

MEMBRÁN-

TECHNIKA

IPARI



BIOTECHNOLÓGIA

XII. évfolyam 4. szám

2021. december

TARTALOM

oldal

Rózsenszki T., Komáromy P., Hülberné Beyer É., Koók L.,
Bakonyi P., Nemestóthy N., Bélafiné Bakó K.: Biológiai hulladék-
kezelés támogatása fermentáció-elektrodialízis integrált rendszer
fejlesztésével38

Lajtai-Szabó P., Bagó T.B., Nemestóthy N.: Királis fenilpropanol
előállítása egész sejtes élesztő katalizátor alkalmazásával43

Közelgő membrános konferenciák,
kurzusok.....47

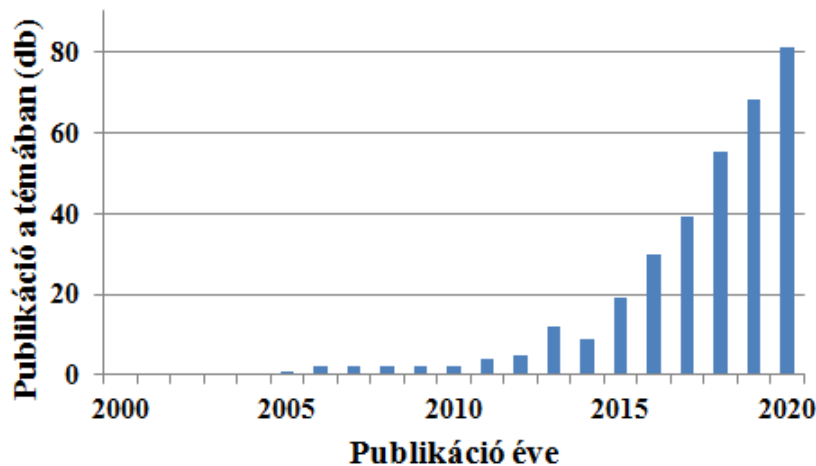
Biológiai hulladékkezelés támogatása fermentáció-elektrodialízis integrált rendszer fejlesztésével

Rózsenszki Tamás*, Komáromy Péter, Hülberné Beyer Éva, Koók László, Bakonyi Péter, Nemestóthy Nándor, Bélafiné Bakó Katalin

**Pannon Egyetem, Biomérnöki, Membrántechnológiai és Energetikai Kutatócsoport,
Veszprém, Egyetem u. 10. *rozsenszki.tamas@uni-pannon.hu**

A hulladék megfelelő kezelése a mai napig a globális kihívások között szerepel. A nem megfelelően kezelt (vagy kezeletlen) hulladék nemcsak a helyi és globális környezetre jelent kockázatot, hanem a gazdaságra és az egészségre egyaránt [1]. A vegyesen gyűjtött települési szilárd hulladék, jelentős hányadát biológiai úton bontható szerves anyagok alkotják. Az Élelmiszerügyi és Mezőgazdasági Világszervezet (The Food and Agriculture Organization (FAO)) becslései alapján, az élelmiszeripar által gyártott termékek egy harmada (évente nagyjából 1.3 milliárd tonna) hulladékként végzi világszerte [2,3]. Az élelmiszerhulladék (ÉH), többek között magába foglalja a gyümölcsöket, zöldségeket, tejtermékeket, sütőipari árukat, húsipari termékeket melyek a háztartási, élelmiszer és feldolgozó ipar, kereskedelmi és vendéglátóhelyek, valamint mezőgazdasági tevékenység során képződnek. Nem megfelelő gondozása, például a direkt lerakás, vagy elégetés. A viszonylag magas nedvességtartalma miatt, az elégetése dioxin képződést és becslések szerint 3.3 milliárd tonna CO₂/év kibocsátást eredményez [3]. A járványügyi központok tiltása révén az állati takarmánnyként való felhasználása helyett a sötét fermentáció (anaerob módon) vagy komposztálás (aerob módon), majd lerakás az ajánlott kezelési módszerek.

A fenntarthatóság és társadalmi-gazdasági aggályok miatt, ideális megközelítésnek számít az ÉH-ből történő értéknövelt anyagok előállítása, mely az utóbbi években kiemelkedő figyelmet kap a tudományos életben. Az 1. ábra számszerűen szemlélteti a Scopus adatbázisában az említett témában (valorisation of organic/food waste) megjelenő publikációk gyakoriságát. A téma iránti tudományos érdeklődés fellendülése az elmúlt években figyelhető meg (2015-) a publikációk számát illetően (1. ábra).



1. ábra Szervesanyag-tartalmú hulladék felhasználása, kezelése anyagkinyerés és értéknövelés érdekében. (keresett szavak a Scopus-ban: valorisation of organic/food waste)

A környezetvédelmi trendek, valamint az energia szektor fokozatos átalakulása miatt a szerves hulladék mikroorganizmusok általi konverziója, több szempontból is indokolt. A biológiai módon kinyerhető biogázt és biohidrogént, a jövő potenciális energiahordozójaként tartják számon [4]. A fermentációs folyamat során a gázképződés mellett, illékony szerves savak (VFAs), mint például a hangyasav, valeriánsav, ecetsav, vajsav, propionsav stb. kinyerése tovább erősítheti ezen eljárások létjogosultságát. A hatékony savkinyerés azonban még kihívást jelent a fenntartható fermentációs feldolgozási technológiák között [5,6]. A viszonylag új technikák, mint például a különféle bioelektrokémiai rendszerek (BES) vagy az egyre sokrétűbb membrántechnikák integrálásának átgondolása, tervezése erre a célra egy feltörekvő kutatási irányt képvisel. Csatlakozva a terület ismeretének bővítéséhez, a Biomérnöki, Membrántechnológiai és Energetikai Kutatócsoport is bekapcsolódott a szerves hulladék hasznosítására irányuló kutatásokba.

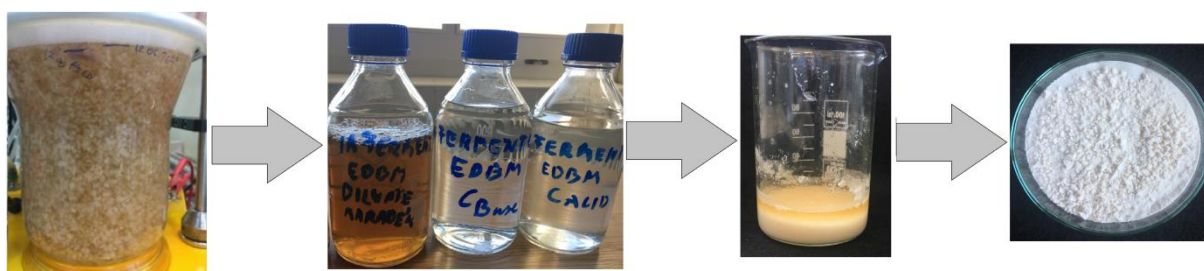
A kutatócsoport profiljához szorosan illeszkednek a különféle membrán szeparációs technikák alkalmazásai. A membrántechnológia előnyei közé sorolható a kompaktság, a hozzáadott vegyszer nélküli környezetkímélő működés és az integrációra való alkalmasság. A fermentációs eljárások során olyan folyamatok mehetnek végbe, melyek a termék képződése mellett nemkívánatos melléktermékek feldúsulását okozzák. Ez az akkumulációs folyamat negatív hatást eredményezhet, mely korlátozza vagy akár le is állíthatja az egész folyamat működését (inhibíció). A membrántechnológia előnyös lehet olyan esetekben, ahol a termék vagy melléktermék folyamatos elvétele indokolt az inhibíciós folyamatok elkerülése vagy

csökkentése érdekében. A membránnal végzett szeparáció során a melléktermék, vagy akár a termék dúsulásának inhibíciós hatása csökkenthető, ezáltal elősegíthetve az adott folyamat megfelelő működését, növelve ezzel a termelés hatékonyságát.

A sikeres bioelektrokémiai rendszerek fejlesztése mellett, egy elektromembrán folyamat alkalmazási lehetőségének kutatása is előtérbe került. Ez az eljárás az úgynevezett elektrodialízis, mely megoldás lehet értéknövelt anyagok kinyerésére szerves anyag tartalmú hulladékok (például élelmiszer hulladék) felhasználásával. Egy fermentáció-elektrodialízis integrált rendszer kialakítása előnyös lehet, mind a termelési hatékonyság, mind pedig a termékminőség javításában. Elektrodialízis során ionszelektív membránok segítségével elektromos erőter hatására a folyadékban oldott ionos anyagok szeparációja történik. Az alkalmazott membránok lehetnek monopolárisak (például: kation-, vagy anion cserélő membránok) vagy bipolárisak. A bipoláris membrán egy kation és egy anion cserélő membrán rétegből tevődik össze. A membrán belsejébe szivárgó víz az elektromos erőter hatására H^+ és OH^- ionokra disszociál, ezáltal sav és bázis képződésre alkalmazható. A szerves savak ionos tulajdonsága miatt alkalmasak lehetnek elektrodialízissel történő izolálásra. A tervezett munka során, ezért magas szénhidrát tartalmú hulladék anaerob biodegradációja által képződő szerves savak kinyerését fogjuk vizsgálni elektrodialízis alkalmazásával. A szeparálásra került szerves savak további kinyerési vagy felhasználhatósági lehetőségeit is szeretnénk feltérképezni például bioelektrokémiai rendszerekben (BES).

Esetünkben a szervesanyag-tartalmú hulladék kezelésénél a gázképző anaerob biodegradációs folyamatok során akkumulálódó fermentációs intermedierek (legfőképp VFAs) inhibíciós hatást okozhatnak például a H_2 képző baktériumok metabolikus aktivitására, ezáltal csökkentve a H_2 termelés hatékonyságát [7]. A nehezen szeparálható VFAs szelektív elválasztása, egyrészt mérsékelné a már említett inhibíciós kockázatot, másrészt pedig további felhasználásra kerülhetnek ipari (például: bioműanyag szintézis, élelmiszeripar, gyógyszeripar, kozmetikumok, petrokémiai termékek és kémiai szintézisek), mind pedig áramtermelő bioelektrokémiai rendszerekben (például: Mikrobiális üzemanyagcella) [5]. Az utóbbi pár évben, néhány releváns publikáció már beszámolt arról, hogy az ED és sötét fermentációs rendszerek összekapcsolásával előrelépés érhető el a H_2 produktivitás és VFAs kinyerése területén [6]. Jones és munkatársai szerint, az első ilyen eredmény 2015-ben publikált munkájukhoz köthető, ami mutatja a koncepció újszerűségét is [8].

Hasonló témakörben végzett kutatási eredményeink, korábban már igazolták (2. ábra), hogy az elektrodialízis alkalmazása potenciális megoldás lehet egy fermentációs folyamat kiegészítéseként [9–11]. Az itakonsav glükózból, biomasszából és akár élelmiszerhulladékból biológiai úton, ipari mértékben előállítható és széleskörűen felhasználható szerves dikarbonsav [12]. Fonalas gombák alkalmazásával a termelése és kinyerése szintén kutatott területnek számít, mely során a már felvázolt feladathoz hasonló kihívásokat kellett megoldani. Az itakonsav kinyerés tapasztalatai mindenképpen hasznos alapot fognak nyújtani az előttünk álló új kihívások leküzdésében.



2. ábra Itakonsav elektrodialízissel történő kinyerésének főbb szakaszai. Fermentációt követő centrifugálás, bipoláris membrán elektrodialízis, bepárlás és végül kristályosítás alkalmazásával.

Összességében elmondható, hogy az előttünk álló komplex feladathoz széleskörű tapasztalat és kompetencia szükséges az anaerob sötét fermentációs, membrán szeparációs technikák, továbbá a bioelektrokémiai rendszerek tekintetében. Bizakodásra ad okot, hogy az itakonsav fermentációs és membrán szeparációs kísérletekkel, pár év alatt eljutottunk valódi fermentációs elfolyók vizsgálataihoz. Reményeink szerint, a kutatási eredményeink az elektromembrán folyamatok bevonása révén, új lehetőségeket nyitnak meg és közelebb kerülünk az anaerob biológiai hulladékkezelés további támogatásához.

Köszönetnyilvánítás

Rózsenszki Tamás köszönetét fejezi ki a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatásáért (2021-2024). Az itakonsavra vonatkozó kísérletek az NKFIH OTKA K 119940 számú projekt támogatásával készültek.

Hivatkozások

1. Hoornweg, D.; Bhada-Tata, P. What a Waste: A Global Review of Solid Waste Management. Urban Development Series. Knowledge Papers No. 15, The World Bank. *World Bank* **2012**, 1.
2. Parthiba Karthikeyan, O.; Trably, E.; Mehariya, S.; Bernet, N.; Wong, J.W.C.; Carrere, H. Pretreatment of food waste for methane and hydrogen recovery: A review. *Bioresour. Technol.* **2018**, *249*, 1025–1039.
3. Paritosh, K.; Kushwaha, S.K.; Yadav, M.; Pareek, N.; Chawade, A.; Vivekanand, V. Food Waste to Energy: An Overview of Sustainable Approaches for Food Waste Management and Nutrient Recycling. *Biomed Res. Int.* **2017**, *2017*.
4. Hosseini, S.E.; Wahid, M.A. Hydrogen production from renewable and sustainable energy resources: Promising green energy carrier for clean development. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **2016**, *57*, 850–866.
5. Zhang, Y.; Angelidaki, I. Bioelectrochemical recovery of waste-derived volatile fatty acids and production of hydrogen and alkali. *Water Res.* **2015**, *81*, 188–195, doi:10.1016/j.watres.2015.05.058.
6. Bak, C.; Yun, Y.M.; Kim, J.H.; Kang, S. Electrodialytic separation of volatile fatty acids from hydrogen fermented food wastes. *Int. J. Hydrogen Energy* **2019**, 3356–3362, doi:10.1016/j.ijhydene.2018.07.134.
7. Elbeshbishy, E.; Dhar, B.R.; Nakhla, G.; Lee, H.S. A critical review on inhibition of dark biohydrogen fermentation. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **2017**, *79*, 656–668, doi:10.1016/j.rser.2017.05.075.
8. Jones, R.J.; Massanet-Nicolau, J.; Guwy, A.; Premier, G.C.; Dinsdale, R.M.; Reilly, M. Removal and recovery of inhibitory volatile fatty acids from mixed acid fermentations by conventional electrodialysis. *Bioresour. Technol.* **2015**, *189*, 279–284, doi:10.1016/j.biortech.2015.04.001.
9. Rózsenszki, T.; Komáromy, P.; Korösi, E.; Bakonyi, P.; Nemestóthy, N.; Bélafi-Bakó, K. Investigation of itaconic acid separation by operating a commercialized electrodialysis unit with bipolar membranes. *Processes* **2020**, *8*, doi:10.3390/pr8091031.
10. Rózsenszki, T.; Komáromy, P.; Hülber-Beyer, É.; Bakonyi, P.; Nemestóthy, N.; Bélafi-Bakó, K. Demonstration of bipolar membrane electrodialysis technique for itaconic acid recovery from real fermentation effluent of *Aspergillus terreus*. *Chem. Eng. Res. Des.* **2021**, *175*, 348–357, doi:10.1016/j.cherd.2021.09.022.
11. Komáromy, P.; Rózsenszki, T.; Bakonyi, P.; Nemestóthy, N.; Bélafi-bakó, K. Statistical analysis on the variables affecting itaconic acid separation by bipolar membrane electrodialysis. *Desalin. Water Treat.* **2020**, *192*, 408–414, doi:10.5004/dwt.2020.25899.
12. Narisetty, V.; Prabhu, A.A.; Al-Jaradah, K.; Gopaliya, D.; Hossain, A.H.; Kumar Khare, S.; Punt, P.J.; Kumar, V. Microbial itaconic acid production from starchy food waste by newly isolated thermotolerant *Aspergillus terreus* strain. *Bioresour. Technol.* **2021**, *337*, doi:10.1016/j.biortech.2021.125426.

Királis fenilpropanol előállítása egész sejtes élesztő katalizátor alkalmazásával

Lajtai-Szabó Piroska*, Bagó Tímea Brigitta, Nemestóthy Nándor
 Pannon Egyetem, Biomérnöki, Membrántechnológiai és Energetikai Kutatócsoport,
 Veszprém, Egyetem u. 10. * tpiroska94@gmail.com

Bevezetés

Az enantioszelektív enzimes technológiák kiemelt jelentőséggel bírnak a mezőgazdasági, élelmiszer- és gyógyszeripari termékek előállításánál, hiszen az egyes enantiomerek eltérő biológiai hatása miatt az említett területeken elsődleges fontosságú a megfelelő optikai tisztaság biztosítása. Ilyen vegyület a királis L-fenilpropanol is, melyet nem szteroid típusú gyulladáscsökkentők szintéziséhez [1], valamint kozmetikumokban illatanyag-összetevőként használnak [2]. Előállítása történhet racém fenilpropionaldehid enantioszelektív redukciójával alkohol-dehidrogenáz katalizátor alkalmazásával. Az enzimnek - az oxidoreduktázok többségéhez hasonlóan - kofaktorra van szüksége a reakció lejárásához. Mivel a kofaktor (jelen esetben NADH) maga is átalakul a reakció során, az eljárás során biztosítani kell a regenerálását a folyamatos termékképződés érdekében. Az egyik lehetséges módszer erre, hogy etil-alkoholt adunk a reakcióelegyhez, melyet az enzim acetaldehiddé oxidál a kofaktor redukálása közben.

A kofaktor előállítása, illetve regenerálása növeli az eljárás komplexitását és költségeit, ezáltal korlátozza az oxidoreduktázok ipari elterjedését. Egész sejtes katalizátor használata esetén azonban a sejt eleve tartalmazza a szükséges kofaktort, így nem szükséges annak további adagolása, illetve a regenerálódás is végbemegy, tehát alkalmazásuk megoldást jelenthet az említett problémára. Ugyanakkor a sejtekben jelenlévő egyéb enzimek és szennyezők mellékreakciókhoz vezethetnek, ezáltal csökkenhet a hozam és nehezedik a termék szeparációja. Annak eldöntéséhez, hogy egy konkrét termék esetén egész sejt vagy izolált enzim használata a kedvezőbb, a katalizátorok részletes vizsgálata szükséges. Az alábbiakban a királis fenilpropanol élesztővel (*Saccharomyces cerevisiae*) történő előállítására irányuló kísérleteket foglaljuk össze röviden. A továbbiakban tervezzük az összehasonlításához szükséges izolált enzimes mérések elvégzését.

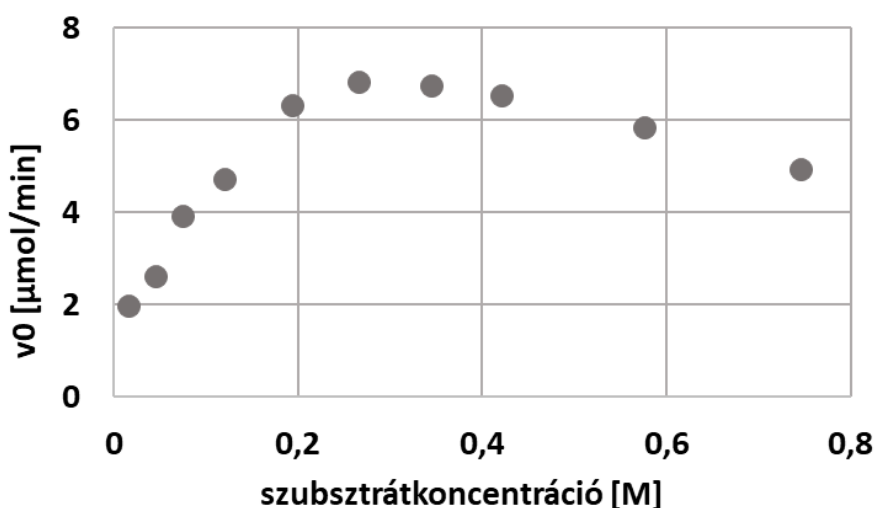
Anyagok és módszerek

A katalizátor kinetikai jellemzéséhez különböző kiindulási szubsztrátkoncentrációk mellett vizsgáltuk a termékképződés sebességét. A szubsztrát és a termék vízben igen korlátozottan oldódik, az enzimes reakcióhoz viszont vizes közeg szükséges, ezért a reakcióelegy kétfázisú rendszer volt, mely diizopropil-étert és foszfátpuffert (75 mM, pH=8) tartalmazott 1:1 arányban. Az etanol mennyiségét a szubsztráthoz képest határoztuk meg, irodalmi adatok alapján [3] minden kísérletnél 1:3,7 arányt alkalmaztunk. Katalizátorként 300 mg instant pékélesztőt használtunk, mely a kontroll kísérletek alapján kellő mennyiségben tartalmazott NADH-, ezért nem adtunk további kofaktort az elegyhez. A reakció 30 °C-on, 200 rpm fordulatszámú kevertetés mellett zajlott.

A termékképződés nyomon követéséhez a szerves fázisból vett mintákat gázkromatográfiás módszerrel analizáltuk. A hozam mérésére DB-FFAP kolonnát alkalmaztunk, mely az enantiomereket nem választja el egymástól, csupán a termék-szubsztrát arány megállapítására alkalmas. Az enantioszelektivitás vizsgálatához trifluorecetsav-anhidriddel származékot képeztünk a mintában található fenilpropanollal [4], majd királis LIPODEX-E kolonnával analizáltuk. Mivel az elválasztás nem volt megfelelő mértékű, a kapott kromatogramot OriginPro szoftverrel bontottuk fel az egyes enantiomerekhez tartozó csúcsokra.

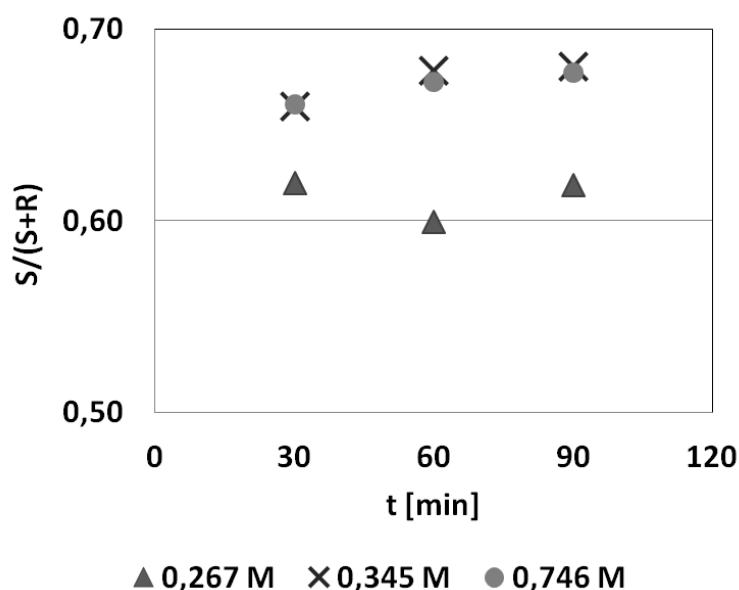
Eredmények

Mivel a kofaktor mennyisége a gyors regenerálásnak köszönhetően állandónak tekinthető, ezért egy-szubsztrátos Michaelis-Menten kinetikával jellemezhető a reakciót. Az 1. ábrán láthatók a különböző kiindulási szubsztrátkoncentrációk esetén kapott kezdeti reakciósebesség-értékek.



3. ábra: Michaelis-Menten kinetika

Alacsony szubsztrátkoncentrációk esetén az eredmények megfelelnek a várt elsőrendű kinetikának, tovább növelve a szubsztrát mennyiségét azonban telítési szakasz helyett a reakciósebesség ismét csökken. A kapott tendencia alapján arra következtethetünk, hogy szubsztrátlimitált a kinetika, a maximális reakciósebességet 0,267 M esetén értük el.



4. ábra: Az enantiomerarány alakulása

Az enantioszelektivitás vizsgálatát három különböző szubsztrátkoncentrációnál végeztük el, a kinetikai görbe maximumánál (0,267 M), valamint két magasabb koncentrációnál (0,345 M és 0,746 M). A 2. ábra alapján látható, hogy a koncentráció enyhe növelése (0,345 M) kedvező hatással van az enantioszelektivitásra, a jelentősebb növelés (0,746 M) azonban nem javította tovább az eredményt. A maximális reakciósebességhez tartozó összetételhez képest mintegy 8 százalékkal nagyobb értékeket értünk el magasabb koncentrációk esetén, ugyanakkor a legjobb eredmény is 70 százalék alatti.

Összefoglalás

Az egész sejtes élesztővel végzett kísérletek során megállapítottuk, hogy a katalizátor szubsztrátlimitált kinetikával jellemezhető, valamint az elérhető enantiomerarány 60 és 70 százalék közötti. A továbbiakban izolált enzimkészítménnyel tervezzük elvégezni a fenti méréseket, hogy összehasonlíthassuk az egyes katalizátorokat.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás az NKFIH-471-3/2021 projekt, az Innovációs és Technológiai Minisztérium, a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal és az Új Nemzeti Kiválóság Program támogatásával valósult meg.

Irodalomjegyzék

- [1] A. Díaz-rodríguez *et al.*, “Deracemisation of profenol core by combining laccase/TEMPO-mediated oxidation and alcohol dehydrogenase-catalysed dynamic kinetic resolution,” *Catal. Sci. Technol.*, 2015.
- [2] J. Scognamiglio, L. Jones, C. S. Letizia, and A. M. Api, “Fragrance material review on β -methylphenethyl alcohol,” *Food Chem. Toxicol.*, vol. 50, pp. S199–S203, 2012.
- [3] I. Kelemen-Horváth, N. Nemestóthy, K. Bélafi-Bakó, and L. Gubicza, “Stereoselective Reduction of 2-Phenylpropionaldehyde by Alcohol Dehydrogenase with Cofactor Regeneration,” in *28th International Conference of the Slovak Society of Chemical Engineering*, 2001.
- [4] K. Piers, R. Hsung, C. College, and G. Rapids, “Trifluoroacetylation of Unknown Alcohols; An Integrated Microscale Organic Experiment Using Spectroscopic Methods,” *J. Chem. Educ.*, vol. 66, no. 1, pp. 90–91, 1989.

KÖZELGŐ KONFERENCIÁK, KURZUSOK

Membrane Technology Conference and Exposition (AMTA)

2022. február 21-25., Las Vegas (USA)

<https://www.awwa.org/Events-Education/Membrane-Technology>

8th International Conference on Organic Solvent Nanofiltration

2022. március 14-16., Rennes, Franciaország

osn2021.sciencesconf.org

IDA 2022 World Congress

2022. május 29 – június 2., Sydney (Ausztrália)

<https://idadesal.org/>

16. International Conference On Desalination And Membrane Technology (ICDMT 2022)

2022. október 28-29., Párizs (Franciaország)

waset.org/desalination-and-membrane-technology-conference-in-october-2022-in-paris

11th International Membrane Science and Technology conference (IMSTEC)

2022. december 4-8., Melbourne, (Ausztrália)

<https://www.imstec2022.org/>

**Minden kedves Olvasónknak
áldott, békés karácsonyi ünnepeket
és boldog új évet kívánunk!**

Szerkesztőség



MEMBRÁNTECHNIKA ÉS IPARI BIOTECHNOLÓGIA

A MKE Membrántechnikai Szakosztályának kiadványa ISSN 2061-6392

Felelős szerkesztő:

Bélafiné Dr. Bakó Katalin, Pannon Egyetem, Biomérnöki, Membrántechnológiai és Energetikai Kutatóintézet, 8200 Veszprém, Egyetem u. 10.

E-mail: bako@almos.uni-pannon.hu

A szerkesztőbizottság tagjai:

a MKE Membrántechnikai Szakosztály vezetősége: Dr. Nemestóthy Nándor, Békássyné Dr. Molnár Erika, Dr. Mizsey Péter, Dr. Hodúr Cecília, Dr. Vatai Gyula, Dr. Cséfalvay Edit, valamint Dr. Gubicza László (lektor)

Megjelenik: negyedévente, 300 példányban

Előfizetési díja: évi 1 500 Ft

Megrendelhető: MKE Membrántechnikai Szakosztály, 1015 Budapest, Hattyú u. 16.