

BIOETANOL ELŐÁLLÍTÁSA LIGNOCELLULÓZ TARTALMÚ ALAPANYAGOKBÓL

BIOETHANOL PRODUCTION FROM LIGNOCELLULOSES CONTAINING MATERIAL

Hodúr Cecilia¹, László Zsuzsanna¹, Beszédes Sándor¹, Kertész Szabolcs¹,
Kiricsi Imre², Szabó Gábor¹

¹SZTE Mérnöki Kar Gépészeti és Folyamatmérnöki Intézet, 6725 Szeged, Moszkvai krt 5-7.

²SZTE TTIK, Alkalmazott és Környezeti Kémiai Tanszék, 6720 Szeged, Rerrich B. tér 1.

Tel.: 62/546-030, E-mail.: hodur@mk.u-szeged.hu

ÖSSZEFOGLALÓ

A fosszilis energiahordozók mennyiségének csökkenésével és árának emelkedésével, valamint a fenntartható fejlődés elvének előtérbe kerülésével a biomassza alapú energiahordozók felhasználásának lehetősége egyre nagyobb figyelmet kap. A hazai természeti adottságok, és a mezőgazdasági technika lehetővé teszi olyan növények termesztését, valamint a különböző feldolgozási technológiákban keletkeznek olyan hulladékok, amelyek a bio-hajtóanyag előállítás alapanyagai lehetnek. A munkánk során cukorcirok préselt levének, valamint a préselés során keletkező préslepleny és fafeldolgozásból származó faforgács lignocellulóz tartalmának etanollá történő fermentációjával foglalkoztunk. A lignocellulóz a fermentációban résztvevő mikroorganizmusok számára kevésbé bontható, ezért vizsgáltuk a savas, lúgos és gőzzel valamint ózonnal történő előkezelés hatását.

SUMMARY

The quantity of fossil energy sources have diminished thus the prices of them are continuously increasing. Beside these reasons coming into limelight of the principle of sustainable development caused that the using of biomass product as energy source became more important. In Hungary there are a lot of waste materials from different sort of industrial processing and moreover because of the adequate natural resources and highly developed agriculture is possible to grow plants which can be the sources of the raw materials of bio-fuel production processes. In our work we examined the ethanol fermentation process of juice and press-cake of sweet sorghum. Besides we studied the transformation of lignocelluloses content into ethanol by waste wood. The lignocelluloses molecules is hard to accessible for microorganisms and therefore we investigated the effect of applying acidic, alkaline, ozone and saturated steam pretreatment on ethanol yield.

1. BEVEZETÉS

A világ energiafogyasztásának kb. 37%-át a csak korlátozott mennyiségben rendelkezésre álló kőolaj feldolgozásából, illetve elégetéséből fedezik. A nagy energiafogyasztó országok többsége kénytelen a kőolajat importálni, azonban az import kb. 30%-a politikailag instabil országokból (pl. a Perzsa-öböl országaiból) érkezik. Emellett a kőolaj elégetéséből származó szén-dioxid jelentősen hozzájárulhat a globális klímaváltozáshoz. Mindezek következtében a kőolaj felhasználása nem fenntartható, egyre nagyobb az igény a megújuló, a bio-geokémiai körfolyamatokat nem befolyásoló energiaforrások iránt.

A kőolaj környezetbarát kiváltására szóba jöhető folyékony biohajtóanyagok két csoportját különböztetik meg, a növényi eredetű alkoholokat és a növényi olajokat. Ezek alkalmazhatók

motorhajtóanyagként akár önállóan, akár motorhajtóanyagok adalékaként. A bioetanol motorhajtásra benzinhez keverve 20%-ig alkalmazható, az optimális arány 85:15. A tiszta biotanol is használható üzemanyagként, ehhez azonban át kell alakítani a belsőégésű motorokat.

Az etanolt általában cukorból vagy keményítőből, élesztővel végzett fermentációval és az azt követő folyamatos desztillációval nyerik. Az élesztők a cukrokat anaerob körülmények között úgy erjesztik, hogy termékként etanol és szén-dioxid keletkezik:



A bioetanol fő nyersanyagforrásai Európában a cukorrépa, a búza és a kukorica, Észak-Amerikában a kukorica és a búza, Dél-Amerikában a cukornád. Emellett etanol előállítható cellulóz, illetve lignocellulóz tartamú anyagokból is, így. pl. kukoricaszár, faipari hulladék, illetve fűfélék, cirok feldolgozásával.

A lignocellulózokból történő alkohol előállítás első lépése a lignocellulózok cukorrá alakítása. A lignocellulóz három komponense közül (cellulóz, hemicellulóz, lignin) a feltárással szemben a legellenállóbb a szabályos kristályszerkezettel rendelkező lignin (Gregg, Sadler, 1996).

A feltárással alkalmazható módszerek a hidrolízis gyenge, illetve erős savakkal, lúgokkal, oxidálószerrel (pl. hidrogén-peroxiddal), előkezelés gőzzel, illetve az enzimatis hidrolízis. A gyenge savakkal történő hidrolízis ugyan megbontja a lignin szerkezetét, azonban csak kismértékű a cellulóz hidrolízis, így kis glükóz-kihozatal érhető el vele (Stenberg et al., 2000). Az erős savak alkalmazásának hátránya, hogy az erősen korrozív körülmények jelentősen megnövelik az alkalmas berendezések árát, emellett nem kívánatos melléktermékek keletkeznek, csökkent glükóz-kihozatal mellett.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. Felhasznált anyagok

A vizsgálataink alapanyagául faforgácsot és cukorcirok préslepenyét választottuk. A faforgácsot (vegyes keményfa) egy megfelelően átalakított aprítógéppel tovább aprítottuk, kb. 0,5-10 mm-es darabokká. A kísérletekhez használt cukorcirok préslepenyek (*Sorghum bicolor*) a magas cellulóztartalomra nemesített Cellu fajtából származtak.

2.2. Előkezelési módszerek

A gőzzel való feltárásnál 1 kg préslepenyt 6 bar nyomású száraz gőzzel kezeltünk 30 percen keresztül.

A lúgos feltárás során a levét 45 m/m%-os NaOH oldattal a pH=12-re állítottuk, 60°C-on 2 órán keresztül főztük, majd visszahűtés után a pH-t 1n HCl-al visszaállítva pH=5-ön végeztük az enzimatis hidrolízist.

A savas feltárásnál a kísérlettervnek megfelelő mennyiségű préslepenyhez adtunk 400 ml vizet, a pH-t 0,5 n kénsavval állítottuk be.

A hidrogén-peroxidos előkezeléseknél 1 dm³ préslepenyt tartalmazó léhez 5 cm³ 30%-os hidrogén-peroxidot adtunk, majd 1 órán keresztül folyamatosan kevertettük. A maradék hidrogén-peroxid lebontása érdekében a levét 60°C-on melegítettük 2 órán keresztül, majd visszahűtés után 100 µl/l peroxidáz enzimet adagoltunk hozzá.

Az ózonos kezelésekhez Ozomatic Modular 4 típusú ózongenerátort használtunk. Az ózontartalmú gázt folyamatosan átbuboréktaltuk a kezelendő anyagot tartalmazó oldaton, a gáz ózonkoncentrációját folyamatosan mértük a reaktor előtt és után direkt spektrofotometriás

módszerrel, 255 nm-en. A kezelés időtartama 1 óra volt, az ezalatt elnyelt ózon mennyisége 13,7 mg a faforgács esetében, és 18,5 mg az aprított cirokszár esetében.

Az enzim hidrolízisnél celluláz enzimet (Cellulast 1.5L, Novozymes A/S, Dánia; aktivitása 700 U/g), illetve azonos mennyiségű β -glükozidáz enzimet (Novozym 188, Novozymes A/S, Dánia; aktivitása 250 U/g), adagoltunk. A mintákat 400 ml vízben elkevertük, a pH-t meghatározott értékre állítottuk, majd folyamatosan kevert fermentorban (Minifors laboratóriumi fermentor) kezeltük.

2.3. Fermentáció

Az előkezelt mintákat 96 órán át fermentáltuk *Saccharomices cerevisiae* fajtájú segítségével. A fermentációs kísérletek Labfors Minifors típusú laboratóriumi fermentoregységben 30°C-on végeztük. A keverékhez élesztőtápsót (Vitamon Combi: DAP+B-vitamin) adagoltunk.

2.4. Analitikai módszerek

A cukortartalom meghatározása refraktometriás (BRIX%), illetve spektrofotometriás módszerrel (3,5 dinitro-szalicilsavval való színreakció alapján, kalibráció után) történt.

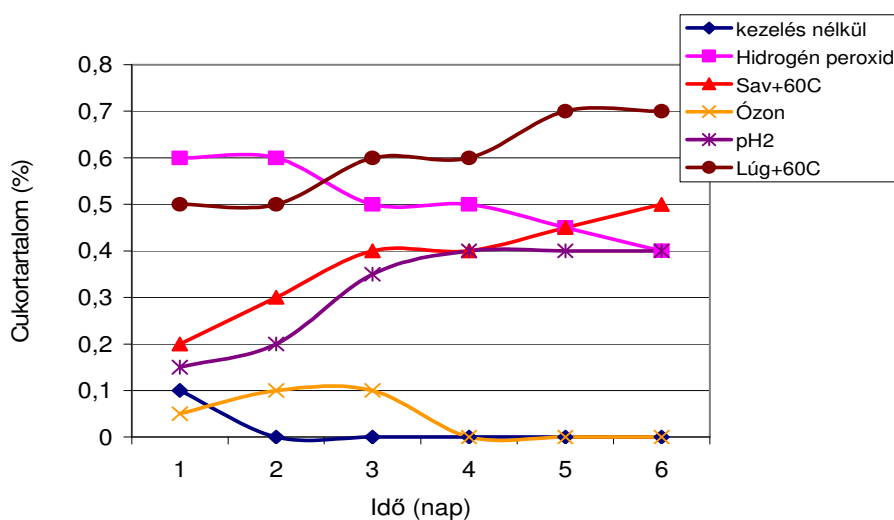
Az alkohol mennyiségét gázkromatográffal határoztuk meg, a kalibrációs oldat sorozatot a mátrixhatás elkerülése érdekében az előkezelt léhez meghatározott mennyiségű alkoholt adva állítottuk elő.

3. EREDMÉNYEK

3.1. Cukrosítási vizsgálatok

A kísérletek első sorozatában megvizsgáltuk, hogy a különböző előkezeléseket követő enzim feltárás során mennyi cukor szabadul fel, vagyis melyik előkezelés bizonyult a lignocellulóz-bontás szempontjából a leghatásosabbnak.

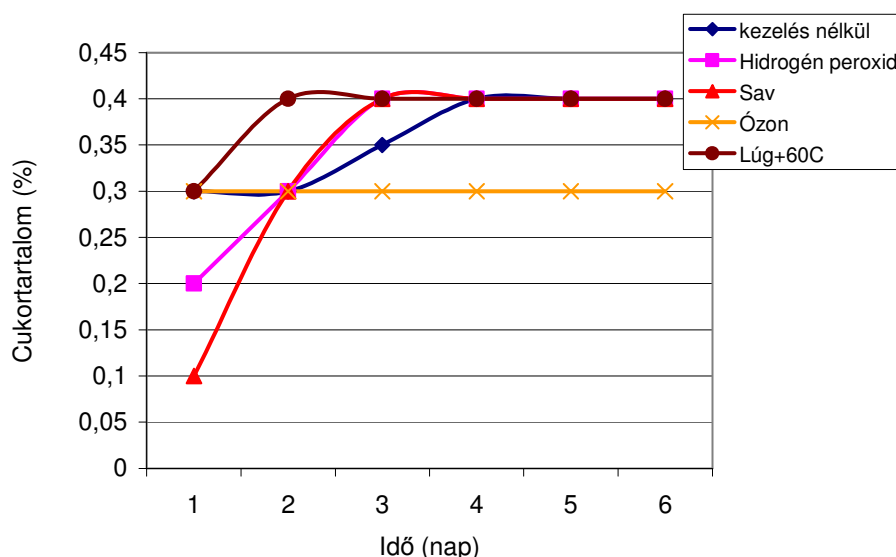
A faforgács esetében a előkezelés nélkül az enzimatis bontás egyáltalán nem játszódik le. Az ózonkezelés ugyan kismértékben megbontotta a fa szerkezetét, ez azonban nem volt elegendő ahhoz, hogy megfelelő mértékű legyen az enzimatis bontás.



1. ábra: A különböző előkezelések hatása a lignocellulózok cukrosítási hatékonyságára faforgács esetében

A savas hidrolízis után folyamatosan növekedett az oldat cukortartalma, és látható, hogy az eljárás eredményesebb volt, ha a savas kezelést magasabb hőmérsékleten (60°C-on) végeztük. A legeredményesebbnek a lúgos és a hidrogén-peroxiddal történő feltárás bizonyult, ezekben az esetekben már 1 nap alatt viszonylag magas cukorkoncentráció volt elérhető

A másik alapanyagunk, a cukorcirok szár, esetében is vizsgáltuk a különböző előkezelések hatékonyságát. Az eredmények azt mutatják, hogy a cirokszár esetében az előkezelésnek nincs különösebb hatása az elérhető cukorkoncentráció szempontjából.



2. ábra: Előkezelések hatása az enzimatis hidrolízisre cirokszár esetében

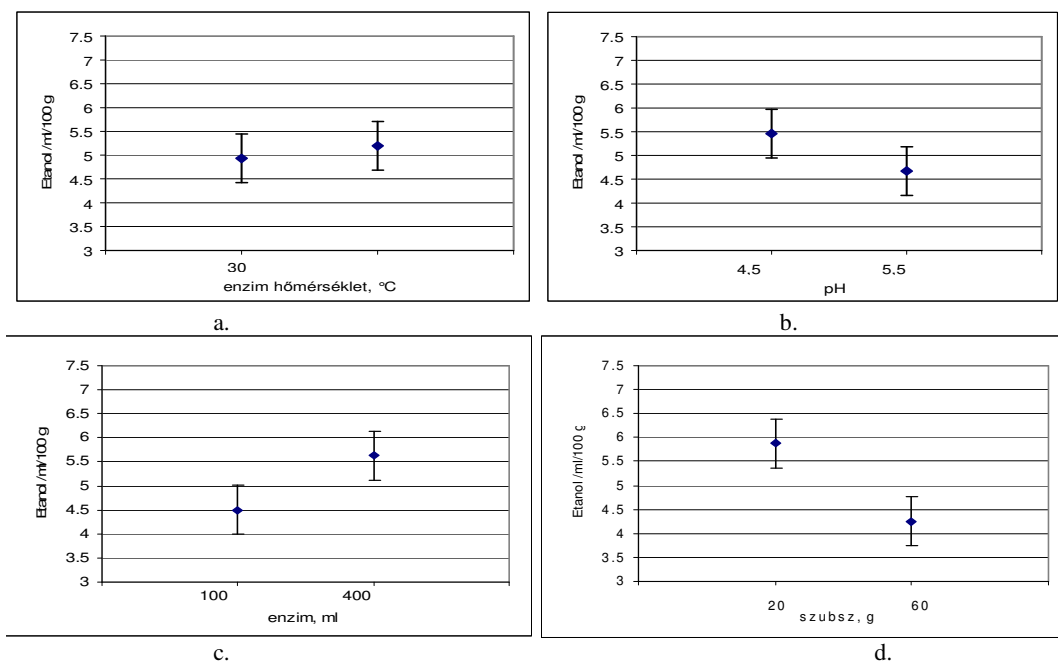
Leggyorsabban ebben az esetben is a lúgos feltárás során növekedett a cukortartalom, míg a legrosszabb eredményeket itt is az ózonos előkezelés adta. Megfigyelhető azonban, hogy a cirokszár -a faforgáccsal ellentétben – előkezelés nélkül is jól bontható, bár ebben az esetben a maximális cukorkoncentráció kialakulásához hosszabb idő szükséges.

3.2. A fermentáció körülményeinek optimalizálása

A kísérletsorozatban arra kerestünk választ, hogy az egyes paraméterek mennyiben befolyásolják a kinyerhető alkohol mennyiségét. A kísérletek során összehasonlítottuk a gőzzel, savval, illetve az előkezelés nélkül, csak enzimekkel történő kezelés után kinyerhető alkohol mennyiségét cukorcirok préslepeny esetében.

Mivel 3 különböző kezelési mód esetében 4 paraméter optimális beállításáról van szó, az optimum meghatározásához kísérlettervet készítettünk, majd négytényezős varianciaanalízissel értékeltük a kapott eredményeket. Az értékelés során az optimalizálandó paraméter az egységnyi mennyiségű cukorcirok préslepenyből kinyerhető alkohol mennyisége volt.

A varianciaanalízis eredménye azt mutatta, hogy a paraméterek közül az alacsonyabb szubsztrátkoncentráció és a magasabb enzinkoncentráció meghatározó az alkoholkhozatal szempontjából, míg a pH és a kezelés hőmérséklete nem befolyásolja szignifikánsan az alkoholkhozata



3. ábra. A kezelés hőmérsékletének (a), pH-jának (b), az enzim mennyiségének (c) és a 400 ml vízben oldott szubsztrát mennyiségének (d) hatása a 100 g préslepenyből kinyerhető etanol mennyiségére

Az enzimkezelés optimumának meghatározásánál elvégzett kísérletsorozat alapján optimális beállításnak tekinthetjük, ha az enzimkezelést és a fermentációt pH= 4,98, 42°C-on végezzük, literenként 0,67 ml celluláz (470 U/l) és 0,67 ml β -glükózidáz (100 U/l) enzimet adagolunk a szuszpenzióba, amely literenként 75 g préslepenyt tartalmaz. Megállapítható, hogy az optimális beállítások alkalmazásával az elméletileg kinyerhető alkoholmennyiség 61,3%-a szabadítható fel..

4. AZ EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE, JAVASLATOK

A faforgács esetében a előkezelés nélkül az enzimatis bontás egyáltalán nem játszódik le, az általunk végzett előkezelések közül leghatékonyabbnak a lúgos és a hidrogén-peroxiddal történő feltárás bizonyult. A cirokszár esetében az előkezelésnek nincs különösebb hatása az elérhető cukorkoncentráció szempontjából. Az etanolfermentáció esetében az alacsonyabb szubsztrátkoncentráció és a magasabb enzimkoncentráció meghatározó az alkoholkhozatal szempontjából, míg a pH és a kezelés hőmérséklete nem befolyásolja szignifikánsan az alkohol-kihozatalt. A desztilláció során bekövetkező veszteségeket is figyelembe véve 100 kg préslepenyből 12,2 l tiszta etanol nyerhető ki

5. IRODALOM

- 1) Gregg, D.J., Saddler, J.N. (1996): Factors Affecting Cellulose Hydrolysis and the Potential Enzyme Recycle to Enhance the Efficiency on fan Integrated Wood to Ethanol Process. *Biotechnology and Bioengineering* 51 pp.375-383.
- 2) Stenberg, K., Bollók, M., Réczey, K., Galbe, M.(2000): Effect of Substrate and Cellulase Concentration on Simultaneous Saccharification and Fermentation of Steam-Pretreated Softwood for Ethanol Production. *Biotechnology and Bioengineering*, 68(2) pp.204-210.