Streszczenie

Praca przedstawia przegląd literatury dotyczącej zastosowania biomasy roślinnej w biotechnologii, a także przebieg i wyniki doświadczeń mających na celu doskonalenie etapu hydrolizy enzymatycznej tej biomasy poprzez zastosowanie recyklingu enzymów zaadsorbowanych na frakcji stałej materiału lignocelulozowego, doskonalenie procesu obróbki wstępnej biomasy roślinnej poprzez zastosowanie próżniowego rozprężania próżniowego biomasy lub promieniowania mikrofalowego, oraz wykorzystanie hydrolizatów lignocelulozowych do syntezy karotenoidów przez drożdże z rodzaju *Rhodotorula*.

Wyniki badań potwierdziły, że zastosowanie recyklingu enzymów pozwala na zwiększenie końcowej wydajności hydrolizy enzymatycznej biomasy miskanta olbrzymiego i miskanta cukrowego, a efektywność hydrolizy biomasy wzrastała wraz ze wzrostem aktywności celulaz w zakresie 18 - 58 FPU. Wyniki badań potwierdziły również, że rozprężanie próżniowe pozwala na zwiększenie efektywności hydrolizy enzymatycznej biomasy buraka cukrowego w porównaniu do rozdrabniania mechanicznego. Najskuteczniejszym wariantem procesu w zakresie obróbki biomasy buraka cukrowego jest zastosowanie eksplozji próżniowej i poddanie otrzymanego materiału hydrolizie enzymatycznej w temperaturze 50°C przy użyciu kompozycji enzymatycznych: Rapidase® i Accellerase 1500. Na tak przygotowanej pożywce możliwe było ponowne wykorzystanie enzymów w postaci frakcji immobilizowanej na nierozłożonej lignocelulozie. Największe średnie stężenie etanolu w medium poreakcyjnym uzyskano po fermentacji prowadzonej w systemie sekwencyjnym przez *Saccharomyces cerevisiae* 7, uzyskując 50.5 i 53.6 $g \cdot dm^{-3}$, odpowiednio po fermentacji hydrolizatów uzyskanych z biomasy buraka rozdrobnionego mechanicznie i poddanego rozprężeniu próżniowemu. Po zastosowaniu procesu symultanicznego, poziom odfermentowania był mniejszy niż uzyskany w systemie SHF, a zawartość alkoholu była mniejsza o 19% (w przypadku zastosowania rozdrobnionej biomasy) i o 15% (po rozprężeniu próżniowym). Stwierdzono brak przydatności grzyba strzępkowego *Mucor indicus* w procesie fermentacji etanolowej biomasy buraka cukrowego.

W doświadczeniach wykorzystujących mikrofalową obróbkę wstępną biomasy miskanta olbrzymiego, największa wydajność hydrolizy wystąpiła w próbkach poddanych działaniu kwasu siarkowego (VI), przy ciśnieniu 90 Psi (58.3%), jednak fermentacja tych hydrolizatów pozwoliła otrzymać jedynie 13.1 mg etanolu na gram suchej biomasy. Odwrotna

zależność wystąpiła w próbkach poddanych obróbce w środowisku kwaśnym przy 30 Psi. Przy stosunkowo niskiej wydajności hydrolizy tych próbek (30.1%) uzyskano 23.6 mg etanolu na gram suchej biomasy. Dobór parametrów obróbki mikrofalowej należy zatem rozważać jako kompromis pomiędzy wysoką wydajnością hydrolizy enzymatycznej i produktywnością fermentacji etanolowej.

Uzyskane wyniki doświadczeń dowiodły, że zastosowanie adaptacji drożdży z rodzaju *Rhodotorula* do użytkowania hydrolizatów lignocelulozowych z rafinatu kory wierzby purpurowej do ich wzrostu i namnażania spowoduje wydajniejszą biosyntezę karotenoidów. Adaptacja laboratoryjna umożliwiła uzyskanie szczepów *Rhodotorula* o zwiększonej zdolności wzrostu na pożywce z dodatkiem hydrolizatu lignocelulozowego. Uzyskane zmodyfikowane szczepy (*R. glutinis* 50H, *R. rubra* KKP350 50H i *R. glutinis* KKP347 50H) wykazywały wydajniejszą syntezę karotenoidów w porównaniu z odpowiednimi szczepami testowymi. Zastosowanie hydrolizatu lignocelulozowego jako dodatku do podłoża zwiększyło ilość uzyskanych karotenoidów, również u szczepów natywnych. Największe stężenie karotenoidów (130 $\mu g \cdot g^{-1}$ s.s.) uzyskano po ekstrakcji biomasy szczepu *R. glutinis* KKP347 50H po hodowli na pożywce z hydrolizatem lignocelulozowym.

Olsztyn, 19.12.2022 r.

M. Walter