

SZAKDOLGOZAT

Elek Vanda Szakdolgozat

Elek Vanda

2023



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
Biomérnök és Erjedéssipari Technológia Tanszék

**Ultrahangos kezelés hatása a kukoricacsutka őrlemény
enzimes bonthatóságára**

Szakdolgozat

Elek Vanda
Biomérnök BSc

Budapest
2023

**Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet**

Szak neve: BSc Biomérnöki

Modul neve: Alkalmazott biotechnológiai

Modul szerinti tanszék: Biomérnök és Erjedésipari Technológia Tanszék


Szakedolgozat készítés helye: Biomérnök és Erjedésipari Technológia Tanszék


Hallgató: **Elek Vanda**


A szakedolgozat címe: **Ultrahangos kezelés hatása a kukoricacsutka őrlemény
enzimes bonthatóságára**

Konzulens: Dr. Kohári-Farkas Csilla, egyetemi adjunktus

Beadás dátuma: 2023. április 28.


szakedolgozat készítés helyének vezetője
Dr. Nguyen Duc Quang


konzulens
Dr. Kohári-Farkas Csilla


Dr. Nguyen Duc Quang
modul szerinti tanszék vezetője

TARTALOMJEGYZÉK

1	BEVEZETÉS	6
2	CÉLKITŰZÉS	7
3	IRODALMI ÁTTEKINTÉS	8
3.1	Hazai adatok a kukoricatermesztésről és maradványairól	8
3.2	A kukoricacsutka	9
	3.2.1 <i>A kukoricacsutka általános jellemzése és összetétele</i>	9
	3.2.2 <i>A kukoricacsutka hasznosítási lehetőségei</i>	10
3.3	Cellulóz alapú etanol előállítás technológiája	12
	3.3.1 <i>Előkezelési technikák lehetőségei</i>	14
	3.3.1.1 Az ultrahang növényi szerkezetre kifejtett hatása	15
4	ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	19
4.1	Felhasznált anyagok	19
	4.1.1 <i>Kukoricacsutka</i>	19
	4.1.2 <i>Oldatok és pufferek</i>	19
	4.1.3 <i>Enzimmészítmények</i>	20
	4.1.4 <i>Etanologén élesztő</i>	20
4.2	Alkalmazott módszerek	21
	4.2.1 <i>Ultrahangos kezelés és enzimes hidrolízis</i>	21
	4.2.2 <i>Etanolfermentáció</i>	23
	4.2.3 <i>Szénhidráttartalom mérés</i>	24
	4.2.3.1 Redukáló cukortartalom meghatározás	24
	4.2.3.2 HPLC technika	25
5	KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSEK	27
5.1	Ultrahangos kezelés vizes és pufferelt rendszerben	27
5.2	Szerves oldószeres lignin extrakció hatása az enzimes bonthatóságra	32
5.3	Poliszorbát enzimvédő hatásának vizsgálata	34
5.4	Szeparált és szimultán ultrahangos kezelés összehasonlítása	36
	5.4.1 <i>Szeparált ultrahangos kezelés</i>	37
	5.4.2 <i>Szimultán ultrahangos kezelés</i>	38
5.5	Etanolfermentáció modellezése	40
6	ÖSSZEFOGLALÁS	42

7 HIVATKOZÁSOK	44
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	47

Elek Vanda Szakdolgozat

1 BEVEZETÉS

A közlekedési ágazat az elmúlt évtizedekben jelentős növekedésen ment keresztül és várhatóan továbbra is gyorsan bővül. Ez súlyosbítja a közlekedési problémákat, továbbá az üzemanyagok keresletét is megnöveli (Kengyel, 2010). Becslések alapján a kinyert kőolajnak 50%-át a közlekedési ágazat hasznosítja üzemanyag előállításra. A közlekedési környezetszennyezés csökkentésére számos kutatás indult, köztük a bioüzemanyag technológiák fejlesztése és alkalmazása igen fontos szerepet kapott. A növényi biomassza, mint megújuló erőforrás energetikai hasznosítása jelentős és még kiaknázatlan potenciállal rendelkezik. Jelenleg a bioüzemanyagok 80%-át a bioetanol teszi ki, amelyből 2015-ben 96 milliárd litert gyártottak és előreláthatólag 2025-re 128 milliárd literre is nőhet (Popp & Bai, 2018). A világ vezető bioetanol előállítója Brazília és az USA, ahol szacharózban (cukornád) és keményítőben (kukorica) gazdag mezőgazdasági növényeket hasznosítanak. Az elsőgenerációs bioetanol alapanyag készlete elsősorban humán ételmezési és takarmányozási célokat szolgálnak, ezért etikai kérdéseket vet fel energetikai levezetése. A technológia ugyan rendelkezésre áll, azonban a kutatások intenzíven az újabb generációs etanolfermentációs technikák kivitelezésre irányulnak (Mizik, 2018). A másodgenerációs bioetanol előállításánál a nyersanyag cellulózban gazdag növényi maradvány, amely a mezőgazdasági, az erdészeti és egyéb agro-ipari tevékenységből származhat. A magas energiatartalomnak köszönhetően energetikai célokra kedvezően hasznosíthatók, ami egyben hulladékkezelésnek is tekinthető. A harmadikgenerációs etanol előállítás mikroalgák intracelluláris poliszacharid (keményítő) tartalmára, valamint energianövényekre építik a technológiát (Balla, 2013). Az innovatív technológiák igen fontos szerepet töltenek be a fenntartható gazdaság és szervezésében. A már meglévő energetikai termékek környezetbarátabb alternatívákra történő (részbeni) kiváltása jelentősen csökkentheti a környezetre ható káros anyagok kibocsátását, valamint segíti a hulladékgazdálkodást. (Némethy, 2018). Az újgenerációs bioetanol előállítási technológiák ugyan számos előnnyel rendelkeznek, azonban az elképzelésekkel szemben a technológiák még mérnöki kihívásokkal néznek szembe. A kutatómunkám a másodgenerációs etanolfermentáció folyamatának fejlesztésére, a növényi rost akusztikus kezelésére és az előkezelt növényi minták enzimes bonthatóságának tanulmányozására irányult. A hazai agro-ipari tevékenységek során a gabonafélék körében nagyobb mennyiségben kukoricát termesztene, ezért kísérleteim modell szubsztrátumaként a betakarítást követően visszamaradt kukoricacsutkát hasznosítottam.

2 CÉLKITŰZÉS

Évente nagy mennyiségben keletkeznek mezőgazdasági növényi maradványok, amelyek a magas energiatartalmuknak köszönhetően alternatív motorhajtóanyag előállítás értékes alapanyagaiként szolgálhatnak. A világszerte ismert és elterjedt bioetanol másodgenerációs technológiájának fejlesztése azonban számos kihívással állítja szembe a kutatókat. A technológia során szükséges az összetett és ellenálló lignocellulóz mátrix megbontása és a szénhidrát polimerek (cellulóz és hemicellulóz) hidrolízise, az erjeszhető cukrok megfelelő szinten történő biztosítása érdekében. Kísérleteim a kukoricacsutka előkezelésének, ezen belül is az ultrahang hatásának tanulmányozására irányult. Főbb célom, hogy az ultrahangos kezelés néhány paraméterének optimalása által minél kedvezőbb szénhidrát hozamot érjek el.

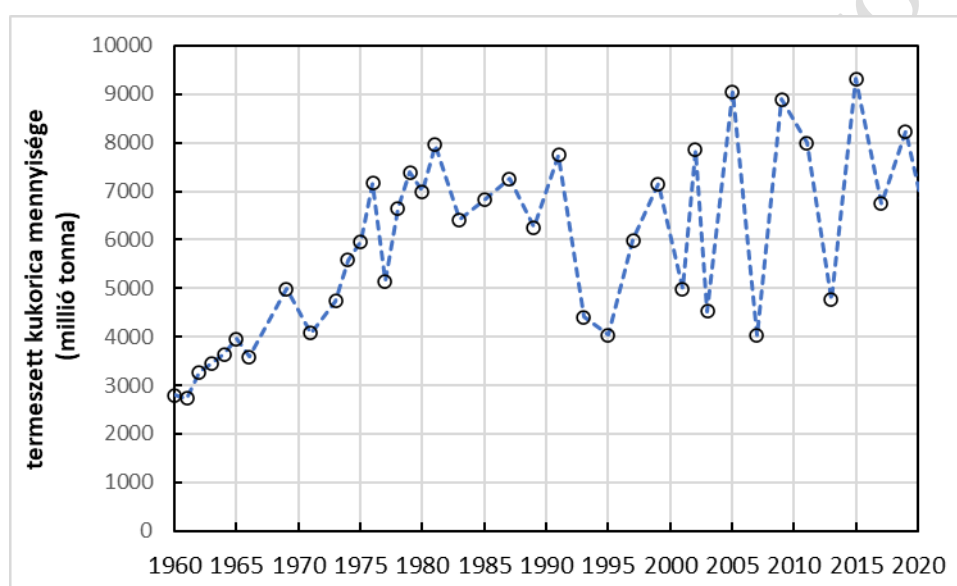
A szakdolgozatomban az alábbi részfeladatokat tervezem:

1. Ultrahangos kezelés közegének, időtartamának, valamint a kukoricacsutka őrlemény és a közeg arányának vizsgálata. A technológiai tényezők hatásának rangsorolása az enzimes hidrolízis szénhidrát tartalom értékei alapján.
2. A poliszorbát adagolás enzimvédő hatásának feltérképezése
3. A szeparált és szimultán ultrahangos kezelés és enzimes hidrolízis szénhidrát profiljának összehasonlítása
4. Etanolfermentáció modellezése léptéknövelt ultrahangos kezelés és enzimes hidrolízis során nyert kukoricacsutka hidrolizátumokban

3 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1 Hazai adatok a kukoricatermesztésről és maradványairól

Hazánk területének ma már több mint a felén (55 %-án) mezőgazdasági tevékenységeket végeznek, ami mintegy 5 millió hektárnyi területet jelent. A mezőgazdasági területek nagyobb része szántóterület (82 %), ami mellett gyepként (15 %), valamint szőlő- és gyümölcsstermesztésre hasznosított területek is vannak. Az élelmezési és takarmányozási célra termesztett kultúrnövények körében meghatározó szerepet töltenek be a gabonafélék, azon belül is az árpa, a búza és a kukorica (Internet 1).



1. ábra A kukorica termésmennyiségének alakulása Magyarországon (1960-2020) (Internet 2)

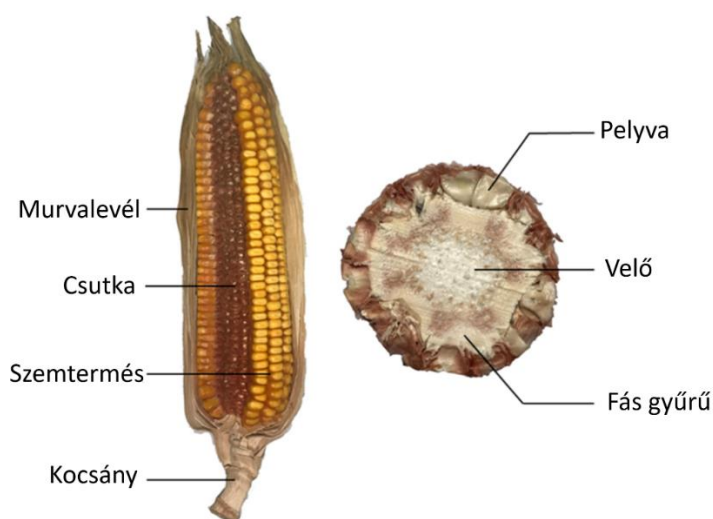
A gabonafélék körében nagyobb mennyiségben kukoricát tesztenek. A vetésterülete az elmúlt években 1,1-1,2 millió hektárra terjedt ki. A népességszám emelkedése, valamint ennek hozományaként az élelmiszerek és takarmányok iránti nagyobb kereslet a kukoricatermesztésbe bevont szántóföldek területét és a termesztett kukorica mennyiségét is növelte. A betakarított kukorica mennyiségére azonban jelentős hatást fejtenek ki az időjárási viszonyosságok (aszályok) (**1. ábra**) (Internet 3).

A kukorica betakarítása során igen nagy mennyiségben maradnak vissza gyökér és szármagadványok a vetésterületeken. A felmérések alapján 1 hektárnyi termőterületen – a kukorica fajtájától és termesztés hatékonyságától, hozamától függően – a visszamaradt kukoricacsutka mennyisége akár az 5 tonnát is elérheti, amely a szemtermésnek 50-60 %-át teszi ki (Internet 4).

3.2 A kukoricacsutka

3.2.1 A kukoricacsutka általános jellemzése és összetétele

A növényi sejtek igen összetett szerkezetűek, amelynek három fő polimer alkotója a cellulóz, a hemicellulóz és a lignin. A kukoricacsutka esetében a lignocellulóz struktúrát 38-50%-ban a cellulóz, 17-32 %-ban a hemicellulóz, 15-30 %-ban pedig a lignin teszi ki, amelyen kívül még kisebb mennyiségben egyéb komponensek, mint fehérjék, olajok, mikro- és makroelemek találhatóak (Internet 5).



2. ábra A kukorica és a kukoricacsutka felépítése (Zou *et al.*, 2021)

A cellulóz a magasabb rendű növények vázanyagának szerepét tölti be. Az elágazás nélküli hosszú cellulóz láncokat 100-15000 D-glükóz egység alkotja, amelyek β -1,4-glikozidos kötésekkel kapcsolódnak össze. A glükóz homopolimerek másodlagos kötőerőkkel (hidrogén-hidakkal, valamint van der Waals kötésekkel) hosszú, párhuzamos szálakból álló köteget, mikrofibrillumokat alkotnak. A mikrofibrillumok a továbbiakban rendezett, parakristályos szerkezetű rostokat hoznak létre. A kötőerők hatásaként a cellulóz rostokat nagyfokú rendezettség jellemzi. A cellulóz rostok vízben oldhatatlanok, mindemellett pedig a környezeti hatásokkal szemben igen nagy ellenállóságot mutatnak (Harmsen *et al.*, 2010). A cellulóz rostok ugyan nagyrészt kristályos szerkezetűek, azonban kisebb arányban rendezetlen, amorf régiók is találhatóak. A kristályrács szerkezet többféle is lehet (I.-IV. típus), viszont a természetben ezekből csak az I. típus fordul elő. A cellulóz rostok a hemicellulózok és az aromás lignin vegyületek hálózatába ágyazott formában vannak jelen (O'Sullivan, 1997).

A hemicellulózok heterogén poliszacharidok, amelyek cellulóz polimerrel szemben kisebb lánchosszal rendelkeznek, azonban igen változatos láncokat alkotnak a fő vázról elágazó oldalláncoknak köszönhetően. A hemicellulózok oldalláncain különböző cukrok (5- és 6-szénatomos cukrok), valamint cukorszármazékok találhatók. A főbb alkotóelemeik között említhető az L-arabinóz, D-galaktóz, D-glükóz, D-glükuronsav, D-mannóz és D-xilóz, de ezen kívül az oldalláncok L-fukózt, L-rhamnózt és L-galaktózt is tartalmazhatnak (Benkő, 2008). A hemicellulózok könnyebben hidrolizálhatók savas környezetben, hiszen kevésbé kristályos szerkezetűek, valamint nem alkotnak kötegeket, tömör rostokat, ezáltal az enzimek számára könnyebben hozzáférhetőek (Horn *et al.*, 2012). A hemicellulózok a cellulóz láncokat beburkolva védik, mindemellett pedig összeköttetést biztosítanak a cellulóz láncok és az aromás lignin régiók között (Ebringerová *et al.* 2005). A természetben nagyobb mennyiségben előforduló heterogén poliszacharid a xilán, a mannán, a glükomannán, az arabinoxilán, a xiloglükán, az arabinogalaktán, valamint a galaktoglükomannán (Yi & Zhang, 2012).

Az aromás lignin vegyületek szintén heterogén polimerek, amelyek fenilpropán egységek kovalens kötésekkel történő kapcsolódásával jönnek létre. Az alkotóelemeik három fő csoportba: p-hidroxifenil, guaiacil és a sziringil alkoholok közé tartoznak (Weng *et al.* 2008). Az aromás lignin fő feladata a növényi sejtfal erősítése, szilárdítása, valamint a védelem biztosítása, azáltal, hogy a cellulóz és a hemicellulózok közötti teret kitölti (Internet 5).

3.2.2 A kukoricacsutka hasznosítási lehetőségei

A szénhidrátokban gazdag kukoricacsutka számos ipari ágazatnak biztosíthat potenciális alapanyagforrást. Napjainkban jellemzően hagyományos úton, elsősorban visszaforgatással és komposztálással szerves talajjavítóként, tüzelőanyagként, valamint őrlemény formájában töltőanyagként, alomként, továbbá szigetelésre és csúszásmentesítésre, sőt a savas hidrolízist követően vegyipari termékek (furfurol, furfurilalkohol) előállítására is hasznosítják (Internet 6).

A kukoricacsutka termőföldbe történő visszaforgatása a szervesanyag-tartalom növekedése miatt javítja a talaj szerkezetét, valamint segíti a tápanyag és vízellátást. A műtrágyázással járó költségek, valamint annak környezetre gyakorolt káros hatása is ezáltal visszaszorítható. A rostok lebomlása azonban igen lassú folyamat. A mikrobiális tarlóbontó

készítmények fejlesztése és alkalmazása a cellulóz és hemicellulóz frakciók lebomlási időtartamát lényegesen csökkenti (Internet 7).

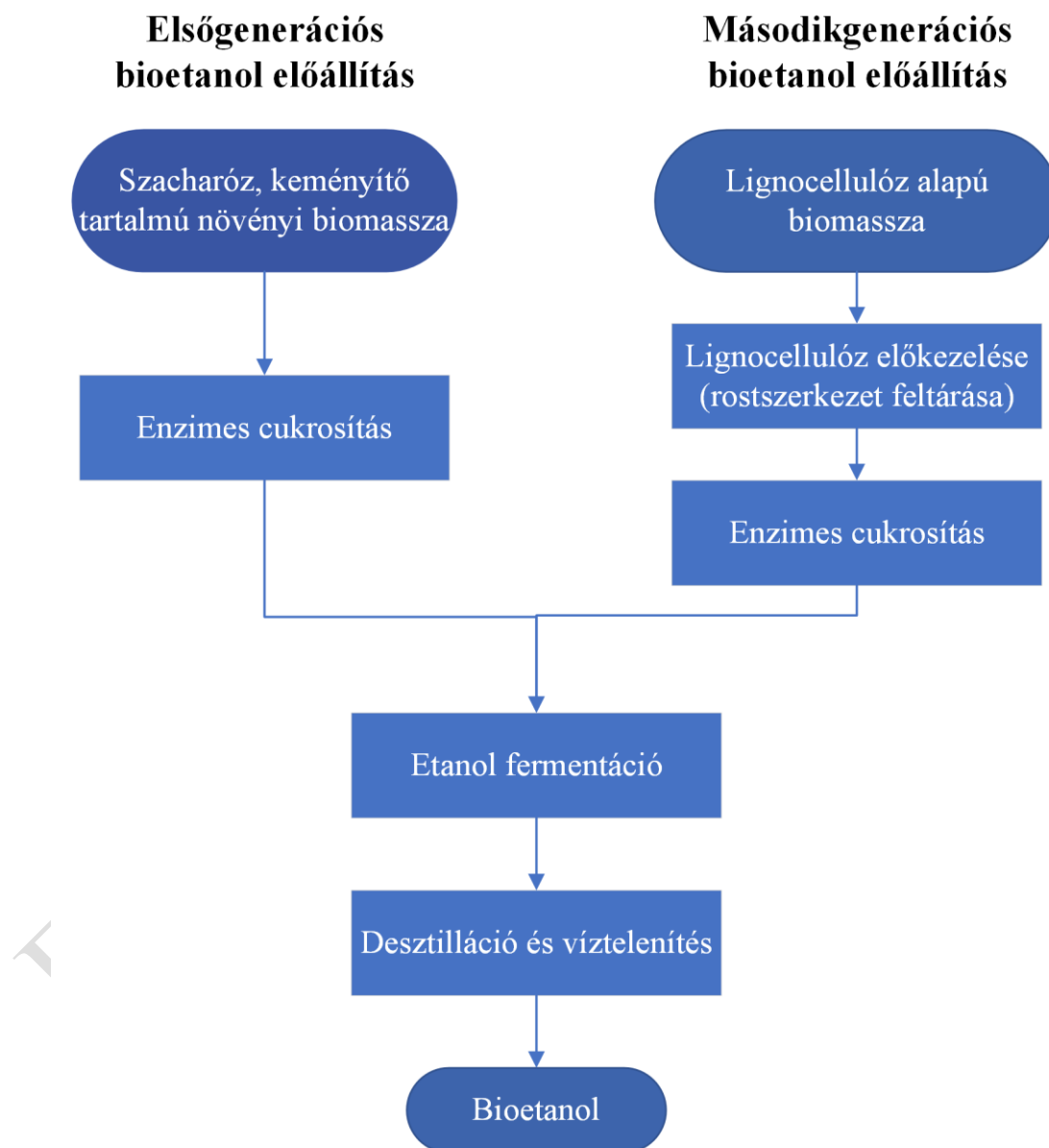
A cellulózban gazdag növényi maradványok energetikai célú hasznosítása igen aktuális és intenzíven kutatott területté vált a hosszabb távon fenntartható és környezettudatos energetikai termékek biztosítása érdekében. A kukoricacsutka elemi összetételét tekintve, a szén, az oxigén és a hidrogén aránya a közvetlen elégetéssel történő energiatermelés szempontjából igen kedvező. A légszáraz kukoricacsutka fűtőértéke 15–16 MJ/kg, a hamutartalma pedig csupán a szárazanyag-tartalom 1,5 %-át teszi ki. A hazánkban évente keletkezett kukoricacsutka fűtőértéke eléri a 60 PJ-t. A kukoricacsutka zárt térben történő elgázosítása körülbelül 1,92 millió m³ földgáz kiváltására is alkalmas lehetne (Internet 4).

Az újszerű hasznosítási lehetőségek körében a kukoricacsutka alkalmas fermentációs rendszerek szénforrásaként számos mikrobiális termék: biokatalizátorok (enzimek és egész sejtes rendszerek), egysejtfehérjék (SCP), szerves savak, energetikai termékek (biodízel, bioetanol, biohidrogén stb.), prebiotikus hatású xilo-oligoszacharidok (XOS), bioaktív vegyületek stb. előállításához.

Ma már számos technológia áll rendelkezésre a növényi biomassza energetikai hasznosítására, aminek köszönhetően az elsőgenerációs energetikai termékek, elsősorban a bioetanol és a biodízel világszerte ismert és elterjedt gépjármű-üzemanyagává vált (Balla, 2013). A cellulózban gazdag növényi maradványok energetikai hasznosításának egyre jelentősebb szerepe van a fenntartható energiagazdálkodásban. A másodgenerációs növényi biomassza energetikai hasznosítása nem von el élelmiszercélú, mezőgazdasági kultúrnövényeket, továbbá a növényi maradványok egészben (nem csupán a termés) hasznosulásra kerülnek. Az energetikai hasznosítás során szintén szilárd, cseppfolyós és gáz halmazállapotú termékek állíthatók elő. Ezen termékek alkalmasak lehetnek a fosszilis energiahordozók, valamint az elsőgenerációs növényi biomassza-alapú energetikai termékek részbeni vagy akár teljes kiváltására. A heterogén és igen összetett szerkezet miatt a gazdaságos energetikai technológiák kivitelezése még további kutatásokat és fejlesztéseket igényel.

3.3 Cellulóz alapú etanol előállítás technológiája

Az etanol tiszta, színtelen, jellegzetes szagú és ízű, egyértékű, telített alkohol. A molekulaszervezete miatt másodrendű hidrogénkötés kialakítására képesek, ezért forráspontja igen magas, 78 °C. Az olvadáspontja - 114 °C. Az iparban számos területen alkalmazzák, többek között oldószerként, tartósítószerként és fertőtlenítőszerként is. A természetben számos szervezet termeli a cukrok hasznosítása, fermentálása során (Internet8).



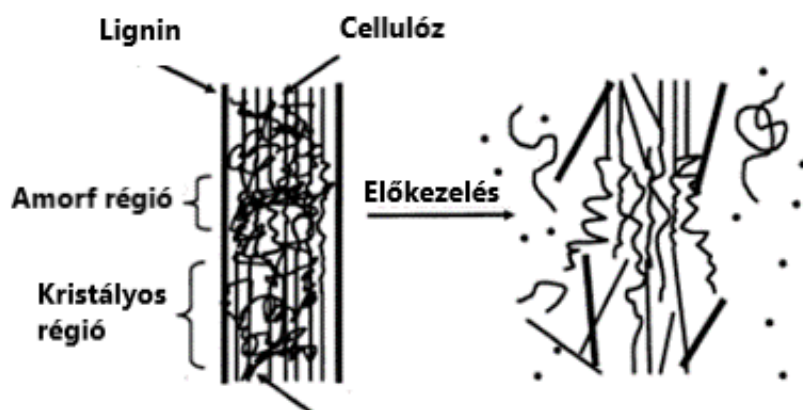
3. ábra Első- és másodgenerációs bioetanol előállítás technológia lépéseinek szemléltetése (saját szerkesztésű ábra)

Az iparban a bioetanol előállítására elterjedten elsőgenerációs technológiát alkalmaznak, ahol az alapanyag erjeszhető cukrokban, vagy keményítőben gazdag növényi biomassza. Az alapanyag előkészítését és szükség szerint enzimes hidrolízisét követően az erjeszhető cukrok etanollá konvertálása etanologén szervezettel, jellemzően *Saccharomyces cerevisiae* élesztővel megy végbe. A cellulózban gazdag növényi maradványok etanol célú hasznosításának folyamata szintén az ipari szesz gyártásához hasonló műveletekből áll, azonban a rendszer teljesítményét nagymértékben meghatározza az összetett növényi szerkezet előkezelésének módja. A rostbontás során az összetett növényi szerkezet részbeni, vagy akár teljes feltárására, lazítására kerül sor, amelynek hatására az értékes szénhidrát polimerek: a cellulóz és hemicellulózok elérhetőbbé válnak az enzimek számára (Harmsen *et al.*, 2010). A jól megválasztott előkezelés a szénhidrátok hozzáférhetőséget, ezáltal az enzimes hidrolízis hatékonyságát, az erjeszhető cukrok (glükóz, xilóz) mennyiségét és az erjesztés során elérhető etanolhozamot növeli. Az erjesztést követően az etanol desztillálása, végezetül víztelenítése következik (**3. ábra**) (Lin & Tanaka, 2006).

A fermentáció során az oldatba vitt erjeszhető cukrok: a hexózok és a pentózok etanollá történő átalakulása következik be szén-dioxid képződés mellett, anaerob körülmények között. Az elterjedten etanoltermelő szervezetek többnyire az élesztőgombák közül kerülnek ki, azon belül is a *Saccharomyces cerevisiae* élesztőfaj a hexózokat igen hatékonyan képes erjeszteni. A *Candida* és a *Pichia* élesztő nemzetség egyes fajainál már ismert, hogy az *S. cerevisiae* élesztőkkel szemben a hexózokon túl a pentózokat is tudják hasznosítani (Lin & Tanaka, 2006). Az ipari léptékű etanolos fermentáció egyik lehetősége a szeparált cukrosítás és erjesztés (ShF), a másik pedig a szimultán cukrosítás és erjesztés (SSF) (Gupta *et al.*, 2009). Az utóbbi esetén az enzimes cukrosítás és az etanol fermentáció már egyidőben veszi kezdetét, aminek köszönhetően elkerülhető a cukrosítás során fellépő termékgátlás (glükóz). Az előnyös tulajdonságok ellenére nehéz a kivitelezése, ugyanis az enzimnek magasabb a hőmérséklet optimuma (40-60 °C), mint az erjesztésnek (25-30 °C) (Lin *et al.*, 2012). Mind a két technológiai irányvonal esetében a biokatalizátorok (enzimek, sejtek) immobilizálására is sor kerülhet, amely során valamilyen szilárd hordozóhoz/hordozóba rögzülnek, ezáltal a rendszer stabilitása növelhető és akár hosszabb távon üzemelő folytonos technológia alakítható ki (Wirawan *et al.*, 2012).

3.3.1 Előkezelési technikák lehetőségei

Az előkezelés nélkülözhetetlen és egyben kulcsfontosságú eleme a másodgenerációs etanolfermentáció technológiai folyamatának. Az előkezelés történhet fizikai, kémiai, fiziko-kémiai, biológiai és kombinált technikákkal. Az alábbi **4. ábra** a rostbontás mechanizmusát, a növényi szerkezetben bekövetkező változást szemlélteti.



4. ábra Az előkezelés hatása a lignocellulóz szerkezetre (Harmsen *et al.*, 2010)

A növényi maradványok heterogén szerkezetéből adódóan nem létezik olyan előkezelési mód, amely minden esetben egységes rostbontási hatékonyságot eredményezne. A megfelelő előkezelés kiválasztása több szempontból történik. Nagyon fontos, hogy a költséget alacsony szinten tartsuk, kerülni kell a drága anyagok nagymértékű használatát, mint például oldószerek, katalizátorok, reagensek. Az eljárás teljesítményével szemben állított követelmények pedig, hogy a további technológiai lépésben az enzimek számára jól támadható felületet biztosítson és ezáltal kedvező cukorhozamot eredményezzen. A hatásos előkezelés érdekében szükséges az alapanyag természetének, szerkezeti tulajdonságainak ismerete (Bhutto *et al.*, 2017).

A fizikai úton történő előkezelések során a mechanikai roncsolás hatásaként a szemcsék mérete csökken, a fajlagos-felület nő, a sejteknél pedig az eljárástól függően tapasztalható szerkezeti változás, roncsolás. A fizikai előkezelések során különböző technikákat, mint például aprítást és őrlést, pirolízist, besugárzásos technikákat (gamma-, mikrohullámú- és infra sugárzás, ultrahangos kezelés) alkalmazhatnak. A fizikai előkezelések előnye, hogy nem okoznak melléktermék képződést. A besugárzásos technikák a lignin eltávolítására is alkalmazhatóak. A fizikai előkezelések hatékonyságának javítása érdekében gyakran kémiai és biológiai módszerekkel azokat együttesen alkalmazzák (Mankar *et al.*, 2021).

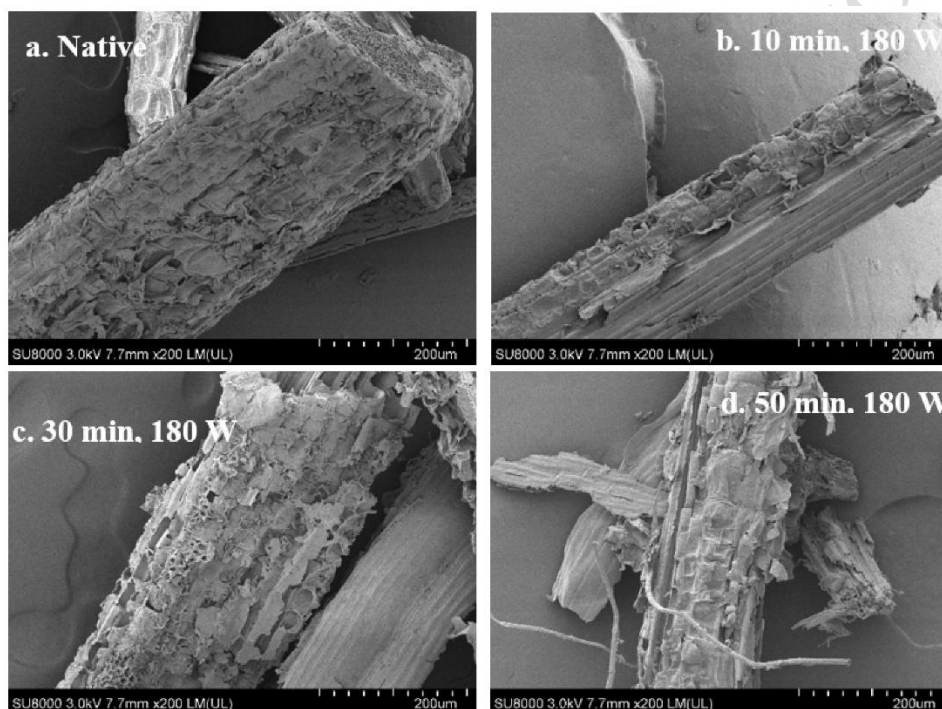
Az előkezelési eljárások körében a fiziko-kémiai eljárások terjedtek el előnyös tulajdonságaiknak köszönhetően. Ezek között a gőzrobbantás és változatai (mint ammóniaszálas gőzrobbantás) már széleskörűen ismertek. A gőzrobbantás során egy szakaszos vagy folyamatos üzemű reaktorba nagynyomású telített gőzt juttatnak, amely a hőmérséklet növekedését eredményezi. A nyomás hirtelen csökkentése a növényi sejtek szerkezetében változást okoz, a robbanásszerű dekompresszió hatására a sejtek roncsolása következik be (Harmsen *et al.*, 2010).

A biológiai előkezelési módszer során az alkalmazott biokatalizátor lehet kereskedelmi forgalomban kapható enzimek készítmény, valamint maga az enzimet termelő szervezet, a mikroorganizmus. Ezek többnyire barna-, fehér-, és lágyrothadást okozó gombák, de a baktériumok körében is vannak kedvező cellulóz, hemicellulóz és lignin-bontó aktivitással rendelkező fajok. A lignin eltávolításban kiemelt szerepe van a fehérrothadást okozó gombáknak (pl. *Ceriporiopsis subvermisporea*, *Trametes versicolor*), amelyek oxidáz enzimeket, mint lignin-peroxidázt, mangán-peroxidázt és lakkázt termelnek. Egyes fajok (pl. *Phanerochaete chrysosporium*) egyidejűleg képesek bontani a lignint, hemicellulózt és cellulózt (Ma *et al.*, 2022). Kedvezőbb cellulóz- és hemicellulóz-bontó aktivitást inkább a barna rothadást okozó gombák (pl. *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*), valamint a lágyrothadást okozó gombák (pl. *Trichoderma reesei*) körében írtak le. A biológiai előkezelésnek az előnye, hogy energiaigénye igen alacsony, továbbá elhanyagolható a vegyszerek használata, ezáltal lényegesen kíméletesebb és környezetbarátabb szerkezetbontást tesz lehetővé. Hátránya viszont, hogy a biodegradáció folyamata igen lassú, akár napokig is eltarthat. Mindemelllett a mikroorganizmusok az oldatba vitt szénhidrátok egy részét anyagcserefolyamataik fenntartásához hasznosítják, ami a cukor- és etanolhozamra kedvezőtlenül hat (Costa Sousa *et al.*, 2009).

3.3.1.1 Az ultrahang növényi szerkezetre kifejtett hatása

Az ultrahang az emberi hallás határán kívül esik és frekvencia tartománya 20 kHz-től 10 MHz-ig terjed. Az ultrahang tartomány két csoportba: az alacsony frekvenciás és nagy intenzitású (20-100 kHz) és a magas frekvenciás és kisebb intenzitású (100-10 MHz) sávba esik (Dolatowski *et al.* 2007). Az ultrahanggal besugárzott anyagokban igen összetett folyamatok mennek végbe, amelyek az akusztikus hullámok energiájának hatásán alapulnak (Tarján, 1971). Az ultrahang a folyadéktérben periodikus gyors nyomásváltozásokat, ezáltal pedig kavitációt hoz létre. Az ultrahang terjedésével az alacsony nyomású szakaszban

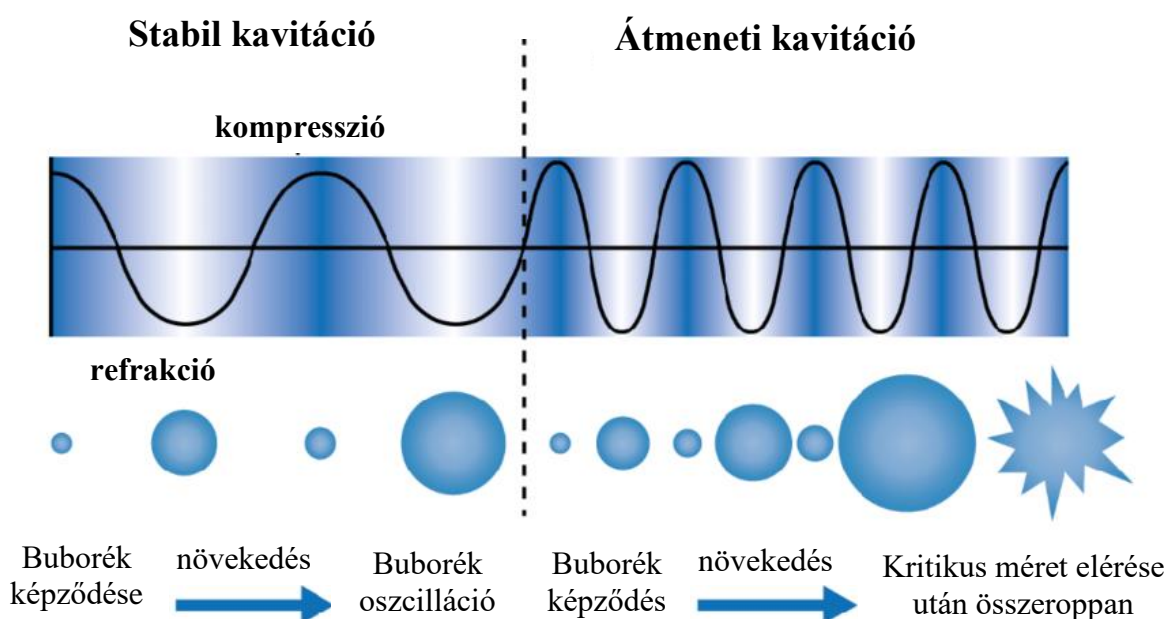
kavitációs üregek, buborékok alakulnak ki. A buborékok mérete addig nő, amíg az üregszerkezet instabillá nem válik, ennek hatásaként pedig hirtelen, nagy sebességgel összeroppannak. A mikro-roppanások során nagy energia és hő szabadul fel, amely a növényi sejtek roncsolását idézi elő (Jenkins *et al.*, 2014). Olughu és munkatársai (2021) a vesszős köles esetében tanulmányozták az ultrahangos kezelés és a behatási idő növelésének a hatását. A besugárzás időtartamának 10 percről 50 percre történő emelése a növényi sejtszerkezet nagyobb mértékű töredezettségét eredményezte. Az akusztikus erő növényi szerkezetre gyakorolt hatásai alábbi **5. ábrán** látható SEM-mikroszkóp feltételeken is kivehető.



5. ábra Ultrahangos kezelés besugárzási időtartamának hatása a fű őrlemények szerkezeti változására (180 W, 10-50 perc) (Olughu *et al.*, 2021)

A kavitációnak két típusa: a stabil és az átmeneti ismert. Stabil kavitáció esetében a kisebb méretű buborékok több hangciklusokon keresztül, összeroppanás nélkül maradnak a folyadéktérben, míg az átmeneti kavitáció során nagyobb buborékok alakulnak ki, amelyek néhány hangciklust követően összeroppannak. A buborékok összeroppanása segíti a keveredést és az anyagszállítást, továbbá növeli az ultrahangos térben lejátszódó reakciók hatékonyságát. Az eddig kutatások során megállapították, hogy a kisfrekvenciás ultrahangos besugárzás elősegíti az aromás lignin vegyületek eltávolítását, ezáltal a hidrolitikus enzimek rostokhoz és értékes szénhidrát polimerekhez (cellulóz és a hemicellulózok) történő

könnyebb eljutását is növeli. A cellulózban gazdag növényi maradványok igen összetett és ellenálló szerkezete miatt önmagában az ultrahangos kezelés azonban nem elegendő. A behatás során a delignifikáció mértéke a jelenleg elterjedt fiziko-kémiai előkezelésekkel szemben alább marad, ezért gazdaságilag az ultrahangos besugárzás más előkezelési technikákkal történő együttes alkalmazást igényel (Olughu *et al.*, 2021).



6. ábra A stabil és az átmeneti kavitáció során keletkező buborékok növekedése (Jenkins *et al.*, 2014)

Az ultrahangos kezeléssel egybekötött enzimikus hidrolízis esetén a szükséges enzimmennyiség csökkenthető. A kísérleteim alapanyagaként hasznosított kukoricacsutka szárazanyagtartalmának jelentős részét a szénhidrát polimerek teszik ki: cellulóz és hemicellulózok (nagyreszt xilán). A rostbontás során így szempont, hogy mivel a xilán a cellulózt körbeveszi, ezáltal rontja a cellulóz-bontó enzimek hatékonyságát, emiatt szükséges lehet xilanáz aktivitású enzimek alkalmazása. Az endoxilanázok a xilán gerincében véletlenszerűen hasítanak, az exoxilanázok pedig a láncok végeiről hasítanak le β -D-xilozidáz monomereket. Az oldalláncok bontását többek között az α -D-glükoronidázok és az acetyl-xilán-észterázok végzik el (Collins *et al.*, 2005). A cellulóz így már könnyebben hozzáfér a cellulóz polimerhez. A cellulóz több enzimből tevődik össze: endoglükánázból, amely a lánc belsejében hasít, így oligoszacharidokat képez; exoglükozidázból, amely a láncvégekről hasít glükóz molekulákat; cellobiohidrolázból, amely a láncvégekről

cellobiózokat választ le és azokat a cellobiáz, másnéven β -glükózidáz bont tovább glükóz egységekre (Sevella, 2012).

Az ultrahangos besugárzás és az enzimek teljesítményére azonban a kezelés paraméterei (frekvencia, intenzitás, hangciklus száma, vivőközeg stb.) mellett a növényi biomassa szerkezete és összetétele (a cellulóz, a hemicellulózok és az aromás lignin vegyületek aránya), valamint a növényi biomassa porozitása (a fajlagos felülete) is lényegesen hatást fejt ki. Azon növényi biomassa, amely nagyobb mennyiségben tartalmaz aromás lignin vegyületeket, valamint az előkészítést követően az aprítottság mértéke nem biztosít kellő felületi hozzáférhetőséget, az akusztikus erő és az enzimek kevésbé tudják kifejteni kedvező hatásukat. Továbbá, korábbi kutatások is igazolták, hogy a nagyobb intenzitású besugárzás, valamint a hosszabb kezelési időtartam az enzimek aktivitáscsökkentését okozza. A jelenség azzal magyarázható, hogy az enzimfehérjék szerkezetében a hidrofób kötőerők sérülnek, amely a rendezett térszerkezet módosulását, a konformáció változását eredményezi. Néhány esetben már leírásra kerültek olyan anyagok, amelyek jelenlétében az enzim hosszabb ideig meg tudja őrizni aktivitását, mind az előkezelés behatásaival szemben, mind pedig az oldatba vitt aromás lignin vegyületek inaktíváló hatásával szemben. Az enzimvédő hatással rendelkező anyagok körében néhány publikációban már említésre kerülnek a nemionos felületaktív anyagok, mint a Tween® poliszorbát termékek is (Chen *et al.*, 2008).

4 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

4.1 Felhasznált anyagok

4.1.1 Kukoricacsutka

A szárított és durván őrölt kukoricacsutka (Panzi-Pet Kft. Budapest) előkészítése során laboratóriumi elektromos őrőmalom (Mockmill 200) alkalmazásával finom őrleményt állítottam elő. Az őrlést követően a finom, porszerű frakciót (szemcseméret <1 mm) szitálással választottam el a durva frakciótól (szemcseméret ~1-3 mm). A kukoricacsutka őrlemény nedvszívó hatása miatt használat előtt exszikkátorban tároltam.



7. ábra Kukoricacsutka durva és finom őrleménye (saját felvétel)

4.1.2 Oldatok és pufferek

Ultrahangos kezelés és enzimes hidrolízis során

Na-acetát puffer (0,1 M, pH 5) (Thangavelu et al., 2020)

A puffer készítése során 2, 886 g vízmentes nátrium-acetátot 400,0 ml desztillált vízben oldottam fel, majd az oldathoz 0,93 ml ecetsavat pipettáztam. A kémhatást 10%-os sósavval állítottam be. A végtérfogatot 500,0 ml-re desztillált vízzel állítottam be.

Redukáló cukortartalom mérésénél

Somogyi I. és II. oldat (Somogyi 1951)

Az oldatok készítésénél előre felforralt, majd szobahőmérsékletűre hűtött desztillált vizet használtam. A Somogyi I. oldat készítése során 288,0 g vízmentes nátrium-szulfátot 1000,0 ml desztillált vízben oldottam folyamatos mágneses kevertetés mellett. Az oldathoz további 24,0 g kálium-nátrium tartarátot, 48,0 g nátrium-karbonátot és 32,0 g nátrium-

hidrogén-karbonátot adagoltam. Az oldat térfogatát desztillált vízzel 1600,0 ml-re egészítettem ki.

A Somogyi II. oldat készítése során 72,0 g vízmentes nátrium-szulfátot 300,0 ml desztillált vízben oldottam és folyamatos mágneses kevertetés mellett az oldathoz 8,0 g réz-szulfátot adagoltam. Az oldat térfogatát desztillált vízzel 400,0 ml-re egészítettem ki.

Az elkészített oldatokat 48 órán át pihentettem és szobahőmérsékleten tároltam.

Nelson reagens (Nelson 1944)

Az oldat készítésénél szintén előre felforralt, majd szobahőmérsékletűre hűtött desztillált vizet használtam. Az oldat készítésénél 100,0 g ammónium-molibdátot oldottam 1500,0 ml desztillált vízben, amelyhez folytonos kevertetés mellett 12,0 g nátrium-hidrogén-arsenátot is adagoltam. Az oldathoz 84,0 ml tömény kénsavat pipettáztam és a térfogatot 2000,0 ml-re desztillált vízzel egészítettem ki. A reagenst használat előtt sötét üvegben 48 órán át, 37 °C-on pihentettem.

4.1.3 Enzimkészítmények

Az őrlemény ultrahangos kezelését követő, valamint az ultrahangos kezeléssel egybekötött enzimes hidrolízis során kereskedelmi forgalomban kapható, a növényi rostok bontásához általánosan alkalmazott *Trichoderma reesei* eredetű, celluláz enzimkomplex sűrítményt (Celluclast 1.5 L, Novozymes A/S, Dánia) és *Aspergillus oryzae* eredetű erős xilanáz aktivitású enzimpreparátumot (Novozymes A/S, Dánia) használtam. Az enzimek optimum tartományait (pH és hőmérséklet), valamint az adagolási rátákat az alábbi **1. táblázat** tartalmazza.

1.táblázat: Ipari enzimek készítmények főbb paraméterei

	Aktivitás	pH	T (°C)	Adagolás %
Celluláz	≥ 700 U/g	4,5-6	50-60	0,05-0,2 % (0,1 % = 85 U/g per szubsztrátum)
Xilanáz	≥ 2500 U/g	4,5-6	30-65	0,05-0,2 % (0,05 % = 165 U/g per szubsztrátum)

4.1.4 Etanológén élesztő

A kukoricaőrlemény hidrolizátumokon indított etanolfermentáció modellezése során szárított *Saccharomyces cerevisiae* élesztőt (Uvaferm Danstil A) használtam. Az élesztő rehidratálását követően a szakaszos fermentációs rendszereket 5 % (v/v) élesztősuszpenzióval oltottam le.

4.2 Alkalmazott módszerek

4.2.1 Ultrahangos kezelés és enzimes hidrolízis

A finom kukoricacsutka őrleményt 1,0 grammoként 50 ml hasznos térfogatú csavaros üvegekbe adagoltam. Az ultrahangos kezelés során több tényezőnek: a vivőközeg típusának (desztillált víz, etanol vizes oldatai, nátrium-acetát puffer), az őrlemény és a vivőközeg arányának (1:15, 1:30, 1:45), az ultrahang behatási idejének (10, 30, 50 perc), a mosási fázisnak, valamint a poliszorbát adagolásnak (40 µl/ g szubsztrátum) (Tween 40, Sigma-Aldrich) a hatását is monitoroztam.

2.táblázat: Szeparált ultrahangos kezelés és enzimes hidrolízis

Sorszám	Vivőközeg	Őrlemény/Vivőközeg aránya	Behatási idő	Mosás	Poliszorbát	Enzim
1	desztillált víz	1:15	10	-	-	85 U/g C
2		1:30	10	-	-	85 U/g C
3		1:45	10	-	-	85 U/g C
4		1:15	30	-	-	85 U/g C
5		1:30	30	-	-	85 U/g C
6		1:45	30	-	-	85 U/g C
7		1:15	50	-	-	85 U/g C
8		1:30	50	-	-	85 U/g C
9		1:45	50	-	-	85 U/g C
10		1:30	10	-	igen	85 U/g C
11			30	-	igen	85 U/g C
12			50	-	igen	85 U/g C
13			10	igen	-	85 U/g C
14			30	igen	-	85 U/g C
15			50	igen	-	85 U/g C
16			10	igen	igen	85 U/g C
17			30	igen	igen	85 U/g C
18			50	igen	igen	85 U/g C
19	Na-acetát puffer pH 5	1:15	10	-	-	85 U/g C
20		1:30	10	-	-	85 U/g C
21		1:45	10	-	-	85 U/g C
22		1:15	30	-	-	85 U/g C
23		1:30	30	-	-	85 U/g C
24		1:45	30	-	-	85 U/g C
25		1:15	50	-	-	85 U/g C
26		1:30	50	-	-	85 U/g C

27		1:45	50	-	-	85 U/g C
28		1:30	10	-	igen	85 U/g C
29			30	-	igen	85 U/g C
30			50	-	igen	85 U/g C
31	etanol:víz (1:10)	1:30	10	igen	-	85 U/g C
32			30	igen	-	85 U/g C
33			50	igen	-	85 U/g C
34			10	igen	igen	85 U/g C
35			30	igen	igen	85 U/g C
36			50	igen	igen	85 U/g C
37	etanol:víz (1:20)	1:30	10	igen	-	85 U/g C
38			30	igen	-	85 U/g C
39			50	igen	-	85 U/g C
40			10	igen	igen	85 U/g C
41			30	igen	igen	85 U/g C
42			50	igen	igen	85 U/g C

A szuszpenziókat Thermo Fisher Scientific Corporation által gyártott Clifton™ laboratóriumi ultrahangos kádban, 40 kHz frekvencián kezeltem. A kísérleti beállításokat az alábbi **2. és 3. táblázat** foglalja össze.

3.táblázat: Szeparált és szimultán ultrahangos kezelés és enzimes hidrolízis különböző enzimdózisok alkalmazása esetén

Sorszám	Vivőközeg	Örlemény/Vivőközeg aránya	Behatási idő	Mosás	Poliszorbát	Enzimek
43	desztillált víz	1:30	50	-	igen	szeparált 170 U/g C
44			50	-	igen	szeparált 255 U/g C
45			50	-	igen	szeparált 85 U/g C 165 U/g X
46			50	-	igen	szeparált 170 U/g C 165 U/g X

47	desztillált víz	1:30	50	-	igen	szeparált 255 U/g C 165 U/g X
48			50	-	igen	szimultán 170 U/g C
49			50	-	igen	szimultán 255 U/g C
50			50	-	igen	szimultán 85 U/g C 165 U/g X
51			50	-	igen	szimultán 170 U/g C 165 U/g X
52			50	-	igen	szimultán 255 U/g C 165 U/g X

Az enzimes kezelés szeparált és szimultán módon történt. A szeparált enzimes hidrolízist az ultrahangos kezelést követően, míg a szimultán enzimes hidrolízis az ultrahangos kezeléssel egyidejűleg indítottam. Az enzimes hidrolízis 45 °C-on, 24 órán át 180 rpm rázatási sebesség mellett történt.



8. ábra: Az ultrahangos kezelés szemléltetése (saját felvétel)

4.2.2 Etanolfermentáció

A szeparált és szimultán kukoricacsutka rostbontás hatékonyságát az oldatba vitt cukrok mennyisége alapján rangsoroltam és a kedvezőbb beállítások mellett 20 g nedves és

szárított kukoricacsutka őrlemény léptéknövelt kezelését 200 ml vivőközegben indítottam el. A hidrolizátumok kémhatását 10 %-os sósav oldat segítségével pH 3,2-re állítottam. Ezt követően a hidrolizátumokat 121 °C-on, 15 percen át hőkezelttem, majd azokat 5 % (v/v) rehidratált élesztő szuszpenzióval oltottam le.



9.ábra: Etanolfermentáció (saját felvétel)

A lombikok száját vízzárral ellátott kotyogókkal zártam le. Az erjesztés 5 napon át, 28 ± 2 °C-on történt. A lombikokból időközönként, 24 óránként vettem mintát és készítettem elő a mérésekhez.

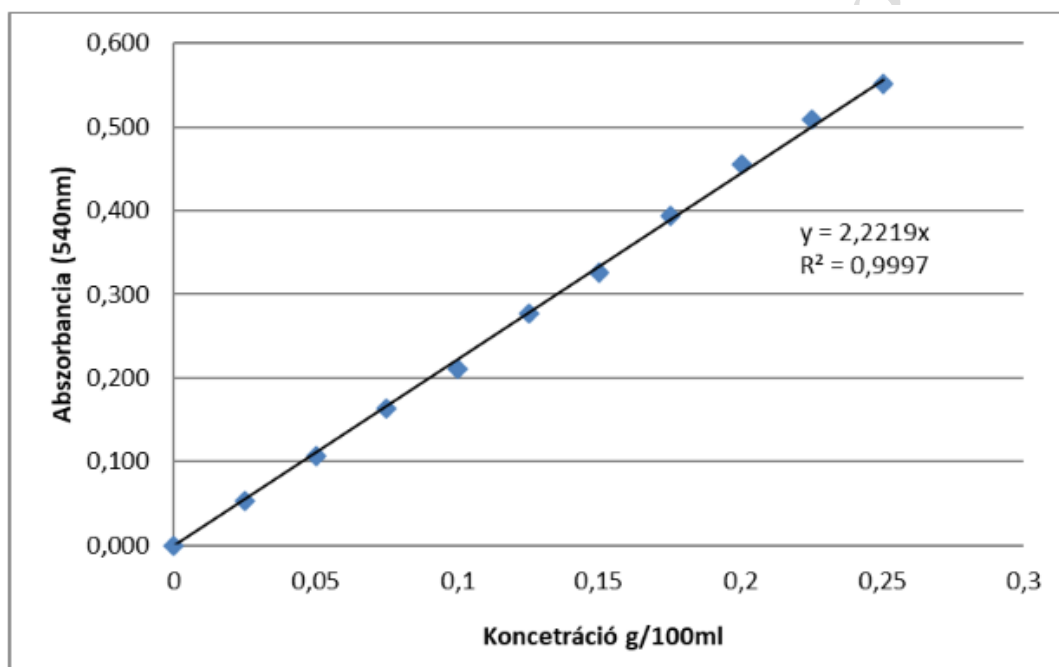
4.2.3 Szénhidráttartalom mérés

4.2.3.1 Redukáló cukortartalom meghatározás

Az enzimés hidrolízis során oldatba vitt redukáló cukrok mennyiségét Somogyi-Nelson módszerrel mértem. A spektrofotometriás mérés elve, hogy lúgos közegben a Cu^{2+} ionokat a redukáló cukrok Cu^+ csapadékká redukálják, miközben a szabad hidroxilcsoportok oxidálódnak. A keletkező Cu^+ csapadékot az arzenomolibdát komplex redukálja, ami kék színt eredményez. A színváltozás spektrofotométerrel, 540 nm-en nyomon követhető (Somogyi 1952, Nelson 1944).

A minták ismeretlen redukáló cukortartalmának meghatározása glükózra felállított kalibrációt segítségével történt. Ehhez elsőként hígítási sorozatot tagonként 2 ml oldatot tartalmazott, amelyekben 0,2 ml-ként csökkentettem a glükóz oldat arányát. Az előkészített hígított glükóz oldatokhoz 2 ml 4:1 arányú Somogyi I. és Somogyi II. oldat elegyét

pipettáztam, majd azokat 15 percre forrásban lévő vízbe helyeztem. 4:1 arányú elegyet készítettem és 2,0 ml-t pipettáztam hozzá. A forralást követően a hígítási tagokat szobahőmérsékletűre hűtöttem le és térfogatukat 2 ml Nelson reagenssel és 4 ml desztillált vízzel egészítettem ki. A keletkező szén-dioxidot Pasteur-pipettával történő átbuborékolással távolítottam el. A párhuzamos minták abszorbancia értékeit Unicam α -Helios spektrofotométerrel mértem le. Az átlagolt abszorbancia értékeket az ismert glükóz koncentráció függvényében ábrázoltam. A pontokra illesztett lineáris trendvonal egyenlete segítségével a továbbiakban könnyen meghatározható a kukoricacsutka őrlemény előkezelését és enzimes bontását követően felszabadult redukáló cukrok mennyisége (10.ábra).



10.ábra: Glükóz standard kalibráció

A kukoricacsutka hidrolizátumok esetén 1 ml mintát Eppendorf-csövekbe pipettáztam és azokat 10 percen át, 14 000 fordulat/perc sebességen centrifugáltam. A szilárd fázis elválasztását követően a felülúszót (hidrolizátum) megfelelően hígítottam és az előzőekhez hasonlóan hajtottam végre a reakciókat.

4.2.3.2 HPLC technika

A kromatográfias eljárás egy analitikai elválasztási módszer, gáz-, gőz- vagy folyadékelegyben lévő komponensek szétválasztására alkalmas. Az elválasztás során

megkülönböztetünk állófázist mely egy oszlopon kötött formában van jelen, illetve mozgó fázist más néven eluent, ami a mintát áramoltatja az oszlopon. A minta az oszlopon adszorbeál és az egyes komponensek különböző időpillanatban válnak le az oszlopról, ez az időpillanat a retenciós idő, mely minden komponensre nézve egyéni (Pokol *et al.* 2011).

A hidrolízis termékek (glükóz, DP2, DP3 és \geq DP3 frakciók) és az etanolfermentáció során termelt etanol mennyiségi meghatározásához a Thermo Fischer Scientific Corporation által gyártott Surveyor HPLC berendezését az alábbi beállítási paraméterekkel alkalmaztam:

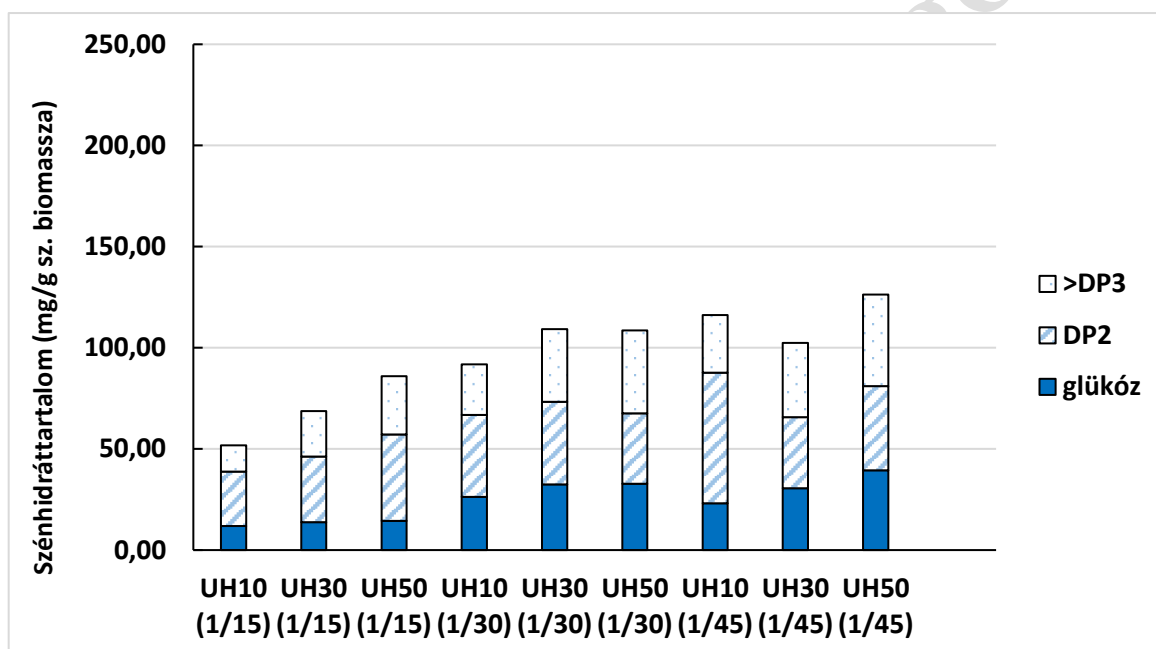
- Oszlop: Aminex-87H
- Eluens: 0,005 n H₂SO₄
- Integráló szoftver: ChromQuest 5.0
- Detektor: RI
- Oszlop hőmérséklet: 45 °C
- Detektor hőmérséklet: 40 °C
- Áramlási sebesség: 0,6 ml/perc
- Eluálási mód: izokromatikus

Elek Vanda Szakdolgozat

5 KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSEK

5.1 Ultrahangos kezelés vizes és pufferelt rendszerben

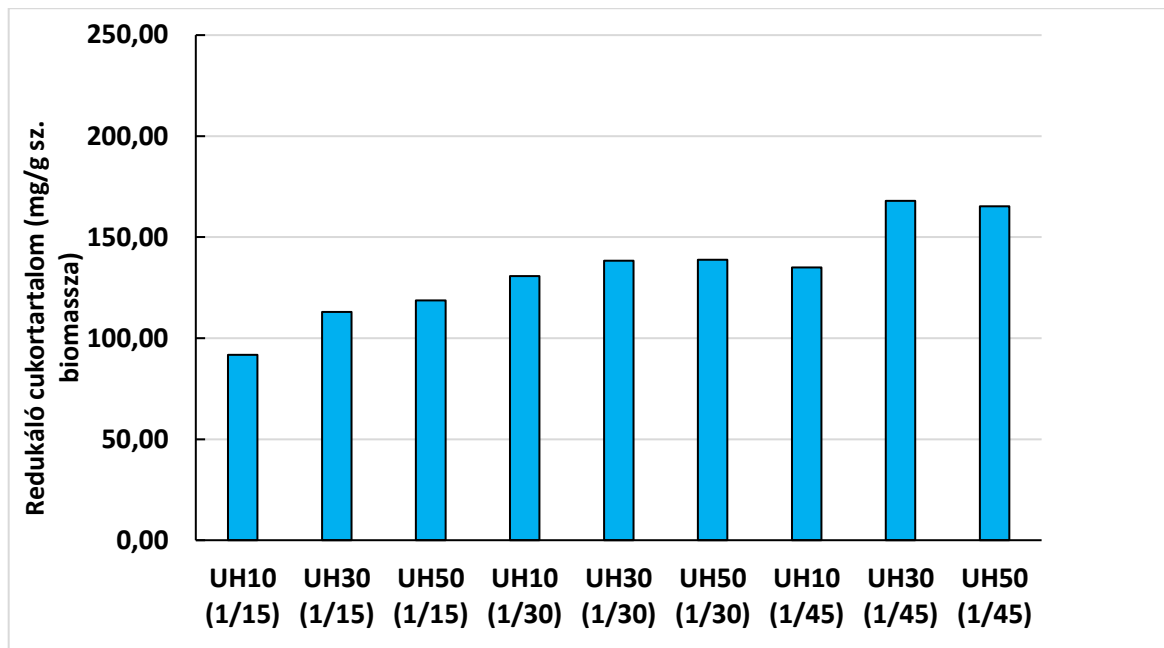
A kísérletek elején az ultrahangos közeg természetének (vizes és pufferelt rendszer), a finoman őrölt kukoricacsutka és az ultrahangos közeg arányának (1 g/15 ml, 1 g/30 ml, 1 g/45 ml), valamint a kezelés időtartamának (10, 30, 50 perc) a hatását vizsgáltam. Az ultrahangos kezelések hatását minden esetben az előkezelt kukoricacsutkán indított enzimes hidrolízis szénhidrát hozama alapján értékeltem. Az alábbi **11.** és **12. ábra** a vizes rendszerben szonifikált kukoricacsutka minták enzimes bontásának eredményeit szemlélteti.



11.ábra: Oldott szénhidráttartalom alakulása a vizes rendszerekben ultrahangosan kezelt kukoricacsutka minták enzimes hidrolízise során

Mind az ultrahangos kezelés időtartamának növelése, mind az ultrahangos közeg mennyiségének növelése a kukoricacsutka őrlemény enzimes bonthatóságára kedvező hatást fejtett ki. Azon esetekben, ahol az ultrahangos kezelés során növelt nedvesítési arány (1/30 és 1/45) és a növelt kezelési időtartam (30 és 50 perc) esetén történt a minták akusztikus kezelése 40 kHz frekvencián, az enzimes hidrolízissel az oldatba vitt szénhidráttartalom elérte a 100 mg/g értéket. Egy esetben, ahol növelt nedvesítési arány (1/45) és csökkentett kezelési időtartam (10 perc) esetén indítottam el a kezelést, a szénhidráthozam szintén hasonlóan alakult. Az eredmények alapján a minták rostbontására erősebb hatást a nedvesítési arány gyakorolt. A kezelési kombinációk rangsorolása során hatásosabbnak az

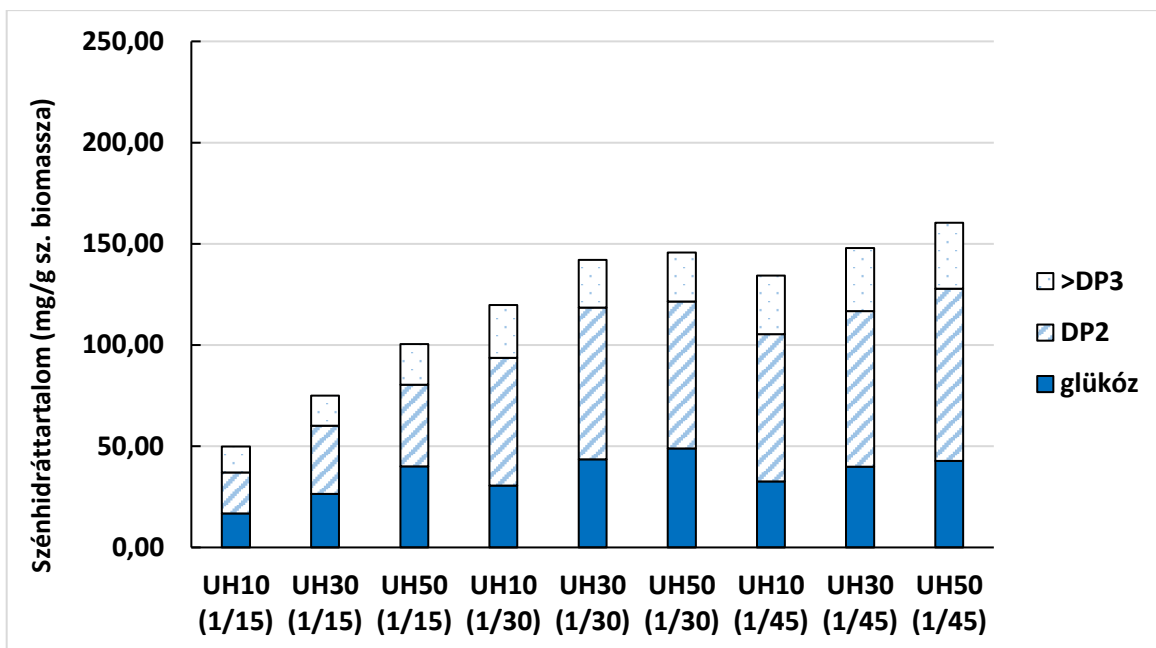
1/45 nedvesítési arány és az 50 perces kezelési időtartam bizonyult, ahol az oldott szénhidrátok mennyisége 126 mg/g értéket ért el. A szénhidrát összetétel igen eltérően alakult, azonban így is jól látható, hogy a DP2 frakció nagyobb arányban, míg a glükóz jelenléte igen kis mennyiségben volt kimutatható.



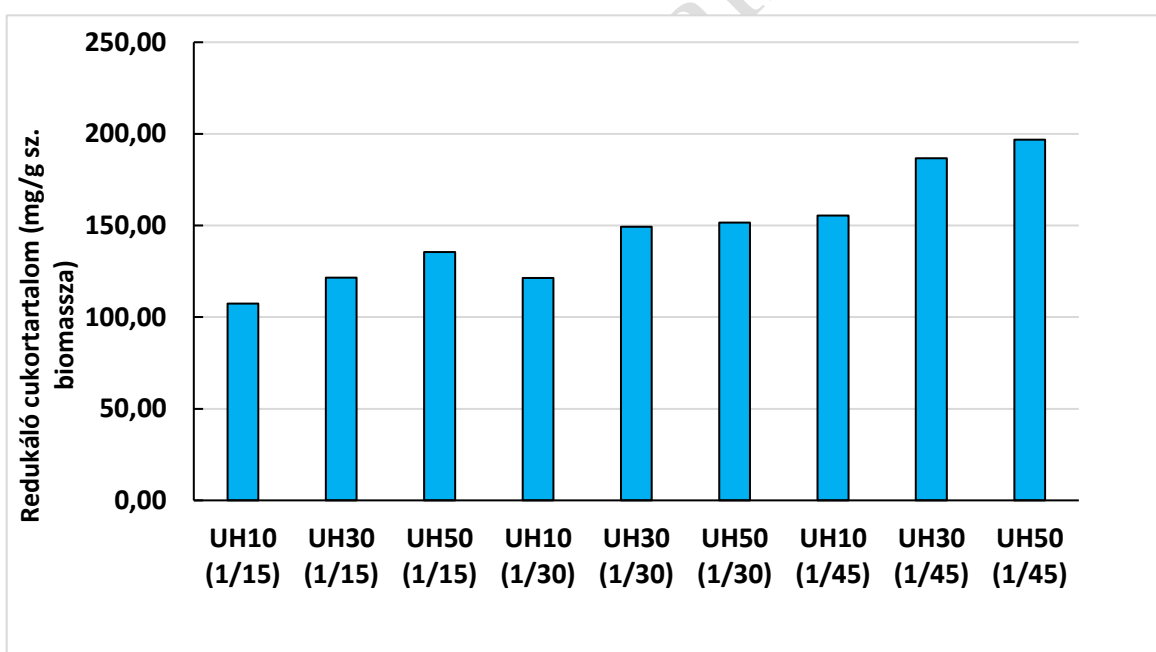
12.ábra: Redukáló cukortartalom alakulása a vizes rendszerekben ultrahangosan kezelt kukoricacsutka minták enzimes hidrolízise során

A kukoricacsutkából odatba vitt redukáló cukrok mennyisége két esetben, a 30 és 50 perces kezelési időtartam és az 1/45 nedvesítési arány esetén meghaladta a 150 mg/g értéket. Annak oka, hogy a redukáló cukortartalom miatt eredményezett nagyobb értékeket, az abban keresendő, hogy a módszer a rendszerben az egyéb redukáló hatású vegyületek jelenlétét is érzékelhette.

A pufferelt rendszer magasabb szénhidráthozamot eredményezett, ezeket az **13. és 14. ábra** ismerteti. Az előkezelt minták enzimes bontását követően az oldott szénhidráttartalom az 1/30 nedvesítési arány és 30-50 perces kezelés, valamint az 1/45 nedvesítési arány és 10-30 perces kezelés esetén közelítette a 150 mg/g értéket, míg az 1/45 nedvesítési arány és 50 perces kezelés esetén meghaladta a 150 mg/g értéket. A vizes rendszerekkel szemben a DP2 és a glükóz mennyisége növekedést mutatott.



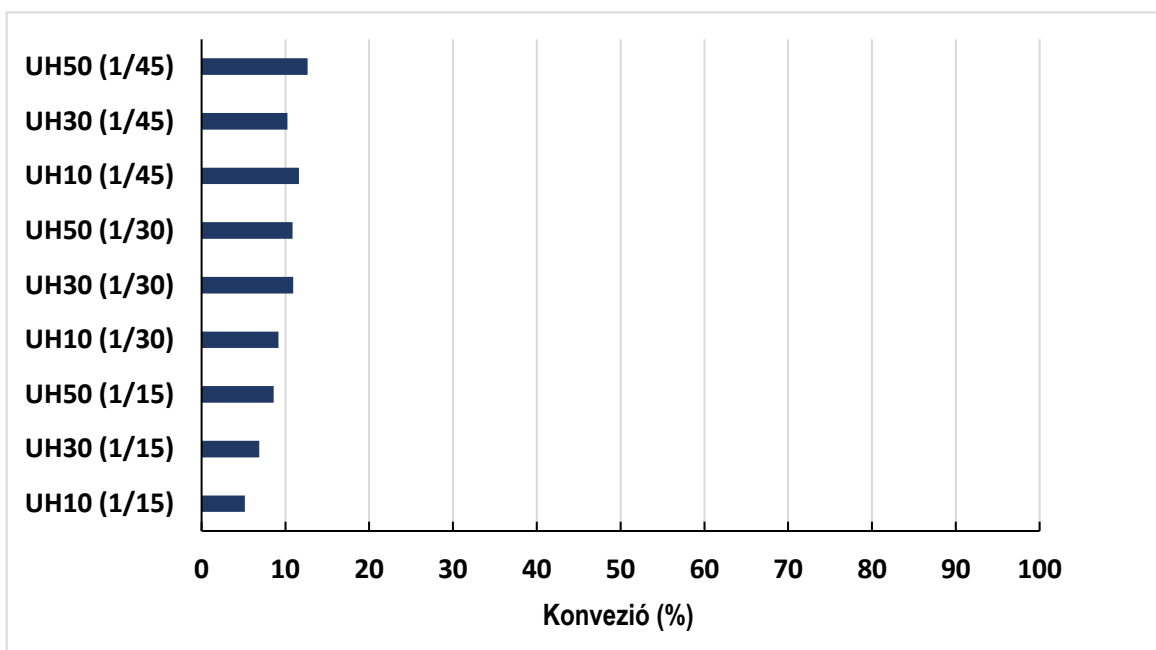
13.ábra: Oldott szénhidrátartalom alakulása a pufferelt rendszerekben ultrahangosan kezelt kukoricacsutka minták enzimes hidrolízise során



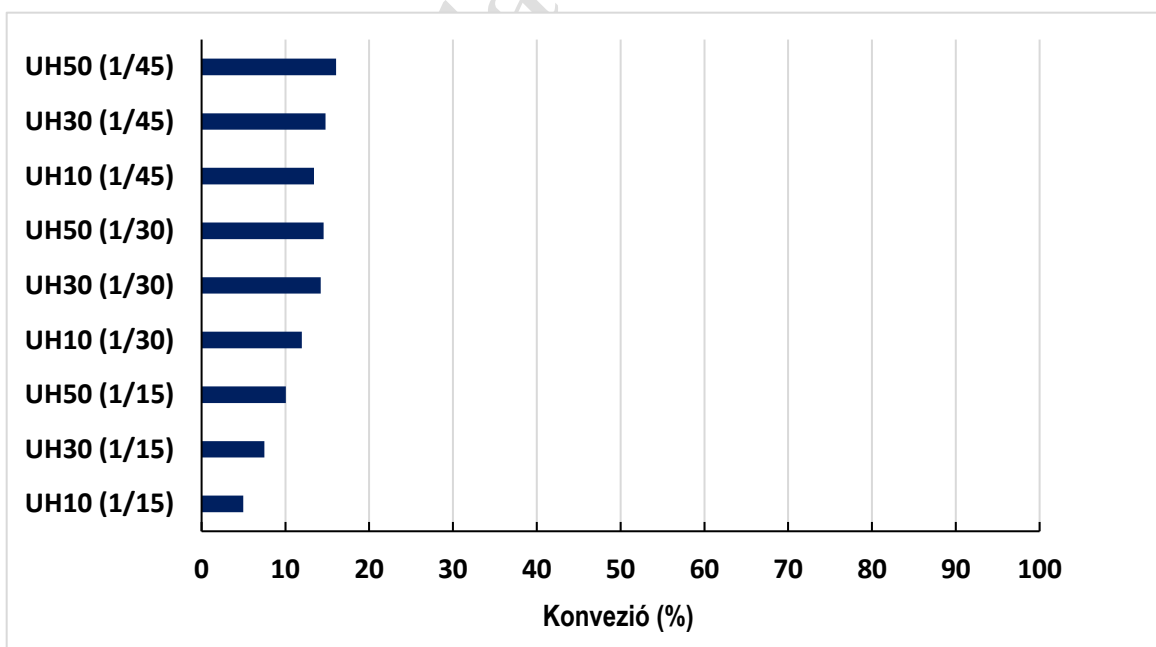
14.ábra: Redukáló cukortartalom alakulása a pufferelt rendszerekben ultrahangosan kezelt kukoricacsutka minták enzimes hidrolízise során

A redukáló cukortartalom értékek alakulása az oldott szénhidrátartalomhoz hasonló tendenciát mutatott. A növelt nedvesítési arány és a hosszabb kezelési időtartam szintén magasabb redukáló cukortartalom értékeket eredményezett. Az 1/45 nedvesítési arány és a

30-50 perces kezelési időtartam esetén az enzimes hidrolízissel az oldatban mért redukáló cukortartalom a 190-200 mg/g érték között alakult.



15.ábra: A szeparált ultrahangos kezelés és enzimes hidrolízis konverziós hatékonysága vizes rendszerek esetén



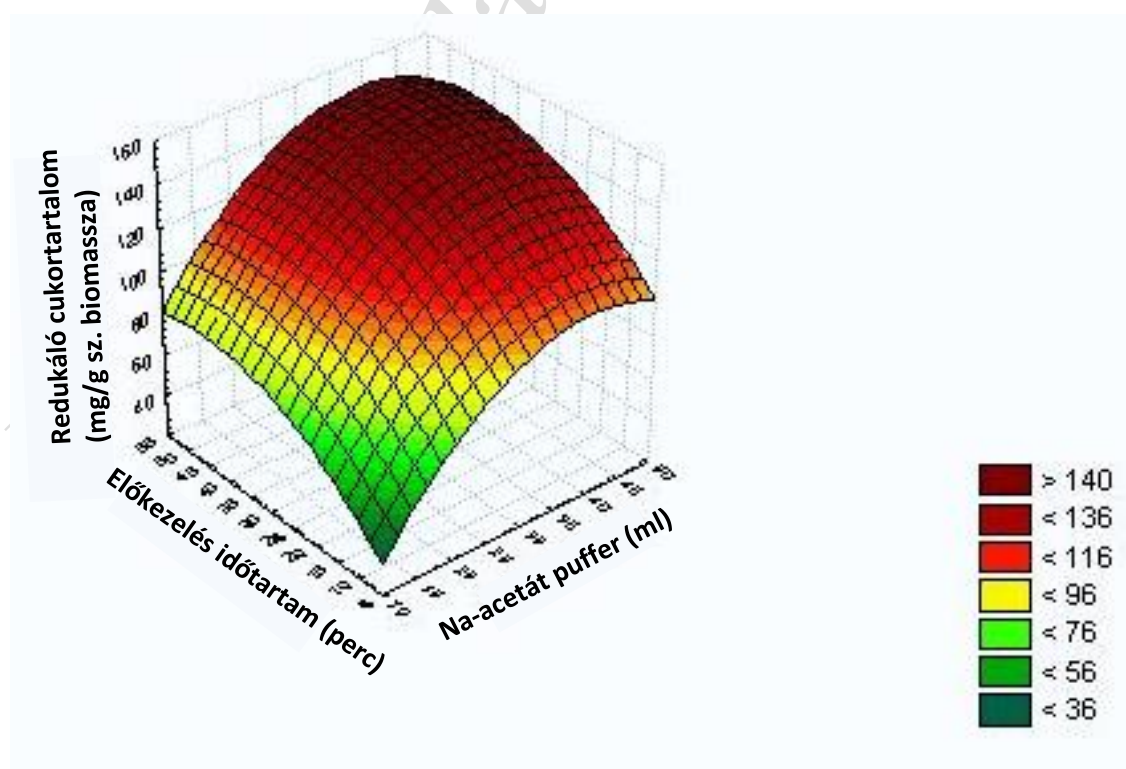
16.ábra: A szeparált ultrahangos kezelés és enzimes hidrolízis konverziós hatékonysága puffereelt rendszerek esetén

Az ultrahangos közeg természetét tekintve, a puffereelt rendszerekben értem el nagyobb oldott szénhidráttartamot és konverziós hatékonyságot. A konverzió ekkor 14-16 % között alakult.

Az ultrahangos kezelésnél mért értékek statisztikai értékelésére a Statistica 9.0 for Windows szoftvercsomagot alkalmaztam. A modell illeszkedése vizes rendszerben 98,3%, míg puffereelt rendszerben 97,4 % volt. A tényezők hatásainak vizsgálata során megállapítottam, hogy azok szignifikáns hatást gyakoroltak a kukoricacsutka ultrahangos kezelésére mind a vizes, mind a puffereelt rendszerben 95% megbízhatósági szinten. Silvello és munkatársai (2019) a cukornád bagasz ultrahangos kezelése során különböző tényezők hatását tanulmányozták válaszfelületi kísérlettervezési módszer alkalmazásával. Az egyes tényezők rangsorolása hasonló következtetést vontak, miszerint a cukornád bagasz és a nedvesítés arányának változtatása a növényi sejtek roncsolására, ezáltal az aromás vegyületek kioldására jelentős hatást fejt ki. Kísérleteim során a következő másodfokú, polinomikus modellt javasolnám az ultrahangosan kezelt kukoricacsutka enzimes hidrolízisének leírására:

$$Y_{\text{kukoricacsutka}} = -31,1843 + 6,1575x + 2,7443y - 0,0764x^2 - 0,0021xy - 0,0305y^2$$

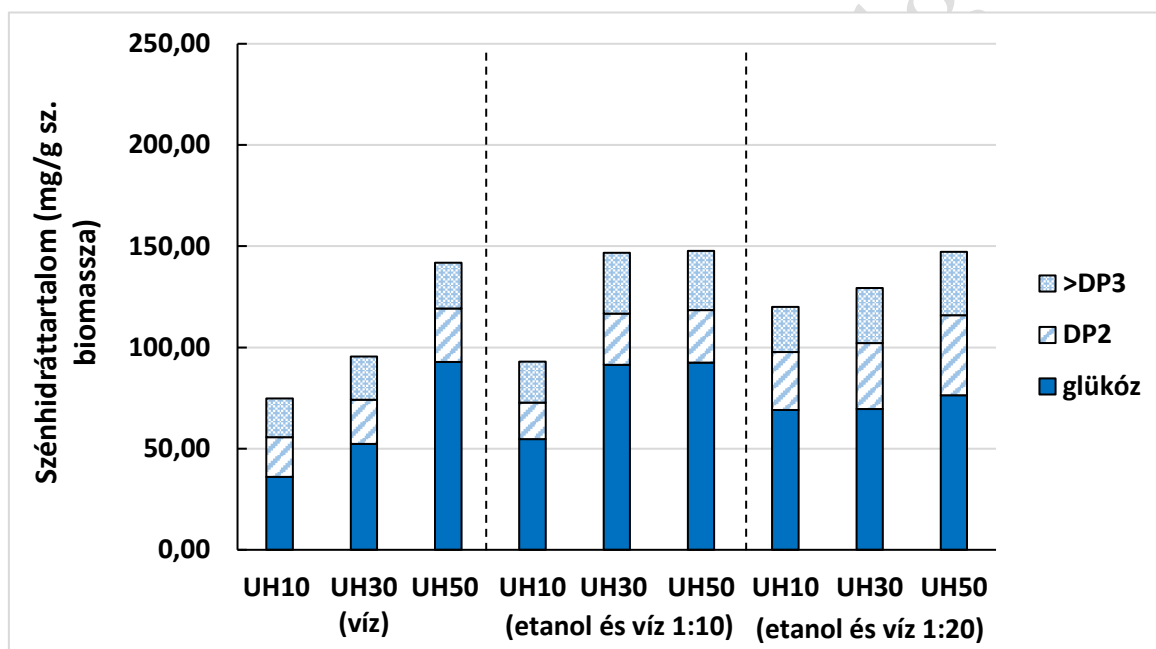
ahol: Y: redukáló cukortartalom, x: száraz biomassza/vivőközeg arány, y: kezelési időtartam



17. ábra: Szeparált ultrahangos kezelés és enzimes cukrosítás válaszfelületi ábrázolása

5.2 Szerves oldószeres lignin extrakció hatása az enzimes bonthatóságra

A továbbiakban szerves oldószer jelenlétében, 1/30 nedvesítési arány, 10, 30 és 50 perces kezelési időtartam mellett követtem nyomon az ultrahangos kezelés enzimes bonthatóságra kifejtett hatását. Ultrahangos közegként etanol 1:10 és 1:20 arányú vizes oldatait használtam. Az enzimes hidrolízist megelőzően az előkezelt mintákból a szerves oldószeret mosási lépéssel távolítottam el, az enzimes hidrolízist pedig pufferelt (Na-acetát, pH 5) rendszerben indítottam el. Kontrollként vizes rendszerben ultrahangosan kezelt, majd átmosott minták pufferben indított enzimes hidrolízisének hatékonyságát is néztem. Ezen esetben a szeparált technika során elért oldott szénhidrát tartalom értékeit az alábbi **18.** és **19. ábra** szemlélteti.

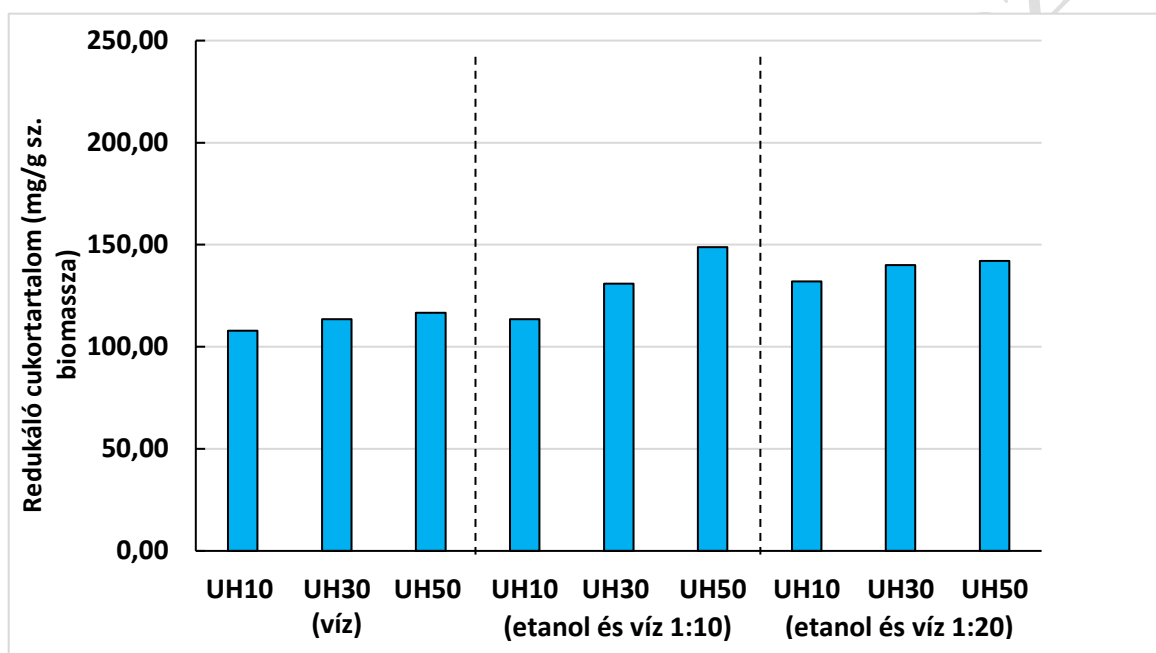


18. ábra: Szerves oldószer hatása az ultrahangos kezelésre és az enzimes hidrolízisre

A vizes rendszerben indított ultrahangos előkezelést követően a folyadék eltávolítása és az előkezelt kukoricacsutka vízzel történő átmosása részben növelte az enzim teljesítményét. Abban az esetben, ahol 50 percen át tartott a minták kezelése, az oldott szénhidrát tartalom elérte a 140 mg/g értéket. A 10 és 30 perces előkezelésnél azonban már csökkent az értékes szénhidrátok mennyisége. Ennek oka, hogy az ultrahangos kezeléssel már kezdetét vette egy részbeni szénhidrát bontás és az oldatba vitt szénhidrátok a mosással eltávolításra kerültek, ezáltal szénhidrátvesztés következett be.

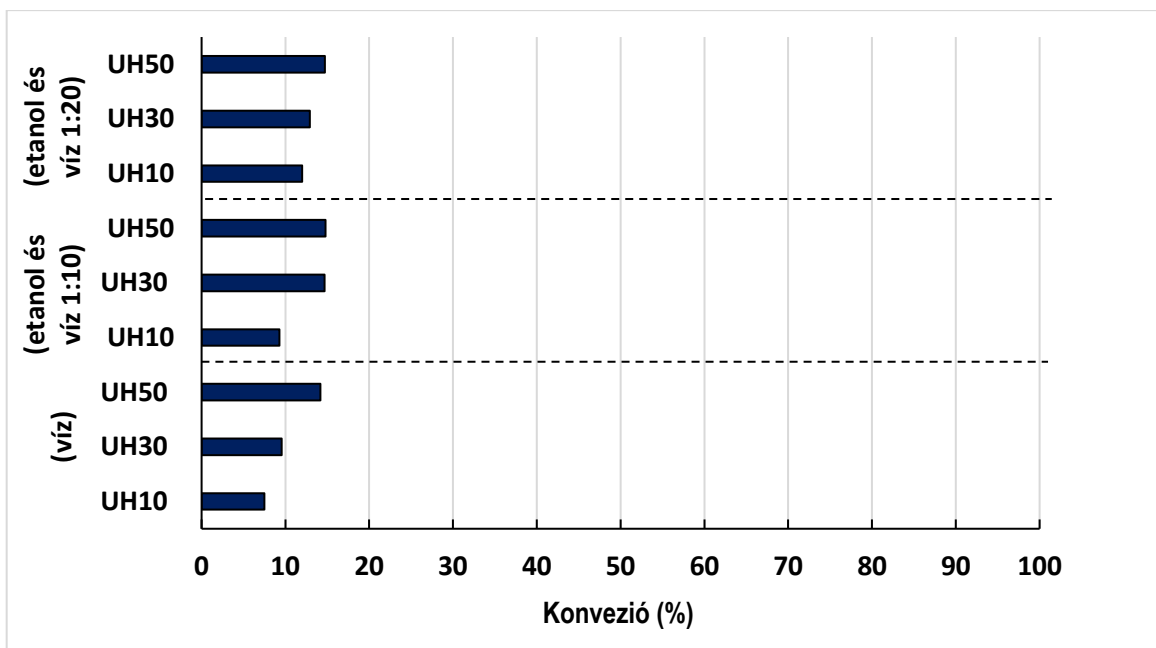
A szerves oldószeres közegben kezelt és átmosott kukoricacsutka esetén a hidrolizátumban mért szénhidrátok mennyisége közelítette a pufferelt rendszerben kezelt

kukoricacsutka enzimes bontásának eredményeit. Az etanol vizes elegyei közül az 1:10 arány esetén már 30 perces kezelés elegendőnek bizonyult, ahhoz, hogy az enzimes bontásnál az oldott szénhidrát tartalom elérje a 150 g/g értéket. A szerves oldószer az aromás vegyületek extrahálásának köszönhetően elősegítette az enzim bontási hatékonyságát, azonban a mosással ez esetben is az értékes szénhidrátok mennyisége csökkent. A szénhidrát spektrum összetételében azonban változás következett be, ugyanis az enzimes hidrolízissel az erjeszhető cukortartalom (glükóz) kétszeresére nőtt. A glükóz mennyisége elérte a 100 mg/g értéket, míg a DP2 és a DP3 frakció mennyisége csökkent.



19. ábra: Szerves oldószer hatása az ultrahangos kezelésre és az enzimes hidrolízisre

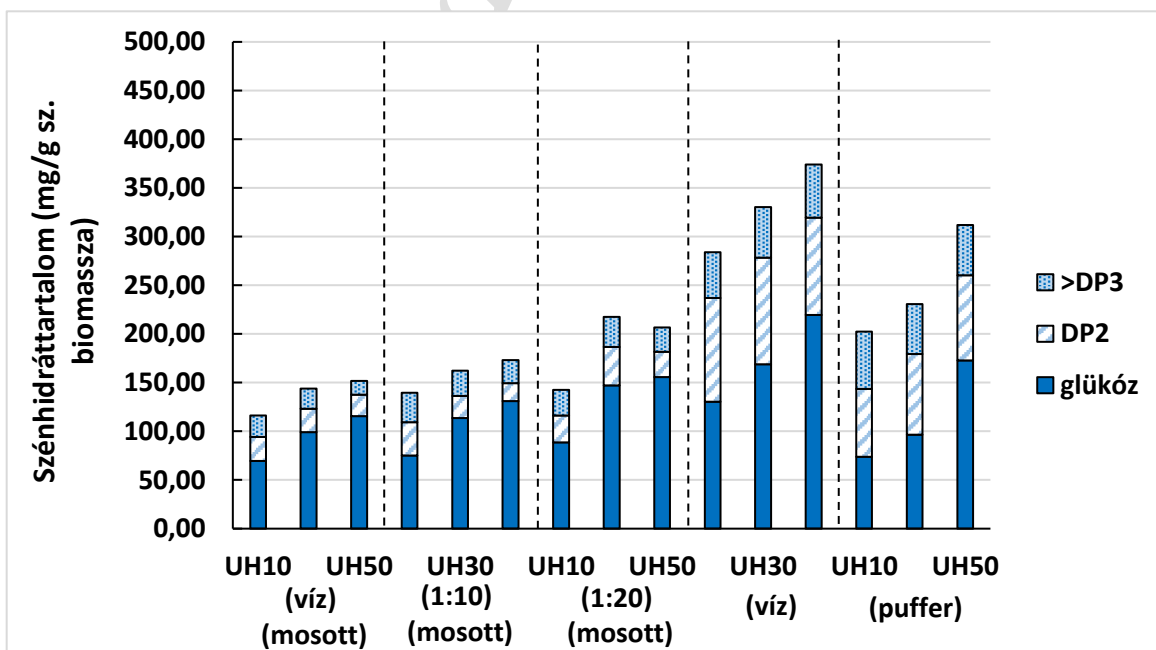
A redukáló cukortartalom és a konverziós hatások esetében lényegi változást nem tapasztaltam. A redukáló cukortartalom az ultrahangos közeg természetétől függően 107 és 149 mg/g között volt. A szerves oldószeres közegekben az 50 perces kezelést követően az enzimes bontás hatásfoka továbbra is a 14-15 % körül alakult (20. ábra).



20.ábra: A szeparált vizes és szerves oldószeres ultrahangos kezelés és enzimes hidrolízis konverziós hatékonysága

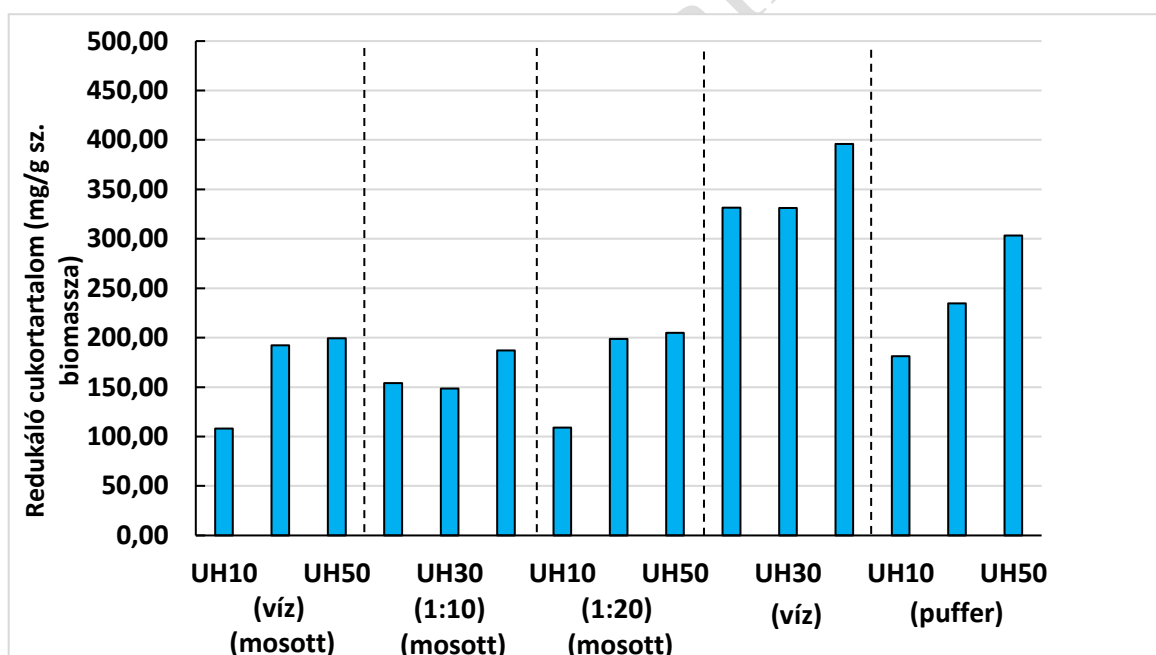
5.3 Poliszorbát enzimvédő hatásának vizsgálata

A következő kísérletsorozatban a poliszorbát enzimvédő hatását követtem nyomon vizes, pufferelt, valamint szerves oldószeres rendszerekben, mosással és mosás nélkül.



21.ábra: Poliszorbát hatása az ultrahangos kezelésre és az enzimes hidrolízisre

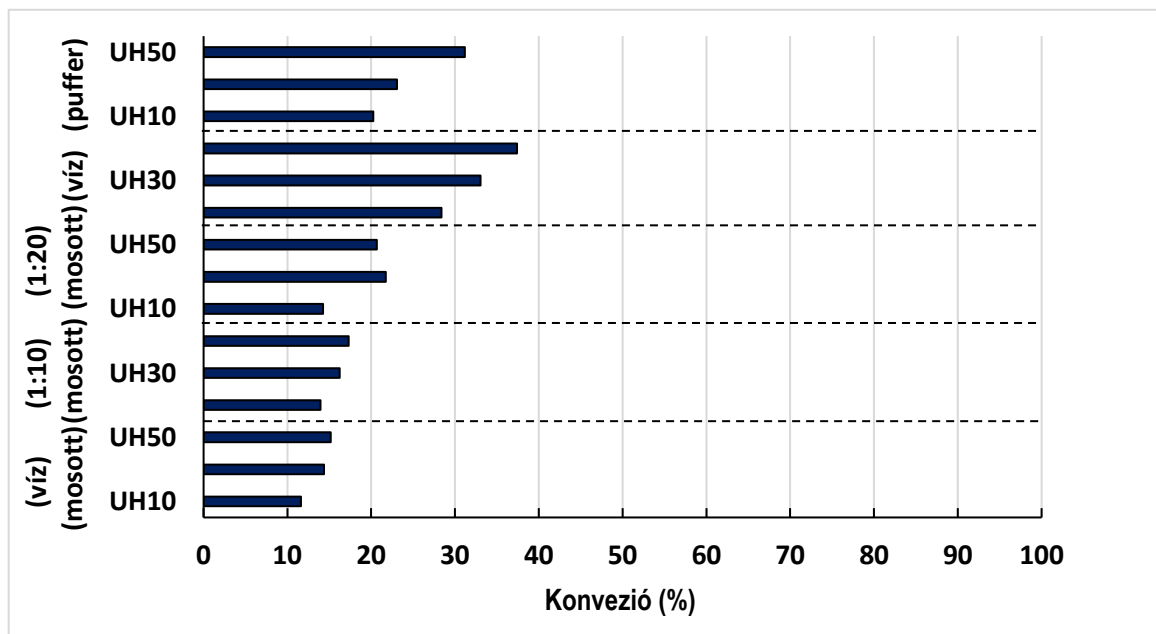
A **21. ábrán** szemléltetett oldott szénhidráttartalom eredmények alapján a Tween 40 jelenléte minden esetben kedvezően hatott az enzim teljesítményére, ugyanis amennyiben a vizes és szerves oldószeres (etanol és víz 1:10 arányban) rendszerben indított ultrahangos kezelést (50. perc esetén) mosás követte, az enzim hidrolízis során az oldott szénhidráttartalom 152 és 173 mg/g értéket ért el. Míg, ahol a csökkentett etanol tartalmú szerves oldószeres rendszerben (etanol és víz 1:20 arányban) indított ultrahangos kezelést (50. perc esetén) mosás követte, az oldott szénhidrátok mennyisége meghaladta a 200 mg/g (206-217 mg/g) értéket. Ebben az esetben az erjeszhető cukrok mennyisége, elsősorban a glükózé 155 mg/g értéken tetőzött. Az ultrahangos közeg eltávolítása nélkül az enzim hidrolízis teljesítménye 58-69 %-kal nőtt. Poliszorbát jelenlétében kedvezőbbnek a vizes rendszerben előkezelt kukoricacsutka minták enzim hidrolízise bizonyult. A 30 és 50 perces akusztikus kezelések esetében jelentős mennyiségű szénhidráttartalom volt kimutatható. Ekkor az oldott szénhidráttartalom 311 és 374 mg/g között alakult, ezen belül a DP2 frakció 99 és 110 mg/g, a glükóz mennyisége pedig 168 és 220 mg/g értéken mozgott.



22. ábra: Poliszorbát hatása az ultrahangos kezelésre és az enzim hidrolízisre

A redukáló cukortartalom értékek (**22.ábra**) az oldott szénhidráttartalom alakulását követték. Azon kukoricacsutka mintáknál, ahol az ultrahangos kezelést (50. perc esetén) követően mosás történt, a redukáló cukortartalom 187 és 204 mg/g értéket ért el. Mosás nélküli puffereelt rendszerben már több mint 300 mg/g értéket, míg vizes rendszerben (50. perc esetén) közel 400 mg/g értéket mértem.

A mosás nélküli vizes és pufferelt rendszerek eredményeinek összehasonlítása során megállapítottam, hogy a poliszorbát jelenléte sikeresen növeli a szénhidrát- és a redukáló cukortartalmat is.



23.ábra: A szeparált ultrahangos kezelés és enzimes hidrolízis konverziós hatékonysága poliszorbát jelenlétében

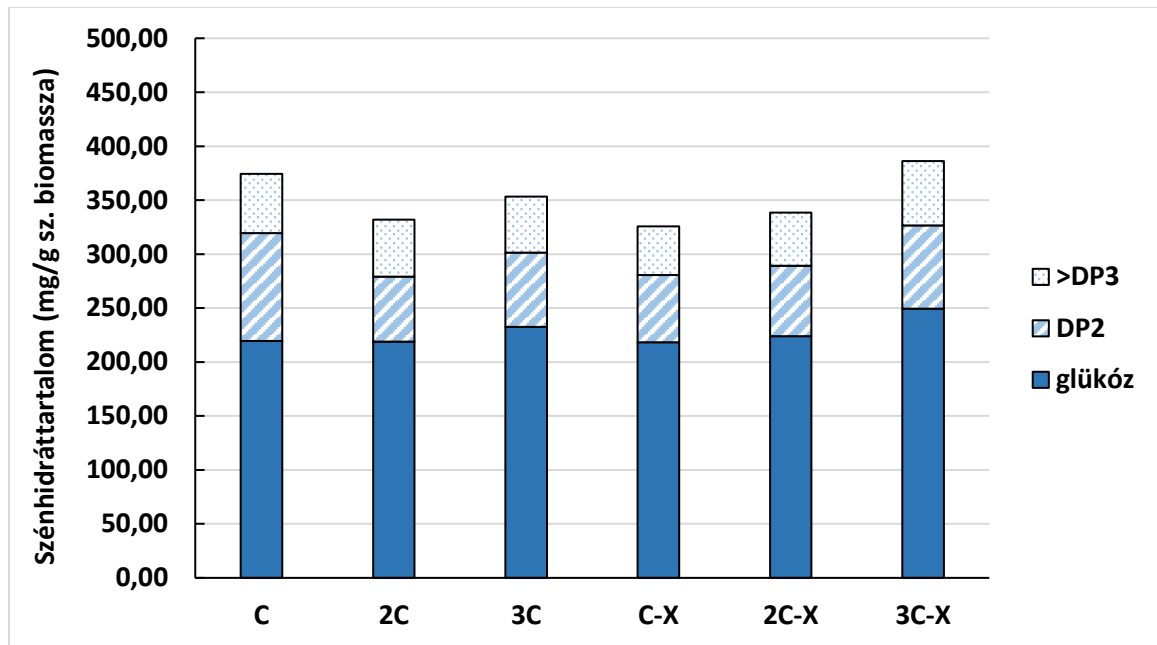
A konverzió határfoka elérte a 30 % -ot. A pufferelt rendszer 50 perces kezelése 31%-os konverziót eredményezett, míg a vizes rendszer 30 perc után 33%-ot, 50 perc után pedig 37%-ot (**23.ábra**). A kapott eredmények alapján a szeparált és szimultán ultrahangos kezelés és enzimes hidrolízis tanulmányozását vizes rendszerben, poliszorbát jelenlétében és 50 perces előkezelési idővel folytattam.

5.4 Szeparált és szimultán ultrahangos kezelés összehasonlítása

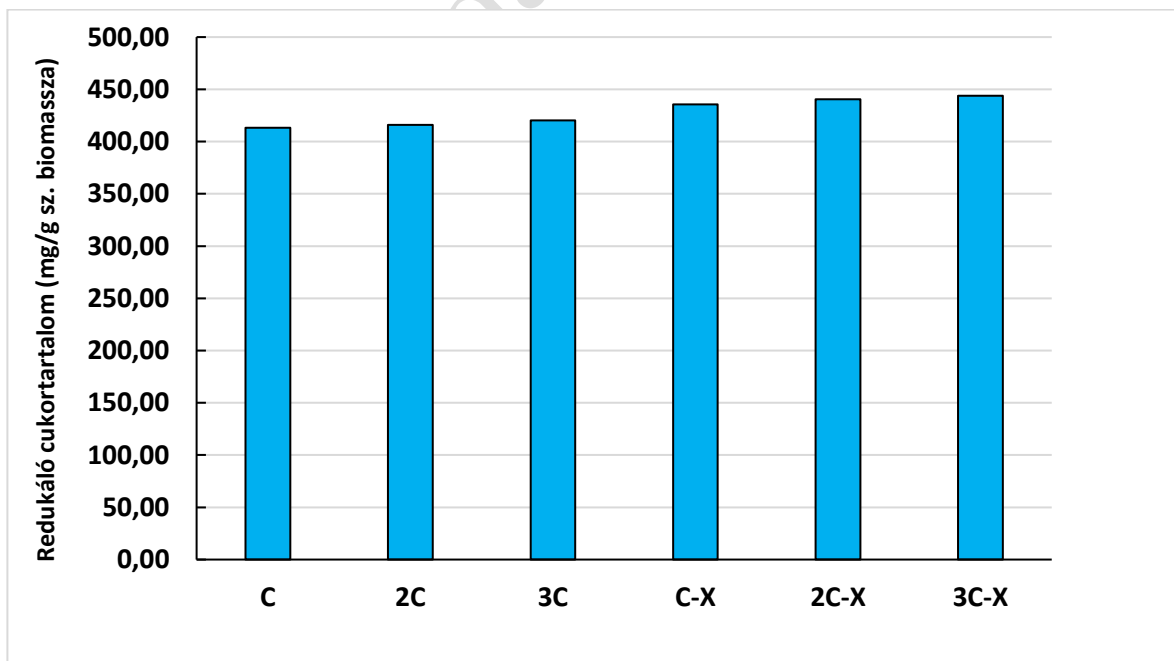
Az ultrahangos kezelés környezeti tényezőinek vizsgálatát követően két különböző ultrahangos technika hatékonyságát hasonlítottam össze, továbbá az ipari enzimek (celluláz és xilanáz) adagolásának hatását követtem nyomon az oldatba vitt szénhidrát- és cukortartalom függvényében. A kukoricacsutka őrlemény ultrahangos kezelése vizes rendszerben történt: 1/30 nedvesítési arány és 50 perces kezelési időtartam mellett. A technikától függően a poliszorbátot az ultrahangos kezelést követően (szeparált), vagy az ultrahangos kezelés kezdetén (szimultán) adtam a rendszerhez.

5.4.1.1 Szeparált ultrahangos kezelés

Az időben eltolt ultrahangos kezelés és enzim hidrolízis során az oldatba vitt szénhidrát és cukortartalom értékeit az alábbi **24.** és a **25. ábra** szemlélteti.

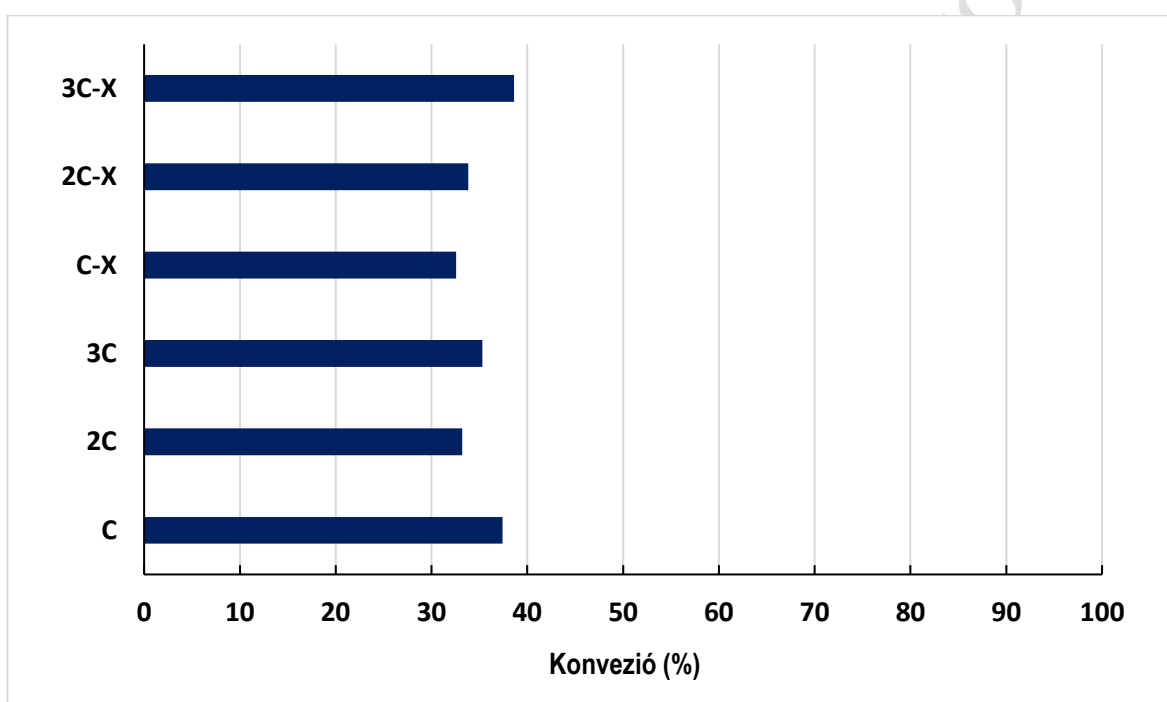


24. ábra: Különböző enzimadagok hatása az ultrahangos kezelésre és az enzim hidrolízisre



25. ábra: Különböző enzimadagok hatása az ultrahangos kezelésre és az enzim hidrolízisre

Az enzimek dózisának növelése lényegi hatást nem fejtett ki az erjeszhető cukortartalomra. Ennek oka, hogy az ultrahangos közeg elválasztásának kihagyása a rendszerben tartotta az aromás lignin származékokat, amelyek az enzimek aktivitását részben csökkentették. Másrészt, a kukoricacsutka szerkezete is igen összetett, és az ultrahangos kezelés során a szerkezet kisebb mértékű lazítása az enzimek korlátozott hozzáférést eredményezett a szénhidrát polimerekhez. Az adott kezelési körülmények között az oldott szénhidrát tartalom 386 mg/g értéken tetőzött, ahol a DP2 frakció 62 és 99 mg/g, a glükóz mennyisége pedig 218 és 249 mg/g között alakult. A redukáló cukortartalom 413 és 443 mg/g érték között mozgott.



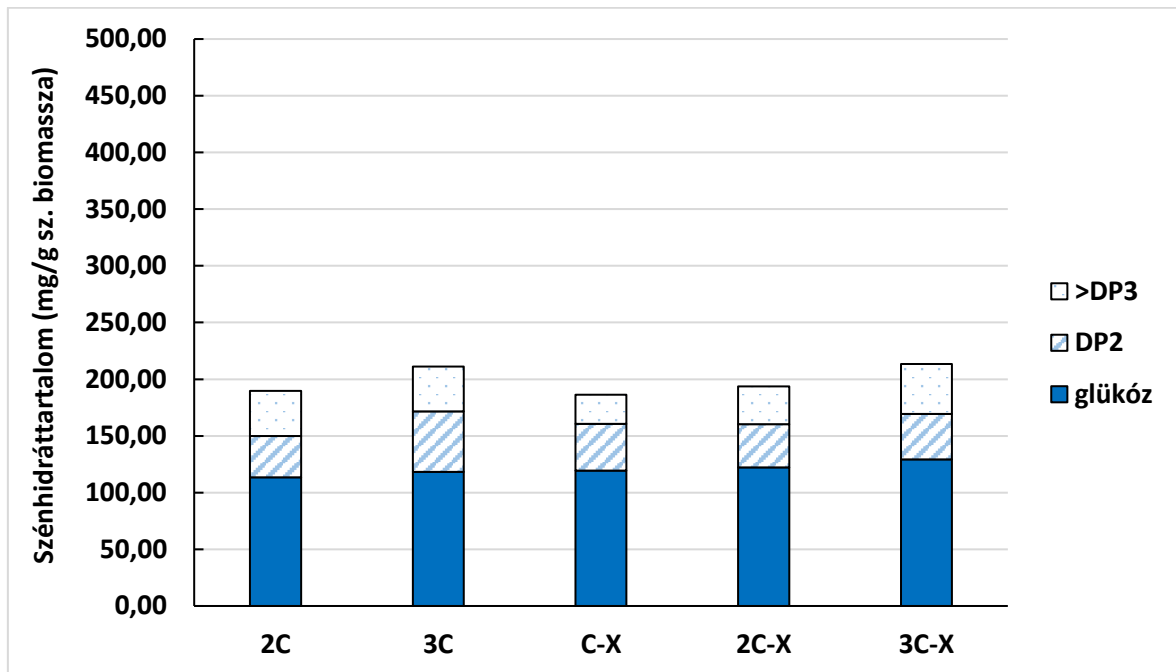
26. ábra: A szeparált ultrahangos kezelés és enzimes hidrolízis konverziós hatékonysága különböző enzimbeállítások esetében

A konverziófokok minden esetben elérték a 30%-ot, és többnyire 32 % és 39 % között alakult az enzimes hidrolízis hatékonysága (**26. ábra**).

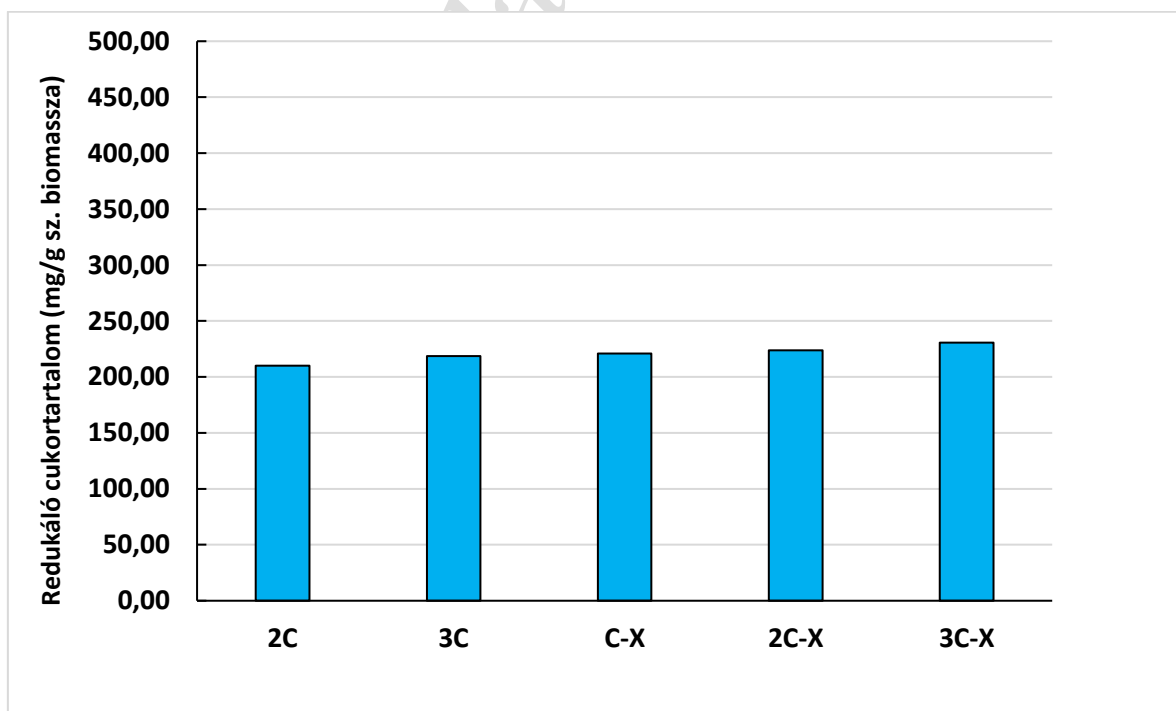
5.4.2 Szimultán ultrahangos kezelés

Az egyidejűleg indított ultrahangos kezelés és enzimes hidrolízis eredményeit az alábbi **27. és 28. ábra** foglalja össze. Az eddigi szeparált technikák során sikeresen növelt szénhidrát- és cukortartalom eredményekhez képest, a szimultán technikánál lényeges csökkenést tapasztaltam. Az oldott szénhidrát tartalom közel kétszeresére csökkent, ekkor a

rendszerben 186 és 213 mg/g közötti értéket mértem. A kukoricacsutka mintákban a glükóz mennyiége csupán 118-129 mg/g értéket ért el.

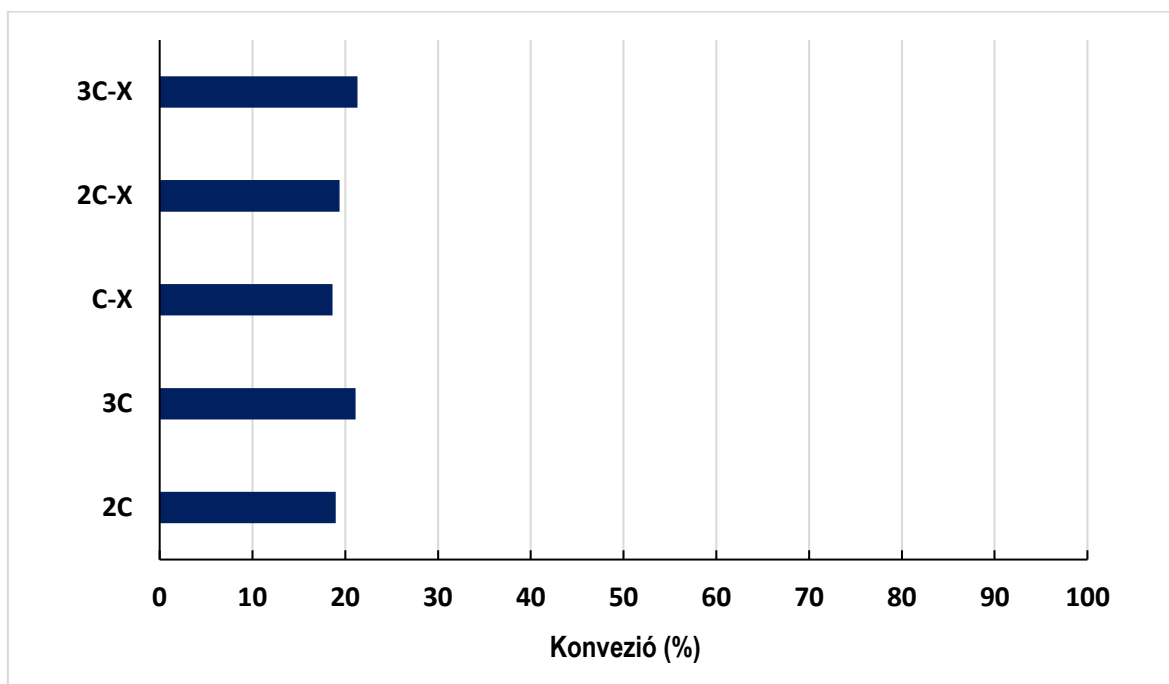


27. ábra: Különböző enzimadagok hatása az ultrahangos kezelésre és az enzimes hidrolízisre



28. ábra: Különböző enzimadagok hatása az ultrahangos kezelésre és az enzimes hidrolízisre

A redukáló cukortartalom mennyisége hasonló tendenciát mutatott (28.ábra). A konverzió hatásfoka 19 % és 21 % körül alakult (29.ábra).



29. ábra: A szimultán ultrahangos előkezelés és enzimes hidrolízis konverziós hatékonysága különböző enzimbeállítások esetében

5.5 Etanolfermentáció modellezése

A próbaerjesztési kísérletek előtt léptéknövelt szeparált ultrahangos kezelést és enzimes hidrolízist végeztem el. Az előkezelésnél és enzimes hidrolízisnél a szubsztrátumot szárított, valamint nedves örleményként is használtam. Az enzimes hidrolízisnél cellulázt (255 U/g), valamint celluláz (255 U/g) és xilanáz (25 U/g) keverékét alkalmaztam.

4.táblázat: Az elért etanol koncentrációk és azok konverziós hatékonysága

Fermentáció	Glükóz koncentráció (g/100ml)	Elméleti etanol (v/v %)	Tényleges etanol (v/v %)	Etanol konverzió (%)
Szárított örlemény (C)	1,83	0,93	0,51	55
Szárított örlemény (C+X)	1,97	1,00	0,58	58
Nedves örlemény (C)	2,33	1,19	0,63	53
Nedves örlemény (C+X)	2,49	1,27	0,71	56

A próbaerjesztéseket 120 órán át követtem nyomon. A 96 órát követően a cefrék etanol tartalma további növekedést nem mutatott. Az alábbi **4.táblázat** az ultrahangosan kezelést és enzimesen bontott kukoricacsutka minták esetén az erjeszhető cukortartalmat, az elméleti és tényleges etanolkoncentrációt és a konverziós rátát tartalmazza.

A szárított őrlemény esetében a cefrékben mért glükóz koncentráció 1,83 (m/v) % volt, ami fermentáció végére 0,51 (v/v) % etanol hozamot jelentett. A cukortartalmat az enzimkeverék alkalmazása 1,97 (m/v)%-ig növelte, ezesetben az etanol tartalma 0,58 % (v/v)-ra nőtt. A nedves őrlemény használata kedvezőbb konverziót mutatott. Az erjeszhető cukortartalom 2,33 (m/v)%-ra nőtt, míg enzimkeverék jelenlétében már nagyobb növekedést (2,49 m/v %) az előzőkhez hasonlóan nem mutatott. A cefrék etanoltartalma ekkor 0,63-0,71 (v/v) % között alakultak. Ezek alapján úgy gondolom, hogy a kukoricacsutkát nem érdemes szárítani (vagy kíméletesebb szárítást kell biztosítani), mivel további nem kívánatos, az enzimes hidrolízist és az etanolfermentációt gátló vegyületek keletkeznek magas hőmérsékleten. A fermentációs rendszerek működőképeseek, azonban a technológia további optimalást igényel a kukoricacsutka hatásosabb feltárása és a szénhidrátok polimerek kedvezőbb hidrolízise érdekében.

6 ÖSSZEFOGLALÁS

Az elmúlt években a közlekedés ágazat és a fogyasztói igények rohamos növekedése az üzemanyagok iránti keresletet lényegesen növelte. A fosszilis üzemanyagok ilyen mértékű kitermelése és elégetése a klímaváltozást erősíti. A környezetszennyezés visszaszorítása érdekében egyre nagyobb teret nyernek a bioüzemanyagok. A bioüzemanyagok körében az egyik ígéretes alternatíva a bioetanol. A bioetanol előállítására ma már többféle technológia áll rendelkezésre, ugyanakkor még ezek fejlesztésével sokat foglalkoznak a kutatók. A technológiák terén a másodikgenerációs irányvonal alapanyagkészleteként cellulózban gazdag növényi maradványokat hasznosítanak. Ilyen maradványok nagymennyiségben keletkeznek mezőgazdasági, erdészeti, agro-ipari tevékenységek során. Hazánkban a gabonafélék között a kukoricát termesztik nagyobb arányban és betakarítása során igen nagy mennyiségben maradnak vissza szár- és gyökérmaradványok. Emiatt úgy döntöttem a szakdolgozati munkám során, hogy az etanolfermentáció folyamatát kukoricacsutka szubsztrátumon modellezem. Az alapanyag enzimes hidrolízise és alkoholos erjesztése nélkülözhetetlen technológiai lépés az előkezelés. Az ultrahangos előkezelés egy ígéretes fizikai módszer, amely megfelelő körülmények között a növényi sejtszerkezet töredezettségét eredményezi az akusztikus hullámok energiájának köszönhetően.

A kísérleteim során az alábbi főbb eredményeket értem el:

- Megállapítottam, hogy az ultrahangos kezelés közegének aránya és a kezelési időtartamának növelése a kukoricacsutka őrlemény enzimes bonthatóságát javította. A puffertelt rendszerben (Na-acetát, pH 5) indított ultrahangos kezelés 1/45 (g/ml) töltési arány és 50 perc kezelési időtartam esetén 40 kHz frekvencián eredményezett nagyobb oldott szénhidrát hozamot. A szénhidrát tartalom 150 mg/g, a konverzió 14-15 % körül alakult.
- A szerves oldószeres (etanol és víz 1:20 arányú elegye) rendszerben indított ultrahangos kezelést (1/30 g/ml töltési arány, 50 perc) követően a szerves oldószer eltávolítása (mosási szakasz) az enzimes hidrolízis az oldatba vitt DP2 (39,63 mg/g) és DP3 (31,22 mg/g) frakciót csökkentette, a glükóz (76,34 mg/g) mennyiségét növelte. Megállapítottam, hogy a szerves oldószer segítette az aromás vegyületek extrahálását, aminek köszönhetően az enzim jobban ki tudta fejteni az aktivitását. A mosási szakasz azonban a rendszerből értékes szénhidrátokat távolított el, amely csökkentett a módszer hatékonyságát.

- A Tween 40 poliszorbát esetén igazoltam, hogy az enzimes hidrolízis hatékonyságát segíti. A szerves oldószerben ultrahangosan kezelt minták hidrolízise során ugyan sikerült növelni a glükóz hozamot, azonban ennél jobb eredményeket a vizes rendszerben (mosás nélküli) ultrahangos kezelt kukoricacsutka hidrolízise eredményezett. Ekkor 30 és 50 perces kezelési időtartammal az oldott szénhidrát tartalom 330-374 mg/g között alakult. A konverzió elérte a 33-37%-ot.
- A szeparált és szimultán módon indított ultrahangos előkezelés és enzimes hidrolízis közül a szeparált módszer kedvezőbb eredményeket adott. Az enzimek dózisának növelése nem fejtett ki lényegi hatást. Az oldott szénhidrát tartalmat 386 mg/g értéket (249 mg/g glükóz) ért el.
- Az etanolfermentáció során használt nedves, valamint szárított kukoricacsutka őrlmények esetében megállapítottam, hogy nem célszerű szárítást alkalmazni a kezelése előtt (vagy kíméletesebb szárítás ajánlott), mert az alapanyag összetétele módosulhat, kedvezőtlen hatású inhibitorok keletkezhetnek, amelyek a rendszer teljesítményére negatívan hatnak. Az enzimek keverékek használatával részben fokozható volt a glükóz és az etanol hozam. Szárított kukoricacsutka esetében ez 1,97 (m/v)% glükóz és 0,58 (v/v)% etanol koncentrációt, míg nedves kukoricacsutka esetében 2,49 (m/v)% glükóz és 0,71 (v/v)% etanol koncentrációt jelentett.

Az eredmények alapján az ultrahangos előkezelés hatást fejtett ki a növényi rostszerkezetre, az etanolfermentációs technológia működőképes, azonban a rendszer hatékonyságának növelése érdekében az további optimalizációs műveleteket igényel. A továbbiakban célszerűnek tartanám szerves oldószeres lignin extrakció tanulmányozását, az ultrahangos kezelés frekvenciájának és hőmérsékletének vizsgálatát, valamint más ipari enzimek keverékek tesztelését is.

7 HIVATKOZÁSOK

- Balla, Z. 2013. A biomassza alapú etanol előállítás fejlesztésének lehetőségei, a keményítő és cellulóz alapú bioetanol gyártás vonatkozásában. *Agrártudományi közlemények*, 51. kötet.
- Benkő, Z. 2008. Lignocellulózok értéknövelő feldolgozása fizikai és biológiai módszerekkel. PhD értekezés, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
- Bhutto, A. W., Qureshi, K., Harijan, K., Abro, R., Abbas, T., Bazmi, A. A., Karim, S., Yu, G. 2017. Insight into progress in pre-treatment of lignocellulosic biomass. *Energy*, 122:724-745.
- Chen, M., Zhao, J., Xia, L. 2008. Enzymatic hydrolysis of maize straw polysaccharides for the production of reducing sugars. *Carbohydrate Polymers*, 71(3):411-415.
- Collins, T., Gerday, C., Feller, G., 2005. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. *FEMS Microbiology Reviews*.29 (1):3-23.
- Costa Sousa, L., Chundawat, P. S. S., Balan, V., Dale, B. 2009. 'Cradle-to-grave' assessment of existing lignocellulose pretreatment technologies. *Current Opinion in Biotechnology*, 20(3):339-347
- Dolatowski, Z., Stadnik, J., Stasiak, D., 2007. Applications of ultrasound in food technology. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 6(3):89-99.
- Ebringerová, A., Hromádková, Z., Heinze, T., 2005. Hemicellulose. *Polysaccharides I*, 186:1-67.
- Gupta, R., Sharma, K. K., Kuhad, R. C., 2009. Separate hydrolysis and fermentation (SHF) of *Prosopis juliflora*, a woody substrate, for the production of cellulosic ethanol by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis*-NCIM 3498. *Bioresource Technology*, 100:1214-1220.
- Harmsen, P., Huijgen, W., Bermudez, L., Bakker, R., 2010. Literature review of physical and chemical pretreatment processes for lignocellulosic biomass, Wageningen: Wageningen UR - Food & Biobased Research, 1184
- Horn, S. J., Vaaje-Kolstad, G., Westereng, B., Eijsink, V., 2012. Novel enzymes for the degradation of cellulose. *Biotechnology for biofuel*, 5(1):45.
- Jenkins, B., Karimi, M., Stroeve, P., 2014. Ultrasound irradiation in the production of ethanol from biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 40: 400-421.
- Kengyel, Á., 2010. *Az Európai Unió közös politikái*. Budapest: Akadémiai Kiadó.
- Lin, Y., Tanaka, S., 2006. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 69(6):627-642
- Lin, Y., Zhang, W., Li, C., Sakakibara, K., Tanaka, S., Kong, H., 2012. Factors affecting ethanol fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742. *Biomass and bioenergy*, 47: 395-401.

- Mankar, A., Pandey, A., Modak, A., Pant, K., 2021. Pretreatment of lignocellulosic biomass: A review on recent advances. *Bioresource Technology*, 334:125235
- Ma, S. Li, Y., Li, J., Yu, X., Cui, Z., Yuan, X., Zhu, W., Wang, H., 2022. Features of single and combined technologies for lignocellulose pretreatment to enhance biomethane production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 165. kötet.
- Mizik, T., 2018. Agrárgazdaságtan 2. Akadémiai Kiadó.
- Nelson, N., 1944. A photometric adaptation of the somogyi method for the determination of glucose. *Journal of biological chemistry*, 153(2): 375-380.
- Némethy, S., 2018. Bioenergetika társadalmi, gazdasági és környezeti kontextusban. *Magyar Tudomány*, 179(8):1232-1243.
- Olughu, O., Tabil, L., Dumonceaux, T., 2021. Ultrasonic delignification and microstructural characterization of switchgrass. *New Horizons in Biofuel Production, Technologies, and Emissions*. 14(2):263
- O'Sullivan, A. C., 1997. Cellulose: the structure slowly unravels. *Cellulose*, 4:173-207.
- Pokol, G., Gyurcsányi, E. R., Simon, A., Bezúr, L., Horvai, G., Horváth, V., Dudás, K.M., 2011. *Analitikai Kémia*. Budapest: Typotex Kiadó.
- Popp, J., Bai, A., 2018. Megújuló energiaforrások, különös tekintettel a bioüzemanyaggyártásra: Nemzetközi kitekintés. *Magyar Tudomány*, 179:1197-1207.
- Sevella, B., 2012. *Biomérnöki műveletek és folyamatok*. Budapest: Typotex Kiadó.
- Silvello, M.A., Camargo, A.F., Scapini, T., Paudel, S.R., Treichel, H., Goldbeck, R., 2021. Enzymatic hydrolysis intensification of lignocellulolytic enzymes. *BioEnergy Research*, 15(2):875-888.
- Somogyi, M., 1951. Notes on sugar determination. *Journal of biological chemistry*, 195(1):19-23.
- Tarján, I., 1971. *Fizika orvosok és biológusok számára*. Budapest: Medicina Könyvkiadó.
- Thangavelu, K., Ramesh, D., Uthandi, S., 2020. Delignification of corncob using ultrasonic pretreatment. *Madras Agricultural Journal*, 107:1-4.
- Weng, K., Li, X., Bonawitz, N., Chapple, C., 2008. Emerging strategies of lignin engineering and degradation for cellulosic biofuel production. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(2):166-172.
- Wirawan, F., Cheng, C., Kao, W., Lee, D., Chang, J., 2012. Cellulosic ethanol production performance with SSF and SHF processes using immobilized *Zymomonas mobilis*. *Applied Energy*, 100:19-26.
- Yi, G., Zhang, Y., 2012. One-pot selective conversion of hemicellulose (xylan) to xylitol under mild conditions. *ChemSusChem*. 5(8):1383-1387

Zou, Y., Jun, F., Zhi, C., Luquan, R., 2021. Field decomposition of corn cob in seasonally frozen soil and its intrinsic influencing factors: The case of northeast China. *Agriculture*. 11(6):556

Internetes hivatkozások

Internet 1

<https://agraragazat.hu/hir/agrar-kozel-5-millio-hektar-muvelt-terulet-ksh-mezogazdasag/>
(megtekintés: 2023.04.06.)

Internet 2

<https://agroforum.hu/agrarhirek/novenytermesztes/az-egyesult-allamok-a-vilag-legnagyobb-kukoricatermeloje/> (megtekintés: 2023.02.27.)

Internet 3

<https://www.ksh.hu/docs/hun/xftp/stattukor/fobbnoveny/2021/index.html>
(megtekintés: 2023.04.06.)

Internet 4

<https://galamb.agronaplo.hu/szakfolyoirat/2015/11/gepesites/van-megoldas-a-kukoricacsutka-betakaritasara> (megtekintés: 2023.02.27.)

Internet 5

<https://pubsapp.acs.org/cen/coverstory/86/8649cover2.html> (megtekintés: 2023.03.17.)

Internet 6

http://real.mtak.hu/107731/1/MGTECH_2018jan.pdf (megtekintés: 2023.04.20.)

Internet 7

<https://partiumigazda.ro/mit-kezdjunk-a-kukoricaszarral> (megtekintés: 2023.04.10.)

Internet 8

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ethanol> (megtekintés: 2023.04.17.)

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton is szeretnék hálás köszönetet mondani témavezetőmnek Dr. Kohári-Farkas Csillának, aki szakértelmével, hasznos tanácsaival és konzultációkkal is segítette a munkámat.

Továbbá köszönettel tartozom a MATE Biomérnök és Erjedéssipari Technológia Tanszéknek, hogy helyet adott a kísérleteim elvégzéséhez.

Elek Vanda Szakdolgozat

NYILATKOZAT

a szakdolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Elek Vanda
A Hallgató Neptun kódja: EU3E40
A dolgozat címe: Ultrahangos kezelés hatása a kukoricacsutka örlemény enzimes bonthatóságára
A megjelenés éve: 2023
A konzulens tanszék neve: Biomérnöki és Erjedésipari Technológia Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott szakdolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, s az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

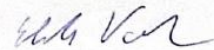
Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a Záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemi tulajdonkezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe.

Kelt: 2023. április 20.


Hallgató aláírása


KONZULTÁCIÓS NYILATKOZAT

Elek Vanda (hallgató Neptun azonosítója: EU3E40) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a szakdolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A szakdolgozatot a záróvizsgán történő védeésre javaslom / nem javaslom.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem

Kelt: 2023. április 20.


Belső konzulens