

Karolina KUCHARSKA, Piotr RYBARCZYK*, Roman PAWŁOWICZ, Marian KAMIŃSKI

Politechnika Gdańska, Wydział Chemiczny, Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk.

*Autor do korespondencji, e-mail: markamin@pg.edu.pl

Kapilarna chromatografia gazowa fazy nad-powierzchniowej – HS-CGC w badaniach składu lotnych produktów hydrolizy biomasy ligno-celulozowej – BMLC

Streszczenie: W pracy przedstawiono sposoby obróbki biomasy ligno-celulozowej, których celem jest rozpułchnienie struktury surowca i zwiększenie dostępności struktur dla czynników hydrolizujących. Na podstawie przeglądu literatury wskazano na możliwe do zidentyfikowania związki obecne w hydrolizatach z biomasy ligno-celulozowej. Opracowano metodykę oraz zbadano możliwość oznaczania lotnych produktów hydrolizy chemicznej z wykorzystaniem techniki HS-GC-FID. Ponadto, wykorzystano wyniki oznaczania techniką badania fazy nad-powierzchniowej nad lustrem hydrolizatu (HS-GC-MS) do weryfikacji i interpretacji przebiegu hydrolizy. Wyniki badań wskazują, że zastosowanie proponowanej metody pozwala na przybliżoną ocenę składu hydrolizatów bez wcześniejszego etapu przygotowania próbek jedynie w krótkim czasie po pobraniu próbki.

Słowa kluczowe: biomasa ligno-celulozowa (BMLC); obróbka wstępna; hydroliza chemiczna; skład hydrolizatów; lotne produkty hydrolizy; analityka techniczna / procesowa; chromatografia gazowa; faza nad-powierzchniowa; inhibitory fermentacji;

Headspace capillary gas chromatography – HS-CGC in the investigations of the composition of volatile hydrolysis products from lignocellulosic biomass – BMLC

Abstract: The work presents the methods of lignocellulosic biomass pre-treatment aiming at loosening the structure of the raw material and increasing the availability of structures for hydrolyzing agents. Based on a literature review, identifiable compounds in the hydrolyzates have been listed. The methodology was developed and the possibility of determination of volatile chemical hydrolysis products using the HS-GC-FID technique was investigated. In addition, the results of the headspace analysis of the hydrolyzate (HS-GC-MS) were used to verify and interpret the course of the hydrolysis. The test results indicate that the use of the proposed method allows an approximate assessment of the composition of hydrolysates without a prior sample preparation stage only a short time after sampling.

Keywords: ligno-cellulosic biomass (BMLC); pre-treatment; chemical hydrolysis; hydrolysate's; volatile hydrolysis products; technical / process analytic; content; gas chromatography, hydrolysis products, fermentation inhibitors; head space gas chromatography_HS-GC; fermentation inhibitors.

1. Wstęp (Introduction)

Otrzymywanie biopaliw drugiej generacji z materiałów pochodzenia lignocelulozowego jest obecnie przedmiotem badań na całym świecie. Biomasa lignocelulozowa, oprócz wody, jest największą częścią ziemskiego ekosystemu i obejmuje wszelkie formy roślinności, drzewostanów i obszarów naturalnej wegetacji [1, 2].

W skład biomasy ligno-celulozowej (BMLC) wchodzi trzy podstawowe komponenty: celuloza, hemiceluloza i lignina. Hemiceluloza i celuloza to polisacharydy pod względem budowy chemicznej, celuloza – wyłącznie, a hemiceluloza – głównie. Lignina jest polimerem utworzonym przez pochodne aromatycznych alkoholi fenolowych, pełniącym rolę lepiszcza BMLC. Aby z materiału o wymienionym wyżej składzie możliwe było otrzymanie biopaliwa w procesach fermentacyjnych, niezbędna jest obróbka tego materiału, prowadząca do uzyskania cukrów prostych jako substratów do fermentacji. Scukrzanie może być realizowane poprzez hydrolizę enzymatyczną lub chemiczną. Szybkość hydrolizy biomasy ligno-celulozowej jest limitowana przez wiele czynników, takich jak stopień polimeryzacji surowca, zawartość wilgoci, zawartość hemicelulozy i ligniny, czy porowatość surowca [3, 4].

Wydajny przebieg hydrolizy wymaga z kolei odpowiedniego wcześniejszego przygotowania surowca, ponieważ rozbicie zwartej struktury lignocelulozy ułatwia przebieg hydrolizy. Obróbka poprzedzająca hydrolizę powinna zapewniać zmniejszenie stopnia krystalizacji celulozy oraz zwiększenie powierzchni kontaktu surowca z czynnikami powodującymi wytwarzanie biopaliw poprzez usuwanie ze środowiska reakcji ligniny i nierozłożonych polimerów [5, 6], które po procesie dalszej obróbki mogą służyć jako wsady w procesach biorafinacji.

Kluczowym, więc, etapem w otrzymywaniu biopaliw z ligno-celulzy jest wstępna obróbka surowca. Wyróżnia się kilka podstawowych grup metod obróbki wstępnej, tj. metody fizyczne, chemiczne, fizykochemiczne i biologiczne. Metody fizyczne takie jak mielenie czy rozcieranie wymagają dużego nakładu energetycznego, który bywa wyższy niż potencjalny uzysk energii z biomasy poddanej obróbce [7, 8]. W metodach biologicznych na skutek działania odpowiednich mikroorganizmów (najczęściej grzybów), następuje rozkład hemicelulozy i ligniny, ale celuloza nie ulega degradacji [9, 10]. Pomimo łagodnych warunków prowadzenia procesu i niskich kosztów, metody biologiczne nie są obiecujące z uwagi na długi czas niezbędny dla uzyskania zadowalającego stopnia rozkładu, w porównaniu do innych metod [11].

Za znacznie bardziej obiecujące techniki obróbki wstępnej uważane są metody fizykochemiczne i chemiczne. Do pierwszej z tych grup zalicza się m.in. mokre utlenianie, eksplozję z parą wodną, czy obróbkę z wykorzystaniem płynu nadkrytycznego. Wymienione metody są dość kosztowne, co wynika z konieczności stosowania wysokich temperatur i ciśnień, a także dużego zużycia wody procesowej. Do grupy metod chemicznych zalicza się hydrolizę kwaśną, zasadową, często z ozonowaniem lub utlenianiem, np. wodą utlenioną, czy z zastosowaniem procesów Fentona. Ozonowanie biomasy jest skuteczną metodą obróbki wstępnej, powodującą kilkukrotny wzrost wydajności hydrolizy enzymatycznej (w porównaniu z materiałem nie poddawanym utlenianiu z ozonem), ale jednocześnie jest jedną z najdroższych metod [11]. Metody wykorzystujące utleniacze (H_2O_2 , kwas nadoctowy) oraz mechanizmy przemian zachodzących podczas utleniania ligno-celulozy są dotychczas najmniej poznane. Wyniki badań wskazują, że z uwagi na łagodne warunki prowadzenia procesu (temperatura ok. 25-30°C) i niewielkie zużycie odczynników, utlenianie jest perspektywiczną metodą obróbki wstępnej ligno-celulozy [7, 11, 12].

Najlepiej poznaną i najczęściej stosowaną metodą wstępnej obróbki biomasy ligno-celulozowej jest hydroliza kwaśna. W procesie tym na skutek działania kwasu (siarkowy, solny) w warunkach podwyższonej temperatury i ciśnienia zachodzi rozpuszczanie hemicelulozy i jej rozpad (nawet do 90%) do cukrów prostych oraz wytrącanie ligniny [7]. Wady tej metody obejmują niewielki stopień rozkładu celulozy, wysokie koszty kwasoodpornych materiałów konstrukcyjnych, konieczność stosowania wysokich ciśnień, neutralizację i kondycjonowanie hydrolizatów przed kolejnymi etapami bio-konwersji, np. w procesach biologicznych. Z kolei hydroliza zasadowa może być prowadzona w zarówno w podwyższonej temperaturze, jak i w temperaturze otoczenia. Mechanizm działania alkaliów ($NaOH$, $Ca(OH)_2$, NH_3) polega na delignifikacji surowca, a także częściowej degradacji hemicelulozy, co skutkuje większą dostępnością biomasy dla enzymów i mikroorganizmów, a w konsekwencji wzrostem wydajności hydrolizy enzymatycznej jako kolejnego etapu przetwarzania biomasy. Zaletami hydrolizy zasadowej są łagodne warunki prowadzenia procesu, niewysokie koszty odczynników, a także możliwość ich odzysku [9]. Cechy te czynią z hydrolizy zasadowej jedną z najbardziej obiecujących metod wstępnego przygotowania odpadów ligno-celulozowych, dlatego też autorzy niniejszej pracy uwagę swoją zwrócili na tę właśnie metodę obróbki wstępnej.

Obróbka surowca ligno-celulozowego wpływa na zmianę jego składu chemicznego. Hydrolizaty otrzymywane m.in. w wyniku obróbki chemicznej są bogatymi matrycami, będącymi mieszaninami przynajmniej kilkudziesięciu związków chemicznych. Wśród składników hydrolizatów szczególne znaczenie mają cukry, z uwagi na ich późniejsze wykorzystanie np. w procesach fermentacyjnych do otrzymywania biopaliw. Ponadto, hydrolizaty zawierają związki, które negatywnie wpływają na wydajność np. procesów fermentacji (tzw. inhibitory fermentacji, np. furfural, 5-HMF, związki fenolowe). Identyfikacja i oznaczenie możliwie wielu składników jest zatem kluczowe dla sposobu postępowania z hydrolizatami przed kolejnymi etapami ich przetwarzania. W tabeli 1 przedstawiono wybrane związki chemiczne, które wchodzą w skład produktów hydrolizy chemicznej [13–16].

Ze względu na wieloskładnikowy charakter hydrolizatów, najpowszechniej stosowanymi metodami analitycznymi są techniki chromatografii cieczowej i gazowej. Chromatografia cieczowa stosowana jest w celu oznaczania zawartości składników nielotnych (np. cukrów), podczas gdy chromatografia gazowa wykorzystywana jest do oznaczania składników lotnych i średnio lotnych (np. związki fenolowe i kwasy karboksylowe). Jak wiadomo, wykorzystanie technik chromatograficznych wymusza w wielu przypadkach odpowiednie wcześniejsze przygotowanie próbek do analizy (filtracja, ekstrakcja cieczą, derywatywacja itp.). Chromatografia gazowa w trybie analizy fazy nad-powierzchniowej (*Head Space Gas Chromatography*, *HS-GC*) umożliwia praktycznie eliminację etapu przygotowania próbki i pozwala na szybką i prostą analizę zawartości wybranych lotnych składników hydrolizatów [17, 18].

Celem niniejszej pracy jest zbadanie możliwości i opracowanie metodyki stosowania metody HS-GC do identyfikacji i oznaczania i identyfikacji lotnych produktów hydrolizy chemicznej biomasy ligno-celulozowej.

Tabela 1. Wybrane związki chemiczne wchodzące w skład hydrolizatów z biomasy lignocelulozowej.
Table 1. Selected chemical compounds constituting hydrolyzates from lignocellulosic biomass.

Grupa związków (Group of compounds)	Przykłady (Examples)
Cukry	Sacharoza, celobioza, laktoza, galaktoza, mannoza, glukoza, ksyloza, arabinoza, ramnoza
Alkohole cukrowe	Sorbitol, gliceryna
Alkohole	Etanol
Kwasy karboksylowe	Kwasy: asparaginowy, galakturonowy, glukuronowy, jabłkowy, szczawiowy, mlekowy, bursztynowy, mrówkowy, lewulinowy, octowy, tropowy, syringowy, wanilinowy, protokatechowy, kawowy, 4-hydroksybenzoesowy, trans-ferulowy, benzoesowy, salicylowy
Związki fenolowe	Gwajakol, 2,6-dimetoksyfenol, pirokatechina
Aldehydy i ketony	Dihydroksyaceton, 5-hydroksymetylofurfural, aldehyd octowy, furfural, wanilina

2. Część eksperymentalna (Experimental part)

2.1. Materiały (Materials)

W pracy wykorzystano następujące materiały:

- metanol cz.d.a. (POCH S.A.),
- etanol cz.d.a. (POCH S.A., Gliwice, Polska),
- aldehyd octowy cz.d.a. (Sigma Aldrich),
- kwas octowy cz.d.a. (Sigma Aldrich),
- furfural cz.d.a. (Sigma Aldrich),
- kwas mlekowy cz.d.a. (Sigma Aldrich),
- fenol cz.d.a. (Merck),
- kwas lewulinowy cz.d.a. (Sigma Aldrich),
- gwajakol cz.d.a. (Sigma Aldrich),
- NaOH cz.d.a. (POCH S.A.),
- H₂SO₄ cz.d.a. (Fluka),
- HCl cz.d.a. (POCH S.A.),
- woda dejonizowana z turbiny (Grupa LOTOS S.A.), filtrowana przez filtr 0,45 µm,
- gazy techniczne: azot (5N, Linde Gas), wodór (5,5N, generator wodoru),
- surowiec lignocelulozowy: wierzba energetyczna (*Salix viminalis* L. z okolic Wejherowa, Polska).

2.2. Aparatura i wyposażenie (Instruments and equipment)

- Ogrodowy rozdrabniacz do gałęzi Meec Tools Garden Shredder 425,
- młynek ultra odśrodkowy RETSCH Ultra Centrifugal Mill ZM200,
- wytrząsarka termostatowana model GSL 1083,
- wirówka Biofuge 28RS,
- suszarka laboratoryjna WAMED,
- generator wodoru Packard 9400 Hydrogen Generator,
- chromatograf gazowy z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (GC-FID) Varian CP-3800 z oprogramowaniem Star Chromatography Workstation,
- chromatograf gazowy z detektorem masowym (GC-MS) Hewlett Packard 5890 II, detektor MS 5972A z oprogramowaniem MSD ChemStation i biblioteką widm NIST 2008,
- strzykawka gazoszczelna Hamilton,
- eksykator,
- szkło laboratoryjne.

2.3. Metodyka badań (Methods)

W pierwszym etapie badań sporządzono mieszaninę wybranych związków wzorcowych, które mogą występować w hydrolizatach po obróbce kwaśnej lub zasadowej. Do sporządzenia mieszaniny wytypowano następujące związki: metanol, etanol, aldehyd octowy, kwas octowy, furfural, kwas mlekowy, fenol, kwas lewulinowy i gwajakol.

Biomasę ligno-celulozową rozdrobnilo wstępnie za pomocą ogrodowego rozdrabniacza do gałęzi, a następnie zmielono w młynku ultradźwiękowym do rozmiarów ziaren 0,75 mm.

Hydrolizę zasadową prowadzono w termostатовanej wytrząsarce, w szczelnie zamkniętej kolbie o objętości 250 ml. Do kolby wprowadzano 4 g rozdrobnionej biomasy (średnia wielkość ziaren 0,75 mm) i dodawano 80 ml roztworu zasady sodowej (20%). Kolbę umieszczano w termostатовanej wytrząsarce, pracującej w 60°C przez czas 2 godzin. Po zakończeniu hydrolizy alkalicznej, mieszaninę reakcyjną zobojętniano roztworem HCl, a następnie odwirowywano w celu oddzielenia osadu. Otrzymany hydrolizat (tj. ciecz) poddawano analizie HS-GC. W analogiczny sposób postępowano w przypadku hydrolizy kwaśnej, stosując kwas siarkowy: 20%, 10 godzin, 60°C. Wskazane wyżej warunki hydrolizy zostały dobrane na podstawie doniesień literaturowych oraz wcześniejszych, niepublikowanych wyników własnych badań wstępnych. Warunki te zastosowano dla uzyskania hydrolizatów o typowym składzie dla przyjętej metody hydrolizy.

Osad powstały po hydrolizie trzykrotnie przemywano wodą oraz dwukrotnie acetonem. Osad suszono przez 24 h w temperaturze 105°C i umieszczano w eksykatorze.

W celu zastosowania techniki Head Space, 10 ml roztworu hydrolizatu przenoszono do fiolki o pojemności 20 ml i regulowano wartość pH (do odczynu kwaśnego lub zasadowego). Następnie fiolkę zamykano szczelnie membraną i umieszczano w termostacie utrzymującym temperaturę 90°C. Po upływie 30 minut, z fazy nad-powierzchniowej za pomocą strzykawki gazoszczelnej pobierano próbkę gazową o objętości równej 2 ml. Przed pobraniem próbki, strzykawkę wygrzewano w temperaturze 95°C przez okres przynajmniej 30 min.

2.4. Warunki rozdzielania i analizy chromatograficznej (Chromatographic conditions)

W Tabeli 2 przedstawiono informacje o wykorzystywanej aparaturze, kolumnach i warunkach rozdzielania i analiz chromatograficznych dla badanych hydrolizatów pochodzenia lignocelulozowego.

Tabela 2. Warunki analizy chromatograficznej

Table 2. Chromatographic conditions

Parametr (Parameter)	HS-GC-FID	HS-GC-MS
Kolumna	DB-624 (60 m x 0,32 mm x 1,8 µm)	DB-624 (60 m x 0,25 mm x 1,4 µm)
Gaz nośny	Azot	Wodór
Przepływ gazu nośnego	2 ml/min	0,8 ml/min
Split	50:1 lub 10:1	20:1
Temperatura dozownika	260°C	300°C
Temperatura kolumny	70°C (utrzymanie 1 min); narost 20°C/min do 250°C; 250°C – utrzymanie 10 min	70°C (utrzymanie 1 min); narost 20°C/min do 250°C; 250°C – utrzymanie 10 min
Warunki detekcji	Detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID), 280°C, przepływy: wodór 30 ml/min, powietrze 300 ml/min	Spektrometr mas (MS), 280°C

3. Wyniki i dyskusja (Results and discussion)

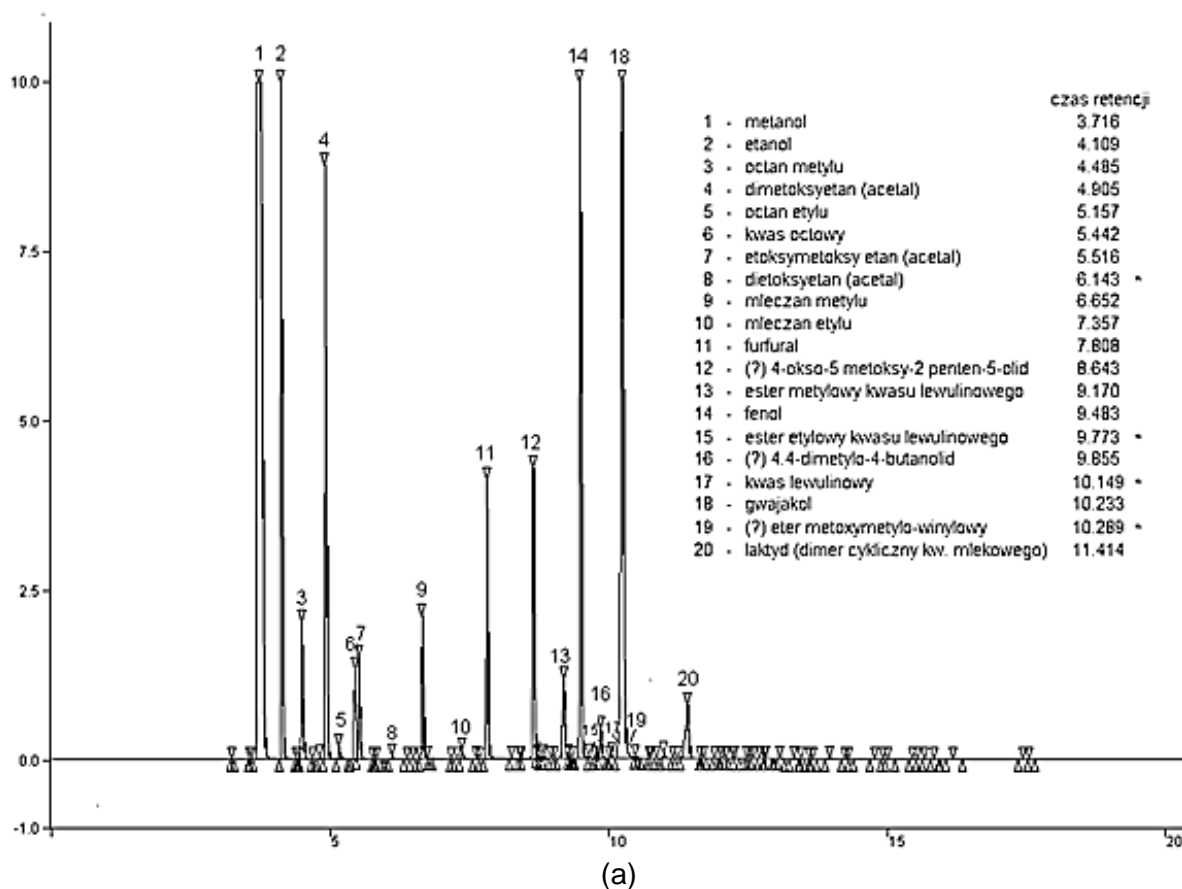
W Tabeli 3 zamieszczono wartości czasu retencji dla poszczególnych związków chemicznych stanowiących składniki mieszanin wzorcowych, otrzymane w warunkach opisanych w Tabeli 2 z użyciem aparatury wyszczególnionej w p. 2.2.

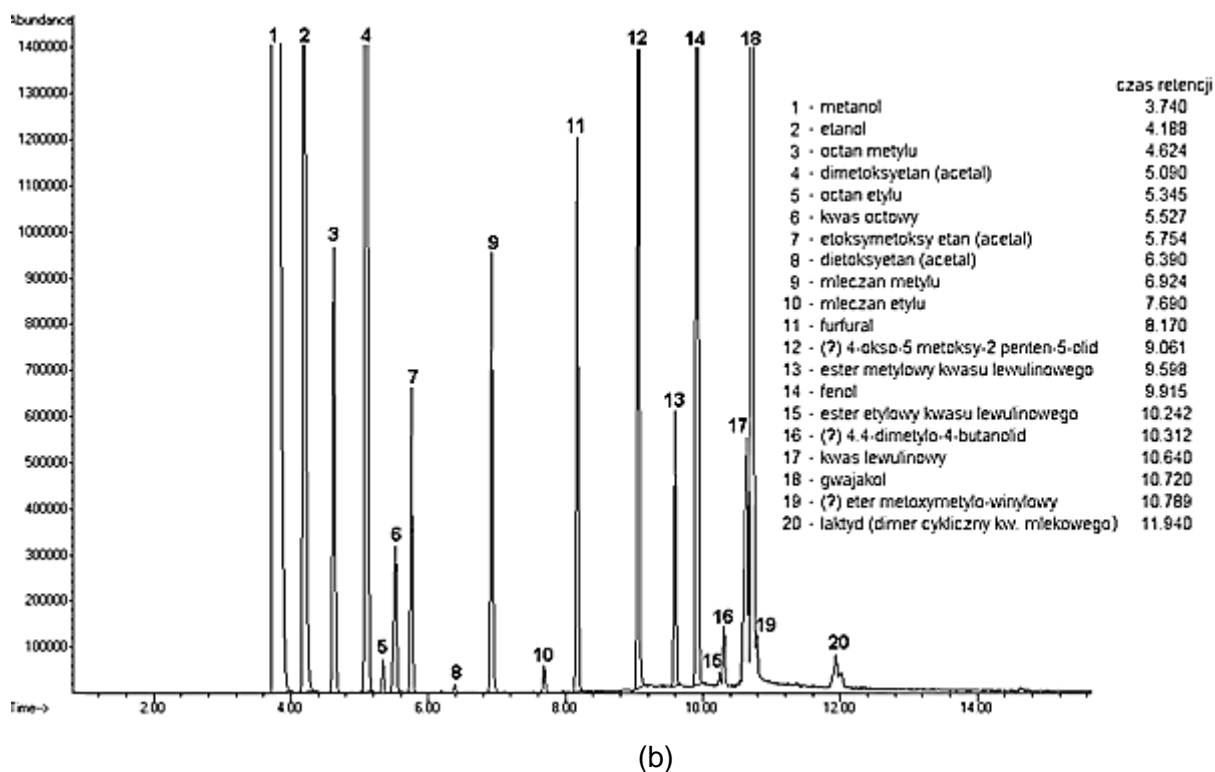
Tabela 3. Wartości czasu retencji pojedynczych związków i skład mieszaniny związków wzorcowych.
Table 3. Values of retention time for single compounds and composition of investigated mixture of model compounds.

Związek (Compound)	Czas retencji (Retention time) [min]	Zawartość (Content) [%]
Metanol	3,73	67,71
Etanol	4,09	9,24
aldehyd octowy	4,91	3,95
kwas octowy	5,40	2,95
Furfural	7,79	3,02
kwas mlekowy	8,63	3,77
Fenol	9,47	2,96
kwas lewulinowy	10,18	2,92
Gwajakol	10,22	3,47

Mieszaninę związków wzorcowych poddano rozdzielaniu i analizie w warunkach HS-GC-FID oraz w warunkach HS-GC-MS. Na rysunku 1 przedstawiono uzyskane chromatogramy. Na wszystkich załączonych chromatogramach oś odciętych oznacza czas analizy, natomiast oś rzędnych to sygnał z detektora.

Jak widać na załączonych chromatogramach (Rys. 1), liczba możliwych do zidentyfikowania związków, w trybie „scan” i z wykorzystaniem biblioteki widm NIST 2008, jest wyższa niż liczba związków wchodzących w skład mieszaniny wzorcowej. Sugeruje to, że składniki mieszaniny reagują między sobą, prowadząc do powstania nowych związków chemicznych. Związki zidentyfikowane na podstawie analizy GS-MS, wraz z wartościami czasu ich retencji, wyznaczonymi dla kolumn DB-624 pracujących zarówno w układzie GC-MS, jak i GC-FID, przedstawiono w Tabeli 4.





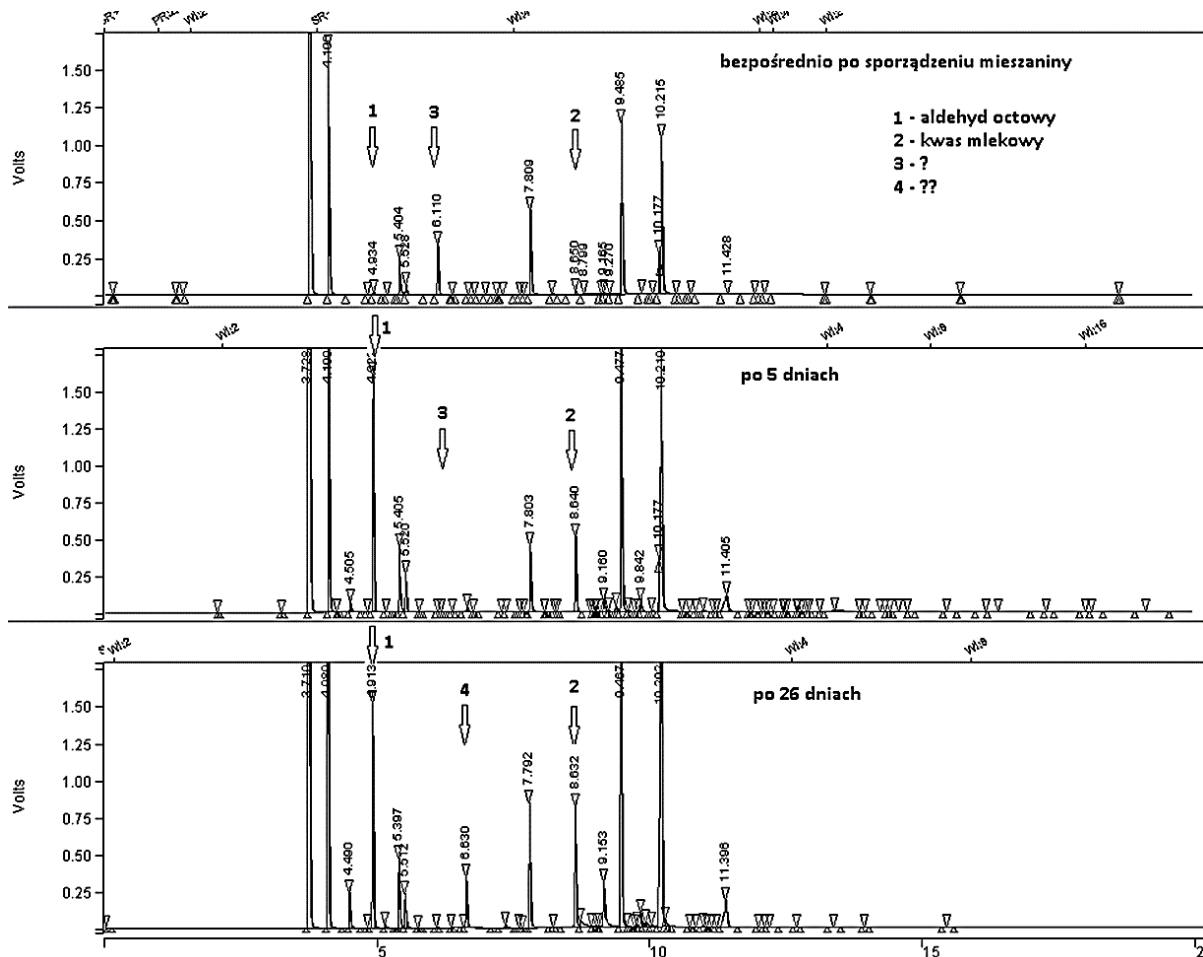
Rys. 1. Chromatogramy GC-FID (a) i GC-MS (b) dla mieszaniny wzorcowej.
Fig. 1. Chromatograms for model mixture: (a) GC-FID; (b) GC-MS.

Tabela 4. Wartości czasu retencji dla składników mieszaniny związków wzorcowych zidentyfikowanych na podstawie Rysunku 1b z wykorzystaniem biblioteki widm NIST 2008.

Table 4. Values of retention time for identified components of model mixture based on Figure 1b with the use of NIST 2008 mass spectral library.

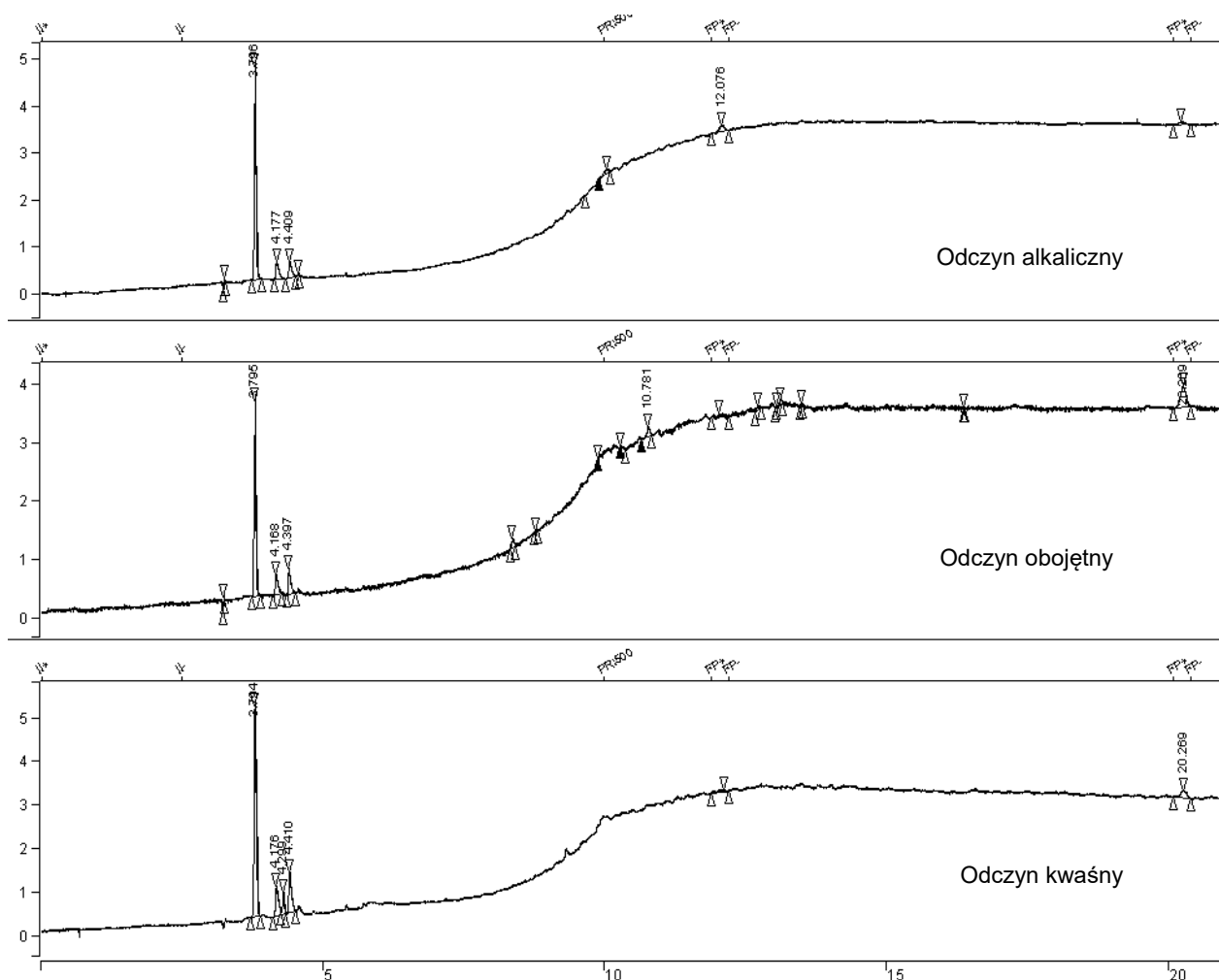
Związek (Compound)	Czas retencji GC-FID (Retention time GC-FID) [min]	Czas retencji GC-MS (Retention time GC-MS) [min]
Metanol	3,716	3,740
Etanol	4,109	4,188
octan metylu	4,485	4,624
dimetoksyetan (acetal)	4,905	5,090
octan etylu	5,157	5,345
kwas octowy	5,442	5,527
etoksymetoksy etan (acetal)	5,516	5,754
dietoksyetan (acetal)	6,143	6,390
mleczan metylu	6,652	6,924
mleczan etylu	7,357	7,690
Furfural	7,808	8,170
(?) 4-okso-5-metoksy-2-penten-5-olid	8,643	9,061
ester metylowy kwasu lewulinowego	9,170	9,598
Fenol	9,483	9,915
ester etylowy kwasu lewulinowego	9,773	10,242
(?) 4,4-dimetylo-4-butanolid	9,855	10,312
kwas lewulinowy	10,149	10,640
Gwajakol	10,233	10,720
(?) eter metoksymetylo-winylowy	10,289	10,789
laktyd (dimer cykliczny kwasu mlekowego)	11,414	11,940

W próbkach rzeczywistych hydrolizatów należy spodziewać się zarówno związków chemicznych stanowiących składniki mieszaniny wzorcowej, jak i innych, zamieszczonych w Tabeli 4, a także jeszcze innych związków. Należy, więc, mieć świadomość, że badanie procesu hydrolizy BMLC powinno być realizowane w warunkach „on line”, a każda pobierana w trakcie trwania hydrolizy próbka ciepla powinna być natychmiast zamrażana, np. do temperatury -30°C . Wynik badania jest bowiem uzależniony od upływu czasu od chwili pobrania próbki do analizy. Dla oceny wpływu czasu od pobrania próbki do analizy, zarejestrowano chromatogramy mieszaniny wzorcowej uzyskane bezpośrednio oraz po 5 i 26 dniach od sporządzenia mieszaniny wzorcowej. Wyniki przedstawiono na Rysunku 2.



Rys. 2. Wpływ czasu od pobrania do analizy próbki mieszaniny wzorcowej (GC-FID).
 Fig. 2. Influence of time from sampling to analysis of mixture of model compounds (GC-FID).

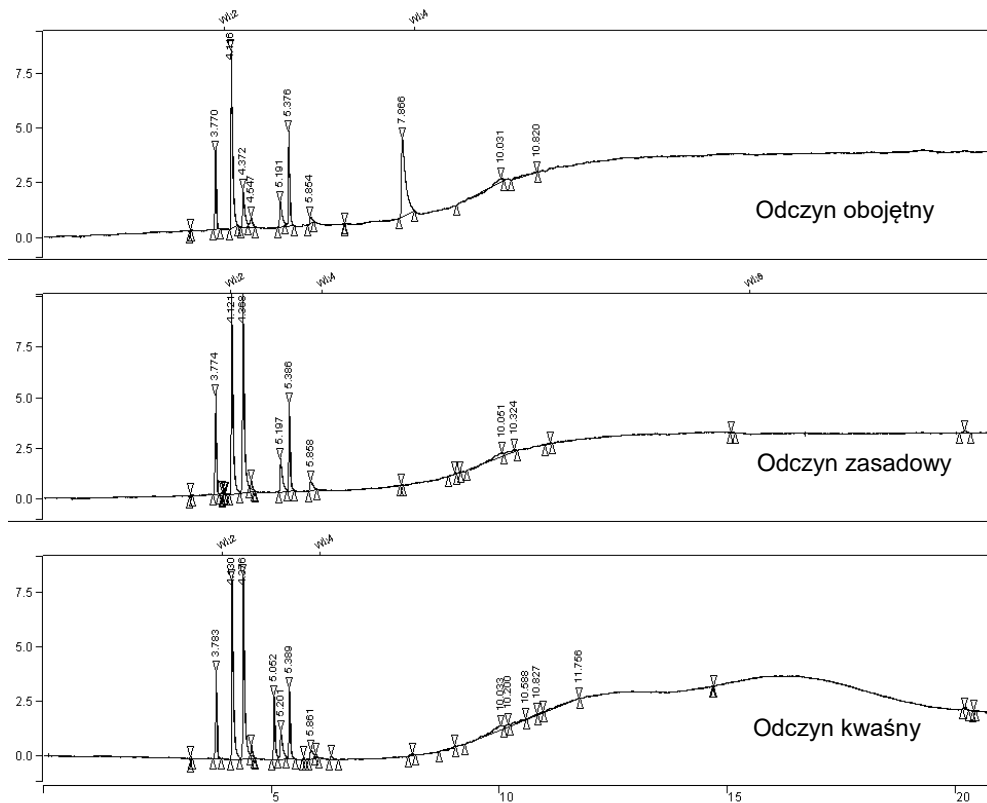
Analiza chromatogramów przedstawionych na rysunku 2 potwierdza istotny wpływ czasu przechowania mieszaniny wzorcowej na zawartość niektórych składników. Dla mieszaniny analizowanej bezpośrednio po jej sporządzeniu, piki od aldehydu octowego (oznaczony na chromatogramie jako 1) oraz od kwasu mlekowego (2) są prawie niewidoczne, podczas gdy pojawia się wyraźny pik niewiadomego pochodzenia po czasie 6,11 min (3). Świadczyć to może o tym, że pomiędzy składnikami mieszaniny zaszła reakcja chemiczna, w wyniku której doszło do powstania np. acetalu. Analiza ponowiona po 5 dniach od przygotowania mieszaniny wykazała, że powstający produkt jest nietrwały (pik po 6,11 min zanika), pojawiają się natomiast wyraźne piki od aldehydu octowego i kwasu mlekowego. To z kolei może wynikać z hydrolizy acetalu. Ponowienie analizy po 26 dniach od przygotowania mieszaniny ujawnia inne pik, np. piki występujące po czasie 6,63 (4); 4,49; 9,15; 11,40. Powyższe obserwacje wskazują, że jeśli w hydrolizatach z biomasy ligno-celulozowej obecne będą związki takie, jak w mieszaninie wzorcowej, to mogą one reagować między sobą, a ich stężenia w przechowywanych próbkach mogą zmieniać się w czasie.



Rys. 3. Chromatogramy GC-FID dla hydrolizatu alkalicznego
 Fig. 3. GC-FID chromatograms for alkaline hydrolysate.

W kolejnym etapie badaniom HS-GC poddano rzeczywiste hydrolizaty z wierzby energetycznej, otrzymane w wyniku przeprowadzenia procesów hydrolizy alkalicznej (20% NaOH, czas hydrolizy 2 godziny) oraz hydrolizy kwaśnej (20% H₂SO₄, czas hydrolizy 10 godzin). W obydwu przypadkach hydrolizy wykonano w temperaturze 60°C. Dla każdej z badanych próbek hydrolizatów wykonano po trzy rozdzielania i analizy chromatograficzne, rejestrując chromatogramy dla próbki o odczynie obojętnym (pH ok. 7,0), kwaśnym (pH ok. 2,0) i zasadowym (pH ok. 13,0). Próbkę o żądanym zakresie wartości pH uzyskano z jednego hydrolizatu o odczynie obojętnym, który najpierw zakwaszono, a później alkalizowano. Otrzymane chromatogramy przedstawiono na rysunkach 3 i 4.

Otrzymane wyniki wskazują, że zależnie od rodzaju hydrolizy (zasadowa lub kwaśna) oraz od odczynu analizowanej próbki, uzyskuje się różny skład badanych hydrolizatów. Mniejsza liczba lotnych związków występuje w próbkach po procesie hydrolizy zasadowej niż kwaśnej (por. Rys. 3 i 4). W hydrolizatach alkalicznych, poza związkami z mieszaniny wzorcowej występującymi w bardzo niewielkich stężeniach, zidentyfikowano jedynie metanol, etanol i aceton. Zdecydowanie bardziej bogatą matrycę lotnych związków stanowią hydrolizaty otrzymane po procesie hydrolizy kwaśnej, gdzie poza ww. związkami obecnymi w hydrolizatach po hydrolizie zasadowej, oznaczono także kwas octowy, furfural i inne związki chemiczne nieobecne w mieszaninie wzorcowej o wartościach czasu retencji równych 4,56; 5,2 i 5,85 min. Należy zaznaczyć, że furfural zidentyfikowano w próbkach po hydrolizie kwaśnej.



Rys. 4. Chromatogramy GC-FID dla hydrolizatu kwaśnego.
Fig. 4. GC-FID chromatograms for acid hydrolyzate.

4. Podsumowanie

W pracy podjęto próbę opracowania metodyki zastosowania techniki HS-GC do wstępnej oceny składu hydrolizatów z biomasy lignocelulozowej, otrzymanych w wyniku procesów hydrolizy zasadowej i kwaśnej pod względem obecności i zawartości składników lotnych. Wyniki badań wskazują, że proponowaną metodykę można zastosować jedynie do oznaczania wybranych składników hydrolizatów, których obecność może wpływać na dalsze etapy przetwarzania biomasy, prowadzące do otrzymania biopaliw. Zastosowanie opisanej tu metodyki badań składu hydrolizatów pozwala na wiarygodną ocenę ich składu oraz na badanie związku składu z warunkami hydrolizy w funkcji jej trwania. Proponowaną metodą można identyfikować np. obecność furfuralu, który występuje w produktach hydrolizy kwaśnej i jest inhibitorem procesów zarówno hydrolizy enzymatycznej, jak i fermentacji, tj. kolejnych etapów przetwarzania biomasy do biopaliw.

Summary

The paper describes an attempt to apply the HS-GC technique for the preliminary assessment of the composition of hydrolysates from lignocellulosic biomass, obtained as a result of alkaline and acid hydrolyses with the perspective of determination and quantification of volatile products of hydrolysis. The research results indicate that the proposed methodology can be used only for the determination of selected components of hydrolysates, the presence of which can influence the further stages of biomass processing leading to biofuels. The use of the proposed method allows for a reliable assessment of their composition and for testing the changes of the composition as a function of hydrolysis time. The proposed method can, for example, identify the presence of furfural which occurs in acid hydrolysis products and is an inhibitor of both enzymatic and fermentative hydrolysis processes, i.e. subsequent stages of biomass processing into biofuels.

Podziękowania (Acknowledgements)

Praca finansowana z grantu NCN, pt. „Badania zasadowej hydrolizy biomasy ligno-celulozowej oraz warunków konwersji produktów do biogazów” [na podstawie umowy nr UMO-2014/13/B/ST8/04258].

This work was supported by the National Science Centre, „Research of alcalic hydrolysis of lignocellulosic biomass and conversion of hydrolysis products to fuel-bio- gases” Poland [grant number 2014/13/B/ST8/04258].

5. Literatura (References)

- [1] G. Kumar, B. Sen, P. Sivagurunathan, C.Y. Lin, *Comparative evaluation of hydrogen fermentation of de-oiled Jatropha waste hydrolyzates*, International Journal of Hydrogen Energy, 40 (2015) 10766–10774. doi:10.1016/j.ijhydene.2015.06.118.
- [2] J.C. Parajó, H. Domínguez, J.M. Domínguez, *Charcoal adsorption of wood hydrolysates for improving their fermentability: Influence of the operational conditions*, Bioresource Technology, 57 (1996) 179–185. doi:10.1016/0960-8524(96)00066-1.
- [3] P. Bansal, M. Hall, M.J. Realff, J.H. Lee, A.S. Bommarius, *Modeling cellulase kinetics on lignocellulosic substrates*, Biotechnology Advances, 27 (2009) 833–848. doi:10.1016/j.biotechadv.2009.06.005.
- [4] C.M. Zhang, Z.G. Mao, X. Wang, J.H. Zhang, F.B. Sun, L. Tang, H.J. Zhang, *Effective ethanol production by reutilizing waste distillage anaerobic digestion effluent in an integrated fermentation process coupled with both ethanol and methane fermentations*, Bioprocess and Biosystems Engineering 33 (2010) 1067–1075. doi:10.1007/s00449-010-0432-8.
- [5] H. Argun, S. Dao, *Bio-hydrogen production from waste peach pulp by dark fermentation: Effect of inoculum addition*, International Journal of Hydrogen Energy, 42 (2017) 2569–2574. doi:10.1016/j.ijhydene.2016.06.225.
- [6] C.E. Wyman, B.E. Dale, R.T. Elander, M. Holtzapple, M.R. Ladisch, Y.Y. Lee, *Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies*, Bioresource Technology 96 (2005) 1959–1966. doi:10.1016/j.biortech.2005.01.010.
- [7] A. Hendriks, G. Zeeman, *Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass*, Bioresource Technology, 100 (2009) 10–18. doi:10.1016/j.biortech.2008.05.027.
- [8] M.J. Taherzadeh, K. Karimi, *Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review*, International Journal of Molecular Science, 9 (2008) 1621–1651. doi:10.3390/ijms9091621.
- [9] P. Kumar, D.M. Barrett, M.J. Delwiche, P. Stroeve, *Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production*, Industrial and Engineering Chemistry Research, 48 (2009) 3713–3729. doi:10.1021/ie801542g.
- [10] R. Garcia Sanchez, K. Karhumaa, C. Fonseca, V. Sánchez Nogué, J.R. Almeida, C.U. Larsson, O. Bengtsson, M. Bettiga, B. Hahn-Hägerdal, M.F. Gorwa-Grauslund, *Improved xylose and arabinose utilization by an industrial recombinant Saccharomyces cerevisiae strain using evolutionary engineering*, Biotechnology for Biofuels, (2010) 3–13. doi:10.1186/1754-6834-3-13.
- [11] Y. Sun, J. Cheng, *Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review*, Bioresource Technology, 83 (2002) 1–11. doi:10.1016/S0960-8524(01)00212-7.
- [12] A.I. Talebnia F, Karakashev D, *Production of bioethanol from wheat straw: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation*, Bioresource Technology, 101 (2010) 4744–53. doi:10.1016/j.biortech.2009.11.080.
- [13] L.M. Kline, D.G. Hayes, A.R. Womac, N. Labbé, *Simplified determination of lignin content in hard and soft woods via UV-spectrophotometric analysis of biomass dissolved in ionic liquids*, BioResources, 5 (2010) 1366–1383. doi:10.15376/BIORES.5.3.1366-1383.
- [14] B.S. Fernandes, G. Peixoto, F.R. Albrecht, N.K. Saavedra del Aguila, M. Zaiat, *Potential to produce biohydrogen from various wastewaters*, Energy for Sustainable Development, 14 (2010) 143–148. doi:10.1016/j.esd.2010.03.004.
- [15] F. Cotana, M. Barbanera, D. Foschini, E. Lascano, C. Buratti, *Preliminary optimization of alkaline pretreatment for ethanol production from vineyard pruning*, Energy Procedia, 82 (2015) 389–394. doi:10.1016/j.egypro.2015.11.814.
- [16] X. Zhang, X. Ye, B. Guo, K.T. Finneran, J.L. Zilles, E. Morgenroth, *Lignocellulosic hydrolysates and extracellular electron shuttles for H₂ production using co-culture fermentation with Clostridium beijerinckii and Geobacter metallireducens*, Bioresource Technology, 147 (2013) 89–95. doi:10.1016/j.biortech.2013.07.106.
- [17] T. Wang, K. Li, Q. Liu, Q. Zhang, S. Qiu, J. Long, L. Chen, L. Ma, Q. Zhang, *Aviation fuel synthesis by catalytic conversion of biomass hydrolysate in aqueous phase*, Applied Energy, 136 (2014) 775–780. doi:10.1016/j.apenergy.2014.06.035.
- [18] H. Li, X.S. Chai, H. Zhan, S. Fu, *Rapid determination of furfural in biomass hydrolysate by full evaporation headspace gas chromatography*, Journal of Chromatography A, 1217 (2010) 7616–7619. doi:10.1016/j.chroma.2010.09.073.