

Verona, 4 Luglio 2017



Espressione di enzimi termostabili
degradativi della parete cellulare
nell'alga verde *C. reinhardtii*

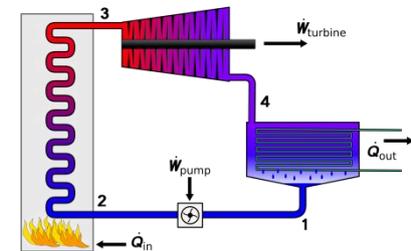
LabICAB

Laboratorio di
Ingegneria Chimica Ambientale
e dei Bioprocessi



Cos' è Zuccato Energia ?

- ◆ PMI veronese, ca.15 addetti
- ◆ Core business: **produzione di energia da fonti alternative.**
- ◆ Progetta e costruisce in proprio **moduli di produzione energetica basati sul ciclo di Rankine Organico (ORC)** con potenze da 30 a 550 kW
- ◆ Oltre **15 impianti ORC già installati ed operanti da anni in Italia e Germania**
- ◆ Avviamenti imminenti in Italia, Tunisia e Stati Uniti d'America



I moduli ORC Zuccato Energia possono in generale sfruttare **qualsiasi fonte di calore**, con temperature a partire da 85° C.

Alcuni esempi:

- ◆ Produzione primaria di elettricità da **caldaie a biomassa o a biogas**
- ◆ Produzione elettrica tramite **recupero termico** da **motori a biogas**
- ◆ Produzione elettrica tramite recupero termico da **processi industriali** (vetrerie, ceramica, acciaierie, cartiere...)
- ◆ Produzione primaria di elettricità da **fonti termiche alternative** (solare / geotermico)



Esempi di Installazione

Az. Agricola Biagi (MN)



Recupero termico da motori a biogas

Fonte termica: camicie di raffreddamento e gas di scarico di motori MAN e Jenbacher alimentati a biogas da fermentazione;

Moduli ORC
modello **ZE-50-ULH**,
Input 550 kWt ,
Output 50 kWe
(efficienza 9.10%)

Sistema su skid
containerizzato (Biagi)
o su skid sotto tettoia
(Ceresina)

Fluido vettore:
Acqua calda (95° C)



Az. Agr. "La Ceresina" (PD)



Esempi di Installazione

Tab Spelle (Barnstorf,D)



Recupero termico da motori a biogas

Fonte termica: camicie di raffreddamento e gas di scarico di motori MAN e Jenbacher alimentati a **biogas di rete;**

Moduli ORC
modello **ZE-50-ULH**,
Input 550 kWt ,
Output 50 kWe
(efficienza 9.10%)

Sistemi su skid al chiuso,
totalmente telecontrollati
via Web

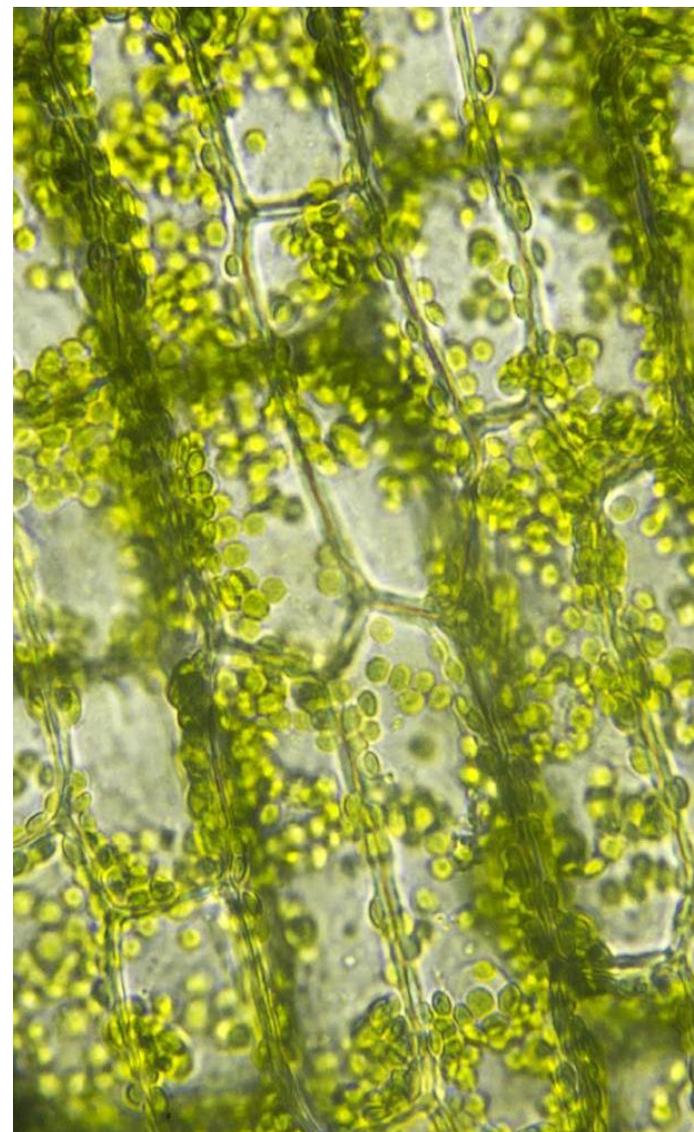
Fluido vettore:
Acqua calda (95° C)

GEOBiogas (Benneckestein,D)



Perché Zuccato Energia partecipa al progetto ?

- ◆ Nel settore del biogas la maggior parte degli impianti utilizza come materia prima per la fermentazione reflui animali a cui vengono aggiunti prodotti agricoli (es. ceroso, stocco) al fine di aumentare la resa. Tali prodotti vengono spesso acquistati, diminuendo la redditività dell'impianto.
- ◆ La tecnologia enzimatica oggetto del progetto consentirebbe di **aumentare la resa d'impianto utilizzando anche materiale ligno-cellulosico prodotto in situ** (es. sfalci di mietitura), riducendo così i costi e **dando impulso allo sviluppo di nuovi impianti a biogas** in tutto il mondo.
- ◆ Zuccato Energia, valutate le **notevoli potenzialità di questo innovativo progetto di ricerca** in un settore – il biogas – nel quale è presente da anni offrendo sistemi di recupero dell'energia termica, ha quindi deciso di parteciparvi in un'ottica di **integrazione e completamento dell'offerta tecnologica**.





Espressione di enzimi termostabili degradativi della **parete cellulare** nell'alga verde *C. reinhardtii*

LabICAB

Laboratorio di
Ingegneria Chimica Ambientale
e dei Bioprocessi



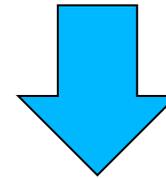
Biomassa cellulosica



La fonte più abbondante di carbonio organico, **NON sfruttata completamente** e la sola di cui siano presenti quantità sufficienti per fare **bio-combustibili**

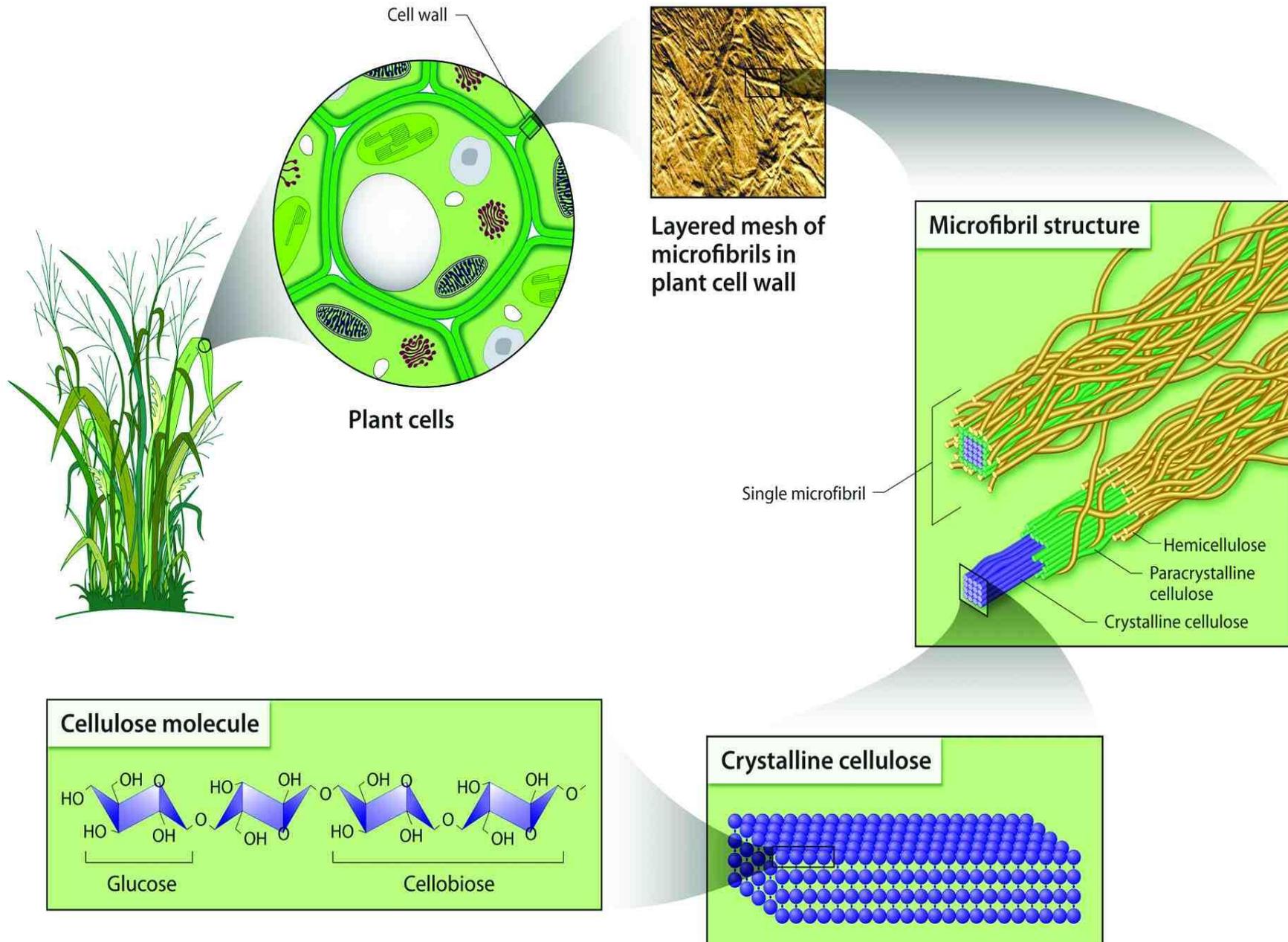


Prodotti di degradazione delle biomasse cellulosiche: **ZUCCHERI semplici** possono essere sfruttati per

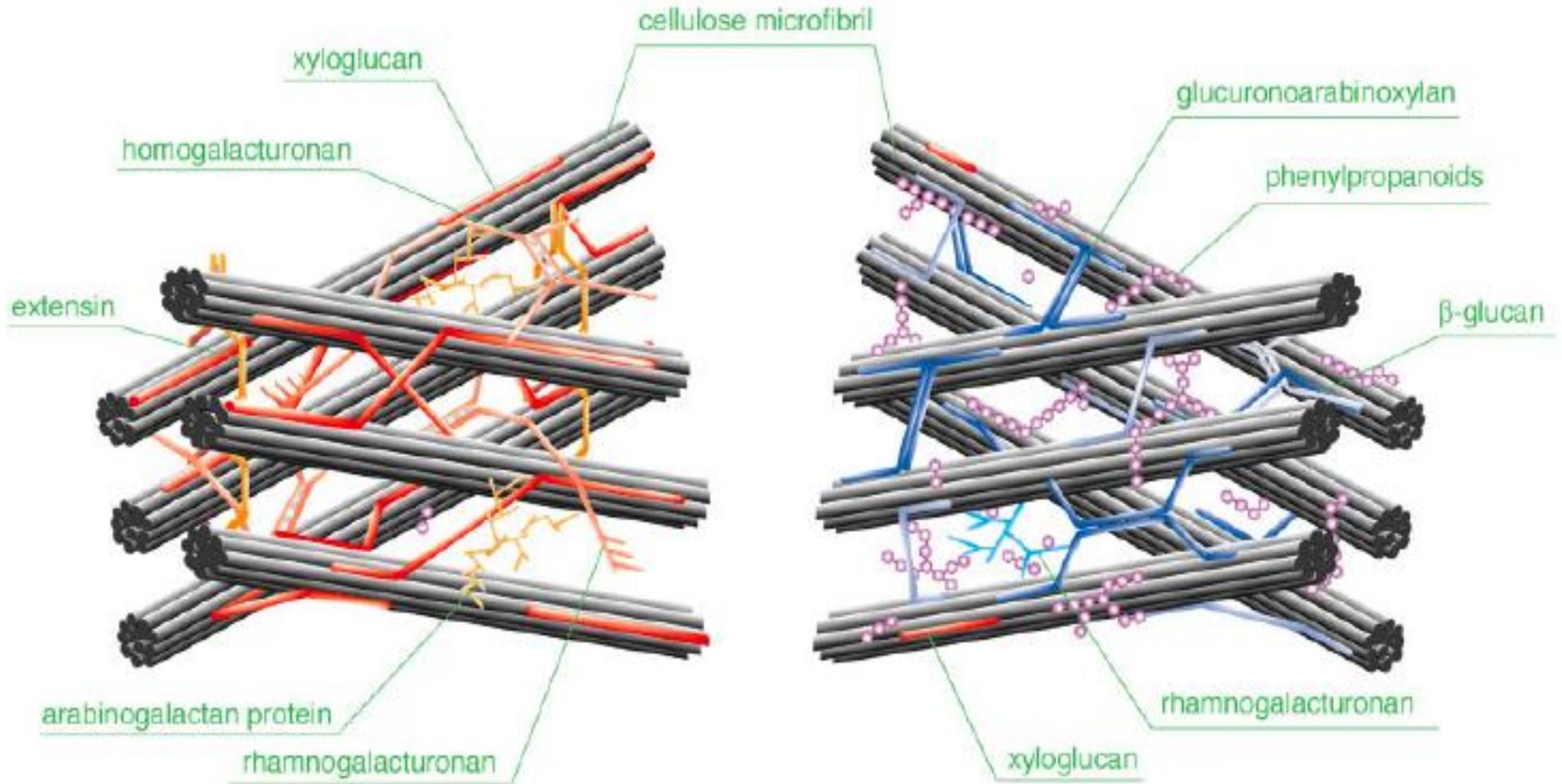


produzione di **bio-combustibili di seconda generazione** (biodiesel) o **biogas**

Biomassa cellulosica: deriva dalla **parete cellulare vegetale**



**Parete cellulare vegetale: struttura molto resistente
a causa della sua complessita' di composizione chimica polimerica.**



Type I wall
(*Arabidopsis thaliana*)

Type II wall
(*Oryza sativa*)



Espressione di **enzimi termostabili** degradativi della parete cellulare nell'alga verde *C. reinhardtii*

LabICAB

Laboratorio di
Ingegneria Chimica Ambientale
e dei Bioprocessi



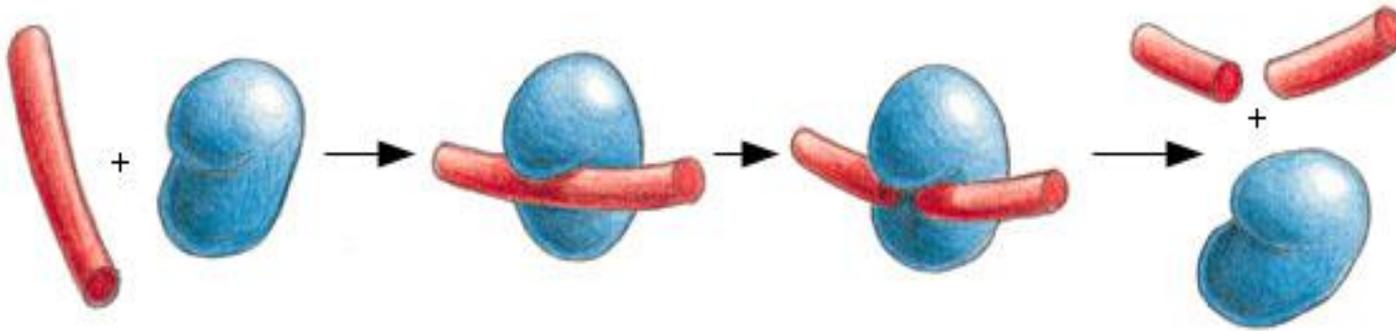
ZUCCATO
ENERGIA[®]
TRASFORMIAMO L'ENERGIA

INNOVEN

INNOVATION FOR
THE ENVIRONMENT



Cos'è e come funziona un **enzima**

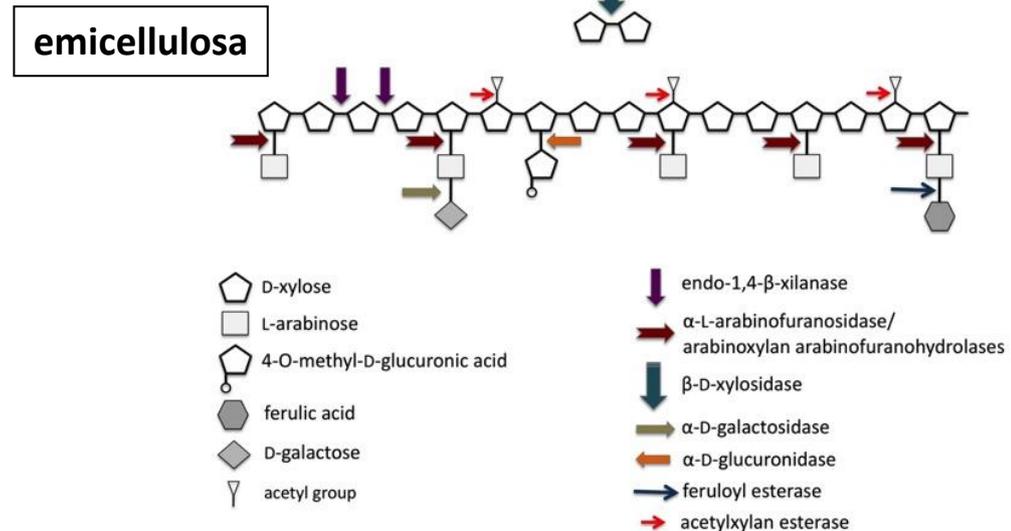
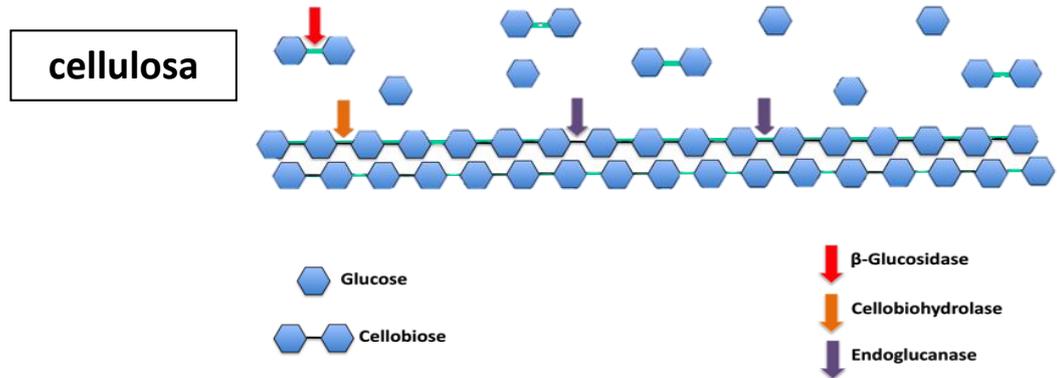


Batteri e funghi possono produrre **enzimi** per la **degradazione** della **parete vegetale**



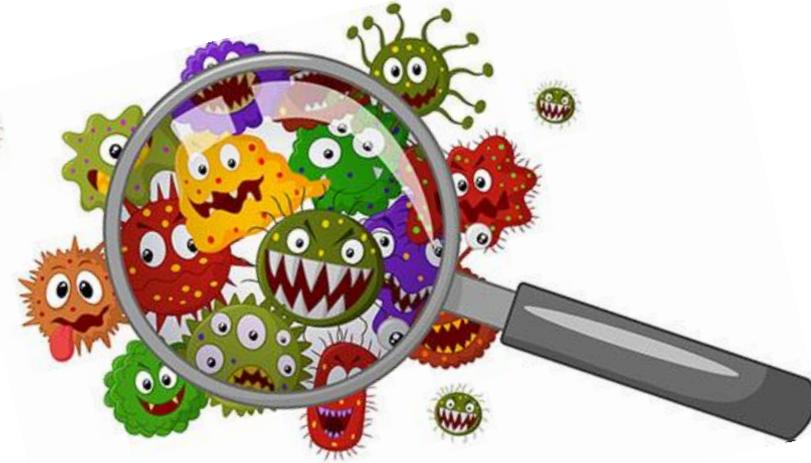
Cellulasi: capaci di idrolizzare la catena di cellulosa

Emicellulasi: capaci di idrolizzare polisaccaridi secondari attaccati alla cellulosa



Vantaggio degli enzimi ipertermofili

1. Attivi a temperature elevate
2. Alta resistenza ai denaturanti chimici
3. Riduzione delle contaminazioni microbiche
4. Pre-trattamento termico della biomassa permette allentamento della maglia lignocellulosica, favorendo così l'idrolisi enzimatica



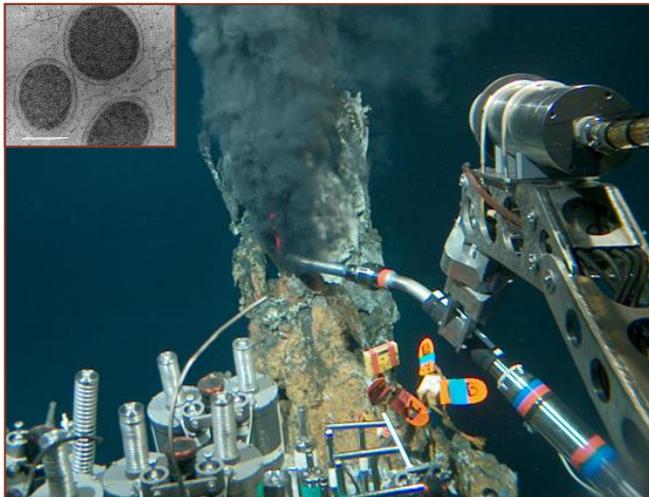
Thermotoga neapolitana

Batterio ipertermofilo

Genoma disponibile

Alta termostabilità degli enzimi prodotti

Isolato nel 1986 nelle fumarle di Lucino (Napoli)



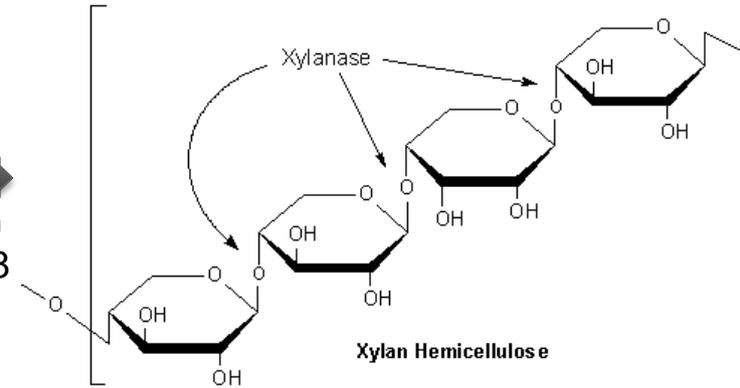
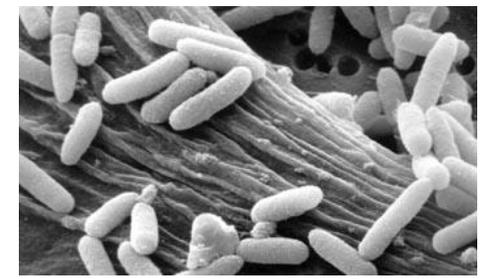
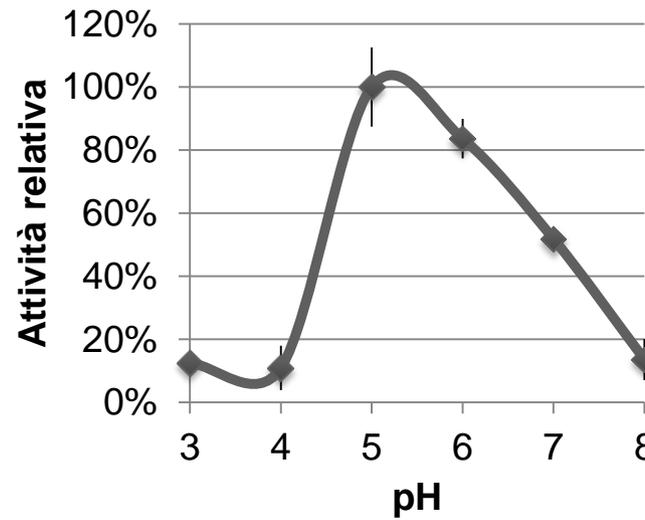
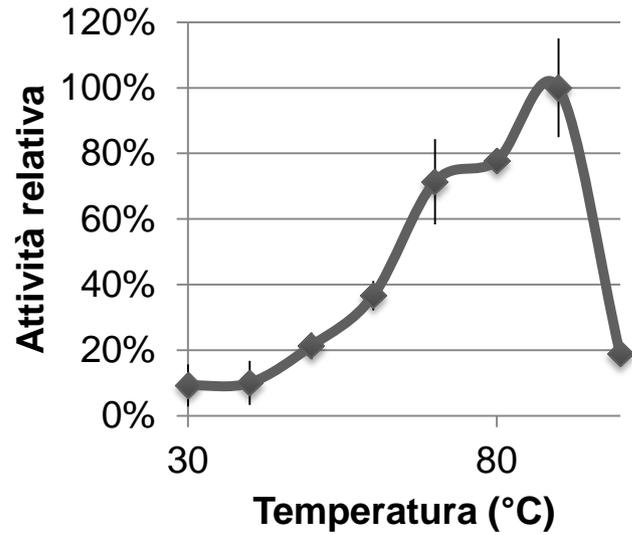
Condizioni di crescita:

- Temp: 50-90°C
- pH: 5-9

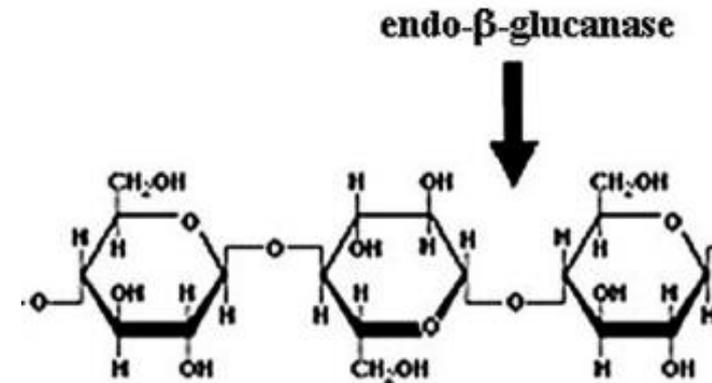
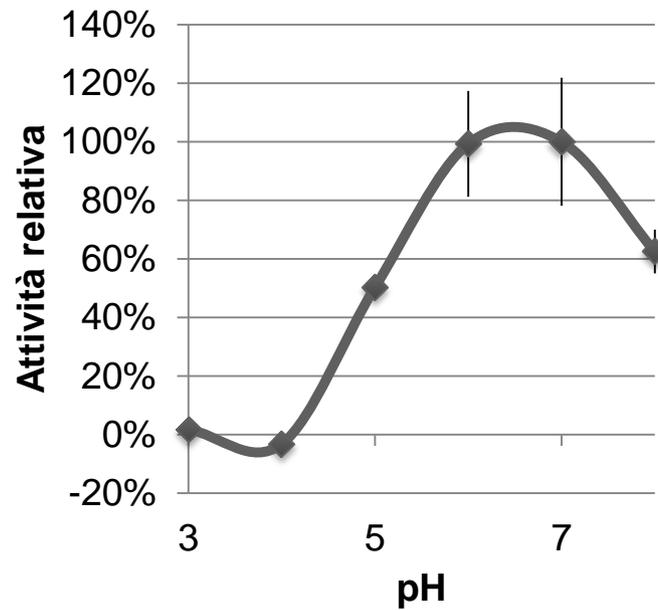
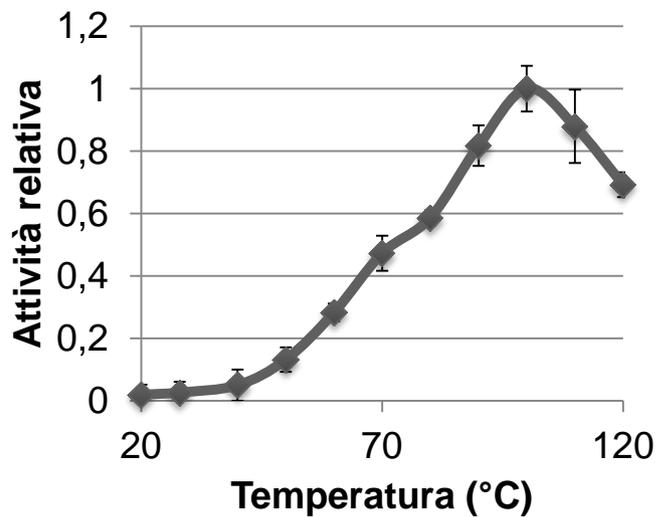
Enzyme	Gene locus
endo- β -1,4 xylanase	CTN_632
endo- β -1,3-xylanase	CTN_617
α -L-arabinofuranosidase	CTN_403
β -1,4-glucosidase	CTN_782
endo- β -1,4-galattanase	CTN_1370
β -mannanase	CTN_1345
endo-1,4- β -glucanase	CTN_1106
Laminarase	CTN_672
Cellobiosie fosforilase	CTN_783
β -xilosidase	CTN_616
Peptidoglican hydrolase	CTN_24

TEST DI ATTIVITA'

endo-1,4- β -xilanasi

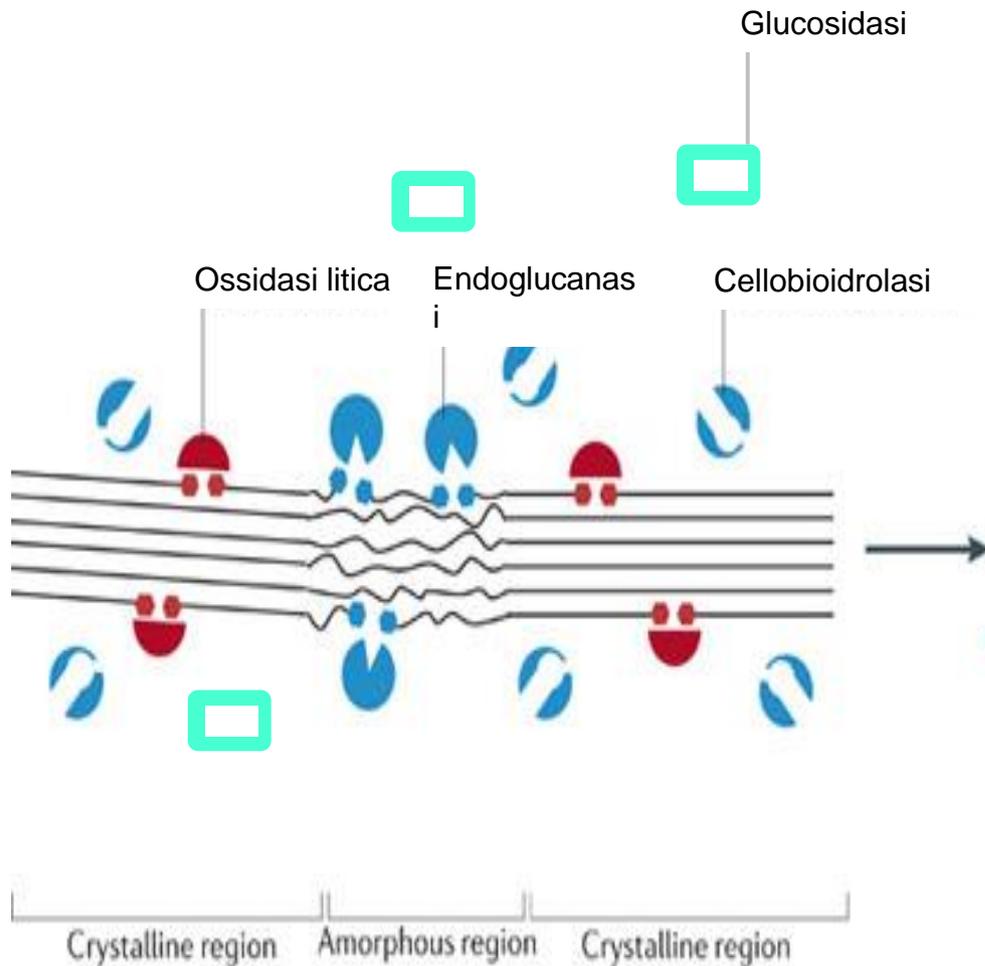


endo-1,4- β -glucanasi



Sequenze codificanti i diversi enzimi: clonate da organismi diversi

Per degradare la cellulosa, i microrganismi utilizzano **almeno 4 classi di enzimi** differenti

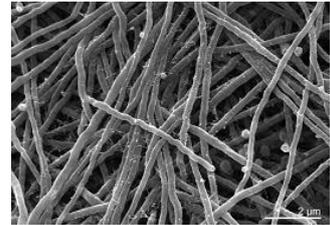


Ossidasi litica (LPMO): rende la cellulosa cristallina accessibile agli enzimi degradativi

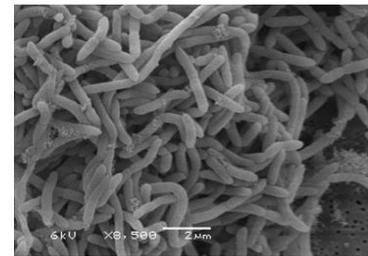
Endoglucanasi: degrada la cellulosa amorfa in frammenti di varia lunghezza

Cellobioidrolasi: degrada i frammenti prodotti dalla endoglucanasi in piccoli pezzi costituiti da 2 unità di glucosio (cellobiosio)

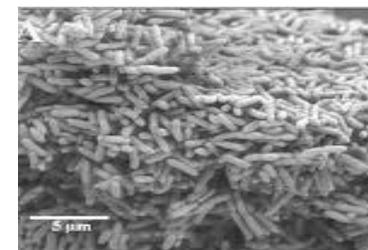
Glucosidasi: scinde le due unità di glucosio prodotte dalla cellobioidrolasi in glucosio semplice



Thermobifida fusca



Caldicellulosiruptor saccharolyticus



Caldicellulosiruptor owensensis



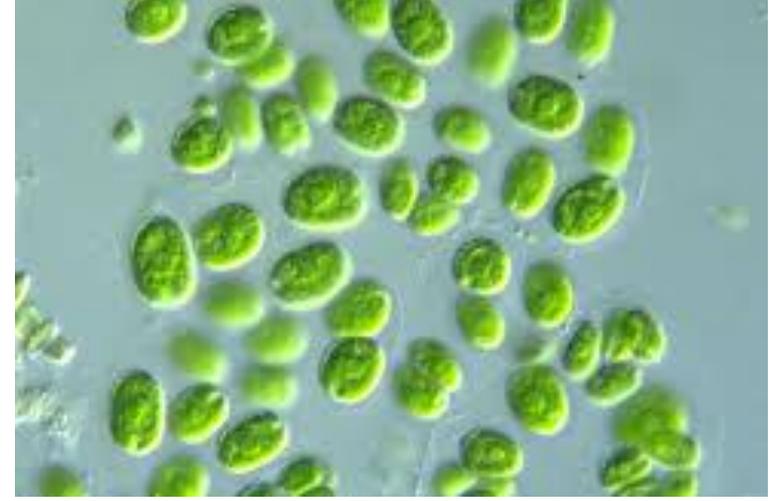
Espressione di enzimi termostabili
degradativi della parete cellulare
nell'**alga verde *C. reinhardtii***

LabICAB

Laboratorio di
Ingegneria Chimica Ambientale
e dei Bioprocessi

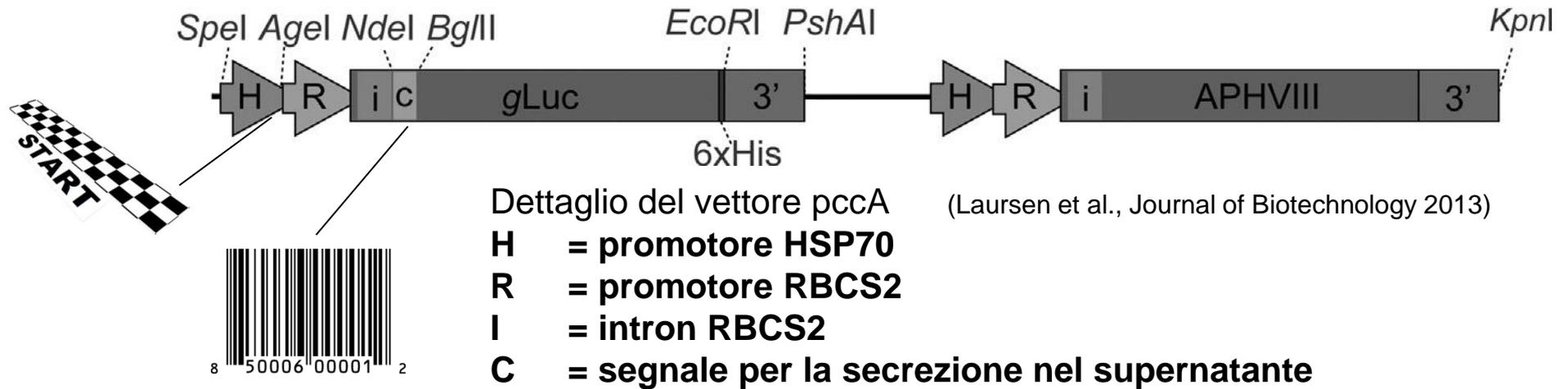
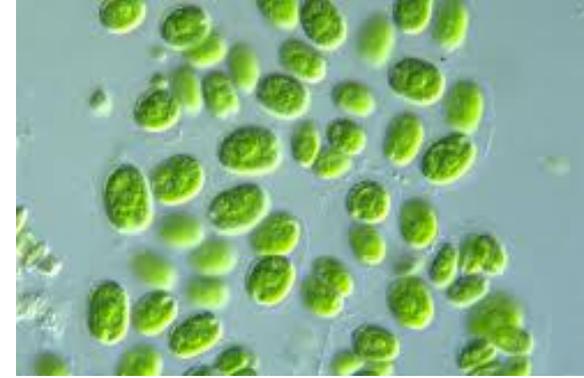


Vantaggi dello sfruttamento delle microalghe per la produzione di proteine ricombinanti

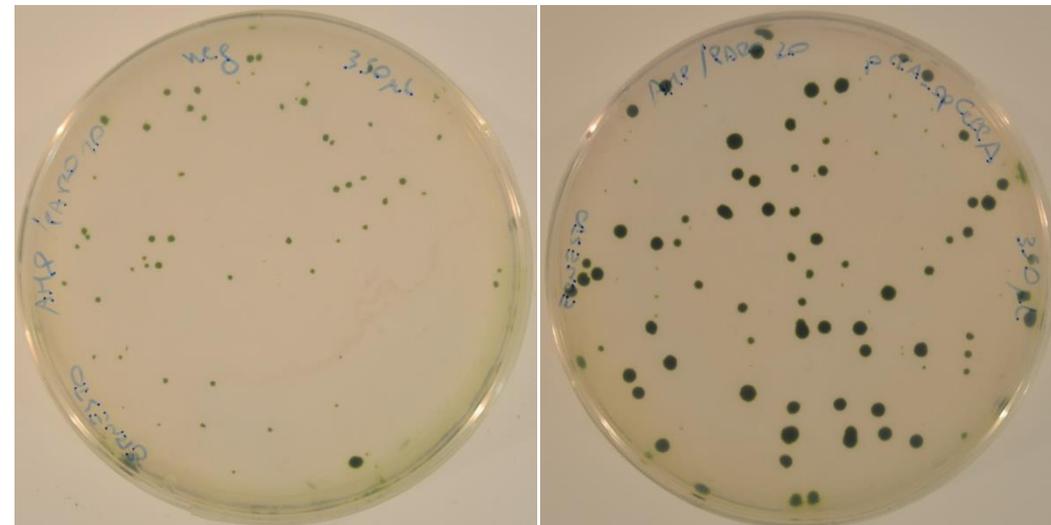


- resa elevata (100 T/ha/y vs. 1-2 T/ha/y nelle piante più produttive)
- capacità di fissare la CO₂ ad elevate concentrazioni
- sfruttamento di terreni marginali
- molte specie possono essere cresciute in acqua di mare
- crescita sia autotrofa che eterotrofa (riciclo degli scarti agricoli)
- non competono con la produzione agricola destinata all'alimentazione
- si possono produrre evitando la dispersione nell'ambiente

Trasformazione della microalga *Chlamydomonas reinhardtii*



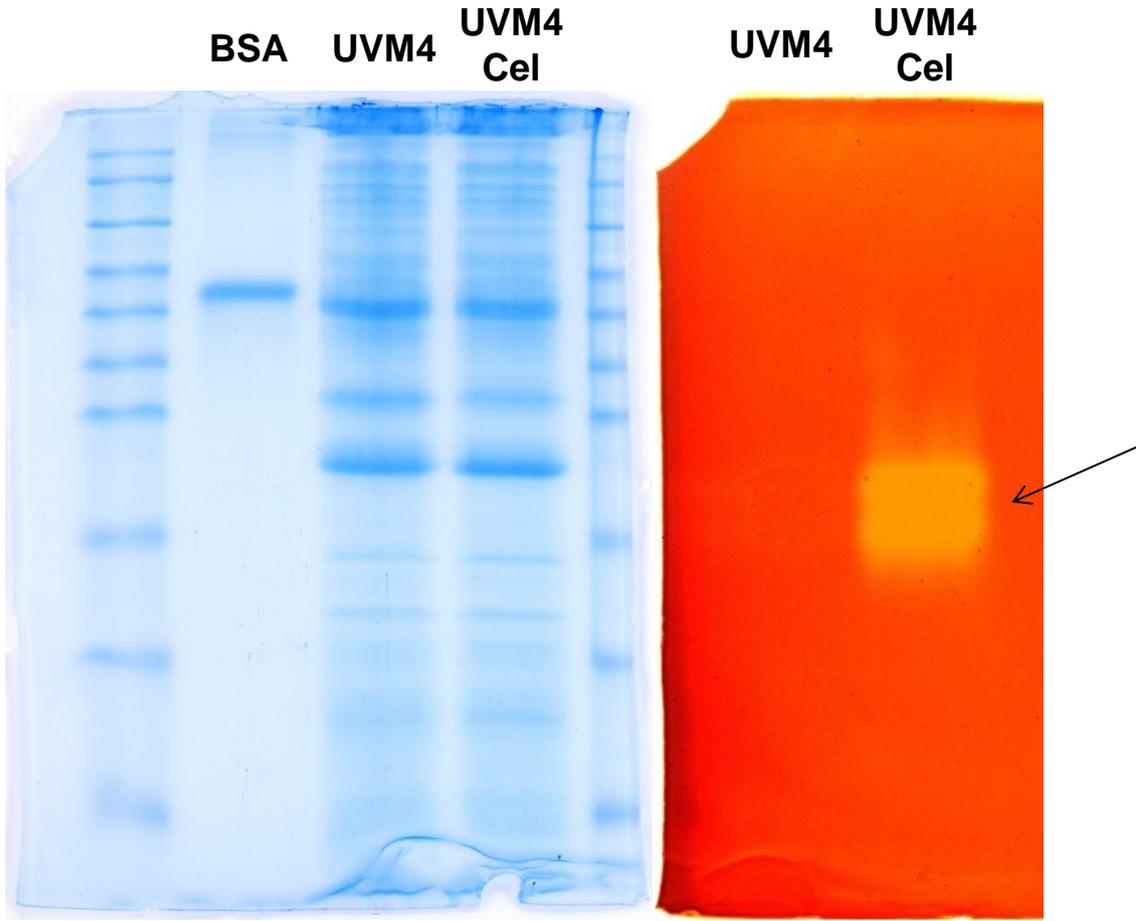
Gene glucanasi / Gluc



- ctrl

Gluc

Espressione della proteina eterologa



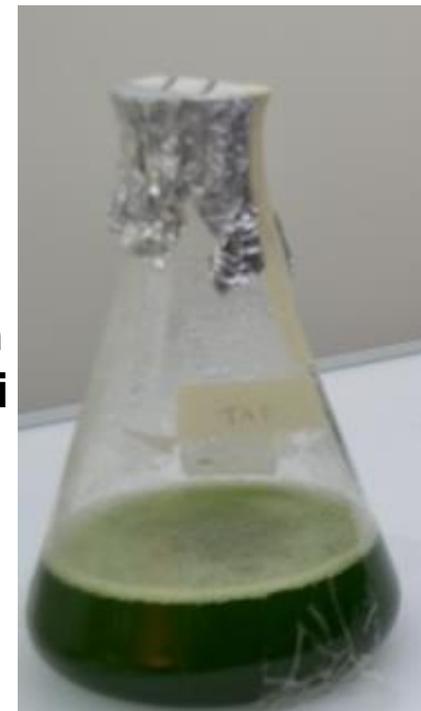
Coomassie

Zymogram
(CarboxyMethylCellulose)

1 ml di terreno di crescita
da coltura satura

Test di attività: se la proteina è presente ed è attiva, degrada il substrato contenuto nel gel, dando una reazione di colorazione

**7 gg
biomassa
cresciuta in
acqua e sali**





Espressione di enzimi termostabili
degradativi della parete cellulare
nell'alga verde *C. reinhardtii*

LabICAB

Laboratorio di
Ingegneria Chimica Ambientale
e dei Bioprocessi

