

соединений, содержащих нитратные группы. Полосы 816, 745 и 678 см⁻¹ обусловлены колебаниями O-N связей, внеплоскостными и плоскостными маятниковыми колебаниями NO₂ групп. Проведено сравнение ИК-спектров синтезированных НЦ с ИК-спектром коллоксилина штатного (спектр не приводится), в результате которого установлено соответствие основных характеристических частот синтезированного образца стандарту.

ВЫВОДЫ

Показана возможность получения НЦ из ТЦ ПОО с м.д азота 12,05-12,35 %, вязкостью 66 сП (без проведения стадии автоклавирования) и 15-23 сП (с проведением стадии автоклавирования). Данные НЦ по своим характеристикам соответствуют коллоксилину штатному.

Методом ДСК установлена химическая

чистота НЦ, полученных из ТЦ ПОО. Методом ИК-спектроскопии показано наличие основных характеристических частот НЦ, что подтверждает получение НЦ из ТЦ ПОО.

Данная работа выполнена при поддержке междисциплинарного интеграционного проекта фундаментальных исследований № 148.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гиндич В.И. Технология пироксилиновых порохов. Т. I. Производство нитратов целлюлозы и регенерация кислот: монография. – Казань, 1995. – 554 с.
2. Жегров Е.Ф., Милехин Ю.М., Берковская Е.В. Химия и технология баллистических порохов, твердых ракетных и специальных топлив. Т. II. Технология: монография. – М.: РИЦ МГУП им. И. Федорова, 2011. – С. 35-101.

УДК 661.728.7:577.152.3

ПОЛУЧЕНИЕ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ МАТЕРИАЛОВ ИЗ НЕДРЕВЕСНОГО СЫРЬЯ И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ В КАЧЕСТВЕ СУБСТРАТОВ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА

В.В.Будаева, Е.А.Скиба, Е.И.Макарова, В.Н.Золотухин, Г.В.Сакович,
Е.В.Удоратина, Л.А.Кувшинова, Т.П.Щербакова, А.В.Кучин

Определены оптимальные условия получения лигноцеллюлозных материалов (ЛЦМ) из плодовых оболочек овса и российского мискантуса (обработка 4 %-ной азотной кислотой); проведена наработка образцов ЛЦМ на опытном производстве в 2012 году. Установлены химические составы ЛЦМ из обоих видов сырья. Показано, что наиболее перспективными субстратами для ферментации являются образцы ЛЦМ плодовых оболочек овса и мискантуса, полученные обработкой сырья 4 %-ной азотной кислотой, выходы редуцирующих веществ достигают 73-80 % в пересчете на массу субстрата.

Ключевые слова: лигноцеллюлозные материалы, плодовые оболочки овса, российский мискантус, ферментативный гидролиз, редуцирующие вещества.

Введение

Преобразование любой лигноцеллюлозной биомассы в биотоплива проходит три основных этапа: физическая и химическая предобработка для разделения полимерной многокомпонентной матрицы растительной клетки, ферментативный гидролиз полисахаридов с образованием редуцирующих веществ и дрожжевая ферментация (сбраживание) с получением этанола [1]. Из-за высокой прочности клеточной стенки преобразование лигноцеллюлозы является очень дорогим процессом и, следовательно, объектом многих исследований. Прочность клеточной стенки главным образом обусловлена особенностями составляющих ее биополимеров, а также

различными взаимодействиями целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина [2-4]. Разработка различных способов позитивного для ферментации разрушения клеточной стенки предполагает использование широкого перечня химических реагентов от простых минеральных кислот и гидроксидов щелочных металлов до ионных жидкостей.

Целью данной работы являлось исследование зависимости качества лигноцеллюлозных материалов (ЛЦМ) – продуктов обработки сырья (плодовых оболочек овса и биомассы российского мискантуса) азотной кислотой – от параметров процесса с получением субстратов для успешного ферментативного гидролиза.

Экспериментальная часть

Объектами исследования являлись реальные отходы переработки овса ЗАО «Бийский элеватор» – плодовые оболочки овса (ПОО) и биомасса российского мискантуса, выращенного сотрудниками Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск) в 2011 году и собранного с плантации возрастом 4 года.

ЛЦМ получали в лабораторных условиях обработкой сырья растворами азотной кислоты концентрацией 2-6 % при температуре 90-96 °С в течение времени 2-4 ч в случае ПОО и 8-16 ч для мискантуса. Кроме того, были получены укрупненные образцы ЛЦМ в условиях опытного производства ИХЭТ СО РАН с использованием стандартного емкостного оборудования.

Анализ исходного сырья и ЛЦМ (влажности, зольности, массовой доли (м.д.) кислото-нерастворимого лигнина, м.д. целлюлозы по Кюршнеру, м.д. α-целлюлозы, м.д. пентозанов проводили по стандартным методикам [5].

Ферментация проводилась с использованием ферментных препаратов (ФП) «Брю

займ» и «Целлолюкс-А»: в колбу емкостью 500 мл помещали субстрат (в пересчете на 5 г сухого вещества), 150 мл ацетатного буфера (рН 4,7) и смесь ФП; гидролиз проводили при температуре (50±2) °С, в течение 72 ч при постоянном перемешивании на платформе ПЭ-6410 М с частотой колебания 150 мин⁻¹. В фильтрате определяли концентрацию редуцирующих веществ (РВ) в пересчете на глюкозу спектрофотометрически и концентрацию пентоз железозорсиновым способом. Выход РВ рассчитан с учетом коэффициента 0,9.

Результаты и обсуждение

Для установления зависимости качества ЛЦМ из ПОО от параметров процесса на первом этапе в лабораторных условиях без перемешивания были проведены экспериментальные варки ПОО в растворах азотной кислоты различной концентрации: 2, 4 и 6 %. Зависимость выходов полученных образцов ЛЦМ и характеристик данных продуктов от концентрации растворов азотной кислоты, а также характеристики исходного сырья ПОО приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Концентрация азотной кислоты (С_{ННОЗ}), выходы и характеристики лигноцеллюлозных материалов, полученных в лабораторных условиях из ПОО

С _{ННОЗ} , %	Номер образца ЛЦМ	Выход (а.с.с.), %	Массовая доля (а.с.с.), %			
			зола	лигнин	целлюлоза по Кюршнеру	пентозаны
0	ПОО	100	4,60	18,60	47,10	35,3
2	517-12	71	7,81	30,36	61,62	3,8
4	516-12	56	9,85	17,35	73,51*	9,3
6	515-12	43	9,97	14,94	87,71	5,4

Примечание: а.с.с. – в пересчете на абсолютно сухое сырье; * – α-целлюлоза

Использование 2 %-ного раствора азотной кислоты для варки ПОО привело к получению ЛЦМ (№ 517-12) с высоким выходом 71 %, но недопустимо высокая массовая доля лигнина 30 % в полупродукте свидетельствовала о некачественной делигнификации. Повышение концентрации азотной кислоты от 2 % до 4 % обеспечило уменьшение выхода до 56 % и снижение содержания лигнина в ЛЦМ (№ 516-12) до 17 %.

Дальнейшее увеличение концентрации раствора азотной кислоты до 6 % значительно снизило выход ЛЦМ (№ 515-12) – до 43 %, массовая доля лигнина в полупродукте снизилась до 15 % – всего на 2 % в сравнении с ЛЦМ, полученным обработкой 4 %-ным раствором азотной кислоты.

Характеристики ЛЦМ, полученных на втором этапе исследований на опытной установке, приведены в таблице 2.

Таблица 2 - Выходы и характеристики лигноцеллюлозных материалов (ЛЦМ), полученных на опытной установке из ПОО в 2012 году

№ образца и название продукта	Выход (а.с.с.), %	Массовая доля (а.с.с.), %			
		зола	лигнин	целлюлоза по Кюршнеру	пентозаны
504. ЛЦМ-1	41,4	7,79	14,53	73,72*	7,58
506. ЛЦМ-2	35,8	7,78	15,31	70,37*	9,06
512. ЛЦМ-3	35,2	7,71	14,34	77,02 / 74,60*	9,40
560. ЛЦМ-4	36,1	8,03	13,01	79,81 / 79,68*	9,74

Примечание: а.с.с. – в пересчете на абсолютно сухое сырье; *α-целлюлоза

ПРИРОДНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И ПРОДУКТЫ ПИТАНИЯ

Образцы ЛЦМ, полученные на опытном производстве с выходом в пределах 35-41 %, отличались по внешнему виду от лабораторных, поскольку представляли собой мелковолокнистые материалы, которые на 80 % утратили форму частиц ПОО. Образцы от трех варок характеризовались близкими значениями зольности (в пределах 7,7-7,8 %) и м.д. лигнина (в пределах 14,3-15,3 %). М.д. α-целлюлозы варьировалась от 70,4 % до 74,7 %, м.д. пентозанов – от 7 % до 10 %. Таким образом, было установлено, что химический состав ЛЦМ представлен преимущественно целлюлозой, следовательно такого рода продукты могут быть перспективными субстратами для ферментативного гидролиза.

На третьем этапе были получены ЛЦМ из мискантуса на опытной установке. Химический состав мискантуса: влажность – 7,8 %; м.д. жировосковой фракции – 2,96 %; зольность – 3,57 %; м.д. кислотонерастворимого лигнина – 19,82 %, м.д. пентозанов – 26,64 %; м.д. целлюлозы по Кюршнеру – 43,96 %. Сырье было измельчено на промышленной соломорезке и поступило в переработку с размером частиц в пределах от 12 до 2 мм, массовая доля фракции от 8 до 2 мм составила большую часть 76,5 %.

Выходы и характеристики укрупненных образцов ЛЦМ приведены в таблице 3.

Таблица 3 - Выходы и характеристики укрупненных образцов ЛЦМ, полученных на опытном производстве из мискантуса в 2012 году

Номер образца и название продукта	Выход, %	Массовые доли компонентов*, %			
		зола	лигнин	α-целлюлоза	пентозаны
521. ЛЦМ-1 (10 кг)	30,2	3,70	8,75	79,88	4,70
529. ЛЦМ-2 (11 кг)	41,6	4,66	11,57	84,36	5,08
536. ЛЦМ-3 (11 кг)	40,2	4,69	11,95	78,56	6,01
558. ЛЦМ-4 (11 кг)	40,8	4,65	11,37	85,78	6,00

Примечание: * – в пересчете на абсолютно сухое сырье

Как следует из представленных результатов, ЛЦМ характеризовались зольностью на уровне 4-5 %, м.д. лигнина в пределах 9-12 %, м.д. пентозанов в узком интервале 5-6 %. Массовая доля α-целлюлозы (высокомолекулярной составляющей всей целлюлозы) составляла от 80 % до 85 %, т.е. при ферментативном гидролизе ЛЦМ – субстрата можно получить глюкозо-пентозный продукт с преобладающим содержанием именно глюкозы. Сравнение ЛЦМ, полученных в партиях 2-4, с ЛЦМ-1 (таблица 3) позволило обнаружить отличия химического состава (более высокие значения зольности, лигнина и пентозанов). Это связано, прежде всего, с увеличением загрузки сырья от 10 кг до 11 кг мискантуса, т.е. снижением жидкостного модуля азотно-кислой варки. Различные режимы активной и пассивной делигнификации не привели к радикальному изменению свойств продуктов. Следует отметить, что проведение активной делигнификации при температуре выше 94 °С позволяет сократить продолжительность варки с обеспечением удовлетворительного качества ЛЦМ. Данные образцы ЛЦМ из мискантуса были переданы на ферментативный гидролиз.

На четвертом этапе был исследован ферментативный гидролиз образцов ЛЦМ ПОО в сравнении с исходным сырьем – ПОО. Характеристики субстратов приведены в таблице 1.

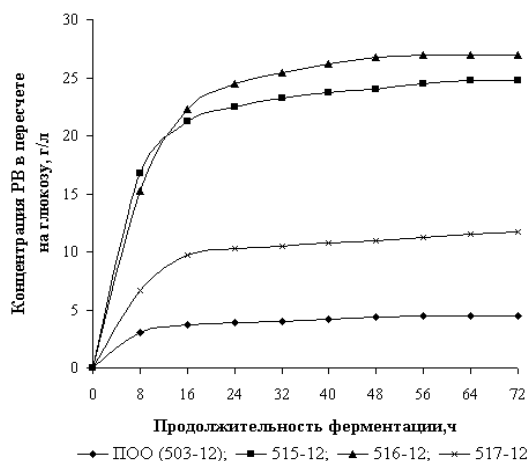


Рисунок 1 – Зависимость концентрации РВ в пересчете на глюкозу от продолжительности ферментации ПОО и ЛЦМ, полученных из ПОО обработкой азотной кислотой с концентрациями 2, 4 и 6 %

ПРИРОДНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И ПРОДУКТЫ ПИТАНИЯ

Результаты исследования ферментативного гидролиза в виде зависимостей концентрации РВ в гидролизатах от продолжительности ферментации исходного сырья (образец № 503) и ЛЦМ (образцы №№ 515-517) представлены на рисунке 1 и в таблице 4. Все три ЛЦМ ферментируются с большей скоростью, чем необработанное сырье – ПОО, а также наибольшей реакционной способностью к ферментации характеризуется образец ЛЦМ, полученный обработкой ПОО 4 %-ной азотной кислотой.

Конечная концентрация РВ при ферментации ЛЦМ, полученных обработкой ПОО

азотной кислотой концентрацией в пределах 4-6 %, достигает 25-27 %, что превышает выход РВ при ферментации необработанного сырья почти в 6 раз, при этом вклад пентоз в выход РВ составляет всего 7-11 %, что свидетельствует о получении глюкозопентозного гидролизата с преимуществом именно глюкозы. Концентрация азотной кислоты 2 % является недостаточной, а 6 % – избыточной. Оптимальная концентрация составляет 4 %.

Таблица 4 - Характеристики гидролизатов после ферментации субстратов: ПОО и ЛЦМ, полученных из ПОО обработкой азотной кислотой с концентрациями 2, 4 и 6 %

Наименование образца (С _{ННОЗ} , %)	Конечная концентрация, г/л		Выход РВ в пересчете на глюкозу, %
	РВ в пересчете на глюкозу	ксилоза	
ПОО (503-12)	4,50	0,13	12,2
ЛЦМ № 515-12 (6 %)	24,75	1,80	66,8
ЛЦМ № 516-12 (4 %)	27,00	2,90	72,9
ЛЦМ № 517-12 (2 %)	11,75	1,10	31,7

Далее были проведены пробные ферментации необработанного мискантуса и двух продуктов: целлюлозосодержащего продукта (ЦСП, образец № 520) и ЛЦМ (образец

№ 521), полученных на опытном производстве в 2012 году с использованием 4 % азотной кислоты, характеристики которых приведены в таблице 5.

Таблица 5 - Характеристики мискантуса, ЦСП (образец № 520) и ЛЦМ (образец № 521), полученных на опытном производстве из мискантуса в 2012 году

Номер образца и название продукта	Выход, %	Массовые доли компонентов*, %			
		зола	лигнин	α-целлюлоза	пентозаны
Мискантус	100	3,9	19,1	57,4	23,3
ЦСП № 520	52,0	2,0	20,9	–	–
ЛЦМ № 521	30,2	3,70	8,75	79,88	4,70

Ферментация проводилась аналогично вышеописанному с использованием смеси

трех ФП «Брюзайм», «Целлолюкс-А», «Рапидаза CR».

Таблица 6 - Характеристики гидролизатов после ферментации субстратов: исходного сырья (а) и продуктов: ЦСП (образец № 520) и ЛЦМ (образец № 521)

Наименование образца	Конечная концентрация, г/л		Выход РВ в пересчете на глюкозу, %
	РВ в пересчете на глюкозу	ксилоза	
Мискантус	4,85	–	13,1
ЦСП (образец № 520-12)	6,80	0,60	18,4
ЛЦМ (образец № 521-12)	29,77	1,00	80,4

Результаты исследования ферментативного гидролиза в виде зависимостей концентрации РВ в гидролизатах от продолжительности ферментации исходного сырья (мискантуса) и продуктов: ЦСП (образец № 520) и ЛЦМ (образец № 521) представлены на рисунке 2 и в таблице 6.

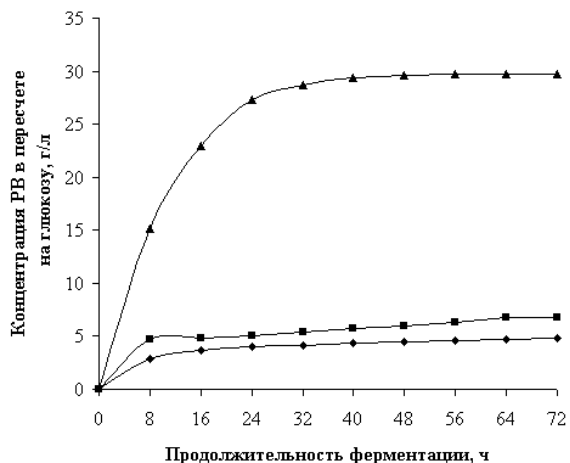


Рисунок 2 – Зависимость концентрации РВ в пересчете на глюкозу от продолжительности ферментации мискантуса и продуктов: ЦСП (образец № 520) и ЛЦМ (образец № 521)

Как следует из представленных результатов, продукты переработки мискантуса ферментируются с большей скоростью, чем необработанное сырье; наибольшей реакционной способностью к ферментации из двух продуктов характеризуется образец ЛЦМ: выход РВ составил 80 %, при этом вклад ксилоразложения составляет всего 3 %.

ВЫВОДЫ

После определения оптимальных условий получения ЛЦМ из плодовых оболочек овса и российского мискантуса (обработка

4 %-ной азотной кислотой) проведена наработка ЛЦМ на опытном производстве в 2012 году. Установлены химические составы ЛЦМ из обоих видов сырья.

Показано, что выше всего реакционная способность к ферментации у образцов ЛЦМ, полученных азотнокислой варкой 4 % азотной кислотой. Выход редуцирующих веществ (РВ) для ЛЦМ ПОО составляет 73 % от массы субстрата (95 % от гидролизующих компонентов), для ЛЦМ мискантуса – 87 % от массы субстрата (92 % от гидролизующих компонентов). ЛЦМ из ПОО и мискантуса являются перспективными субстратами для получения глюкозо-ксилозных гидролизатов с преимущественным содержанием глюкозы (89-93 %).

Данная работа выполнена при поддержке совместного интеграционного проекта № 11 фундаментальных исследований ИПХЭТ СО РАН и ИХ Коми НЦ УрО РАН, государственная регистрация темы проекта № 01201257825. Список литературы

1. Синицын А.П., Гусаков А.В., Черноглазов В.М. Биоконверсия лигноцеллюлозных материалов. – М.: Изд-во Московского университета, 1995. – 224 с.
2. Торлопов М.А., Тарабукин Д.В., Фролова С.В., Щербакова Т.П. и др. Ферментативный гидролиз порошковых целлюлоз, полученных различными методами // Химия растительного сырья. – 2007. – № 3. – С. 69-76.
3. Будаева В.В., Митрофанов Р.Ю., Золотухин В.Н. Исследование ферментативного гидролиза отходов переработки злаков // Ползуновский вестник. – 2008. – № 3. – С. 322-327.
4. Hu F., Ragauskas A. J. Pretreatment and Lignocellulosic Chemistry // Bioenerg. Res. – 2012. – 5. – P. 1043–1066.
5. Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонovich А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. – М.: Экология, 1991. – С. 73-74, 106-108, 176-179, 184-187.

УДК 661.728.7:577.152.3

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ ГИДРОТРОПНЫХ ЦЕЛЛЮЛОЗ

Е.И. Макарова, М.Н. Денисова, В.В. Будаева, Г.В. Сакович

Исследована реакционная способность к ферментации гидротропных целлюлоз, полученных из российского мискантуса и плодовых оболочек овса. Приведены основные характеристики исследуемых субстратов.

Ключевые слова: гидротропная варка, мискантус, плодовые оболочки злаков, целлюлоза, ферментативный гидролиз, «Брюзайм ВГХ», редуцирующие вещества.