



Pszeniczny wywar gorzelniczy jako surowiec do produkcji etanolu II generacji – wpływ wstępnego przetwarzania na skład chemiczny frakcji

*Małgorzata Krzywonos, Przemysław Seruga, Hanna Pińkowska,
Daniel Borowiak, Marta Wilk, Paweł Wolak
Uniwersytet Ekonomiczny, Wrocław*

1. Wstęp

Wywar gorzelniczy jest bogatym w materię organiczną, wieloskładnikowym, uciążliwym i trudnym do utylizacji produktem odpadowym powstającym w gorzelniach w ilości 10-12 krotnie przekraczającej ilość wytwarzanego spirytusu (Czupryński i Kotarska 2011, Krzywonos i in. 2009). Surowy wywar gorzelniczy nie powinien być odprowadzany do środowiska, a możliwości wykorzystania istniejących metod zagospodarowania, polegających przede wszystkim na zastosowaniu go jako komponentu pasz dla zwierząt hodowlanych, ulegają wyczerpaniu i są niewystarczające (Czupryński i Kotarska 2011).

W związku z istniejącym na rynku nadmiarem wywaru gorzelniczego konieczne staje się opracowanie alternatywnej koncepcji jego zagospodarowania. Koncepcja ta stanowiąca przyjazną dla środowiska metodę utylizacji, polega na redukcji ładunku zanieczyszczeń do poziomu zgodnego z obowiązującymi przepisami i normami. Ze względu na znaczną zawartość frakcji polisacharydowej w wywarze gorzelniczym, niską cenę i powszechną dostępność, interesującym kierunkiem jego wykorzystania jest zastosowanie go jako źródła surowcowego do produkcji etanolu II generacji (Bhatia i in. 2017, Manwar i in. 2014, Mussatto i in. 2010, Nair i in. 2017, Paulova i in. 2015).

Biologiczna transformacja wywaru musi być poprzedzona depolimeryzacją polisacharydów: hemicelulozy i celulozy, prowadzącą do uzyskania frakcji ciekłej produktów bogatej w podatne na fermentację monosacharydy (Favaro i in. 2013). Jednakże czynnikiem ograniczającym upowszechnienie koncepcji biotransformacji wywaru, prowadzącej do etanolu II generacji jest obecność w zhydrolizowanym wywarze niepożądanych składników, a w szczególności 2-furfuralu (FA) i 5-hydroksymetylofurfuralu (HMF) (Baeyens i in. 2015, Delgenes i in. 1996, Lawford i in. 1992, Palmqvist i Hahn-Hagerdal, 2000). Obecność furfurali, ubocznych produktów depolimeryzacji polisacharydów, niekorzystnie wpływa na rozwój drożdży, inhibując lub nawet zatrzymując przebieg fermentacji alkoholowej pozostałych składników zhydrolizowanego wywaru (Allen i in. 2010, Almeida i in. 2009, Liu i in. 2009).

Niezwykle istotne są także koszty operacyjne zwłaszcza te generowane w trakcie wytwarzania ciepła (energii). Alternatywnym rozwiązaniem wydaje się być wykorzystanie ciepła nadmiarowego z gorzelnii w procesach wstępnej obróbki (Nair i in., 2017). W literaturze są przedstawiane różne metody obróbki wstępnej materiałów lignocelulozowych, kluczowego etapu produkcji bioetanolu (Kawa-Rygielska i in. 2014, Wilk i Krzywonos, 2015, Smuga-Kogut, 2016). Jednak procesy obróbki w temp. ok. 100°C, jak do tej pory były przedmiotem zaledwie kilku opracowań. Xing i in. (2016) w temp. 100-130°C hydrolizowali kwasem siarkowym kolby kukurydzy w celu pozyskania furfuralu; Hong i in. (2016), poddali kwasowej hydrolizie słomę kukurydzianą w 120°C, czy Nair i in. (2017) testowali hydrolizę otrąb pszennych i wywaru rozcieńczonymi kwasami (siarkowym i fosforowym) w temp. 100°C. Wydaje się, że szansą dla tradycyjnych gorzelnii może być połączenie procesów pierwszej i drugiej generacji, które potencjalnie mogą zredukować koszty wytwarzania etanolu drugiej generacji (Joelsson i in., 2016), a co za tym idzie także przyczynić się do niższych emisji CO₂ (Krzywonos i in. 2017). Z tego powodu użycie pszenicznego wywaru gorzelnicznego jako surowca do produkcji etanolu II generacji może stać się technologicznie efektywne i opłacalne dopiero po usunięciu FA i HMF (detoksykacji) zhydrolizowanego wywaru (Baeyens i in. 2015). Mimo ograniczeń procesowych, propozycja zastosowania pszenicznego wywaru gorzelnicznego jako surowca do produkcji etanolu II generacji wydaje się być atrakcyjnym sposobem jego zagospodarowania, zwłaszcza, że nadal można by

stosować te same drobnoustroje (bez modyfikacji genetycznych) do fermentacji, co w procesach I generacji.

Celem pracy było zbadanie przebiegu kwasowej hydrolizy pszenicznego wywaru gorzelnicznego prowadzonej w temperaturze 121°C oraz określenie wpływu użytego do hydrolizy stężenia kwasu siarkowego (VI) i zastosowanego czasu procesu na uzyskany skład chemiczny frakcji produktów, w tym zawartość furfurali. Określono także możliwość usuwania FA i HMF (detoksykacji) z wywaru poddanego hydrolizie oraz wpływ tego zabiegu na skład chemiczny tak uzyskanej frakcji.

2. Materiały i metody

2.1. Surowce, odczynniki i reagenty

Do badań zastosowano surowy gorzelniczny wywar pszeniczny (SWP). Monosacharydy (glukoza, fruktoza i ksyloza), kwasy karboksylowe (bursztynowy, mlekowy i octowy) pochodziły z firmy Fluka, a woda i furfurali (FA i HMF) z firmy Aldrich. Pozostałe odczynniki użyte do sporządzenia roztworów, wykorzystane do hydrolizy wywaru i jego detoksykacji oraz użyte w oznaczeniach chromatograficznych zakupiono w firmie POCh. W pracy wykorzystano odczynniki i reagenty o czystości cz.d.a. i do HPLC uzależnionej od wymagań stosowanej metody analitycznej.

2.2. Przebieg hydrolizy kwasowej i detoksykacji gorzelnicznego wywaru pszenicznego oraz rozdział frakcji produktów

Hydrolizę kwasową SWP prowadzono w butlach Schotta, do których każdorazowo wprowadzano 900 cm³ surowego wywaru i 100 cm³ H₂SO₄ o stężeniu odpowiednio 1, 3 i 5% (v/v). Zawartość butli wytrząsano przez 24 h (100 obrotów·min.⁻¹), a następnie ogrzewano w 121°C w czasie 15 i 30 min. W kolejnym etapie rozdzielano na frakcję ciekłą i stałą pozostałość w wirówce przy prędkości obrotowej 9000 g, w czasie 20 min. Zawartość suchej pozostałości oznaczano grawimetrycznie w temp. 105°C. W zależności od zastosowanego do hydrolizy stężenia kwasu siarkowego uzyskano frakcje zhydrolizowanego wywaru pszenicznego HWP-1, HWP-3 i HWP-5. Wszystkie eksperymenty przeprowadzono w 4 powtórzeniach, zaprezentowano wartości średnie.

Po hydrolizie dokonano próby detoksykacji tj. usunięcia HMF i FA substancji hamujących/toksycznych dla drobnoustrojów zwłaszcza dla drożdży. Polegała ona na ogrzaniu frakcji HWP-1, HWP-3 i HWP-5 do temp. 40°C, korekcie pH do 10,5 ($\pm 0,2$) za pomocą 1 M KOH. Następnie po 30 min. separowano wywar pszeniczny na frakcję ciekłą i stałą pozostałość w wirówce przy prędkości obrotowej 9000 g, w czasie 20 min. Za pomocą 1 M HCl dokonano końcowej korekty pH wywaru (DWP) do pH = 5,5 ($\pm 0,2$), wartości typowej dla fermentacji etanolowej. W ten sposób w zależności od zastosowanej frakcji HWP uzyskano frakcje DWP-1, DWP-3 i DWP-5 (1, 3 i 5 oznacza stężenie % kwasu siarkowego (VI) zastosowanego do hydrolizy).

2.3. Metody analityczne i metodyka pomiarów

W SWP oraz frakcjach HWP i DWP oznaczono zawartość FA i HMF oraz wybranych monosacharydów i kwasów karboksylowych. Do oznaczenia zawartości analitów użyto wysokosprawnej chromatografii ciekłowej (HPLC), korzystając z zestawu firmy Knauer. Stężenie glukozy, fruktozy i ksylozy oraz kwasów bursztynowego, mlekowego i octowego oznaczono w temp. 40°C, prowadząc ich rozdział na kolumnie Rezex ROA – Organic Acids H⁺ (300 mm x 7,8 mm i.d.) (Phenomenex, USA). Jako fazę ruchomą zastosowano 2 mM H₂SO₄ o prędkości przepływu 0,5 cm³ min.⁻¹. Do detekcji monosacharydów użyto detektora refraktometrycznego, a do wykrywania kwasów karboksylowych – detektora UV-VIS ($\lambda = 210$ nm).

Furfural (FA) i 5-hydroksymetylofurfural (HMF) oznaczono stosując kolumnę Unisol-C18 (250 mm x 4,6 mm i.d.) (Agela, USA). Jako fazę ruchomą zastosowano roztwór składający się z acetonitrylu i roztworu A (2 cm³ kwasu octowego + 0,2 cm³ kwasu fosforowego - uzupełnienie wodą do 1 dm³) w proporcji 18 : 82 v/v. Prędkość przepływu fazy ruchomej wyniosła 1,2 cm³ min.⁻¹. Zastosowano detektor UV-VIS, a pomiary prowadzono przy długości fali 290 nm (Alcazar i in., 2006).

Odczyn SWP wynosił 4,9. Skład chemiczny ciekłej fazy SWP był następujący: (g·dm⁻³): glukoza 2,57; fruktoza 1,82; ksyloza 2,46; kwas mlekowy 10,43; bursztynowy 2,84; kwas octowy 0,42; HMF 0,06; FA 0,23.

3. Wyniki i dyskusja

Surowy wywar pszoniczny został poddany procesowi wstępnego przetworzenia – hydrolizie za pomocą rozcieńczonych, wodnych roztworów H_2SO_4 . Wraz ze wzrostem stężenia kwasu siarkowego użytego do hydrolizy SWP, pH końcowe wszystkich frakcji HWP malało, zmieniając się od wartości pH = 4,27 (wywar surowy) do pH = 2,46, uzyskanego dla frakcji HWP-5. Natomiast czas hydrolizy nie wpływał na kształtowanie się pH przetwarzanego surowca. Z kolei zarówno wraz ze wzrostem stężenia kwasu siarkowego, jak i wydłużaniem czasu sterylizacji, zawartość suchej masy we frakcjach DWP malała, zmieniając się w zakresie od 12,1% mas. (DWP-1) do 9,9% mas. (DWP-5).

Hydroliza kwasowa polisacharydów – hemicelulozy i celulozy, przebiegała zgodnie z mechanizmem, w którym początkowym etapem była ich depolimeryzacja i pirolityczne rozszczepienie wiązań glikozydowych oraz odszczepianie grup acetylowych, prowadzące do utworzenia odpowiednio monosacharydów – przede wszystkim ksylozy, glukozy i fruktozy oraz kwasu octowego jako pierwotnych produktów reakcji (Yu i in. 2008). W zastosowanych warunkach hydrolizy kwasowej, monosacharydy ulegały przemianom wtórnym i częściowej degradacji, a ich dehydratacja prowadziła do uzyskania FA i HMF (Aida i in. 2007, Yu i in. 2008), a kolejne współzachodzące przemiany, takie jak hydratacja, dehydratacja, tautomeryzacja prowadziły do otrzymania kwasu mlekowego i bursztynowego (Aida i in. 2007a, Aida i in. 2007b).

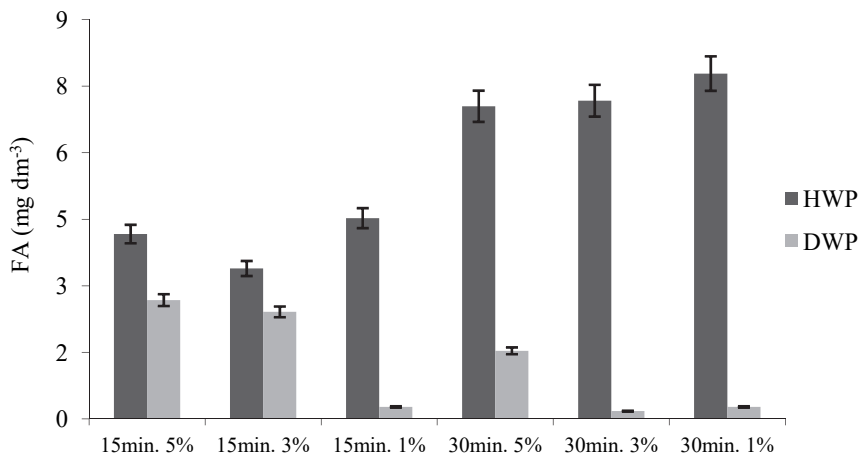
W tabeli 1 przedstawiono wpływ czasu hydrolizy kwasowej na stopień usunięcia (detoksykacji) furfurali: FA i HMF z frakcji HWP. W zależności od zawartości furfurali we frakcjach HWP wynikającej ze stężenia H_2SO_4 użytego do hydrolizy SWP, różny był wpływ zastosowanego czasu hydrolizy na stopień redukcji ich zawartości w przetwarzanym wywarze (DWP). Usunięciu FA z frakcji HWP po procesie detoksykacji (frakcja DWP) sprzyjało wydłużenie czasu hydrolizy. Porównując eksperymenty, w których do hydrolizy surowego wywaru stosowano takie samo stężenie H_2SO_4 , w każdym przypadku zawartość FA ulegała zmniejszeniu w znacznie większym stopniu, gdy czas ten był dłuższy. Największy stopień usunięcia FA wynoszący 96,5% uzyskano dla frakcji DWP-1, gdy czas hydrolizy wynosił 30 min. Również usunięcie HMF z frakcji HWP przebiegało efektywniej, gdy czas hydrolizy wynosił 30 min., chociaż największy stopień redukcji, wynoszący 87,9% uzyskano dla frakcji DWP-5 po 15 min. hydrolizy.

Tabela 1. Wpływ czasu kwasowej hydrolizy na stopień usunięcia FA i HMF we frakcjach DWP w zależności stężenia użytego kwasu

Table 1. Effect of hydrolysis time and sulfuric acid (VI) concentration on furfural and HMF removal from detoxified (DWP) wheat stillage fraction

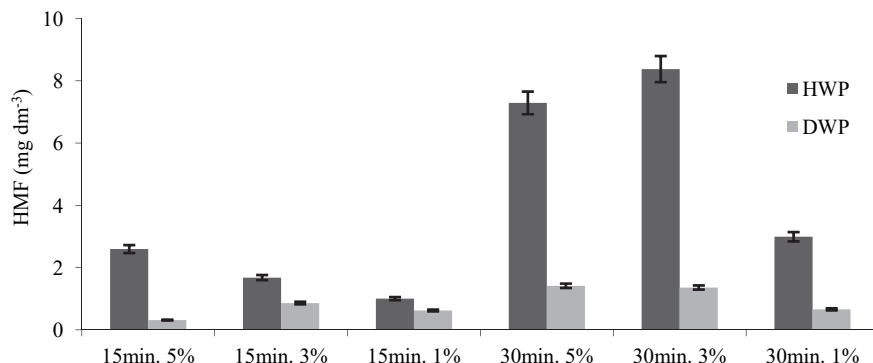
Stopień usunięcia furfurali	Czas prowadzenia hydrolizy					
	15 min.			30 min.		
	stężenie H ₂ SO ₄ (%)					
	1	3	5	1	3	5
	DWP-1	DWP-3	DWP-5	DWP-1	DWP-3	DWP-5
Furfural (%)	94,0	28,8	35,7	96,5	97,5	78,2
HMF (%)	37,9	48,7	87,9	78,0	83,8	80,6

Na rysunkach 1 i 2 przedstawiono stężenie furfurali, odpowiednio FA i HMF we frakcjach HWP i DWP w zależności od stężenia H₂SO₄ użytego do hydrolizy surowego wywaru i zastosowanego czasu hydrolizy. W każdym z przeprowadzonych eksperymentów widoczny był wyraźny, pozytywny wpływ wydłużenia czasu hydrolizy frakcji HWP na redukcję zawartości furfurali.



Rys. 1. Stężenie FA we frakcjach HWP i DWP w zależności od czasu hydrolizy i stężenia kwasu siarkowego

Fig. 2. Effect of hydrolysis time and sulfuric acid (VI) concentration on furfural content in hydrolyzed (HWP) and detoxified (DWP) wheat stillage fractions



Rys. 2. Stężenie HMF we frakcjach HWP i DWP w zależności od czasu hydrolizy i stężenia kwasu siarkowego (VI)

Fig. 2. Effect of hydrolysis time and sulfuric acid (VI) concentration on HMF content in hydrolyzed (HWP) and detoxified (DWP) wheat stillage fractions

W tabeli 2 przedstawiono stężenia wybranych monosacharydów i kwasów karboksylowych we frakcjach HWP i DWP w zależności od stężenia kwasu siarkowego (VI) użytego do hydrolizy surowego wywaru i zastosowanego czasu hydrolizy frakcji HWP, a w tabeli 3 – stopień usunięcia badanych związków, wyrażony procentowo we frakcjach DWP.

W wyniku detoksykacji, w większości frakcji HWP następowało znaczące zmniejszenie się zawartości monosacharydów i kwasów karboksylowych, natomiast detoksykacja frakcji HWP-1, czas hydrolizy 30 min., spowodował wzrost zawartości wszystkich badanych związków.

W niektórych frakcjach HWP poddanych detoksykacji zawartość monosacharydów i kwasów karboksylowych znalazła się poniżej zakresu analizy, co pozwala przypuszczać, że zawartość związków tych została zredukowana całkowicie. Zawartość kwasu octowego i bursztynowego we frakcjach DWP sugeruje, że przy czasie sterylizacji wynoszącym 15 min. stopień usunięcia tych kwasów był tym wyższy, im wyższe stężenia kwasu siarkowego zastosowano do hydrolizy surowego wywaru. Po trwającej 30 min. hydrolizie, zawartość kwasów karboksylowych w większości frakcji DWP znajdowała się poza zakresem analizy. W przypadku kwasu mlekowego nie można jednoznacznie znaleźć zależności między stopniem redukcji jego zawartości a zastosowanym czasem hydrolizy. W przypadku zawartości glukozy i ksylozy jedynie w jednym

przypadku (30 min. i 1% H₂SO₄) zauważono wzrost zawartości po procesie detoksykacji, co z punktu widzenia dalszych etapów (np. fermentacji etanolowej) byłoby bardzo pożądane.

Tabela 2. Zawartość monosacharydów i kwasów karboksylowych we frakcjach HWP i DWP

Table 2. Content of monosaccharides and carboxylic acids in fractions of hydrolyzed (HWP) and detoxified (DWP) wheat stillage

Stężenie H ₂ SO ₄ [%]	Czas [min.]	Frakcja	Stężenie (g·dm ⁻³)					
			Glukoza	Fruktoza	Ksyloza	Kwas mlekowy	Kwas octowy	Kwas bursztynowy
5%	15	HWP-5	0,987 ±0,025	0,852 ±0,021	4,570 ±0,025	17,027 ±0,048	1,131 ±0,047	0,155 ±0,025
		DWP-5	- ¹⁾	0,025 ±0,009	0,000	-	-	-
HWP-3		0,419 ±0,018	0,390 ±0,015	8,833 ±0,034	17,621 ±0,054	1,290 ±0,037	0,126 ±0,021	
DWP-3		0,312 ±0,014	0,256 ±0,022	1,830 ±0,015	13,967 ±0,062	0,765 ±0,026	-	
1%		HWP-1	-	0,012 ±0,008	0,000	0,089 ±0,008	0,004 ±0,003	0,008 ±0,005
		DWP-1	-	-	0,002 ±0,003	0,015 ±0,008	0,003 ±0,005	0,002 ±0,003
5%	30	HWP-5	0,464 ±0,017	0,436 ±0,031	1,502 ±0,042	16,432 ±0,075	1,377 ±0,019	0,205 ±0,011
		DWP-5	0,445 ±0,015	0,120 ±0,009	1,226 ±0,035	12,218 ±0,069	-	-
HWP-3		0,127 ±0,011	0,215 ±0,010	0,340 ±0,013	1,090 ±0,057	-	-	
DWP-3		-	-	0,000±	0,678 ±0,021	-	-	
1%/		HWP-1	-	-	0,026 ±0,007	0,178 ±0,011	-	-
		DWP-1	0,201 ±0,010	-	1,015 ±0,041	2,647 ±0,035	0,239 ±0,022	0,023 ±0,006

¹⁾- zawartość analitu poniżej zakresu analizy

Tabela 3. Wpływ czasu hydrolizy na stopień usunięcia monosacharydów I kwasów karboksylowych we frakcjach DWP

Table 3. Effect of hydrolysis time on removal of monosaccharides and carboxylic acids in fractions of detoxified wheat stillage

Stężenie kwasu siarkowego (VI)/ Czas reakcji	Frakcja	Stopień redukcji [%]					
		Glukoza	Fruktoza	Ksyloza	Kwas mlekowy	Kwas octowy	Kwas bursztynowy
5%/15 min.	DWP-5	100,0	97,06	100,0	100,0	100,0	100,0
3%/15 min.	DWP-3	25,4	34,34	79,3	20,7	40,7	100,0
1%/15 min.	DWP-1	brak	100,00	100,0	82,6	13,8	76,3
5%/30 min.	DWP-5	4,2	72,48	18,3	25,6	100,0	100,0
3%/30 min.	DWP-3	100,0	100,00	100,0	37,8	brak	brak
1%/30 min.	DWP-1	Wz ¹⁾	100,0	Wz	Wz	Wz	Wz

¹⁾ - wzrost zawartości analitu

Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów i uzyskanych wyników analizy frakcji HWP i DWP ustalono, że ze względu na pożądaną jak największą stopień depolimeryzacji polisacharydów zawartych w SWP do monosacharydów fermentujących i zarazem jak najmniejszy stopień ich degradacji do produktów toksycznych, optymalne parametry wstępnego przetworzenia wywaru, umożliwiające dalsze jego wykorzystanie jako surowca do biologicznej produkcji etanolu II generacji, wymagają użycia 1% H₂SO₄ i czasu reakcji wynoszącego 30 min.

Uzyskane wyniki są zbliżone do przedstawionych przez Sahe i in. (2005), którzy poddali hydrolizie kwasowej słomę pszeniczną w celu konwersji hemicelulozy i celulozy do monosacharydów. Autorzy użyli kwasu siarkowego o stężeniu 0,75% (v/v), a uzyskany produkt poddali enzymatycznemu scukrzaniu. W zastosowanych warunkach przetworzenia powstały tylko śladowe ilości FA i HMF. Operacje wstępnego przetworzenia słomy pszenicznej miały pozytywny wpływ na istotne skrócenie czasu fermentacji i uzyskaną wydajność etanolu.

Guerra-Rodríguez i in. (2012) zbadali przebieg hydrolizy kwasowej (1, 2, 3, 4 i 5% kwas siarkowy) słomy pszenicznej, uzyskując w najlepszym przypadku (2% kwas siarkowy, 130 C, 29 min.) 18,9 g·dm⁻³ ksylozy, 3,5 g·dm⁻³ glukozy, 0,6 g·dm⁻³ FA, 0,3 g·dm⁻³ HMF i 2,3 g·dm⁻³ kwasu octowego. Optymalne parametry hydrolizy opracowane przez cy-

towanych autorów są zbliżone do uzyskanych w niniejszej pracy. Lujan-Rhenals i in., (2014) badali wpływ minimalnego stężenia HMF, FA i kwasu octowego na wzrost *Saccharomyces cerevisiae* (NRRL Y-2233) i *Zygomonas mobilis subspecies mobilis* (NRRL B-4286) w detoksykowanej zhydrolizowanej mączce sojowej jak też na podłożu zawierającym ekstrakt drożdżowy z dodatkiem wspomnianych związków. Mączka sojowa była hydrolizowana z wykorzystaniem rozcieńczonego kwasu siarkowego (0,0, 0,5, 1,25 i 2,0% w/v), przy trzech wartościach temperatury (105, 120 i 135°C) i trzech czasach hydrolizy (15, 30 i 45 min.), a następnie poddana detoksykacji z wykorzystaniem węgla aktywowanego. Tylko dla procesów na podłożu uzyskanym w procesie hydrolizy prowadzonym w 135°C, 2,0% H₂SO₄ przez 45 min. i 135°C, 1,25% H₂SO₄, przez 45 min. cytowani autorzy zauważyli inhibowanie wzrostu testowanych mikroorganizmów.

Fonseca i in. (2014) badali możliwość wykorzystania procesu słabej hydrolizy kwasowej i fal ultradźwiękowych do pozyskiwania frakcji bogatych w monosacharydy (arabinozę i ksylozę) suchego wywaru gorzelniczego (DDG). Zwiększyli oni selektywność ekstrakcji pojedynczych monosacharydów (arabinozy o ok. 81,5%) (ksylozy 85,2%).

Wpływ warunków hydrolizy tj. czasu reakcji (30-90 min.), temperatury procesu (110-130°C), stężenia stosowanego kwasu (2-4%, w/v), na profil i wydajność uzyskiwanych monocukrów (ksylozy, arabinozy i glukozy) z kukurydzianego DDGS badali Xu i Hanna (2010). Temperatura, czas reakcji i stężenie użytego kwasu do hydrolizy miały wpływ na uzyski ksylozy i arabinozy, zaś na stężenie glukozy wpływały temperatura i stężenie kwasu. Im niższa była stosowana przez nich temperatura i dłuższy czas reakcji, tym wyższe były wydajności, jakie uzyskali w przypadku ksylozy i arabinozy. Badania te są zgodne z danymi uzyskanymi w ramach niniejszej pracy (tabela 3), w których dłuższy czas sprzyjał uzyskaniu lepszym wydajnościom.

Nair i in. (2017) badali wpływ wstępnej obróbki kwasowej otrąb pszenicznych i wywaru pszenicznego z wykorzystaniem kwasu siarkowego i fosforowego w temp. 100°C. Stwierdzili oni, że czas obróbki jak i typ kwasu miały znaczący wpływ na hydrolizę włókien. Potwierdzili oni też, że zarówno otręby jak i wywar mogą być stosowane jako potencjalne substraty do produkcji etanolu II generacji przy wykorzystaniu ciepła odpadowego z gorzelnii I generacji.

4. Wnioski

Ze względu na pożądaną jak największą stopień depolimeryzacji polisacharydów zawartych w badanym wywarze pszenicznym do monosacharydów fermentujących i zarazem jak najmniejszy stopień ich degradacji do produktów toksycznych, optymalne parametry wstępnego przetworzenia wywaru, umożliwiającego dalsze jego wykorzystanie jako surowca do biologicznej produkcji etanolu II generacji, wymagają użycia 1% H_2SO_4 i czasu reakcji wynoszącego 30 min. W tych warunkach wpływ stężenia H_2SO_4 użytego do hydrolizy na uzyskany wynik detoksykacji był niewielki. Z kolei przy czasie hydrolizy wynoszącym 15 min., użycie H_2SO_4 o różnych stężeniach miało wpływ na efekt detoksykacji (usuwanie FA i HMF). W przypadku FA najkorzystniejszy wynik uzyskano, stosując 1% H_2SO_4 , natomiast dla HMF – 5% H_2SO_4 , przy czym stopień detoksykacji FA osiągnął 96%, a HMF 88%. Niestety, operacja detoksykacji zhydrolizowanego wywaru pszenicznego niekorzystnie wpływała na zawartość monosacharydów we frakcji produktów. Wyjątek stanowiły eksperymenty, w których do hydrolizy surowego wywaru pszenicznego użyto 1% H_2SO_4 , a czas reakcji wynosił 30 min.

Mimo ograniczeń procesowych, propozycja zastosowania pszenicznego wywaru gorzelnicznego jako surowca do produkcji etanolu II generacji wydaje się być atrakcyjnym sposobem jego zagospodarowania, zwłaszcza, że nadal można by stosować te same drobnoustroje (bez modyfikacji genetycznych) do fermentacji, co w procesach I generacji.

*Autorzy dziękują pani Kamili Michałowskiej za pomoc
w przeprowadzeniu eksperymentów*

Literatura

- Aida, T.M., Sato, Y., Watanabe, M., Tajima, K., Nonaka, T., Hattori, H., Arai, K. (2007a). Dehydration of D-glucose in high temperature water at pressures up to 80 MPa. *Journal of Supercritical Fluids*, 40, 381-388.
- Aida, T.M., Tajima, K., Watanabe, M., Saito, Y., Kuroda, K., Nonaka, T., Hattori, H., Smith, R.L., Arai, K. (2007b). Reactions of D-fructose in water at temperatures up to 400°C and pressures up to 100 MPa. *Journal of Supercritical Fluids*, 42, 110-119.

- Alcazar, A., Jurado, J.M., Pablos, F., Gonzalez, A.G., Martin, M.J. (2006). HPLC determination of 2-furaldehyde and 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde in alcoholic beverages. *Microchemical Journal*, 82, 22-28.
- Allen, S., Clark, W., McCaffery, J.M., Cai, Z., Lanctot, A., Slininger, P.J., Liu, Z.L., Gorsich, S.W. (2010). Furfural induces reactive oxygen species accumulation and cellular damage in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology for Biofuels*, 3:2.
- Almeida, J.R.M., Bertilsson, M., Gorwa-Grauslund, M.F., Gorsich, S., Lidén, G. (2009). Metabolic effects of furaldehydes and impacts on biotechnological process. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 82, 625-638.
- Baeyens, J., Kang, Q., Apples, L., Dewil, R., Lv, Y., Tan, T. (2015). Challenges and opportunities in improving the production of bio-ethanol. *Progress In Energy and Combustion Science*, 47, 60-88.
- Bhatia, S.K., Kim, S.H., Yoon, J.J., Yang, Y.H. (2017). Current status and strategies for second generation biofuel production using microbial systems. *Energy Conversion and Management*, 148, 1142-1156.
- Czupryński, B., Kotarska, K. (2011). Recyrkulacja i sposoby zagospodarowania wywaru gorzelniczego, *Inżynieria i Aparatura Chemiczna*, 50(2), 21-23.
- Delgenes, J., Moletta, R., Navarro, J. (1996). Effects of lignocellulose degradation products on ethanol fermentations of glucose and xylose by *Saccharomyces cerevisiae*, *Zymomonas mobilis*, *Pichia stipitis* and *Candida shehatae*. *Enzyme and Microbial Technology*, 19, 220-225.
- Favaro, L., Basaglia, M., Van Zyl, W.H., Casella, S. (2013). Using an efficient fermenting yeast enhances ethanol production from unfiltered wheat bran hydrolysates. *Applied Energy*, 102, 170-178.
- Fonseca, D., Lupitskyy, R., Timmons, D., Gupta, M., Satyavolu, J. (2014). Towards integrated biorefinery from dried distillers grains: Selective extraction of pentoses using dilute acid hydrolysis. *Biomass and Bioenergy*, 71, 178-186.
- Guerra-Rodríguez, E., Portilla-Rivera, O.M., Jarquín-Enríquez, L., Ramírez, J.A., Vázquez, M. (2012). Acid hydrolysis of wheat straw: A kinetic study. *Biomass and Bioenergy*, 36, 346-355.
- Hong, E., Kim, J., Rhie, S., Ha, S.-J., Kim, J., Ryu, Y. (2016). Optimization of dilute sulfuric acid pretreatment of corn stover for enhanced xylose recovery and xylitol production. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 21(5), 612-619.
- Joelsson, E., Erdei, B., Galbe, M., Wallberg, O. (2016). Techno-economic evaluation of integrated first- and second-generation ethanol production from grain and straw. *Biotechnology of Biofuels*, 9, 1-16.

- Kawa-Rygielska, J., Wcisło, G., Chmielewska, J. (2014). Fermentacja etanolowa surowców ligninocelulozowych. *Acta Scientiarum Polonorum Biotechnologia* 13(1), 5-12.
- Krzywonos, M., Cibis, E., Miśkiewicz, T., Ryznar-Luty, A. (2009). Utilization and biodegradation of starch stillage (distillery wastewater). *Electronic Journal of Biotechnology*, 12(1).
- Krzywonos, M, Tucki, K., Kupczyk, A., Wojdalski, J., Sikora, M., (2017). Analiza właściwości syntetycznych węglowodorów wytwarzanych metodą ETG i wybranych konwencjonalnych biopaliw wytwarzanych w Polsce w kontekście osiągniętych efektów środowiskowych. *Rocznik Ochrona Środowiska*, 19, 394-410.
- Lawford, H.G., Rousseau, J.D. (1992). The effect of lactic acid on fuel ethanol production by *Zymomonas*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 34-5, 205-216.
- Liu, Z.L., Ma, M., Song, M. (2009). Evolutionarily engineered ethanogenic yeast detoxifies lignocellulosic biomass conversion inhibitors by reprogrammed pathways. *Molecular Genetics and Genomics*, 282(3), 233-244.
- Lujan-Rhenals, D.E, Morawicki, R.O., Ricke, S.C. (2014) Tolerance of *S. cerevisiae* and *Z. mobilis* to inhibitors produced during dilute acid hydrolysis of soybean meal, *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 49(4), 305-311.
- Manwar, J., Manmode, R., Padgilwar, S., Patil, S. (2014). Bioethanol production: Feedstock and current technologies. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2, 573-584.
- Mussatto, S.I., Dragone, G., Guimaraes, L., Teixeira, J.A. (2010). Technological trends, global market, and challenges of bio-ethanol production. *Biotechnology Advances*, 28, 817-830.
- Nair, R.B., Kalif, M., Ferreira, J.A., Taherzadeh, M.J., Lennartsson, P.R., (2017) Mild-temperature dilute acid pretreatment for integration of first and second generation ethanol processes, *Bioresource Technology*, 245(A), 145-151.
- Palmqvist, E., Hahn-Hagerdal, B. (2000). Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. I: inhibition and detoxification. *Bioresource Technology*, 74(1), 17-24.
- Paulova, L., Patakova, P., Branska, B., Rychtera, M., Melzoch, K. (2015). Lignocellulosic ethanol: Technology design and its impact on process efficiency. *Biotechnology Advances*, 33, 1091-1107.
- Saha, B.C., Iten, L.B., Cotta, M.A., Wu, Y.V. (2005). Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of wheat straw to ethanol. *Process Biochemistry*, 40(12), 3693-3700.

- Smuga-Kogut, M. (2016) Wykorzystanie słomy kukurydzianej do produkcji bioetanolu II generacji. *Rocznik Ochrona Środowiska*, 18(1), 507-518.
- Wilk, M., Krzywonos, M. (2015). Metody wstępnej obróbki surowców lignocelulozowych w procesie produkcji bioetanolu drugiej generacji. *Przemysł Chemiczny*, 94(4), 599-604.
- Xing, Y., Bu, L., Zheng, T., Liu, S., Jiang, J. (2016). Enhancement of high-solids enzymatic hydrolysis of corncob residues by bisulfite pretreatment for biorefinery. *Bioresource Technology*, 221, 461-468.
- Xu, Y., Hanna, M. (2010). Optimum conditions for dilute acid hydrolysis of hemicellulose in dried distillers grains with solubles. *Industrial Crops and Products*, 32, 511-517.
- Yu, Y., Lou, X., Wu, H. (2008). Some recent advances in hydrolysis of biomass in hot-compressed water and its comparisons with other hydrolysis methods. *Energy & Fuels*, 22, 46-60.

Whole Wheat Stillage as an Attractive Feedstock for Ethanol 2nd Generation Biofuel – Effect of Pretreatment on Chemical Composition

Abstract

The influence of the acidic hydrolysis (reaction time (15 and 30 min.) and acid concentration (1, 3 and 5% H₂SO₄)) conducted at 121°C on chemical composition of the raw wheat stillage fractions has been studied. After hydrolysis, an attempt was made to detoxify, i.e. to remove substances (mainly furfurals) that inhibit the course of ethanol fermentation.

At 30 min. the effect of H₂SO₄ concentration on the obtained detoxification results was small. In turn, with 15 min., the use of H₂SO₄ with different concentrations had an effect on detoxification. In the case of furfural (FA), the most favorable result was obtained using 1% H₂SO₄, while for hydroxymethylfurfural (HMF) – 5% H₂SO₄, the degree of FA detoxification reached 96% and HMF 88%.

Removal of FA and HMF from the acidic hydrolysis fractions adversely affected the content of monosaccharides. The exception were the experiments in which 1% H₂SO₄ and the reaction time 30 min. was used to hydrolyze the raw wheat stillage.

Streszczenie

W pracy zbadano przebieg kwasowej hydrolizy surowego pszenicznego wywaru gorzelnicznego prowadzonej w temperaturze 121°C, określono wpływ zastosowanych parametrów hydrolizy (czas reakcji (15 i 30 min.) i stężenie kwasu (1, 3 i 5%)) i uzyskany skład chemiczny frakcji produktów. Po hydrolizie dokonano próby detoksykacji tj. usunięcia z wywaru poddanego hydrolizie furfurali tj. substancji inhibujących przebieg fermentacji etanolowej.

Przy 30 min. hydrolizy wpływ użytego do hydrolizy stężenia H₂SO₄ na uzyskany wynik detoksykacji był niewielki. Z kolei przy czasie sterylizacji wynoszącym 15 min., użycie H₂SO₄ o różnych stężeniach miało wpływ na przebieg detoksykacji. W przypadku FA najkorzystniejszy wynik uzyskano stosując 1% H₂SO₄, natomiast dla HMF – 5% H₂SO₄, przy czym stopień detoksykacji FA osiągnął 96%, a HMF 88%.

Usuwanie FA i HMF z frakcji poddanych kwasowej hydrolizie niekorzystnie wpływało na zawartość monosacharydów. Wyjątek stanowiły eksperymenty, w których do hydrolizy surowego wywaru pszenicznego użyto 1% H₂SO₄, a czas reakcji wynosił 30 min.

Słowa kluczowe:

wywar pszeniczny, kwaśna hydroliza, biopaliwa, produkcja etanolu, gorzelnia

Keywords:

wheat stillage, acidic hydrolysis, biofuel, ethanol production, distillery