

ОЦЕНКА ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ОБРАБОТКИ НЕДРЕВЕСНОГО СЫРЬЯ ПРИ ПОМОЩИ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА В ДОКРИТИЧЕСКОМ И СВЕРХКРИТИЧЕСКОМ СОСТОЯНИЯХ

И.Н. Павлов

Проведена предварительная обработка лигноцеллюлозного материала в среде диоксида углерода в докритическом и сверхкритическом состояниях для повышения реакционной способности к ферментативному гидролизу. Проводилась обработка плодовых оболочек овса на универсальной термобарической установке под давлением диоксида углерода в течение установленного периода времени при регулировании температуры от 20 до 100 °С и давлении от 5,0 до 10,0 МПа. После взрывного сброса давления диоксида углерода происходит нарушение лигноцеллюлозной структуры и увеличивается доступная поверхность продуктов к ферментативному гидролизу. При обработке жидким диоксидом углерода в докритическом состоянии выход редуцирующих веществ весьма незначителен и близок к плодовым оболочкам овса, не подверженных предварительной обработке. Обработка диоксидом углерода в сверхкритическом состоянии при увеличении температуры и давления облегчает проникновение молекул углекислого газа в структуру материала, в результате продукты, полученные после взрыва, дают больший выход по редуцирующим веществам.

Ключевые слова: лигноцеллюлоза, плодовые оболочки овса, сверхкритический диоксид углерода, предварительная обработка, ферментативный гидролиз.

ВВЕДЕНИЕ

Уникальные особенности веществ в сверхкритическом состоянии нашли применение в технологии предварительной обработки целлюлозных растительных материалов для разрушения плотной лигноцеллюлозной матрицы. Целлюлоза, присутствующая в лигноцеллюлозной структуре, в дальнейшем подвергается гидролизу и преобразуется в сахара для получения субстратов, используемых в технологии. Среди различных видов предварительной обработки метод взрывной обработки широко исследуется при использовании сред в докритическом и сверхкритическом состоянии [1, 2]. Он включает в себя воздействие высокого давления, чтобы молекулы двуокиси углерода проникли в структуру лигноцеллюлозы, и затем резкого сброса давления. После проведения взрывной предобработки происходит удаление и растворение фракции гемицеллюлозы, в результате выходит автогидролизованый раствор с высоким содержанием волокнистого остатка, состоящего, в основном, из целлюлозы и лигнина [3]. Целлюлозосодержащие материалы, предварительно взорванные в углекислом газе, обладают повышенной реакционной способностью, что проявляется в повышении скорости и степени гидролиза целлюлозы [4]. Это связано с разрушением лигноцеллюлозной структуры и увеличением

доступной площади поверхности целлюлозного материала [5]. В зависимости от условий (температура, давление) достигается различная степень удаления лигнина, что подтверждено глубоким ферментативным гидролизом [6]. Различной степени делигнификации удастся добиться при установлении в качестве основных факторов обработки температуры, уровня давления и времени воздействия [7].

В настоящей статье представлены данные по предварительной обработке целлюлозного материала плодовых оболочек овса (ПОО) диоксидом углерода в докритических и сверхкритических условиях с последующим взрывным сбросом давления. В качестве факторов воздействия предварительной обработки рассматриваются температура и давление.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ПОО являются отходом переработки овса (ЗАО «Бийский элеватор, Алтайский край, г. Бийск) и перед исследованием промываются горячей водой (50–60 °С) с целью удаления белковой мучки. ПОО однородны по составу, имеют размер частиц до 10 мм и толщиной до 2 мм, поэтому используются для исследования без предварительного измельчения.

Предварительная обработка проводится на универсальной термобарической установке периодического действия [8], состоящей из

реакционной камеры с рабочим объемом 2,3 л, рассчитанной для проведения процесса под максимальным избыточным давлением 10,0 МПа и регулировкой температурного диапазона 20–300 °С. Реакционная камера оснащена внешней системой электрообогрева, позволяющей создавать необходимый температурный режим и уровень давления. К камере подсоединен баллон с углекислым газом, из которого он при захлаживании камеры поступает в жидком состоянии. ПОО в количестве 150 г помещаются в реакционную камеру, камера герметизируется и затем захлаживается до уровня температуры, соответствующей существованию диоксида углерода в жидком состоянии при атмосферном давлении. Подается диоксид углерода из баллона при заданном давлении, при переходе его в жидкое состояние перекрывается подача и с помощью системы обогрева и регулировки уровня давления создаются расчетные условия. Реакционная камера в ходе испытания размещается на платформе, где создается ее маятниковое качение с подъемом на 150°. Тем самым создаются условия для перемешивания среды в процессе обработки под давлением, чтобы обеспечить проникновение молекул диоксида углерода в матрицу продукта. После того как образец подвергается воздействию, реакционная камера устанавливается на сборник, в верхней части которого размещен механизм накола мембраны. Посредством накола добивались разрыва мембраны в нижней части реакционной камеры и сброса давления с резким взрывным сбросом. Ферментативный гидролиз субстратов проведен в ацетатном буфере с использованием ферментного комплекса, состоящего из ферментных препаратов «Целлолюкс-А» и «Брюзайм ВGX» [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первая группа результатов получена с предварительной обработкой в области невысоких температур и давлений с использованием условий существования диоксида углерода в докритическом и сверхкритическом состояниях при одинаковом времени проведения обработки 60 мин. Критическая температура существования углекислого газа 31,3 °С, давление 7,3 МПа.

После взрывной обработки выделялся способом фильтрации твердый остаток и промывался горячей водой. Затем твердый остаток использовался для приготовления субстрата с концентрацией 33 г/л в ацетатном буфере.

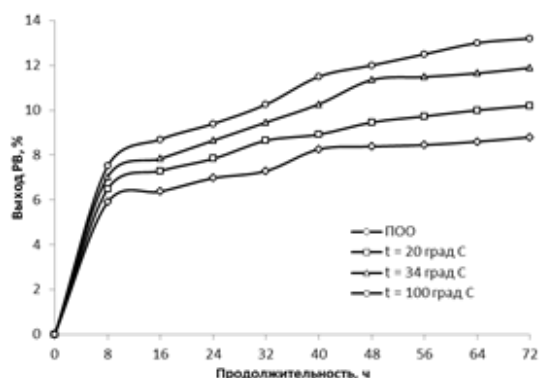


Рисунок 1 – Влияние докритических и сверхкритических температур диоксида углерода на ферментативный гидролиз ПОО

На рисунке 1 представлены результаты ферментативного гидролиза твердого остатка, полученного после взрывной обработки при действии диоксида углерода в докритическом и сверхкритическом состояниях. Накопление редуцирующих веществ (РВ) при ферментации твердых остатков, полученных при обработке под постоянным давлением 8,0 МПа, показывает, что докритическая температура предварительной обработки не так эффективна, как обработка при двух сверхкритических температурах 34 и 100 °С. Взрывная обработка при докритической температуре 20 °С дает результаты по выходу РВ, весьма близкие к контрольному образцу, т.е. к нативным ПОО, не подверженным предварительной обработке. Основной причиной такого низкого эффекта взрывной обработки при докритической температуре является низкая диффузионная способность двуокиси углерода в жидком состоянии. Молекулы двуокиси углерода при докритическом состоянии труднее проникают в лигноцеллюлозную структуру оболочек и, таким образом, вызывают меньшее нарушение целостности матрицы лигноцеллюлозы при взрывном сбросе давления.

Эффект влияния давления диоксида углерода в сверхкритическом состоянии на изменение реакционной способности при ферментативном гидролизе ПОО демонстрируется на рисунке 2. Повышение давления обработки привело к более высокому выходу редуцирующих веществ при гидролизе. На рисунке представлены результаты выхода РВ при гидролизе твердых остатков, полученных после предварительной обработки при температуре 34 °С и взрывного сброса. Создаваемый уровень давления соответствовал переходу диоксида углерода в сверхкритическое состояние.

ОЦЕНКА ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ОБРАБОТКИ НЕДРЕВЕСНОГО СЫРЬЯ ПРИ ПОМОЩИ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА В ДОКРИТИЧЕСКОМ И СВЕРХКРИТИЧЕСКОМ СОСТОЯНИЯХ

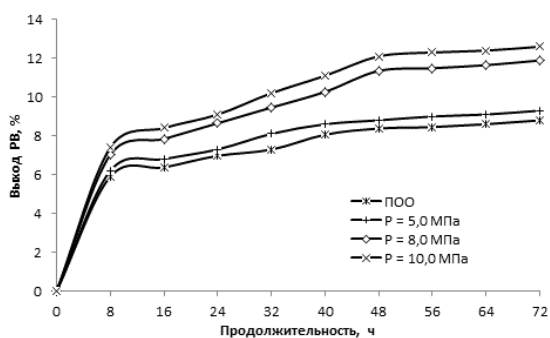
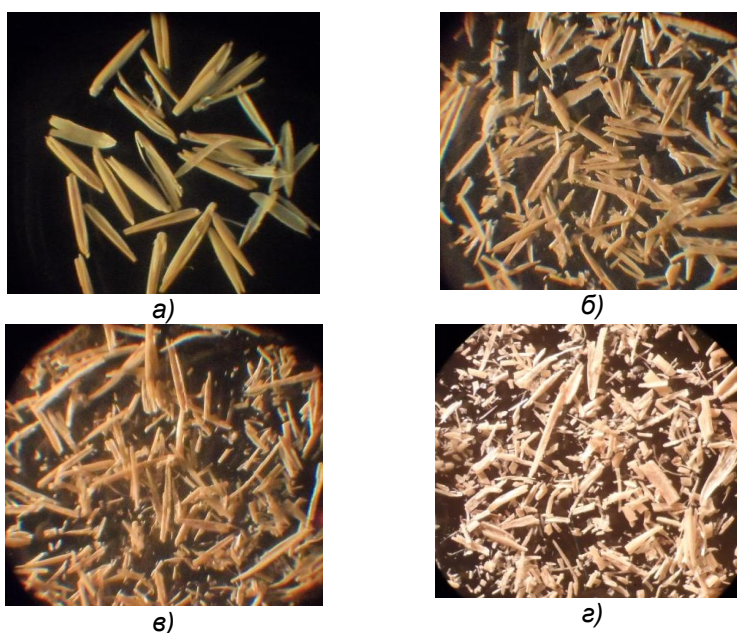


Рисунок 2 – Влияние давления диоксида углерода на ферментативный гидролиз волокнистого продукта из ПОО

При переходе в сверхкритическое состояние диффузионная проникающая способность диоксида углерода значительно возрастает и определяется температурными условиями и в значительной мере уровнем создаваемого в системе давления. Из полученных результатов видно, что повышение давления диоксида углерода привело к более высокому выходу РВ при гидролизе. Повышение давления является желательным, поскольку увеличение реакционной способности является бо-

лее выраженным в силу того, что в процессе выдержки молекулы диоксида углерода быстрее и более глубоко проникают в исходную структуру ПОО. При последующем взрыве обеспечивается наибольшее разрушение структуры образцов с более глубоко проникшими молекулами в матрицу. Для образцов твердых остатков подвергнувшихся более значительному разрушению, прежде всего, характерно измельчение нативной формы сырья, а также частичное разрушение матрицы с высвобождением волокон целлюлозы. Это означает, что происходит уменьшение размера частиц продукта и, как следствие, возрастает площадь поверхности доступной для действия ферментов. Исходный продукт представляет собой частицы продолговатой формы и имеет однородный дисперсный состав (рисунок 3а). При обработке диоксидом углерода, находящимся в сверхкритическом состоянии, при повышении давления до 8,0 и 10,0 МПа происходящие изменения в структуре являются более выраженными (рисунок 3в и 3г) и дисперсный состав приобретает более выраженный полидисперсный характер.



а) ПОО без обработки; б) давление обработки 5,0 МПа; в) давление обработки 8,0 МПа; г) давление обработки 10,0 МПа

Рисунок 3 – Фотографии исходных ПОО и твердых остатков полученных при взрывной обработке в докритических и сверхкритических условиях при температуре 34 °С.

В объеме продукта увеличивается доля мелкой фракции, представляющей собой мелкие частицы, присутствие которых составляет около 20 % от объема. При этом

видно, что сохранение первоначальной формы оболочек в продукте не произошло.

Анализ экспериментальных данных, приведенных на рисунке 3, подтверждает

влияние давления диоксида углерода на разрушение структуры и изменение степени дисперсности полученных продуктов, причем с повышением давления это влияние проявляется более активно.

Таким образом, в результате обработки ПОО под давлением 10,0 МПа средний размер частиц продукта снижен приблизительно на 55 %, что указывает на более близкое взаимодействие между молекулами углекислого газа и сырьем, что в итоге может обеспечивать повышение реакционной способности к ферментализу полученных субстратов. При проведенных условиях достигнутый эффект разрушения лигноцеллюлозной матрицы является слабым и не позволяет достичь высокого уровня накопления редуцирующих веществ при последующем гидролизе. Такой результат можно объяснить тем, что при действии на сухой продукт проникающая способность молекул углекислого газа является слабой, и не достигается глубокого проникновения в структуру лигноцеллюлозной матрицы. Следует отметить, что влияние на проникающую способность может оказать повышение температуры обработки и давления диоксида углерода, а также наличие влаги (воды). Наличие воды может оказать двойное влияние на действие углекислого газа. Первое заключается в увеличении размера пор в результате набухания целлюлозной структуры и заполнение их молекулами влаги, которые затем облегчают транспорт и проникновение молекул углекислого газа внутрь лигноцеллюлозной матрицы [10]. Второе объясняется тем, что при растворении диоксида углерода в воде происходит образование угольной кислоты, которая снижает значение pH в системе и при высоких давлениях [11] и температуре повышает степень разрушения лигноцеллюлозной матрицы. Влияние этих факторов может оказать значительный эффект на разрушение не только морфологической структуры, но и изменение кристаллической структуры целлюлозы [12], что требует дальнейших исследований.

ВЫВОДЫ

Полученные результаты показывают, что использование предварительной обработки плодовых оболочек овса при взрыве в среде сверхкритического диоксида углерода приводит к разрушению исходной структуры, уменьшению размера частиц и увеличению доступной поверхности целлюлозы для действия ферментного комплекса. Вследствие различия характеристик диоксида углерода в

докритическом состоянии и сверхкритическом, проникающая диффундирующая способность является более эффективной в сверхкритическом состоянии. Взрыв в условиях обработки в докритической области углекислого газа показал, что между предварительно обработанными и необработанными ПОО не существует почти никакой разницы в разрушении структуры и накоплению редуцирующих веществ при гидролизе. Увеличение давления в области обработки сверхкритического углекислого газа облегчает более быстрое проникновение молекул углекислоты в структуру, что после взрывного сброса приводит к более эффективному разрушению матрицы и увеличению степени гидролиза волокнистого продукта. Таким образом, предварительная обработка ПОО в сухом виде в области низких температур сверхкритического углекислого газа после взрыва дает увеличение степени разрушения морфологической структуры и повышение выхода РВ. Однако из-за плотной, жесткой структуры нативной лигноцеллюлозной матрицы ПОО действие взрыва сверхкритического углекислого газа в области исследованных значений температуры и давления на содержащую влагу лигноцеллюлозу ПОО является недостаточным для дальнейшей реализации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zheng, Y. Pretreatment for Cellulose Hydrolysis by Carbon Dioxide Explosion / Y. Zheng, H. M. Lin, G. T. Tsao // *Biotechnol. Prog.* – 1998. – Vol. 14. – P. 890–896.
2. Shimizu, K. Total utilization of wood components by steam explosion pretreatment / K. Shimizu, K. Sudo, H. Ono, M. Ishihara, T. Fujii // *Trans. Mater. Res. Soc. Jpn.* – 1994. – Vol. 18A. – P. 491–496.
3. Schacht, C. From plant materials to ethanol by means of supercritical fluid technology / C. Schacht, C. Zetz, G. Brunner // *Journal of Supercritical Fluids.* – 2008. – Vol. 46, № 3. – P. 299–321.
4. Kim, K. H. Supercritical CO₂ pretreatment of lignocellulose enhances enzymatic cellulose hydrolysis / K. H. Kim, J. Hong // *Bioresource Technology.* – 2001. – Vol. 77, № 2. – P. 139–144.
5. Zheng, Y. Supercritical carbon dioxide explosion as a pretreatment for cellulose hydrolysis / Y. Zheng, H. Lin, J. Wen et al. // *Biotechnology Letters.* – 1995. – Vol. 17, № 8. – P. 845–850.
6. Pasquini, D. Sugar cane bagasse pulping using supercritical CO₂ associated with co-solvent 1-butanol/water / D. Pasquini, Maria T. B. Pimenta L. H. et al. // *Journal of Supercritical Fluids.* – 2005. – Vol. 34, № 2. – P. 125–131.
7. Liu, J. Delignification of bamboo and straw using CO₂ super-critical fluid extraction technology / J. Liu, S. Wu // *Beijing Linye Daxue Xuebao.* – 2011. – Vol. 33, № 2. – P. 96–104.

ОЦЕНКА ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ОБРАБОТКИ НЕДРЕВЕСНОГО СЫРЬЯ ПРИ ПОМОЩИ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА В ДОКРИТИЧЕСКОМ И СВЕРХКРИТИЧЕСКОМ СОСТОЯНИЯХ

8. Павлов, И. Н. Определение зависимостей результатов гидротермобарической обработки сырья от условий процесса в реакторе под давлением / И. Н. Павлов // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья. Материалы VI Всероссийской конференции с международным участием. Под редакцией Н. Г. Базарновой, В. И. Маркина. – 2014. – С. 422–424.

9. Макарова, Е. И. Результаты ферментации целлюлозы мискантуса в ацетатном буфере и водной среде / Е. И. Макарова // Химия в интересах устойчивого развития. – 2013. – Т. 21, № 2. – С. 219–225.

10. Narayanaswamy, N. Supercritical carbon dioxide pretreatment of corn stover and switchgrass for lignocellulosic ethanol production / N. Narayanaswamy, A. Faik, D. J. Goetz et al. // Bioresource Technology. – 2011. – Vol. 102, № 13. – P. 6995–7000.

11. Meysami, B. Prediction of pH in model systems pressurized with carbon dioxide / B. Meysami,

M. O. Balaban, A. A. Teixeira // Biotechnology Progress. – 1992. – Vol. 8. – P. 149–154.

12. Liu, Yi-Fan. Investigation of the effect of supercritical carbon dioxide pretreatment on reducing sugar yield of lignocellulose hydrolysis / Yi-Fan Liu, Peng Luo, Qin-Qin Xu, En-Jun Wang, Jian-Zhong Yin // Cellulose Chem. Technol. – 2014. – Vol. 48 (1-2). – P. 89–95.

Павлов Игорь Николаевич, кандидат технических наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории биоконверсии, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук (ИПХЭТ СО РАН), e-mail: pawlow-in@mail.ru, тел.: (3854) 30-59-85.