

KÖRNYEZETMIKROBIOLÓGIA ALAPFOGALMAK

Dr. Kaszab Edit, egyetemi docens

2024

A BIOTECHNOLÓGIA FOGALMA

- EREKY Károly, 1917: egy olyan munkafolyamat, melynek során keletkező terméket élő szervezetek segítségével állítjuk elő
- 1961 után (Carl Göran Hedén nevéhez fűződve): biológiai szervezetek, rendszerek, folyamatok használatával történő ipari termelés
- **Ma:**
EFB (= Európai Biotechnológiai Egyesület) definíciója szerint: a biokémia, mikrobiológia és mérnöki tudományok integrált alkalmazása azért, hogy a mikroorganizmusok, állati-, növényi sejttenyészetek, vagy részeik képességét használni tudjuk az iparban, mezőgazdaságban, egészségügyben, és a környezetvédelemben
OECD (= Szervezet a Gazdasági Együttműködésért és Fejlesztésért) definíciója: tudományos és mérnöki alapelvek alkalmazása az anyagok biológiai ágensekkel történő „megmunkálására” termék nyerése céljából

A biotechnológia 4 ága (és színe)

Richmond, 2008



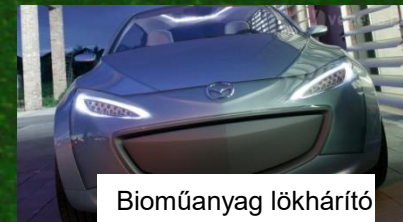
- **Piros biotechnológia** = humán egészségügyi biotechnológia

- Gyógyszerek, terápiás szerek biotechnológiai megoldásokkal történő előállítása pl. inzulin, interferon, védőoltások



- **Fehér v. szürke biotechnológia** = ipari biotechnológia

- Termékek előállítása biotechnológiai módszerekkel pl. bioműanyagok, bioetanol, szerves savak, mosóporokba enzimek



- **Zöld biotechnológia** = növényi biotechnológia

- A környezeti faktorokkal szemben ellenállóbb növények létrehozása biotechnológiai módszerek segítségével



- **Újabban: „Kék” biotechnológia**: tengeri biotechnológia

Ipari biotechnológia kulcslépései

1. Upstream processing: a nyersanyag előkészítése a fermentációra, vagy transzformációra
2. Fermentáció, transzformáció: bioreaktorokban sejtszaporítás, antibiotikum, fehérje, stb. előállítás
3. Downstream processing: a kívánt termék tisztítása, kiszerezése

Nyersanyag



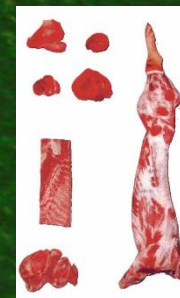
Nyersanyag előkészítés



Fermentáció, biotranszformáció



termék kinyerés, kiszerezés



Termék

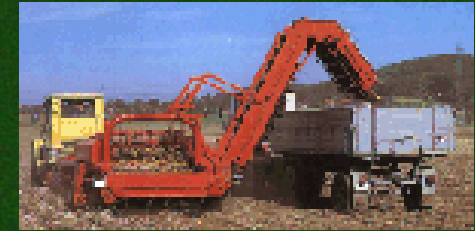


Ipari biotechnológia

Nyersanyag



Nyersanyag előkészítés



Fermentáció, biotranszformáció



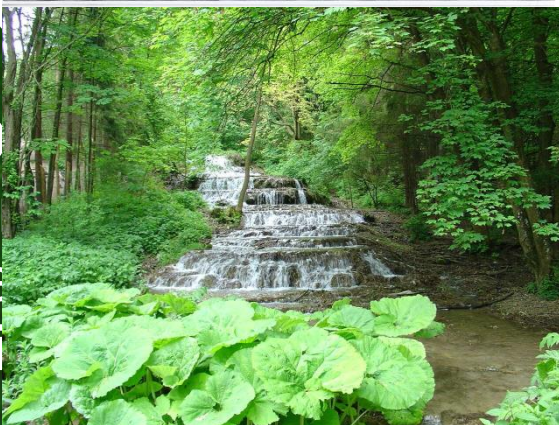
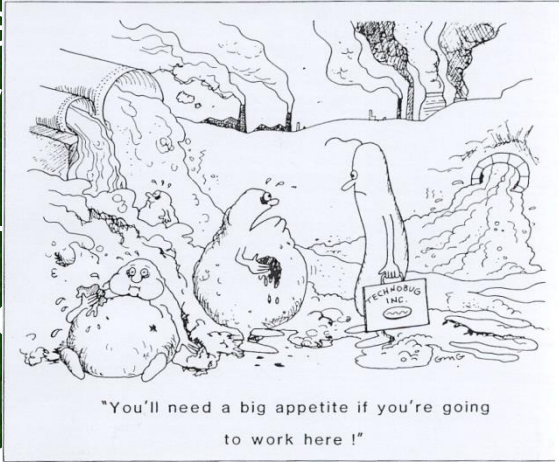
termék kinyerés, kiszerezés



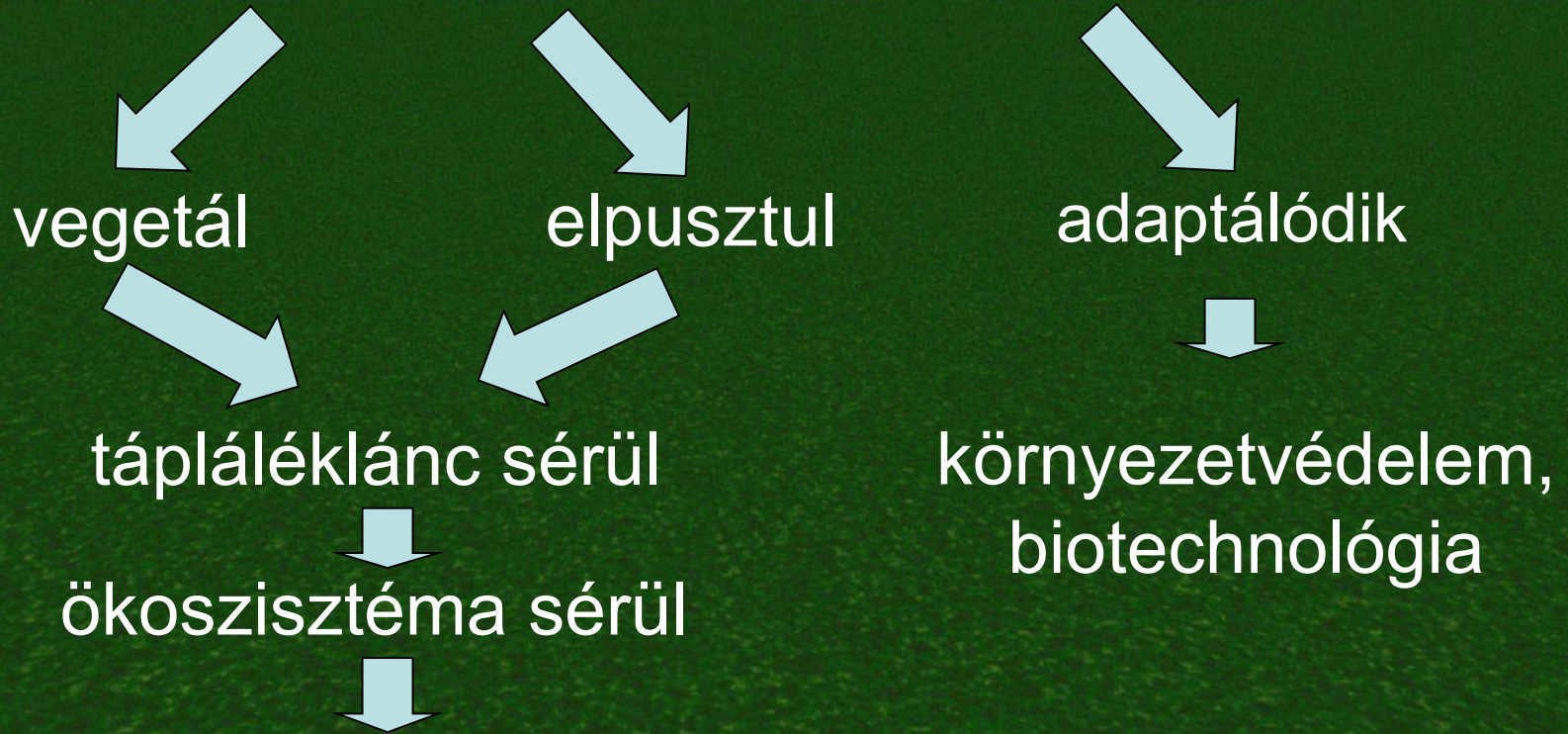
Termék



1. U
n
e
fe
tr
2. F
m
s
a
st
3. D
p
te
ki



Ha valamely élő szervezet számára a feltételek
nincsenek meg, vagy csak részben adottak



**KÖRNYEZET REGENERÁLÓDÓ
KÉPESSÉGE CSÖKKEN**

Miért degradálják a szennyezőanyagokat a mikroorganizmusok?



Tápanyagként történő hasznosítás: a környezetszennyező anyagok jelentős része szén, vagy nitrogénforrásként hasznosítható a mikroszervezetek számára.

Detoxifikáció: Az élettér „méregtelenítése”, megtisztítása a káros hatással rendelkező szennyezőanyagoktól.

Miért degradálják a szennyezőanyagokat a mikroorganizmusok?



„Olajfaló” *Oceanospirillales* baktériumok a Mexikói-öbölben
metallireducens épp uránt „fogyaszt”



A *Geobacter*

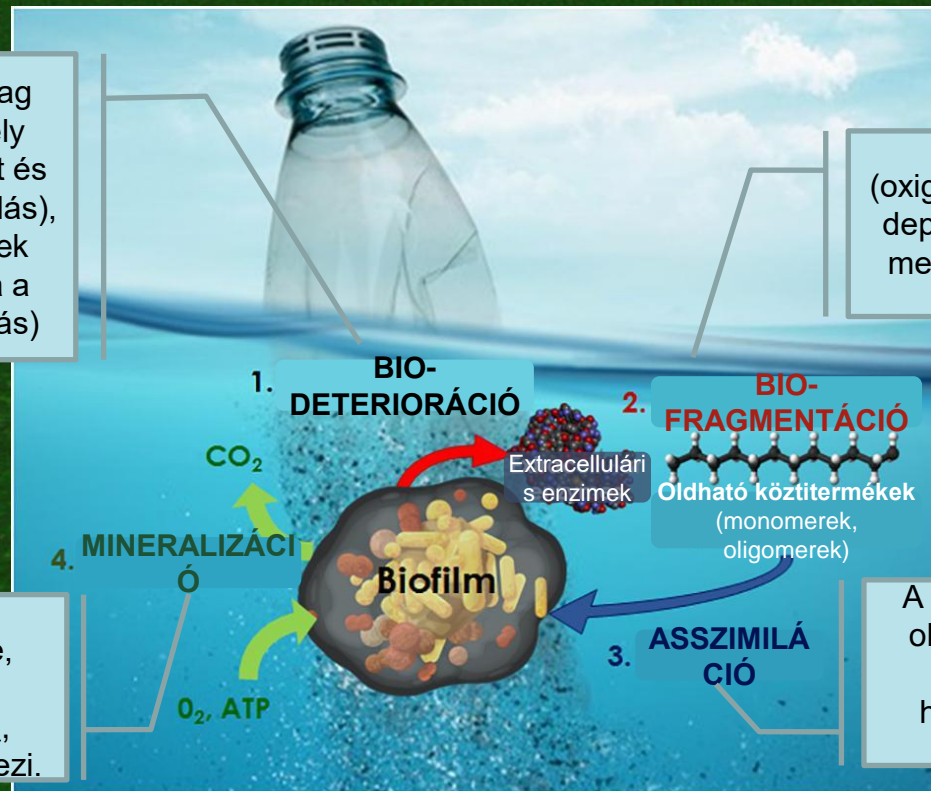
Kredit: Science/AAAS

Műanyagok biodegradációja a tengerekben

IDŐ...

Biofilm növekedés a műanyag felületén és belsejében, mely megnöveli a pórusok méretét és töréseket idéz elő (fizikai romlás), valamint savas komponensek termelésével megváltoztatja a mikrostruktúrát (kémiai romlás)

Extracelluláris enzimek (oxigenázok, lipázok, észterázok, depolimerázok...) kibocsátása, melyek csökkentik a polimerek molekulaméretét



Ásványosodás, azaz a biodegradáció utolsó lépése, mely teljesen oxidált végtermékek (CO₂, N₂, CH₄, H₂O) kibocsátását eredményezi.

A 600 Daltonnál kisebb méretű oligomerek sejtbe juttatása és szénforrásként történő hasznosítása, mely növekvő biomasszát eredményez.

Jacquin et al., 2019



➤ **biotechnológia**

biológiai anyagok,
folyamatok ipari szintű
ki/felhasználása

➤ **környezet**

A bennünket körülvevő
élő és élettelen világ

➤ **környezetvédelem**

környezetünk megóvása,
rendbetétele
'RRR' (reduce, reuse,
recycle)



Környezeti biotechnológia

Célja: a környezeti problémák gyors és hatékony
kimutatása, megoldása biotechnológiai módszerekkel

Mivel foglalkozik: bioremediáció, hulladékkezelés,
víztisztítás, környezeti monitoring, nyersanyag-, termék
kinyerés, bioüzemanyagok



KÖRNYEZETI BIOTECHNOLÓGIA



- A környezet megóvására nagyon régóta használunk biotechnológiai módszereket
 - Több ágra osztható:
 - Bioremediáció
 - Megelőzés
 - Detektálás és monitorozás
 - Genetikai mérnökség
- Utóbbi években erőteljes kutatás-fejlesztés folyik a
- Bioüzemanyagok előállítása
 - Nyersanyag kinyerése (pl. biobányászat) terén

© Original Artist
Reproduction-rights obtainable from
www.CartoonStock.com/HU/

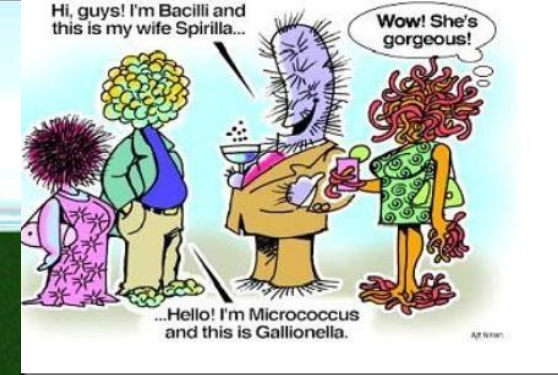


"But how do I know you're really
a genetic engineer?"

BIOLÓGIAI ALAPOK

- Mikroszervezetek biotechnológiai alkalmazásakor ismernünk kell –
 - Mikroszervezet faji hovatartozását (mikrobiológia)
 - Metabolizmusát, enzimeit, sejtfelepítését (mikrobiológia, biokémia)
 - Ökológiai igényeit (mikrobiális ökológia)
 - Technológizálhatóságát (laboratóriumi és ipari körülmények között)

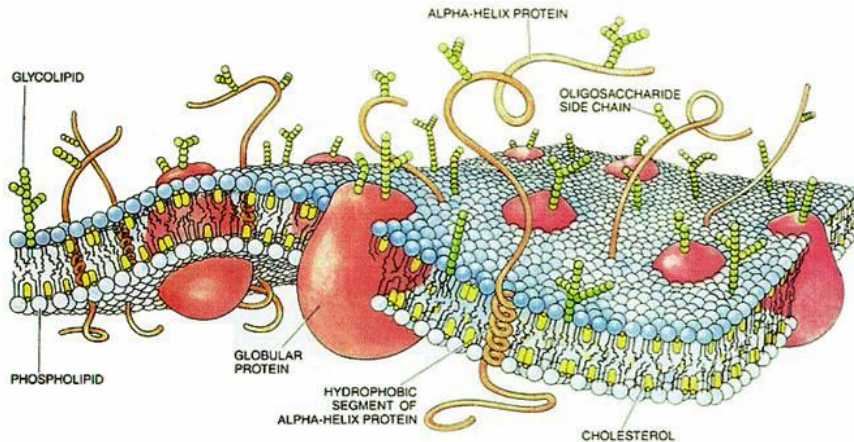
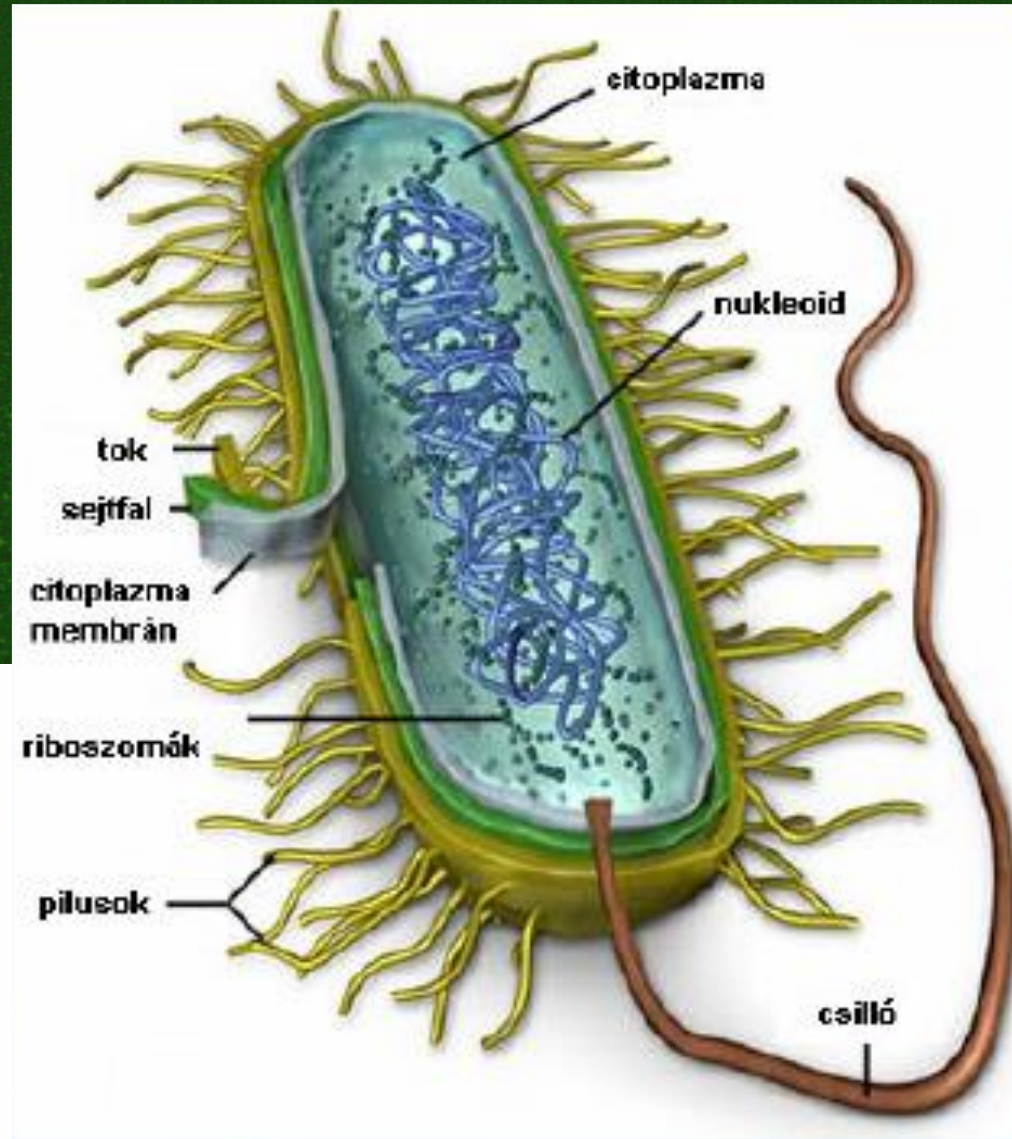
Mikroorganizmusok és kimutatásuk



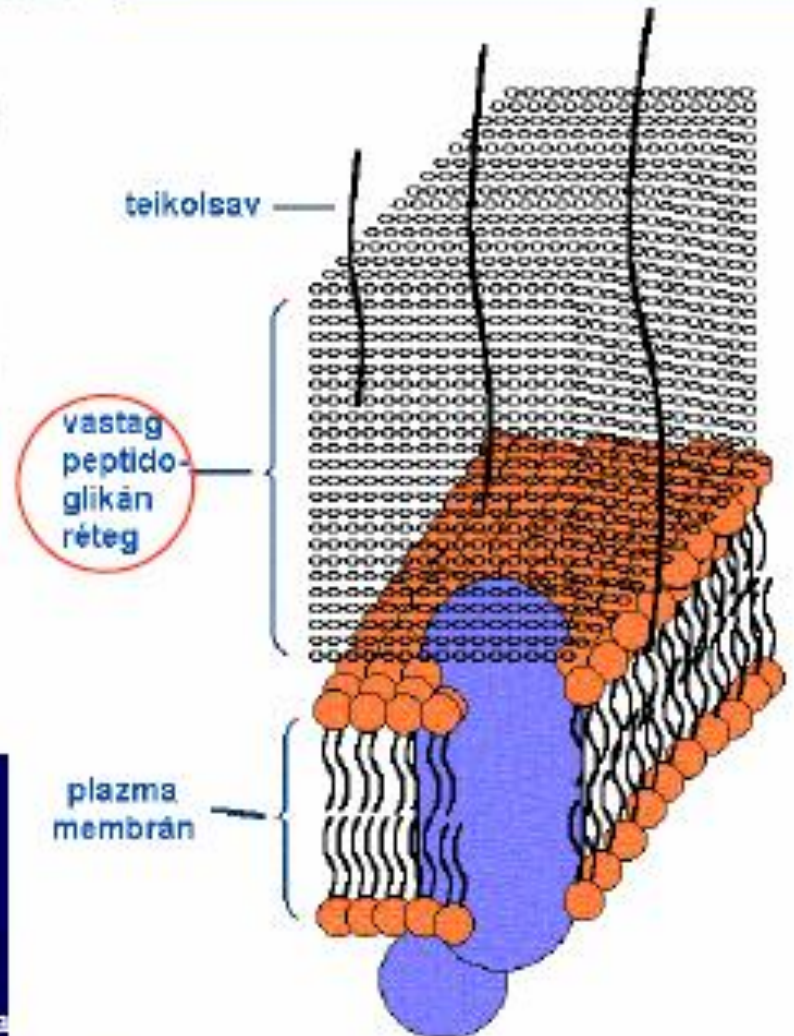
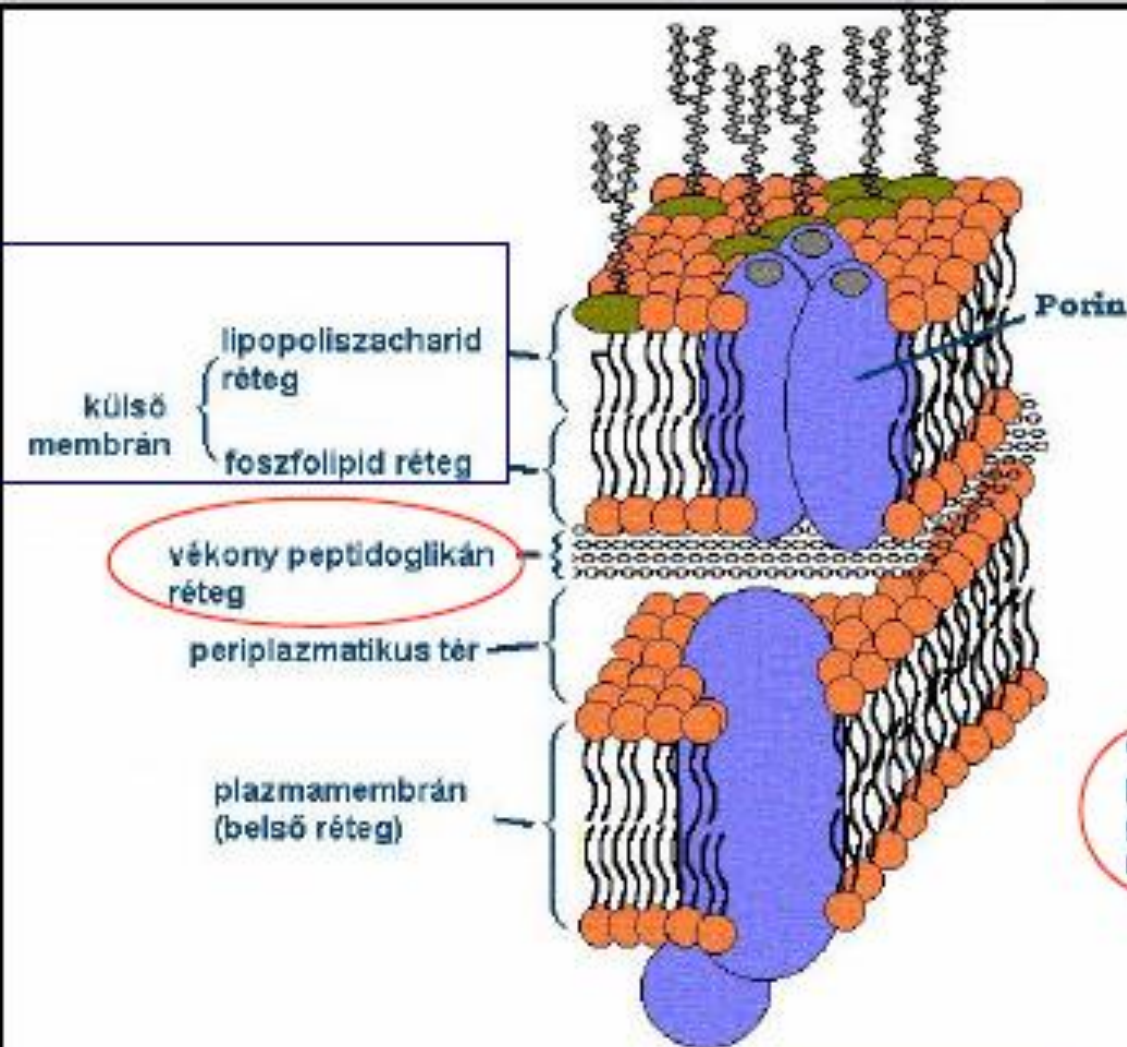
- Algák, baktériumok, gombák, protozoák
- Egyesek szabadon élnek, mások biofilmet képeznek, vagy kevert közösség tagjai.
- Előfordulnak a természetes környezetünkben a felszíni, felszín alatti vizekben, talajban, növényeken és a rizoszférában, sőt bennünk, emberekben is, pl. a béltraktus nélkülözhetetlen segítői.
- A környezetvédelem szempontjából nagyon fontos, hogy a mikroorganizmusok jelenlétét, a konzorciumok összetételét, változását nyomon tudjuk követni.

Prokarióta sejtek felépítése

A sejteket védő takaró a mikroorganizmusok szempontjából rendkívül fontos, különösen biotechnológiai folyamatokban, bioremediációs eljárásokban



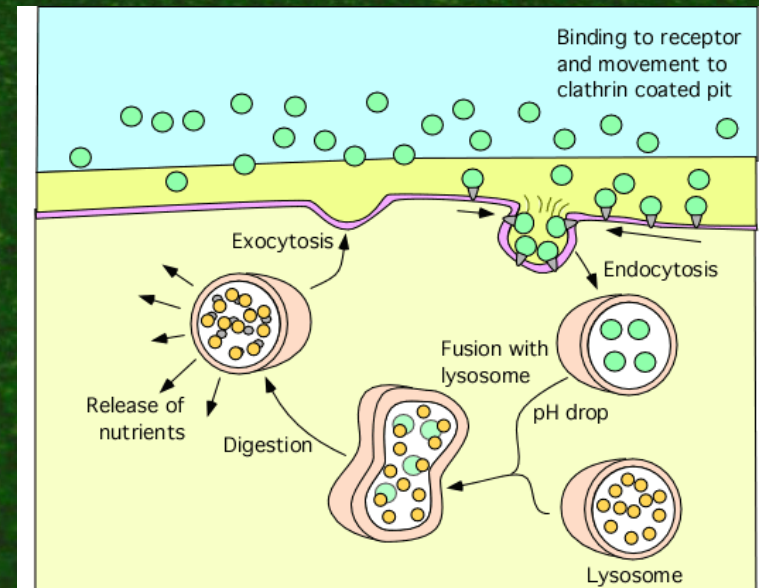
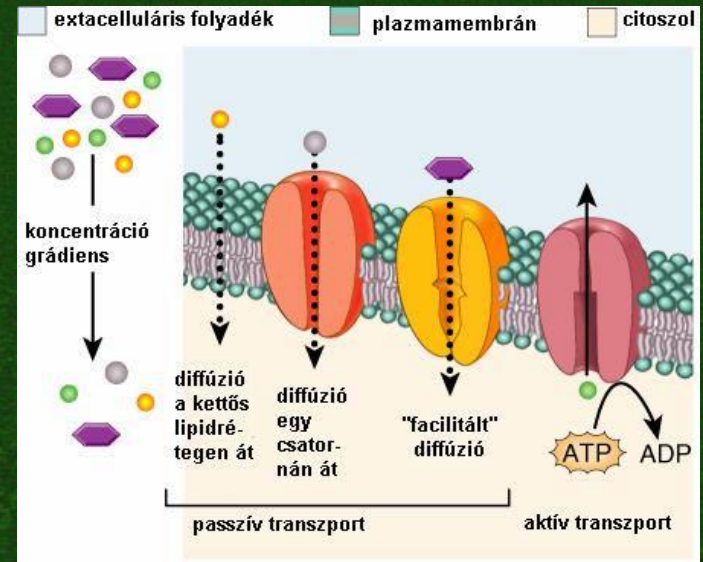
Gram-pozitív sejtfa



Gram-negatív sejtfa

Membrántranszport

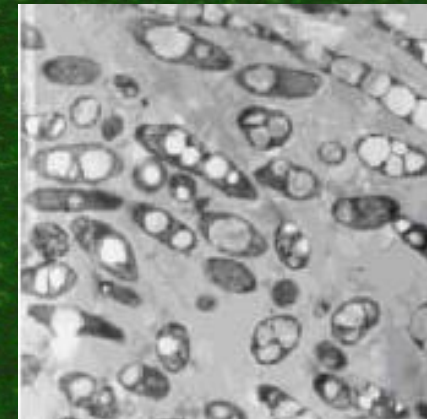
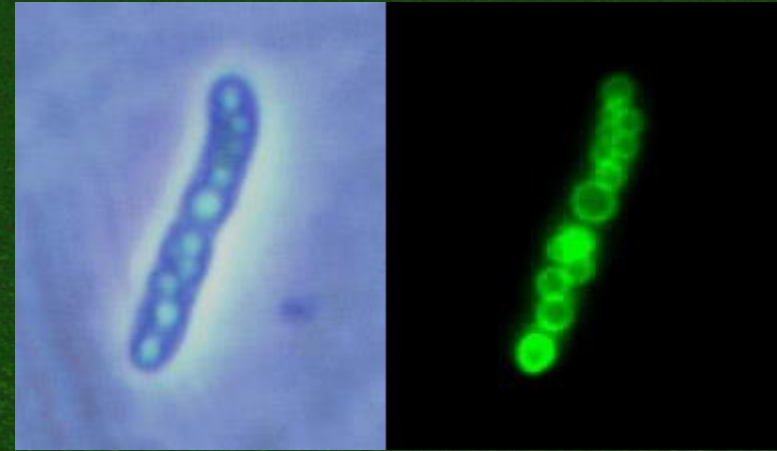
- Egy-két kivételtől eltekintve (oxigén, széndioxid, víz, ammónium) a molekulák specifikus transzport segítségével jutnak be a sejtekbe, ebben a membrán proteinek fontos szerepet játszanak
- A makromolekulák transzportja történhet exo-, endocitózissal



Inclusion bodies

Bacillus megaterium PHA inclusion-body kapcsolt fehérjéje = PhaP (zöld gyűrűk).

- a sejtek anyag tárolására szolgáló képződmények, főleg tartalék tápanyag raktározására szolgálnak,
 - PHA = polihidroxi alkánsavak pl. polihidroxi-butirát (akkumulálódhat aerob, anaerob, heterotróf, autotróf baktériumokban is)
 - Egyéb: protein, glikogén granulomok, polifoszfát granulomok, ...
- Ipari-, bioremediációs jelentőség



A fehér granulomok az 'inclusion body'-k (zárványtestek) a sejtekben

Metabolizmus

- Alapvető fontosságú a sejtek metabolizmusának ismerete, ha sikeresen akarjuk használni biotechnológiai célokra
- Mi a metabolizmus: reakciók sorozata, mely során a sejtek energiát nyernek, és alapanyagokból felépítik sejtépítő elemeiket
- Az energia metabolizmus **anabolikus** és **katabolikus** reakciókkal kapcsolatos
- Energianyerés szempontjából két osztály: **fototrófok**-energiájukat közvetlenül a napsugárzásból nyerik, **kemotrófok** redox reakciók segítségével nyernek energiát, melynek forrásai szerves anyagok
- A sejtekben a kémiai reakciók nem spontán következnek be, hanem enzimek (katalizátorok) segítségével

A MIKROORGANIZMUSOK ÖKOLÓGIÁJA

- A mikroorganizmusok a talajban, vízben, levegőben általánosan elterjedtek
- Földrajzi elterjedésüket tekintve a mikroorganizmusok kozmopoliták
- A mikroorganizmusok életfolyamatait, szaporodását biotikus és abiotikus tényezők befolyásolják

Abiotikus tényezők

Fizikai és kémiai ökológiai faktorok

A mikroorganizmusokra közvetlenül hatnak

- 1. Víz**
- 2. Hőmérséklet**
- 3. Fény**
- 4. Nyomás**
- 5. Rázás**
- 6. Ozmózis**
- 7. Só koncentráció**
- 8. pH**

Nedvesség

- Víz nélkül nincs élet
- A mikroorganizmusok oldatokban élik le az életüket
- A baktérium sejtek víztartalma 75-85 %
- Vízáktivitás (a_w):
 - egy olyan viszonyszám, amely megmutatja, hogy a termék (alapanyag) nedvességtartalmából képződő víz parciális gőznyomása hányad része a tiszta víz parciális gőznyomásának adott hőmérsékleten. A vízáktivitás érték pont az 1/100-ad része a régebben használt relatív nedvesség (RH%), vagy egyensúlyi relatív páratartalom értékének.
- Egyensúlyi relatív páratartalom (ERP %):
 - ez a tényező azt fejezi ki, hogy a szubsztrát nedvességtartalma hány százaléka a szubsztrát telítéséhez szükséges nedvességtartalomnak.

A mikroorganizmusok minimális vízaktivitás igénye

Mikroorganizmusok	a_w -érték	Szaporodás
G- pálcák zöme	0,95 alatt	Nem szaporodnak
G+ baktériumok	0,88 alatt	Nem szaporodnak
Kiv. a <i>S. aureust</i> , mely enterotoxint csak	0,85 értékig 0,92 értékig	Szaporodik, de Termel
Enzimek aktivitása a lipázé	0,85 alatt 0,30 alatt	Gátlódik Szűnik meg
Penészgombák	0,70-0,65 alatt	Nem szaporodik
Romlást okozó bakt.	0,91 értékig	Fejlődnek
Élesztők	0,80-0,88-ig	Fejlődnek
Semmilyen mo.	0,57-0,50 alatt	Nem szaporodik

$a_w = \frac{\text{a termék nedvességtartalmának parciális gőznyomása}}{\text{a tiszta víz parciális gőznyomása}}$

Vízigény alapján

- Higrofil: 100-95 ERP %
 - Xerotoleráns: 95-90 ERP %
 - Xerofil: 90-85 ERP %
 - Ozmofil: 85 ERP % alatt
-
- ERP: egyensúlyi relatív páratartalom, megegyezik annak a légtérnek az egyensúlyi állapot beállta után mért relatív páratartalmával, amelyben a vizsgálandó szervezetet elhelyeztük

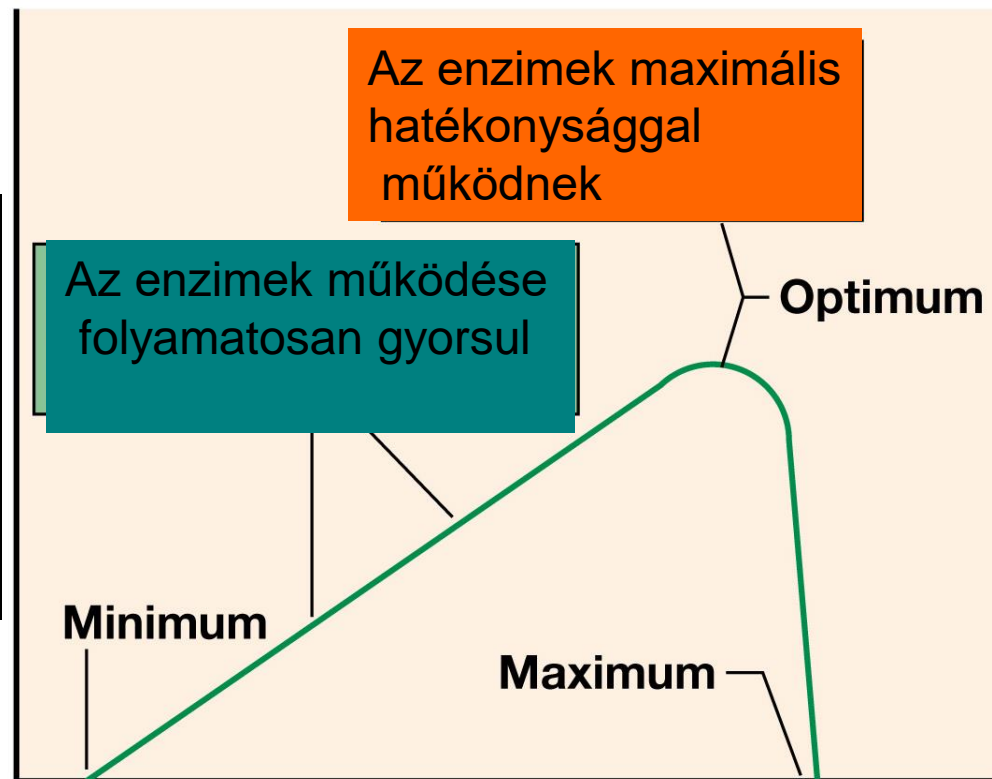
Szárazságtűrés

- *Neisseria gonorrhoeae* néhány perc
- *Vibrio cholerae* néhány perc
- *Corynebacterium diphtheriae* 4 évig
- *Azotobacter chroococcum* 10 évig
- *Rhizobium sp.* 16 évig

A hőmérséklet hatása a növekedés ütemére:

- minden élőlénynek sajátos hőmérsékleti optimuma, min ill. max. értékei

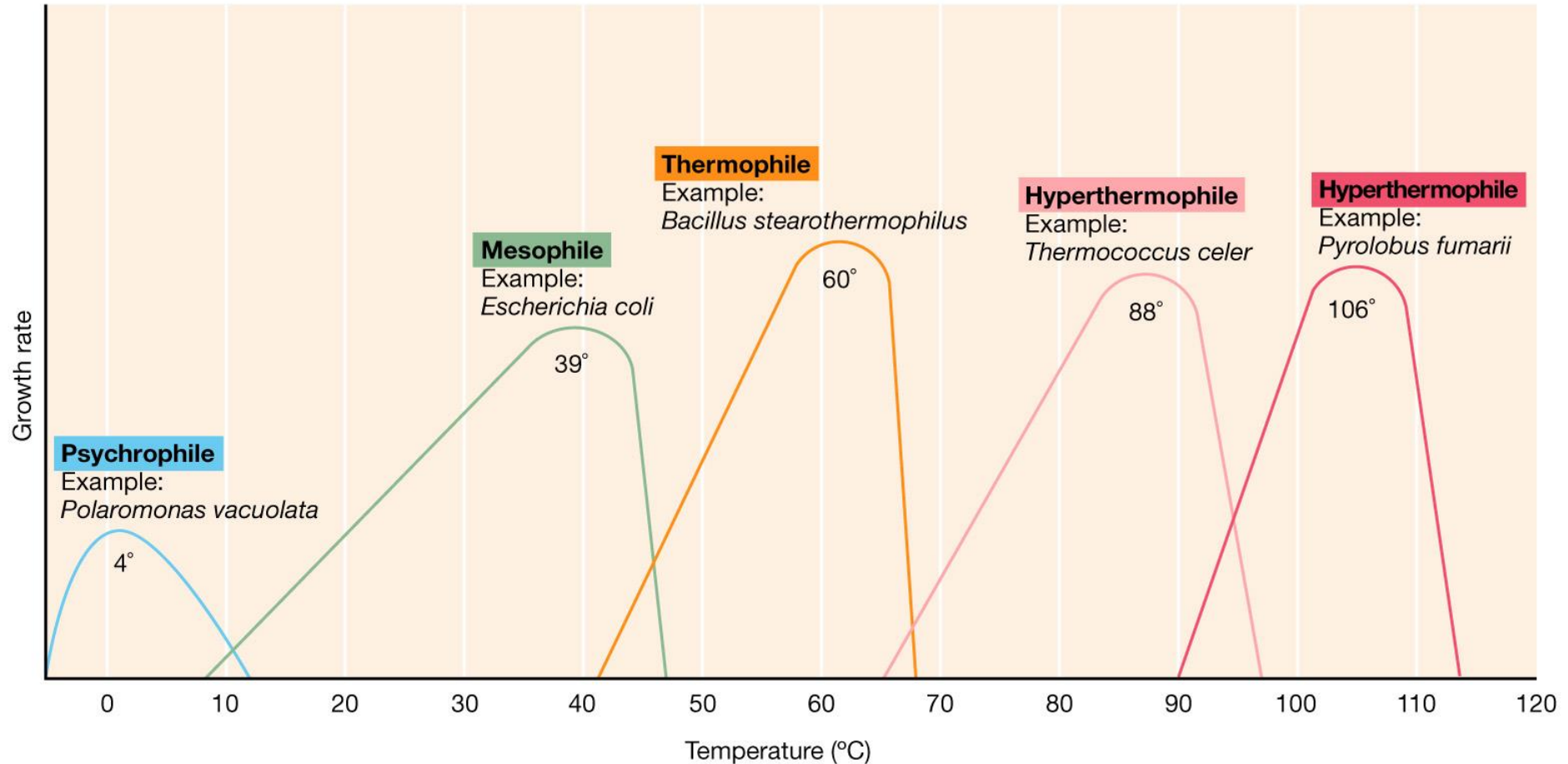
- ezt egyéb környezeti tényezők módosíthatják, pl. a táptalaj összetétele



A membránok gél állapotba kerülnek, a transzport folyamatok és az anyagcsere leáll

A fehérjék kicsapódnak, a membránok felszakadnak, a sejt elpusztul

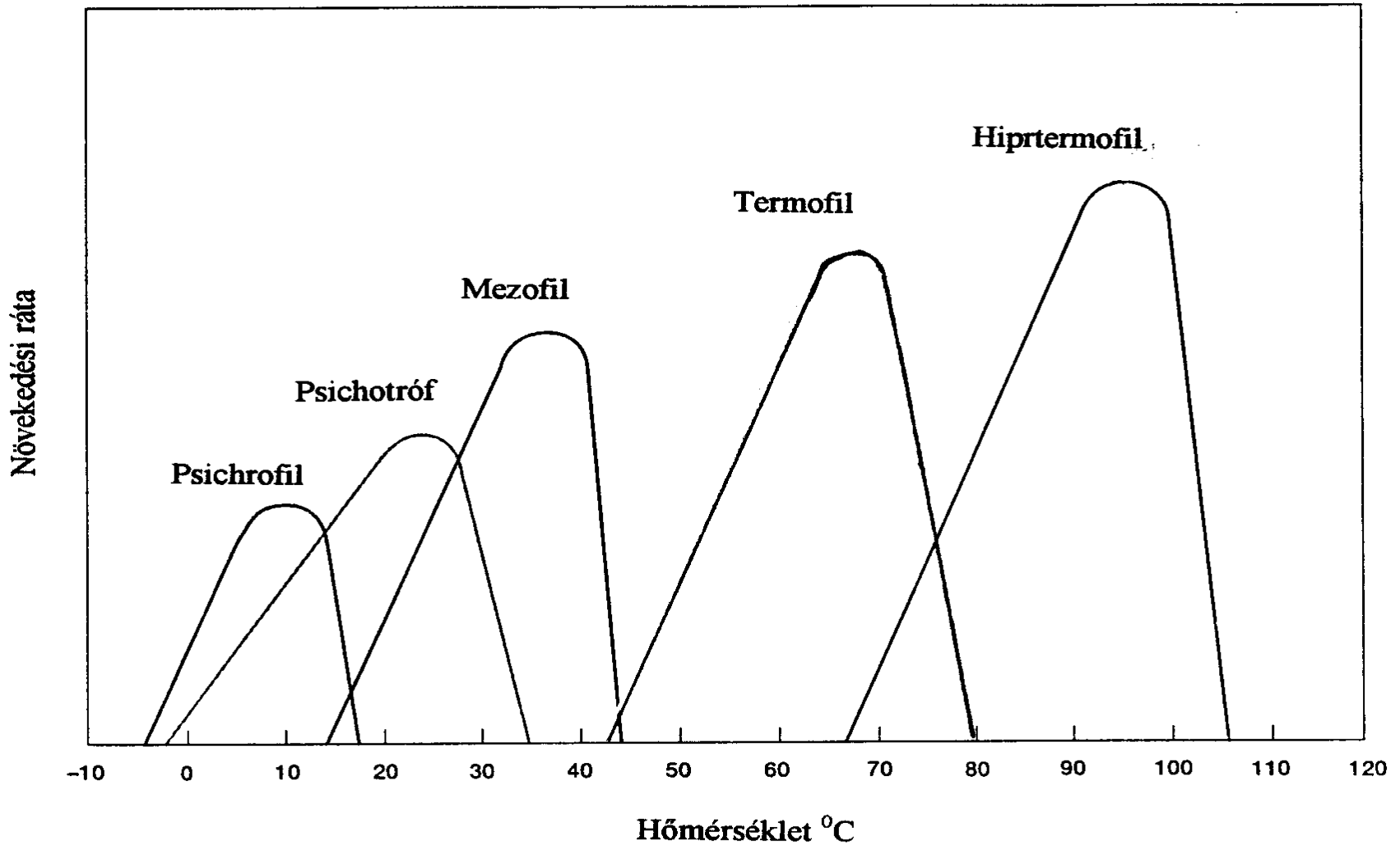
A hőmérsékleti optimum különbségei:



(Madigan et al., Fig. 6.17)

Hőmérséklet

	Optimális	Minimális	Maximális
Pszichrofil	10	0	20
Pszichotoleráns	20	5	30
Mezofil	25-40	20	45
Termotoleráns	42	35	45
Termofil	55	45	65
Extrém termofilek	>65	>40	>100
Hiper termofilek	>80		>90-110



50. ábra. A baktériumok hőmérsékleti igény szerinti csoportosítása

Hidegkedvelők-pszikrofilek:

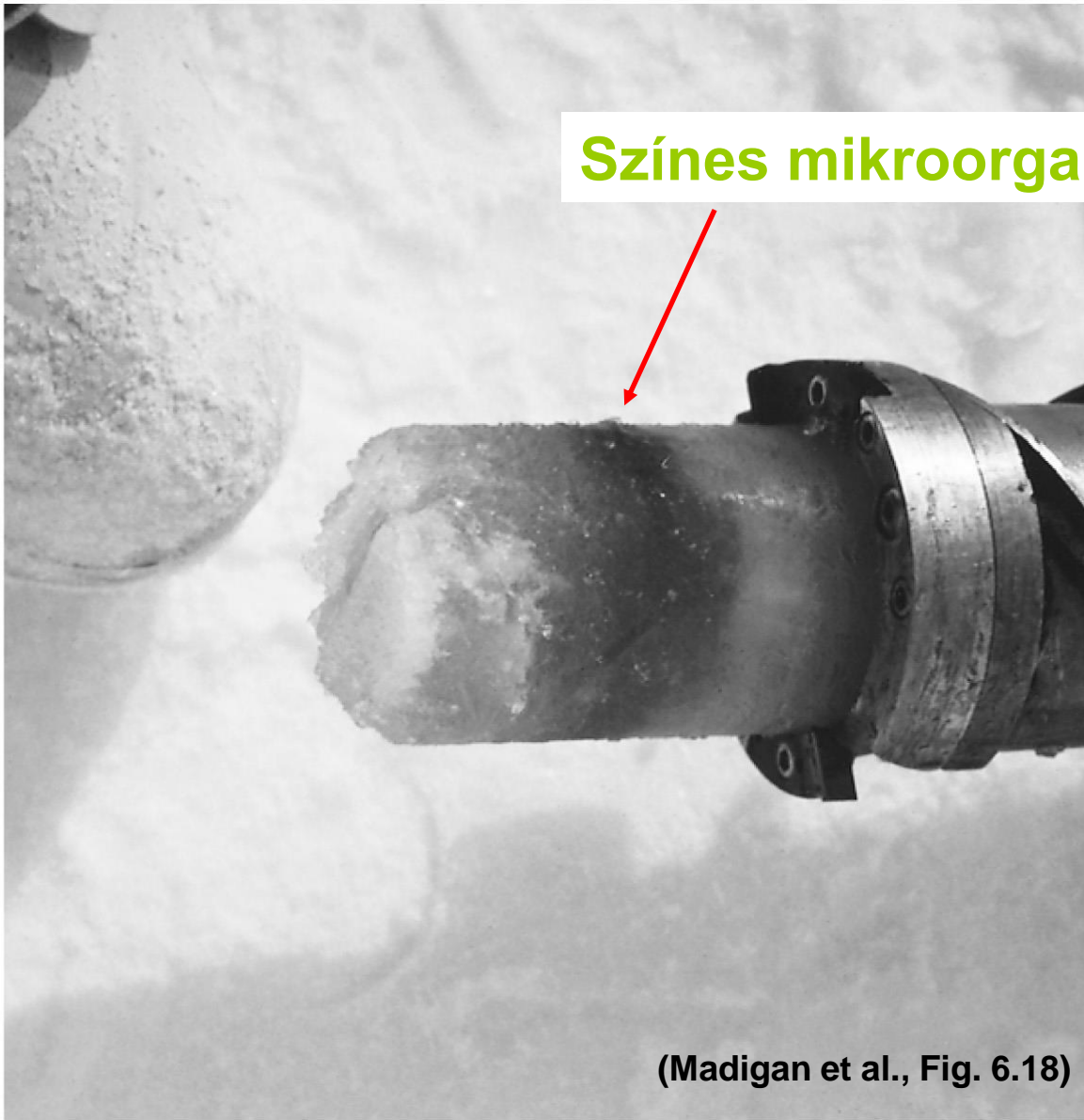
- **optimum** növekedési maximum 15°C v. alatta
- **maximum** kevesebb, mint 20°C
- **minimum** $\leq 0^{\circ}\text{C}$

- nagyon érzékenyek a normál felszíni hőmérsékletre
 - az enzimeik denaturálódnak
- A membránjukat felépítő foszfolipidjeikben nagyobb arányban vannak telítetlen zsírsavak, mint a mérsékelt klímát kedvelőkében
- jellemző élőhelyük: **óceán fenék** – a hőmérséklet állandóan 5°C alatt van

Psychrotolerant-hidegtűrők:

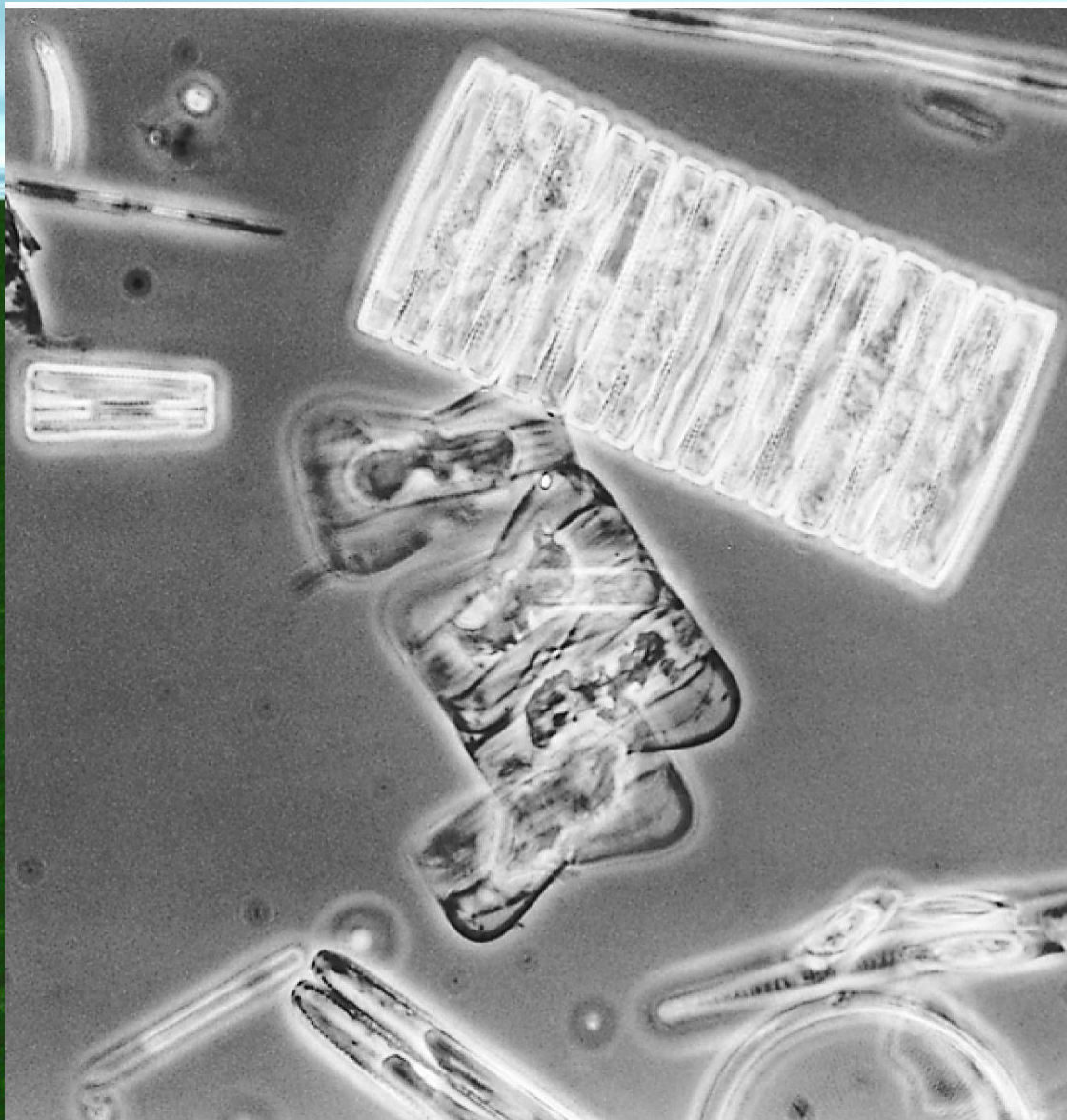
- Képesek növekedni 0°C alatt
- Az optimális növekedési hőmérséklet 20-40°C
- Úgy kell gondolni rájuk, mint olyan mezofilekre, amelyek képesek hidegben is növekedni
- A mérsékelt övben található meg:
 - jellemző élőhelyek: az egyetem előtti gyep

Színes mikroorganizmusok



(Madigan et al., Fig. 6.18)

McMurdo Sound tengeri jégből származó fúrás mag



Mikroorganizmusok a jégmagból – kova- és zöld-algák

A hőmérséklet felső határa a növekedés szempontjából:

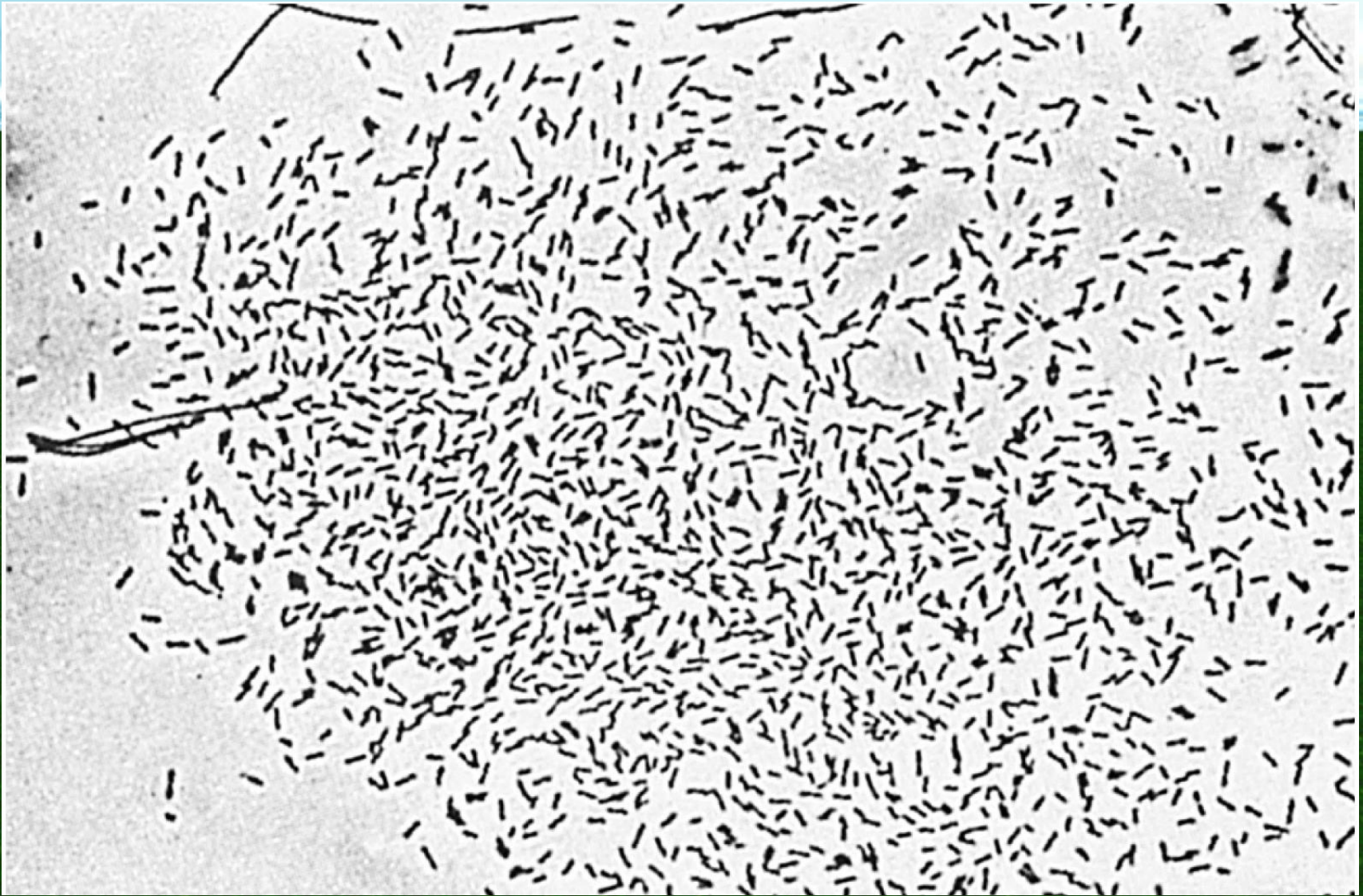
Csoport	Az elviselt hőmérséklet felső határa (°C)
Állatok	
halak	38
rovarok	45-50
rákok	49-50
Növények	
edényes növények	45
mohák	50
Eukarióta mikroorganizmusok	
protozoa	56
algák	55-60
gombák	60-62
Prokarióták	
<i>Bacteria</i>	
cianobaktériumok	70-74
anoxygenic fototrófok	70-73
kemotrófok	95
<i>Archaea</i>	113



Boulder Spring, Yellowstone National Park

- forrásban lévő víz; szuperforró 1-2°C a forráspont felett

(Madigan et al., Fig. 6.20)



A forrásban lévő vízbe lógatott tárgylemezen kialakult prokarióta mikrokolónia

Példák forró élőhelyekre:

- nyár közepén a talajfelszín: 50°C
- komposzt halmok: 65°C
- forró vizű források: a víz forrás pontja
- óceán mélyén lévő hőforrások: 350°C
- forró víz hűtők



Fény

- A legtöbb mikroba nem igényli a fényt
- Sőt a fényre igen érzékenyek
- Az ultraibolya fény baktericid hatású
- Fotodinamikus hatás
- A spórások ellenállóbbak
- Direkt – indirekt hatás

Nyomás

- A mikrobák általában ellenállóak a nyomással szemben
- Barofil szervezetek
- A hirtelen nyomásváltozás károsan hat a mikrobákra

Rázás (vibráció)

- Az erős és gyors vibráció károsítja a szervezeteket
- Mechanikai sérülés
- Enyhe, kíméletes rázás serkenti a mikrobák szaporodását

Ozmózis

- A közeg hipo-, izo és hipertóniás lehet
- Plasmoptízis
- Plasmolízis

Ozmózissal szembeni viselkedés alapján:

- Ozmotoleráns
- Fakultatív ozmofil
- Obligát ozmofil

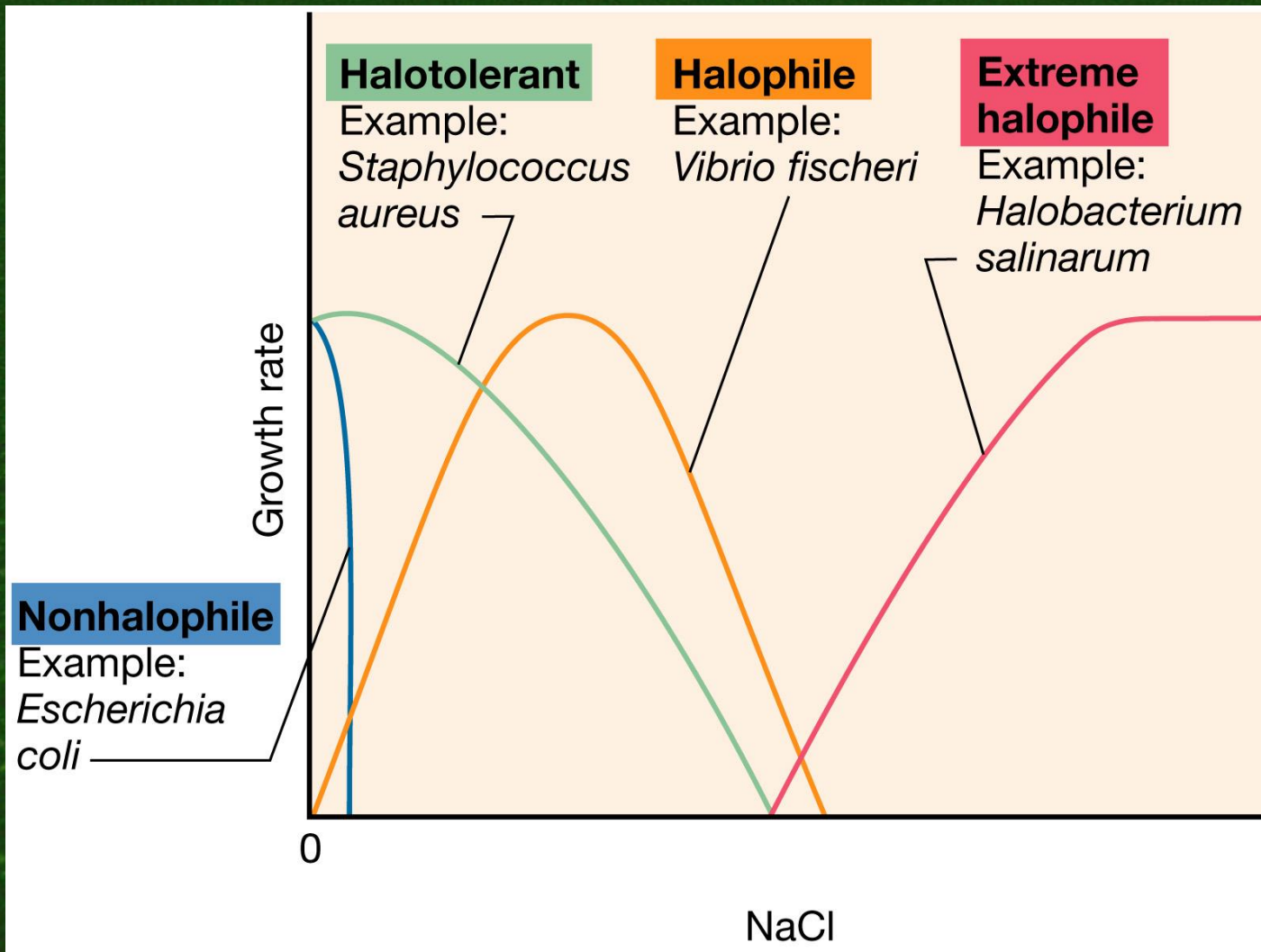
Halofilia (sótolerancia)

- Az alacsony vízaktivitás speciális esete
- Halofilek

Sótolerancia alapján történő csoportosítás:

- Halotoleráns
- Fakultatív halofil
- Obligát halofil

Só tűrés:



Hidrogén-ion koncentráció (pH)

- Hatása igen erős, és differenciált!
- Elsősorban a plazmahártyát alkotó fehérjék elektromos töltésére hat

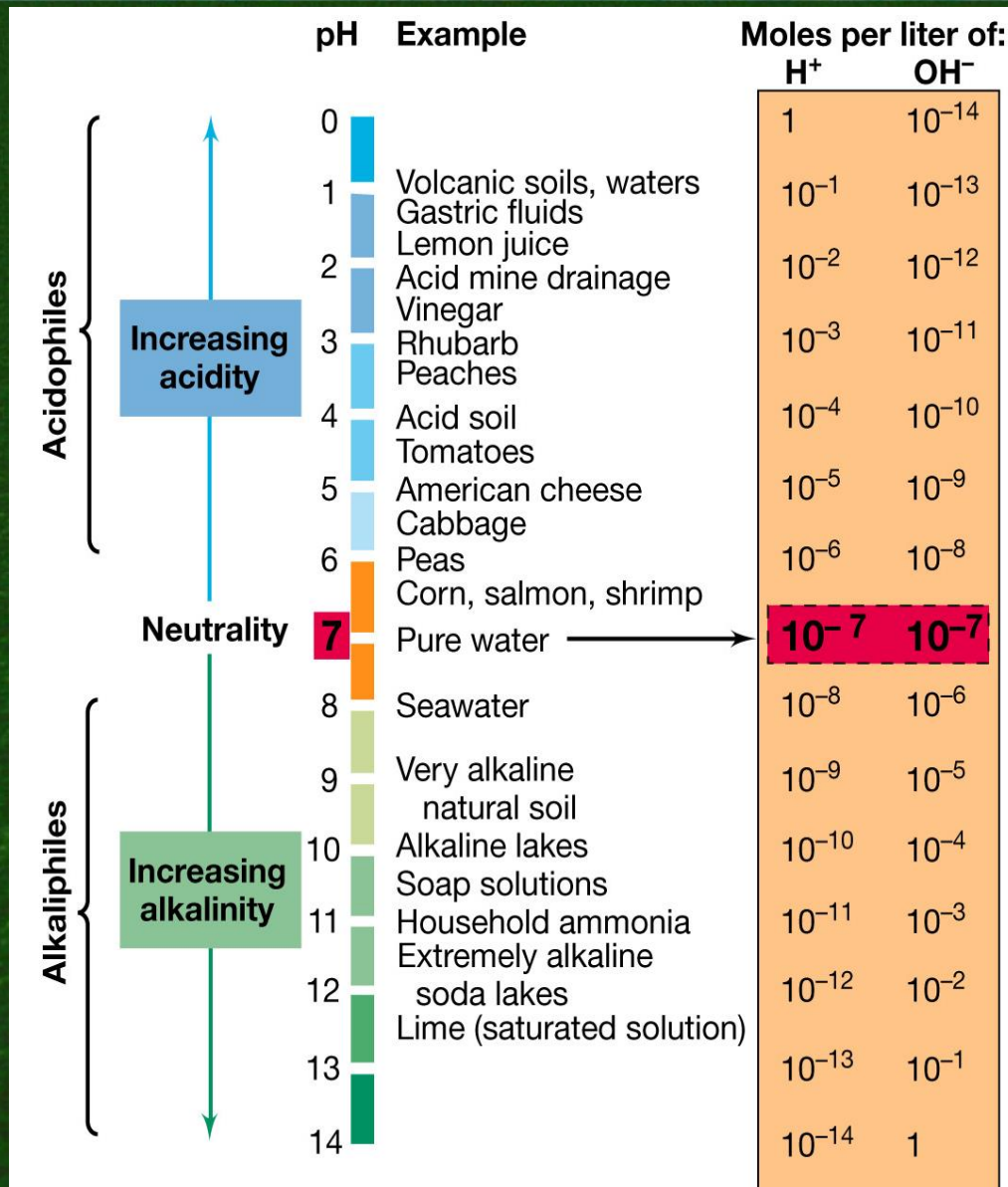
A mikrobák pH igényük alapján:

- Acidofil
- Neutrofil
- Alkalofil

A mikroorganizmusok csoportosítása pH-igényük alapján

Mikroorganizmusok	Minimum (pH)	Maximum (pH)
Escherichia coli	4,4	9,0
Salmonella typhi	4,5	8,0
Lactobacillus sp.	3,0	7,2
St. aureus	4,3	8,0
Penészgombák	1,5	11,0
Sarjadzógombák	1,5	8,0

pH skála:



**Nem számít,
hogy a mikroba
milyen külső
pH-t kedvel, a
belső pH
általában
semleges**

Kémiai anyagok és vegyületek

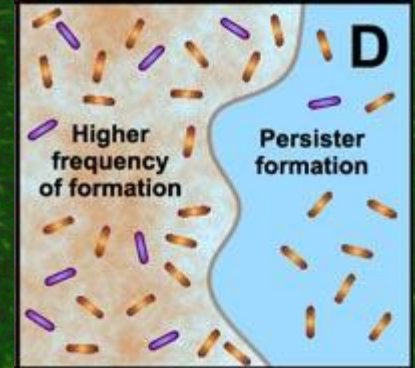
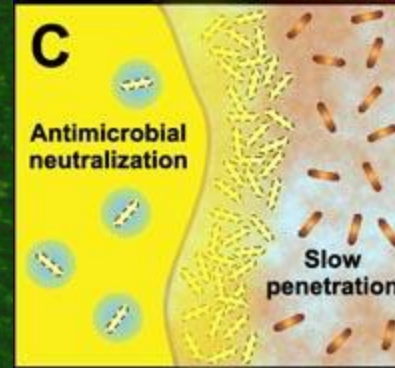
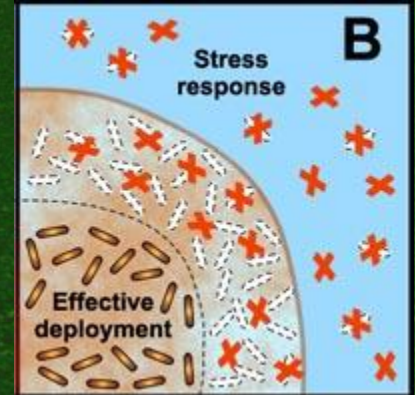
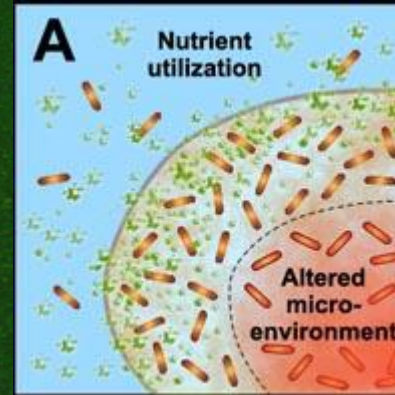
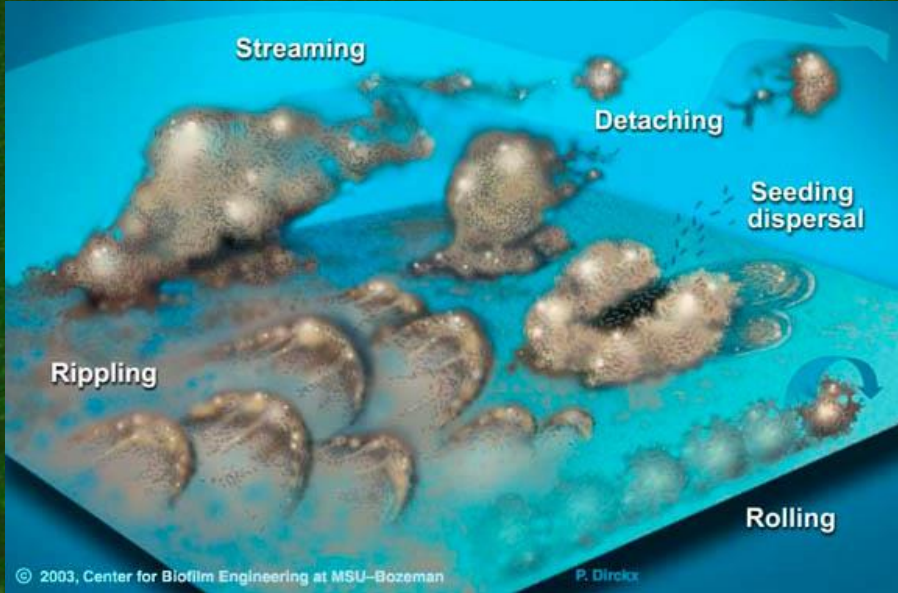
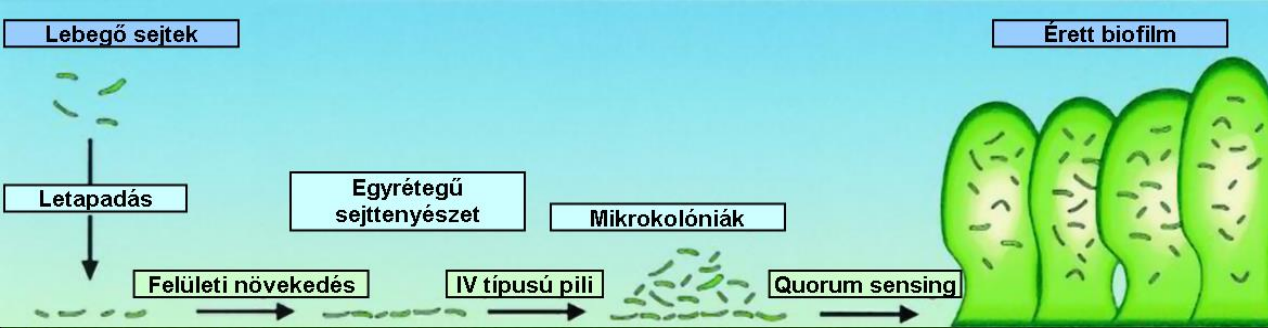
1. Tápanyagok:

- Oxigén
- Széndioxid
- Szerves szén
- Nitrogén
- Növekedési faktorok
- Ásványi sók

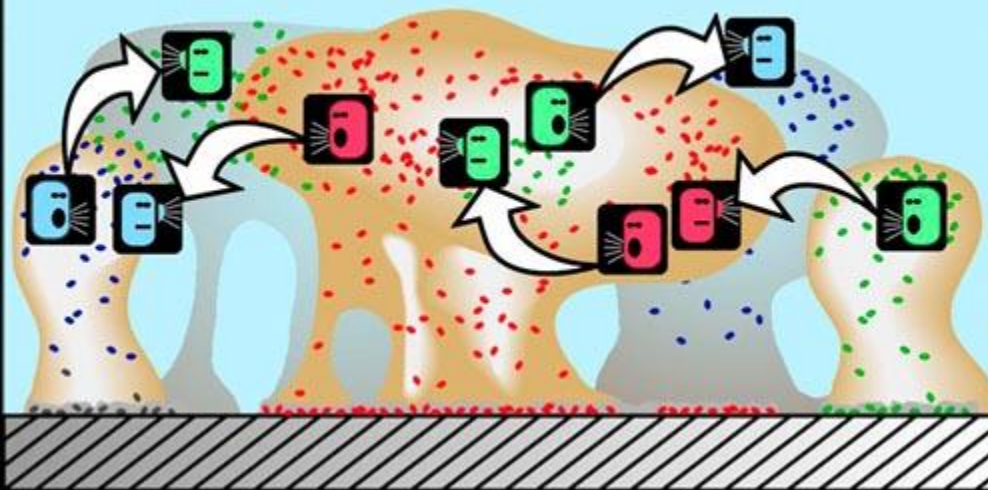
Extremofilek

Thermofilek	113°C	Mély tengeri hőforrások
Psychrofilek	<0°C	Sarkvidék és gleccserek
Halofilek	30% NaCl	sóbepárlók, sózott ételek
Acidofilek	pH 0,5	Melegvizes medencék és savas bányameddő
Alkalofilek	pH 12,5	Szódás tavak
Oligotrófok	Kevés táplálék	Desztillált víz
Radiofilek	Erős sugárzás	Nukleáris reaktorok
Barofilek	Nagy nyomás	Mélytengeri árkok

Biofilm



Cell-Cell Communication

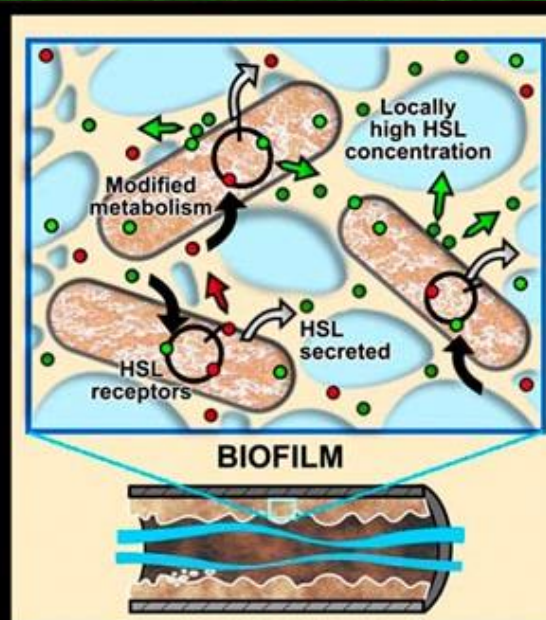
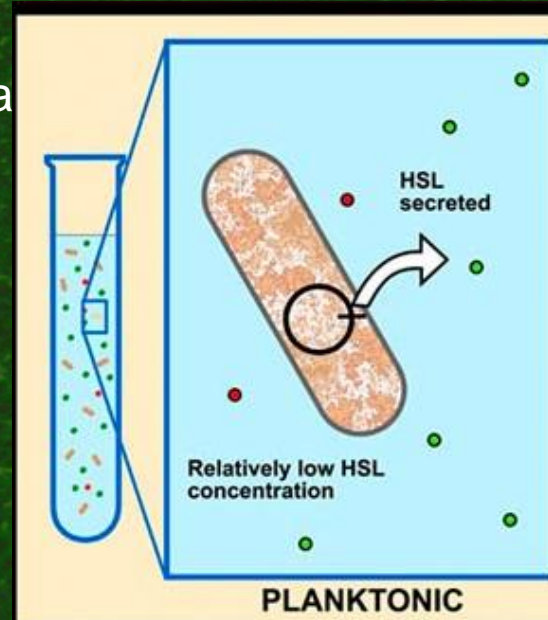


Quorum sensing

A baktériumok képesek kémiai jeleket kibocsáni, amit más baktériumok befogadhatnak (sejt-sejt közötti kommunikáció) → populáció szinten koordinált viselkedés! (Courtesy, MSU-CBE.)

Quorum Sensing.

A lebegő sejtek is kibocsátanak kis koncentrációban kémiai jelet (pl. HSL-ek, homoszerin-laktonok), de a kis koncentrációjú molekulák nem változtatnak a genetikai tul. kifejeződésén. Biofilmben, sűrű közösségben nagyobb HSL koncentráció → a HSL molekulák átjutnak a sejtmembránon → változást idéznek elő a sejtben (Courtesy, MSU-CBE.)

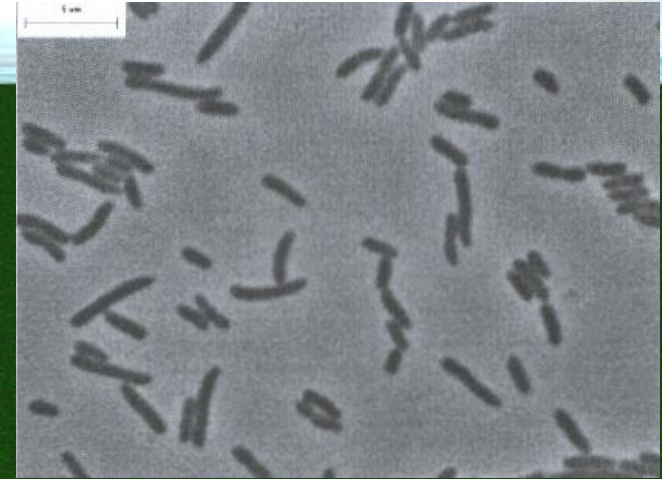


Az ipari biotechnológiai eljárásokban leggyakrabban használt mikroorganizmus csoportok

- *Pseudomonas*
- *Sphingomonas*
- *Bacillus*
- *Rhodococcus*
- *Clostridium*
- *Streptomyces*
- *Methanotrófok*
- *Methanogének*

Pseudomonas fajok jellemzése, jelentősége

- ***Proteobacteria*** – törzs
 - Gammaproteobacteria - osztály
 - *Pseudomonadales* – rend
 - ❖ *Pseudomonadaceae* – család
 - ✓ *Pseudomonas* – nemzetség



- A talajmikroorganizmusok legdominánsabb csoportja, többségük képes több xenobiotikus anyagot bontani (> 100 kül. szerves vegyületre)
- Gram negatív, aerob pálcák, főleg a mezofil körülményeket kedvelik
 - ált. a molekuláris oxigént használják, de néhány faj képes végső e^- akceptorként a nitrát oxigénjét használni
- Kemoorganotrófok (energianyerés szerves anyagokból)
- Flagellum, főleg poláris
- Pigment, két csoport: fluorescens ill. nem fluorescens
- Felületaktív anyagokat = ramnolipideket termelnek
- fitohormonok – siderophore pl. pyoverdine (vas felvételben fontos szerep)
- oxigenázok ill. hidrolitikus enzimek, pl. proteázok, lipázok

Biotechnológiai jelentőségük

- Plazmidok – számos fenotipikus tulajdonságért felelősek
pl. rezisztencia, degradatív enzimeket kódoló gének
- PHA akkumuláció (tartalék tápanyagként) a nem fluorescens pseudomonasokban - biopolimerek előállításában fontos szerep (biodegradálható műanyagok)
- Bioremediáció, biodegradáció – xenobiotikumok bontása: aromás-, halogén tart. vegyületek, műanyagok, oldószerek...
szerepük jelentős, részben, mert szaporításuk ált. egyszerű, nem finnyásak
lebontásban oxigenázoknak kulcsszerep, ill. zsír- (lipázok, észterázok), cukorbontó (α -amiláz) enzimek
- Felületaktív anyagaikkal a hidrofób jellegű vegyületek hozzáférését segítik elő (szénhidrogének, halogén tartalmú vegyületek)
- Sejtfal felépítésben több faj esetén alginátot találunk – védő funkció

Plazmidok

- Kettős szálú cirkuláris DNS molekulák, nem eszenciálisak
- Önálló replikáció, de a gazdaszervet fehérjéire, enzimeire szüksége van
- 1-200 kb (legkisebb 874 bp - hipertermofil mikroorganizmusból), léteznek megaplazmidok (500- kb)
- Lineáris plazmidok is léteznek, pl. Streptomycesekben
- Alacsony v. magas kopiaszám
- Biodegradációs utak enzimeit kódoló gének

kromoszómán

plazmidon

- Ismertebb „katabolikus plazmidok” pseudomonasokban:
TOL (pWWO), NAH, SAL, CAM, ...

Mezőgazdasági jelentőségük

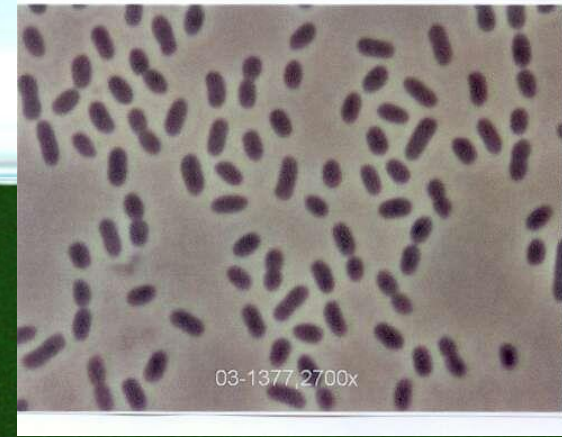
- Növény-talaj-mikroorganizmus kapcsolat (rhizoszféra)
- Növények számára előnyös a pseudomonasok jelenléte, ezért, mint biokontroll ágens használják is a mezőgazdaságban (főleg a *P. fluorescens*-t), általuk kiválthatók lehetnek bizonyos gyom-, rovarirtó szerek
 - Egyes fajok képesek többféle másodlagos metabolitot termelni, pl. HCN, 2,4-diacetil-floroglucinol, indol-3-ecetsav, stb, melyek a növényeket támadó patogének ellen hatásosak
 - Siderophore-ok termelése, a vas-felvételben fontos szerep
 - pioverdinek – vízoldékony fluorescens, sárgászöld pigmentek, kiváló vas-komplexálók
 - ferrioxamin – hidroxamát típusú, a *P. stutzeri* termeli

Jellemző képviselők

- *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. stutzeri*, *P. cepacia*
- *P. aeruginosa*, *P. mallei* – ember-, állatpatogén
- *P. syringae* – növénypatogén

- *P. putida* és *P. aeruginosa* teljes genom szekvenciája ismert, ezeknek a fajoknak a bioremediációban vezető szerep jutott

A *Sphingomonas*ok

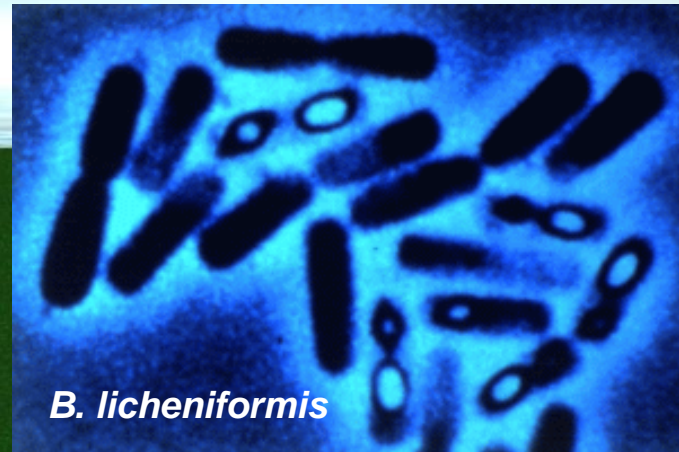


- ***Proteobacteria*** – törzs
 - Alphaproteobacteria - osztály
 - *Sphingomonadales* – rend
 - ❖ *Sphingomonadaceae* – család
 - ✓ *Sphingomonas* – nemzettség
- Gram negatív, aerob pálcák, szinte mindenhol megtalálhatók
- Kemoorganotrófok, rendkívüli metabolikus képesség
- Flagellum, egy poláris
- Pigment – nem fluorescens, karotinoid pigment = nostoxantin, jellegzetes sárga színt ad a sejteknek (egy-két faj kivétel)
- Egyedi membrán struktúra – glikoszfinbolipideket tart., de a G-negatív fajokra jellemző lipopoliszaharidokat (LPS) nem. A sejtfelszín így savas karakterű, mely tul. az eukariótákra jell. Ez a tulajdonságuk fajmeghatározó bélyeg is
 - poláris lipid profil – az egyes fajokra nagyon jellemző, ami az azonosításban nagy segítség
 - zsírsav profil szintén jellegzetes
- exopoliszacharid (sejtfelszínen) : gellán – ipari jelentőség

Biotechnológiai jelentőségük

- Biodegradáció:
 - xenobiotikumok bontása pl. aromás-, szulfonált-, halogén tart. vegyületek, furánok, dibenzodioxin
 - Legtöbbször oxigenolitikus reakciók → oxigenázok
- Ipari biotechnológia:
 - Gellán, exopoliszaharid, melyet elsősorban az élelmiszeripar hasznosít (sűrítő, emulgeáló szerként). Viszkózus, és rendkívül stabil (pH=2-10 tart.). A *Sphingomonas elodea* termeli, vízben oldható, az agar-agar helyett mikrobiológiai munkákhoz is alkalmazzák
 - alginát liáz (alginát polimer bontása) citoplazmatikus, endolitikus enzim. Az élelmiszer-, textiliparban használt alginát kémiai szerkezetének megismeréséhez, fizikai tulajdonságainak felderítéséhez használják, valamint egészségügyben az alginátot tartalmazó patogének ellen, azok vizsgálatához
- Jellemző képviselők:
 - S. paucimobilis*, *S. capsulata*, *S. elodea*, *S. subarctica*, *S. diminuta*, *S. adhesiva*

Bacillus-ok



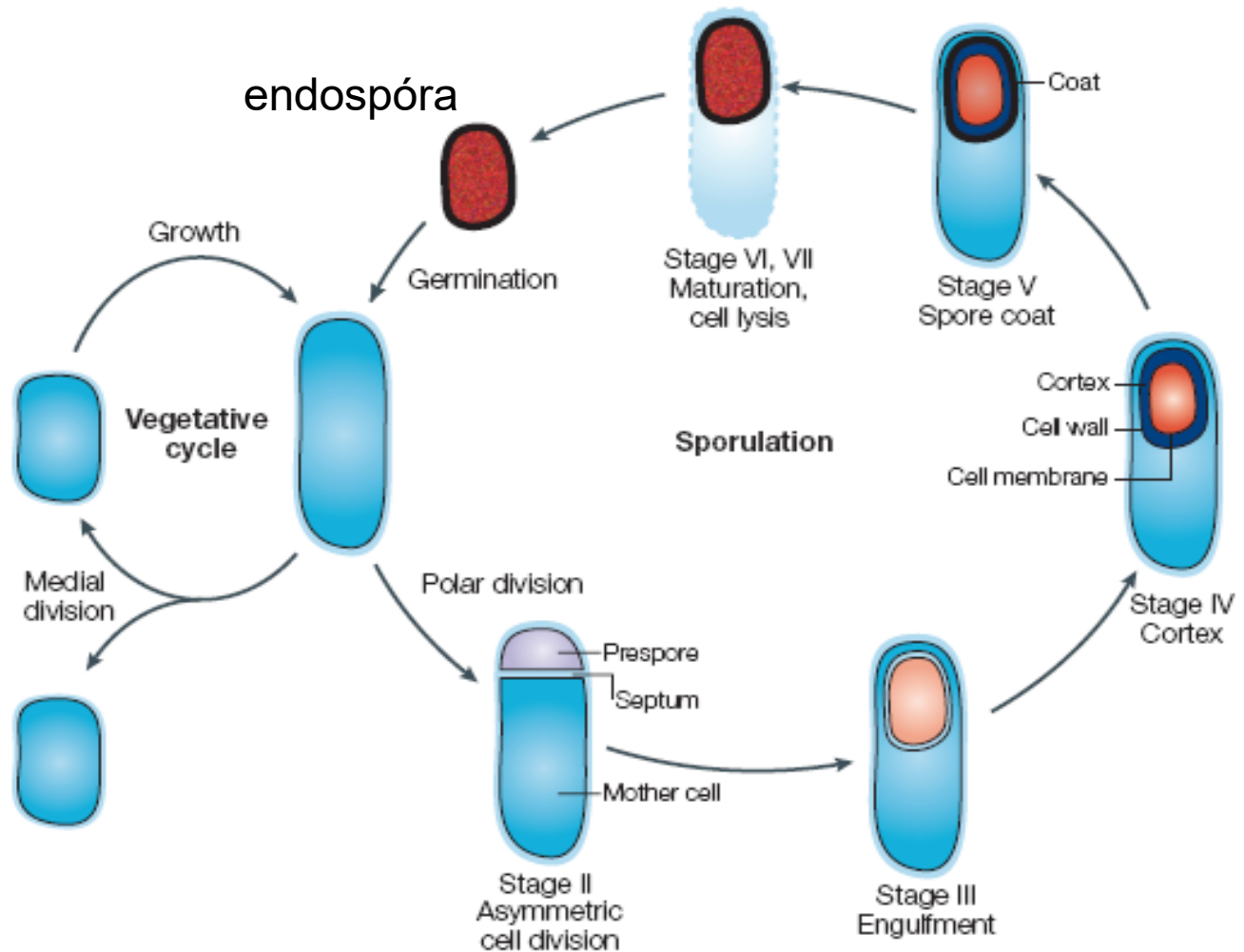
- **Firmicutes** – törzs
 - Bacilli - osztály
 - Bacillales - rend
 - ❖ Bacillaceae – család
 - ✓ *Bacillus* – nemzetség
- Gram- pozitív, aerob (fakultatív anaerob) pálcák
 - néhány faj képes a NO_3^- -ot, mint végső e^- akceptort haszn.
- Kemoorganotrófok, mezo-, termofilek, alkalofilek (pH > 8,0)
- Elterjedtek a környezetben
- Hőstabil endospórákat képeznek
- Extracelluláris enzimek: proteázok, lipázok, amilázok
- Toxinokat termelnek
 - baktériumok ellen – polymyxin B (*B. polymyxa*) pseudomonasok ellen
 - gombák ellen – gramicidin S (*Brevibacillus brevis*)
 - növények ellen – peptid típusú toxin (*B. cereus*)
 - rovarok ellen – δ -endotoxin, szúnyoglárvák fejlődését gátolja (*B. thuringiensis*)
 - ember, állat ellen – antrax (*B. anthracis*)

Sporuláció

- Un. kitartóképlet (túlélési stratégia)
- Külső tényezők
- Spóra fala spec. dipikolinát tart.

Az endospóra a baktérium sejtben lehet:

- terminális
 - szubterminális
 - centrális
- helyzetű



B. subtilis endospóra képzése

Ipari, mezőgazdasági, biotechnológiai jelentőségük

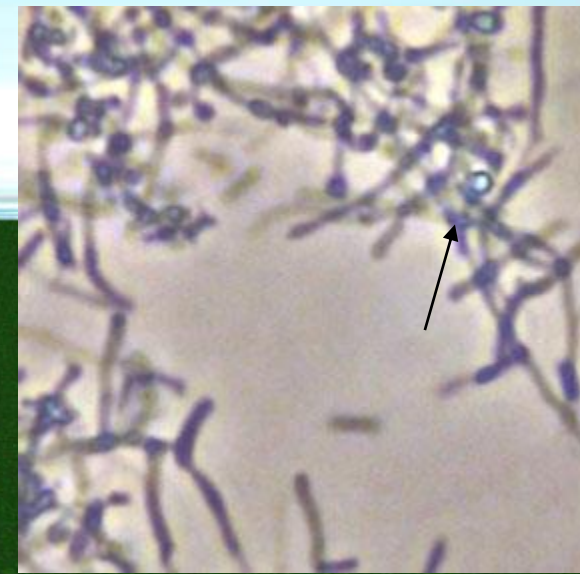
- Ipar
 - Mosószer ipar: subtilisin (alkalikus proteáz, *B. subtilis* termeli), nagyon stabil magas hőmérsékleten, lúgos körülmények között
 - Hús-, és baromfifeldolgozó iparban keratináz (*B. licheniformis*) – a keletkező keratin tartalmú szőr ill. toll hulladék feldolgozása/elbontása
 - Élelmiszeriparban, szesziparban α -amiláz (több faj is termeli, pl. *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. amyloliquefaciens*) – keményítő bontása
 - gyógyszeripar, környezetvédelem – glükanotranszferáz (*B. macerans*) a keményítőtől ciklodextrint képes előállítani, mely stabilizáló, csomagoló anyagként haszn.
 - *Bacillus clausii* különböző vitaminok, különösen a B-vitamin csoport termelésére képes. Alkalmazásával antitoxikus hatás érhető el.
- Mezőgazdaság
 - Elsősorban a *B. megaterium*-ot haszn., szervesanyagok lebontására, átalakítására: a növények számára felvehető formára hozzák azokat mono-, oligomerekre hasítják
- Bioremediáció
 - felületaktív anyagok → hidrofób jellegű vegyületek bontása

Ismertebb képviselői:

- *B. megaterium, B. licheniformis, B. subtilis, B. clausii, B. stearothermophilus*
- *Rovarpatogén: B. thuringiensis*
- *Növénypatogén: B. cereus*
- *Ember, állatpatogén: B. anthracis*

Érdekességként megemlítjük, hogy bizonyos anyagok több funkcióval bírnak, pl. subtilisin, enzim és felületaktív anyagként is viselkedik. Több felületaktív anyag toxikus vegyületként hat más szervezetekre

Streptomyces-ek



- **Actinobacteria** – törzs
 - Actinobacteria - osztály
 - Actinomycetales - rend
 - ❖ Streptomycetaceae – család
 - ✓ Streptomyces – nemzetség
- Gram-pozitív, aerob, kemoorganotróf baktériumok
- Gombaszerű hifákat képeznek, spóráznak (de ez nem endospóra!!!!)
- Extracelluláris enzimek, főleg proteolitikus és szénhidrát bontó enzimek
- Antibiotikus-, gomba ellenes-, bioaktív anyagok
 - eddig mintegy 10 000 féle antibiotikus tulajdonsággal bíró vegyületet írtak le, melyeket e fajok termelnek, pl. streptomycin, erythromycin, neomycin, puromycin, oxytetracycline, chloramphenicol...
 - antifungális anyagok, pl. nistatin, amphotericin
 - rákellenes anyagok, pl. migrastatin
- Bioremediáció: fehérje, szénhidrát, szénhidrogén bontás
- Képviselők: *S. fradiae*, *S. griseus*, *S. albidoflavus*, *S. pactum*, *S. coelicolor*, *S. erythreus*

Rhodococcus fajok



- **Actinobacteria** – törzs
 - Actinobacteria - osztály
 - Actinomycetales - rend
 - ❖ Nocardiaceae – család
 - ✓ Rhodococcus – nemzettség
- Gram-pozitívak, aerobok, nem mozognak, elterjedtek a környékben
- Morfológiailag pálcák és coccus szerű formák, micéliumos szaporodás
- Sejtfal egyedi, mikolátokat tartalmaz → hidrofób jelleg
- Felületaktív anyagok: celluláris, extracelluláris
- Flokkulánsok: polipeptid és lipid rész
- Nagy lineáris plazmidok
- Bioremediációban: olajos szennyeződések komponenseinek bontása, főleg alifás szénhidrogéneket, PCB biodegradáció (oxigenázok), deszulfurizáció
- Bioszenzorként is használják
- Képviselők: *R. rhodochrous*, *R. erythropolis*, *R. globerulus*, *R. roseus*, *R. ruber*

Biotechnológiai jelentőség

- Bioremediáció
 - Alifás, aromás szénhidrogének bontása
 - Felületaktív anyagok részvételével
 - Oxigenáz enzimeik segítségével
 - Deszulfurizáció
 - Szerves kötésben lévő kén eltávolítása a szerves vegyületekből (üzemanyagokban tiofének)
- Ipari jelentőség
 - Nitriláz enzim, fontos transzformációkat katalizál, pl akrilsavból akrilamid, segítségével amidok, antimikobakteriális ágensek, vitaminok előállíthatók
- Környezeti monitor
 - Bioszenzorként
 - Főleg szénhidrogén szennyezések detektálására
 - Egyik törzs heroin észteráz enzimet képes termelni, ezzel a heroin detektálható
 - Egy másik törzs fenilalanin dehidrogenáza segítségével a fenilketonuria (recesszíven öröklődő genetikai anyagcserezavar) betegség detektálható

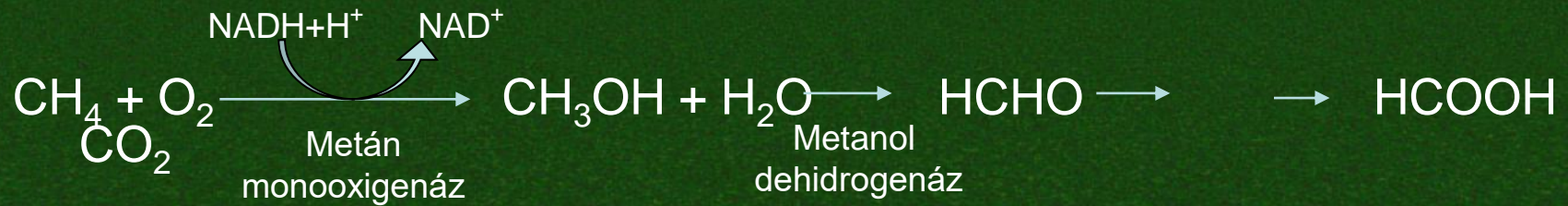
Metilotróf baktériumok



- Nagyon heterogén társaság
- „C₁ baktériumok” –nak is nevezzük őket, mert 1 vagy 2 szenet tartalmazó (legtöbbször metánt, vagy metanolt) vegyületeket hasznosítanak fő szén- és energiaforrásként
- Mikroaerofilok, olyan helyeken terjedtek el, ahol egyszerre találnak metánt és oxigént
- Képviselők: metanotrófok, metilotróf baktériumok (főleg G-),
 - ❖ Metilotróf élesztők pl. *Pichia*, *Candida* fajok – alkohol oxidáz enzim (alkoholból hidrogén-peroxidot képez)
 - ❖ Fakultatív metilotrófok, pl. *Methylobacterium* sp., metanol hasznosítók
 - ❖ Metanotrófok (metán oxidáció) pl. *Methylosinus*, *Methylomonas*,
 - Monooxygenázok: sMMO, pMMO
 - Metanol dehidrogenáz metanolból formaldehid képzést katalizálja

Ipari biotechnológiai jelentőség

- Metanolgyártás

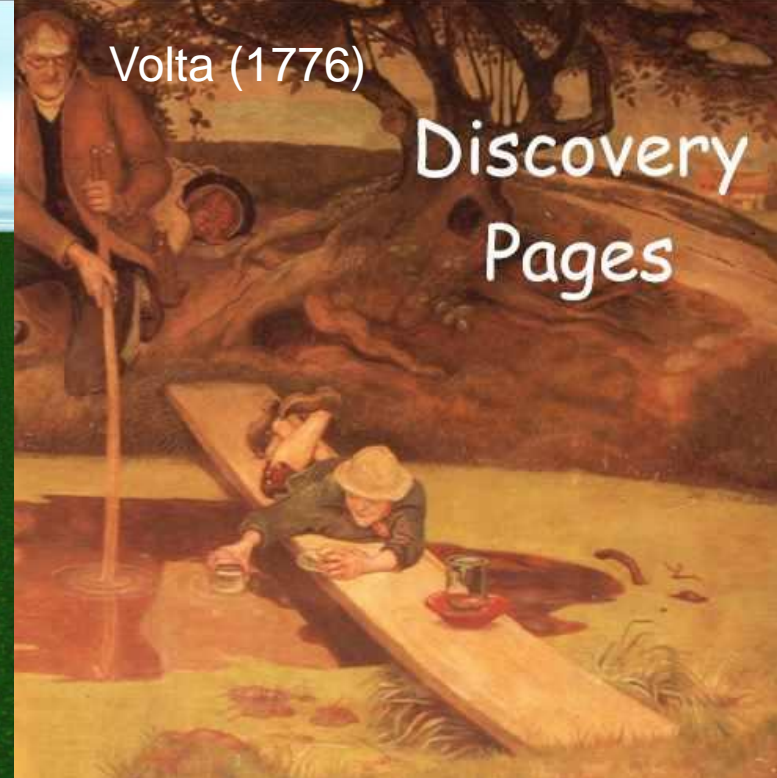


- Bioremediáció: Metán hasznosítók, klórozott szénhidrogének (pl. TCE) bontása
- Egy sejt fehérje termelés (C_1 szubsztrát olcsó, így olcsó biomassa állítható elő)

Metanogének

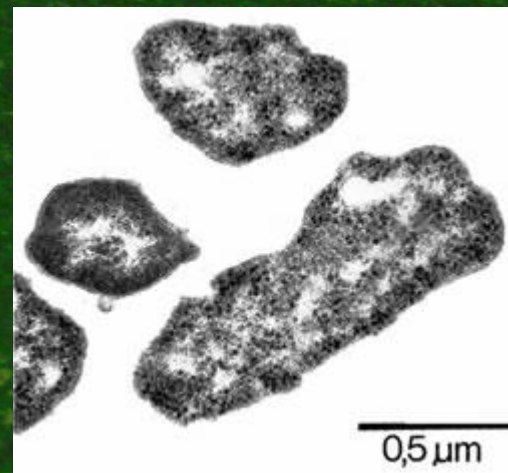
Volta (1776)

Discovery
Pages



- ***Euryarchaeota*** – törzs
 - ***Methanobacteriales***,
 - Methanococcales***,
 - Methanomicrobiales*** - rendek
- Felfedezésük: lángoló mocsár történet
- Archaea, obligát anaerobok, nikkel igény
- Sokféle megjelenés – pálca, kokkusz
- Előfordulnak metanogén környezetben
 - pl. anaerob emésztők, üledékekben, szennyvíziszapban, talajban, de élő szervezetekben is (emésztő rdsz.)
- Közös ismertető, hogy a CO₂-ot (esetleg metil csoport tartalmú vegy.-t) redukálják, ahol az e⁻ donor H₂, formiát lehet, szénforrásként az acetátot kedvelik
- Pseudomurein tart. sejtfal (antibiotikum rezisztencia), sejt membrán is egyedi (nincs tipikus zsírsav észter)
- Szulfát, nitrát limitált környezetben
- Hidrogén termelő törzsekkel szintrófiában élnek

• Biogáz előállítás



Clostridiumok



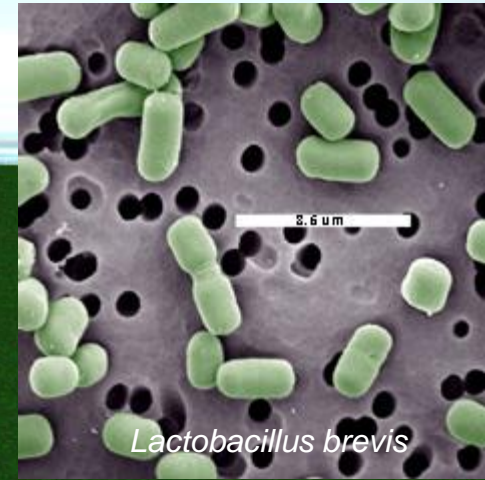
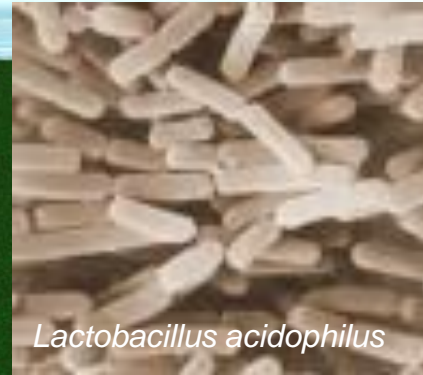
- Phylum: *Firmicutes*
 - Class: Clostridia
 - Order: *Clostridiales*
 - ❖ Family: *Clostridiaceae*
 - » Genus: *Clostridium*
- Nagyon heterogén nemzetség (több, mint 120 faj), mindenhol előford.
- Pálca formájúak, mozgékonyak –peritrich flagellumokkal
- Gram pozitív sejtfal struktúrával rendelkeznek
- Szigorúan anaerob (metabol. szigorúan fermentatív), oxigénérzékeny
- Hő rezisztens endospórával rendelkeznek
- Molekuláris biológiai vizsgálatok szerint nagyon heterogén társaság
- Néhány faj patogén – fehérje természetű exotoxin (*C. botulinum*, *C. perfringens*, *C. histolyticum*, *C. tetani*)
- *C. acetobutylicum*, *C. thermocellum*, *C. butyricum*, *C. sporogenes*, *C. kluyveri*...

Biotechnológiai jelentőségük

- fermentatív metabolizmus
- oldószer termelés (ABE = aceton-butanol-etanol fermentáció)
- poliszaharidok bontása (cellulóz)
- ammónia asszimiláció (anabolikus folyamatokkal beépítés a szervezetbe)

Tejsavbaktériumok

- Phylum: *Firmicutes*
 - Class: **Bacilli**
 - Order: *Lactobacillales*
 - ❖ Family: *Lactobacillaceae*
Enterococcaceae
Leuconostocaceae
Streptococcaceae

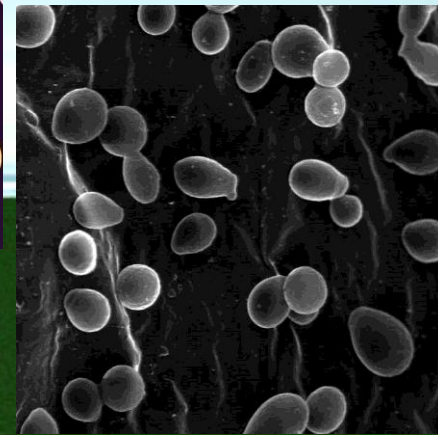


- Gram pozitív, nem spóra formáló, anaerob baktériumok, plazmidjaik vannak
- **Tejsav** – fő fermentációs termék, a fermentáció spontán lezajlik, ha a rendelkezésre álló állati és növényi szervesanyag tartalmaz elegendő mono-, és diszaharidokat
- Létfentosságú alkotói az emberi mikroflórának, de bárhol megtaláljuk őket
- bakteriocinek (nisin) termelése rokon és más baktériumok ellen, szelekciós előny
- Néhány faj patogén (haemolitikus streptococcusok; enterococcusok)
- Ipari jelentőség – tejipar, gyógyászat
már Kr. előtt 3-4 ezer évvel ismerték és haszn. a kovászt, ill. sajt előállító sumérok
- Pl. *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii*,
Streptococcus thermophilus, *Streptococcus pyogenes* (streptokinase)
Enterococcus faecalis, *Bifidobacterium bifidum*, *Leuconostoc mesenteroides*,
Pediococcus sp.

Ipari, biotechnológiai jelentőségük

- **Joghurt-gyártás:** a *Lactobacillus bulgaricus* proteolitikus aktivitásának eredménye, peptidok, melyekből egy *Streptococcus* hangyasavat képez, ez stimulálja a *Lactobacillust*. A joghurtban a fő aromakomponens az acetaldehid, melynek termelődéséért a *L. bulgaricus* specifikus aldoláz enzime felelős, treoninból keletkezik. A folyamat 40-45 fokon zajlik
- **Kefir-gyártás:** a kefir 'gomba' élesztőt (*Candida*), *Lactobacillus*-okat, mezofil *Lactococcus*-okat és időnként ecetsav baktériumokat is tartalmaz. A *Lactobacillus kefiranofaciens* glikokalixot termel, ez tartja egybe a kefir'gombát'.
- **Sajt-gyártás:** klasszikus, kemény sajtokban: a sajtalapot 50-55 fokra melegítik, melyet a termofil *Lactobacillusok* túlélnek, és a lehülés során fermentálják a sajtalapot. A sajt íze, minősége attól függ, milyen *Lactobacillus* van jelen.
- **Káposzta savanyítás:** szeletelt káposzta + NaCl, a fermentáció *Lactobacillusokkal* kezdődik
- **Kovács készítés:** az élesztő mellett homo-, és heterofermentatív *Lactobacillusok* is részt vesznek
- **Takarmány silózás:** aprított gabona, kukorica – először aerob mikroorganizmusok elhasználják a zárt térből az oxigént, majd anaerob környezetben tejsav baktériumok, tejsavat állítanak elő, egészen alacsony pH környezet kialakulhat, akár 2% tejsav konc. is lehet, melyet ezek a mikróbák túlélnek

Élesztők



- *Fungi (Gombák)*
 - *Ascomycota (tömlős gombák)*
 - (*Saccharomycetales*
 - *Saccharomycetaceae*
 - » *Saccharomyces cerevisiae*)

- Eukarióták, gombák
- Szaprofita vagy parazita, (csak egy-két patogén), megtaláljuk őket bárhol, ahol szerves szénforrás biztosított
- Egyes fajok képesek un. killer toxinok termelésére más fajok ellen
- Savanyú környezetet kedvelik
- Metabolizmusuk: cukor fermentáció, alkohol és CO₂ keletkezik
- Több ezer éve ismerik, használják – kenyér, bor, sör előállítás
- Hasznosítás: élelmiszeripar, gyógyászatban is



KÖSZÖNÖM A FIGYELMET!



ENZIMEK, BIOREMEDIÁCIÓ, FITOREMEDIÁCIÓ

74

Előadó:

Dr. Kaszab Edit, egyetemi docens

KÉMIAI ÁTALAKULÁSOK A SEJT BEN

○ Feltételek:

- Nagy részüknek gyorsan kell megtörténnie,
- Kiegyenlített, rendkívül ellenőrzött közegben zajlanak (pH, hőmérséklet stb. → a kémiai reakcióknak nem kedvez

○ Megoldás:

- Biokatalizátorok → enzimek
- Az élő szervezetben nincs olyan folyamat, amiben ne vennének részt!

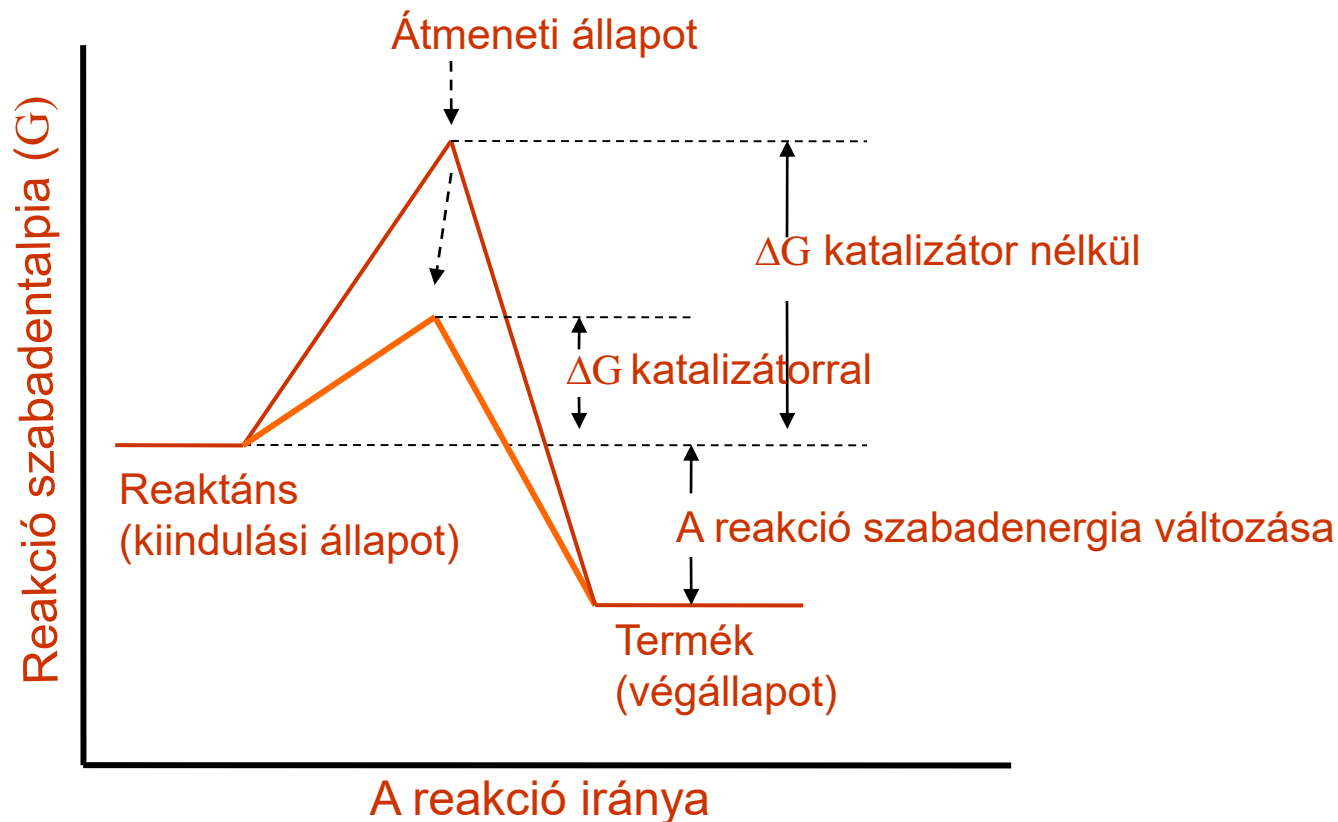


Az enzimek

- Az enzimek fehérjék, különböző reakciókat katalizálnak megfelelő körülmények között
- Működésük hőmérséklet és pH függő
- Nemcsak a kémiai, hanem az energiaátalakításban is jelentősek
- Az enzimek specifikusak, csak egy adott vegyület, vagy vegyületcsoport adott reakcióját katalizálják
- Néhány enzim ún. széles szubsztrát specifitással, bír, azaz többféle vegyület átalakítására képes
- Működésük egy részüknél szabályozott
- Ipari, biotechnológiai jelentőségük óriási
- Számos enzim vesz részt biodegradációs folyamatokban

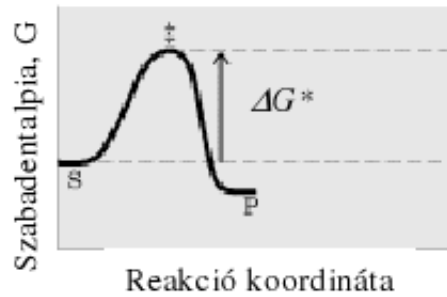
ENZIMEK, MINT KATALIZÁTOROK

- Reakciókhoz katalizátorokra van szükség → enzimek

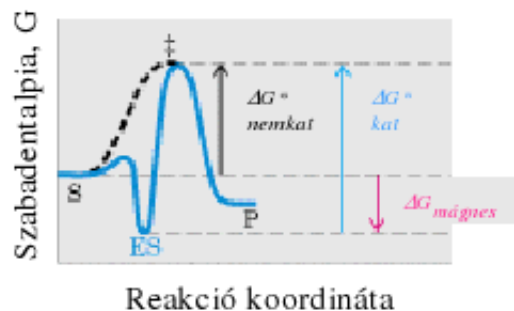
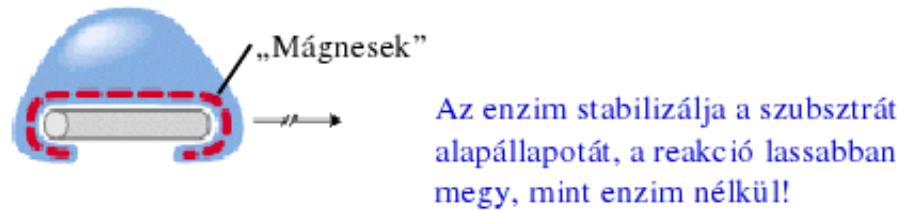


→ kinetika (biokémia – Michaelis-Menten kinetika)

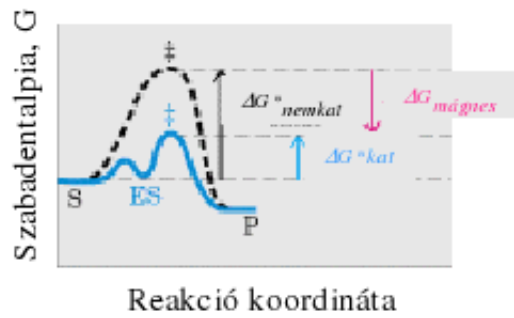
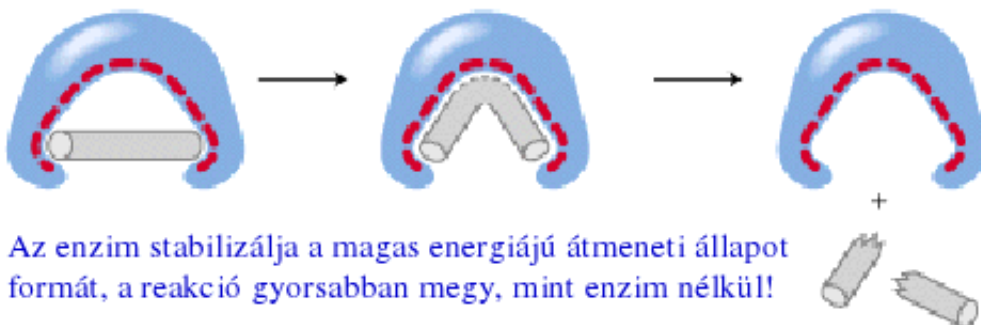
a) Enzim nélkül



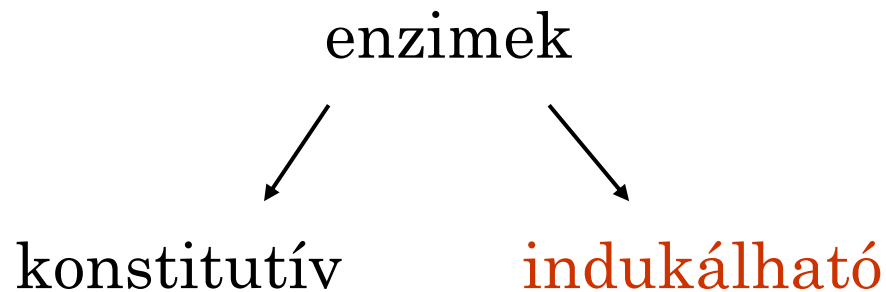
b) Olyan enzimmal ami a szubsztráttal komplementer



c) Olyan enzimmal ami az átmeneti állapottal komplementer



Az enzim $\Delta G_{\text{mágnesek}}$ kötési energiája egyenlő az ΔG^* csökkenéssel!



Szerkezetük:

Egy polipeptid lánc (pl. hidrolázok többsége: proteázok, nukleázok)

Több polipeptid lánc:

- Azonos szerkezetű és funkciójú láncok pl. D-gliceraldehid-3-foszfát
- Azonos funkciójú, de eltérő szerkezetű alegységek – **izoenzimek** (magasabbrendűeknél, pl. emlősökben a foszforiláz)
- Enzimek nem fehérjével alkotott molekuláris komplexei – **struktúrához kötött enzimek** (pl. membránokon a fehérje-lipid kapcsolat → ATP-ázok)
- Eltérő funkciójú polipeptidláncok (pl. protein kinázok, melyek katalitikus és regulációs alegységből állnak)

KOENZIMEK, KOFAKTOROK

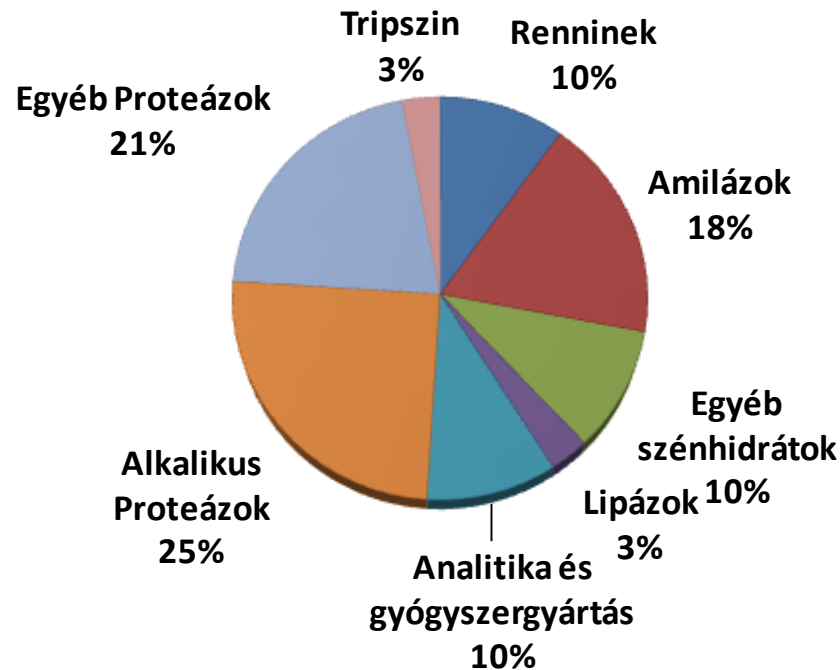
- Az enzimek lehetnek egyszerű, vagy összetett fehérjék
- Az összetett fehérjék önmagukban nem képesek a reakciókat katalizálni, ehhez szükségük van valamilyen nem fehérje természetű anyagra (kofaktor). Ha ez szorosan kötődik az enzimhez, prosztetikus csoportnak nevezzük, ha lazán, koenzimnek.
- A teljes, működőképés enzim a holoenzim (fehérje rész: apoenzim, nem fehérje rész: koenzim)
- A legtöbb mikroorganizmus képes a koenzimeket szintetizálni
- NAD, NADP, FAD, ubiquinon, CoenzimA,... főleg elektron transzfer, esetleg funkciós csoport transzfer (acil, metil)
- Pl. NADH katabolikus folyamatokban a szubsztrátról eltávolítja a hidrogént

CSOPORTOSÍTÁSUK

International Union of Biochemistry (IUB) az enzimeket osztályozták
(4 számmal jelölik)

1. Oxidoreduktázok: oxidációs-redukciós reakciók
pl. alkohol dehidrogenáz, metán-monooxygenáz
2. Transzferázok: atomcsoport áthelyezés
pl. aminotranszferázok, foszfotranszferázok
3. Hidrolázok: kovalens kötés hasítása víz belépésével
pl. észterázok, lipázok, glükozidázok, proteázok,
4. Liázok: kettős kötés esetén csoport áthelyezés, vagy fordítva
pl. piruvát dekarboxiláz
5. Izomerázok: molekulán belüli átrendezés
pl. fruktóz izomeráz, ribulóz foszfát epimeráz
6. Ligázok: két molekula kapcsolása miközben ATP hasad
(szintetázok) *pl. piruvát karboxiláz*

A KÜLÖNBÖZŐ (IPARI) ENZIMEK ELADÁSI ARÁNYA (évi kb. 65 ezer tonna)



A BIOTECHNOLÓGIAI SZEMPONTBÓL JELENTŐS ENZIMEK

- Számos enzim vesz részt biodegradációs folyamatokban:
 - Oxigenázok
 - Proteázok
 - Amilázok
 - Cellulázok
 - Észterázok
 - Lipázok

BIOTECHNOLÓGIAI ELJÁRÁSOK SZEMPONTJÁBÓL LEGFONTOSABB TIPUSÚ ENZIMEK ÉS ENZIM-KATALIZÁLT REAKCIÓK

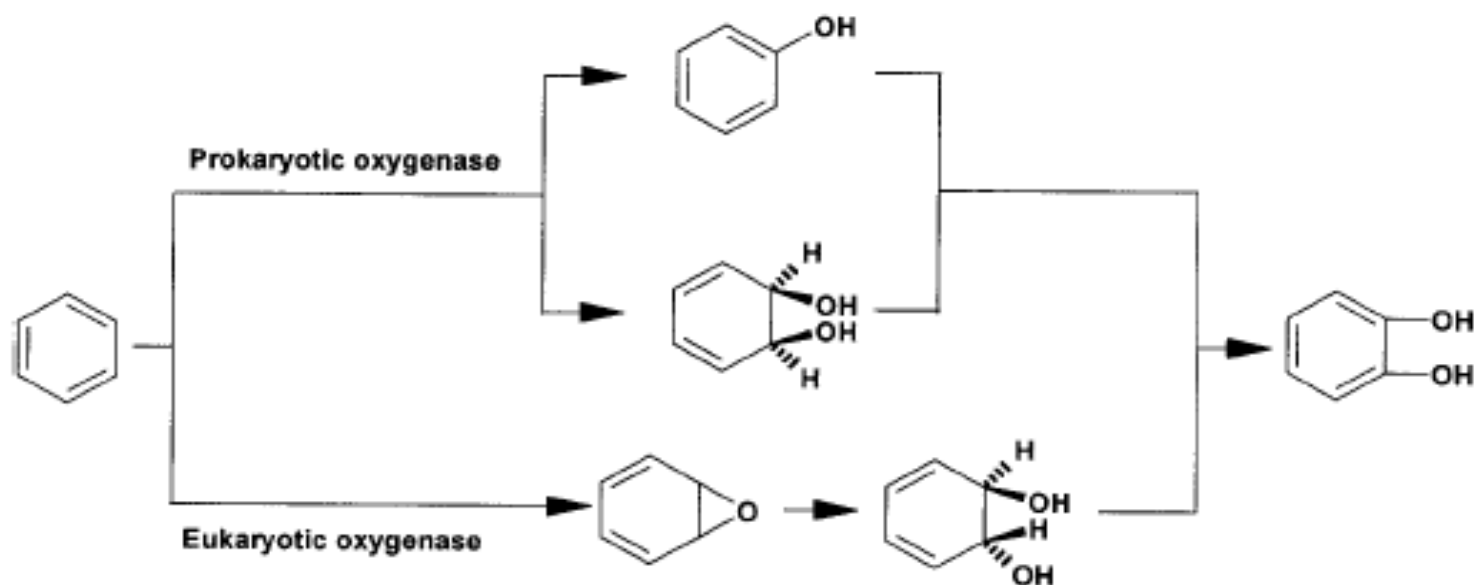
- Számos enzim vesz részt biodegradációs folyamatokban
- Oxidáció: aromás gyűrű oxidatív hasítása, pl. oxigenázok
 - hidroxiláció, pl. hidroxilázok
 - heteroatomok oxidálása (pl. amino csoport nitro csoporttá)
 - oldallánc oxidatív hasítása
- Redukció: karboxil csoport redukció, pl. dekarboxilázok
 - heterocsoport redukció
 - kettős kötés redukció
- Hidrolizis – hidrolázok
- - Depolimerizáció:
 - fehérje polimerek hasítása: pl. proteázok,
 - cukor polimerek hasítása: pl. amilázok, cellulázok
 - lipidek bontása: lipázok, észterázok

OXIGENÁZOK

- Aerob lebontási folyamatokban játszanak szerepet
- Alkánok, aromás vegyületek oxidációját katalizálják, melynek eredménye alkoholok, aldehidek, epoxidok, karboxilsavak
- Ipari biotechnológiai jelentőség
- Működésükhöz molekuláris oxigénre, és kofaktorokra van szükség
- Szerkezetükben, működésükben, kofaktor igényükben eltérnek
- Általában több alegységből állnak
- Az általuk katalizált reakció energianyerő, de a keletkező energiát a sejt a szubsztrát szerkezet destabilizálására fordítja

1955	Osamuri Hayaishi	- felfedezi az oxigenáz enzimeket → dioxigenázok
	H. S. Mason	- felfedezi a fenoláz enzimet → monooxigenázok
1965-	Irwin Gunsalus	- citokróm P450 bakt. monoox.
1970	David Gibson	- aromás szénhidrogén dioxigenázok - lebontó útvonalak tanulmányozása
1980-	sok kutatócsoport	- lebontási útvonalak feltérképezése
	Ananda Chakrabarty	- katabolikus plazmid transzfer <i>Pseudomonas</i> törzsek között

AZ AROMÁS GYŰRŰ SZERKEZET LEBONTÁSI ÚTVONALÁNAK ELSŐ LÉPCSŐJE A PROKARIÓTA ÉS EUKARIÓTA OXIGENÁZOK



Az enzimreakció során a NAD(P)H-t az enzimen levő FAD oxidálja, a FADH₂ kofaktorhoz kapcsolódik az O₂, és egy reaktív hidroxiperoxiflavin tartalmú fehérje képződik. Majd egy átmeneti köztiterméken keresztül hidroxilálja az aromás gyűrűt.

OXIGENÁZOK

Nagyon eltérő szervezetekből származnak, mégis számos közös tulajdonságot fedezhetünk fel szerkezetükben, reakció mechanizmusukban

Az oxigenázokat két nagy csoportba sorolják:

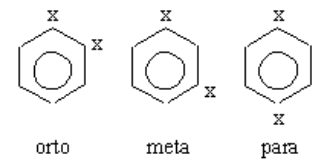
monooxigenázok,
dioxigenázok

I. MONOOXIGENÁZOK

- Az O_2 molekula egyik atomját építik be a célmolekulába, az oxigén másik atomja redukálódik és vízmolekulává alakul. Elektronadonorként NAD(P)H-t igényel, vagy magát a szubsztrátot használja
- Többségük egykomponensű enzim, de előfordul multikomponensű is pl. fenol-, toluol monooxigenáz

Csoportosításuk:

1. aromás gyűrű monooxigenázok
2. alkil csoport hidroxilázok
3. citokróm P-450 család
4. aromás aminosav hidroxilázok (Eukariótákban)



II. DIOXIGENÁZOK

- A dioxigenázok az O_2 mindkét atomját a szubsztrátba építik.

Csoportosításuk:

1. Az aromás gyűrűre oxigént építő

- mindig orto pozícióban dihidroxilálnak, katekol származék keletkezik
- funkcionálisan két rész: egy hidroxiláz komponens és egy e^- transzport komponens
- A reakcióhoz NAD(P)H-ra is szükség van.

2. Az aromás gyűrű hasításában résztvevő dioxigenázok

- A gyűrűt hasító dioxigenázok az oxigén molekula két atomját úgy építik be a katekol származékokba, hogy közben a gyűrű felnyitását is katalizálják, külső reduktánsra nincs szükség
- 2 v. több $-OH$ csoportot tartalmazó aromás gyűrűk a szubsztrátjaik

II. Dioxigenázok

2. AZ AROMÁS GYŰRŰ HASÍTÁSÁBAN RÉSZTVEVŐ DIOXIGENÁZOK

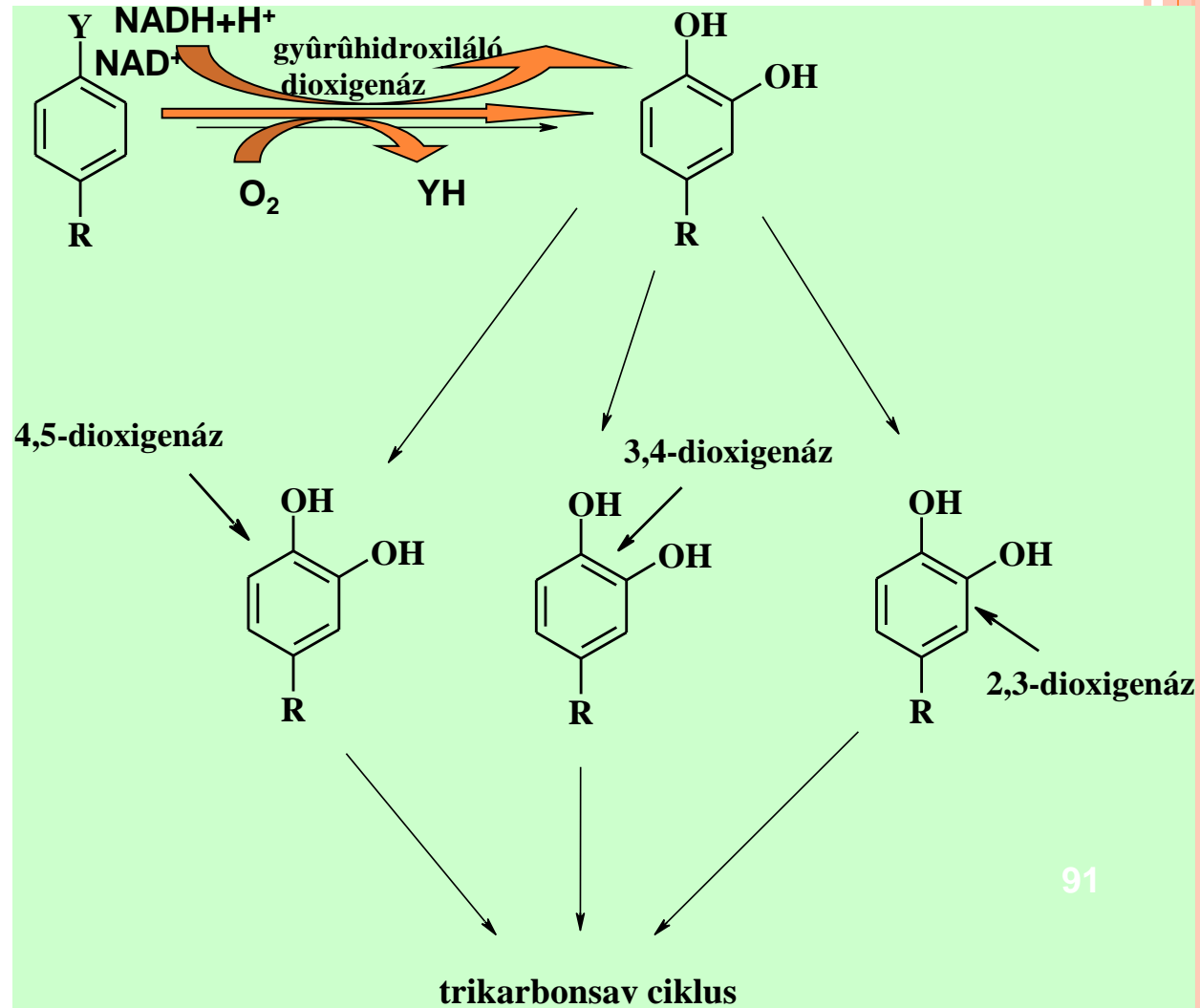
- Ha a 2 –OH csop. egymáshoz visz. helyzete *orto*, akkor több pozícióban is hasíthatják a gyűrűt:
megkülönböztetünk 2,3-; 3,4-; 4,5-gyűrű hasító dioxigenázokat:
 - a*, 2,3-; 4,5-dioxigenázok a katekolokat extradiol/meta,
 - b*, 3,4-dioxigenázok intradiol/orto helyzetben hasítják
- Ha a 2 –OH csop. egymáshoz visz. helyzete *para* pl. gentizát, akkor a karboxil csoport és a mellette lévő hidroxil csoport között hasít

II. Dioxigenázok

2. AZ AROMÁS GYŰRŰ HASÍTÁSÁBAN RÉSZTVEVŐ DIOXIGENÁZOK

a) orto/intradiol hasító dioxigenázok a két hidroxil csoport között nyitják a gyűrűt, mukonát intermedieren keresztül szukcinát keletkezik

b) meta/extradiol hasító dioxigenázok a két hidroxil csoport mellett hasítanak, hidroxi-szemialdehid intermedieren keresztül piruvát keletkezik



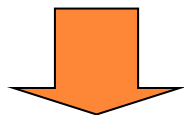
Kármentesítési módszerek

- **Termikus eljárások**
- **Fizikai eljárások**
- **Fizikai-kémiai eljárások**
- **Biológiai eljárások**

a szennyezőanyagok...

mikroszervezetek által végzett

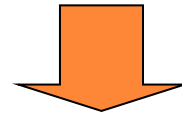
- ✓ lebontása (katabolizmus)
- ✓ átalakítása (transzformáció)



BIOREMEDIÁCIÓ

növények és társult
mikroszervezetek által végzett

- ✓ felvétele
- ✓ stabilizációja
- ✓ eltávolítása
- ✓ lebontása



FITOREMEDIÁCIÓ

Fogalmak:

- Biodegradáció
- Biotranszformáció
- Biostimuláció
- Bioaugmentáció
- Biológiai hozzáférés
- Biodegradációs potenciál

Hatékonyágát számos tényező befolyásolja (lásd később)

környezeti tényezők

mikróba populációk



enzimek

Def.

ALAPFOGALMAK - BIOREMEDIÁCIÓ

Bioremediáció tágabb értelemben:

*A szennyezett talaj, talajvíz, felszíni víz, vagy felszíni vízi üledék környezeti kockázatának csökkentése **biológiai módszerekkel.***

Élő sejtek (baktériumok, gombák) vagy szervezetek (pl. növények), esetleg azok valamely termékének (pl. enzim) *biodegradációs, bioakkumulációs* vagy biológiai stabilizálóképességét állítja a középpontba, ezeknek biztosít optimális körülményeket.

Bioremediáció szűkebb értelemben: A gyakorlatban kivitelezett, felhasznált **biodegradációs eljárások** összefoglaló neve.

Kármentesítési módszerek

- **Biológiai eljárások**
mikroszervezetek által végzett
a szennyezőanyagok...
 - ✓ lebontása (katabolizmus)
 - ✓ átalakítása (transzformáció)

- növények és társult
mikroszervezetek által végzett
 - ✓ felvétele
 - ✓ stabilizációja
 - ✓ eltávolítása
 - ✓ lebontása



A lebontási folyamatokat mikroszervezetek végzik!

Def.

ALAPFOGALMAK - BIODEGRADÁCIÓ

Biodegradáció:

- *Természetes biológiai lebontás, mely különböző környezeti elemekben zajlik*
- *Biotechnológiai eljárás, melyben a központi biokémiai folyamat a szerves anyagok biológiai, leggyakrabban **mikrobiológiai** lebontása*
 - *Költségtakarékos*
 - *Hatékony (optimális esetben a végtermék CO₂ és H₂O)*
 - *Környezetbarát*

Biodegradálhatóság:

- *szerves vegyületek biológiai bonthatósága*
- *egy szerves molekula komplexitásának csökkentése, vagy teljes lebontása, mineralizációja*

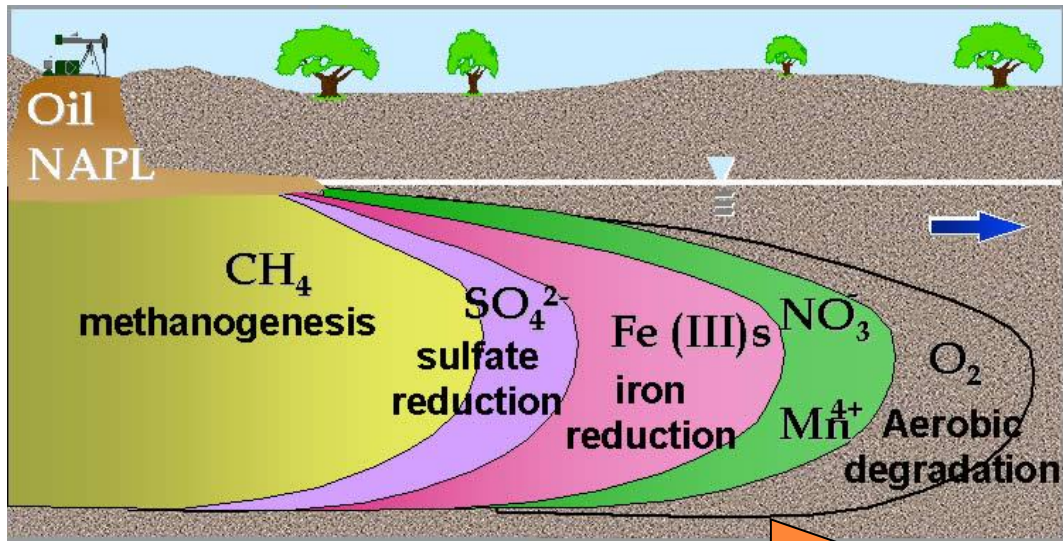
Meghatározó faktorok:

- jelenlevő veszélyes vegyületek típusa és mennyisége
- szennyezett terület mérete: kiterjedés, mélység
- talaj típusa, állapota
- tisztítási folyamat talaj felszínén vagy alatta zajlik
- költségigény
- időigény
- **környezeti tényezők**
- **mikrobiológiai tényezők**

A MIKROBÁK ÁLTAL VÉGZETT BIODEGRADÁCIÓ OPTIMÁLIS KÖRNYEZETI FELTÉTELEI

- **Oxigén (levegő) igény** → aerob viszonyok
 - a talaj mélyebb rétegeiben kevés az oxigén
 - ha az aerob lebontó folyamatokat akarjuk stimulálni: levegőbefúvatás, talajforgatás szellőztetéssel, vagy H_2O_2 befecskendezés, nitrát, szulfát utánpótlás
- **Kémhatás (pH)** → 6.0-8.0 (semleges)
- **Hőmérséklet** → 15-35°C
- **Nedvesség (víztartalom)** → maximális vízkapacitás 60-70%-a
 - Szállítóközeg
 - túl magas víztartalom gátolja az oxigén talajba jutását
 - túl alacsony nedvességtartalom a mikrobák aktivitását, túlélését korlátozza
- **Szervetlen tápanyagtartalom** a sejtek életfunkcióihoz szükséges ásványi anyagok: nitrogén, foszfor, kén, kálium, magnézium, kalcium, mikroelemek, vitaminok
 - 1 g CH lebontásához
 - Min: 20 mg Nitrogén (N)
 - Min: 40 mg Foszfor (P)
 - Min: 40 mg Kálium (K)
- **Talaj pórustérfogata (porozitás)** → 50-60 t%
- **Kötöttség (Arany-féle kötöttség)** → 31-50 K_A (homokos-vályog, agyagos-vályog)
- **Leiszapolható rész** → 21-70 % (homokos-vályog, agyagos-vályog)
- **Gátló tényezők lehetnek** →
 - Extrém toxikus elem tartalom
 - Növényvédőszer maradvány
 - Cianidtartalom
 - Extrém PAH-, PCB-tartalom
 - Magas olajtartalom (>10%), szabad fázisú szennyezés

Oxigénlimitált környezetben anaerob zónák

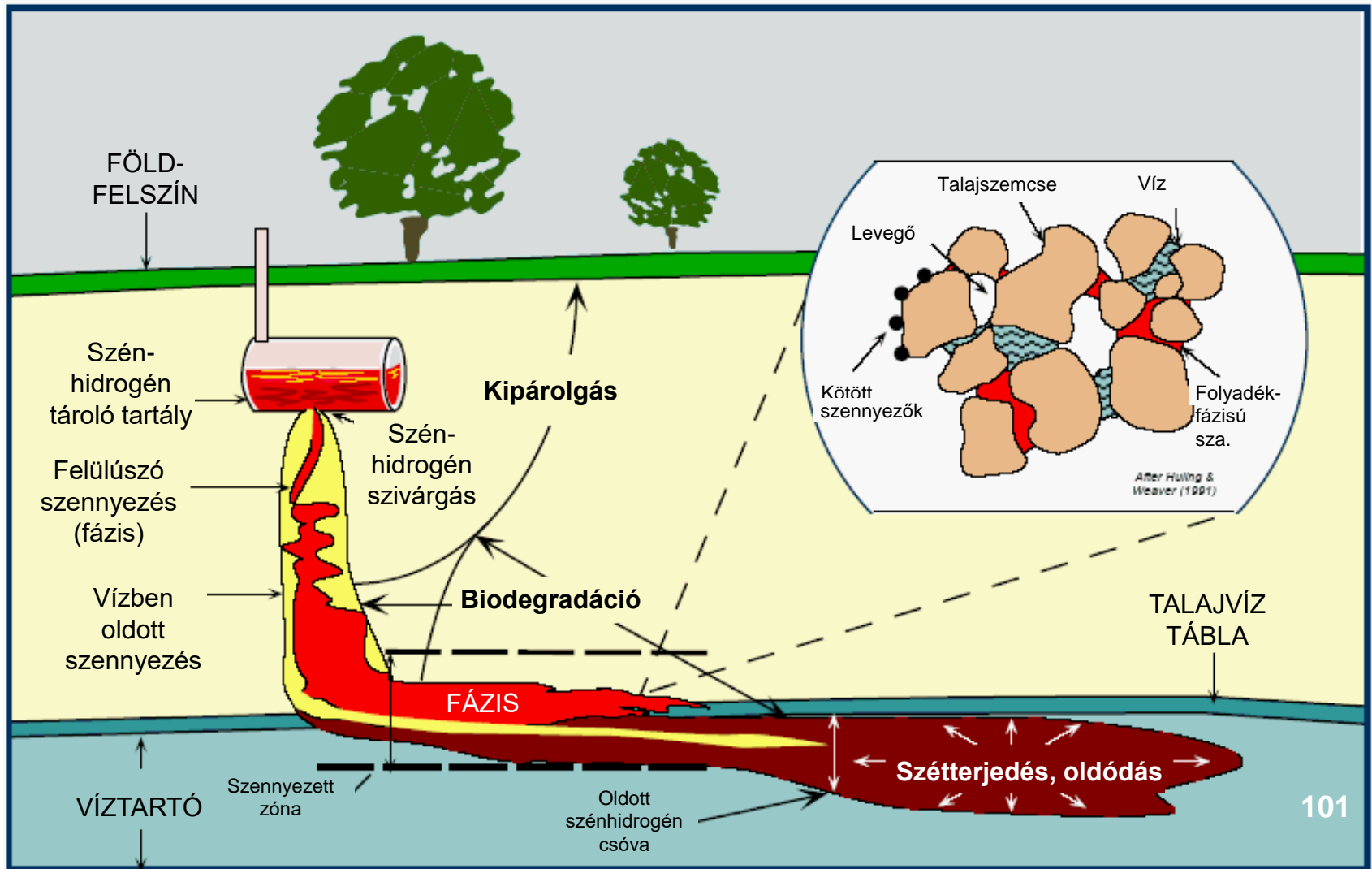


Energetikai hatékonyság nő

Mikrobiológiai tényezők

- Természetes mikroba populáció
- Biofilm
- Konzorciumok esetén az összeférhetőséget vizsgálni kell egymással és az alkalmazás helyével
- Élettani, biokémiai tulajdonságok
- A laboratóriumi kísérletek az adott területen felhasználhatóak-e
- A mikrobiális aktivitás valós határfoka
- A metabolitok hatása az enzimekre, mikrobákra
- Oxigén hiányában alkalmazhatók-e alternatív elektronakceptorok (nitrát, szulfát, karbonát, klorid, Fe(III)...))
- A szennyezés összetettsége
- A szennyezés kora – talajmátrixhoz kötött anyagok nehezen hozzáférhetők

BIODEGRADÁCIÓ A GYAKORLATBAN



BIOREMEDIÁCIÓ, MINT MŰSZAKI BEAVATKOZÁS

○ **Előnyei:**

- A talaj tulajdonságait, élővilágát, biológiai aktivitását megőrzi,
- Természetes folyamatok,
- Nagy területen alkalmazható,
- A szennyezett terület, talajvíz az eredeti helyen (*in/on site*) tisztítható,
- A terület munkálatok közbeni használatát megengedi,
- Másodlagos környezeti kockázata kicsi,
- Megfelelő körülmények mellett nincs szükség a talaj kiásására, talajvíz szivattyúzására
- Veszélyes gázok levegőbe jutása elkerülhető
- Kevés hulladék keletkezik
- Más módszerekhez képest nem igényel annyi felszereltséget
- Olcsóbb, mint a legtöbb fizikai-kémiai eljárás

○ **Hátrányai:**

- Viszonylag nagy az időigénye,
- Időjárás- és klímafüggő,
- Szennyezőanyag maradékkal számolni kell.
- Rossz hatékonyságú lehet:
 - összetett szennyezések esetén
 - nehezen hozzáférhető szennyezések esetén
 - ha a talaj humuszanyagait is bontják a mikroorganizmusok

Biodegradáció

- Mennyire biztonságos
 - természetes mikroflóra (organizmusai)
 - veszélyes vegyszert nem használnak
 - tápanyag sem veszélyes (trágya)
 - a folyamat során a veszélyes anyagok átalakulnak

Bioremediációs technológiák:



Ellenőrzött spontán (természetes) biodegradáció

Stimulált (irányított) biodegradáció

Levegő (oxigén) közléses eljárások

Talajlazításos eljárások

Tartályos eljárások

Tudatos/tervezett oltóanyag használat

BIOREMEDIÁCIÓ, MINT MŰSZAKI BEAVATKOZÁS

Bioremediáció

MIKROMÉRET



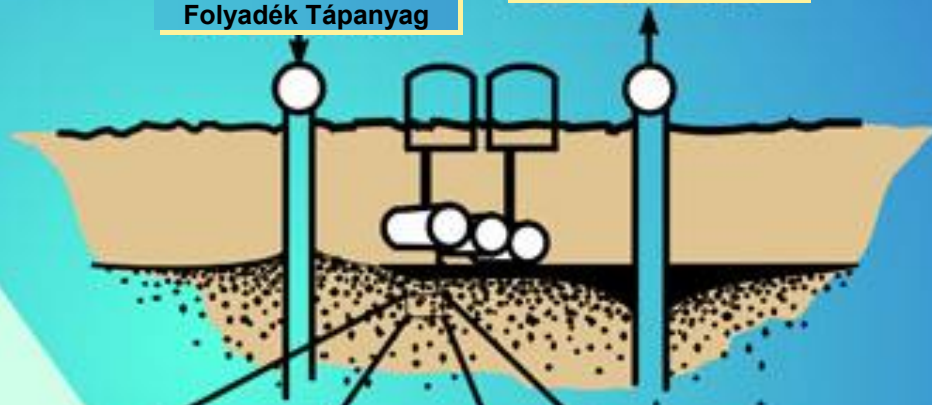
Oxigén és
tápanyagok

MAKROMÉRET

OLTÁS

Folyadék Tápanyag

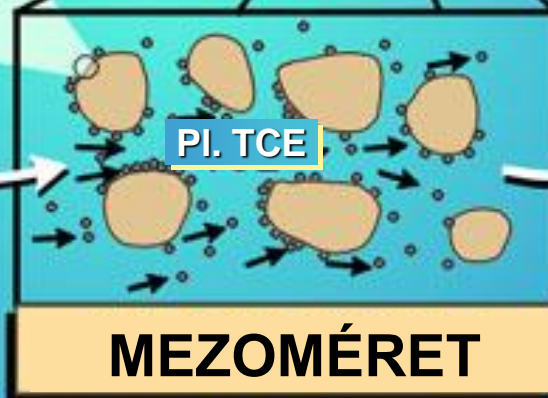
VISSZANYERÉS



Szén-
dioxid

PI. TCE

MEZOMÉRET



ELLENŐRZÖTT SPONTÁN BIODEGRADÁCIÓ

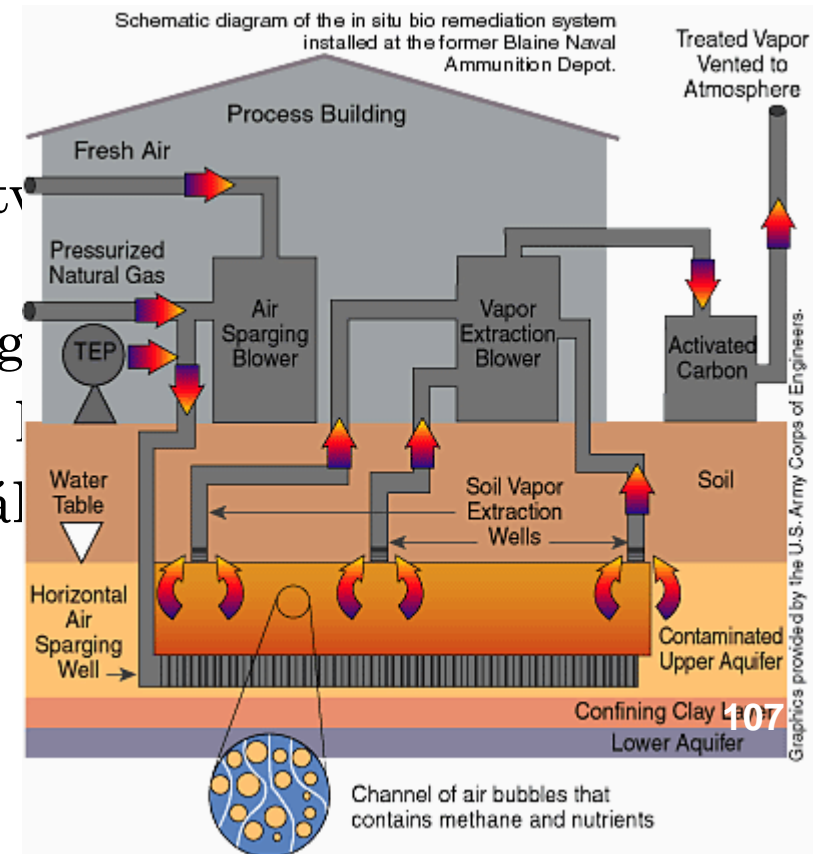
- A szennyezett talajban ill. talajvízben élő „bennszülött” mikroorganizmusok által végzett természetes szennyezőanyag lebontás
- Mikrobiológiai nyomonkövetéssel (monitoring)
- Előnyei:
 - Olcsó
 - Nem igényel beavatkozást
- Hátrányai:
 - Időigényes (évek)
 - Hatékonysága megkérdőjelezhető
 - Mikroorganizmusok hiányos bontási spektruma
 - Elektronakceptor (O_2 , CO_2 , SO_4^{2-} , NO_3^- , Fe^{3+}), ill. tápanyaghiány (N, P, K) léphet fel
 - Sokszor csak részleges hatású, vagy eredménytelen

STIMULÁLT (IRÁNYÍTOTT) BIODEGRADÁCIÓ

- Emberi beavatkozással felgyorsított biodegradáció
- Intenzív feltételeket teremt oxigén-, tápanyag-, ill. nedvességpótlással
- Kémiai és biológiai nyomonkövetéssel
- Előnyei:
 - Gyorsabb
 - Hatékonyabb a spontán biodegradációnál
- Hátrányai:
 - A patogén mikroszervezetek előfordulási gyakorisága megnövekedhet

LEVEGŐ (OXIGÉN) KÖZLÉSES ELJÁRÁSOK

- Perforált csöveken keresztül levegő/O₂-vel dúsított víz bejuttatása
- Kiegészíthető tápanyagpótlással (N, P, K)
- Nedvességpótlással
- Veszélyei:
 - Illékony kockázatos anyagok átvezetése környezeti elembe
 - Oxigénfejlesztő anyagok (hidrogénperoxid)
 - Részlegesen oxidált vegyületek képződése
 - Talajvíz kijutásának megakadályozása meg kell oldani



TALAJLAZÍTÁSOS ELJÁRÁSOK

- Oxigén biztosítása a talaj lazításával
- Adalékanyagok használata gyakori (víz, tápanyag)
- Térfogatnövelő szervesanyag → jobb C:N arány
- Veszélyei:
 - Illékony kockázatos anyagok átvezetődhetnek más környezeti elembe
 - Az adalékanyagok mennyisége nem haladhatja meg az 5%-ot

Típusai:

- Talajműveléses kezelés
- Bioágyas kezelés
- Komposztálás



TARTÁLYOS ELJÁRÁSOK

- A szennyezett talajt zaggyá szuszpendálják
- Adalékolják, kezelik, levegőztetik
- Mikroszervezetek tisztítják, majd víztelenítik
- Hátrányai:
 - A talaj eredeti szerkezete megsemmisül
 - Tápanyagszolgáltató képessége romlik
 - Mikroba összetétel megváltozik (patogének!)
 - A kiválogatott anyagok, csurgalékvíz, tisztított talajvíz kezeléséről gondoskodni kell
- Típusai:
 - Iszapfázisú biológiai kezelés (talaj)
 - Bioreaktor (talajvíz)

BIOAUGMENTÁCIÓ

- Tudatos, tervezett oltóanyag használat
- A legbiztonságosabb bioremediációs eljárás
 - Faj szinten identifikált
 - Ismert bontási spektrum
 - Ismert származású (letétbe helyezett)
 - Patogén mikrobáktól mentes
 - Ismert nehézfém ill. vegyszertűrő képességűoltóanyag használatát jelenti.
- **Oltás:** 10^8 - 10^{10} /ml élősejtszámú inokulum (mikroszervezet-szuspenzió) kijuttatása a szennyezett területre
- Nyomonkövetés!

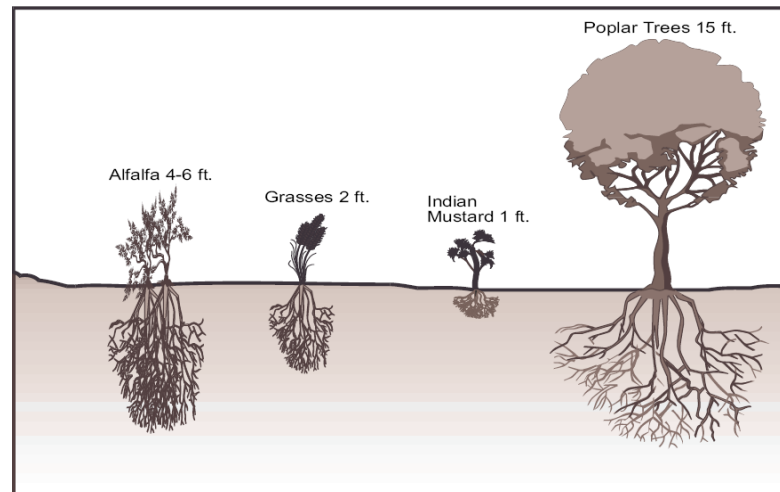


FITOREMEDIÁCIÓ I.

- Biotechnológia, mely növények (és azzal társult mikroszervezetek) felhasználásával csökkenti elfogadható mértékűre a vegyi anyagokkal szennyezett terület, környezeti kockázatát.
- **Alkalmazása:**
 - nagy területen eloszló szennyezés esetén, ahol más megoldások nagyon költségesek
 - alacsony szennyezettségű területeken
 - más technológiákkal kapcsolatosan

- **Gátló tényezők!**

1. Gyökérmélység korlátozott
2. Szennyezőanyag koncentráció limitál
3. Növények növekedési rátája lassú



Növényi fajok:

- fák – pl. nyárfa
- füvek – pl. *Festuca spp.*
- nitrogén kötők – pl. *Trifolium spp.*, *Medicago sativa*, lóhere
- Vízi növények – pl. *Myriophyllum spicatum*, *Saggitaria latifolia*

Típusai:

○ Immobilizáció:

- Hidraulikai kontroll: a talajvízáramlás szabályozása növényi vízfelvétellel
- **Fitostabilizáció**

○ Degradáció:

- Rizodegradáció: A biodegradáció fokozása a föld alatti gyökérzónában mikroszervezetek segítségével
- **Fitodegradáció**

○ Disszipáció:

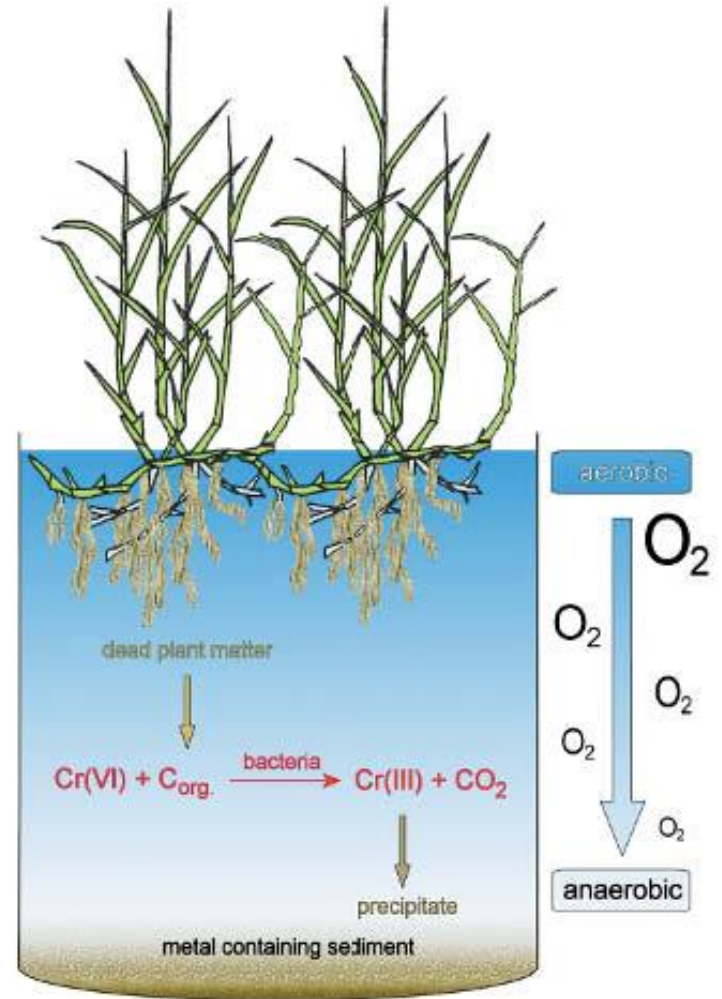
- **Fitovolatizáció**

○ Akkumuláció:

- **Fitoextrakció**
- **Rizofiltráció**

FITOREMEDIÁCIÓ IV.

- **Fitostabilizáció:** toxikus fémtűrő növényekből álló takaróréteg fizikai jelenlétével megakadályozza a szennyezett talaj levegőbe jutását (defláció, porzás), felszíni, vagy felszín alatti vízbe jutását (erózió, kioldás), vagy immobilis formává alakítja.
- **Fitodegradáció:** a növény maga (???) vagy gyökerének mikroflórája teljesen elbontja (*mineralizáció*), vagy csökkent kockázatú anyaggá alakítja a biodegradálható vegyi anyagokat.
- **Fitovolatilizáció:** Illékony szervesanyag felvétele, majd átalakítás nélküli elpárologtatása

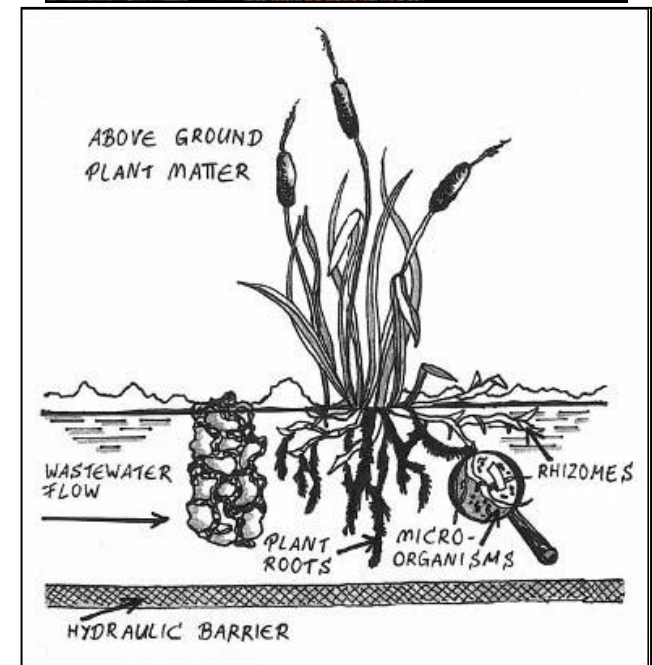


FITOREMEDIÁCIÓ V.

Fitoextrakció: *hiperakkumuláló növényfajok* felhasználása. Adaptáció során k szelektálódott vagy géntechnikákkal előállított, nagy *biokoncentrációs faktorral* (BCF) rendelkező növények.

- Követelmények:
 - nagy hozammal rendelkezzen,
 - föld feletti részében akkumulálja a szennyezőanyagot,
 - könnyen kezelhető, betakarítható legyen.
- Ellenőrzött feldolgozás,
- A melléktermék veszélyes hulladék!
- Több évtizedig tartó folyamat is lehet

Rizofiltráció: a növényi gyökér és a gyökéren kötött mikroorganizmusok együttműködése, a szennyezőanyag megkötése, kiszűrése, kicsapása és elbontása vízből



FITOREMEDIÁCIÓ VI.



Bioremediáció



Fitoremediáció

Bioremediáció:

- Időigény: évek 
- Alkalmazható:
 - szerves szennyezők 
 - szervesetlen szennyezők 
- Optimális esetben a szennyezőanyag **MEGSZŰNTETÉSÉT** jelenti 
- Költsége alacsony 
- Patogén mikroorganizmusok veszélye egyes eljárásoknál 
- Időszaki ellenőrzést igényel 

Fitoremediáció:

- Időigény: évek 
- Alkalmazható:
 - szerves szennyezők 
 - szervesetlen szennyezők 
- Legtöbbször csak a szennyezőanyag **ÁTTEVŐDÉSÉT** jelenti 
- Költsége magasabb (veszélyes hulladék kezelés) 
- Patogenitás veszélye nem jelentkezik 
- Folyamatos gondozást igényel 

KÖSZÖNÖM A FIGYELMET!