

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



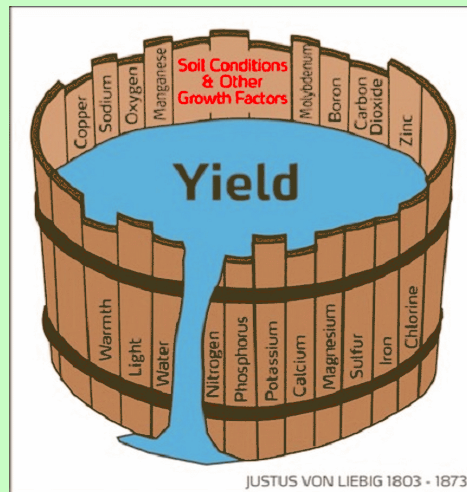
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

2

Liebig minimumtvénye

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

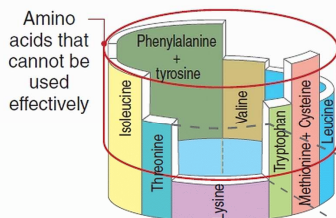
3

3

Táp(lálék)kiegészítés

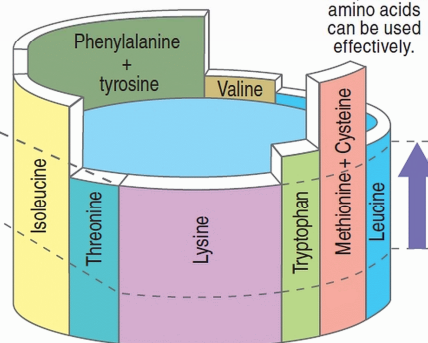
Ugyanez igaz az állati takarmányozásra is:

<Unbalanced barrel>



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>



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 (halliszt, tejfehérje, szója) drága és kevés van belőle →

a növényt kell aminosavakkal kiegészíteni.



5

Aminosavak előállítása

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

Kémiai szintézissel: metionin, glicin, alanin, triptofán
(reszolválás 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



6

Az aminosavgyártás története

- 1909: nátrium-glutamát siker, illetve szója hidrolízisével (Ajinomoto, Japán)
- 1957: glutaminsav és nukleotidok fermentációja *Corynebacterium glutamicum* törzsszel (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

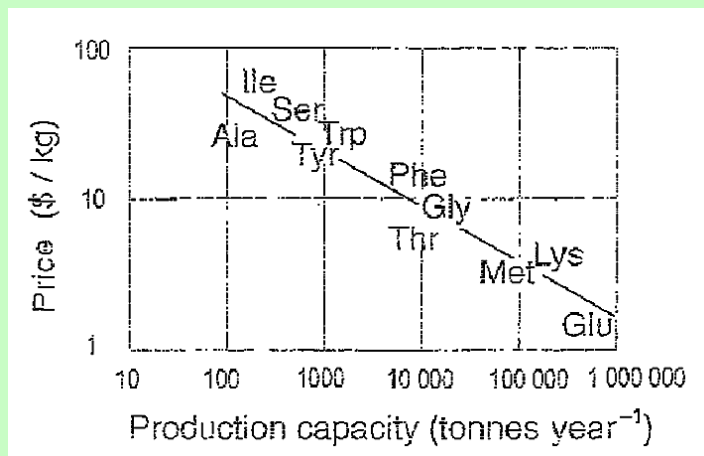


Az aminosavgyártás megoszlása (2006)

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, gyógyászat
1.000	L-Arginin	Fermentáció, extrakció	Gyógyszergyártás
500	L-Leucin	Fermentáció, extrakció	Gyógyszergyártás
500	L-Valin	Fermentáció, extrakció	Gyógyszergyártás
300	L-Triptofán	Nyugvósejtes konverzió	Gyógyszergyártás
300	L-Izoleucin	Fermentáció	Gyógyszergyártás



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 (szivárgó) mutánsok, vagy tápoldatkiegészítés

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

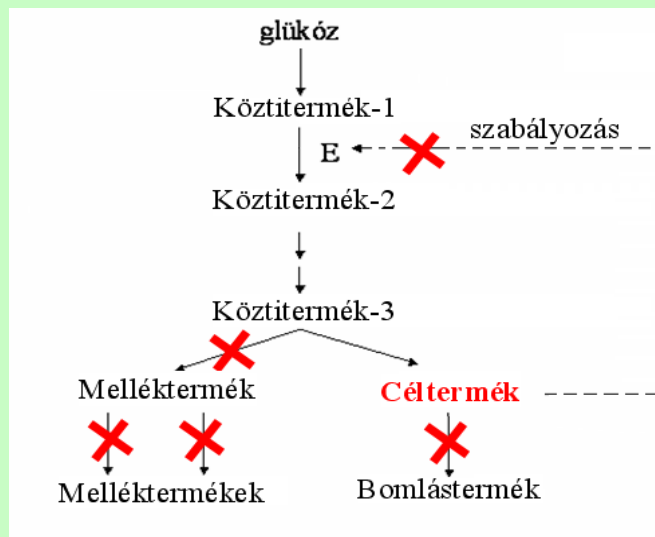


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

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

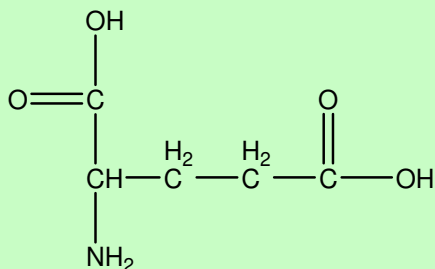


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

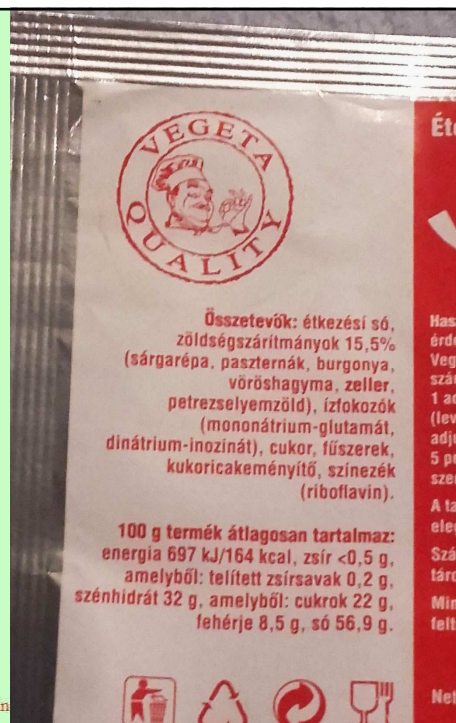
13

13

GLUTAMINSAV (Glu) ELŐÁLLÍTÁSA



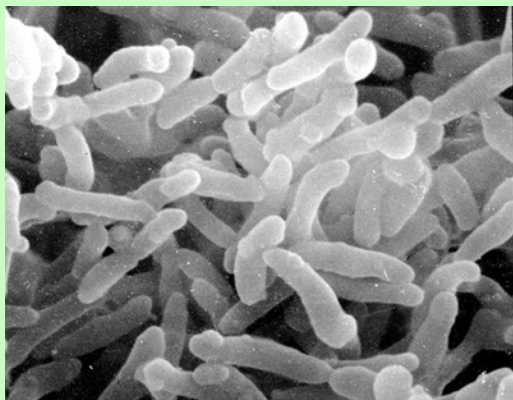
BME Alkalmazott Biotechn



14

A fermentációt *Corynebacterium glutamicum* törzsszel 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. lilum*)
- *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

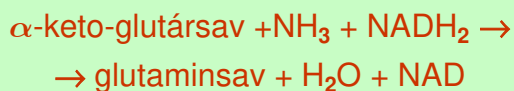


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

16

BIOSZINTÉZIS

A bioszintézis kulcslépése egy reduktív aminálás:



Az α KGS a citrátkörben keletkezik, onnan kell elvonni.

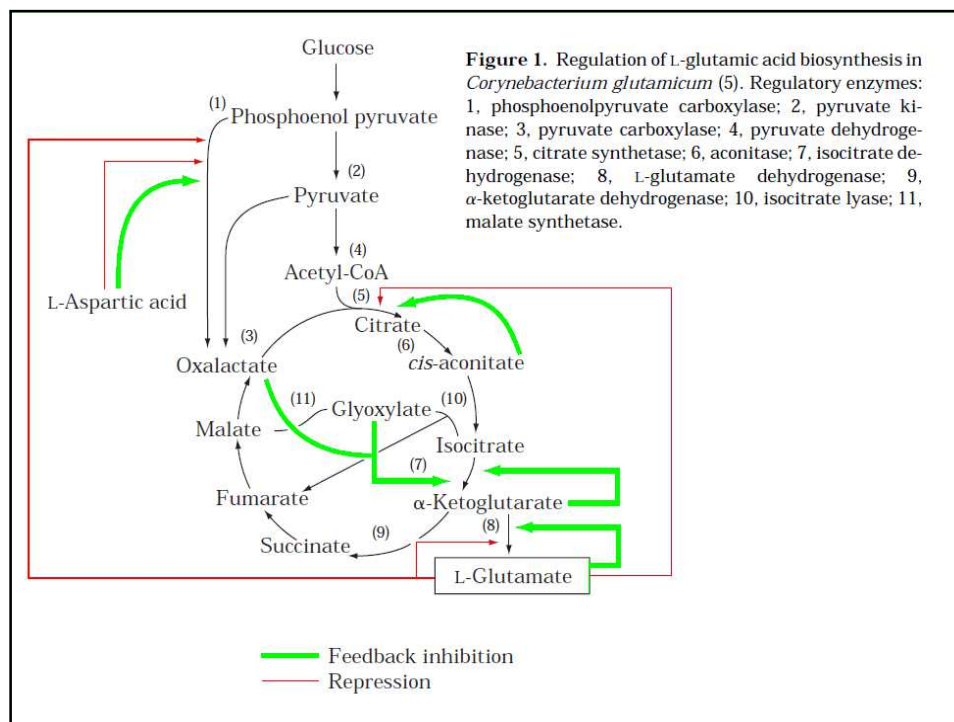
Ha sokat elveszünk, nem zárul körfolyamat – valahogyan vissza kell pótolni az elvett intermediereket → anaplerotikus (feltöltő) utak: piruvátból oxálacetátot termelnek. Nem általános, de a *Corynebacterium*-oknál és a *Brevibacterium*-oknál működik.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

17

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 detergens (Tween) (sejtmembrán)
- telítetlen zsírsav csökkentés (sejtmembrán)
- penicillin adagolás (sejtfal)



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: Fe^{2+} , K^+ , Mn^{2+} szükséges

Biotin koncentráció: 2,5-3,5 $\mu\text{g/l}$

Konverzió: 50-60 %

Kétlépcsős folytonos technológiát is kidolgoztak



A FELDOLGOZÁS MENETE

A fermentálé 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 visszazorítja a Glu disszociációját, ezáltal oldhatósága romlik, jobban kristályosítható.


 BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 21

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 Biotechno 22

22

Lizin (Lys)

$$\begin{array}{ccccccc}
 & & \text{OH} & & & & \\
 & & | & & & & \\
 \text{O} & = & \text{C} & & & & \\
 & & | & & & & \\
 \text{CH} & - & \text{C} & - & \text{C} & - & \text{C} & - & \text{C} & - & \text{NH}_2 \\
 & & | & & & & & & & & \\
 & & \text{NH}_2 & & & & & & & &
 \end{array}$$



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

23

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 árától.

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

22

24

Bioszintézis

A lizin kétféle anyagcsereúton képződhet, mindkettő aszparaginsavból indul:

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

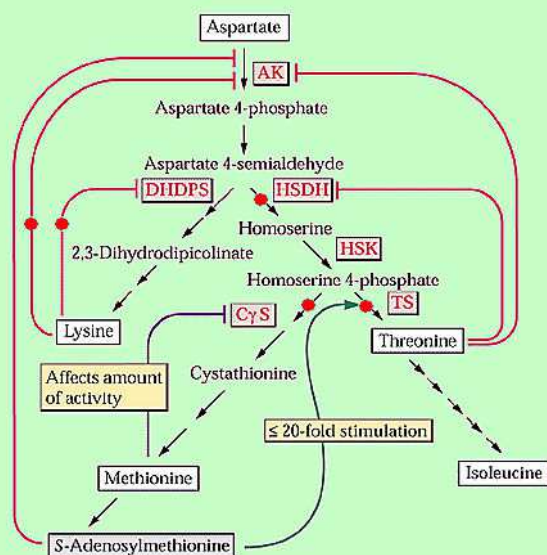
A *Corynebacterium* és *Brevibacterium* törzsek ez utóbbi utat használják. Anyagcsere-mérnökileg a következő mutációs változásokat hozták létre:

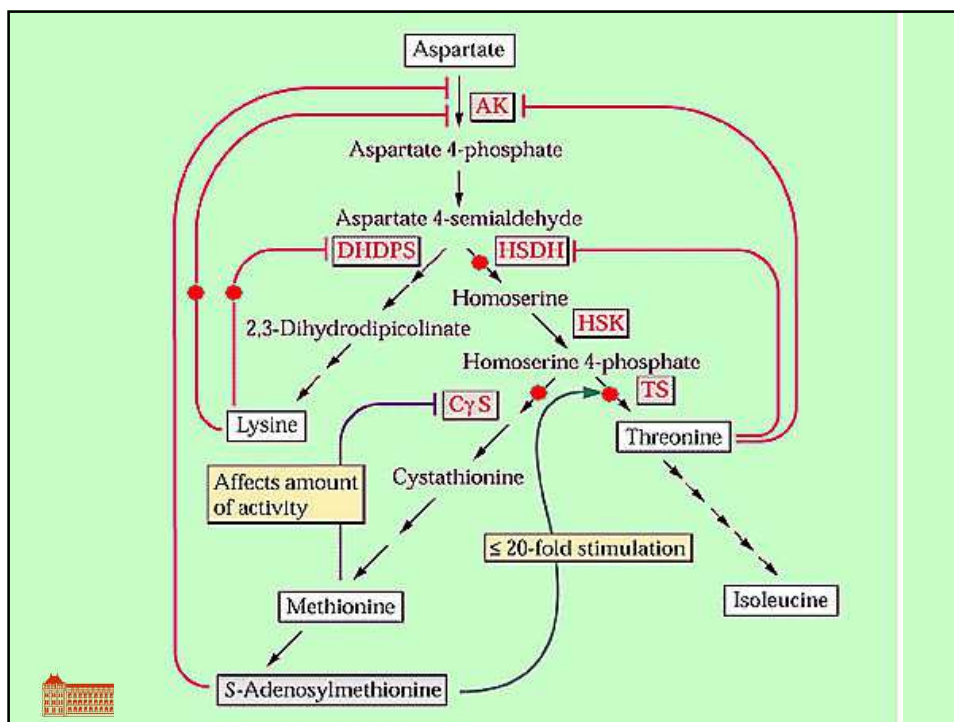
Hom⁻ illetve Hom^{leaky}, Met⁻, Thr⁻ auxotrófia, illetve AEC^r és ML^r regulációs mutánsok

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



Mutációs változások a bioszintézisben





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, kukoricafehérje 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



28

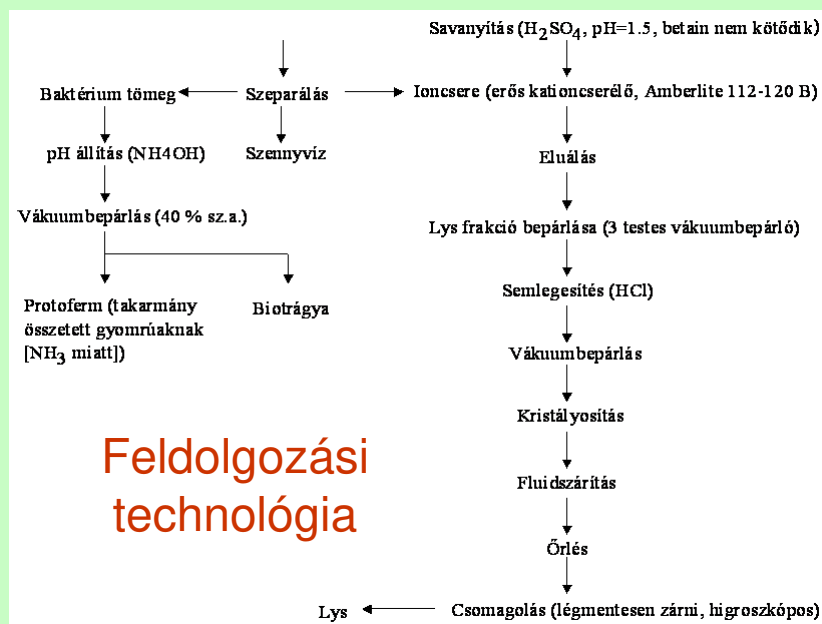
Fermentációs technológia

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 aero-*
genes → tetraciklin adagolásával a befertőződés ve-
 szélye csökkenthető



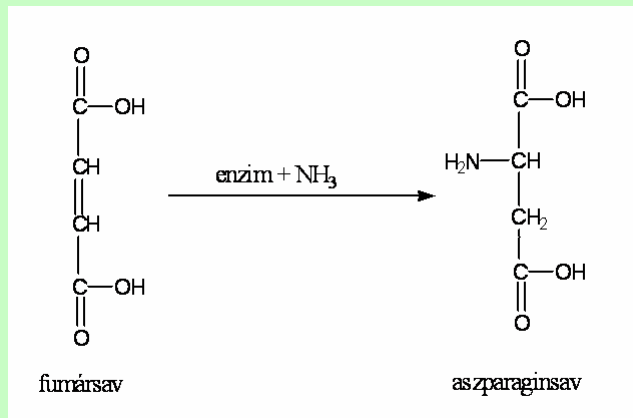
29



30

Aszparaginsav (Asp) előállítása

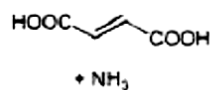
Régen fermentációval, ma egylépéses biotranszformációval (sejtes vagy enzimes) állítják elő.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

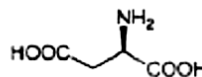
31

31



pH 2.8

precipitation



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

+ MgCl_2 → aktivitás, stabilitás nő

Feldolgozás: 1. savanyítás: pH: 2,8,

2. hűtés → kicsapódik

$t_{1/2}(\text{E}) = 6$ hónap



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

32

32

Az aszparaginsav felhasználása

Mesterséges édesítőszer (aszpartám) egyik összetevője

Gyógyszeriparban összetevő, illetve alapanyag



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:

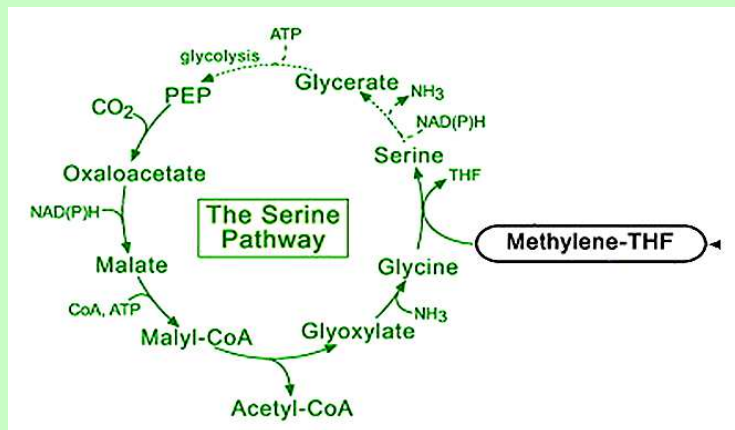
- szintetikusán (amino-ecetsav, nincs aszimmetria-centruma)
- biokémiai úton, megfelelő anyagcseréjű törzsekkel (glicoxilát termelők)



34

SZERIN ELŐÁLLÍTÁSA

A glicin fermentáció és a szerin bioszintézis kapcsolata:



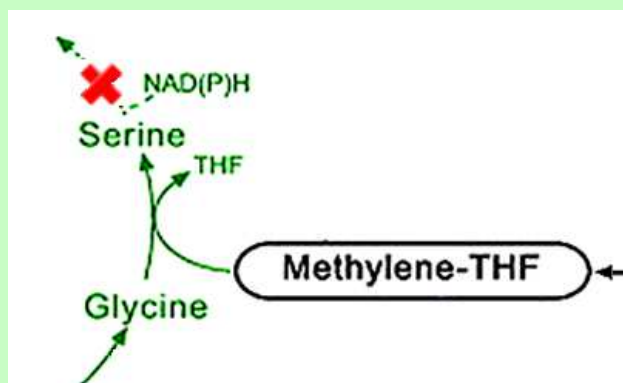
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

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 hidroxipiruvát-reduktázt gátolják:

- Hőmérséklet emelés 40-42 fokig
- pH emelés 8,5 – 9,5 -ig
- Co^{2+} vagy Ni^{2+} adagolása

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



37

SZERIN ELŐÁLLÍTÁSA

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

Vagy:

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



38

A TRIPTOFÁN ELŐÁLLÍTÁSA

Lehetőségek:

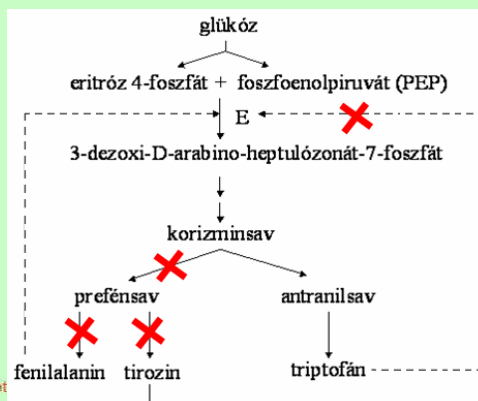
1. De novo bioszintézis: szénhidrátokból sok lépéssel. A japánok ezt is megoldották a *Corynebacterium* és *Brevibacterium* törzsekkel, de ezek keveset termelnek.

Anyagcsere-mérnöki szelekció:

Phe⁻, Tyr,
5-Me-Trp^r



BME Alkalmazot



39

A TRIPTOFÁN ELŐÁLLÍTÁSA

2. Prekurzoros 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

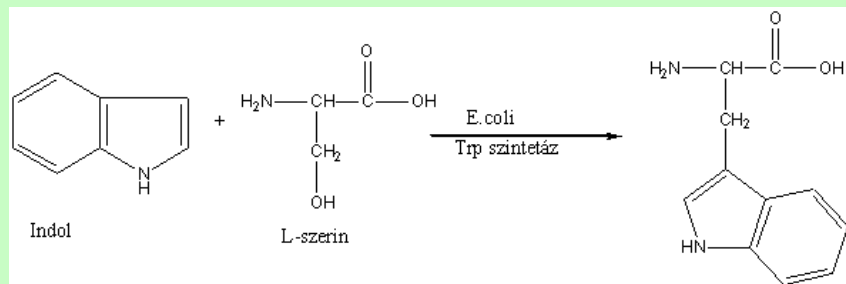
40

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

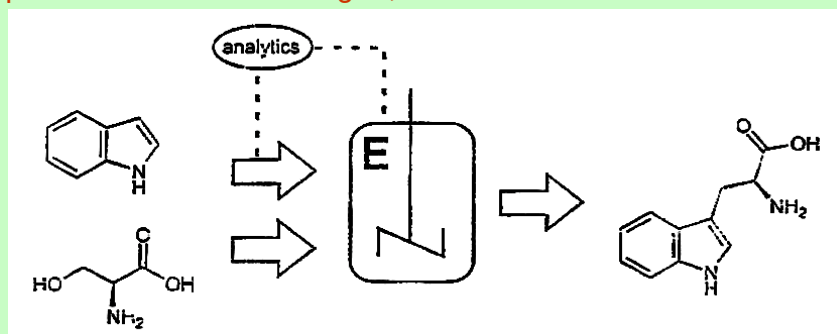
41

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 (esszenciális)
- intermedier



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

43

43

L-FENILALANIN ELŐÁLLÍTÁSA

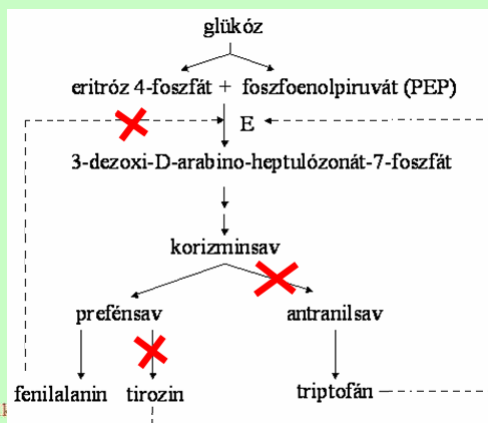
Lehetőségek (közös szintézisút a triptofánnal):

1. De novo bioszintézis: szénhidrátokból sok lépéssel. A japánok ezt is megoldották a *Corynebacterium* és *E. coli* törzsekkel.

Anyagcseremérnöki

szelekció:

Trp, Tyr



BME Alk

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

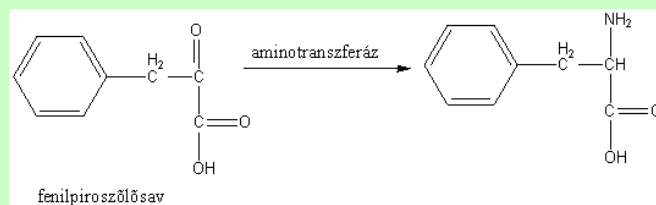
2. Biokonverzió:

2.1. Fenil-piroszőlősavból transzaminálással

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

Amino-donor: L-aminosavak, Glu, Asp. Az NH₄⁺ ion nem alkalmas.

Aktív anyag: nyugvó, vagy immobilizált sejtek.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

46

46

L-FENILALANIN ELŐÁLLÍTÁSA

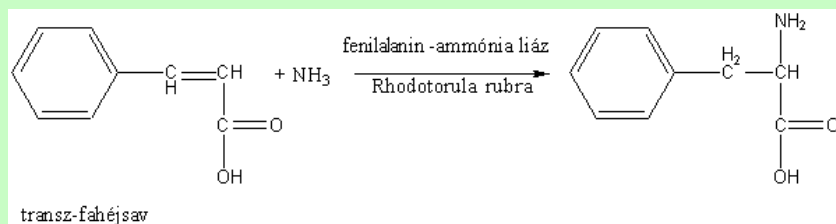
Biokonverzió:

2. 2. transz-fahéjsavból addícióval

Törzs: *Rhodococcus rubra*, *Rhodotorula rubra*

Körülmények: mind a szaporítás, mind a konverzió szigorúan anaerob körülmények között megy végbe, N₂ atmoszférában. pH = 10,6(!) t = 25 °C, vizes közeg, de: 15% NH₃(!!)

Mert különben balra tolódik az egyensúly.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

47

47

L-FENILALANIN ELŐÁLLÍTÁSA

Körülmények:

Adagolások: ammónium-cinnamát,
a pH szabályozáshoz NH₃, illetve CO₂.

Keverés: N₂ 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:

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

	Fermentáció	Prekurzoros	Biokonverzió
Nyersanyag	glükóz	fenilpiroszölősav	transz-fahéjsav
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



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 szintetikus előállított aminosav, a Met esetében ezt alkalmazzák.

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

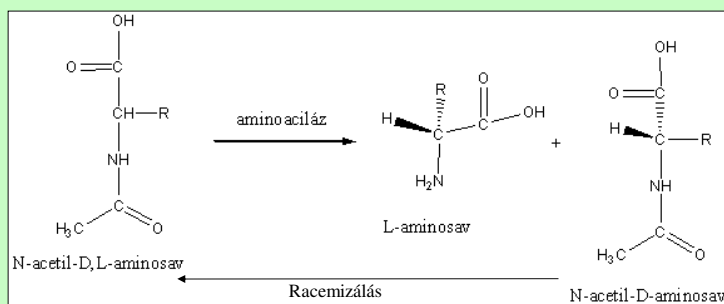
Típusreakció: N-acilezés, majd hidrolízis aminoacilázzal.



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, gélbezárás).



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

51

51

ASZIMMETRIKUS HIDROLÍZIS

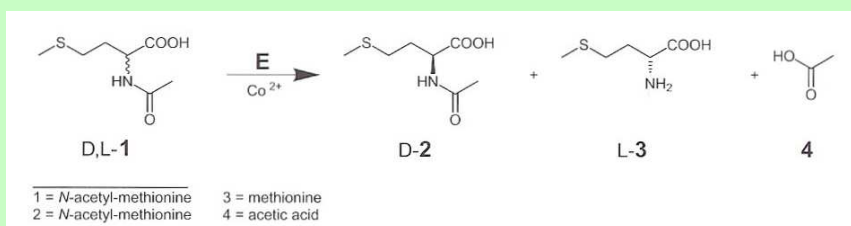
A metionin rezolválása (Degussa eljárás).

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

Oldott enzim.

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

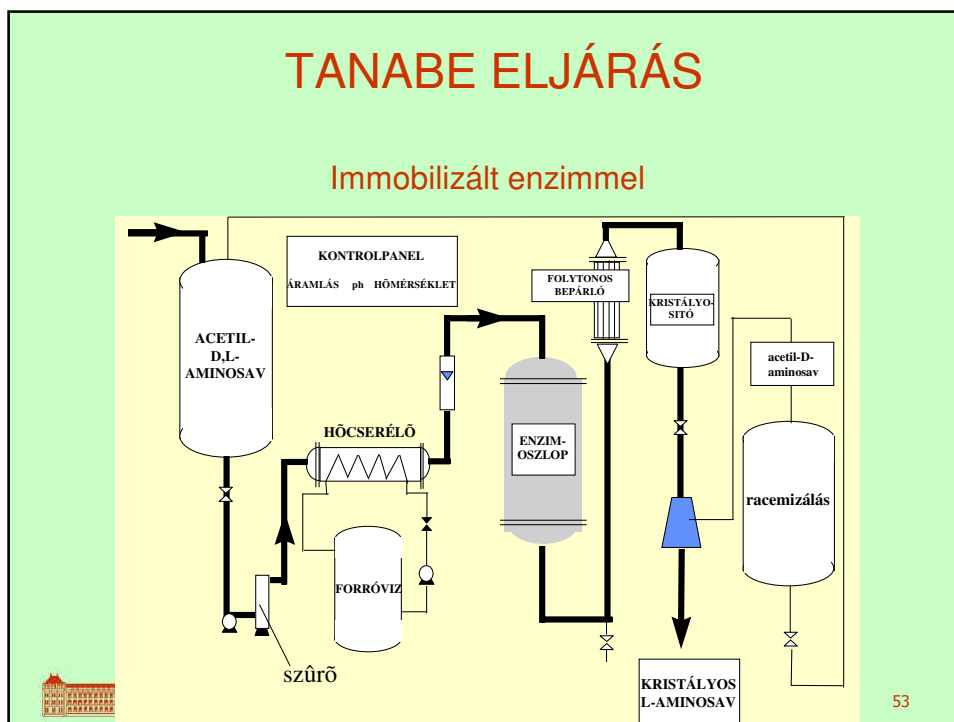
Ugyanez az eljárás alkalmazható még: Ala, Phe, Val, Leu, Trp, Tyr-ra is.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

52

52



53

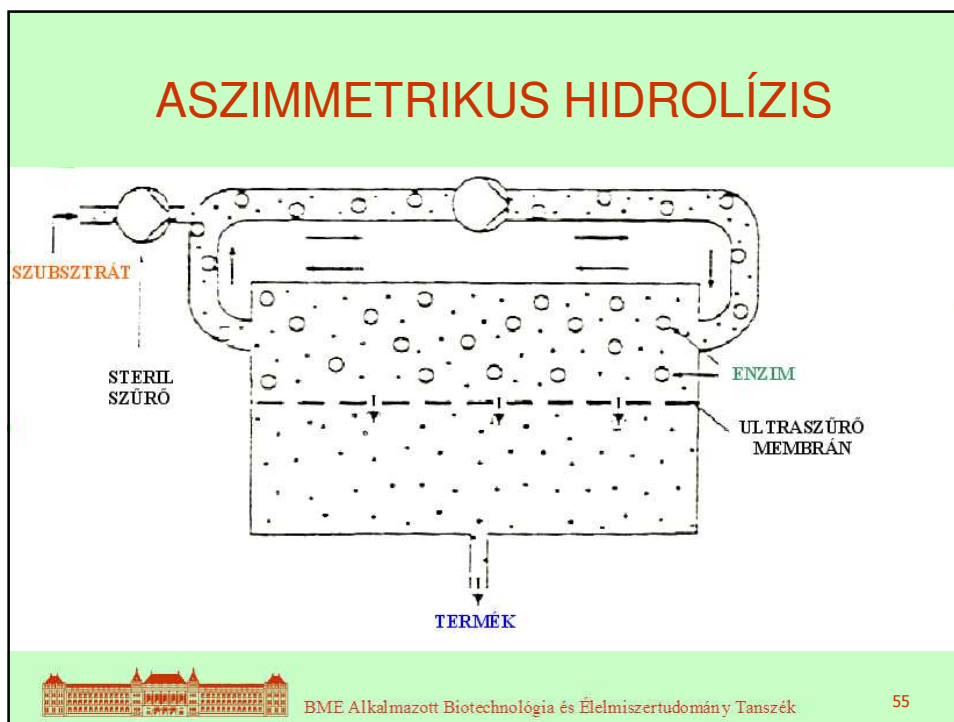
ASZIMMETRIKUS HIDROLÍZIS

Membrános eljárás: az oldott enzimet egy ultraszűrő membrán 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

54

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

54



55

Aszimmetrikus hidrolízis: lizin előállítása kaprolaktámból

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

2 C1CCC(CC1)C(=O)N $\xrightarrow{E1}$ C1CCC(CC1)C(=O)N + H2NCCCCC(N)C(=O)O
 D,L-1 D-1 L-2

$\xleftarrow{E2}$

1 = α -amino- ϵ -caprolactam (ACL) E1 = L-aminolactam-hydrolase
 2 = lysine E2 = amino-lactam-racemase

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

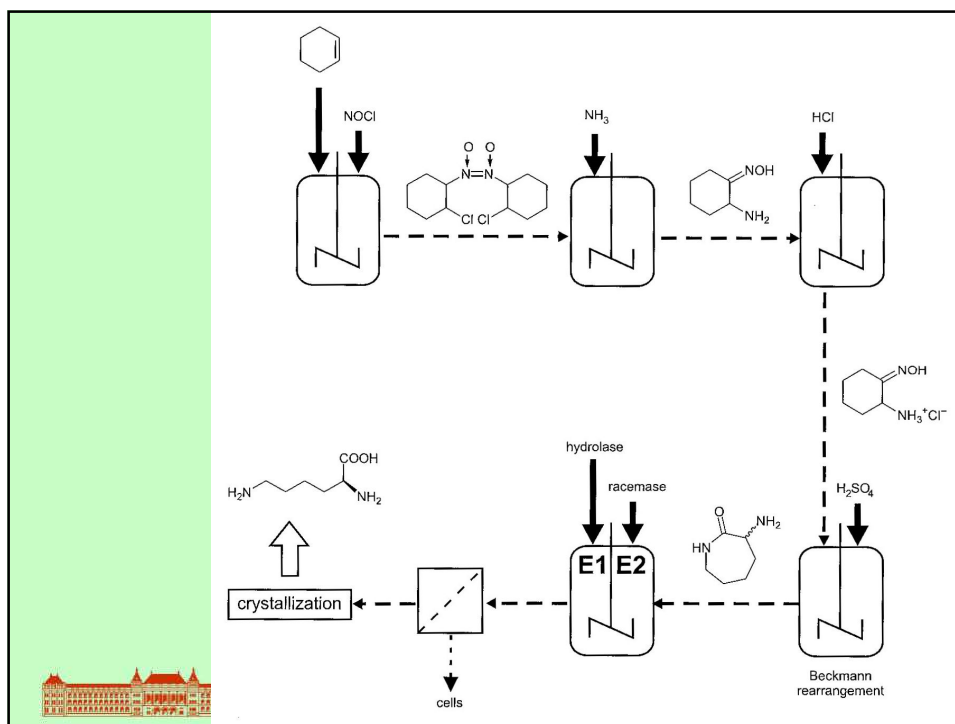
Feldolgozás: kristályosítás



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

58

58



59