

Alkalmazott mikrobiológiai kutatások a Fermentációs Félüzemben

ESZTERBAUER Edina,^a TÓTH Pál^a, SAKIYO Jesse^a, KISS Bernadett^a és NÉMETH Áron^{a,*}

^aBME Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék, Szt. Gellért tér 4.
1111 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

A BME VBK Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék Fermentációs Félüzemében a korábbi gyakorlatnak megfelelően szerteágazó kutatásokat végzünk, melyek közös pontja az alkalmazott mikrobiológia, tehát a fermentációs eljárásokon alapuló folyamatok vizsgálata és fejlesztése. Ebben a kéziratban 5 különböző területen végzett kutatásainkról adunk átfogó képet.

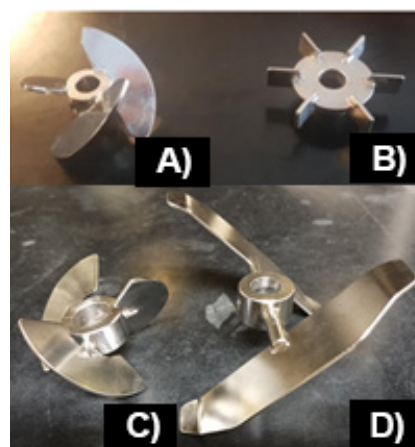
2. Ehető és gyógygombák (bio)technológiája

Első hallásra bizarr lehet a kalapos gombák szubmerz (szuszpenziós) fermentációja, hiszen a természetben a kalapos gombák egészen eltérő körülmények között növekednek a fermentorokhoz képest, s ezek a körülmények jobban hasonlítanak a szilárd fázisú fermentációkhoz, mint a szubmerzhez. Utóbbi előnyeiben azonban megteremtik az igényt arra, hogy a nehezebben kontrolálható, sok kézi munkaerőt igénylő, olykor inhomogén szilárdfázisú fermentáció helyett kevert/levegőztetett reaktorban mért és/vagy szabályozott pH, hőmérséklet és oldott oxigén koncentráció mellett végezzük a Basidiomyceták tenyésztését. Ennek 2 példáját az alábbi fejezetekben mutatjuk be.

2.1. *Agaricus bisporus* szubmerz fermentációja

A csiperke gomba a legnagyobb tömegben termesztett csemege gomba [1], amely sajnos viszonylag hosszú termesztési időigénnyel rendelkezik: a komposzt és gombacsíra készítés, az ágyazás (inokulálás), az átszövetés, a takarás és végül az aratás összesen akár 110 napig is eltarthat. Felmerült, hogy gyorsítható e a termesztés, ha szubmerz módon előállított gombapeleltekkal indul az átszövetés, amihez a mi feladatunk ezen pelleték előállítása volt. Korábbi szakdolgozatok és diplomaunkák során kidolgozásra került a Petri-csészére történő gomba izolálás, gomba fenntartás és fermentációs oltóanyag (inokulum) készítés, amely pelletes morfológiájú gombanövekedést tett lehetővé. A használt kukoricalekvár és szójaliszt alapú tápközeg jól ülepedett, és gyakran a gomba kitapadásához vezetett, így számos bioreaktor kialakítás után (mágnes keverős CSTR, labor air-lift, pilot air lift stb.) a klasszikus keverős reaktor

tűnt a legjobbnak. Ugyanakkor, a komplex tápközeg okozta könnyű befertőződést, és a Rushton-turbina keverő okozta nyíró stresszt is orvosolni kellett. Előbbi érdekében számos antibiotikumra teszteltük, melyek képesek a Garm – és + fertőzéseket úgy távoltartani, hogy közben a gomba fejlődését nem akadályozzák. A nyíró stressz kiküszöbölésére különböző típusú keverőket és kombinációjukat alkalmaztuk 20L léptékig. Bár az elefántfül keverő és analógja a szegmens keverő kedvező a nyírás szempontjából, kedvezőtlennek bizonyultak a falnövekedés (kitapadás) szempontjából. A 3-lapátos szegmens és Rushton turbina kombinációja mellett legsikeresebben egy speciális 2 lapátos lapátkeverőt tudtuk alkalmazni, amelynél a lapátok nem közvetlenül a tengelyre, hanem távtartókra vannak hegesztve, a tengelyhez képest 45°, egymáshoz viszonyítva 90°ban vannak megdöntve, ezzel lehetővé téve az enyhe radiális és axiális keverést is, minimalizálva a nyíróerőt, de megakadályozva az ülepedést. Indikátornak a kapott pelleték barnulását használhattuk, mivel a stresszhatására a gomba melanint termel. A speciális lapátkeverő esetén nem tapasztaltunk színváltozást, és a kapott gomba pellettel termőtest képzési kísérletet végezve 28 nap után megjelentek az első kalapos gomba kezdemények, tehát úgy tűnik, jelentősen sikerült a termesztési időt csökkenteni.

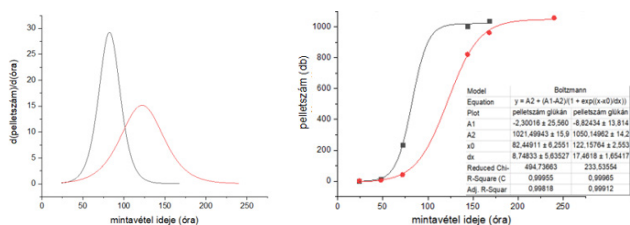


1. ábra. Vizsgált bioreaktor-keverőtípusok *Basidiomyceták* fermentációjában: A) elefánt-fül, B) Rushton turbina, C) 3-lapátos szegmens, D) 2-lapátos lapát keverő

* Németh Áron. Tel.: +36 1 463 2693; e-mail: naron@f-labor.mkt.bme.hu

2.2. *Trametes versicolor* szubmerz fermentációja

A Lepketapló gomba a fák szarán növe, szaprofita életmódot folytató gombák közé tartozik, bár vannak szivacsos szerkezetű taplófélek, a megszáradt Lepketapló igen kemény. Mivel Ázsiában évezredek óta gyógyhatásairól (pl.: roboráló étrendkiegészítő, immunmoduláló, utóbbi időben tumor terápiák étrendkiegészítője) ismert gombaként tartják számon, és a gyógyhatásért részben az apoláros spiroxanok, szeszkviterpének és flavonoidok a felelősek, de a főhatást a poláros bétaglükánoknak tulajdonítják, feladatunk volt annak vizsgálata, hogy utóbbiakat a szárított gombából, vagy a szubmerz fermentációból érdemes inkább kinyerni összehasonlítva a kereskedelmi gombaporral. Az első kísérletek azt mutatták, hogy a szárított gomba termőtestből közel kétszeres mennyiségű vízben oldható, de alkohollal kicsapódó poliszaharidot tudunk kinyerni. Szintén megállapítást nyert, hogy a fermentációk pelletes morfológiával zajlanak, ennek megfelelően a behúzott falú Erlenmeyer lombikok a preferáltak. A fermentációkat követően a termelt intra-, és extracelluláris β -glükánokat a Megazyme enzim eslesztő- β -glükán tartalom mérő kit-jével meghatároztuk, és minden esetben a fermentálébe szekretált extracelluláris termék mennyiség dominált. Az össz β -glükán tekintetében a pH=4-es körülmény és a 3-lapátos szegmens keverő kedvezett 10L pilot térfogatban (20%). Szubsztrát gátlást nem, de termék inhibíciót találtunk: kezdeti β -glükán hozzáadásával jelentősen csökkent a növekedési sebesség, és megnőtt a fermentációs idő (2. ábra).



2. ábra: *T.versicolor* növekedési és sebesség függvényei az időben (fekete-kontroll, piros-350mg/L kezdeti β -glükánnal)

A termék β -glükán és a pelletek olyan gél-t képeztek, amely a reológiai és anyagátadási viszonyokat is korlátozta, mivel a tenyésztések során a látszólagos viszkozitás értéke közel hatszorosára emelkedett.

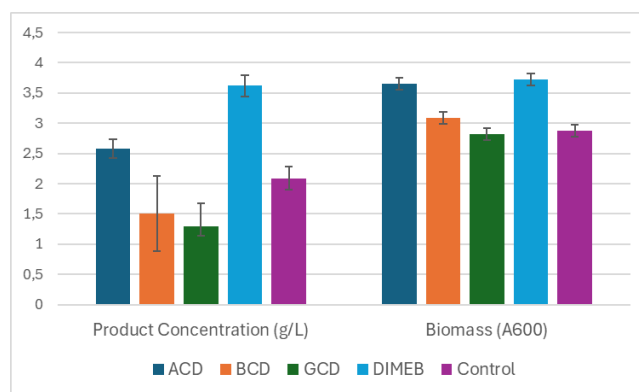
Összefoglalva elmondható, hogy mindkét bemutatott *Basidiomycota* szuszpenziós fermentációja eredményes volt, a Csiperke esetében sikerül rövidíteni a gombatermesztés idejét a számos technikai nehézség leküzdése után, míg a Lepketapló esetében további optimalással a szubmerz fermentációs eljárás versenyképessé tehető a szárított termőtest extrakciójával.

3. Ciklodextrinek hatása a biodetergens fermentációra

Kutatócsoportunkban korábbi sikeres doktori kutatás [3] során kezdtünk el foglalkozni a *Bacillus*-ok biodetergens termelő képességének vizsgálatával és fejlesztésével. Ebben

az összefoglalóban egy újabb doktori kutatás részeredményeit szeretnénk bemutatni *B. subtilis* baktériummal termelt surfactin biodetergens témájában.

Bár a biodetergensnek előszeretettel kerülnek alkalmazásra különböző területeken a biodegradálhatóságuk és jó emulzifikáló képességük miatt, a mikrobiális fermentációs előállításuk költséges, és alacsony hozamú. Hipotézisünk emiatt arra irányult, hogy ha a termék molekulát ciklodextrinek** (CD) csapdázhatnánk, akkor talán azok kedvezőtlen hatása csökkenne a termelő törzsre, és így az többet is tudna termelni. A 3. ábrán látható annak a rázatott lombikos kísérletnek az eredménye, amelyben ciklodextrin nélküli tenyészet növekedését és termékképződését (savas kicsapással kinyert, közömbösített, liofilezett porformájú termék mennyiségét) hasonlítjuk 4 különböző ciklodextrinnel külön-külön kiegészített tenyészetek átlagos (3-3 ismétléssel) sejtnövekedéséhez és termékképzéséhez.



3. ábra: *B. subtilis* növekedése és biodetergens képzése ciklodextrinek jelenlétében (ACD – α -ciklodextrin, BCD – β -ciklodextrin, GCD – γ -ciklodextrin, DIMEB – DiMetil-Beta-ciklodextrin)

Megállapítható, hogy a növekvő CD molekula belső átmérővel egyre kevesebb sejtet kaptunk és egyre kevesebb terméket, azaz csak a kis pórusméretű α -CD tudta a surfactin biodetergens molekulát hatékonyan csapdázni, a nagyobb β -CD és γ -CD nem. Érdekes, hogy a leghatékonyabbnak a DIMEB bizonyult feltehetően azért, mert a glükóz egységek metilcsoportjai is a belső apoláris zseb felé fordultak, csökkentve ezzel annak belső átmérőjét oly mértékben, hogy még az α -CD-nél is több termék képzése vált lehetővé, illetve a kontrollhoz képest is 40%-kal több termék képződött.

4. *Yarrowia divulgata* alapú biofinomító

4.1. Bevezetés

A *Yarrowia lipolytica* használata széles körben elterjedt a biotechnológiában, kihasználva széles bontási képessé-

** A ciklodextrinek olyan glükózból felépülő természetes oligoszaharidok, amelyek külseje a gyűrűzáródás után a hidroxilcsoportok következtében poláris, belső része pedig apoláris jellegű, így az apoláris vagy hidrofób és remélhetőleg az amfipatikus molekulákat is képes magabazárni.

gét és termékspektrumát. Az első felhasználás az 1960-as évekre vezethető vissza, amikor egysejt fehérje (SCP) előállítására használták n-alkánokat alkalmazva szubsztrátként [8]. Több irodalom is azt mutatja, hogy a *Yarrowia lipolytica* képes eritrit és mannit előállítására fermentációs úton [9-11]. A *Y. lipolytica* növekedését és az általa kiválasztott különböző metabolitok mennyiségét és minőségét különböző környezeti tényezők befolyásolják. A környezeti feltételek, nevezetesen a fizikai-kémiai viszonyok (pH, hőmérséklet, oldott oxigénkoncentráció és ozmotikus stressz), mechanikai viszonyok (keverési sebesség és nyomás), valamint a tápanyagok (szén- és nitrogénforrások és fémionok) hatással vannak a morfológiára és a termékképződésre (enzimek, citromsav és lipid) [12]. A *Y. lipolytica* szigorúan aerob mikroorganizmus. Az egyik legfontosabb az oxigén mennyisége, amely fontos szerepet játszik a mikroorganizmus növekedésében, ezért a levegőztetés elengedhetetlen a nagy növekedési sebességhez [13]. Az alábbiakban a *Y. lipolytica* termékei közül azt a 3-at mutatjuk be, amelyek előállítására fókuszáltunk. 1.) Néhány törzsfeljesztési tanulmányban elkezdtek vizsgálni a törzs azon képességét, hogy glicerint szénforrás felhasználásával eritritet állítson elő [14-15]. Az eritrit ($C_4H_{10}O_4$) egy természetben előforduló 4 szénatomos cukoralkohol, más néven poliol, amelyet széles körben használnak az élelmiszeriparban, főleg édesítőszerként [16]. Az eritrit 60-70%-ban olyan édes, mint az asztali szacharóz, mégis nagyon alacsony a kalóriaértéke (0,2 kcal/g), nincs hatással az emberi vércukorszintre és nem okoz fogszuvasodást [17]. Az ipari felhasználásra szánt eritritet mikrobiális módszerekkel állítják elő, elsősorban ozmofil élesztők (*Moniliella pollinis*, *Trichosporonoides megachiliensis* és *Y. lipolytica*) és néhány baktérium (*Oenococcus oeni*, *Leuconostoc mesenteroides* és *Lactobacillus sanfranciscensis*) felhasználásával [18]. 2) A bioemulgeálószer olyan biológiai molekulák, amelyek felületaktív tulajdonságai hasonlóak a jól ismert szintetikus felületaktív anyagokhoz, de ezek mikrobiális eredetűek [19]. 3) A *Yarrowia lipolytica* fermentációs lizátum, amely a fermentáció során termeltetett sejtek lízise után kapott termék, a kozmetikai összetevők adatbázisában (CosIng) bőrkondicionáló szerként szerepel. Kutatásainkhoz a *Y. lipolytica* közeli rokonát, a *Y. divulgata*-t kívántuk felhasználni, amely az eritrit termelés szempontjából előkísérletekben a természetes (non GMO) *Y. lipolytica*-hoz hasonlóan jól teljesített.

4.2. Anyagok és módszerek

A kutatómunkához a következő törzseket használtuk: *Yarrowia divulgata* NCAIM 1485.

Eritrit fermentáció:

Inokulum [20]: Glicerint 50 g/l, Élesztőkivonat 3 g/l, Maláta kivonat 3 g/l, Pepton 5 g/l. Az inokulumot 25°C, 200 rpm fordulatszámon 3 napig növesztettük, 250 ml-es lombikban 25 ml-t készítettünk, később 500 ml-es lombikban 50 ml-t rázatva.

Behúzott lombik tápközege [21]: Glicerint 150 g/l; NH_4Cl 4,56 g/l; $MgSO_4 \times 7 H_2O$ 1 g/l; Élesztőkivonat 1 g/l; $CuSO_4$ $0,7 \times 10^{-3}$ g/l; $MnSO_4 \times H_2O$ $32,6 \times 10^{-3}$ g/l; KH_2PO_4 97,8 g/l. 25°C, 200 rpm fordulatszámon inkubáltuk. Alkalmaztunk 500 ml-es és 750 ml-es lombikokat, melyekben 50 ml valamint 75 ml fermentlé volt, 10% inokulálás mellett.

Analitikai mérések

Eritrit fermentáció során 1 ml mintát vettünk a lombikokból, melyből mértük az optikai denzitást (600nm), ozmolaritást, valamint HPLC-re készítettük elő a mintákat. Az ozmolaritás méréshez 60 μ l felülúszót használtunk (Gonotec Osmomat 3000) krioszkopikus ozmóméterrel.

Hidratációs mérések

A bőrhidratációs méréseket Multi Dermoscope MDS 800 corneometer szenzorával végeztük, mely kapacitancia elvén képes a bőr víztartalmát meghatározni [22]. A sejt-kivonat készítéshez a sejteket fagyasztás-felolvasztással tártuk fel.

Emulzifikációs index mérés

Az eritrit fermentáció során a sejtmentes felülúszót használtuk emulzifikációs index méréshez, ahol 2 ml felülúszóhoz 2 ml napraforgóolajat pipettáztunk, majd 2 percig vortexeltük. A számításhoz a következő egyenletet használtuk:

$$EI_t = (H_e/H_t) \times 100$$

ahol H_e az emulzió magassága, H_t a csőben lévő folyadék teljes magassága. A csöveket 25 °C-on inkubáltuk 1 napig. Az emulzifikációs indexet ($EI\%$) 1 óra elteltével, és 24 óra elteltével ($EI_{24}\%$) határoztuk meg [23].

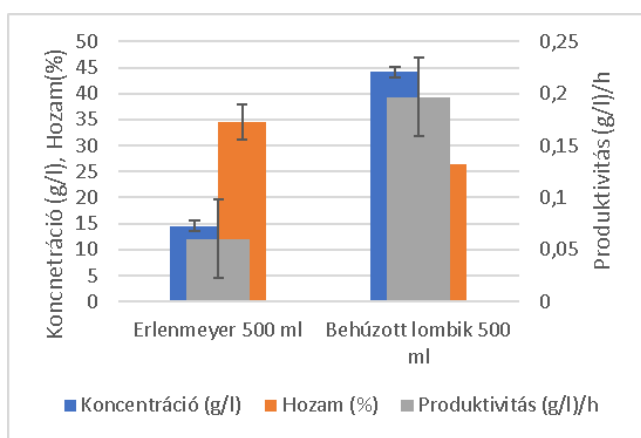
4.3. Eredmények és értékelésük

A *Y. divulgata* az optimalizálás után elérheti a mostanában használt törzsek eredményét eritrit tekintetében. Az eritrit önmagában történő felhasználása mellett nagyobb érdeklődésre és megvalósíthatóságra tarthat számot a fermentlé komplex hasznosítása úgymint bioemulgeáló ágens és az elválasztott sejtek alkalmazása kozmetikumokhoz.

Behúzott lombik

A normál lombikban végzett fermentáció során 14,5 g/l eritrit keletkezett, ami 10 nap alatt 34,5%-os hozamot eredményezett, mivel 105,7g/L glicerint megmaradt. Tehát a glicerint a törzs nem hasznosította jól ezen fermentáció során a 10 nap alatt sem. A nagyobb eritrit hozam elérése érdekében a fokozott levegőztetés hatását vizsgáltuk az eritrit termelésre behúzott lombikokban. A behúzott lombikba elért hozam statisztikailag nem különbözött szignifikánsan az Erlenmeyer lombikos eredménytől, azonban a

végso eritrit koncentráció jelentősen magasabb volt, ami a behúzott lombik magasabb levegőztetésével magyarázható. A behúzott lombikban elért eredmények: Az 500 ml-es behúzott lombikban a 3 ismétlés során átlagosan $44,14 \pm 1$ g/l eritrit, a 750 ml-es behúzott lombikban $42,42 \pm 5,08$ g/l eritrit keletkezett. A fermentációk átlagos hozama a három ismétlésben $26,43\% \pm 3,37$ volt az 500 ml-es lombikok esetében és $27,74\% \pm 7,71$ a 750 ml-es lombikok esetében. A páros t-próba p-értéke 0,842132 volt, tehát nem volt szignifikáns különbség a különböző lombikméretekben végzett fermentációk hozamában. A termelékenység átlagosan $0,19 \pm 0,03$ (g/L)/óra volt az 500 ml-es lombikokban végzett fermentációk esetében, és $0,19 \pm 0,02$ (g/L)/óra a 750 ml-es lombikokban végzett fermentációk esetében [21]. Az eredmények a 4. ábrán vannak összefoglalva.



4.ábra. Yarrowia fermentációk eredményei

Hidratáltság mérés eredményei

A vizsgált lizátumok minden esetben növelték a bőr hidratáltságát, az 500 ml-es behúzott lombik esetében $9,11 \pm 5,47\%$ -kal, a 750 ml-es lombik esetében pedig $11,86 \pm 6,25\%$ -kal. A két féle behúzott lombik között nem volt szignifikáns különbség ($p=0,613744$).

Emulzifikációs index mérés

Számos tanulmány kimutatta a *Yarrowia lipolytica* által termelt emulzifikáló képességét, ezért minden *Y. divulgata* fermentáció végén megmértük a felülúszó emulziós indexét. Az emulzifikációs index határozza meg egy molekula szénhidrogének emulgeálására való képességét, és ahhoz, hogy hatékony emulgeálónak tekinthessük, a molekulának 24 órás nyugalmi állapot után is meg kell tartania legalább 50%-os emulzifikációs indexet. [24]. Az emulgeálási index mérését a behúzott lombikok esetében elvégeztük, és eredményül az EI24 $53,63 \pm 1,85\%$ az 500 ml-es lombikok esetében és $55,58 \pm 6,76\%$ a 750 ml-es lombikok esetében. Mivel 24 óra elteltével mindegyik 50% felett maradt, mindegyik stabil emulziót eredményezett.

4.4. Összegzés

Összeségében a *Yarrowia divulgata* 1485-ös törzs esetében a levegőztetés pozitív hatással volt az eritrit termelésre. Erlenmeyer lombikban végzett fermentációhoz képest 33%-kal magasabb eritrit koncentrációt sikerült elérni. A hidratáltság mérés során mindegyik esetben növelte a bőr hidratáltságát a készítmény. Az emulzifikációs index mérés során 24 óra elteltével is 50% felett maradt az emulzió aránya, így megállapítható, hogy hatékony bioemulgeálószer termelt a fermentáció során. Mindezen kísérletek lehetővé teszik, hogy *Y. divulgata* élesztő alkalmazásával egy fermentáció eredményét (fermentlevét) minél teljesebben feldolgozzuk (biofinomító elv), és belőle a legtöbb nagy hozzáadott értékű terméket előállítva javítsuk a gazdaságosságot.

5. Alginit ásvány hatása probiotikumok előállítására

Doktori munka keretében vizsgáljuk az alginit hatását probiotikus fermentációkra és azok lehetséges kozmetikai alkalmazásaira, ígéretes eredményeket és új kutatási irányokat feltárva. Az alginit-kiegészítés következtében jelentős pozitív hatást mutatott a probiotikus baktériumok növekedésére és biotermelésére különböző törzsek esetében [25]. Többféle mérési technika, beleértve a sejt szárazanyag-tartalmát (CDW), a telepkepző egységeket (CFU) és az online kapacitáson alapuló élő sejt szenzorokat, megerősítette, hogy az alginittel kiegészített tenyészetek 1,5-2-szer nagyobb sejtszámot érnek el az alginitmentes tenyészetekhez képest. Fentieken túl a fajlagos növekedési sebesség és a szárazanyag-tartalom is jelentősen növekedett a fermentáció során, egy tanulmány szerint a fajlagos növekedési sebesség háromszorosára nőtt 0,60-ról 1,91 l/h-ra, míg a szárazanyag-tartalom megduplázódott 1,6-ról 3,3 g/l-re alginit jelenlétében.

Ezek az eredmények fontos következményekkel járnak a probiotikus biotermelés hatékony termelésére nézve, potenciálisan költséghatékonyabb gyártási folyamatokhoz vezetve. A fokozott növekedés és a kozmetikai hatékonyság közötti összefüggés azonban összetett képet mutat, amely további vizsgálatokat igényel. Míg a *Limosilactobacillus reuteri* és *Bifidobacterium adolescentis* alginittel dúsított fermentumai ígéretesek barnítókrémekben való felhasználásra a később elvégzendő bőrtotoxicitási tesztek függvényében, addig a *Lactobacillus paracasei* fermentumokkal végzett tanulmányunk kimagasló eredményeket mutatott a bőr nedvesítő tesztekben. A várakozásokkal ellentétben az alginitmentes fermentumok felülmúlták az alginit-tartalmúakat, 13,9%, illetve 8,1%-os hidratálási szintekkel [26].

E különbség ellenére az alginittel dúsított probiotikus fermentumok kozmetikai alkalmazásokban rejlő potenciálja továbbra is jelentős. Ezek az összetevők fenntarthatóak, környezetbarátok és rendkívül hatékonyak, összhangban a fogyasztók növekvő igényével a természetes és környezet-

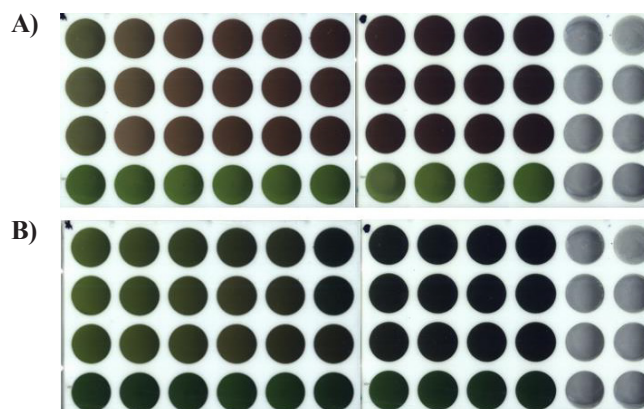
tudatos bőrápolási termékek iránt. A probiotikumok és az alginit kombinációja újszerű megközelítést kínál olyan kozmetikai összetevők létrehozására, amelyek a hidratáláson túl többféle előnyt nyújthatnak.

A jövőbeli kutatási irányok közé tartozik az alginit-tartalmú fermentált táplevek hatásainak vizsgálata egyéb esztétikai szempontokra, mint például az antioxidáns tulajdonságok, a bőrfehérités és a hialuronidáz-gátlás. Az alginittel dúsított probiotikus fermentumokat tartalmazó kozmetikai termékek ideális összetételének és adagolási utasításainak kidolgozása kulcsfontosságú lesz ezen innovatív összetevők teljes potenciáljának kiaknázásához.

6. Mikroalgák alkalmazásának vizsgálata hulladékvizeken

Korábbi kísérleteink során foglalkoztunk mikroalgák tenyésztési körülményeinek, mint például a megvilágítás színének vagy intenzitásának optimalizálásával, tápközegek összehasonlításával, valamint kitapadási vizsgálatokkal is. A vizsgálatokba bevont fajok között főként édesvízi egysejtű *Chlorella vulgaris*-okkal dolgoztunk, de folytattunk vizsgálatokat sós vízi, fonalas- és kovaalgákkal egyaránt. Az autotróf módon lassan növekvő algák nagy áteresztőképességű (high-throughput) vizsgálatához egy 24 cellás mikrotiter lemez megvilágító egységet fejlesztettünk [27]. Az utóbbi időkben az algákkal kapcsolatban az ipari hulladékok felhasználása és a cirkuláris gazdaságba való integrálásuk került előtérbe. Elsősorban hulladékvizek, hulladékhő és a keletkező szén-dioxid felhasználás az, amiben az algák hasznosan tudják csökkenteni a kibocsátást, miközben értékes új termékeket tudnak előállítani. Biogáz üzemek esetében mindegyik felsorolt melléktermék megjelenik, így az utóbbi évek kutatásaiban nagy szerepet játszik a biogáz üzem hulladékvizének algákkal történő újrahasznosítása.

Kísérleteinket 1,5 mL téfogatú microplate lemezen, lombikban és kevertetett bioreaktorban végeztük el. Az 5. ábrán a microplate kísérlet szkennelt kezdeti és végső képét mutatjuk be, ahol a felső 4 cellasor a kezdeti, az alsó 4 a végső képet mutatják. Jól látható, hogy minden 4. sor a párhuzamos kontroll minták egységes celláit tartalmazta, felettük balról jobbra a növekvő arányban (5-50 %) bekevert csurgalékvizen növesztett alga növekményét mutatja. A világos zöld az induláskori kisebb algakonzentrációt, a sötét zöld a leálláskori töményebb algaszuszpenziót mutatja. Az is látható, ahogy a növekvő hulladékvíz egyre barnábbra színezte a tenyészeteket.



5. ábra. Alganövekedés biogáz hulladékvizen, A) induláskor, B) leálláskor

Vizsgálatainkban kitértünk a különböző fajok screening vizsgálatára, majd a kiválasztott izolátummal további kísérleteket végeztünk annak érdekében, hogy kiderítsük, mekkora koncentráció az, amit az algák el tudnak viselni és képesek minimális hígítással szaporodni a hulladékvizen. A kapott vízminták lebegő anyag tartalmát jellemzően le kellett csökkenteni, hogy a növekedés detektálása és a monitorozás kivitelezhető legyen. Azt tapasztaltuk, hogy a tenyészetek akár 50% hulladékvíz koncentráció mellett is képesek voltak szaporodni. A kísérletek során megfigyeltük a koncentrációval összefüggő sejtméret változásokat is, miszerint nagyobb hulladékvíz koncentrációnál a sejtek kisebb méretűek voltak, mint alacsony koncentráció esetében azonos megvilágítás mellett. A hulladékvizen előállított algák a N,P eltávolítás mellett a karbonfixációval (CO₂ megkötés) olyan értékes biomasszát állítottak elő, amelyből energia és/vagy polimerek állíthatók elő.

7. Összefoglalás, konklúzió

A bemutatott 5 terület talán rávilágított arra, hogy a baktériumok, élesztők, gombák és algák által termelt termékek előállításához úgy a mérnöki, mint a biológiai ismeretkerek szükség van, és a technologizálásnak a pilot léptékű kísérletezés is része kell legyen, amelyekhez kutató csoportunk humán erőforrással és eszközeivel tud hozzájárulni saját és kollaborációs kutatási munkák során.

Hivatkozások

- Europe Mushroom Market Report by Market Research Future [https://doi.org/10.3390/biomedicines8050135](https://www.marketresearchfuture.com/reports/eu-mushroom-market-21790?utm_term=&utm_campaign=&utm_source=adwords&utm_medium=ppc&hsa_acc=2893753364&hsa_cam=20543884685&hsa_grp=153457592316&hsa_ad=673752668768&hsa_src=g&hsa_tgt=dsa-2312580079568&hsa_kw=&hsa_mt=&hsa_net=adwords&hsa_ver=3&gad_source=1, letöltés: 2025.03.24.
Habtemariam S. <i>Trametes versicolor</i> (Synn. <i>Coriolus versicolor</i>) Polysaccharides in Cancer Therapy: Targets and Efficacy. <i>Biomedicines</i>. 2020 May 25;8(5):135. <a href=)
- Nagy-Czinkóczy Réka: Fermentation and application of biosurfactants and cyclodextrin glycosyltransferase enzyme by *Bacillus* species (2022), PhD dissertation, <https://repozitorium.omikk.bme.hu/items/2c34b5bc-2a1a-447a-8a42-1e2a0c9005c9>
- Goering, B. K. Ph.D. Dissertation, Cornell University, 1995.
- Haslam, E. Shikimic Acid Metabolism and Metabolites, John Wiley & Sons: New York, 1993.
- Buchanan, J. G.; Sable, H. Z. In *Selective Organic Transformations*; Thyagarajan, B. S., Ed.; Wiley-Interscience: New York, 1972; Vol. 2, pp 1–95.
- Lyle, F. R. U.S. Patent 5 973 257, 1985; *Chem. Abstr.* 1985, 65, 2870.
- Gonçalves, F. A. G., Colen, G., & Takahashi, J. A. *Yarrowia lipolytica* and its multiple applications in the biotechnological industry. *The Scientific World Journal*, 2014. pp. 1-14. <https://doi.org/10.1155/2014/476207>
- Tomaszewska, Ludwika, Rakicka, M., Rymowicz, W., & Rywińska, A. A comparative study on glycerol metabolism to erythritol and citric acid in *Yarrowia lipolytica* yeast cells. *FEMS yeast research*, 2014, 14 (6), pp. 966-976. <https://doi.org/10.1111/1567-1364.12184>
- Yang, Li-Bo, Dai, X. M., Zheng, Z. Y., Zhu, L., Zhan, X. B., & Lin, C. C. Proteomic analysis of erythritol-producing *Yarrowia lipolytica* from glycerol in response to osmotic pressure. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2015. <https://doi.org/10.4014/jmb.1412.12026>
- Rymowicz, Waldemar; Rywinska, Anita; Marcinkiewicz, Marta. High-yield production of erythritol from raw glycerol in fed-batch cultures of *Yarrowia lipolytica*. *Biotechnology Letters*, 2009, 31, pp. 377-380. <https://doi.org/10.1007/s10529-008-9884-1>
- Nascimento, Felipe Valle do, et al. A Temporal Evolution Perspective of Lipase Production by *Yarrowia lipolytica* in Solid-State Fermentation. *Processes*, 2022, 10.2: 381. <https://doi.org/10.3390/pr10020381>
- Coelho, M.A.Z.; Amaral, P.F.F.; Belo, Isabel. *Yarrowia lipolytica*: an industrial workhorse. *Current Research Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, Formatex Research Center, Badajoz, 2010. 2. pp. 930-944.
- Rakicka, Magdalena, Kieroń, A., Hapeta, P., Neuveglise, C., & Lazar, Z. Sweet and sour potential of yeast from the *Yarrowia* clade. *Biomass and Bioenergy*, 2016, 92, pp. 48-54. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.06.004>
- Rakicka-Pustulka, Magdalena, Joanna Miedzianka, Dominika Jama, Sylwia Kawalec, Kamila Liman, Tomasz Janek, Grzegorz Skaradziński, Waldemar Rymowicz & Zbigniew Lazar, High value-added products derived from crude glycerol via microbial fermentation using *Yarrowia* clade yeast. *Microbial Cell Factories*, 2021, 20, pp. 1-18. <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01686-0>
- Abbasi, Abdul Rahman, Jinle Liu, Zhi Wang, Anqi Zhao, Hanjie Ying, Lingbo Qu, Md. Asrafur Alam, Wenlong Xiong, Jingliang Xu, Yongkun Lv et al. Recent advances in producing sugar alcohols and functional sugars by engineering *Yarrowia lipolytica*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2021, 9: 648382. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.648382>
- Godswill, Awuchi Chinaza. Sugar alcohols: chemistry, production, health concerns and nutritional importance of mannitol, sorbitol, xylitol, and erythritol. *International Journal of Advanced Academic Research*, 2017, 3 (2), pp. 31-66. ISSN: 2488-9849
- Rakicka-Pustulka, Magdalena, M., Mirończuk, A. M., Celińska, E., Białas, W., & Rymowicz, W., Scale-up of the erythritol production technology—process simulation and techno-economic analysis. *Journal of Cleaner Production*, 2020, 257: 120533. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120533>
- Trindade, Joana R., Freire, M. G., Amaral, P. F., Coelho, M. A. Z., Coutinho, J. A., & Marrucho, I. M., Aging mechanisms of oil-in-water emulsions based on a bioemulsifier produced by *Yarrowia lipolytica*. *Colloids and Surfaces A: physicochemical and engineering aspects*, 2008, 324.1-3, pp. 149-154. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2008.04.009>
- Rakicka, Magdalena, Rukowicz, B., Rywińska, A., Lazar, Z., & Rymowicz, W., Technology of efficient continuous erythritol production from glycerol. *Journal of Cleaner Production*, 2016, 139, pp. 905-913. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.08.126>
- Eszterbauer, E., & Németh, Á. (2023). Investigations for a *Yarrowia*-Based Biorefinery: In Vitro Proof-of-Concept for Manufacturing Sweetener, Cosmetic Ingredient, and Bioemulsifier. *Fermentation*, 9(9), 793. <https://doi.org/10.3390/fermentation9090793>
- Tóth, Pál; Németh, Áron. Investigation and Characterisation of New Eco-Friendly Cosmetic Ingredients Based on Probiotic Bacteria Ferment Filtrates in Combination with Alginite Mineral. *Processes*, 2022, 10.12: 2672. <https://doi.org/10.3390/pr10122672>
- Czinkóczy, Réka; Németh, Áron. The effect of pH on biosurfactant production by *Bacillus subtilis* DSM10. *Hungarian Journal of Industry and Chemistry*, 2020, pp. 37-43. <https://doi.org/10.33927/hjic-2020-25>
- Da Silva, Joselma Ferreira, da Silva, L. A. R., Barbosa, M. R., Houllou, L. M., & Malafaia, C. B., Bioemulsifier produced by *Yarrowia lipolytica* using residual glycerol as a carbon source. *Journal of Environmental Analysis and Progress*, 2020, 5.1, pp. 031-037. <https://doi.org/10.24221/jeap.5.1.2020.2700.031-037>
- Tóth, P.; Németh, Á. Exploring the Impact of Alginite Mineral on Lactic Acid Bacteria. *Preprints* 2025, 2025021082. (Under revision in *Fermentation*) <https://doi.org/10.20944/preprints202502.1082.v1>
- Tóth, P.; Németh, Á. Investigation and Characterisation of New Eco-Friendly Cosmetic Ingredients Based on Probiotic Bacteria Ferment Filtrates in Combination with Alginite Mineral. *Processes* 2022, 10, 2672. <https://doi.org/10.3390/pr10122672>
- Bernadett, Kiss; Áron, Németh (2019) High-throughput microalgae cultivations with adjustable LED-modul applying different colours for *Nannochloropsis* and *Chlorella* microcultures. *Acta Alimentaria* 2019 (1):115–124. <https://doi.org/10.1556/066.2019.48.1.13,>

Applied Microbiological Research in the Fermentation Pilot Plant

In the Fermentation Plant of the Department of Applied Biotechnology and Food Science of the BME VBK, we carry out diverse research in accordance with previous practice, the common point of which is applied microbiology, i.e. the examination and development of processes based on fermentation. In this manuscript, we provide a comprehensive overview of our research in 5 different areas.

We have shown that by reducing shear forces (with the appropriate type of impeller), the mushroom submerged fermentation can also be successfully implemented and enhanced. We also mentioned that the *Yarrowia* species we examined is a valuable cosmetic ingredient (skin moisturizer) and biodetergent producer in

addition to erythritol production. We have shown how bacterial biodetergent production can be enhanced with cyclodextrins. We have also demonstrated the positive effects of the alginate mineral on probiotic cultures. Finally, we have also shown our results achieved with the use of wastewater in microalgae cultures.

With the 5 presented biotechnology areas, we wanted to highlight that microbial (fungi, yeast bacteria, algae)-based developments require biological, engineering and technological knowledge at the same time, and sometimes pilot-scale experiments are unavoidable, in which our research group has been active for nearly 40 years.