

## ЕЛЕКТРОІМПУЛЬСНА ПЕРЕДОБРОБКА РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ

*Г.О. Тюрін, студент, horhenirin@gmail.com,*

*Т.О. Чебаненко, студент, tatiana.chebanenko303@gmail.com*

*Науковий керівник – к.т.н., доцент Юлевич О.І.*

*Миколаївський національний аграрний університет*

*У статті розглянута та визначена ефективність електроімпульсної передобробки рослинної сировини в комбінації з хімічними реагентами, що передбачала підвищення рівня доступності целюлози для подальшого ферментативного гідролізу. В ході експерименту були встановлені оптимальні показники ЕІ-обробки: температура  $210 \pm 10^\circ\text{C}$ , тиск  $25 \pm 5$  атм., час витримування сировини – 5-8 хвилин, підтверджено ефективність ЕІ впливу в поєднанні з хімічною обробкою, що підвищує вміст доступної ферментам фракції полісахаридів з 14-19% до 63-72%.*

*Ключові слова: целюлозовмісна сировина, целюлоза, ферментативний гідроліз, лігнін, геміцелюлоза, електроімпульсна обробка (ЕІ).*

**Постановка проблеми.** Здійснення ефективного ферментативного гідролізу природної целюлозовмісної сировини (ЦВС) є в цілому досить складним завданням внаслідок нерозчинності субстрату, високого ступеня його кристалічності і вмісту значної кількості домішок (головним чином лігніну і геміцелюлози). Практичне використання ферментативного розщеплення можливо тільки у випадку значного підвищення гідролізуємості целюлозних ланцюгів відповідними методами попередньої обробки сировини. Застосування електроімпульсної обробки у комбінації з хімічними реагентами виявилось досить ефективним, і дозволило вирішити ряд проблем, що виникають під час проведення обробки целюлозовмісної сировини традиційними методами.

**Аналіз останніх досліджень та публікацій.** У даний час в літературі описано широке коло хімічних методів попередньої обробки целюлози і лігноцелюлозних матеріалів. Ефективним є метод часткової деструкції кислотами, заснований на короткочасному гідролітичному впливі на целюлозовмісні матеріали розведеної сірчаної кислоти (0,5-1,0%) при підвищених температурах (160-200°C). Застосовується також обробка з набуханням у розчинах лугів [5].

Незважаючи на те, що попередня обробка розчинами лугів забезпечує субстрату достатню доступність ферментативному гідролізу, у великих масштабах стадія промивки є величезною проблемою передобробки. Один із способів вирішення цієї проблеми полягає у використанні для нейтралізації попередньо обробленої суспензії і видалення лігніну осадженням соляної кислоти [3]. Деякі автори вважають, що сам по собі лігнін не перешкоджає ферментативній деструкції, але надає тільки механічний захисний вплив стосовно впливу ферменту на фібрили целюлози. Вирішальним для підвищення здатності субстратів лігноцелюлози до деструкції під дією ферменту є не абсолютний вміст лігніну, а спосіб хімічного модифікування і топохімія його розподілу [1, 2, 9, 11].

В останні роки дуже популярним методом попередньої обробки лігноцелюлозних матеріалів став автогідроліз або паровий вибух [1,13].

Автогідроліз полягає в короточасному впливі на подрібнену деревину водяною парою високого тиску при високій температурі, тиск пари 20-30 кг/см<sup>2</sup>, вологість продукту 50%, час впливу 1-2 хвилини, після чого зразок переходить в область низького тиску, при цьому відбувається швидке розширення, зневоднення і розщеплення клітинної стінки [1,6,7,8,11].

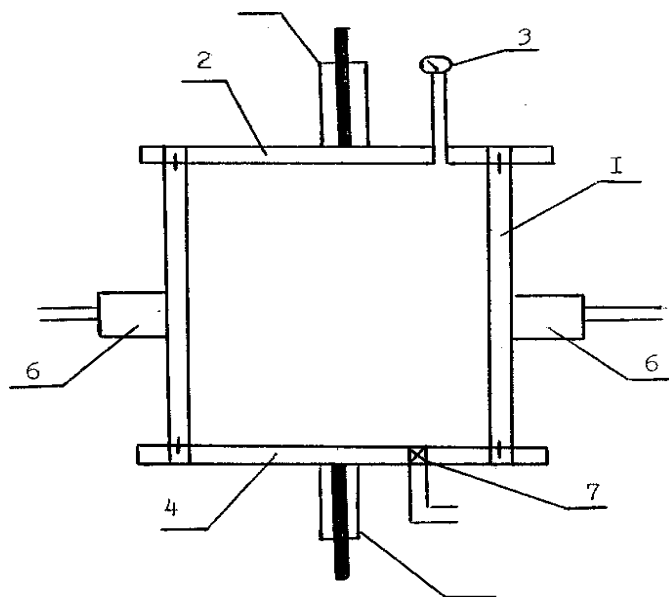
На підставі розглянутих досліджень щодо методів і способів передобробки целюлозовмісної сировини можливо зробити висновок, що у наш час паровий вибух з використанням хімічних реагентів є одним з найбільш ефективних методів передобробки.

**Постановка завдання.** Розглянути перспективність використання ЕІ-передобробки та ефективність застосування цього методу для покращення ферментативного гідролізу відходів рослинної сировини, для їх подальшого використання як додаткових джерел для отримання етанолу, кормових добавок, біологічно активних речовин та ін.

**Матеріали і методика.** У якості субстратів для ферментативного гідролізу використовувалася целюлозовмісна сировина – деревна тирса (часточки подрібнені до розмірів 1-3 мм).

Попередня обробка целюлозовмісної сировини здійснювалася у водних розчинах гідроксиду натрію 0,3% концентрації і оцтової кислоти 1,0% концентрації шляхом кип'ятіння протягом 2-х годин.

Електроімпульсна обробка зразків здійснювалась у лабораторії гідравліки інженерно-енергетичного факультету Миколаївського НАУ в експериментальній камері об'ємом 0,6 л, що мала вигляд порожнистого діелектричного циліндра, який був герметично закритий плоскими металевими електродами (рис. 1).



**Рис. 1. Камера електроімпульсної обробки рослинної сировини:**

1 – камера, 2 – знімний електрод-кришка, 3 – манометр, 4 – стаціонарний електрод, 5 – ізолювані електроди для подачі напруги, 6 – стойки для повороту камери, 7 – клапан для скидання тиску

Обробці підлягали зразки лігноцелюлозної сировини замочені до 70% вологості водними розчинами гідроксиду натрію, оцтової кислоти або водою. Потім підготовленні зразки піддавалися впливу електричних імпульсів (напруга заряду імпульсного накопичувача –  $1,5-3,5 \times 10^4$  В, тривалість імпульсу –  $10^{-6}-10^{-4}$  с, частота імпульсів –  $1-4$  імп.с<sup>-1</sup>, тривалість обробки зразків рослинної сировини складала 8 хвилин).

Після обробки і скидання тиску сировина вивантажувалася у спеціальну ємність з перфорованим дном і промивалася водою. Оброблена сировина зберігалася у холодильнику при температурі +4°C.

Визначення вмісту геміцелюлози, целюлози і лігніну у зразках рослинної сировини здійснювали відповідно до методики, наведеної у [1]. Вміст сірчаноокислого лігніну визначали як нерозчинний осад після ступеневого відокремлення геміцелюлози і целюлози.

Ферментативний гідроліз целюлозовмісних субстратів здійснювався очищеним композитним препаратом на основі технічних препаратів *Trichoderma viride* активністю 0,1 МО/мг по фільтрувальному паперу та *Aspergillus foetidus* активністю 2 МО/мг по целобіазі.

Ферментативний гідроліз зразків сировини проводили наступним чином: у градуйовану пробірку ємністю 15-20 мл вносили 10 мг (с. р.) субстрату, додавали 2,5 мл ацетатного буфера концентрацією 0,05 М, рН=4,8. Пробірку поміщали на 15 хв у термостат при температурі 50°C. Постійне перемішування здійснювалося за допомогою магнітної мішалки. Потім у суспензію додавали розчин ферменту – 0,5 мл *Aspergillus foetidus* (концентрація 17,6 мг на 20 мл ацетатного буфера) і 2,0 мл *Trichoderma viride* (концентрація 14 мг на 20 мл ацетатного буфера). Час уведення ферменту вважався початком реакції. Для визначення кількості редукуючих речовин [9] через певні проміжки часу відбиралися проби об'ємом 0,5 мл.

**Результати досліджень.** Електроімпульсна (ЕІ) передобробка рослинної сировини полягає у впливі імпульсів високої напруги, сформованих при подачі напруги на плоскі електроди діелектричної, герметично закритої камери. При цьому в порах і капілярах вологості сировини може бути сформований мікроелектровибух вологи. Вибухове закипання вологи в порах і капілярах сировини і поширення потужних хвиль стискання, створених плазмовими формуваннями, призводить до того, що волокна сировини прагнуть розірватися, процес пароутворення, що відбувається при цьому, призводить до збільшення температури і тиску в герметично закритій камері ЕІ-обробки. Результатом усіх перелічених факторів передобробки сировини є відокремлення лігніну і полісахаридів у зразках, частковий гідроліз полісахаридів і збільшення площі поверхні целюлозних волокон доступної для дії ферментів, що, у свою чергу, сприяє підвищенню ступеня ферментативного гідролізу.

Застосування ЕІ-обробки у комбінації з хімічними реагентами дозволяє вирішувати ряд проблем, що виникають під час проведення обробки целюлозовмісної сировини традиційними методами.

При проведенні досліджень було встановлено, що основним фактором, що впливає на ефективність електроімпульсної передобробки сировини, є тиск і

температура у камері, величина яких визначається енергією, що вводиться в одиницю об'єму, який оброблюється, за одиницю часу (табл. 1).

Таблиця 1

**Вплив тиску у камері обробки на ступінь ферментативного гідролізу зразків**

Тиск у камері, атм	Час підйому тиску, хв	Кількість редукуючих речовин, % с. р. зразка
		деревна тирса
контроль	-	19,0
10	1,0	44,0
15	1,5	53,0
20	2,0	62,0
25	3,0	69,0
30	4,0	72,0
35	6,0	73,0

Під час вибору умов обробки потужними імпульсами струму змінювалися:

- час досягнення заданого тиску у камері та його величина;
- тривалість обробки (час витримування сировини у камері при заданому тиску).

Необхідно відзначити, що навіть незначний тиск в камері (10-15 атм.), при загальній тривалості обробки 1,0-1,5 хв дозволяє збільшити ступінь конверсії зразків у порівнянні з контролем у 2,0-2,5 рази. Спостерігається істотне збільшення ступеня гідролізу (на 18-27%) при зростанні тиску з 10 до 25-30 атм. Подальше збільшення тиску не суттєво впливає на ступінь перетворення полісахаридів зразків (приріст на 1-2%), а час, необхідний для досягнення такого тиску, зростає в 1,5-2,0 рази.

У таблиці 2 наведено залежність ефективності ферментативного гідролізу зразків від тривалості електроімпульсної обробки.

Результати, що наведені у таблиці 2 свідчать, що обробка потужними імпульсами струму навіть без додавання хімічних реагентів збільшує ступінь ферментативного гідролізу субстратів у 2-4 рази. Треба відмітити, що збільшення тривалості процесу понад 10 хвилин не призводить до суттєвого покращення ефективності конверсії.

Збільшення тривалості процесу може привести до того, що звільнені макромолекулярні компоненти, що осіли на поверхню волокон, будуть утворювати суцільну плівку лігніну, що істотно знизить доступність целюлози для ферментів. Крім того, можливе утворення нових зв'язків між розподіленими компонентами, а також їх термодеструктурування. Невиправдано це і з точки зору енерговитрат.

**Залежність ефективності ферментативного гідролізу зразків деревної тирси від тривалості електроімпульсної обробки**

№ зразка	Час обробки, хв.	Кількість редукуючих речовин, % с. р. зразка
контроль	-	19,0
1	МИТТЄВИЙ ВИКИД	-
2	1	-
3	5	52,0
4	6	64,0
5	8	68,0
6	10	70,0
7	15	71,0
8	20	72,0

На підставі отриманих результатів режим тривалості передобробки для деревної тирси становить 8 хвилин.

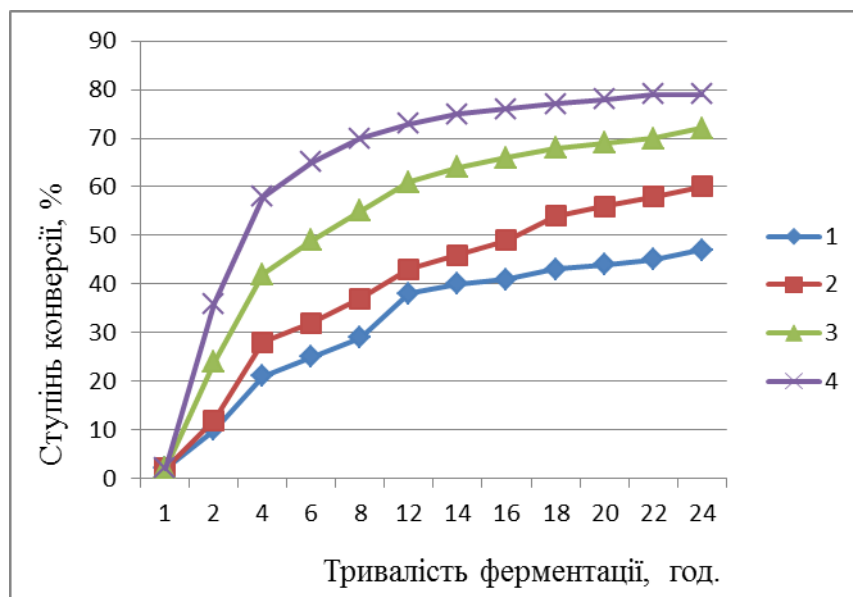
Однією з переваг електроімпульсної обробки лігноцелюлози є можливість використовувати зразки зволожені до 70% різними хімічними реагентами.

З метою підбору оптимальних умов здійснення електроімпульсної передобробки, а саме, концентрацій гідроксиду натрію та оцтової кислоти, були проведені дослідження, за результатами яких було оцінено вплив різних концентрацій хімічних речовин на наступний ферментативний гідроліз зразків (рис. 1, 2).

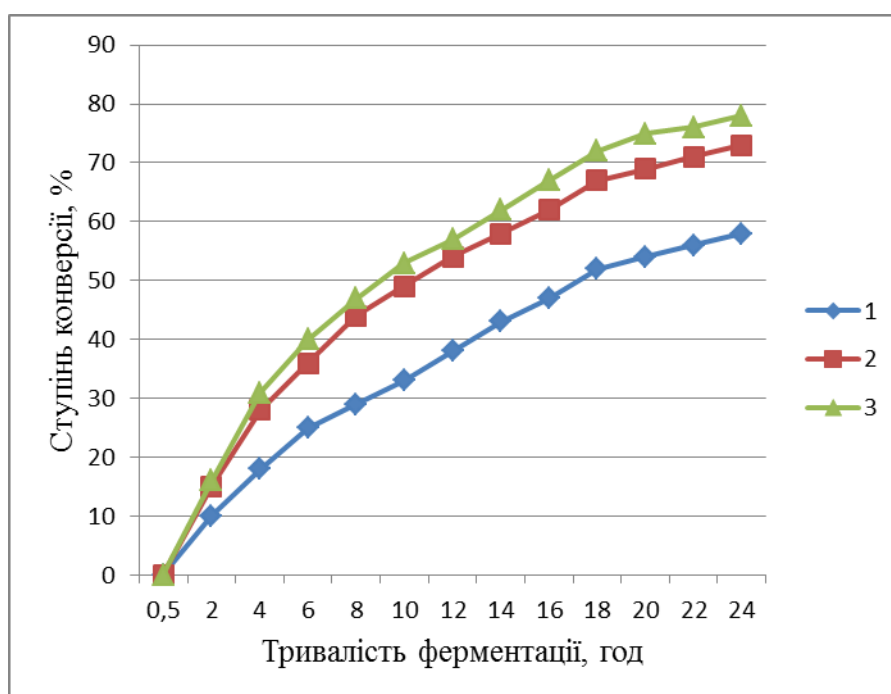
Розчин гідроксиду натрію був обраний як один з найбільш доступних агентів, що викликають делігніфікацію та сприяють набухання целюлози, а розчин оцтової кислоти – як каталізатор процесів гідролітичної деструкції. До того ж, використання оцтової кислоти дозволяє уникнути забруднення субстратів домішками (наприклад, хлорид-іони, сульфат-іони та ін.), які потребують видалення перед проведенням ферментативного гідролізу.

Таким чином, на підставі аналізу результатів ступеня ферментативного гідролізу передоброблених зразків, були відібрані наступні умови електроімпульсної обробки деревної тирси: тривалість – 8 хвилин, тиск у камері – 25 атм., 0,3% розчин NaOH та 1,0% розчин CH<sub>3</sub>COOH.

Сполучення ЕІ-обробки рослинної сировини з хімічними реагентами дозволяє одночасно здійснити екстрагування і розволокнення субстрату, що надає можливість з одного боку збільшити площу целюлози доступної для дії ферментів, а з іншого – видалити можливих інгібіторів процесу ферментативного гідролізу.



**Рис. 1. Залежність ступеня конверсії зразків деревної тирси, оброблених різним чином: 1 – ЕІ-обробка з 0,3% NaOH, 5 хв; 2 – ЕІ-обробка з 0,3% NaOH, 8 хв; 3 – ЕІ-обробка з 1,0% NaOH, 5 хв; 4 – ЕІ-обробка з 1,0% NaOH, 8 хв.**



**Рис. 2. Залежність ступеня конверсії зразків деревної тирси, оброблених різним чином: 1 – ЕІ-обробка з 0,5% CH<sub>3</sub>COOH; 2 – ЕІ-обробка з 1,0% CH<sub>3</sub>COOH; 3 – ЕІ-обробка з 2,5% CH<sub>3</sub>COOH**

Порівняння ступеня гідролізу зразків, оброблених потужними імпульсами струму і паровим вибухом, свідчить, що одержані результати наближаються за величиною, хоча частка доступної фракції полісахаридів після парового вибуху певною мірою вища. Більш жорсткі умови вибухового автогідролізу (тиск – 35-

40 атм., температура 250-270°C, тривалість обробки від 10 до 40 хвилин) призводять до руйнування кристалічної частини целюлози [10, 11, 12, 13, 14].

**Висновки і перспективи подальших досліджень.** Електроімпульсна передобробка рослинної сировини призводить до того, що волокна сировини розриваються. Результатом є відокремлення лігніну і полісахаридів у зразках, частковий гідроліз полісахаридів і збільшення площі поверхні целюлозних волокон доступної для дії ферментів, що, у свою чергу, сприяє підвищенню ступеня ферментативного гідролізу.

Електроімпульсна обробка рослинної сировини вологістю 70% заснована на безпосередній генерації пари у камері за рахунок швидкого розігріву, що дозволяє виключити процес отримання перегрітої пари.

Встановлено оптимальні показники ЕІ-обробки: температура 210±10°C, тиск 25±5 атм., час витримування сировини – 5-8 хвилин. Також доведено, що використання 0,3% розчину NaOH та 1,0% розчину CH<sub>3</sub>COOH у процесі передобробки деревної тирси збільшує вміст доступної ферментам фракції полісахаридів з 14-19% до 63-72%.

Ступінь ферментативного гідролізу зразків рослинної сировини, що підлягали ЕІ-обробці, дозволяє розглядати їх, як додаткове джерело для отримання етанолу, кормових добавок, біологічно активних речовин.

#### **Список використаних джерел**

1. Просвирников Д. Б., Сафин Р. Г., Гайнуллина Д. Ш. Исследование процесса делигнификации древесины, предварительной активированной паровзрывной обработкой. *Вестник Казанского технологического университета*. 2015. Т.18 (22). С.103-106.

2. Сеницын А. П., Гусаков А. В., Черноглазов В. М. Биоконверсия лигноцеллюлозных материалов. Москва : МГУ, 1995. 224 с.

3. Басок Б. И., Ободович О. М., Лунина А. О. Анализ методов переработки рослинної сировини в технологіях виробництва гідролізного спирту, фурфуролу та лігніну. *Промышленная теплотехника*. 2007. № 6. С. 33-45.

4. Левчук А. А., Рашид И. Д. Модификация свойств лигноцеллюлозных отходов растениеводства. *Научные труды КубГТУ*. 2015. №5. С. 5-29.

5. Харина М. В., Григорьева О. Н. Предварительная обработка лигноцеллюлозного сырья с целью повышения эффективности производства этанола. *Вестник Казанского технологического университета*. 2014. № 10. С. 158-167.

6. Чечикова Е. В., Евстафьев С. Н., Зорина Н. В. Изучение поведения компонентов соломы пшеницы в условиях субкритического автогидролиза. *Известия ВУЗов. Прикладная химия и биотехнология*. 2013. №1 (4). С. 42-47.

7. Dien B. S., Li X. L., Iten L. V. Enzymatic saccharification of hot-water pretreated corn fiber for production of monosaccharides. *Enzyme Microb. Tech.* 2006. №9. С. 1137-1144.

8. Volynets B., Dahman Y. Assessment of pretreatments and enzymatic hydrolysis of wheat straw as a sugar source for bioprocess industry. *International Journal of Energy and Environment (IJEE)*. 2011. Vol. 2, №3. P.427-446.

9. Оболенская А. В., Ельницкая З. П., Леонович А. А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы: Учебное пособие для вузов. Москва: Экология, 1991. 320 с.

10. Евстафьев В. Н., Чечикова Е. В. Превращение полисахаридов пшеницы в условиях процесса субкритического автогидролиза. *Химия растительного сырья*. 2015. № 1. С. 41-49.

11. Просвирников Д.Б., Сафин Р. Г., Гайнуллина Д. Ш. Исследование процесса делигнификации древесины, предварительной активированной паровзрывной обработкой. *Вестник Казанского технологического университета*. 2015. Т.18 (22). С.103-106.

12. Сафин Р. Г., Просвирников Д. Б., Салдаев В. А. Особенности переработки древесных материалов методом паровзрывного автогидролиза и технологические пути использования получаемого лигноцеллюлозного продукта. *Деревообрабатывающая промышленность*. 2012. № 4. С.8-13.

13. Чечикова Е. В., Евстафьев С. Н., Зорина Н. В. Изучение поведения компонентов соломы пшеницы в условиях субкритического автогидролиза. *Известия ВУЗов. Прикладная химия и биотехнология*. 2013. №1. С. 42-47.

14. Volynets В., Dahman Y. Assessment of pretreatments and enzymatic hydrolysis of wheat straw as a sugar source for bioprocess industry. *International Journal of Energy and Environment (IJEE)*. 2011. Vol. 2, №3. P.427-446.

### ***H. Tiurin, T. Chebanenko ELECTROPULSE PROCESSING OF PLANT'S MATERIALS***

*The article considers and determines the efficiency of electropulse pre-processing of plant's materials in combination with chemical reagents, which provided an increase in the level of availability of cellulose for further enzymatic hydrolysis. During the experiment, the optimal indicators of EI-processing were established: temperature  $210 \pm 10^{\circ}\text{C}$ , pressure  $25 \pm 5 \text{ atm.}$ , holding time of materials - 5-8 minutes, confirmed the effectiveness of EI-processing in combination with chemical influence, which increases the content of polysaccharide fraction available to enzymes from 14-19% to 63-72%.*

*Key words: cellulose-containing materials, cellulose, enzymatic hydrolysis, lignin, hemicellulose, electropulse processing (EI).*