

Pannon Egyetem  
Vegyészmérnöki- és Anyagtudományok Doktori Iskola

***Streptomyces coelicolor* biofilm kialakítása  
membrán gradosztát reaktorban**

**Doktori (Ph.D.) értekezés**

**Készítette:  
Lajtai-Szabó Piroska**

**Témavezető:  
Dr. Nemestóthy Nándor**  
egyetemi tanár

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar  
Biomérnöki, Membrántechnológiai és Energetikai Kutatócsoport

**Veszprém**

**2025**

## Bevezetés

A mikrobiális szekunder metabolitok jellemzően környezeti stressz – tápanyag-limitáció, kompetitív fajok jelenléte, stb. – hatására termelődő anyagok, melyek mind ökológiai, mind gazdasági szempontból kiemelkedő fontosságúak. Az iparilag releváns termelő mikroorganizmusok között az egyik legjelentősebb a *Streptomyces* nemzetség, melynek tagjai többek között antimikrobiális és tumorellenes ágenseket, immunszuppresszánsokat, enzimeket, pigmenteket és sziderofórokat képesek előállítani.

Az ipari termelés során egyrészt elegendő tápanyagot kell biztosítani a mikrobák fejlődéséhez, ugyanakkor meg kell valósítani a termékképződéshez szükséges limitációt. A kettő közti egyensúly hosszú távú fenntartása a hagyományos technológiákkal nehezen kivitelezhető, ezért előállításuk jellemzően szakaszos üzemmódban történik, holott a folyamatos eljárás műszaki és gazdasági előnyökkel járna. Erre kínál megoldást egy viszonylag új, kevésbé ismert berendezés, a membrán gradosztát reaktor (MGR). Speciális kialakításának köszönhetően a reaktorban párhuzamosan zajlik a biofilm megújulása és a szekunder metabolitok keletkezése, továbbá lehetőség van folyamatos terméklevételre.

A membrán gradosztát reaktor működési elvével és gyakorlati megvalósításával kapcsolatos kérdések közül kutatásom során a membrán inokulálására, *Streptomyces coelicolor* biofilm kialakítására fókuszáltam.

## Kísérleti módszerek

A kísérleti munkám során *S. coelicolor* fermentlévének szűrési sajátosságait vizsgálva jellemeztem a pH, a viszkozitás és a szűrőlepeny fajlagos ellenállása közti összefüggéseket, továbbá kétféle kapilláris ultraszűrő membránmodul membrán gradosztát reaktorként való alkalmazhatóságát. Vizsgáltam a baktérium kolonizációs képességét hidrofil és hidrofób PVDF lapmembránon. Kidolgoztam a membrán gradosztát reaktor egyszerűsített modellrendszerét, mellyel többféle inokulálási segédanyag biofilm-képződésre gyakorolt hatását vizsgáltam. A modellrendszer továbbfejlesztéseként kidolgoztam egy léptéknövelt reaktort többcsatornás kapilláris membránnal, melyben elsőként vizsgáltam SevenBore membrán alkalmazhatóságát membrán gradosztát reaktorként.

**I. *Streptomyces coelicolor* fermentlé szakaszos üzemmódú (dead-end) szűrése során igazoltam, hogy a szűrőlepeny fajlagos ellenállásának pH-függését a fermentlé kora befolyásolja, továbbá megállapítottam, hogy a szűrési egyenlet szerinti összefüggés, miszerint a szűrőlepeny fajlagos ellenállása fordítottan arányos a viszkozitással, csak korlátozottan érvényesül.**

- i. A szűrést 4-es, 7-es és 9-es pH-értékeken végezve, a szűrőlepeny fajlagos ellenállásának 48 órás fermentlé esetén minimuma, 96 órás fermentlé esetén pedig maximuma volt 7-es pH-értéken.
- ii. 96 óra fermentációs idő esetén a szűrőlepeny fajlagos ellenállásának minimuma és a fermentlé viszkozitásának maximuma nem esett egybe.

**II. Megállapítottam, hogy Pentair X-Flow és Microdyn-Nadir Ultradyn membránmodulok a kísérleti paraméterek mellett az elégtelen sejtdhézio miatt nem alkalmazhatók membrán gradosztát reaktorként.**

- i. *Streptomyces coelicolor* baktérium 48 óra, illetve 168 óra fermentációs idejű, 7-es pH-jú fermentléve a rászűrési inokulálás során sem a pórusedimentáció, sem a gélréteg-képződés nem volt számottevő.

**III. Megállapítottam, hogy 0,22 és 0,45  $\mu\text{m}$  pórusméretű, hidrofil PVDF membránokon a *Streptomyces coelicolor* telepek terjedése a szilárd táptalajon történő növekedésnél lassabb, de a növekedési kinetika jellege a membrán hatására nem változik az első 13 nap során.**

- i. A Gompertz-modell maximális területi növekedés relatív sebessége ( $k$ ) és lag-fázis időtartama ( $\lambda$ ) paramétereinek szorzata (mely a növekedési kinetika jellegére jellemző adat) 0,22 és 0,45  $\mu\text{m}$  pórusméretű membránon, illetve szilárd táptalajon egy nagyságrendbe esik (értékük rendre 0,58; 0,63 és 0,43).

A membrán gradosztát reaktor vizsgálatára kidolgozott modellrendszer alkalmas az egyedi kapilláris membránszálakon kialakuló biofilmek megfigyelésére, nagyszámú párhuzamos mérés elvégzésére. A kísérleti modellrendszerre használati mintaoltalmat nyújtottam be.

**IV. A fenti rendszerben kialakított *Streptomyces coelicolor* biofilm vastagságát és a membrán felületének borítottságát vizsgáló kísérletek során igazoltam, hogy a vastagság és a borítottság között – főkomponens-analízis módszert alkalmazva – nincs korreláció. Továbbá a biofilm vastagságát és a membrán felületének borítottságát együttesen figyelembe véve a 3 g/l koncentrációban alkalmazott agaroldat bizonyult a legmegfelelőbbnek.**

- i. A vizsgált inokulálási segédanyagok – tween 80 (1 %), agar (1, 3 és 5 g/l) és karboximetil-cellulóz (2, 5 és 8 g/l) – közül egyedül a 3 g/L-es agaroldat mintái estek a főkomponensek síkjának optimális tartományába mindhárom párhuzamos esetén.

**V. *Streptomyces coelicolor*ral elsőként üzemeltettem hosszútávon membrán gradosztát reaktort. A termékképződés a kísérlet teljes időtartama (45 nap) alatt folyamatos volt, a termék-képződési sebesség 2,2 és 6,3  $\mu\text{g} / (\text{nap} \cdot \text{cm}^2 \text{ membránfelület})$  értékek között változott.**

**VI. Elsőként vizsgáltam SevenBore típusú membrán alkalmazhatóságát membrán gradosztát reaktorban, és *Streptomyces coelicolor* baktériummal inokulálva stabil, egybefüggő biofilmet alakítottam ki a membrán felületén, míg a lumen sejtmentes maradt.**

- i. A rendszer általános membrán bioreaktorként alkalmazható a gradiens igazolható kialakulása nélkül.
- ii. A 31 °C-os termosztálás eredményeként a biofilm víztartalma 6%-kal, az összesen keletkező aktinorodin mennyisége (száraz biofilmre vetítve) 29%-kal növekedett a termosztálás nélküli rendszerhez képest.

#### **A disszertáció témájához kapcsolódó publikációk, előadások**

P. Lajtai-Szabó and É. Hülber-Beyer, 'The Concept and Practical Challenges of Membrane Gradostat Reactors', Hung. J. Ind. Chem., vol. 53, no. 1, pp. 61–66, Jun. 2025, doi: 10.33927/hjic-2025-07.

P. Lajtai-Szabó, É. Hülber-Beyer, V. Z. Vonyó, M. G. Szigeti, N. Nemestóthy, and K. Bélafi-Bakó, 'Novel Insights into Filtration Studies of *Streptomyces Coelicolor* Fermentation Broth for Inoculation of Membrane Gradostat Reactor', J. Membr. Sci. Res., vol. 11, no. 1, 2025, doi: 10.22079/jmsr.2024.2041305.1680.

P. Lajtai-Szabó, É. Hülber-Beyer, N. Nemestóthy, and K. Bélafi-Bakó, 'The role of physical support in secondary metabolite production by *Streptomyces* species', Biochem. Eng. J., vol. 185, p. 108495, Jul. 2022, doi: 10.1016/j.bej.2022.108495.

P. Lajtai-Szabó, 'Membrán gradosztát reaktorok', Membrántechnika És Ipari Biotechnológia, vol. XII, no. 2, pp. 21–25, 2021.

**Előadás:**

Szekunder metabolitok előállítás *Streptomyces coelicolor* baktériummal; 50. Műszaki Kémiai Napok; 2022. április 26-28., Veszprém

Inokulálás és biofilm-fejlődés vizsgálata membrán gradosztát rektor modellrendszerben; 53. Műszaki Kémiai Napok; 2025. április 15-16., Veszprém

**Poszterek:**

19. Aachener Membran Kolloquium (Aachen, Németország, 2024.12.03-05.); Piroska Lajtai-Szabó, Éva Hülber-Beyer, Nándor Nemestóthy: Inoculation techniques of single capillary membrane with *Streptomyces coelicolor*

MEMSEP & PERMEA 2025 (Chorzów, Lengyelország, 2025.06.24-26.); Éva Hülber-Beyer, Piroska Lajtai-Szabó, Viktória Zoltána Vonyó: Cultivation of actinorhodin producing *Streptomyces coelicolor* on microstructured PES membrane surface