

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**MEZŐGAZDASÁGI HULLADÉKOK HASZNOSÍTÁSÁNAK
ÉS AZ ALKALMAZOTT ENZIM VISSZANYERÉSÉNEK
LEHETŐSÉGEI**

Ábel Marietta

Témavezető:

Prof. Dr. Hodúr Cecilia
egyetemi tanár, az MTA doktora



Környezettudományi Doktori Iskola
Szegedi Tudományegyetem
Szeged

2016

1. KUTATÁSI ELŐZMÉNYEK

A növekvő energia felhasználás, valamint a gazdaságosan kitermelhető, illetve felhasználható fosszilis tüzelőanyag tartalékok mennyiségének folyamatos csökkenése miatt kiemelt fontosságú az új, és még kiaknázatlan nyersanyagbázisok, illetve a megújuló energiaforrások hasznosítási eljárásainak fejlesztése. Ebből a megfontolásból kiindulva, nagy biomassza tömeget produkáló növényi alapanyagok termesztését, ill. mezőgazdasági és élelmiszeripari hulladékok vizsgálatát végzik, hogy nyersanyagforrásként alkalmazhatóvá váljanak, pl. bioetanol gyártáshoz. Az alapanyagok előkezelésének fontos szerepe lehet a bioetanol gyártás technológiájában, a cellulóz enzimes hidrolízisének hatékonyságnövelése szempontjából; az előkezelés hatására a poliszacharid sejtfaiban részleges lebomlás indul meg, ezáltal a cellulóz hozzáférhetőbbé válik az enzimek számára. Membránszeparáció alkalmazásával az alkalmazott enzimek visszaforgatása valósítható meg, és így a folyamat olcsóbbá tehető.

2. KUTATÁSI CÉLKITŰZÉSEK

Doktori értekezésemben a cellulóz-, ill. hemicellulóz tartalmú hulladékok enzimes cukrosítását, illetve etanollá alakítását, valamint a folyamatban felhasznált enzimek visszaforgatását tűztem ki célul. Az enzimes lebontási folyamat hatékonyságának növelése céljából különféle előkezelési eljárásokat (aprítás, gőzrobbantás, savas-lúgos kezelés, mikrohullámú energiabevitel, termikus kezelés), valamint a kezelési körülmények paramétereinek változtatását (kezelési idő, hőmérséklet, enzim/szubsztrát arány, aprítási fok), illetve a konverziós folyamat módját (szimultán cukrosítás és fermentáció, ill. elkülönített cukrosítás és fermentáció) vizsgáltam meg, hogy meghatározzam a lebontási folyamatra gyakorolt hatásukat. Az eljárás gazdasági hatékonyságának növelése érdekében további feladatként tűztem ki, hogy a bioetanol előállítási folyamat során olyan vegyszermentes, környezetkímélő és költséghatékony eljárást dolgozzak ki, amellyel a hidrolízis során alkalmazott enzimek a folyamatba minimális veszteséggel visszaforgathatóvá válnak.

3. ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

Kísérleteimet az SZTE Mérnöki Kar Folyamatmérnöki Intézetében, valamint a Norwegian University of Life Sciences (UMB, Ås, Norway) végeztem. Alapanyagként az élelmiszeriparban és a mezőgazdaságban keletkező cellulóztartalmú hulladékokat használtam fel: cukorrépaszelet, cukorrépa pellet, biomassza dohány, ipari hulladék dohány növény, nyírfa apríték.

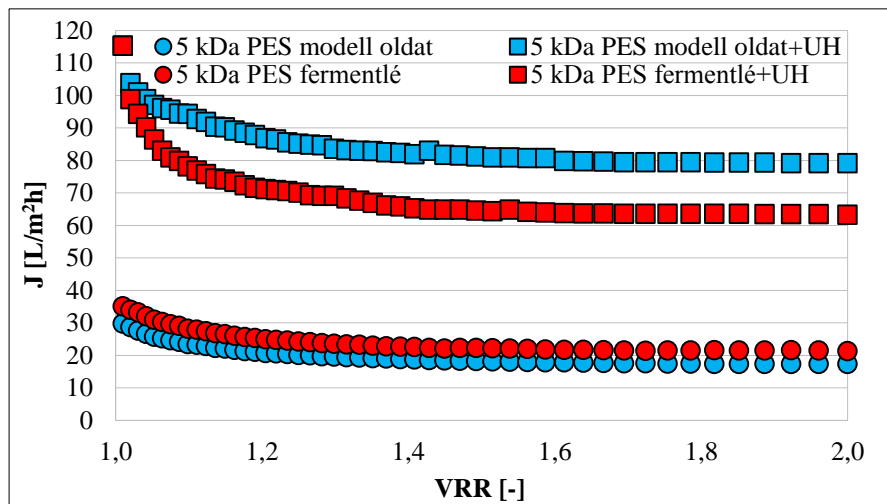
Az alapanyagok mechanikai előkezelését, aprítását egy laboratóriumi verőcsapos diszmembrátor berendezéssel, illetve kutterrel végeztem, a fermentlevek termikus előkezelését pedig fűthető, laboratóriumi keverő (ARE Heat Magnetic Stirrer) segítségével hajtottam végre. A mikrohullámú előkezeléseket egy laboratóriumi (Labotron 500, Bucher-Guyer AG) mikrohullámú berendezésben végeztem 250; 500, 800 W teljesítmény mellett, eltérő kezelési időtartamig. A nyírfa apríték esetében a gőzrobbantásos előkezelésekhez egy a gőzrobbantás elvén működő berendezést alkalmaztam, (Cambi AS, Asker, Norway).

Munkám során minden esetben először a minták enzimatisz feltárása során felszabaduló redukáló cukortartalmat határoztam meg spektrofotometriás (NANOCOLOR[®] UV/VIS, Macherey-Nagel) módszerrel, (3, 5 -dinitro-szalicilsavval való színreakció alapján). Az aprított nyírfakéreg minták esetében spektrofotometriás mérés mellett, RI detektoros Dionex Ultimate 3000 típusú nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás módszert (Dionex, Sunnyvale, CA, USA) is alkalmaztam. A szeparált hidrolízis és fermentációval, illetve szimultán cukrosítás és fermentációval végrehajtott kísérleteket laboratóriumi fermentációs egységben (Labfors Minifors, Belgium), ill. rázatott lombikos módszer (Tecator 1024) segítségével hajtottam végre. A hidrolízis során nyert fermentlé alkoholtartalmának meghatározásához kétféle módszert alkalmaztam. Az egyik módszerként egy klasszikus laboratóriumi desztilláló egységet használtam, az alkoholtartalmát egy belső etilalkohol-kalibrációval rendelkező Refracto 30GS típusú refraktométerrel (Mettler Toledo, Svájc) határoztam meg. A másik módszert stabilwax kolonnával rendelkező gázkromatográfiás eljárással (GC), DANI Master, Restek gyártmányú készülékkel végeztem. Az enzim visszanyerésének és visszaforgatásának céljából egy kevertetett, szakaszos laboratóriumi ultraszűrő berendezést (MEUF - Micellar Enhanced Ultrafiltration) (Millipore, USA, 2002) használtam. A szűrések során ultrahangos erőter létrehozásával, a membránkészülékhez épített ultrahangkészülékkel (UP 100 H Ultrasonic processor, Hielscher, Germany) is vizsgáltam a szűrések hatékonyságát, 60%-os amplitúdó, valamint 3,5 bar transzmembrán nyomás, valamint 350 RPM fordulatszám mellett. A kísérletekhez 4 kDa vágási értékű vékonyréteg (TF), valamint 5 kDa, 7 kDa, illetve 50 kDa vágási értékű poliéterszulfon (PES) ultraszűrő membránokat használtam. A szeparált enzim aktivitásának ellenőrzése céljából a klasszikus szűrőpapír tesztet alkalmaztam.

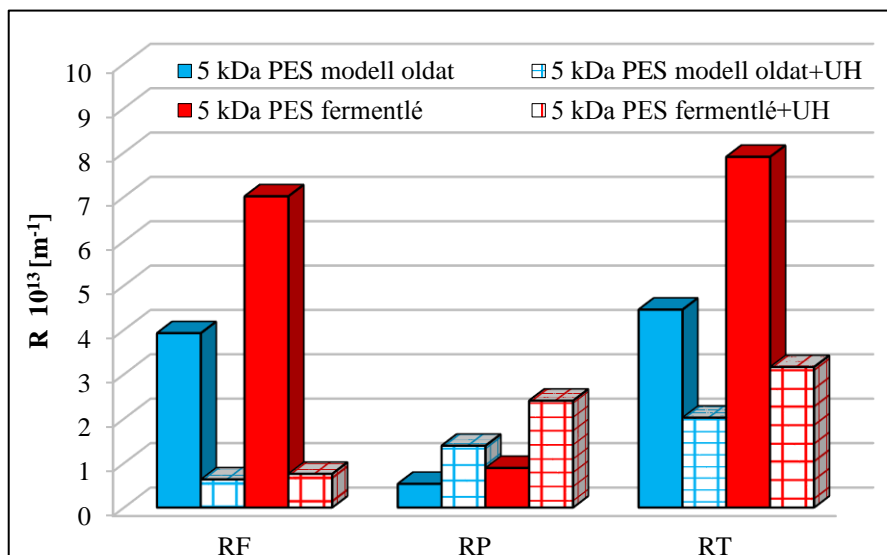
4. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Bizonyítottam, hogy a cukorrépa pellet esetében az ultrahang erőterében végzett membránszeparáció során a fluxus értékek nagyobbak, elsősorban az eltömődési ellenállás jelentős csökkenése következtében.

Marietta Ábel, Gábor Szabó, Oriane Poser, Zsuzsanna László, Cecilia Hodúr: Enzyme recovery and fouling mitigation by ultrasound-enhanced ultrafiltration, Desalination and Water Treatment, 51 (25-27) (2013), pp. 4921-4926. IF: 1,18



1. ábra: 5 kDa PES (poliétterszulfon) membránon szűrt modell oldat és fermentlé fluxus értékei normál és ultrahangos erőter alkalmazása során



2. ábra: 5 kDa PES (poliétterszulfon) membránon szűrt modell oldat és fermentlé ellenállás értékei normál és ultrahangos erőter alkalmazása során

- 2. A klasszikus szűrőpapír teszttel végzett enzimaktivitás mérések segítségével bizonyítottam, hogy az ultrahang alkalmazása az enzimek újbóli felhasználását nem befolyásolja.**

Marietta Ábel, Gábor Keszthelyi-Szabó, Dóra Vitay, Cecilia Hodúr: Membrane separation and sonication in bio-ethanol production Desalination and Water Treatment (2015), pp. 1-6. IF: 0,93

Az ultrahang-erőtérnek kitett enzimek újbóli felhasználása esetében aktivitásuk nem csökkent, sőt esetenként kicsit nagyobb cellulózbontást tapasztaltam, mint ultrahang használata nélküli esetekben.

- 3. A cukorrépa pellet esetében bizonyítottam, a szemcseméret és az enzim arány cukortermelődésre vonatkozó együttes hatását.**

A szemcseátmérő növelése (max.0,63 mm) adott enzimarány mellett nagyobb kihozatalt eredményez. Feltételezhetően a kisebb méretű, hosszabb idejű aprításnak kitett szemcséknél a lokálisan jelentkező, akár igen jelentős hőfejlődés által előidézett fizikai-, kémiai változások, megváltoztatják a minták makroszkópikus viselkedését, pl. a szuszpendáltathatóságot, az aldóz-ketóz arányt, stb.

1. táblázat: Cukorrépa pellet maximális cukorkihozatal értékei adott enzimarány és szemcseméret mellett

<i>CLA/CLB</i>	<i>Cukorrépa pellet szemcsemérete [mm]</i>	<i>Maximális cukorkihozatal [mg_{cukor}/g_{sz.a.}]</i>
1,4	0,63	23,788
1,4	0,40	14,550
1,0	0,315	8,036
0,8	0,50	7,370
0,7	0,80	20,421
0,7	0,25	15,019
0,7	0,20	8,316
0,4	1,00	11,804

- 4. Bizonyítottam, hogy a dohány minták esetében a mikrohullámú előkezelés növeli a minták enzimes lebonthatóságát, továbbá bizonyítottam azt is, hogy a mikrohullámú előkezelés hatását, elsősorban az alkalmazott teljesítményszint határozza meg, a közölt energia nagyságával szemben, és a kifejtett hatás mértéke függ a minták összetételétől.**

Marietta Ábel, Kinga Drenda, Balázs Lemmer, Sándor Beszédes, Gábor Keszthelyi-Szabó, Cecilia Hodúr: Combined pre-treatment for saccharification, Acta Technica Corviniensis – Bulletin of Engineering, 8 (4) (2015), pp. 111-114.

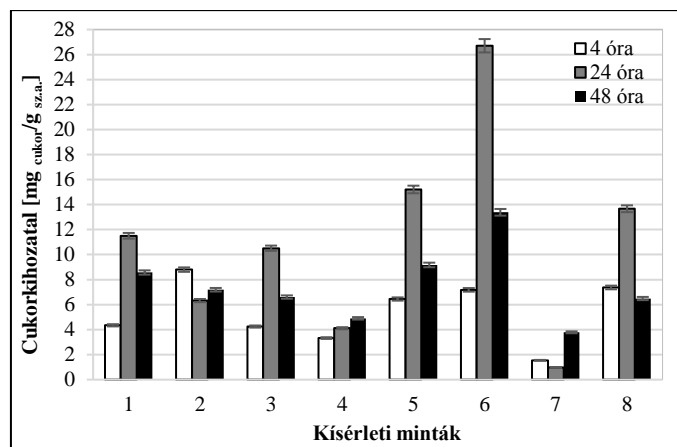
A mikrohullámú energia segítségével a cellulóz/lignocellulóz/lignin molekulák közötti kötések könnyebben felbomlanak, szerkezetük lazul, így a hidrolízis hatékonyabbá, a cellulóz molekulák pedig az enzimek számára hozzáférhetőbbé válnak.

A mintáktól függően eltérő teljesítményszintnél értem el a legnagyobb cukorkihozatalt, ez a kísérleti dohány mintáknál 250 W és 3 perc, a melléktermék dohány mintáknál 500 W és 1,5 perc volt. Ez az eltérés azzal magyarázható, hogy a kísérleti dohány minták az egész növényt, míg a melléktermék dohány minták elsősorban szár részeket tartalmaznak, tehát eltérő a lignin-cellulóz arány a mintáknál. A melléktermék minták esetében a lignocellulóz kötegek fellazításához nagyobb sugárzási energia bevitelre van szükség. A mikrohullámú és lúgos – termikus kezelések együttes alkalmazása a cukor kihozatali mutató további növekedését nem eredményezte.

5. Bizonyítottam, hogy az alkalmazott kísérleti- és melléktermék dohány minták esetében xylanáz enzimmel hatékonyabban végezhető el a lebontás, nagyobb cukorkihozatal érhető el, mint a celluláz/cellobiáz enzimek alkalmazásakor.

A xylanáz enzim, az elvárásnak megfelelően, a melléktermék dohány mintákra volt nagyobb hatással, és még kifejezettebb volt ez a különbség a szimultán cukrosítás és fermentációs (SSF) technológia esetében. A celluláz/cellobiáz különböző enzimarányokkal végzett kísérletekhez képest a xylanáz enzim használatával minden esetben jelentősen nagyobb mennyiségben képződött cukor, ezáltal az etanol kihozatal is mindkettő dohány minta esetében nagyobb volt. Az egységnyi szárazanyagra számított etanol mennyisége is 20-30-szor nagyobb a xylanáz enzim alkalmazása mellett, mint a celluláz/cellobiáz enzimek használatakor.

6. Bizonyítottam, hogy a nyírfa apríték esetében a gőzrobbantás hatékony előkezelésként szolgál, valamint azt is kimutattam, hogy a redukálószeres adagolása nem okoz cukortermelődés növekedést.

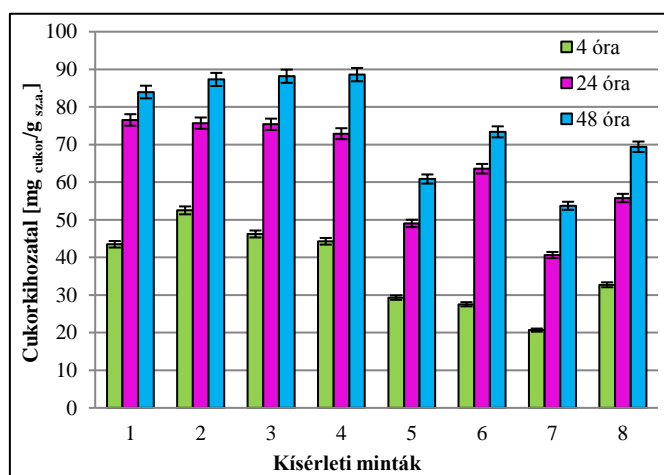


3. ábra: A gőzrobbantott és előkezelés nélküli minták cukorkihozatal különbségei (pH 5; T=50 °C)

2. táblázat: Nyírfa minták hidrolízisének kísérleti paraméterei

Minták	500 mM EDTA [cm ³]	500 mM glutation [cm ³]	500 mM Cu [cm ³]	enzim (cellic CTec2) [cm ³]
1	0	0	0	0,3
2	0	0	0,01315	0,3
3	0	0,0526	0	0,3
4	0	0,0526	0,01315	0,3
5	0,1315	0	0	0,3
6	0,1315	0	0,01315	0,3
7	0,1315	0,0526	0	0,3
8	0,1315	0,0526	0,01315	0,3

Alkalmas fizikai előkezelés a gőzrobbantás, mert egyrészt elősegíti a hemicellulóz hidrolízisét, másrészt fokozza a biomasszában még jelen lévő cellulóz enzimátikus lebontását.



4. ábra: Gőzrobbantással előkezelt nyírfa cukor kihozatali értékei (pH 5; T=50 °C)

Nincs szignifikáns különbség tehát a csak enzimet tartalmazó (1.) minta és az adalékot tartalmazó (2. – 4.) minták között. Ezért gazdaságossági szempontokat figyelembe véve nem célszerű a hidrolízist redukáló szerekkel fokozni.

5. A DOKTORI ÉRTEKEZÉS ALAPJÁT KÉPZŐ KÖZLEMÉNYEK

1. Membrane separation and sonication in bio-ethanol production

Marietta Ábel, Gábor Keszthelyi-Szabó, Dóra Vitay, Cecilia Hodúr
Desalination and Water Treatment (2014), pp. 3725-3730. IF: 1,272
Folyóirat szakterülete: Ocean Engineering, 39/156 (Q1), Water Science and Technology, 90/230 (Q2), Pollution, 56/124 (Q2)
IV. Agrártudományok Osztálya A

2. Enzyme recovery and fouling mitigation by ultrasound-enhanced ultrafiltration

Marietta Ábel, Gábor Szabó, Oriane Poser, Zsuzsanna László, Cecilia Hodúr
Desalination and Water Treatment, 51 (25-27) (2013), pp. 4921-4926. IF: 1,18
Folyóirat szakterülete: Ocean Engineering, helyzete: 35/86 (Q2)
Folyóirat szakterülete: Water Science and Technology, helyzete: 78/185 (Q2), Pollution, 50/99 (Q2), IV. Agrártudom. Osztálya A
Független idéző: 1, Összesen: 1

3. Ultrasonically Assisted Ultrafiltration of Whey Solution

Marietta Ábel, Zsolt László Kiss, Sándor Beszédes, Cecilia Hodúr, Gábor Keszthelyi-Szabó, Zsuzsanna László
Journal of Food Process Engineering, 38 (2015), pp. 467-473. IF: 0,745
Folyóirat szakterülete: Chemical Engineering (miscellaneous), 120/364 (Q2), Pollution, 56/124 (Q2), IV. Agrártudományok Osztálya, A
Független idéző: 2, Függő idéző: 1, Összesen: 3

4. Combined pre-treatment for saccharification

Marietta Ábel, Kinga Drenda, Balázs Lemmer, Sándor Beszédes, Gábor Keszthelyi-Szabó, Cecilia Hodúr
Acta Technica Corviniensis – Bulletin of Engineering, 8 (4) (2015), pp. 111-114.

5. Enhanced bioethanol production from extracted sugar beet chips

Marietta Ábel, Zsolt László Kiss, Gábor Szabó, Cecilia Hodúr
Hungarian Agricultural Engineering, 23 (2011), pp. 50-52.

6. Cukorrépa cellulóz cukrosítása bioetanolhoz

Ábel Marietta, László Zsuzsanna, Szabó Gábor, Hodúr Cecilia
Membrántechnika és Ipari Biotechnológia, 2 (3) (2011), pp. 34-39.
IV. Agrártudományok Osztálya A

ELŐADÁSOK, POSZTEREK, KONFERENCIA RÉSZVÉTELEK

1. Microwave pre-treatment combined saccharification

Cecilia Hodúr, Marietta Ábel, Kinga Drenda, Sándor Beszédes, Gábor Keszthelyi-Szabó
The Energy & Materials Research Conference, Madrid, Spain, 2015.02.25-27.

2. Membrane separation and sonication in bio-ethanol production

Marietta Ábel, Gábor Keszthelyi-Szabó, Dóra Vitay, Cecilia Hodúr
Conference and Exhibition on Desalination for the Environment Clean Water and Energy,
Limassol, Ciprus, 2014.05.11-15.

3. Enzyme recovery by membrane separation and sonication

Marietta Ábel, Dóra Vitay, Zsuzsanna László, Gábor Keszthelyi-Szabó, Cecilia Hodúr
International ISEKI Food Conference, Athens, Greece, 2014. 05.21-23.

4. Membránszeparáció alkalmazása az élelmiszeripari hulladékokból történő enzim visszanyerésre

Ábel Marietta, Sproch Róbert, Szélpál Szilárd, Hodúr Cecilia
Műszaki Kémiai Napok, Veszprém, Magyarország, 2013.04.23-25.
(ISBN: 978-615-5044-79-3)

5. Tobacco as a raw material for fuel-ethanol

Marietta Ábel, Orsolya Sütöri, Gábor Keszthelyi-Szabó, Cecilia Hodúr
40th International Conference of SSCHE, Tatranske Matliare, Szlovákia, 2013.05.27-31.
(ISBN: 978-80-89475-09-4)

6. Biogas production in dairy waste water

Marietta Ábel, Kristóf Szabó, Zsolt László Kiss, Sándor Beszédes, Cecilia Hodúr, Gábor Keszthelyi-Szabó, Zsuzsanna László
Food Science Conference, Budapest, Magyarország, 2013 11.07-08.
(ISBN: 978-963-503-550-2)

7. Enzyme recovery and fouling mitigation by ultrasound enhanced ultrafiltration

Marietta Ábel, Gábor Szabó, Oriane Poser, Zsuzsanna László, Cecilia Hodúr
International Conference on Membranes in Drinking and Industrial Water Production,
Leeuwarden, Hollandia, 2012. 09.10-12.

8. Microwave enhanced biodegradability of food processing wastewater sludge

Beszédes Sándor, Ludányi Lajos, Ábel Marietta, Hodúr Cecilia, Szabó Gábor
IWA Regional Conference on Wastewater Purification & Reuse
Heraklion, Görögország, 2012.03.28-30.(ISBN: 978-960-99889-2-6)

9. Enzyme separation experiments for membrane bioreactor

Marietta Ábel, Róbert Sproch, Zsolt Kiss, Gábor Szabó, Cecilia Hodúr
International conference on science and technique in the agri-food business – ICoSTAF Szeged,
Magyarország, 2012.06.07.

10. Húsipari szennyvizek membrános koncentrálnási eljárásainak vizsgálata biogáz fermentáció hatékonyságának növelése céljából

Beszédes Sándor, Ábel Marietta, László Zsuzsanna, Szabó Gábor, Hodúr Cecília
Műszaki Kémiai Napok 2011, Conference of Chemical Engineering 2011.Veszprém,
Magyarország, 2011.04.27-29.
(ISBN: 978-615-5044-07-6)

11. Enhanced bioethanol production from extracted sugar beet chips

Marietta Ábel, Zsuzsanna László, Gábor Szabó, Cecília Hodúr
33 International Symposium of Section IV of CIGR, Bucuresti, Romania, 2011.06.23-25.
(ISBN: 978-606-521-686-0)

12. Biogas production from food industry wastewater sludge intensified by microwave irradiation

Sándor Beszédes, Marietta Ábel, Zsuzsanna László, Gábor Szabó, Cecília Hodúr
33 International Symposium of Section IV of CIGR, Bucuresti, Romania, 2011.06.23-25.
(ISBN: 978-606-521-686-0)

13. Enhanced bioethanol production from extracted sugar beet chips

Marietta Ábel, Zsuzsanna László, Gábor Szabó, Cecília Hodúr
Synergy 2011 - Synergy in the Technical Development of Agriculture and Food Industry,
Gödöllő, Magyarország, 2011. (ISBN: 978-963-269-249-4)

EGYÉB KÖZLEMÉNYEK

1. Enzyme recovery by membrane separation method from waste products of the food industry

Szélpál Szilárd, Oriane Poser, Ábel Marietta
Acta Technica Corviniensis – Bulletin of Engineering 6, (2) (2013), pp. 149-154.

2. A Szlovák Kémikusok 40. Nemzetközi Konferenciája: Beszámoló

Szélpál Szilárd, Ábel Marietta, Kiss Zsolt László
Membrántechnika és Ipari Biotechnológia 4, (3) (2013), pp. 53-54.

3. Bio-fuels from cellulose by microwave irradiation

Sándor Beszédes, Aurelie Tachon, Balázs Lemmer, Marietta Ábel, Gábor Szabó, Cecília Hodúr
Annals of Faculty of Engineering Hunedoara - International Journal of Engineering 10, (2)
(2012), pp. 43-48.
Független idéző: 3, Függő idéző: 3, Összesen: 6

4. Application of response surface methodology to optimize microwave sludge conditioning for enhanced biogas production

Sándor Beszédes, Marietta Ábel, Zsuzsanna László, Gábor Szabó, Cecília Hodúr
Annals of Faculty of Engineering Hunedoara - International Journal of Engineering 9, (2)
(2011), pp. 189-193.
Független idéző: 1, Függő idéző: 1, Összesen: 2

5. Enhanced enzymatic saccharification of agri-food solid wastes by microwave pre-treatment

Sándor Beszédes, Marietta Ábel, Gábor Szabó, Cecilia Hodúr, Zsuzsanna László

Annals of Faculty of Engineering Hunedoara - International Journal of Engineering 9, (3) (2011), pp. 453-458.

Független idéző: 4, Függő idéző: 1, Összesen: 5