

SEJTFELTÁRÁS

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

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

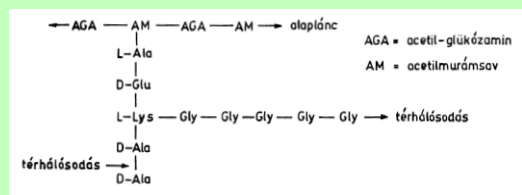
Milyen erős a sejtfal?

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

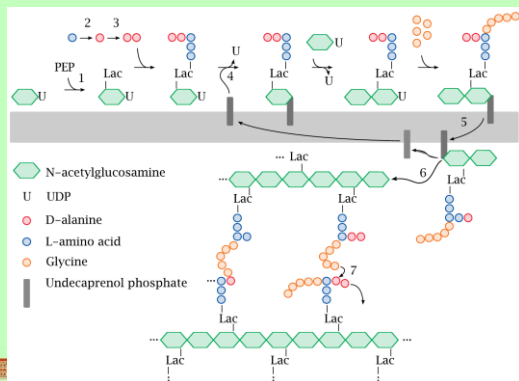
→ 0,9 %-os NaCl → ~1/6 mól → ~ 1/3 ozmol → p~ 24/3 = 8 bar → nyomástartó edény

A SEJTFAL

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

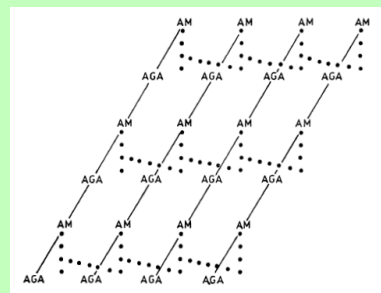


A SEJTFAL BIOSZINTÉZISE



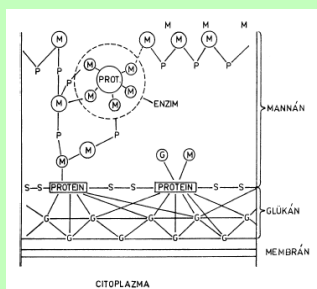
A SEJTFAL

Térhálósodás: a peptid oldalláncokon keresztül (penicillin!)



AZ ÉLESZTŐK SEJTFALA

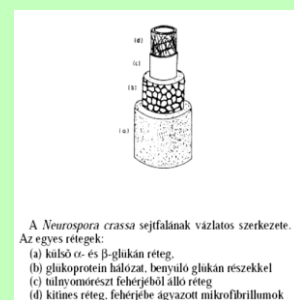
Glükán- és mannán-fehéjje komplex rétegek



A PENÉSZEK SEJTFALA

Több réteg, változatos kémiai összetétel:

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



A SEJTFELTÁRÁS KINETIKÁJA

A beltartalom kiszabadulását a feltárási mód-szertől függetlenül elsőrendű kinetikával lehet leírni:

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

P_1 a sejten lévő termék koncentrációja

$$\int_{P_{10}}^{P_1} \frac{dP_1}{P_1} = - \int_0^t k dt$$

Szétválasztással integrálva a P_1 időben exponenciálisan csökken.

Praktikusan inkább a kinyert termékmennyiséget fejezzük ki:

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



A SEJTFELTÁRÁS KINETIKÁJA

A kinyert termék mennyisége ekkor így alakul:

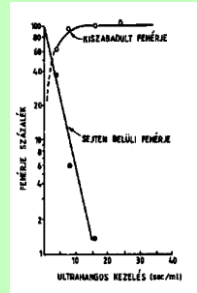
$$R = P_{10} [1 - e^{-kt}]$$

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

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

ahol:

S – specifikus aktivitás



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:

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

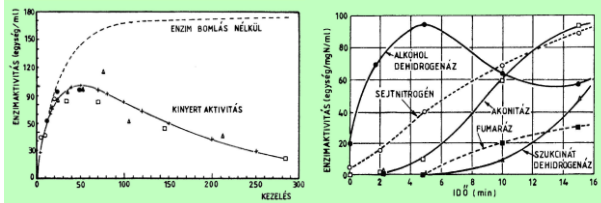
A konstansokat összevonva:

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

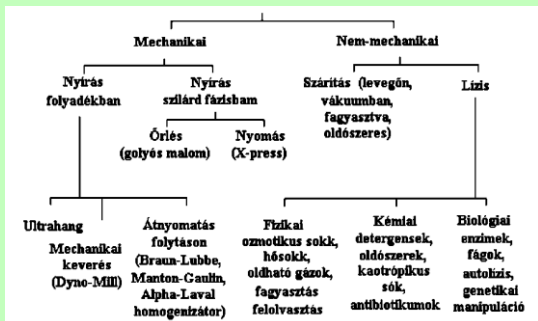


A SEJTFELTÁRÁS KINETIKÁJA

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



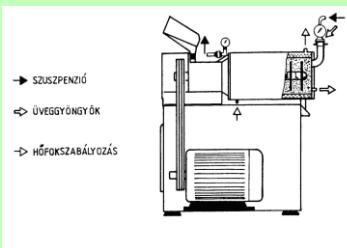
GYÖNGYMALMOK

Festékipari pigment-homogenizátorok

0,1-2 mm kopásálló üvegyöngyök

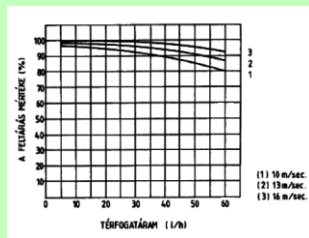
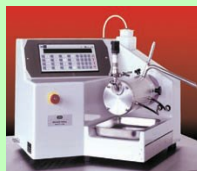
Dörzsölő-koptató hatás

Tárcsás keverők



GYÖNGYMALMOK

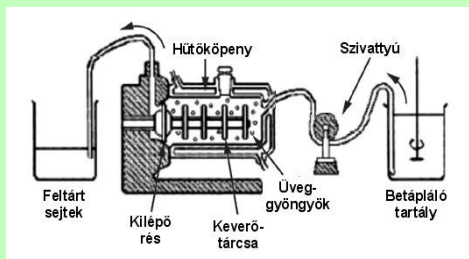
Tárcsás keverők, nagy fordulatszám



GYÖNGYMALMOK

Folyamatosan üzemeltethetők – az üvegyöngyöket vissza kell tartani.

Hűtés



IPARI BERENDEZÉSEK

DYNO-MILL

	Technical Data		Données techniques					
DYNO-Mill Type	KDL	KDL SPECIAL	KDL FLUCT	KD S	KD TS	KD 50 CN	KD 200 C	KD 250 C
Mill Capacity Réceptif de broyage	0.6 cont. 0.3 batch	0.8	1.4	5	15	49	215	275
Motor Moteur	kW	1.85	3.3	11	17.5	30	55	75
Motor Hauteur	mm	470	520	1475	1680	1920	2090	
Length Longueur	mm	520	520	935	1040	1440	2220	2730
Width Largeur	mm	600 710	600 710	520 650	665	840	1050	1230
Weight ca. Poids weight	kg	82	82	95	390	550	1050	2600

GYÖNGYMALMOK

Előnyök:

- Folytonosítható
- Léptéknövelhető

Hátrányok:

- Nagy energiafogyasztás (+ hűtés)

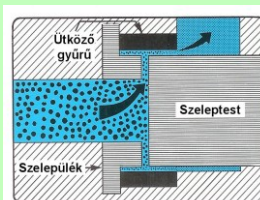
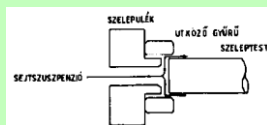


NAGNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

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

Feltárási mechanizmusok:

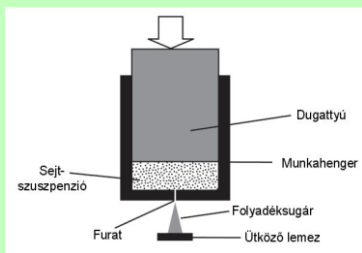
- áramlási
- ütközési



NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

Szakaszos megoldás (French press)

Hidraulikusan mozgató dugattyú préseli át a folyadékot a nyíláson. A folyadéksugarat fém felületnek ütöztetik.

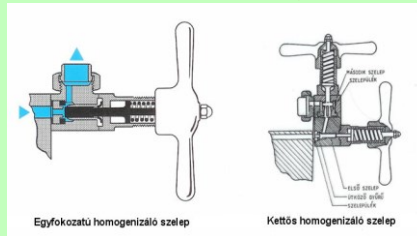


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

19

NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

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



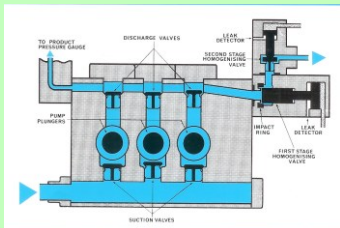
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

20

NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

Milyen szivattyú képes ilyen nyomást létrehozni?
Csak a dugattyús.

Az egyenletesebb működés érdekében 3 dugattyú dolgozik, fáziseltolással

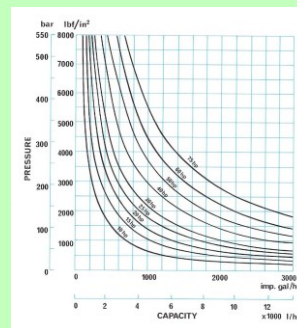


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

21

NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

A homogenizátor működési jelleggörbéje lényegében azonos a szivattyúéval.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

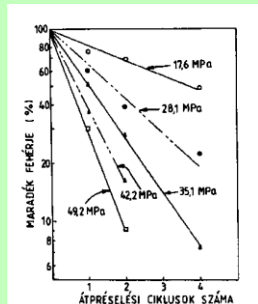
22

NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

Rendszerint többszöri átnyomatásra, cirkulálásra 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

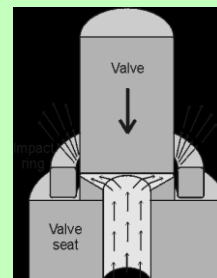
NAGYNYOMÁSÚ HOMOGENIZÁTOROK

Előnyök:

- Folytonosítható
- Léptéknövelhető

Hátrányok:

- Nagy energiafogyasztás
- masszív szerkezet
- eltömődésveszély



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

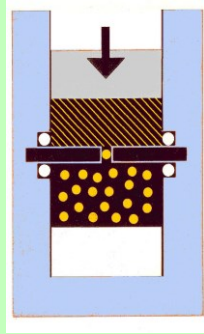
24

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:

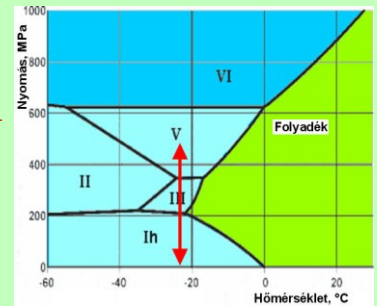
Jég-1 → 0,92

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 hatások
- 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:

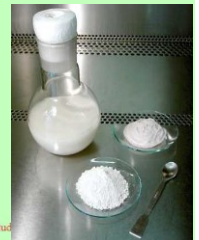
A klasszikus hővel való szárítás egyrészt rossz feltárási hatások, másrészt számos termék denaturál. Inkább:

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 autolízis 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 folyadékokban (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

