



BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZDASÁGTUDOMÁNYI EGYETEM

Kukoricarost biofinomító szemléletű feldolgozása

OTDK DOLGOZAT

Készítette: Gázsó Zita
Msc. biomérnök hallgató

Témavezető: Dr. Barta Zsolt
egyetemi adjunktus

Konzulens: Fehér Csaba
doktoráns hallgató

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
Vegyésszmérnöki és Biomérnöki Kar
Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék

Budapest, 2014

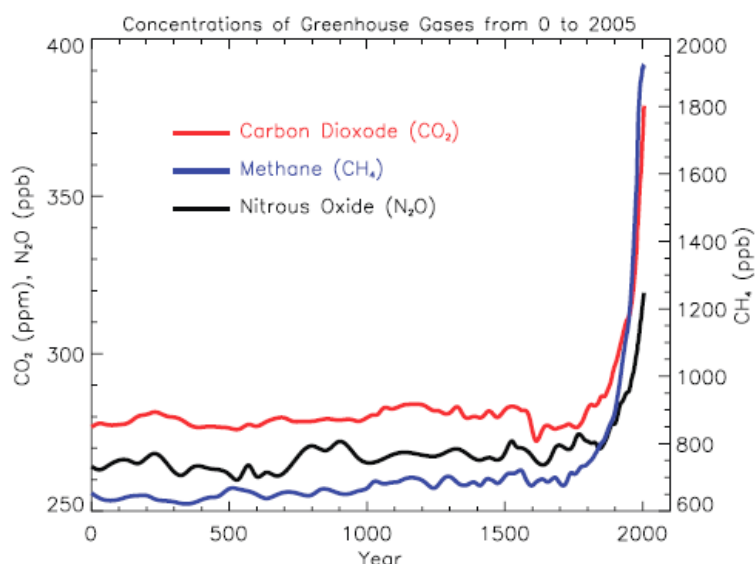
1. Bevezetés.....	1
2. Irodalmi áttekintés	4
2.1. Lignocellulóz alapú biomassza	4
2.1.1. A lignocellulóz felépítése.....	5
2.1.1.1. A cellulóz	5
2.1.1.2. A hemicellulóz	6
2.1.1.3. A lignin.....	6
2.1.2. A lignocellulóz alapú biomassza hasznosítása.....	7
2.2. Biofinomítás	7
2.3. A kukorica	9
2.3.1. A kukorica termesztése	9
2.3.2. A kukoricaszem.....	10
2.3.3. A kukoricaszem feldolgozása.....	10
2.3.4. A kukoricamaghéj feldolgozása.....	11
2.4. Az arabinóz és a xilóz.....	12
2.4.1. Arabinóz	12
2.4.2. Xilóz	13
2.5. A kukoricarost frakcionálása	13
2.5.1. A kukoricarost híg kénsavval történő kezelése	13
2.5.2. A kukoricarost lúgos kezelése	14
2.6. A xilit.....	15
2.6.1. Xilitelőállítás	16
2.6.1.1. Xilitelőállítás kémiai úton	16
2.6.1.2. Xilitelőállítás biológiai úton	16
2.6.1.2.1. A xilózhasznosítás folyamata élesztőkben	16
2.6.1.2.2. A biológiai úton történő xilitelőállítást befolyásoló tényezők	17
2.6.1.2.2.1. Oxigénellátottság	17
2.6.1.2.2.2. Inhibitorok jelenléte.....	18
2.6.1.2.2.3. Egyéb cukrok jelenléte a xilóz mellett a fermentációban.....	18
2.6.1.2.2.4. Az élesztő szaporítása	19
2.6.1.2.2.5. Ritka cukrok fermentációja	19
2.6.1.2.2.6. Kofaktorok hatása	20
2.6.2. Arabinózelőállítás	20
3. Célkitűzések.....	23

4. Anyagok és módszerek	25
4.1. Felhasznált anyagok	25
4.2. Felhasznált berendezések	25
4.3. Alkalmazott módszerek	26
4.3.1. A szárazanyag tartalom meghatározása.....	26
4.3.2. A folyadékkromatográfiás vizsgálat	26
4.3.3. A nyersanyaganalízis lépései	26
4.3.3.1. A hamutartalom meghatározása [41]	26
4.3.3.2. A keményítőtartalom meghatározása.....	26
4.3.3.3. Az etil-alkohollal kioldható anyagok meghatározása [42]	27
4.3.3.4. A szénhidrát- és lignintartalom meghatározása módosított Hågglund módszerrel	27
4.3.4. A kukoricarost keményítőmentesítése	28
4.3.5. Oligomerek kénsavas hidrolízise monomerekké.....	28
4.3.6. A kukoricarost kénsavas kezelése 90, 120 és 140°C-on	28
4.3.7. A kukoricarost borostyánkősavas kezelése	29
4.3.8. A kukoricarost ammóniás áztatása	29
4.3.9. A sejtkoncentráció meghatározása	29
4.3.10. Sejttömeg-kalibráció	29
4.3.11. Inokulum készítés 30 g/l cukoroldaton (glükóz-/xilózoldat)	30
4.3.12. Biotisztítás modellszubsztrát oldaton	30
4.3.13. Biotisztítás hemicellulóz-hidrolizátumon <i>Candida boidinii</i> sejtekkel	30
4.3.14. Xilitfermentáció mosott <i>Candida boidinii</i> sejtekkel	31
5. Eredmények és értékelésük	32
5.1. Nyersanyagelemzés.....	32
5.2. A kukoricarost keményítőmentesítése.....	33
5.3. A kukoricarost kénsavas kezelése	33
5.3.1. A kukoricarost kénsavas kezelése 120°C-on	35
5.3.2. A kukoricarost kénsavas kezelése 90°C-on	37
5.3.3. A kukoricarost kénsavas kezelése 90°C-on, emelt kénsav-koncentrációval	39
5.3.4. A kukoricarost kénsavas kezelése 90°C-on, emelt kezelési idővel	41
5.3.5. A kukoricarost kénsavas kezelése 140°C-on	43
5.3.6. A kukoricarost ammóniás áztatása	44
5.3.6.1. A kukoricarost 90°C-os kénsavas kezelése ammóniás áztatás után	44
5.3.7. A kukoricarost 120°C-os borostyánkősavas kezelése.....	46

5.3.8. A savas kezelések összefoglalása	48
5.3.9. A sejtkoncentráció számítása	50
5.3.10. Biotisztítás xilóz- és arabinóztartalmú tápoldaton.....	50
5.3.11. Biotisztítás xilóz-, arabinóz-, és galaktóztartalmú tápoldaton	51
5.3.12. Hemicellulóz hidrolizátum biotisztítása <i>Candida boidinii</i> -vel	53
5.3.13. Mosott sejtes xilitfermentáció <i>C. boidinii</i> -vel.....	54
5.3.13.1. Az emelt kiindulási sejtkoncentráció hatása	58
5.3.13.2. Az emelt kiindulási xilózkoncentráció hatása.....	59
5.3.13.3. Az emelt kiindulási sejt- és xilózkoncentráció hatása	60
5.3.13.4. A pH hatása	60
5.3.13.5. A hozzáadott metil-alkohol és glicerín hatása.....	61
5.3.13.6. A biotisztítási és xilitfermentációs kísérletek összefoglalása	63
6. Összefoglalás	65
Irodalomjegyzék	68
7. Függelék.....	70

1. Bevezetés

A XXI. század egyik legnagyobb gazdasági kihívása az energiabiztonság biztosítása. Az emberiség energiaigénye folyamatosan nő, az ismert kőolajkészletek pedig végesek, így elsőrendű feladat gazdaságos alternatívák keresése. Az IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change), azaz az éghajlat-változással foglalkozó kormányközi testület szakértői szerint a levegő földközeli átlaghőmérsékletének növekedését egyértelműen a XIX. század közepe óta légkörbe juttatott üvegházhatású gázok okozzák (1.1. ábra) [1]. Az Európai Bizottság erre irányuló programja szerint 2020-ig a közlekedési szektorban használt hagyományos üzemanyagok 20%-át alternatív üzemanyagokkal fogják helyettesíteni [2]. További problémát jelent, hogy a fosszilis erőforrások földrajzi eloszlása nagyon egyenetlen, ami számos politikai és gazdasági konfliktus forrása [3].



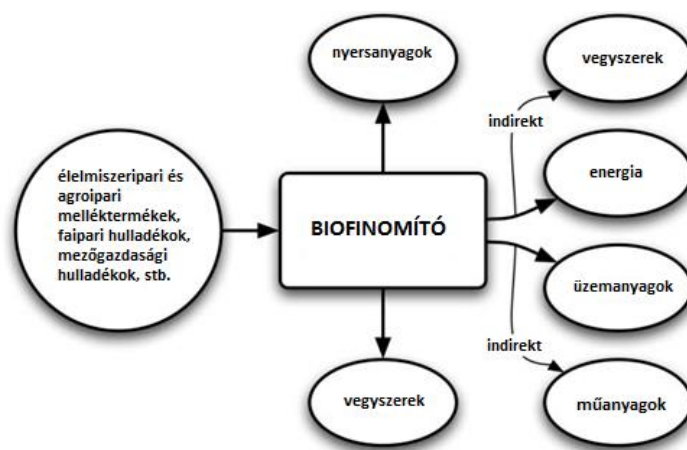
1.1. ábra: Üvegházhatású gázok légköri koncentrációja (IPCC)

Ezen okokból kifolyólag szükségessé vált fenntartható, környezetbarát, ugyanakkor gazdaságos technológiák kifejlesztése és ezek alkalmazása, akár a korábbiakkal kombinálva, akár azokat teljes mértékben helyettesítve. A fosszilis energiahordozók kiváltására számos lehetőség van, mint például az atomenergia, vagy a megújuló energiaforrások (nap, víz, szél, geotermikus energia, biomassza).

Az egyik ilyen, még fejlődő, alternatív ágazat a biofinomítás, azon belül is a biomassza alapú üzemanyaggyártás. A biofinomítás egy rendkívül összetett ágazat, mely biomasszát hasznosít és ebből számos terméket - üzemanyagokat, ipari nyersanyagokat, vegyszereket, stb.- állít elő. Az így előállított bioüzemanyagok közé tartozik például a bioetanol, a biodízel és a biogáz. Napjainkban a bioetanol az egyik legelterjedtebb megújuló bioüzemanyag világszerte.

Keverhető benzinnel, de az erre alkalmas motorokban tisztán is égethető [2]. A bioüzemanyagoknak számos előnye van a fosszilis energiahordozókkal szemben. Közel 200 milliárd tonna biomassza szárazanyag keletkezik évente [4], és ennek a mennyiségnek a földrajzi eloszlása egyenletes, így az energiaellátottság biztonságosabban megoldható. Igaz, hogy elégetésük során keletkezik szén-dioxid, de ennek a mennyisége megegyezik azzal, amit a növény a növekedése során megkötött. Ennek köszönhetően jelentős mértékben csökkenthetik az üvegházhatást [5]. Az első generációs bioetanol-előállítás legnagyobb hátránya, hogy jelentős mezőgazdasági területet és terméket igényel, amit az élelmiszeripari és takarmánycélú termeléstől von el. Ezzel szemben a második generációs technológia az etanolt a lignocellulóz alapú szerves anyagokból állítja elő, ezzel kibővítve a felhasználható nyersanyagok listáját. Ennek ellenére jelenleg az első generációs technológiák teszik ki a bioetanolgyártás nagy részét [6].

A jelentős kőolaj kitermelés hatására kiépült a petrokémiai ipar, mely lehetővé tette egyszerű, és ezekből bonyolultabb anyagok - műanyagok, vegyipari alapanyagok, stb. - előállítását különböző iparágak számára. Ezen anyagok termelésére szintén alternatív megoldások szükségesek. Ilyen alternatíva például a biofinomítás. A biofinomító egy integrált átalakító egységnek tekinthető, mely különböző eredetű és összetételű biológiai alapanyagokból képes hasznos termékeket - energiát, vegyszereket, műanyagokat, üzemanyagokat - előállítani.



1.2. ábra: Integrált biofinomító felhasználási lehetőségei

A kukorica termelése és feldolgozása során nagy mennyiségű melléktermék keletkezik, melynek csak kis részét használják fel, főként takarmányozási célra (körülbelül 6%-ot) [7]. Ezen melléktermékek közé tartozik a kukoricamaghéj is, melynek xilóz- és arabinóztartalma jelentős. Amennyiben a xilózt és arabinózt megfelelő technológiával szelektíven ki tudjuk nyerni a kukoricamaghéjból, értékes termékekre tehetünk szert. A xilóz legjelentősebb

felhasználási területe az élelmiszeripar: egy gyakori édesítőszer, a xilit gyártásának alapanyaga. Az arabinózt számos területen felhasználják: az élelmiszeripar egyik fontos édesítőszere, fontos vegyipari alapanyag, számos bioaktív anyag, például antibiotikumok prekürzora, valamint mikroorganizmusok azonosítására is alkalmas [8].

A xilit egyike napjaink legfontosabb vegyületeinek. Elterjedt édesítőszer, melyet cukorbeteg is fogyaszthatnak, ezen kívül pedig számos biológiai anyag prekürzora. A xilitermelés első lépéseként lignocellulózok hidrolízisével xilózt állítanak elő. Az így nyert xilóz xilitté redukálása történhet kémiai vagy biológiai úton. A kémiai módszer hátránya, hogy a xilózt tartalmazó hidrolizátumot több lépésben tisztítani kell, mert a hidrogénezéshez csak nagytisztaságú xilóz használható. A tisztítási lépések jelentősen megnövelik a technológia költségeit. További hátrány, hogy a legnagyobb elérhető xilithozam csak 50-60 százalék [9]. A biológiai redukció történhet élesztők segítségével. Erre alkalmas élesztők például a *Candida* nemzetség tagjai. A módszer számos előnye közül a legfontosabbak, hogy nem igényel tiszta xilózoldatot, és a módszer fejlesztése révén gazdaságosabb lehet, mint a kémiai redukció [9].

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Lignocellulóz alapú biomassza

Biomassza alatt a természetes körforgásban a növények, állatok és mikroorganizmusok által résztvevő összes szerves anyagot értjük. Ezek közül a legnagyobb mértékben a növényi biomasszát hasznosítjuk, mely alapvetően szén-dioxidból, vízből és ásványi sókból keletkezik, energiaforrásként napfényt használva. Képződése közben melléktermékként oxigén szabadul fel. A Földön évente 170-200 milliárd tonna növényi biomassza szárazanyag keletkezik, melynek jelenleg 3%-át (körülbelül 6 milliárd tonnát) hasznosítanak [7]. A növényi biomassza legnagyobb része lignocellulóz. A jelenleg hasznosított biomassza eredete alapján háromféle lehet: mezőgazdasági- és erdészeti termék, ipari melléktermék, valamint faipari, mezőgazdasági hulladék [4].

A biomassza a megújuló energiaforrások közé tartozik – a nap-, víz-, és szélenergia mellett –, ugyanakkor a megújulók közül egyedül a biomassza kimeríthető. Energetikai célú hasznosítása régóta ismert és alkalmazott lehetőség, habár a nagy energiasűrűségű fosszilis energiahordozók háttérbe szorították. A biomassza a megújuló energiaforrások között a legjelentősebb. Számítalan formában előfordul, így felhasználása széleskörű (üzemanyagok és energia termelése, ipari nyersanyagok előállítása, stb.). A széleskörű felhasználási lehetőségek miatt sokféle feldolgozó technológia kialakult. A biomassza alapvetően kétféleképpen hasznosítható. Az egyik lehetőség a teljes, kezeletlen biomassza elégetése vagy elgázosítása. A másik lehetőség a biomassza különböző alkotóira bontása, majd a kapott frakciók külön-külön történő hasznosítása [4].

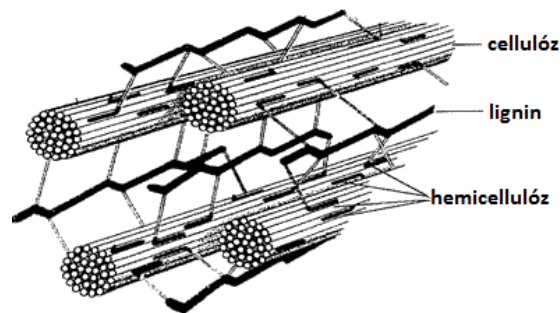
A biomassza hasznosítása számos előnnyel jár. Az alapanyag olcsó, nagy mennyiségben áll rendelkezésre, és az energetikai célú hasznosításon kívül számos termék – vegyszerek, ipari nyersanyagok, műanyagok, stb. - is előállítható belőle. Nem növeli az üvegházhatású gázok nettó mennyiségét a légkörben (az elégetésükkor felszabaduló szén-dioxid mennyisége megegyezik a növény fejlődése közben megkötött szén-dioxid mennyiséggel), így a biomassza környezetbarát technológiákkal feldolgozható. Az alapanyag földrajzilag egyenletes eloszlása révén a fosszilis energiahordozóknál nagyobb mértékben járul hozzá a biztonságos energiaellátottsághoz azáltal, hogy kiküszöbölheti az energiahordozók importja általi nemzetközi konfliktusokat. Az energetikai célú hasznosításra termesztett biomassza (energiaültetvények) az egyéb célokra alkalmatlan (homokos, tápanyagszegény, száraz) termőföldek újfajta használatát biztosítja, ezáltal alternatív jövedelemforrást és lokális munkahelyeket teremt vidéken, elősegítve a regionális fejlődést. A vidéki tájra és a regionális

infrastruktúrára is hatást gyakorol, valamint új műszaki fejlesztési lehetőségeket biztosít. Előnyei mellett a biomassza hasznosításnak hátrányos tulajdonságai is vannak. Ezek közül a legjelentősebb, hogy energiasűrűsége viszonylag kicsi, ugyanakkor a hasznosításhoz szükséges rendszerek kiépítése költséges [5].

2.1.1. A lignocellulóz felépítése

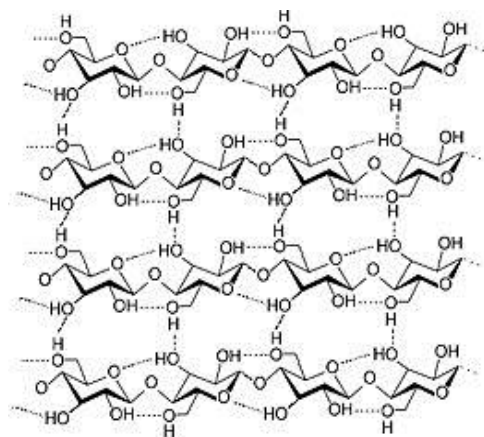
A lignocellulóz az egyik leggyakrabban előforduló szerves anyag a földön, a növényi sejtfalak egyik építőeleme. Cellulózból, hemicellulózból és ligninből álló összetett szerkezet (2.1. ábra), mely tartalmaz még egyéb anyagokat is, például fehérjéket, lipideket és ásványi sókat. Pontos összetétele függ a növény fajtájától és eredetétől, valamint attól, hogy az adott sejtfal milyen növényi rész felépítésében vesz részt. A lignin a cellulózból és hemicellulózból felépülő rostokat kívülről, tokként veszi körbe, ezáltal ellenálló képességet biztosítva a szerkezetnek [4], [7]

2.1. ábra: A lignocellulóz felépítése



2.1.1.1. A cellulóz

A cellulóz a természetben az egyik legelterjedtebb poliszacharid (2.2. ábra). β -D-glükóz-egységekből felépülő lineáris polimer, melyben a glükóz molekulák az energetikailag legkedvezőbb, szék konformációban, egymáshoz képest 180° -kal elforgatva kapcsolódnak össze β -1,4-es kötéssel. A cellulóz polimerizációs foka eredetétől függően 2000-20.000 között változhat. A lineáris láncok között kialakuló hidrogén hidak és van der Waals kötések segítségével épül fel a cellulóz fibrilláris szerkezete.

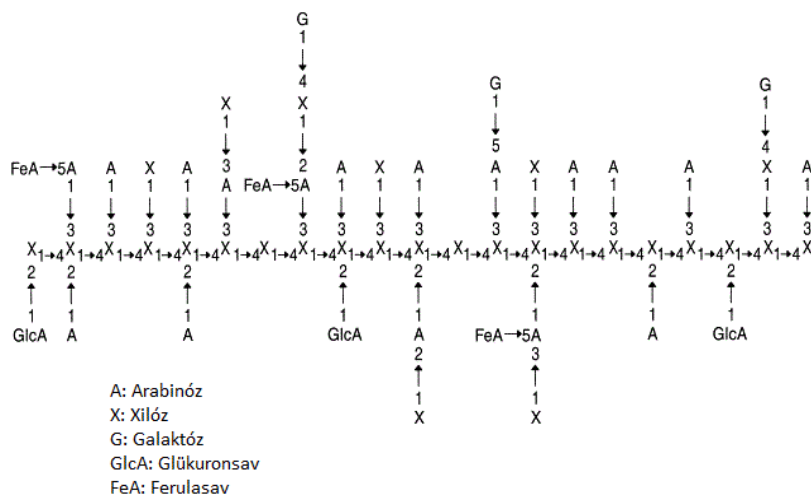


2.2. ábra: A cellulóz felépítése

A cellulózrostok kristályos és kevésbé rendezett amorf részekből állnak, melyek váltakozva fordulnak elő. A cellulóz nagyfokú elterjedését szerkezete tette lehetővé. Rendkívüli stabilitása és mechanikai szilárdsága miatt hideg és forró vízben, híg savakban és híg lúgokban nem oldódik [4], [7].

2.1.1.2. A hemicellulóz

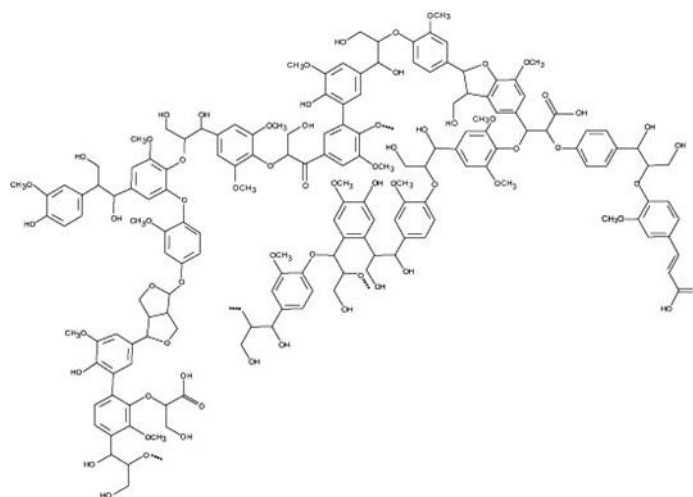
A hemicellulóz a lignocellulózokban a cellulóz rostokhoz hidrogén hidakkal, a ligninhez kovalens kötéssel kapcsolódik. Elágazó szerkezetű, heterogén polimer, mely pentózokból (arabinózból, xilózból), hexózokból (glükózból, galaktózból, mannózból), valamint cukorsavakból áll (2.3. ábra). Pontos összetétele eredetétől függően változik. Polimerizációs foka kisebb, mint a cellulózé, 200-300 közötti. Szerkezetét tekintve egy alapláncból és elágazásokból áll. Az alaplánc általában homopolimer xilánlánc, melyben a xilózmolekulák β -1,4-kötéssel kapcsolódnak össze. A leágazó láncok a xilózon és arabinózon kívül tartalmazhatnak még glükuronsavat, glükuronsav-4-O-metil-étert, ecetsavat, stb. Vízen nem, savakban és lúgokban viszont a cellulóznál nagyobb mértékben oldódik, ez elsősorban lazább szerkezetének köszönhető. Hidrolízis során az elágazó láncok hidrolizálnak elsőként [4], [7].



2.3. ábra: Xilán alapláncú hemicellulóz sematikus szerkezete

2.1.1.3. A lignin

A lignin egy háromdimenziós, aromás szerkezetű, fenolos hidroxil- és metoxi- csoportokat tartalmazó, főként gvajakolból és fahéjalkoholból felépülő makromolekula (2.4. ábra). A természetben előforduló egyik legellenállóbb anyag, ez biztosítja a lignocellulózok ellenállóságát. Körbeveszi, és így ellenállóvá teszi a cellulózból és hemicellulózból álló rostokat az enzimikus bontással szemben. A sejtek falában lerakódva a sejtfa elfásodását okozza. Szerves oldószerekkel oldatba vihető [7].



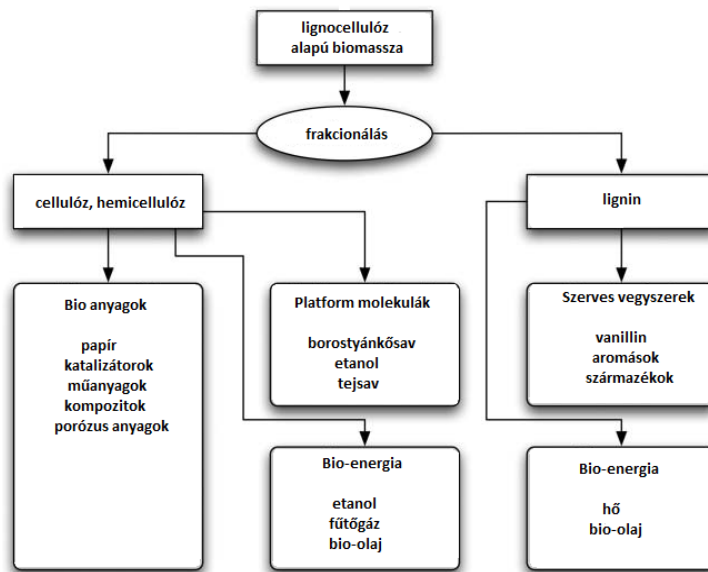
2.4. ábra: A lignin felépítése

2.1.2. A lignocellulóz alapú biomassza hasznosítása

A lignocellulóz alapú biomassza - ahogyan az előző fejezetből is látszik - rendkívül komplex szerkezetű, melyben számos különböző molekula kapcsolódik össze különböző kötéstípusokkal. Ennek az összetett szerkezetnek köszönhetően komoly kihívást jelent a feldolgozása, ugyanakkor az alkotóelemek széles skálája révén komoly potenciállal bír. A különböző frakciók hasznosítására a biofinomítás már számos alkalmazható technológiát szolgáltatott. A cellulóz legelterjedtebb felhasználása az etanol előállítás, de ezen kívül elméletileg a szerves vegyipar összes terméke előállítható belőle. A hemicellulóz frakció szintén lehet etanol előállítás alapanyaga, bár ez körülményesebb, mint a cellulóz alapú fermentáció. Ezen kívül a hemicellulózt alkotó cukrok felhasználhatók élelmiszeripari adalékanyagként, valamint a pentózokból mosószer adalékok és szappanok állíthatók elő. A ligninfrakciót általában energianyeresre használják: vagy közvetlenül elégetik, vagy elgázosítják [4].

2.2. Biofinomítás

Három alapvetően kitűzött cél: i, a környezetbarát technológiák alkalmazása, ii, a megújuló energiaforrások felhasználása, valamint iii, a hulladékhasznosítás szempontjából megfelelő alternatíva lehet a kőolaj finomítás kiváltására a biofinomítás. A biofinomító kifejezés az angol *biorefinery* szó tükörfordításából ered, és egy olyan integrált átalakító egységet jelent, mely különböző biológiai alapanyagokból képes hasznos termékeket előállítani. A felhasznált alapanyagok lehetnek élelmiszeripari és agroipari melléktermékek, faipari és mezőgazdasági hulladékok, stb.. A biofinomító ezekből képes értéknövelt termékek, például energia, üzemanyagok, műanyagok, vegyipari alapanyagok előállítására (2.5. ábra).



2.5. ábra: A lignocellulóz alapú biomassa hasznosítása biofinomító üzemben [10]

A biofinomítás során számos tudomány terület ötvöződik, mint például a biomérnökség, polimerkémia, élelmiszertudományok, stb.. A „*biofinomító koncepció*” a kőolaj-finomítás analógjaként alakult ki: ahogyan a kőolaj-finomításnál számos termék előállítható a nyersolaj feldolgozása során, úgy itt is számos termék előállítható a biomasszából. A biomassza feldolgozásában termokémiai, biokémiai, mechanikai/fizikai és kémiai folyamatok vesznek részt. A biofinomító koncepció egy új szemlélet, mely a fenntartható fejlődés alapját képezi. Teljes mértékben követi a zöld kémia alapelveit, miszerint a fenntartható fejlődés érdekében lehetőleg megújuló nyersanyagokat kell alkalmazni és ezeket hatékonyan kell felhasználni, ki kell küszöbölni a hulladékok keletkezését és el kell kerülni a mérgező és veszélyes reagensek, oldószerek használatát [11], [12].

A biofinomító magába foglalja a biomassza átalakítás folyamatait és eszközeit. A hasznosított alapanyag alapján két csoportra oszthatók a biofinomító üzemek: az egyik esetben erre a célra termesztett biomasszát hasznosítanak, a másik esetben pedig különböző iparágak (mezőgazdaság, faipar, élelmiszeripar, stb.) hulladék anyagait. A feldolgozás során nem keletkezik hulladék, mert ami az egyik folyamatnak hulladéka, az egy másik folyamatnak alapanyaga, ezáltal az összes folyamat összekapcsolódik egyetlen komplex egészet alkotva. A koncepció szerint a biofinomítónak gazdaságosan elő kell tudni állítani

- nagy mennyiségben a bio-üzemanyagokat, melyekre a kereslet világviszonylatban is a legnagyobb
- azokat az értékesebb termékeket is, melyekre a kereslet kisebb

- a működéséhez szükséges hő- és villamos-energiát [4].

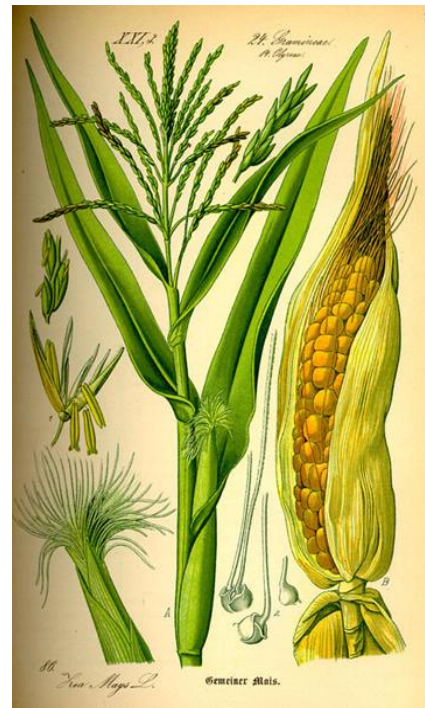
Magyarországon a biofinomító üzemek számára nyersanyagként felhasználható biomassza tömeg legnagyobb részét a mezőgazdasági melléktermékek és hulladékok teszik ki, ezek közül is kiemelhető a kukorica feldolgozása során keletkező melléktermékek. A kukorica termesztése és feldolgozása során több melléktermék keletkezik, mint amennyi maga a termés.

2.3. A kukorica

A kukorica (*Zea mais*, 2.6. ábra) a C4-es növények csoportjába tartozik. A C4 jelző a fotoszintézis sötét szakaszának Calvin-ciklustól eltérő formájára utal, mely elsősorban trópusi növényekre, köztük a cukornádra és a kukoricára jellemző.

A C4-es út energiaigényesebb a Calvin-ciklusnál, így a kukorica kiemelkedően sok napenergia megkötésére képes.

2.6. ábra: Kukorica, *Zea mais*



2.3.1. A kukorica termesztése

Magyarországon a kukoricatermesztés és felhasználás hosszú múltra tekint vissza. A közel állandó vetésterület ellenére, az öntözőrendszer hiánya miatt a kukoricatermés mennyisége jelentősen, 4-9 millió tonna között ingadozik évente [7].

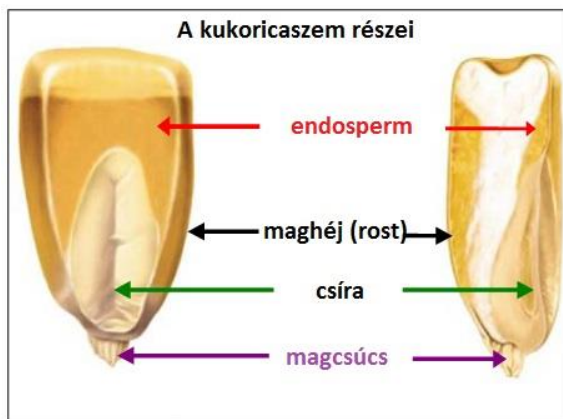
Biztos felvevőpiaca azonban csak körülbelül 4 millió tonna kukoricának van [7]. A kukoricatermesztés során megmaradó (és kezelendő) termékek: a főlös kukoricatermés, valamint a kukorica levele és szára. A főlös kukorica mennyisége 1-5 millió tonna között változik évente [7], ennek legjelentősebb felhasználási területe a bioetanolgyártás. Kukoricaszárból évente körülbelül 11 millió tonna keletkezik [7], ezt a kombájnnal a levelekkel együtt aprítva visszaszórják a szántóföldre, majd beleforgatják.

Az így visszaszórt anyagok égetése környezetvédelmi okok miatt nem engedélyezett. A visszaszórt lignocellulózok azonban megnehezítik a földművelést, mert megváltoztatják a talaj szerkezetét, ezzel befolyásolva a vízháztartását és a művelés hatékonyságát. Egyetlen előnyük, hogy lebomlásuk révén hozzájárulnak a talaj szerves- és ásványi anyag tartalmához. A szár és a levelek egyéb gazdaságos hasznosítása jelenleg még nem megoldott. A

lignocellulóz alapú melléktermékek, mint az előbb említett kukoricaszár és levél, szintén lehetnek bioetanolgyártás alapanyagai, vagy - az üzemanyagokon kívül -, megfelelő technológiák esetén egyéb értékes termékeket nyerhetnénk belőlük biofinomító üzemekben [7].

2.3.2. A kukoricaszem

A kukoricaszem fő alkotórészei a magcsúcs, a magháj, a csíra és az endosperm (2.7. ábra). A csíra a mag azon inaktív része, amely megfelelő környezeti hatások esetén fejlődésnek indul. A mag körülbelül 80%-át az endosperm teszi ki, mely a csíra fejlődéséhez szükséges tápanyagokat, főként keményítőt, és kevés fehérjét tartalmaz. A kukoricaszemet körülvevő magháj két részből áll. A külső 'pericarp' részt elhalt sejtek alkotják, a belső 'aleuron' rész pedig egy sejtnyi vastagságú, élő réteg. A magháj legfőbb összetevője a lignocellulóz, de ezen kívül tartalmaz még fehérjéket és olajat is [7].



2.7. ábra: A kukoricaszem részei

2.3.3. A kukoricaszem feldolgozása

A mag feldolgozására alapvetően két technológia áll rendelkezésre: a száraz és a nedves őrlési technológia. A száraz őrlési technológia során egy törőmalomban darálják le a kukoricaszemet. A darálás megnöveli a fajlagos felületet, megnöveli a víz és az enzimek hozzáférhetőségét, ezáltal elősegíti a következő lépést, az α -amilázos elfolyósítást. Ezzel szemben a nedves őrlési technológiánál az elfolyósítási lépés előtt elválasztják a kukoricaszemben levő különböző komponenseket. Ennek első lépése, hogy a kukoricaszemet egy-két napig (körülbelül 50°C-on, kén-dioxid vizes oldatában) áztatják. Az áztatás során a magháj megpuhul, a kukoricaszem megduzzad. Ezután a különböző részek elválasztása következik. Elsőként a csírat pattintják ki a kukoricaszemből, majd vízzel történő mosással oldatba viszik a fehérjét és keményítőt. A következő lépésben a kimosott keményítőt és

fehérjét választják el egymástól. A nedves őrléses technológia költségei (mind a beruházási, mind a működtetési) nagyobbak, mint a száraz őrléséi [13].

A kukoricamag keményítőtartalmából első generációs technológiával állíthatunk elő bioetanolt. A folyamat kezdő lépése a keményítő depolimerizációja, majd ezt követi a glükóz fermentációja etanollá. Utolsó lépésként a fermentléből ki kell nyerni az alkoholt [4].

Magyarországon az egyetlen nagyüzemi kukorica feldolgozó a nedves őrléses technológiát alkalmazza. A kukorica nedves őrléses feldolgozása során keletkező nagy rosttartalmú termékeket takarmányozásra használják, de a kukoricaalapú bioetanol-előállítás növekedésének és a magyarországi takarmányozott állatállomány csökkenésének köszönhetően folyamatosan nő a hasznosítatlan melléktermékek mennyisége. A maghéj és a préselt, extrahált csíra koncentrált képződésüknek és összetételüknek köszönhetően alkalmas alapanyagai lehetnek biofinomító üzemeknek. Jelenleg ezeket takarmányozásra használják, valamint a maghéjból tűzipelletet is készítenek, habár a megfelelő feldolgozó technológiák megléte esetén értékes termékeket nyerhetnénk belőlük [7].

2.3.4. A kukoricamaghéj feldolgozása

A kukoricamaghéj lignocellulóz tartalma nagy (közel 45%) [14], így biofinomítás révén számos értéknövelt termék előállítható belőle. A nagy lignocellulóz tartalom mellett jelentős a keményítőtartalma is (körülbelül 20%) [14]. A maghéj keményítőtartalma a nedves őrléses technológiának köszönhető. A maghéj elválasztása a keményítőt és fehérjét tartalmazó oldattól nem tökéletes, a keményítőtartalom ebből a lépésből marad vissza. A kukoricamaghéj pontos összetétele évről-évre változik. A következő táblázat a kukorica maghéj összetételére vonatkozó átlagos adatokat mutatja.

2.1. táblázat : A kukoricarost átlagos összetétele[14]

Komponens	%
Keményítő	18-22
Cellulóz	15-16
Hemicellulóz	
Xilán	21-23
Arabinán	10-12
Lignin	<3
Fehérje	10-15
Olaj	2-4
Hamu	0,5-1,5

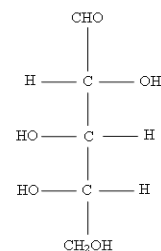
Kálmán Gergely vizsgálatai azt mutatták, hogy a kukoricamaghéj enyhe körülmények között is könnyen frakcionálható, ezáltal számos értéknövelt termék előállítása kivitelezhető [7]. A visszamaradt keményítőtartalom forró vízzel kioldható, vagy amiláz aktivitású enzimek hozzáadásával vízdoldható cukrokká hidrolizálható, és így az egyszerű szilárd-folyadék elválasztási műveletekkel eltávolítható. A hemicellulóz frakció híg kénsavas (1%) kezeléssel, 120°C-on, egy óra alatt csaknem teljesen elválasztható a cellulóz frakciótól [7].

2.4. Az arabinóz és a xilóz

A kukoricamaghéj hemicellulóz frakciójának hidrolízisekor legnagyobb mennyiségben L-arabinóz és D-xilóz keletkezik. Mindkettő az aldózok csoportjába tartozó öt szénatomos monoszacharid. Vízben oldódnak. A természetben általában kötött formában fordulnak elő.

2.4.1. Arabinóz

Az arabinóz (2.8. ábra) fehér színű, kristályos vegyület. A természetben - a xilóz után - a második leggyakrabban előforduló pentóz. Számos felhasználási területe ismert. Hagyományosan az élelmiszeripar alkalmazza adalékanyagként és kis kalóriatartalmú alternatív édesítőszerként, de fontos alapanyaga számos gyógyszer szintézisének is [15].



2.8. ábra: L-arabinóz

Vizsgálatok kimutatták, hogy az L-arabinóz csökkenti a bélnyálkahártya szacharáz aktivitását, így szacharózzal együtt történő fogyasztása esetén késlelteti a vércukor-és inzulinszint emelkedését a vérben. Ennek köszönhetően alkalmas cukorbetegség étrendjének kiegészítésére [16]. Ezen kívül az arabinózt felhasználják mikroorganizmusok azonosításában, gyógyszerek karcinogén anyag tartalmának keresésében, daganat- és vírusellenes anyagok, például nukleozid-analógok szintézisének alapanyagaként is [8].

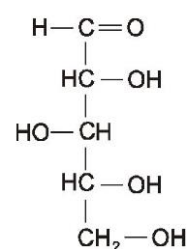
Az arabinóz a természetben általában kötött formában fordul elő, így előállítása két módon történhet: savas, illetve enzimikus hidrolízissel. Kutatások zajlanak a kukoricarostból és cukorrépa pépből történő előállítására. Jelenleg ipari méretekben gumiarábikumból savkatalizált hidrolízissel arabinóz és xilóz keverékét állítják elő, de kutatások folynak az enzimikus hidrolízis alkalmazására is. Az enzimikus hidrolízis előnyei, hogy az enzimek nagymértékben specifikusak a szubsztrátra, enyhe körülmények között is végbemennek a kívánt reakciók, valamint, hogy mellékreakciók nem fogyasztják a hidrolizált terméket. Az enzimikus hidrolízis hátránya azonban, hogy költségesebb, mint a savas hidrolízis. Az előállítás során arabinóz és xilóz keverékét nyerik, mely keverék szétválasztása költséges műveleteket

igényel, mint például a kromatográfiás elválasztás [17]. Ezen költséges lépések kiiktatásával, azaz az arabinóztartalom szelektív hidrolízisével jelentősen csökkenthetők lennének az arabinózelőállítás költségei, és ez által az arabinóz piaci ára.

2.4.2. Xilóz

A xilóz (2.9. ábra) a természetben leggyakrabban előforduló pentóz. Színtelen, könnyen kristályosodó vegyület. Legnagyobb mennyiségben egy alternatív édesítőszer, a xilit előállítására használják [4].

Felhasználható etanol előállításra is: léteznek olyan élesztő törzsek, melyek képesek a xilózt etanollá alakítani [18]. A xilózt alkalmazza továbbá a kozmetikai és gyógyszeripar (ezen belül is a bőrgyógyászati ágazat), mert stimuláló hatással van a proteoglikánok és glükózamino-glükánok szintézisére [19].



2.9. ábra: D-xilóz

2.5. A kukoricarost frakcionálása

A kukoricarost biofinomító szemléletű feldolgozása az egyes frakciók (hemicellulóz, cellulóz, lignin) elválasztását igényli. A lignocellulózok komplex szerkezete miatt a kívánt frakció a komplex lignocellulóz struktúra megbontásával válik hozzáférhetővé. A megbontásra alkalmas kezelések között vannak vizes és vegyszeres kezelések. A legtöbbet végezhetjük kis és nagy hőmérsékleten is. A legismertebb kezelések: forró vizes, híg vagy tömény savas, lúgos, kén-dioxidos, hidrogén-peroxidos, szerves oldószeres kezelés; gőzrobbantás, ammóniás áztatás, ammóniás robbantás, nedves oxidáció, CO₂ robbantás [20].

2.5.1. A kukoricarost híg kénsavval történő kezelése

Kálmán Gergely doktori munkája során a híg kénsavas kezelést többek között keményítőmentesített kukorica maghéj esetében alkalmazta. A reakciót 8-10% szárazanyag koncentráció és – a kísérleti tervtől függően – 0,5-1,5% kénsav-koncentráció mellett, 2 órán át, 120°C-on végezte. A kísérlet során az oldatba kerülő oligoszacharidokat 4%-os kénsavval hidrolizálta. A cukorkoncentrációkat folyadékkromatográfiás módszerrel határozta meg. Eredményei alapján a híg kénsav oldatok a hemicellulózt gyakorlatilag teljesen oldatba vitték. Eredményei azt mutatják, hogy kukoricarost esetében 1%-os kénsavoldat és 120°C reakcióhőmérséklet, kevertetés nélkül, 2 óra tartózkodási idő mellett éles elválasztást valósít meg a hemicellulóz és a cellulóz frakciók között: a cellulóz kb. 90%-a a szilárd frakcióban marad, míg a hemicellulóz 99%-a oldatba megy [7].

Badal C. Saha és Rodney Bothast vizsgálataik során többféle savkoncentráció és kezelés idő hatását vizsgálták 15 m/m% szárazanyag tartalmú kukoricarost-szuszpenziókban 120°C-on. Az általuk vizsgált savkoncentrációk: 0,5; 0,75; 1,0%, és a kezelési időtartamok: 15, 30, 45, 60 perc. Statisztikai értékelés után megállapították, hogy a két paraméter közül melyiknek van szignifikáns hatása a cukorkonverziók tekintetében. Az eredmények alapján elmondható, hogy az arabinóztartalom könnyen leoldható, és az adott határok között a hozam értéke csak elhanyagolhatóan függ a kezelési idő hosszúságától, valamint az alkalmazott savkoncentrációtól. A xilóz kihozatala ezzel szemben jelentősen függ a kezelési idő hosszúságától, de csak kis mértékben függ az alkalmazott savkoncentrációtól. Másrészt, a glükózhozam mértéke egyaránt függ a kezelési idő hosszúságától és a savkoncentrációtól is [21].

2.5.2. A kukoricarost lúgos kezelése

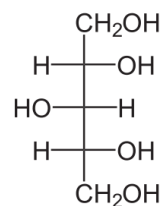
A lúgos kezelés során a szénhidrátláncok és a lignin közötti észter kötéseket bontjuk fel, ezzel a lignocellulóz komplex szerkezete fellazul, és a hemicellulóz frakció polimer formában kinyerhető [4].

Gáspár Melinda doktori munkája során különböző lúgokkal kezelte a kukoricarostot. A lúgos kezelésekkkel célja az volt, hogy a hemicellulóz frakciót minél jobb kihozattal kinyerje, ezzel elősegítve a cellulóz frakció enzimés hidrolízisét és penészgombával történő alkohol-fermentációját. A lúgos kezelést 120°C-on 60, 90 és 120 percig végezte, minden esetben kétféle oldattal: 2,5% NaOH + 0,5% H₂O₂, valamint 2,5% NaOH. Az oldatba került oligomereket 4%-os kénsavval hidrolizálta monomerekké. A cukorkoncentrációkat folyadékkromatográfiás módszerrel határozta meg. A legnagyobb hemicellulóz kihozattal (83,5%-ot) 120 perc alatt, peroxidot tartalmazó oldattal nyerte ki. Ugyanilyen sikeresnek bizonyult a 120 percig NaOH-dal, valamint 90 percig NaOH + peroxiddal végzett kezelések.

A lúgos előkezelések másik típusa az ún. ammóniás áztatás (az angol elnevezése alapján SAA, Soaking in Aqueous Ammonia). *Nhuan P. Nghiem és munkatársai* a kukoricarost frakcionálását vizsgálták: ammóniás áztatást, majd enzimés hidrolízist végeztek. Az áztatás során 15 tömegszázalékos NH₄OH-oldattal 1/11 szárazanyag tartalmú szuszpenziót készítettek kukoricarostból. Ezt nyolc órán át 65°C-os hőmérsékleten tartották, majd a felülúszót a kezelt rosttól centrifugálással elválasztották (30 perc, 8000 rpm). Az ammóniás áztatás hatására körülbelül a glükóz 6%-a, a xilóz 24%-a és az arabinóz 22,5%-a került oldott formába [22].

2.6. A xilit

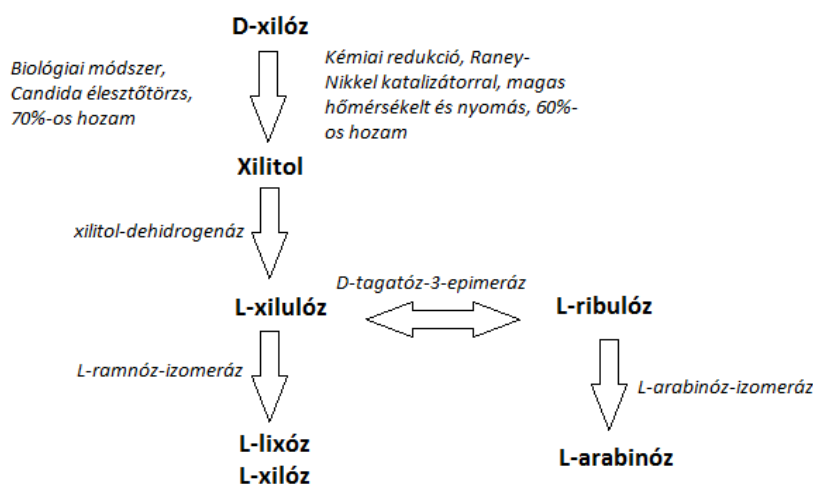
A xilit egy öt szénatomos cukoralkohol (2.10. ábra), mely a természetben ritkán fordul elő. Gyümölcsökben és zöldségekben található meg. Az emberi szervezet normál metabolizmusa során is megjelenik a xilit mint köztitermék, ennek mennyisége 5-15 gramm naponta [23].



2.10. ábra: Xilit

Alkalmazzák édesítőszerként rágógumikban, cukrokban, édességekben és fogkrémekben. Édessége körülbelül akkora, mint a szacharózé, ugyanakkor kalóriatartalma csak kétharmada a szacharózénak. Utóíze gyakorlatilag nincsen, a fogzománcot nem károsítja. „Cukorbetegnek számára biztonságos” édesítőszerként hirdetik. A biztonságos jelzöt kis glikémiás indexének (13-as) köszönheti, valamint annak, hogy lebontása nem inzulin-függő útvonalakon történik. A glikémiás index az élelmiszerek 100 kJ-nyi mennyiségének vércukoremelő képessége a szőlőcukoréhoz képest mérve, százalékban [24].

Felhasználják továbbá cukrok prekursoraként. Mivel ipari léptékben állítják elő, így olcsó alapanyaga lehet azon cukrok előállításának, melyek a természetben ritkán fordulnak elő, mint például az L-lixóz vagy L-ribulóz (lásd 2.11. ábra). Optikailag inaktív, így lehetővé teszi D-konfigurációjú anyagok átalakítását L-konfigurációjú anyagokká, például D-xilóz átalakítását L-arabinózzá. A xilit *xilit-dehidrogenáz* enzim segítségével L-xilulózzá oxidálható, mely izomerizációval L-lixózzá vagy L-xilózzá alakítható. Az L-xilulóz *D-tagatóz-3-epimeráz* enzim segítségével L-ribulózzá konvertálható, melyből *L-arabinóz-izomeráz* közreműködésével L-arabinóz állítható elő [9].



2.11. ábra: Xilit átalakítási lehetőségei [9]

2.6.1. Xilitelőállítás

2.6.1.1. Xilitelőállítás kémiai úton

Xilit kémiai úton a xilóz katalitikus hidrogénezésével állítható elő, melyhez Raney-Nikkel katalizátort használnak [25]. A kémiai előállítás költséges, mert a redukcióhoz csak tiszta xilóz használható. A xilózt lignocellulózok savas hidrolízisével nyerik, mely során egyéb termékek is megjelennek, így a megfelelő tisztaság eléréséig többlépéses tisztítási folyamaton kell végigvinni. A kémiai eljárást ipari léptékben az 1970-es években dolgozták ki Finnországban. Habár a legtöbb fejlesztés célja a xilithozam növelése és/vagy a költségek csökkentése, az elérhető maximális hozam az egész folyamatra nézve így is csak 50-60% [9].

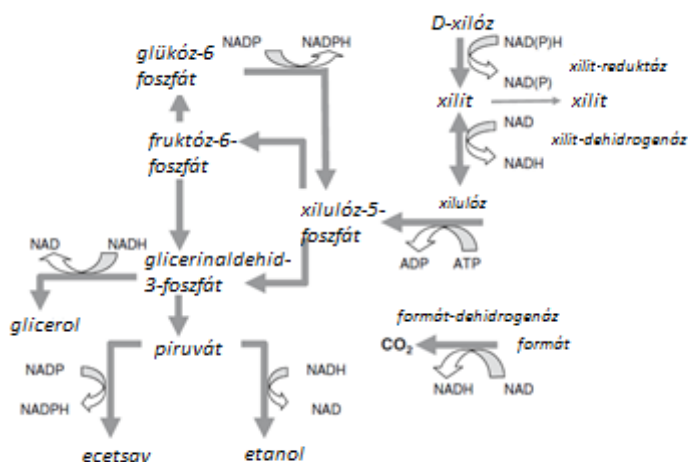
2.6.1.2. Xilitelőállítás biológiai úton

Egy alternatív módszer a xilitelőállítására a mikrobiális úton történő redukció, melynek ismertsége a nyolcvanas évek óta egyre inkább növekszik. Az alapanyag ebben az esetben is a lignocellulózok savas hidrolízisekor kapott xilóz. Egyes élesztőtörzsek pentóz-fermentáló képességét az 1980-s évek elején fedezték fel. Ezután nagymértékben megnőtt az érdeklődés a D-xilóz biokonverziója iránt. A biokonverzió két lényeges terméke az etanol és a xilit. Néhány baktérium és fonalas gomba képes xilitet előállítani, de a legfontosabb termelők az élesztők, közülük is a *Candida* nemzetség tagjai, például *C. guilliermondii*, *C. pelliculosa*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*. Természetes körülmények között néhány pentóz-fermentáló élesztő elsősorban etanolt (ilyen élesztő például a *Pichia stipitis*), míg mások elsősorban xilitet (például *Candida guilliermondii*, *Candida tropicalis*, stb.) állítanak elő. De léteznek olyan élesztők is, melyek egyszerre állítanak elő etanolt és xilitet. A biológiai redukció előnyei, hogy gazdaságosabb lehet, mint a kémiai redukció, valamint, hogy egy szubsztrátspecifikus reakción alapszik. Biológiai redukció alkalmazásával különböző biomasszákat, köztük például növényi, mezőgazdasági és erdészeti hulladékok is hasznosíthatók. A jelenlegi kutatásokban alkalmazott alapanyagok az eukaliptusz fa, a cukornád- és kukoricarost, valamint a kukoricacsutka. A biológiai redukció során elérhető hozam versenyképes a kémiai katalízissel elérhető hozammal [9], [26].

2.6.1.2.1. A xilózhasznosítás folyamata élesztőkben

Az élesztők a xilóz-metabolizmus során kétlépéses oxidációs-redukciós reakcióban alakítják a xilózt xilitté, majd ezt xilulózzá. Az első reakciót a NADPH- vagy NADH-függő *xilóz-reduktáz* katalizálja. A xilitet a sejt vagy kiválasztja sejten kívülre, vagy tovább oxidálja xilulózzá egy NAD⁺-függő *xilit-dehidrogenáz* segítségével. A képződött xilulóz ezután a

xilulóz-kináz segítségével foszforilálódik S-xilulóz-5-foszfáttá, ami intermedierként lép be közvetítő metabolikus útvonalakba, és etil-alkohollá alakul (2.12. ábra). Az élesztők közvetítő metabolikus útvonalainak a *xilóz-reduktáz* és a *xilitol-dehidrogenáz* fontos szabályozói [23], [27].



2.12. ábra: D-xilóz metabolizmusa élesztőkben [25]

2.6.1.2.2. A biológiai úton történő xilitelőállítás befolyásoló tényezők

A biológiai redukciót számos környezeti paraméter befolyásolhatja. Ezek egy része az élesztősejtek növekedésére van hatással, másik része a xilithozamra. A fermentációs hozamok növelése, valamint a költségek csökkentése érdekében fontos megértenünk, hogy mely paraméterek és hogyan befolyásolják a sejtek metabolizmusát. A legfontosabb befolyásoló tényezők a kezdeti sejt-, illetve xilózkoncentráció, a hőmérséklet, a pH és az oxigénellátottság. Továbbá hatással vannak a fermentációra az inhibitorok, a xilóz mellett jelenlevő egyéb cukrok, valamint ezek mennyiségi aránya a xilózhoz képest [28].

2.6.1.2.2.1. Oxigénellátottság

A xilitfermentációt befolyásoló paraméterek közül az egyik legfontosabb a rendelkezésre álló oxigén mennyisége. Az oxigénellátottságot gyakran jellemzik az OTR-rel ('Oxygen Transfer Rate', oxigénátadási sebesség), vagy a k_{La} -val (eredő folyadékoldali oxigénabszorpciók együttható), mert ezek a fermentáció során jól beállítható paraméterek.

A D-xilóz hasznosítás NADH koenzim felhalmozását eredményezi, melynek mértéke a jelen levő oxigén mennyiségétől is függ. Anaerob körülmények között, vagy nagyon kis OTR érték mellett a NAD-függő *xilit-dehidrogenáz* nagymértékben gátolt, ami a xilit felhalmozódásához vezet, a D-xilóz D-xilulózzá alakítása helyett. Az oxigénellátásnak van egy kritikus értéke,

melynél a xilithozam nagy, ugyanakkor a sejttömeg-hozam kicsi. *C. boidinii* és *C. parapsilosis* esetén teljesen anaerob körülmények között a sejtnövekedés csaknem teljesen megszűnik, viszont a xilithozam is kicsi marad. A xilittermelés szempontjából megfelelő oxigén ellátottság a limitáló oxigénkoncentráció értéke körül található [27], [29].

2.6.1.2.2.2. Inhibitorok jelenléte

Hemicellulóz-hidrolizátumok esetén problémát jelentenek az oldatban jelen lévő toxikus anyagok, mint például a furfural, az 5-hidroxi-metilfurfural és az ecetsav. Ezek a vegyületek a lignocellulózok savas hidrolízisekor képződnek. A furfural és 5-hidroxi-metilfurfural az erősebb körülmények között történő hidrolízis során a cukrok degradációjából képződik, így ezek enyhe körülmények között elhanyagolható mennyiségben képződnek. Ecetsav minden esetben megjelenik a hidrolizátumban, a mennyisége az adott hemicellulóz eredetétől függ. Az ecetsav erős inhibitor a xilóz-metabolizmusnak. Az inhibíció mértéke függ az ecetsav koncentrációjától, valamint az ecetsav:xilóz aránytól. Az ecetsav koncentráció növekedésével párhuzamosan a xilózfelhasználás lassulása mellett a sejtnövekedés mértéke is csökken. Az inhibeáló anyagok eltávolítására például aktív szén alkalmas [26], [30].

C. parapsilosis-szal folytatott fermentáció során felesleges mennyiségű glükóz jelenléte esetén, anaerob körülmények között etanol termelődik. Ennek köszönhetően a xilittermelés lassul. Ennek oka, hogy a sejtek először a glükózt hasznosítják, és csak ezután a xilózt, valamint, hogy az etil-alkohol mérgező a sejtek számára [30].

2.6.1.2.2.3. Egyéb cukrok jelenléte a xilóz mellett a fermentációban

Számos szerves „hulladékanyag” olcsó alapanyaga lehet a biotechnológiai folyamatoknak, köztük a xilitelőállításnak is. A biológiai xilózredukció fejlesztésének egyik legnagyobb előrelépése az volt, amikor felfedezték, hogy tiszta D-xilóz helyett pentózok elegye is hasznosítható a fermentációban [31]. Szubsztrátok keveréke esetén eltérő enzim aktivitások tapasztalhatók, mint egyetlen szubsztrát esetén. A *xilóz-reduktáz* és *xilit-dehidrogenáz* enzimek indukciója fontos szabályozó szerepet tölt be a xilózt xilulózzá alakító biokémiai folyamatban. Mindkét enzim indukálható számos szubsztrát által, de szubsztrátonként eltérő mértékben. *C. guilliermondii* esetén a legjobb induktornak a D-xilóz bizonyul, ezt szorosan követi az L-arabinóz. A cellobióz, D-mannóz, D-glükóz, D-galaktóz, D-fruktóz, valamint a glicerol csak kismértékű *xilóz-reduktáz* aktivitást idéznek elő. A *xilit-dehidrogenázt* a cellobióz és a D-fruktóz részlegesen, míg a többi cukor elhanyagolható mértékben aktiválja. Az L-arabinóz, a cellobióz, és a D-galaktóz nem, míg a D-mannóz, D-glükóz, D-fruktóz és glicerol különböző mértékben nyomja el a D-xilóz által a két enzimben okozott indukciót.

Hexózek jelenlétében általánosan a következő tapasztalható: az élesztő előbb a hexózt fogyasztja el, és csak ezután a pentózt [32].

A cukrok jelenlétének hatása teljesen eltérő mértékű lehet. Például *C. guilliermondii* esetén D-glükóz jelenlétében 30 százalékkal csökken a xilózfelhasználás, míg az arabinóz nincs hatással a felhasznált xilóz mennyiségére. Ugyanakkor, amennyiben xilóz vagy glükóz is van a fermentáléban, ezek teljesen elnyomják az arabinózhasznosítást [28]. *C. guilliermondii* esetén a xilittermelés szempontjából az az optimális, ha glükóz nincsen a fermentáléban. Az arabinóz jelenléte nem befolyásolja az elérhető xilithozamot [28].

2.6.1.2.2.4. Az élesztő szaporítása

A hatékony xilitfermentáció első lépése a sejtek gyors szaporítása. A rátáplálásos fermentáció során ez megoldható a kezdeti oxigénkoncentráció nagy értéken tartásával, majd annak megfelelő szintre csökkentésével. A sejtkoncentráció növelésének egyik további lehetősége a sejtek membránszeparációja. Folyamatos fermentációs rendszerben az elválasztott sejtek újra felhasználhatóak. A visszatartás hatására nagy sejtsűrűség alakul ki, ami növeli a rendszer hatékonyságát [26].

A sejtek növekedésének sebességét befolyásolja a tápoldatban oldott cukrok minősége és mennyisége is. *C. boidinii* esetén gyorsabb sejtnövekedés érhető el glükóz és xilóz elegyén való felszaporításkor, mint tiszta xilózzoldaton [23]. Ugyanakkor xilóztartalmú tápoldaton felszaporított *C. guilliermondii* sejtekkel végzett fermentáció esetén nagyobb xilithozam érhető el, mint glükóztartalmú tápoldaton felszaporított sejtekkel [33].

2.6.1.2.2.5. Ritka cukrok fermentációja

A sejtszaporításhoz szubsztrátként használt cukrok általában a leggyakrabban előforduló pentózok. Néhány nyersanyagban azonban találhatók ritka pentózok is, mint például a D-arabinóz, L-xilóz, L-ribóz, és L-lixóz [34]. Ezek elválasztása a többitől bonyolult és költséges, így érdemes foglalkozni ezek fermentálhatóságával.

Granström és munkatársai *C. guilliermondii* fermentációját vizsgálták különböző szubsztrátok esetén. A sejtek a leggyorsabban a vizsgált cukrok közül L-arabinózon, L-ribulózon, D-ribózon és D-xilózon nőttek. D- és L-lixózon lassabb volt a sejtnövekedés. A vizsgálathoz kontrollként D-glükózt használtak. Az eredmények alapján a vizsgált pentózok részben cukorlakohol-termelésre, részben biomassza növelésre fordítottak [34].

A *xilóz-reduktáz* enzim L-arabinóz, D-xilóz, D-ribóz felé nagy, míg D-lixóz, L-lixóz és L-ribóz felé csak elhanyagolható mértékű affinitást mutatott. A D-galaktóz, D-glükóz és D-mannóz nem indukálták az enzimet. Az eredmények alapján tehát az élesztő az összes vizsgált

gyakran előforduló és ritka cukrot a megfelelő alkohollá redukálta. Az eredmény jelentősége, hogy ha xilóz ipari redukciójára használják ezt az élesztőtörzset, akkor az minden jelen lévő pentózt redukálni fog, ami megnehezíti a tiszta xilit előállítását, és több elválasztási lépés beiktatását teszi szükségessé [34].

2.6.1.2.2.6. Kofaktorok hatása

A *C. boidinii* egyike azon élesztőtörzseknek, melyek képesek a metil-alkoholt szénforrásként hasznosítani. Xilózt és 2 százalék metanolt tartalmazó oldatban végzett fermentációk azt mutatták, hogy a metil-alkohol jelenléte nincs hatással a sejtnövekedésre és a D-xilulóz felhalmozásra, ugyanakkor növeli az élesztő által termelt xilit mennyiségét. Ha metil-alkohol is jelen van a fermentáléban, akkor a D-xilulóz-xilit vagy D-xilóz-xilit redukcióhoz szükséges NADH koenzim a metil-alkohol oxidációjakor képes regenerálódni. A fermentációs közegben jelen levő metil-alkohol mennyisége arányos a termelt etil-alkohol mennyiségével [35].

Arruda és munkatársai a glicerin xilóz-xilit biokonverzióra kifejtett hatását vizsgálták *Candida guilliermondii* törzsszel végzett fermentációkban. Kísérleteik során a glicerinkoncentráció 0,7 és 6,5 g/l volt, kontrollként csak xilózt tartalmazó tápoldatot alkalmaztak, valamint vizsgálták a fermentációt csak glicerint (53 g/l) tartalmazó tápoldaton is. Eredményeik alapján 0,7 g/l glicerin hozzáadása a xilithozamot és a produktivitást is növelte, közben etil-alkohol képződött. A sejtkoncentráció csak glicerint tartalmazó tápoldatban volt a legnagyobb, csak xilózt, illetve xilózt és glicerint együttesen tartalmazó tápoldat esetén kisebb sejtnövekedést tapasztaltak.

2.6.2. Arabinózelőállítás

L-arabinózt kereskedelmi mennyiségben jelenleg egy összetett eljárás során állítanak elő. A folyamat első lépése a gumiarábikum savas hidrolízise, mely eredményeképp a poliszacharid frakció nagy részben monoszacharidokká hidrolizál. A hidrolízis során az alkalmazott körülményektől és a nyersanyagtól függően 40-75%-os hozam érhető el az elméletileg kinyerhető arabinóz tekintetében [36]. Ezután következik számos tisztítási lépés, köztük semlegesítés, ionmentesítés, valamint kromatográfiás lépések, melyek jelentős költséget okoznak. A nagy költségekhez hozzájárul az is, hogy a gumiarábikum drága nyersanyag, és a fellelhető készletek végesek.

Az arabinóz előállításának alternatív nyersanyagául szolgálhatnak a pektin- és/vagy lignocellulóztartalmú mezőgazdasági és agro-ipari melléktermékek, melyek javarészt nagy mennyiségben és alacsony áron állnak rendelkezésünkre. A pektint tartalmazó alapanyagok arabinántartalmából az arabinóz előállítása például endo- és exo-arabinázok segítségével

lehetséges [37]. *Lim és munkatársai* ezzel a módszerrel 80%-os konverzió érték el, ugyanakkor a tiszta arabinán előállításához számos tisztítási lépésre szükség volt [38]. Korábban (1999) *Ahmed és munkatársai* publikáltak egy módszert, mely során *Mycobacterium smegmatis* segítségével alakították a ribitolt először L-ribulózzá, majd ezt L-arabinózzá [39]. A módszer hátránya, hogy a kiindulási anyagként szolgáló ribitol drága, ezáltal a módszer költségei nagyok.

Shibanuma és munkatársai kukoricarost hígsavas kezelését vizsgálták az arabinóz hidrolízisének kedvező paraméterek megállapítása céljából. A kísérletek során oxálsavat, kénsavat és sósavat alkalmaztak különböző koncentrációkban és tartási idővel, 100°C-os hőmérsékleten, 10% szárazanyag tartalom mellett. A savas hidrolíziseket megelőzően a kukoricarost keményítő tartalmát α -amilázos kezeléssel távolították el. Száz fokon, egy órán át tartó kezelés során a kénsav-koncentrációt 0,05 és 0,5 N, az oxálsav-koncentrációt 0,01 és 2,0 N, a sósav-koncentrációt pedig 0,01 és 0,1 N között növelték. A hidrolizált arabinóz és xilóz arányának figyelembe vételével az oxálsav és a kénsav mutatkozott kedvezőnek. További kísérleteik alapján megállapítható, hogy habár adott arabinózhozam eléréshez kénsavból kisebb koncentráció szükséges, az arabinóz hidrolízisének szelektivitása szempontjából az oxálsav előnyösebb. Hat órás kezelés során oxálsav (0,2 N) esetén 48%-os, míg kénsav (0,12 N) esetén 96%-os xilózkinyerést tapasztaltak. Mindent összevetve, az arabinóz szelektív elválasztása szempontjából legalkalmasabb beállításnak a 0,3%-os oxálsav-koncentráció és egy óra tartózkodási idő mutatkozott. Az arabinózhozam ekkor 54%-nak, a xilóz kinyerés pedig csak 10%-nak adódott [40].

A keményítőmentesített kukoricarost hígsavas hidrolízise során a felülúszóban megjelenő termékek (arabinóz, xilóz, arabinoxilán oligomerek) mennyisége és aránya az alkalmazott körülményekkel – bizonyos keretek között – változtatható és szabályozható. Erélyesebb reakciókörülményeket alkalmazva a mezőgazdasági melléktermékek teljes hemicellulóz tartalmát oldatba vihetjük. Ekkor főként xilózt és arabinózt tartalmazó hidrolizátumhoz jutunk, melyből csak költséges, kromatográfiás lépésekkel választhatóak szét az egyes cukorkomponensek. Megoldás lehet, ha más, értéknövelt termékek előállításához, együtt tudjuk felhasználni a különböző cukrokat. Ilyen megoldás lehet például a génmódosított élesztők segítségével történő xilitfermentáció.

Cheng és munkatársai xilóz anyalúgból történő arabinózelőállítás során sikeresen alkalmazták a fermentációs biotisztítást. A xilóz anyalúg a kukoricacsutkából vagy cukornád bagaszból történő xilózelőállítás során melléktermékként jelenik meg. Cukortartalmát tekintve hozzávetőleg 350-400 g/l xilózt, 150-200 g/l glükózt és galaktózt, valamint 150-180 g/L

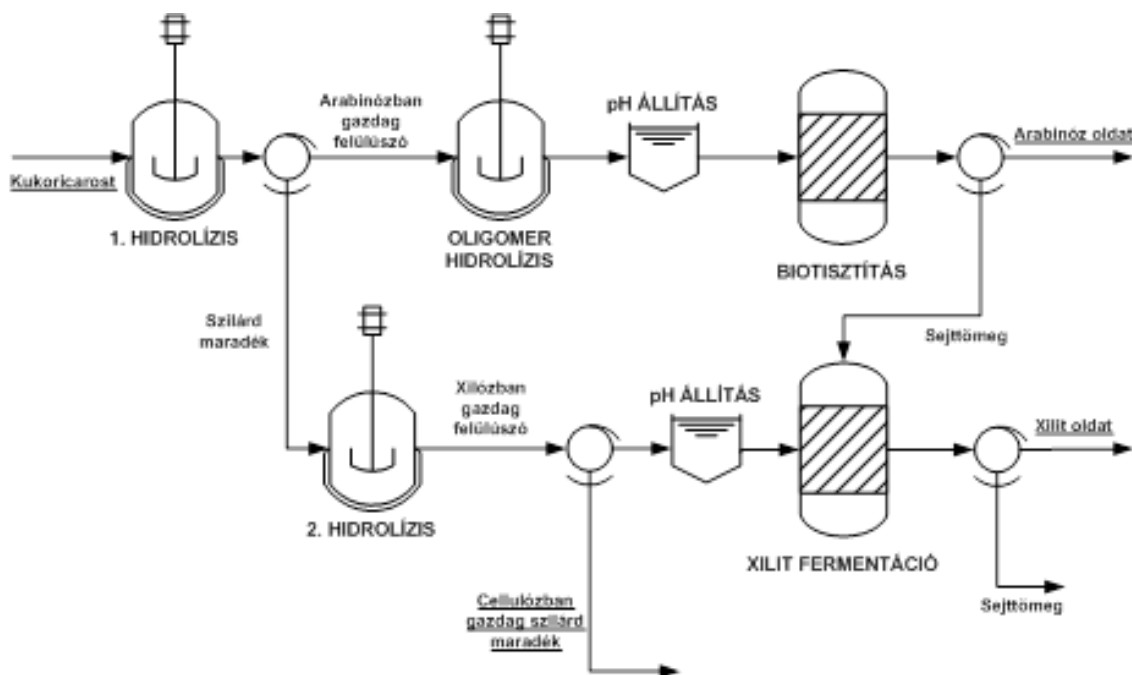
arabinózt tartalmaz. Kísérleteik során 306 különböző élesztő törzset vizsgáltak meg, olyan törzseket keresve, melyek a xilóz anyalúgban található cukor és cukoralkohol komponenseket, az arabinóz kivételével képesek metabolizálni. A vizsgált élesztők közül a *Pichia anomala* Y161 adódott legalkalmasabbnak. A fermentációs biotisztítás hatékonyságát a kiválasztott élesztő tulajdonságain túl a környezeti paraméterek is nagyban befolyásolják. Az optimális fermentációs körülmények megtalálása ezért kiemelt fontossággal bír. Ennek érdekében rázatott lombikos kísérleteket végeztek, melyek során a hőmérséklet (30, 31, 32, 33, 34°C), a fermentáció ideje (50, 60, 70, 80, 90 óra), valamint a xilóz anyalúg mennyiségének (15, 20, 25, 30, 35 v/v %) hatását vizsgálták az elérhető arabinóz tisztaságának tekintetében. A fermentációt aerob körülmények mellett, 2,5% élesztőkivonatot tartalmazó tápközegen végezték. A vizsgált tartományon belül a legnagyobb hatása a xilóz anyalúg mennyiségének volt. A biotisztítás optimális paramétereinek (32,5°C, 75 óra és 21 v/v % xilóz anyalúg) alkalmazásával 87%-os tisztaság érhető el [15].

3. Célkitűzések

A kukoricarost xilóz és arabinóz tartalmában rejlő potenciál kihasználásához, olyan technológiára van szükség, mely során a két cukrot szelektíven tudjuk kinyerni a rostból.

A kémiai xilitelőállítás alternatívája a biológiai redukció, melynél fontos ismernünk, hogy milyen paraméterek, hogyan függenek össze. A biológiai redukció optimalizálása elengedhetetlen a kémiai redukcióval való versenyképesség eléréséhez. A xilitfermentációhoz minél nagyobb xilóztartalmú és minél tisztább xilózoldat szükséges, mely előállítására a szakirodalom szerint alkalmas módszer a biotisztítás.

Munkám során kiindulási lépésként meghatározom a kukoricarost összetételét. Ez után megvizsgálom, hogy különböző savas és/vagy lúgos kezelési módok alkalmasak-e a rost arabinóz- és xilóztartalmának szelektív kinyerésére. Az elkészített kísérleti tervek eredményeit statisztikai módszerrel elemzem.



3.1. ábra: Kukoricarost biofinomító folyamata

A 3.1. ábrán látható folyamatban a kukoricarost egésze hasznosításra kerül. Munkám során ennek a komplex folyamatnak a részeit vizsgálom, külön-külön, és összekapcsolva.

Biotisztítási kísérleteket végzek, modellszubsztrát-oldaton, négyféle élesztőtörzzsel xilózt és arabinózt, valamint xilózt, arabinózt és galaktózt tartalmazó tápoldaton. Ennek célja az arabinóz mellől az egyéb cukrok eltávolítása. Kísérleteim során azt is vizsgálom, hogy hogyan hat a sejtek növekedésére, ha az inokulumot glükóz- vagy xilóztartalmú tápoldaton készítem.

A biotisztítási kísérletet a kapott eredmények alapján *Candida boidinii* törzzsel kukoricarost savas hidrolizátumán is elvégzem.

Modellszubsztrát-oldatokon, *Candida boidinii* törzzsel végzett xilitfermentációs kísérletek során azt vizsgálom, hogy milyen hatással van a fermentáció lefutására és az elérhető xilithozamra a levegőztetés mértéke (a lombikok töltöttsége és a rázatás fordulatszáma), a kiindulási sejt- és xilózkoncentráció, a pH, illetve metil-alkohol vagy glicerín hozzáadása.

4. Anyagok és módszerek

4.1. Felhasznált anyagok

A kukoricamaghéj a Hungrana Keményítő- és Izocukorgyártó és Forgalmazó Kft. által végzett nedves őrléses technológiából származott. A beérkezett rost szobahőmérsékleten száradt, ezután szárazanyag tartalma átlagosan 94% volt.

Acetát puffer (0,1 M, pH=4,8) készítése: 300 ml desztillált vízben feloldottam 7,2 g nátrium-acetátot ($C_2H_3O_2Na \cdot 3H_2O$) majd 2,83 g tömény ecetsavat adtam hozzá, végezetül desztillált vízzel 1000ml-re egészítettem ki az oldatot.

Élesztőkivonat: Merck termék.

Tápsóoldat: 10 g/l élesztőkivonat, 15 g/l KH_2PO_4 , 1 g/l $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 3 g/l $(NH_4)_2HPO_4$

Készítése: 100 ml desztillált vízben feloldottam 1 g élesztőkivonatot, 1,5 g KH_2PO_4 -t, 0,1 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ -t, és 0,3 g $(NH_4)_2HPO_4$ -t, majd az oldatot autoklávban 20 perc alatt 120°C-on steriliztem.

Glükóz-/xilóz-/arabinóz-/galaktóz-oldat készítése: kétszeres töménységű cukoroldatot készítettem desztillált vízzel, majd autoklávban 20 perc alatt 120°C-on steriliztem. Lehűlés után steril fülke alatt az oldatot kétszeres térfogatra egészítettem ki steril tápsóoldattal.

Termamil supra enzimkészítmény (Hungrana Kft.)

Jellemző aktivitása: α -amiláz. pH optimuma 4,5-6,0; hőmérséklet optimuma 75-95°C. Javasolt adagolása 0,5g enzim/ 1 kg száraz anyag.

Amiloglikozidáz enzimkészítmény

Jellemző aktivitása: glükóamiláz. pH optimuma 3,5-5,5, hőmérséklet optimuma 40-60°C. Javasolt adagolása 0,9 ml enzimoldat/kg száraz anyag.

Felhasznált élesztőtörzsek: *Candida boidinii*, *Candida guilliermondii*, *Candida parapsilosis*, *Hansenula anomala*

Az élesztőtörzsek a Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményéből származó aktív tenyészetek.

4.2. Felhasznált berendezések

Szárazanyagtartalom-mérő készülék: Precisa XM 60, Switzerland

Autokláv: Certo ClavA 4050 (Stereizier, Austria), 120°C (1,2 bar)

Rázató inkubátor Certomat® IS, B. Braun Biotech International, Németország)

Centrifuga: Hettich Universal 32 (Germany, D78532)

pH mérő: Laboratory Digital pH Meter, OP-211/2, Radelkis, Budapest

4.3. Alkalmazott módszerek

4.3.1. A szárazanyag tartalom meghatározása

A kukoricarost szárazanyag tartalmát minden kezelés előtt meghatároztam. A szárazanyagtartalom-mérő készülék megméri a behelyezett anyag kiindulási tömegét, majd 105°C-ra hevíti, súlyállandóságig. A szárazanyag tartalmat a végső és a kiindulási tömegből számolja, és százalékos formában jeleníti meg.

4.3.2. A folyadékkromatográfiás vizsgálat

A folyadékkromatográfiás vizsgálatot oldatok cellobióz-, glükóz-, xilóz-, arabinóz-, xilit-, etanol-, meltanol- és glicerintartalmának meghatározására alkalmaztuk.

A készülék típusa Shimadzu LC-VP HPLC

Az alkalmazott oszlop: BIO-RAD Aminex HPX-87H (Bio-Rad, Hercules, CA), a mozgófázis 5 mM kénsav (Millipore vízzel hígítva), az áramlási sebesség 0,5 ml/perc, a kolonna hőmérséklete 65°C.

A kalibrációhoz használt standardok: cellobióz és arabinóz esetén 0,1 és 0,5 mg/ml között 6 hígítási pont, glükóz és xilóz esetén 0,3 és 10,0 mg/ml között 6 hígítási pont.

4.3.3. A nyersanyaganalízis lépései

4.3.3.1. A hamutartalom meghatározása [41]

A mérést három párhuzamossal végeztem. A méréshez szükséges porcelán tégléket 6 óra alatt 550 °C-os kemencében kiizzítottam, majd exsikkátorban hagytam őket lehűlni. Miután lehültek, analitikai mérlegen visszamértem a tömegüket (m_0), majd körülbelül 1 g, előzőleg ledarált száraz mintát tettem mindbe. A pontos tömegüket analitikai mérlegen mértem meg (m_1). A tégléket ismét betettem a kemencébe 550 °C-ra, 6 órára, majd exsikkátorban hagytam őket kihűlni. Ismét megmértem a tömegüket analitikai mérlegen (m_2). A hamutartalom a mért tömegekből számítható:

$$\text{hamutartalom}(\%) = \frac{(m_2 - m_0)}{(m_1 - m_0)} \times 100$$

4.3.3.2. A keményítőtartalom meghatározása

A kukoricarostot ledaráltam, majd 3% szárazanyag tartalmú szuszpenziót készítettem belőle acetát pufferrel. Az oldatokhoz α -amilázt adtam két lépésben. A teljes hozzáadott enzimdózis: 0,5 g enzim/kg szárazanyag. Először az enzim mennyiségének felét adtam hozzá, majd 10

percig 120°C-on autoklávban kezeltem őket. Miután lehűltek körülbelül 90°C-ra, hozzájuk adtam a fennmaradó enzimmennyiséget, és 1 órán át 90°C-on vízfürdőn kevertettem őket. Az 1 óra letelte után amilo-glükozidázt adtam hozzájuk 0,9 ml enzimekészítmény/kg szárazanyag dózisban. Huszonnégy órán át 60°C-on rázattam őket 250 rpm-en. Az oldatokat Büchner-tölcséren 150 µm pórusátmérőjű nyolonszűrő segítségével szűrtem. A lepényeket egyszer átmostam a szuszpenzió mennyiségével megegyező 80°C-os desztillált vízzel. A szűrletek és mosólevelek cukortartalmát folyadékkromatográfiás vizsgálattal határoztam meg.

4.3.3.3. Az etil-alkohollal kioldható anyagok meghatározása [42]

A kukoricarostból etil-alkohollal kioldható extraktívokat gravimetriás módszerrel határoztam meg. A száraz mintából Soxhlet-extrakcióval kioldjuk a nem-strukturális komponenseket. A kioldott anyagok mennyisége a bemért minta tömegcsökkenéséből határozható meg.

A mérést három, előzőleg keményítőmentesített párhuzamossal végeztem. A minta körülbelül 5 grammját bemértem egy ismert tömegű, előzőleg 105°C-on kiszáritott extrakciós hüvelybe, a bemért pontos tömeget feljegyeztem. 300 ml etil-alkoholt töltöttem ismert tömegű, előzőleg 105°C-on száritott gömblombikba. Az extrakciós készülékben 6 órán át reflux alatt forraltam őket, majd lehűtöttem a hüvelyeket és elszívó alatt hagytam őket kicsöpögni. Egy éjszaka alatt 60°C-on megszáritottam, majd 4 órára 105°C-ra tettem őket, és kihülés után analitikai mérlegen megmértem a tömegüket. Az etanolt rotadeszttel elpárologtattam a gömblombikokból. A gömblombikokat ezután egy éjszakán át 60°C-on száritottam, majd 4 órára 105°C-ra tettem őket. Lehülés után analitikai mérlegen megmértem a tömegüket. Az etanollal kioldható extraktívok mennyisége a mért tömegekből számítható.

$$\text{totál extraktívok (\%)} = \frac{m(\text{minta}) - m(\text{extrahált minta})}{m(\text{minta})} \times \frac{100}{DM(\text{minta})}$$

4.3.3.4. A szénhidrát- és lignintartalom meghatározása módosított Håglund módszerrel [43]

A módosított Håglund-módszerrel a lignocellulóz alapú biomassza szénhidráttartalmát első lépésként monomerek formájában felszabadítjuk. Az ún. Klason lignint a hidrolízis utáni, hamutartalommal és az etanollal kioldott extraktívokkal korrigált szilárd maradékként definiáljuk.

A szénhidráttartalmat az előzőleg keményítőmentesített és etanollal extrahált kukoricarostban határoztam meg. Három párhuzamos mérést végeztem. Fél gramm szárazanyaghoz hozzáadtam 2,5ml 72%-os kénsavat, 2 órára 25°C-os vízfürdőre tettem, és körülbelül 20

percenként megkevertem. Ezután hozzáadtam 75 ml Millipore vizet, majd autoklávba tettem 1 órára, 120°C-ra. Az oldatokat G4-es üvegszűrőn átszűrtem, majd a 3 üvegszűrőt (rajta az anyaggal) 105°C-os szárítószekrénybe tettem egy éjszakára, és lehűlés után lemértem a tömegüket. Kemencében 6 órán át, 550°C-on kiizzítottam őket, majd miután kihűltek, ismét lemértem a tömegüket. A szűrletek cukortartalmát folyadékkromatográfiás vizsgálattal határoztam meg.

4.3.4. A kukoricarost keményítőmentesítése

A kukoricarostban maradt keményítőt a különböző kezelések előtt, enzimes hidrolízissel távolítottam el. A kukoricarostot ledaráltam, majd 3% szárazanyag tartalmú szuszpenziót készítettem belőle acetát pufferrel. Az oldatokhoz α -amilázt adtam, 0,5g enzim/kg szárazanyag dózisban. Három órán át 90°C-os vízfürdőn kevertettem, majd Büchner-tölcséren, 150 μ m pórusátmérőjű nylonszűrő segítségével szűrtem a szuszpenziókat. A szűrés során képződött lepényeket az eredeti oldat mennyiségéhez képest háromszoros mennyiségű 80°C-os desztillált vízzel mostam. A szűrletbe, illetve a mosó lébe kioldott keményítőt ezután kénsavval glükózzá hidrolizáltam: a szűrlet/mosó lé 5ml-éhez ugyanennyi 8%-os kénsavat adtam, majd autoklávban 120°C-ra hevítettem, és 10 percig ezen a hőmérsékleten tartottam. A szűrletek, valamint a mosólevek cukortartalmát a keményítő savas hidrolízise után folyadékkromatográfiás vizsgálattal határoztam meg.

4.3.5. Oligomerek kénsavas hidrolízise monomerekké

A minta 1-5 ml-éhez ugyanennyi 8%-os kénsavat adtam, majd autoklávban 120°C-on 10 percig kezeltem őket.

4.3.6. A kukoricarost kénsavas kezelése 90, 120 és 140°C-on

A kénsavas kezelést az előzőleg keményítőmentesített kukoricaroston végeztem. A kukoricarostból 3% szárazanyag tartalmú szuszpenziókat készítettem desztillált vízzel és megfelelően hígított kénsav oldattal. Különböző időtartamokig kezeltem őket vízfürdőben 90 °C-on, vagy autoklávban 120 vagy 140°C-on. A kezelés után a szuszpenziókat minden esetben Büchner-tölcséren - 150 μ m pórusátmérőjű nylonszűrő segítségével - szűrtem. A szűrletekbe kioldott oligomereket ezután 8% kénsavval monomerekké hidrolizáltam. A felülúszók és az utósavazott minták cukortartalmát folyadékkromatográfiás vizsgálattal határoztam meg.

4.3.7. A kukoricarost borostyánkősavas kezelése

A borostyánkősavas kezelést az előzőleg keményítőmentesített kukoricaroston végeztem. A kukoricarostból 3% szárazanyag tartalmú szuszpenziókat készítettem megfelelő koncentrációjú borostyánkősav-oldattal. Különböző időtartamokig kezeltem őket autoklávban 120°C-on. A kezelés után a szuszpenziókat minden esetben Büchner-tölcséren - 150 µm pórusátmérőjű nylonszűrő segítségével - szűrtem. A szűrletekbe kioldott oligomereket ezután 8% kénsavval monomerekké hidrolizáltam. A felülúszók és az utósavazott minták cukortartalmát folyadékkromatográfiás vizsgálattal határoztam meg.

4.3.8. A kukoricarost ammóniás áztatása

Az ammóniás áztatást előzőleg keményítőmentesített kukoricarosttal végeztem. Tizenöt m/m%-os ammónia-oldattal 10% szárazanyag tartalmú szuszpenziókat készítettem a rostból, majd 6 órán át, 55°C-on, 180 rpm-en rázattam őket. A 6 óra letelte után a szuszpenziókat elszívó alatt Büchner-tölcséren - 150 µm pórusátmérőjű nylonszűrő segítségével - szűrtem, és a lepényeket 80°C-os desztillált vízzel semlegesre mostam. A szűrletekbe, illetve a mosólevelekbe kioldott oligomereket ezután 8% kénsavval monomerekké hidrolizáltam. A savas hidrolízis után a szűrletek és mosólevelek cukortartalmát folyadékkromatográfiás vizsgálattal határoztam meg.

4.3.9. A sejtkoncentráció meghatározása

A sejtkoncentráció meghatározásához a mintát desztillált vízzel megfelelően hígítva optikai denzitást mértem 600 nm-en, vak mintával szemben. A mérésekhez alkalmazott vak minta minden esetben a megfelelően hígított, sejtmentes tápsó-oldat volt.

4.3.10. Sejttömeg-kalibráció

A sejttömeg-kalibrációhoz előzőleg 30 g/l xilózoldaton 24 óra alatt felszaporítottam az élesztősejteket. A sejtsuszpenzió pontosan 40 ml-ét lecentrifugáltam (9000 rpm, 5 perc), majd a felülúszót leöntve a kiülepedett sejteket desztillált vízzel felszuszpendáltam és ismét lecentrifugáltam. A mosást még kétszer ismételtam. Végül a kiülepedett sejteket 4 ml desztillált vízzel felszuszpendáltam, és a szuszpenziót előzőleg analitikai mérlegen lemért bemérőedényekbe mértem. Az edényeket 24 órára 105°C-os szárítószekrénybe tettem, majd miután kihültek, ismét megmértem a tömegüket. A sejtsuszpenzióból hígítási sort készítettem, melynek pontjai lefedték a spektrométer mérési tartományát. A minták optikai denzitását a centrifuga-felülúszóval szemben mértem 600 nm-en. A kapott optikai denzitás

értékekhez a megfelelő sejtkoncentráció a 40 ml sejtszuszpenzióban levő sejtömeg alapján a hígításokkal számolhatók.

4.3.11. Inokulum készítés 30 g/l cukoroldaton (glükóz-/xilózoldat)

Steril fülke alatt 2ml 30 g/l cukoroldatban felfuszpendáltam a megfelelő cukortartalmú ferde agaron eltartott élesztősejteket, majd ezt hozzáadtam a tápoldatokhoz. Az inokulálást külön lombikokban elvégeztem mind a négy élesztőtörzzsel. A szaporítást 750 ml-es Erlenmeyer-lombikban, 200 ml fermentlében történt: 24 órán át, 30°C-on, 220 rpm-es rázatással. A 24 óra letelte után mintát vettem a fermentlevekből, melyek egy részéből, desztillált vízzel megfelelően hígítva optikai denzitást mértem a sejtsűrűség meghatározására.

4.3.12. Biotisztítás modellszubsztrát oldaton

Az egyes biotisztításokhoz xilóz-, arabinóz- és galaktóztartalmú oldatokat használtam, az inokulumot minden esetben 30 g/l cukoroldaton készítettem (lásd 4.3.11.).

Steril fülke alatt a felszaporított élesztőoldat 2ml-ével inokuláltam a cukoroldatokat. Az inokulálást külön lombikokban elvégeztem mind a négy élesztőtörzzsel. Törzsenként két-két párhuzamost készítettem. A biotisztítás 100 ml-es Erlenmeyer-lombikban 20 ml fermentlében történt: 1 héten keresztül, 30°C-on, 220 rpm rázatással. A fermentléből naponta mintát vettem, melynek egy részét hígítva optikai denzitást mértem a sejtsűrűség meghatározására. A maradék mintát lecentrifugáltam (10.000 rpm, 5 perc), majd a felülúszó cukortartalmát folyadékkromatográfiás módszerrel határoztam meg.

4.3.13. Biotisztítás hemicellulóz-hidrolizátumon *Candida boidinii* sejtekkel

A biotisztításhoz az inokulumot 30 g/l xilózoldaton készítettem (lásd 4.3.11.). A kukoricamaghéjat 10% szárazanyag tartalom mellett 90°C-on 1,25%-os kénsavval 55 percig hidrolizáltam, majd a szuszpenziót Büchner-tölcséren - 150 µm pórusátmérőjű nyílászűrő segítségével - szűrtem. A szűrletbe kioldott oligomereket ezután 8% kénsavval monomerekké hidrolizáltam. A felülúszó és az utósavazott minta cukortartalmát folyadékkromatográfiás vizsgálattal határoztam meg. A szűrletet ezután további kénsav hozzáadása nélkül A hidrolizátum pH-ját kalcium-hidroxiddal 6-ra állítottam, majd a kicsapódó gipszet szűrőpapíron szűrtem. A leszűrt oldatot 10 perc alatt autoklávban 120°C-on steriliztem. Száz ml-es Erlenmeyer-lombikokba 20-20 ml hidrolizátumot mértem, összesen 6 darabot, majd háromhoz hozzámértem 10 g/l élesztőkivonatot, 15 g/l KH_2PO_4 -ot, 1 g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -ot, és 3 g/l $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -ot. Steril fülke alatt a felszaporított élesztőoldat 2ml-ével inokuláltam a hidrolizátumokat. A biotisztítás 1 héten keresztül, 30°C-on, 220 rpm rázatással történt. A

fermentléből naponta mintát vettem, melynek egy részét hígítva optikai denzitást mértem a sejtsűrűség meghatározására. A maradék mintát lecentrifugáltam (10.000 rpm, 5 perc), majd a felülúszó cukortartalmát folyadékkromatográfiás módszerrel határoztam meg.

4.3.14. Xilitfermentáció mosott *Candida boidinii* sejtekkel

A xilitfermentációt *Candida boidinii* törzzsel végeztem. Az előzetesen felszaporított inokuláló-oldat optikai denzitását megmértem, majd ez alapján meghatároztam a tervezett kiindulási sejtkoncentráció beállításához szükséges inokulum-mennyiséget. A számításhoz az előzőleg meghatározott sejttömeg-kalibráció egyenletét használtam. Az inokulomot steril centrifugacsőben lecentrifugáltam (9000 rpm, 5 perc), majd a kiülepedett sejtekről a felülúszót leöntöttem, a sejteket steril desztillált vízzel felfuszpendáltam és ismét lecentrifugáltam. A mosást még kétszer ismételtam a leírt módon. Végül a kiülepedett sejteket steril fülke alatt a tápoldat egy részével belemostam a tápoldatba. A fermentáció 100 ml-es Erlenmeyer-lombikban különböző töltöttségi érték mellett történt: 1 héten keresztül, 30°C-on, 125 vagy 220 rpm rázatással. A fermentléből naponta mintát vettem, melynek egy részét megfelelően hígítva optikai denzitást mértem a sejtsűrűség meghatározására.

5. Eredmények és értékelésük

5.1. Nyersanyagelemzés

Munkám során a Hungrana Zrt.-től kapott kukoricarosttal dolgoztam. Első lépésként meghatároztam a rost összetételét. A nyersanyagelemzést a 4.3.3. pontban leírtak alapján végeztem, így meghatároztam a rost hamu-, keményítő-, cellulóz-, hemicellulóz-, és lignintartalmát. A hemicellulóz frakció a glükóz, xilóz és arabinóz mellett galaktózt is tartalmaz, de ez az általunk alkalmazott folyadékkromatográfiás oszlopon nem válik el a xilóztól, így azzal együtt mértem. Az 5.1. táblázat tartalmazza a kapott eredményeket. A nyersanyagelemzés során kapott keményítőtartalmat a keményítőmentesítés során oldatba kerülő glükóz mennyiségéből számoltam a következő képlettel:

$$\text{keményítő} \left(\frac{mg}{g} \text{szárazanyag} \right) = \text{glükóz} \left(\frac{mg}{g} \text{szárazanyag} \right) \times \frac{162}{180}$$

A cellulóztartalmat a keményítőmentesítés után a rostban maradt cellobióz és glükóz mennyiségéből számoltam a következő képlettel

$$\text{cellulóz} \left(\frac{mg}{g} \text{szárazanyag} \right) = \text{cellobióz} \left(\frac{mg}{g} \text{szárazanyag} \right) \times \frac{342}{360} + \text{glükóz} \left(\frac{mg}{g} \text{szárazanyag} \right) \times \frac{162}{180}$$

majd a kapott eredményt teljes rostra vonatkoztattam. A xilán- és arabinántartalmat a keményítőmentesítés és a Hægglund-módszer során oldatba kerülő xilóz és arabinóz mennyiségéből számoltam a következő képlettel:

$$\text{xilán} \left(\frac{mg}{g} \text{szárazanyag} \right) = \text{xilóz} \left(\frac{mg}{g} \text{szárazanyag} \right) \times \frac{132}{150}$$

$$\text{arabinán} \left(\frac{mg}{g} \text{szárazanyag} \right) = \text{arabinóz} \left(\frac{mg}{g} \text{szárazanyag} \right) \times \frac{132}{150}$$

5.1. táblázat: A kukoricarost összetétele a szárazanyag százalékban

komponens	%
keményítő	18,3±0,7
cellulóz	18,2±0,4
hemicellulóz	
xilán	21,3±0,1
arabinán	11,9±0,1
lignin	6,8±0,1
extraktívok	1,0±0,1
hamu	0,8±0,01
egyéb	~21%

5.2. A kukoricarost keményítőmentesítése

A keményítőmentesítés során a két alapvető cél a rostban található keményítő maradéktalan kioldása és a hemicellulóz frakció minimális hidrolízise volt. Ehhez a keményítőmentesítést enyhe körülmények között kellett végezni. Az általam választott módszerben az előzőleg ledarált maghéjat 3 órán át kezeltem 90°C-on acetát pufferben α -amiláz enzimkészítménnyel.

5.2. A kukoricarost keményítőmentesítése során kapott eredmények (a százalékos értékek a teljes rostra vonatkoznak)

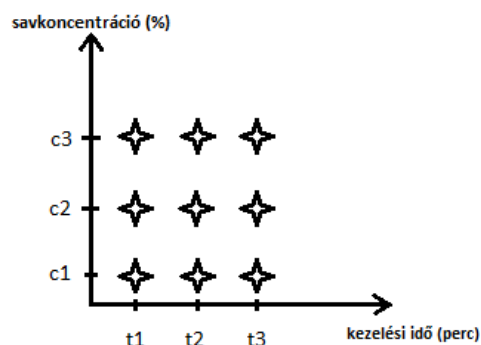
	cellobióz	glükóz	xilóz	arabinóz
átlag (mg/g szárazanyag)	nd	183,40	1,62	4,26
szórás (mg/g szárazanyag)	-	28,56	4,57	1,24
átlag (%)	-	51,61	0,67	3,14
szórás (%)	-	8,04	1,89	0,91

5.3. A kukoricarost kénsavas kezelése

A kénsavas kezelés a kukoricarost hemicellulóz frakcióját viszi oldatba. Számos kutatás – többek között *Badal C. Saha és Rodney J. Bothast* [21]; valamint *Kálmán Gergely* [7] kutatása - bizonyította a kénsavas kezelés sikerességét. Eredeti céljuk – a keményítő és cellulóz enzimikus hidrolízisének megkönnyítése – mellett eredményeik arra engednek következtetni, hogy megfelelő körülményeket beállítva, egyedül a kénsavas kezeléssel megoldható lehet a hemicellulóz frakcióban található xilóz és arabinóz szelektív hidrolízise [21].

Az általam kiválasztott változó paraméterek a kénsav-koncentráció és a kezelési idő, melyek hatását megvizsgáltam 90, 120 és 140°C-on is. A paraméterek hatásának vizsgálatához kísérleti tervet készítettem, mely statisztikai értékelése révén nagymértékben lecsökkentette az elvégzendő kísérletek számát. Az eredmények statisztikai elemzése segítségével megállapítható, hogy a savkoncentráció és a kezelési idő hatása szignifikáns-e az elért cukorhozamokra. Előzetes vizsgálatok azt mutatták, hogy a program által felállított elsőfokú modell nem adekvát, így a kísérletet másodfokú tervek alapján végeztem (válaszfelület módszere). A kísérleti tervem 3^2 típusú, mely azt jelenti, hogy 2 faktor (kénsav-koncentráció és kezelési idő) hatását vizsgáltam 3 szinten.

5.1. ábra: Kísérleti terv a kukoricarost kénsavas kezeléséhez



Az eredmények statisztikai értékelését *Statistica* programmal végeztem. A program a betáplált mérési adatok alapján elsőfokú vagy másodfokú modellt állít fel, és ezek megfelelőségét vizsgálja. A centrumban végzett ismételt mérésekkel teljes ismétlés nélkül végrehajtott terv esetén is lehetőség van a véletlen hiba varianciájának modelltől független becslésére [44]. Ha a modell adekvát, akkor a centripontbeli mérési adatok középértéke és az illesztett modell konstans tagja közötti eltérés csak a véletlen miatt térhet el egymástól, nincsen rendszeres hiba. Adekvát modell esetén a mérési pontokra felület illeszthető, így az általunk mért pontok között is bármely pont jellemezhető, és az optimális paraméter értékek (a szóráson belül) megállapíthatók.

Azt, hogy az adott lineáris modell adekvát-e, a számolt adatokat tartalmazó táblázat *Lack of fit* sorában található p érték adja meg. A *Lack of fit* sorban található p érték annak a mértéke, hogy a modell mennyire illeszkedik a mért adatokra, azaz mennyire felel meg a valóságnak. Amennyiben a p érték nagyobb, mint 0,05, a modell adekvát, ha kisebb, a modell nem adekvát. Nem adekvát modell esetén a program által illesztett felület, valamint a különböző paraméterek hatásaira kapott eredmények nem elfogadhatók.

Amennyiben a program által felállított modell lineáris, az egyenlete nullad- és elsőrendű tagokat, valamint az elsőrendű tagok szorzatát tartalmazza. Ha a modell másodfokú, egyenlete tartalmaz nullad-, első- és másodfokú tagokat, valamint ezek szorzatait. Mindkét változó paraméternek (esetünkben a kénsav-koncentrációnak és a kezelési időnek) van első-, illetve másodfokú tagja, ezeket a továbbiakban lineáris időként - $t(L)$, lineáris koncentrációként - $c(L)$, négyzetes időként - $t(Q)$ és négyzetes koncentrációként - $c(Q)$ említem. Az egyenletben szereplő szorzatok a szorzatban található tagok kölcsönhatását fejezik ki. Kölcsönhatás lehet két lineáris tag, egy lineáris és egy négyzetes, valamint két négyzetes tag között. Ezek alapján a másodfokú modell egyenlete:

$$Y = k + c(Q) + t(Q) + c(L) + t(L) + [c(L) \times t(L)] + [c(L) \times t(Q)] + [c(Q) \times t(L)] + [c(Q) \times t(Q)]$$

ahol Y az adott cukorhozamot, a modell függőváltozóját jelöli.

A program által illesztett modellben minden esetben azok a tagok szerepelnek, melyek az adott esetben szignifikáns hatásúak.

Az eredmények értelmezésénél a statisztikai adatok alapján megállapítható trendeket mutattam be. A program által készített felületek a mért cukorhozamokat ábrázolják, azonban egy adott kezelés szelektivitásának megállapításához a pontos mennyiségek összehasonlítása is szükséges. Ennek oka, hogy a hemicellulóz frakció nagyobb mennyiségű xilózt tartalmaz,

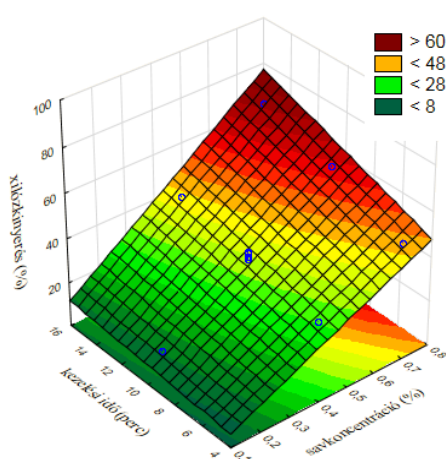
mint arabinózt, és a hozamértékek nem a hemicellulózra vonatkoznak, hanem az összes xilóz és összes arabinóz mennyiségére.

A kezelések során oldatba kerülő oligomereket a 4.3.5. pontban leírtak alapján hidrolizáltam monomerekké. Erre a hidrolizáló lépésre a jövőben utósavazásként, vagy oligomer-savazásként hivatkozom.

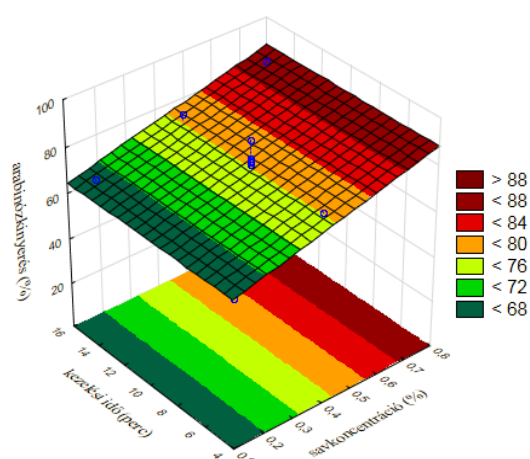
Az eredmények értékelése során ún. tisztasági hányadost számolok, melyet az adott kezelés során kioldott arabinóz (mg/g szárazanyag) és a kioldott egyéb cukrok (xilóz, galaktóz, glükóz mg/g szárazanyag) hányadosaként definiálok.

5.3.1. A kukoricarost kénsavas kezelése 120°C-on

A 120°C-on végzett kísérleti terv esetén a kénsav-koncentráció három értéke 0,15; 0,45 és 0,75%, a kezelési idő 5; 10; 15 perc volt. A kezelések során kapott pontos értékeket a Függelék 7.2.a és b táblázata tartalmazza.



5.2.a ábra: A 120°C-os kezelések során monomerként oldatba kerülő xilóz kihozatalára illesztett modell

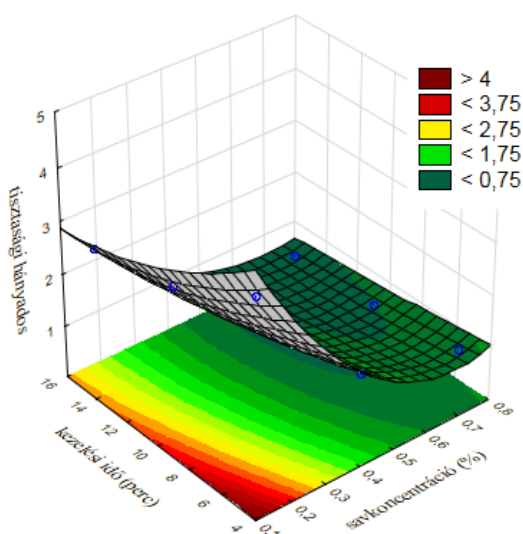


5.2.b ábra: A 120°C-os kezelések során monomerként oldatba kerülő arabinóz kihozatalára illesztett modell

A legkisebb savkoncentráció, 0,15% esetén glükóz csak elhanyagolható mértékben hidrolizált: a hozam mindhárom kezelési pontban kevesebb, mint 0,2%. Mellette az arabinózkinyerés értéke 57-67% között változik, a xilózhozam 8-14% közötti. Ennél a savkoncentrációnál a tisztasági hányados értéke 3,7-2,6 között változik. A savkoncentráció növekedésével egyre nagyobb mennyiségű glükóz került oldatba: 0,45%-nál 0,3-1,7%, 0,75% savkoncentrációnál már 0,9-2,8%. Az arabinózkimotozatal 0,45% kénsav-koncentráció esetén 75-80%, mellette a xilózkimotozatal 28-43%. A kísérleti terv során elért legnagyobb arabinózhozam 86,83%, 0,75% kénsav-koncentráció és 15 perc kezelési idő esetén, itt 157,04 mg (1g

szárazanyagra vonatkoztatva) arabinóz került oldatba, ugyanakkor mellette a xilóz 68,06%-a, 233,62 mg (1gszárazanyagra vonatkoztatva) került oldatba. Az oldat tisztasága ennél a kezelési pontnál a legkisebb, 0,65.

Az oligomer-savazás hatására minden kezelési pontban nagyobb xilóz- és arabinózhozamot értem el, mint savazás nélkül, és a glükózkihozatal is jelentős mértékben növekedett: a legenyhébb kezelési pontban is 5,7%. Az arabinózkinyerés 0,75% kénsav-koncentráció és 15 perc kezelési idő esetén 93,07%, mellette a kinyerhető xilóz 84,17%-a került oldatba. A nagyobb hozamok mellett viszont a tisztasági hányados értéke jelentősen csökkent az utósavazás hatására (Függelék 7.2.b táblázat).



5.2.c ábra: A 120°C-os kezelések során oldatba kerülő monomerekre vonatkozó tisztasági hányadosra illesztett modell

A kezelés során monomerként megjelenő xilóz- és arabinózkhozatalra illesztett lineáris modell mindkét cukor esetén adekvátnak bizonyult, ezért a mérési pontokra felület illeszthető. A xilózkhozatalra szignifikánsan ható tényező a lineáris savkoncentráció és kezelési idő, valamint a kettő kölcsönhatása (Függelék 7.1.a ábra). A nem szignifikáns hatásokat kivéve a modellből, a xilózkhozatal modelljének *Lack of fit* sorában található p értéke 0,1327, és az illesztett modell:

$$\text{xilózkinyerés(\%)} = 0,44 + 47,97 \times c(L) + 0,14 \times t(L) + 2,9 \times c(L) \times t(L)$$

Az arabinózkhozatalra szignifikáns hatással csak a lineáris savkoncentráció van (Függelék 7.1.b ábra). A nem szignifikáns hatásokat kivéve a modellből p értéke 0,3845, és az illesztett modell:

$$\text{arabinózkinyerés(\%)} = 61,08 + 33,71 \times c(L)$$

A tisztasági hányados értékére másodfokú modell illeszthető, melynél minden hatás szignifikánsnak bizonyult (7.1.c ábra):

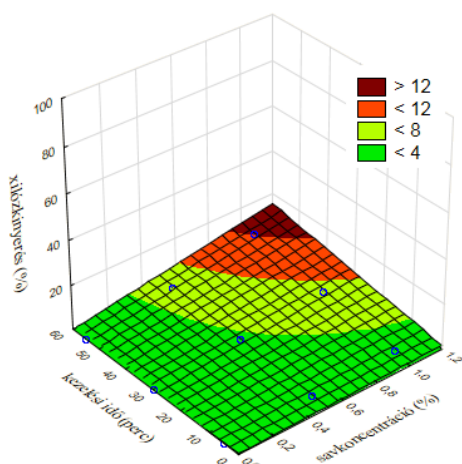
tisztasági hányados

$$\begin{aligned} &= 7,32 - 17,03 \times c(L) + 11,75 \times c(Q) - 0,4 \times t(L) + 0,01 \times t(Q) + 0,71 \times c(L) \times t(L) \\ &- 0,01 \times c(L) \times t(Q) - 0,33 \times c(Q) \times t(L) \end{aligned}$$

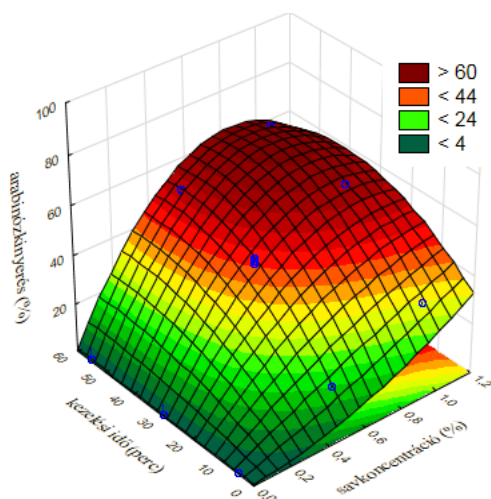
Az eredmények alapján megállapítható, hogy 120°C-os kezeléssel, majd a szűrletekben található oligomerek savas hidrolízisével a hemicellulóz frakciót csaknem teljesen sikerült oldatba vinni, emiatt ezek a kezelések az arabinóz szelektív kioldása szempontjából nem alkalmasak.

5.3.2. A kukoricarost kénsavas kezelése 90°C-on

A 90°C-on végzett kísérleti terv esetén a kénsav-koncentráció három értéke 0; 0,5 és 1%, a kezelési idő 5; 30; 55 perc volt. A kezelések során kapott pontos adatokat a Függelék 7.3.a táblázata tartalmazza.



5.3.a ábra: A 90°C-os kezelések során monomerként oldatba kerülő xilóz kihozatalára illesztett modell



5.3.b ábra: A 90°C-os kezelések során monomerként oldatba kerülő arabinóz kihozatalára illesztett modell

A kezelés hatására glükóz a legtöbb mérési pontban csak elhanyagolható mértékben hidrolizált: a legerélyesebb mérési pontban (1% savkoncentráció, 55 perc kezelési idő) az elméletileg kinyerhető mennyiség 0,5%-a került oldatba. Nulla százalék savkoncentrációnál a hidrolizált xilóz mennyisége nem detektálható, az arabinózkinyerés 1% alatti. Fél százalék savkoncentrációnál a xilózhozam 10 % alatti, 1-6% között változik, mellette az arabinózhozam 16-55% között változik - a kezelési idővel nő. A legnagyobb hozamokat 1% kénsav-koncentrációnál, 55 perc kezelési idő alatt sikerült elérni: itt a xilóz 12,4 %-a és az arabinóz 64,1%-a került oldatba, ez 1 g szárazanyagra vonatkoztatva 105,31 mg arabinózt és 39,38 mg xilózt jelent.

minta		tisztasági
savkonc.	idő (perc)	hányados
0,0%	5	-
0,0%	30	-
0,0%	55	-
0,5%	5	6,92
0,5%	30 - átlag	6,01
0,5%	55	4,88
1,0%	5	6,10
1,0%	30	4,03
1,0%	55	2,56

5.3. ábra: A 90°C-os kezelések során oldatba kerülő monomerekre vonatkozó tisztasági hányadosok értéke

Nulla százalék savkoncentrációnál az arabinóz mellett egyéb cukor nem volt detektálható a szűrletekben, így itt a tisztasági hányados matematikailag nem értelmezhető. A legnagyobb tisztaságot 0,5% kénsav-koncentrációnál, 5 perc kezelési időnél értem el, itt az értéke 6,92, de az arabinózkhozatal ebben a kezelési pontban csak 16,1%. Amely kezeléseknél nagyobb arabinózhozamot sikerült elérni, ott a tisztasági hányados minden esetben kisebb.

Az utósavazással elért kihozatalok minden kezelési pontban nagyobbak, mint az utósavazás nélküliek (Függelék 7.3.b táblázat). A legerélyesebb kezelési pontban az arabinóz 83,48%-a, és mellette a xilóz 58,27%-a került oldatba. A konverziók növekedése mellett a tisztasági hányadosok minden pontban kisebbek, mint utósavazás nélkül.

A xilózkhozatalra illesztett lineáris modell adekvátnak bizonyult, e szerint a kihozatalra a lineáris savkoncentráció, lineáris idő és a kettő szorzata van szignifikáns hatással (Függelék 7.2.a ábra). A nem szignifikáns hatású komponenseket kivéve a modellből a *Lack of fit* sorban található p értéke 0,0962, és az illesztett modell egyenlete a következő

$$\text{xilózkinyerés(\%)} = 0,07 + 1,22 \times c(L) - 0,01 \times t(L) + 0,2 \times c(L) \times t(L)$$

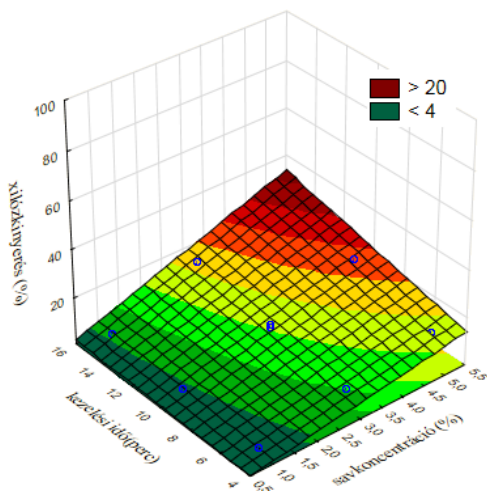
Az arabinózkhozatalra másodfokú modell illeszthető, mely esetén minden tényező és kölcsönhatás szignifikáns (Függelék 7.2.b ábra). Az illesztett modell egyenlete:

$$\begin{aligned} \text{arabinózkinyerés(\%)} &= 0,42 + 5,91 \times c(L) + 17,47 \times c(Q) + 0,01 \times t(L) - 0,00002 \times t(Q) + 5,24 \times c(L) \\ &\times t(L) - 0,05 \times c(L) \times t(Q) - 3,5 \times c(Q) \times t(L) + 0,03 \times c(Q) \times t(Q) \end{aligned}$$

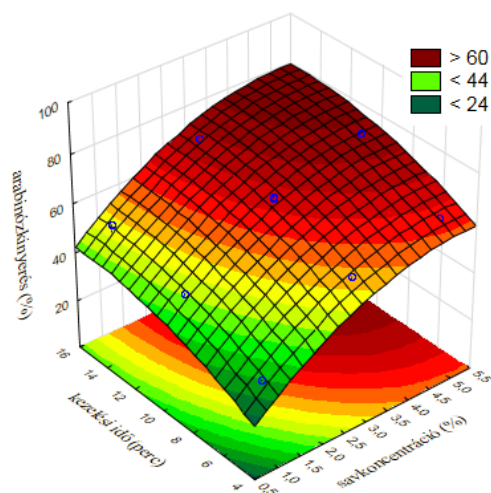
A fent ismertetett eredmények alapján a 90°C-on végzett kezelések tisztasága az oligomerek savazása nélkül lényegesen jobb, mint a 120°C-on végzett kezeléseké, ugyanakkor az elért arabinózhozamok lényegesen kisebbek. Ahhoz, hogy hasonló tisztaságú, de nagyobb arabinóztartalmú hidrolizátumokat kapjak, a 90°C-os kezeléseket elvégeztem emelt kénsav-koncentrációval 5; 10; 15 perc kezelési idő mellett, valamint emelt kezelési idővel 0; 0,25; 0,5% savkoncentráció mellett is.

5.3.3. A kukoricarost kénsavas kezelése 90°C-on, emelt kénsav-koncentrációval

A 90°C-on végzett kísérleti terv esetén a kénsav-koncentráció három értéke 1, 3 és 5%, a kezelési idő 5; 10; 15 perc. A kezelések során kapott pontos adatokat a Függelék 7.4.a táblázata tartalmazza.

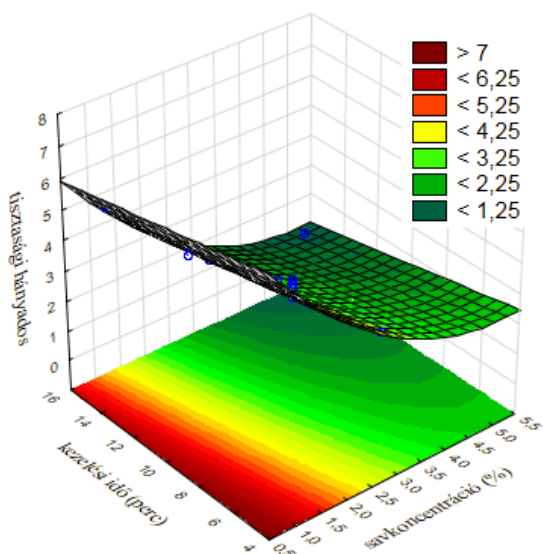


5.4.a ábra: A 90°C-os, emelt savkoncentrációjú kezelések során monomerként oldatba kerülő xilóz kihozatalára illesztett modell



5.4.b ábra: A 90°C-os, emelt savkoncentrációjú kezelések során monomerként oldatba kerülő arabinóz kihozatalára illesztett modell

Glükóz a legtöbb kezelési pontban elhanyagolható mértékben hidrolizált: 5% kénsav-koncentráció és 15 perc kezelési idő esetén 0,65%-os hozamot kaptam. Mindhárom alkalmazott savkoncentráció esetén a xilóz- és arabinózkinyerés a kezelési idővel növekszik, a tisztasági hányados értéke pedig csökken. Egy százalék savkoncentrációnál a xilózhozam 2,5-4,8%, mellette az arabinózhozam egy nagyságrenddel nagyobb: 31-51% között változik.



5.4.c ábra: A 90°C-os, emelt savkoncentrációjú kezelések során oldatba kerülő monomerekre vonatkozó tisztasági hányadosra illesztett modell

Három százalék savkoncentrációnál a hidrolizált xilóz mennyisége 8-19% között, mellette az arabinóz mennyisége 55-72% között növekszik. A legerélyesebb kezelési pontban (5% kénsav-koncentráció, 15 perc kezelési idő) az arabinóz 77,58%-a és mellette a xilóz 28,37%-a került oldatba, ez 1 g szárazanyagra vonatkoztatva 127,46 mg arabinózt és 90,21 mg xilózt jelent.

Az eredmények alapján megállapítható, hogy az oligomer-savazás az emelt savkoncentrációjú kezelések során is növeli mind a xilóz, mind az arabinóz kihozatalát (Függelék 7.4.b táblázat). Utósavazás nélkül 5% kénsav-koncentráció és 15 perc kezelési idő esetén 28,37%-os xilóz- és 77,58%-os arabinózkhozataalt sikerült elérni. Ezek az értékek utósavazás után 80,6% és 97,2%. Ugyanakkor az utósavazással a tisztasági hányados értéke jelentősen csökkent.

A monomerként megjelenő xilóz- és arabinózkhozatalra illesztett modell mindkét pentóz esetén adekvátnak bizonyult. A vizsgált paraméterek közül a xilózkinyerésre a lineáris savkoncentráció, lineáris kezelési idő és a kettő szorzata van szignifikáns hatással (Függelék 7.3.a ábra). A nem szignifikáns hatásokat kivéve a modellből a *Lack of fit* sorban található p értéke 0,3597, és az illesztett modell:

$$\text{xilózkinyerés(\%)} = 1,31 + 1,63 \times c(L) - 0,002 \times t(L) + 0,3 \times c(L) \times t(L)$$

Az arabinózkinyerésre a lineáris és négyzetes savkoncentráció, valamint a lineáris és négyzetes kezelési idő van szignifikáns hatással (Függelék 7.3.b ábra). A nem szignifikáns hatásokat kivéve a modellből p értéke 0,2706, és az illesztett modell:

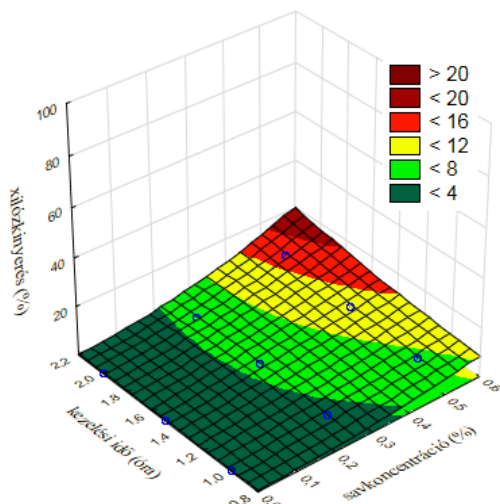
$$\text{arabinózkinyerés(\%)} = 2,84 + 17,18 \times c(L) - 1,62 \times c(Q) + 4,68 \times t(L) - 0,15 \times t(Q)$$

A tisztasági hányados értékére is illeszthető adekvát modell. Ez esetben a lineáris és négyzetes savkoncentráció, valamint a lineáris kezelési idő szignifikáns hatású (Függelék 7.3.c ábra). A nem szignifikáns komponenseket kivéve a modellből p értéke 0,5407 és a modell: $\text{tisztasági hányados} = 8,93 - 2,33 \times c(L) + 0,23 \times c(Q) - 0,12 \times t(L)$

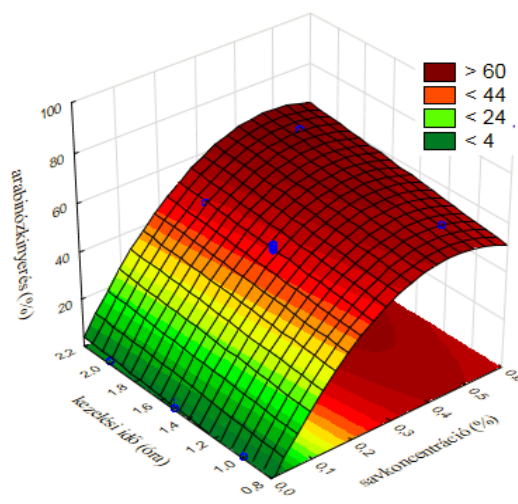
A 90°C-on, nem emelt savkoncentrációval végzett kezelésekhez képest emelt savkoncentrációval nagyobb kihozatalok érhetők el, és a tisztasági hányadosok értéke is nagyobb. Az utósavazás hatására nem emelt savkoncentráció és emelt savkoncentráció esetén is csökken a tisztasági hányados értéke.

5.3.4. A kukoricarost kénsavas kezelése 90°C-on, emelt kezelési idővel

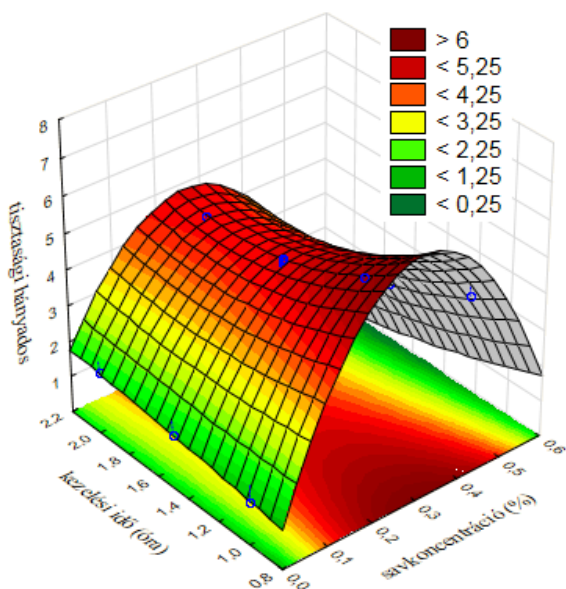
A 90°C-on végzett kísérleti terv esetén a kénsav-koncentráció három értéke 0; 0,25; 0,5%, a kezelési idő 1; 1,5 és 2 óra. A kezelések során kapott pontos adatokat a Függelék 7.5.a táblázata tartalmazza.



5.5.a ábra: A 90°C-os, emelt kezelési idejű kezelések során monomerként oldatba kerülő xilóz kihozatalára illesztett modell



5.5.b ábra: A 90°C-os, emelt kezelési idejű kezelések során monomerként oldatba kerülő arabinóz kihozatalára illesztett modell



5.5.c ábra: A 90°C-os, emelt kezelési idejű kezelések során oldatba kerülő monomerekre vonatkozó tisztasági hányadosra illesztett modell

Glükóz az emelt kezelési idő hatására is csak elhanyagolható mértékben került oldatba: 0,5% savkoncentrációnál 2 óra kezelési időnél 0,47%. Nulla százalék savkoncentrációnál a xilóz kihozatala 1% alatti, ugyanakkor mellette a legnagyobb arabinózkimotozatal is csak 1,3%. Egynegyed százalék kénsav-koncentrációnál már egy nagyságrenddel nőnek a hozamok: xilóz

esetén 3-6% között, arabinóz esetén 40-51% között változik, a kezelési idővel nő. A tisztasági hányados értéke 0,25% savkoncentrációnál és 1 óra kezelési időnél a legnagyobb: 5,80. Fél százalék savkoncentrációnál az elért arabinózhozam 59-66% között, mellette a xilózhozam 7-14% között növekszik. A legnagyobb mennyiségű arabinózt 0,5% savkoncentrációnál és 2 óra kezelési időnél értem el, 107,38 mg arabinóz került oldatba (65,36%) és mellette 43,07 mg xilóz (13,55%).

A monomerként megjelenő xilóz-és arabinózkimotozatalra mindkét cukor esetén másodfokú modell illeszthető (Függelék 7.4.a és b ábra). A nem szignifikáns hatású paramétereket kivéve a két modell:

xilózkimotozás(%)

$$= 0,26 - 40,7 \times c(L) + 87,44 \times c(Q) + 0,11 \times t(L) - 0,02 \times t(Q) + 72,12 \times c(L) \times t(L) - 22,95 \times c(L) \times t(Q) + 47,2 \times c(Q) \times t(Q)$$

arabinózkimotozás(%)

$$= 5,47 \times 256,86 \times c(L) - 292,9 \times c(Q) + 4,35 \times t(L) + 16,32 \times c(Q) \times t(L) - 1,32 \times c(Q) \times t(Q)$$

A tisztasági hányados értékére szintén másodfokú modell illeszthető (Függelék 7.4.c ábra), ennek egyenlete:

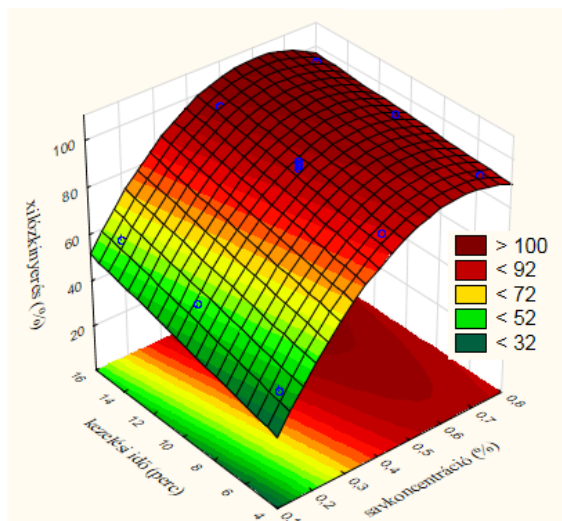
tisztasági hányados

$$= 0,41 + 61,78 \times c(L) - 94,16 \times c(Q) + 0,96 \times t(L) - 0,16 \times t(Q) - 41,28 \times c(L) \times t(L) + 10,8 \times c(L) \times t(Q) + 58,72 \times c(Q) \times t(L) - 16,32 \times c(Q) \times t(Q)$$

Az első (nem emelt savkoncentrációjú, nem emelt kezelési idejű) 90°C-os kezelésekhez képest az emelt savkoncentrációval minden kezelési pontban nagyobb arabinózhozamokat sikerült elérnem, ugyanakkor a xilózhozamok is minden kezelési pontban nagyobbak voltak. A tisztasági hányadosok az emelt savas kezeléseknél kisebbek voltak. Az emelt kezelési idejű hidrolíziseknél ezzel szemben csak kis mértékben növekedtek a kihozatalok az első (nem emelt savkoncentrációjú, nem emelt kezelési idejű) kezelésekhez képest, és a tisztasági hányadosok értéke is kisebb. Mindhárom 90°C-on végzett kísérleti terv esetén megállapítható, hogy utósavazással nagyobb xilóz- és arabinózkimotozalt sikerült elérni, mint utósavazás nélkül, viszont az utósavazással a tisztasági hányados értéke minden esetben csökkent.

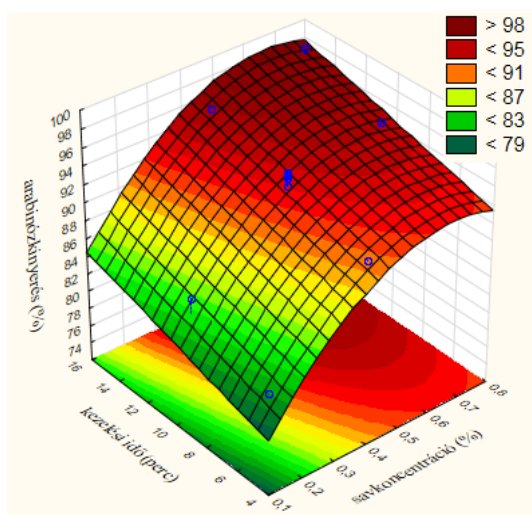
5.3.5. A kukoricarost kénsavas kezelése 140°C-on

A 140°C-on végzett kísérleti terv esetén a kénsav-koncentráció három értéke 0,15; 0,45; 0,75%, a kezelési idő 5; 10 és 15 perc. A kezelések során kapott pontos adatokat a Függelék 7.6.a táblázata tartalmazza.



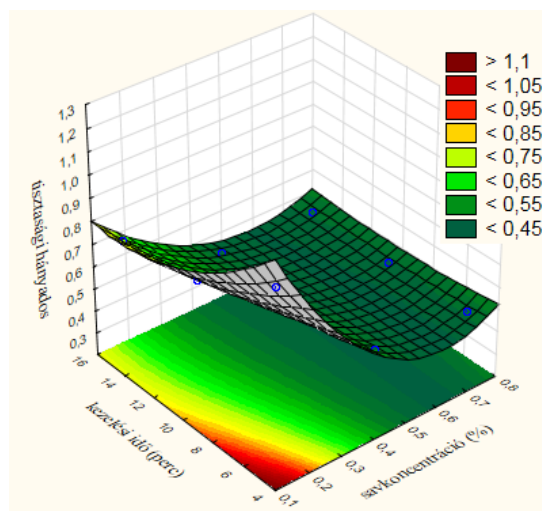
5.6.a ábra: A 140°C-os kezelések során monomerként oldatba kerülő xilóz kihozatalára illesztett modell

A hozamok a savkoncentrációval és kezelési idővel növekednek, a legerélyesebb pontban (0,75% kénsav-koncentráció, 15 perc kezelési idő) az arabinózkinyerés 98,44% és mellette a xilózkhozatal 99,9%.



5.6.b ábra: A 140°C-os kezelések során monomerként oldatba kerülő arabinóz kihozatalára illesztett modell

A 140°C-os kezeléseknél az oldatba került glükóz mennyisége már nem elhanyagolható, a legenyhébb kezelési pontban (0,15% savkoncentráció és 5 perc kezelési idő) 1,91%. A 140°C-on kapott eredmények hasonlóak a 120°C-on elértékhez: nagy kihozatalokat sikerült elérni, de a tisztasági hányados értéke minden kezelési pontban kicsi. A legenyhébb kezelési pontban (0,15% savkoncentráció és 5 perc kezelési idő esetén) az arabinóz 81,16%-a, és mellette a xilóz 41,56%-a került oldatba.



5.6.c ábra: A 140°C-os kezelések során oldatba kerülő monomerekre vonatkozó tisztasági hányadosra illesztett modell

A 120°C-os kénsavas kezelésekkel nagy arabinózhozamokat értem el – 0,75% savkoncentráció és 15 perc kezelési idő esetén 86,83%-ot (a tisztasági hányados értéke 0,65), utósavazással 93,07%-ot (a tisztasági hányados 0,54). A 90°C-os kezeléseknel a legnagyobb arabinózkihozatalt az emelt savkoncentrációjú kezelésnél, 5% savkoncentráció és 15 perc kezelési idő esetén értem el, 77,58%-ot (a tisztasági hányados 3,71), utósavazással 97,22%-ot (a tisztasági hányados 0,58). A két hőmérsékleten történő kezeléseket összevetve megállapítható, hogy 120°C-on a kihozatalok nagyobbak, de a szűrlet tisztasága kicsi, míg ezzel szemben 90°C-on kisebb konverziók érhetők el nagyobb tisztasággal. A 140°C-on végzett kezelésekkel értem el a legnagyobb kihozatalokat, viszont ezeknél a kezeléseknél lett a tisztasági hányadosok értéke a legkisebb. Száznegyven fokon, 0,75% kénsav-koncentráció és 15 perc kezelési idő esetén az arabinóz 98,44%-a és a xilóz 99,9%-a oldatba került, mellette a glükózkkihozatal csak 11,23% volt, tehát ezzel a kezeléssel a hemicellulóz frakciót csaknem teljes mértékben oldatba vittem.

5.3.6. A kukoricarost ammóniás áztatása

Az ammóniás áztatás a szénhidrátláncok és a lignin közötti észter-kötéseket bontja fel, ezzel fellazítja a rost szerkezetét. A savas kezeléseket megelőző ammóniás áztatással a célom a rost duzzasztása volt, hogy ez által enyhe savas kezelések során a hemicellulóz frakciót nagyobb mértékben tudjam oldatba vinni.

5.4. táblázat: A kukoricarost ammóniás áztatása során kapott eredménynek

glükóz		xilóz		arabinóz	
mg/g szárazanyag	%	mg/g szárazanyag	%	mg/g szárazanyag	%
nd	-	5,54	1,34	34,72	14,77

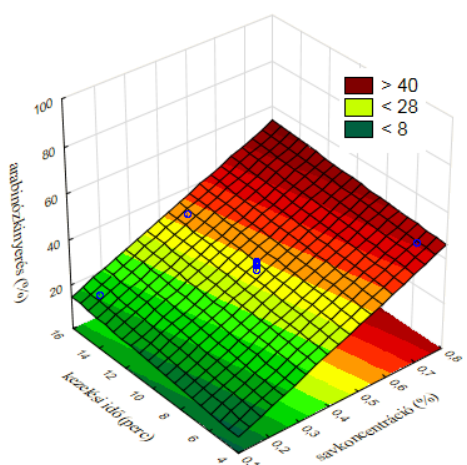
Az ammóniás áztatás során kioldódott cukrokat tartalmazza az 5.4. táblázat. A szűrletben glükóz nem volt detektálható mennyiségben, ezzel szemben a xilóz 1,34%-a és az arabinóz 14,77%-a került oldatba. Az ammóniában áztatott kukoricarost összetételét Hågglund-módszer szerint elemeztem, a kénsavas kezelések során kapott kihozatalokat ez alapján számoltam.

5.3.6.1. A kukoricarost 90°C-os kénsavas kezelése ammóniás áztatás után

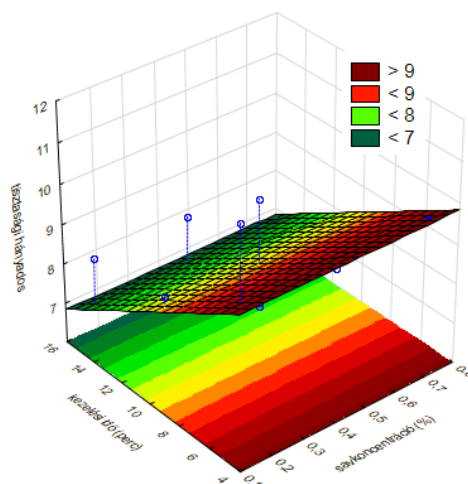
A kénsavas kezelés során glükóz egyik kezelési pontban sem hidrolizált detektálható mennyiségben. A xilózkkihozatal 0,15% kénsav-koncentrációnál 0,27-1,1%, mellette az arabinózkkihozatal 5-16,4%, a tisztasági hányados értéke 11,5-8,2 között csökken a kezelési idővel. A xilózhozam 0,45% savkoncentráció esetén is 3% alatti, viszont mellette az arabinóz 25-42%-a hidrolizált. A legerélyesebb kezelési pontban a xilóz 3,61%-a és mellette az

arabinóz 44,52%-a került oldatba, ez 1 g szárazanyagra vonatkoztatva 12,81 mg xilózt és 83,83 mg arabinózt jelent. Itt a tisztasági hányados értéke 6,55. A legnagyobb tisztasági hányadost 0,15% savkoncentráció és 5 perc kezelési idő esetén értem el, itt az értéke 11,55.

Az oligomer-savazás hatására mind a xilóz-, mind az arabinózkihozatal jelentősen megnőtt az összes kezelési pontban (Függelék 7.7.b táblázat). A glükózkihozatal a legerélyesebb kezelési pontban is csak 4,04%, a többi esetben ennél kisebb mértékű. A tisztasági hányados értéke a legkisebb kénsav-koncentráció, 0,15% esetén a legnagyobb, 0,8-0,68 között csökken kezelési idővel, itt a xilózhozam 16-47% között növekszik, mellette az arabinózhozam 26-61%. 0,45% savkoncentrációnál esetén a xilózhozam már 59-80% közötti és mellette az arabinóz 73-95%-a került oldatba, itt a tisztasági hányados 0,65-0,61. A legnagyobb mennyiségeket 0,75% savkoncentráció esetén sikerült oldatba vinni, itt a xilóz 69-82%-a és az arabinóz 84-98%-a került oldatba, a tisztasági hányados értéke ekkor 0,63-0,61.



5.7.a ábra: Az ammóniás áztatás utáni 90°C-os kezelések során monomerként oldatba kerülő arabinóz kihozatalára illesztett modell



5.7.b ábra: Az ammóniás áztatás utáni 90°C-os kezelések során oldatba kerülő monomerekre vonatkozó tisztasági hányadosra illesztett modell

Az eredményekre illesztett lineáris modell mind a xilóz, mind az arabinóz esetén adekvátnak bizonyult. A xilózkihozatalra szignifikáns hatással a lineáris sav és lineáris idő van (Függelék 7.6.a ábra). Csak a szignifikáns hatásokat bent hagyva a modellben a *Lack of fit* sorban található p értéke 0,5127, és az illesztett modell:

$$\text{xilózkinyerés(\%)} = 0,86 + 3,64 \times c(L) + 0,12 \times t(L)$$

Az arabinózkihozatalra szintén a lineáris savkoncentráció és lineáris kezelési idő szignifikáns hatású (Függelék 7.6.b ábra), ezeket bent hagyva a modellben p értéke 0,1443 és az illesztett modell:

$$\text{arabinózkinyerés(\%)} = 1,43 + 56,2 \times c(L) + 0,64 \times t(L)$$

A tisztasági hányados értékére szintén lineáris modell illeszthető. Ez esetben csak a lineáris idő szignifikáns hatású (Függelék 7.6.c ábra). A nem szignifikáns komponenseket kivéve a modellből p értéke 0,4556 és a modell: *tisztasági hányados* = $10,85 - 0,25 \times t(L)$

Az első (nem emelt savkoncentráció és nem emelt kezelési idejű) 90°C-os kezeléshez képest az előzőleg ammóniában áztatott rost kénsavas kezelésekor – utósavazás nélkül – kisebb arabinózhozamokat értem el, ugyanakkor a szűrletek tisztasága az áztatás utáni kezeléseknél nagyobb. Az oligomer-savazás hatására mindkét esetben nagymértékben csökken a tisztaság, és a kapott tisztasági hányados értékek hasonlóak.

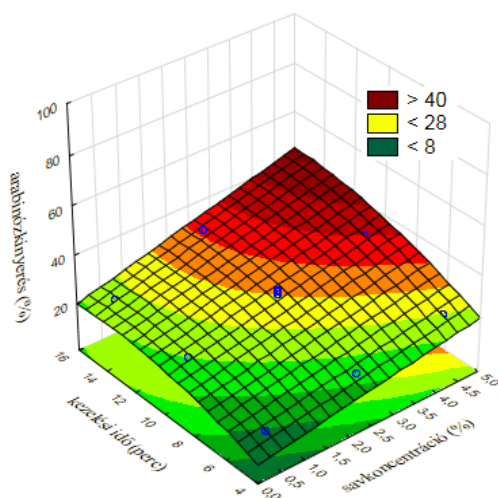
Az emelt kénsav-koncentrációjú kezeléshez képest ugyanannyi idő alatt kisebb hozamokat értem el, viszont a tisztasági hányados értéke körülbelül kétszerese az emelt savval elért tisztaságoknak. Az oligomer-savazás hatására körülbelül ugyanolyan hozamokat és tisztasági hányadosokat értem el a két kezeléssel.

Összességében elmondható, hogy az ammóniás áztatást követő kénsavas kezelés hatására kevesebb arabinóz került oldatba, mint a többi 90°C-os kénsavas kezelés hatására, de a tisztasági hányadosok értéke nagyobb. A 120°C-os és 140°C-os kezelésekhöz képest kisebb arabinózhozamokat értem el a 90°C-os, ammóniás áztatást követő kezelésekkal. A 90°C-os kezeléseknél elért tisztasági hányadosok értéke minden esetben jelentősen nagyobb a nagyobb hőmérsékleten tapasztaltakhoz képest. Az oligomer-savazás hatására a legnagyobb mértékben az áztatást követő kezeléseknél csökkent le a tisztasági hányadosok értéke, ami arra utal, hogy a kezelés során oldatba kerülő oligomerek ez esetben több xilózt tartalmaznak, mint a többi kezelés során hidrolizált oligomerek. Ez valószínűleg az ammóniás áztatás szerkezet-fellazító hatásának köszönhető.

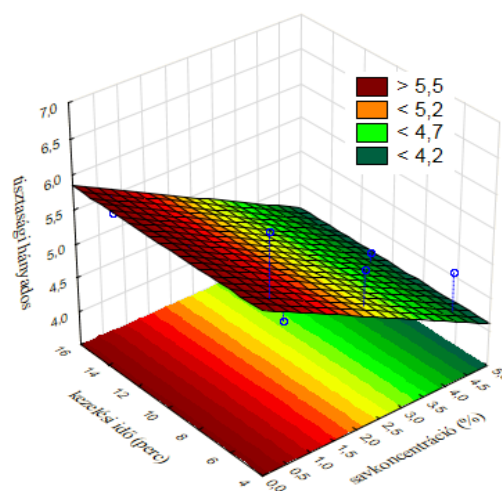
5.3.7. A kukoricarost 120°C-os borostyánkősavas kezelése

A kukoricarost hemicellulóz frakciójában található arabinóz szelektív hidrolízisét a kénsavon kívül egy gyenge kétértékű savval, borostyánkősavval is megvizsgáltam. A vizsgálatot ez esetben is 3^2 típusú kísérleti terv alapján végeztem, és az 5.3. pontban leírtak szerint elemeztem.

A 120°C-on, borostyánkősavval végzett kísérleti terv esetén a savkoncentráció három értéke 0,5; 2,5; 4,5%, a kezelési idő 5; 10 és 15 perc. A kezeléseket során kapott pontos adatokat a Függelék 7.8.a táblázata tartalmazza.



5.8.a ábra: A 120°C-os borostyánkősavas kezelések során monomerként oldatba kerülő arabinóz kihozatalára illesztett modell



5.8.b ábra: A 120°C-os borostyánkősavas kezelések során oldatba kerülő monomerekre vonatkozó tisztasági hányadosra illesztett modell

A borostyánkősavaz kezelések hatására glükóz csal elhanyagolható mértékben került oldatba, a legerélyesebb kezelési pontban (4,5% savkoncentráció és 15 perc kezelési idő) 0,07%. Fél százalék savkoncentráció esetén a xilózhozam 0,9-2% közötti, mellett az arabinózhozam 11-22%. A tisztasági hányados értéke 0,5% savkoncentrációnál, 5 perc kezelési időnél a legnagyobb, 6,61. Két és fél százalék savkoncentrációnál az arabinóz 17-34%-a került oldatba és mellette a xilóz 1-4%-a, a tisztasági hányados értéke itt 5,5-4,5 között csökken a kezelési idővel. Négy és fél százalék savkoncentrációnál a tisztasági hányados értéke 4,8-4,2 kötött csökken a kezelési idővel, itt az arabinóz 24-41%-a hidrolizált és mellette a xilóz 2-5%-a.

Az oligomer-savazás hatására az oldatba kerülő glükóz mennyisége már nem elhanyagolható, 0,5% savkoncentrációnál 2,82%, 4,5% savkoncentrációnál már 9,34% (Függelék 7.8.b táblázat). Az elért xilóz- és arabinózhozamok minden kezelési pontban növekedtek az utósavazás nélküliekhez képest. A legnagyobb arabinózhozamot a legerélyesebb kezelési pontban (4,5% savkoncentráció, 15 perc kezelési idő) értem el, ez 1 g szárazanyagra vonatkoztatva 67,64 mg arabinóz és mellett 15,94 mg xilóz (5,01%).

A borostyánkősavas kezelések során elért xilózhozamra adekvát lineáris modell illeszthető. Szignifikáns hatású a lineáris savkoncentráció és lineáris idő (Függelék 7.7.a ábra), az ezekre illesztett modellben a *Lack of fit* sorban található p értéke 0,3691 és az illesztett modell:

$$\text{xilózkinyerés(\%)} = 0,48 + 0,58 \times c(L) + 0,19 \times t(L)$$

Az arabinózhozamra másodfokú modell illeszthető, melyben a lineáris savkoncentráció, a lineáris és négyzetes kezelési idő, valamint a lineáris savkoncentráció és kezelési idő szorzata szignifikáns (Függelék 7.7.b ábra). Ezekre illesztve a modellt p értéke 0,3197, és a modell:

$$\text{arabinózkinyerés(\%)} = -4,55 + 2,2 \times c(L) + 3,57 \times t(L) - 0,13 \times t(L) + 0,18 \times c(L) \times t(L)$$

A tisztasági hányados értékére lineáris modell illeszthető, melyben csak a lineáris savkoncentráció hatása szignifikáns. A nem szignifikáns hatásokat kivéve a modellből p értéke 0,3499 és az illesztett modell:

$$\text{tisztasági hányados} = 5,84 - 0,34 \times c(L)$$

A borostyánkősavas kezelés során a legnagyobb elért arabinózkihozatal 41,17% (mellette a xilóz 5,01%-a hidrolizált), itt a tisztasági hányados értéke 4,18. Az utósavazás után az arabinózkihozatal ugyanebben a kezelési pontban 61,48% (a xilózkihozatal 25,69%) és a tisztasági hányados értéke 0,88. A borostyánkősavas kezeléseknél, mint a kénsavas kezeléseknél is, az utósavazás jelentősen lerontja a szűrletek tisztaságát.

A kénsavas kezelésekhöz képest (90, 120, 140°C) borostyánkőssal kisebb arabinózhozamokat értem el, ugyanakkor a tisztasági hányadosok értéke hasonló a 90°C-os kénsavas kezeléseknél elértekhez.

5.3.8. A savas kezelések összefoglalása

A kénsavas kezeléseknél a legnagyobb arabinózkihozatalokat a 140°C-os kezeléseknél értem el, itt 0,75% kénsav-koncentráció és 15 perc kezelési idő esetén az arabinóz 98,4%-a és a xilóz 99,9%-a került oldatba. A 140°C-os kezeléseknél elért legnagyobb tisztasági hányados a legenyhébb kezelési pontban értem el értéke 1, itt az arabinóz 81,2%-a és mellette a xilóz 41,6%-a került monomer formában oldatba.

A 120°C-os kezeléseknél kisebb kihozatalokat értem el, a legnagyobb arabinózhozam – 0,75% savkoncentrációnál, 15 perc kezelési időnél – 83,8% volt, mellette a xilóz 68,1%-a hidrolizált, itt a tisztasági hányados 0,7. A 120°C-os kezeléseknél a legnagyobb tisztasági hányados értéket a legenyhébb kezelési pontban értem el – 0,15% savkoncentráció, 5 perc kezelési idő – az értéke 3,8. Az arabinózhozam ebben a kezelési pontban 57,3%, a xilózhozam 8,0%. A 140 és 120°C-os kezeléseknél, utósavazás után csaknem a teljes hemicellulóz frakciót sikerült monomer formában oldatba vinnem.

A 90°C-os kezeléseknél kisebb kihozatalokat értem el, mint a 120 és 140°C-os kezeléseknél, ugyanakkor a szűrletek tisztasága minden esetben nagyobb volt. A 90°C-os kezeléseknél a legkisebb arabinózhozamokat a nem emelt savkoncentrációjú, nem emelt kezelési idejű kísérleti terv során értem el. Itt a legerélyesebb kezelési pontban az arabinóz 64,1%-a került oldatba (mellette a xilóz 12,4%-a), a tisztasági hányados 2,6. Az emelt kezelési idejű kísérleti terv kezelési pontjaiban nagyobb mennyiségű arabinózt sikerült oldatba vinnem, de a különbség nem jelentős, ugyanakkor a tisztasági hányadosok értéke lényegesen kisebb lett az

emelt kezelési időjű kénsavas kezelések során. Az emelt kénsav-koncentráció hatására nagyobb hozamnövekedést értem el, itt a legerélyesebb kezelési pontban az arabinóz 77,6%-a (és mellette a xilóz 28,4%-a) került oldatba monomer formában, a tisztasági hányados értéke 3,7.

Az ammóniás áztatás után végzett 90°C-os kénsavas kezelés során a nem emelt savkoncentrációjú, nem emelt kezelési idejű kísérleti tervhez képest kisebb mennyiségű arabinóz került oldatba, ugyanakkor itt a tisztasági hányadosok értéke jelentősen nagyobb: legenyhébb kezelési pontban 11,6. A legerélyesebb kezelési pontban a tisztasági hányados 6,6, itt az arabinózhozam 44,5% (mellette a xilózhozam 3,6%).

A 120°C-os borostyánkősavas kezelések során értem el a legkisebb arabinózhozamokat: a legerélyesebb kezelési pontban 41,2% (mellett a xilózhozam 5,0%), és a tisztasági hányadosok értéke körülbelül megegyezik a 90°C-os kezelések során kapottakkal.

A borostyánkősavas kezelések – ebben a savkoncentráció és kezelési idő tartományban – sem az arabinózhozamokat, sem a tisztasági hányadosokat tekintve nem elég hatásosak az arabinóztartalom szelektív oldatba vitelére. A 120 és 140°C-os kezelések túlságosan erélyesek: az elért arabinózhozamok nagyok, de az arabinóz mellett jelentős mennyiségű xilóz is hidrolizál, így az oldatok tisztasága kicsi. A 90°C-os kezelések során elért kihozatalok – a legerélyesebb kezelési pontokat tekintve – 60-80% közöttiek, és a tisztasági hányadosok értéke 2-3 közötti, de egyik esetben sem sikerült az arabinózt szelektíven hidrolizálni. Az egyik probléma, hogy az arabinózmolekulákkal együtt xilózmolekulák is hidrolizálnak, ezzel rontva az oldat tisztaságát, másrészt az arabinóz egy része az oldatba került xilóz- és arabinóztartalmú oligomerekben marad.

A második probléma megoldását jelentheti a szűrletek utósavazása, melynek célja az oligomerek monomerekké történő hidrolízise. Az összes kísérleti terv esetén megállapítható, hogy a szűrletek utósavazása rontja a tisztaságot, tehát a kezelések hatására hidrolizáló oligomereket elsősorban xilóz és/vagy glükóz és csak kis mennyiségű arabinóz építi fel. A legnagyobb mennyiségű oligomer az ammóniás áztatást követő 90°C-os kénsavas kezelések során került oldatba. Az oldatba kerülő oligomereket alkotó arabinóz és xilóz mennyiségi aránya az enyhébb kezelési pontokban megegyezik a kukoricarostban található aránnyal, míg az erélyesebb kezelési pontokban hidrolizáló oligomerek több xilózt tartalmaznak. A 140°C-os kezeléseknél oldatba kerülő cukor oligomerek mennyisége a savkoncentrációval és a kezelési idővel csökken, ami arra utal, hogy az oldatba kerülő oligomerek a jelen levő kénsav hatására monomerekké hidrolizálnak. A 140°C-os kísérleti terv kivételével az összes elvégzett kísérleti terv esetén elmondható, hogy a savkoncentráció és kezelési idő növekedésével az

oldatba kerülő oligomerekben található xilóz aránya is növekszik, és a legtöbb kezelési pontban az oligomerekben található arabinóz-xilóz arány kisebb, mint a kukoricarost arabinóz-xilóz aránya.

Az általam elvégzett kísérleti tervek statisztikai elemzése során megvizsgáltam, hogy az elért xilóz- és arabinózhozamokra, valamint a szűrletek tisztaságára mely paraméterek vannak szignifikáns hatással. Ugyanakkor az eredmények alapján a hozamokra és a tisztaságra hatással van a reakció hőmérséklete is. Ezt a paramétert az eltérő környezetben (eltérő készülékkel) végzett kísérletek miatt nem vizsgáltam meg statisztikailag, de ez a jövőben az arabinóztartalom szelektív kioldásának vizsgálata során szükséges. A kísérletek során azt tapasztaltam, hogy kisebb arabinózhozam mellett jobb szelektivitás érhető el, nagyobb hozam mellett a szelektivitás romlik. Az arabinóz mellett minden esetben jelen van a xilóz, illetve galaktóz is, kiváltképpen, ha a keletkező oligomereket monomerekké hidrolizálom. (A folyadékkromatográfiás mérés során az alkalmazott oszlopon a galaktóz és xilóz nem válik el, így az általam xilóznak mért cukor tartalmaz galaktózt is.) Ez alapján teljesen tiszta arabinózt oldatot nem lehet előállítani a rost savas hidrolízisével, ugyanakkor egy arabinózban gazdag frakció létrehozható. Ahhoz, hogy ebből az arabinózban gazdag frakcióból az arabinózt kinyerjük, az egyéb cukrokat el kell távolítani az oldatból. Erre ad lehetőséget az élesztőkkel történő biotisztítás. A hemicellulóz-hidrolizátum biotisztítása előtt azonban az élesztőkkel előzetes kísérleteket végeztem a hemicellulóz frakcióban található cukrok fogyasztásának feltérképezésére.

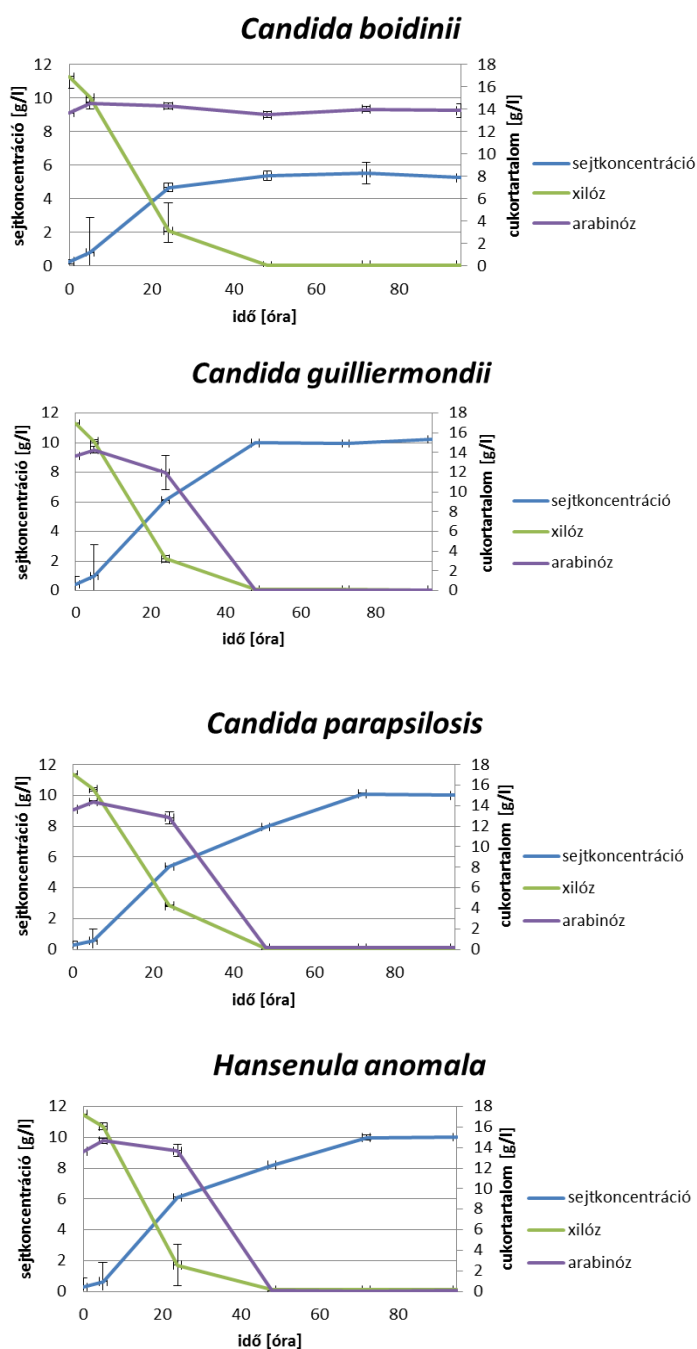
5.3.9. A sejtkoncentráció számítása

A biotisztítási kísérletek (illetve a későbbi xilitfermentációk) során vett mintákban a sejtkoncentrációt optikai denzitás méréssel határoztam meg. A számoláshoz használt kalibrációt a 4.3.10. pontban leírt módszer alapján készítettem. Eszerint a koncentráció és abszorbancia közötti összefüggés: $y = 0,4236x - 0,012$, ahol y a sejtkoncentráció g/l egységben, és x a 600nm-en mért abszorbancia (Függelék 7.9. táblázat).

5.3.10. Biotisztítás xilóz- és arabinóztartalmú tápoldaton

Az élesztősejtekkel végzett fermentációk első lépése minden esetben az inokulum készítés. Az első két biotisztítási kísérletben a sejteket 30 g/l glükóz-, illetve xilózzoldaton szaporítottam fel, így az értékelésnél ez az egyik vizsgálandó paraméter. A biotisztítás tápoldatai mindkét esetben 15 g/l xilózt és 15 g/l arabinózt tartalmaztak, ezáltal vizsgálható a két cukor hasznosításának aránya külön-külön, illetve az inokulumhoz készítéséhez használt szénforrás függvényében is.

Az eredmények (Függelék 7.9. táblázat) azt mutatták, hogy a fermentáció során az élesztősejtek szaporodási sebessége xilóztartalmú tápoldaton történő inokulumkészítés után nagyobb, mint glükóz esetén.



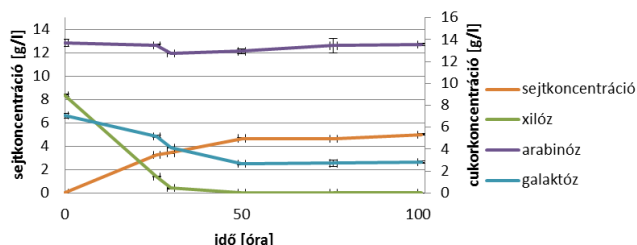
5.9. ábra: Biotisztítás a négy élesztőtörzsszel: a sejt-, xilóz- és arabinózkoncentráció változása a négy élesztőtörzsszel 15 g/l xilóz- és 15 g/l arabinóztartalmú tápoldaton végzett biotisztítás során

Xilóztartalmú tápoldaton történő inokulumkészítés után, a xilózt és arabinózt tartalmazó tápoldatban *C. boidinii* és *C. guilliermondii* körülbelül 48 óra alatt, *C. parapsilosis* és *H. anomala* körülbelül 72 óra alatt érte el a maximális sejtkoncentrációt. Glükózon történő felszaporítás esetén az ehhez szükséges idő mind a négy törzs esetén körülbelül 98 óra volt. Ezek alapján a további kísérletekhez az inokulum készítését minden esetben xilózon végeztem. A biotisztítás 15 g/l xilóz- és 15 g/l arabinóztartalmú tápoldatban folyt, 95 órán át. A négy élesztőtörzs közül *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis* és *H. anomala* mind a xilózt, mind az arabinózt elfogyasztotta 48 óra alatt. Ezzel szemben *C. boidinii* a xilózt elfogyasztotta, de amint az 5.9. ábrán látható, ennél a törzsnél az arabinóz mennyisége akkor sem fogyott, amikor xilóz már nem volt az oldatban.

5.3.11. Biotisztítás xilóz-, arabinóz-, és galaktóztartalmú tápoldaton

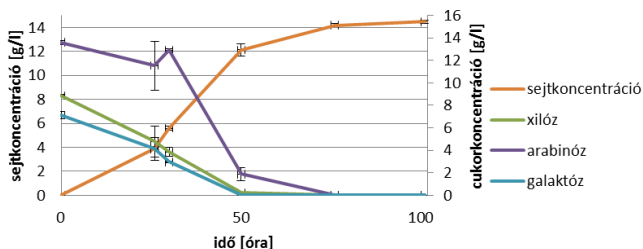
A biotisztítás 15 g/l arabinóz-, 7,5 g/l xilóz- és 7,5 g/l galaktóztartalmú tápoldatban folyt, 95 órán át. A pontos eredményeket a Függelék 7.10. táblázata tartalmazza. Galaktózt is tartalmazó tápoldaton azért szükséges megvizsgálni a biotisztítás lefolyását, mert a hemicellulóz hidrolizátum a xilóz és arabinóz mellett galaktózt is tartalmaz.

Candida boidinii

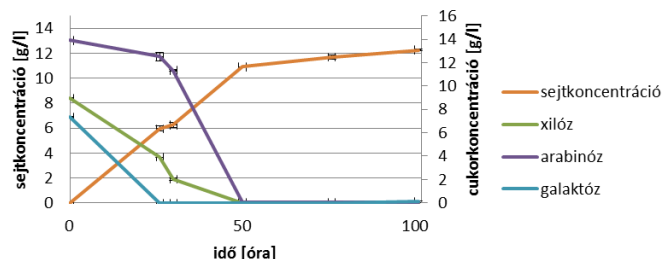


5.10. ábra: A sejt-, xilóz-, arabinóz-, és galaktózkoncentráció változása a négy élesztőtörzs esetén 7,5 g/l xilóz-, 15 g/l arabinóz-, és 7,5 g/l galaktóztartalmú tápoldaton végzett biotisztítás során

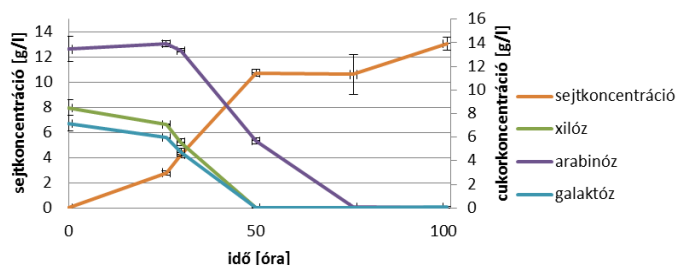
Candida guilliermondii



Candida parapsilosis



Hansenula anomala



C. guilliermondii, *C. parapsilosis* és *H. anomala* a biotisztítás során mindhárom cukrot elfogyasztotta. Az 5.10. ábrán látható, hogy *C. boidinii* a xilózt, valamint a galaktózt 60 százalékát elfogyasztotta, ugyanakkor az arabinózt mennyisége nem változott a biotisztítás során. A négy élesztőtörzs közül a *C. boidinii* az egyetlen, amelyik az arabinózt egyáltalán nem, a xilózt és galaktózt viszont felhasználta az oldatból.

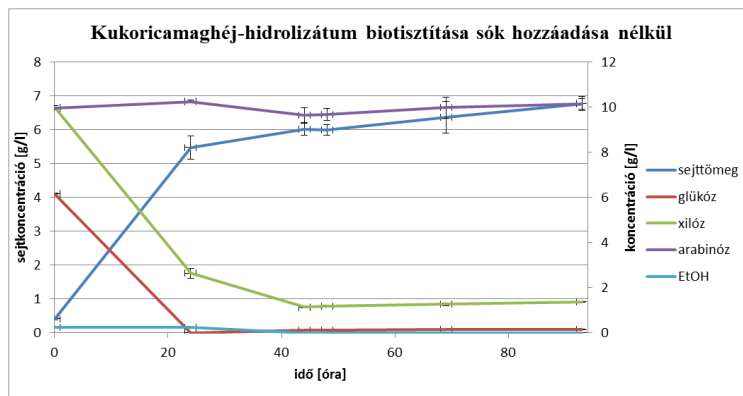
A biotisztítási kísérletek eredményei alapján a vizsgált négy élesztőtörzs közül a *C. boidinii* bizonyult a szelektív cukorhasznosításra leginkább megfelelőnek, ezért a hemicellulóz hidrolizátum biotisztítását ezzel a törzsszel végeztem.

5.3.12. Hemicellulóz hidrolizátum biotisztítása *Candida boidinii*-vel

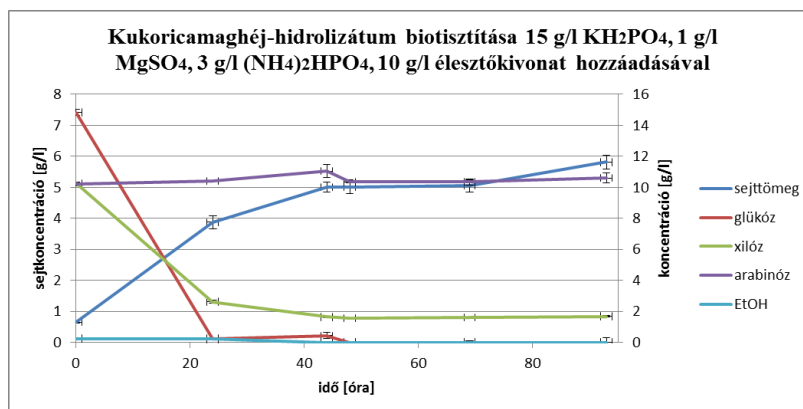
Az előzőekben modellszubsztrát-oldaton vizsgált biotisztítási folyamatot elvégeztem valódi hemicellulóz hidrolizátumon is. Az ipari felhasználás során a nagy feldolgozott mennyiségnek köszönhetően minden lépés jelentős energiaigényt jelent, így bármely lépés elhagyása csökkentheti a technológia költségeit. Ezt a szempontot figyelembe véve a biotisztításhoz szükséges cukoroldatot darálatlan kukoricamaghéj hidrolízisével nyertem. A keményítőmentesítés lépését is elhagytam, mert a keményítőmentesítés során kinyert keményítő koncentrációja a további felhasználáshoz túl kicsi. Az általam a korábbiakban bemutatott kísérleti tervek mindegyikét darált kukoricarosttal végeztem, így a hidrolízis egy, a tanszéken megvizsgált, darálatlan rosttal végzett kísérleti terv legjobb beállítási paramétereivel kiviteleztem. A rost savas kezelését 10% szárazanyag tartalom mellett, 90°C-on 1,25%-os kénsavval 55 percig végeztem. A hidrolízis során leoldott cukrok mennyiségét tartalmazza az 5.5. táblázat. A biotisztítás eredményeit a Függelék 7.12. táblázata tartalmazza.

5.5. táblázat: A kukoricamaghéj hidrolízise során oldatba kerülő cukrok

	glükóz	xilóz (+galaktóz)	arabinóz
mg/g szárazanyag	62,136	102,51	108,342
%	17,485	42,372	79,846



5.11.a ábra: Kukoricamaghéj-hidrolizátum biotisztítása *Candida boidinii*-vel, hozzáadott sók nélkül



5.11b ábra: Kukoricamaghéj-hidrolizátum biotisztítása hozzáadott sókkal

A kukoricamaghéj-hidrolizátum biotisztítását elvégeztem sók hozzáadásával és sók nélkül is. A sejtek mindkét esetben folyamatosan növekedtek, miközben a glükózt és a xilózt nagy részét elfogyasztották a fermentléből. A xilóz (és galaktóz) egy részét - akárcsak az 5.3.11. pontban – most sem fogyasztotta el az élesztő: sók nélkül a xilóz-galaktóz 14%-a, sók hozzáadásával a 16%-a maradt a fermentlében. Az arabinózkoncentráció végig változatlan volt, akárcsak a modellszubsztrát-oldaton történő biotisztítások során, az élesztő akkor sem fogyasztotta az arabinózt, amikor a glükóz már elfogyott, illetve a xilóz-galaktóz mennyisége beállt a végső, állandó értékre.

Összességében megállapítható, hogy a hemicellulóz-hidrolizátum biotisztításának lefutása megegyezett a modellszubsztrát-oldaton történt biotisztításokkal, a glükóz, xilóz és galaktóz körülbelül 92%-át elfogyasztotta az élesztő, azonban az arabinóz koncentrációja végig változatlan maradt.

A szakirodalomban található cikkek alapján a *Candida boidinii* törzs képes a xilózt xilitté redukálni, így a továbbiakban a xilitfermentáció lefutását, és az ezt befolyásoló paramétereket vizsgáltam.

5.3.13. Mosott sejtes xilitfermentáció *C. boidinii*-vel

Ahogy a 2.6.1.2.2. fejezetből látható, a xilittermelést számos paraméter befolyásolja. Kísérleteim során ezek közül az oxigénellátottság, a kezdeti sejt-, illetve xilózkoncentráció, a pH, valamint a hozzáadott metil-alkohol és glicerín hatását vizsgáltam. A vizsgálatok során rázatott lombikos kísérleteket végeztem, melyeknél az oxigénellátottság a rázás fordulatszámának, valamint a lombikok töltöttségének változtatásával befolyásolható. A kísérletek 100 ml-es Erlenmeyer-lombikokban folytak, a töltöttség vizsgált értékei 35, 50 és 65 ml voltak. A rázás fordulatszámai 220 és 125 rpm. A kezdeti sejtkoncentráció 1, illetve 5

g/l, a kezdeti xilózkoncentráció értékei 30 és 75 g/l voltak. A fermentációk során beállított értékkombinációkat mutatja az 5.6. táblázat.

Az 5.6. táblázatban szereplő xilithozamot az elért legnagyobb xilitkoncentrációból és az elméletileg elérhető maximális xilitkoncentrációból számítottam a következő képlettel:

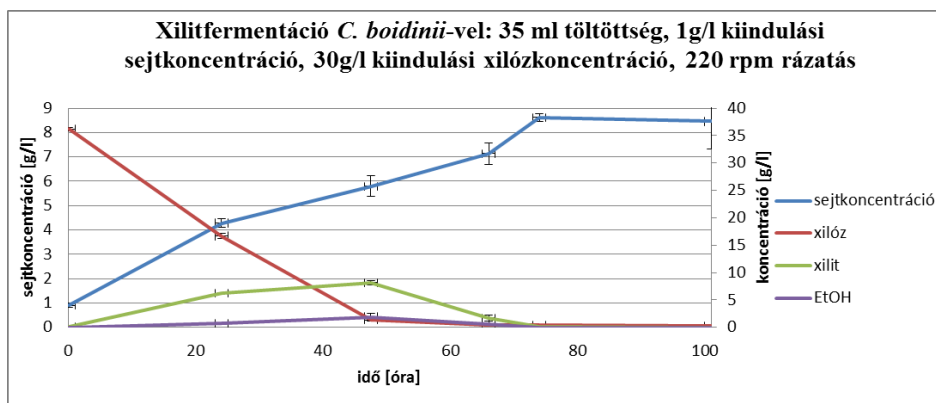
$$\text{hozam}(\%) = 100\% \times \frac{\text{elért legmagasabb xilitkoncentráció} \left(\frac{g}{l}\right)}{(1,013 \times \text{kiindulási xilózkoncentráció} \left(\frac{g}{l}\right))}$$

A produktivitást az elért legnagyobb xilitkoncentrációból és az ehhez szükséges időből számoltam a következőképpen:

$$\text{produktivitás} \left(\frac{g}{l \times h}\right) = \frac{\text{elért legmagasabb xilitkoncentráció} \left(\frac{g}{l}\right)}{a \text{ legmagasabb xilitkoncentráció eléréséig eltelt idő} (h)}$$

fordulatszám	töltöttség	sejt-koncentráció	xilóz-koncentráció		maximális xilitkoncentráció	szórás	idő	kiindulási xilózkoncentráció	hozam	produktivitás
(rpm)	(ml/ml)	(g/l)	(g/l)		(g/l)	(g/l)	óra	(g/l)	(%)	(g/(l*h))
125	100/35	1	30		12,22	0,263	26	30,72	39	0,5
125	100/50	1	30		11,79	0,594	47,5	26,88	43	0,2
125	100/65	1	30		8,35	0,484	50	30,38	27	0,2
220	100/35	1	30		8,17	0,382	47,5	36,19	22	0,2
220	100/50	1	30		7,87	0,243	26	30,68	25	0,3
220	100/65	1	30		7,75	0,041	47,5	27,31	28	0,2
125	100/35	5	30		10,62	0,262	47,5	25,42	41	0,2
125	100/50	5	30		16,59	1,587	21	27,15	60	0,8
125	100/35	1	75		25,86	1,99	72,5	67,61	38	0,4
125	100/50	5	75		39,35	2,281	50	64,15	61	0,8
125	100/35	1	30	pH 5	11,47	0,656	49	29,47	38	0,2
125	100/35	1	30	pH 7	12,58	1,274	49	33,11	38	0,3
125	100/35	1	30	6,8 g/l MeOH	14,64	1,706	49	30,38	48	0,3
125	100/35	1	30	8,1 g/l glicerín	12,89	0,085	49	30,56	42	0,3
125	100/50	5	75	7,77 g/l MeOH	41,31	1,179	69	64,8	63	0,6

5.6. táblázat: A mosott sejtekkel végzett xilitfermentációknál beállított fordulatszám (rpm), töltöttség (100ml/ml), kezdeti sejt- és xilózkoncentráció értékei (g/l), a különböző kombinációknál elért xilithozam-maximum ideje (óra) és értéke (g/l, %), valamint a produktivitás (g/(l*h))



5.12. ábra: Az 1 g/l kiindulási sejtkoncentrációval, 30 g/l kiindulási xilózkoncentrációval, 35 ml töltöttség és 125 rpm fordulatszámú rázatás mellett folytatott fermentáció lefutása

Az 1 g/l kiindulási sejtkoncentrációval és 30 g/l kiindulási xilózkoncentrációval folytatott fermentációra mutat példát az 5.12. ábra. A 1 g/l kiindulási sejtkoncentrációval folytatott fermentációk adatait a Függelék 7.11. a, b, c, e táblázatai tartalmazzák. A fermentáció során a sejttömeg folyamatosan növekszik, miközben a xilóz, körülbelül 50 óra alatt teljes mértékben elfogy. A fermentáció során a sejtek xilitet állítanak elő, de amint a xilózt már elfogyasztották az oldatból, a xilitet is felhasználják, ezért a fermentációkat a maximális xilitmennyiség elérésekor le kell állítani. A xilittel párhuzamosan etil-alkohol is képződik, de körülbelül a xilittel egy időben el is fogy.

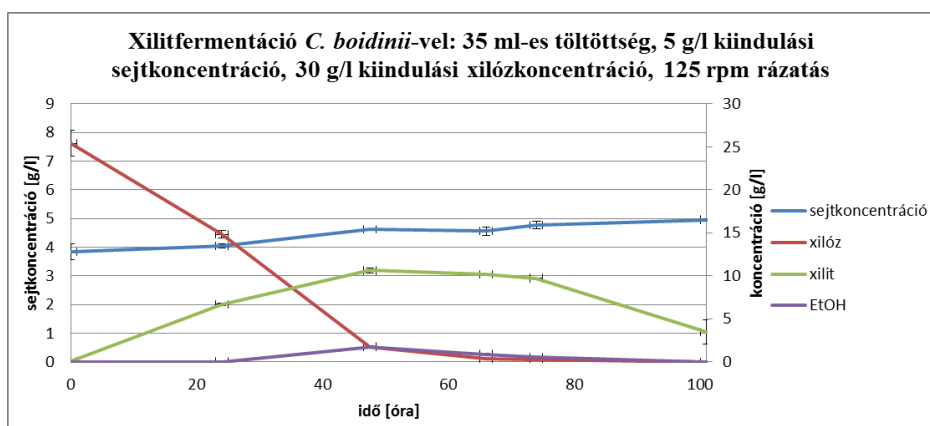
Százhuszonöt rpm fordulatszámú rázatásnál a 30 g/l kiindulási xilóz- és 1 g/l kiindulási sejtkoncentrációval végzett fermentációk közül az elért xilithozam 50 ml-es töltöttségnél volt a legnagyobb, 43%. A sejtek 47,5 óra alatt 11,8 g/l koncentrációjú xilitet állítottak elő. Harmincöt milliliteres töltöttségnél 26 óra alatt, 39%-os xilithozamot értem el. Hatvanöt milliliteres töltöttségnél az elért legnagyobb xilitkoncentráció 8,3 g/l, 50 óra alatt, a hozam ez esetben 27% volt. A maximális xilitkoncentráció elérésekor a sejtkoncentráció mindhárom töltöttség esetén körülbelül 2,5 g/l volt. Ez alapján megállapítható, hogy a nagyobb hozam nem a nagyobb sejtsűrűségnek köszönhető, hanem a levegőztetésnek. Ez az eredmény megegyezik az irodalomban találttal, miszerint kis oxigénellátottság mellett a *xilit-dehidrogenáz* enzim gátolt, így a xilit felhalmozódik, és nem alakul tovább D-xilulózzá, valamint, hogy az oldott oxigénellátottságnak van egy kritikus értéke, melynél a xilithozam nagy, viszont a sejttömeg-hozam kicsi [27], [29]. A produktivitás a töltöttséggel csökken.

Kétszázhusz rpm fordulatszámú rázatásnál a 30 g/l kiindulási xilóz- és 1 g/l kiindulási sejtkoncentrációval végzett fermentációk során az elért xilithozam a töltöttséggel nő. Harmincöt milliliteres töltöttségnél az elért legnagyobb xilitkoncentráció 8,2 g/l volt 47,5 óra alatt, itt a hozam 22% volt. Ötvenmilliliteres töltöttségnél a sejtek 26 óra alatt 7,9 g/l

koncentrációjú xilitet állítottak elő, a hozam ez esetben 25% volt. Hatvanmilliliteres töltöttségnél 47,5 óra alatt 7,8 g/l koncentrációjú xilitet állítottak elő, a hozam 28% volt. A hozamok a töltöttség függvényében növekvő tendenciát mutatnak, ugyanakkor a maximális xilitkoncentráció elérésekor mért sejtkoncentráció a töltöttséggel csökken. Tehát a nagyobb hozam ez esetben sem a nagyobb sejtkoncentrációnak köszönhető, hanem az oldott oxigén megfelelő mennyiségének.

A 30 g/l kiindulási xilóz- és 1 g/l kiindulási sejtkoncentrációval végzett fermentációk esetén 35 és 50 ml-es töltöttségnél 125 rpm fordulatszámú rázatásnál nagyobb hozamokat értem el, mint azonos töltöttségnél 220 rpm fordulatszámú rázatás mellett. A produktivitás 125 rpm rázatásnál 35 ml töltöttség esetén nagyobb, 65 ml töltöttség esetén kisebb, mint 220 rpm fordulatszámú rázatás esetén azonos töltöttségeknél. Hatvanöt milliliteres töltöttségnél a hozamok és a produktivitások közel egyenlők a két fordulatszám esetén.

5.3.13.1. Az emelt kiindulási sejtkoncentráció hatása



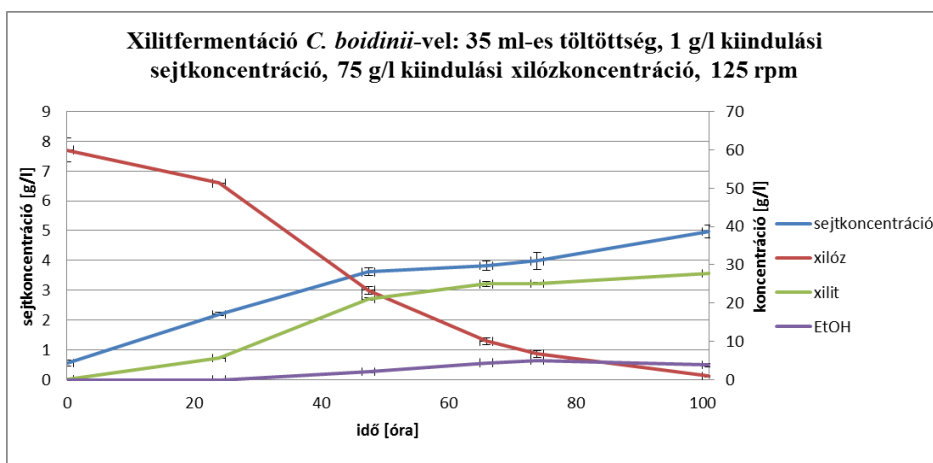
5.13. ábra: Az 5 g/l kiindulási sejtkoncentrációval, 30 g/l kiindulási xilózkoncentrációval, 35 ml töltöttség és 125 rpm fordulatszámú rázatás mellett folytatott fermentáció lefutása

Az emelt kiindulási sejtkoncentrációval folytatott fermentáció adatait a Függelék 7.11.c, f táblázatai tartalmazzák. Az 5 g/l kiindulási sejtkoncentrációval és 30 g/l kiindulási xilózkoncentrációval végzett kísérletek során sejttömeg 20-30%-kal növekszik, miközben a xilóz 50 óra alatt csaknem teljes mértékben elfogy. A fermentáció során a sejtek xilitet állítanak elő, de amint a xilózt már elfogyasztották az oldatból, a xilitet is elkezdik felhasználni, ezért a fermentációkat a maximális xilitmennyiség elérésekor le kell állítani. Ez esetben is képződik etil-alkohol, de körülbelül a xilittel egy időben el is fogy.

Az emelt kiindulási sejtkoncentráció hatását 125 rpm fordulatszámú rázatás, 30 g/l kiindulási xilózkoncentráció mellett 35 és 50 ml-es töltöttségnél vizsgáltam, a kiindulási sejtkoncentráció 5 g/l volt. A fermentációk során a sejtkoncentráció jelentős mértékben nem

változott. Harmincötmilliliteres töltöttségnél a legnagyobb xilitkoncentráció 47,5 óránál volt, 10,6 g/l, a hozam itt 41%. Hatvanötmilliliteres töltöttségnél ez 21 óránál, 16,6 g/l volt, ez esetben a hozam 60%. A 60%-os hozam kiemelkedik a többi fermentáció során elért hozamok közül, melynek egyik oka lehet, hogy ezt a fermentációt újonnan vásárolt, friss sejtekkel végeztem, míg a többi fermentáció során több éves, 1-2 hetente átoltott kultúrákat alkalmaztam. Emelt kiindulási sejtkoncentrációval 35 ml töltöttségnél a hozam 2%-al nagyobb volt, mint 1 g/l sejtkoncentrációval, ugyanakkor a produktivitás körülbelül fele annyi volt. Ezzel szemben 65 ml töltöttségnél a hozam és a produktivitás is nagyobb volt, mint ugyanolyan beállítások mellett 1 g/l kiindulási sejtkoncentrációval.

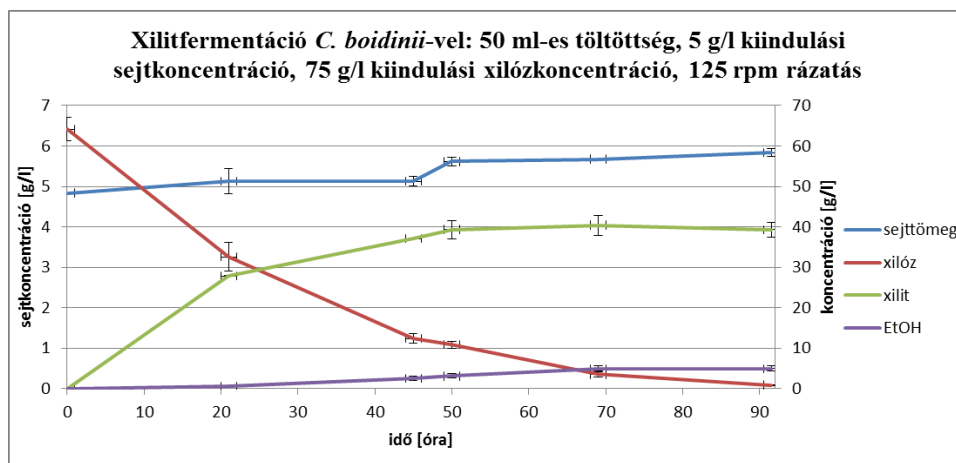
5.3.13.2. Az emelt kiindulási xilózkoncentráció hatása



5.14. ábra: Az 1 g/l kiindulási sejtkoncentrációval, 75 g/l kiindulási xilózkoncentrációval, 35 ml töltöttség és 125 rpm fordulatszámú rázatás mellett folytatott fermentáció lefutása

Az 1 g/l kiindulási sejtkoncentrációval és 75 g/l kiindulási xilózkoncentrációval folytatott fermentációra mutat példát az 5.14. ábra. A pontos adatokat a Függelék 7.11.e táblázata tartalmazza. A fermentáció során a sejttömeg folyamatosan növekszik, miközben a xilóz fogy. A sejtek a xilitet nem fogyasztják, mert a 100 óra alatt a nagy mennyiségű xilóz nem fogy el az oldatból. Ez esetben is képződik etil-alkohol, ami a fermentáció ideje alatt szintén nem fogy el. Az emelt kiindulási xilózkoncentráció hatását 125 rpm fordulatszámú rázatás, 1 g/l kiindulási sejtkoncentráció mellett 35 ml-es töltöttségnél vizsgáltam. A kiindulási xilózkoncentráció 75 g/l volt. Az ugyanilyen beállítású, 30 g/l kiindulási xilózkoncentrációjú fermentációhoz képest körülbelül 2%-kal kisebb hozamot értem el (38%), és ez esetben a produktivitás is kisebb (0,4 g/(l*h)).

5.3.13.3. Az emelt kiindulási sejt- és xilózkoncentráció hatása



5.15. ábra: Az 5 g/l kiindulási sejtkoncentrációval, 75 g/l kiindulási xilózkoncentrációval, 35 ml töltöttség és 125 rpm fordulatszámú rázatás mellett folytatott fermentáció lefutása

Az 5g/l kiindulási sejtkoncentrációval és 75 g/l kiindulási xilózkoncentrációval folytatott fermentáció lefutását mutatja az 5.15. ábra. A pontos adatokat a Függelék 7.11. f táblázata tartalmazza. Ahogy az emelt kiindulási sejtkoncentrációnál a 5.3.13.1. pontban látható, a fermentáció során a sejttömeg csak körülbelül 20%-kal növekszik, miközben a xilóz fogy. A sejtek a xilitet nem fogyasztják, mert a 92 óra alatt a nagy mennyiségű xilóz nem fogy el az oldatból. Ez esetben is képződik etil-alkohol, és a fermentáció ideje ez sem fogy el.

Az emelt kiindulási sejt- és xilózkoncentráció hatására az emelt sejtkoncentrációs fermentációval körülbelül megegyező hozamot (61%) és produktivitást (0,8 g/(l·h)), az emelt cukorkoncentrációs fermentációhoz képest pedig 1,6-szoros hozamot és körülbelül kétszeres produktivitást értem el. Ezt a fermentációt is, a korábbiakhoz hasonlóan, újonnan vásárolt, friss sejtekkel végeztem, így valószínűleg ennek köszönhető a szintén kiemelkedően nagy hozam és produktivitás.

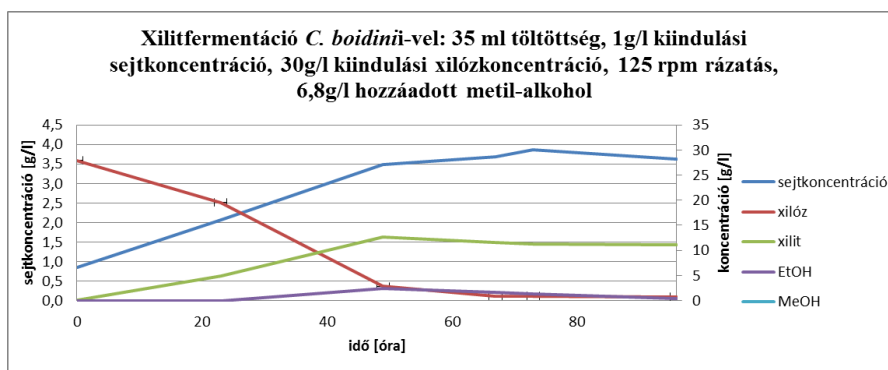
5.3.13.4. A pH hatása

A fermentációk során alkalmazott tápoldatok pH-ja 5,95. Megvizsgáltam a fermentáció során állandó 5-ös és 7-es értéken tartott pH hatását. Ezeknél a kísérleteknél minden mintavétel alkalmával egy tizedesjegy pontosságra megmértem, majd 10% NaOH- vagy 10% HCl-oldattal beállítottam a pH-t. A fermentációkat 125 rpm fordulatszámú rázatás, 1 g/l kiindulási sejt- és 30 g/l xilózkoncentráció mellett végeztem 35 ml-es töltöttségnél. A pontos adatokat a Függelék 7.11.d táblázata tartalmazza.

Az 5-ös pH-n tartott fermentlevekben a legnagyobb xilitkoncentráció 49 óra alatt 11,5 g/l, a hozam 38% volt. A 7-es pH-n tartott fermentlevekben a xilitkoncentráció 12,6 g/l volt szintén

49 óra alatt, ez esetben a hozam 38%. Az ugyanilyen beállításnál végzett fermentációkhoz képest mindkét pH értéken körülbelül 1%-kal kisebb volt a hozam. A produktivitás mindkét esetben körülbelül a fele lett.

5.3.13.5. A hozzáadott metil-alkohol és glicerín hatása



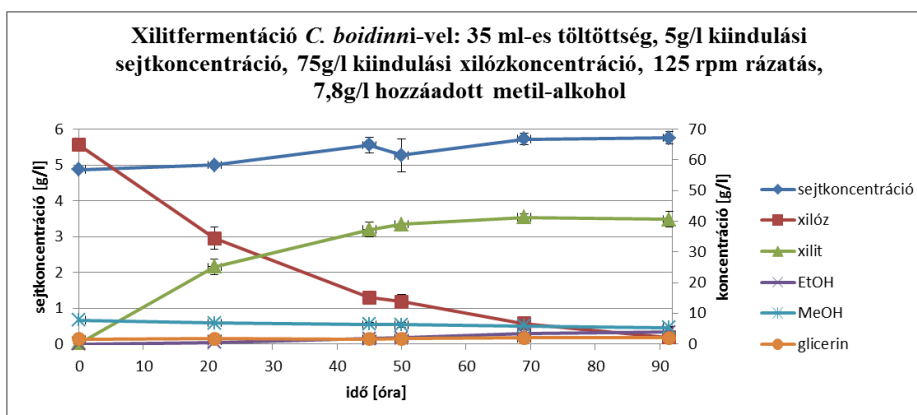
5.16. ábra: Az 1 g/l kiindulási sejtkoncentrációval, 30 g/l kiindulási xilózkoncentrációval, 6,8 g/l hozzáadott metil-alkohollal 35 ml töltöttség és 125 rpm fordulatszámú rázatás mellett folytatott fermentáció lefutása

A hozzáadott metil-alkohol hatását 35 ml-es töltöttségnél, 1 g/l kiindulási sejt-, 30 g/l kiindulási xilózkoncentrációval és 6,8 g/l hozzáadott metil-alkohollal, 125 rpm fordulatszámú rázatással végzett fermentáció során vizsgáltam (5.16. ábra, a pontos adatokat a Függelék 7.11.d táblázata tartalmazza). A sejtek folyamatosan növekedtek, miközben a xilóz fogyott, és xilitet állítottak elő. A metil-alkohol a fermentáció alatt körülbelül a felére csökkent, 6,8 g/l-ről 3,3 g/l-re. A fermentációban levő xilóz körülbelül 67 óra után fogyott el, innentől a xilit mennyisége is csökkent, a fermentáció végéig körülbelül 20%-kal. Glicerín, és etil-alkohol is képződött: glicerín a 92. óráig 0,6 g/l mennyiségben, etanol az 50. óráig 0,8 g/l mennyiségben, de az etanol a 92. óráig el is fogyott.

Az 1 g/l kiindulási sejt- és 30 g/l kiindulási xilózkoncentrációval, 35 ml töltöttségnél és 125 rpm rázatással végzett fermentációhoz képest a hozzáadott metil-alkohollal 1,2-szeres hozamot (48%), ugyanakkor körülbelül kétharmad-akkora produktivitást értem el. Az elért legnagyobb xilitkoncentráció 14,64 g/l volt, 49 óra alatt.

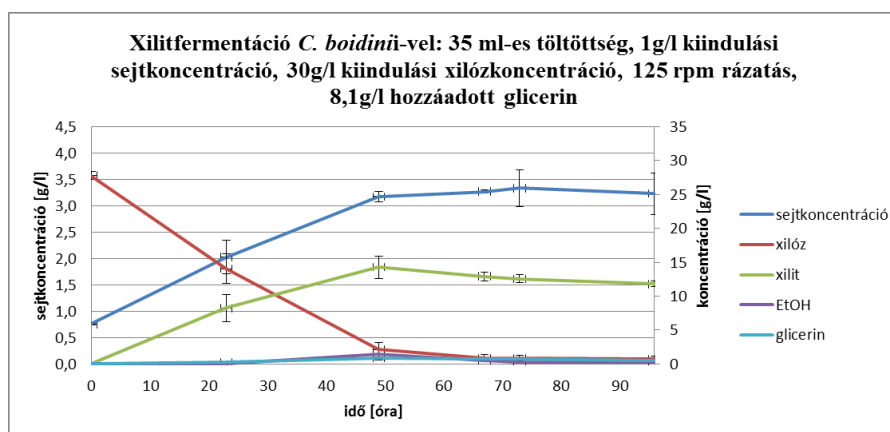
A metil-alkohol hatását vizsgáltam emelt kiindulási sejt- és xilózkoncentráció mellett is: 50 ml-es töltöttséggel, 5 g/l kiindulási sejt-, 75 g/l kiindulási xilózkoncentrációval és 7,8 g/l hozzáadott metil-alkohollal, 125 rpm fordulatszámú rázatással végzett fermentáció során (5.17. ábra, a pontos adatok a Függelék 7.11.f táblázatában találhatók). A xilóz körülbelül 92 óra alatt fogyott el, ez alatt a sejtek végig xilitet termeltek és csak kis mértékben növekedett a sejttömeg. A metanol hatására az ugyanilyen beállításnál, metanol hozzáadása nélkül végzett fermentációhoz képest csak körülbelül 2%-kal nagyobb hozamot, 63%-ot értem el, és a

produktivitás is kisebb volt: 0,6. Az elért legnagyobb xilitkoncentráció is körülbelül azonos volt: metil-alkohol nélkül 39,35 g/l, metanollal 41,31 g/l.



5.17. ábra: Az 5 g/l kiindulási sejtkoncentrációval, 75 g/l kiindulási xilózkoncentrációval, 7,7 g/l hozzáadott metil-alkohollal 35 ml töltöttség és 125 rpm fordulatszámú rázatás mellett folytatott fermentáció lefutása

A hozzáadott glicerín hatását 35 ml-es töltöttséggel, 1 g/l kiindulási sejt-, 30 g/l kiindulási xilózkoncentrációval és 8,1 g/l hozzáadott glicerinnel, 125 rpm fordulatszámú rázatással végzett fermentáció során vizsgáltam. A pontos adatokat a Függelék 7.11.d táblázata tartalmazza. A sejtek a 80. óráig szaporodtak, közben fogyasztották a xilózt. A xilóz 50 óránál fogyott el a fermentléből, a xilit mennyisége innentől csökken: a fermentáció végéig 15%-kal. A legnagyobb elért xilitkoncentráció 12,89 g/l, 49 óra alatt, ez 42%-os hozamot és 0,3 g/(l*h) produktivitást jelent. Az ugyanilyen beállítású, glicerín hozzáadása nélküli fermentációval összehasonlítva az elért hozamok körülbelül egyformák: glicerín nélkül 39%, glicerinnel 42%. A produktivitás azonban hozzáadott glicerín esetén kisebb lett: 0,3 g/(l*h) (glicerín nélkül 0,5 g/(l*h)).



5.18. ábra: Az 1 g/l kiindulási sejtkoncentrációval, 30 g/l kiindulási xilózkoncentrációval, 8,1 g/l hozzáadott glicerinnel 35 ml töltöttség és 125 rpm fordulatszámú rázatás mellett folytatott fermentáció lefutása

A különböző beállítások mellett végzett xilitfermentációkat összehasonlítva elmondható, hogy az 1 g/l kiindulási sejt- és 30 g/l kiindulási xilózkoncentrációval végzett fermentációk közül a legnagyobb hozamot, 43%-ot 50 ml-es töltöttség és 125 rpm fordulatszámú rázatás esetén értem el, a produktivitás ez esetben 0,3 g/(l*h) volt. A kiindulási sejt- és xilózkoncentráció növelése elsősorban a produktivitást növeli, a hozamot nem minden esetben. A két legnagyobb hozamot, 60 és 61%-ot emelt kiindulási sejtkoncentráció esetén kaptam, de ezeket a fermentációkat újonnan vásárolt, friss sejtekkel végeztem, így valószínűleg ennek köszönhető a kiemelkedően nagy hozam és produktivitás. A pH 5,0-ra, illetve 7,0-ra állítása és tartása kis mértékben csökkenti a hozamot és a produktivitást. Metil-alkohol hozzáadása körülbelül 8%-kal növeli a hozamot, közben a produktivitás kétharmadára csökken, míg glicerín hozzáadása csak 2%-kal növeli a hozamot, és a produktivitás ez esetben a felére csökken. Az emelt kiindulási sejt- és xilózkoncentrációval, valamint hozzáadott metanollal végzett fermentáció során szintén kiemelkedően nagy, 63% hozamot értem el, de ezt a fermentációt is újonnan vásárolt, friss sejtekkel végeztem, így valószínűleg ennek köszönhető a kiemelkedően nagy hozam és produktivitás.

5.3.13.6. A biotisztítási és xilitfermentációs kísérletek összefoglalása

A modellszubsztrát-oldaton végzett biotisztítási kísérletek alapján megállapítható, hogy az általam vizsgált négy élesztőtörzs közül a csak *Candida boidinii* bizonyult alkalmasnak az arabinóz biotisztítására az által, hogy az oldatban jelen levő cukrokat az arabinóz kivételével csaknem teljesen elfogyasztotta. A valódi hemicellulóz-hidrolizátumon *Candida boidinii* sejtekkel végzett biotisztítási kísérlet során kapott eredmény ugyanezt mutatta. Az irodalmi adatoknak megfelelően a *C. boidinii* törzs valóban képes xilitfermentációra. A vizsgált beállítások mellett elvégzett fermentációk alapján a 125 rpm fordulatszámú rázatás során nagyobb xilithozamokat értem el, mint 220 rpm fordulatszám esetén. A xilitfermentációk értékelésénél általam használt produktivitás értéke, valamint az ezek közötti eltérések csak tájékoztató jellegűek, mert a vett minták alapján nem állapítható meg pontosan, hogy mikor volt a xilitkoncentráció maximális egy adott fermentáció során, mert körülbelül 24 óránként vettem mintát. A 125 rpm rázatásnál a legjobb töltöttségi beállításnak az 50 ml-es töltöttség bizonyult. Az emelt kiindulási sejtkoncentrációs (5 g/l) kísérletek folyamán a sejtek csak kis mértékben szaporodtak, a xilithozam ez esetben 60%, a produktivitás 0,8 g/(l*h) lett. Ezt a fermentációt újonnan vásárolt sejtekkel végeztem, mely sejtek más esetben is kiugróan nagy eredményeket produkáltak, így valószínűleg ez okozta a jelentős hozamnövekedést az ugyanilyen, nem emelt kiindulási sejtkoncentrációs kísérlethez képest. Az emelt kiindulási

cukorkoncentráció (75 g/l) kismértékű hozam- és produktivitáscsökkenést okozott, a 30 g/l-es kiindulási xilózkoncentrációnál (1 g/l kiindulási sejtkoncentráció, 35 ml-es töltöttség, 125 rpm rázatás) a hozam 39% és a produktivitás 0,5 g/(l*h), ugyanakkor 75 g/l kiindulási xilózkoncentrációnál a hozam 38% és a produktivitás 0,4. Az emelt kiindulási sejt- (5 g/l) és xilózkoncentráció (75 g/l) mellett folytatott fermentáció során (35 ml-es töltöttség, 125 rpm rázatás) 61%-os hozamot értem el, ugyanakkor ezt a fermentációt is újonnan vásárolt sejtekkel végeztem. A fermentáció során fix értéken tartott pH mind az ötös, mint a hetes pH esetén kisebb xilithozamot okozott az ugyanilyen beállítású (1 g/l kiindulási sejt-, 30 g/l kiindulási xilózkoncentráció, 35 ml-es töltöttség, 125 rpm rázatás), nem pH állított fermentációhoz képest: pH állítás nélkül a hozam 39%, ugyanakkor pH 5-n a hozam 38%, pH 7-n 38%. Az alapbeállításhoz (1 g/l kiindulási sejt-, 30 g/l kiindulási xilózkoncentráció, 35 ml-es töltöttség, 125 rpm rázatás) képest a hozzáadott metil-alkohol és glicerinnel hozamnövekedést okozott: az alapbeállítás során elért 39%-os hozamhoz képest 6,8 g/l metanol hozzáadásával 48%-os, 8,1 g/l glicerinnel hozzáadásával 42%-os hozamot értem el. Az emelt kiindulási sejt- (5 g/l) és xilózkoncentrációval (75 g/l), valamint hozzáadott metil-alkohollal (7.7 g/l) folytatott fermentáció (35 ml-es töltöttség, 125 rpm rázatás) során 63%-os hozamot és 0,6 g/(l*h) produktivitást értem el. A továbbiakban érdemes megvizsgálni, hogy miért viselkednek másképpen a fenntartott sejtek, mint az újonnan vásárolt, friss sejtek, mert a vizsgálatok során az eltérő viselkedés következtében kiugró eredményeket kaptam.

6. Összefoglalás

Munkám célja a kukoricarost különböző kezelési módjainak vizsgálata volt. A rost arabinóztartalma szelektíven kinyerve értékes terméke lehet a biofinomító folyamatnak. A rost hemicellulóz frakciójának xilántartalma 21,29%, arabinántartalma 11,94%. Jelenleg nem áll rendelkezésre olyan technológia, mely utólagos, költséges tisztítási lépések nélkül képes lenne az arabinóz megfelelően szelektív kinyerésére.

Az általam végzett kénsavas kezelések során a rostot 90, 120 és 140°C-on kezeltem különböző koncentrációjú kénsavval. A 120°C-os kezelés során a legnagyobb (monomerekre vonatkoztatott) tisztasági hányadost a legenyhébb kezelési pontban (5 perc, 0,15% kénsav) értem el: az arabinóz 86,8%-a és mellette a xilóz 68,1%-a került oldott formába, a tisztasági hányados 3,8. A 90°C-os kezelések során, enyhébb körülmények között ennél nagyobb tisztasági hányados értékeket, ugyanakkor lényegesen kisebb kihozatalokat értem el. A 90°C-os (nem emelt savkoncentrációjú, nem emelt kezelési idejű) kénsavas kezelések során a legnagyobb tisztasági hányadost, 6,9-t 0,5% savkoncentráció, 5 perc kezelési idő alatt értem el, itt az arabinóz 16,1%-a és mellette a xilóz 1,2%-a került oldatba. Az kénsav-koncentráció emelése hatására a legnagyobb tisztasági hányados értéke 7,3 (1% kénsav, 10perc kezelési idő), ez esetben az arabinóz 31,3%-a és mellette a xilóz 2,5%-a hidrolizált. Az emelt kezelési idő hatására a tisztasági hányados legnagyobb értéke 5,8 (0,25% kénsav, 1 óra), ennél a kezelésnél az arabinóz 40,3%-a és mellette a xilóz 5,2%-a került oldatba. A 140°C-on végzett kénsavas kezelések túlságosan erélyesek, a legenyhébb kezelési pontban (0,15% kénsav, 5 perc) az arabinóz 81,2%-a és mellette a xilóz 41,6%-a hidrolizált (a tisztasági hányados 1). A kénsavas hidrolízist elvégeztem ammóniás áztatás után is, 90°C-on. Ez esetben a tisztasági hányadosok értéke nagyobb, mint a többi kezelésnél, ugyanakkor a kihozatalok kisebbek. A legnagyobb (monomerekre vonatkozó) tisztasági hányados 11,6 (0,15% kénsav, 5 perc), ugyanakkor ez esetben az arabinóznak csak 5,9%-a került monomer formában oldatba. A savas kezeléseket vizsgáltam borostyánkőssavval is, 120°C-on. A borostyánkőssavas kezelések során kapott (monomerekre vonatkozó) tisztasági hányadosok értéke 6,6-4,2 közötti, viszont az arabinózkihozatal legnagyobb értéke 41,2%. Mindegyik savas kezelés során végeztem ún. utósavazást (az oldatba kerülő oligomereket monomerekké hidrolizáltam). Az utósavazás hatására a tisztasági hányadosok értéke minden esetben jelentősen csökkent. Ez alapján megállapítható, hogy a kezelések során jelentős mennyiségű xilóz és arabinóz került oldatba oligomer formájában. Az oligomerek nagyobb mennyiségű xilózt tartalmaznak, mint arabinózt.

A savas kezelések eredményei alapján elmondható, hogy az általam vizsgált körülmények között nem található olyan, melynél az arabinózt megfelelően nagy kihozattal és szelektíven ki lehetne nyerni a kukoricarostból.

A biotisztítási kísérleteket négy élesztőtörzsszel végeztem (*Candida boidinii*, *Candida guilliermondii*, *Candida parapsilosis*, *Hansenula anomala*), melyek közül csak a *C. boidinii* bizonyult az arabinóz biotisztítására alkalmasnak. A *C. boidinii* a modellszubsztrát-oldatban található xilózt teljes mértékben, és a galaktóz 60%-át elfogyasztotta, közben az arabinózt nem metabolizálta. A másik három törzs mindhárom cukrot teljes mértékben elfogyasztotta. A biotisztítást elvégeztem valós kukoricarost-hidrolizátumon is, ehhez a kukoricarostot 90°C-on, 1,25% kénsavval 55 percig hidrolizáltam, majd a szűrletet további 10 percig 120°C-on tartottam. A hidrolizátumban körülbelül 10 g/l arabinóz, 6 g/l glükóz és 10 g/l xilóz+galaktóz volt. A biotisztítás során az élesztő (*C. boidinii*) az arabinózt nem, ellenben a glükóz, xilóz és galaktóz körülbelül 92%-át elfogyasztotta. Az irodalmi adatok alapján a *C. boidinii* képes xilitfermentációra. Ez alapján különböző levegőztetési, sejt- és cukorkoncentráció beállítások mellett xilitfermentációs kísérleteket is végeztem. Az 1 g/l kiindulási sejtkoncentráció, 30 g/l kiindulási xilózkoncentráció mellett végzett fermentációk közül a legnagyobb xilithozamot 50 ml-es töltöttség és 125 rpm rázatás mellett értem el (43%). A különböző paraméterek változtatásának hatását a 35 ml-es töltöttség, 1 g/l kiindulási sejtkoncentráció, 30 g/l kiindulási cukorkoncentráció, 125 rpm rázatáshoz képest vizsgáltam. Az emelt kiindulási sejtkoncentráció (5 g/l) hatására a sejtek csak kis mértékben szaporodtak a fermentáció alatt, a xilithozam körülbelül 2%-kal nagyobb lett, mint az azonos beállítású, 1 g/l kiindulási sejtkoncentrációjú fermentációnál. Az emelt kiindulási cukorkoncentráció (75 g/l) nem okozott hozamnövekedést. A fermentáció során fixen tartott pH érték pH 5 és pH 7 esetén is körülbelül 1%-kal csökkentette a hozamot (mindkét esetben 38%). A hozzáadott metil-alkohol (6,8 g/l) körülbelül 9%-kal nagyobb hozamot eredményezett (48%), míg a hozzáadott glicerin (8,1 g/l) körülbelül 3% hozamnövekedést okozott (42%). Három esetben - az emelt kiindulási cukorkoncentráció, emelt kiindulási cukor és sejtkoncentráció, valamint az emelt kiindulási cukor és sejtkoncentrációhoz hozzáadott metil-alkohol – hatásának vizsgálatakor kiugróan nagy, 60% körüli hozamokat kaptam. Ezeket a fermentációkat újonnan vásárolt, friss sejtekkel végeztem, így a jövőben érdemes megvizsgálni, hogy miért termelnek lényegesen nagyobb hozammal xilitet a friss sejtek, mint az általunk eltartottak.

A biotisztítások és xilitfermentációk eredményei alapján elmondható, hogy az általam vizsgált négy élesztőtörzs közül a *C. boidinii* alkalmas a biotisztításra, mind modellszubsztrát-oldaton, mind valódi hemicellulóz hidrolizátumon. A jövőben a xilitfermentáció körülményeit érdemes

tovább vizsgálni a minél nagyobb xilithozamok elérése érdekében, majd a megfelelő beállítással végzett fermentációt összekapcsolni a biotisztítás folyamatával: a biotisztítás során felszaporított sejtömeg továbbvihető a xilitfermentáció folyamatába. Továbbá vizsgálható a jövőben az arabinóz kinyerése a biotisztítás során előállított arabinózoldatból.

Irodalomjegyzék

- [1] L. A. M. B. Metz, O.R. Davidson, P.R. Bosch, R. Dave, *Contribution of Working Group III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. 2007.
- [2] B. Hahn-Hägerdal and M. Galbe, "Bio-ethanol—the fuel of tomorrow from the residues of today," *Trends Biotechnol.*, vol. 24, no. 12, pp. 549–556, 2006.
- [3] G. Taylor, "Biofuels and the biorefinery concept," *Energy Policy*, vol. 36, no. 12, pp. 4406–4409, Dec. 2008.
- [4] C. Fehér, *Kukorica maghéjat feldolgozó biofinomító üzem technológiai modellezése Aspen Plus programmal*. 2011.
- [5] I. Barótfi, "Biomassza energetikai hasznosítása," *Energ. Központ Kht., Budapest*, 1998.
- [6] I. Gyulai, "A biomassza dilemma," *Magy. Természetvédők Szövetsége*, 2009.
- [7] G. Kálmán, "Új lehetőségek a kukorica termesztése és feldolgozása során keletkező melléktermékek hasznosítására." 2008.
- [8] N. Park, S. Yoshida, and Y. Kawabata, "Screening test for xylanolytic activities of commercially available enzymes and release of arabinose from arabinoglucuronoxylan by the enzymes," *J. Appl. Glycosci.*, vol. 48, no. 3, pp. 253–262, 2001.
- [9] T. B. Granström, K. Izumori, and M. Leisola, "A rare sugar xylitol. Part II: biotechnological production and future applications of xylitol," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 74, no. 2, pp. 273–276, Feb. 2007.
- [10] J. H. Clark, V. Budarin, F. E. I. Deswarte, J. J. E. Hardy, F. M. Kerton, A. J. Hunt, R. Luque, D. J. Macquarrie, K. Milkowski, A. Rodriguez, O. Samuel, S. J. Tavener, R. J. White, and A. J. Wilson, "Green chemistry and the biorefinery: a partnership for a sustainable future," *Green Chem.*, vol. 8, no. 10, pp. 853–860, 2006.
- [11] H. Ohara, "Biorefinery," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 62, no. 5–6, pp. 474–477, Oct. 2003.
- [12] F. Cherubini, "The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals," *Energy Convers. Manag.*, vol. 51, no. 7, pp. 1412–1421, Jul. 2010.
- [13] Z. Barta, "Üzemanyagalkohol-termelés, Kevert szubsztráton végzett szimultán cukrosítás és fermentáció, továbbá a downstream műveletek modellezése Aspen Plus-szal," 2007.
- [14] C. Fehér, Z. Barta, and K. Réczey, "A biofinomító koncepció és egy lehetséges technológia számítógépes szimulációja," in *XXXIV. Kémiai Előadói Napok*, 2011.
- [15] H. Cheng, H. Wang, J. Lv, M. Jiang, S. Lin, and Z. Deng, "A novel method to prepare L-arabinose from xylose mother liquor by yeast-mediated biopurification," *Microb. Cell Fact.*, vol. 10, no. 43, pp. 1–11, Jan. 2011.
- [16] I. Krog-Mikkelsen and O. Hels, "The effects of L-arabinose on intestinal sucrase activity: dose-response studies in vitro and in humans," *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 94, pp. 472–478, 2011.
- [17] N. Park, S. Yoshida, and A. Takakashi, "A new method for the preparation of crystalline L-arabinose from arabinoxylan by enzymatic hydrolysis and selective fermentation with yeast," *Biotechnol. Lett.*, vol. 23, no. 1, pp. 411–416, 2001.
- [18] H. Schneider, P. Wang, Y. Chan, and R. Maleszka, "Conversion of D-xylose into ethanol by the yeast *Pachysolen tannophilus*," *Biotechnol. Lett.*, vol. 3, no. 2, pp. 89–92, 1981.
- [19] M. Dumas and F. Bonte, "Uses of S-xylose, the Esters Thereof and Oligosaccharides Containing Xylose for Improving the Functional of Epidermal Cells," *United States Pat.*, vol. 1, 1999.
- [20] B. C. Saha, "Hemicellulose bioconversion," *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 30, no. 5, pp. 279–291, May 2003.
- [21] B. C. Saha and R. J. Bothast, "Pretreatment and enzymatic saccharification of corn fiber.," *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 76, no. 2, pp. 65–77, Feb. 1999.
- [22] N. P. Nghiem, J. Montanti, D. B. Johnston, and C. Drapcho, "Fractionation of corn fiber treated by soaking in aqueous ammonia (SAA) for isolation of hemicellulose B and production of C5 sugars by enzyme hydrolysis.," *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 164, no. 8, pp. 1390–1404, Aug. 2011.
- [23] E. Vandeska, S. Amartei, S. Kuzmanova, and T. Jeffries, "Fed-batch culture for xylitol production by *Candida boidinii*," *Process Biochem.*, vol. 31, no. 3, pp. 265–270, 1996.
- [24] G. Livesey, "Health potential of polyols as sugar replacers, with emphasis on low glycaemic properties.," *Nutr. Res. Rev.*, vol. 16, no. 2, pp. 163–191, Dec. 2003.
- [25] T. B. Granström, K. Izumori, and M. Leisola, "A rare sugar xylitol. Part I: the biochemistry and biosynthesis of xylitol.," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 74, no. 2, pp. 277–281, Feb. 2007.
- [26] C. Ko, P. Chiang, and P. Chiu, "Integrated xylitol production by fermentation of hardwood wastes," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 83, pp. 534–540, 2008.
- [27] S. Kim, J. Kim, and D. Oh, "Improvement of xylitol production by controlling oxygen supply in *Candida parapsilosis*," *J. Ferment. Bioeng.*, vol. 83, no. 3, pp. 267–270, 1997.

- [28] S. I. Mussatto, C. J. S. M. Silva, and I. C. Roberto, "Fermentation performance of *Candida guilliermondii* for xylitol production on single and mixed substrate media.," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 72, no. 4, pp. 681–686, Oct. 2006.
- [29] E. Vandeska, S. Kuzmanova, and T. W. Jeffries, "Xylitol formation and key enzyme activities in *Candida boidinii* under different oxygen transfer rates," *J. Ferment. Bioeng.*, vol. 80, no. 5, pp. 513–516, Jan. 1995.
- [30] S. Kim, D. Oh, and J. Kim, "Evaluation of xylitol production from corn cob hemicellulose hydrolysate by *Candida parapsilosis*," *Biotechnol. Lett.*, vol. 21, no. 1, pp. 891–895, 1999.
- [31] E. Winkelhausen, S. a. Amartei, and S. Kuzmanova, "Xylitol Production from D-Xylose at Different Oxygen Transfer Coefficients in a Batch Bioreactor," *Eng. Life Sci.*, vol. 4, no. 2, pp. 150–154, Apr. 2004.
- [32] H. Lee, C. Sopher, and K. Yau, "Induction of xylose reductase and xylitol dehydrogenase activities on mixed sugars in *Candida guilliermondii*," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 66, no. 1, pp. 375–379, 1996.
- [33] D. Virg and D. A. Felipe, "Effect of glucose: xylose ratio on xylose reductase and xylitol dehydrogenase activities from *Candida guilliermondii* in sugarcane bagasse hydrolysate," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 81, pp. 1294–1300, 2006.
- [34] T. Granström, U. Airaksinen, X. Wu, and M. Leisola, "*Candida guilliermondii* grows on rare pentoses—implications for production of pure xylitol," *Biotechnol. Lett.*, vol. 24, no. 1, pp. 507–510, 2002.
- [35] V. Vongsuvanlert and Y. Tani, "Xylitol production by a methanol yeast, *Candida boidinii* (Kloeckera sp.) No. 2201," *J. Ferment. Bioeng.*, vol. 67, no. 1, pp. 35–39, 1989.
- [36] J. M. Loeza-Corte, J. R. Verda-Calvo, F. Cruz-Sosa, E. J. Vernon-Carter, and S. Huerta-Ochoa, "L-arabinose production by hydrolysis of mesquite gum by a crude extract with a-L-arabinofuranosidase activity from *Aspergillus niger*," *Rev. Mex. Ing. Química*, vol. 6, pp. 259–265, 2007.
- [37] Y.-R. Lim, S.-J. Yeom, Y.-S. Kim, and D.-K. Oh, "Synergistic production of L-arabinose from arabinan by the combined use of thermostable endo- and exo-arabinanases from *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*," *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no. 5, pp. 4277–4280, Mar. 2011.
- [38] H. Cheng, B. Wang, J. Lv, M. Jiang, S. Lin, and Z. Deng, "Xylitol production from xylose mother liquor: a novel strategy that combines the use of recombinant *Bacillus subtilis* and *Candida maltosa*," *Microb. Cell Fact.*, vol. 10, no. 5, pp. 1–12, Jan. 2011.
- [39] Z. Ahmed, T. Shimonishi, S. H. Bhuiyan, M. Utamura, G. Takada, and K. Izumori, "Biochemical preparation of L-ribose and L-arabinose from ribitol: a new approach," *J. Biosci. Bioeng.*, vol. 88, no. 4, pp. 444–8, Jan. 1999.
- [40] K. Shibamura, K. Takamine, S. Maseda, S. Osaki, J. I. Abe, and S. Hizukuri, "Partial Acid Hydrolysis of Corn Fiber for the Production of L-Arabinose," *J. Appl. Glycosci.*, vol. 46, no. 3, pp. 249–256, 1999.
- [41] A. Sluiter, B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, and D. Templeton, "Determination of ash in biomass," *Lab. Anal. Proced. Natl. Renew. Energy Lab. Golden, CO*, 2008.
- [42] A. Sluiter, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, and D. Templeton, "Determination of extractives in biomass," *Lab. Anal. Proced. Natl. Renewable Energy Lab. Golden CO*, 2008.
- [43] A. Sluiter, B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, D. Templeton, and D. Crocker, "Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass," *Lab. Anal. Proced. Natl. Renewable Energy Lab. Golden, CO*, 2008.
- [44] S. Kemény, A. Deák, K. Komka, and E. Vágó, *Hogyan használjuk a STATISTICA programot?* 2011.

7. Függelék

7.1. táblázat: Nyersanyagelemzés

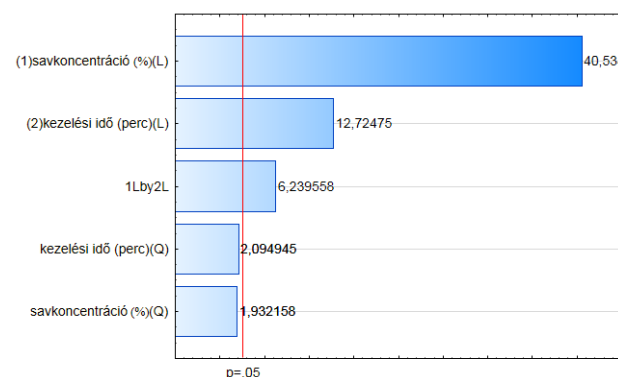
Hamutartalom mérése									
	Tégek üresen(g)	rost (g)	Tégek+hamu (g)	Hamutartalom (%)					
1	21,9866	0,5178	21,9906	0,77					
2	22,3653	0,5193	22,3694	0,79					
3	20,779	0,5167	20,783	0,77					
			átlag	0,78					
			szórás	0,01					
Keménységi tartalom mérése									
	glükóz	glükóz	keményítő	%					
minta	mg/g	mg/g	mg/g	%					
1	0,5926	202,89	182,60	18,26					
2	0,5967	211,64	190,48	19,05					
3	0,5327	196,79	177,11	17,71					
átlag	0,5740	203,77	183,40	18,34					
szórás	0,0358	7,47	6,72	0,67					
Hágghund-módszer									
bemért szárazanyag (g)	V (L)	cellobióz koncentráció (g/l)	glükózkoncentráció (g/l)	xilózkoncentráció (g/l)	arabinózkoncentráció (g/l)	Cellulóz tartalom (%)	Xilán tartalom (%)	Arabinán tartalom (%)	
0,4692	0,0775	0,19	1,19	1,46	0,82	17,87	21,17	11,91	
0,4713		0,13	1,38	1,48	0,83	18,63	21,40	12,03	
0,4703		0,13	1,41	1,47	0,82	18,14	21,32	11,89	
átlag						18,21	21,30	11,94	
szórás						0,38	0,12	0,07	
		szárazanyag (g)	Számított lignin tömeg (g)	lignin tartalom (%)					
		0,4692	0,035	7,502					
		0,4713	0,036	7,554					
		0,4703	0,027	5,762					
		átlag	0,033	6,940					
		szórás	0,005	1,020					

minta		glükóz		xilóz		arabinóz		tisztasági hányados
savkonc.	idő	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	
0,15%	5	0,13	0,05	27,46	8,00	103,68	57,33	3,76
0,15%	10	0,25	0,09	40,78	11,88	118,54	65,54	2,89
0,15%	15	0,33	0,12	47,29	13,78	121,07	66,94	2,54
0,45%	5	1,07	0,39	96,84	28,21	137,10	75,80	1,40
0,45%	10 - átlag	2,78	1,02	127,13	37,04	140,38	77,62	1,08
0,45%	15	4,54	1,66	146,70	42,74	143,12	79,13	0,95
0,75%	5	2,57	0,94	153,99	44,86	145,34	80,36	0,93
0,75%	10	6,64	2,43	203,69	59,34	150,64	83,29	0,72
0,75%	15	7,63	2,79	233,62	68,06	157,04	86,83	0,65

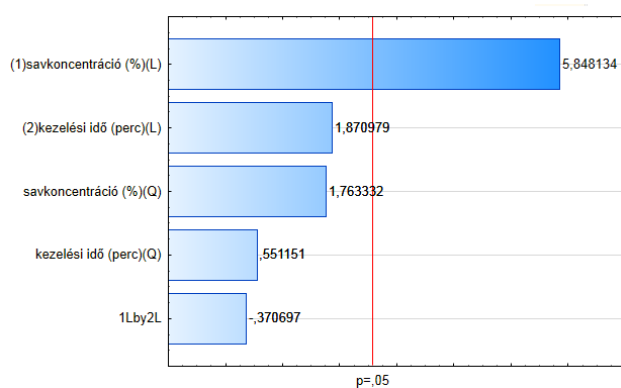
7.2.a táblázat: A rost 120°C-os kénsavas kezelése során monomer formában oldatba kerülő cukrok mennyisége, hozama, valamint a tisztasági hányados értéke

minta		glükóz		xilóz		arabinóz		tisztasági hányados
savkonc.	idő	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	
0,15%	5	15,60	5,70	125,40	36,53	134,63	74,44	0,95
0,15%	10	18,63	6,81	166,77	48,59	144,06	79,65	0,78
0,15%	15	19,04	6,96	187,89	54,74	147,18	81,38	0,71
0,45%	5	21,98	8,04	270,83	78,90	166,87	92,26	0,57
0,45%	10 - átlag	23,51	8,60	277,36	80,80	166,64	92,14	0,55
0,45%	15	24,14	8,83	282,46	82,29	168,38	93,10	0,55
0,75%	5	24,88	9,10	289,34	84,29	172,64	95,46	0,55
0,75%	10	25,22	9,22	282,07	82,18	165,96	91,76	0,54
0,75%	15	25,40	9,29	288,91	84,17	168,33	93,07	0,54

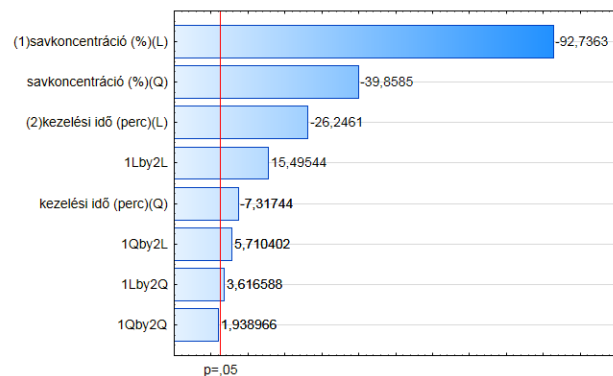
7.2.b táblázat: A rost 120°C-os kénsavas kezelése során monomer és oligomer formában oldatba kerülő cukrok mennyisége, hozama, valamint a tisztasági hányados értéke



7.1.a ábra: A 120°C-os kezelés során a monomer xilóz kinyerésére vonatkozó Pareto-diagram



7.1.b ábra: A 120°C-os kezelés során a monomer arabinóz kinyerésére vonatkozó Pareto-diagram



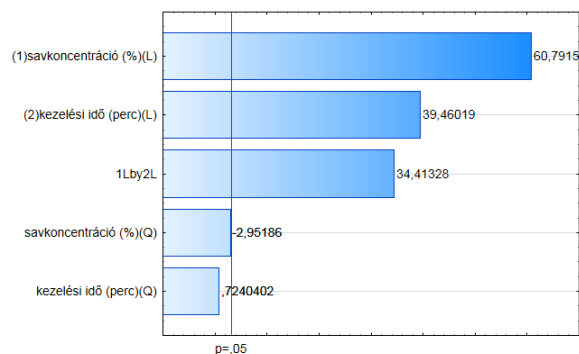
7.1.c ábra: A 120°C-os kezelés során a tisztasági hányadosra vonatkozó Pareto-diagram

minta		glükóz		xilóz		arabinóz		tisztasági
savkonc.	idő (perc)	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	hányados
0,0%	5	nd	-	nd	-	0,74	0,45	-
0,0%	30	nd	-	nd	-	1,00	0,61	-
0,0%	55	nd	-	nd	-	1,23	0,75	-
0,5%	5	nd	-	3,82	1,20	26,42	16,08	6,92
0,5%	30 - átlag	1,36	0,56	11,04	3,47	74,58	45,39	6,01
0,5%	55	1,42	0,59	16,78	5,28	88,76	54,02	4,88
1,0%	5	1,33	0,55	7,31	2,30	52,67	32,06	6,10
1,0%	30	1,58	0,65	22,70	7,14	97,91	59,59	4,03
1,0%	55	1,75	0,72	39,38	12,39	105,31	64,10	2,56

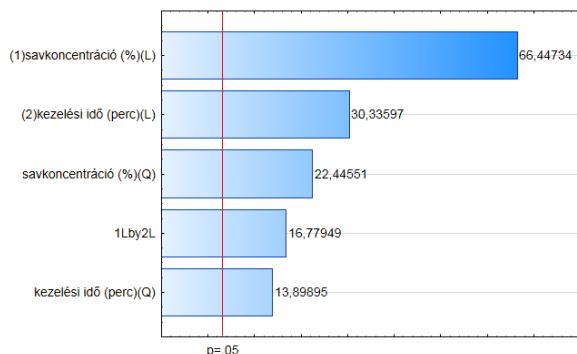
7.3.a táblázat: A rost 90°C-os kénsavas kezelése során monomer formában oldatba kerülő cukrok mennyisége, hozama, valamint a tisztasági hányados értéke

minta		glükóz		xilóz		arabinóz		tisztasági
savkonc.	idő (perc)	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	hányados
0,0%	5	3,04	1,26	nd	-	1,49	0,91	0,49
0,0%	30	3,30	1,36	2,26	0,71	1,94	1,18	0,35
0,0%	55	3,69	1,52	2,52	0,79	2,39	1,46	0,39
0,5%	5	11,32	4,68	13,84	4,35	35,37	21,53	1,41
0,5%	30 - átlag	19,74	8,16	57,12	17,96	93,65	57,00	1,22
0,5%	55	25,35	10,48	89,82	28,25	113,55	69,11	0,99
1,0%	5	21,99	9,09	31,49	9,90	64,34	39,16	1,20
1,0%	30	27,10	11,20	115,17	36,22	124,16	75,57	0,87
1,0%	55	31,04	12,83	185,27	58,27	137,16	83,48	0,63

7.3.b táblázat: A rost 90°C-os kénsavas kezelése során monomer és oligomer formában oldatba kerülő cukrok mennyisége, hozama, valamint a tisztasági hányados értéke



7.2.a ábra: A 90°C-os kezelés során a monomer xilóz kinyerésére vonatkozó Pareto-diagram



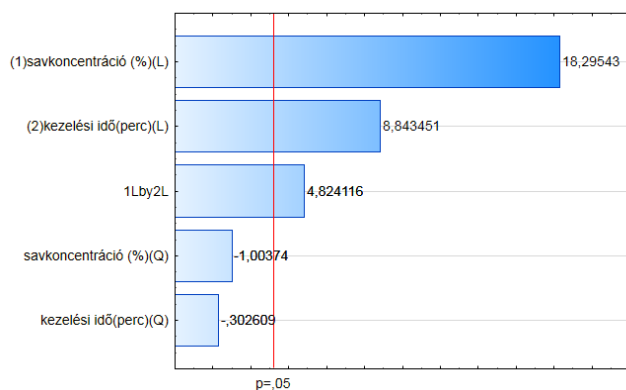
7.1.b ábra: A 90°C-os kezelés során a monomer arabinóz kinyerésére vonatkozó Pareto-diagram

minta		glükóz		xilóz		arabinóz		tisztasági
savkonc.	idő (perc)	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	hányados
1,0%	5	nd	0	7,95	2,50	51,41	31,29	-
1,0%	10	1,36	0,56	12,16	3,82	72,56	44,16	7,33
1,0%	15	1,39	0,57	15,23	4,79	84,16	51,23	6,92
3,0%	5	1,49	0,61	26,06	8,20	90,79	55,26	4,97
3,0%	10 - átlag	1,58	0,65	36,47	11,47	107,94	65,69	4,54
3,0%	15	1,91	0,79	58,65	18,45	117,08	71,26	3,90
5,0%	5	1,52	0,63	45,04	14,17	101,88	62,01	3,78
5,0%	10	1,88	0,78	75,95	23,89	126,23	76,83	3,54
5,0%	15	2,30	0,95	90,21	28,37	127,46	77,58	3,71

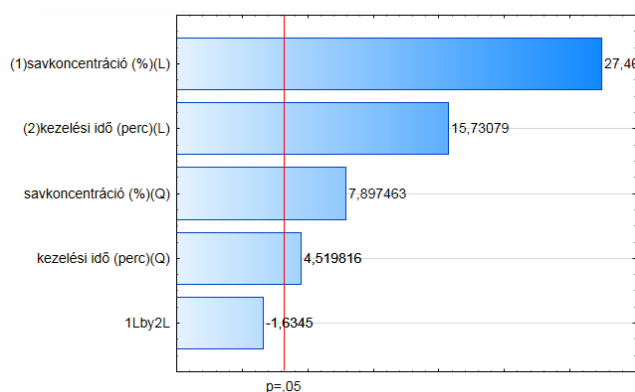
7.4.a táblázat: A rost 90°C-os, emelt savkoncentrációjú kénsavas kezelése során monomer formában oldatba kerülő cukrok mennyisége, hozama, valamint a tisztasági hányados értéke

minta		glükóz		xilóz		arabinóz		tisztasági
savkonc.	idő (perc)	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	hányados
1,0%	5	13,00	5,37	34,08	10,72	67,77	41,25	1,44
1,0%	10	20,43	8,44	62,21	19,57	96,74	58,88	1,17
1,0%	15	19,66	8,12	73,72	23,19	104,89	63,84	1,12
3,0%	5	19,66	8,12	111,49	35,06	119,89	72,97	0,91
3,0%	10 - átlag	25,72	10,63	158,87	49,97	137,77	83,85	0,75
3,0%	15	32,46	13,42	235,13	73,95	155,39	94,58	0,58
5,0%	5	24,83	10,26	170,66	53,67	130,11	79,19	0,67
5,0%	10	17,72	7,32	250,65	78,83	158,50	96,47	0,59
5,0%	15	20,24	8,37	256,27	80,60	159,73	97,22	0,58

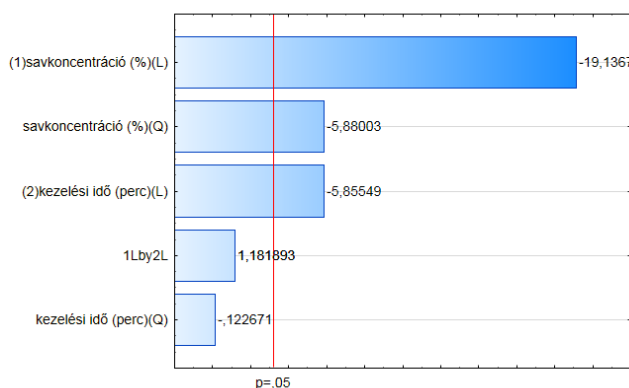
7.4.b táblázat: A rost 90°C-os, emelt savkoncentrációjú kénsavas kezelése során monomer és oligomer formában oldatba kerülő cukrok mennyisége, hozama, valamint a tisztasági hányados értéke



7.3. ábra: A 90°C-os, emelt savkoncentrációjú kezelés során a monomer xilóz kinyerésére vonatkozó Pareto-diagram



7.3.b ábra: A 90°C-os, emelt savkoncentrációjú kezelés során a monomer arabinóz kinyerésére vonatkozó Pareto-diagram



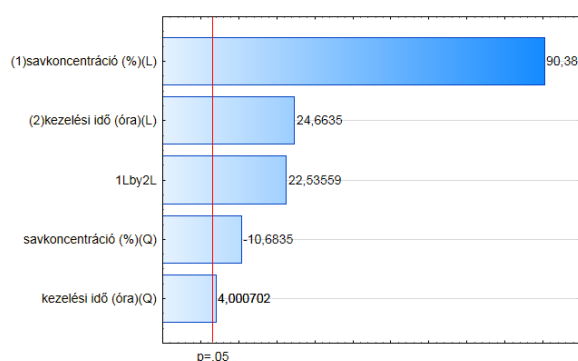
7.3.c ábra: A 90°C-os, emelt savkoncentrációjú kezelés során a tisztasági hányadosra vonatkozó Pareto-diagram

minta		glükóz		xilóz		arabinóz		tisztasági
savkonc.	idő (óra)	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	hányados
0%	1	nd	-	1,10	0,35	1,33	0,81	1,21
0%	1,5	nd	-	1,20	0,38	1,78	1,08	1,49
0%	2	nd	-	1,26	0,40	2,13	1,30	1,69
0,25%	1	1,36	0,56	10,06	3,16	66,22	40,30	5,80
0,25%	1,5 - átlag	1,39	0,57	15,45	4,86	81,73	49,74	4,85
0,25%	2	1,42	0,59	16,36	5,15	83,10	50,58	4,67
0,50%	1	1,42	0,59	23,41	7,36	97,26	59,20	3,92
0,50%	1,5	1,52	0,63	33,01	10,38	98,94	60,22	2,87
0,50%	2	1,65	0,68	43,07	13,55	107,38	65,36	2,40

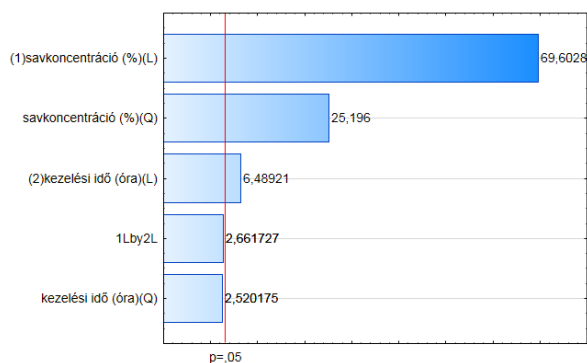
7.5.a táblázat: A rost 90°C-os, emelt kezelési idejű kénsavas kezelése során monomer formában oldatba kerülő cukrok mennyisége, hozama, valamint a tisztasági hányados értéke

minta		glükóz		xilóz		arabinóz		tisztasági
savkonc.	idő (óra)	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	hányados
0%	1	3,82	1,58	2,78	0,87	2,59	1,57	0,39
0%	1,5	3,82	1,58	2,91	0,92	3,36	2,05	0,50
0%	2	4,14	1,71	3,30	1,04	3,82	2,32	0,51
0,25%	1	19,40	8,02	51,80	16,29	84,97	51,72	1,19
0,25%	1,5 - átlag	24,01	9,92	77,78	24,46	102,93	62,65	1,01
0,25%	2	20,76	8,58	76,18	23,96	99,65	60,65	1,03
0,50%	1	23,67	9,78	111,42	35,04	117,89	71,75	0,87
0,50%	1,5	26,13	10,80	163,93	51,56	132,44	80,61	0,70
0,50%	2	32,46	13,42	211,33	66,46	146,99	89,46	0,60

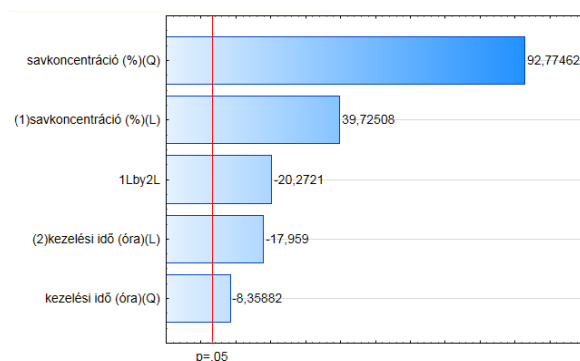
7.5.b táblázat: A rost 90°C-os, emelt kezelési idejű kénsavas kezelése során monomer és oligomer formában oldatba kerülő cukrok mennyisége, hozama, valamint a tisztasági hányados értéke



7.4.a ábra: A 90°C-os, emelt kezelési idejű kezelés során a monomer xilóz kinyerésére vonatkozó Pareto-diagram



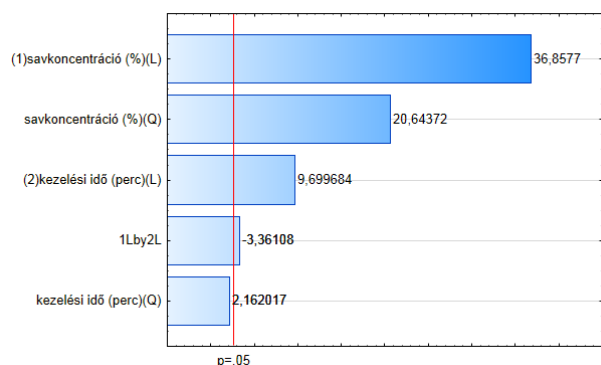
7.4.b ábra: A 90°C-os, emelt kezelési idejű kezelés során a monomer arabinóz kinyerésére vonatkozó Pareto-diagram



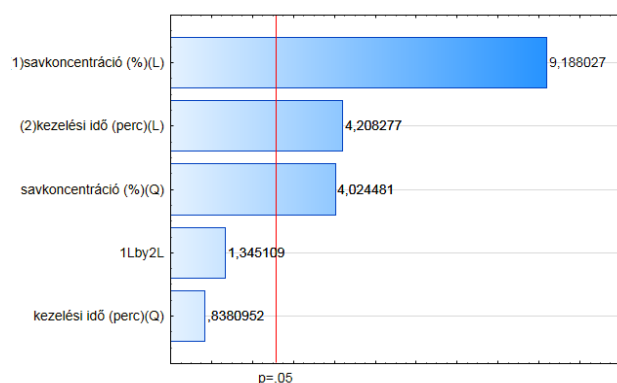
7.4.c ábra: A 90°C-os, emelt kezelési idejű kezelés során tisztasági hányadosra vonatkozó Pareto-diagram

minta		glükóz		xilóz		arabinóz		tisztasági
savkonc.	idő	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	hányados
0,15%	5	5,22	1,91	142,65	41,56	146,80	81,16	0,99
0,15%	10	7,05	2,58	188,33	54,87	154,47	85,41	0,79
0,15%	15	5,09	1,86	202,60	59,03	152,30	84,21	0,73
0,45%	5	16,43	6,01	299,79	87,34	163,70	90,51	0,52
0,45%	10 - átlag	20,99	7,67	321,03	93,53	168,69	93,27	0,49
0,45%	15	23,57	8,62	335,67	97,79	173,65	96,02	0,48
0,75%	5	23,20	8,48	317,29	92,44	165,11	91,29	0,48
0,75%	10	28,55	10,44	334,86	97,56	172,44	95,35	0,47
0,75%	15	30,72	11,23	342,89	99,90	178,03	98,44	0,48

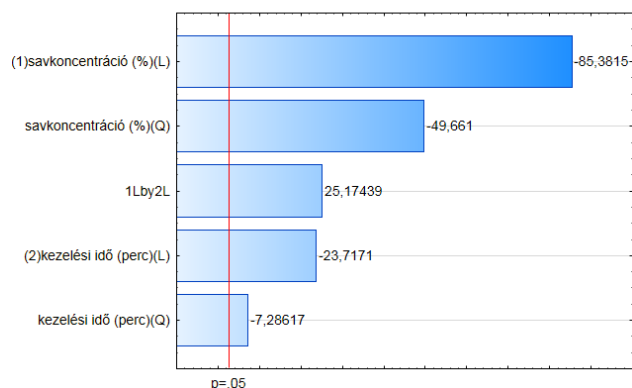
7.6.a táblázat: A rost 140°C-os kénsavas kezelése során monomer formában oldatba kerülő cukrok mennyisége, hozama, valamint a tisztasági hányados értéke



7.5.a ábra: A 140°C-os kezelés során a monomer xilóz kinyerésére vonatkozó Pareto-diagram



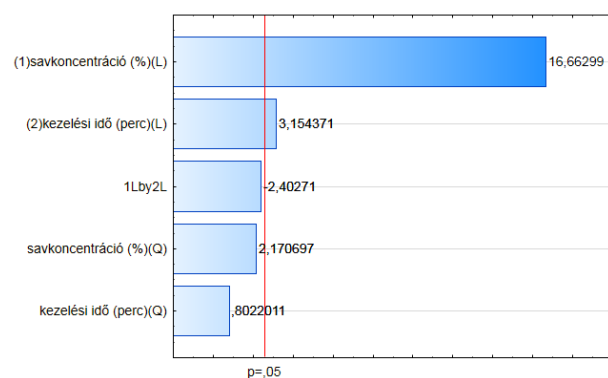
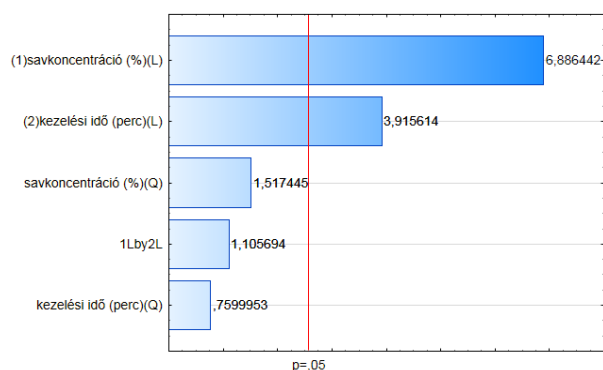
7.5.b ábra: A 140°C-os kezelés során a monomer arabinóz kinyerésére vonatkozó Pareto-diagram



7.5.c ábra: A 140°C-os kezelés során a tisztasági hányadosra vonatkozó Pareto-diagram

minta		glükóz		xilóz		arabinóz		tisztasági
savkonc.	idő	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	hányados
0,15%	5	nd	-	0,95	0,27	11,02	5,85	11,55
0,15%	10	nd	-	2,57	0,73	21,94	11,65	8,53
0,15%	15	nd	-	3,75	1,06	30,76	16,33	8,20
0,45%	5	nd	-	5,02	1,42	47,18	25,05	9,39
0,45%	10 - átlag	nd	-	8,49	2,40	62,58	33,23	7,37
0,45%	15	nd	-	9,59	2,71	78,73	41,81	8,21
0,75%	5	nd	-	6,93	1,96	66,19	35,15	9,55
0,75%	10	nd	-	10,82	3,05	86,54	45,95	8,00
0,75%	15	nd	-	12,81	3,61	83,83	44,52	6,55

minta		glükóz		xilóz		arabinóz		tisztasági
savkonc.	idő	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	hányados
0,15%	5	1,96	0,67	59,64	16,83	49,12	26,08	0,80
0,15%	10	3,31	1,14	118,65	33,47	87,81	46,63	0,72
0,15%	15	3,77	1,30	164,73	46,47	113,84	60,45	0,68
0,45%	5	3,41	1,18	209,95	59,23	137,66	73,10	0,65
0,45%	10 - átlag	6,34	2,19	257,91	72,76	164,14	87,16	0,62
0,45%	15	9,69	3,34	281,66	79,46	177,72	94,37	0,61
0,75%	5	4,16	1,44	246,82	69,63	159,03	84,45	0,63
0,75%	10	6,67	2,30	274,06	77,32	175,45	93,17	0,62
0,75%	15	11,71	4,04	289,77	81,75	184,01	97,71	0,61

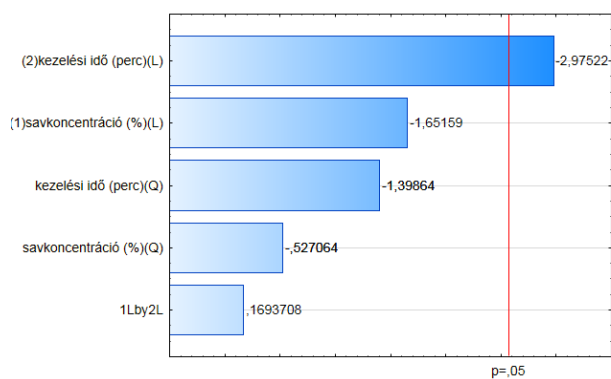


7.7.a táblázat: A rost ammóniás áztatás utáni 90°C-os kénsavas kezelése során monomer formában oldatba kerülő cukrok mennyisége, hozama, valamint a tisztasági hányados értéke

7.7.b táblázat: A rost ammóniás áztatás utáni 90°C-os kénsavas kezelése során monomer és oligomer formában oldatba kerülő cukrok mennyisége, hozama, valamint a tisztasági hányados értéke

7.6.a ábra: Az ammóniás áztatás utáni 90°C-os kezelés során a monomer xilóz kinyerésére vonatkozó Pareto-diagram

7.6.b ábra: Az ammóniás áztatás utáni 90°C-os kezelés során a monomer arabinóz kinyerésére vonatkozó Pareto-diagram



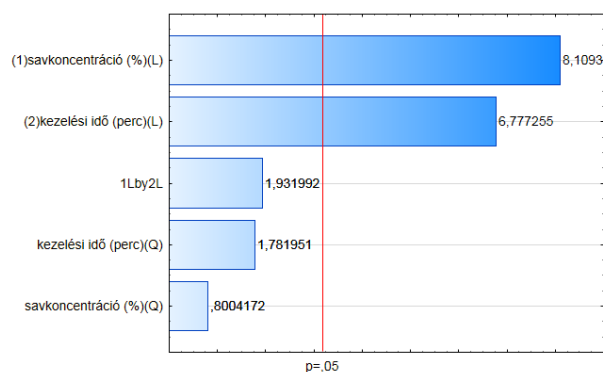
7.6.c ábra: Az ammóniás áztatás utáni 90°C-os kezelés során a tisztasági hányadosra vonatkozó Pareto-diagram

minta		glükóz		xilóz		arabinóz		tisztasági hányados
savkonc.	idő	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	
0,5%	5	nd	-	2,97	0,94	19,66	11,97	6,61
0,5%	10	nd	-	5,69	1,79	31,69	19,29	5,57
0,5%	15	nd	-	6,50	2,04	35,44	21,57	5,45
2,5%	5	nd	-	5,17	1,63	28,49	17,34	5,51
2,5%	10 - átlag	0,03	0,01	10,14	3,19	47,05	28,63	4,62
2,5%	15	0,06	0,02	12,35	3,88	55,94	34,05	4,51
4,5%	5	nd	-	8,15	2,56	39,80	24,23	4,88
4,5%	10	0,06	0,02	13,16	4,14	58,91	35,86	4,45
4,5%	15	0,26	0,07	15,94	5,01	67,64	41,17	4,18

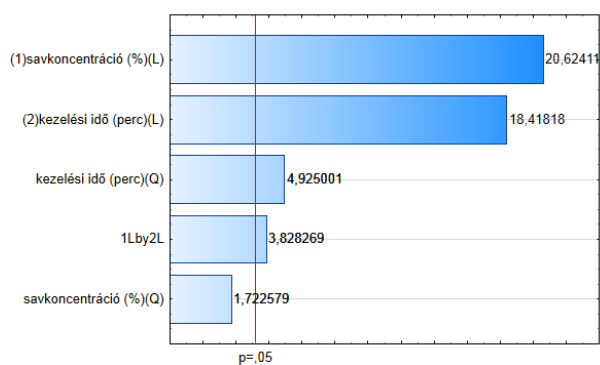
7.8.a táblázat: A rost 120°C-os borostyánkősavas kezelése során monomer formában oldatba kerülő cukrok mennyisége, hozama, valamint a tisztasági hányados értéke

minta		glükóz		xilóz		arabinóz		tisztasági hányados
savkonc.	idő	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	mg/g sz.a.	%	
0,5%	5	9,89	2,82	10,93	3,44	29,10	17,71	1,40
0,5%	10	15,71	4,47	23,28	7,32	49,92	30,39	1,28
0,5%	15	20,95	5,96	29,62	9,31	55,74	33,93	1,10
2,5%	5	24,90	7,08	25,61	8,05	51,22	31,17	1,01
2,5%	10 - átlag	21,94	6,24	44,22	13,91	72,85	44,34	1,10
2,5%	15	25,16	7,16	55,81	17,55	80,96	49,28	1,00
4,5%	5	21,92	6,24	33,76	10,62	60,98	37,12	1,10
4,5%	10	28,52	8,11	61,24	19,26	84,13	51,21	0,94
4,5%	15	32,81	9,34	81,67	25,69	101,01	61,48	0,88

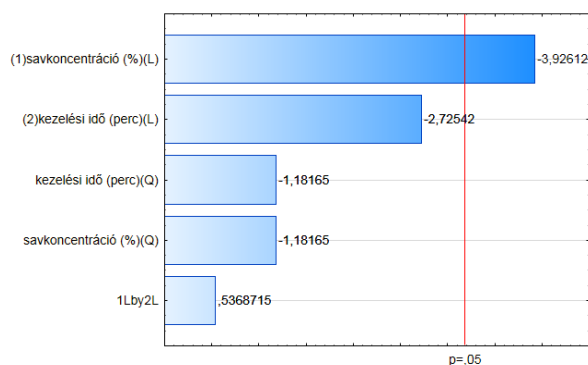
7.8.b táblázat: A rost 120°C-os borostyánkősavas kezelése során monomer és oligomer formában oldatba kerülő cukrok mennyisége, hozama, valamint a tisztasági hányados értéke



7.7.a ábra: A 120°C-os borostyánkősavas kezelés során a monomer xilóz kinyerésére vonatkozó Pareto-diagram



7.7.b ábra: A 120°C-os borostyánkősavas kezelés során a monomer arabinóz kinyerésére vonatkozó Pareto-diagram



7.7.c ábra: A 120°C-os borostyánkősavas kezelés során a tisztasági hányadosra vonatkozó Pareto-diagram

		<i>C. Boidinii</i>		<i>C. guilliermondii</i>		<i>C. parapsilosis</i>		<i>H. anomala</i>	
		átlag	szórás	átlag	szórás	átlag	szórás	átlag	szórás
xilóz	0 óra	16,874	-	16,962	-	17,069	-	17,244	-
arabinóz		13,636	-	13,636	-	13,636	-	13,636	-
etanol		nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
sejt tömeg		0,264	0	0,412	0	0,289	0	0,288	0
xilóz	5 óra	15,002	0,004	15,136	0,191	15,601	0,151	16,053	0,333
arabinóz		14,501	0,123	14,282	0,330	14,384	0,084	14,679	0,255
etanol		nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
sejt tömeg		0,808	0,051	0,996	0,012	0,554	0,021	0,647	0,009
xilóz	24 óra	3,131	2,474	3,226	0,350	4,258	0,110	2,563	1,991
arabinóz		14,241	0,277	11,947	1,713	12,825	0,578	13,706	0,600
etanol		0,241	0,340	nd	-	nd	-	0,230	0,325
sejt tömeg		4,665	0,515	6,105	0,228	5,38	0,413	6,113	0,036
xilóz	48 óra	0,086	0,003	0,129	0,006	0,084	0,002	0,142	0,003
arabinóz		13,470	0,265	0,063	0,008	0,157	0,006	0,069	0
etanol		nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
sejt tömeg		5,359	0,228	9,985	0,671	7,952	0,288	8,193	0,078
xilóz	72 óra	0,091	0,003	0,100	0,005	0,071	0,004	0,152	0,004
arabinóz		13,992	0,260	0,035	0,039	0,155	0,006	0,017	0,002
etanol		nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
sejt tömeg		5,505	0,036	9,945	0,072	10,106	0,252	9,987	0,467
xilóz	95 óra	0,09	0,001	0,077	0,028	0,06	0,010	0,151	0,045
arabinóz		13,846	0,627	0,009	0,001	0,141	0,023	0,083	0,084
etanol		nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
sejt tömeg		5,245	0,042	10,239	0,192	10,002	0,887	10,019	0,12

7.9. táblázat: Biotisztítás a négy élesztőtörzzsel xilóz- és arabinóztartalmú tápoldaton

		<i>C. boidinii</i>		<i>C. guilliermondii</i>		<i>C. parapsilosis</i>		<i>H. anomala</i>	
		átlag	szórás	átlag	szórás	átlag	szórás	átlag	szórás
xilóz	0 óra	8,915	0,078	8,884	0,105	8,943	0,025	8,496	0,677
arabinóz		13,710	0,318	13,610	0,183	13,901	0,030	13,447	1,061
galaktóz		7,070	0,222	7,129	0,324	7,368	0,026	7,169	0,662
etanol		nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
sejttömeg		nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
xilóz	26 óra	1,485	0,051	4,784	1,391	3,914	0,012	7,062	0,059
arabinóz		13,475	0,477	11,545	2,169	12,515	0,361	13,927	0,278
galaktóz		5,147	0,115	4,122	0,985	nd	-	5,953	0,001
etanol		nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
sejttömeg		3,25	0,054	3,911	0,132	5,952	0,216	2,796	0,174
xilóz	30 óra	0,450	0,071	3,843	0,388	2,032	0,101	5,567	0,328
arabinóz		12,749	0,065	12,904	0,123	11,334	0,087	13,332	0,151
galaktóz		4,117	0,017	2,965	0,050	nd	-	4,707	0,320
etanol		nd	-	0,234	0,006	nd	-	nd	-
sejttömeg		3,43	0,057	5,584	0,15	6,257	0,216	4,249	0,276
xilóz	50 óra	nd	-	0,245	0,029	nd	-	nd	-
arabinóz		12,934	0,200	1,875	0,599	0,042	0,003	5,698	0,243
galaktóz		2,662	0,140	nd	-	nd	-	nd	-
etanol		nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
sejttömeg		4,656	0,060	12,128	0,515	10,908	0,012	10,722	0,276
xilóz	76 óra	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
arabinóz		13,445	0,665	0,013	0,018	0,043	0,003	0,073	0,001
galaktóz		2,703	0,268	0	0	0	0	0	0
etanol		nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
sejttömeg		4,648	0,072	14,187	0,12	11,696	0,192	10,603	1,57
xilóz	101 óra	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
arabinóz		13,552	0,135	nd	-	0,051	0,004	0	0
galaktóz		2,788	0,122	nd	-	0,133	0,001	0,107	0,000
etanol		nd	-	nd	-	nd	-	0,223	0
sejttömeg		4,991	0,066	14,475	0,12	12,264	0,06	13,06	0,515

7.10. táblázat: Biotisztítás a négy élesztőtörzzsel xilóz-, arabinóz- és galaktóztartalmú tápoldaton

		65 ml-es töltöttség, 1 g/l kiindulási sejtkoncentráció, 30 g/l kiindulási xilózkoncentráció, 125 rpm rázatás	
		átlag	szórás
xilóz	0 óra	30,376	0,277
xilit		nd	-
EtOH		nd	-
sejttömeg		0,739	0,041
xilóz	22,5 óra	22,032	0,034
xilit		4,1	0,130
EtOH		nd	-
sejttömeg		1,151	0,034
xilóz	46 óra	12,398	0,512
xilit		8,131	0,313
EtOH		1,398	0,130
sejttömeg		1,736	0,060
xilóz	50 óra	11,438	0,563
xilit		8,352	0,484
EtOH		1,566	0,110
sejttömeg		2,075	0,093
xilóz	70 óra	2,292	0,204
xilit		8,177	0,318
EtOH		2,661	0,092
sejttömeg		2,269	0,078
xilóz	113 óra	1,05	0,065
xilit		7,859	0,259
EtOH		1,868	0,141
sejttömeg		5,178	0,041

7.11.a táblázat: Xilitfermentáció *C. boidinii*-vel

		35 ml-es töltöttség, 1 g/l kiindulási sejtkoncentráció, 30 g/l kiindulási xilózkoncentráció, 125 rpm rázatás		50 ml-es töltöttség, 1 g/l kiindulási sejtkoncentráció, 30 g/l kiindulási xilózkoncentráció, 220 rpm rázatás	
		átlag	szórás	átlag	szórás
xilóz	0 óra	30,720	0,362	30,682	0,280
xilit		nd	-	nd	-
EtOH		nd	-	nd	-
sejttömeg		0,767	0,049	0,745	0,013
xilóz	26 óra	7,684	0,028	10,324	0,815
xilit		12,222	0,263	7,868	0,243
EtOH		0,450	0,003	0,758	0,088
sejttömeg		2,730	0,026	3,161	0,114
xilóz	48 óra	0,308	0,006	0,769	0,095
xilit		11,370	0,498	7,800	0,020
EtOH		1,578	0	1,525	0,304
sejttömeg		3,849	0,088	4,530	0,202
xilóz	67 óra	0,124	0,008	0,269	0,123
xilit		9,381	0,431	4,982	0,676
EtOH		0,330	0,020	4,257	5,624
sejttömeg		4,223	0,078	5,514	0,248
xilóz	76 óra	0,114	0,031	0,154	0,023
xilit		8,365	1,472	3,602	1,205
EtOH		nd	-	nd	-
sejttömeg		4,892	0,072	5,844	0,279
xilóz	98 óra	0,121	0,007	0,092	0,003
xilit		5,128	0,031	0,037	0,001
EtOH		nd	-	nd	-
sejttömeg		5,862	0,223	6,466	0,021

7.11.b táblázat: Xilitfermentáció *C. boidinii*-vel

		35 ml-es töltöttség, 1 g/l kiindulási sejtkoncentráció, 30 g/l kiindulási xilózkoncentráció, 220 rpm rázatás		65 ml-es töltöttség, 1 g/l kiindulási sejtkoncentráció, 30 g/l kiindulási xilózkoncentráció, 220 rpm rázatás		35 ml-es töltöttség, 5 g/l kiindulási sejtkoncentráció, 30 g/l kiindulási xilózkoncentráció, 125 rpm rázatás	
		átlag	szórás	átlag	szórás	átlag	szórás
xilóz	0 óra	36,186	0,354	27,308	0,226	25,416	1,493
xilit		0,084	0,000	0,084	0,000	0,094	0,003
EtOH		nd	-	nd	-	nd	-
sejttömeg		0,900	0,088	0,545	0,067	3,846	0,279
xilóz	24 óra	16,672	0,424	18,008	0,560	14,808	0,453
xilit		6,226	0,093	3,822	0,014	6,702	0,167
EtOH		0,682	0,054	0,010	0,008	0,008	0,011
sejttömeg		4,281	0,181	2,163	0,083	4,047	0,067
xilóz	47,5 óra	1,322	0,124	2,888	0,068	1,717	0,069
xilit		8,170	0,382	7,749	0,041	10,619	0,262
EtOH		1,900	0,585	2,808	0,170	1,764	0,065
sejttömeg		5,796	0,419	3,407	0,052	4,625	0,016
xilóz	66 óra	0,391	0,004	0,806	0,006	0,356	0,003
xilit		1,683	0,550	7,562	0,093	10,200	0,006
EtOH		0,632	0,501	1,986	0,421	0,884	0,122
sejttömeg		7,132	0,455	3,703	0,088	4,559	0,140
xilóz	74 óra	0,345	0,016	0,594	0,006	0,264	0,000
xilit		0,114	0,008	7,371	0,061	9,734	0,017
EtOH		nd	-	1,585	0,528	0,539	0,100
sejttömeg		8,617	0,155	3,970	0,031	4,764	0,129
xilóz	101 óra	0,193	0,001	0,050	0,006	nd	-
xilit		nd	-	3,904	0,518	3,473	1,410
EtOH		nd	-	0,34	0,480833	nd	-
sejttömeg		8,456	1,149	5,814	0,217	4,958	0,041

7.11.c táblázat:
Xilitfermentáció *C. boidinii*-vel

		1 g/l kiindulási sejtkoncentráció, 30 g/l kiindulási xilózkoncentráció, 125 rpm rázatás, pH 5		1 g/l kiindulási sejtkoncentráció, 30 g/l kiindulási xilózkoncentráció, 125 rpm rázatás, pH 7		1 g/l kiindulási sejtkoncentráció, 30 g/l kiindulási xilózkoncentráció, 125 rpm rázatás, 6,8 g/l MeOH		1 g/l kiindulási sejtkoncentráció, 30 g/l kiindulási xilózkoncentráció, 125 rpm rázatás, 8,8 g/l glicerin	
		átlag	szórás	átlag	szórás	átlag	szórás	átlag	szórás
xilóz	0 óra	29,466	0,291	33,114	0,110	30,382	0,625	30,564	1,573
xilit		nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
EtOH		nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
MeOH		-	-	-	-	6,796	1,301	nd	-
glicerin		-	-	-	-	0,048	0	8,080	3,140
sejttömeg		0,701	0,054	0,759	0,085	0,853	0,103	0,756	0,008
xilóz	23 óra	25,314	6,355	16,176	5,323	14,878	2,407	20,818	8,047
xilit		2,034	2,877	7,106	3,465	8,204	2,031	4,764	4,101
EtOH		nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
MeOH		-	-	-	-	4,270	1,095	0,152	0,215
glicerin		-	-	-	-	0,240	0,011	8,414	2,916
sejttömeg		1,826	0,000	2,064	0,274	2,075	0,580	2,027	0,316
xilóz	49 óra	3,881	0,929	1,385	0,058	2,222	1,171	3,000	1,321
xilit		11,474	0,656	12,579	1,274	14,642	1,706	12,886	0,085
EtOH		2,391	0,375	2,143	0,485	1,453	0,242	2,403	0,041
MeOH		-	-	-	-	6,373	1,342	0,239	0,001
glicerin		-	-	-	-	0,830	0,204	10,431	1,124
sejttömeg		3,191	0,171	3,864	0,016	3,483	0,098	3,176	0,098
xilóz	67 óra	0,579	0,103	0,691	0,352	0,793	0,536	0,857	0,378
xilit		10,817	1,000	10,507	0,001	13,242	0,687	11,894	0,008
EtOH		2,339	0,044	0,665	0,457	0,329	0,465	1,683	0,420
MeOH		-	-	-	-	5,039	0,361	0,167	0,236
glicerin		-	-	-	-	0,783	0,185	8,499	3,367
sejttömeg		3,326	0,103	3,952	0,067	3,685	0,052	3,271	0,026
xilóz	73 óra	0,534	0,062	0,715	0,253	0,770	0,416	0,841	0,313
xilit		10,516	1,315	9,714	0,192	12,870	0,608	11,455	0,479
EtOH		1,911	0,013	0,145	0,205	nd	-	1,289	0,610
MeOH		-	-	-	-	4,941	0,870	0,304	0,051
glicerin		-	-	-	-	0,712	0,068	8,769	3,155
sejttömeg		3,590	0,228	4,054	0,150	3,868	0,166	3,333	0,352
xilóz	96 óra	0,559	0,095	0,548	0,351	0,613	0,519	0,665	0,440
xilit		10,569	1,546	9,023	0,629	12,049	0,431	11,400	0,467
EtOH		1,503	0,016	nd	-	nd	-	0,795	0,731
MeOH		-	-	-	-	3,309	1,308	0,337	0,049
glicerin		-	-	-	-	0,565	0,160	8,914	2,910
sejttömeg		3,344	0,016	3,879	0,305	3,634	0,166	3,231	0,393

7.11.d

táblázat:

Xilitfermentáció

C.

boidinii-vél

		50 ml-es töltöttség, 1 g/l kiindulási sejtkoncentráció, 30 g/l kiindulási xilózkoncentráció, 125 rpm rázatás		35 ml-es töltöttség, 1 g/l kiindulási sejtkoncentráció, 75 g/l kiindulási xilózkoncentráció, 125 rpm rázatás	
		átlag	szórás	átlag	szórás
xilóz	0 óra	26,882	1,773	67,612	1,844
xilit		nd	-	nd	-
EtOH		nd	-	nd	-
sejttömeg		0,995	0,129	0,955	0,093
xilóz	19 óra	17,430	0,054	56,752	5,102
xilit		5,908	0,085	6,868	0,017
EtOH		0,264	0,011	0,200	0,011
sejttömeg		1,738	0,067	1,477	0,008
xilóz	41 óra	1,867	0,013	23,201	1,517
xilit		7,784	0,320	13,327	2,103
EtOH		1,375	0,148	1,066	0,288
sejttömeg		2,534	0,251	2,602	0,326
xilóz	47,5 óra	1,520	0,020	31,027	3,526
xilit		11,786	0,594	23,287	2,638
EtOH		2,489	0,007	2,547	0,429
sejttömeg		2,547	0,078	2,649	0,021
xilóz	72,5 óra	0,165	0,013	15,813	3,545
xilit		10,729	0,624	25,858	1,988
EtOH		1,549	0,233	5,937	0,669
sejttömeg		3,194	0,166	3,699	0,124
xilóz	92 óra	0,050	0,014	9,001	2,510
xilit		10,411	0,576	25,897	2,154
EtOH		0,782	0,153	6,831	0,264
sejttömeg		3,553	0,166	4,014	0,248

7.11.e táblázat:
Xilitfermentáció *C. boidinii*-
vel

		50 ml-es töltöttség, 5 g/l kiindulási sejtkoncentráció, 30 g/l kiindulási xilózkoncentráció, 125 rpm rázatás		50 ml-es töltöttség, 5 g/l kiindulási sejtkoncentráció, 75 g/l kiindulási xilózkoncentráció, 125 rpm rázatás		5 g/l kiindulási sejtkoncentráció, 75 g/l kiindulási xilózkoncentráció, 125 rpm rázatás, 7,7 g/l MeOH	
		átlag	szórás	átlag	szórás	átlag	szórás
xilóz	0 óra	27,146	0,438	64,146	2,956	64,800	1,222
xilit		0,130	0,008	nd	-	0,204	0,023
EtOH		nd	-	nd	-	nd	-
MeOH		-	-	-	-	7,774	0,071
glicerín		-	-	-	-	1,536	0
sejttömeg		5,131	0,048	4,838	0,006	4,872	0,018
xilóz	21 óra	3,792	0,673	32,612	3,473	34,480	3,592
xilit		16,590	1,587	27,846	0,150	25,110	2,452
EtOH		0,382	0,127	0,628	0,192	0,560	0,091
MeOH		-	-	-	-	6,816	0,226
glicerín		-	-	-	-	1,702	0,048
sejttömeg		5,444	0,132	5,131	0,312	4,999	0,018
xilóz	45 óra	0,226	0,127	12,377	1,155	15,159	1,698
xilit		16,964	0,577	37,126	0,006	37,294	2,475
EtOH		0,709	0,103	2,597	0,485	1,687	0,525
MeOH		-	-	-	-	6,356	0,554
glicerín		-	-	-	-	1,588	0,368
sejttömeg		5,889	0,341	5,131	0,120	5,558	0,222
xilóz	50 óra	0,251	0,038	10,890	0,854	13,787	2,258
xilit		17,698	0,164	39,353	2,281	38,994	0,204
EtOH		0,756	0,082	3,129	0,530	1,959	0,711
MeOH		-	-	-	-	6,217	0,830
glicerín		-	-	-	-	1,695	0,349
sejttömeg		5,652	0,557	5,618	0,114	5,266	0,455
xilóz	69 óra	0,178	0,037	3,543	0,595	6,616	1,785
xilit		15,724	0,854	40,425	2,473	41,306	1,179
EtOH		0,186	0,025	4,957	0,655	3,348	0,518
MeOH		-	-	-	-	5,834	0,119
glicerín		-	-	-	-	1,932	0,317
sejttömeg		6,122	0,491	5,677	0,006	5,724	0,168
xilóz	91,5 óra	0,201	0,010	0,905	0,083	2,111	0,873
xilit		14,245	0,638	39,324	1,813	40,642	2,492
EtOH		nd	-	4,957	0,655	3,918	0,515
MeOH		-	-	-	-	5,348	0,354
glicerín		-	-	-	-	1,914	0,212
sejttömeg		6,397	0,234	5,834	0,096	5,757	0,168

7.11.f táblázat: Xilitfermentáció C.
boidinii-vel

7.12. táblázat: Hemicellulóz-hidrolizátum biotisztítása *C.boidinii*-vel

		só hozzáadása nélkül		só hozzáadásával	
		átlag	szórás	átlag	szórás
glükóz	0 óra	6,155	0,048	14,827	0,193
xilóz		9,969	0,104	10,245	0,106
arabinóz		9,964	0,101	10,219	0,106
EtOH		0,245	0,011	0,249	0,005
sejttömeg		0,417	0,028	0,655	0,039
glükóz	24 óra	nd	-	0,209	0,011
xilóz		2,644	0,213	2,618	0,108
arabinóz		10,245	0,056	10,418	0,008
EtOH		0,245	0,011	0,249	0,005
sejttömeg		5,470	0,348	3,877	0,208
glükóz	44 óra	0,125	0,006	0,438	0,200
xilóz		1,137	0,044	1,645	0,033
arabinóz		9,642	0,315	11,043	0,418
EtOH		nd	-	nd	-
sejttömeg		6,009	0,181	5,004	0,165
glükóz	48 óra	0,129	0,010	0,000	0,059
xilóz		1,180	0,047	1,569	0,015
arabinóz		9,676	0,265	10,341	0,067
EtOH		nd	-	nd	-
sejttömeg		5,995	0,152	5,014	0,218
glükóz	69 óra	0,142	0,012	0,000	0,118
xilóz		1,273	0,061	1,612	0,032
arabinóz		9,979	0,471	10,339	0,181
EtOH		nd	-	nd	-
sejttömeg		6,366	0,462	5,053	0,197
glükóz	93 óra	0,149	0,006	0,000	0,285
xilóz		1,374	0,023	1,683	0,043
arabinóz		10,155	0,313	10,603	0,328
EtOH		nd	-	nd	-
sejttömeg		6,766	0,158	5,814	0,219