

3. Aminosavak gyártása



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

1

Az aminosavak felhasználása

nátrium-glutamát → ízfokozó (Delikát, Vegeta)
lizin, metionin, treonin, triptofán →
takarmány- és élelmiszerkiegészítő
aszparaginsav és fenilalanin →
aszpartám édesítőszer gyártásához
cisztein és triptofán → antioxidáns
(gyümölcslé, tejpor)
tápszerek, infúziós oldatok,
gyógyszerek



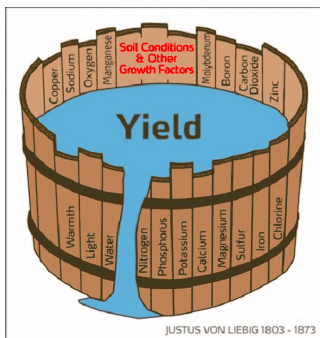
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

2

Liebig minimumtörvénye

Justus von Liebig (1873):
ha egyetlen tápanyagkomponensből is hiány van, a növények növekedése korlátozott, még akkor is, ha az összes többi tápanyag megfelelő mennyiségben jelen van. A növények növekedése akkor fokozódik, ha a hiányos tápanyagot hozzáadjuk.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

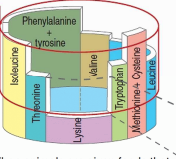
3

3

Táp(lálék)kiegészítés

Ugyanez igaz az állati takarmányozásra is:

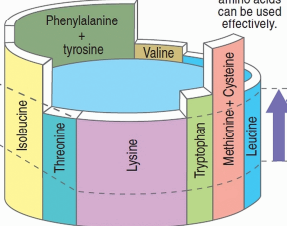
<Unbalanced barrel>



Amino acids that cannot be used effectively

When animals are given feeds that are deficient in even one of the amino acids needed, the body cannot effectively use the other amino acids and they will be excreted.

<Barrel with added lysine>




By adding lysine, which tends to be lacking in feed, all other amino acids can be used effectively.

4

Táp(lálék)kiegészítés

A növényi eredetű (gabona) takarmány nem teljes értékű fehérje – esszenciális aminosavakból kevés van benne. A hasznosulást mindig a legkisebb mennyiségben jelenlévő szabja meg (limitáló szubsztrát).

A teljes értékű fehérje (hallszt, tejfehérje, szója) drága és kevés van belőle →
 a növényt kell aminosavakkal kiegészíteni.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

5

5


Aminosavak előállítása

Fehérje-hidrolizátumokból: cisztein, leucin, aszparaginsav, tirozin, glutaminsav

Kémiai szintézissel: metionin, glicin, alanin, triptofán
 (rezolválás szükséges)

Biotechnológiai úton:

- Direkt fermentációval: vad törzs, auxotróf és regulátor-mutáns változatait használják pl: glutaminsav, lizin
- Prekurzor addíciós eljárással: + olyan vegyület, amelyet beépítve könnyen elő tud állítani aminosavat
- Enzimes, sejtes biotranszformációval: egyetlen biokémiai lépés



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

6

Az aminosavgyártás története

- 1909: nátrium-glutamát siker, illetve szója hidrolízisével (Ajinomoto, Japán)
- 1957: glutaminsav és nukleotidok fermentációja *Corynebacterium glutamicum* törzssel (Kinoshita, Japán)
- 1981: a világon összesen 365.000 t aminosavat állítottak elő
- 1998: évi 1,5 millió tonna = 1,7 milliárd USD
A 17 nagy gyártó cégből 13 japán tulajdonú.
- 2006-2007: az Ajinomoto a piac 60%-át uralja az éves nettó eladás ~10 mrd USD
- 23 országban 121 gyár 30000 munkahely
- Magyarországon is: Evonik (Degussa), Kaba, 40.000 t/év



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

7

7

Az aminosavgyártás megoszlása (2006)

Mennyiség t/év	Aminosav	Alkalmazott eljárás	Felhasználás
1.000.000	L-Glutaminsav	Fermentáció	Ízfokozó
350.000	L-Lizin	Fermentáció	Tak.kiegészítő
350.000	D,L-Metionin	Kémiai szintézis	Tak.kiegészítő
75.000	L-Treonin	Fermentáció	Tak.kiegészítő
10.000	L-Asparaginsav	Enzimes konverzió	Aszpartám
10.000	L-Fenilalanin	Fermentáció	Aszpartám
10.000	Glicin	Kémiai szintézis	Tápl.kiegészítő, édesítőszer
3.000	L-Cisztein	Cisztin-redukció	Tápl.kiegészítő, gyógyszer
1.000	L-Arginin	Fermentáció, extrakció	Gyógyszergyártás
500	L-Leucin	Fermentáció, extrakció	Gyógyszergyártás
500	L-Valin	Fermentáció, extrakció	Gyógyszergyártás
300	L-Triptofán	Nyugósejtes konverzió	Gyógyszergyártás
300	L-Izoleucin	Fermentáció	Gyógyszergyártás

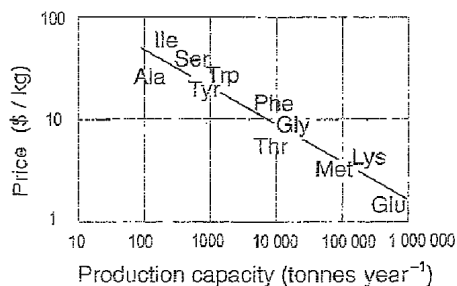


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

8

8

Itt is érvényes a mennyiség-ár kapcsolat



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

9

9

Anyagcsere mérnökség – metabolic engineering

A primer metabolitok előállításánál a génállományt úgy változtatják meg, hogy:

1. A bioszintézis út elágazásait lezárják, ezáltal minden anyag a céltermék irányába áramlik (auxotróf mutánsok)
2. A terméket továbbalakító reakciólépéseket eliminálják (auxotróf mutánsok).

Ha ezek létfontosságú molekulák előállítását érintik, akkor leaky (szívárgó) mutánsok, vagy tápoldatkiegészítés

3. Felfüggesztik a túltermelést megakadályozó mechanizmusokat (antimetabolit rezisztens mutánsok)

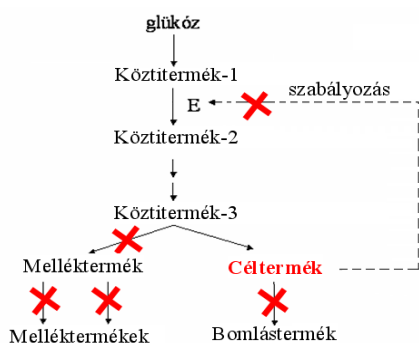


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

10

10

Anyagcsere mérnökség – metabolic engineering



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

11

11

Ipari mutáns törzsek jellemzői

AS	Törzs	Genetikai jellemzők	Kihoz (g/l)	C-forrás
Arg	<i>Brevibacterium flavum</i>	Gua ^r , Ta ^r	35 25	Glükóz Ecetsav
Glu	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Vad törzs	>100	Glükóz
	<i>Brevibacterium flavum</i>		98	Ecetsav
	<i>Arthobacter paraffineus</i>		82	n-paraffin
Lys	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Hom ^r , Leu ^r , AEC ^r	39	Glükóz
	<i>Brevibacterium flavum</i>	AEC ^r	57	Szacharóz
	<i>Brevibacterium flavum</i>	Hom ^{leaky} , Thr ^r	75	Ecetsav
Trp	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Phe ^r , Tyr ^r , 5MTrp ^r , 6FTrp ^r	12	Glükóz



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

12

12

Tipikus fermentációs technológia

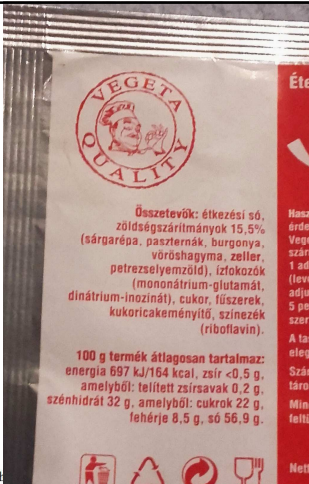

A fermentáció:
 Nagy, levegőztetett fermentorok (50 - 500 m³)
 Rátáplálásos technológia
 pH szabályozás (karbamid, ammónia)
 Steril körülmények
 Fágok elleni védekezés
 AS feldolgozás jellemző műveletei: izoelektromos ponton történő kicsapás, ioncserés adszorpció, elektrodiálízis, szerves oldószeres extrakció



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 13

13

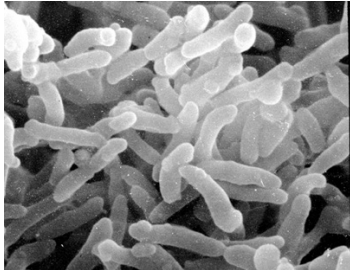

GLUTAMINSAV (Glu) ELŐÁLLÍTÁSA

$$\begin{array}{c}
 \text{OH} \\
 | \\
 \text{O}=\text{C} \\
 | \\
 \text{CH}-\text{C}-\text{C}-\text{C}=\text{O} \\
 | \quad | \quad | \quad | \\
 \text{NH}_2 \quad \text{H}_2 \quad \text{H}_2 \quad \text{OH}
 \end{array}$$



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14

A fermentációt *Corynebacterium glutamicum* törzssel valósították meg először (1957)
 Ez egy Gram+, nem spórás, nem csillós törzs

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék


15

GLUTAMINSAV (Glu) ELŐÁLLÍTÁSA

A későbbiekben

- *Corynebacterium* spp. (*C. glutamicum*; *C. lilium*)
- *Brevibacterium* spp. (*B. divericartum*; *B. alanicum*)
- *Microbacterium* spp. (*M. flavum* var. *glutamicum*)
- *Arthrobacter* spp. (*A. globiformis*; *A. aminofaciens*)

Ezek jellemzően: - Gram pozitív,
 - nem mozgékony,
 - biotin-igényes törzsek,
 - az α -ketoglutarát-dehidrogenáz aktivitásuk kicsi, vagy hiányzik



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

16

BIOSZINTÉZIS

A bioszintézis kulcslépése egy redukzív aminálás:

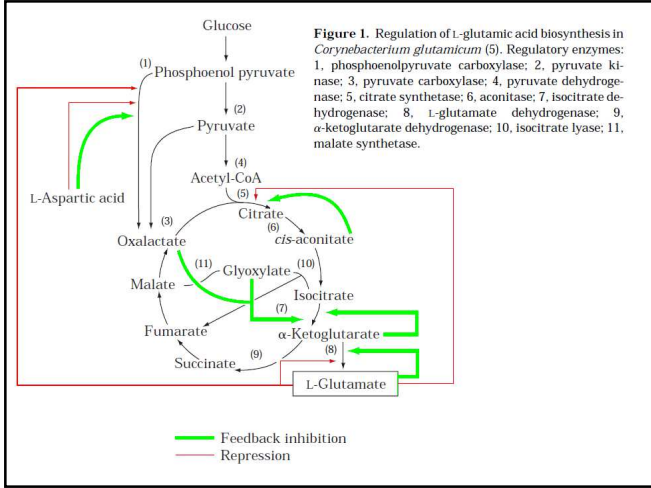
$$\alpha\text{-keto-glutársav} + \text{NH}_3 + \text{NADH}_2 \rightarrow \text{glutaminsav} + \text{H}_2\text{O} + \text{NAD}$$

Az α KGS a citrátkörben keletkezik, onnan kell elvonni.
 Ha sokat elveszünk, nem zárul körfolyamat – valahogyan vissza kell pótolni az elvesztett intermediereket → anaplerotikus (feltöltő) utak: piruvátból oxálacetátot termelnek. Nem általános, de a *Corynebacterium*-oknál és a *Brevibacterium*-oknál működik.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

17



18

A BIOTIN SZEREPE

A törzs biotint igényel a szaporodáshoz.
 Másfelől a biotin koncentrációja befolyásolja a sejt citoplazma-membránjának permeabilitását: magas biotin szint mellett a termelt glutaminsav a sejtben marad és feedback inhibíció lép fel, ami lefékezi a szintézist, valamint tejsav képződik.
 Az optimális koncentráció alacsony, 3 - 5 $\mu\text{g/l}$.
 A melaszban több a biotin, ezt ellensúlyozni lehet:

- nemionos detergenssek (Tween) (sejtmembrán)
- telítetlen zsírsav csökkentés (sejtmembrán)
- penicillin adagolás (sejtfal)



19

A FERMENTÁCIÓS TECHNOLÓGIA

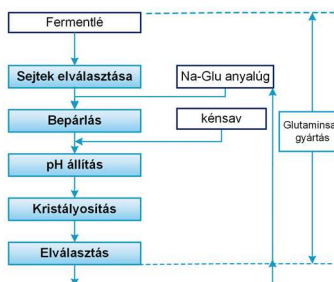
A C-forrás lehet szacharóz (melasz), glükóz, ecetsav, etanol, n-paraffin. Összesen ~16% cukor, rátáplálásos technológia, adagolás 36 óra után.
 N-forrás: ammóniumsók, később ammónia gáz (pH szabályozáshoz). Rátáplálással kell adagolni, mert a túl sok N elviszi a folyamatot a glutamin (Gln) termelés irányába
 pH: 7-8, T = 30-32 °C, 14 óra után felemelik 38-ra; t = 72 h
 Kofaktorként: Fe²⁺, K⁺, Mn²⁺ szükséges
 Biotin koncentráció: 2,5-3,5 $\mu\text{g/l}$
 Konverzió: 50-60 %
 Kétlépcsős folytonos technológiát is kidolgoztak



20

A FELDOLGOZÁS MENETE

A fermentlé feldolgozása két szakaszra bontható. Előbb a kristályos glutaminsavat állítják elő, majd ezt Na-glutamáttá alakítják.
 Mindkét folyamat kulcs lépése a bepárlás, majd kristályosítás. A kénsav visszaszorítja a Glu disszociációját, ezáltal oldhatósága romlik, jobban kristályosítható.



21

A FELDOLGOZÁS MENETE

A kristályos glutaminsavat nátrium hidroxiddal feloldják és közömbösítik. Aktív szén tisztítás után bekonzentrálják és kikristályosítják. A kristályosítás anyalúgját visszaviszik a glutaminsav feldolgozás folyamatába.

BME Alkalmazott Biotechn

22

Lizin (Lys)

$$\begin{array}{c}
 \text{OH} \\
 | \\
 \text{O}=\text{C} \\
 | \\
 \text{CH}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{NH}_2 \\
 | \quad | \quad | \quad | \\
 \text{H}_2 \quad \text{H}_2 \quad \text{H}_2 \quad \text{H}_2 \\
 | \\
 \text{NH}_2
 \end{array}$$

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

23

A lizin felhasználása takarmányokban

A gabona alapú takarmányok feltűnően szegények lizinben.

Lizin (+ Met, Thr és Trp) hozzáadásával fehérje és szénhidrát tartalmuk sokkal jobban hasznosul.

A lizin termelés nyereségessége mindig függ a szójadara aktuális áráról.

Tápanyag/ takarmány	Lizin (%)
Kukorica	0.21
Zab	0.5
Árpa	0.4
Búza	0.6
Szója	2.9
Élesztő	3.4
Tejpor	2.5
Húsliszt	2.6

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

24

Bioszintézis

A lizin kétféle anyagcsereúton képződhet, mindkettő aszparaginsavból indul:

- > Diamino-pimelinsav út
- > Aszparaginsav-szemialdehid út

A *Corynebacterium* és *Brevibacterium* törzsek ez utóbbi utat használják. Anyagcsere-mérnökileg a következő mutációs változásokat hozták létre:

Hom⁻ illetve Hom^{leaky}, Met⁻, Thr auxotrófia, illetve AEC^r és ML^r regulációs mutánsok

Egyes organizmusokban a lizin dekarboxilezéssel kadáverinné alakul, de ezekből a baktériumokból ez hiányzik.

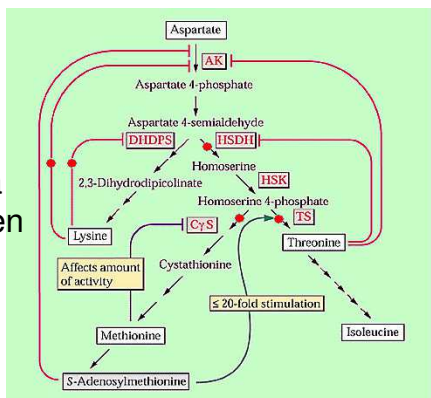


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

25

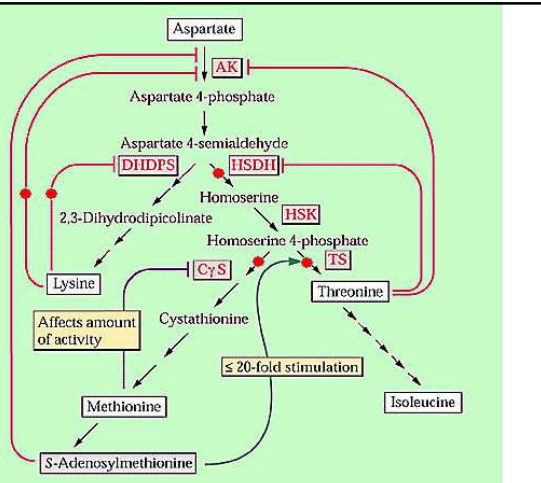
25

Mutációs változások a bioszintézisben



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

26



27

Fermentációs technológia

C-forrás: glükóz, melasz, alternatív megoldásokban ecet-sav vagy paraffin

A nitrogénforrás ammónia, ammónium-só vagy karbamid

A homoszerin, treonin és metionin kis koncentrációban jelen kell hogy legyen (szója, kukoricalekvár adagolás), de ha leaky a mutáns, akkor nem kell adagolni, ezzel is csökken az önköltség.

Biotinból minimum 30 $\mu\text{g/l}$ szükséges (cukornádmelasz)

Opt: pH= 7, T= 28°C t(ferm)= 60 óra



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

28

28

Fermentációs technológia

100-120 g/l végső lizin koncentráció,
 a produktivitás $Y_p=40-50\%$.

Speciális fertőzésveszély: lizin-dekarboxiláz termelők – kadáverin termelődik (hullaméreg). Ilyen törzsek az *Escherichia coli*, *Clostridium welchii*, *Aerobacter aerogenes* → tetraciklin adagolásával a befertőződés veszélye csökkenthető

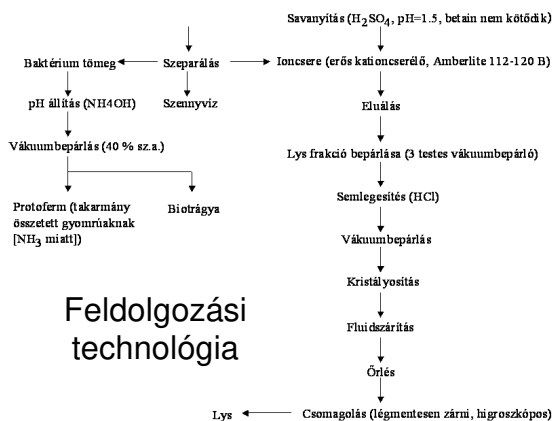


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

29

29

Feldolgozási technológia



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

30

30

Aszparaginsav (Asp) előállítása

Régen fermentációval, ma egylépéses biotranszformációval (sejtes vagy enzimes) állítják elő.

$$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C}-\text{OH} \\ | \\ \text{CH} \\ | \\ \text{CH} \\ | \\ \text{C}-\text{OH} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$$

fumársav

$\xrightarrow{\text{enzim} + \text{NH}_3}$

$$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C}-\text{OH} \\ | \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH} \\ | \\ \text{CH}_2 \\ | \\ \text{C}-\text{OH} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$$

aszparaginsav

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

31

31

$$\begin{array}{c} \text{HOOC}-\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH} \\ + \text{NH}_3 \\ \downarrow \\ \boxed{\text{E}} \\ \downarrow \\ \text{H}_2\text{SO}_4 \\ \text{pH } 2.8 \\ \rightarrow \text{precipitation} \rightarrow \\ \text{HOOC}-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH} \end{array}$$

75 l-es oszlopban, 8,5 pH-n és 37°C-on Konverziófok: 99%

+ MgCl₂ → aktivitás, stabilitás nő

Feldolgozás: 1. savanyítás: pH: 2,8, 2. hűtés → kicsapódik

t_{1/2}(E) = 6 hónap

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

32

32

Az aszparaginsav felhasználása

Mesterséges édesítőszer (aszpartám) egyik összetevője

Gyógyszeriparban összetevő, illetve alapanyag

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

33

33

SZERIN ELŐÁLLÍTÁSA

A metanol-hasznosítás egyik biokémiai útja a „szerin út”, ahol a Gly-hez kapcsolódik az aktív C1 egység.

A MeOH olcsó, a kérdés az, hogy honnan vegyük a glicint:

- szintetikusán (amino-ecetsav, nincs aszimmetria-centruma)
- biokémiai úton, megfelelő anyagcseréjű törzsekkel (glicoxilát termelők)



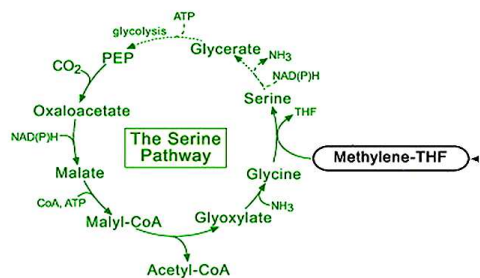
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

34

34

SZERIN ELŐÁLLÍTÁSA

A glicin fermentáció és a szerin bioszintézis kapcsolata:



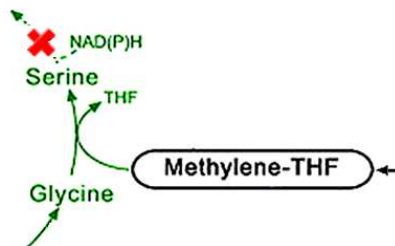
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

35

35

A SZERIN KÖRFOLYAMAT

Ha a folyamatot a szerin után megállítjuk, felhalmozódást érhetünk el:



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

36

36

SZERIN ELŐÁLLÍTÁSA

A glicin fehérje-alkotó aminosav, nagyobb koncentrációban mégis toxikus → toleráns mutánsokat izoláltak.

Ipari eljárás:

Törzs: metilotróf (pl. *Pseudomonas*), Gly toleráns

Szaporítási szakasz: pH ~ 4,5, hőmérséklet ~ 30 °C

Termelési szakasz: glicin adagolás indul, a hidroxí-piruvát-reduktázát gátolják:

- Hőmérséklet emelés 40-42 fokig
- pH emelés 8,5 – 9,5 -ig
- Co²⁺ vagy Ni²⁺ adagolása

Végő koncentráció: 20-24 g/l, konverzió ~50 % (mól/mól)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

37

37

SZERIN ELŐÁLLÍTÁSA

A szerint kinyerhetjük még melaszából is, ioncserélő gyantával, pH = 5,7-nél.

Vagy:

A szintetikusan gyártott racém szerin oldatot 35%-ra bepárolva a D-szerin frakció kiválik, szűréssel elválasztható, az L-szerin oldatban marad.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

38

38

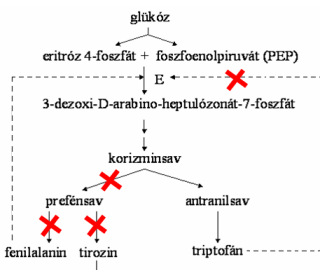
A TRIPTOFÁN ELŐÁLLÍTÁSA

Lehetőségek:

1. De novo bioszintézis: szénhidrátokból sok lépéssel. A japánok ezt is megoldották a *Corynebacterium* és *Brevibacterium* törzsekkel, de ezek keveset termelnek.

Anyagcsere-mérnöki szelekció:

Phe^r, Tyr^r,
 5-Me-Trp^r



BME Alkalmaz

39

A TRIPTOFÁN ELŐÁLLÍTÁSA

2. Prekursoros bioszintézis: indol, vagy indol+glicin adagolásával.

Indol alapon: szerin termelő törzsek tenyésztéséhez indolt adnak:

metilotrófok: glicin + indol

élesztők (*Candida*, *Hansenula*): indol

Az indol nagyobb koncentrációban károsítja a sejteket, ezért folyamatos mérések alapján adagolják (0,5 – 1,0 g/l)

Triptofánra el lehet érni az oldhatósági határt (~12 g/l)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

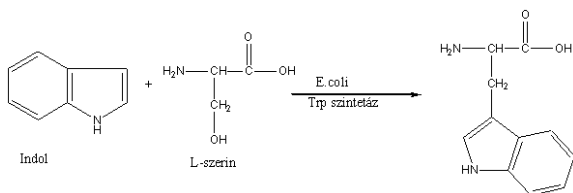
40

40

A TRIPTOFÁN ELŐÁLLÍTÁSA

3. Biokonverzió: a szerin + indol összekapcsolása egy lépéses enzimikus reakció.

Megvalósítható nyugvó sejtekkel, vagy izolált, esetleg immobilizált enzimmal.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

41

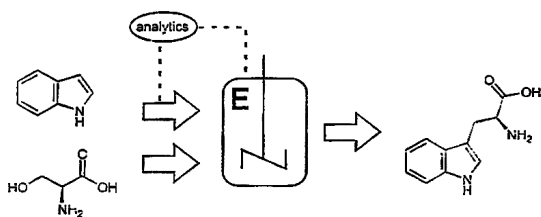
41

A TRIPTOFÁN ELŐÁLLÍTÁSA

Ipari konverziós eljárás (Amino GmbH, D, 1988 óta)

Törzs: *Escherichia coli* nyugvósejtes tenyésztete

Körülmények: pH = 8 – 9, t = 40 °C, vizes közeg, fed batch piridoxál foszfát szükséges, az indolt on-line HPLC méri



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

42

42

A TRIPTOFÁN ELŐÁLLÍTÁSA

Tartózkodási idő: 6 óra
 Termékkoncentráció: 12,25 g/l (telítési, a Trp kiválik és a sejtekkel együtt elválasztható)
 Feldolgozás: a csapadékból forró vízzel feloldják a triptofánt, majd elválasztják a sejtektől. Többszöri kristályosítás.
 Konverzió: 95 % (indolra)
 Éves termelés: 30 t/év

A TRIPTOFÁN FELHASZÁLÁSA:

- aktív gyógyszerkomponens (az agyi szerotonin szintre hat, nyugtat, altat, antidepresszáns)
- tápanyag-kiegészítő (essenciális)
- intermedier



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

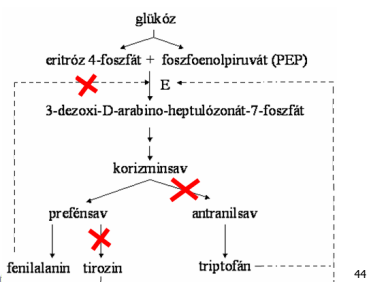
43

43

L-FENILALANIN ELŐÁLLÍTÁSA

Lehetőségek (közös szintézisút a triptofánnal):
 1. De novo bioszintézis: szénhidrátokból sok lépéssel. A japánok ezt is megoldották a *Corynebacterium* és *E. coli* törzsekkel.

Anyagcseremérnöki szelekció:
 Trp, Tyr



BME AI

44

44

FERMENTÁCIÓS ELŐÁLLÍTÁS

Törzs: *E. coli* és *Corynebacterium* mutánsok
 Technológia:

- 3 db 150 m³-es fermentor,
- a fermentációs idő 2,5 nap
- a végső fenilalanin koncentráció ~20 g/l.
- Kapacitás: 1000 t/év



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

45

45

L-FENILALANIN ELŐÁLLÍTÁSA

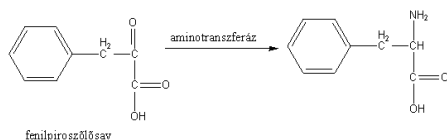
2. Biokonverzió:

2.1. Fenil-piroszölősavból transzaminálással

Törzsek: *E. coli*, *Pseudomonas fluorescens*

Amino-donor: L-aminosavak, Glu, Asp. Az NH_4^+ ion nem alkalmas.

Aktív anyag: nyugvó, vagy immobilizált sejtek.



fenilpiroszölősav



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

46

46

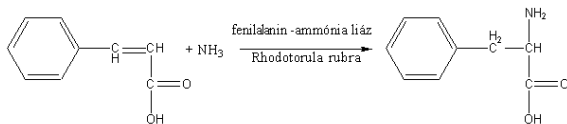
L-FENILALANIN ELŐÁLLÍTÁSA

Biokonverzió:

2.2. transz-fahéjsavból addícióval

Törzs: *Rhodococcus rubra*, *Rhodotorula rubra*

Körülmények: mind a szaporítás, mind a konverzió szigorúan anaerob körülmények között megy végbe, N_2 atmoszférában. pH = 10,6(!) t = 25 °C, vizes közeg, de: 15% NH_3 (!!)
 Mert különben balra tolik az egyensúly.



transz-fahéjsav



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

47

47

L-FENILALANIN ELŐÁLLÍTÁSA

Körülmények:

Adagolások: ammónium-cinnamát, a pH szabályozáshoz NH_3 , illetve CO_2 .

Keverés: N_2 befúvatásával

Phe koncentráció: 43 g/l

Kihozatal: 85,7 %

Feldolgozás: centrifugálás, bepárlás.

Kristályosítás

A FENILALANIN FELHASZNÁLÁSA

aszpartám (édesítőszer) gyártására
 gyógyszeripari alapanyag



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

48

48

L-FENILALANIN ELŐÁLLÍTÁSA

A technológiák összehasonlítása:

	Fermentáció	Prekurzoros	Biokonverzió
Nyersanyag	glükóz	fenilpiroszülő sav	transz-fabéjsav
Produktivitás (g/l/h)	0,6	3,5	1
Reakcióidő (óra)	24	8	15
pH	7	7,5	10
Hőmérséklet (°C)	35	35	35
Sejttömeg konc. (g/l)	20	10	70
Aminodonor	-	L-aminosav	NH ₃
Önköltség (\$/kg)	13	35	32

Technológiailag (a felső két sor) a konverziós eljárások a jobbak.
Gazdaságilag a fermentáció.
Ok: az alapanyagok ára nagyon eltérő.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

49

49

RESZOLVÁLÁS

Általánosan: a racém (DL) elegyek komponenseinek szétválasztása. Azért itt tárgyaljuk, mert az aminosavaknál csak a L-forma biológiailag aktív, ezt kell előállítani, használni.

Két fő út (ld. Biomérnöki alapfolyamatok):

- aszimmetrikus szintézis,
- aszimmetrikus hidrolízis

Ezek közül a hidrolízissel foglalkozunk, mert az egyedüli szintetikusan előállított aminosav, a Met esetében ezt alkalmazzák.

A racém aminosav keverékre olyan funkciós csoportot kötünk, aminek eltávolítására van sztereoselektív enzim.

Típusreakció: N-acilezés, majd hidrolízis aminoacilázzal.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

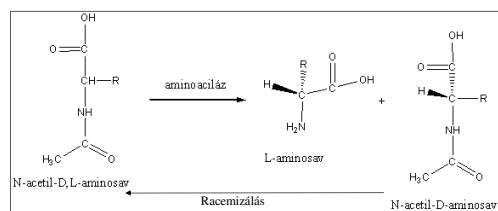
50

50

ASZIMMETRIKUS HIDROLÍZIS

Az aminoaciláz csak az L-aminosavakat szabadítja fel, a D-származék megmarad. Ez utóbbit lúgos főzéssel racemizálják, újra acilezik, és visszaviszik a folyamat elejére.

Az enzimet az *Aspergillus oryzae* termeli, sokféleképpen immobilizálják (Sephadex, acetilcellulóz, géلزabírozás).



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

51

51

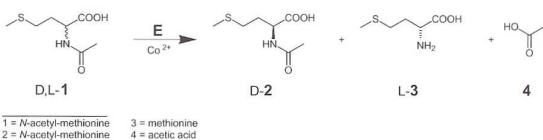
ASZIMMETRIKUS HIDROLÍZIS

A metionin rezolválása (Degussa eljárás).

Körülmények: pH = 7,0 t = 37 °C Co²⁺ effektor
Oldott enzim.

Feldolgozás: az L-Met kristályosítható, az enzimet ultra-
szűrőssel lehet visszanyerni.

Ugyanez az eljárás alkalmazható még: Ala, Phe, Val, Leu,
Trp, Tyr-ra is.



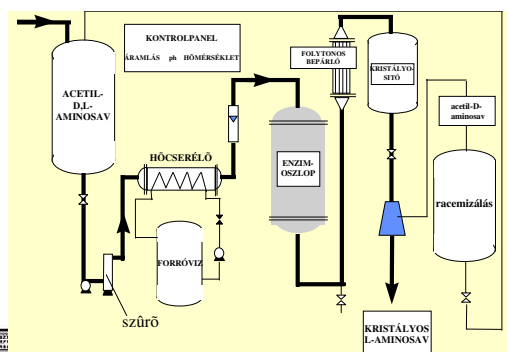
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

52

52

TANABE ELJÁRÁS

Immobilizált enzimmal



53

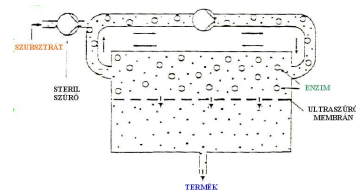
53

ASZIMMETRIKUS HIDROLÍZIS

Membrános eljárás: az oldott enzimet egy ultraszűrő mem-
brán tartja vissza, míg a termék szabadon áthalad.

A keringetés során az enzim lassan elveszti az aktivitását a
nyíró hatások miatt.

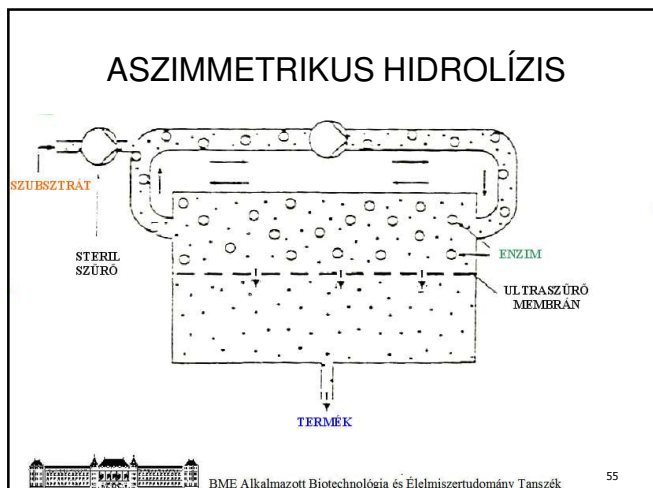
Kapacitás: 200 t/év, Met, Val, Phe gyártás



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

54

54



55

Aszimmetrikus hidrolízis: lizin előállítása kaprolaktámból

A D,L- α -amino- ϵ -kaprolaktám aszimmetrikus hidrolízissel L-lizinné hidrolizálható:

1 = α -amino- ϵ -kaprolaktám (ACL) E1 = L-aminolaktám-hidroláz
 2 = lizin E2 = amino-laktám-racemáz

Toray Inc

Egy másik enzimmel – amino-laktám racemáz – a megmaradó D-kaprolaktám racemizálható, és visszavihető a folyamatba.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 56

56

Aszimmetrikus hidrolízis: lizin előállítása kaprolaktámból

Ha a két enzim azonos pH-n aktív, akkor a két lépés egy reaktorban megvalósítható.

Körülmények: pH = 8-9 t = 40 °C vizes közeg
 Nyugvósejt szuszpenzió
 Mikroorganizmusok: *Candida humicola* + *Alcaligenes faecalis*,
 vagy *Cryptococcus laurentii* + *Achromobacter obae*

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 57

57

Lizin előállítása kaprolaktámból

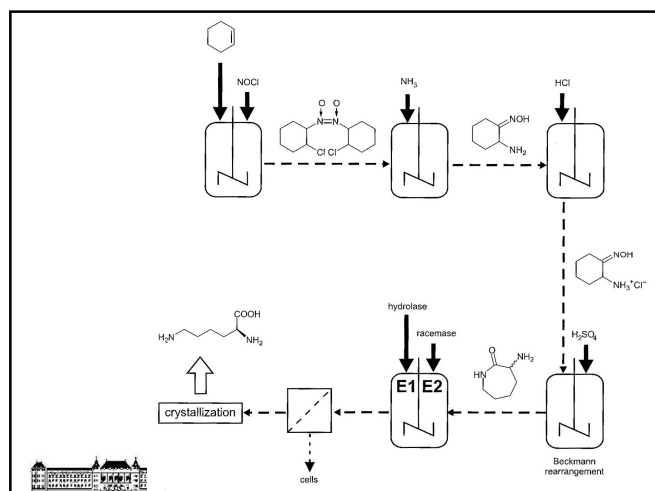
Alapanyag: ciklohexén + NOCl
 Reaktor: batch, 25 óra
 Kihozatal: 99,5%
 Kapacitás: 4000 t/év
 Feldolgozás: kristályosítás



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

58

58



59
