

**М.В. Постникова, Е.В. Могрицкая,
А.В. Виноградова, А.П. Павлова**

Пермский национальный исследовательский
политехнический университет

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ПОДГОТОВКИ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА

Исследован процесс делигнификации древесины. Изучены вопросы комплексной переработки древесного сырья в технологии получения биоэтанола и разработана принципиальная схема получения топливного этанола.

В последние годы тема производства автомобильного топлива из альтернативных видов сырья, в первую очередь из растительного, приобрела большую популярность. Актуальность ее больше не вызывает сомнения. Чтобы обойти проблему использования в качестве сырья для биоэтанола пищевых продуктов, в России, стране, обладающей мощными древесными ресурсами, целесообразно и перспективно применение в производстве биоэтанола древесной биомассы [1, 2]. В настоящее время технология производства этанола предусматривает использование микроорганизмов и технических ферментов.

Однако древесная биомасса имеет сложное строение и поликомпонентный состав, она устойчива к действию ферментов из-за кристаллической структуры целлюлозы, а также наличия в составе сырья лигнина и гемицеллюлоз, затрудняющих доступ ферментов к поверхности целлюлозных волокон. Поэтому для эффективного ферментативного гидролиза требуется подготовка лигноцеллюлозного материала, направленная на разрушение кристаллической структуры целлюлозы и полное или частичное удаление лигнина. Данная задача является одной из главных на пути разработки технологии получения биоэтанола. Результатом ферментативного гидролиза целлюлозы является получение гексозных сахаров, главным образом, глюкозы. Глюкоза – ценный продукт, используемый в промышленности, и его дешевое и экологически безопасное получение представляет значительный интерес. Воз-

можно использование глюкозы как в производстве биоэтанола, так и применение в пищевой, медицинской, текстильной промышленности. Одним из методов разделения компонентов растительной клетки является процесс делигнификации, предусматривающий получение целлюлозы.

Особый интерес с экологической точки зрения и эффективности вызывают органосольвентные способы делигнификации, которые дают возможность получить целлюлозу и утилизировать гемицеллюлозы древесины, а также выделять реакционно-способный лигнин, который может быть использован для получения ценных химических продуктов. Процессы органосольвентной варки характеризуются значительно меньшей продолжительностью, чем традиционные. Кроме того, органические растворители можно регенерировать путем отгонки при небольших затратах энергии. Рециклизация органических растворителей уменьшает объем щелоков, что снижает общие капитальные затраты, а отсутствие стоков делает органосольвентную технологию экологически чистой [3].

В основе окислительных способов лежит разрушение лигнина – основного компонента срединной пластинки – разнообразными окислителями, такими как кислород, пероксид водорода, надкислоты и др. К органосольвентным способам относится варка древесины с органическими растворителями: спиртами, фенолами, кислотами, эфирами, другими растворителями и их смесями.

Перспективные направления в развитии новых методов органосольвентной варки связаны с использованием катализаторов и окислителей, ускоряющих процесс удаления лигнина из древесины и повышающих содержание целлюлозы в конечном продукте. В качестве окислителей, способных делигнифицировать древесину (в том числе древесные отходы), часто используют пероксид водорода, являющийся экологически чистым реагентом. Процесс осуществляется обычно в растворах органических кислот или спиртов. В случае использования раствора уксусной кислоты и пероксида водорода результатом их взаимодействия является образование надуксусной кислоты. Известно, что надуксусная кислота ускоряет процессы окисления лигнина и обеспечивает более полную делигнификацию древесины, достигается достаточно высокий выход твердого волокнистого продукта с высоким содержанием целлюлозы [3, 4]. Органосольвентные способы получения технической целлюлозы в промышленности пока не используются.

Таким образом, при изучении процесса подготовки лигноцеллюлозного материала для ферментативного гидролиза нами для получения

из древесных опилок целлюлозного материала, пригодного для ферментативного гидролиза, проведены исследования делигнификации древесного сырья водными растворами уксусной кислоты, надуксусной кислотой и водными составами на основе уксусной кислоты и пероксида водорода.

В ряду органических растворителей несомненный интерес представляет уксусная кислота и ее водные растворы. Обладая слабокислыми свойствами, что обеспечивает деструкцию лигноцеллюлозных связей и эфирных связей лигнина, уксусная кислота в то же время является хорошим растворителем последнего [4].

Уксусная кислота – многотоннажный и сравнительно дешевый продукт основного органического синтеза и пиролиза древесины, а способы ее регенерации хорошо разработаны и широко применяются в промышленности.

Делигнификация древесины уксусной кислотой была изучена на опилках (фракция не более 0,5 мм) древесины ели и березы. С целью предварительной оценки влияния концентрации уксусной кислоты на ход процесса делигнификации проведены варки опилок ели и березы при температуре 130 °С в течение 180 мин при гидромодуле 1:10. В качестве выходных параметров принимали выход древесного остатка (т.о.) и содержание остаточного лигнина. Проведенные варки опилок ели и березы показали, что варками при температуре 130 °С в течение 3 ч можно получить древесный твердый остаток только типа полуцеллюлозы, а не целлюлозу. При этом для получения целлюлозы должна быть повышена объемная доля варочного реагента (уксусной кислоты) до 60–90 %.

Таким образом, исследование процесса делигнификации древесины водными растворами уксусной кислоты показало, что для получения целлюлозного полуфабриката, пригодного для ферментативного гидролиза, необходимо изменить условия делигнификации (варки) в направлении использования более высоких (чем 130 °С) температур или введения дополнительных реагентов. С этой целью было изучено влияние добавок серной кислоты на процесс уксуснокислой делигнификации древесины.

Известно, что при получении органорастворимых лигнинов каталитические количества минеральных кислот ускоряют процесс делигнификации [5].

В работе изучено влияние добавки серной кислоты на процесс уксуснокислой делигнификации еловой и березовой древесины. Были

выбраны условия: объемная доля уксусной кислоты составляла 75 %, температура 130 °С. Расход каталитических добавок серной кислоты изменялся от 0,5 до 4,0 % от массы опилок.

С увеличением количества прибавляемой серной кислоты от 0,5 до 4,0 % выход древесного остатка (т.о.) снижается на 18–20 % для ели и на 17–25 % для березы. При этом содержание остаточного лигнина уменьшается на 3–4 % для еловой древесины и на 7–9 % для лиственных пород.

Таким образом, установлено, что при варке древесины лиственных и хвойных пород водными растворами уксусной кислоты в области повышенных температур процесс делигнификации в присутствии каталитических количеств серной кислоты ускоряется. Оптимальным является расход катализатора 1–2 %. Каталитическое действие серной кислоты более эффективно при делигнификации лиственных пород древесины (березы).

Возможность катализа варочного процесса серной кислотой позволяет получить лигноцеллюлозный материал из березы с выходом 55–56 % и содержанием остаточного лигнина 4–5 % при расходе катализатора 1 % и выходом 50–52 % и содержанием лигнина 3,5–3,8 % при расходе катализатора 2 % при объемной доле уксусной кислоты в варочном растворе 75 %. Таким образом, можно видеть, что уксусная кислота с каталитическим количеством серной кислоты может быть использована для получения волокнистых полуфабрикатов только при больших объемных долях в варочных растворах. С целью снижения расходов уксусной кислоты на делигнификацию и получения волокнистого целлюлозного материала, пригодного для ферментативного гидролиза и получения осаждаемого субстрата и дальнейшего использования его для получения биоэтанола, изучена делигнификация березовой древесины (опилки) надуксусной кислотой.

Была приготовлена 10%-ная надуксусная кислота на основе уксусной кислоты и перекиси водорода при комнатной температуре. Обработка проводилась при $t = 75$ °С при различной продолжительности. По трем режимам получены образцы с выходом 63,7–75,1 % (табл. 1).

По данным режимам получены образцы волокнистых материалов с высоким содержанием холоцеллюлозы (85,2–91,4 %) и низким содержанием лигнина (0,5–1,5 %). Влияние продолжительности обработки на выход и состав целлюлозного продукта показано на рис. 1.

Таблица 1

Условия обработки и результаты делигнификации
древесины 10%-ной надуксусной кислотой

Номер образца	Условия обработки			Выход т.о., % к древесине	Содержание в т.о., %	
	Реагент	Гидро-модуль	Продолжительность, мин		Целлюлоза (ХЦ*)	Лигнин
1	10%-ная надуксусная кислота, 75 °С	1:25	30	75,1	85,2	1,5
2		1:25	60	67,0	90,0	1,1
3		1:25	90	63,7	91,4	0,5

* ХЦ – холоцеллюлоза (целлюлоза + трудногидролизуемые гемицеллюлозы).

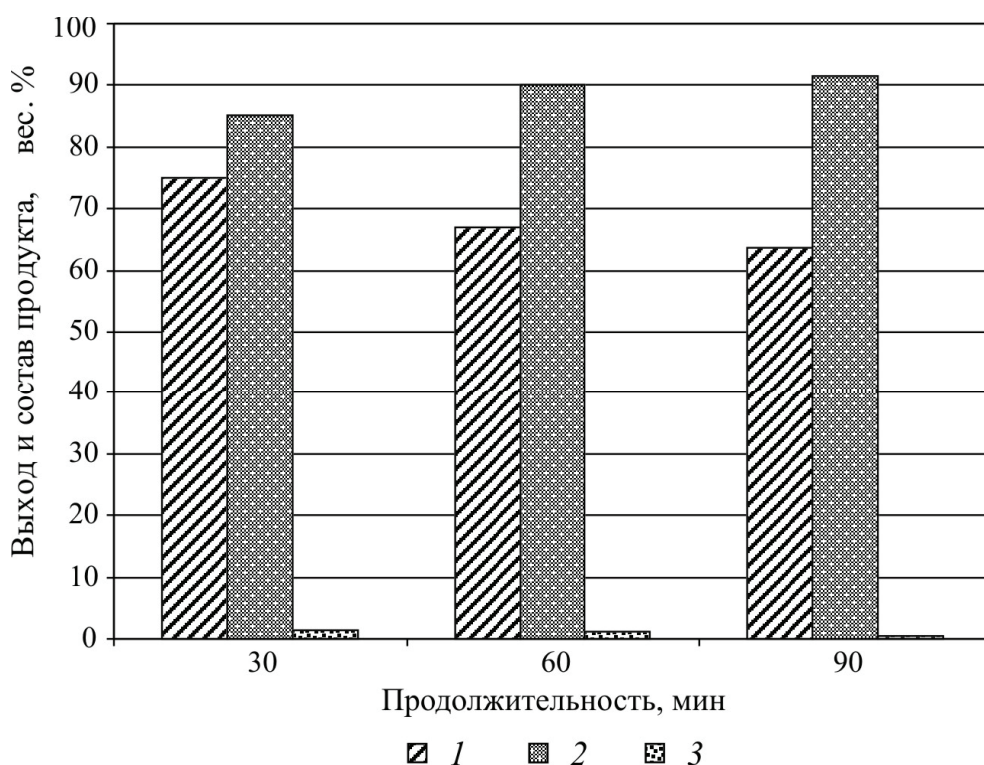


Рис. 1. Влияние продолжительности обработки древесины 10%-ной надуксусной кислотой на выход и состав целлюлозного продукта при $t = 75$ °С и гидромодуле 1:25. 1 – выход т.о.; 2 – содержание целлюлозы; 3 – содержание лигнина

Результаты эксперимента подтвердили, что применение 10%-ной надуксусной кислоты позволяет выделить почти всю углеводную часть, растворяя весь лигнин в исходном образце.

Таким образом, при продолжительности обработки 1,5 ч получен образец (т.о.) с высоким содержанием целлюлозы (91,4 %) и незначительным содержанием лигнина (0,5 %), что показывает эффективность

метода обработки 10%-ной надуксусной кислотой даже при небольшой продолжительности при температуре делигнификации 75 °С. Однако при данном способе используются большие расходы реагентов надуксусной кислоты.

С целью снижения расходов реагентов была проведена делигнификация водными составами на основе уксусной кислоты, пероксида водорода, воды и серной кислоты. Обработку проводили при более высокой температуре (98–100 °С) и при более низком гидромодуле (10 и 20). Состав для обработки: 25 % CH₃COOH; 6,4 % H₂O₂; 2 % H₂SO₄. При таком составе получают перекисные комплексы, которые ускоряют делигнификацию (удаление лигнина и растворение лигнина и гемицеллюлоз) древесного сырья. Обработка изучена при разной продолжительности (60–300 мин), результаты этих обработок приведены в табл. 2 и на рис. 2.

Таблица 2

Условия обработки и результаты делигнификации древесины органосольвентным раствором на основе уксусной кислоты и пероксида водорода

Номер образца	Условия обработки			Выход т.о., % к древесине	Содержание в т.о., %	
	Реагент	Гидромодуль	Продолжительность, мин		Целлюлоза (ХЦ)	Лигнин
4	25 % CH ₃ COOH; 6,4 % H ₂ O ₂ ; H ₂ O; 2 % H ₂ SO ₄ ; 98–100 °С	1:10	60	73,2	81,0	19,0
5		1:10	90	72,1	82,2	17,2
6		1:10	120	70,3	82,8	16,8
7		1:20	120	70,5	82,5	17,5
8		1:20	180	65,1	87,9	12,1
9		1:20	240	52,4	93,0	7,0
10		1:20	300	48,9	96,2	3,8

При продолжительности 60–120 мин получают образцы с высоким содержанием лигнина (16,8 %), т.е. при данных условиях делигнификация прошла недостаточно. Увеличение продолжительности до 180–300 мин позволило получить волокнистые материалы с выходом 48,9–65,1 % с высоким содержанием целлюлозы 87,9–96,2 % и с более низким содержанием лигнина 3,8–12,1 %. Десятый образец является наиболее пригодным в качестве субстрата для ферментативного гидролиза.

Таким образом, обработка березовых опилок органосольвентной смесью на основе уксусной кислоты и перекиси водорода с добавкой в качестве катализатора серной кислоты позволяет получить волокнистый материал с высоким содержанием целлюлозы (96,2 %) и низким содержанием лигнина (3,8 %).

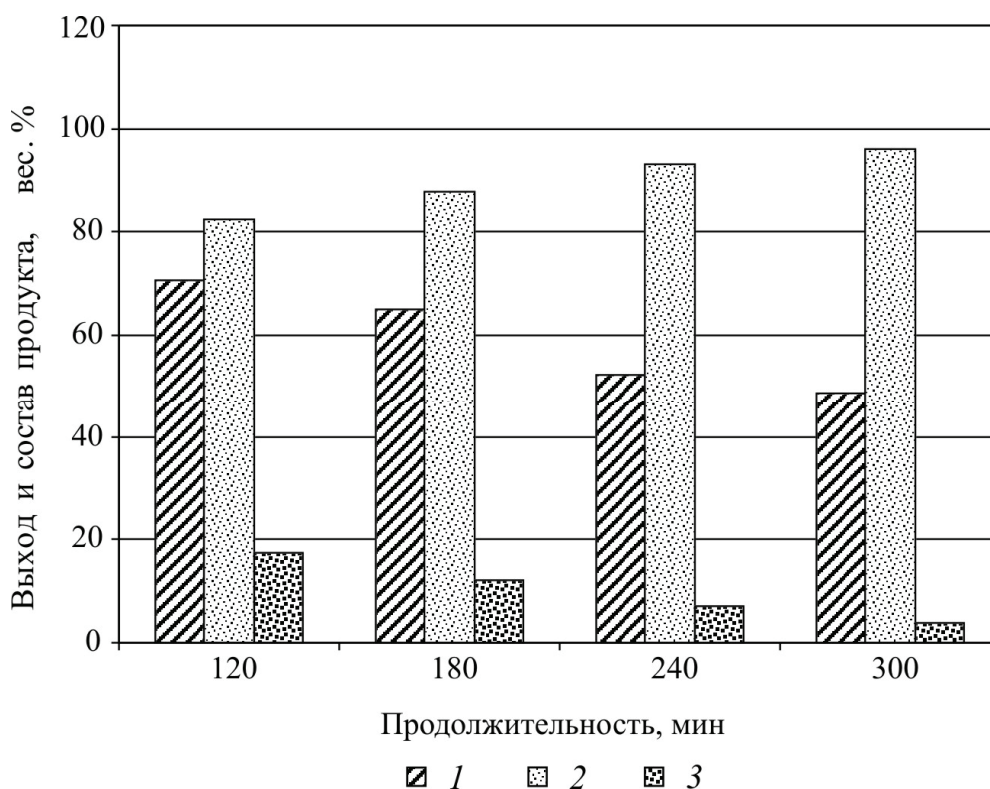


Рис. 2. Влияние продолжительности обработки древесины водным составом на основе CH_3COOH и H_2O_2 на выход и состав целлюлозного продукта при $t = 98 \dots 100$ °С при гидромодуле 1:20. 1 – выход т.о.; 2 – содержание целлюлозы; 3 – содержание лигнина

С целью интенсификации процесса перед делигнификацией был проведен водный предгидролиз, который позволяет отделить гемицеллюлозные сахара на первом этапе обработки, тем более для лиственной древесины характерно высокое содержание гемицеллюлоз. Такая задача была поставлена с целью комплексной утилизации гемицеллюлоз, а также с целью удаления пентозных сахаров, сбраживание которых микроорганизмами на данный момент находится в стадии разработки и до конца не изучено. Водный предгидролиз позволит выделить их. Водный предгидролиз проводился при различной температуре (85 и 100 °С) и гидромодуле 10 и 20. Результаты изучения водного предгидролиза березовой древесины приведены в табл. 3. Выбран водный предгидролиз, чтобы совместить его с варкой (делигнификацией) в одном промышленном варочном аппарате типа Камюр.

Экспериментальные данные показывают, что при продолжительности 60–300 мин получается гидролизат с содержанием РВ 1,1–2,4 %, после инверсии которых содержание РВ увеличивается до 2,8–3,9 %, т.е. при водном гидролизе до 300 мин не все гемицеллюлозные сахара

Таблица 3

Результаты изучения водного предгидролиза

Номер образца	Условия предгидролиза		Выход т.о. лигноцеллюлозы, % к древесине	Содержание РВ в гидролизате, %	
	Продолжительность, мин	Гидро-модуль		без инверсии	с инверсией*
1	60	1:10	95,0	1,1	2,8
2	180	1:10	92,8	1,3	3,0
3	180	1:20	90,3	1,6	3,2
4	240	1:20	87,4	1,9	3,5
5	300	1:20	85,3	2,4	3,9
6	180	1:20	87,7	2,0	3,6

* Условия инверсии: 140 °С; продолжительность 2,5 ч; H₂SO₄ (2,5 %), гидромодуль 1:10.

Температура предгидролиза 85–90 °С (образцы 1–5) и 100 °С (образец 6).

присутствуют в мономерной форме. Таким образом, проведение водного предгидролиза опилок позволяет отделить гемицеллюлозные сахара на начальной стадии обработки лигноцеллюлозного материала. Для шестого образца проведен водный предгидролиз продолжительностью 3 ч при $t = 100$ °С. Этот образец направлялся на последующую делигнификацию. Результаты делигнификации березовой древесины органосольвентным раствором на основе уксусной кислоты и перекиси водорода с предварительным водным гидролизом приведены в табл. 4 и на рис. 3.

Таблица 4

Условия обработки и результаты делигнификации древесины органосольвентным раствором на основе уксусной кислоты и пероксида водорода с предгидролизом*

Номер образца	Условия обработки			Выход целлюлозного материала, % к древесине	Содержание в т.о., %	
	Реагент	Гидро-модуль	Продолжительность, мин		Целлюлоза (ХЦ)	Лигнин
1	25 % CH ₃ COOH;	1:20	120	48,3	85,2	14,8
2	6,4 % H ₂ O ₂ ; H ₂ O;		180	48,4	86,8	11,2
3	2 % H ₂ SO ₄ ;		240	45,4	93,5	6,5
4	98–100 °С		300	42,8	96,5	3,5
5	25 % CH ₃ COOH; 6,4 % H ₂ O ₂ ; H ₂ O; 2 % H ₂ SO ₄ ; 130 °С	1:10	240	41,9	97,4	2,6

*Условия предгидролиза: реагент – вода, гидромодуль 1:20, продолжительность 3 ч.

Делигнификация образца была изучена при гидромодулях 1:20 и 1:10 и различной продолжительности (2–5 ч). В качестве делигнифицирующего агента использовался состав на основе 25 % CH_3COOH ; 6,4 % H_2O_2 ; 2 % H_2SO_4 .

По данным табл. 4 и рис. 3 можно видеть, что проведение делигнификации березы раствором уксусной кислоты и перекиси водорода после предгидролиза позволяет получить при продолжительности делигнификации 300 мин волокнистый материал с содержанием целлюлозы 96,5 % и содержанием лигнина 3,5 %.

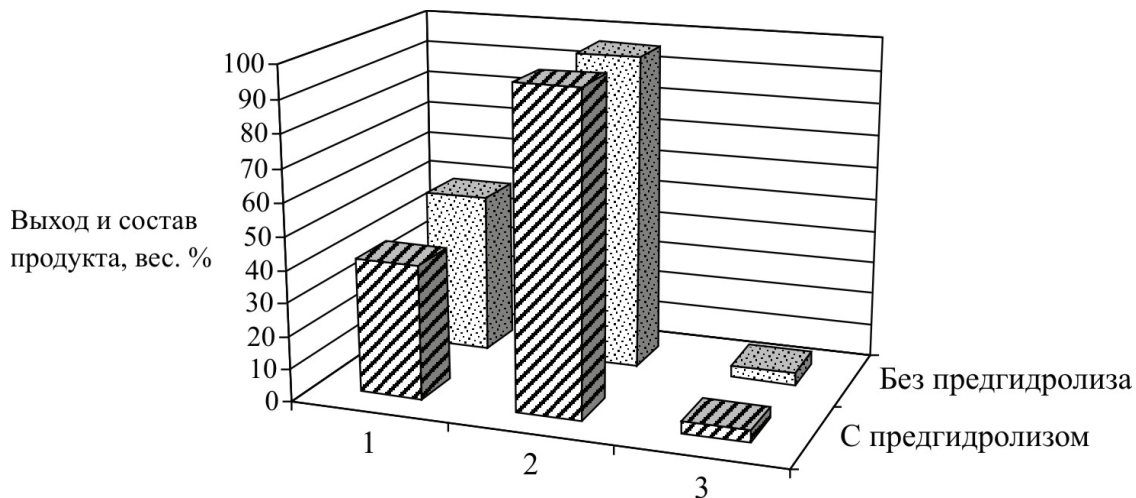


Рис. 3. Влияние водного предгидролиза на выход и состав целлюлозного продукта при гидромодуле 1:20 и продолжительности 300 мин.

1 – выход т.о.; 2 – содержание целлюлозы; 3 – содержание лигнина

При сравнении образцов с предгидролизом и без предгидролиза (образец 4 в табл. 4 и образец 10 в табл. 2, см. рис. 3) можно отметить, что предварительный гидролиз позволяет отделить гемицеллюлозные сахара, но при этом снижается выход целлюлозного материала до 42,8 % (от абсолютно сухой древесины), хотя в нем высокое содержание целлюлозы (96,5 %, образец 4) при низком содержании лигнина.

Таким образом, водный предгидролиз уместно использовать с целью отделения гемицеллюлозных сахаров, а на выход целлюлозы и лигнина метод оказывает незначительное влияние.

При повышении температуры делигнификации до 130 °С и снижении модуля варки до 10 при продолжительности 240 мин получен материал с более низким содержанием лигнина (образец 5, табл. 4) при выходе 41,9 %, т.е. при снижении модуля варки необходимо повысить температуру варки (делигнификации).

С целью сокращения расходов химикатов на делигнификацию (уксусной кислоты, пероксида водорода, серной кислоты) были проведены варки с повторным использованием варочного раствора. Результаты приведены в табл. 5.

Таблица 5

Результаты варок с повторным использованием варочного раствора

Номер образца	Реагент	Объем раствора, %	Продолжительность, мин	Гидро-модуль	Выход т.о., % к древесине	Содержание в т.о., %	
						Целлюлоза	Лигнин
1	25 % CH ₃ COOH;	20	300	1:20	42,2	95,7	4,3
2	6,4 % H ₂ O ₂ ; H ₂ O;	40	240		43,5	94,3	5,8
3	2 % H ₂ SO ₄ ;	60	240		44,2	93,8	6,2
4	98–100 °С	80	300		48,4	87,3	10,8
5	25 % CH ₃ COOH;	20	300	1:10	41,6	96,3	3,2
6	6,4 % H ₂ O ₂ ; H ₂ O;	40	240		42,0	97,9	4,1
7	2 % H ₂ SO ₄ ;	60	240		42,5	96,8	5,2
8	130 °С	80	300		43,2	95,7	4,9

Данные варки березовой древесины проводились на предварительно гидролизованной древесине. Они выполнялись на варочных растворах с повторным использованием варочного раствора от первой варки. Расход повторного раствора на приготовление варочного раствора составлял от 20 до 80 %. При этом варки проводились при температуре 98–100 °С, гидромодуле 1:20 и при температуре 130 °С, гидромодуле 1:10.

При сравнении полученных целлюлозных материалов можно видеть, что введение отработанного раствора (особенно в количестве 80 %) повышает содержание лигнина в материале. Более низкое содержание лигнина отмечено в образцах, полученных при делигнификации при температуре 130 °С. Из этих данных видно, что применение отработанного раствора в количестве 20–60 % от варочного раствора не ухудшает значительно количество получаемого волокнистого целлюлозного материала. Так, при делигнификации уксусно-перекисным раствором были получены образцы целлюлозных материалов с выходом 41,6–43,2 %, содержание целлюлозы в которых 95,7–96,3 %, а лигнина 3,2–5,2 %.

Если раствор после варки возвращать на приготовление варочного раствора, это позволит снизить расход химикатов на варку. Проведенные варки (см. табл. 5) с применением 20–60 % отработанного раствора показали рентабельность применения такого количества отрабо-

танного раствора без значительного ухудшения качества получаемого целлюлозного материала.

Один из полученных образцов (см. табл. 5, образец 4) целлюлозного материала был использован в качестве субстрата для ферментативного гидролиза. Условия ферментативного гидролиза: рН 4,7, концентрация субстрата 10 г/л, 0,1 М ацетатный буфер. Для эксперимента использовался один из ферментных препаратов, содержащий протеазу, лигазу, амилазу, гемицеллюлазу. О ферментной гидролизуемости полученного нами субстрата на основе березовых опилок судили по накоплению редуцирующих сахаров в гидролизате (табл. 6).

Таблица 6

Накопление сахаров (РВ) в гидролизате
при ферментативном гидролизе

Субстрат	Концентрация РВ, мг/см ³ ($\cdot 10^{-2}$)			
	1 сут	2 сут	3 сут	4 сут
Целлюлозный волокнистый материал (см. табл. 5, образец 4)	2,5	3,2	6,1	10,2

Наблюдение за ферментативным гидролизом субстрата показало, что накопление сахаров в гидролизате происходило в незначительном количестве. Используемый ферментный препарат не содержал ферментов целлюлазного типа, необходимых для глубокого ферментного гидролиза целлюлозы, и этим можно объяснить незначительное накопление сахаров в гидролизате [6]. Однако применение даже ферментного препарата с низким содержанием целлюлаз позволило судить о пригодности полученного субстрата на основе опилок березовой древесины, обработанных органосольвентным раствором, к ферментативному гидролизу.

Данным исследованием показана возможность получения целлюлозы на основе древесных опилок для ферментативного гидролиза и комплексного использования всех компонентов древесины.

Таким образом, применение предобработки лигноцеллюлозного (древесного) сырья составом на основе уксусной кислоты и перекиси водорода позволяет получить волокнистый полуфабрикат с выходом 48,9 %, с содержанием целлюлозы в нем 96,2 % и содержанием лигнина 3,8 % для ферментативного гидролиза, а в водной фазе (после осаждения лигнина) можно получить гемицеллюлозные сахара, которые можно использовать для микробиологической переработки. Этим методом можно выделить и лигнины, которые можно использовать для перера-

ботки на химические продукты. С целью снижения расходов химикатов (перекиси водорода, уксусной кислоты) необходимо применять возврат растворов на приготовление варочного раствора. Применение водного предгидролиза перед варкой (делигнификацией) древесного сырья позволяет отделять пентозные сахара, которые можно направить на микробиологическую переработку. Ферментативный гидролиз подготовленного древесного сырья позволит выделить целлюлозные сахара для дальнейшего сбраживания на биоэтанол. На основании данных исследований нами разработана принципиальная схема получения топливного этанола из древесных отходов.

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.
2. Дебабов В.Г. Биотопливо // Биотехнология. – 2008. – № 1. – С. 3–14.
3. Кузнецов Б.Н. Получение жидких топлив и их компонентов из древесной биомассы // Рос. хим. журн. – 2003. – № 6. – С. 83–91.
4. Пен Р.З., Пен В.Р. Теоретические основы делигнификации. – Красноярск, 2007. – 348 с.
5. Богомоллов Б.Д. Химия древесины и основы химии высокомолекулярных соединений. – М., 1973. – 400 с.
6. Синицин А.П., Ковалев С.Р. Сравнительное изучение влияния различных видов предобработки на скорость ферментативного гидролиза природных целлюлозосодержащих материалов // Химия древесины. – 1984. – № 5. – С. 60–71.

Получено 2.06.2011