

## 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~ 24/3 = 8 bar → nyomástartó edény

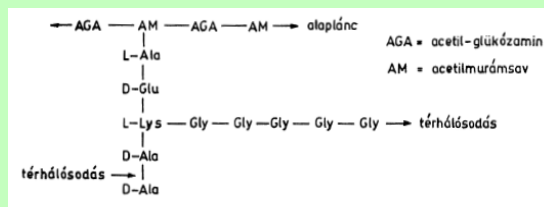


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

1

## A SEJTFAL

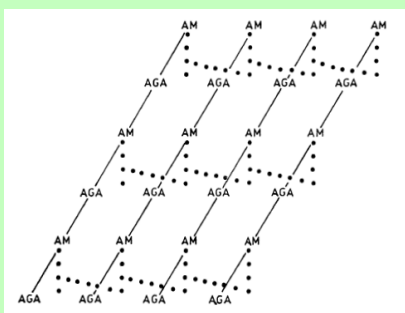
A Gram pozitív baktériumok sejtfalának szerkezete:  
Szénhidrát alaplánc, peptid oldalláncok



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

## A SEJTFAL



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

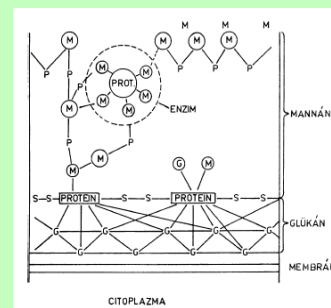


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

## AZ ÉLESZTŐK SEJTFALA

Glükán- és mannán-fehérje  
komplex rétegek



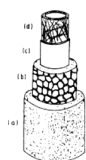
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

4

## 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-glükán réteg.  
(b) glükoprotein hálózat, benyúló glükán részekkel  
(c) túlynyomórézt fehérjéből álló réteg  
(d) kitines réteg, fehérjébe ágyazott mikrofibrillumok



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

5

## A SEJTFELTÁRÁS KINETIKÁJA

A beltartalom kiszabadulását a feltárási mód-  
szertől 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 termékmennyi-  
séget fejezzük ki:

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

### A SEJTFELTÁRÁS KINETIKÁJA

A kinyert termék mennyisége ekkor így alakul:

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

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

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

ahol:  
S – specifikus aktivitás

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:

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

8

### A SEJTFELTÁRÁS KINETIKÁJA

Kísérleti eredmények: van optimális feltárási idő

9

### A SEJTFELTÁRÁS MÓDSZEREI

**Mechanikai**

Nyírás folyadékban

Nyírás szilárd fázisban

Örítés (golyós malom)

Nyomás (X-press)

Ultrahang

Mechanikai keverés (Dyne-Mill)

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

**Nem-mechanikai**

Szárítás (levégőn, vákuumban, fagyaszívó, oldószeres)

Lízis

Fizikai ozmotikus sokk, hő sokk, oldható gázok, fagyasztás, felolvasztás

Kémiai detergenszek, oldószerek, kaotrópikus sók, antibiotikumok

Biológiai enzimek, fágók, autohízis, genetikai manipuláció

10

### ULTRAHANGOS FELTÁRÁS

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

Csak laborban.

11

### GYÖNGYMALMOK

Festékipari pigment-homogenizátorok


0,1-2 mm kopásálló üvegyöngyök

Dörzsölő-koptató hatás

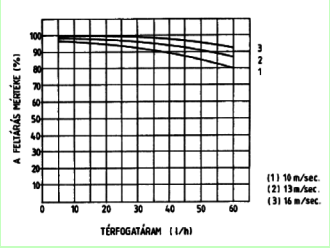
Tárcsás keverők

12

### GYÖNGYMALMOK




Tárcsás keverők, nagy fordulatszám




A FELTÁRS HÉRSZÉKE (%)

TÉRFOGATÁRÁM (l/h)

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

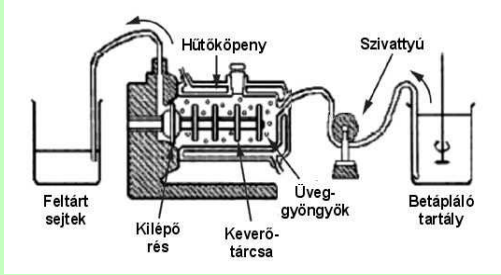





BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

### GYÖNGYMALMOK

Folyamatosan üzemeltethetők – az üvegyöngyöket vissza kell tani.  
Hűtés



Hűtőköpeny  
Szivattyú  
Feltart sejtek  
Kilépő rész  
Keverőtárcsa  
Üvegyöngyök  
Betápláló tartály




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	
Mahlbehälter Grinding container Réceptier de broyage Liter	0,6 cont. 0,3 batch	0,6	1,4	5	15	49	215	275	
Motor Motor Moteur kW	1,85	1,85	3,3	11	17,5	30	55	75	
Höhe Height Hauteur mm	470	470	520	1475	1680	1920	2090		
Länge Length 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	390	550	1050	2150	2800	



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

### GYÖNGYMALMOK

**Előnyök:**

- Folytonosítható
- Léptéknövelhető

**Hátrányok:**

- Nagy energiafelhasználás (+ hűtés)





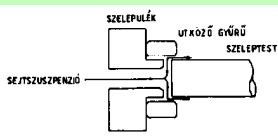
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

### NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

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

Feltárási mechanizmusok:

- áramlási
- ütközési

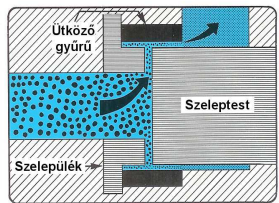


SZELEPÜK

ÜTKÖZŐ GYÜRŰ

SZELEPTEST


SEJTSZUSZPENZIÓ



Ütköző gyűrű

Szeleptest

Szelepüek

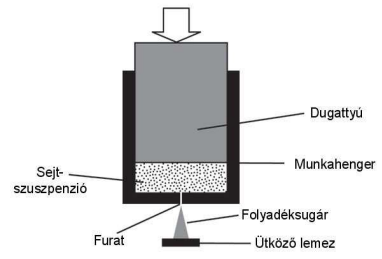


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

### NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

Szakaszos megoldás (French press)

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



Dugattyú


Munkahenger

Folyadéksugár

Ütköző lemez

Furat

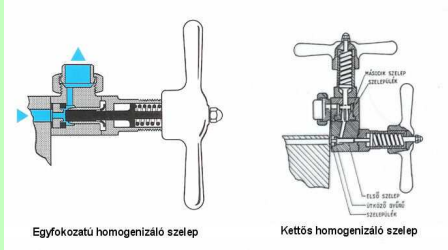
Sejtszuszpenzió



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

### NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

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

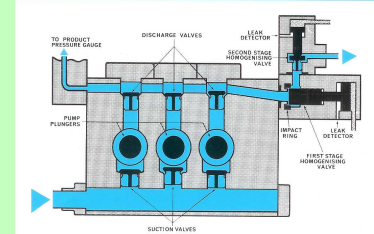
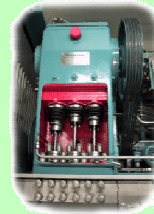


### NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

Milyen szivattyú képes ilyen nyomást létrehozni?

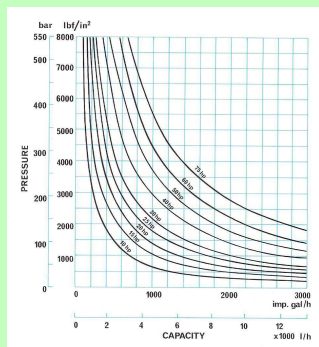
Csak a dugattyús.

Az egyenletesebb működés érdekében 3 dugattyú dolgozik, fázistolással



### NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

A homogenizátor működési jelleggörbéje lényegében azonos a szivattyúéval.

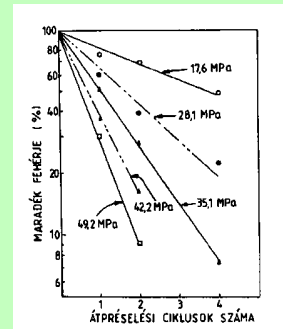


### NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

Rendszerint többszöri átnyomatásra, cirkuláltatásra 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



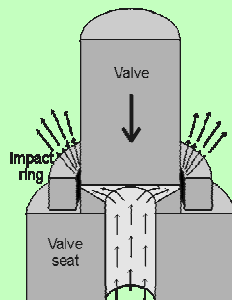
### NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

Előnyök:

- > Folytonosítható
- > Léptéknövelhető

Hátrányok:

- > Nagy energiafelhasználás
- > masszív szerkezet
- > eltömődésveszély

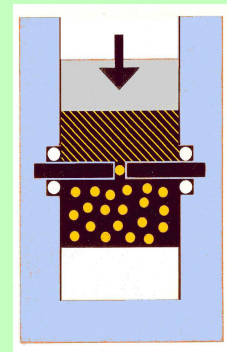


### X-PRESS

A sejtuszpenziót fagyott állapotban préselik át egy furaton.

Hogyan lehetséges ez?

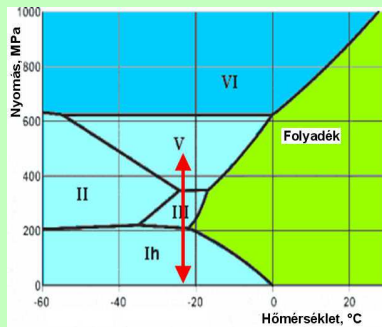
Kellően nagy (2000 – 6000) bar nyomáson a jég összenyomható, és így deformálható.



## 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

## 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

26

## FIZIKAI MÓDSZEREK

Szárítás:

A klasszikus hővel való szárítás egyrészt rossz feltérési hatásfokú, másrészt számos terméket denaturál. Inkább:

Fagyasztva szárítás (liofilizálás) (védőközeggel - törzselattartás, enélkül - sejtfeltárás) nincs denaturálódás

Oldószeres szárítás (acetonepor) készítés (kombinálható étterrel)

Fagyasztás – felolvasztás

Hőszokk - vízben



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

27

## FIZIKAI MÓDSZEREK

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

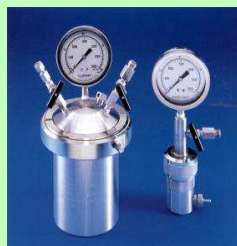
Dekompresszió

Henry törvény:

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

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

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



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 autolízis, apoptózis

