

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОДУКТОВ ГИДРОТЕРМОБАРИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ СО ВЗРЫВОМ МИСКАНТУСА

Д.А. Чибиряев^{1,2}, С.Н. Цуканов², А.А. Якушева²

В работе представлены результаты экспериментальных исследований по предобработке мискантуса китайского методом гидротермобарического взрыва. Выявлены закономерности изменения компонентного состава полученных продуктов – волокнистого материала и технической целлюлозы, а также зависимости эффективности ферментативного гидролиза от условий обработки сырья (давление, время выдержки). Кроме того, приведены выходы и свойства нитратов целлюлоз, синтезированных из целлюлоз, полученных данным способом.

Ключевые слова: мискантус китайский, реактор высокого давления, гидротермобарический взрыв, волокнистый материал, целлюлоза, ферментативный гидролиз, нитраты целлюлозы.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в связи с возрастающей потребностью в энергии много внимания уделяется лигноцеллюлозной биомассе, обладающей большим потенциалом для решения данной проблемы. Мискантус представляет из себя ключевого кандидата энергетического урожая для использования в процессах преобразования биомассы в жидкое топливо и биопереработках, чтобы производить ряд жидких топлив и химикатов; в последнее время он привлек значительное внимание. Его урожай, элементный состав, содержание углеводов и лигнина имеют высокое значение и будет рассматриваться для будущего производства и развития биотоплива [1].

Целью данной работы является исследование свойств продуктов переработки мискантуса китайского и исследование способов их использования для химической промышленности и биотехнологии.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Гидротермобарическая обработка со взрывом (ГТБВ). Мискантус после измельчения и вымачивания в течение суток в воде (гидромодуль 1:10) обрабатывали в реакторе высокого давления (РВД) [2]. Особенности проведения процесса: полностью изолированный реактор, давление нагнетается за счет нагревания электроспирали. Соответственно время процесса складывается из времени достижения рабочего давления (1,5; 2,0 и 2,5 МПа) и времени выдержки (от 0 до 1500 с) при данном давлении. По окончании времени выдержки производили взрыв (принудительный разрыв

мембраны). Обработанный ГТБВ мискантус собирали, промывали водой. Результат обработки – первичный продукт, волокнистый материал (ВМ). Часть влажного ВМ подвергали делигнификации для получения технической целлюлозы; оставшуюся часть сушили на воздухе и анализировали.

Делигнификация. Влажный ВМ помещали в 2 %-ном растворе NaOH (модуль 1:40 из расчета на а.с.в.). При постоянном помешивании раствор нагревали до температуры около 50 °С. Через 30 мин после нагревания постепенно добавляли 50 %-ную перекись водорода (из расчета 10 мл на 20 г а.с.в. ВМ). Продолжительность процесса 1,5-2,0 ч (до полного спадания пены). Затем раствор фильтровали и промывали осадок на фильтре большим количеством воды (примерно в два раза больше объема раствора щелочи), сушили на воздухе. Результат обработки – вторичный продукт, техническая целлюлоза (ТЦ).

Ферментативный гидролиз. Навеску субстрата (ВМ или ТЦ) массой 5 г помещали в 0,15 л (концентрация 33,33 г/л) ацетатного буфера (рН=4,7), добавляли ферментный комплекс из двух ферментных препаратов: Целлолюкс-А и Брюзайм ВGX; процесс проводили при постоянном перемешивании, при температуре 50 °С в течение 88 ч. Подробно методика ферментативного гидролиза изложена в работе [3].

Нитрование. Навеску ТЦ массой 5 г обрабатывали серно-азотной смесью (САС, модуль 1:25), заранее нагретой до температуры 30 °С (температуру поддерживали в течение процесса нитрования), и при постоянном пере-

мешивании нитровали в течение 30 мин. Затем промывали водой до нейтральной реакции и стабилизировали кипячением 1 ч в 0,03 %-ном растворе соды. Полученные образцы нитратов целлюлозы (НЦ) сушили на воздухе и анализировали.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Химический состав используемого в экспериментах мискантуса, выращенного в Новосибирской области сотрудниками Института цитологии и генетики СО РАН в 2008 году [4], приведен в таблице 1.

Таблица 1 – Химический состав мискантуса китайского

| Массовая доля компонента, % | | | |
|-----------------------------|--------|-----------------------|-----------|
| Зола | Лигнин | Целлюлоза по Кюршнеру | Пентозаны |
| 3,90 | 18,46 | 57,4 | 22,0 |

С точки зрения целлюлозного производства (химической промышленности) мискантус содержит 57,4 % целлюлозы по Кюршнеру, с точки зрения процесса получения редуцирующих веществ – 79,4 % сахаров.

Процессы во время обработки в РВД. Во время ГТБВ сырье подвергается одновременному действию насыщенного водяного пара и воды. Вода в таких условиях (высокие температура и давление) ведет себя как слабая кислота, способствует деполимеризации лигнина и гемицеллюлозы и селективному гидролизу гликозидных связей гемицеллюлоз с образованием уксусной и уроновых кислот. Эти кислоты катализируют гидролиз гемицеллюлоз и частичный гидролиз целлюлозы до олиго-

сахаридов, а затем до моносахаридов. При длительном времени процесса моносахариды (в кислой среде) начинают деградировать с образованием фурфурола (из пентоз) и гидроксиметилфурфурола (из гексоз), которые, в свою очередь, конденсируются с продуктами деполи-меризации лигнина с образованием «псевдо-лигнина» [5].

Продукты переработки. Во всех полученных образцах ВМ и ТЦ определяли массовую долю золы, кислотонерастворимого лигнина (лигнин Классона), целлюлозы и пентозанов (спектрофотометрическим способом). Для образцов ТЦ также определяли степень полимеризации (СП) (через характеристическую вязкость в растворе кадоксена).

Таблица 2 – Условия получения (давление) и свойства полученных продуктов

| Условия получения (давление) | Массовая доля компонента, % | | | | СП** |
|------------------------------|-----------------------------|-------------|------------|-----------|---------|
| | Зола | Лигнин | Целлюлоза* | Пентозаны | |
| ВМ | | | | | |
| 1,5 МПа | 1,63-4,58 | 19,18-25,85 | 67-77 | 10-15 | – |
| 2,0 МПа | 2,09-4,58 | 19,28-30,47 | 67-77 | 2-5 | – |
| 2,5 МПа | 1,20-3,36 | 25,23-35,50 | 67-77 | < 0,5 | – |
| ТЦ | | | | | |
| 1,5 МПа | 0,69-3,70 | 2,68-6,19 | 87-96 | 3-6 | 500-900 |
| 2,0 МПа | 0,98-2,42 | 2,20-5,58 | 77-86 | 1-4 | 300-500 |
| 2,5 МПа | 0,82-2,71 | 1,80-4,93 | 75-80 | < 1 | 100-250 |

*целлюлоза по Кюршнеру для ВМ и α-целлюлоза для ТЦ;
 **для ВМ степень полимеризации (СП) не определяется, т.к. высокий лигнин вносит большую погрешность.

Выход ВМ составляет 67-70 %. Потеря массы обусловлена гидролизом и удалением большей части пентозанов, также удаляется часть зольных компонентов (кислото-растворимых) и целлюлозы. Выход ТЦ из ВМ после делигнификации составляет около 60-70 %. Потеря массы обусловлена удалением большей части лигнина, а также около 10 % целлюлозы.

Установлена зависимость химического состава ВМ от условий обработки мискантуса:

с ростом давления и времени выдержки понижается массовая доля пентозанов с 15 % до 0,5 %; возрастает массовая доля лигнина с 19 % до 36 %; массовая доля целлюлозы по Кюршнеру сохраняется в диапазоне 67-77 %. Рост массовой доли лигнина обусловлен снижением выхода и образованием «псевдо-лигнина» и реполимеризацией лигнина. В связи с универсальностью процедуры делигнификации, химический состав ТЦ зависит исклю-

ХИМИЯ И ПЕРЕРАБОТКА РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

чительно от условий получения ВМ в РВД. Зависимость массовой доли отдельных компонентов с ростом давления и времени выдержки имеет следующий характер: массовая доля пентозанов понижается с 6 % до 1 %; массовая доля α -целлюлозы (высокополимерной части) понижается с 96 % до 75 %; массовая доля лигнина сохраняется на одном уровне.

Кроме того, при повышении давления и времени выдержки значительно понижается СП целлюлозы – с 900 до 100.

Ферментативный гидролиз. В таблице 3 представлены условия получения и свойства субстратов, а также концентрация редуцирующих веществ (РВ) и их выход по окончании гидролиза (88 ч).

Таблица 3 – Условия получения (давление и время выдержки), свойства субстратов и результаты их ферментативного гидролиза

| Обозначение субстрата | Условия получения ВМ (МПа / с) | Массовая доля компонента, % | | | | СП | Редуцирующие вещества (88 ч) | |
|-----------------------|--------------------------------|-----------------------------|--------|-----------|-----------|-----|------------------------------|----------|
| | | Зола | Лигнин | Пентозаны | Целлюлоза | | Концентрация, г/л | Выход, % |
| ВМ 588-12 | 1,5 / 300 | 1,74 | 19,18 | 14,20 | 76,71 | – | 21,00 | 56,71 |
| ВМ 589-12 | 1,5 / 900 | 1,63 | 20,99 | 10,58 | 70,92 | – | 18,75 | 50,63 |
| ВМ 591-12 | 2,0 / 1200 | 2,09 | 27,34 | 0,91 | 74,43 | – | 16,75 | 45,23 |
| ВМ 590-12 | 2,5 / 600 | 1,98 | 27,08 | 0,41 | 72,61 | – | 15,75 | 42,53 |
| ТЦ 613-12 | 1,5 / 900 | 0,93 | 3,00 | 3,57 | 89,62 | 714 | 31,50 | 85,07 |
| ТЦ 614-12 | 2,5 / 900 | 1,94 | 4,04 | 0,65 | 77,52 | 177 | 21,25 | 57,39 |

СП – степень полимеризации целлюлозы

Наблюдается зависимость выхода РВ от условий получения субстрата: для ВМ с повышением давления выход РВ уменьшается с 57 % до 43 %; для ТЦ – уменьшается с 85 % до 57 %, хотя СП первой ТЦ больше СП второй (считается, что при ферментативном гидролизе целлюлоз, более высокий выход обеспечивают целлюлозы с меньшей СП [6]).

Определяющим фактором эффективности ферментативного гидролиза продуктов обработки сырья в РВД является давление при обработке. Выход сахаров при гидролизе ТЦ не намного, всего в 1,3-1,5 раза больше, чем при гидролизе субстрата ВМ, что подразумевает целесообразность ферментативного гидролиза субстрата ВМ, так как затраты и время на

его получение меньше, чем на получение ТЦ.

Нитрование. В таблице 4 представлены свойства целлюлоз, выбранных для нитрования. Следует отметить, что данные целлюлозы заметно уступают эталонным хлопковым целлюлозам, которые используют для получения нитроцеллюлоз; в частности, меньше массовая доля α -целлюлозы, более высокое содержание нецеллюлозных примесей, а также низкие значения СП целлюлозы.

Полученные после нитрования продукты были проанализированы на массовую долю азота (степень замещения), вязкость 2 %-ного раствора НЦ в ацетоне, а также методами инфракрасной спектроскопии (ИК) и дифференциальной сканирующей калориметрией (ДСК).

Таблица 4 – Условия получения и свойства технических целлюлоз (ТЦ)

| Наименование ТЦ | Условия получения ВМ (МПа / с) | Массовая доля компонента, % | | | | СП |
|-----------------|--------------------------------|-----------------------------|--------|---------------------|-----------|-----|
| | | Зола | Лигнин | α -Целлюлоза | Пентозаны | |
| 581-12 | 1,5 / 900 | 0,69 | 2,68 | 95,84 | 4,06 | 821 |
| 472-12 | 2,0 / 900 | 2,15 | 3,94 | 81,38 | 5,60 | 351 |
| 585-12 | 2,0 / 1200 | 0,98 | 2,20 | 85,84 | 0,99 | 338 |
| 586-12 | 2,5 / 600 | 1,16 | 2,38 | 78,04 | 0,56 | 179 |
| 533-12 | 2,5 / 600 | 0,82 | 2,82 | 80,14 | 0,45 | 133 |

СП – степень полимеризации целлюлозы

Методом ИК-спектроскопии показано наличие основных характеристических частот, соответствующих колебаниям нитрогрупп в НЦ: 1631, 1280, 1074 и 816 см⁻¹. По результатам ДСК установлено, что температура начала интенсивного разложения образцов НЦ – око-

ло 194 °С. Следовательно, можно утверждать, что полученные продукты являются НЦ. В таблице 5 представлены свойства и выходы полученных образцов НЦ (с сохранением обозначения соответствующей целлюлозы).

Таблица 5 – Свойства и выходы полученных нитратов целлюлозы

| Образец | Массовая доля азота, % | Степень замещения | Выход (по тринитрату целлюлозы), % | Вязкость 2 %-ного р-ра, сПз |
|--------------|------------------------|-------------------|------------------------------------|-----------------------------|
| НЦ 581-12 | 12,42 | 2,39 | 84,76 | 69,79 |
| НЦ 472-1-12 | 12,77 | 2,51 | 79,24 | 9,10 |
| НЦ 472-2-12* | 12,11 | 2,29 | 84,04 | 5,75 |
| НЦ 585-12 | 12,49 | 2,41 | 83,69 | 6,48 |
| НЦ 586-12 | 12,64 | 2,46 | 81,29 | 3,99 |
| НЦ 533-1-12 | 13,22 | 2,66 | 82,82 | 3,57 |
| НЦ 533-2-12* | 11,83 | 2,21 | 77,46 | 2,31 |

*образцы были получены нитрованием САС другого состава (с 14 % воды)

Как следует из представленных данных, несмотря на высокий процент нецеллюлозных примесей, были получены образцы НЦ с высоким выходом: от 77 % до 85 %. Синтезированные образцы НЦ характеризуются приемлемой для последующего применения степенью замещения [7]. Основным фактором, ограничивающим область их применения, является их вязкость, которая напрямую зависит от СП целлюлоз, из которых были получены НЦ (образцы в таблице 5 расположены по мере убывания СП). НЦ из мискантуса после РВД характеризуются значительно более низкой вязкостью, чем НЦ из хлопковых целлюлоз, вследствие чего имеют узкий круг применения. Тем не менее полученные НЦ могут быть использованы далее для изготовления лакокрасочных изделий [7].

ВЫВОДЫ

Были получены два вида продуктов переработки мискантуса ГТБВ – ВМ и ТЦ. Исследованы их свойства и установлена зависимость свойств от условий обработки в РВД. Наблюдается явное увеличение массовой доли лигнина в образцах ВМ с ростом давления, что свидетельствует об образовании «псевдо-лигнина» согласно работе [5].

Исследован ферментативный гидролиз образцов ВМ и ТЦ, и выявлена зависимость выхода РВ от условий получения субстрата.

Показана возможность получения НЦ из целлюлозы, полученной обработкой мискантуса в РВД с последующей делигнификацией ВМ. Впервые синтезированы НЦ из образцов целлюлоз, полученных подобным способом.

Несмотря на большой процент нецеллюлозных примесей в ТЦ, эфиры получены с высоким выходом, но с низкой вязкостью и средним уровнем содержания азота.

Данные исследования основаны на методологических подходах, представленных в работах [8-10].

Работа выполнена в рамках проекта фундаментальных исследований № 5 «Химическое обогащение возобновляемого «концентрированного» целлюлозосодержащего сырья в различных средах в реакторах под давлением» Программы 3 Президиума РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Brosse N., Dufour A., Meng X., Sun Q., Ragauskas A. Miscanthus: a fast-growing crop for biofuels and chemicals production // Biofuels, bioproducts & biorefining. – 2012. DOI: 10.1002/bbb.
2. Пат. 2472808 Россия, С 1. Способ получения целлюлозы (варианты) и устройство для его осуществления. / Будаева В.В., Цуканов С.Н., Сакович Г.В. – № 2011134207/05, заявлено 15.08.2011; опубл. 20.01.2013, Бюл. № 2. – 10 с.
3. Макарова Е.И. Результаты ферментации целлюлозы мискантуса в ацетатном буфере и водной среде // Химия в интересах устойчивого развития. – 2013. – Т. 21, № 2. – С. 219-225.
4. Мискантус сорта Сорановский. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. – № 8854628 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.gossort.com/reestr/new_sort.html.
5. Hu F., Ragauskas A. Pretreatment and lignocellulosic chemistry // Bioenerg. Res. – 2012. – Vol. 5. – P. 1043-1066.
6. Hu Z., Ragauskas A.J. Hydrothermal

pretreatment of switchgrass // Ind. Eng. Chem. Res. – 2011. – Vol. 50. – P. 4225-4230.

7. Новый справочник химика и технолога. Сырье и продукты промышленности органических и неорганических веществ. Ч. II. – СПб.: НПО «Профессионал», 2006. – С. 600.

8. Будаева В.В., Бычин Н.В., Сакович Г.В. Свойства мискантуса после обработки в реакторе высокого давления – 2009 // Ползуновский вестник. – 2010. – № 4-1. – С. 144-149.

9. Цуканов С.Н., Будаева В.В. Предобработка мискантуса китайского в условиях гидротермобарического взрыва в нейтральной среде // Ползуновский вестник. – 2010. – № 4-1. – С. 209-214.

10. Цуканов С.Н., Будаева В.В. Гидротермобарический способ получения целлюлозы из отходов злаков // Ползуновский вестник. – 2011. – № 4-1. – С. 236-239.

11. Будаева В.В., Макарова Е.И., Скиба Е.А., Сакович Г.В. Ферментативный гидролиз продуктов гидротермобарической обработки мискантуса и плодовых оболочек овса // Катализ в промышленности. – 2013. – № 3. – С. 60-66.

Чибиряев Дмитрий Андреевич, студент группы БТ-73 Бийского технологического института

АлтГТУ им. И.И. Ползунова, практикант-дипломник 2013 года в лаборатории биоконверсии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук (ИПХЭТ СО РАН), chidimdogngs.ru, ул. Социалистическая, 1, Бийск, 659322, Россия. Тел. (3854) 30-59-85, факс (3854) 30-17-25.

Цуканов Сергей Николаевич, младший научный сотрудник лаборатории синтеза высокоэнергетических соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук (ИПХЭТ СО РАН), 7tstdogmail.ru, ул. Социалистическая, 1, Бийск, 659322, Россия. Тел. (3854) 30-14-89, факс (3854) 30-17-25.

Якушева Анна Александровна, младший научный сотрудник лаборатории биоконверсии, аспирант Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук (ИПХЭТ СО РАН), Yakusheva89_21.rudogmail.ru, ул. Социалистическая, 1, Бийск, 659322, Россия. Тел. (3854) 30-59-85, факс (3854) 30-17-25.

УДК 612.015.16

ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ШТАММА *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ВКПМ У-1693 К ФЕРМЕНТАТИВНЫМ ГИДРОЛИЗНЫМ СРЕДАМ

Е.А. Скиба, О.В. Байбакова

В статье приведены результаты по изучению устойчивости штамма Saccharomyces cerevisiae ВКПМ У-1693 к продуктам своего обмена и отсутствию питательных веществ при длительном культивировании на среде солодового сусла и дистиллированной воде. Устойчивость дрожжей к ферментативным гидролизным средам изучена методом длительного культивирования и методом пересевов. Показана высокая устойчивость штамма У-1693 и доброкачественность ферментативных водных гидролизатов технических целлюлоз мискантуса и плодовых оболочек овса.

Ключевые слова: дрожжи, штамм, устойчивость, питательная среда, ферментативный гидролизат, техническая целлюлоза, мискантус, плодовые оболочки овса, биосинтез, биоэтанол.

ВВЕДЕНИЕ

Применение микроорганизмов для получения биоэтанола является экологически чистым способом. Основным продуцентом биоэтанола в России являются дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, применяемые в производстве этилового спирта с использованием как пищевого, так и непищевого сырья.

Из литературы известно, что гидролизаты целлюлозосодержащего сырья не являются

полноценной средой для культивирования дрожжей, поскольку в них недостаточное содержание азотных и фосфорных соединений, отсутствуют витамины и стимуляторы роста, и, кроме того, в них могут содержаться различные вредные примеси, снижающие биологическую доброкачественность сред и нарушающие нормальные физиологические функции дрожжей (например, фурфурол, оксиметилфурфурол, формальдегид, лигнокуминовые вещества).