

## Doktori értekezés bírálatára adott válaszaim

Dr. Kertész Szabolcs opponens részére

Szeretném megköszönni Dr. Kertész Szabolcs opponensnek, hogy az idő rövidege ellenére ismét vállalta a dolgozat bírálatát, és építő jellegű észrevételeivel, szakmai javaslataival segítette a munka pontosítását és továbbfejlesztését.

A dolgozat stílusának és szerkesztésének értékelésében szereplő kérdésre, miszerint a 10. oldal 2.1-es és a 27. oldal 2.3-as táblázata miért jelenik meg kiemelve, míg a többi nem, a válaszom, hogy az említett táblázatok vastagított megjelenése szerkesztési hiba, nem a tartalommal összefüggő, szándékos kiemelés.

### A bíráló további kérdéseire adott válaszaim a következők:

- 1. A Tween 80 segédanyag esetén miért csak egy koncentráció (az 1 %-os) tesztelését végezte el, ha a másik kettőnél (az agarnál és a CMC-nél) háromét (1-3-5 g/l és 2-5-8 %-osakét)?*

A beállítási pontok meghatározásánál a segédanyagok eltérő hatásmechanizmusát vettem figyelembe. Az agar és a CMC megszilárdulva bevonatot képez a membrán felületén, a gélréteg kialakulásának sebessége, valamint a réteg tömörsége pedig függ a segédanyagok koncentrációjától. Tehát ezen két anyag esetén meg kellett találni azt a koncentrációt, amelynél a tápanyagok diffúziójának limitációja nem korlátozza a biofilm növekedését. A Tween 80 ezzel szemben felületaktív sajátsága révén segíti az eltérő hidrofobicitású felületek, vagyis a membrán és a spórák közötti adhéziót. Az 1%-os Tween 80-al elért eredmények nem tértek el a kontrolltól, kisebb koncentrációnál a felületaktív hatás is gyengébb lett volna, tehát ezt nem lett volna értelme vizsgálni, nagyobb mennyiségű detergens pedig lemosta, illetve károsíthatta volna a sejteket, ezért nem végeztem tesztet más koncentrációk mellett.

- 2. Mi lehet az oka annak, hogy nem alakult ki számottevő gél réteg (5.4. ábra értelmezése szerint)? Miért olyan nagy a membrán ellenállása? Más kutatócsoportoknál milyen ellenállási értékeket és megoszlási arányokat talált az irodalomban?*

Az X-Flow modulnál kapott ellenállás ( $7,52 \cdot 10^{11}$  1/m) nem számít nagyinak, hasonló vágási értékű membránoknál  $10^{11}$  -  $10^{12}$  nagyságrendű ellenállás-értékeket találtam az irodalomban. Az Ultradyn modul ellenállása ( $1,98 \cdot 10^{14}$  1/m) egy-két nagyságrenddel nagyobb a hasonló vágási értékű membránokról publikált értékeknél. Ennek magyarázata, hogy ez egy alacsony terhelésű modul, vagyis alacsony fluxustartományban történő üzemeltetésre tervezik, emiatt a gyártás során nem törekednek a minél kisebb membrán-ellenállás elérésére.

Ugyanakkor mindkét modult úgy tervezték – a felhasználási területüknek megfelelően –, hogy megakadályozzák a felületükön a sejtek megtapadását és a biofilm-képződést (bár a

gyártók nem közöltek részletes információkat a felületi tulajdonságokról, pl. a megtapadást gátló réteg meglétéről vagy hiányáról). Emellett a fermentlé sajátosságai - a sejtek töltése, a micélium tömöríthetősége, stb. - is szerepet játszhattak a szűrés során tapasztalt jelenségben, miszerint egy tömör szűrőlepeny, illetve gélréteg helyett a membrán felületétől távolabb alakult ki egy nehezen ülepedő réteg.

Más kutatócsoportok eredményei alapján a gélréteg ellenállása a teljes ellenállásnak 30 - 70 százalékát teszi ki, egyes források szerint pedig a teljes szűrési ellenállás a szűrőlepeny kialakulásának eredményeként tízszeresére is nőhet (itt azonban nem különítik el a pórusedmődés és a felületi gélréteg hatását). Az ellenállás-értékek és a megoszlási arányok azonban jelentősen függenek a szűrés típusától, a disszertációban bemutatott kapilláris modulus szűrés pedig átmenetet képez az irodalomban leírt szakaszos (*dead-end*) és keresztáramú (*cross-flow*) szűrések között, emiatt azonos körülmények között végzett mérési adatokkal nem tudom összevetni az eredményeimet.

3. *Lenne javaslata a membránok görbülésének és meghajlásának megakadályozására, valóban a biofilm súlya okozta, akkor ez elkerülhetetlen Ön szerint (92. o.)?*

Több kísérletet is végzett a kutatócsoportunk SevenBore rendszerrel, hosszabb üzemeltetés során pedig minden esetben megfigyelhető volt a kifelé görbülés. Mivel a leállítást és a biofilm eltávolítást követően a membrán visszanyerte eredeti alakját, az üzemeltetés közbeni görbülés véleményem szerint a mikrobiális növekedéssel, a biofilm súlyával lehet összefüggésben.

Ha helyes a feltételezésem a görbülés okát illetően, a folyamat elkerülhető lehet a biofilm növekedésének szabályozásával. Pár éve jelent meg egy publikáció *Aspergillus terreus* fajjal végzett kísérletről, melyben a biofilm vastagodását sikeresen kontrollálták a tápanyagforrás változtatásával. A kutatócsoportunkban pedig jelenleg folyamatban van egy kísérletsorozat, melyben *Streptomyces coelicolorra* próbálunk optimalizálni egy hasonló szabályozási rendszert.

4. *Mit javasolna az öregedés miatti leválás, sejtleválás (a Sevenbore rendszerbe) elkerülésére, így a permeátumba jutás megakadályozására (így annak lebegőanyag-tartalmának a csökkentésére)?*

Az öregedő sejtek leválása a membrán gradosztát reaktor működési elvéből adódó sajátosság, melynek teljes megakadályozása problémákat vetne fel. Az üzemeltetés során a külső, tápanyagszegény réteg sejtjei a szekunder metabolitok termelése mellett idővel mindenképpen elöregednek, elhalnak. Ha valamilyen módon megakadályoznánk a leválásukat, a biofilm túlságosan megvastagodna, így egyfelől többszörös rendszerben az egyes membránszálakon fejlődő biofilmek összetapadnának, másrészt az oxigén transzportja az extrakapilláris tértől a membrán felé olyan mértékben gátolt lenne, hogy a belső sejtrétegek is elhalnának.

A sejtek permeátumba kerülését a dolgozatban bemutatott rendszerrel nem tudom elkerülni, de mivel kis mennyiségű, jól centrifugálható sejtről volt szó, ez nem okozott problémát. Más

reaktorkonfiguráció esetén a permeátumgyűjtő edény elé esetleg be lehet építeni egy szűrőt, amin csak a folyadékfázis jut át, a sejteket visszatartja (feltéve, hogy a szűrő rendszeres tisztítása megoldható a sterilitás fenntartása mellett).

5. *Léptéknöveléshez szükséges költségbecslés hiányolható a dolgozattól. Végzett bármilyen költségbecslési számítást? Ha nem, javaslatot tudna tenni egy nagyobb méretű rendszer kiépítésében felmerülő költségekre vonatkozóan (akár csak nagyságrendi szinten / méretben)?*

Költségbecslési számítást nem végeztem, mivel egyrészt ehhez nem áll rendelkezésre elég kutatási eredmény és gyakorlati tapasztalat a membrán gradosztát rendszerek működtetésére vonatkozóan, másrészt az aktinorodin elsősorban modellvegyületként ismert, de gyakorlati alkalmazása egyelőre nem elterjedt, tehát a felvevőpiac tudomásom szerint túlságosan korlátozott a nagyobb léptékű, gazdaságos előállításához.

Ezektől eltekintve megfogalmazható néhány alapgondolat a nagyobb méretű rendszer kiépítésével kapcsolatban. A beruházási költségeket illetően az egyik meghatározó tényezőnek a reaktort tartom, hiszen olyan speciális konfigurációra van szükség, mely lehetővé teszi a membrán integrálását, a folyamatos üzemmód megvalósítását és a leállítást követően a biofilm eltávolítását, adott esetben roncsolásmentesen. A kulcskérdést pedig maga a membrán jelenti, hiszen a membránok méretnövelési faktora általában véve közel lineáris, ráadásul a gradosztát reaktor esetén a speciális igények miatt egyedi gyártástechnológiára is szükség lehet. Emellett van egy érdekes ellentmondás a membrán újrahasználhatóságát illetően, ugyanis a gradosztát megvalósulása szempontjából a minél intenzívebb eltömődés a cél, ami viszont megnehezíti a tisztítást és az újbóli felhasználást, tehát növeli a költségeket. A SevenBore membrán esetén eltömődés nem történt, tehát gradiens valószínűleg nem alakult ki, viszont a biofilm könnyen leválasztható volt, így a membrán újbóli felhasználását megvalósíthatónak tartom.

Az üzemeltetési költségek a termék folyamatos elvétele és egyszerűbb feldolgozása miatt a hagyományos technológiákhoz képest alacsonyabbak lehetnek. Továbbá, ha a visszamaradó biofilm EPS-frakcióját vagy annak adott komponensét sikerül kinyerni, akkor megfelelő fajtálasztás esetén az EPS-ből nyert melléktermék és a szekunder metabolit értékesítése együttesen biztosíthatja, hogy gazdaságilag megtérülő legyen a technológia.

Még egyszer köszönöm a bírálónak a dolgozat értékelésére fordított idejét, a pozitív visszajelzést és az értékes szakmai észrevételeket.

Kelt: Veszprém, 2026.01.26.



Lajtai-Szabó Piroska

