

# LIGNOCELLULÓZOK FELTÁRÁSA

## Második munkaszakasz

Kutatási projektünknek ebben a szakaszában a kutatási tervnek megfelelően folytattuk a korábbi szakaszban megkezdett munkákat, de más, az eddigi eredményeknek megfelelő új irányokba, elsősorban a cellulózok bonthatóságának kérdéskörébe, illetve az enzimaktivitások mérésébe is belefogtunk.

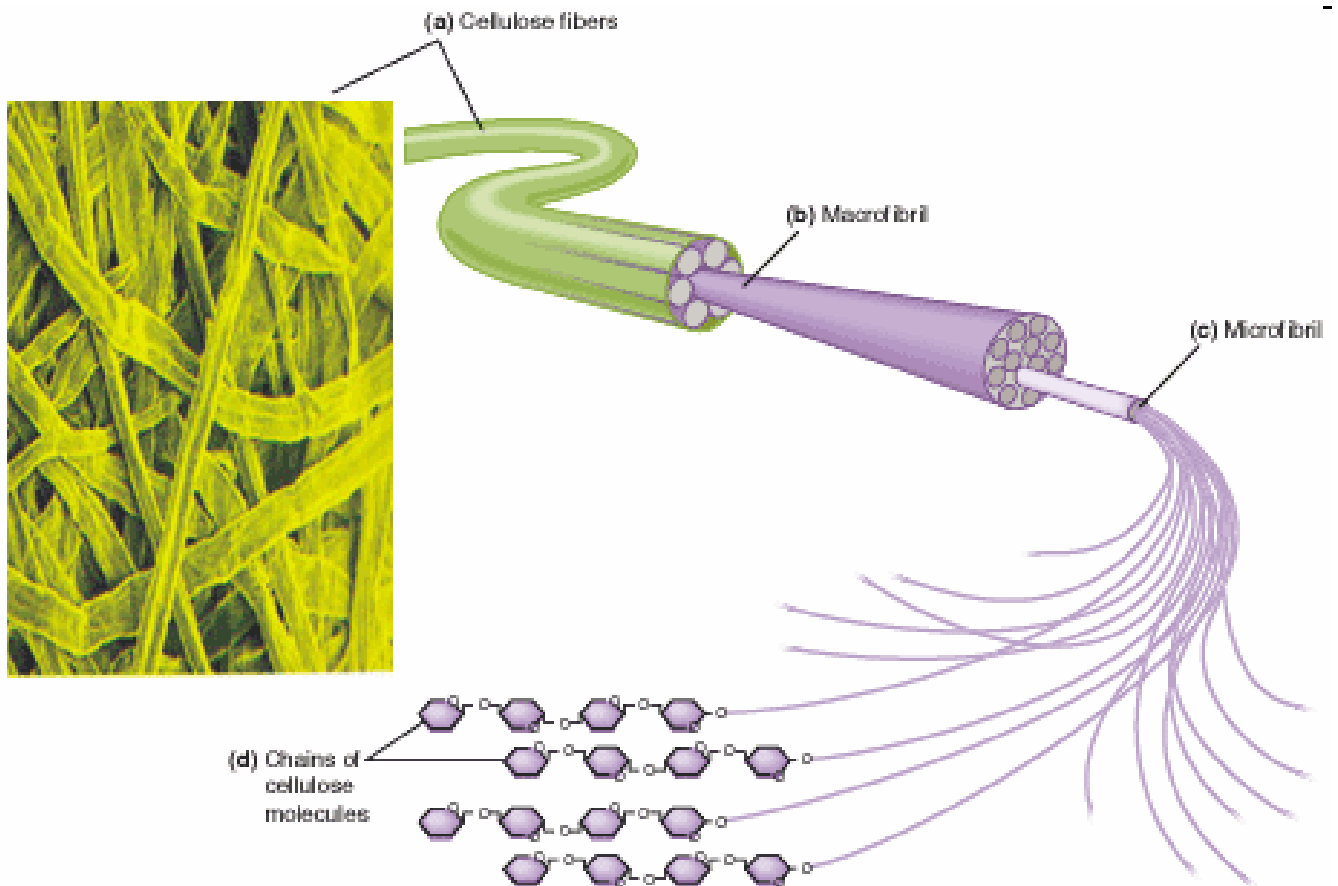
A biogáz erőműveknél a szerves anyag lebomlási fokának javítása s így az ehhez szükséges művelet, a szubsztrát megfelelő előkezelése is egyre fontosabb gazdaságossági kérdés. Ugyan Hazánkban még csak kevés működő biogáz erőmű található, de Európa más országaiban ezek száma gyorsan növekszik. A szomszédos Szlovéniában hét nagy teljesítményű erőmű, Ausztriában több száz, Németországban pedig majd 4000 (!) található, de utóbbiak száma a várakozások szerint 2009-re 5000 fölé fog emelkedni. Nagyon fontos tehát, hogy olyan technológiákat dolgozzunk ki, melyek ezt az alternatív energiatermelési módot egyre hatékonyabbá teszik.

Egy biogáz-erőmű ugyanis jelenleg nagyberuházás. Mivel a biomassza jelentős része nem hidrolizált formában jut a fermentorokba, meglehetősen hosszú tartózkodási idő (40-60 nap!) kell a lebomláshoz, melynek eredményeképpen több ezer köbméter térfogatú fermentor tartályokra van szükség (Ha naponta csak 200 m<sup>3</sup> szervesanyagot adunk be a fermentorokba, akkor pl. 30 napos tartózkodási idővel számolva is 200 x 30 = 6000 m<sup>3</sup> –es térfogatra van szükség!).

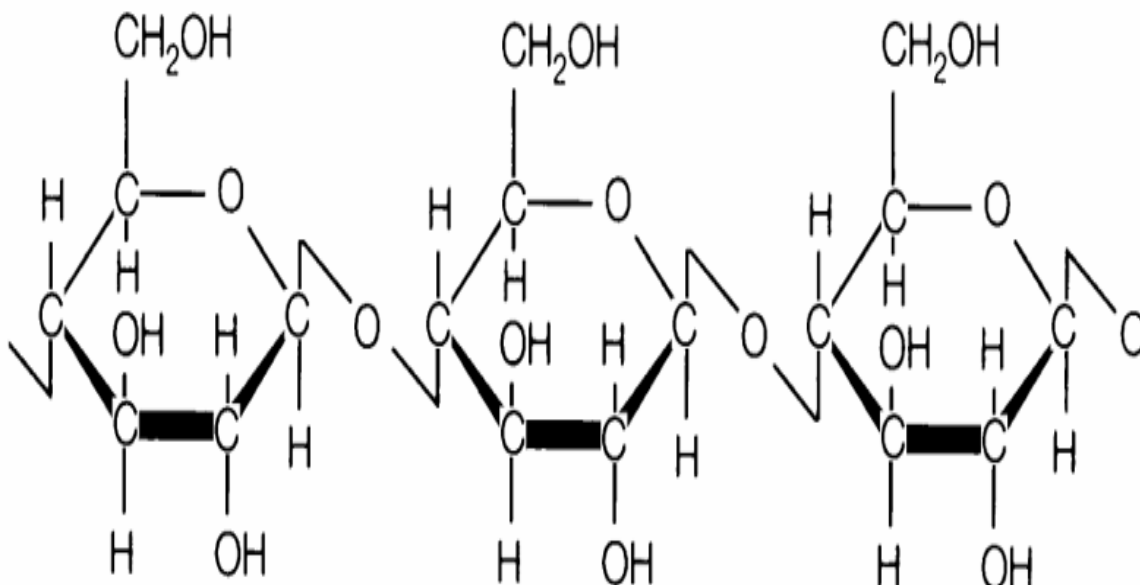
Ezt a hatalmas térfogatot tervezni, felépíteni, keverni, fűteni, magas beruházási- és üzemköltséggel jár. *Kívánatos lenne tehát a méretek, vagyis a tartózkodási idő csökkentése, hiszen ezzel az alternatív energiatermelés jelentősen hatékonyabbá és olcsóbbá válhatna!* A nagy méret különösen a növényi hulladékkal üzemelő erőművek esetén fontos, **mert a növényi rostokban igen nagy mennyiségben előforduló cellulóz, lignocellulóz, hemicellulóz, lignin anaerob fermentáció során alig bomlik.** Így a bemenő szerves anyag jó része lebomlatlanul hagyja el az erőművet. Hiába volt az oda- és elszállítás, előkezelés, fűtés...stb.

Mivel a biogáz-erőművekbe kerülő növényi rostok igen jelentős része cellulóz, lignocellulóz és hemicellulóz, az ultrahangos előkezelések végrehajtásánál ezekre a nehezen lebontható komponensekre koncentráltunk.

A cellulóz főleg szerkezeti sajátosságai miatt nehezen bontható:

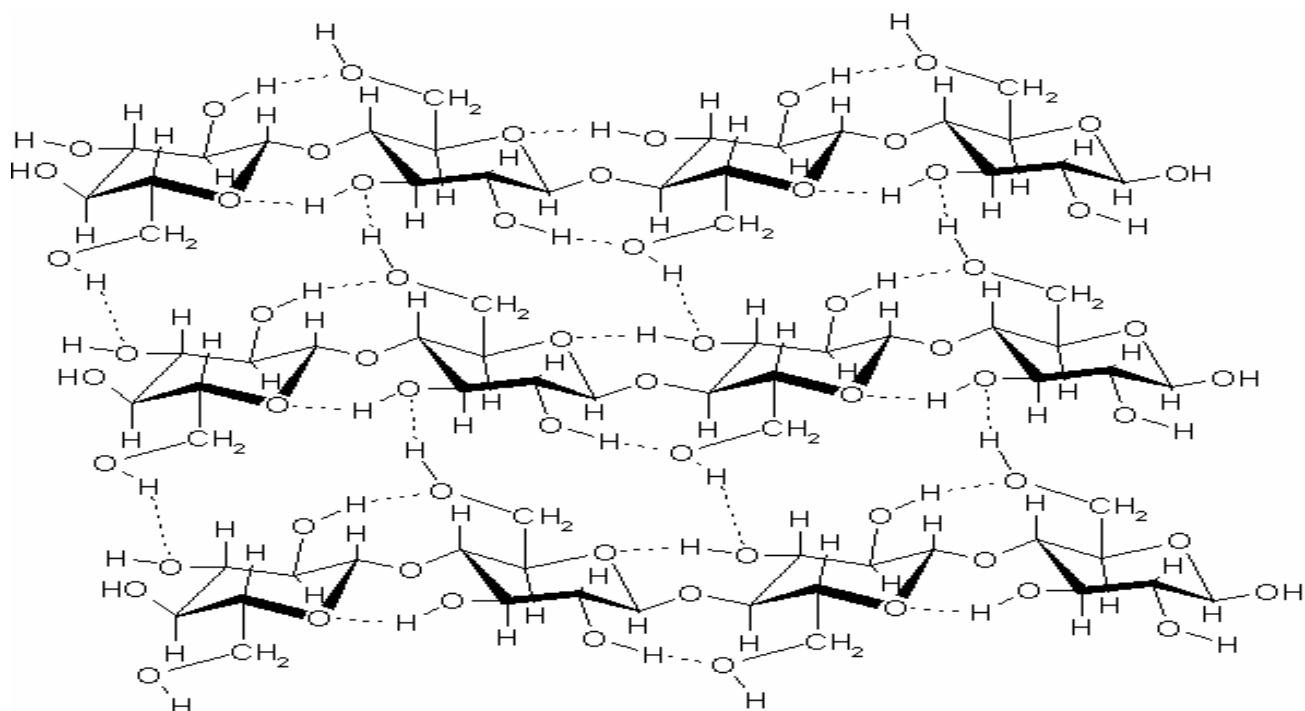


A 20-100 mikron nagyságú növényi rostok több párhuzamos kötegből állnak, melyeket „szorosan pakolt” lineáris, kristályos cellulóz láncok alkotnak. Ezek a láncok béta-glükóz molekulák láncai.

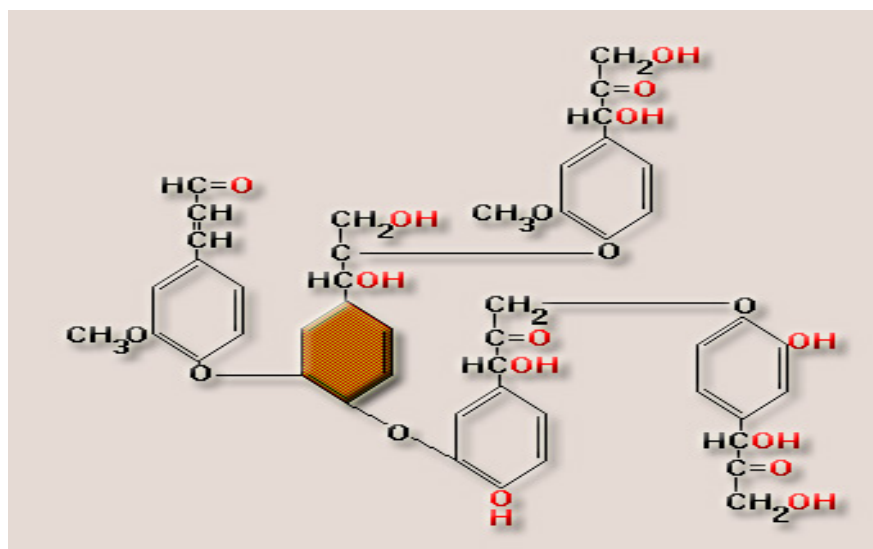


A láncok gyűrűinek kötési energiái néhány 100 kJ/mol-t is elérik (kovalens kötések), de a gyűrűk közötti béta kötéseké ennél kisebb. Ezért és főleg morfológiai okokból, melyek a molekuladinamikát és az enzimek lánchoz való kapcsolódását is megszabják, a láncot az utóbbi kötések mentén lehet lebontani. Ezt a lebontást kémiai szakkifejezéssel hidrolízisnek is nevezik.

A lánc biokémiai hidrolíziséhez enzimekre van szükség, melyek a gyűrűk közötti kötésekhez hozzáférve azokat felbontják. Sajnos azonban a láncok oldalain található H-atomok a szomszédos láncokkal hidrogén-híd kötések képeznek, mely a kristályos cellulóznál az alábbi, enzimek által csak a felületen megközelíthető, rendkívül ellenálló szerkezetet eredményezi:

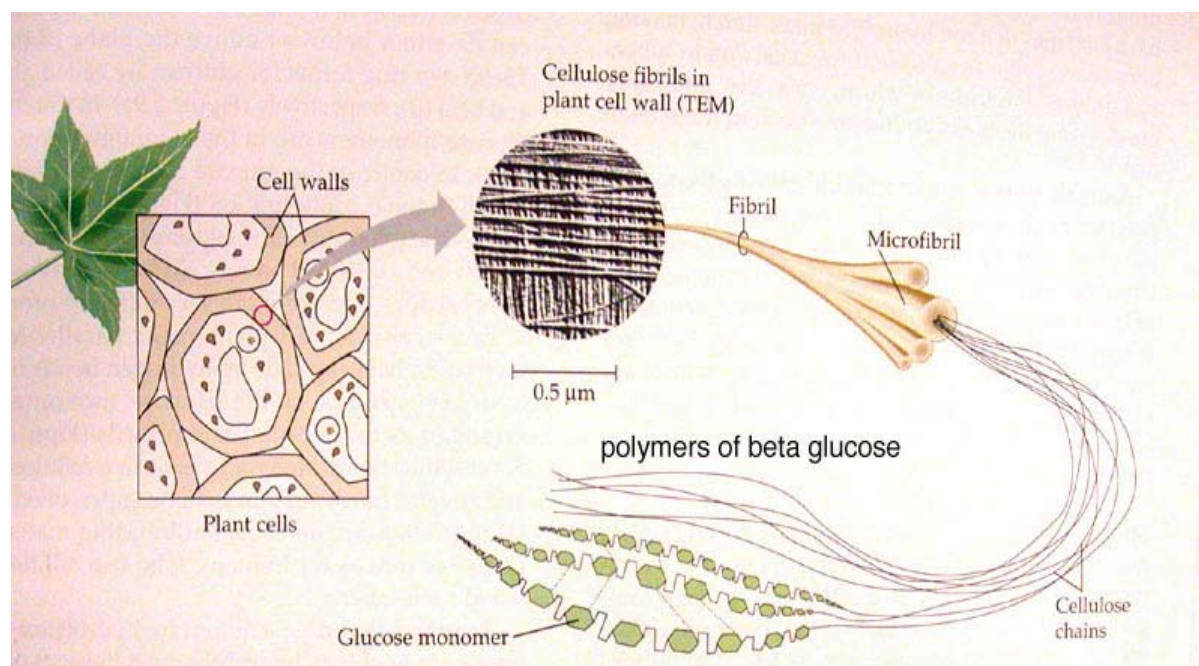


A helyzetet tovább bonyolítja, hogy a cellulóz-láncok felületén és környezetében más monoszacharidokból (mannóz, xilóz, arabinóz...) álló ún. hemicellulózok gátolják az enzimek hozzáférést a kristályhoz, illetve egy, komponenseiben talán még a cellulóznál is nehezebben bontható anyag a lignin köti az egész szerkezetet cementként egy szövevényes 3-dimenziós szerkezetbe. LIGNIN:



A ligninben található aromás gyűrűk adják a fa időtállóságát, ezeket csak aerob gombák enzimejei képesek bontani, ami egy anaerob fermentorban nem fordul elő. A ligninek és hemicellulózok tovább nehezítik a cellulóz lebontását, hiszen elzárják annak felületét a cellulózbontó enzimek elől. Ez a hatás még akkor is megmarad, ha a ligninet valamilyen termikus előkezeléssel (pl. gőzexplózió) oldatba visszük.

Mivel a növények sejtfalai igen nagy mennyiségben tartalmaznak ligno- és hemicellulózokat, valamint cellulózt, a vegetációval évente mintegy 100 billió tonna cellulóz képződik a Földön. (Összehasonlításul: ez kb. 5000-szerese az emberiség össztömegének.)



Ugyan a cellulózok anaerob lebontása összehasonlítva a fehérjék és zsírok gázkihozatalával csak szerényebb mennyiségű metánt (mintegy 0.3-0.44 m<sup>3</sup>/kg szerves szárazanyag) szolgáltat, a cellulózok nagy előfordulási aránya miatt nem engedhetjük meg, hogy ne foglalkozzunk a lebontásukkal. Ez nem csak a biogáz-ipar, hanem a bioethanol gyártás egyik fontos kérdése is.

Az utóbbi évtizedben számos előkezelési eljárást fejlesztettek ki a fenti probléma megoldására, melyek szokásos csoportosítása:

1. kémiai módszerek,
2. termikus módszerek,
3. mechanikai módszerek,
4. biológiai módszerek,
5. kombinált, egyéb módszerek.

Az egyes módszerek részletes ismertetését mellőzve röviden megemlíjtük, hogy a kémiai módszerek általában a pH-érték eltolásával, vagy mesterséges oxidációval működnek, emellett alkáli-kloridok vagy ammónia alkalmazásával érik el a rostok szabad felületének növelését. Sajnos ezek az anyagok környezeti szempontból károsak, gazdaságilag pedig meglehetősen megterhelőek az üzemeltetők számára.

A termikus módszerek hátránya szintén a 200 foknál (általában) melegebb fűtőfelületeken való dioxin-képződés, valamint a tetemes energiaigény, hiszen az egész szubsztrátot fel kell melegíteni 100 fok környékére és a víz fajhője igen nagy!

A biológiai módszerek jók lennének, de önmagukban lassúak, a kombinált (pl. radioaktív besugárzás, gőzexplózió, ammónia-explózió, CO<sub>2</sub>-explózió... stb.) módszerek pedig nagy értékű beruházást (igen drága berendezések) igényelnek, mely használatukat kisebb erőművek számára meggátolják.

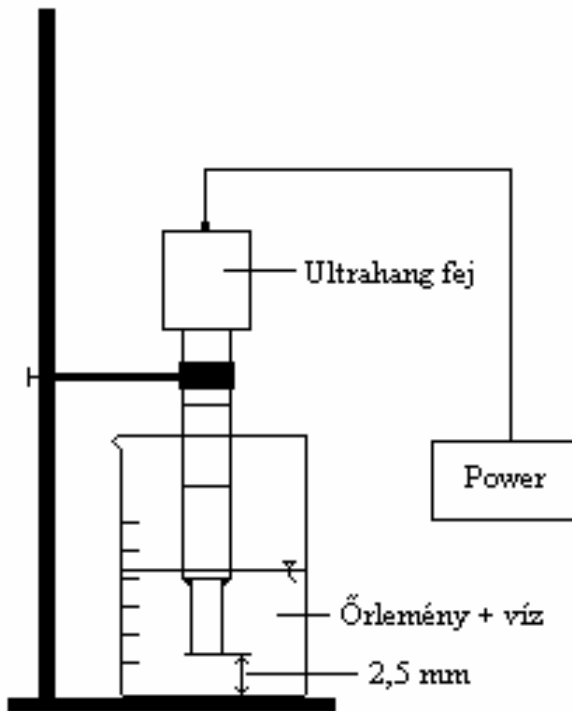
A kutatási projektünkben preferált ultrahangos dezintegrációs módszer az összes mechanikai módszer között energetikailag bizonyítottan a leghatékonyabb, ezért ezt vizsgáltuk.

**Kísérletek:**

Az ultrahangos dezintegráció során képződő kavitációs buborékok nagysága berendezésünkben az implózió pillanatában tipikusan 200-300 mikrométer. Ez megszabja a még jól kezelhető részecskeméret maximumát.

Elméleti megfontolásokkal arra a következtetésre jutottunk, hogy az ultrahang szempontjából legkedvezőbb részecskeméret az 1-2 mm alatti, de 0.5 mm feletti tartomány, melyet a következő kísérletekkel ellenőriztünk:

Kísérleti elrendezés:



A fenti labor-berendezéssel különböző, szubsztrátnak gyakran alkalmazott gabonák (szója, kukorca, búza, szalma...) őrleményeinek ultrahangos bonthatóságát néztük.

A mintákat különböző szemcse nagyságúra őrölve, különböző ultrahang-dózissal kezelve mértük az oldott KOI (kémiai oxigén igény) változásait az alábbi módon:

#### **Száraz őrlemények előkezelése, szemcseméret frakciók készítése.**

A kereskedelemben (takarmánybolt) kapható takarmány őrlemények szemcseméretei különbözőek (lisztfinomság-10 mm). Szita segítségével 2 különböző szemcseméret-tartományú frakciókat készítettünk (a.:1-1.6 mm;b=3-5 mm). Ez alól kivétel a silókukorica, itt a meglévő alapanyag konzisztenciájából adódóan nincs lehetőség szemcseméret alapú minták készítésére. Itt 2 különböző mintát vettünk a meglévő készletből.

#### **5% szárazanyag tartalmú „oldat” készítése.**

Az előzőekben elkészített frakciókból  $500 \text{ cm}^3$  5 m/m % szárazanyagra vonatkoztatott oldatokat készítettünk a számolás részleteinek mostani mellőzésével. Az őrlemény és víz bemérést táramérleggel végeztük el.

#### **Az oldatok ultrahangos besugárzása**

Az ultrahangos készülékkel 120Ws teljesítmény mellett 4 mp-ig sugároztuk be a mintát, majd mintát vettünk a besugárzott rendszerből. Ezt négyszer megismételtük. A frissen elkészített „oldatokból” is vettünk mintát, így összesen 5 minta állt rendelkezésre egy görbe felvételéhez.

### A minták fizikai kezelése

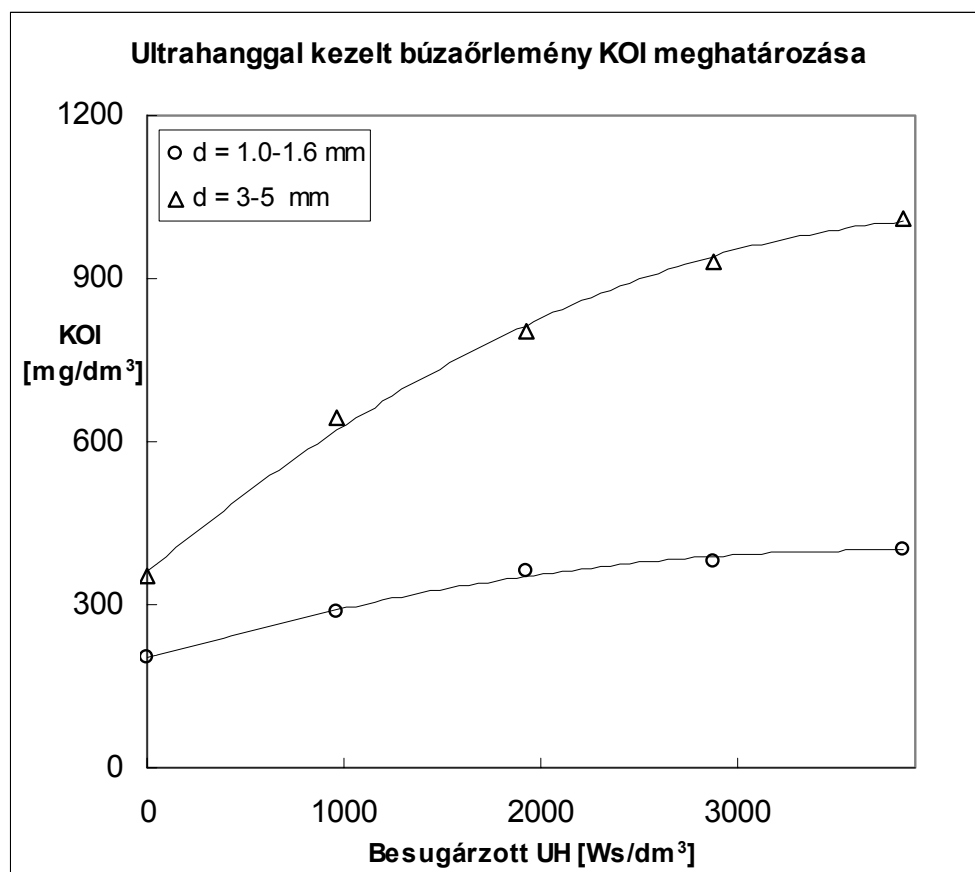
A mintavételezés során a fecskendővel kivett oldatokat centrifugacsövekbe töltöttük, majd 20 percen keresztül 12500 fordulat/perc mellett lecentrifugáltuk. Centrifugálás után az oldat tisztáját 0.45  $\mu$ m-es szűrővel leszűrtük, majd a szűrlet 2 ml-ét a KOI méréshez gyártott küvetába mértük, amely tartalmazta már a reakcióhoz szükséges összes anyagot. Ezt elkészítettük mindegyik mintára és 148°C-ra előmelegített termosztátba 2 órán keresztül temperáltuk. Ennek végeztével a mintákat 10 percig állni hagytuk, majd gondos összerázás után még 30 percig hagytuk ülepedni, illetve szobahőmérsékletűre hűlni.

### KOI mérés

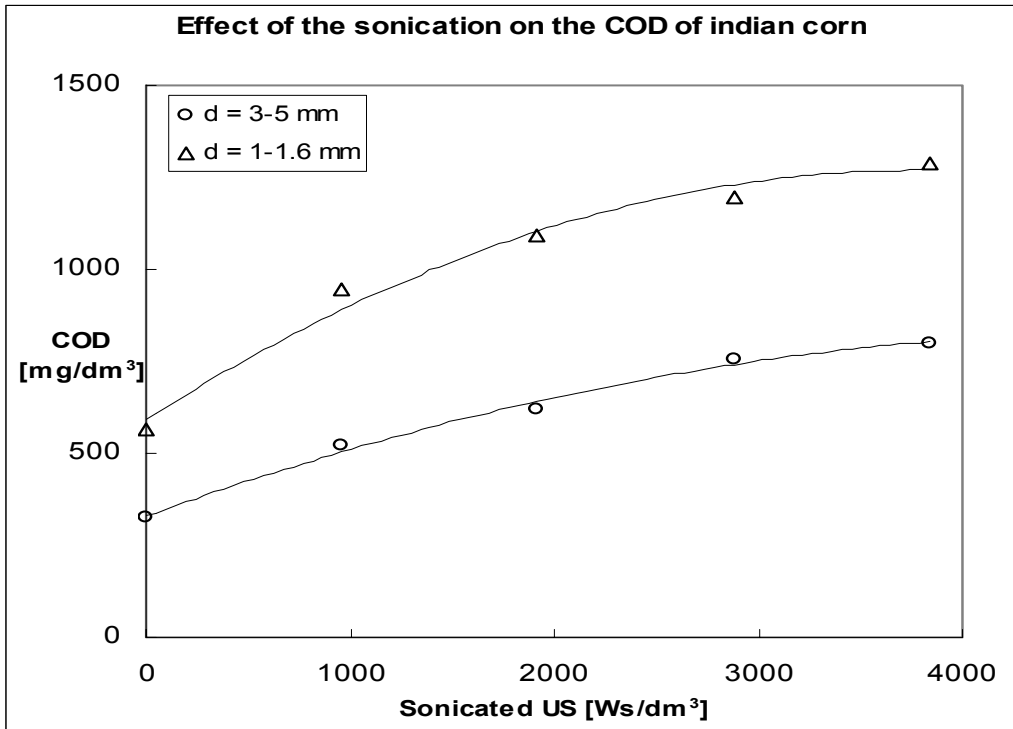
A lehűlt, leülepedett oldatokat fotometriás módszerrel, a készülékbe előre betáplált paraméterek mellett megmértük a minták kémiai oxigén-igényét.

Eredmények:

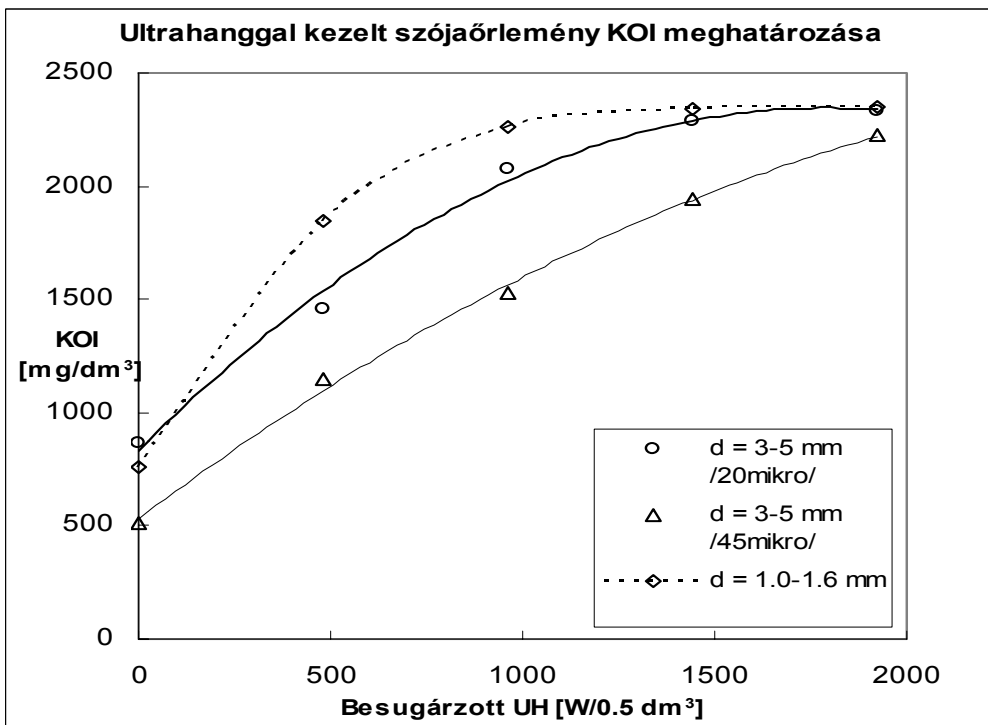
Búza:



Kukorica:



Szója:



Az eredményeken jól látszik, hogy megfelelő szűrés esetén valóban a kisebb szemcseméretű szubsztrát ultrahangos kezelése a hatásosabb. Ennek oka az, hogy az ilyen mérettartományú szemcséken a kavitációs buborékok implóziója nagyobb felületnövekedést tud okozni, mint a 3-5 mm-es szemcséken (geometriai okok) valamint, hogy a kisebb méretű szemcsék darabolását is előidézi egy-egy mikro-robbanás.

Mivel a biogáz-erőművekben alkalmazott szubsztrát előaprítása sajnos nem éri el ezt a finomságot, a technológia alkalmazása megfelelő aprítással, illetve fermentációs idő kb. felénél levő, már részben (konnyebb komponenseiben) hidrolizált szubsztrát kezeléssel javítható.

Erre vonatkozólag Stremben megkezdett. Majd a tavasz végén (a szubsztrát-összetétel nyári változásai miatt nem értékelhető időszak miatt) időlegesen felfüggesztett, a tél beálltával folytatandó nagyüzemi kísérletek adnak majd választ.

Vizsgáltuk a szinte csak cellulózokból álló, szubsztrát-komponens, a szalma kezelési lehetőségeit is. Vizsgálataink 3 fő iránya volt:

1. Optikai vizsgálatok az ultrahangnak a cellulóz rostjaira gyakorolt direkt hatását kimutatandó.
2. Az ultrahangos kezelés során a szalmából képződött monoszacharid koncentráció mérése. (Az ultrahang direkt- hidrolizáló hatásának vizsgálata)
3. Fermentációs kísérletek, az ultrahangos kezelésnek az anaerob fermentációra gyakorolt hatása.

#### 1. Optikai vizsgálatok:

Partnereink rendelkezésre álló elektronmikroszkóppal felvételeket készítettünk a szalmában található rostokról ultrahangos kezelés előtt és után.

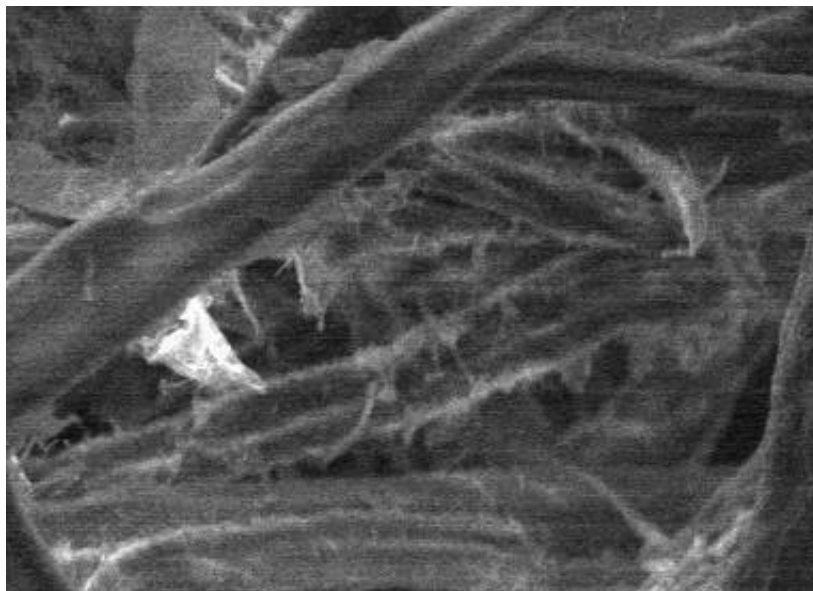
Kezelés előtt:



A felvételen jól látható a cellulóz rostok felszíne is, mely a lebonthatóság szempontjából igen fontos paraméter. A kezelés nagy intenzitással (mintegy 150 w/cm<sup>2</sup>), nagy dózissal (kb. 100 wh/liter, 10%-os szárazanyagot tartalmazó oldatba beáztatott és enyhén lúgos előkezelésen (NaOH) átesett szalmán történt.

A kezelés során a cellulóz-rostok felszíne látványosan megnőtt:

Ultrahangos kezelés után:



A kísérletben markáns eredményt szerettünk volna elérni, hiszen csupán a hatás kvalitatív szemléltetése volt célunk, ezért alkalmaztunk nagy dózist és intenzitást a kezeléseink során.

Kiseb dózisú (50 Wh/l) és intenzitású (40 W/cm<sup>2</sup>) kezeléseink után spektrofotometriai módszerekkel mértük a mintaoldatban található egyszerű monoszacharidok koncentrációit szalma és kukoricacsiló esetére:

Szalmánál ez a koncentráció a fenti kezelés során 270 mg/l –ről 440 mg/l –re nőtt, míg silókukorica esetén 240 mg/l –ről 270 mg/l –re. Utóbbi kísérlet eredményében azonban kételkedünk, mert az ultrahangos rezgőfej meghibásodott a kísérlet végére, ezért ennek a kísérletsorozatnak a megisméltése folyamatban van.

Fontos eredmény, hogy az ultrahangos kezelés hatására a szubsztrát színe megváltozott, szedimentációs- és nedvesedési tulajdonságai javultak. Gyakorlati szempontból ez is igen fontos eredmény, hiszen a szalma felúszása a biogáz erőművekben komoly problémákat okozott az elmúlt években. A szalmát ezen második kísérletsorozatunk előtt nem előkezeltük, még a viaszt sem távolítottuk el belőle, hogy minél valóságosabb képet nyerhessünk a későbbi nagyüzemi alkalmazásokhoz.

Harmadik kísérletsorozatunk, melyben az ultrahangos kezeléseinknek a fermentációra gyakorolt hatását vizsgáltuk, nagyon jó eredményeket szolgáltatott.

Egyszerű „batch-kísérletek” sorozatában néztük a biogáz-fejlődés időbeli lefutását csupán szalmából álló szubsztrát esetére.

A besugárzási dózis 40 Wh/l, az intenzitás kisebb mint 50 w/cm<sup>2</sup> volt.

A kísérlet előtt semmilyen más előkezeltési módszert nem alkalmaztunk, a szalmát 0.5-3 cm-es darabokba aprítottuk és 10% szárazanyag-tartalmú mintákat készítettünk csapvízzel.

Az eredményeket az alábbi ábra szemlélteti:

**Biogas production in the batch experiment  
sonication: ~ 40Wh/l, Intensity < 50 W/cm<sup>2</sup>  
(30 g straw +300 ml distilled water into 1 L sludge)**

A kísérletsorozat elsősorban a rövid távú gázfejlődésre koncentrált, hiszen a fermentorok terhelhetőségének javítása is nagy gyakorlati haszonnal kecsegtet.

Tervezett következő lépés a hosszú távú, folyamatos üzemű megfigyelés, melyből sok más paraméter (pl. enzimaktivitások, ammónia, illósavak...stb.) mérése mellett arra a kérdésre is választ kapunk, hogy a tartózkodási idő pusztán növelése által el tudunk-e érni az előkezelt szubsztrátéhoz hasonlóan jó lebomlási fokot a kezeletlennel is? Ha pedig igen, akkor milyen hosszú tartózkodási idő távlatában. Ezek a kérdések a gyakorlati alkalmazások során bírnak nagy gazdasági jelentőséggel.

A fenti batch -kísérleteket több különböző szubsztrátra is elvégeztük, az alábbiakban először a cukorrépasilóra nyert eredményeket és módszert mutatjuk be.

A kísérletet cukorrépa fermentációjára beállított „eleveniszappal” végeztük.

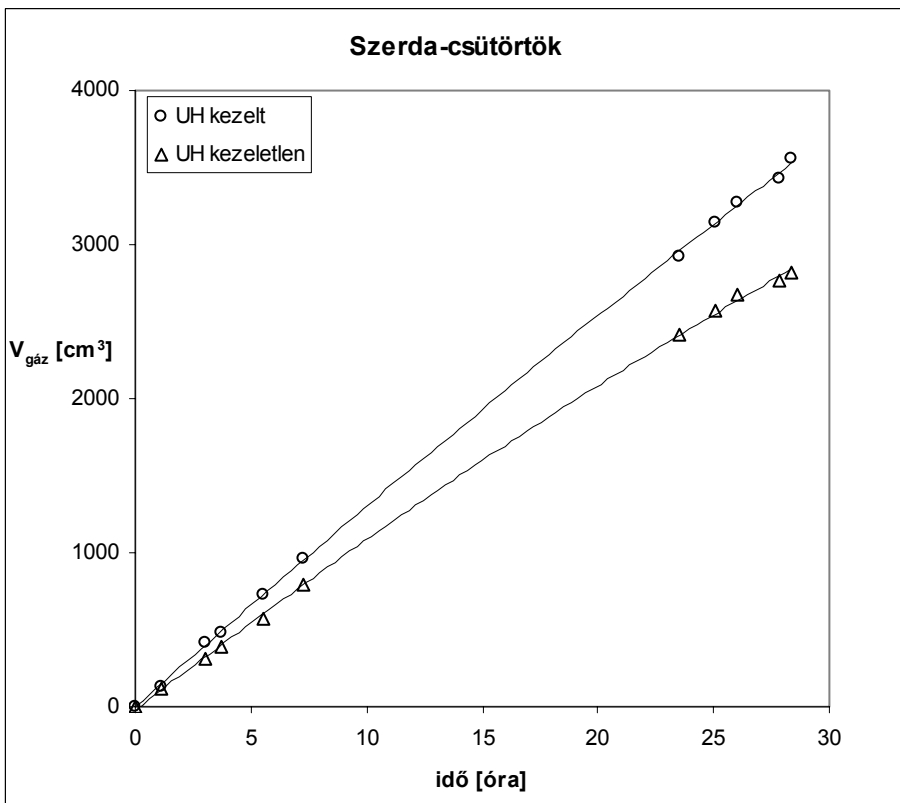
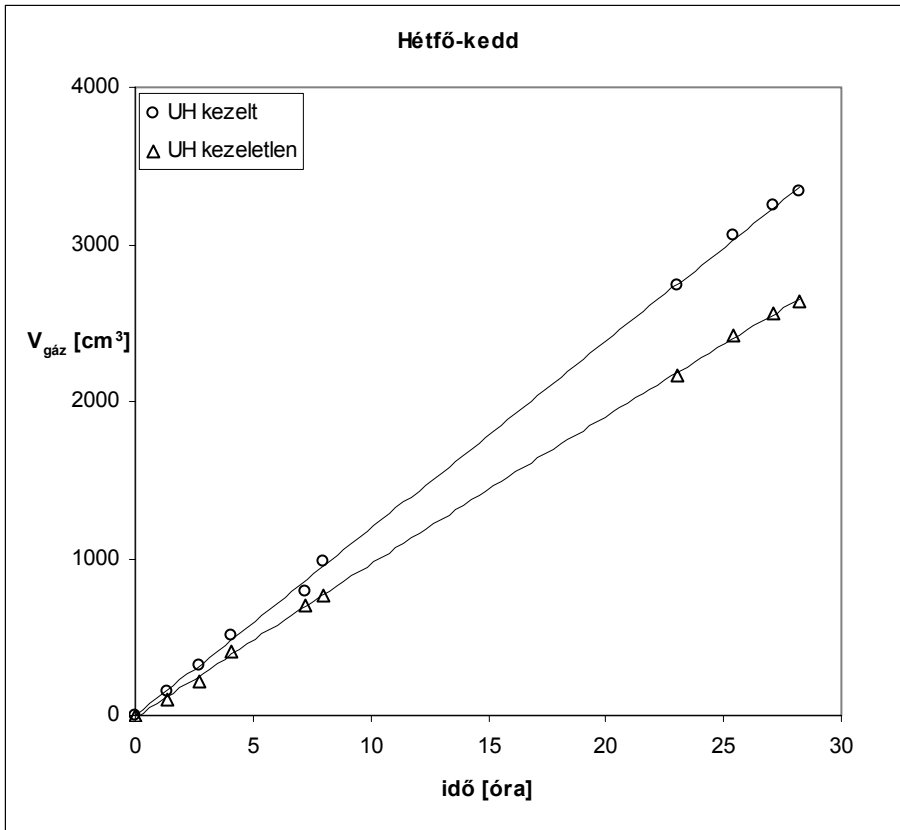
A cukorrépában viszonylag kevés a cellulóz, helyette keményítő, arabinóz, xilóz, pektin, szacharóz található. A répaszeletek feldolgozás után jelentősen csökkent beltartalommal bírnak és a feldolgozásnál használt mintegy 70 fokos hőmérséklet során a sejtek döntő hányada szétesik, a fenti anyagok hidrolizálnak jórészt. A silózás során a maradék beltartalomban végbemenő savas erjedés még jobban meggyorsítja a hidrolízist s azt várnánk, hogy a sejtszintű dezintegráció nem hoz a szubsztrát lebontási sebességében döntő változást.

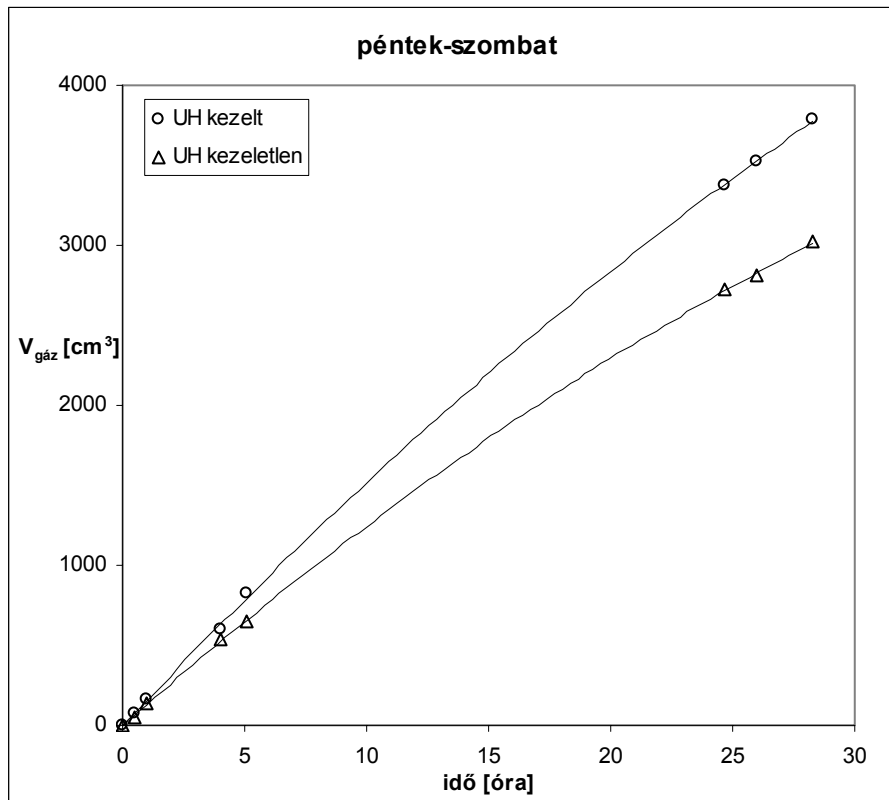
Ezzel szemben az eredmények meglepő módon mást mutatnak.

A kísérlet előkészítése a következő lépésekből állt:

A rendelkezésre álló iszapot két egyenlő (2-2 liter) részre osztva, a kezeletlen tartályból 25 g iszapot kivéve, 25g répasilót adagoltunk a rendszerbe. A másik tartályból 50g-ot vettünk ki, melynek 25g-ját előntöttük, a másik 25 g-ját 25g répasilóval összekevertem, majd 20Wh/l UH dózissal besugároztuk és betápláltuk. A gáz fejlődését 28-30 óráig néztük majd újratápláltuk a rendszert az előzőekben leírtak szerint.

A gáz képződését mind az UH kezelt mintából, mind pedig a kezeletlenből az alábbi diagramokon követhetjük nyomon:





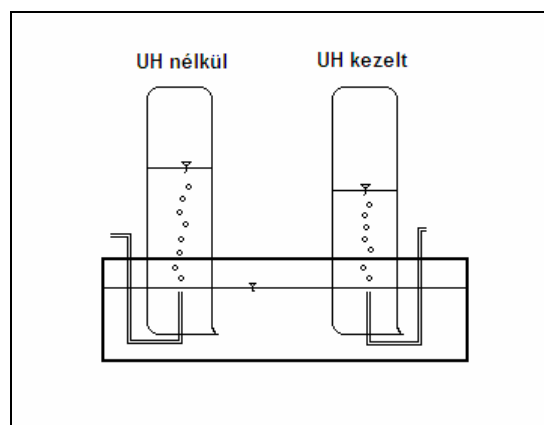
A mintegy 20%-os gáztöbblet a kis dózisu ultrahangos kezelés után jelentős reményeket kelt az ultrahangos technológia nagyüzemi sikere iránt.

Hasonló kísérleteket folytattunk frissen kaszált fűvel is, de mint később kiderült, az ultrahangos berendezés hirtelen és nem azonnal érzékelhető meghibásodása miatt ezek az eredmények nem biztos, hogy helytállóak, ezért meg fogjuk ismételni őket.

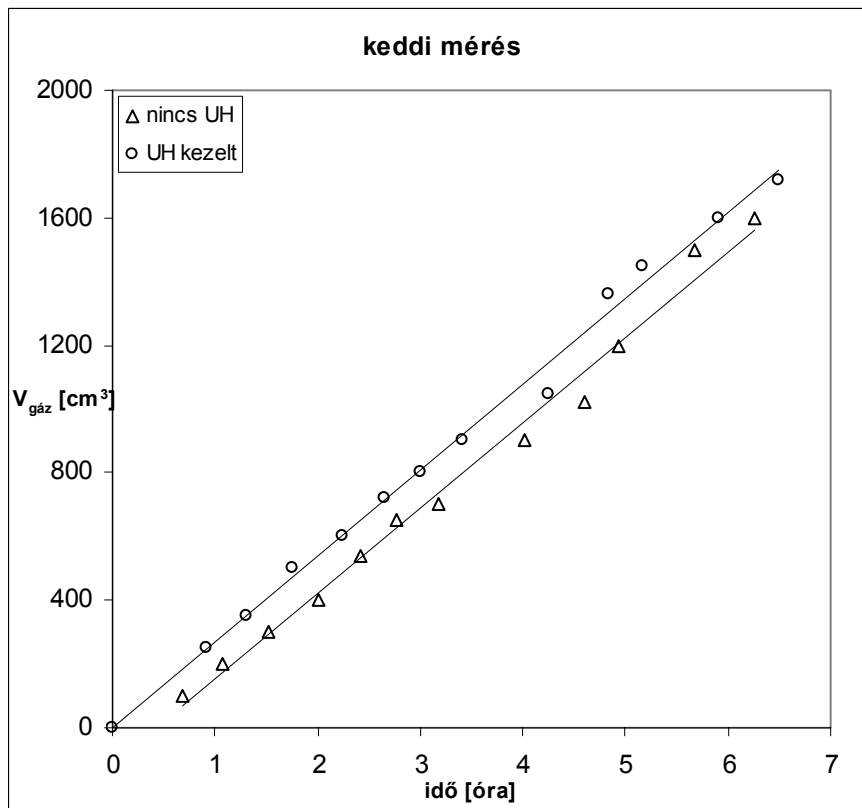
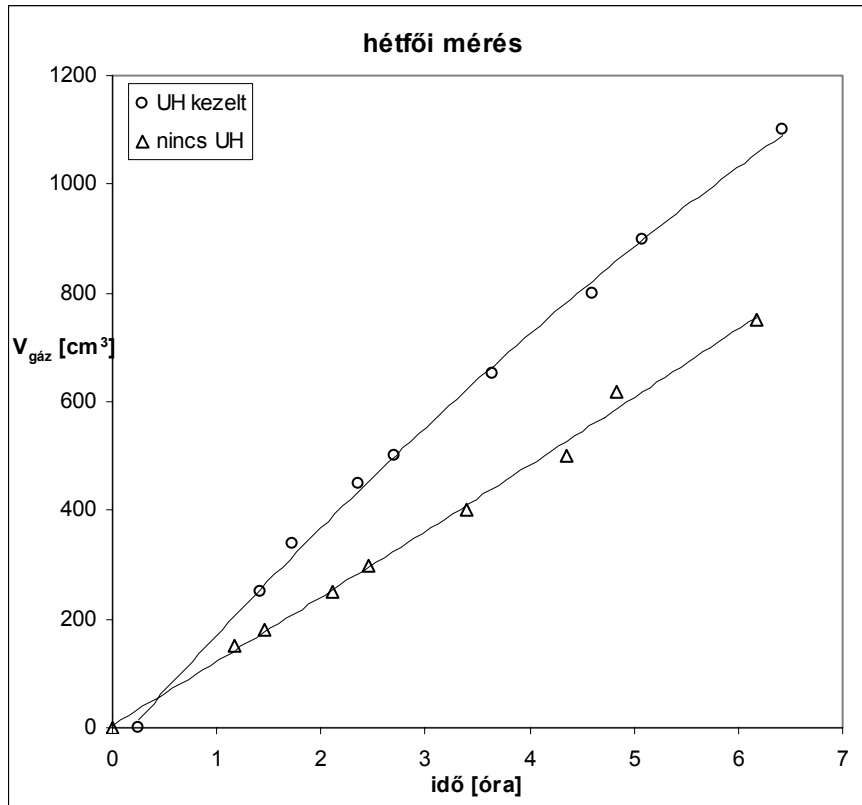
Mivel eredményeink iránt jelentős érdeklődés mutatkozott a cukoripar részéről, javaslatukra szárított répaszelettel is elvégeztük a kísérleteket.

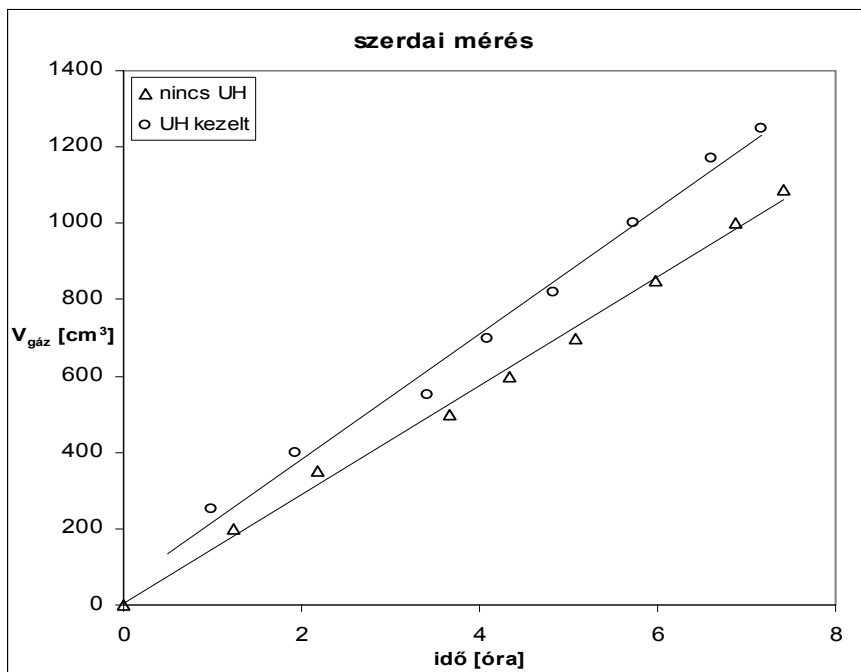
Megjegyzendő, hogy Hazánk utolsó, megmaradt cukorgyárában Kaposvárott, mintegy 25000 m<sup>3</sup> térfogatú biogáz üzem található, melyben répaszeletet fermentálnak.

Kísérleteink az ultrahangos előkezelésnek a gázfejlődésre való vizsgálatában az alábbi eredményeket mutatták:



Gázmennyiség mérése





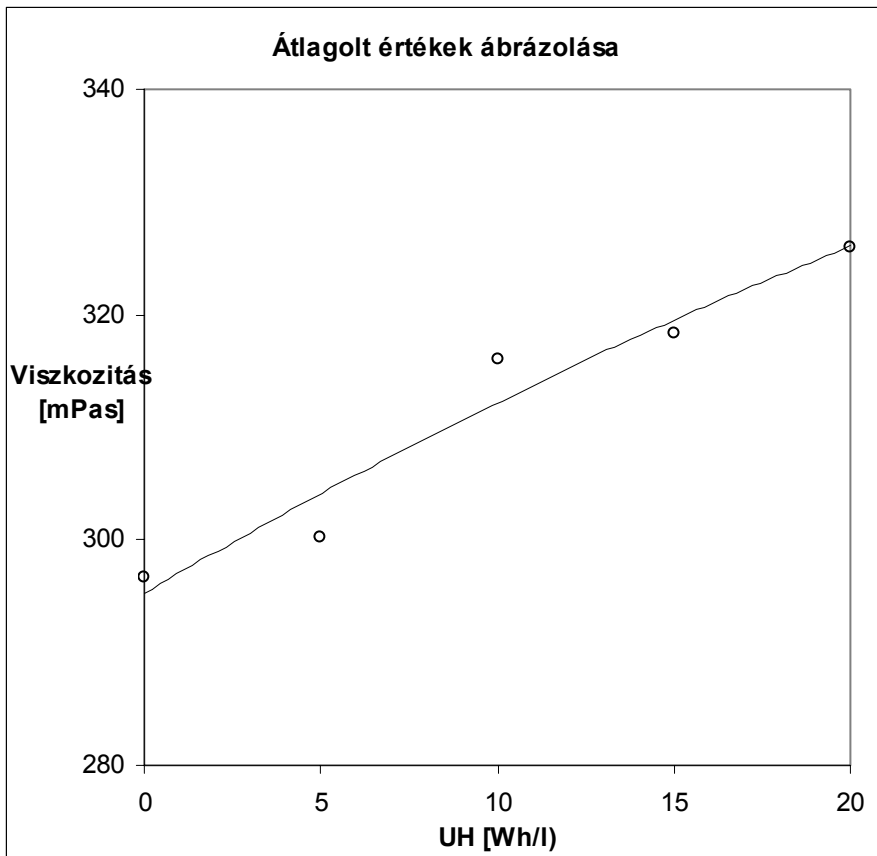
Mindhárom mérés szignifikáns különbséget mutat a gázfejlődésben az ultrahanggal kezelt szubsztrát javára a kezeletlennel szemben.

Mivel mind a kavitáció kialakulásában, mind pedig a diffúzióban (valamint a keverés energiaigényében is) igen jelentős szerepe van a szubsztrát viszkozitásának, ez pedig az ultrahangos kezelés során változhat, mértük a szubsztrát viszkozitását is.

Az eleveniszap méréseiből különböző besugárzási dózissra kapott (átlagolt) eredmények a várakozásnak megfelelően azt mutatták, hogy a besugárzási dózis függvényében a viszkozitás monoton nő.

Ez viszonylag egyszerűen magyarázható a szubsztrát részecskéinek aprózódásával, felületnövekedésével, mely a Van der Waals, dielektromos és más kölcsönhatások (hidrogénhidak...) potenciális energiasűrűség növekedését eredményezik, a polimerkoncentráció növekedése által is. Ez önmagában a szubsztrát stabilitását növeli, ami nehezebb fázissztétválást eredményezhet (pl. szennyvíztisztításnál ez igen nagy problémákat okozhatna), de szerencsére a technológia során további koagulációk játszódnak le, melyek a kisebb részecskeméret miatt tömörebb pelyheket s így a korábbinál is jobb szedimentációs tulajdonságokat eredményeznek.

Az alábbi ábrán az eleveniszap viszkozitása látható a besugárzási dózis függvényében.



Figyelmünk végezetül az enzim-aktivitások felé fordult, mivel a lebontás sebességét ez igen jelentősen befolyásolhatja. Két enzim aktivitását mértük, az amilázét (sznhidrát-bontó enzim) és a cellulázét, mely a cellulóz bontást végzi.

Az enzim-aktivitások, koncentrációk a biológiai lebontás egyik releváns paraméterei. Ha kedvező értékek elegendő szabad felülettel társulnak és nincs jelen valamilyen gátló anyag a szubsztrátban, szinte biztosak lehetünk benne, hogy a lebontás gyorsan fog végbemenni.

### **A celluláz enzimaktivitás mérése:**

Különböző típusú ultrahanggal kezelt anyagok (szója, kukoricalevél, iszap) celluláz enzimaktivitásának mérését végeztük fotometriás módszerrel.

### **A mérés alapelve:**

A celluláz katalizálja a cellobióz b-glükozid vagy karboximetil-cellulóz (CMC) kötéseinek hasítását. A cellobióz aktivitás a CMC és a rothasztóban a cellulóz származékok lebontása során keletkező glükóz képződési sebességgel arányos, amely fotometriásan meghatározható.

### **Méréshez szükséges oldatok:**

A méréshez szükséges oldatok (a részletek mellőzésével):

1. CMC-oldat (CMC desztillált vízben oldva és acetát puffer hozzáadása)
2. Acetát puffer (nátrium-acetát jégecetben oldva és desztillált vízzel hígítva.)
3. Dinitroszalicilsav (DNS) reagens (3,5 dinitroszalicilsav, NaOH, fenol, Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, és K-Na-tartarát)

### Mérés kivitelezése:

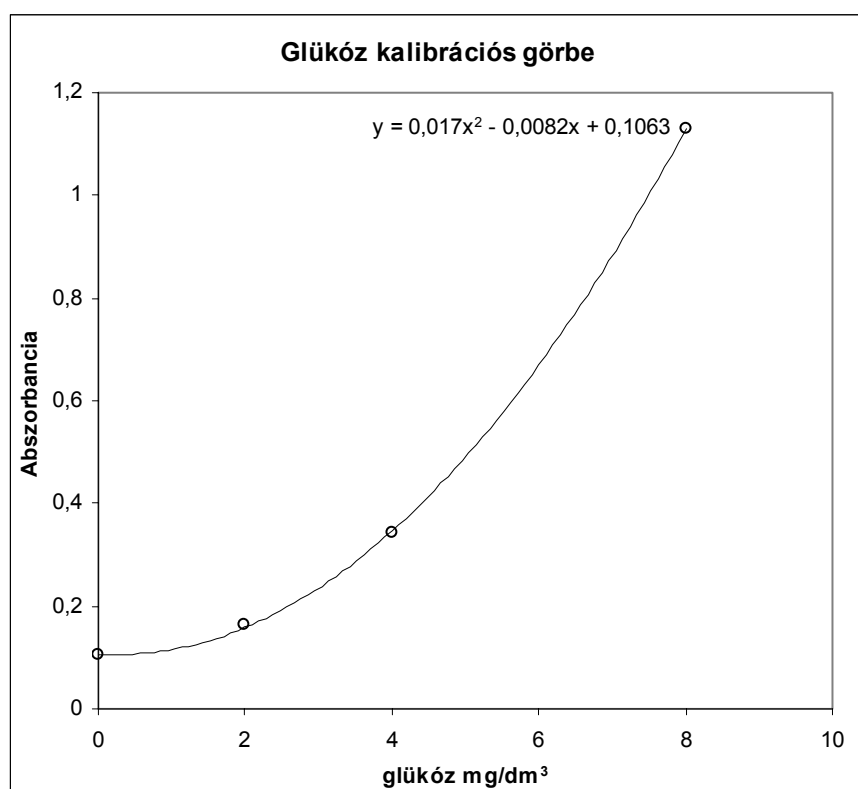
A feltárt anyagból 5 ml-t 25 ml pufferolt CMC oldathoz adtunk. Ezután 37°C-on 24 órán keresztül inkubáltuk lezárt, dugós kémcsőbe.

Inkubáció után a szuszpenziót lecentrifugáltuk úgy, hogy tiszta oldatot nyerjünk. A tiszta oldatból 2 ml-t egy kvarcküvetába mértük, majd 3 ml DNS reagens oldatot adtunk hozzá és 5 percig forrásba levő vízbe helyeztük. Ezután hideg vízben lehűtöttük és 550 nm-en mértük az abszorbanciáját.

### Kalibráció:

A kalibrációs görbét glükózza vettük fel.

A megállapított kalibrációs görbe:



Mérési eredmények táblázatos összefoglalója:

1. táblázat: 3-6 mm szemcseátmérőjű kukorica zöld levelének celluláz enzimaktivitás mérés eredményeinek táblázatos összefoglalója (számolások mellőzésével). A táblázatban szereplő enzimaktivitás értéke [mg glükóz/5ml minta\*nap] mennyiségben értendő:

UH dózis Wh/l	Abszorbancia	Enzimaktivitás
0	0,126	0,80
10	0,131	1,50
20	0,156	2,00

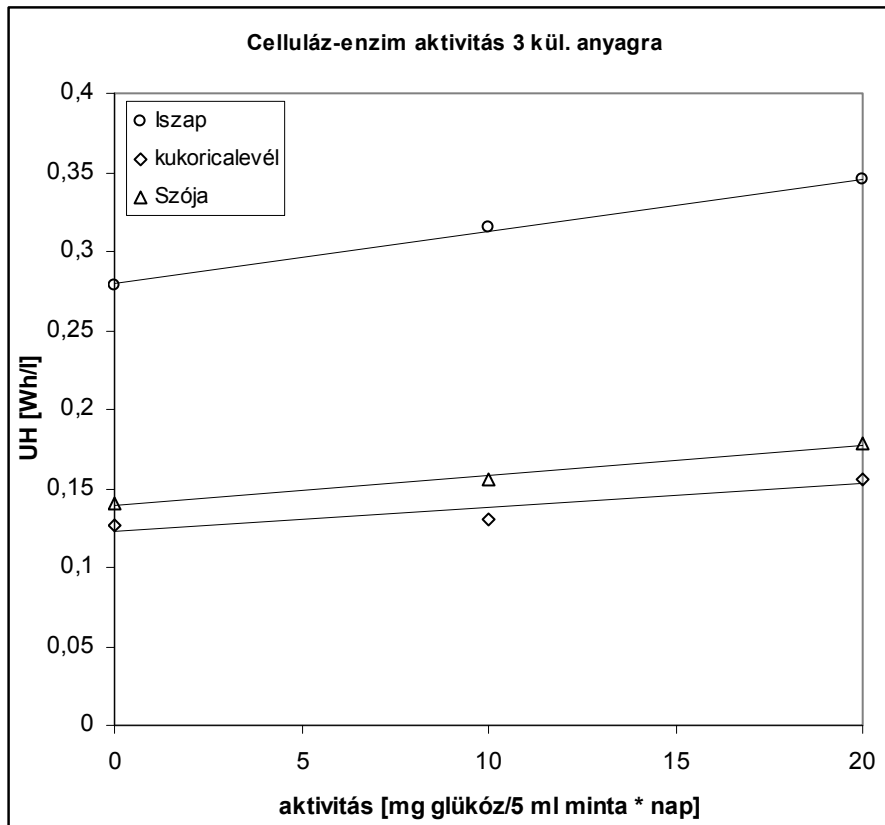
2. táblázat: 3-5 mm szemcsenagyságú szójaőrlemény enzimaktivitás mérés eredményei:

UH dózis Wh/l	Abszorbancia	Enzimaktivitás
0	0,141	1,7
10	0,156	2,0
20	0,179	2,3

3. táblázat: Biogáz előállításra alkalmas iszap celluláz enzim aktivitás eredményeinek táblázatos összefoglalója:

UH dózis Wh/l	Abszorbancia	Enzimaktivitás
0	0,278	3,4
10	0,315	3,7
20	0,345	4,0

Megjegyzés: A számolt enzimaktivitás értékek korigálva vannak a receptben leírtak szerint (vak minta, stb.).



## Amiláz enzimaktivitás meghatározása

### Kísérleti körülmények:

Az enzimaktivitás mérését klasszikus jodometriás titrálási módszerrel határoztuk meg. 50g 3-5 mm szemcsenagyságú szójaőrleményt kevertünk fel 450 cm<sup>3</sup> desztillált vízben. Két különböző „szuszpenziót” készítettünk. Az egyik minta az előzőeknek megfelelően, még a második minta annyiban tér el, hogy 20 Wh/l teljesítmény (f=20kHz, P=120W) mellett besugároztuk. Mind a két mintát 1 dm<sup>3</sup>-es talpas gömblombikba töltöttük és argongázt buborékolattunk át rajtuk (inert atmoszférát biztosítva). A friss mintákból mintát vettünk (0. mérés) és a következő pontban megfogalmazottak szerint mértük az amiláz aktivitást. Minden nap egy meghatározást végeztünk el a mintákból (ennek oka részben a meghatározás időigénye). A mérést négy napon keresztül végeztük. Az eredményeket az 1-2 táblázat, ill. az 1. diagramm foglalja össze.

### A meghatározás menete:

Tiszta homogén (centrifugált) minta 2 ml-jét 10 ml 2%-os keményítőoldathoz adtunk egy 25 ml főzőpohárba. 4 órán keresztül 30°C-on termosztáltuk (időnként rázogatva). Ezután 2 ml 0.5N NaOH oldatot adtunk hozzá és desztillált vízzel 25 ml-re töltöttük. Ezután az így elkészült

oldat 5 ml-jét és 10 ml 0.05N  $K_3[Fe(CN)_6]$  - oldatot egy 100 ml-es Erlenmayer lombikba töltöttük és összeráztuk. Ezt a lombikot 20 percre forrásban lévő vízfürdőbe helyeztük. A forralás befejeztével csapvíz alatt szobahőmérsékletűre hűtöttük. A lombik tartalmához hozzámértünk 25 ml ecetsav-reagenst és 1 ml 50%-os KI-oldatot. Ezt az oldatot előre feltöltött és faktorozott 0.05 N  $Na_2S_2O_3$ -mérőoldattal a kék szín eltűnéséig titráltuk.

Kellett készíteni egy vakmintát is amely annyiban tér el az előzőekben leírtaktól, hogy az nem tartalmaz meghatározandó mintát. Ez azért fontos, mert a vak és a meghatározandó mintára fogyott mérőoldatok különbsége adja az amiláz aktivitás valódi értékét.

$$V_{\text{titr.}} = V_{\text{vak}} - V_{\text{minta}}$$

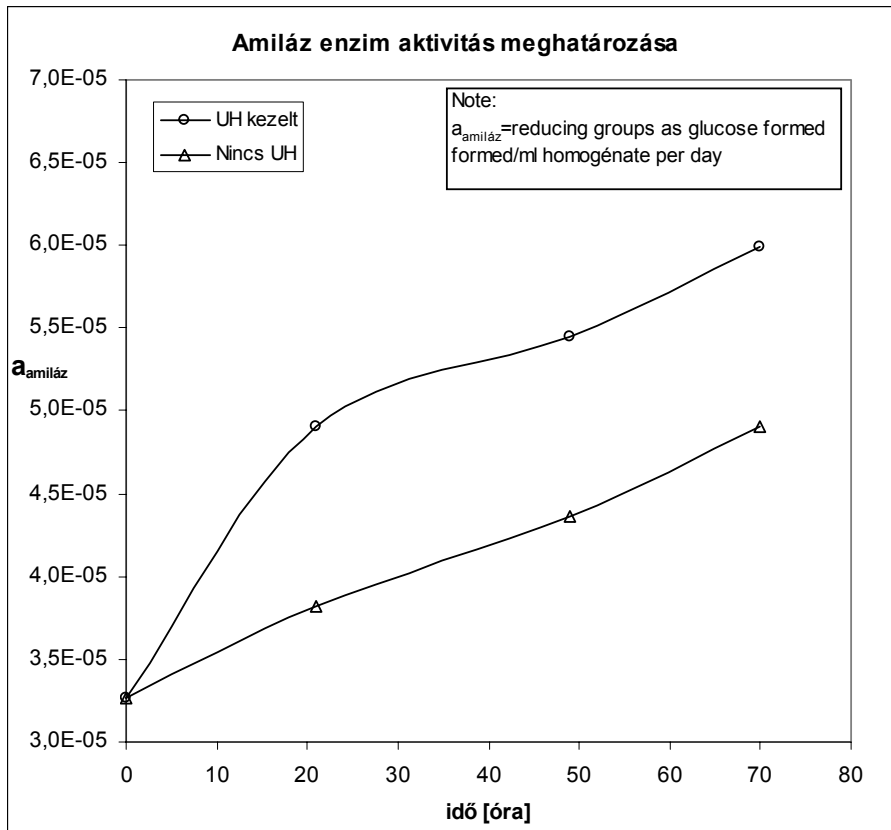
$$\text{Amiláz aktivitás} = V_{\text{titr.}} \cdot 1,09 \cdot 10^{-4}$$

idő [óra]	Fogyás [ml] ( $V_{\text{vak}} - V_{\text{minta}}$ )	
	UH	nincs UH
0	0,30	0,30
21	0,45	0,35
49	0,50	0,40
70	0,55	0,45

1. táblázat: A vakra és a mintára fogyott mérőoldatok térfogatkülönbsége

idő [óra]	Amiláz aktivitás*	
	UH	nincs UH
0	$3,27 \cdot 10^{-05}$	$3,27 \cdot 10^{-05}$
21	$4,91 \cdot 10^{-05}$	$3,82 \cdot 10^{-05}$
49	$5,45 \cdot 10^{-05}$	$4,36 \cdot 10^{-05}$
70	$6,00 \cdot 10^{-05}$	$4,91 \cdot 10^{-05}$

2. táblázat: Amiláz aktivitás, (\*  $a_{\text{amiláz}}$  = reducing groups as glucose formed formed/ml homogénate per day)



1. diagramm Amiláz aktivitás

A mérésekből szépen látszik, hogy az ultrahangos kezelés szignifikánsan növeli a fenti enzimek aktivitásait, ami nagy fontossággal bír az anaerob lebontás sebességére és hatékonyságára nézve. Nemrég egy lübecki konferencián Prof. Dr. U. Neis mutatta be előadásában enzim-aktivitás méréseinek eredményeit ultrahanggal kezelt kukoricaszilázs mintákra, s ezek remek összhangban voltak a mi fenti eredményeinkkel.

Dr. Németh Zsolt

Euro-Open Kft

Konzorcium-vezető.