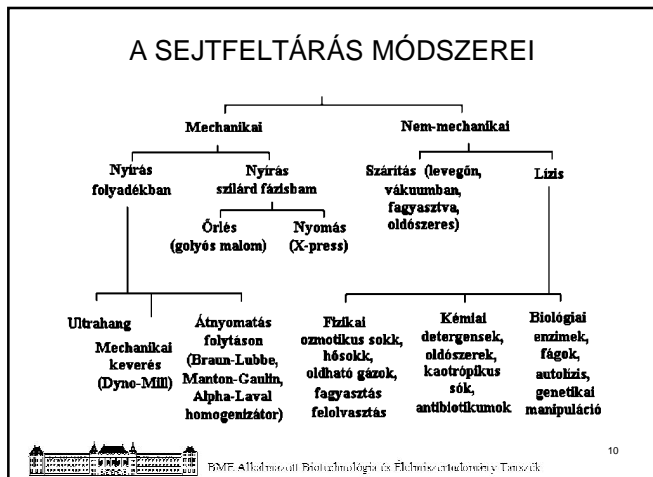
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

### ULTRAHANGOS FELTÁRÁS

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

Csak laborban.

SONOPULS HD 2070

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

### GYÖNGYMALMOK

Festékipari pigment-homogénizátorok

0,1-2 mm kopásálló üveggyöngyök → SZUSZPENZIÓ  
⇔ ÜVEGGYÖNGYÖK

Dörzsölő-koptató hatás → HŐFOKSZABÁLYOZÁS

Tárcsás keverők

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---


---

---

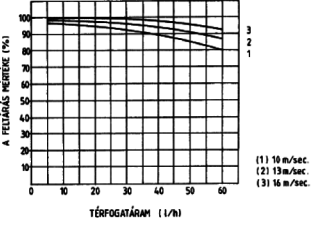
---

---


### GYÖNGYMALMOK



Tárcsás keverők, nagy fordulatszám



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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

13

---

---

---

---

---

---

---

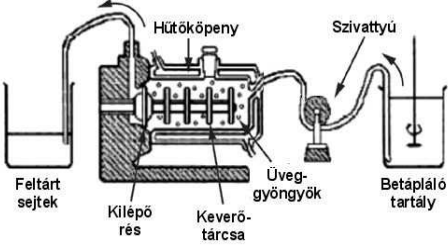
---


---

---

### GYÖNGYMALMOK

Folyamatosan üzemeltethetők – az üvegyöngyöket vissza kell tartani.  
Hűtés





BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14

---

---

---

---

---

---

---

---

---


---

### 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
Málinhabtár Grinding container Récipient de broyage	Liter	0,8 cont. 0,3 batch 0,15 batch	0,8	1,4	5	15	49	215	275
Motor Moteur	kW	1,85	1,85	3,3	11	17,5	30	55	75
Magh Hauteur	mm	470	470	520	1475	1680	1920	2090	
Länge Longueur	mm	520	520	520	935	1040	1440	2220	2730
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	2150	2800



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

15

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### GYÖNGYMALMOK

**Előnyök:**

- Folytonosítható
- Léptéknövelhető

**Hátrányok:**

- Nagy energiafogyasztás (+ hűtés)





BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

16

---

---

---

---

---

---

---

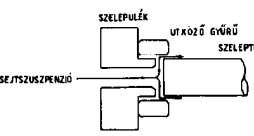
---

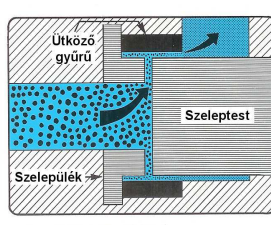
### NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK


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

17

---

---

---

---

---

---

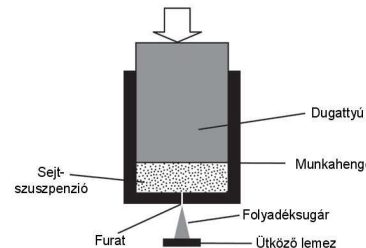
---


---

### 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

18

---

---

---

---

---

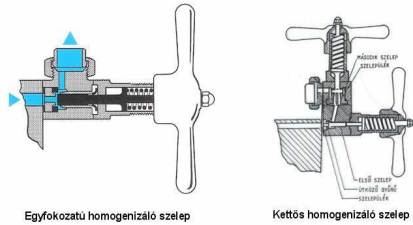
---

---

---

### NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

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



Egyfokozatú homogenizáló szelep

Kétfős homogenizáló szelep



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

19

---

---

---

---

---

---

---

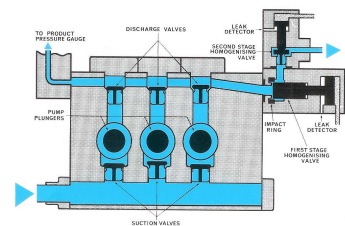
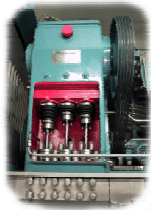
---

---

---

### NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

20

---

---

---

---

---

---

---

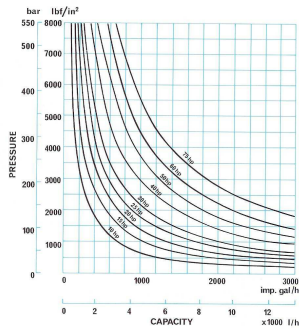
---

---

---

### NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

A homogenizátor működési  
 jelleggörbéje lényegében azo-  
 nos a szivattyúéval.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

21

---

---

---

---

---

---

---

---

---

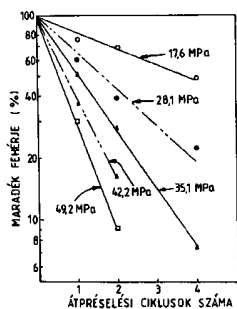
---

### NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

Rendszerint többszöri átnyomatásra, cirkuláltatásra 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

22

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

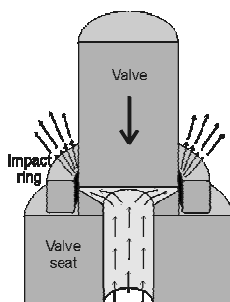
### NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

Előnyök:

- > Folytonosítható
- > Léptéknövelhető

Hátrányok:

- > Nagy energiafogyasztás
- > masszív szerkezet
- > eltömődésveszély



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

23

---

---

---

---

---

---

---

---

---

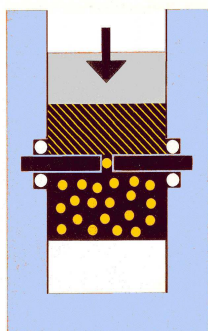
---

### 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

24

---

---

---

---

---

---

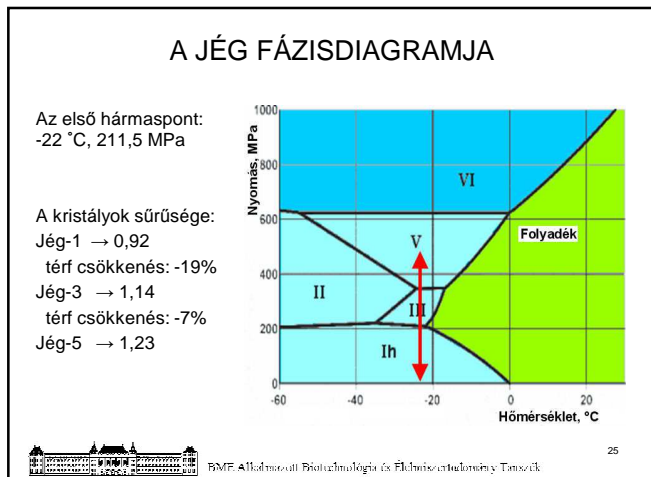
---

---

---

---






---

---

---

---

---

---

---

---

### X-PRESS

**Előnyök:**

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

**Hátrányok:**

- Szakaszos
- Robosztus szerkezet
- Nem léptéknövelhető

*X-PRESS Zellendesintegrator*

26

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

### FIZIKAI MÓDSZEREK

**Szárítás:**  
A klasszikus hővel való szárítás egyrészt rossz feltárási határfokú, másrészt számos terméket denaturál. Inkább:  
Fagyasztva szárítás (liofilizálás) (védőközeggel - törzseltartás, enélkül - sejteltárás) nincs denaturálódás  
Oldószeres szárítás (acetonpor) készítés (kombinálható étellel)

**Fagyasztás – felolvasztás**

**Hősokk - vízben**

27

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

## FIZIKAI MÓDSZEREK

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

Oldószerekkel:

- Szárítás acetonnal, majd éteres kezelés
- Élesztő autolízis toluollal

Detergenssekkel:

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

28

---

---

---

---

---

---

---

---

## FIZIKAI MÓDSZEREK

### Dekompresszió

Henry törvény:

$$C^* = \frac{1}{H(i)} \cdot P_i$$

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

29

---

---

---

---

---

---

---

---

## 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

30

---

---

---

---

---

---

---

---

## GENETIKAI MÓDSZEREK

Lizogén fágokkal  
A lizogénia indukálható

Indukált autólízis, apoptózis



---

---

---

---

---

---

---

---