

3. Aminosavak gyártása

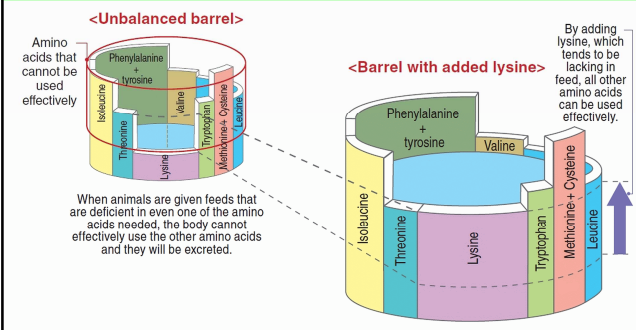


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

1

Táp(lálék)kiegészítés

Ugyanez igaz az állati takarmányozásra is:



4

Az aminosavak felhasználása

- nátrium-glutamát → ízfokozó (Delikat, Vegeta)
- lizin, metionin, treonin, triptofán → takarmány- és élelmiszerkiegészítő
- aszparaginsav és fenilalanin → aszpartám édesítőszer gyártásához
- cisztein és triptofán → antioxidáns (gyümölcslé, tejpor)
- tápszerek, infúziós oldatok, gyógyszerek



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

Táp(lálék)kiegészítés

A növényi eredetű (gabona) takarmány nem teljes értékű fehérje – esszenciális aminosavakból kevés van benne. A hasznosulást mindig a legkisebb mennyiségben jelenlévő szabja meg (limitáló szubsztrát).
 A teljes értékű fehérje (halliszt, tejfehérje, szója) drága és kevés van belőle → a növényt kell aminosavakkal kiegészíteni.

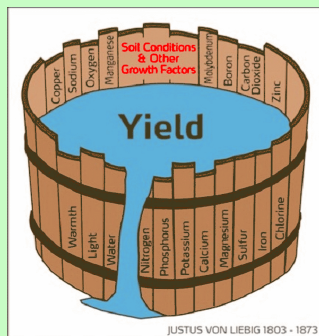


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

5

Liebig minimumtörvénye

Justus von Liebig (1873): ha egyetlen tápanyagkomponensből is hiány van, a növények növekedése korlátozott, még akkor is, ha az összes többi tápanyag megfelelő mennyiségben jelen van. A növények növekedése akkor fokozódik, ha a hiányos tápanyagot hozzáadjuk.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

Aminosavak előállítása

- Fehérje-hidrolizátumokból:** cisztein, leucin, aszparaginsav, tirozin, glutaminsav
- Kémiai szintézissel:** metionin, glicin, alanin, triptofán (reszolválás szükséges)
- Biotechnológiai úton:**
 - Direkt fermentációval: vad törzs, auxotróf és regulator-mutáns változatait használják pl: glutaminsav, lizin
 - Prekursor addíciós eljárással: + olyan vegyület, amelyet beépítve könnyen elő tud állítani aminosavat
 - Enzimes, sejtes biotranszformációval: egyetlen biokémiai lépés



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

Az aminosavgyártás története

- 1909: nátrium-glutamát siker, illetve szója hidrolízisével (Ajinomoto, Japán)
- 1957: glutaminsav és nukleotidok fermentációja *Corynebacterium glutamicum* törzssel (Kinoshita, Japán)
- 1981: a világon összesen 365.000 t aminosavat állítottak elő
- 1998: évi 1,5 millió tonna = 1,7 milliárd USD
A 17 nagy gyártó cégből 13 japán tulajdonú.
- 2006-2007: az Ajinomoto a piac 60%-át uralja az éves nettó eladás ~10 mrd USD
- 23 országban 121 gyár 30000 munkahely
- Magyarországon is: Evonik (Degussa), Kaba, 40.000 t/év



7

Anyagcsere mérnökség – metabolic engineering

A primer metabolitok előállításánál a génállományt úgy változtatják meg, hogy:

1. A bioszintézis út elágazásait lezárják, ezáltal minden anyag a céltermék irányába áramlik (auxotróf mutánsok)
2. A terméket továbbalakító reakciólépéseket eliminálják (auxotróf mutánsok).

Ha ezek létfontosságú molekulák előállítását érintik, akkor leaky (szivárgó) mutánsok, vagy tápoldatkiegészítés

3. Felfüggesztik a túltermelést megakadályozó mechanizmusokat (antimetabolit rezisztens mutánsok)



10

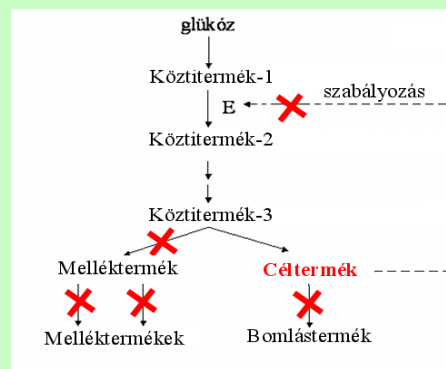
Az aminosavgyártás megoszlása (2006)

Mennyiség t/év	Aminosav	Alkalmazott eljárás	Felhasználás
1.000.000	L-Glutaminsav	Fermentáció	Ízfokozó
350.000	L-Lizin	Fermentáció	Tak.kiegészítő
350.000	D,L-Metionin	Kémiai szintézis	Tak.kiegészítő
75.000	L-Treonin	Fermentáció	Tak.kiegészítő
10.000	L-Asparaginsav	Enzimes konverzió	Aszpartám
10.000	L-Fenilalanin	Fermentáció	Aszpartám
10.000	Glicin	Kémiai szintézis	Tápl.kiegészítő, édesítőszer
3.000	L-Cisztein	Cisztin-redukció	Tápl.kiegészítő, gyógyszer
1.000	L-Arginin	Fermentáció, extrakció	Gyógyszergyártás
500	L-Leucin	Fermentáció, extrakció	Gyógyszergyártás
500	L-Valin	Fermentáció, extrakció	Gyógyszergyártás
300	L-Triptofán	Nyugvoéjtes konverzió	Gyógyszergyártás
300	L-Izoleucin	Fermentáció	Gyógyszergyártás



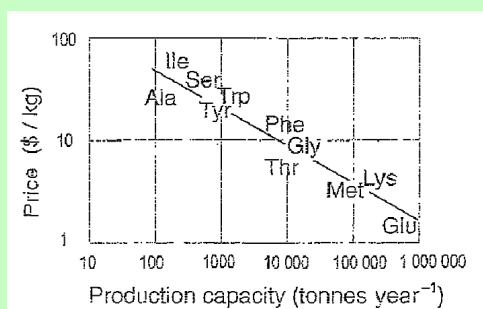
8

Anyagcsere mérnökség – metabolic engineering



11

Itt is érvényes a mennyiség-ár kapcsolat



9

Ipari mutáns törzsek jellemzői

AS	Törzs	Genetikai jellemzők	Kihoz (g/l)	C-forrás		
Arg	<i>Brevibacterium flavum</i>	Gua ^r , Ta ^r	35	Glükóz		
			25	Ecetsav		
Glu	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Vad törzs	>100	Glükóz		
			<i>Brevibacterium flavum</i>	98	Ecetsav	
				<i>Arthobacter paraffineus</i>	82	n-paraffin
Lys	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Hom ^r , Leu ^r , AEC ^r	39	Glükóz		
			<i>Brevibacterium flavum</i>	AEC ^r	57	Szacharóz
				Hom ^{leaky} , Thr ^r	75	Ecetsav
Trp	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Phe ^r , Tyr ^r , 5MTrp ^r , 6FTrp ^r	12	Glükóz		



12

Tipikus fermentációs technológia

A fermentáció:

Nagy, levegőztetett fermentorok (50 - 500 m³)

Rátáplálásos technológia

pH szabályozás (karbamid, ammónia)

Steril körülmények

Fágok elleni védekezés

AS feldolgozás jellemző műveletei: izoelektromos ponton történő kicsapás, ioncserés adszorpció, elektrodiálízis, szerves oldószeres extrakció



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

13

13

GLUTAMINSAV (Glu) ELŐÁLLÍTÁSA

A későbbiekben

- *Corynebacterium* spp. (*C. glutamicum*; *C. lilium*)
- *Brevibacterium* spp. (*B. divericartum*; *B. alanicum*)
- *Microbacterium* spp. (*M. flavum* var. *glutamicum*)
- *Arthrobacter* spp. (*A. globiformis*; *A. aminofaciens*)

Ezek jellemzően: - Gram pozitív,

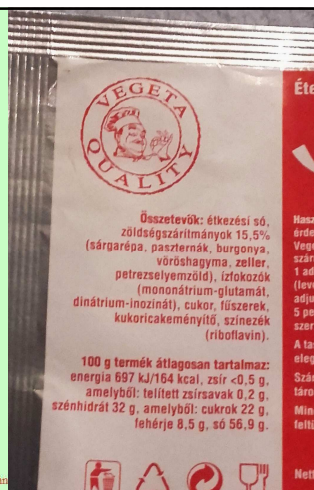
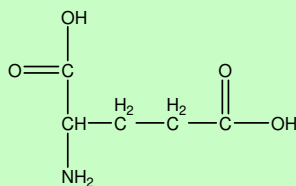
- nem mozgékony,
- biotin-igényes törzsek,
- az α-ketoglutarát-dehidrogenáz aktivitásuk kicsi, vagy hiányzik



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

16

GLUTAMINSAV (Glu) ELŐÁLLÍTÁSA

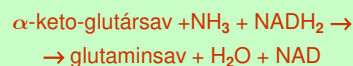


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14

BIOSZINTÉZIS

A bioszintézis kulcs lépése egy redukív aminálás:



Az αKGS a citrátkörben keletkezik, onnan kell elvonni.

Ha sokat elveszünk, nem zárul körfolyamat – valahogyan vissza kell pótolni az elvett intermediereket → anaplerotikus (feltöltő) utak: piruvátból oxalacetátot termelnek. Nem általános, de a *Corynebacterium*-oknál és a *Brevibacterium*-oknál működik.

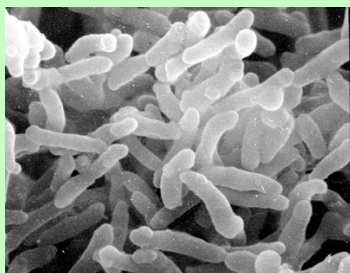


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

17

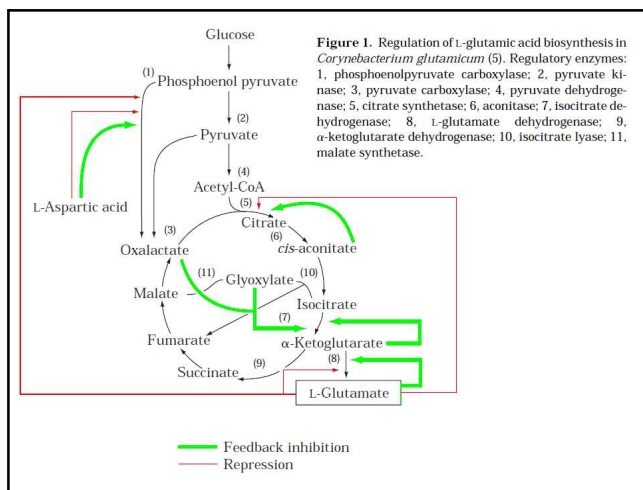
17

A fermentációt *Corynebacterium glutamicum* törzssel valósították meg először (1957)
Ez egy Gram+, nem spórás, nem csillós törzs



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

15



18

A BIOTIN SZEREPE

A törzs biotint igényel a szaporodáshoz.

Másfelől a biotin koncentrációja befolyásolja a sejt citoplazma-membránjának permeabilitását: magas biotin szint mellett a termelt glutaminsav a sejtben marad és feedback inhibíció lép fel, ami lefékezi a szintézist, valamint tejsav képződik.

Az optimális koncentráció alacsony, 3 - 5 µg/l.

A melaszban több a biotin, ezt ellensúlyozni lehet:

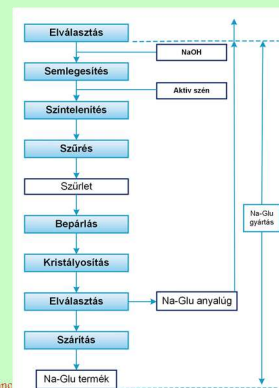
- nemionos detergenssek (Tween) (sejtmembrán)
- telítetlen zsírsav csökkentés (sejtmembrán)
- penicillin adagolás (sejtfal)



19

A FELDOLGOZÁS MENETE

A kristályos glutaminsavat nátrium hidroxiddal feloldják és közömbösítik. Aktív szén tisztítás után bekonzentrálják és kikkristályosítják. A kikkristályosítás anyalúgját visszaviszik a glutaminsav feldolgozás folyamatába.



22

A FERMENTÁCIÓS TECHNOLÓGIA

A C-forrás lehet szacharóz (melasz), glükóz, ecetsav, etanol, n-paraffin. Összesen ~16% cukor, rátáplálásos technológia, adagolás 36 óra után.

N-forrás: ammóniumsók, később ammónia gáz (pH szabályozáshoz). Rátáplálással kell adagolni, mert a túl sok N elviszi a folyamatot a glutamin (Gln) termelés irányába

pH: 7-8, T = 30-32 °C, 14 óra után felemelik 38-ra; t = 72 h

Kofaktorként: Fe²⁺, K⁺, Mn²⁺ szükséges

Biotin koncentráció: 2,5-3,5 µg/l

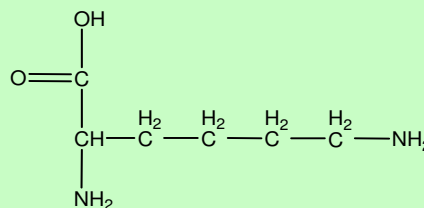
Konverzió: 50-60 %

Kétlépcsős folytonos technológiát is kidolgoztak



20

Lizin (Lys)

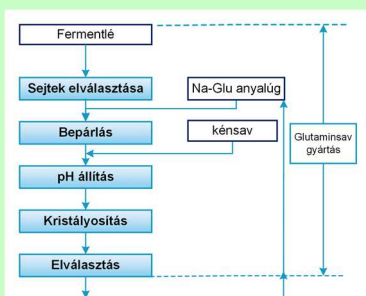


23

A FELDOLGOZÁS MENETE

A fermentálé feldolgozása két szakaszra bontható. Előbb a kristályos glutaminsavat állítják elő, majd ezt Na-glutamáttá alakítják.

Mindkét folyamat kulcs lépése a bepárlás, majd kikkristályosítás. A kénsav visszazsorítja a Glu disszociációját, ezáltal oldhatósága romlik, jobban kikkristályosítható.



21

A lizin felhasználása takarmányokban

A gabona alapú takarmányok feltűnően szegények lizinben.

Lizin (+ Met, Thr és Trp) hozzáadásával fehérje és szénhidrát tartalom sokkal jobban hasznosul.

A lizin termelés nyereségessége mindig függ a szójadara aktuális áratól.

Tápanyag/ takarmány	Lizin (%)
Kukorica	0.21
Zab	0.5
Árpa	0.4
Búza	0.6
Szója	2.9
Élesztő	3.4
Tejpor	2.5
Húsliszt	2.6



24

Bioszintézis

A lizin kétféle anyagcsereúton képződhet, mindkettő aszparaginsavból indul:

- > Diamino-pimelinsav út
- > Aszparaginsav-szemialdehid út

A *Corynebacterium* és *Brevibacterium* törzsek ez utóbbi utat használják. Anyagcsere-mérnökileg a következő mutációs változásokat hozták létre:

Hom^r illetve Hom^{leaky}, Met^r, Thr^r auxotrófia, illetve AEC^r és ML^r regulációs mutánsok

Egyes organizmusokban a lizin dekarboxilezéssel kadáverinné alakul, de ezekből a baktériumokból ez hiányzik.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

25

25

Fermentációs technológia

C-forrás: glükóz, melasz, alternatív megoldásokban ecetsav vagy paraffin

A nitrogénforrás ammónia, ammónium-só vagy karbamid
A homoszerin, treonin és metionin kis koncentrációban jelen kell hogy legyen (szója, kukoricalekvár adagolás), de ha leaky a mutáns, akkor nem kell adagolni, ezzel is csökken az önköltség.

Biotinból minimum 30 µg/l szükséges (cukornádmelasz)

Opt: pH= 7, T= 28°C t(ferm)= 60 óra

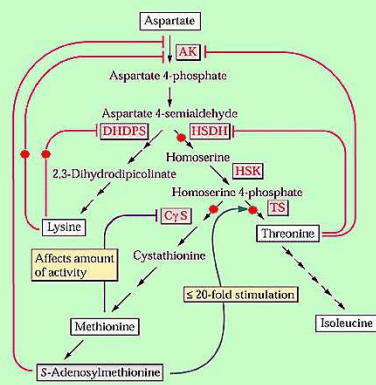


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

28

28

Mutációs változások a bioszintézisben



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

26

26

Fermentációs technológia

100-120 g/l végső lizin koncentráció, a produktivitás $Y_p=40-50\%$.

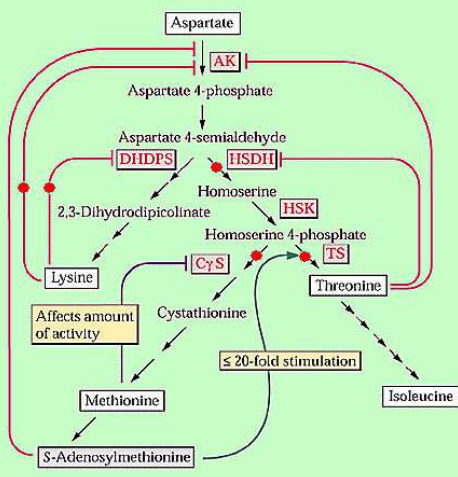
Speciális fertőzésveszély: lizin-dekarboxiláz termelők – kadáverin termelődik (hullaméreg). Ilyen törzsek az *Escherichia coli*, *Clostridium welchii*, *Aerobacter aerogenes* → tetraciklin adagolásával a befertőződés veszélye csökkenthető



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

29

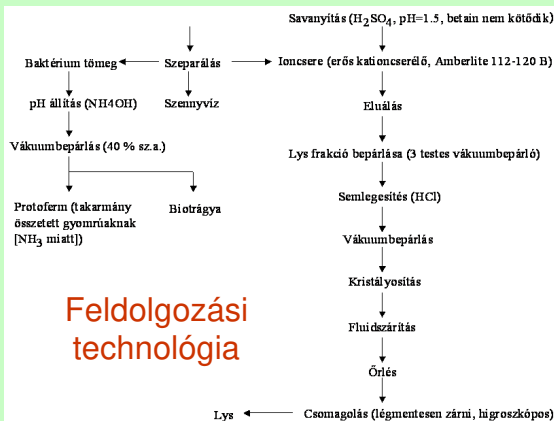
29



27

27

Feldolgozási technológia



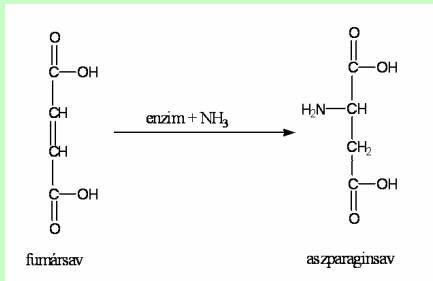
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

30

30

Aszparaginsav (Asp) előállítása

Régen fermentációval, ma egylépéses biotranszformációval (sejtes vagy enzimes) állítják elő.



31

SZERIN ELŐÁLLÍTÁSA

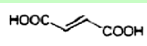
A metanol-hasznosítás egyik biokémiai útja a „szerin út”, ahol a Gly-hez kapcsolódik az aktív C1 egység.

A MeOH olcsó, a kérdés az, hogy honnan vegyük a glicint:

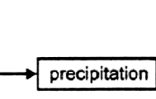
- szintetikusán (amino-ecetsav, nincs aszimmetria-centruma)
- biokémiai úton, megfelelő anyagcseréjű törzsekkel (gli-oxilát termelők)



34



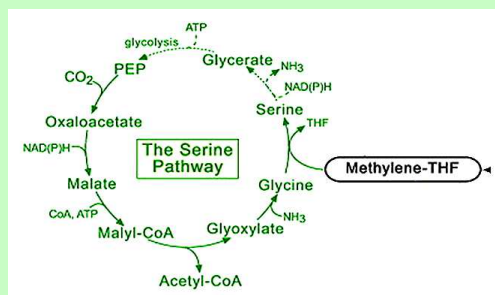
75 l-es oszlopban, 8,5 pH-n és 37°C-on Konverzió: 99%
 + MgCl₂ → aktivitás, stabilitás nő
 Feldolgozás: 1. savanyítás: pH: 2,8, 2. hűtés → kicsapódik
 t_{1/2}(E) = 6 hónap



32

SZERIN ELŐÁLLÍTÁSA

A glicin fermentáció és a szerin bioszintézis kapcsolata:



35

Az aszparaginsav felhasználása

Mesterséges édesítőszer (aszpartám) egyik összetevője

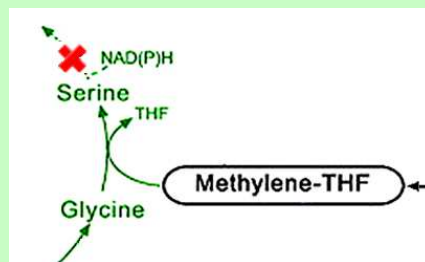
Gyógyszeriparban összetevő, illetve alapanyag



33

A SZERIN KÖRFOLYAMAT

Ha a folyamatot a szerin után megállítjuk, felhalmozódást érhetünk el:



36

SZERIN ELŐÁLLÍTÁSA

A glicin fehérje-alkotó aminosav, nagyobb koncentrációban mégis toxikus → toleráns mutánsokat izoláltak.

Ipari eljárás:

Törzs: metilotróf (pl. *Pseudomonas*), Gly toleráns

Szaporítási szakasz: pH ~ 4,5, hőmérséklet ~ 30 °C

Termelési szakasz: glicin adagolás indul, a hidroxipiruvát-reduktázt gátolják:

- Hőmérséklet emelés 40-42 fokra
- pH emelés 8,5 – 9,5 -ig
- Co²⁺ vagy Ni²⁺ adagolása

Végző koncentráció: 20-24 g/l, konverzió ~50 % (mól/mól)



37

A TRIPTOFÁN ELŐÁLLÍTÁSA

2. Prekurzoros bioszintézis: indol, vagy indol+glicin adagolásával.

Indol alapon: szerin termelő törzsek tenyésztéséhez indolt adnak:

metilotrófok: glicin + indol

élesztők (*Candida*, *Hansenula*): indol

Az indol nagyobb koncentrációban károsítja a sejteket, ezért folyamatos mérések alapján adagolják (0,5 – 1,0 g/l)

Triptofánra el lehet érni az oldhatósági határt (~12 g/l)



40

SZERIN ELŐÁLLÍTÁSA

A szerint kinyerhetjük még melaszából is, ioncserélő gyantával, pH = 5,7-nél.

Vagy:

A szintetikusan gyártott racém szerin oldatot 35%-ra bepárolva a D-szerin frakció kiválik, szűréssel elválasztható, az L-szerin oldatban marad.

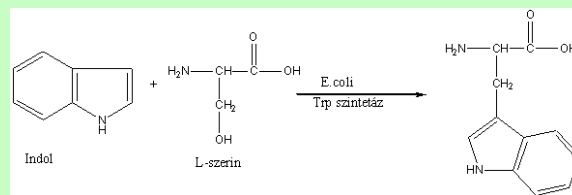


38

A TRIPTOFÁN ELŐÁLLÍTÁSA

3. Biokonverzió: a szerin + indol összekapcsolása egy lépéses enzim reakció.

Megvalósítható nyugvó sejtekkel, vagy izolált, esetleg immobilizált enzimmal.



41

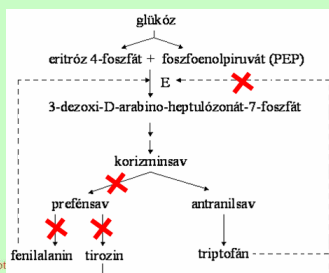
A TRIPTOFÁN ELŐÁLLÍTÁSA

Lehetőségek:

1. De novo bioszintézis: szénhidrátokból sok lépéssel. A japánok ezt is megoldották a *Corynebacterium* és *Brevibacterium* törzsekkel, de ezek keveset termelnek.

Anyagcseremérnöki szelekció:

Phe; Tyr,
5-Me-Trp



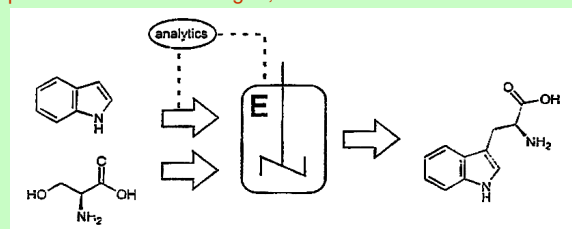
39

A TRIPTOFÁN ELŐÁLLÍTÁSA

Ipari konverziós eljárás (Amino GmbH, D, 1988 óta)

Törzs: *Escherichia coli* nyugvósejtes tenyésztése

Körülmények: pH = 8 – 9, t = 40 °C, vizes közeg, fed batch piridoxál foszfát szükséges, az indolt on-line HPLC méri



42

A TRIPTOFÁN ELŐÁLLÍTÁSA

Tartózkodási idő: 6 óra
 Termékkoncentráció: 12,25 g/l (telítési, a Trp kiválik és a sejtekkel együtt elválasztható)
 Feldolgozás: a csapadékból forró vízzel feloldják a triptofánt, majd elválasztják a sejtektől. Többszöri kristályosítás.
 Konverzió: 95 % (indolra)
 Éves termelés: 30 t/év

A TRIPTOFÁN FELHASZÁLÁSA:

- aktív gyógyszerkomponens (az agyi szerotonin szintre hat, nyugtat, altat, antidepresszáns)
- tápanyag-kiegészítő (essenciális)
- intermedier



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

43

43

L-FENILALANIN ELŐÁLLÍTÁSA

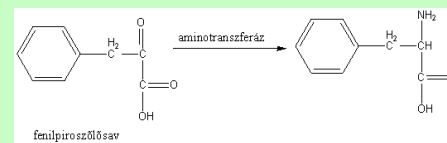
2. Biokonverzió:

2.1. Fenil-piroszölősavból transzaminálással

Törzsek: *E. coli*, *Pseudomonas fluorescens*

Amino-donor: L-aminosavak, Glu, Asp. Az NH₄⁺ ion nem alkalmas.

Aktív anyag: nyugtvó, vagy immobilizált sejtek.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

46

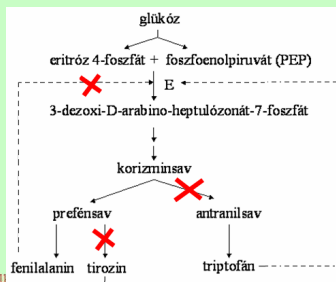
46

L-FENILALANIN ELŐÁLLÍTÁSA

Lehetőségek (közös szintézisút a triptofánnal):

1. De novo bioszintézis: szénhidrátokból sok lépéssel. A japánok ezt is megoldották a *Corynebacterium* és *E. coli* törzsekkel.

Anyagcseremérnöki szelektció:
 Trp, Tyr



BME AI

44

44

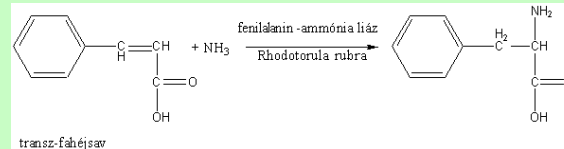
L-FENILALANIN ELŐÁLLÍTÁSA

Biokonverzió:

2.2. transz-fahéjsavból addícióval

Törzs: *Rhodococcus rubra*, *Rhodotorula rubra*

Körülmények: mind a szaporítás, mind a konverzió szigorúan anaerob körülmények között megy végbe, N₂ atmoszférában. pH = 10,6(!) t = 25 °C, vizes közeg, de: 15% NH₃(!!) Mert különben balra tolódik az egyensúly.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

47

47

FERMENTÁCIÓS ELŐÁLLÍTÁS

Törzs: *E. coli* és *Corynebacterium* mutánsok

Technológia:

- 3 db 150 m³-es fermentor,
- a fermentációs idő 2,5 nap
- a végső fenilalanin koncentráció ~20 g/l.
- Kapacitás: 1000 t/év



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

45

45

L-FENILALANIN ELŐÁLLÍTÁSA

Körülmények:

Adagolások: ammónium-cinnamát, a pH szabályozáshoz NH₃, illetve CO₂.

Keverés: N₂ befúvatásával

Phe koncentráció: 43 g/l

Kihozatal: 85,7 %

Feldolgozás: centrifugálás, bepárlás.

Kristályosítás

A FENILALANIN FELHASZNÁLÁSA

aszpartám (édesítőszer) gyártására
 gyógyszeripari alapanyag



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

48

48

L-FENILALANIN ELŐÁLLÍTÁSA

A technológiák összehasonlítása:

	Fermentáció	Prekursoros	Biokonverzió
Nyersanyag	glükóz	fenilpiroszölösav	transz-fabéjsav
Produktivitás (g/l/h)	0.6	3.5	1
Reakcióidő (óra)	24	8	15
pH	7	7.5	10
Hőmérséklet (°C)	35	35	35
Sejttömeg konc. (g/l)	20	10	70
Aminodonor	-	L-aminosav	NH ₃
Önköltség (\$/kg)	13	35	32

Technológiailag (a felső két sor) a konverziós eljárások a jobbak.
Gazdaságilag a fermentáció.
Ok: az alapanyagok ára nagyon eltérő.



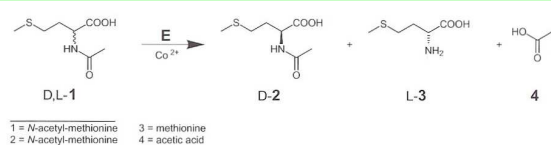
ASZIMMETRIKUS HIDROLÍZIS

A metionin rezolválása (Degussa eljárás).

Körülmények: pH = 7,0 t = 37 °C Co²⁺ effektor Oldott enzim.

Feldolgozás: az L-Met kristályosítható, az enzimet ultraszűréssel lehet visszanyerni.

Ugyanez az eljárás alkalmazható még: Ala, Phe, Val, Leu, Trp, Tyr-ra is.



RESZOLVÁLÁS

Általánosan: a racém (DL) elegyek komponenseinek szétválasztása. Azért itt tárgyaljuk, mert az aminosavaknál csak a L-forma biológiailag aktív, ezt kell előállítani, használni.

Két fő út (ld. Biomérnöki alapfolyamatok):

- aszimmetrikus szintézis,
- aszimmetrikus hidrolízis

Ezek közül a hidrolízissel foglalkozunk, mert az egyedüli szintetikus előállított aminosav, a Met esetében ezt alkalmazzák.

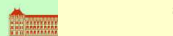
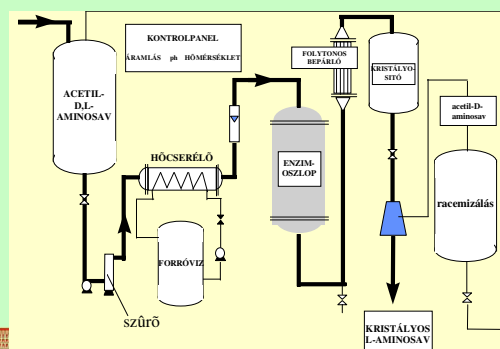
A racém aminosav keverékre olyan funkciós csoportot kötünk, aminek eltávolítására van sztereoszelektív enzim.

Típusreakció: N-acilezés, majd hidrolízis aminosavakkal.



TANABE ELJÁRÁS

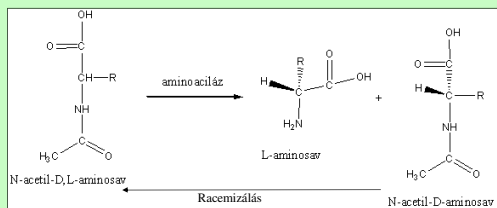
Immobilizált enzimmel



ASZIMMETRIKUS HIDROLÍZIS

Az aminosav csak az L-aminosavakat szabadítja fel, a D-származék megmarad. Ez utóbbit lúgos főzéssel racemizálják, újra acilezik, és visszaviszik a folyamat elejére.

Az enzimet az *Aspergillus oryzae* termeli, sokféleképpen immobilizálják (Sephadex, acetilcellulóz, gélbezárás).



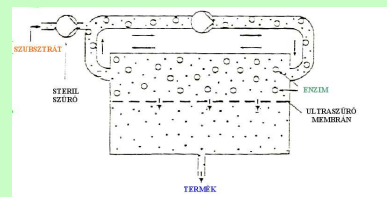
ASZIMMETRIKUS HIDROLÍZIS

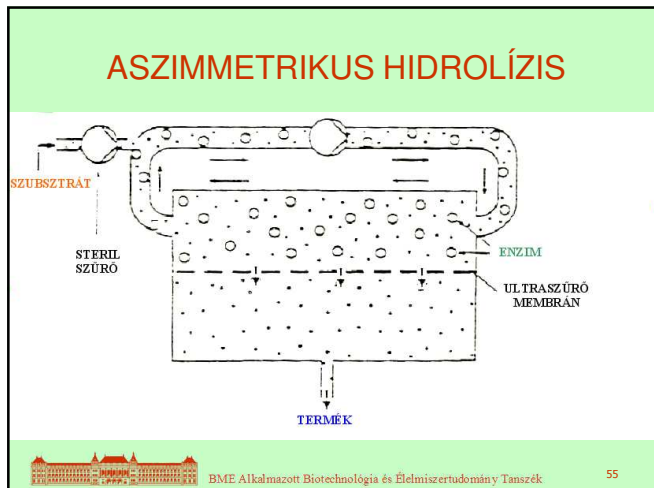
Membrános eljárás: az oldott enzimet egy ultraszűrő membrán tartja vissza, míg a termék szabadon áthalad.

A keringetés során az enzim lassan elveszti az aktivitását a nyíró hatások miatt.

Kapacitás: 200 t/év,

Met, Val, Phe gyártás





55

Lizin előállítása kaprolaktámból

Alapanyag: ciklohexén + NOCl
 Reaktor: batch, 25 óra
 Kihozatal: 99,5%
 Kapacitás: 4000 t/év
 Feldolgozás: kristályosítás

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 58

58

Aszimmetrikus hidrolízis: lizin előállítása kaprolaktámból

A D,L- α-amino-ε-kaprolaktám aszimmetrikus hidrolízissel L-lizinné hidrolizálható:

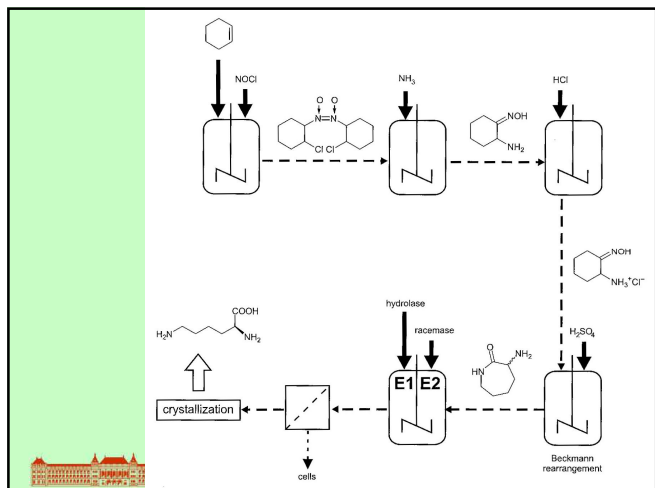
1 = α-amino-ε-caprolaktám (ACL) E1 = L-amino-laktám-hidroláza
 2 = lizine E2 = amino-laktám-racemáza

Toray Inc

Egy másik enzimmel – amino-laktám racemáz – a megmaradó D-kaprolaktám racemizálható, és visszavihető a folyamatba.

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 56

56



59

Aszimmetrikus hidrolízis: lizin előállítása kaprolaktámból

Ha a két enzim azonos pH-n aktív, akkor a két lépés egy reaktorban megvalósítható.

Körülmények: pH = 8-9 t = 40 °C vizes közeg
 Nyugvósejt szuszpenzió
 Mikroorganizmusok: *Candida humicola* + *Alcaligenes faecalis*,
 vagy *Cryptococcus laurentii* + *Achromobacter obae*

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 57

57