

Dolgozat címe: *Aspergillus* törzsek "on-site" enzimtermelése növényi rostmaradványokon

A dolgozatot készítő hallgató neve: Sárkány Richárd

Szak, képzési szint és munkarend megnevezése: Biomérnök BSc.

Intézet/tanszék: Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet, Biomérnök és Erjedésipari Technológia Tanszék

Belső témavezető: Dr. Kohári-Farkas Csilla, egyetemi adjunktus, Magyar Agrár- és Élettudomány Egyetem, Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet, Biomérnök és Erjedésipari Technológia Tanszék

A cellulózban gazdag növényi biomasszára egyre értékesebb anyagként tekinthetünk egy olyan világban, ahol az energiaszegénység és a szerves hulladékok mennyisége jelentős kihívást okoz. A mezőgazdasági és élelmiszeripari termelési folyamatok során nagy mennyiségben keletkeznek növényi maradványok, ezért gazdaságos megoldás lehet az üzemanyag célú hasznosításuk, és ezzel a fosszilis üzemanyagok részbeni kiváltása. A hasznosításuknál a komplex szerkezet megbontása nélkülözhetetlen, amire ma már több módszer is létezik. Ezek közül az egyik a biológiai előkezelés, ami nem jár vegyszerhasználattal, viszont még nem tart ott a technológia, hogy gazdaságosan, nagy termelési hatékonysággal (erjeszhető cukorhozam szempontjából) lehessen alkalmazni. Hazai és nemzetközi szinten is folynak az ezen irányú kutatások, ahol többek között természeti mintákból izolált mikroorganizmusok enzimtermelését, rostbontási hatékonyságát növényi biomassza típusonként, vagy azok keverékében monitorozzák.

A kutatómunkám során arra kerestem a választ, hogy az *Aspergillus brasiliensis*, az *Aspergillus niger* és az *Aspergillus awamori* fajokhoz tartozó, összesen 8 fonalagomba törzs milyen lignocellulóz-bontó tulajdonsággal rendelkezik növényi rostállományon, különböző szubmerz fermentációs technikák alkalmazása esetén.

Az első kísérletsorozatban screeneléssel megfigyeltem, hogy az agarlemezekeken kinőtt gombatelepek nagysága és az azok körül megjelent feltisztulási zónák kiterjedése alapján mely törzsek tudják nagyobb mértékben hasznosítani a rendelkezésükre álló, egyedüli szénforrásokat, mint a karboximetil-cellulózt (CMC), az almapektint és nyírfa xilánt, valamint mutatnak lignocellulóz-bontó enzimaktivitást. A törzsek rangsorolása során az *Aspergillus niger* F.00632, az *Aspergillus brasiliensis* F.00892 és az *Aspergillus awamori* F.00030 törzs bizonyosult jobbnak 28 °C-on, 96 órát követően.

A következő kísérlet kitűzött célja volt megállapítani, hogy a kiválasztott törzsek milyen biodegradációs tulajdonsággal rendelkeznek és milyen extracelluláris enzimaktivitásokat mutatnak (endo- β -glükánáz, β -glükozidáz, xilanáz, pektináz) normál és előindukált szubmerz

rendszerekben. A normál rendszerekben a törzsek tenyésztése PDB táplevesben, míg az előindukált rendszerekben pedig 3 % (m/v)-ban növényi rostokat tartalmazó módosított PDB táplevesben (mPDB) történt. A beoltási technikáknál törzsenként 10 % (m/v) tenyészetet oltottam le 10 % (m/v) növényi rostot tartalmazó mPDB fermentációs rendszerekbe. A kísérlet rávilágított arra, hogy a fermentálé kémhatása, a törzsek morfológiai tulajdonságai és az enzimtermelés között összefüggés található. Az *Aspergillus awamori* F.00030 törzset kisebb pelleték jellemezték és a rendszer lúgos tartományba történő változása az aktivitás csökkenését okozta. A másik két törzs nagyobb pelleték volt a jellemző és a kémhatás lassabb növekedése a CMCáz aktivitás kisebb léptékű növekedését váltotta ki. A másik észrevétel az, hogy az előindukálás kifejezetten előnyösnek bizonyul enzimfermentáció terén, viszont a már rendelkezésre álló enzimek azonnali rostbontást eredményeztek, ami az erjeszhető cukrok kinyerése szempontjából hátrányosnak bizonyul.

A törzsek közül az *Aspergillus niger* F.00632 törzs rendelkezik a kedvezőbb aktivitásprofillal. A legmagasabb mért értékek előindukált tenyészetnél jelentek meg. Az endo- β -glükánáznál (CMCáz) az 5. napon volt 50,7 U/ml az endo- β -xilanáz a 7. napon 102,3 U/ml, a pektináznál pedig 244,5 U/ml.

Érdemes megemlíteni, hogy az enzimaktivitási eredmények ellenére az *Aspergillus awamori* F.00030 törzs rendelkezett nagyobb erjeszhető cukor hozammal. A mikrobiális kezelés 3. napján a mért redukáló cukortartalom 6,3 g/l volt.

Az enzimaktivitás és cukorkihozatal növelése érdekében a következő kísérletsorozat az optimális rosttartalom vizsgálatára irányult. Itt két különböző arány is jónak számított attól függően, hogy melyik enzim termelése a célunk. A CMCáz és az endo- β -xilanáz esetén a 15 % (m/v) rosttartalmú szubmerz rendszer eredményezett nagyobb enzimaktivitást, ami 51,7 U/ml és 30,4 U/ml volt. A pektináznál a 20 % (m/v) rosttartalmú szubmerz rendszer mutatott nagyobb értéket, a mért aktivitás 466 U/ml volt.

Az ezidáig publikált hazai és nemzetközi kutatások (nemzetség és faj szintjén) is megerősítik a kísérleti munka eredményeit, miszerint a szelektált *Aspergillus* törzsek nagy potenciált mutatnak a lignocellulóz-bontó enzimek termelésében és a növényi rostok (növényi biomassza) bontásában. Az előindukált tenyészetek alkalmazásával hatásosabb enzimtermelés érhető el, azonban az erjeszhető cukorhozam szempontjából ez nem minden esetben jelent kedvező hatást. A biológia rendszerek használata során kihívást okoz a kezelés időtartamának optimalizálása. A továbbiakban javasolom az *Aspergillus niger* F.00632 törzs enzimtermelésének és biodegradációs teljesítményének további kutatását más összetételű lignocellulóz biomasszán, esetleg lignocellulóz biomassza keverékeken, valamint a rostbontás időtartamának monitorozását.