

# **SZAKDOLGOZAT**

PALLA HENRIETTA - SZAKDOLGOZAT

**Palla Henrietta**

**2023**



**Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem**

**Budai Campus**

**Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet**

**Biomérnöki alapképzési szak**

***Yarrowia* törzsek lipáz termelésének vizsgálata növényi olajok,  
valamint pelletek, mint természetes szubsztrátumok  
felhasználásával**

**Belső konzulens:**

Sipiczki Gizella

Egyetemi tanársegéd

Dr. Bujna Erika

Egyetemi docens

**Belső konzulens  
intézete/tanszéke:**

Élelmiszertudományi és  
Technológiai Intézet,  
Biomérnök és Erjedésipari  
Technológia Tanszék

**Készítette:**

**Palla Henrietta**

**Budapest**

**2023**

## Tartalom

|                                            |    |
|--------------------------------------------|----|
| <b>1. BEVEZETÉS</b>                        | 3  |
| <b>2. A MUNKA CÉLJA</b>                    | 4  |
| <b>3 IRODALMI ÁTTEKINTÉS</b>               | 5  |
| <b>3.1 Yarrowia nemzetség ismertetése</b>  | 5  |
| 3.1.1 <i>Yarrowia lipolytica</i>           | 6  |
| 3.1.2 <i>Yarrowia yakushimensis</i>        | 7  |
| <b>3.2 Lipáz enzim</b>                     | 8  |
| <b>3.3 Lipáz felhasználása az iparban</b>  | 10 |
| 3.3.1 Mosószeripar                         | 10 |
| 3.3.2 Kozmetikai ipar                      | 11 |
| 3.3.3 Cellulóz- és papíripar               | 11 |
| 3.3.4 Élelmiszeripar                       | 12 |
| 3.3.5 Bioüzemanyag                         | 12 |
| 3.3.6 Gyógyszeripari és orvosi alkalmazása | 13 |
| 3.3.7 Szennyvíz kezelés                    | 13 |
| <b>3.4 Növényi olajok</b>                  | 14 |
| 3.4.1 Olívaolaj                            | 14 |
| 3.4.2 Repceolaj                            | 15 |
| 3.4.3 Dióolaj                              | 16 |
| 3.4.4 Napraforgóolaj                       | 16 |
| 3.4.5 Kukoricaolaj                         | 17 |
| 3.4.6 Szezámogolaj                         | 17 |
| 3.4.7 Kókuszolaj                           | 17 |
| 3.4.8 Szőlőmagolaj                         | 18 |
| 3.4.9 Használt sütőolaj                    | 18 |
| <b>3.5 Pelletek</b>                        | 19 |

|                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>4 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK</b>                                                              | 20 |
| 4.1 Anyagok                                                                                | 20 |
| 4.1.1 A kísérletekhez felhasznált <i>Yarrowia</i> törzsek                                  | 20 |
| 4.2.1 Alkalmazott növényi szubsztrátumok                                                   | 20 |
| 4.2.3 Az enzimaktivitás méréshez használt oldatok                                          | 23 |
| 4.2.4 Felhasznált eszközök                                                                 | 24 |
| 4.3 Módszerek                                                                              | 24 |
| 4.3.1 Enzim fermentáció                                                                    | 24 |
| 4.3.2 Optikai denzitás mérése                                                              | 25 |
| 4.3.3 pH mérése                                                                            | 25 |
| 4.3.4 Lipáz enzim aktivitásának mérése                                                     | 25 |
| <b>5. KÍSÉRLETI EREMÉNYEK ÉS ÉRTÉKEELÉSÜK</b>                                              | 27 |
| 5.1 Természetes eredetű szubsztrátumok szkrínélése lipáz enzim termelésére                 | 27 |
| 5.1.1 Növényi eredetű olajok, mint szubsztrátumok alkalmazása                              | 27 |
| 5.1.1.1 <i>Yarrowia lipolytica</i>                                                         | 27 |
| 5.1.1.2 <i>Yarrowia yakushimensis</i>                                                      | 29 |
| 5.1.2 Pelletek, mint természetes szubsztrátumok alkalmazása                                | 32 |
| 5.1.2.1 <i>Yarrowia lipolytica</i>                                                         | 32 |
| 5.1.2.2 <i>Yarrowia yakushimensis</i>                                                      | 34 |
| 5.2 Lipáz termelés optimálása a szkrínélés során kiválasztott természetes szubsztrátumokon | 37 |
| 5.2.1 <i>Yarrowia lipolytica</i>                                                           | 37 |
| 5.2.2 <i>Yarrowia yakushimensis</i>                                                        | 40 |
| <b>6. KÖVETKEZTETÉS ÉS JAVASLATOK</b>                                                      | 44 |
| <b>7. ÖSSZEFOGLALÁS</b>                                                                    | 45 |

# 1. BEVEZETÉS

Manapság egyre több iparágban alkalmaznak enzimeket, mint például az élelmiszeriparban, a kozmetikai iparban, a gyógyszeriparban és az orvostudományban. A lipáz enzim a szerin-hidroláz enzimek csoportjába tartozik és képes katalizálni a trigliceridek hidrolízisét glicerinné és szabad zsírsavakká az olajos-vizes fázis határfelületén. Jelenleg a lipázok előállításához gazdaszervezet szükséges, ez lehet állati, növényi vagy mikrobiális forrás. Az állati lipáz legismertebb forrása a hasnyálmirigy. A növényi lipázt előszeretettel hasznosítják magok csíráztatásakor, illetve a gyümölcsök érési folyamatainál. Az iparban leginkább mikrobiális lipázokat használnak fel, mivel az adott mikroorganizmusok könnyen tenyésztethetők és használhatók. Eleinte baktériumok és fonalas gombák által termelt lipázokat alkalmaztak, viszont a tudomány előre haladtával előtérbe kerültek az élesztőgombák is, mint például *Candida rugosa* élesztő által termelt lipáz alkalmazása az élelmiszeriparban.

A *Yarrowia* nemzetséget eleinte monotípusú nemzetségnek vélték, mivel egyedül a *Y. lipolytica* fajt ismerték, emiatt több kutatási adat van róla, mint a nemzetséghez tartozó többi tagjáról. Bár az évek során egyre bővültek az ismereteket a *Yarrowia* nemzetsége tartozó többi fajról is, a *Y. lipolytica* maradt a legismertebb és a kutatások során alkalmazott főbb mikroba. A *Y. lipolytica* erős lipolitikus és proteolitikus aktivitással rendelkezik, ezekhez a tulajdonságokhoz párosul még, hogy az egészséges emberekre nem veszélyes és GRAS státusszal rendelkezik, emiatt is előszeretettel alkalmazzák az iparban. A kutató munkám során a *Y. lipolytica* faj mellett a *Y. yakushimenis* élesztőgomba lipáz aktivitását is vizsgálni kívánom. Ezt a fajt nemrég izolálták, ezért még kevés szakirodalom említi meg és emiatt még nincs róla elegendő ismeretünk.

Napjainkban nagy figyelem összpontosul a pelleték, illetve a növényi olajok, azon belül is a használt sűtőolaj szubsztrátumként való felhasználására lipáz termelő közegként. Mivel a pelletéket és a használt olajat kevés területen használják fel és hulladékként kezelik, melynek következtében részt vesz a környezetterhelésében. Az újra hasznosításuknak köszönhetően nem csak a környezetet lehetne megkímélni, hanem az ipari folyamatokba visszavezetni, mint például lipáz termeléshez felhasználni, ezzel is kialakítani egy fajta gazdasági körforgást.

## 2. A MUNKA CÉLJA

A lipáz enzim a természetben számtalan helyen fellelhető, ugyanis megtalálható mikroorganizmusokban, növényekben, állatokban és emberekben is egyaránt. Napjainkban számos iparágban alkalmazzák a lipáz enzimet, azon belül is a mikrobiális lipázt. A kutatási eredményeknek köszönhetően kiderült, hogy a baktériumok és penészgombák mellett az élesztőgombák is alkalmasak lipáz termelésre.

A *Yarrowia* nemzetség tagjai közül a *Y. lipolytica* az egyik legismertebb és kutatottabb faj, ugyanis erős lipolitikus és proteolitikus aktivitással rendelkezik, ennek köszönhetően különféle iparágakban használják. Azonban a *Yarrowia* nemzetség más fajaiban is rejlik potenciál ipari célú felhasználásra.

Munkám során célul tűztem ki *Y. lipolytica* és *Y. yakushimensis* törzsek extracelluláris lipáztermelésének nyomon követését növényi olajok, valamint pelletek természetes szubsztrátumként való alkalmazása során. Kísérleteimnél a következő részfeladatokat terveztem megvalósítani:

- *Yarrowia* élesztők szkrínelése különböző növényi olajokat, mint természetes szubsztrátumokat tartalmazó tápközegben.
- *Yarrowia* élesztők szkrínelése olajpogácsát, mint természetes szubsztrátumokat tartalmazó tápközegben.
- A lipáz termelés optimalizálása kiválasztott természetes szubsztrátumokon

### Kísérlet helye:

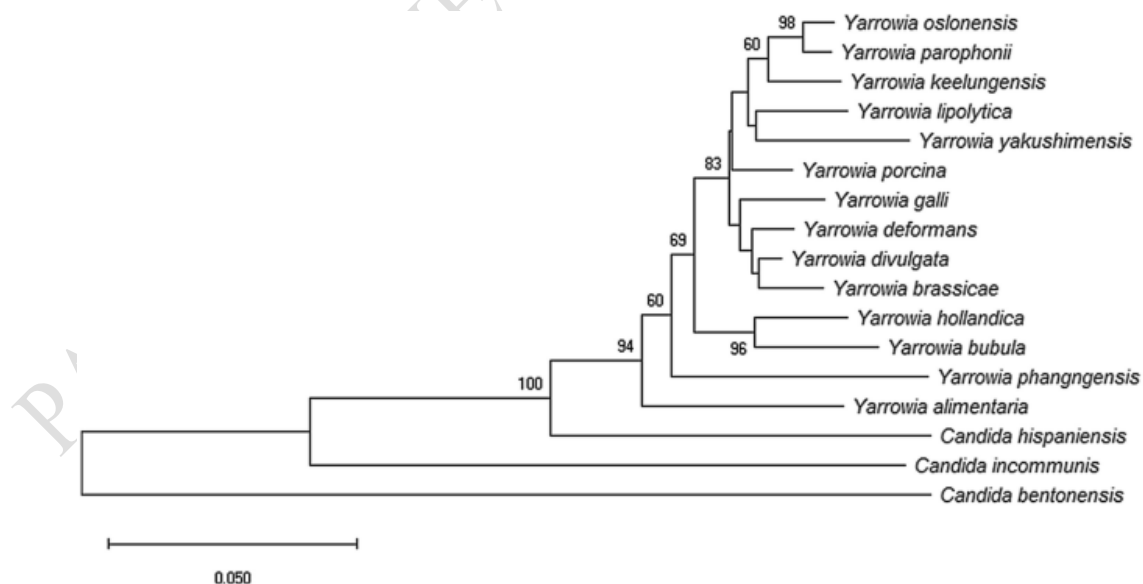
A kísérleteimet a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet, Biomérnök és Erjedéssipari Technológia Tanszék Fermentációs Laboratóriumában végeztem el.

## 3 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### 3.1 *Yarrowia* nemzetség ismertetése

A *Yarrowia* nemzetség tagjait filogenetikai vizsgálatok alapján a *Saccharomycetes* osztályba, *Saccharomycetales* rendbe és a *Dipodascaceae* családba sorolják. A *Yarrowia* nemzetségbe sokáig kizárólag a *Y. lipolytica* tartozott, emiatt monotípusú nemzetségnek számított, viszont az évek során 14 fajjal bővült. A feljegyzésre került *Yarrowia* fajok, hexadekán asszimiláló képességgel rendelkeznek, az összes ismert élesztőfajnak mindössze a 10%-a képes növekedni ezen a szénforráson. A fajok standard fenotípusos jellemzői meglehetősen hasonlóak, ennek okán például a *Y. lipolytica*, *Y. keetungensis*, *Y. deformans*, *Y. porcina* és a *Y. divulgata* összetett csoportot alkotnak, mivel fenotípusos tulajdonságaik szerint megkülönböztethetetlenek. A nemzetség tagjai között nagy eltérés van fiziológiai és anyagcsere diverzitás szempontjából is. Az eltérés oka, a fajok által felhasznált különféle szénforrások, és különböző növekedési sebességek (Rakicka-Pustułka és munkatársai, 2021; Péter és munkatársai, 2019). A fajokat a nagy alegység rRNS gén D1/D2 doménjeinek szekvenciája és a belsejébe ártírt spacer régiók különbsége alapján lehet szeparálni, melyet az 1. ábrán szeretnék bemutatni (Péter és munkatársai, 2019).

**1. ábra:** A *Yarrowia* klán tagjai közötti filogenetikai kapcsolatok a spacer régiók és a nagy alegység rRNS gén D1/D2 doménjének összekapcsolt szekvenciái alapján  
(Forrás: Péter és munkatársai, 2019)



A *Yarrowia* nemzetség telepeire jellemző a többoldalú bimbózás, valamint pszeudohifák és valódi hifa kialakulása. A fajai között megkülönböztetnek ivarost és ivartalant. Liu és

munkatársai 2018-as tanulmánya alapján ivarosakhoz tartozik a *Y. parophonji*, *Y. porcina*, *Y. deformans* és a *Y. lipolytica*, s az ivartalanhoz a *Y. alimentaria*, *Y. galli*, *Y. bubula*, *Y. yakushimensis* és a nemzetség további tagjai.

### 3.1.1 *Yarrowia lipolytica*

A *Y. lipolytica*-t mielőtt a *Yarrowia* nemzetségbe sorolták, a *Candida*, *Endomycopsis* és a *Saccharomycopsis* nemzetség fajaként ismerték, ezért régebbi kutatásokban megtalálhatjuk ezeken a neveken is. A fajt gyakran lehet izolálni élelmiszerekből, legfőképp tejtermékekből és húsból, megtalálható többek között sajtokban, joghurtokban és kolbászokban. Környezetből is izolálható, mint például szennyvízből, olajjal szennyezett, tengeri vagy hipersós közegekből.

A *Y. lipolytica* szigorúan aerob törzs, mivel az oxigénkoncentráció befolyásolja a mikroorganizmus növekedését, emellett előnyös számukra a 25-30 °C. Az optimális pH tartomány törzsenként eltérő lehet, a legtöbb törzsnek széles a pH tűrése (pH 3,5-8,0), ezzel szemben vannak melyek elviselik az ennél savasabb (pH 2), illetve lúgosabb (pH 9,7) pH értékeket. A hulladékok bioremedációjára is szokták javasolni, mivel ez az élesztő képes fémionokat adszorbeálni, ezen felül fehérje és lipidbontó képessége is van. A lipolitikus és proteolitikus tulajdonsága miatt modell mikroorganizmussá vált a lipid metabolizmus és fehérje szekréciós vizsgálatokban. Lipidben gazdag tápközegekben a LIP2 gén által kódolt extracelluláris lipáz enzimet termeli. A *Y. lipolytica* különböző hidrofób szubsztrátokon növekszik és a sejt szárazanyag-tartamának a 30-50%-áig képes természetes lipideket felhalmozni. A lipid tárolásban kedvező körülmény, ha nitrogén éhezett állapotba kerül (Madzak, 2021).

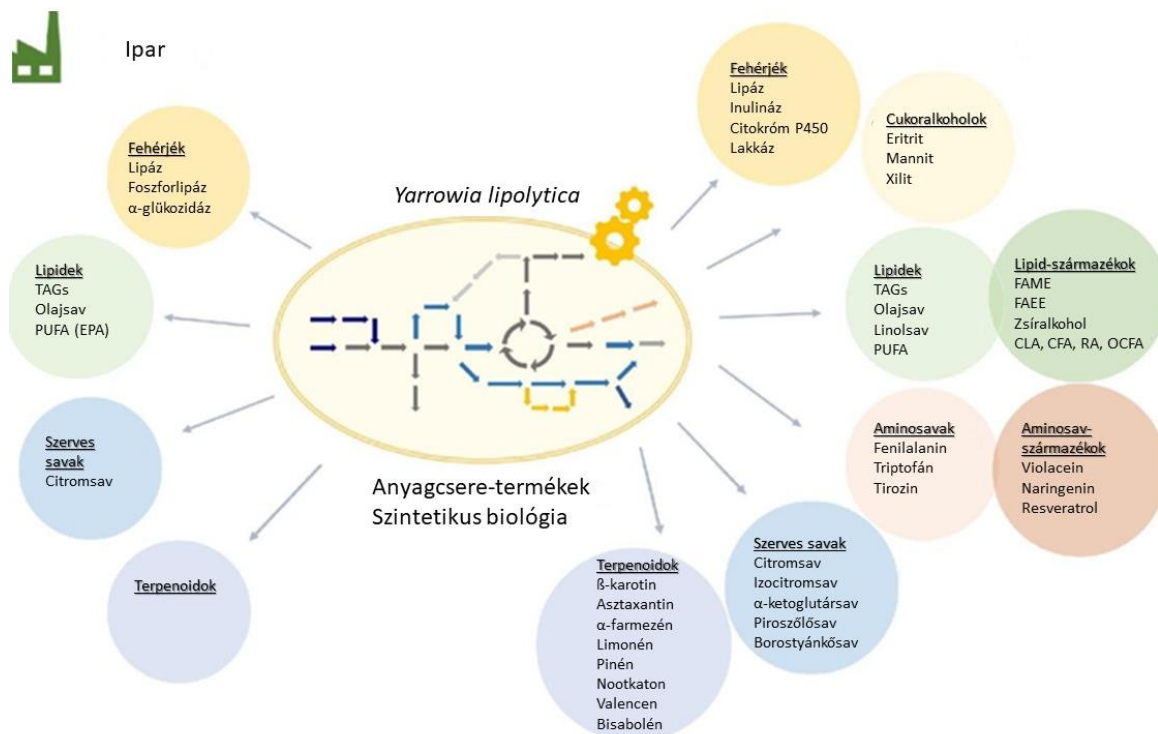
Ez a faj dimorf és heterotallikus, melynek két párosodási típusa fordul elő a MatA és a MatB. Számos törzset hoztak létre kereszteződésekéből, és ennek következtében alakult ki a tenyészetek sokfélesége. Ennek következményeképpen megannyi törzset használnak kutatásra és nincsen egy referenciatörzs meghatározva (Nicaud, 2012)

Általában a *Y. lipolytica*-t az 1. biológiai biztonsági osztályba sorolják, mely szerint nem veszélyes az egészséges felnőtt emberekre, mivel nem okoz betegséget náluk és emellett sok hasznos tulajdonsága van. Az elmúlt években jelentések történtek olyan esetekről, melyek arról számoltak be, hogy klinikai mintákban előfordult, viszont ez minden esetben immunhiányos, antibiotikus kezelésben részesülő vagy katéteres betegeknél következett be. Ennek folytán számos biotechnológiai folyamathoz felhasználják, például terápiás célokra, ipari fehérjék és enzimek termelésére. Biodízel előállítása során lipidforrásként is felhasználható ez az élesztő

faj (Groenewald és munkatársai, 2014). A 2. ábra a *Y. lipolytica* ipari és tudományos ágazatban való felhasználását taglalja (Park és Ledesma-Amaro, 2023).

## 2. ábra: A *Yarrowia lipolytica* termékei a tudományos életben és az iparban

(Forrás: Park és Ledesma-Amaro, 2023 nyomán)



Rövidítések: CFA, ciklopropán zsírsav; CLA, konjugált linolsav; EPA, eikozapentaénsav; FAEE, zsírsav-etil-észter; FAME, zsírsav-metil-észter; OCFA, páratlan láncú zsírsav; PUFA, többszörösen telítetlen zsírsav; RA, ricinolsav; TAG-ok, triacilglicerinek

### 3.1.2 *Yarrowia yakushimensis*

A *Y. yakushimensis* faj 2013-ban került tudományos leírásra Groenwald és Smith által. A *yakushimensis* utal az izolátum eredetére a Yashima szigetre, Japánban. A *Y. yakushimensis* 25 °C-on élesztő-malátakivonat táplevesben a harmadik napon finom pelliciumot és üledéket képez. Az ivartalan szaporodása többoldali bimbózással történik. A sejtek előfordulhatnak párokban, csoportokban vagy esetleg önállóan, alakjuk változó a tojásdadtól egészen a megnyúlt formáig lehet megfigyelni, illetve pseudohifák keletkezhetnek. A *Y. yakushimensis* ivartalan sejtei a 3. ábrán láthatóak (Groenewald és Smith, 2013). A GPYA táptalajon (4% glükóz, 0,5% pepton, 0,5% élesztő, 2% agar) krémszínű, enyhén hullámzó szegélyű telepek képződhetnek. A *Yarrowia* nemzetség tagjaitól megkülönbözteti, hogy 30 °C-on nem tud növekedni (Groenewald és Smith, 2013).

Az rRNS génszekvencia tanulmányozása során homológ gént kerestek a szekvenált *Yarrowia* fajokban. A *Y. yakushimensis* esetében 7 gént és 2 pszeudogént találtak. A két pszeudogénről kiderült, hogy teljes hosszúságú kópiák, amelyek kereteltolódás vagy stop kódon által inaktivált állapotba kerültek (Meunchan és munkatársai, 2015).

**3. ábra:** *Y. yakushimensis* ivartalan sejtjei

(Forrás: Groenewald és Smith, 2013)



### 3.2 Lipáz enzim

A triacilglicerín-acil-hidrolázok, másnéven lipázok, a szerin-hidroláz enzimek csoportjába tartoznak és a trigliceridek hidrolízisét katalizálják glicerinné és szabad zsírsavakká az olajos-vizes fázis határfelületén. A lipáz a vizes vagy nem vizes közegben vízben oldhatatlan szubsztrátumokra fejt ki hatást, főként a karboxil-észter kötéseken végbemenő reakciókat katalizálja, amelyek a hidrolízis, aminolízis és észterezés. A lipázok specifikus kinetikai tulajdonságai a katalitikus hely konformációival hozhatók összefüggésbe. Két konformációból állhat, egy nyitott-aktív konformációból és egy zárt-inaktív konformációból. A nyitott-aktív konformációban a katalitikus hely hozzá tud férni a szubsztráthoz, melynek köszönhetően termékképződés zajlik le. További tulajdonságai közé tartozik, hogy ellenállnak a szerves oldószereknek és változó reakciósebességgel hatnak a különböző szubsztrátumokra (de Almacida és munkatársai, 2013; Nascimento és munkatársai, 2022).

A lipázok szerkezeti jellemzői alapján az  $\alpha$ -hidroláz vagy  $\beta$ -hidroláz redős családjába tartoznak és konzervált katalitikus triáddal rendelkeznek, amely szerin, hisztidin és aszparaginsav/glutaminsav aminosavakból tevődik össze. Az enzim egy, kettő vagy több

hurokkal vagy hélixszel rendelkező fedőket tartalmazhat. A kis hurok/hélix fedők a mono- és diacilglicerín-lipázban fedezhetők fel (Nascimento és munkatársai, 2022).

A lipázok előállításához gazdaszervezet szükséges, ez lehet állati, növényi vagy mikrobiális forrás. Az állati lipáz legismertebb forrása a hasnyálmirigy, míg a növényi enzimek nyers papayából, zabból vagy ricinusbabból nyerhetők ki. A mikrobiális forrásokból származó lipáz enzim aktivitása nagyobb, mint az állatok vagy növények által termelté. Az iparban inkább a mikrobiális termelés az elterjedtebb a könnyebb kivitelezés végett. Az enzimtermelés két módon végezhető, az egyik a szilárd fázisú fermentáció, ennek hátránya, hogy korlátozott számú faj képes csökkentett nedvességtartalmú környezetben szaporodni. A másik lehetőség a szubmerz fermentáció, mely folyékony tápközegben történik. E fermentáció során termelt lipáz általában hőstabilisabb, mint a szilárd fázisú fermentáció esetében termelődött enzim (Fatima és munkatársai, 2021).

### Mikrobiális lipáz

A mikrobiális lipázok különleges figyelmet kapnak a stabilitásuk, szelektivitásuk és a széleskörű szubsztrátspecifikusságuk miatt. Számos baktérium, élesztő- és fonalas gomba ismert extracelluláris lipáz potenciális termelőjeként (1. táblázat).

#### 1. táblázat: Lipáz termelő mikroorganizmusok

(Treichel és munkatársai, 2010 nyomán)

| Fonalas gombák        | Élesztőgombák                 | Baktériumok                        |
|-----------------------|-------------------------------|------------------------------------|
| <i>Rhizopus sp.</i>   | <i>Candida rugosa</i>         | <i>Bacillus subtilis</i>           |
| <i>Aspergillus sp</i> | <i>C. tropicalis,</i>         | <i>Bacillus pumilus</i>            |
| <i>Penicillium sp</i> | <i>C. antarctica</i>          | <i>Bacillus licheniformis</i>      |
| <i>Geotrichum sp</i>  | <i>C. cylindracea</i>         | <i>Bacillus coagulans</i>          |
| <i>Mucor sp</i>       | <i>C. parapsilopsis</i>       | <i>Bacillus stearothermophilus</i> |
| <i>Rhizomucor sp</i>  | <i>C. parapsilopsis</i>       | <i>Bacillus alcalophilu</i>        |
|                       | <i>Yarrowia. validiaa</i>     |                                    |
|                       | <i>Y.lipolytica</i>           |                                    |
|                       | <i>Rhodotorula glutinis</i>   |                                    |
|                       | <i>Rhodotorula pilimornae</i> |                                    |
|                       | <i>Pichia sivicola</i>        |                                    |
|                       | <i>P. xylosa</i>              |                                    |
|                       | <i>P. burtonii</i>            |                                    |

A fonalas gombáknál szilárd fázisú baktériumok és élesztők esetében pedig szubmerz fermentációt érdemes alkalmazni. Az enzimaktivásra jelentős hatással lehet a hőmérséklet, a pH, a fémionok, a szerves oldószerek és a felületaktív anyagok. Az enzim hőmérséklet függése abból ered, hogy a lipázok eltérő termikus stabilitást mutatnak a szerkezeti sokféleségük miatt. A kezdeti optimális pH-érték általában semleges (pH 7,0). A lipáz aktivitás fémionok jelenlétével megváltoztatható, hiszen eltérő toleranciát mutatnak egyes fémionokkal szemben. Például a *Burkholderia ubonensis* SL-4 eredetű enzim a  $\text{Ca}^{2+}$  és  $\text{Mn}^{2+}$  ion jelenlétében erős aktivitást mutat, míg a  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  és  $\text{Fe}^{3+}$  ionok gátló hatást fejtenek ki. A mikrobiális lipázok molekulatömege 20-60 kDa között van (Treichel és munkatársai, 2010; de Almeida és munkatársai, 2013; Yao és munkatársai, 2021).

A heterológ expresszió segítségével elősegíthető egy vagy több specifikus lipáz nagymértékű ipari termelése. A heterológ expressziós rendszerek előnye, hogy nem igényel lipideket és más induktorokat a bioszintézis elősegítéséhez, ennek következményeként a fermentációs folyamat összetettségét csökkenti. A rekombináns lipáz előállítására széleskörben alkalmazzák a bakteriális, élesztő- és fonalas gomba alapú expressziós rendszereket (Yao és munkatársai, 2021).

### 3.3 Lipáz felhasználása az iparban

Az ipari enzimek közül a lipázt széles körben használják, s főleg a mikrobiális eredetű enzimeket részesítik előnyben, mivel a mikrobák könnyen tenyésztethetők, genetikailag módosíthatóak a kívánt tulajdonságok javítására, valamint magas hozammal rendelkeznek. A lipázok alkalmazási területe egyre jobban bővül a sokoldalú felhasználási lehetőségük miatt (Rodrigues dos Santos és munkatársai, 2022; Ali és munkatársai, 2023).

#### 3.3.1 Mosószeripar

A modern típusú mosószerek hatékonyságának javítására általában egy vagy több enzimet alkalmaznak, például proteázt, amilázt, cellulázt és lipázt. A lipázok a második legjelentősebb detergens adalékanyagok a proteázok után, ez a teljes lipázértékesítés 32%-át teszi ki. A mosószerhez adagolva növelik a szövet rugalmasságát és dekontaminációját anélkül, hogy a környezetet terhelnék, mivel alacsonyabb mosási hőmérsékletet tesznek lehetővé, biológiailag lebomlanak, nem hagynak káros maradványokat és nem jelentenek veszélyt a vízi élővilágra. A lipázt rögzítik a felületeken, hogy könnyebben tudja eltávolítani az olajos foltot a szövetről. Ennek okán a mosószerkészítményekben zsírtartalmú szennyeződések eltávolítására használják, mint például leves, sütőzsírok, emberi faggyú, bizonyos kozmetikumok és olajok.

A Novo Nordisk cég 1988-ban kifejlesztett egy lipáz enzimet, mely képes feloldani a zsíros/olajos szennyeződéseket, azonban a kiválasztott *Humicola* gomba törzs hozama alacsony, ahhoz, hogy kereskedelmi célra használják. Ezzel szemben 1994-ben bemutatták az első kereskedelmi forgalomban kapható lipázt, amely a *Thermomyces lanuginosus* gombából származott és az *Aspergillus oryzae*-ben expresszáldott (Hasan és munkatársai, 2006; Adetunji és Olaniran, 2021; Yao és munkatársai, 2021)

### 3.3.2 Kozmetikai ipar

A lipázokat széleskörben használják a kozmetikai iparban aktív vegyületek vagy vegyi termékek előállítására, ilyenek például az aromák. Az aktív lipázok elsősorban arctisztítóknak, cellulit kezelésére alkalmazott termékekben, valamint testápolókban találhatók meg, melyeket szennyeződések vagy elhalt hámsejtek fellazítására és eltávolítására használnak. Az iparban lipáz észterezésével szintetizálják a viasz, fahéjsav, ellagsav és ferulinsav észtereit, amelyeket íz- és illatvegyületeként, gyógyszerek prekursoraiként, fényvédők és kozmetikumok adalékanyagaiként használnak fel. A szépségiparban alkalmazott lipáz katalizálási eljárására példa a racém rózsza-oxidok rezolválása *Pseudomonas cepacia* lipázok felhasználásával citronellol bróm-metoxilezésekor, amely fő összetevője az illatanyagoknak. Egyéb kozmetikumokban is előfordul lipáz, mint például szépségápolási maszkokban, hajápolási és smink termékekben (Ansorge-Schumacher és Thum, 2013; Sarmah és munkatársai, 2018; Rodrigues dos Santos és munkatársai, 2022).

### 3.3.3 Cellulóz- és papíripar

A lignocellulóz tartalmú biomassa évente nagymértékben kerül feldolgozásra a cellulóz- és papíriparban. A gyártás során gyakran észlelhető gyanta, ami komoly problémát okoz, mivel enyvszerű lerakodást hoz létre a gépekben és a kész papírokon foltot hagy. Lipáz hozzáadásával eltávolíthatóak a papírban lévő gyanták és olajok, emellett kezeli az anionmaradványokat és bitumen lerakodást is a gyártás során. A gyantában jelenlévő trigliceridek körülbelül 90%-a lipáz enzim hatására glicerinné, monogliceridekké és zsírsavakká hidrolizálódik. Ez a biokatalizátor növeli a pépesedési sebességet és fokozza a kész papír fehérségét és szilárdságát. A Nippon Paper Industries, Japán egyik legnagyobb papírgyára, ahol kifejlesztettek egy módszert a fa szurok szennyeződésének szabályozására. A módszer lényege, hogy a folyamatban lévő hidrolízist *Candida rugosa* gomba lipázának hozzáadásával végzik, ennek köszönhetően a fás trigliceridek 90%-át hidrolizálni lehet (Yakubu és munkatársai, 2019; Adetunji és Olaniran, 2021; Yao és munkatársai, 2021).

### 3.3.4 Élelmiszeripar

A lipázok a modern élelmiszeripar szerves részévé váltak. Az élelmiszeriparon belül leggyakrabban tejtermékekben, pékárukban, sör előállítása során és húsfeldolgozásban használnak lipáz enzimet minőség és hozam növelés céljából, ezenkívül bizonyos termékek aromáinak a kialakítására, valamint olajok és zsírok eltávolítására. A tejiparban a lipázokat általában a sajtok és tejek ízének fokozására, termékek tápértékének növelésére és a sajtok érési idejének csökkentésére alkalmazzák. A termékek tápértékének javítása során módosítást kell végezni a szerkezetben, ez átészterezéssel valósítható meg. A kívánt íz elérése során a rövidebb zsírsavak hidrolizálódnak. Az enzimet humán tejzsírpótlók és olyan zsírok előállítására is felhasználják, amelyeknek hasonló az összetételük, mint a kakaóvajnak, emiatt a kakaóvaj helyettesítésére is használhatóak (Negi, 2019).

A lipázokat a hús- és a halfeldolgozó iparban a felesleges zsírok eltávolítására alkalmazzák a soványabb hús elérése végett (Salgado és munkatársai, 2022). Chen és munkatársai (2017) azt kutatták, hogy a kolbász fermentációja során alkalmazott lipázok okoznak-e változást ízben vagy szerkezetben. A kísérlet eredményeképpen a lipázzal kezelt kolbászok izom- és zsírszövetének szabad zsírsavtartalma nagyobb volt, mint a nem kezeltké, illetve intenzívebb volt a fermentált jelleg (Chen és munkatársai, 2017).

A sütőiparban előszeretettel használnak zsírbontó enzimeket az érzékszervi minőség javítására, valamint a pékáruk esztétikusabb megjelenése céljából (Akram és munkatársai, 2023). A kenyértésztába kerülő lipáz a triglicerideket di-, monogliceridekké és zsírsavakká hidrolizálja. A hidrolízis hatására növekszik a kenyér puhasága, mérete és az eltarthatósága. Más enzimekkel való alkalmazással javítható a kenyér textúrája és a pékáru minősége. Édességekben emulgeáló lipidek előállítására adalékanyagként használják a lipázt. A csokoládéiparban fokozzák vele a karamell, tejszokoládé és vajkrém ízt, ezenfelül az édes ízérzetet is (Negi, 2019).

A fekete tea készítése során a lipázokat a sejtmembránok hidrolitikus hasításának indukálására és az egyedi ízű illékony termékek szintézisének elindítására használják. A fekete tea minőségét befolyásolja a tealevelek dehidratáltsága és enzimatis fermentációja (Ali és munkatársai, 2023).

### 3.3.5 Bioüzemanyag

A bioüzemanyagokat a fosszilis tüzelőanyagok megújuló energiaforrásként tartják számon, ide tartozik a biodízel. A biodízel előállításának kiindulási anyaga a biomassa, mely

zsírokból és növényi olajokból tevődik össze. A biomasszát biokatalizátorok alakítják át biodízellé, ilyen például a lipáz, ami átészterezési reakció során hozza létre a biodízelt. A folyamatot számos tényező befolyásolja, beleértve az alkoholok molaránya, a lipáz forrás, a víz és a szabad zsírsavak jelenléte, a hőmérséklet, az idő és az alapanyagok. Az átésztereződésre széles körben használt a *Burkholderia cepacia* által termelt bakteriális lipáz, míg az élesztők esetében a *Candida antartica* lipáza. Nagyobb hozam érhető el, ha rögzített lipázt alkalmaznak, mivel az enzim kapszulázása lehetővé teszi a maximális lipáz enzim felhasználását. A biodízel gyártása során az oldószer adagolása a reakcióközegre pozitív hatással van, ugyanis az oldószerek elősegítik a hidrofil alkoholok és a hidrofób trigliceridek oldhatóságát, emellett képes növelni a reakciósebességet és csökkenteni az alkohol enzimre gyakorolt gátló hatását. Az oldószer hátránya, hogy nehéz eltávolítani a közegből (Sankaran és munkatársai, 2016; Filho és munkatársai, 2019; Rodrigues dos Santos. és munkatársai, 2022).

### 3.3.6 Gyógyszeripari és orvosi alkalmazása

A gyógyszeriparban a lipáz enzimet a tiszta enantiomerek előállítására alkalmazzák. A folyamat végbe mehet kémiai módszerekkel is, viszont az enzimatisztikus útvonal előnyösebb a katalizátorok szelektivitása és hatékonysága miatt. A *Rhodothermus marinus* lipáz segítségével ibuprofént állíthatnak elő, míg a *Candida rugosa* lipázával atenololt. Különböző lipázak felhasználásával egyéb gyógyszereket is gyárthatnak, mint például aszkorbinsavat, kinolonok származékait, kloramfenikolt és a ketonprofent (Rodrigues dos Santos és munkatársai, 2022). A lipáz alapú bioszenzorokat diagnosztikai célra használják, hogy kimutassák vele a beteg vérmintájából a koleszterin-, triglicerin- és a foszfolipidszintet (Yao és munkatársai, 2021).

### 3.3.7 Szennyvíz kezelés

A lipidek az ipari és kommunális szennyvizek káros összetevői, mivel jelentősen hozzájárulnak a környezet szerves anyag terheléséhez és a fonalas gombák szaporodásához. A szennyvíz kezelésére több eljárás is van, a legtöbb kezelést fizikai, biológiai és kémiai szakaszra lehet osztani. A szennyvíztisztítás fő célja a maradványok eltávolítása. Manapság egyre nagyobb érdeklődés van az enzimek alkalmazása iránt, hiszen csökkentik a szennyvíz szerves szennyezőanyag tartalmát és a biológiai tisztítási folyamat későbbi szakaszában jobb teljesítményt biztosítanak. A lipáz enzimet élelmiszer-feldolgozásból, textil-, papír-, bőr- és autógyártásból származó ipari szennyvíz kezelésére használják (Filho és munkatársai, 2019; Adentunji és Olaniran, 2021).

### 3.4 Növényi olajok

Az étkezési, növényi olajokat bizonyos növények magjából, csírájából vagy terméséből nyerik. A különböző növényfajok és növényi részek olajtartalma, összetétele és biológiai aktivitása eltérő. Az olajok fő összetétele a zsírsav, mely olyan szerves anyag, amely egy hosszú alifás szénhidrogénláncból áll és az egyik végén karboxilcsoport található. Előfordulnak bennük esszenciális zsírsavak is, amelyek közül legfontosabbak a linolsav és linolénsav. Az esszenciális zsírsavak kettő vagy több kettős kötéssel rendelkeznek, melyeket az étrenddel szükséges bevinni a szervezetbe (Zhou és munkatársai, 2020). Számos kutatást végeztek a növényi olajokban található olajsav mikrobiális lipáz termelésének a befolyásolásáról. Obradors és munkatársai 1993-ban a *Candida rugosa* élesztő lipáz termelését vizsgálták olajsav szubsztrátum esetében és az eredményeik azt mutatták, hogy az olajsav hatására megnövekedett a lipáz termelés. Később Fickers és munkatársai 2004-ben a *Yarrowia lipolytica* élesztőgomba lipáz termelését vizsgálták meg különböző szén- és nitrogénforrások esetében. A kísérlet alatt olajsavat is alkalmaztak, mint szénforrás. A kutatás végeztével kiderült, hogy a *Y. lipolytica* lipáz termelését is fokozza az olajsav. Krzyczkowska és Kozłowska 2017-ben kutatást végeztek a *Y. lipolytica* W29-es törzs növekedésére és lipolitikus aktivitására növényi olajok szénforrásként történő alkalmazásával. Az eredmények alapján a mikroorganizmus növekedésére és lipolitikus aktivitására kedvező hatást, akkor kaptak, ha n-hexánnal extrahált olajokat tartalmazó tápközegeket használtak. A kísérletük során a legjobb lipáz induktornak az n-hexánnal extrahált mandulaolaj bizonyult, mivel gazdag forrása a telítetlen zsírsavaknak, azon belül is a linolsavnak. A szénláncban kettős kötéssel rendelkező zsírsavak jelenléte az olajokban fontos tényező lehet, amely meghatározta az *Y. lipolytica* W29-es törzs lipolitikus aktivitását.

#### 3.4.1 Olívaolaj

Az olíva (*Olea europaea*) egy örökzöld fa, melyet a bogyója és az abból kinyert olaj miatt termesztnek. A világ olívaolaj termelésének nagy része a Földközi-tenger medencéjében található mediterrán országokban összpontosul. Az olívaolaj 95%-át a középső terméshéjből vonják ki, a fennmaradt részt a mag adja. Az olaj színe változhat a zöldtől egészen a világos sárgáig, mivel befolyásolja az olajbogyó érési állapota. A zöld színű olajat a zöld bogyóban levő nagy klorofill tartalom okozza, míg a sárgás szín az érett olajbogyóban megtalálható karotinoid pigmentek miatt figyelhető meg. Kémiaiilag elsősorban egyszerűen telítetlen zsírsavakból, többszörösen telítetlen zsírsavakból és telített zsírsavakból áll, emellett nagy mennyiségű ásványi anyagot (kalcium, vas, kálium, nátrium) és vitamint (E-vitamin, K-vitamin) tartalmaz.

Nagy százalékban tartalmaz olajsavat, sztearinsavat, palmitinsavat és linolsavat. A fenolos vegyületek az olívaolaj minőségéhez nélkülözhetetlenek, mivelhogy a fenolok biztosítják az olaj oxidációs stabilitását, illetve a tápértéket és az érzékszervi tulajdonságát. Az olívaolaj magas tápértékkel rendelkezik, azonban az összetétel változhat endogén és exogén hatás által (Doymaz és munkatársai, 2004; Guo és munkatársai, 2018). Az exogén hatások a környezetből érkező biológiai, kémiai vagy fizikai változás eredménye, míg az endogén hatás a belső változások, mit például olajsav/linolsav arányának vagy a karotinoid tartalom a változása (Internet 1, Guo és munkatársai, 2018). Megfigyelték, hogy az olívaolaj fogyasztás jótékony hatással van az emberi szervezetre, a szív- és érrendszeri problémák és a rákos megbetegedések megelőzésében van szerepe, a magas fenol tartalma miatt. Különösen az extra szűz olívaolaj fogyasztása ajánlott az értékes bioaktív összetevői okán (Gavahian és munkatársai, 2019).

### 3.4.2 Repceolaj

A repceolajat a *Brassica napus* magjából vonják ki. A jelenleg használt repcemagokat nemesítették, hogy alacsony legyen a glükoszínolát- és erukasav-tartalma. Az erukasav koncentrációjának csökkentésével növekedett az olajsavtartalom. Általában a repceolajban 61 %-ban olajsav (egyszeresen telítetlen omega-9 zsírsav), 11%-ban  $\alpha$ -linolénsav (többszörösen telítetlen omega-3 zsírsav), 21%-ban linolsav (többszörösen telítetlen omega-6 zsírsav) és 7%-ban telített zsírsavak figyelhetők meg. A nyers repceolaj tartalmaz olyan vegyületeket, melyek az olajat élelmiszerben való használatra alkalmatlanná teszi, ezért finomítani szükséges. Azonban vigyázni kell a finomítás során, mivel a hagyományos finomítási eljárásokat alkalmazva lebomolhatnak vagy eltávozhatnak a hasznos, egészséget javító komponensek (Ghanzani és Marangoni, 2013; Lin és munkatársai, 2013). A repceolaj fő extrakciós módszerei a melegsajtolás, hideg sajtolás, illetve az oldószeres extrakció. A melegsajtolás következtében javul az olajhozam és az oxidációs stabilitás azáltal, hogy növekedik az olaj tokoferol-tartalma. A mag pörkölése során Maillard-reakció megy végbe, s ennek következtében heterociklusos vegyületek képződnek, mely kellemes pörkölt ízt biztosít az olajnak. A hidegsajtolás egy kémiai vagy hőkezelés nélküli olajkivonási módszer, mivel alacsony hőmérsékleten zajlik a folyamat, ezért visszatartja a bioaktív vegyületeket. Továbbá a vizsgálatok alatt kiderült, hogy a hidegen sajtolt repceolaj 180 °C-ra történő hevítése következtében nem veszíti el az értékes komponenseinek nagy részét, ezért magasabb hőmérsékleten történő sütéshez is alkalmazható. Az oldószerrel extrahált repceolajok általában több kémiai finomításon mennek keresztül, hogy olyan olajtermékké váljanak, melyet főként étolajként és salátaolajként lehessen használni.

Megállapították, hogy az oldószeres extrakcióval készült és a hidegen sajtolt repceolaj molekulaösszetétele közel azonos (Zhang és munkatársai, 2021; Saleem és Ahmad, 2018). A repceolaj az egyik legegészségesebb ehető növényi olaj, mivel egészség javító képessége van és a betegségekhez kapcsolódó kockázati tényezőket is csökkenti (Lin és munkatársai, 2013)

### 3.4.3 Dióolaj

A dióolajat a *Juglans regia* L. magjából nyerik ki. Főleg linolsavat (50-60%) és linolénsavat (13-18%) tartalmaz, ezzel szemben szegény az egyszeresen telítetlen és telített zsírsavakban. A magas, többszörösen telítetlen zsírsavtartalom folytán a dióolaj nagyon érzékeny az avasodásra és az oxidációra, emiatt nem alkalmas hosszú tárolásra, finomításra és főzési célra. Kísérletek folynak az olaj összetételének megváltozására. A hagyományos nemesítési módszerek alkalmazásával hasonlóvá tudják tenni a növények zsírsavösszetételét. A dió nemesítésének fő célja a többszörösen telítetlen zsírsavak mennyiségének csökkentése, az egyszeresen telítetlen zsírsavak növelése, emellett még az oxidációs stabilitásának javítása. A dióolaj fogyasztása egészséges, mivelhogy gazdag omega-3 és omega-6 zsírsavban (Poggetti és munkatársai, 2017).

### 3.4.4 Napraforgóolaj

A hagyományos napraforgóolajban 90%-ban a telítetlen zsírsavak találhatók meg, a legnagyobb arányban a linolsav és az olajsav van, de kisebb mennyiségben tartalmaz még palmitinsavat, sztearinsavat, mirisztinsavat, mirisztoleinsavat, palmitoleinsavat, arachidsavat, illetve dokozánsavat. Dragan és munkatársai 2008-ban megvizsgálták, hogy a napraforgóolaj zsírsavösszetételét lehet-e változtatni a napraforgómag genetikai módosításával, s eredményként azt kapták, hogy legfőképpen indukált mutációval lehet átalakítani. A mag  $\gamma$ - és röntgensugárzással történő kezelése során megnövekedett a palmitoleinsav szint, míg a nátrium-aziddal végzett mutáció következtében a sztearinsav koncentráció lett magasabb. A legjelentősebb mutáció a dimetil-szulfátos kezelés volt, mivel a 16-19%-os olajsav tartalom 90%-ra emelkedett, amelynek köszönhetően az oxidációs stabilitása javult. A hétköznapi ételekben fogyasztják az emberek és a megtermelt étolaj 12%-át adja globális szinten. A biotechnológiai módszerek segítségével különféle ipari termékek előállítására lehetne felhasználni a napraforgóolajat, mint például biodízel, lipáz és bioműanyag előállítása (Rauf és munkatársai, 2017).

### 3.4.5 Kukoricaolaj

A kukoricaolaj enyhén sárgás színű, jellegzetes szaga és íze van, a kukoricacsírából nyerik ki száraz, illetve nedves őrléssel. A kapott nyersolajat tovább kell finomítani, hogy felhasználható legyen. Fontos forrása a kisebb bioaktív lipideknek, mint például a fitoszteroloknak, tokoferoloknak, tokotrienoloknak és karotinoidoknak. A kukoricaolaj főbb zsírsava a linolsav, melyet 39-66%-ban tartalmaz. Ez a zsírsav nélkülözhetetlen az anyagcsere működés során, ezenfelül még 20-42%-ban olajsav és 9-17%-ban palmitinsav is van benne. A növényi olajok közül a kukoricaolajnak viszonylag nagyobb az oxidációs stabilitása, annak ellenére, hogy magas a telítetlensége. A finomított kukorica olajat sütóolajként, salátaolajként és részleges hidrogénezés után kenőanyagként is használják (Barrera-Arellano és munkatársai, 2019; Gunstone, 2009).

### 3.4.6 Szezámogolaj

A szezámogolaj a *Sesamum indicum* növény magjából származik. A mag nagy mennyiségben tartalmaz olajsavat és linolsavat, emellett kisebb koncentrációban megtalálható benne palmitinsav és sztearinsav. A szezámogolaj 80%-ban telítetlen zsírsavat és számos bioaktív komponenst tartalmaz, például: tokoferolokat, fitoszterolokat, szezamolint, szezamint és szezamolt. A magot préselés előtt megpörkölik, hogy növeljék az olajhozamot a művelet során. A pörkölésnél alkalmazott hőmérséklet és nedvesség hatására a magvak mikroszerkezete, fizikai állapota, kémiai összetétele megváltozik, ezáltal elősegítve a magvak sejtkárosodását, az olaj felhalmozódását és az enzimek inaktiválását. A nem megfelelő pörkölési hőmérséklet azonban károsíthatja a szezámogolaj fehérjét, akár veszélyes anyagok is keletkezhetnek. A pörkölés hőmérséklete és ideje hatással van a szezámogolajban levő policiklusos aromás szénhidrogének képződésére, a színére, ízére és aromájára, azonban a zsírsav-összetételét nem befolyásolja. A szezámogolajból kivont olajat főként fűszerolajként alkalmazzák, mivel magas a tápértéke. Hozzáadva más olajokhoz fokozni lehet az oxidatív stabilitását az adott olajnak, például: sütóolajok készítése során (Junmin és munkatársai, 2019; Gunstone, 2009).

### 3.4.7 Kókuszolaj

A kókuszolaj szobahőmérsékleten szilárd és fehér színű, melegítés hatására szintelen folyékony halmazállapotú lesz, viszont, ha csökken a hőmérséklet visszaszilárdul. A kókuszolaj elsődleges zsírsava a laurinsav, mely a pálmamagolajban is megtalálható. A laurinsav körülbelül 45-53%-ban van jelen, emiatt egészségesebb a kókuszolaj, mivel tanulmányok kimutatták, hogy a táplálkozás során a szervezetbe jutott laurinsav energiává és más metabolitokká válik és nem raktározódik el zsírként. A laurinsav telített zsírsav, mely a közepes szénláncú ( $C_6-C_{12}$ )

vagy hosszú szénláncú ( $C_{14}$ ) zsírsavakhoz sorolható (Fabian, 2015; Gunstone 2009). Az olajat a kókuszdió húsból állítják elő különböző extrakciós módszerekkel, a feldolgozását aszerint választják ki, hogy a később kinyert olajat mire szeretnék felhasználni, mivel a módszereknek különbözik a hozamuk és a kinyert olaj laurinsav tisztasága. A kókuszolajnak számos felhasználási területe van, elsősorban a szépségiparban és az egészségmegőrzés területén. Az antimikrobiális és gyulladás csökkentő hatása miatt a gyógyszeriparban is alkalmazzák, illetve az iparban kenőanyagként, viszont gyenge termikus stabilitása végett korlátozott a használata (Yan és munkatársai, 2021).

### 3.4.8 Szőlőmagolaj

A világszerte termesztett *Vitis Vinifera* Lr. ssp. *sativa* élő gyümölcs magjában 6-20%-os olajtartalom van. A szőlőmagolaj összetétele függ a szőlőfajtától, a magvak érési fokától és a környezeti tényezőktől. A törkölyből kinyert nyers olaj hozzájárul a borászat során keletkezett hulladékok újrahasznosításához, ezzel növelve a borászati termékek választékát. A szőlőmagolajban 85-90%-ban többszörösen telítetlen zsírsavak vannak jelen, köztük is kiemelkedik a linolsav mennyisége. Kutatások szerint a szőlőmagolaj antioxidáns hatása szoros összefüggésbe van az E-vitamin izomer és  $\gamma$ -tokotrienol magas koncentrációjával, amely más olajokban ritkán található meg. Ezenkívül megfigyelték, hogy a *Staphylococcus aureus* és az *Escherichia coli* növekedését gátolja, illetve gyulladás csökkentő hatása is van (Dabetic és munkatársai, 2020; Chenli és munkatársai, 2021; Shinagawa és munkatársai, 2015).

### 3.4.9 Használt sütőolaj

A népesség növekedés következményeképpen megnőtt az élelmiszer hulladékok, így a használt sütőolaj mennyisége is. A főzéskor felhasznált sütőolaj hőátadó közegként működik, mely hozzájárul az elkészített étel állagához és ízéhez. A sütés ideje alatt bekövetkező hidrolízis, oxidáció és polimerizáció során a sütőolajban illékony és nem illékony vegyületek is keletkeznek. A nem illékony anyagok megváltoztatják az olaj fizikai és kémiai tulajdonságait, míg az illékony anyagok az ízminőségre vannak hatással. A sütés következtében csökken az olaj telítetlen zsírsavjainak száma, ezzel szemben növekszik a viszkozitása, sűrűsége, fajhője és a habzása. A sütőolaj fő bomlástermékei a nem illékony poláris vegyületek, triacilglicerinnel dimerek és a polimerek. A polimerek és dimerek képződését befolyásolja az olaj típusa, a sütési hőmérséklet és a sütések száma. A használt sütőolaj újra felhasználási számának és hőmérsékletének növekedése következtében növekszik a benne lévő polimerek mennyisége is (Choe és Min, 2007). A sütés-főzés alkalmával visszamaradt olaj mennyiségének csak egy részét hasznosítják újra, a többi hasznosítatlan olaj hulladékká válik, melynek

környezetszennyező hatása is lehet. A begyűjtött használt olajból biodízelt tudnak előállítani, viszont a biodízeltermelésben elért fejlődés még nem olyan szintű, hogy az előállítási költsége alacsonyabb legyen, mint a gázolajé, ezért a biodízel további elterjedése gátolva van (Bereczky és Török, 2009). Korábbi kutatások eredménye alapján a használt sütőolajat, mint szénforrást is fel lehet használni lipáz, eritrit és szerves savak termeltetésére *Y. lipolytica* törzs jelenlétében (Liu és munkatársai, 2017; Mitrea és munkatársai, 2022).

### 3.5 Pelleték

Az olajpogácsák, avagy pelleték a növényi részekből történő olajkivonás után keletkező melléktermékek. A kétféle típust különböztetünk meg, vannak a fogyasztásra alkalmasak és amelyeket nem lehet elfogyasztani. Az összetételük a természetben előforduló állapotától, a növény fajtájától és az extrakciós módszertől függ. A nem fogyasztható pelleték tápértéke alacsonyabb, mint a fogyasztható olajpogácsáknak, mivelhogy 15-30% fehérjetartalommal rendelkeznek és ezért alkalmasak állati takarmányként, különösen a kérődzők és a halak számára. A pelleték felhasználhatók még műtrágyaként a talaj kapacitásának és tápanyagtartalmának javítására is. Az olajpogácsáknak a fehérje mellett nagy a rost- és az energiaszintje is. Előnyei közé tartozik, hogy szelektív biofeldolgozási technológia során szubsztrátumként való alkalmazásával elő lehet állítani szerves biomolekulákat. Ezenfelül felhasználják ipari enzimek, antibiotikumok, biopeszticidek, vitaminok és egyéb biokémiai anyagok gyártásához (Ramachandran és munkatársai, 2007; Anand és munkatársai, 2022).

## 4 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

### 4.1 Anyagok

#### 4.1.1 A kísérletekhez felhasznált *Yarrowia* törzsek

Az alábbi *Yarrowia* törzsek lipáz termelését vizsgáltam a kísérleteim során:

- *Yarrowia lipolytica* 854/4 törzs, darált húsból izolált
- *Yarrowia yakushimensis* NCAIM Y.02052 törzs, *Hodotermopsis sjostedti* rovarból izolált Nagy (2015) által.

A törzsek a Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményéből (NCAIM) kerültek beszerzésre.

#### 4.2.1 Alkalmazott növényi szubsztrátumok

Szubmerz fermentáció során 9 különböző növényi olaj - olívaolaj, kókuszolaj, dióolaj, szőlőmagolaj, szezámolaj, napraforgóolaj, kukoricaolaj, használt sütő olaj és repceolaj -, valamint 5 pellet – tökmag (4.ábra), kendermag (5.ábra), aranylenmag (6.ábra), mogoró (7.ábra), napraforgómag (8.ábra) - lipáz termelését vizsgáltam meg. Mivel a pelletek szilárd, tömör formában voltak jelen, ezért mielőtt hozzáadtam volna őket a tápközeghez előtte egy mozsár segítségével por állagúra törtem.

#### 4. ábra: Tökmag pellet

(Forrás: saját munka)



**5. ábra:** Kendermag pellet

(Forrás: saját munka)



**6. ábra:** Aranylenmag pellet

(Forrás: saját munka)



**7. ábra:** Mogyoró pellet

(Forrás: saját munka)



**8. ábra:** Napraforgómag pellet

(Forrás: saját munka)



## 4.2.2 Felhasznált tápközegek

### Élesztőkivonat-pepton-glükóz agar (YEPD)

A kutató munkám kezdetén a *Y. lipolytica* és *Y. yakushimensis* átoltására és felszaporítására Élesztőkivonat-Pepton-Glükóz ferdeagart alkalmaztam, melynek az összetételét a 2 táblázat írja le.

#### 2. táblázat: YEPD ferdeagar

| Agar | Glükóz | Pepton | Élesztőkivonat | Desztillált víz |
|------|--------|--------|----------------|-----------------|
| 25 g | 20 g   | 10 g   | 5 g            | 1000 ml         |

### Inokulum tápközegek

Az inokulum tápközegek összetételét a 3 táblázatban mutatom be.

#### 3. táblázat: Inokulum tápközegek

| Glükóz | Pepton<br>(Hús) | Élesztőkivonat | Desztillált víz |
|--------|-----------------|----------------|-----------------|
| 20 g   | 20 g            | 10 g           | 1000 ml         |

### Fermentációs tápközegek

A lipáz termelésre irányuló fermentáció során YEPD táplevest használtam (4. táblázat), melynél 1 %-os koncentrációban természetes szubsztrátum, illetve 0,5g/l mennyiségben Tween 80 kiegészítést is alkalmaztam.

#### 4. táblázat: Fermentációs tápközegek

| Glükóz | Pepton<br>(Hús) | Élesztőkivonat | Természetes<br>szubsztrátum | Tween 80 | Desztillált<br>víz |
|--------|-----------------|----------------|-----------------------------|----------|--------------------|
| 20 g   | 6,4 g           | 10 g           | 10 ml                       | 0,5 g    | 1000 ml            |

## 4.2.3 Az enzimaktivitás méréshez használt oldatok

### Szubsztrátum:

25 mM-os para-nitrofenil-laurát szubsztrátumot alkalmaztam, melyet 96 %-os etanolban oldottam fel. A mérések során mindig frissen készítettem el a szubsztrátumot.

### **Sörensen puffer:**

A kísérleteim során a 7,2-es pH-jú puffert használtam, melyet m/15  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (11,876 g/l) és m/15  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (9,078 g/l) oldatok megfelelő arányú összemérésével készítettem el. 100 ml pH 7,2 pufferhez dinátrium-hidrogén-foszfát oldatból 72,6 ml-t és kálium-dihidrogén-foszfát oldatból 27,4 ml-t mértem össze.

### **Leállító reagens:**

0,1 N nátrium-karbonát oldatot alkalmaztam az enzim reakció leállításához, melyhez 2,65 g nátrium-karbonátot ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) oldottam fel 500 ml desztillált vízben.

#### **4.2.4 Felhasznált eszközök**

- Rázógép
- Eppendorf centrifuga
- Spektrofotométer
- pH mérő
- Vízfürdő
- Steril lamináris fülke
- Mozsár
- Analitikai mérleg
- Egyéb laboratóriumi eszközök pl.: eppendorf csövek, kémcsövek, Erlenmeyer-lombikok, oltókacs, pipetták, főzőpoharak, mérőhengerek, vortex keverő stb.

### **4.3 Módszerek**

#### **4.3.1 Enzim fermentáció**

Az inokulum tenyészetek elkészítése során a 3. táblázatban szereplő tápközeg összetételt alkalmaztam, majd sterilizálás után a ferdeagaron előzőleg felszaporított friss törzsekkel beoltottam azt. A lipáz fermentációkat 24 órás inokulum tenyészetekkel indítottam el 150 ml térfogatban, s 27 °C-on 160 rpm-re beállított rázógéppel végeztem el. A beoltás során Perez (2023) munkásságát vettem alapul, miszerint mindkét *Yarrowia* törzs esetében  $5 \cdot 10^6$  sejt/ml koncentrációjú inokulum esetén volt a legjobb a lipáz aktivitás.

### 4.3.2 Optikai denzitás mérése

Az optikai denzitást (OD) a fermentáció során történő szaporodás megfigyelése végett mértem. A minták abszorbanciáját 600 nm-en spektrofotométer segítségével határoztam meg, ha 0,7-nél nagyobb volt az abszorbancia, akkor hígítani kellett a mintát. A spektrofotométer nullázása során desztillált vizet használtam.

### 4.3.3 pH mérése

A minták pH értékének megállapítására üvegelektrodát alkalmaztam, s a mérést elektromos pH mérő segítségével hajtottam végre. A pH mérőt mérés előtt kalibrálni szükséges, a kalibrálást pH 2 és pH 9 kalibráló oldatok felhasználásával végeztem.

### 4.3.4 Lipáz enzim aktivitásának mérése

Az extracelluláris lipáz aktivitás meghatározásához spektrofotometriás módszert alkalmaztam, mely során 25 mM-os para-nitrofenil-laurát szubsztrátumból felszabadult p-nitrofenol mennyiségi meghatározása történt 405 nm-en. A mintákat meghatározott időközönként vettem le, ezt követően 1-1 ml-t eppendorf centrifuga csőbe helyeztem és 10000 fordulat/perc fordulatszámmal 10 percen keresztül 4 °C-on centrifugáltam. Ennek köszönhetően elválasztásra került a folyadék fázis (felülúszó) és a szilárd fázis. A felülúszót használtam fel az aktivitás méréshez, melyet szükség szerint hígítottam. Minden minta esetében két párhuzamos mérést hajtottam végre. Az enzimaktivitás meghatározásához szükséges reakcióelegyeket az 5. táblázat szerint mértem össze. A reakcióelegyek összemérését követően a kémcsöveket néhány percre előinkubáltam 37 °C-os vízfürdőben. Az előinkubációs idő elteltével 25 µl megfelelően hígított mintát pipettáztam a kémcsövekbe, ezzel indítottam el a reakciót. Miután letelt a 10 perces reakcióidő hozzáadtam 250 µl 0,1 n Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> leállító reagenst az elegyhez. Ezt követően centrifugáltam a mintákat az előzőekben leírt paraméterek szerint, majd megmértem azok abszorbanciáját 405 nm-en.

**5. táblázat:** Az enzimaktivitás méréséhez szükséges reakcióelegyek

|                 | <b>Desztillált víz</b><br><b>(µl)</b> | <b>Szubsztrátum</b><br><b>(µl)</b> | <b>Enzimoldat</b><br><b>(µl)</b> | <b>Puffer</b><br><b>(µl)</b> |
|-----------------|---------------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|------------------------------|
| Műszervak       | 125                                   | -                                  | -                                | 725                          |
| Szubsztrátumvak | 25                                    | 100                                | -                                | 725                          |
| Enzimvak        | 100                                   | -                                  | 25                               | 725                          |
| Minta           | -                                     | 100                                | 25                               | 725                          |

A lipáz enzimaktivitásának kiszámolásához az alábbi egyenletet használtam:

$$\text{Lipáz aktivitás} = \frac{(A_{\text{minta}} - A_{\text{enzimvak}} - A_{\text{szubsztrátumvak}})}{11,561 * \text{reakcióidő}} * \text{hígítás (U/l)}$$

Sipiczki (2019) kutatása során végzett kalibráció meredekségét használtam fel a lipáz aktivitás kiszámolása során.

Lipáz aktivitás egység: az az enzim mennyiség, amely a szubsztrátumból 1  $\mu\text{mol}$  p-nitrofenolt szabadít fel egy perc alatt az adott reakció körülmények között.

PALLA HENRIETTA - SZAKDOLGOZAT

## 5. KÍSÉRLETI EREMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

### 5.1 Természetes eredetű szubsztrátumok szkrínelése lipáz enzim termelésére

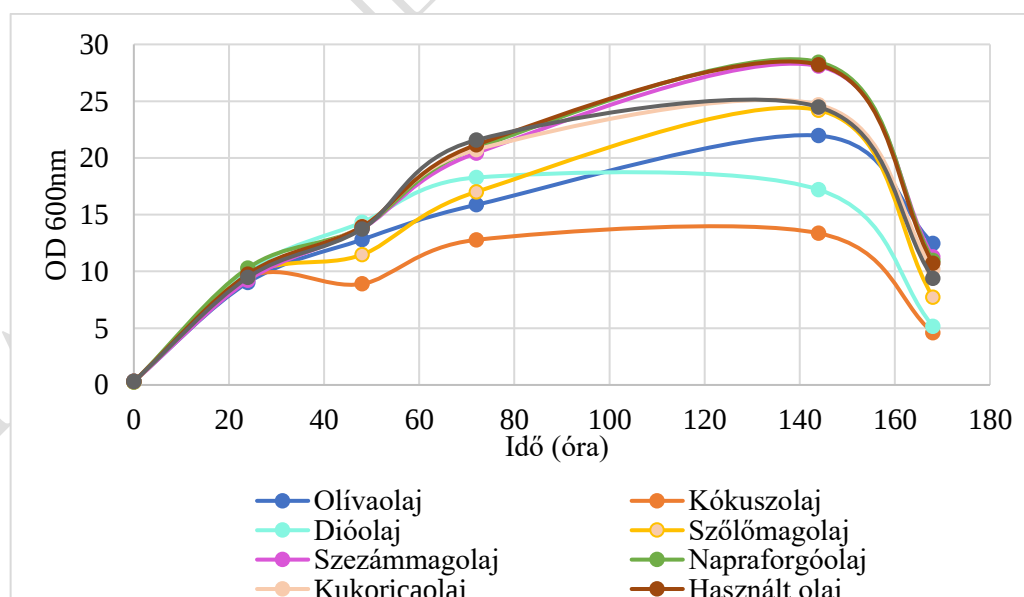
A kutatómunkám során szkrínelést hajtottam végre, mely során 14 db növényi eredetű szubsztrátumot hasonlítottam össze lipáz enzim termelés szempontjából. A növényi olajok közül az olívaolaj, kókuszolaj, dióolaj, szőlőmagolaj, szezámolaj, napraforgóolaj, kukoricaolaj, használt sütőolaj és a repceolaj indukáló hatását vizsgáltam. A növényi olajok, mellett 5 féle pellettel- tökmag, aranylenmag, napraforgómag, mogyoró és kendermag- is elvégeztem a kísérleteket. A méréseket két *Yarrowia* élesztővel, a *Y. lipolytica* 854/4-es törzzsel és a *Y. yakushimensis* NCAIM Y.02052 törzzsel hajtottam végre. A kísérletet 150-150 ml fermentációs tápközeg 24 órás inokulum tenyészetekkel való beoltásával indítottam el. A fermentáció 7 napon keresztül zajlott és naponta vettem mintát. A minták esetében a lipáz aktivitás mellett, figyelemmel követtem a pH, illetve az optikai denzitás változását is.

#### 5.1.1 Növényi eredetű olajok, mint szubsztrátumok alkalmazása

##### 5.1.1.1 *Yarrowia lipolytica*

A *Y. lipolytica* törzs optikai denzitás értékei (9. ábra) alapján megállapítható, hogy minden vizsgált növényi olaj esetében történt megfelelő mértékű szaporodás a fermentáció során.

**9. ábra:** *Y. lipolytica* törzs szaporodásának alakulása optikai denzitás alapján növényi olaj szubsztrátumok esetén  
(Forrás: saját munka)

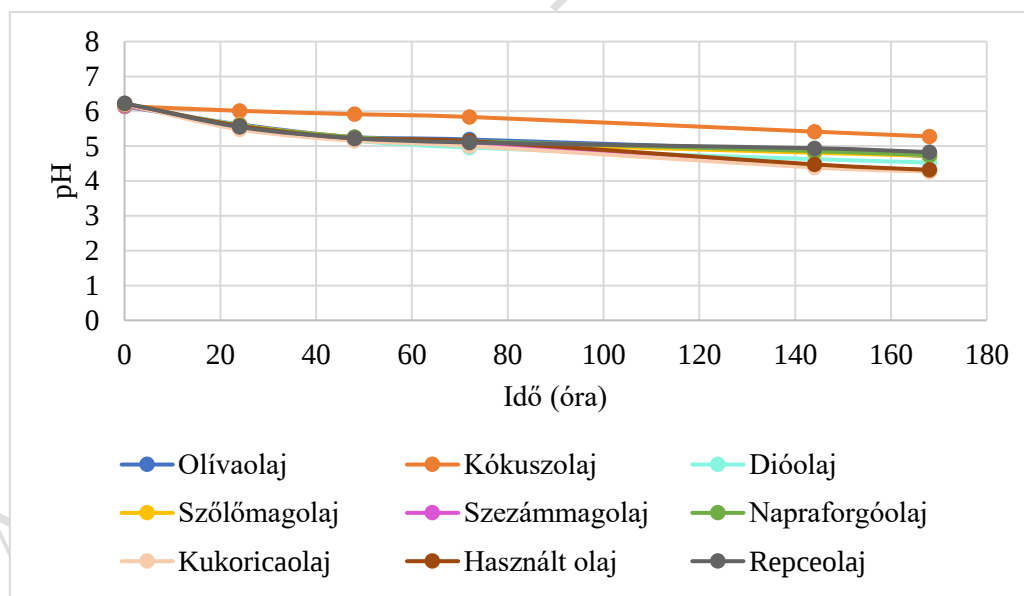


Látható, hogy az exponenciális szakasz 72 óráig tartott (kivéve a kókuszolaj minta esetében, ahol 48 óráig), ezt követően a szaporodás mértéke csökkent, majd a 144. órát

követően hanyatló fázisba lépett. A legnagyobb OD 600 értéket a szezámagolajnál (28,08), a használt olajnál (28,2) és a napraforgóolajnál (28,44) kaptam. A használt étolaj is napraforgóolaj volt, elmondható, hogy a sütés előtti és utáni értékek igen hasonlóan alakultak. Mindhárom olajra jellemző a nagy telítetlen zsírsav koncentráció, főként linolsavat és olajsavat tartalmaznak, mely kedvezőnek látszik az élesztő szaporodásának. A legkevésbé jó induktornak a kókuszolaj bizonyult, hisz ezen a tápközegen szaporodott legkisebb mértékben az élesztő.

A minták pH értékeinek változását a 10. ábra szemlélteti. Az eredmények alapján érzékelhető a pH csökkenése mindegyik olajat tartalmazó tápközeg esetében. A kezdeti semlegeshez közelítő pH értékek az enzimermentáció utolsó napjára 4,27 – 5,28 közötti pH értékekre változtak. A legtöbb görbe lefutása szinte azonos, minimális eltérés van csak az értékek között, kivételt képez ez alól a kókuszolaj. A legkisebb mértékben ezen olaj pH értéke csökkent, ugyanis 6,16 értékről mindössze 5,28-ra redukálódott, ahogy a szaporodás is ezen közeg esetén volt a leggyengébb. A legnagyobb mértékű változást a kukoricaolaj esetében figyeltem meg, e szubsztrátumnál mértem a legalacsonyabb pH értéket (4,27) az utolsó napon.

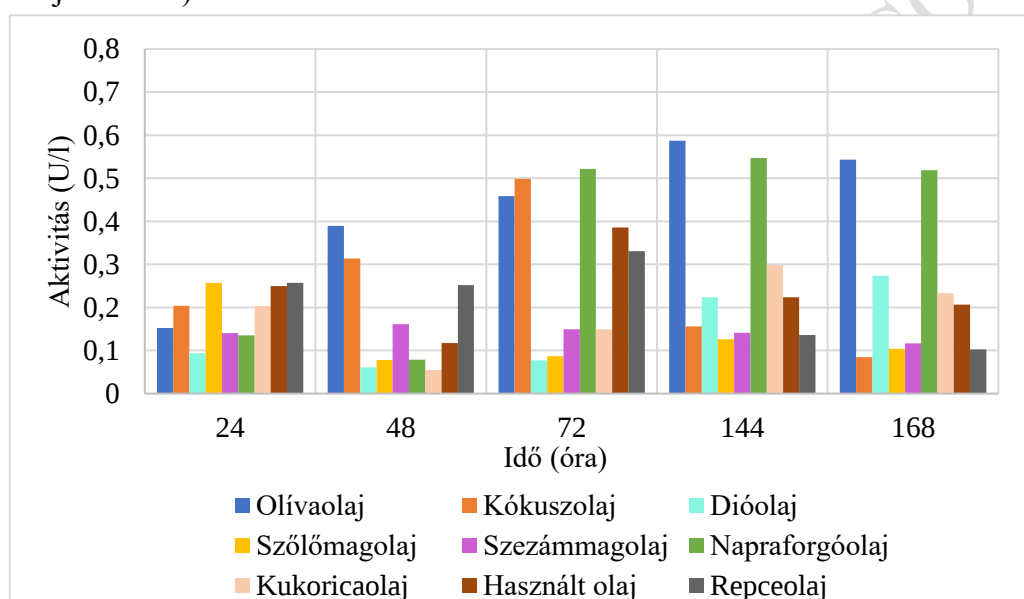
**10. ábra:** Növényi olaj tartalmú tápközégek pH-jának változása *Y. lipolytica* élesztő alkalmazása során  
(Forrás: saját munka)



A lipáz aktivitás mérés eredményei a 11. ábrán láthatóak. Az összes alkalmazott szubsztrátumon volt lipáz enzim termelés, azonban az egyes olajok esetében eltérő mértékű. Az értékek alapján a legjobb induktornak az olívaolaj bizonyult, ugyanis ezen olaj esetében 0,58 U/l aktivitás értéket detektáltam a 144. órában. E szubsztrátum mellett a napraforgóolajat tartalmazó tápközeg aktivitás értéke volt még kimagasló 0,54 U/l, melyet szintén a 144. órában

mértem. Az egyik legjobb szaporodást szezámagolajon tapasztaltam, azonban a lipáz termelést illetően elmondható, hogy a legkevésbé hatékony induktornak mutatkozott, s a legnagyobb aktivitás érték mindössze 0,16 U/l volt a 48. órában e növényi olaj alkalmazása mellett. Érdeemes kiemelni a használt sütőolajat is, mint ígéretes szubsztrátum, igaz korántsem a leghatékonyabb induktor, viszont számos növényi olajnál (szőlőmag, szezám, dió, kukorica, repce) jobbnak bizonyult, és a beszerzési költsége a töredéke a többi növényi eredetű olajénak.

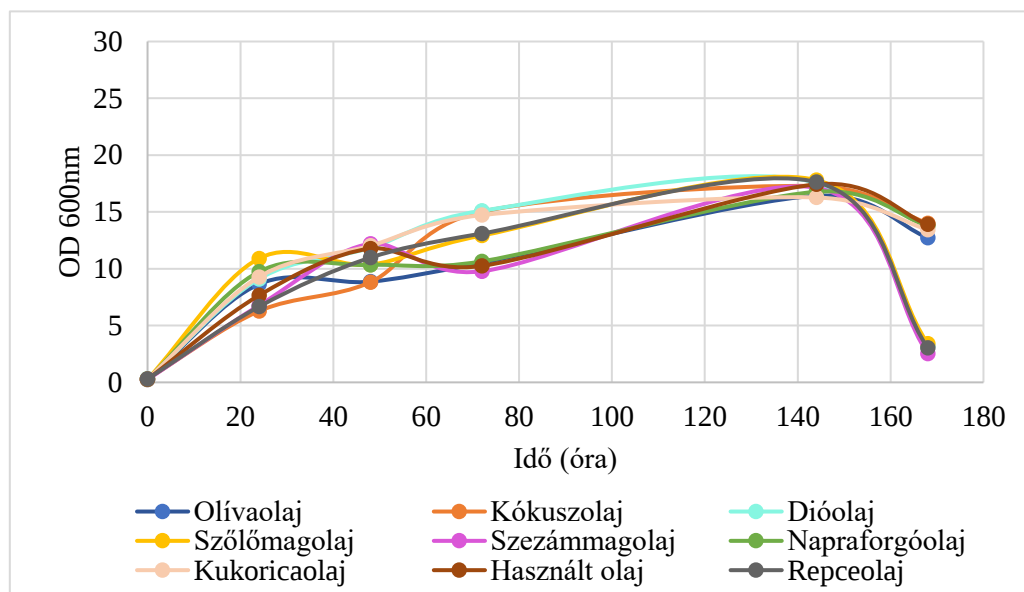
**11. ábra:** *Y. lipolytica* élesztőgomba lipáz aktivitásának alakulása az idő függvényében növényi olaj szubsztrátumok alkalmazása mellett  
(Forrás: saját munka)



#### 5.1.1.2 *Yarrowia yakushimensis*

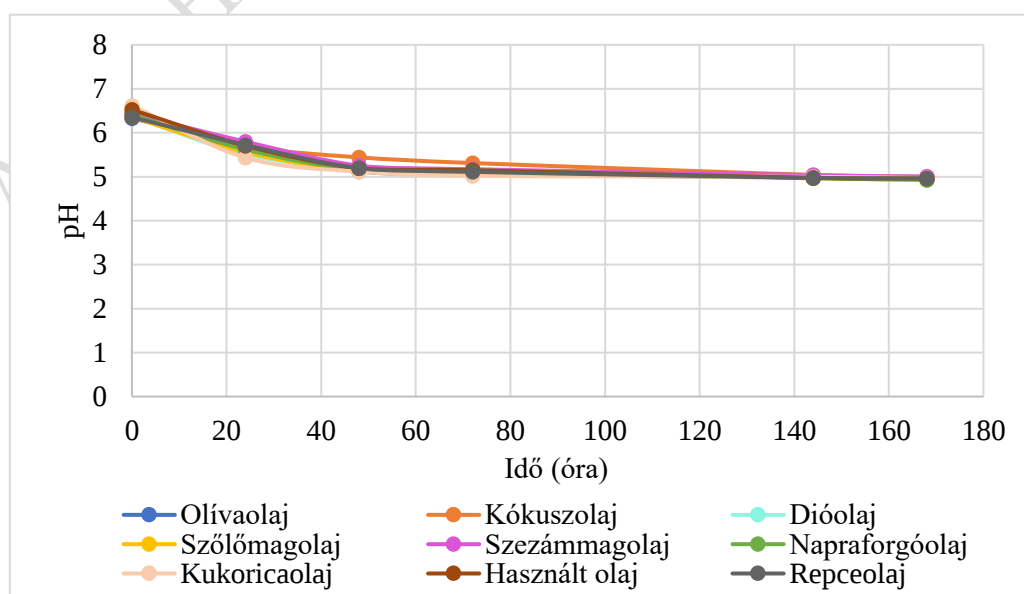
A *Y. yakushimensis* törzs esetében, szintén megfigyelhető volt szaporodás a szubmerz fermentáció alatt, mindegyik növényi olaj alkalmazása mellett (12. ábra). Az összes szubsztrátumon a 144. órában detektáltam a maximális szaporodási értékeket. Az exponenciális szakasz több esetben a 48. óráig tart, ezt követően csökken a szaporodás mértéke. Kivételt képez ez alól a szőlőmagolaj, a napraforgóolaj, valamint az olívaolaj, ugyanis e három növényi szubsztrátumnál megfigyelhető, hogy már 24 órát követően a szaporodás lassul és a 144 óra után már a pusztulási szakasz áll fent. A szaporodási folyamat hasonlóan alakult a *Y. lipolytica*-hoz képest, azonban a maximális értékek eltérnek a két törzsnél. A *Y. lipolytica* esetében a maximális szaporodási értékek, majdnem a kétszeresei voltak a *Y. yakushimensis* értékeinek.

**12. ábra:** *Y. yakushimensis* törzs szaporodásának alakulása optikai densitás alapján növényi olaj szubsztrátumok esetén  
(Forrás: saját munka)



A 13. ábrán látható eredmények alapján pH csökkenés volt megfigyelhető az összes növényi olajat tartalmazó tápközegnél, csakúgy, mint a *Y. lipolytica* élesztő esetében. A görbék lefutása szinte azonos, alig van eltérés az egyes növényi olaj kiegészítést tartalmazó táplevesek pH értékei között. Nagyobb mértékű csökkenés az első 24 órában tapasztalható, a 48. órát követően jóval kisebb a mértéke, inkább stagnálás látható (pH 5 értéken). A végső pH 4,9-5,0 körüli érték volt.

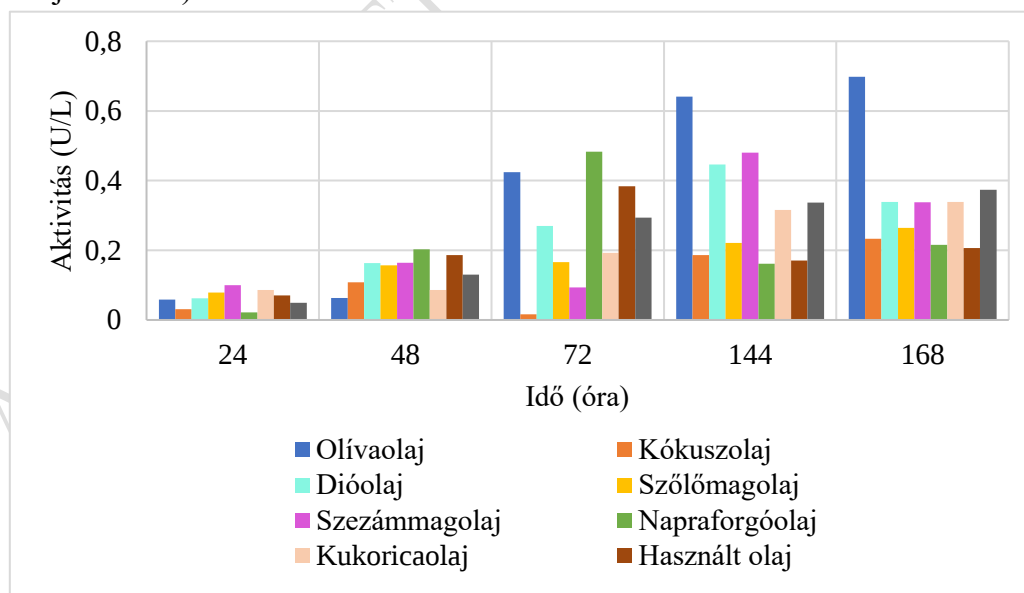
**13. ábra:** Növényi olaj tartalmú tápközegek pH-jának változása *Y. yakushimensis* élesztőgomba alkalmazása során  
(Forrás: saját munka)



A *Y. lipolytica* esetében a kókuszolaj kivételével az összes növényi olajat tartalmazó tápközeg utolsó napon mért pH értéke alacsonyabb volt, mint ezen élesztőnél.

A *Y. yakushimensis* lipáz aktivitás értékei a 14. ábrán láthatóak. Ezen élesztő esetében is, csak úgy, mint a *Y. lipolytica*-nál az olívaolaj minősült a legjobb induktornak, a maximális aktivitás érték megközelítőleg 0,7 U/l volt, melyet a fermentáció utolsó napján mértem. Ez az érték meghaladja a másik alkalmazott *Yarrowia* törzs e szubsztrátumon mért maximum értékét (0,58 U/l). E növényi olaj mellett számottevő indukáló hatással bírt a napraforgóolaj, hasonlóképpen, mint a *Y. lipolytica*-nál, habár a 72. órában mért maximum értéke (0,48 U/l) nem érte el a másik élesztő ezen szubsztrátumon mért legmagasabb aktivitás értékét (0,55 U/l). A szezámogolaj kiegészítést tartalmazó táplevesen a 144. órában mért maximális aktivitás megegyezik a napraforgóolajával, melyet a 3. napon mértem. A legkevésbé hatékony induktor szubsztrátum a kókuszolaj volt, ennél a növényi olajnál a maximum lipáz aktivitás érték mindössze 0,23 U/l volt a 168. órában. A használt olajat ezen élesztő esetében is érdemes megemlíteni, hiszen a maximális aktivitás értéke meghaladta a kókuszolajét, szőlőmagolajét, kukoricaolajét és a repceolajét is, tehát náluk jobb induktornak bizonyult, és gazdasági szempontból igen előnyös lenne az alkalmazása.

**14. ábra:** *Y. yakushimensis* élesztőgomba lipáz aktivitásának alakulása az idő függvényében növényi olaj szubsztrátumok alkalmazása mellett  
(Forrás: saját munka)



Darvishi és munkatársai (2009) kutatták a növényi olajok lipáz termelésre vonatkozó hatását *Y. lipolytica* élesztőgomba esetében. Az általuk kiválasztott olajok közül az olívaolaj bizonyult a legjobb szubsztrátumnak, hasonlóan, mint az általam végzett kísérlet során. Egy másik kutatócsoport, Suci és munkatársai (2018) azt vizsgálták, hogy a használt sütőolaj, milyen hatást gyakorol a lipáz termelésre. A vizsgálat során *Bacillus subtilis* baktériumot alkalmaztak, mellyel 84 órás fermentáció során 4,96 U/ml aktivitású lipáz enzimet termeltek. Az általam végzett vizsgálatok is alátámasztják, hogy a használt sütőolaj fermentációját nem érdemes 80 óránál tovább végezni, mivel a maximális lipáz termelést mind a két törzs esetében a fermentáció első felében lehetett detektálni és utána csökkenni kezdett az aktivitás.

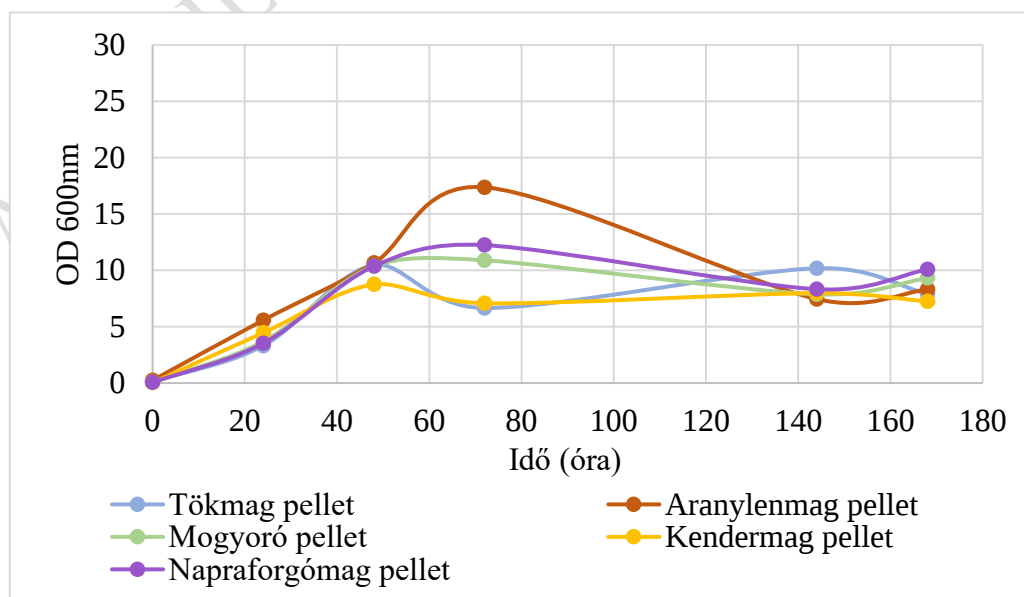
Összességében megállapítható, hogy mind a két törzs esetében a legjobb induktornak az olívaolaj és a napraforgóolaj bizonyult, illetve, míg az olívaolaj szubsztrátumnál a *Y. yakushimesis* élesztő, addig a napraforgóolajnál a *Y. lipolytica* esetén mértem nagyobb lipáz aktivitást.

## 5.1.2 Pelletek, mint természetes szubsztrátumok alkalmazása

### 5.1.2.1 *Yarrowia lipolytica*

A pelletek vizsgálata során mért optikai denzitás értékeket tekintve (15. ábra) megállapítható, hogy a *Y. lipolytica* törzs minden használt tápközegben szaporodott a fermentáció folyamán. A legnagyobb OD értéket az aranylenmag alkalmazása mellett mértem, 17,37-et a 72.órában.

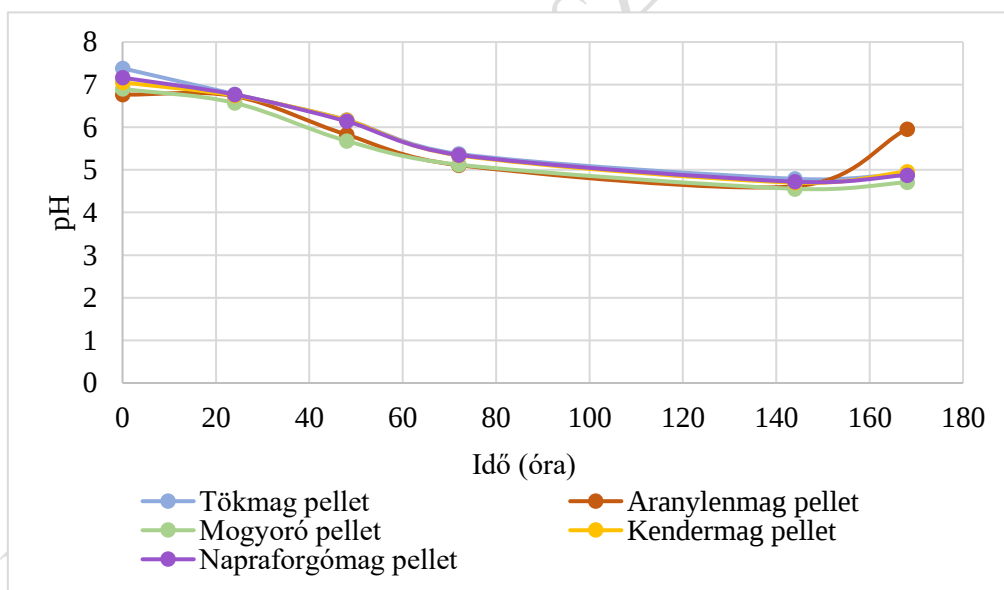
**15. ábra:** *Y. lipolytica* törzs szaporodásának alakulása optikai denzitás alapján olajpogácsa szubsztrátumok esetén  
(Forrás: saját munka)



A napraforgó és a mogyoró szubsztrátumok alkalmazása során is viszonylag nagy sejtszaporulat volt detektálható, OD 12,2, illetve 10,9 értékekkel. A *Y. lipolytica* szaporodásának exponenciális szakasza 0. és a 48. közötti időintervallumban volt szinte minden szubsztrátum esetében, kivételt képez ez alól az aranylenmag, ahol ez a szakasz kitartott egészen a 72. óráig. Ezt követően hanyatló fázis volt tapasztalható a legtöbb táplevesnél, kivéve a tökmagot és kendermagot tartalmazó tápközegeknél, ahol a tökmag esetében növekedés volt látható, míg a kendermagos mintánál az eredmények stagnáltak.

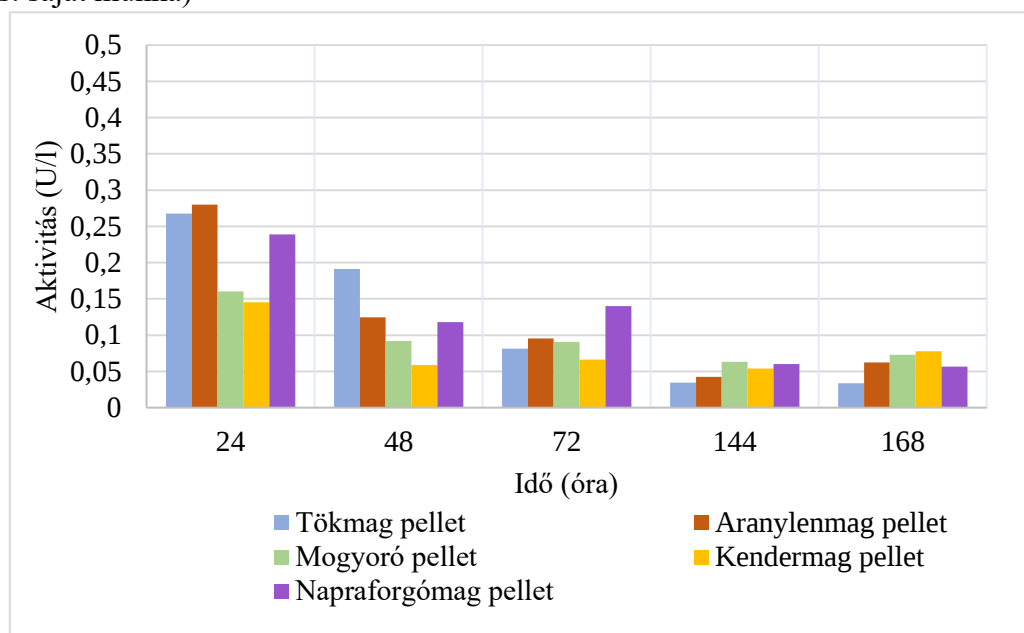
A fermentáció során mért pH értékeket a 16. ábra szemlélteti. Látható, hogy az idő előrehaladtával a pH szinte folyamatosan csökkent. Az egyes szubsztrátumok esetében érdemi különbség nem tapasztalható a pH értékek alakulásában. A fermentáció kezdetén semleges közeli, 7-es pH volt mérhető, majd a folyamat befejeztével, majdnem az összes minta pH 4,7 – 4,9 értékre csökkent le, amely azt mutatja, hogy enyhén savas közeg alakult ki.

**16. ábra:** Pelleteket tartalmazó tápközegek pH-jának változása *Y. lipolytica* élesztő alkalmazása során  
(Forrás: saját munka)



A *Y. lipolytica* élesztő lipáz aktivitás értékei a 17. ábrán láthatóak. Az összes tápközegnél a maximális lipáz aktivitást a 24. órában mértem. Az ezt követő napokon vett minták mérési eredményei alapján csökkenő tendencia figyelhető meg az aktivitásban. Az egyik legnagyobb enzim aktivitást az aranylenmag pelletnél mértem (0,28 U/l), amely alig volt nagyobb, mint tökmag pellet maximuma (0,27 U/l). A pelletek közül a legkevésbé hatékonynak a kendermag mutatkozott 0,15 U/l maximális lipáz aktivitás értékkel.

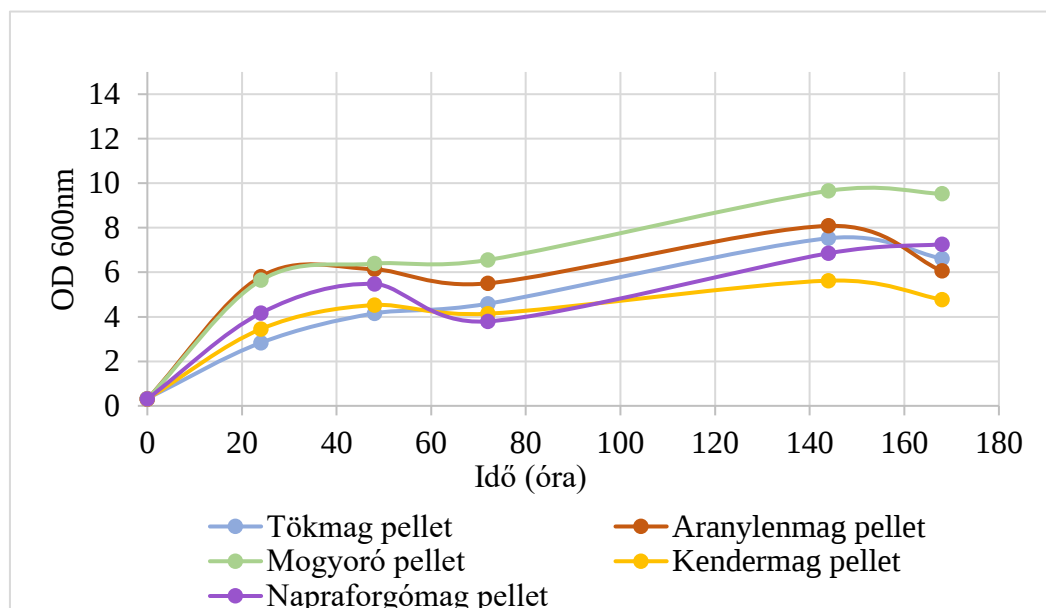
**17. ábra:** *Y. lipolytica* élesztőgomba lipáz aktivitásának alakulása az idő függvényében olajpogácsa szubsztrátumok alkalmazása mellett  
(Forrás: saját munka)



#### 5.1.2.2 *Yarrowia yakushimensis*

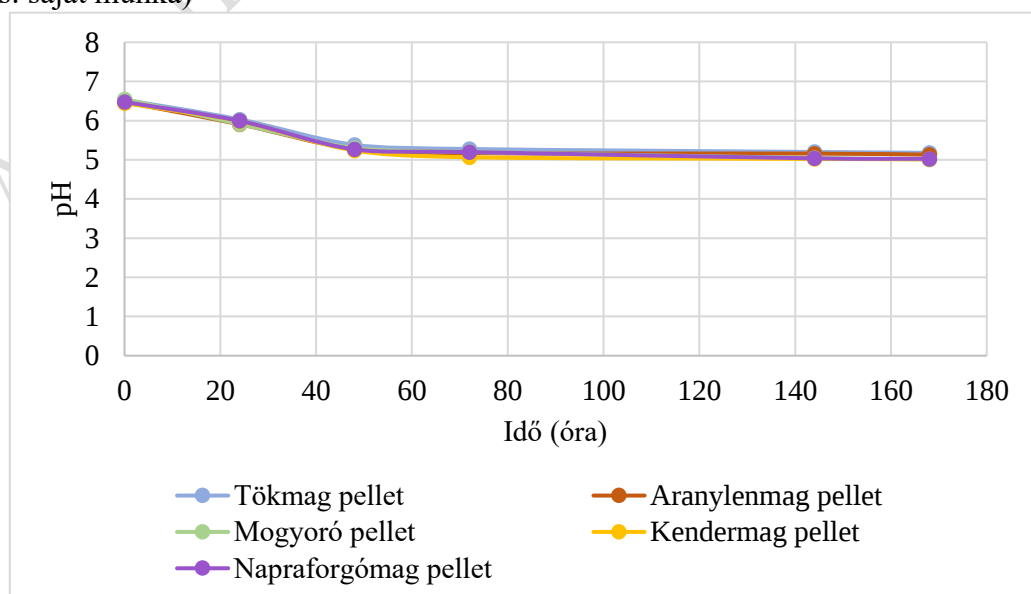
A *Y. yakushimensis* fermentációja során nem mutatkozott olyan szintű szaporodás, mint a *Y. lipolytica* esetében. A legtöbb szubsztrátumon nagyjából a 150. óráig szaporodott az élesztő, utána csökkenés figyelhető meg, kivétel a mogyoró és a napraforgómag pellet esetén. A legjobb szaporodás a mogyoró pelletnél figyelhető meg, amint a 18. ábrán is jól látható, ennél a mintánál mértem a legmagasabb OD értéket is, amely 9,66 volt a 144. órában.

**18. ábra:** *Y. yakushimensis* törzs szaporodásának alakulása optikai denzitás alapján olajpogácsa szubsztrátumok esetén  
(Forrás: saját munka)



A pelletek közül, úgymint a *Y. lipolytica* törzsnél, a kendermagos mintában volt a legkisebb mértékű a szaporodás. A szaporodás követése mellett a pH értékeket is mértem, amelynek a változását a 19. ábrán mutatom be. A különböző pelletet tartalmazó tápközegekben a kezdeti közel semleges kémhatás 2 nap alatt pH 5,2 - 5,4 értékre változott, ezt követően már jelentős csökkenést nem tapasztaltam. A 7 napos fermentáció végén pH 5,0 és 5,2 közötti értékeket lehetett mérni.

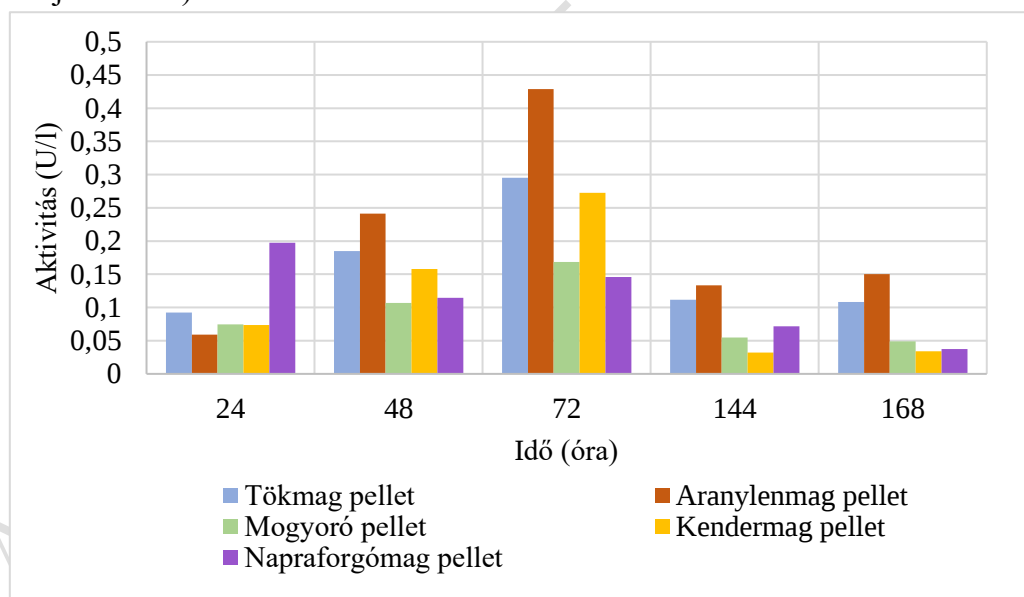
**19. ábra:** Pelletet tartalmazó tápközegek pH-jának változása *Y. yakushimensis* élesztőgomba alkalmazása során  
(Forrás: saját munka)



A *Y. lipolytica*-val ellentétben a *Y. yakushimensis* esetén a lipáz aktivitás maximum értékeit a 72. órában mértem, kivéve a napraforgómag pelletet, ahol a 24. órát követően már nem növekedett a lipáz aktivitás. A 20. ábra alapján szintén az aranylenmag pellet minősült a legjobb induktornak, a maximális lipáz aktivitás ezen szubsztrátumon 0,43 U/l volt, ami majdnem kétszerese a *Y. lipolytica*-nál mért értékhez képest. A második legjobb szubsztrátumnak a tökmag pellet mutatkozott 0,3 U/l enzimaktivitással. A legkevésbé hatékony induktor a mogyoró pellet volt e törzsnél, a legnagyobb lipáz aktivitás 0,17 U/l a 72. órában. A 72. óra után minden szubsztrátum esetén különböző mértékű csökkenés figyelhető meg a lipáz termelésben.

Farias és munkatársai (2014) *Y. lipolytica* élesztő által termelt lipáz előállítását vizsgálták gyapótmag pellet szubsztrátum esetében. 48 órás szilárd szubsztrátumú fermentációt valósítottak meg, s megállapították, hogy a pelletet tartalmazó tápközegben a *Y. lipolytica* képes volt növekedni és lipázt termelni. A fermentáció 28. órájában tapasztaltak nagy mennyiségű enzim aktivitást.

**20. ábra:** *Y. yakushimensis* élesztőgomba lipáz aktivitásának alakulása az idő függvényében olajpogácsa szubsztrátumok alkalmazása mellett  
(Forrás: saját munka)



Több kutatásnál is arra figyeltek fel, hogy az olajpogácsák szubsztrátumként való felhasználásakor a lipáz termelés a fermentáció első felében történik (Kumar és munkatársai, 2012; Szymczak és munkatársai, 2021).

Összességében megállapítható, hogy mind a két törzs esetében a legjobb induktornak az olívaolaj és a napraforgóolaj bizonyult, illetve, míg az olívaolaj szubsztrátumnál a *Y.*

*yakushimesis* élesztő, addig a napraforgóolajnál a *Y. lipolytica* esetén mértem nagyobb lipáz aktivitást. Az olajpogácsákat tekintve az aranylenmag volt a leghatékonyabb. E szubsztrátumok mellett gazdasági szempontból a használt olaj alkalmazásában is rejlik potenciál. Ezen információk birtokában e szubsztrátumokat választottam ki a kutatómunkám folytatásához.

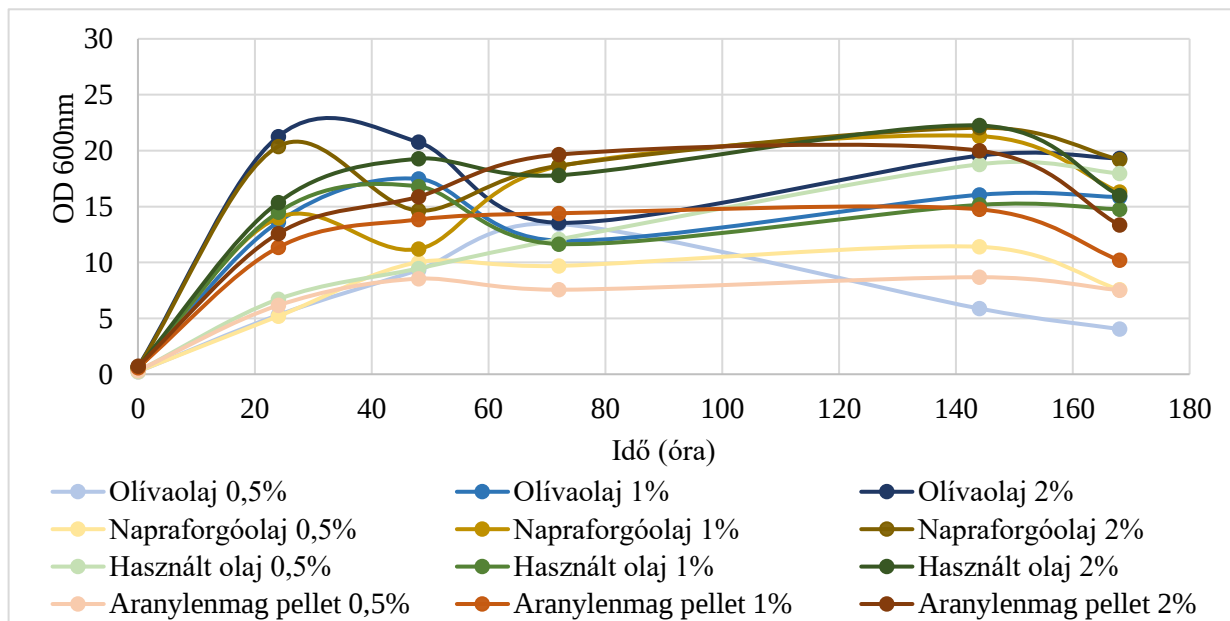
## **5.2 Lipáz termelés optimalizálása a szkrínelés során kiválasztott természetes szubsztrátumokon**

A szkrínélést követően optimalizálást végeztem a legígéretesebbnek talált szubsztrátumok - olívaolaj, napraforgóolaj, használt olaj, aranylenmag pellet -esetében. A kísérletem célja az volt, hogy megállapítsam mely koncentráció fokozza legjobban a *Y. lipolytica* 854/4-es és a *Y. yakushimensis* NCAIM Y.02052 törzsek lipáz enzim aktivitását. Az alábbi koncentrációkat alkalmaztam a szubsztrátumok esetében: 0,5 %, 1 %, és 2 %. A mérés során YEPD tápközeget használtam 0,05%-os Tween 80 kiegészítéssel. A kísérlet során nyomon követtem mind az optikai denzitás, mind a pH időbeni változását, valamint a lipáz aktivitást is. A fermentációk 168 órán át tartottak és napi mintavételezést csináltam.

### **5.2.1 *Yarrowia lipolytica***

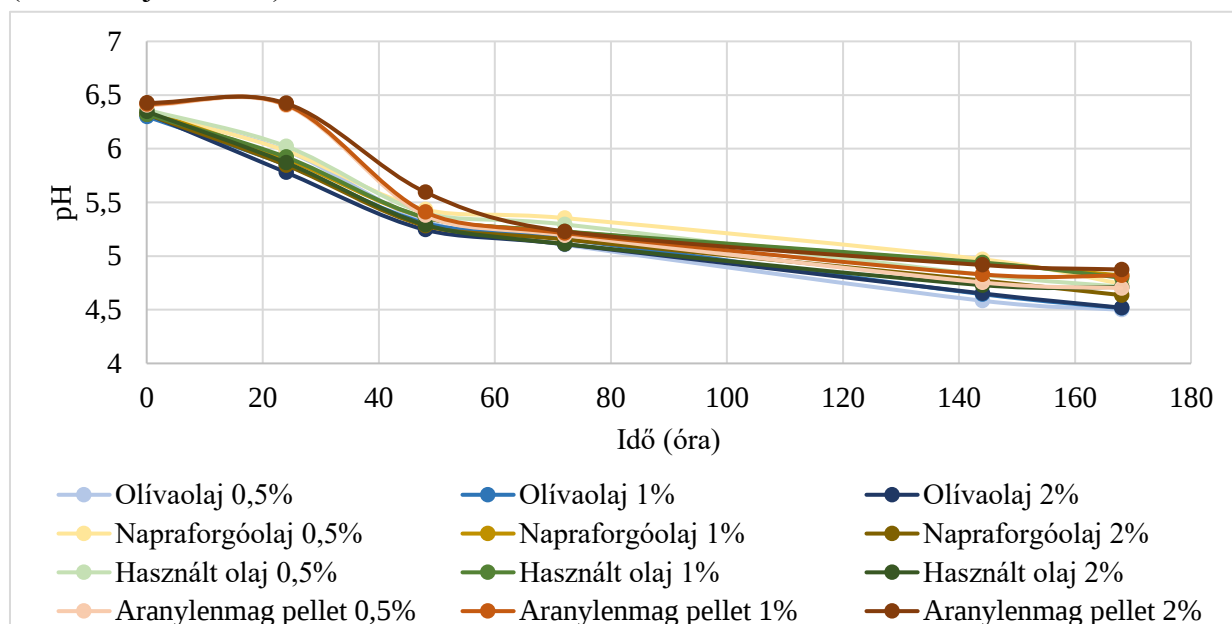
A különböző koncentrációjú növényi eredetű szubsztrátumokban felszaporított *Y. lipolytica* esetén mért optikai denzitás értékeket a 21. ábrán mutatom be. A 168 órás fermentáció alatt megfigyelhető volt, hogy minden szubsztrátumnál a legkisebb koncentráció alkalmazása során szaporodott legkevésbé és a legnagyobb koncentráció esetében a legnagyobb mértékben az élesztő. A 2% használt olajat (OD 22,25), valamint a 2 % napraforgóolajat (OD 22,05) tartalmazó tápközegekben mértem a legnagyobb értékeket a 144. órában. Az eredmények alapján elmondható, hogy a legtöbb beállítás során az exponenciális fázis a 72. óráig lezajlott, ezt követően a szaporodás mértéke visszaesett, majd stacioner fázisba lépett. A legkevésbé hatékonynak a 0,5 % aranylenmag pelletet tartalmazó tápközegek bizonyult, a maximális OD értéke 8,68, amelyet a 144. órában mértem.

**21. ábra:** *Y. lipolytica* szaporodásának alakulása optikai denzitás alapján különböző koncentrációjú növényi eredetű szubsztrátumok esetén  
(Forrás: saját munka)



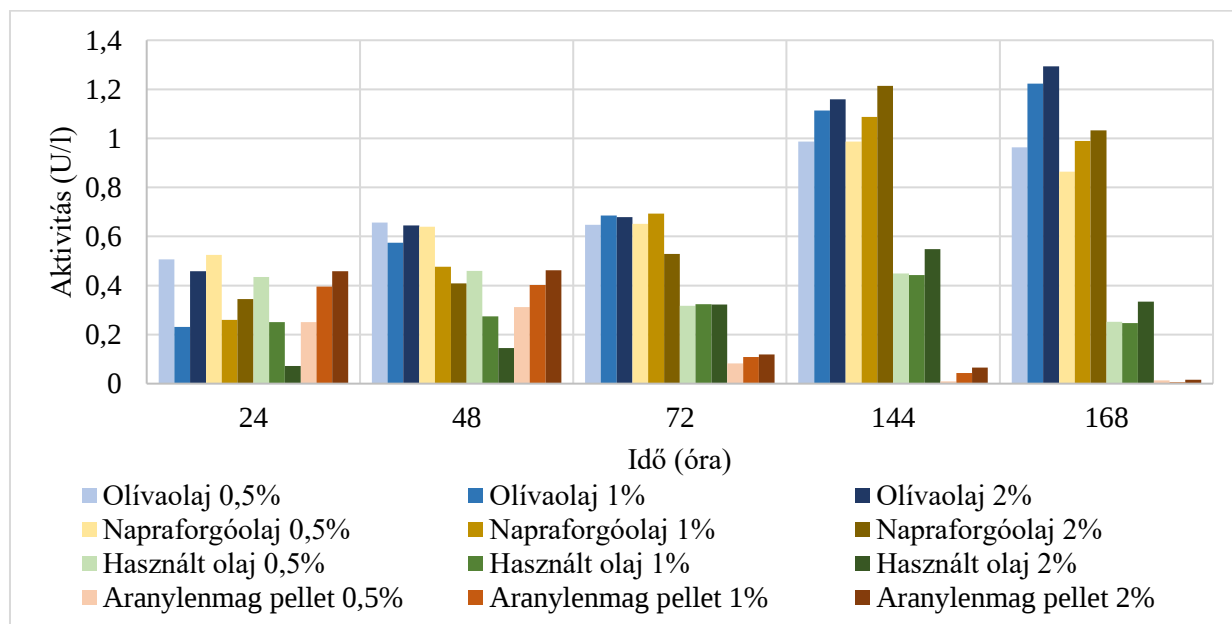
A *Y. lipolytica* élesztőgomba fermentációja során az idő előrehaladtával a pH folyamatosan csökkent minden alkalmazott beállítás során (22. ábra). A legnagyobb mértékű pH változást az első két napon figyeltem meg minden tápközeg esetében. A folyamat alatt a kiindulási semleges közeli pH értékek lecsökkentek 4,5 - 4,8 körülire. Számottevő különbség nem látható az egyes beállítások esetében, a görbék lefutása igen hasonló.

**22. ábra:** Különböző koncentrációjú növényi eredetű szubsztrátumot tartalmazó tápközegek pH-jának változása *Y. lipolytica* élesztő alkalmazása során  
(Forrás: saját munka)



A lipáz aktivitás alakulását a *Y. lipolytica* élesztőtörzs esetében a 23. ábrán mutatom be. Az eredmények alapján megállapítható, hogy a legnagyobb koncentráció alkalmazása mellett volt a legnagyobb enzimaktivitás minden szubsztrátumnál, s a legalacsonyabb pedig a 0,5% alkalmazása során. A legjobb induktor az olívaolaj volt, ugyanis e szubsztrátumnál 1,29 U/l aktivitás értéket detektáltam a 168. órában (2%-os koncentráció esetében). Ezen értékhez igen hasonlót mértem az 1 % olívaolajat (1,22 U/l) valamint a 2 % napraforgóolajat tartalmazó minta (1,21 U/l) esetében is. Azonban míg az 1 % és 2 %- olívaolajat tartalmazó tápközegeknél a 168. órában, addig a 2 % napraforgóolajat tartalmazóknál a 144. órában detektáltam, ennek a fermentációs idő optimalizálása során lehet jelentősége. Az aranylenmagot és a 0,5 % használt olajat tartalmazó mintáknál a maximális lipáz aktivitást már a 48. órában mértem, azonban az értékek jóval elmaradnak a fermentáció során mért maximumhoz képest. A legkevésbé hatékony szubsztrátum az aranylenmag pellet volt, hiszen minden koncentrációnál e szubsztrátum esetében mértem a legalacsonyabb lipáz aktivitást. Ezen olajpogácsa esetében a maximális enzimaktivitás 0,458 U/l volt a 48. órában (2%-os koncentráció alkalmazása mellett).

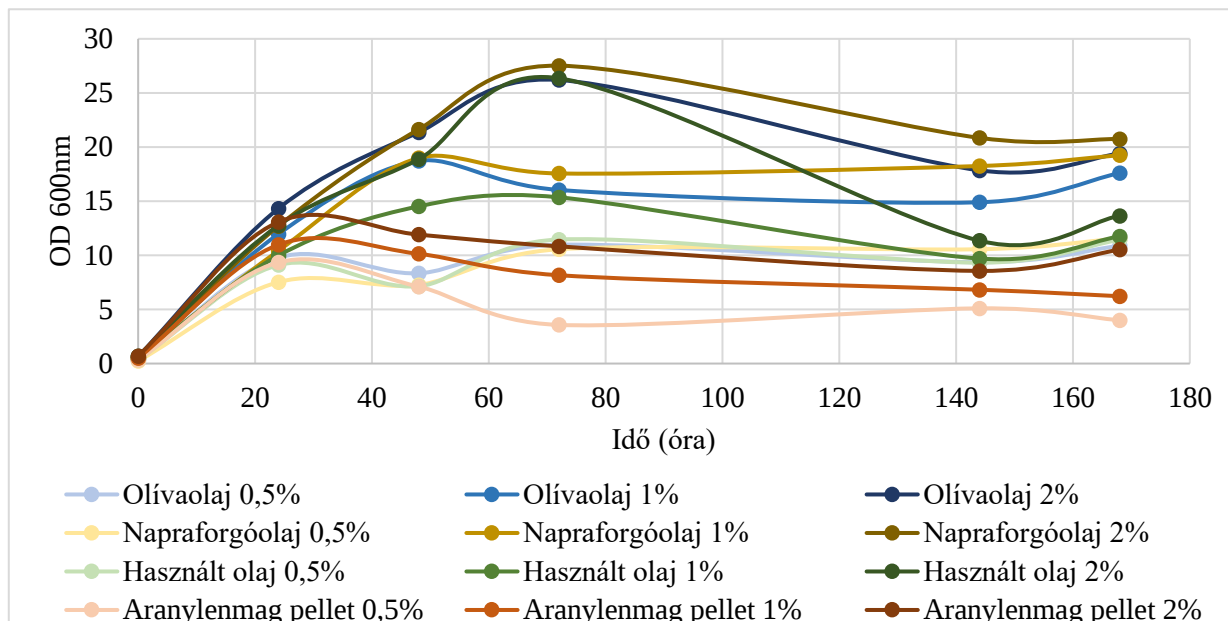
**23. ábra:** *Y. lipolytica* lipáz aktivitásának alakulása az idő függvényében különböző koncentrációjú növényi eredetű szubsztrátumok alkalmazása során  
(Forrás: saját munka)



### 5.2.2 *Yarrowia yakushimensis*

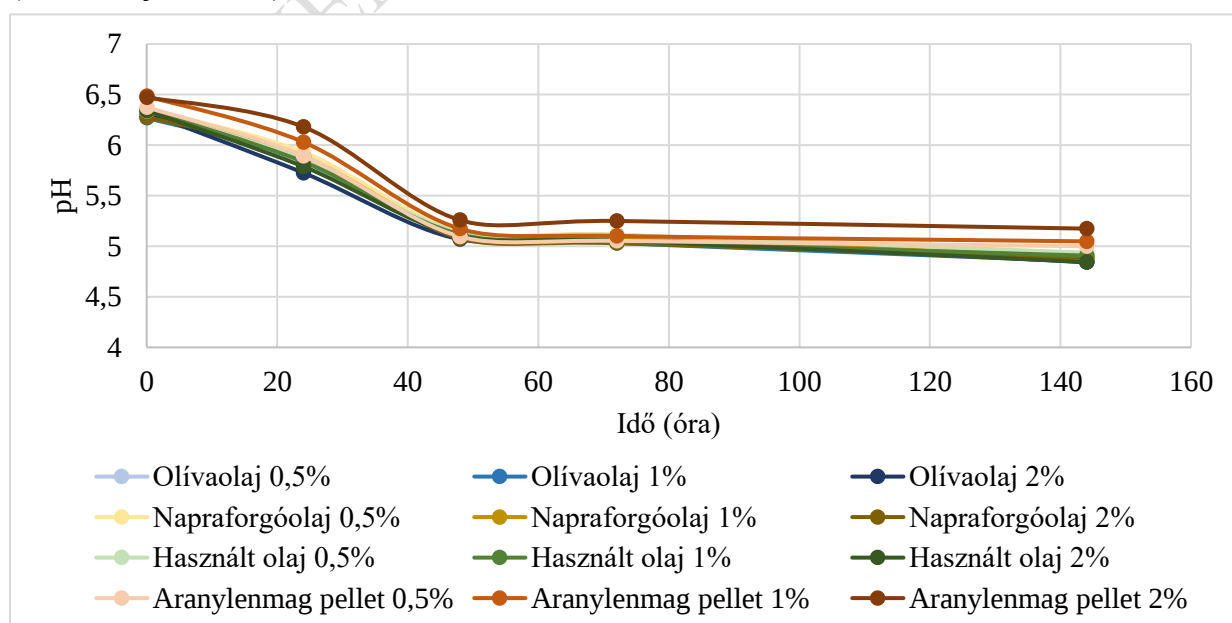
A *Y. yakushimensis* optikai denzitás értékei alapján (24. ábra) csak úgy, mint a *Y. lipolytica*-nál, minden szubsztrátum esetében a legnagyobb koncentrációnál volt a legmagasabb a szaporulat és a legkisebb koncentráció alkalmazása mellett detektáltam a legalacsonyabb OD értékeket. A legjobb szubsztrátumnak a napraforgóolaj bizonyult, 27,52 OD értéket mértem a 72. órában (2% koncentrációnál), viszont hatékonyságban alig marad el az azonos koncentrációban alkalmazott használt olaj, tekintve, hogy a maximális OD értéke 26,36 volt szintén a 72. órában. A legkevésbé hatékony szubsztrátum az aranylenmag pellet volt, csak úgy, mint a másik *Yarrowia* törzs esetében. Az értékeket megfigyelve szinte minden növényi eredetű olaj esetében az exponenciális fázis a 72. óráig lezajlott, s a szaporodás üteme ezt követően csökkent, stacioner fázisba lépett. Az olajpogácsa esetében az exponenciális szakasz a 24. óráig tartott, ezt követően mind a három koncentrációnál az OD értékek további növekedése nem figyelhető meg.

**24. ábra:** *Y. yakushimensis* szaporodásának alakulása optikai denzitás alapján különböző koncentrációjú növényi eredetű szubsztrátumok esetén  
(Forrás: saját munka)



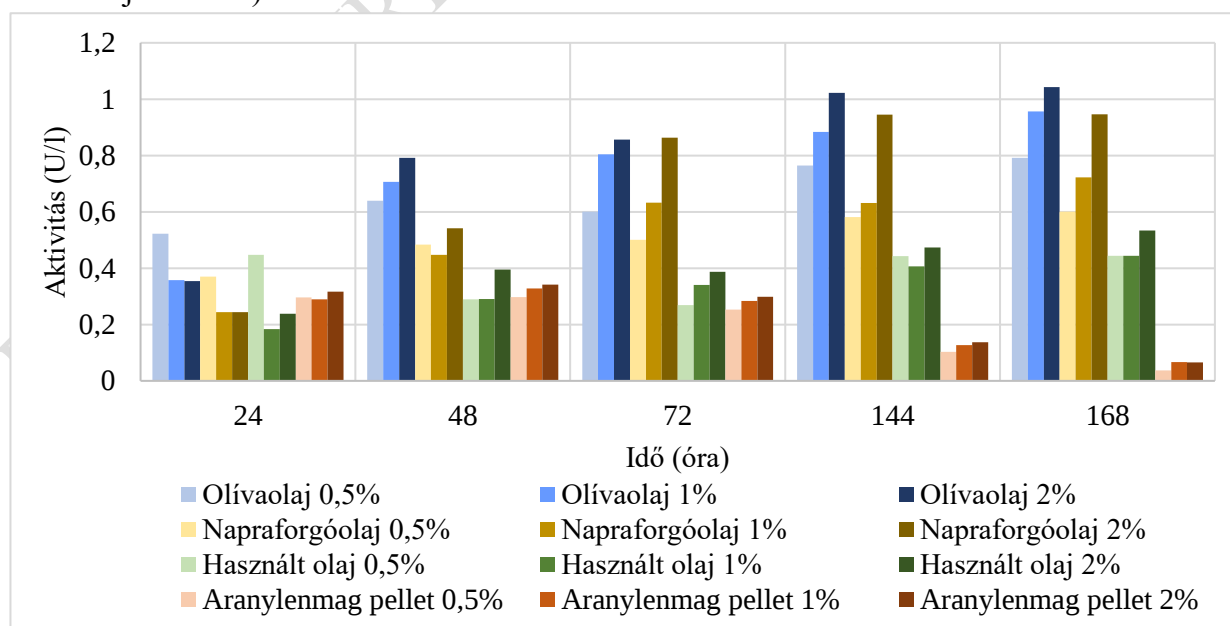
A *Y. yakushimensis* élesztőgomba esetén a tápközegek pH értékeinek változása (25. ábra) nagyon hasonlóan alakult, mint a másik *Yarrowia* élesztőnél. Az ábrán látható, hogy az egyes görbék lefutása szinte azonos, tehát érdembeli különbség nincs az egyes tápközegek pH értékeiben. A kezdeti közel semleges pH értékről lecsökkent 4,7-5,0, a 2% aranylenmag pellet esetén figyelhető meg pH 5 feletti (5,2) érték.

**25. ábra:** Különböző koncentrációjú növényi eredetű szubsztrátumokat tartalmazó tápközegek pH-jának változása *Y. yakushimensis* élesztőgomba alkalmazása során  
(Forrás: saját munka)



A lipáz aktivitás értékeit tekintve a *Y. lipolytica*-hoz hasonlóan ezen élesztőnél is a 2% koncentráció alkalmazása mellett volt a legnagyobb enzimaktivitás minden szubsztrátumnál, s a legkisebb aktivitás értékeit 0,5%-os koncentrációnál mértem. A legjobb induktor az olívaolaj volt hasonlóan, mint a másik törzs esetében. A legnagyobb aktivitás érték 1,04 U/l volt a 168. órában. Ez az érték minimálisan tér el a másik élesztő maximumától (1,29 U/l), melyet szintén a fermentáció utolsó napján mértem, azonos koncentráció esetén. Az élesztő maximumától alig marad el az 1 % olívaolajat (0,95 U/l) és a 2 %- napraforgóolajat tartalmazó táplevesben (0,94 U/l) szintén a 168. órában mért legnagyobb lipáz aktivitás értéke. A használt olajat tartalmazó tápközegek esetében mért maximum enzimaktivitás jóval elmarad a másik két növényi olaj esetében mért maximumoktól. Az aranylenmag pellet koncentrációkat tekintve a 48. órában lehetett mérni a maximális lipáz aktivitásokat. Az aranylenmag pellet esetében mind három koncentrációjánál megfigyeltem, hogy a maximális érték elérést követően az aktivitás csökkenni kezdett, továbbá megállapítható az is, hogy ez a szubsztrátum a legkevésbé hatékony induktor. A legkisebb aktivitás értéket (0,29 U/l) ezen olajpogácsa 0,5 %-os koncentrációban való alkalmazása mellett detektáltam, azonban megemlíteném, hogy érdeklődően nem befolyásolta az enzimtermelést a pellet nagyobb koncentrációban való használata sem, hiszen, 1 %-os kiegészítés mellett 0,33 U/l, a 2 %-os tartalomnál pedig 0,34 U/l volt a legnagyobb lipáz aktivitás.

**26. ábra:** *Y. yakushimensis* lipáz aktivitásának alakulása az idő függvényében különböző koncentrációjú növényi eredetű szubsztrátumok alkalmazása során  
(Forrás: saját munka)



Rajesh és munkatársai 2010-ben a *Trichoderma reesei* lipáz termelésének optimalizálását vizsgálták. A kutatás végeredményeként a lipáz termelésre a legjobb szubsztrátum a 2 %-os olívaolaj bizonyult. A kísérletem során is az támasztható alá, hogy a legnagyobb maximális lipáz aktivitás mind a két törzs esetében a 2 %-os olívaolajnál volt mérhető. Salgado és munkatársai (2020) a *Magnusiomyce capitatus* lipáz termelését vizsgálták meg 1 %-os és 3 %-os koncentrációjú olívaolaj szubsztrátum alkalmazása esetén. A kutatásuk eredményeként a 3 %-os olívaolajos minta mutatott nagyobb lipáz aktivitást, azonban a kísérletük folyamán a 120 órás fermentáció alatt az utolsó mérés során tapasztalták a legnagyobb lipáz termelést. A kutatásom során hasonlóan, mint Salgado és munkatársai (2020) én is a kísérletem végén (168. órában) értem a maximális lipáz aktivitás értéket az olívaolajokat tartalmazó tápközegeket tekintve.

Összességében megállapítható, hogy mind a két törzs esetében a legjobb induktoroknak az olívaolaj bizonyult, akár 1%, akár 2 % koncentrációban alkalmazva, illetve ezen kívül még a 2 %-os napraforgóolaj mutatkozott hatékonynak. A *Y. yakushimesis* és a *Y. lipolytica* élesztőgombák esetében a 2%-os olívaolaj szubsztrátumnál mértem a legnagyobb lipáz aktivitást. A használt olaj ugyan nem mutatkozott a leghatékonyabb induktornak, azonban a koncentrációjának 1%-ról 2%-ra való növelésével, már 20%-os aktivitás emelkedést lehetett elérni. Bár a lipáz aktivitás értékek elmaradnak az olívaolajtól, az optimalizálásával valószínűleg az aktivitása növekedését lehet elérni.

## 6. KÖVETKEZTETÉS ÉS JAVASLATOK

### Következtetések:

- A különböző növényi olajok szkrínelése során a legjobb szubsztrátumnak az olívaolaj és a napraforgóolaj bizonyult, illetve, míg az olívaolaj szubsztrátumnál a *Y. yakushimensis* élesztő, addig a napraforgóolajnál a *Y. lipolytica* esetén mértem nagyobb lipáz aktivitást.
- A használt étolaj fermentációját nem érdemes 84 óránál tovább végezni, mivel a fermentáció 72. órájában lehetett detektálni a maximális lipáz aktivitást. Ezen megállapítást Suci és munkatársai (2018) által végzett kísérlet is alátámasztja.
- A pelleték szkrínelése során is azt tapasztaltam, hogy *Y. lipolytica* esetén már az első napon, míg a *Y. yakushimensis* törzsszel megvalósított fermentáció során – a napraforgómag pellet kivételével - a 3. napon maximális a lipáz aktivitás, majd ezt követően az értékek csökkentek. Faria és munkatársai (2014) által végzett vizsgálat alkalmával is a fermentáció 28. órájában tapasztalták a maximális lipáz aktivitást.
- A szubsztrátum koncentrációjának optimálása során a *Y. lipolytica* és a *Y. yakushimensis* élesztő törzsek lipáz aktivitása a 2 %-os olívaolaj és a 2 %-os napraforgóolaj tartalmú közegben bizonyult a legjobbnak. Rajesh és munkatársai (2010) a *Trichoderma reesei* lipáz termelésének vizsgálata során szintén a 2 % olívaolaj tartalmú közeget találták a legjobb szubsztrátumnak. Salgado és munkatársai (2020) a *Magnusiomyce capitatus* lipáz termelését vizsgálták meg 1 %-os és 3 %-os koncentrációjú olívaolaj szubsztrátum alkalmazása esetén. A kutatásuk során a legmagasabb lipáz aktivitás a fermentációjuk végén (120. óra) volt detektálható, hasonlóan az általam végzett kísérlethez, melynél a 168. órában volt mérhető.

### Javaslatok:

- A *Y. yakushimensis* és a *Y. lipolytica* élesztő lipáz termelése esetében is tovább lehetne vizsgálni a pelleték és az olajok szubsztrátumként való alkalmazását a koncentráció növeléssel.

## 7. ÖSSZEFOGLALÁS

Az iparban elterjedten alkalmazott lipáz enzimek előállítását fermentációs úton, mikroorganizmusok segítségével végzik. Eleinte baktériumok és fonalas gombák által termelt lipázokat alkalmaztak, viszont a tudomány előre haladtával előtérbe kerültek az élesztőgombák is. A *Yarrowia* nemzetség tagjai közül a *Y. lipolytica* az egyik leggyakrabban tanulmányozott faj, jelentős lipolitikus-, valamint proteolitikus aktivitással rendelkezik. Számos iparágban használják ezen tulajdonsága végett. Az élelmiszeriparban például a sajtok érlelési időtartalmának lecsökkentése érdekében, illetve a fermentált élelmiszerek érzékszervi tulajdonságainak a javítására. A *Y. yakushimensis* egy kevésbé ismert faj, hiszen 2013-ban izolálták, ezért nincs annyi szakirodalom róla, ettől függetlenül rejlik benne biotechnológiai potenciál.

A kutató munkám során a *Y. lipolytica* 854/4-es törzs és a *Y. yakushimensis* NCAIM Y.02052 törzs lipáz enzim termelő képességét vizsgáltam meg különböző természetes eredetű növényi olajok és pelletek alkalmazásával szubmerz fermentáció során. Figyelemmel követtem a lipáz aktivitás mellett a pH időbeni változását, illetve az optikai denzitás alakulását, hogy információt kapjak a törzsek szaporodásáról a különböző közegekben.

A növényi eredetű olajok lipáz termelés indukáló hatását vizsgálva megállapítottam, hogy a *Y. lipolytica*-nál az olívaolaj minősült a legjobb induktornak, 0,58 U/l aktivitás értéket detektáltam a 144. órában. E szubsztrátum mellett a napraforgóolajat tartalmazó tápközeg lipáz aktivitása volt még kimagasló 0,54 U/l, mely érték szintén a 144. órában volt mérhető. Kiemelném a használt olajon megvalósított lipáz termelést, mely olaj kedvezőbb szubsztrátumnak bizonyult a kókuszolajnál, a szőlőmagolajnál, a kukoricaolajnál és a repceolajnál. A *Y. lipolytica* esetében a tápközeg kémhatása a kezdeti semlegeshez közelítő pH értékről lecsökkent pH 4,2 – 5,2-re, míg az optikai denzitás értékek terén növekedést figyeltem meg.

A *Y. yakushimensis* élesztőgomba esetében hasonlóan, mint a *Y. lipolytica*-nál az olívaolaj volt a legjobb szubsztrátum, a maximális lipáz aktivitás érték megközelítőleg 0,7 U/l volt és a fermentáció 168. órájában mértem, illetve ennél a törzsnél is a napraforgóolaj bizonyult a második legjobb szubsztrátumnak. A használt olaj kevésbé hatékonynak mutatkozott az olívaolajnál, a napraforgóolajnál, a szezámolajnál és a dióolajnál, ezzel szemben a többi olajnál jobb induktornak minősült. A fermentáció ideje alatt a közel semleges pH savassá változott, a végső pH értékek 4,9-5 között voltak, illetve az optikai denzitás során mért értékeken növekedést figyeltem meg.

A pelletek közül mindkét törzs esetében az aranylenmag alkalmazásával tapasztaltam a legnagyobb lipáz aktivitást. A *Y. lipolytica* élesztő maximális enzim aktivitás értéke megközelítőleg 0,28 U/l a 24. órában, míg a *Y. yakushimensis*-nél 0,43 U/l volt a 72. órában. Mind a két törzs esetében pH csökkenés történt, azonban a mértéke eltér, mivel a *Y. lipolytica* élesztőnél a közel 7-es pH értékről 4,7 -5,9-re változott, míg a *Y. yakushimensis* esetében pH 5,0-5,1 értékre redukálódott le. A *Y. lipolytica* szaporodásának nyomon követése során mért adatok alapján az aranylenmag, a napraforgómag és a mogyoró pelletet tartalmazó mintákban a 72. óráig zajlott szaporodás és nagyobb értékeket lehetett mérni, mint a kendermag és tökmag esetében. A *Y. yakushimensis* élesztőgomba esetében folyamatos szaporodást figyeltem meg majdnem mindegyik tápközegnél megközelítőleg a 150. óráig. A kendermag szubsztrátumon történt a legkisebb szaporodás mind a két törzs esetében. A kendermag pelletes mintában valószínűleg azért növekedtek kevésbé az élesztő törzsek, mivel a kendermagnak kevesebb zsírsav tartalma van, mint a többi olajpogácsának.

A legígéretesebbnek bizonyult szubsztrátumok -vagyis az olívaolaj, a napraforgóolaj, a használt étolaj és az aranylenmag pellet különböző koncentrációban (0,5 %, 1 %, 2 %) való alkalmazása során megállapítottam, hogy mind a két vizsgált törzs esetében az adott szubsztrátum 2 %-os koncentrációban való alkalmazása volt a leghatékonyabb mind az enzintermelés, mind a szaporodás szempontjából. Az olívaolaj bizonyult a legjobb induktornak, s a legkevésbé hatékonyak az aranylenmag pellet. A *Y. lipolytica* élesztőgomba esetén mért maximális lipáz aktivitás 1,29 U/l, a *Y. yakushimensis* törzsnél pedig 1,04 U/l volt a fermentáció 7. napján. A pH változás a két törzs esetében igen hasonlóan alakult mindegyik tápközegnél, az idő előrehaladtával folyamatos csökkenés figyelhető meg. A kezdeti semleges közeli pH értékről 4,5 – 4,9-re csökkent le.

Eredményeim alapján a vizsgált szubsztrátumok közül az olívaolajjal és a napraforgóolajjal érdemes tovább foglalkozni. Azonban a használt étolaj koncentráció 1%-ról 2%-ra való növeléssel, már 20%-os aktivitás gyarapodás érhető el, s bár az értékek elmaradnak az olívaolajtól, optimálással emelni lehetne az aktivitást. Emiatt véleményem szerint a használt olajjal is érdemes lenne további kutatásokat végezni. A jövőben egyre több iparágban fogják alkalmazni a *Yarrowia* törzseket és a különböző olajokat lipáz termelésre, illetve szerintem egyre közelebb kerülünk ahhoz a világhoz, ahol a használt olajat biodízel gyártásához használják a vállalatok.

## IRODALMI HIVATKOZÁS

- Adetunji A. I., Olaniran A. O. (2021): Production strategies and biotechnological relevance of microbial lipases: a review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52, 1257-1269. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00503-5>
- Al, S., Khan S. A., Hamayun M., Lee I. J. (2023): The recent advances in the utility of microbial lipases: A review. *Microorganisms*, 11 (2), 510., <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020510>
- Akram F., Mir A. S., Haq I. U., Roohi A. (2023): An appraisal on prominent industrial and biotechnological applications of bacterial lipases. *Molecular Biotechnology*, 65(4), 521-543., <https://doi.org/10.1007/s12033-022-00592-z>
- Anand J., Ramamoorthy K., Sagaya John Paul J., Sreekala K. G., Sathuvan M., Bhavani L., Nagaraj S. (2022): Oil cake extract as low-cost alternative media for increasing lipid and biomass productivity in *Scenedesmus quadricauda* for biofuel applications. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-10. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03135-3>
- Ansorge-Schumacher M. B., Thum O. (2013). Immobilised lipases in the cosmetics industry. *Chemical Society Reviews*, 42 (15), 6475-6490. DOI: <https://doi.org/10.1039/C3CS35484A>
- Barrera-Arellano D., Badan-Ribeiro A. P., Serna-Saldivar S. O. (2019): Corn oil: composition, processing, and utilization. In *Corn* (pp. 593-613). AACC International Press., <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811971-6.00021-8>
- Berezky Á., Török Á. (2009): Közlekedés célú biodízel gyártás várható tendenciái. In: Nemzetközi Energetika-Elektrotechnika Konferencia, 2009.10.08-2009.10.11, Marosvásárhely
- Chen, Q., Kong B., Han Q., Xia X., Xu L. (2017): The role of bacterial fermentation in lipolysis and lipid oxidation in Harbin dry sausages and its flavour development. *LWT*, 77, 389-396., <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.075>
- Chenli Y., Kun S., Chanchan L., Can W., Xueqing S., Hua W., Hua L. (2021): Processing technologies, phytochemical constituents, and biological activities of grape seed oil (GSO): a review, *Trends in Food Science & Technology*, 116, 1074-1083, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.09.011>

- Choe E., Min DB. (2007): Chemistry of Deep-Fat Frying Oils. *Journal of Food Science*, 72: R77-R86. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00352.x>
- Contesini F. J., Davanço M. G., Borin G. P., Vanegas K. G., Cirino J. P. G., Melo R. R. D., ... Carvalho P. D. O. (2020): Advances in recombinant lipases: Production, engineering, immobilization and application in the pharmaceutical industry. *Catalysts*, 10(9), 1032. <https://doi.org/10.3390/catal10091032>
- Dabetic N. M., Todorovic V. M., Djuricic I. D., Antic J. A., Basic Z. N, Vujovic D.S, Sobajic S. (2020): Grape Seed Oil Characterization: A Novel Approach for Oil Quality Assessment, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 122, 1900447, <https://doi.org/10.1002/ejlt.201900447>
- Barrera-Arellano D., Badan-Ribeiro AP., Serna-Saldivar SO (2019): Chapter 21 – Corn Oil: Composition, Processing, and Utilization, Corn (Third Edition), Chemistry and Technology, Pages 593-613, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811971-6.00021-8>
- Darvishi F., Nahvi I., Zarkesh-Esfahani H., Momenbeik F. (2009): Effect of plant oils upon lipase and citric acid production in *Yarrowia lipolytica* yeast. *BioMed Research International*, 2009., <https://doi.org/10.1155/2009/562943>
- de Almeida A. F., Taulk-Tornisielo S. M., Carmona E. C. (2013): Influence of carbon and nitrogen sources on lipase production by a newly isolated *Candida viswanathii* strain. *Annals of Microbiology*, 63, 1225-1234. <https://doi.org/10.1007/s13213-012-0580-y>
- Doymaz I., Gorel O. A., Akgun N. A. (2004): Drying characteristics of the solid by-product of olive oil extraction. *Biosystems Engineering*, 88(2), 213-219. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2004.03.003>
- Dragan Š., Siniša J., Zvonimir S., Nada L. (2008): Genetic possibilities for altering sunflower oil quality to obtain novel oils. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. **86**(4): 215-221. <https://doi.org/10.1139/Y08-008>
- Fabian M. D. (2015): The Properties of Lauric Acid and Their Significance in Coconut Oil, *Journal of the American Oil Chemists' Society* 92, 1-15. <https://doi.org/10.1007/s11746-014-2562-7>
- Fatima S., Faryad A., Ataa A., Joyia F. A., Parvaiz A. (2021): Microbial lipase production: A deep insight into the recent advances of lipase production and purification

- techniques. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 68(3), 445-458. <https://doi.org/10.1002/bab.2019>
- Farias M. A., Valoni E. A., Castro A., Coelho M. A. (2014): Lipase production by *Yarrowia lipolytica* in solid state fermentation using different agro industrial residues. *Chemical Engineering Transactions*, 38, 301-306., <https://doi.org/10.3303/CET1438051>
- Fickers P., Nicaud J. M., Gaillardin C., Destain J., Thonart P. (2004): Carbon and nitrogen sources modulate lipase production in the yeast *Yarrowia lipolytica*. *Journal of applied microbiology*, 96(4), 742-749., <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02190.x>
- Filho D. G., Silva A. G., Guidini C. Z. (2019): Lipases: sources, immobilization methods, and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103, 7399-7423., <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10027-6>
- Gunstone, F. (2009): *The chemistry of oils and fats: sources, composition, properties and uses*. John Wiley & Sons. Pages 2-18.
- Gavahian M., Khaneghah A. M., Lorenzo J. M., Munekata P. E., Garcia-Mantrana I., Collado M. C., Barba F. J. (2019): Health benefits of olive oil and its components: Impacts on gut microbiota antioxidant activities, and prevention of noncommunicable diseases. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 220-227. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.008>
- Ghanzai S. M., Marangoni A. G. (2013): Minor Components in Canola Oil and Effects of Refining on These Constituents, *Journal of the American Oil Chemists' Society* 90: 923-932, <https://doi.org/10.1007/s11746-013-2254-8>
- Groenewald M., Boekhout T., Neuvéglise C., Gaillardin C., van Dijck P. W., Wyss M. (2014): *Yarrowia lipolytica*: safety assessment of an oleaginous yeast with a great industrial potential. *Critical Reviews in Microbiology*, 40(3), 187-206. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.770386>
- Groenewald M., Smith M. T. (2013): The teleomorph state of *Candida deformans* Langeron & Guerra and description of *Yarrowia yakushimensis* comb. nov. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 103, 1023-1028. <https://doi.org/10.1007/s10482-013-9882-8>
- Guo Z., Jia X., Zheng Z., Lu X., Zheng Y., Zheng B., Xiao J. (2018): Chemical composition and nutritional function of olive (*Olea europaea* L.): A review. *Phytochemistry Reviews*, 17, 1091-1110. <https://doi.org/10.1007/s11101-017-9526-0>

- Hasan F., Shah A. A., Hameed A. (2006): Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(2), 235-251. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.10.016>
- Junmin J., Yulan L., Longkai S., Nannan W., Xuede W. (2019): Effect of roasting treatment on the chemical composition of sesame oil, *LWT*, 101, 191-200, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.008>
- Kumar A., Parihar S. S., Batra N. (2012). Enrichment, isolation and optimization of lipase-producing *Staphylococcus* sp. from oil mill waste (Oil cake). *Journal of Experimental Sciences*, 3(8), 26-30., ISSN: 2218-1768
- Krzychowska J., Kozłowska M. (2017): Effect of oils extracted from plant seeds on the growth and lipolytic activity of *Yarrowia lipolytica* yeast. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 94, 661-671., <https://doi.org/10.1007/s11746-017-2975-1>
- Lin L., Allemekinders H., Dansby A., Campbell L., Durance-Tod S., Berger A., Jones, P. J. (2013): Evidence of health benefits of canola oil. *Nutrition reviews*, 71(6), 370-385. <https://doi.org/10.1111/nure.12033>
- Liu X., Xinjun Y., Jinshun L., Jiaying X., Jun X., Zhen W., Tong Z., Yuanfang D. (2017): A cost-effective process for the coproduction of erythritol and lipase with *Yarrowia lipolytica* M53 from waste cooking oil, *Food and Bioproducts Processing*, 103: 86-94, ISSN 0960-3085, <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.03.002>
- Liu K. F., Li X. H., Hui F. L. (2018): *Yarrowia brassicae* fa, sp. nov., a new yeast species from traditional Chinese sauerkraut. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68(6), 2024-2027. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002783>
- Madzak C. (2021): *Yarrowia lipolytica* strains and their biotechnological applications: How natural biodiversity and metabolic engineering could contribute to cell factories improvement. *Journal of Fungi*, 7(7), 548. <https://doi.org/10.3390/jof7070548>
- Meunchan M., Michely S., Devillers H., Nicaud J. M., Marty A., Neuveglise C. (2015): Comprehensive analysis of a yeast lipase family in the *Yarrowia* clade. *PLoS One*, 10(11), e0143096. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143096>
- Mitreă L., Călinoiu LF, Teleky BE, Szabó K., Martău AG, Ștefănescu BE, Vodnar DC (2022): Waste cooking oil and crude glycerol as efficient renewable biomass for the production

- of platform organic chemicals through oleophilic yeast strain of *Yarrowia lipolytica*, *Environmental Technology & Innovation*, 28, 102943, ISSN 2352-1864, <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102943>
- Nagy E. Sz. (2015): Élelmiszerromlást okozó *Yarrowia* csoport biodiverzitása különböző élelmiszerekben. Doktori disszertáció. Budapest
- Nascimento F. V. D., Lemes A. C., Castro A. M. D., Secchi A. R., Zarur Coelho M. A. (2022): A Temporal Evolution Perspective of Lipase Production by *Yarrowia lipolytica* in Solid-State Fermentation. *Processes*, 10(2), 381. <https://doi.org/10.3390/pr10020381>
- Negi S. (2019): Lipases: A promising tool for food industry. *Green Bio-processes: Enzymes in Industrial Food Processing*, 181-198. ISBN: 978-981-13-3262-3, <https://doi.org/10.1007/978-981-13-3263-0>
- Nicaud J. M. (2012): *Yarrowia lipolytica*. *Yeast*, 29(10), 409-418. <https://doi.org/10.1002/yea.2921>
- Obradors N., Montesinos J. L., Valero F., Lafuente F. J., Sola C. (1993): Effects of different fatty acids in lipase production by *Candida rugosa*. *Biotechnology letters*, 15, 357-360., <https://doi.org/10.1007/BF00128276>
- Park Y. K., Ledesma-Amaro R. (2023): What makes *Yarrowia lipolytica* well suited for industry? *Trends in Biotechnology*, 41 (2), 242-254, <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2022.07.006>
- Péter G., Nagy E. S., Dlauchy D. (2019): Systematics, diversity and ecology of the genus *Yarrowia* and the methanol-assimilating yeasts. Non-conventional yeasts: From basic research to application, 297-339.
- Perez E. (2023): *Yarrowia* törzsek lipáz termelésének vizsgálata és fokozása felületaktív anyagokkal, Szakdolgozat, Budapest
- Poggetti L., Ferfui C., Chiabà C., Testolin R., Baldini M. (2017): Kernel oil content and oil composition in walnut (*Juglans regia* L.) accession from north-eastern Italy. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 98: 955-962, <https://doi.org/10.1002/jsfa.8542>
- Rajesh E. M., Arthe R., Rajendran R., Balakumar C., Pradeepa N., Anitha S. (2010): Investigation of lipase production by *Trichoderma reesei* and optimization of production

parameters. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural & Food Chemistry*, 9(7).  
ISSN: 1579-4377

- Rakicka-Pustulka M., Miedzianka J., Jama D., Kawalec S., Liman K., Janek T., ... Lazar Z. (2021): High value-added products derived from crude glycerol via microbial fermentation using *Yarrowia* clade yeast. *Microbial Cell Factories*, 20, 1-18. <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01686-0>
- Ramachandran S., Singh S. K., Larroche C., Soccol C. R., Pandey A. (2007): Oil cakes and their biotechnological applications—A review. *Bioresource Technology*, 98(10), 2000-2009. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.08.002>
- Rauf S., Jamil N., Tariq S. A., Khan M., Kaya Y. (2017): Progress in modification of sunflower oil to expand its industrial value, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97: 1997-2006, <https://doi.org/10.1002/jsfa.8214>
- Rodrigues dos Santos, M., Battaglia Hirata, D., de Alencar Figueira Angelotti, J. (2022): Lipases: Sources of acquisition, ways of production, and recent applications. *Catalysis Research*, 2(2), 1-43. doi:[10.21926/cr.2202013](https://doi.org/10.21926/cr.2202013)
- Saleem M., Ahmad N. (2018): Characterization of canola oil extracted by different methods using fluorescence spectroscopy, *PLOS ONE* 13 (12): e0208640, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208640>
- Salgado C. A., dos Santos C. I. A., Vanetti M. C. D. (2022): Microbial lipases: Propitious biocatalysts for the food industry. *Food Bioscience*, 45, 101509., <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101509>
- Salgado V., Fonseca C., Lopes da Silva T., Roseiro J. C., Eusébio A. (2020): Isolation and identification of *Magnusiomyces capitatus* as a lipase-producing yeast from olive mill wastewater. *Waste and Biomass Valorization*, 11, 3207-3221., <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00725-7>
- Salihu A., Alam M. Z., AbdulKarim M. I., Salleh H. M. (2012): Lipase production: an insight in the utilization of renewable agricultural residues. *Resources, Conservation and Recycling*, 58, 36-44. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2011.10.007>
- Sankaran R., Show P. L., Chang J. S. (2016): Biodiesel production using immobilized lipase: feasibility and challenges. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 10(6), 896-916., <https://doi.org/10.1002/bbb.1719>

- Sarmah N., Revathi D., Sheelu G., Yamuna Rani K., Sridhar S., Mehtab V., Sumana C. (2018): Recent advances on sources and industrial applications of lipases. *Biotechnology Progress*, 34(1), 5-28. <https://doi.org/10.1002/btpr.2581>
- Shinagawa F. B., Santana F. C. de., Torres L. R. O., Mancini-Filho J. (2015): Grape seed oil: a potential functional food? *Food Science and Technology* 35(3), 399-406, <https://doi.org/10.1590/1678-457X.6826>
- Sipiczki G. (2019): *Yarrowia* élesztőgomba lipáz termelésének fokozása, MSc diplomadolgozat, Budapest
- Szymczak T., Cybulska J., Podleśny M., Frąć M. (2021): Various perspectives on microbial lipase production using agri-food waste and renewable products. *Agriculture*, 11(6), 540., <https://doi.org/10.3390/agriculture11060540>
- Suci M., Arbianti R., Hermansyah H. (2018): Lipase production from *Bacillus subtilis* with submerged fermentation using waste cooking oil. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 105, 1, p. 012126). IOP Publishing. DOI: 10.1088/1755-1315/105/1/012126
- Treichel H., De Oliveira D., Mazutti M. A., Di Luccio M., Oliveira J. V. (2010): A review on microbial lipases production. *Food and Bioprocess Technology*, 3, 182-196. <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0202-2>
- Yakubu A., Saikia U., Vyas A. (2019): Microbial enzymes and their application in pulp and paper industry. *Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi: Volume 3: Perspective for Sustainable Environments*, 297-317. ISBN: 978-3-030-25505-3, <https://doi.org/10.1007/978-3-030-25506-0>
- Yan J. N., Pei E. T., Kuan S. K., Chin K. C., Kit W. C, Pau L. S. (2021): A comprehensive review on the techniques for coconut oil extraction and its application. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 44: 1807-1818, <https://doi.org/10.1007/s00449-021-02577-9>
- Yao W., Liu K., Liu H., Jiang Y., Wang R., Wang W., Wang T. (2021): A valuable product of microbial cell factories: microbial lipase. *Frontiers in Microbiology*, 12, 743377. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.743377>
- Zhang Y., Wu Y., Chen S., Yang B., Zhang H., Wang X., Granvogl M., Jin Q. (2021): Flavor of rapeseed oil: An overview of odorants, analytical techniques, and impact of treatment,

Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 20: 3983-4018, <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12780>

Zhou Y., Zhao W., Lai Y., Zhang B., Zhang D. (2020): Edible plant oil: global status, health issues, and perspectives. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1315. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01315>

Internetes hivatkozások:

Internet 1: Az átlagtól, a normál fejlődésmenettől való eltérés okai

[http://okt.ektf.hu/data/szlahorek/file/kezek/03\\_david\\_04\\_15/224az\\_tlagtl\\_a\\_norml\\_fejldsmen\\_ettl\\_val\\_eltrs\\_okai.html](http://okt.ektf.hu/data/szlahorek/file/kezek/03_david_04_15/224az_tlagtl_a_norml_fejldsmen_ettl_val_eltrs_okai.html)

# ÁBRA JEGYZÉK

|                                                                                                                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. ÁBRA: A <i>YARROWIA</i> KLÁN TAGJAI KÖZÖTTI FILOGENETIKAI KAPCSOLATOK A SPACER RÉGIÓK ÉS A NAGY ALEGYSÉG RRNS GÉN D1/D2 DOMÉNJÉNEK ÖSSZEKAPCSOLT SZEKVENCIAI ALAPJÁN ..... | 5  |
| 2. ÁBRA: A <i>YARROWIA LIPOLYTICA</i> TERMÉKEI A TUDOMÁNYOS ÉLETBEN ÉS AZ IPARBAN .....                                                                                       | 7  |
| 3. ÁBRA: <i>Y. YAKUSHIMENSIS</i> IVARTALAN SEJTJEI.....                                                                                                                       | 8  |
| 4. ÁBRA: TÖKMAG PELLET.....                                                                                                                                                   | 20 |
| 5. ÁBRA: KENDERMAG PELLET .....                                                                                                                                               | 21 |
| 6. ÁBRA: ARANYLENMAG PELLET.....                                                                                                                                              | 21 |
| 7. ÁBRA: MOGYORÓ PELLET .....                                                                                                                                                 | 22 |
| 8. ÁBRA: NAPRAFORGÓMAG PELLET.....                                                                                                                                            | 22 |
| 9. ÁBRA: <i>Y. LIPOLYTICA</i> TÖRZS SZAPORODÁSÁNAK ALAKULÁSA OPTIKAI DENZITÁS ALAPJÁN NÖVÉNYI OLAJ SZUBSZTRÁTUMOK ESETÉN .....                                                | 27 |
| 10. ÁBRA: NÖVÉNYI OLAJ TARTALMÚ TÁPKÖZEGEK PH-JÁNAK VÁLTOZÁSA <i>Y. LIPOLYTICA</i> ÉLESZTŐ ALKALMAZÁSA SORÁN.....                                                             | 28 |
| 11. ÁBRA: <i>Y. LIPOLYTICA</i> ÉLESZTŐGOMBA LIPÁZ AKTIVITÁSÁNAK ALAKULÁSA AZ IDŐ FÜGGVÉNYÉBEN NÖVÉNYI OLAJ SZUBSZTRÁTUMOK ALKALMAZÁSA MELLETT .....                           | 29 |
| 12. ÁBRA: <i>Y. YAKUSHIMENSIS</i> TÖRZS SZAPORODÁSÁNAK ALAKULÁSA OPTIKAI DENZITÁS ALAPJÁN NÖVÉNYI OLAJ SZUBSZTRÁTUMOK ESETÉN .....                                            | 30 |
| 13. ÁBRA: NÖVÉNYI OLAJ TARTALMÚ TÁPKÖZEGEK PH-JÁNAK VÁLTOZÁSA <i>Y. YAKUSHIMENSIS</i> ÉLESZTŐGOMBA ALKALMAZÁSA SORÁN .....                                                    | 30 |
| 14. ÁBRA: <i>Y. YAKUSHIMENSIS</i> ÉLESZTŐGOMBA LIPÁZ AKTIVITÁSÁNAK ALAKULÁSA AZ IDŐ FÜGGVÉNYÉBEN NÖVÉNYI OLAJ SZUBSZTRÁTUMOK ALKALMAZÁSA MELLETT .....                        | 31 |
| 15. ÁBRA: <i>Y. LIPOLYTICA</i> TÖRZS SZAPORODÁSÁNAK ALAKULÁSA OPTIKAI DENZITÁS ALAPJÁN OLAJPOGÁCSA SZUBSZTRÁTUMOK ESETÉN .....                                                | 32 |
| 16. ÁBRA: PELLETEKET TARTALMAZÓ TÁPKÖZEGEK PH-JÁNAK VÁLTOZÁSA <i>Y. LIPOLYTICA</i> ÉLESZTŐ ALKALMAZÁSA SORÁN.....                                                             | 33 |
| 17. ÁBRA: <i>Y. LIPOLYTICA</i> ÉLESZTŐGOMBA LIPÁZ AKTIVITÁSÁNAK ALAKULÁSA AZ IDŐ FÜGGVÉNYÉBEN OLAJPOGÁCSA SZUBSZTRÁTUMOK ALKALMAZÁSA MELLETT .....                            | 34 |
| 18. ÁBRA: <i>Y. YAKUSHIMENSIS</i> TÖRZS SZAPORODÁSÁNAK ALAKULÁSA OPTIKAI DENZITÁS ALAPJÁN OLAJPOGÁCSA SZUBSZTRÁTUMOK ESETÉN .....                                             | 35 |
| 19. ÁBRA: PELLETEKET TARTALMAZÓ TÁPKÖZEGEK PH-JÁNAK VÁLTOZÁSA <i>Y. YAKUSHIMENSIS</i> ÉLESZTŐGOMBA ALKALMAZÁSA SORÁN .....                                                    | 35 |
| 20. ÁBRA: <i>Y. YAKUSHIMENSIS</i> ÉLESZTŐGOMBA LIPÁZ AKTIVITÁSÁNAK ALAKULÁSA AZ IDŐ FÜGGVÉNYÉBEN OLAJPOGÁCSA SZUBSZTRÁTUMOK ALKALMAZÁSA MELLETT .....                         | 36 |
| 21. ÁBRA: <i>Y. LIPOLYTICA</i> SZAPORODÁSÁNAK ALAKULÁSA OPTIKAI DENZITÁS ALAPJÁN KÜLÖNBÖZŐ KONCENTRÁCIÓJÚ NÖVÉNYI EREDETŰ SZUBSZTRÁTUMOK ESETÉN .....                         | 38 |
| 22. ÁBRA: KÜLÖNBÖZŐ KONCENTRÁCIÓJÚ NÖVÉNYI EREDETŰ SZUBSZTRÁTUMOT TARTALMAZÓ TÁPKÖZEGEK PH-JÁNAK VÁLTOZÁSA <i>Y. LIPOLYTICA</i> ÉLESZTŐ ALKALMAZÁSA SORÁN.....                | 39 |
| 23. ÁBRA: <i>Y. LIPOLYTICA</i> LIPÁZ AKTIVITÁSÁNAK ALAKULÁSA AZ IDŐ FÜGGVÉNYÉBEN KÜLÖNBÖZŐ KONCENTRÁCIÓJÚ NÖVÉNYI EREDETŰ SZUBSZTRÁTUMOK ALKALMAZÁSA SORÁN .....              | 40 |
| 24. ÁBRA: <i>Y. YAKUSHIMENSIS</i> SZAPORODÁSÁNAK ALAKULÁSA OPTIKAI DENZITÁS ALAPJÁN KÜLÖNBÖZŐ KONCENTRÁCIÓJÚ NÖVÉNYI EREDETŰ SZUBSZTRÁTUMOK ESETÉN .....                      | 41 |
| 25. ÁBRA: KÜLÖNBÖZŐ KONCENTRÁCIÓJÚ NÖVÉNYI EREDETŰ SZUBSZTRÁTUMOKAT TARTALMAZÓ TÁPKÖZEGEK PH-JÁNAK VÁLTOZÁSA <i>Y. YAKUSHIMENSIS</i> ÉLESZTŐGOMBA ALKALMAZÁSA SORÁN.....      | 41 |
| 26. ÁBRA: <i>Y. YAKUSHIMENSIS</i> LIPÁZ AKTIVITÁSÁNAK ALAKULÁSA AZ IDŐ FÜGGVÉNYÉBEN KÜLÖNBÖZŐ KONCENTRÁCIÓJÚ NÖVÉNYI EREDETŰ SZUBSZTRÁTUMOK ALKALMAZÁSA SORÁN .....           | 42 |

## TÁBLÁZAT JEGYZÉK

|                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. TÁBLÁZAT: LIPÁZ TERMELŐ MIKROORGANIZMUSOK .....                      | 9  |
| 2. TÁBLÁZAT: YEPD FERDEAGAR .....                                       | 23 |
| 3. TÁBLÁZAT: INOKULUM TÁPKÖZEG .....                                    | 23 |
| 4. TÁBLÁZAT: FERMENTÁCIÓS TÁPKÖZEG .....                                | 23 |
| 5. TÁBLÁZAT: AZ ENZIMAKTIVITÁS MÉRÉSÉHEZ SZÜKSÉGES REAKCIOÉLEGYEK ..... | 25 |

PALLA HENRIETTA - SZAKDOLGOZAT

## Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani konzulenseimnek, Sipiczki Gizellának és Dr. Bujna Erikának az önzetlen segítségükért, a szakmai iránymutatásukért és a sok jó tanácsukért, amelyet a dolgozat elkészítése során kaptam. A kutatás a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal „A körforgásos gazdaság megvalósíthatósága a honvédelmi tevékenységek során” című, TKP2021-NVA-22 azonosítószámú Tématerületi Kiválósági Program támogatásával valósult meg.

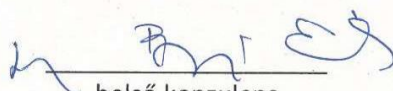
## NYILATKOZAT

Palla Henrietta (Neptun azonosítója: IUNOLS) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a szakdolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A záródolgozatot a záróvizsgán történő védelemre javaslom / nem javaslom.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem

Budapest, 2023. november 10.

  
belső konzulens

## NYILATKOZAT

### a szakdolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Palla Henrietta  
A Hallgató Neptun kódja: IUN0LS  
A dolgozat címe: Yarrowia törzsek lipáz termelésének vizsgálata  
növényi olajok, valamint pelletok, mint  
természetes szubsztrátumok felhasználásával  
A megjelenés éve: 2023.  
A konzulens intézetének neve: Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet  
A konzulens tanszékének a neve: Biomérnök és Erjedésipari Technológia Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott szakdolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítotam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság azáróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelté után nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: 2023. év 11. hó 13. nap

Palla Henrietta

Hallgató aláírása