

RELAZIONE SCIENTIFICA DEL PROGRAMMA “INDAGINI NANOSTRUTTURALI DI TESSUTI VEGETALI MEDIANTE TERMOPOROMETRIA”.

L'utilizzo di matrici lignocellulosiche a fini bioenergetici prevede il pretrattamento dei campioni ad alte temperature e pressioni (steam explosion) che ha lo scopo di distruggere l'impalcatura lignocellulosica, degradare parte della lignina e rendere la cellulosa più suscettibile al successivo processamento. La seconda fase prevede infatti l'idrolisi enzimatica della cellulosa, al fine di ottenere glucosio, che mediante fermentazione anaerobica può essere convertito in etanolo, che trova impiego come biocarburante.

La termoporometria permette di determinare il diametro dei pori del tessuto lignocellulosico, e questo dato è particolarmente importante perché fornisce indicazioni sulla suscettibilità del materiale all'attacco enzimatico: maggiori sono le dimensioni dei pori più facile sarà, per l'enzima, attaccare la cellulosa e liberare il glucosio.

Durante la permanenza al CTBE sono stati analizzati, sotto la supervisione del Dr. Carlos Driemeier, esperto in biologia funzionale, biotecnologia e biofisica, diversi campioni di tessuto lignocellulosico (legno di pioppo, potature di vite e fittoni di noce) al fine di determinare le caratteristiche delle pareti cellulari mediante la tecnica della termoporometria.

Lo studio svolto presso il CTBE prevedeva l'analisi termoporometrica delle tre matrici effettuando un confronto, per ciascun campione, tra il materiale grezzo (precedentemente macinato) e lo stesso materiale sottoposto a trattamento di steam explosion in due diverse condizioni di tempo e temperatura (200°C per 90 secondi e 160 °C per 300 secondi). L'impianto di steam explosion utilizzato in precedenza per il pretrattamento dei campioni è collocato presso i laboratori dell'università degli studi della Tuscia ed è descritto, insieme alle relative procedure, in Santi et al. (2014).

I campioni da sottoporre a termoporometria sono stati preparati tramite lavaggi e immersione in acqua distillata per rimuovere le componenti solubili in acqua. L'analisi termoporometrica è stata effettuata mediante un dispositivo DSC (differential scanning calorimetry) Q200 (TA instruments). La procedura consisteva nel congelamento dei campioni a -70 °C seguito da un graduale aumento di temperatura per sciogliere il ghiaccio formatosi, e durante il gradiente di temperatura lo scioglimento del ghiaccio veniva misurato calorimetricamente.

A questo punto va precisato che il ghiaccio confinato all'interno dei pori subisce delle variazioni nel passaggio di fase solido-liquido durante lo scongelamento, ovvero si scioglie a temperature inferiori a 0°C, e la massa di ghiaccio che si scioglie al di sotto degli zero gradi centigradi può essere rapportata alle dimensioni dei pori mediante la relazione di Gibbs-Thomson (Maziero et al., 2013). I risultati del presente studio sono dunque espressi graficamente ponendo il diametro dei pori (nm) in funzione della quantità di ghiaccio in essi confinato (g ghiaccio/g campione).

La figura 1 riporta un confronto tra i tre tessuti analizzati (legno di pioppo, potature di vite e fittoni di noce) nel loro stato grezzo. Il grafico mostra che le tre curve hanno un andamento

simile, ma con altezze diverse. L'andamento simile sta ad indicare delle caratteristiche comuni tra i tre substrati in termini di struttura della parete cellulare e di geometria tridimensionale delle microfibrille cellulose. Le differenti altezze, tuttavia, indicano che la quantità d'acqua intrappolata nei pori, e quindi la dimensione dei pori, è una proprietà tessuto-specifica. In particolare le pareti cellulari dei fittoni presentano una maggiore porosità rispetto a quelle di pioppo e vite, che risultano molto simili tra di loro.

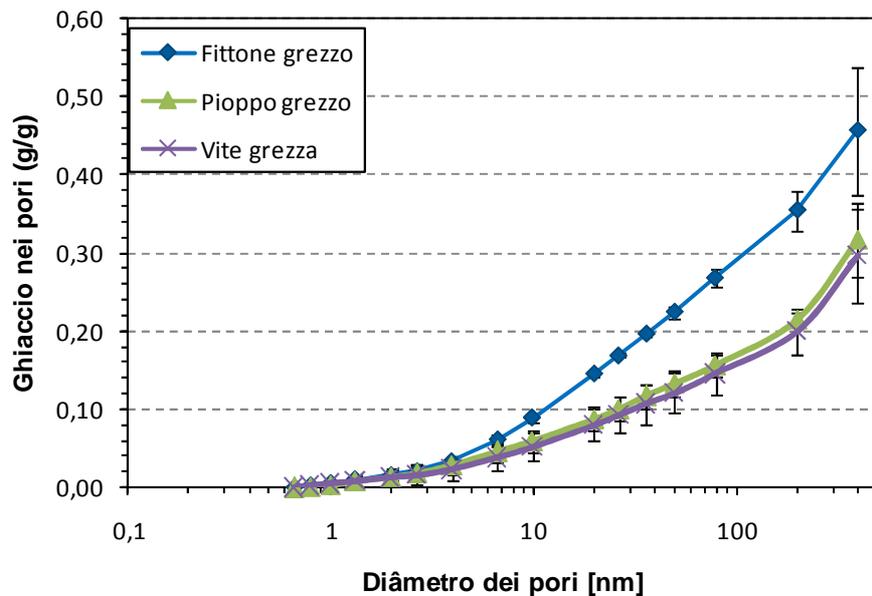


Fig. 1 Analisi termoporometrica dei tessuti grezzi di fittone di noce, legno di pioppo e potature di vite. I dati sono ottenuti dalla media di tre repliche per ciascun campione.

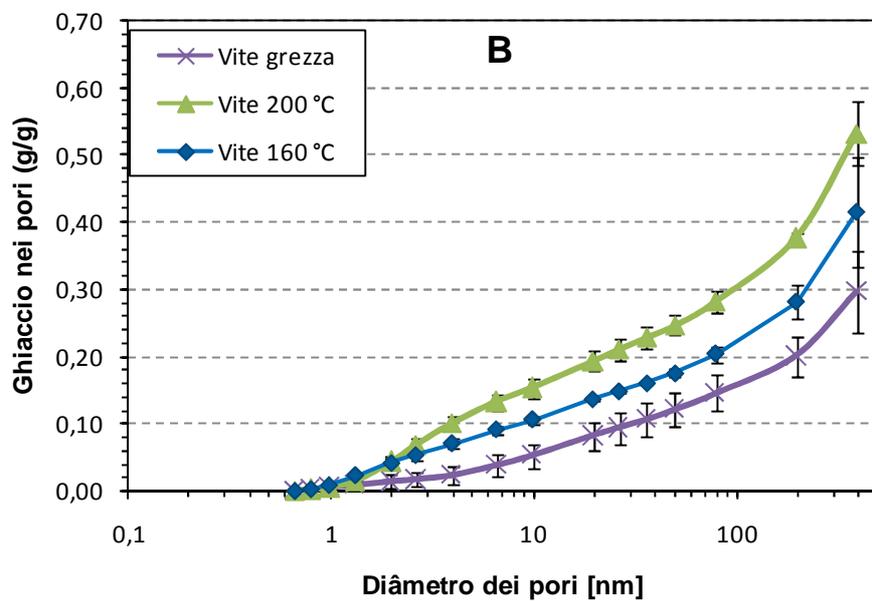
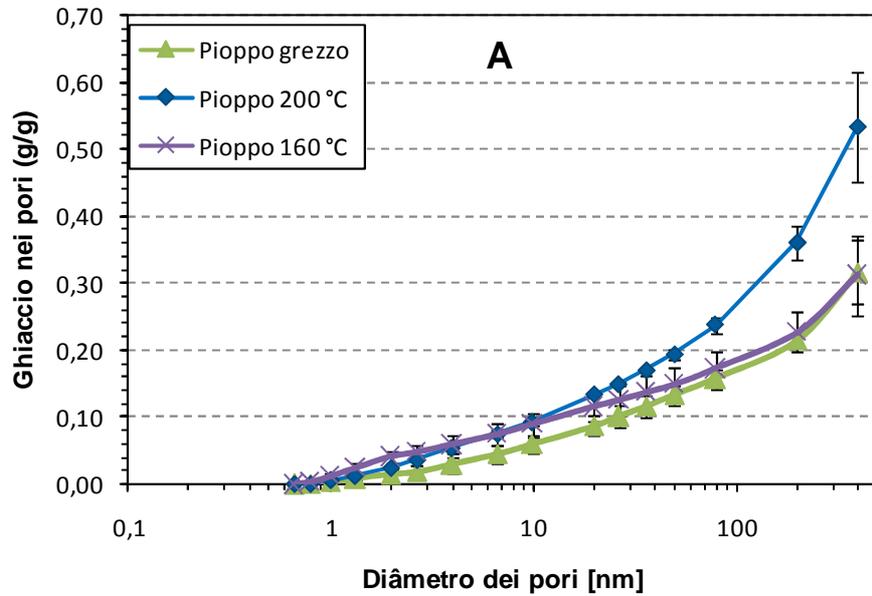
La figura 2 riporta invece un confronto, per ciascuna delle tre matrici, tra il materiale grezzo e il pretrattato nelle due diverse condizioni sopra citate.

Il grafico 2A riporta i risultati relativi al legno di pioppo, in cui si può osservare un evidente effetto del pretrattamento a 200°C in termini di aumento della porosità. Lo stesso effetto non è stato ottenuto col pretrattamento a 160 °C, la cui curva è praticamente sovrapponibile a quella del materiale grezzo. Questo risultato è in linea con quanto riportato in letteratura per le matrici legnose “convenzionali”, che generalmente richiedono pretrattamenti a temperature elevate affinché il substrato diventi più accessibile per gli enzimi.

Nel caso delle potature di vite (2B), invece, si può osservare anche un effetto più modesto, in termini di incremento della porosità, a seguito del pretrattamento a 160 °C. Questo dato suggerisce che anche pretrattamenti a temperature più basse potrebbero essere sufficienti a rendere la cellulosa più accessibile agli enzimi idrolitici in questo tipo di substrato.

Nella figura 2C, relativa ai fittoni di noce, si possono osservare barre di errore (dev. standard) piuttosto elevate, che non hanno permesso di determinare alcuna differenza statisticamente significativa tra il fittone grezzo e lo stesso materiale sottoposto a pretrattamento. Ciò potrebbe essere dovuto a uno scarso effetto del pretrattamento o, più probabilmente, alla particolare struttura del fittone di noce, che diversamente dalle matrici

lignocellulosiche “convenzionali” possiede un’elevata percentuale di amido (circa il 30%) che viene idrolizzato durante il pretrattamento, determinando sensibili cambiamenti nanostrutturali che, probabilmente, vanno al di là delle potenzialità dell’indagine termoporometrica.



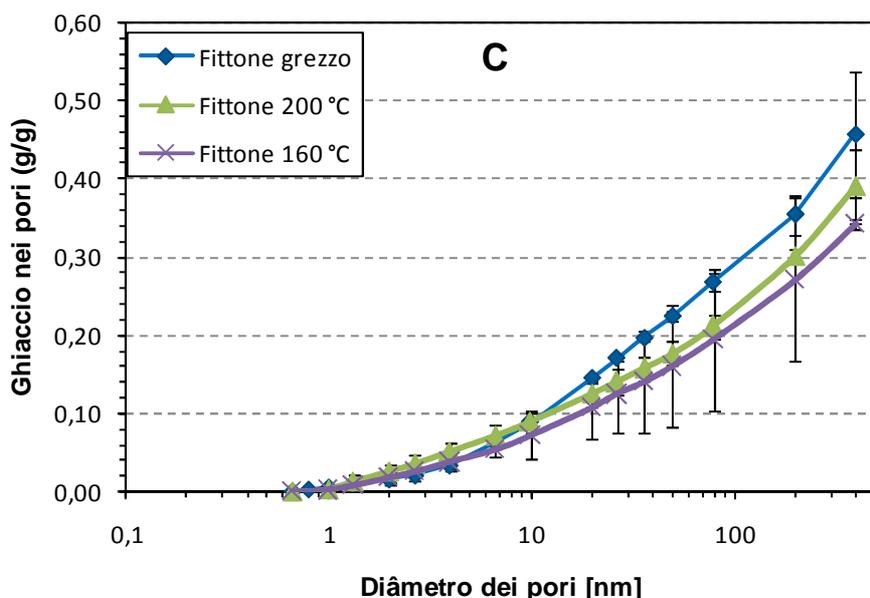


Fig. 2 Analisi termoporometrica dei diversi tessuti mettendo a confronto il materiale grezzo e lo stesso materiale sottoposto a steam explosion: legno di pioppo (A), potature di vite (B), fittone di noce (C). I dati sono ottenuti dalla media di tre repliche per ciascun campione.

Prossimamente i materiali pretrattati che sono stati analizzati presso il CTBE verranno sottoposti ad idrolisi enzimatica per la liberazione di zuccheri fermentabili. A quel punto sarà possibile verificare, anche per queste matrici, l'esistenza di una correlazione tra porosità e suscettibilità all'attacco enzimatico.

Riferimenti

Maziero P., Jong J., Mendes F., Goncalves A., Eder M., Driemeier C. (2013). Tissue-specific cell wall hydration in sugarcane stalks. *J Agric Food Chem* 61: 5841–5847.

Santi G., Crognale S., D'Annibale A., Petruccioli M., Ruzzi M., Valentini R., Moresi M. (2014) Orange peel pretreatment in a novel lab-scale direct steam-injection apparatus for ethanol production. *Biom Bioener* 61: 146-56.