

Chemická technika

12_Desintegrace mikroorganismů, základní operace isolačních postupů

Petr Zbořil

Izolace produktů

- Význam – různé požadavky
 - Potravinářství
 - Chemický průmysl
- Laboratorní měřítko
 - Testování postupů, základní parametry
- Provozní podmínky
 - Aplikace postupů, rozdíly
 - Chlazení, doba dezintegrace, mechanické problémy

Desintegrace mikroorganismů

■ Význam

- Produkt je intracelulární
- Extracelulární produkt je i uvnitř buněk
 - Efektivita izolace

■ Provedení

- Dezintegrace
 - Mechanické a nemechanické
- Separace
- Izolace

Dezintegrace mechanické

Products requiring cell disruption

- Vaccines (tetanus, meningitis)
- Glucokinase
- Glycerokinase
- Invertase
- Toxin (enterotoxin)
- Subcellular components (mitochondria, chloroplast)
- Intracellular constituents (DNA, RNA preparation, and virus-like particles)
- Recombinant insulin
- Recombinant growth hormone
- Protein A and G.

Příklad izolačního postupu produktů fermentace

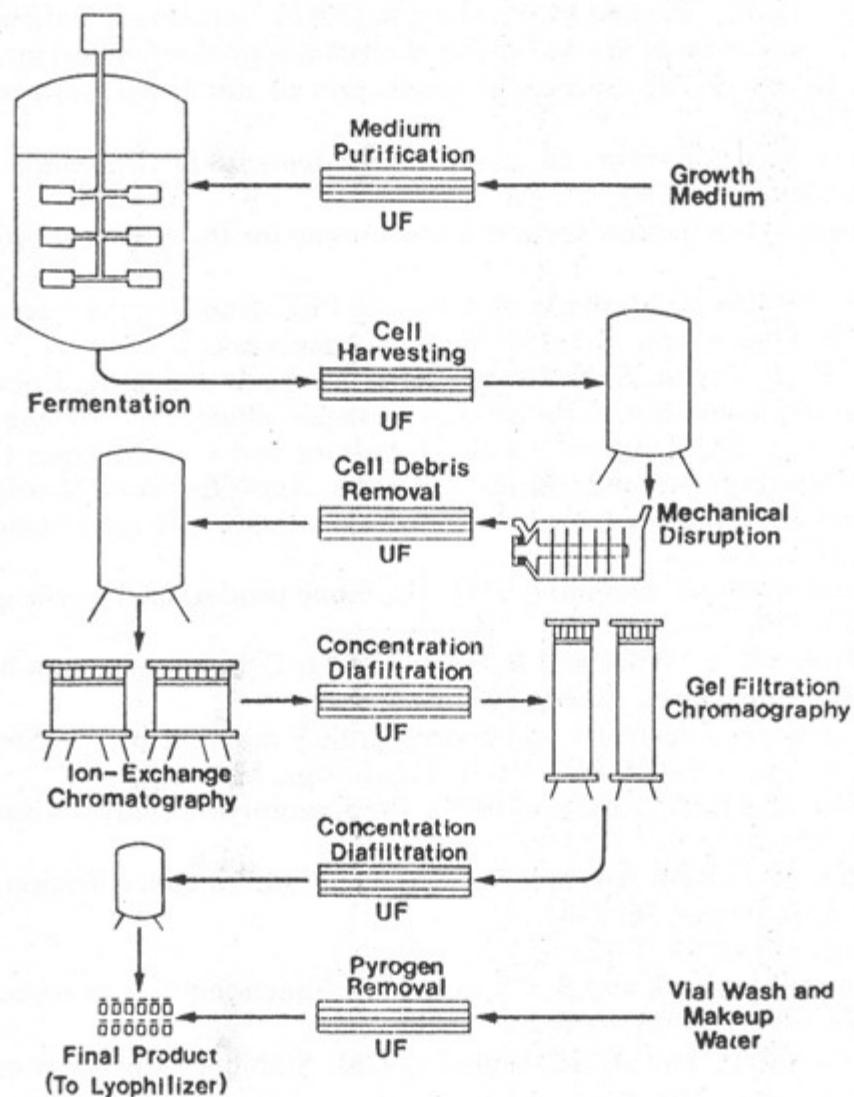


Figure 24 Typical recovery process for intracellular product of fermentation

Desintegrace mikroorganismů

- Výběr metod
 - Množství – objem materiálu
 - Unifikace – stejné x různé vzorky
 - Obtížnost dezintegrace – bakterie, kvasinky, plísně – spory
 - Požadovaná účinnost
 - Stabilita izolované komponenty
 - Biohazard
 - Jaké bude další zpracování

Dezintegrace mechanické

Sensitivity of Cells to Disruption

	Sonic	Agitation	Liquid Pressing	Freeze pressing
Animal cells	7	7	7	7
Gram -ve bacilli & cocci	6	5	6	6
Gram +ve bacilli	5	4	5	4
Yeast	3.5	3	4	2.5
Gram +ve cocci	3.5	2	3	2.5
Spores	2	1	2	1
Mycelia	1	6	1	5

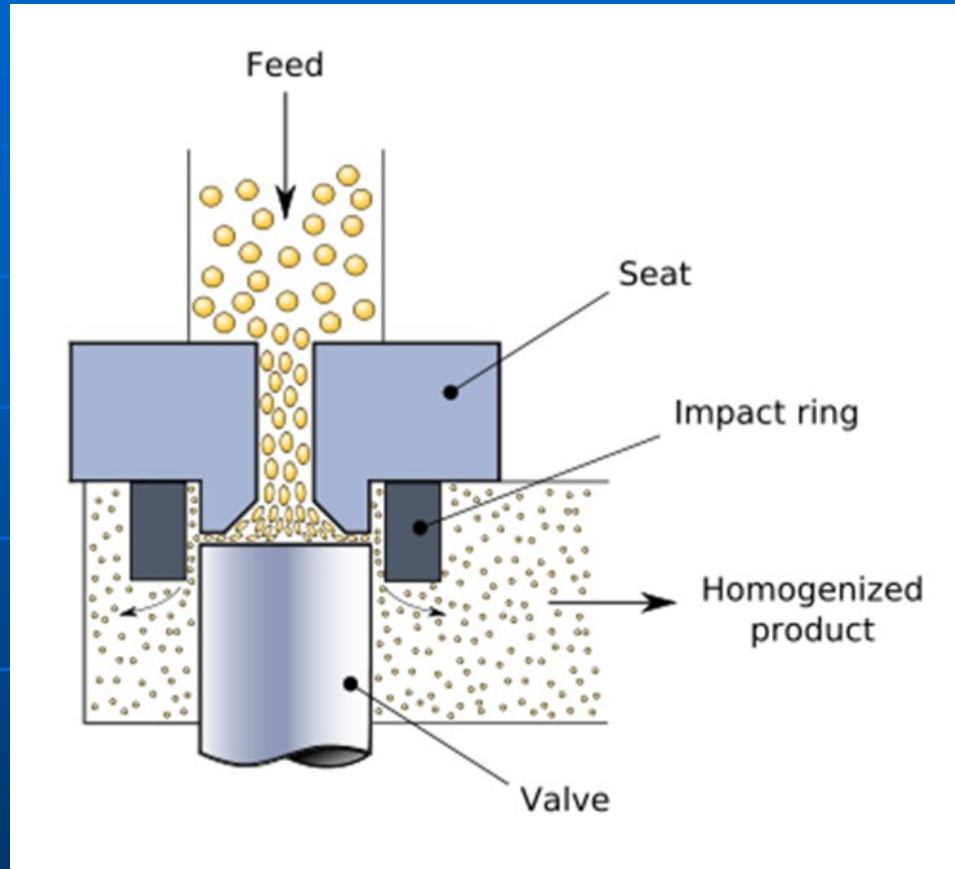
Desintegrace mechanické

- Pevný stav – zmrzlé suspense
 - drcení (miska, kulový mlýn apod.)
 - tlak (Frenchův lis)
- Tekutý stav – kapalné suspense
 - Ultrazvuk
 - míchání, mletí
 - koloidní mlýny, střižné síly, kuličky, abrasiva
 - tlak – změny tlaku
 - průtok štěrbinami
 - aplikace tlaku – povolení - „buněčná bomba“

Desintegrace nemechanické

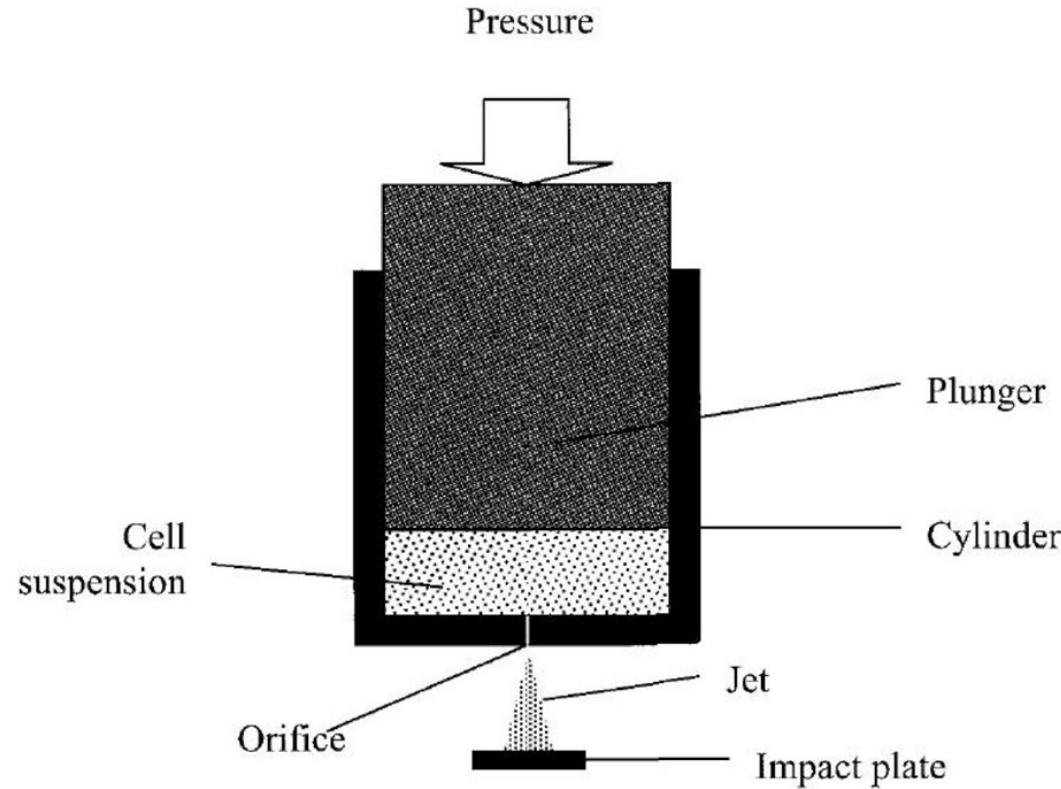
- Sušení
- Lýza
 - Fysikální
 - osmosa, plasmolýza
 - Chemická
 - org. rozpouštědla, detergenty
 - Enzymová – kombinace
 - celulasy, proteasy (helikasa, lysozym, subtilisin), omezení objemem

Dezintegrace mechanické



- Průtokový dezintegrátor ventilového typu

French press



Dezintegrace mechanické

- Ultrazvukový dezintegrátor



Dezintegrace mechanické

Cell disruption using bead mill

A tubular vessel made of metal or thick glass within which the cell suspension is placed along with small metal or Glass beads.

The cell disruption takes place due to the grinding action of the rolling beads as well as the impact resulting from the cascading beads.

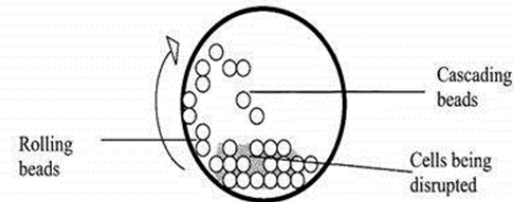


Fig. 4.4 Cell disruption using bead mill

At low temperatures as (liquid nitrogen into the vessel)

Commonly used for disrupting yeast cells and for grinding animal tissue

Dezintegrace mechanické

- Koloidní mlýn

