ΟΛΙΣΤΙΚΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΗΣ ΒΙΟΜΑΖΑΣ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ *TYPHA DOMINGENSIS* ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΓΛΥΚΟΖΗΣ: ΕΜΦΑΣΗ ΣΤΗΝ ΥΔΡΟΛΥΣΗ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΝΙΚΟΥ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ

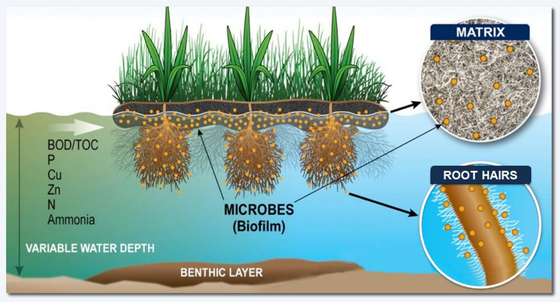
Θ. Μ. Μίγκος[1], Α. Καραπατσιά[1,2], Χ. Χατζηδούκας[1,2*]

[1]Τμήμα Χημικών Μηχανικών, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

[2]Ινστιτούτο Χημικών Διεργασιών και Ενεργειακών Πόρων, ΙΔΕΠ/ΕΚΕΤΑ

(*chatzido@auth.gr)

ΕΙΣΑΓΩΓΗ



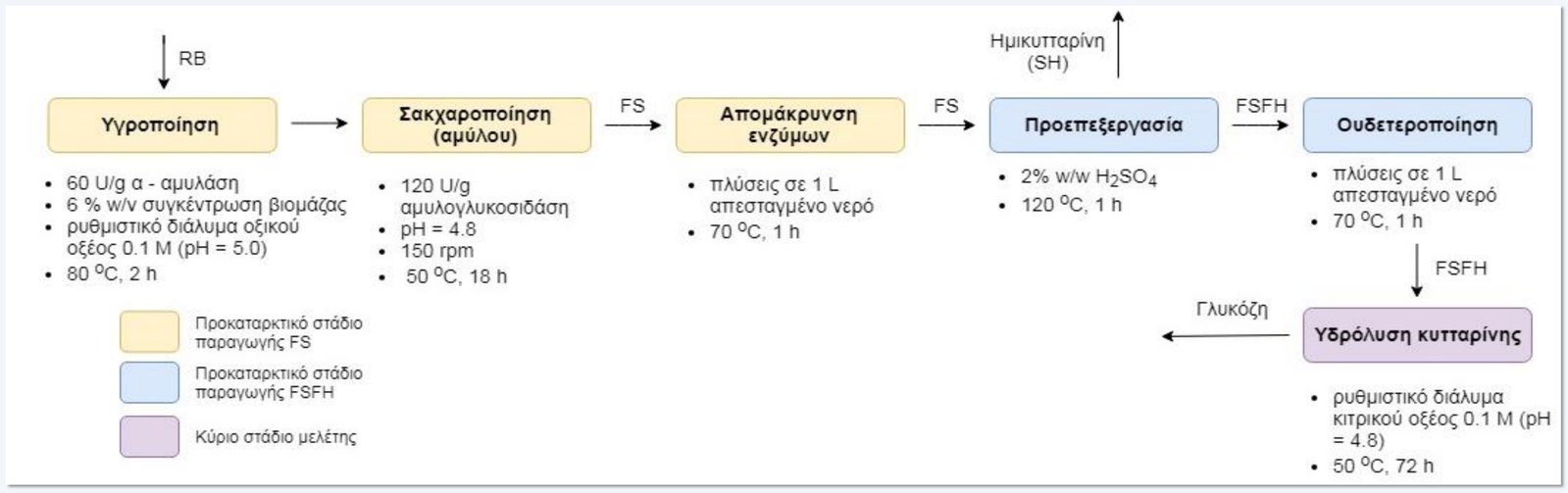
Cellulose $\xrightarrow{\text{endo \& exo-glucanase}}$ Glucans + Cellobiose $\xrightarrow{\beta\text{-glucosidase}}$ Glucose

Η κυτταρίνη αποτελεί πολυμερές της γλυκόζης. Για την διάσπαση της χρησιμοποιείται μίγμα τριών ενζύμων:

1. Ενδογλυκανάσες: διασπούν τα μόρια της κυτταρίνης σε μικρότερου μήκους ολιγοσακχαρίτες
2. Εξωγλυκανάσες (ή κελλοβιοϋδρολάσες): μετατρέπουν τους ολιγοσακχαρίτες σε μόρια κελλοβιόζης
3. β – γλυκοσιδάσης: διασπούν τους ολιγοσακχαρίτες και τα μόρια κελλοβιόζης σε μόρια γλυκόζης

Το φυτό ***Typha Domingensis*** μελετάται σε ένα πλαίσιο ολοκληρωμένης διαχείρισης:

- για την απομάκρυνση ρύπων από αστικά υδάτινα απόβλητα, και
- για τα πλούσια αποθέματα υδατανθράκων που διαθέτουν οι ρίζες και το ρίζωμά του (36.01% κυτταρίνη, 21.59% άμυλο). Τα αποθέματα αυτά μπορούν να οδηγήσουν στην παραγωγή γλυκόζης που με τη σειρά της τροφοδοτεί μικροβιακές καλλιέργειες για την παραγωγή βιοαιθανόλης ή/και βιοϋλικών.



ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΑΡΑΙΟ ΘΕΙΙΚΟ ΟΞΥ (H_2SO_4, 2% w/v)

Στόχος: Η απομάκρυνση των ημικυτταρινών, η διαλυτοποίηση της λιγνίνης και η αλλαγή της κυτταρινικής δομής ώστε να είναι ευκολότερη η πρόσβαση των ενζύμων στην κυτταρίνη.

Θερμοκρασία: 120 °C
Συγκέντρωση υποστρώματος: 10% w/v
Χρόνος αντίδρασης: 1 h

	Ξυλόζη mg/mg RB	Αραβινόζη mg/mg RB	Μαννόζη mg/mg RB	Γλυκόζη mg/mg RB	Γαλακτόζη mg/mg RB	% Υδρολυμένη Ημικυτταρίνη	% Υδρολυμένο Άμυλο
SH FS βιομάζας	0.075	0.054	0.000	0.021	0.023	**86.08**	**8.01**
SH RB βιομάζας	0.062	0.045	0.000	**0.100**	0.000	**66.89**	**41.71**

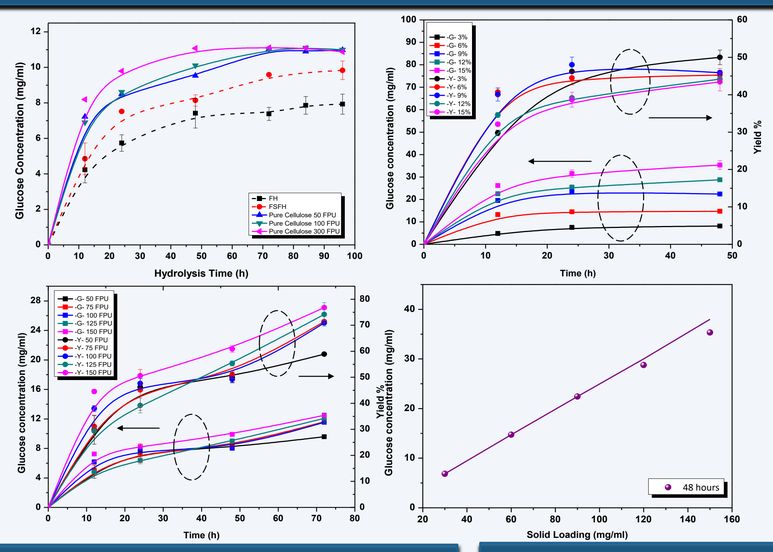
Επιλέγεται το στάδιο της προεπεξεργασίας να **έπεται** αυτού της υδρόλυσης του αμύλου.

Προκύπτει ότι:

- η προεπεξεργασία FS βιομάζας παρουσιάζει αποτελεσματικότερη διαλυτοποίηση ημικυτταρινών (86.08%)
- κατά την προεπεξεργασία RB βιομάζας χάνεται το 41.71% του αμύλου

ΔΙΕΡΕΥΝΗΤΙΚΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ

Πειράματα	Συγκέντρωση υποστρώματος (% w/v)	Συγκέντρωση κυτταρινασών (FPU/g υποστ.)	Συγκέντρωση β – γλυκοσιδάσης (CBU/g υποστ.)	Χρόνος υδρόλυσης (h)
Χρονικής εξέλιξης της ενζυμικής υδρόλυσης βιομάζας (FSFH)	3	50	100	96
Χρονικής εξέλιξης της ενζυμικής υδρόλυσης βιομάζας (FH)	3	50	100	96
Χρονικής εξέλιξης της ενζυμικής υδρόλυσης καθαρής κυτταρίνης	1	50, 100, 300	100, 200, 600	96
Διαφορετικές ποσότητες υποστρώματος	3, 6, 9, 12, 15	50	100	48
Διαφορετικές ποσότητες ενζύμων	3	50, 75, 100, 125, 150	100, 150, 200, 250, 300	72

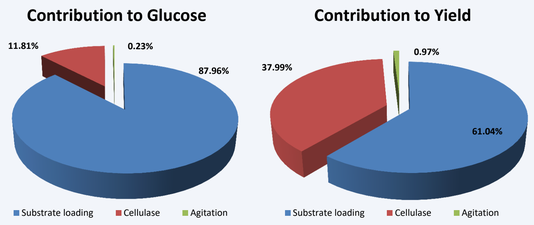


Συμπεραίνεται ότι:

- η υδρόλυση της FSFH βιομάζας είναι αποτελεσματικότερη έναντι αυτής της FH βιομάζας (60.41% και 53.96%) και επιτυγχάνεται σε χρόνο **72 h**
- για συγκέντρωση >9% w/v υπάρχει μια αισθητή απόκλιση από την γραμμική σχέση μεταξύ της παραγόμενης γλυκόζης (48 h) και της συγκέντρωσης του υποστρώματος →**προβλήματα μεταφοράς μάζας**
- αυξάνοντας την δοσολογία των κυτταρινασών πάνω από τα 50 FPU/g υποστ. αυξάνεται σημαντικά η τελική απόδοση της υδρόλυσης στις 72 h (50 FPU/g: 58.87%, 75 FPU/g: 71.42%).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ (BOX BEHNKEN)

Παράμετροι	Επίπεδα Τιμών
Συγκέντρωση υποστρώματος (% w/v)	6 – 12 – 18
Λόγος δραστικότητας Ενζύμου – Υποστρώματος (FPU/g υποστ.)	60 – 120 – 180
Ρυθμός ανάδευσης (rpm)	100 – 150 – 200



- στη βελτιστοποίηση επιλέχθηκε η ταυτόχρονη μεγιστοποίηση της απόδοσης και παραγωγή διαλύματος με συγκέντρωση γλυκόζης 50 mg/ml, που δεν απαιτεί συμπύκνωση σε μεγάλο βαθμό για να αποτελέσει ρεύμα τροφοδοσίας του σταδίου της ζύμωσης (100 mg/ml).
- η επίδραση του ρυθμού ανάδευσης (0.23%, 0.97%) μπορεί να θεωρηθεί αμελητέα σε σχέση με την αντίστοιχη της συγκέντρωσης του υποστρώματος (87.96%, 61.04%) και του λόγου δραστικότητας ενζύμου – υποστρώματος (11.81%, 37.99%), όσον αφορά την τελική συγκέντρωση της γλυκόζης και την απόδοση της αντίδρασης αντίστοιχα.

Παράμετροι	Τιμές	Τιμή Πρόβλεψης Κριτηρίου	Κριτήριο
Συγκέντρωση υποστρώματος (% w/v)	18	**64.75 mg/ml** (πρόβλεψη απόδοσης από το μοντέλο, 71.33%)	Μέγιστη Γλυκόζη
Λόγος δραστικότητας Ενζύμου – Υποστρώματος (FPU/g υποστ.)	180		
Ανάδευση (rpm)	200		
Συγκέντρωση υποστρώματος (% w/v)	6	**89.24%** (πρόβλεψη συγκέντρωσης από το μοντέλο, 33.70 mg/ml)	Μέγιστη Απόδοση
Λόγος δραστικότητας Ενζύμου – Υποστρώματος (FPU/g υποστ.)	180		
Ανάδευση (rpm)	200		
Συγκέντρωση υποστρώματος (% w/v)	12.5	• **76.37%** • **51.53 mg/ml**	• Μέγιστη Απόδοση • Γλυκόζη ≥ 50 mg/ml
Λόγος δραστικότητας Ενζύμου – Υποστρώματος (FPU/g υποστ.)	180		
Ανάδευση (rpm)	100		

ΤΑΥΤΟΧΡΟΝΗ ΣΑΚΧΑΡΟΠΟΙΗΣΗ

✓***Διάγραμμα Ροής Ταυτόχρονης Σακχαροποίησης***

Προεπεξεργασία 2 % w/v H_2SO_4 → **Υγροποίηση** α - αμυλάση [80°C, pH=5.0] → **Σακχαροποίηση** Αμυλογλυκοσιδάση Κυτταρινάση, β-γλυκοσιδάση [50°C, pH=4.8]

Ενοποιημένα στάδια για την οικονομικότερη εφαρμογή του εγχειρήματος

- επιτυγχάνεται απόδοση **41.50%** (72 h) ως προς τα ολικά διαθέσιμα σάκχαρα που είναι χαμηλότερη από την αντίστοιχη όταν τα δύο στάδια πραγματοποιούνται ξεχωριστά, υπό τις ίδιες συνθήκες, **67.54%** (72 h).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

1. Συνδυάζοντας τα δεδομένα της βέλτιστης αξιοποίησης των δύο σακχάρων, από τη συνολική διεργασία προκύπτουν δύο ρεύματα εξόδου με συγκέντρωση γλυκόζης **26.72 mg/ml** και **64.75 mg/ml**, που συνολικά μπορούν να αποτελέσουν ρεύμα τροφοδοσίας ενός μετέπειτα σταδίου ζύμωσης χωρίς την απαίτηση συμπυκνώσεων.
2. Η ταυτόχρονη υδρόλυση και των δύο πολυσακχαριτών θα ήταν ιδιαίτερα κερδοφόρα προοπτική για πιθανή κλιμάκωση της διεργασίας σε βιομηχανικό επίπεδο, αλλά οι αποδόσεις των αντιδράσεων φαίνεται πως υστερούν σε σχέση με την περίπτωση όπου τα στάδια γίνονται ξεχωριστά.