

УДК 634.0.861

**В.А. Гущина, М.В. Постникова**Пермский национальный исследовательский  
политехнический университет, Пермь, Россия**ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ ТЕХНОЛОГИИ  
ПОЛУЧЕНИЯ САХАРОВ ИЗ ДРЕВЕСНОЙ БИОМАССЫ  
ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ**

*В последние годы во всем мире уделяется серьезное внимание вопросам химической и биотехнологической переработки биомассы растительного сырья. Возобновляемое древесное сырье, биомассу и ее компоненты рассматривают как альтернативу нефти в получении топлива. Древесная биомасса, в составе которой высокое содержание углеводов (70–80 %), может быть сырьем для выделения сахаров, необходимых для получения биотоплива и различных продуктов, таких как органические кислоты, аминокислоты, витамины. Приведены результаты исследования по разработке технологии получения сахаров из древесной биомассы для микробиологических процессов.*

*Авторами изучен процесс предобработки древесной биомассы к ферментативному гидролизу: делигнификация биомассы в системе вода – бутанол с добавкой азотной кислоты, делигнификация в системе вода – этанол с добавкой уксусной кислоты, делигнификация в системе пероксид водорода – уксусная кислота – вода. Установлено, что эффективным и экологичным способом предобработки может быть делигнификация древесного сырья с применением варочного раствора на основе  $\text{CH}_3\text{COOH} - \text{H}_2\text{O}_2 - \text{H}_2\text{O}$ , а также водного раствора этанола с добавкой уксусной кислоты. Перед делигнификацией авторы рекомендуют проводить водный предгидролиз биомассы.*

*Проведенный ферментативный гидролиз волокнистых целлюлозных материалов с пониженным содержанием лигнина, полученных в результате различных методов предобработки (делигнификации) древесной биомассы, позволил установить, что режим предобработки древесной биомассы оказывает влияние на результат ферментативного гидролиза. Делигнификация в системе пероксид водорода – уксусная кислота – вода выбрана в качестве этапа технологии получения сахаров из древесной биомассы.*

*На основании проведенных исследований разработан способ выделения сахаров из древесной биомассы, включающий водный предгидролиз, делигнификацию в системе пероксид водорода – уксусная кислота – вода и ферментативный гидролиз.*

***Ключевые слова:** древесная биомасса, полисахариды, глюкоза, ферментативный гидролиз, делигнификация.*

**V.A. Guschina, M.V. Postnikova**

Perm National Research Polytechnic University,  
Perm, Russian Federation

## **RESEARCH ON THE DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY FOR SUGARS PRODUCTION FROM WOODY BIOMASS FOR MICROBIOLOGICAL PROCESSES**

*Woody biomass is being considered all over the world as the largest renewable energy resource. It contains a large amount of carbohydrates. Polysaccharides of wood biomass can be converted into fermentable sugars. So woody biomass is a potential feedstock and can be fermented to produce biofuels and different products of microbial syntheses such as organic acids, amino acids, vitamins. Saccharification of biomass can be realized with help of acid or fermentative hydrolysis.*

*However, the conversion of woody biomass into fermentable sugars is difficult because of the presence of hemicelluloses (which is not easily fermentable) and lignin that cause condensed and crystallized structure of cellulose in woody biomass.*

*The object of our research is raw wood material.*

*The goal of the investigation is to develop a saccharification method of wood biomass.*

*The research tasks are:*

*– to select conditions of cellulose-containing material's pretreatment.*

*– to lead the pretreatment (delignification) of wood biomass in different systems.*

*– to estimate an influence of pretreatment method on fermentative hydrolysis.*

*– to determine the optimal pretreatment method.*

*– to explore the process of glucose crystallization.*

*To realize the tasks microbiological analysis and methods of fermentative hydrolysis of cellulose, lignin, sugars evaluation were used.*

*The pretreatment was led in three systems: butanol – water with nitric acid; ethanol – water with acetic acid; hydrogen peroxide – acetic acid – water.*

*The culture of aerobic microorganisms degrading wood biomass was cultivated on Getchinsons medium. This culture was used as a material for the experimental investigations. Photoelectrocolorimeter was used to observe an increase of bacterial biomass optical density of bacterial suspension.*

*Fermentative hydrolysis was realized with commercial fermentative preparation “Cellosim ultra”.*

*In work the influence of pretreatment methods on fermentative hydrolysis was estimated and the characteristics of delignification were investigated to develop the saccharification method.*

*Based on our investigations the saccharification method including water wood prehydrolysis, delignification in the system of hydrogen peroxide – acetic acid – water and fermentative hydrolysis was developed.*

**Keywords:** *woody biomass, polysaccharides, glucose, fermentative hydrolysis, pretreatment methods.*

В настоящее время во всем мире уделяется особое внимание вопросам химической и биотехнологической переработки биомассы растительного сырья. Важным фактором существования человечества становится возобновляемая растительная биомасса. Это обусловлено тем, что потребление всех видов ископаемых, особенно нефтепродуктов, достигло больших масштабов [1]. В связи с этим возобновляемое сырье, биомассу и ее компоненты, рассматривают как альтернативу нефти в получении топлива. Интерес к биотопливу связан с поиском новых направлений энергетики, рационального использования ресурсов и снижения отходов. Перспективным направлением является производство биоэтанола и биобутанола ферментацией сахаров из пищевой биомассы [2]. Существует целый ряд и других ценных продуктов, которые могут быть получены микробиологическим синтезом на основе сахаров, выделенных из древесной биомассы.

Древесная биомасса, в составе которой высокое содержание углеводов (70–80 %), может быть сырьем для выделения сахаров, необходимых для получения биотоплива и различных продуктов, таких как органические кислоты, аминокислоты, витамины. В настоящее время разрабатываются новые способы переработки древесной биомассы с целью получения технической целлюлозы и волокнистых материалов [3, 4].

Авторами проводятся исследования по разработке способа выделения сахаров из древесной биомассы для микробиологических процессов.

Производственной основой современной биотехнологии является микробиологическая промышленность, включающая и гидролизные производства.

При гидролизе древесной биомассы (лигноцеллюлозного сырья) образуется смесь глюкозы и ее олигомеров. Глюкоза представляет собой ключевое соединение, на основе которого может быть получен широкий ассортимент важных продуктов [5].

Глюкоза играет важную роль для живых организмов, являясь одним из ключевых продуктов обмена веществ, обеспечивающих клетки энергией, исходным звеном для биосинтеза многих метаболитов. Глюкоза в значительном количестве содержится в природных продуктах, в основном в связанном виде, являясь составной частью разнообразных гликозидов и полисахаридов. С учетом того, что до 40–50 % массы сухого вещества растений составляет целлюлоза, образуемая путем фотосинтеза в количестве около 70 кг/день на каждого жителя нашей планеты [5], глюкоза является наиболее распространенным в природе сахаром.

Основными потребителями глюкозы считаются пищевая промышленность, медицина, химико-фармацевтическое и микробиологическое производство.

В России потребность в кристаллической глюкозе удовлетворяется за счет собственного производства из крахмалосодержащего сырья и импортных поставок.

Основным способом производства глюкозы является ферментативный гидролиз крахмала, источником которого служат ценные сельскохозяйственные культуры – зерно, кукуруза, картофель и некоторые другие.

Изучаются вопросы переработки лигноцеллюлозного сырья, в основном в виде отходов сельскохозяйственных культур (лузга крупяных культур, солома, кукурузная кочерыжка, костра льна и др.). Отходы дерево- и лесопереработки также привлекают внимание, но пока этот ресурс как сырье для получения кристаллической глюкозы остается нетронутым [6].

В России известны способы выделения сахаров из древесной биомассы в гидролизных производствах с применением кислотного гидролиза, а также в качестве эксперимента проводились работы с

применением концентрированных кислот (41 % HCl и концентрированная H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Эти разработки не нашли промышленного применения в силу серьезных затруднений, связанных с регенерацией кислот, аппаратурным оформлением, с требованиями экологической безопасности производства [7]. Осахаривание биомассы (выделение сахаров) может быть осуществлено кислотным и ферментативным гидролизом. Желательно для выделения сахаров использовать ферментативный гидролиз как способ, имеющий ряд преимуществ перед кислотным. Однако древесная биомасса (лигноцеллюлоза) имеет сложное строение и поликомпонентный состав, она устойчива к действию ферментов из-за кристаллической структуры, а также наличия в составе древесного сырья наряду с целлюлозой таких компонентов, как лигнин и гемицеллюлоза, затрудняющих доступ ферментов к поверхности целлюлозных волокон. В связи с этим предобработка древесной биомассы перед ферментативным гидролизом является необходимой стадией процесса выделения сахаров из древесной биомассы. Предварительная обработка должна быть направлена на разрушение сложной структуры древесной биомассы и на полное или частичное удаление лигнина [8]. Одним из методов разделения компонентов растительной клетки может быть процесс делигнификации, предусматривающий получение целлюлозы.

В качестве метода предобработки в данной работе был выбран метод делигнификации древесного сырья в следующих системах: вода – бутанол с добавкой азотной кислоты, вода – этанол с добавкой уксусной кислоты и система пероксид водорода – уксусная кислота – вода. В работе для изучения процесса делигнификации были использованы древесные опилки смеси хвойных пород.

С целью разработки способа выделения сахаров из древесной биомассы в работе изучено влияние вида предобработки (делигнификации) на процесс осаживания биомассы.

Делигнификация опилок водно-бутанольной смесью с добавкой азотной кислоты осуществлялась при мольном соотношении вода:бутанол = 1:1, 2:1 и 4:1, при расходе азотной кислоты 0,5–2,5 % от абс. сух. в-ва и гидромодуле 1:5 и 1:10. Условия обработки и результаты делигнификации древесной биомассы водно-бутанольной смесью с добавкой азотной кислоты приведены в табл. 1.

Таблица 1

## Условия обработки и результаты делигнификации древесной биомассы водно-бутанольной смесью с добавкой азотной кислоты

Образец	Условия обработки			Выход т.о. (твердый остаток), % к древесине	Содержание лигнина в т.о., %	РВ в воде, %
	HNO <sub>3</sub> , % от абс. сух. в-ва	Гидро-модуль	Вода – бутанол			
1*	2,50	1:10	1:1	40,3	2,1	9,5
2*	2,50	1:5	1:1	42,5	3,7	8,6
3**	1,50	1:5	4:1	38,7	3,5	8,0
4**	1,00	1:10	2:1	39,4	3,1	8,1
5**	0,50	1:10	1:1	40,3	5,6	7,9

\* Температура 98–100 °С, продолжительность 2 ч, щелочная обработка 2 % NaOH, 1 ч; \*\* температура 140 °С, продолжительность 2,5 ч, без щелочной обработки.

По результатам предобработок биомассы водно-бутанольной смесью с азотной кислотой, приведенным в табл. 1, можно видеть, что материал (т.о.) с низким содержанием лигнина можно получить при расходе азотной кислоты 2,5 %, соотношении вода:бутанол = 1:1, гидромодуле 1:10 и продолжительности варки 2 ч (образец 1). В данном случае после делигнификации проводилась щелочная обработка раствором NaOH. Выход волокнистого материала (т.о.) составляет 40,3 % абс. сух. в-ва древесины, содержание лигнина в т.о. – 2,1 %, РВ в воде – 9,5 %. На рис. 1 показано влияние расхода азотной кислоты в водно-бутанольной смеси на содержание лигнина в т.о.

По данным рис. 1 и табл. 1 можно видеть, что в условиях более низкого расхода HNO<sub>3</sub> (0,5–1,5 %) и отсутствия щелочной обработки также получены высокие выходы т.о. (38,7–40,3 % к абс. сух. древесине) и высокое содержание РВ в воде (7,9–8,1 %). Однако при этом наблюдается повышение содержания лигнина в т.о. (3,1–5,6 %), что делает материал менее пригодным к ферментативному гидролизу (образцы 3,4,5).

При сравнении результатов обработки образцов 1 и 2 видно, что снижение гидромодуля с 1:10 до 1:5 приводит к увеличению процентного содержания лигнина в т.о., что является нежелательным для последующего ферментативного гидролиза.

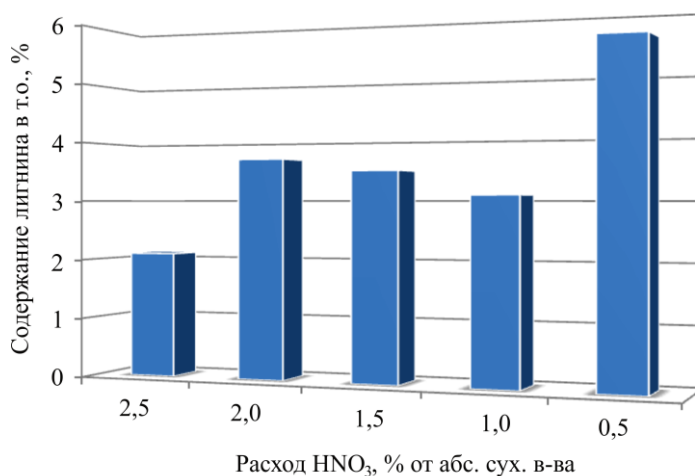


Рис. 1. Влияние расхода азотной кислоты на содержание лигнина в т.о.

Таким образом, при делигнификации опилок водно-бутанольной смесью с добавкой азотной кислоты при расходе ее в количестве 2,5 % от абс. сух. в-ва, при гидромодуле 1:10 и соотношении вода:бутанол = 1:1 можно получить целлюлозный материал с выходом 40,3 %, содержанием лигнина 2,1 %, при этом содержание ПВ в растворе 9,5 %. Условия обработки и результаты делигнификации древесных опилок водно-этанольной смесью с добавкой уксусной кислоты приведены в табл. 2. При этом расход кислоты составлял 2,5–4,5 %, а соотношение вода: этанол – 1:1, 2:1, 4:1, гидромодули 1:5 и 1:10.

Таблица 2

Условия обработки и результаты делигнификации древесной биомассы водно-этанольной смесью с добавкой уксусной кислоты

Образец	Условия обработки*			Выход т.о., % к древесине	Содержание лигнина в т.о., %	ПВ в воде, %
	CH <sub>3</sub> COOH, % от абс. сух. в-ва	Гидро-модуль	Вода – этанол			
1	2,5	1:10	1:1	72,5	12,8	2,3
2	2,5	1:5	1:1	73,4	5,1	1,9
3	3,0	1:5	4:1	70,1	4,8	2,6
4	3,5	1:5	4:1	68,2	4,4	3,9
5	4,0	1:10	2:1	46,8	4,2	5,6
6	4,5	1:10	2:1	45,1	3,8	9,8

По данным табл. 2 можно видеть, что наиболее пригодный к ферментативному гидролизу материал получается в случае образца 6, который был получен при расходе уксусной кислоты 4,5 %, гидромодуле 1:10, соотношении вода:этанол = 2:1. При этом выход т.о. составляет 45,1 % к абс. сух. древесине, содержание лигнина в т.о. 3,8 %, содержание РВ в растворе 9,8 %. Использование меньших количеств уксусной кислоты (2,5–3,5 % от абс. сух. в-ва) повышает выход волокнистого полуфабриката, при этом в нем увеличивается содержание лигнина (4,4–12,8 %), а в растворе наблюдается снижение РВ (2,3–3,9 %), что можно видеть на рис. 2.

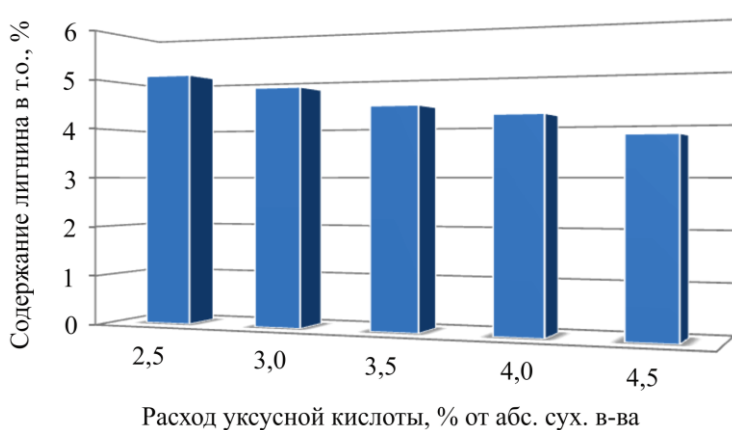


Рис. 2. Влияние расхода уксусной кислоты на содержание лигнина в т.о.

В качестве перспективных окислителей в процессе делигнификации лигноцеллюлозного материала различными исследователями рассматриваются кислород, пероксид водорода, пероксикислоты, а в качестве органических растворителей – спирты и органические кислоты. Однако наибольший интерес представляет применение пероксида водорода и уксусной кислоты, которая является многотоннажным и относительно дешевым продуктом лесохимии и синтеза [7]. Уксусная кислота обладает слабокислыми свойствами, что обеспечивает деструкцию лигноцеллюлозных связей и эфирных связей лигнина.

Проведенные ранее на кафедре исследования по изучению процесса подготовки древесной биомассы для ферментативного гидролиза [9] показали, что эффективным и экологичным способом предобработки лигноцеллюлозного сырья может быть органосольVENTный способ делигнификации с применением надуксусной кислоты.



В данной работе с целью снижения расхода реагентов на подготовку древесной биомассы к ферментативному гидролизу была изучена делигнификация древесной биомассы (смесь опилок) варочным раствором на основе уксусной кислоты и перекиси водорода при соотношении перекись водорода:уксусная кислота = 0,3:0,5 и при условии использования более низких значений гидромодуля варки 1:6 и 1:10 при температурах 98 и 120 °С.

С целью снижения содержания пентозных сахаров в целлюлозном материале перед делигнификацией был проведен водный предгидролиз образцов. Известно, что снижение пентозных сахаров в составе целлюлозного материала способствует повышению реакционной способности получаемой целлюлозы [10].

Выделенные в ходе водной предобработки пентозные сахара можно использовать для микробиологической переработки. Отсутствие пентозных сахаров в целлюлозном материале, направляемом на ферментативный гидролиз, будет способствовать изменению его структуры и повышению эффективности его осахаривания при ферментативном гидролизе до гексозных сахаров, необходимых для микробиологических процессов. Водный предгидролиз проводился при гидромодуле 1:6 и температуре 98–100 °С в течение 2 ч.

Условия обработки и результаты делигнификации древесной биомассы в системе пероксид водорода – уксусная кислота – вода приведены в табл. 3. Перед делигнификацией проводился предгидролиз древесной биомассы по условиям, приведенным в примечании к табл. 3.

Из результатов, приведенных в табл. 3, видно, что в случае варки древесной биомассы на варочном растворе, содержащем уксусно-перекисную смесь при мольном соотношении  $\text{H}_2\text{O}_2:\text{CH}_3\text{COOH} = 0,5$ , температуре 98–100 °С и гидромодуле 1:10, можно получить волокнистые целлюлозные материалы (образцы 3 и 4) с относительно низким содержанием лигнина 3,5–6,5 %. Продолжительность варки в данном случае составляла 240–300 мин. Выход такого материала составлял 50,8–53,4 %, а содержание в нем целлюлозы 93,5–96,5 %.

При обработке опилок тем же варочным раствором (образцы 1 и 2) при продолжительности 120–180 мин выход волокнистого полуфабриката составляет 58,4–62,8 %, содержание лигнина в получаемом материале оказывается довольно высоким (12,2–14,3 %), что делает данный материал менее пригодным для ферментативного гидролиза. Содержание целлюлозы в таком материале 85,7–87,8 %.

Увеличение продолжительности обработки до 240–300 мин (образцы 3 и 4) позволяет снизить содержание лигнина до 3,5–6,5 % и повысить содержание целлюлозы (93,5–96,5 %) в материале, что свидетельствует о целесообразности более длительной обработки.

Таблица 3

Условия обработки и результаты делигнификации древесной биомассы в системе пероксид водорода – уксусная кислота – вода (с предгидролизом\*)

Образец	Условия обработки			Выход целлюлозного материала, % к абс. сух. древесине	Содержание в т.о., %	
	Реагент	Гидро-модуль	Продолжительность, мин		Целлюлоза (ХЦ**)	Лигнин
1	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / CH <sub>3</sub> COOH = 0,5; 98–100 °С	1:10	120	62,8	85,7	14,3
2			180	58,4	87,8	12,2
3			240	53,4	93,5	6,5
4			300	50,8	96,5	3,5
5	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / CH <sub>3</sub> COOH = 0,5; 120 °С	1:10	240	49,9	97,4	2,6
6	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / CH <sub>3</sub> COOH = 0,5; 120 °С. Повт. исп.	1:10	240	53,1	96,5	3,4
7	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / CH <sub>3</sub> COOH = 0,3; 98–100 °С	1:6	300	52,2	96,1	3,9

*Примечание.* \* Условия предгидролиза: реагент – вода; гидромодуль 1:6; продолжительность 2 ч; температура предгидролиза 98–100 °С; выход т.о. после предгидролиза – 92,5 %; содержание РВ в гидролизате – 1,9 % (3,5 % после инверсии). \*\* ХЦ – холоцеллюлоза (целлюлоза + трудногидролизуемые гемицеллюлозы).

На рис. 3 отражено влияние продолжительности обработки древесной биомассы при гидромодуле 1:10 и температуре 98–100 °С на выход и состав целлюлозного продукта (образцы 1–4). По данным, представленным на рис. 3 и в табл. 3, наблюдаем снижение содержания лигнина и увеличение содержания целлюлозы в материале (т.о.) при увеличении продолжительности варки.

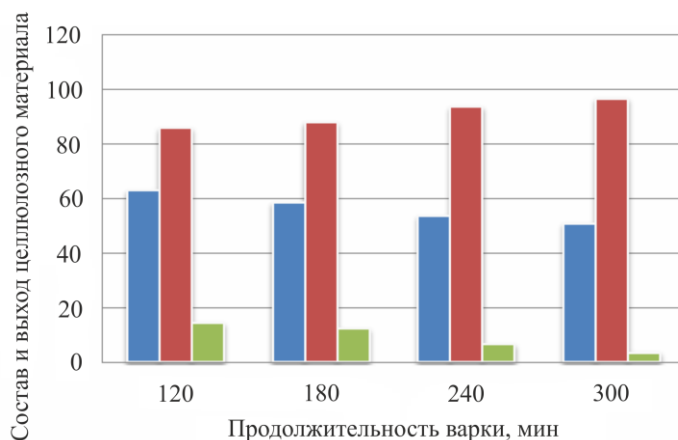


Рис. 3. Влияние продолжительности обработки древесной биомассы на выход и состав целлюлозного материала при варочном составе  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CH}_3\text{COOH} = 0,5$ , гидромодуле 1:10 и при температуре 98–100 °С (для образцов 1–4): ■ – выход т.о.; ■ – целлюлоза; ■ – лигнин

Наиболее пригодный к ферментативному гидролизу материал получается в случае образца 5. Варка при повышенной температуре 120 °С на том же варочном растворе позволила получить качественный материал. Выход такого материала составляет 49,9 %, содержание целлюлозы в нем 97,4 %, содержание лигнина 2,6 %. Варка данного образца осуществлялась при мольном соотношении  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CH}_3\text{COOH} = 0,5$ , температуре 120 °С и гидромодуле 1:10.

Также при снижении гидромодуля варки до 1:6 и снижении мольного соотношения  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CH}_3\text{COOH}$  до 0,3 был получен материал с достаточно высоким содержанием целлюлозы (96,1 %) и низким содержанием лигнина (3,9 %) в т.о. (образец 7). Температура обработки в данном случае составляла 98–100 °С, но продолжительность варки была увеличена до 300 мин.

Кроме того, было изучено влияние повторного использования варочного раствора на качество волокнистого материала. Повторное использование раствора позволяет снизить расход химикатов, что делает процесс предобработки более экологичным и экономичным. На рис. 4 показано сравнение образцов 5 и 6 (см. табл. 3).

В обоих случаях варка проводилась при температуре 120 °С, мольном соотношении 0,5, гидромодуле 1:10 в течение 240 мин с расходом отработанного раствора 40 %. В случае образца 6 варочный раствор использовался повторно. Повторное использование варочной сме-

си снижает содержание целлюлозы в материале до 96,5 % и повышает содержание лигнина в нем до 3,4 % при повышенном выходе материала (53,1 %). Таким образом, снижение расхода свежих химикатов в данном случае целесообразно, так как повышается экономичность процесса при достаточном сохранении качества получаемого материала.

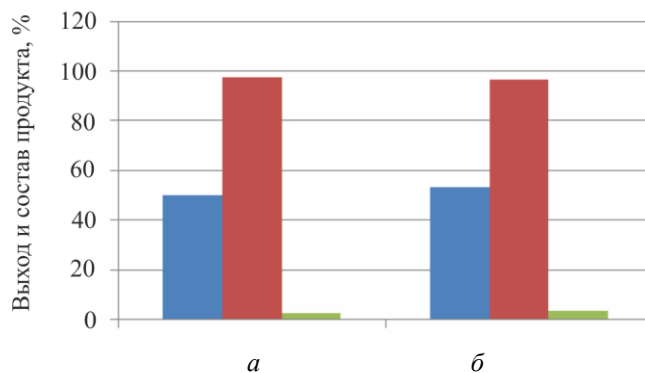


Рис. 4. Влияние повторного использования варочной смеси на выход и состав продукта: *а* – без повторного использования; *б* – с повторным использованием;

■ – выход целлюлозного материала, % к древесине; ■ – содержание целлюлозы в т.о., %

По результатам изучения предобработки (делигнификации) древесной биомассы с целью получения волокнистого полуфабриката в системе пероксид водорода – уксусная кислота – вода можно рекомендовать для проведения ферментативного гидролиза режим получения образцов 5 и 6. Режим получения образца 5: соотношение  $H_2O_2/CH_3COOH$  составляет 0,5, температура 120 °С, минимальная продолжительность обработки 240 мин. С целью снижения расхода химикатов может быть рекомендован режим получения образца 6 при тех же параметрах с повторным использованием отработанного варочного раствора.

Осахаривание волокнистых материалов, полученных путем делигнификации, проводилось с использованием ферментативного гидролиза. Было изучено влияние вида предобработки древесной биомассы (делигнификации) на процесс ее осахаривания.

В качестве субстрата при ферментативном гидролизе использовались образцы 2 (см. табл. 1), 6 (см. табл. 2), 5 и 6 (см. табл. 3), полученные в ходе предварительной обработки (делигнификации) древесной биомассы. Ферментативный гидролиз проводился в течение 3 сут при перемешивании, температуре  $50 \pm 2$  °С, рН 4,7 (0,1М ацетатный бу-

фер) и концентрации субстрата 10 г/л, в эксперименте использовался ферментативный препарат «Целлозим ультра», целлюлозная активность которого 519,7 ед. В гидролизате проводилось определение содержания редуцирующих сахаров (РВ). В табл. 4 приведены результаты проведенного ферментативного гидролиза волокнистых целлюлозных материалов, по которым сделано сравнение эффективности ферментативного гидролиза (масса РВ в гидролизате, выход сахаров) в зависимости от условий предварительной обработки сырья.

Наибольший выход РВ оказался в случае варки древесного сырья в системе  $H_2O_2/CH_3COOH = 0,5$  при температуре 120 °С, гидромодуле 1:10 и продолжительности обработки 240 мин (см. образец 5, табл. 3). Выход РВ в данном случае составляет 20,1 % от абс. сух. массы, а концентрация РВ в гидролизате 3,1–6,7 г/л. Добавка отработанного варочного раствора (см. образец 6, табл. 3) приводит к незначительному снижению концентрации РВ (2,7–6,1 г/л) и выходу сахаров (18,3).

Достаточно высокий выход РВ получается и в случае обработки варочной смесью этанол – вода – уксусная кислота (см. образец 6, табл. 2). Концентрация РВ составляет 5,0–6,3 г/л. В случае варки в системе бутанол – вода – азотная кислота (см. образец 2, табл. 1) концентрация РВ оказывается более низкой (3,4–5,5 г/л), что может быть связано с низким расходом бутанола как окислителя в системе (2,5 %).

Таблица 4

Результаты ферментативного гидролиза волокнистых целлюлозных материалов

Образец	Вид предобработки	Масса РВ в гидролизате, г/л			Выход РВ, % от абс. сух. массы
		1 сут	2 сут	3 сут	
Образец 2 табл. 1	Бутанол 2,5 % $HNO_3$	3,4	4,72	5,5	16,5
Образец 6 табл. 2	Этанол 4,5 % $CH_3COOH$	5,0	5,82	6,3	18,9
Образец 5 табл. 3	$H_2O_2/$ $CH_3COOH = 0,5;$ 120 °С	3,1	5,2	6,7	20,1
Образец 6 табл. 3	$H_2O_2/$ $CH_3COOH = 0,5;$ 120 °С. Повт. исп-е	2,7	4,9	6,1	18,3

На рис. 5 приведены данные по содержанию полученных сахаров и глюкозы в гидролизатах образцов целлюлозного материала. Содержание глюкозы определялось в гидролизате образцов 2 (см. табл. 1), 6 (см. табл. 2), 5 и 6 (см. табл. 3), а также для сравнения проводилось исследование образца промышленной сфа (сульфатной) блененой целлюлозы, которая предварительно подвергалась кислотному гидролизу (2 ч, 70 %  $H_2SO_4$ ).

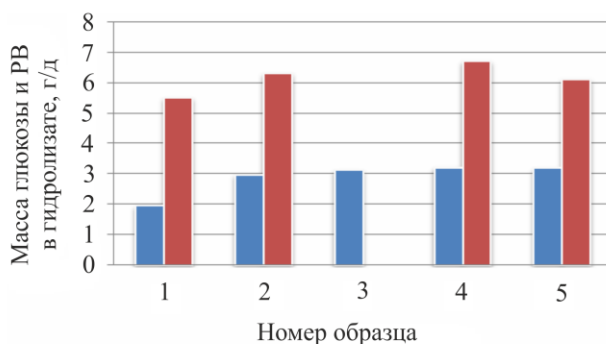


Рис. 5. Содержание сахаров и глюкозы в гидролизатах образцов волокнистых материалов: 1 – образец 2, табл. 1; 2 – образец 6, табл. 2; 3 – промышленная сфа целлюлоза (кислотный гидролиз (70 %  $H_2SO_4$ )); 4 – образец 5, табл. 3; 5 – образец 6, табл. 3; ■ – масса глюкозы в гидролизате, г/л; ■ – масса ПВ в гидролизате, г/л

По данным рис. 5 можно видеть, что больше всего глюкозы образуется в результате ферментативного гидролиза образцов 5 и 6 (см. табл. 3), варка которых проводилась в системе пероксид водорода – уксусная кислота – вода. Масса глюкозы в гидролизате составила 3,19–3,21 г/л. Наименьшее количество глюкозы (1,95 г/л) получилось при обработке древесной биомассы в системе бутанол – вода с азотной кислотой (см. образец 2, табл. 1). В случае обработки образца в системе этанол – вода с уксусной кислотой (см. образец 6, табл. 2) и в случае промышленной сфа блененой целлюлозы масса глюкозы в гидролизате оказывается довольно высокой (2,97–3,12 г/л).

Применение целлюлозного препарата «Целлозим ультра» позволило судить о пригодности полученных в ходе различных вариантов предобработки целлюлозных материалов для ферментативного гидролиза. Удалось сделать выводы о влиянии условий предобработки на эффективность ферментативного гидролиза, что позволяет предложить оптимальный способ выделения сахаров из древесной биомассы.

Однако использованный в работе фермент, обладающий низкой целлюлозной активностью и не содержащий в своем составе гемицеллюлозных ферментов, не позволил нам достигнуть высоких выходов сахаров из древесной биомассы. Таким образом, можно утверждать, что для получения высокого выхода сахаров необходимы комплексные целлюлозные ферменты с более высокой активностью.

Проведенные исследования показали возможность получения сахаров из древесной биомассы для микробиологических процессов. На основании данных исследований может быть предложена технология получения сахаров из древесной биомассы, включающая водный предгидролиз, делигнификацию с применением раствора, содержащего пероксид водорода, уксусную кислоту, и ферментативный гидролиз целлюлозного материала, полученного после делигнификации.

Рекомендуются следующие условия:

- водный предгидролиз: гидромодуль 1:10; 2 ч; 98–100 °С;
- делигнификация:  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CH}_3\text{COOH} = 0,5$ ; 120 °С; 240 мин; гидромодуль 1:10;
- ферментативный гидролиз, фермент и условия должны дополнительно подбираться.

Разработанный способ выделения сахаров с проведением водного предгидролиза, делигнификации и ферментативного гидролиза имеет ряд преимуществ по сравнению с известными способами, использующими кислотный гидролиз<sup>1</sup>. В разработанном способе используется современный метод делигнификации для разделения компонентов древесной биомассы, а вместо кислотного гидролиза концентрированной серной кислотой применяется ферментативный гидролиз.

### Список литературы

1. Карпов С.А. Актуальные аспекты производства топливного этанола в России и за рубежом // Химия и технология топлив и масел. – 2008. – № 1. – С. 3–5.

---

<sup>1</sup> Пат. 2405838 (РФ). Способ осахаривания лигноцеллюлозного сырья / Е.Р. Давидов, П.С. Каныгин, О.А. Фракин, И.В. Черемнов.

Пат. 2475540 (РФ). Способ подготовки лигноцеллюлозного сырья для получения сахаров и установка для его осуществления / Е.А. Привалова, Е.С. Фомина, С.Н. Евстафьев.

2. Pedram Fatehi. Recent Advancements in various steps of ethanol, butanol, and isobutanol productions from woody materials // *Biotechnol. Prog.* – 2013. – Vol. 29, № 29. – P. 297–310.

3. Кузнецов Б.Н. Получение жидких топлив и их компонентов из древесной биомассы // *Российский химический журнал.* – 2003. – № 6. – С. 83–91.

4. Пути полной и экологически чистой переработки возобновляемого растительного сырья / В.В. Будаева, Р.Ю. Митрофанов, В.Н. Золотухин, М.В. Обрезкова, Е.А. Скиба, С.Г. Ильясова, Г.В. Сакович, Л.А. Опарина, О.В. Высоцкая, Н.А. Колыванов, Н.К. Гусарова, Б.А. Трофимова // *Ползуновский вестник.* – 2010. – № 4–1. – С. 158–167.

5. Кузнецов Б.Н., Кузнецова С.А., Тарабанько В.Е. Новые методы получения химических продуктов из биомассы деревьев сибирских пород // *Российский химический журнал.* – 2004. – № 3. – С. 4–20.

6. Трофимова Н.Н., Бабкин В.А. Изучение кислотного гидролиза полисахаридов древесины лиственницы для получения кристаллической глюкозы // *Химия растительного сырья.* – 2009. – № 3. – С. 31–37.

7. Технология гидролизных производств / В.И. Шарков, С.А. Сапотницкий, О.А. Дмитриева, И.Ф. Туманов. – М.: Лесная промышленность, 1973. – 408 с.

8. Синицин А.П., Гусаков А.В., Черноглазов В.М. Биоконверсия лигноцеллюлозных материалов. – М.: Изд-во Моск. гос. ун-та, 1995. – 224 с.

9. Изучение процесса подготовки лигноцеллюлозного материала для ферментативного гидролиза / М.В. Постникова, Е.В. Могрицкая, А.В. Виноградова, А.П. Павлова // *Вестник Пермского национального исследовательского политехнического университета. Химическая технология и биотехнология.* – 2011. – № 12. – С. 186–197.

10. Результаты гидролиза лигноцеллюлозных материалов различными ферментативными препаратами / В.В. Будаева, Е.А. Скиба, В.Н. Золотухин, Е.И. Макарова, Г.В. Сакович, Е.В. Удоратина, Т.П. Щербакова, А.В. Кучин // *Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: материалы V Всероссийской конференции.* – Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2012. – С. 53–55.

## References

1. Karpov S.A. Aktualnye aspekty proizvodstva toplivnogo etanola v Rossii i za rubezhom [Actual aspects of fuel ethanol production in Russia and abroad]. *Khimiya i tekhnologiya topliv i masel*, 2008, no. 1, pp. 3-5.

2. Pedram Fatehi. Recent Advancements in various steps of ethanol, butanol, and isobutanol productions from woody materials. *Biotechnol. Prog.*, 2013, vol. 29, no. 29, pp. 297-310.



3. Kuznetsov B.N. Poluchenie zhidkikh topliv i ikh komponentov iz drevesnoy biomassy [Receiving of liquid fuels and their components from wood biomass]. *Rossiyskiy khimicheskiy zhurnal*, 2003, no. 6, pp. 83-91.

4. Budaeva V.V., Mitrofanov R.Yu., Zolotukhin V.N., Obrezkova M.V., Skiba E.A., Ilyasova S.G., Sakovich G.V., Oparina L.A., Vysotskaya O.V., Kolyvanov N.A., Gusarova N.K., Trofimova B.A. Puti polnoy i ekologicheski chistoy pererabotki vozobnovlyaemogo rastitelnogo syrya [Ways of full and environmentally friendly processing of renewable vegetable raw materials]. *Polzunovskiy vestnik*, 2010, no. 4-1, pp. 158-167.

5. Kuznetsov B.N., Kuznetsova S.A., Tarabanko V.E. Novye metody polucheniya khimicheskikh produktov iz biomassy derevev sibirskikh porod [New methods of chemical products receiving from biomass of trees of the Siberian breeds]. *Rossiyskiy khimicheskiy zhurnal*, 2004, no. 3, pp. 4-20.

6. Trofimova N.N., Babkin V.A. Izuchenie kislotnogo gidroliza polisakhari-dov drevesiny listvennitsy dlya polucheniya kristallicheskoj glyukozy [Studying of acid hydrolysis of polysaccharides of a larch wood for crystal glucose receiving]. *Khimiya rastitelnogo syrya*, 2009, no. 3, pp. 31-37.

7. Sharkov V.I., Sapotnitskiy S.A., Dmitrieva O.A., Tumanov I.F. Tekhnologiya gidroliznykh proizvodstv [Technology of hydrolytic productions]. Moscow: Lesnaya promyshlennost, 1973. 408 p.

8. Sinitsin A.P., Gusakov A.V., Chernoglazov V.M. Biokonversiya lignotsellyuloznykh materialov [Bioconversion of lignocellulosic materials]. Moscow: Moskovskiy gosudarstvennyy universitet, 1995. 224 p.

9. Postnikova M.V., Mogritskaya E.V., Vinogradova A.V., Pavlova A.P. Izuchenie protsessa podgotovki lignotselljuloznogo materiala dlya fermentativnogo gidroliza [Studying of preparation process of lignocellulosic material for fermentative hydrolysis]. *Vestnik Permskogo natsionalnogo issledovatel'skogo politekhnicheskogo universiteta. Khimicheskaya tekhnologiya i biotekhnologiya*, 2011, no. 12, pp. 186-197.

10. Budaeva V.V., Skiba E.A., Zolotukhin V.N., Makarova E.I., Sakovich G.V., Udoratina E.V., Scherbakova T.P., Kuchin A.V. Rezultaty gidroliza lignocelljuloznykh materialov razlichnymi fermentativnymi preparatami [Results of hydrolysis of lignocellulosic materials by various fermentative preparations]. *Materialy V Vserossiyskoy konferentsii "Novye dostizheniya v khimii i khimicheskoy tekhnologii rastitelnogo syrya"*. Barnaul: Altayskiy universitet, 2012, pp. 53-55.

### **Об авторах**

**Гущина Валерия Александровна** (Пермь, Россия) – магистрант кафедры химии и биотехнологии Пермского национального исследовательского политехнического университета (614990, г. Пермь, Комсомольский пр., 29; e-mail: sgutshonka@mail.ru).

**Постникова Марина Витальевна** (Пермь, Россия) – кандидат технических наук, доцент кафедры химии и биотехнологии Пермского национального исследовательского политехнического университета (614990, г. Пермь, Комсомольский пр., 29; e-mail: postnikovamv@mail.ru).

### **About the authors**

**Valeriya A. Guschina** (Perm, Russian Federation) – master student, department of chemistry and biotechnology, Perm National Research Polytechnic University (Komsomolsky av., 29, Perm, 614990, Russian Federation; e-mail: sgutshonka@mail.ru).

**Marina V. Postnikova** (Perm, Russian Federation) – Ph.D. of technical sciences, associate professor, department of chemistry and biotechnology, Perm National Research Polytechnic University (Komsomolsky av., 29, Perm, 614990, Russian Federation; e-mail: postnikovamv@mail.ru).

Получено 15.09.2014