


**BIOKONVERZIÓK, BIOTRANSZFORMÁCIÓK**  
Oxidációs, redukciós átalakítások



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 1

---

---

---

---

---

---

---

---

**BIOTECHNOLÓGIAI ELJÁRÁSOK**

**De novo FERMENTÁCIÓK**

$$\Sigma S_i + X \longrightarrow \Sigma P_j + (X + \Delta X)$$

mikroorganizmus  
növényi sejtenyészet  
állati szövettenyészet


**BIOTRANSZFORMÁCIÓK**

$$S + X \longrightarrow P + X$$

sejt(alkotórész)

$$S + E \longrightarrow P + E$$

enzim



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 2

---

---

---

---

---

---

---

---

**Enzimes és mikrobiális biokonverziók**

MIVEL TÖRTÉNIK?

ENZIMEKKEL > OLDOTT, RÖGZÍTETT

SEJTEKKEL > NŐVEKEDŐ SEJTEKKEL  
(fermentáció: AcOH, szorbóz, glükonsav)  
> NYUGVÓ SEJTEKKEL  
> RÖGZÍTETT sejtekkel  
> TÖBBFÁZISÚ RENDSZEREKBE



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 3

---

---

---

---

---

---

---

---

## Enzimes és mikrobiális biokonverziók

Tulajdonságok, jellemzők: mint az enzimentulajdonságok

- Szubsztrátspecifitás – csak egy adott szubsztrát
- Régióspecifitás – a S egy adott helyén, részterületén
- Sztereospecifitás - enantiomerek felismerése  
 S és P oldalon  
 - kirotechnológia: a szerves kémikusok új eszköztára
- Csoportspecifitás – egy funkciós csoportot alakít át
- Enyhe reakciókörülmények – T, p, pH



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

4

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## EC reakciótípusok

REAKCIÓTÍPUS	ENZIMCSOPORT	REAKCIÓK
Oxidációk és redukciók	EC 1.	Hidroxilálás, dehidroxilezés, epoxidálás, C-C kötés hidrogénezése-, dehidrogénezése, alkoholok, aldehidek oxidációja, alkil-, karboxialkil-, ketoalkil láncok oxidatív lebontása, szubsztituensek oxidatív eltávolítása, oxidatív dezaminálás, oxidatív gyűrűfelynyítés, szerves savak, aldehidek, ketonok redukciója, heterofunkciós csoportok redukálása, szubsztituensek redukatív eliminálása
Hidrolízis	EC 3.	észterek, aminok, amidok, laktonok, éterek, laktámok hidrolízise
Izomerizáció	EC 5.	kettős kötés és oxigén tartalmú csoport áthelyezés, racemizálás, intramolekuláris átrendeződés
Kondenzáció (transzferázok, liázok)	EC 2. EC 4.	dehidratálás, O-és N-acilezés, glikozilezés, észterezés, laktonizáció, aminálás
Új kötés létrehozása	EC 6.	C-C, C-O, C-P, C-N kötések kialakítása



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

5

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

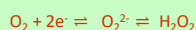
## Oxidációs, redukációs átalakítások Oxidáció oxigénnel

### 1. Oxidáció oxigénnel

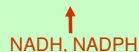
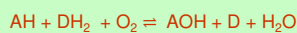
Biológiai oxidációkban az O<sub>2</sub> vagy mint **végző elektronakceptor** működhet, vagy közvetlenül **beépül** a szerves molekulába.

Az EC1. enzimcsoporton (oxidoreduktázok) belül 3 alcsoport

EC 1.1.3 oxidázok vagy elektrontranszferázok (egyik oxigén atom sem épül be a szubsztrátba, például EC 1.1.3.4 glükóoxidáz):



EC 1.13.12 monooxigenázok vagy hidroxilázok (az egyik oxigén atom épül be a szubsztrátba, például szteroid hidroxilázok):



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Oxidáció oxigénnel

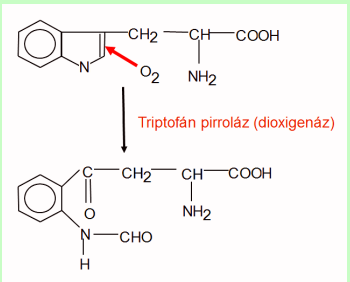
EC 1.13 *dioxigenázok* vagy *oxigéntranszferázok* (mindkét oxigén atom beépül a szubsztrátba, például [triptofán-pirroláz](#) (EC 1.13.11.11 tryptophan 2,3-dioxygenase):

$A + O_2 \rightleftharpoons AO_2$

L-triptofán

↓

N-formil-kinurenin



7

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Oxidáció dehidrogénezéssel

#### 1.1.1 DEHIDROGENÁZOK

Az oxigén nem közvetlenül a szubsztráttal reagál, hanem a hidrogéneket redukált koenzimek viszik át → H<sub>2</sub>O

koenzim szükséglet :

- NADH , NADPH
- FADH<sub>2</sub>
- Ubikinon
- PQQ (pirrolo-kinolin-kinon)

1. Primer alkoholok oxidációja
2. Szekunder alkoholok (cukrok) oxidációja
3. Aldehidek (cukrok) oxidációja

8

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Primer alkoholok oxidációja: ecetsav képződése

$$CH_3CH_2OH \xrightarrow{ADH} CH_3CHO \xrightarrow{ALDH} CH_3COO^-$$

Acetaldehyde                      Acetate

A folyamat két lépésben megy végbe, az etanol előbb acetaldehiddé oxidálódik (alkohol-dehidrogenáz), majd az aldehid oxidálódik ecetsavvá (aldehid dehidrogenáz).

Az ADH proszтетikus csoportja PQQ (pirrolo-kinolin-kinon), ez veszi át a hidrogéneket, majd ubikinonnak adja át.

9

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

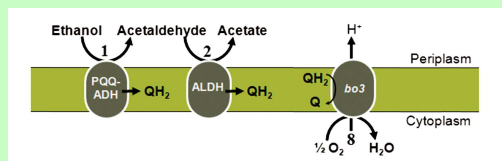
---

---

---

---

### Az ecetsav képződés biokémiája



Az enzimek a citoplazmamembránba épülnek be. A hidrogéneket ubikinonnak adják át. Az ubikinol visszaoxidálása során a terminális oxidációhoz hasonlóan molekuláris oxigénnel víz képződik és proton exportálódik a periplazmikus térbe. A protonok visszaáramlásával a sejt ATP-t termel, így nyer energiát a folyamatból.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

10

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Ipari ecetsavgyártás

Törzs: *Acetobacter aceti* → sok rokon és hibrid törzs

- Technológiák: Orleans-i eljárás (borecet, XIV. század)  
 generátor eljárás (bűkkfalogács töltet felületén biofilm)  
 szubmerz eljárás (Frings acetátor)  
 O<sub>2</sub> ellátás kritikus  
 S és P szint is kritikus  
 etanol RÁTÁPLÁLÁS  
 erős hőfejődés (455 KJ/mol)  
 15-19% ecetsav koncentráció



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

11

---

---

---

---

---

---

---

---

---

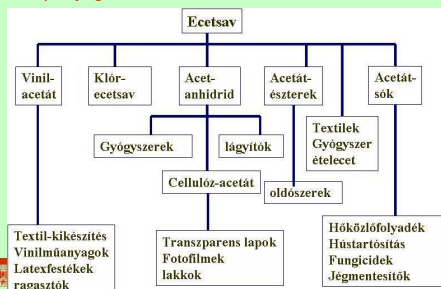
---

---

---

### Az ecetsav felhasználása

- Direkt felhasználás: erős savként  
 vízkőoldás  
 élelmiszeripar: tartósítás
- Vegyipari alapanyagként:



12

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Szekunder alkoholok oxidációja

**Glicerín** → **dihidroxi-aceton (DHA)**

Sorbitol → Sorbose

Az *Acetobacter/Gluconobacter suboxydans* enzime csak olyan szekunder hidroxil-csoportot képes oxidálni, amelynek szomszédságában két cisz helyzetű alkoholos OH található.

Bertrand szabály (1904)

**Szorbit – szorbóz átalakítás**

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék
13

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Szorbóz fermentáció

Technológia:

- alapanyag: lebontott keményítő (glükóz) szörp
- hidrogénezés: Raney-Ni-lel → szorbit
- mikrobák: *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter (Gluconobacter) suboxydans* → Ni-hez szoktatás!!!
- rátáplálásos eljárás: 10-20% szorbit → 33-35% szorbit
- konverzió: >95%
- folytonos technológiák is !
- nyugvósejtes fermentációk is!

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék
14

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Aszkorbinsav előállítás

Szorbit–szorbóz átalakítás a klasszikus aszkorbinsav gyártás egyetlen biokonverziós lépése. (Reichstein 1934)

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék
15

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

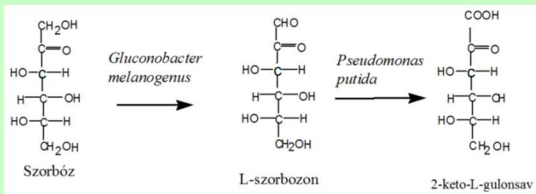
---

---

### Aszkorbinsav előállítás

Az aszkorbinsav gyártásnak több változatát is kidolgozták, ezekben több biokonverziós lépés is szerepel.

Pl. a 2-keto-gulonsav kialakítása kémiai út helyett megoldható két biotranszformációval is:



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

16

---

---

---

---

---

---

---

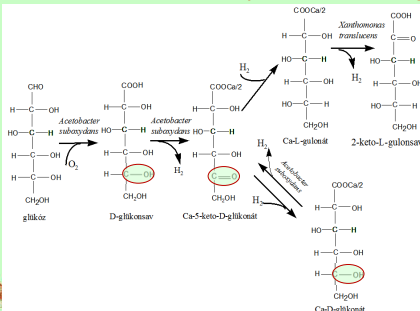
---

---

---

### Alternatív aszkorbinsav előállítás

Az *Acetobacter suboxydans* és a *Xanthomonas translucens* szelektív oxidációival más úton is eljuthatunk a 2-keto-gulonsavhoz:



17

---

---

---

---

---

---

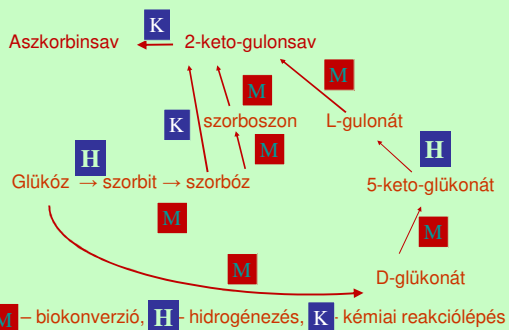
---

---

---

---

### Aszkorbinsav előállítások összefoglalása



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

18

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Aszkorbinsav gyártás

Éves piac: 100-120.000 t/év, ennek 80%-át Kína termeli (+ BASF, Takeda, DSM, Merck) a klasszikus eljárással.

Fejlesztések: glu vagy gal  $\xrightarrow[\text{rec. } S. cerevisiae]{\text{de novo}}$  C-vitamin

**De novo** növényi sejtekkel: *Rosa rugosa* 1-2% glükóz, fruktóz, galaktóz alapon.




---

---

---

---

---

---

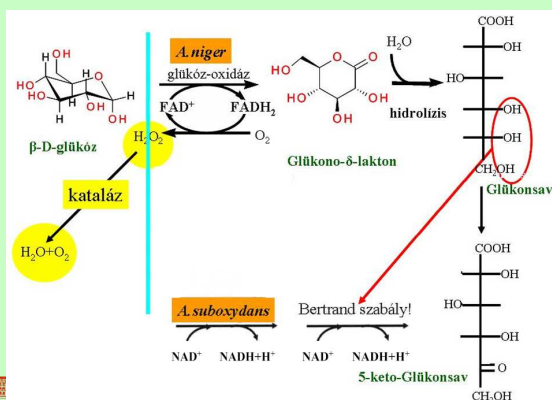
---

---

---

---

### Aldózok oxidációja: glükonsav gyártás




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Aldózok oxidációja: glükonsav gyártás

Glükóz oxidációja: lehet elektrokémiai, vagy HOCl-os oxidációval is, de inkább biokonverzióval glükózból.

*Aspergillus niger*: az első lépésben glükono-laktont állít elő, ez spontán hidrolizál glükonsavvá. Az  $\text{O}_2$  nem találkozik a szubsztráttal, hanem a FAD prosztetikus csoportok  $\text{H}_2\text{O}_2$ -dá alakítják. Ezt a kataláz elbontja.

Az *A/G. suboxydans* egy lépésben hajtja végre a reakciót (NAD koenzimmel), de tovább is oxidál 5-keto-glükonsavvá (Bertrand szabály). Ez a reakció a körülmények beállításával visszaszorítható ( $\text{pH}=7$ ,  $t=37^\circ\text{C}$ ).




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Glükonsav gyártási technológiák

A keletkező savat közömbösíteni kell - pH szabályozás (~7), CaCO<sub>3</sub>-tal.  
 Félfolytonos fermentáció: részleges lefejtés és feltöltés.

A növekedés és a termékképződés optimális hőfoka nem esik egybe (30 ill. 36 °C). A váltást nem lépcsősen végzik, hanem kiszámolták az optimális hőfokprofil:

22

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

### Más glükonsav gyártási technológiák

Kétlépcsős Vogelbusch technológia:

1. MeOH-on kemosztát folytonos technológiával *Acetobacter methanolicus* sejtömeg előállítás
2. Biokonverzió nagy glükóz koncentráció mellett Vb-IZ reaktorban (becsapódó sugaras levegőztetés)

Létezik tisztított glükózoxidázos technológia is (ARGONNE, USA) különleges integrált rendszer: elektrodeionizálással semlegesítik a keletkező savat.

23

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

### A glükonsav és a glükóz-oxidáz felhasználása

lpar: páclé, sütőpor, fémfelület tisztítás  
 kation-bevitel (Cu, Fe, Ca) E574-579  
 kristályok helyett ~50% oldat, sav = lakton (E575)

\*A glükóz-oxidáz/kataláz rendszer: glükóz eltávolítása tojásfehérjéből (sütőipar, szárítás előtt). Enzimkeveréket használnak (165 U/kg) hozzáadott H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-dal (kb 0.1 % w/w) biztosítják a szükséges molekuláris oxigént.

\*O<sub>2</sub> eltávolítás a palackozott és dobozott italok, konzervek fejtérfogatából, eliminálandó a nem enzimes barnulást ill. egyéb oxidációs folyamatokat.

24

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

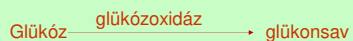
---

---

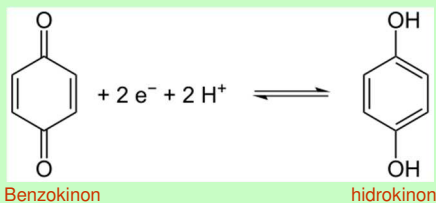


### A glükóoxidáz mellékreakciója

Kinon redukciója:



Az O<sub>2</sub> helyett a kinon lehet az elektron akceptor, ez veszi fel a hidrogéneket.



Benzokín

hidrokinon



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

25

---

---

---

---

---

---

---

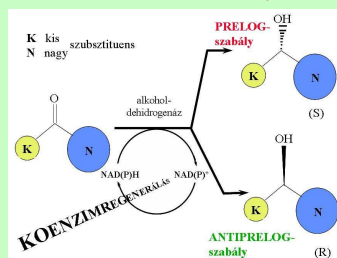
---

---

---

### Ketonok redukciója szekunder alkoholokká

Ezt a redukciót az alkohol dehidrogenázok sztereoszелеktivén végzik. A legtöbb enzim a Prelog-szabály szerint redukál: a kis és nagy méretű szubsztituensek elhelyezkedése:



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

26

---

---

---

---

---

---

---

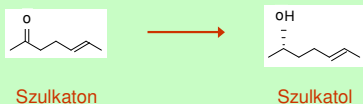
---

---

---

### Ketonok redukciója szekunder alkoholokká

Példa a Prelog szabályra:



Szulkaton

Szulkatol

Találtak olyan enzimeket is, amelyek az anti-Prelog szabály szerint redukálnak → tetszés szerint irányíthatjuk a reakciót.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

27

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### „Prelog” enzimek

Az enzimek sztereoselektivitása oxidációs irányban lehetővé teszi racém keverékek resolválását is:

S,R R

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 28

---

---

---

---

---

---

---

---

### Királis redukciók

Prokirális vegyület	→	Királis vegyület
$\text{R} - \underset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}} - \text{R}' + \text{NAD(P)H} + \text{H}^+ \rightarrow \text{R} - \underset{\text{OH}}{\underset{ }{\text{CH}}} - \text{R}' + \text{NAD(P)}^+$		$\text{R} - \underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{CH}}} - \text{R}' + \text{NAD(P)}^+$
Ketonok, ketosavak <span style="color: red; font-weight: bold;">→</span> Alkohol		Aminosav
Iminek, iminosavak <span style="color: red; font-weight: bold;">→</span>		Aminosav

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 29

---

---

---

---

---

---

---

---