




## VEBI BIOMÉRŐKI MŰVELETEK

Műszaki menedzser BSc hallgatók számára  
 3 + 1 + 0 óra, részvizsga  
 Előadó: dr. Pécs Miklós egyetemi docens  
 Elérhetőség: F épület, FE lépcsőház földszint 1  
 (463-) 40-31  
[pecs@eik.bme.hu](mailto:pecs@eik.bme.hu)  
 Írásos segédanyag található a:  
<http://oktatas.ch.bme.hu>  
 /oktatas /konyvek /mezgaz /vebimanager  
 címen



1

## HOL TALÁLKOZHATUNK BIOTECHNOLÓGIÁVAL?


4

## KÖVETELMÉNYEK

### ÍRÁSBELI RÉSZVIZSGA

amelyet a vegyipari műveletek részvizsgával együtt kell megírni.  
 A végső jegy három részjegy átlagolásával alakul ki:

- Vegyipari műveletek számítási ZH
- Vegyipari műveletek vizsga ZH
- Biomérnöki műveletek vizsga ZH



2

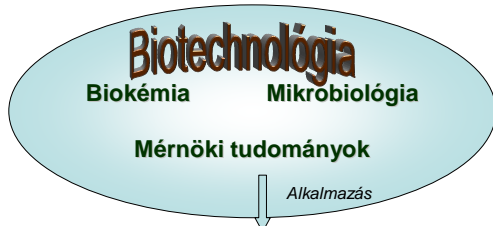
## UPSTREAM -DOWNSTREAM

A fermentációs technológiák két egymást követő szakaszra oszthatók:


1. a fermentáció előkészítésétől a szaporítás, a termékképzés végéig terjed az „**UPSTREAM-PROCESSING**”. Ez a fermentáció végéig tart, amikor már rendelkezésünkre áll kész fermenté, amely tartalmazza a kívánt végterméket. Ezt a pontot nevezik a fermentáció „vágásának”.
2. a „vágás” után következik a végtermék izolálása, amelynek során a sok-komponensű fermentélemből a tiszta (tisztított) végtermék felhasználásra alkalmas formába kerül. Ezt a feldolgozási műveletsort nevezik „**DOWN-STREAM PROCESSING**”-nek.



5

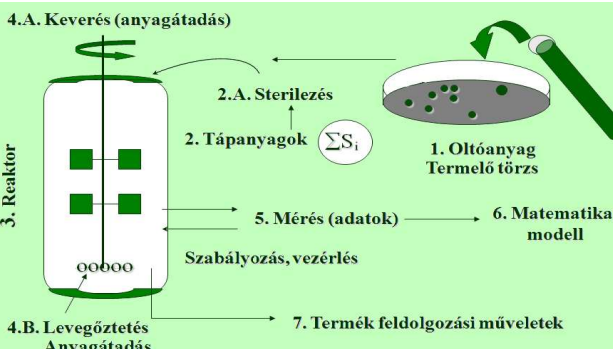


A biotechnológia a természettudományok és a műszaki tudományok integrálását jelenti, annak érdekében, hogy organizmusokat, sejteket, vagy azok részeit, illetve molekula analógjait alkalmazzuk a termelésben vagy szolgáltatásban (EFB, 1988).



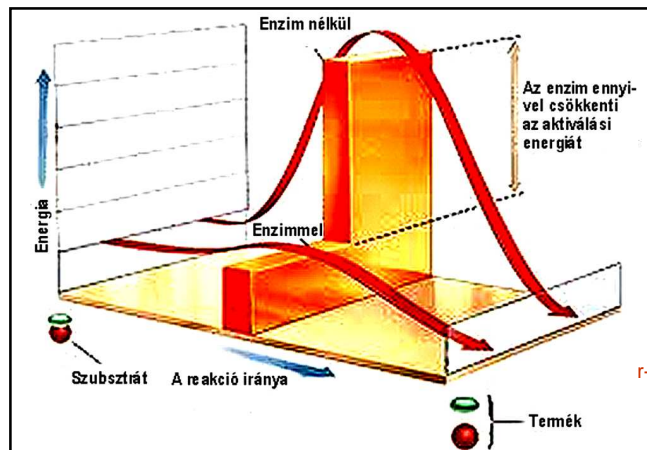
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

## Upstream processing



## DOWNSTREAM PROCESSING

1. Sejtek elválasztása → szilárd-folyadék elválasztás  
(1/b Sejtfeltárás: csak akkor, ha a termék intracelluláris)
2. Koncentráció lépés(ek) → a nagyobb mennyiségben jelen lévő szennyezéseket (elsősorban a vizet) választjuk el.
3. Tisztítás → a termék és a szennyező anyagok elválasztása
4. Vég tisztítás (polishing) → a terméket a kereskedelmi forgalomba hozás előírásainak megfelelő tisztaságig tisztítják.



## BIOTECHNOLÓGIAI FOLYAMATOK KINETIKÁJA

Kinetika: a folyamatok időbeli lefolyását, azaz sebességét leíró tudomány (lásd: fizika).

A biotechnológiában:

1. Enzimkinetika → az enzimek által katalizált kémiai reakciók sebességével, a befolyásoló tényezőkkel foglalkozik.
2. A mikrobák szaporodását leíró kinetika → a sejtek szaporodását leíró törvényszerűségek.
3. Termékképződési kinetika → azt vizsgálja, hogy egy sejtenyészeten milyen sebességgel termel egy számunkra fontos biokémiai anyagot, terméket.



## Enzimes reakciók

A reakció általános leírása:



Fogalmak:

Szubsztrát (S): a reakcióban átalakuló molekula.

Termék (P): a reakcióban keletkező molekula.

Koenzim: olyan reakciópartner molekula, amely egyes enzimes reakcióhoz nélkülözhetetlen, a reakcióban részt vesz és maga is átalakul (pl. ATP, NAD, stb.)

Kötőhely, aktív centrum: az enzim felületének az a része, ahol a szubsztrát megkötődik, illetve átalakul.

Egy enzim csak egyféle típusú reakciót katalizál.

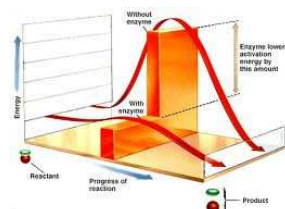


## ENZIMKINETIKA

Enzimek = biokatalizátorok

Katalizátor:

- az aktiválási energia csökkentésével meggyorsítja kémiai reakciót.
- Csak termodinamikailag lehetséges reakciót gyorsít
- Az egyensúlyt nem befolyásolja
- Kis mennyiségben is hatékony, mert a reakció után változatlan formába visszaalakul



Anyaguk: fehérje, bonyolult szerkezet (harmad-, negyedleges)

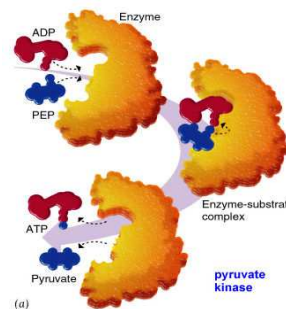


## Enzimes reakciók 2.

A kötőhely specifikus: csak bizonyos molekulákat köt meg. A két molekula felülete (alakja, töltése) komplementer módon illeszkedik egymáshoz.

(KULCS - ZÁR)

Az enzim felületét az aminosav oldalláncok adják → egy aminosav eltérés is elronthatja.



### Enzimes reakciók 3.

A specifitás szintjei:

Csoportspecifitás: a szubsztrát egy bizonyos funkciós csoportját köti meg és alakítja át, a molekula többi részét nem ismeri fel.

Szubsztrátspecifitás: a teljes molekulát felismeri, csak egyféle szubsztrátot alakít át

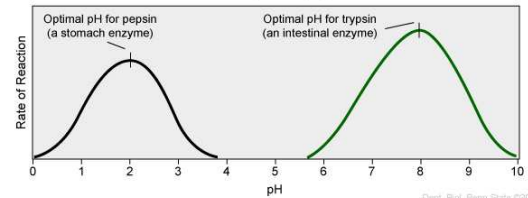
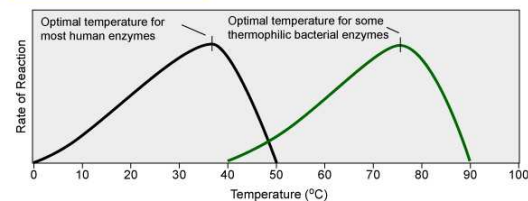
Sztereospecifitás: a királis (tükörkép) molekulák között is különbséget tesz, csak az egyik forma reakcióját katalizálja

Az enzimes reakció sebessége függ:

- hőmérséklet
- pH
- szubsztrát koncentráció
- enzim koncentráció
- inhibitorok

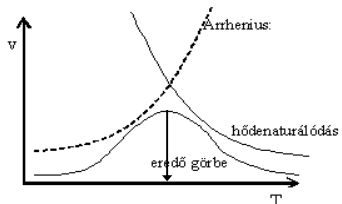


**Optimal Temperature and pH**



### A hőmérséklet hatása

A reakciósebesség exponenciális kapcsolatban van a hőmérséklettel (Arrhénius), tehát gyorsul a reakció. Magasabb hőmérsékleten viszont a fehérje denaturálódik, a reakció lassul. A két ellentétes folyamat eredőjeként az enzimes reakcióknak van egy optimális hőmérséklete, ahol a reakciósebesség a legnagyobb.



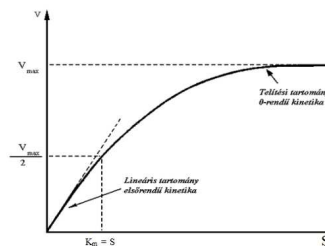
### A szubsztrátkoncentráció hatása

Ha több a szubsztrát → nagyobb valószínűséggel találkoznak az enzimmel → több alakul át → nagyobb reakciósebesség.

De van ennek egy felső határa → telítés

$$v = \frac{V_{max} (S)}{K_m + (S)}$$

Michaelis-Menten egyenlet

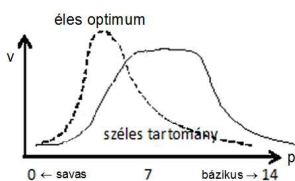


### A pH hatása az enzimaktivitásra

Az aktív centrumban a felületi töltésmintázat komplementer a szubsztrátéval. A pH-változás hatására ez megváltozik – az enzim rosszabbul köti a szubsztrátot – lassul a reakció.

Szélsőséges pH-nál (erősen savas vagy lúgos közegben) tönkremegy (denaturálódik) a fehérje, nulla a reakciósebesség.

Van egy optimális pH érték/tartomány.

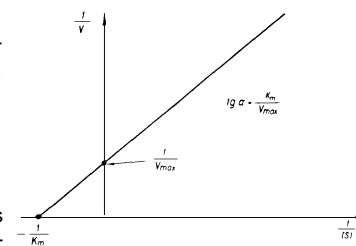


### A szubsztrátkoncentráció hatása

A hiperbolikus függvényt nehéz kezelni, ezért linearizálják (Lineweaver-Burk ábrázolás)

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{v_{max}} \cdot \frac{1}{(S)} + \frac{1}{v_{max}}$$

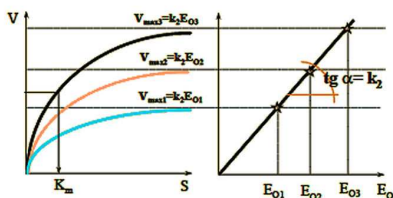
A tengelymetszetekből és a meredekségből a paraméterek kiszámíthatók.



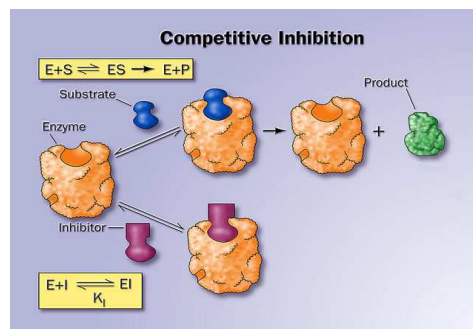
### Enzim koncentráció hatása

Lineáris kapcsolat → nx több enzim → nx nagyobb  $v_{max}$   
 Ha nagy szubsztrátkoncentrációnál mérjük a reakciósebességet, akkor a maximális reakciósebesség ( $v_{max}$ ) arányos lesz az enzimkoncentrációval:

$$V = V_{max} = k_2 (E)_t$$



### Kompetitív inhibitorok



### ENZIMMODULÁTOROK

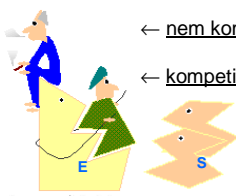
Az enzim reakció sebességét befolyásoló kémiai anyagok. Lehetnek:

**Inhibitorok:** reakciósebességet csökkentő, gátló anyagok

**Aktivátorok:** reakciósebességet növelő anyagok

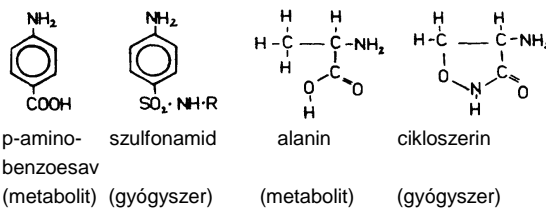
Az inhibitorok hatásmechanizmusa eltérő lehet:

- ← **nem kompetitív** inhibitor (az enzim felületén máshol kötődik)
- ← **kompetitív** inhibitor (a szubsztrát helyére kötődik)



### Kompetitív inhibitorok

A gyógyszerek nagy része kompetitív inhibitoroként hat:



### Kompetitív inhibitorok

Ezek a molekulák szerkezetükben hasonlítanak a szubsztráthoz, és képesek annak helyére bekötődni.

Ezt a vegyületcsoportot **kompetitív inhibitorok** nevezzük, mivel az I és S egymással verseng az enzim aktív centrumához történő kapcsolódásban. Ezen belül lehet:

**Alternatív szubsztrát:** az enzimes reakció végbemegey, alternatív termék keletkezik

**Valódi (dead end) inhibitor:** a szubsztráthoz hasonló szerkezetű molekula, ami bekötődik az enzim aktív centrumába, de a reakció nem játszódik le. Lehet: - reverzibilis, - irreverzibilis

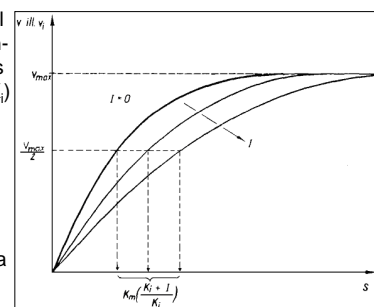


### A kompetitív inhibíció kinetikája

A sebesség megadásánál figyelembe kell venni az inhibitor koncentrációt (I) és az inhibíciós állandót ( $K_i$ ) is.

$$v_i = \frac{v_{max}(S)}{K_M \left[ \frac{K_I + (I)}{K_I} \right] + (S)}$$

$V_{max}$  értéke nem változik, a  $K_m$  növekszik



### A kompetitív inhibíció kinetikája

A Lineweaver-Burk féle lineárisított ábrázolásban az egyenes egyenlete:

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_M}{v_{max}} \left[ \frac{K_I + (I)}{K_I} \right] \cdot \frac{1}{(S)} + \frac{1}{v_{max}}$$

$1/v_{max}$  értéke nem változik (közös metszéspont), az  $1/K_m$  csökken

25

### A nem-kompetitív inhibíció kinetikája

A sebesség megadásánál itt is be kell építeni az inhibitor koncentrációt (I) és az inhibíciós állapotot ( $K_i$ ) is.

$$v_i = \frac{\left[ \frac{K_I}{K_I + (I)} \right] v_{max} (S)}{K_M + (S)}$$

$v_{max}$  értéke az inhibitor koncentráció növelésével csökken, a  $K_m$  nem változik

28

### Nem-kompetitív inhibíció

Az inhibitor molekula nem hasonlít a szubsztrátra, és nem az aktív centrumba kötődik. Az enzim felületén valahol máshol kapcsolódik, de ezzel nem befolyásolja a szubsztrát bekötődését. Létrejöhet ESI hármas komplex is.

A második lépést, a termék kialakulását és kilépését gátolja. Megváltoztatja a fehérjemolekula-láncok térszerkezetét → megváltozik az aktív centrum szerkezete → a szubsztrát nem tud elreagálni → a reakció lelassul vagy leáll.

„Mérgezi” az enzimet, mintha kevesebb enzim lenne jelen.

26

A Lineweaver-Burk féle lineárisított ábrázolásban az egyenes egyenlete:

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_M}{\left[ \frac{K_I}{K_I + (I)} \right] v_{max}} \cdot \frac{1}{(S)} + \frac{1}{\left[ \frac{K_I}{K_I + (I)} \right] v_{max}}$$

A  $-1/K_m$  értéke nem változik (közös metszéspont), az  $1/v_{max}$  növekszik

29

