

Anita RYWIŃSKA, Ludwika TOMASZEWSKA, Marta MARCINKIEWICZ, Waldemar RYMOWICZ

e-mail: anita.rywinska@wnoz.up.wroc.pl

Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Wydział Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy, Wrocław

Biosynteza erytrytolu z glicerolu przez *Yarrowia lipolytica* Wratislavia 1.31

Wstęp

W procesie biosyntezy erytrytolu najczęściej wykorzystuje się takie drożdże jak: *Torula sp.*, *Moniliella pollinis* i *Trichosporonoides megachiliensis* (dawniej *Aureobasidium*) [Aoki i in., 1993, Hiele i in., 1993, Munro i in., 1998, Sawada i in., 2009]. W dotychczas prowadzonych badaniach stosowano zarówno szczepy pochodzące z różnych kolekcji, jak i szczepy dzikie. Źródła ich izolacji to najczęściej owoce, miód, czy pyłki kwiatów. Większość z tych mikroorganizmów odznacza się wysoką osmotolerancją ze względu na naturalne środowisko ich występowania. Podstawowymi substratami wykorzystywanymi w procesie biosyntezy erytrytolu przez drożdże są glukoza, fruktoza, sacharoza lub hydrolizaty skrobiowe [Aoki i in., 1993; Yang i in., 1999; Yu i in., 2006]. Wcześniejsze badania autorów tego opracowania wskazują na możliwość wykorzystania do produkcji erytrytolu drożdży *Y. lipolytica* oraz glicerolu jako źródła węgla i energii [Rymowicz i in., 2009, Tomaszewska i in., 2011]. *Y. lipolytica*, w porównaniu do innych drożdży, wyróżnia szereg niezwykłych właściwości fizjologicznych i biochemicznych, wśród których tolerancja na wysokie stężenie substratu oraz NaCl, a także składników mineralnych i pierwiastków śladowych w środowisku może okazać się kluczowa dla procesu biosyntezy erytrytolu prowadzonego z ich udziałem.

Celem pracy było zbadanie wpływu NaCl na biosyntezę erytrytolu z glicerolu przez szczep *Y. lipolytica* Wratislavia 1.31.

Materiały i metody

Mikroorganizm

W badaniach wykorzystano szczep drożdży *Yarrowia lipolytica* Wratislavia 1.31 o szorstkim fenotypie kolonii. Szczep jest mutantem octanowym (oct), pochodzi z kolekcji własnej Katedry Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, a przechowywano go na skosach YM, w temperaturze 4°C.

Podłoże

Substrat w niniejszej pracy stanowiły dwa rodzaje glicerolu: techniczny (czysty) pochodzący z POCh (Polskie Odczynniki Chemiczne, Gliwice) o czystości 98% (v/w) i odpadowy, pochodzący z produkcji biopaliw w rafinerii Trzebinia (grupa LOTOS) o zawartości 76% (v/w) glicerolu oraz 4% (v/w) NaCl.

Podłoże inokulacyjne miało następujący skład [$\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$]: glicerol – 50,0; ekstrakt drożdżowy – 3,0; ekstrakt słodowy – 3,0; bactopecton – 5,0; woda destylowana do 1 dm^3 .

Podłoże do doboru stężenia NaCl o pH 3,0 zawierało [$\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$]: glicerol kosmetyczny – 100; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 2,5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 1,0; KH_2PO_4 – 0,2; ekstrakt drożdżowy – 1,0; CaCO_3 – 3; NaCl – od 0 do 80; woda destylowana do 1 dm^3 . Podłoże produkcyjne w hodowlach bioreaktorowych miało skład ($\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$): źródło węgla – 150,0; NH_4Cl – 2,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 1,0; KH_2PO_4 – 0,2; ekstrakt drożdżowy – 1,0; woda wodociągowa – do 1 dm^3 . Dla uzyskania stężenia glicerolu 150 $\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$ dodawano 197 $\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$ glicerolu odpadowego. W celu uzyskania stężenia 2,5% NaCl w hodowli z glicerolem kosmetycznym dodawano 25 $\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$ soli, natomiast w hodowli z glicerolem odpadowym 17,1 $\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Warunki prowadzenia hodowli

Hodowle inokulacyjne prowadzono na wstrząsarce rotacyjnej typu Elpan przy 160 rpm w 300 cm^3 kolbach stożkowych zawierających 100 cm^3 podłoża inokulacyjnego przez 72 godziny w temperaturze 30°C. Do zaszczerpienia podłoża produkcyjnego w bioreaktorze używano 200 cm^3 zawiesiny komórek namnożonych w hodowli inokulacyjnej.

Dobór stężenia NaCl prowadzono w kolbach stożkowych, zawierających 30 cm^3 podłoża, przez 7 dni w warunkach jw.

Proces biosyntezy erytrytolu był prowadzony w 5-litrowym bioreaktorze typu BIOSTAT B+ (Sartorius, Niemcy), o objętości roboczej 2 dm^3 , przy szybkości napowietrzania 0,6 vvm, prędkości obrotowej mieszadła 800 obr min^{-1} , w temperaturze 30°C. W czasie procesu utrzymywano automatycznie pH 3,0 za pomocą 20% NaOH.

Metody analityczne

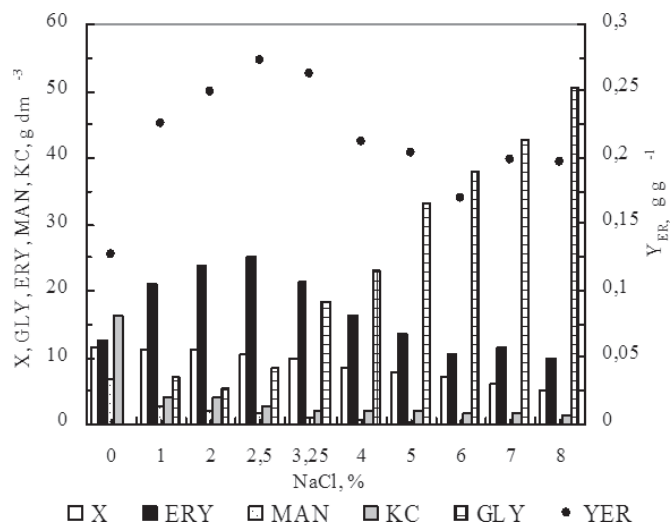
Biomasę oznaczano wagowo, po wysuszeniu do stałej masy w suszarce w temperaturze 105°C. Stężenie glicerolu, erytrytolu, mannitolu, arabitolu, kwasu cytrynowego oraz kwasu α -ketoglutarynowego oznaczano metodą HPLC na kolumnie HyperRez XP carbohydrate H⁺ (Dionex, UltiMate 3000 Series) połączonej z detektorami UV ($\lambda=210$ nm) i IR, w temperaturze 65°C, przy szybkości przepływu fazy cieplej (25 mM kwasu trifluoroctowego; TFA) przez kolumnę równej 0,6 $\text{cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$.

Objaśnienie zastosowanych oznaczeń

X – biomasa, GLY – glicerol, ERY – erytrytol, MAN – mannitol, AR – arabitól, KC – kwas cytrynowy, KG – kwas α -ketoglutarynowy, Q_{ER} – szybkość objętościowa produkcji erytrytolu, q_{ER} – szybkość właściwa produkcji erytrytolu, Y_{ER} – wydajność produkcji erytrytolu (g wytworzonego ERY / g zużytego substratu).

Omówienie i dyskusja wyników

W 7-dobowych hodowlach wstrząsanych zbadano wpływ stężenia NaCl, w zakresie od 0 do 8%, na wzrost drożdży, zużycie glicerolu, biosyntezę erytrytolu i produktów ubocznych przez szczep *Y. lipolytica* Wratislavia 1.31 (Rys. 1). Tylko w hodowlach kontrolnych, bez dodatku



Rys. 1. Wpływ stężenia NaCl na wzrost drożdży, zużycie glicerolu oraz produkcję erytrytolu, mannitolu i kwasu cytrynowego

soli, stwierdzono całkowite wykorzystanie glicerolu, podczas gdy w kolejnych procesach stężenie resztkowego glicerolu sukcesywnie rosło, aż do $50,5 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ w procesach prowadzonych z 8% dodatkiem soli.

Stężenie biomasy było najwyższe, $11,5 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$, w hodowlach kontrolnych. Podobny plon biomasy obserwowano w hodowlach z 1 i 2% dodatkiem NaCl, natomiast w kolejnych, stężenie biomasy malało i przy 8% wynosiło już tylko $5,03 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Najwyższe stężenie erytrytoli ($25,07 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$) oraz wydajność jego produkcji ($0,27 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$) stwierdzono w hodowli przy dodatku 2,5% NaCl.

Możliwość wykorzystania drożdży *Y. lipolytica* do produkcji erytrytoli po raz pierwszy opisano w patencie japońskiej firmy *Mitsubishi Chemical Corporation Chiyoda-ku [Ueda i Yamagishi 1997]*. W hodowlach wstrząsanych szczep *Y. lipolytica* ATCC 8661, w podłożu zawierającym 20% glicerolu oraz 1% ekstraktu drożdżowego, produkował $43,2 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ erytrytoli z wydajnością $0,21 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$, a więc niższą niż w niniejszej pracy.

W prezentowanej pracy, w płynie pohodowlanym wykazano także obecność innych alkoholi wielowodorotlenowych, takich jak mannitol i arabitol (Rys. 1). Stężenie mannitolu ($6,8 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$) było najwyższe w hodowli bez soli, natomiast już 1% dodatek NaCl redukował jego ilość o 50%. Stężenie arabitolu nie przekraczało $1,5 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ (dane nie prezentowane). W hodowli bez soli stwierdzono również znaczący ($16,3 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$), jak na ten typ procesu (niskie pH 3,0), udział kwasu cytrynowego w puli produkowanych metabolitów, jednak w kolejnych hodowlach jego ilość nie przekraczała już $4,2 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$.

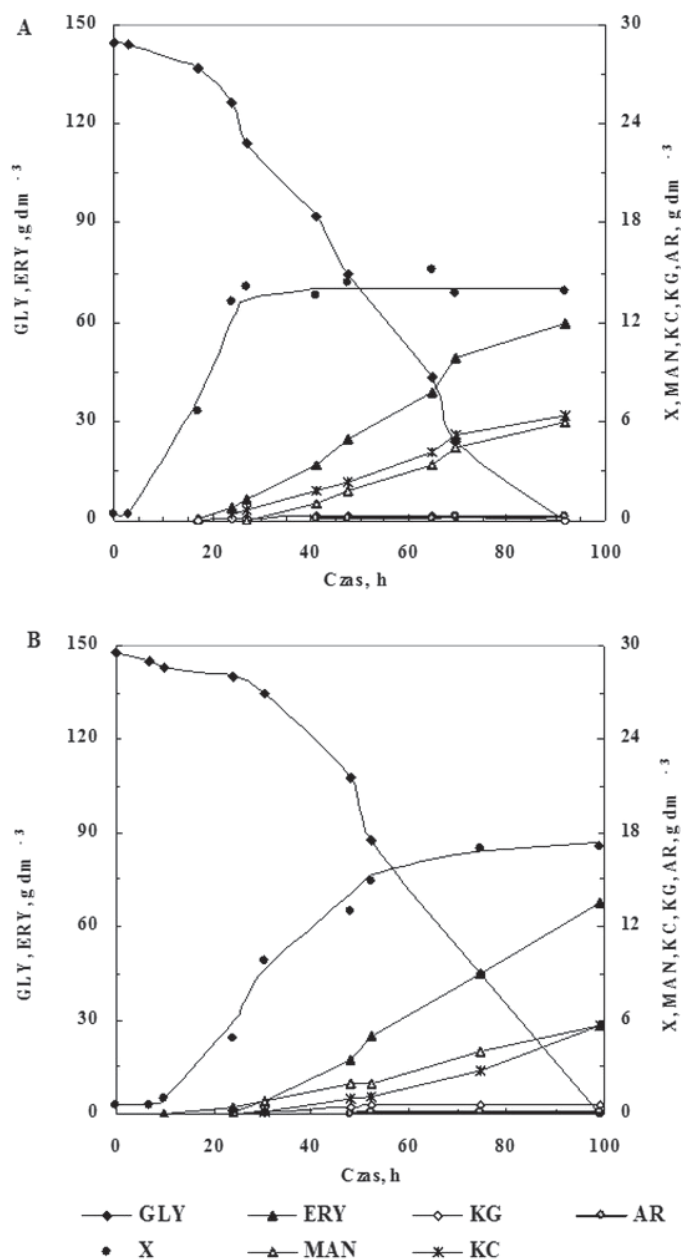
Uzyskane wyniki jednoznacznie wskazały, że dla procesu biosyntezy erytrytoli prowadzonego przez szczep *Y. lipolytica* Wratislavia 1.31 najkorzystniejsze jest stosowanie 2,5% dodatku NaCl do podłoża produkcyjnego.

Bioreaktorowe hodowle produkcyjne prowadzono do całkowitego wyczerpania źródła węgla. Jako substrat zastosowano glicerol techniczny oraz glicerol odpadowy pochodzący z produkcji biodiesla. W tab. 1 zestawiono wyniki hodowli kontrolnych, bez dodatku soli.

Tab. 1. Parametry kinetyczne wzrostu i biosyntezy erytrytoli z glicerolu w hodowlach okresowych bez NaCl

Parametr		Glicerol techniczny	Glicerol odpadowy
Czas	h	100	74,5
X	$\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$	15,1	12,5
ERY	$\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$	36,2	41,2
MAN	$\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$	23,1	8,8
AR	$\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$	1	2,9
KC	$\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$	13,7	4,1
KG	$\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$	0	2,4
Y_{ER}	$\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	0,24	0,28
Q_{ER}	$\text{g} \cdot \text{dm}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$	0,36	0,55
q_{ER}	$\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	0,024	0,046

Stężenie biomasy w fazie stacjonarnej wzrostu w hodowli z czystym substratem wynosiło $15,1 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$, podczas gdy w procesie z glicerolem odpadowym utrzymywało się na niższym poziomie, wynoszącym $12,5 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$. W przypadku stosowania surowców odpadowych należy liczyć się z obecnością w nich różnych zanieczyszczeń, które mogą ograniczać wzrost drożdży. Niektóre badania wykazały minimalne różnice pomiędzy stosowaniem czystego, a odpadowego glicerolu [Ito i in., 2005, Mu i in., 2006], ale istnieją też doniesienia o szczepach *Clostridium butyricum* niezdolnych do wzrostu w podłożach z glicerolem odpadowym, uzyskanym z oleju rzepakowego [Petitdemange i in., 1995]. W niniejszej pracy, pomimo niższego stężenia biomasy w hodowli z glicerolem odpadowym, proces ten był zdecydowanie krótszy 74,5 h, a stężenie uzyskanego erytrytoli wyższe $41,2 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ niż w procesie z czystym substratem (Tab. 1). Wydajność produkcji erytrytoli wynosiła $0,28 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$, a objętościowa i właściwa szybkość syntezy tego związku odpowiednio $0,55 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$ oraz $0,046 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Warto również zauważyć, że glicerol odpadowy generował znacznie mniejsze ilości produktów ubocznych, takich jak mannitol oraz kwas cytrynowy.



Rys. 2. Produkcja biomasy, alkoholi cukrowych, kwasów organicznych oraz zużycie glicerolu przez *Y. lipolytica* Wratislavia 1.31 w hodowli okresowej z 2,5% NaCl. Substrat: glicerol czysty A, glicerol odpadowy B

Przebieg procesu biosyntezy erytrytoli w hodowlach z 2,5% dodatkiem NaCl zaprezentowano na rys. 2, natomiast w tab. 2 porównano wydajność, szybkość objętościową i właściwą procesu produkcji tego związku z glicerolu czystego i odpadowego. W hodowli z czystym substratem fazę stacjonarną drożdże osiągnęły po około 24 godzinach, podczas gdy dopiero po około 48 godzinach przy wykorzystaniu glicerolu odpadowego. Stężenie erytrytoli wynosiło $59,8$ i $67,5 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$, odpowiednio w hodowli z substratem czystym i odpadowym (Rys. 2).

Uzyskane wyniki trudno jest dyskutować, ponieważ badania nad biosyntezą erytrytoli przy użyciu innych mikroorganizmów skupiają się głównie na wykorzystaniu glukozy jako źródła węgla. Ilość produkowanego erytrytoli zależy od użytego mikroorganizmu, systemu hodowlanego oraz składu podłoża i waha się w szerokich granicach od 18 do $243 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ [Jeya i in., 2009, Kim i in., 1997, Koh i in., 2003, Lee i in., 2001, Lin i in., 2001, 2010, Oh i in., 2001, Park i in., 1998, Ryu i in., 2000, Yang i in., 1999]. Najwyższe stężenie tego alkoholu wielowodorotlenowego $243 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ uzyskano z $400 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ glukozy przy wykorzystaniu drożdży *Pseudozyma tsukubaensis* [Jeya i in., 2009].

Badany w niniejszej pracy szczep *Wratislavia* 1.31, w obecności optymalnego stężenia NaCl, generował niewielkie ilości produktów ubocznych. Ilość produkowanego mannitolu oraz kwasu cytrynowego w obu procesach było podobne, około $6 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$. Stężenie pozostałych produktów ubocznych, arabitolu i kwasu α -ketoglutazarowego, nie przekraczało $2,9 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ (Rys. 2).

Podobnie jak w hodowlach bez soli, wyższe wartości parametrów produkcji erytrytolu uzyskano przy wykorzystaniu glicerolu odpadowego (Tab. 2). Wydajność produkcji tego alkoholu wielowodorotlenowego wynosiła $0,46 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$, natomiast szybkość objętościowa jego syntezy $0,68 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$. Warto zauważyć, że dodatek soli do podłoża produkcyjnego spowodował wzrost wartości parametrów biosyntezy erytrytolu o około 30–40% w stosunku do hodowli bez NaCl. Według [Kim i in., 1999] maksymalna produkcja erytrytolu przez *Torula* sp. zachodzi w obecności 0,3 M NaCl lub 0,4 M KCl w środowisku hodowlanym. Najwyższą jak dotąd wydajność produkcji erytrytolu, $0,63 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$, uzyskano w hodowli z udziałem szczepu *Moniliella* sp. 440 N61188-12 [Lin i in., 2010].

Tab. 2. Wydajność i dynamika produkcji erytrytolu z glicerolu w hodowlach okresowych z dodatkiem NaCl

Parametr	Glicerol techniczny	Glicerol odpadowy
Y_{ER} $\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	0,41	0,46
Q_{ER} $\text{g} \cdot \text{dm}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$	0,65	0,68
q_{ER} $\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	0,047	0,04

Podsumowanie i wnioski

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że glicerol – zarówno czysty jak i odpadowy – jest bardzo dobrym substratem do biosyntezy erytrytolu przez szczep *Y. lipolytica* *Wratislavia* 1.31.

Dodatek soli do podłoża produkcyjnego wpływa pozytywnie na parametry produkcji oraz selektywność procesu biosyntezy erytrytolu z glicerolu. Badania wykazały, że optymalne dla tego szczepu stężenie NaCl w podłożu produkcyjnym wynosi 2,5%.

Przy wykorzystaniu glicerolu odpadowego, pochodzącego z produkcji biodiesla, drożdże produkowały $67,5 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ erytrytolu z wydajnością $0,46 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ i produktywnością $0,68 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$.

Wyniki uzyskane w prezentowanej pracy wskazują na możliwość zastosowania badanego szczepu do dalszego doskonalenia procesu produkcji erytrytolu z taniego i atrakcyjnego surowca, jakim jest glicerol odpadowy.

LITERATURA

- Aoki M., Pastore G., Park Y., 1993. Microbial transformation of sucrose and glucose to erythritol. *Biotechnol. Lett.* 154, 383-388. DOI: 10.1007/BF00128281
- Hiele G., Ghooys Y., Rutgeerts P., Vantrappen G., 1993. Metabolism of erythritol in humans: comparison with glucose and lactitol. *Nr. J. Nutr.* 69, 169-176. DOI: 10.1079/BJN19930019
- Ito T., Nakashimada Y., Senba K., Matsui T., Nishio N., 2005. Hydrogen and ethanol production from glycerol-containing wastes discharged after biodiesel manufacturing process. *J. Biosci. Bioeng.* 1003, 260-265. DOI: 10.1263/jbb.100.260
- Jeya M., Lee K.-M., Kumar T. M., Kim J.-S., Gunasekaran P. Kim S.-Y., Kim I.-W., Lee J.-K., 2009. Isolation of a novel high erythritol-producing *Pseudomonas tsukubaensis* and scale-up of erythritol fermentation to industrial level. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 83, 225–231. DOI: 10.1007/s00253-009-1871-5
- Kim H.S., Ju J.Y., Suh J.H., Shin C.S., 1999. Optimized fed-batch fermentation of L- β -hydroxy isobutyric acid by *Yarrowia lipolytica*. *Bioprocess Eng.* 20,189-193. DOI: 10.1007/s004490050580
- Kim S.Y., Lee K.H., Kim J.H., Oh D.K., 1997. Erythritol production by controlling osmotic pressure in *Trigonopsis variabilis*. *Biotechnol. Lett.* 198, 727-729. DOI: 10.1023/A:1018371722456
- Koh E.S., Lee T.H., Lee D.Y., Kim H.J., Ryu Y.W., Seo J.H., 2003. Scale-up of erythritol production by an osmophilic mutant of *Candida magnoliae*. *Biotechnol. Lett.* 25, 2103-2105. DOI: 10.1023/B:BILE.0000007076.64338.ce
- Lee J.K., Ha S.J., Kim S.Y., Oh D.K., 2001. Increased erythritol production in *Torula* sp. with inositol and phytic acid. *Biotechnol. Lett.* 23, 497-500. DOI: 10.1038/sj.jim.7000122
- Lin S.J., Wen C.Y., Liu J.C., Chu W.S., 2001. Screening and production of erythritol by newly isolated osmophilic yeast-like fungi. *Proc. Biochem.* 36, 1249-1258. DOI: 10.1016/S0032-95920100169-8
- Lin S.J., Wen C.J., Wang P.M., Huang J.C., Wei C.L., Chang J.W., Chu W.S., 2010. High-level production of erythritol by mutants of osmophilic *Moniliella* sp. *Proc. Biochem.* 456, 973-979. DOI: 10.1016/j.procbio.2010.03.003
- Mu Y., Teng H., Zhang D.J., Wang W., Xiu Z.L., 2006. Microbial production of 1,3-propanediol by *Klebsiella pneumoniae* using crude glycerol from biodiesel preparations. *Biotechnol. Lett.* 2821, 1755-1759. DOI: 10.1007/s10529-006-9154-z
- Munro I.C., Bernt W.O., Borzelleca J.F., Flamm G., Lynch B.S., Kennepohl E., Bär E.A., Modderman J., 1998. Erythritol: An interpretive summary of biochemical, metabolic, toxicological and clinical data. *Food Chem. Toxicol.* 36, 1139-1174. DOI: 10.1016/S0278-69159800091-X
- Oh D.K., Cho C.H., Lee J.K., Kim S.Y., 2001. Increased erythritol production in fed-batch cultures of *Torula* sp. by controlling glucose concentration. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 26, 248-252. DOI: 10.1038/sj.jim.7000122
- Park J.B., Seo B.C., Kim J.R., Park Y.K., 1998. Production of erythritol in fed-batch cultures of *Trichosporon* sp. *J. Ferment. Bioeng.* 86, 577-580. DOI: 10.1016/S0922-338X9980010-5
- Petitdemange E., Durr C., Andaloussi S.A., Raval G., 1995. Fermentation of raw glycerol to 1,3-propanediol by new strains of *Clostridium butyricum*. *J. Ind. Microbiol.* 15, 498–502. DOI: 10.1007/BF01570021
- Rymowicz W., Rywińska A., Marcinkiewicz M., 2009. High-yield production of erythritol from glucose by raw glycerol in fed-batch cultures of *Yarrowia lipolytica*. *Biotechnol. Lett.* 31, 377-380. DOI: 10.1007/s10529-008-9884-1
- Ryu Y.W., Park C.Y., Park J.B., Kim S.Y., Seo J.H., 2000. Optimization of erythritol production by *Candida magnoliae* in fed-batch culture. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 25, 100-103. DOI: 10.1038/sj.jim.7000039
- Sawada K., Taki A., Yamakawa T., Seki M., 2009. Key role for transketolase activity in erythritol production by *Trichosporonoides megachiliensis* SN-G42. *J. Biosci. Bioeng.* 108, 385-390. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2009.05.008
- Tomaszewska L., Rywińska A., Musiał I., Utecht M., Juszczyk P., Rymowicz W., Wojtatowicz M., Połomska X., 2011. Skrining szczepów drożdży *Yarrowia lipolytica* do biosyntezy erytrytolu z glicerolu. *Acta Sci. Pol.* 101 15-28.
- Ueda M., Yamagishi K., 1997. Method for producing erythritol. European Patent Application EP0770683.
- Yang S.-W., Park J.-B., Han N.S., Ryu Y.-W., Seo J.-H., 1999. Production of erythritol from glucose by an osmophilic mutant of *Candida magnoliae*. *Biotechnol. Lett.* 21, 887-890. DOI: 10.1023/A:1005566420982
- Yu J.-H., Lee D.-H., Oh Y.-J., Han K.-C., Ryu Y.-W., Seo J.-H., 2006. Selective utilization fructose to glucose by *Candida magnoliae*, an erythritol producer. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 129-132. DOI: 10.1385/ABAB:131:1:870

Badania realizowano w ramach projektu nr POIG.01.01.02-00-074/09 „Biotechnologiczna konwersja glicerolu do polioli i kwasów dikarboksyłowych” oraz w ramach grantu N N312256640 „Metabolizm glicerolu do erytrytolu w komórkach drożdży *Yarrowia lipolytica*”.