

# A nád (*Phragmites australis*) vizsgálata enzimes bonthatóság és bioetanol termelés szempontjából

Dr. Kálmán Gergely

## Bevezetés

Az úgynevezett második generációs (lignocellulózokból előállított) bioetanol nem csak a CO<sub>2</sub> éves periódusú körforgásba zárásának feltételét teljesítheti, hanem a mezőgazdaságban és iparban keletkező növényi melléktermékeket is feldolgozhatná. Így elkerülhető lenne az élelmiszerekre gyakorolt árfelhajtó hatás, a gazdák viszont pótolhatnák kieső jövedelmüket a jelenleg hulladékként kezelt növényi részek bioetanol nyersanyagként történő értékesítésével. Bár a technológia ma még nem kiforrott, jelentős kutatások folynak a problémák megoldása érdekében.

A kutatás célja egy új, eddig ebből a szempontból nem tanulmányozott növény, a nád (*Phragmites australis*) vizsgálata lignocellulóz alapú bioetanol előállítására.

Egy hazánk éghajlatán esetlegesen megépülő második generációs bioetanolgyár vagy a nyári nyersanyag raktározásával és annak egész éven át történő feldolgozásával működhet, vagy a termelés növeléséhez a téli időszakra keresni kell egy hasonló tulajdonságú nyersanyagot, mivel a téli időszakban nem keletkezik feldolgozható mennyiségű mezőgazdasági melléktermék.

A kutatás során a közönséges nádat, *Phragmites australis*-t vizsgáltuk ebből a szempontból, hiszen a növényt a téli időszakban aratják, jelentős tartalékai vannak hazánkban és szerte Európában, valamint ökológiai szempontból is hasznos lenne a kevésbé jó minőségű nád feldolgozása.

## A kutatás eredményei

Előkísérleteim során kétfajta savas (1% foszforsav, 1% kénsav) és kétfajta lúgos (1% kálium-hidroxid, 1% nátrium-hidroxid) előkezelést vizsgáltam annak eldöntésére, hogy melyik kémiai előkezelés bizonyul a leghatékonyabbnak. A kezeletlen és az előkezelt mintákat nyersanyag elemeztem, majd az előkezelés hatékonyságának meghatározásához enzimes hidrolízis kísérleteket végeztem.

Nyersanyag elemzések során a minták cellulóz, hemicellulóz, lignin, lignin hamu és hamu tartalmát vizsgáltam, minden egyes mintánál három párhuzamos méréssel. A mérésekből számított szárazanyagra vonatkoztatott összetételek átlaga az 1. táblázatban található.

1. táblázat: A nyersanyag, valamint az előkezelt szilárd maradékok összetétele

	nád	1% nátrium- hidroxid	1% kálium- hidroxid	1% kénsav	1% foszforsav
cellulóz	35,87	55,17	46,92	50,47	39,45
hemicellulóz	21,45	15,41	14,63	2,87	9,90
lignin	19,42	11,47	16,07	23,84	20,02
lignin hamu	5,83	0,40	1,90	6,11	5,79
hamu	2,07	2,01	3,74	2,94	2,47
Σ	78,82	84,06	81,35	80,12	71,84

Összehasonlításként 2. táblázatban összefoglaltam néhány lignocellulóz összetételét, az irodalmi értékek alapján. Ebből látható, hogy a nád a mezőgazdasági melléktermékekkel hasonlóságot mutat.

2. táblázat: Lignocellulózok összetételei

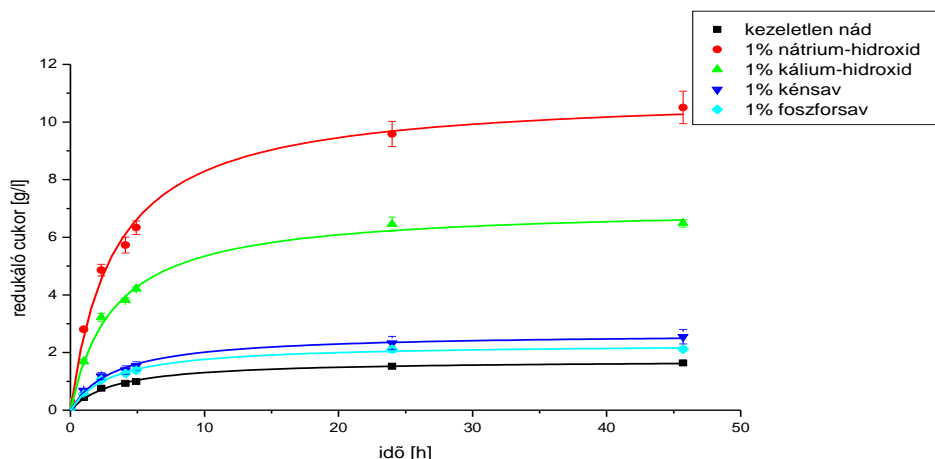
	cellulóz	hemicellulóz lignin [%]	
keményfák	40-55	24-40	18-25
puha fák	40-55	25-35	25-35
energiafű	45	31,4	12
kukorica szár	41,3	27,9	22,1
búza szalma	30	50	15
kezeletlen nád	35,87	21,45	19,42

A 3. táblázatban a kezeletlen nádhoz viszonyított eltéréseket mutatom be, amiből látható, hogy a nyers nádhoz képest minden kezelésnél megnőtt a cellulóz aránya, legnagyobb mértékben az 1% nátrium-hidroxidos kezelés esetében. A savas kezelések lényegesen nagyobb mennyiségű hemicellulózt bontottak el, ahogy ez a szakirodalom alapján várható is volt. A 3. táblázat adataiból az is látható, hogy a lignintartalom a lúgos kezelések esetén több mint 6%-kal csökkent, míg savas kezelések esetén inkább nőtt. Ezt a lúgok hatására jobban bomló ligninszerkezettel lehet magyarázni, valamint azzal, hogy a savas kezelések igen nagy mennyiségű hemicellulózt vittek oldatba. Összetétel alapján az 1% nátrium-hidroxidos kezelés tűnt a legígéretesebbnek, hiszen nem csak a cellulózarány növekedését sikerült elérni, hanem a ligninarány csökkenését is.

3. táblázat: Előkezelések hatása az összetételre

	1% nátrium- hidroxid	1% kálium- hidroxid	1% kénsav	1% foszforsav
	$\Delta\%$			
cellulóz	19,30	11,04	14,59	3,58
hemicellulóz	-6,05	-6,83	-18,58	-11,55
lignin	-7,95	-3,35	4,42	0,60
lignin hamu	-5,42	-3,92	0,28	-0,04
hamu	-0,05	1,67	0,87	0,40

Előkezelt anyagok enzimes hidrolíziseinek eredményei:



A továbbiakban felállítottam egy 2<sup>3</sup> kísérleti tervet, hogy megpróbáljak javítani a nátrium-hidroxidos előkezelés hatásán. A kísérleti tervemben 3 faktor hatását vizsgáltam, két szinten. Ezeket 4. táblázatban foglaltam össze.

4. táblázat: Kísérleti terv

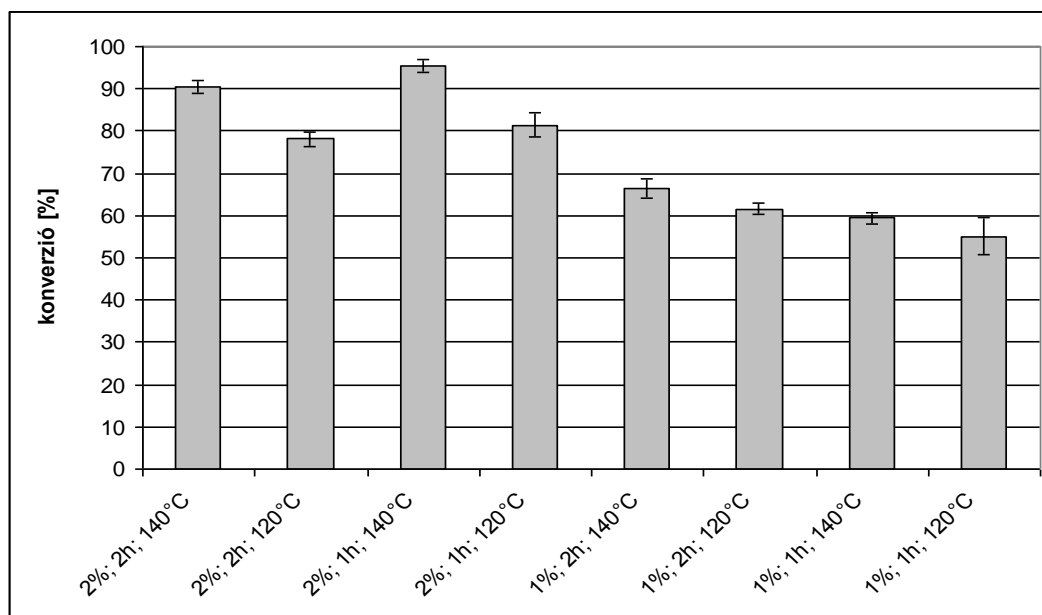
	előkezelő oldat koncentrációja [%]	előkezelés ideje [h]	előkezelés hőmérséklete [°C]
1.	2	2	140
2.	2	2	120
3.	2	1	140
4.	2	1	120
5.	1	2	140
6.	1	2	120
7.	1	1	140
8.	1	1	120

Az egyes faktorok hatásának kiértékelését Statistica 7.0 softwer-rel végeztem. Az előkezelések eredményei:

5. táblázat: Kísérleti terv szerint előkezelt nád összetétele

	2%; 2h; 140°C	2%; 2h; 120°C	2%; 1h; 140°C	2%; 1h; 120°C	1%; 2h; 140°C	1%; 2h; 120°C	1%; 1h; 140°C	1%; 1h; 120°C
	%							
cellulóz	59,02	63,39	50,05	61,60	54,27	55,25	55,39	53,31
hemicellulóz	20,33	19,53	18,49	19,41	22,68	20,55	20,34	15,71
lignin	14,89	12,24	14,79	12,50	17,28	14,57	17,06	12,86
lignin hamu	0,10	0,06	0,10	0,01	0,90	0,25	0,28	0,36
hamu	1,56	1,58	1,65	1,47	2,10	1,64	1,62	1,37
Σ	95,79	96,74	84,98	94,97	96,33	92,01	94,40	83,25

A kísérleti terv szerint nátrium-hidroxid oldattal előkezelt minták enzimes hidrolízisét is elvégeztem. Az enzimes hidrolízisek eredményeit az alábbi ábra mutatja be.



A különböző előkezelésekkel kapott szilárd maradékokkal SSF (egyidejű cukrosítás és erjesztés) kísérleteket is végeztem. Így megvizsgálható az előkezelés hatása a tényleges alkohol konverzióra, valamint kiderül, hogy előkezelés során nem keletkeznek-e jelentős mennyiségben inhibitorok, amik gátolnák a fermentációt.

6. táblázat: SSF kísérletek konverzióinak átlaga és szórása

	átlag konverzió [%]	korrigált tapasztalati szórás [-]
2%; 2h; 140°C	95,78	2,596
2%; 2h; 120°C	82,18	1,001
2%; 1h; 140°C	82,44	7,402
2%; 1h; 120°C	88,40	5,374
1%; 2h; 140°C	63,41	4,662
1%; 2h; 120°C	55,51	13,977
1%; 1h; 140°C	67,06	3,783
1%; 1h; 120°C	73,33	14,430

6. táblázat eredményei alapján látható, hogy az alkohol konverziók is hasonlóan magasak lettek, mint a cukorkonverziós értékek. Ez a hasonlóság az inhibitorok hiányára enged következtetni, és igen kedvezővé teszi ezeket az előkezeléseket. Statistica 7.0-val elvégezve a kiértékelést, meghatároztam a faktorok hatását az alkohol konverzióra. Az alkoholkonverzióra az előkezelő oldat töménysége volt szignifikáns hatással. Az enzimes hidrolízis konverziójára az előkezelő oldat mellett a hőmérséklet is szignifikáns hatással volt, bár az utóbbi hatása lényegesen kevesebb – mintegy harmada – volt az előbbihez képest.

### Összefoglalás

Célkitűzésem alapján nádat (*Phragmites communis*) elemeztem, mint egy lehetséges alternatív nyersanyagot, egy feltételezett többféle nyersanyagot feldolgozó második generációs bioetanolt előállító gyár számára. A kísérleteimhez egy enyhén leromlott minőségű balatoni nádasból vettem a nyersanyagot, ezzel is demonstrálva, hogy a kevésbé jó minőségű nádasok rendszeres vágással történő javítása esetén keletkező nádrészek is hasznosíthatóvá tehetők, és az égetésük elkerülhető.

Elvégezve a nyers nád anyagelemzését, annak összetétele jelentős hasonlóságot mutatott más mezőgazdasági melléktermékekkel 36% cellulóztartalmával, 21% hemicellulóz-tartalmával, 19% lignintartalmával. Ezek után megfelelő kémiai előkezelést kerestem, amivel jelentősen növelhető az enzimes hidrolízisének határfoka, mert a nyers nád 48. órai konverziója nem érte el a 9%-ot.

Először 2 savas és két lúgos előkezelést próbáltam ki, amelyek közül az 1% nátriumhidroxid oldattal 120°C-on 1 órán keresztül végzett előkezelés volt a legjobb mind az enzimes bonthatóság, – 48. órai konverzió 45%-ra nőtt – mind az összetétel szempontjából, hiszen itt értem el a legmagasabb cellulózarányt (több mint 56 %), és legalacsonyabb lignintartalmat ( kevesebb mint 12%)

Munkám folytatásaként megvizsgáltam, hogy az általam párhuzamosként kezelt előkezelések statisztikailag is elfogadhatóak-e párhuzamosként. Elvégeztem az eddigi legjobb (1% nátrium-hidroxid oldattal, 120°C, 1 óra) előkezelést 3 párhuzamossal, majd ismét megvizsgáltam az összetételt és az enzimes bonthatóságot. Minden mért érték a Student-féle t eloszlás szerint

számított 95% konfidencia intervallumon belül volt, tehát tényleg párhuzamosnak tekinthetők a mérések.

Következő lépésben felállítottam egy 3 faktoros (előkezelő oldat töménysége; előkezelés hőmérséklete; előkezelés ideje) két szintes kísérleti tervet a nátrium-hidroxidos előkezelés további javítására. A kísérleti tervben az enzimes hidrolízis 48. órai összes szénhidrátra vonatkoztatott konverzióra számítottam ki a faktorok hatásait. A hatások alapján szignifikáns lett az előkezelő oldat töménysége és a az előkezelés hőmérséklete. Így a legmagasabb konverziót a 2% nátrium-hidroxid oldattal 1 órán keresztül 140°C-on előkezelt náddal értem el (95%).

Utolsó lépésként egyidejű hidrolízis és fermentációval teszteltem a kísérleti terv szerint előkezelt nádat így megvizsgálva, hogy nem képződtek-e a fermentációt akadályozó inhibitorok. Ezeket a kísérleteket a bemért minta glükóz tartalmára vonatkoztatott etanol kinyeréssel jellemeztem, és erre is kiszámítottam a kísérleti terv faktorainak hatását. Itt már csak az előkezelő oldat hatása bizonyult szignifikánsnak. A legmagasabb kinyerést a 2% nátrium-hidroxiddal 2 órán keresztül 140°C-n előkezelt náddal értem el (95%).

Ezek alapján levonható az a következtetés, hogy egy esetlegesen nádat is feldolgozó második generációs bioetanol gyár számára a nád egy alkalmas nyersanyag lenne a téli holt időszak áthidalására, és kémiai előkezeléssel igen kedvező enzimes hidrolízis értékek érhetőek el.

A továbbiakban érdemes a náddal mint potenciális nyersanyaggal foglalkozni, és további környezetbarátabb előkezelési módszereket is kipróbálni.