

СРАВНЕНИЕ ЦЕЛЛЮЛОЗ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МИСКАНТУСА, С ХЛОПКОВОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗОЙ МЕТОДОМ ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОСКОПИИ

80, 106-107, 119-120, 161-164, 200-203, 229, 250-254.

11. Будаева В.В., Гисматулина Ю.А., Золотухин В.Н., Сакович Г.В., Вепрев С.Г., Шумный В.К. Показатели качества целлюлозы, полученной азотнокислым способом в лабораторных и опытно-промышленных условиях из мискантуса // Ползуновский вестник. – 2013. – № 3. – С. 162-168.

12. Гисматулина Ю.А., Будаева В.В., Золотухин В.Н. Получение целлюлозы из мискантуса и соломы льна-межеумка азотнокислым и комбинированным способами // Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности: материалы 6-й Всеросс. науч.-практ. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых с межд. участием, г. Бийск, 24-26 мая 2012. – г. Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2013. – С. 270-274.

13. Шахмина Е.В. Адаптация нового целлюлозного сырья к технологиям химической промышленности // Современные проблемы технической химии: материалы докладов Всерос. научно-техн. конф. – Казань: КГТУ, 2003. – С. 231-232.

14. Земнухова Л.А., Полякова Н.В., Федорищева Г.А., Цой Е.А. Элементный состав образцов аморфного кремнезема биогенного происхождения // Химия растительного сырья. – 2013. – № 1. – С. 209-214.

15. Новый справочник химика и технолога. Сырье и продукты промышленности органических и неорганических веществ. Ч. II. – Спб.: АНО НПО «Профессионал», 2005, 2007. – 1142 с.

16. Жбанков Р.Г. Инфракрасные спектры и структура углеводов. – Минск: Наука и техника, 1972. – 456 с.

УДК 661.725.031.74: 612.015.161

ПРЕВРАЩЕНИЕ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО МАТЕРИАЛА ИЗ ПЛОДОВЫХ ОБОЛОЧЕК ОВСА В БИОЭТАНОЛ

Байбакова О.В., Скиба Е.А.

*В статье приведены результаты получения биоэтанола на ферментативных гидролизатах лигноцеллюлозного материала плодовых оболочек овса с помощью штамма *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ У-1693. Показана зависимость выхода и качества биоэтанола от последовательности проведения технологических стадий осахаривания и сбраживания.*

Ключевые биоэтанол, слова: плодовые оболочки овса, лигноцеллюлозный материал, ферментативный гидролизат

ВВЕДЕНИЕ

Промышленное развитие сопровождается ростом потребности в экологически устойчивых источниках энергии. В этих условиях биоэтанол расценивается как привлекательный, устойчивый энергетический источник для топливных транспортных средств. Однако для получения биоэтанола необходимы эффективные процессы производства и дешевые субстраты [1].

Использование для производства биотоплива более дешевого сырья, такого как лигноцеллюлозный материал, могло бы сделать биоэтанол более конкурентоспособным по отношению к ископаемому топливу. Выход биоэтанола из нативного растительного сырья относительно низкий в силу прочности матрицы растения, построенной из трех полимеров: лигнина, гемицеллюлозы и целлюлозы, кроме того, целлюлоза в разных ботанических видах имеет разную кристалличность,

на прочность сырья влияют и другие факторы [2].

Химическая предобработка сырья необходима для разрушения взаимосвязей между полимерами. Цель предобработки – изменение физических особенностей и химического состава/структуры гидролизуемой части сырья, что делает целлюлозу более доступной для ферментативного гидролиза и превращения её в раствор сахаров. Таким образом, предобработка служит важным этапом устранения прочности сырья и повышения выхода сбраживаемых сахаров на этапе ферментативного разрушения [2].

Традиционно плодовые оболочки овса (ПОО) позиционируются как источник пентозанов (состоят из них на треть) для производства фурфурола. С ростом производства овсяной крупы отходы переработки зерна овса критически увеличиваются и самым распространённым способом утилизации является сжигание.

В Казанском технологическом университете ведутся работы по изучению возможности использования ПОО зерен овса для удаления ионов тяжёлых металлов из модельных растворов [3]. В ИПХЭТ СО РАН ПОО рассматриваются как перспективное сырьё для получения растворов сахаров методом ферментативного гидролиза [4] с последующей микробиологической конверсией в ценные продукты (в том числе в биоэтанол), а также в качестве сырья для выделения целлюлозы с последующей трансформацией её в эфиры [5, 6].

На опытном производстве ИПХЭТ СО РАН лигноцеллюлозный материал (ЛЦМ) получают в одну стадию обработкой ПОО разбавленным раствором азотной кислоты при температуре 90-96 °С. Под действием азотной кислоты происходит не только разрушение образованной полимерами матрицы и частичный гидролиз гемицеллюлоз, но и окислительное нитрование лигнина с последующим его гидролизом в низкомолекулярные продукты [7].

Целью данной работы являлось превращение ЛЦМ ПОО в раствор сахаров методом ферментативного гидролиза и спиртовое брожение гидролизата, а также изучение влияния последовательности технологических стадий осахаривания и брожения на процесс биосинтеза этанола.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Характеристики ЛЦМ ПОО представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристики ЛЦМ ПОО

Характеристики субстрата	М.д., % в пересчете на а.с.с.
Целлюлоза по Кюршнеру	79,2
Зола	8,2
Пентозаны	9,2
Лигнин	13,7

В работе использовали ферментные препараты «Целлолюкс-А» (производитель ПО «Сиббиофарм», Бердск) и «Брюзайм ВГХ» (производитель «Polfa Tarchomin Pharmaceutical Works S.A.», Польша, для компании «Diacid International Inc.», США). Препарат «Целлолюкс-А» позиционируется на рынке как целлюлаза для расщепления некрахмалистых полисахаридов, «Брюзайм ВГХ» – как гемицеллюлаза.

Технологические стадии осахаривания и сбраживания проводили последовательно и одновременно. Для проведения процессов в

колбу Эрленмейера емкостью 1000 мл помещали навеску субстрата и дистиллированную воду. Концентрация субстрата составила 90 г/л.

При последовательном процессе осахаривания-сбраживания (ППОС) ферментализ проводили в водной среде при pH 4,7 (корректировку осуществляли ортофосфорной кислотой) и при непрерывном перемешивании с частотой 150 мин⁻¹. Температура гидролиза составила 46 °С, продолжительность – 72 ч. Мультиэнзимную композицию вносили следующим образом: «Целлолюкс – А» в расчете 0,04 г фермента на 1 г субстрата и «Брюзайм ВГХ» в расчете 0,2 г фермента на 1 г субстрата. Полученный ферментативный гидролизат стерилизовали методом автоклавирования при 0,5 атм в течение 40 мин.

При одновременном процессе осахаривания-сбраживания (ОПОС) ферментализ проводился в приведённых выше условиях, но его продолжительность составила 24 ч, после этого среду охлаждали до 28 °С, внесли засевные дрожжи и в течение трех последующих суток проводили спиртовое брожение, совмещенное с осахариванием.

Сбраживание осуществляли с использованием дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693 Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (г. Москва). Доза инокулята составила 10 %. Дрожжи находились в экспоненциальной фазе развития и имели следующие характеристики для последовательного процесса: общее количество – 141,5 млн. КОЕ/мл, из них почкующихся – 27,6 %; для одновременного процесса: общее количество – 134 млн. КОЕ/мл, из них почкующихся – 26,1 %. Брожение проводили в анаэробных условиях при 28 °С в течение трех суток.

Концентрацию сахаров в пересчете на глюкозу определяли спектрофотометрически с помощью реактива на основе 3,5-динитросалициловой кислоты (спектрофотометр «UNICO» UV-2804, США) в пересчёте на глюкозу. Выход редуцирующих веществ (РВ) рассчитан как отношение массы РВ к массе субстрата, с учетом коэффициента, связанного с присоединением молекулы воды к ангидроглюкозным остаткам соответствующих мономерных звеньев в результате ферментативного гидролиза.

Общую численность дрожжей определяли с использованием камеры Горяева. Морфологические характеристики дрожжей (количество почкующихся, упитанных и мёртвых клеток) определяли согласно методикам, принятым в спиртовой отрасли.

ПРЕВРАЩЕНИЕ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО МАТЕРИАЛА ИЗ ПЛОДОВЫХ ОБОЛОЧЕК ОВСА В БИОЭТАНОЛ

Активную кислотность измеряли потенциометрически (рН-метр Сhесer-1). Крепость бражек (объемная доля спирта) определяли ареометром для спирта в дистилляте, полученном после предварительной перегонки спирта из бражки, в соответствии с методикой ГОСТ Р 51135-2003 [8].

По крепости полученных бражек и концентрации РВ в исходной среде рассчитывали выход биоэтанола. Теоретическая концентрация этанола рассчитана по стехиометрическому уравнению брожения, выход биоэтанола – как отношение экспериментальной концентрации этанола к теоретической. Полученные образцы биоэтанола концентрировали методом простой перегонки, дополнительной очистки не проводили. Анализ этанола выполнен методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) по ГОСТ Р 51786-2001 [9] на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором «Кристалл 2000М» фирмы «СКБ Хроматэк».

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Зависимости концентрации РВ от продолжительности процессов осахаривания-спиртового брожения, проводимых последовательно и одновременно, отражены на рисунке 1.

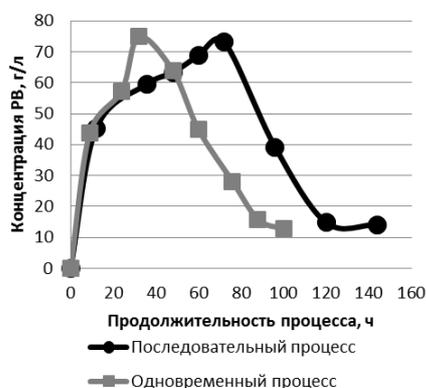


Рисунок 1 – Зависимости концентрации РВ от продолжительности процесса при одновременном и последовательном осахаривании-сбраживании.

Полученные результаты показали, что при ППОС максимальное накопление РВ происходит через 72 ч ферментации и составляет 73,3 г/л, а при ОПОС – через 32 ч и составляет 74,8 г/л. Это можно объяснить тем, что при добавлении дрожжей в ОПОС через 24 ч от начала процесса РВ начинают расходоваться на синтез этанола, то есть они отводятся из системы и таким образом равновесие суммарной ферментативной реакции

гидролиза целлюлозы постоянно смещается в сторону образования продуктов реакции. Этим достигается интенсификация процесса осахаривания.

Главным показателем эффективности брожения является выход этанола. Результаты спиртового брожения ферментативного водного гидролизата ЛЦМ плодовых оболочек овса представлены в таблице 2.

При ППОС этанол синтезируется с выходом 59,0 % от РВ, выход этанола из 1 т ПОО составляет 16,2 дал. При ОПОС этанол синтезируется с выходом 72,2 % от РВ, выход этанола из 1 т ПОО составляет 20,2 дал. Сравнение синтеза этанола, полученного при проведении процесса осахаривания-спиртового брожения последовательно и одновременно, показывает, что при одновременном процессе выход этанола увеличивается в 1,2 раза по сравнению с последовательным процессом.

Кроме того, при ОПОС исключается стадия фильтрования ферментативного гидролизата и в 1,5 раза сокращается продолжительность технологических стадий: для ППОС требуется 6 суток, для ОПОС – 4 суток. Остаточная концентрация редуцирующих веществ в бражке ниже при ОПОС на 1,4 г/л, чем при ППОС, что также указывает на повышение эффективности процесса.

Таблица 2 – Показатели брожения при одновременном и последовательном осахаривании-сбраживании

Показатель	ППОС	ОПОС
Концентрация субстрата (ЛЦМ ПОО), г/л	90,0	90,0
Максимальная концентрация РВ на стадии ферментативного гидролиза, г/л	73,3	74,8
Крепость бражки, об. %	2,8	3,5
Остаточная концентрация РВ в бражке, г/л	14,1	12,7
Выход этанола, % от теоретического	59,0	72,2
Выход этанола из 1 т сырья (ПОО), дал	16,2	20,2

Полученные данные можно объяснить более благоприятными биохимическими условиями для жизнедеятельности дрожжей при ОПОС. Морфофизиологические характеристики дрожжей приведены в таблице 3. При ППОС дрожжи помещаются в среду, где концентрация РВ составляет 73 г/л, часть субстрата расходуется на метаболизм поддержания жизнедеятельности дрожжей, часть – на синтез биомассы, основное количество – на синтез биоэтанола. Высокая начальная

концентрация субстрата стимулирует размножение дрожжей – доля почкующихся клеток в первые сутки составляет 41,6 %, затем она снижается. О благоприятных условиях свидетельствует и довольно высокая доля упитанных клеток (45 % через сутки брожения). Концентрация РВ снижается в процессе биосинтеза, при этом возникает конкуренция за питание. Кроме того, накапливаются побочные продукты метаболизма.

Таблица 3 – Морфофизиологические характеристики дрожжей при одновременном и последовательном осахаривании-сбраживании

Продолжительность брожения, сутки	Количество дрожжей			
	всего, млн. КОЕ /мл	почкующихся, %	упитанных, %	мертвых, %
ППОС				
1	50,5	41,6	45	1
2	56,0	25,0	40	2
3	74,5	21,3	35	2
ОПОС				
1	36,0	27,7	30	2
2	52,0	25,0	35	2
3	52,5	20,1	40	3

При ОПОС начальная концентрация РВ на момент внесения дрожжей ниже – 44 г/л, поэтому доли почкующихся и упитанных клеток в ОПОС ниже, чем при ППОС в первые сутки брожения. В процессе брожения клетки дрожжей непрерывно подпитываются РВ, образующимися в процессе ферментации целлюлозы. Таким образом, сахара не расходуются на синтез биомассы и повышается эффективность синтеза биоэтанола, а также позднее начинается конкуренция клеток за питание.

Косвенно предположение о благоприятных биохимических условиях при ОПОС подтверждается примесным составом опытных образцов этанола. Результаты анализа, выполненного методом ГЖХ, представлены в таблице 4. Содержание всех видов примесей ниже в образце биоэтанола, полученном при ОПОС.

Сравнивая полученное содержание примесей в опытных образцах с требованиями к спирту технического этилового [10], можно отметить низкие концентрации эфиров в опытных образцах: 90 мг/дм³ и 65 мг/дм³ для ППОС и ОПОС соответственно против 180 мг/дм³, регламентированных для спирта этилового технического марки Б. Также получены крайне низкие концентрации метанола: 0,005 % и 0,002 %, что в 20 раз ниже, чем регламентированные 0,1 %.

Таблица 4 – Содержание примесей в опытных образцах биоэтанола, полученных при одновременном и последовательном осахаривании-сбраживании

Показатель	ППОС	ОПОС
Массовая концентрация альдегидов, в пересчёте на безводный спирт, мг/дм ³	3800	2600
Массовая концентрация эфиров, в пересчёте на безводный спирт, мг/дм ³	90	65
Массовая концентрация сивушного масла, в пересчёте на безводный спирт, мг/дм ³	1700	1200
Массовая доля метанола в пересчёте на безводный спирт, об. %	0,005	0,002

По концентрации сивушного масла образец, полученный при ОПОС, приближается к требованиям ГОСТ (1200 мг/дм³ против 1000 мг/дм³). В опытных образцах довольно высоко содержание альдегидов: требования ГОСТ превышены в 10 раз.

Поскольку опытные образцы спирта не подвергались никакой очистке, приведенные в таблице 4 результаты анализа примесей спиртов, полученных из ЛЦМ ПОО, дают основания предположить, что после ректификации данных спиртов будет получен этанол высокого качества.

ВЫВОДЫ

Показано, что проведение одновременного процесса осахаривания-спиртового брожения ЛЦМ ПОО позволяет сократить продолжительность стадий в 1,5 раза и исключить фильтрацию промежуточного продукта – ферментативного гидролизата.

Установлено что при одновременном осуществлении процессов осахаривания-брожения выход биоэтанола увеличивается в 1,2 раза по сравнению с последовательным процессом.

Установлено, что спирты, полученные из ЛЦМ ПОО, характеризуются низким содержанием эфирной фракции и метанола.

Работа выполнена при поддержке совместного интеграционного проекта № 11 фундаментальных исследований ИПХЭТ СО РАН и ИХ Коми НЦ УрО РАН «Химическая, механохимическая и ферментативная деструкция целлюлозосодержащего сырья для получения ценных продуктов»

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Zaldivar S., Nielsen J., Olsson L. Fuel ethanol production from lignocellulose: a challenge for meta-

ПРЕВРАЩЕНИЕ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО МАТЕРИАЛА ИЗ ПЛОДОВЫХ ОБОЛОЧЕК ОВСА В БИОЭТАНОЛ

- bolic engineering and process integration // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2001. V. 56. P. 17-34.
2. F. Hu, A. Ragauskas Pretreatment and Lignocellulosic Chemistry. // Bioenerg. Res. 2012. No 5. P. 1043-1066.
 3. Степанова С.В., Шайхиев И.Г. Удаление ионов цинка из модельных растворов плодовыми оболочками зерновых культур // Вестник Казанского технологического университета. – 2014. – Т. 17. – № 1. – С. 166-168.
 4. Будаева В.В., Митрофанов Р.Ю., Золотухин В.Н. Исследование ферментативного гидролиза отходов переработки злаков // Ползуновский вестник. – 2008. – № 3. – С. 322-327.
 5. Будаева В.В., Обрезкова М.В., Томильцева Н.А., Сакович Г.В. Карбоксиметилирование плодовых оболочек овса // Строительство нефтяных и газовых скважин на суше и на море. 2011. № 9. С. 41-45.
 6. Якушева А.А. Свойства нитроцеллюлоз из хлопка и плодовых оболочек овса // Ползуновский вестник. – 2013. – № 3. – С. 202-206.
 7. Никитин Н.И. Химия древесины и целлюлозы. – Изд-во АН СССР, М.-Л., 1962, С. 457-458.
 8. ГОСТ Р 51135-2003. Изделия ликероводочные. Правила приемки и методы анализа. Технические требования. – Введ. 1998-03-02. – М.: ИУС, 2003. – 116 с.
 9. ГОСТ Р 51786-2001. Водка и спирт этиловый из пищевого сырья. Газохроматографический метод определения подлинности. – М.: Изд-во стандартов, 2001. – 8 с.
 10. ГОСТ 17299-78. Спирт этиловый технический. Технические условия. – М.: Изд-во стандартов, 1978. – 4 с.

ОСНОВНЫЕ ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ И МЕХАНИЗМЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ РЫНКА РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ

Радченко М.В., Радченко Д.М.

Растительные экстракты - это концентрированные вытяжки из лекарственных растений (густые, сухие, СО₂ и т.д.), содержащие основные биологически активные вещества (БАВ), присутствующие в исходном сырье. Несмотря на широкие возможности химической промышленности в области производства синтетических заменителей (ароматизаторов, наполнителей, активных компонентов и т.д.), натуральные экстракты неизменно востребованы в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности.

Ключевые слова: растительные экстракты, пищевая промышленность, растительное сырье

Растительные экстракты - это концентрированные вытяжки из лекарственных растений (густые, сухие, СО₂ и т.д.), содержащие основные биологически активные вещества (БАВ), присутствующие в исходном сырье. Несмотря на широкие возможности химической промышленности в области производства синтетических заменителей (ароматизаторов, наполнителей, активных компонентов и т.д.), натуральные экстракты неизменно востребованы в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности.

Так, согласно данным исследования маркетинговой компании IndexBox, эти отрасли составляют 75,1% от всех потребителей экстрактов (таблица 1).

Более 80% (таблица 2) продаваемых в России экстрактов ввозят в страну из таких стран, как США (22,7%), Великобритания (20,9%), Германия (17,8%), Китай (12,3%), Франция (7,8%) [1]. Такая продукция далеко не всегда соответствует необходимому качеству, но зачастую ниже по цене, чем экстрак-

ты российского производства. Также характерно, что все производители базируются в основном на сырье, произрастающем в регионе, в котором расположены производства, ввиду чего наблюдается специализация производств мира по перерабатываемому сырью. В этом смысле Россия представляет большой интерес, поскольку ее территория располагает самыми крупными объемами растительного лекарственного сырья в мире. Кроме того, на европейском рынке лекарственные травы, произведенные в России, считаются высококачественной продукцией - из-за оптимального сочетания климатических и географических факторов они более насыщены БАВ.

Несомненно, что рынок растительных экстрактов зависит от тенденций развития и механизмов функционирования смежных рынков, таких как рынок сухих лекарственных трав и рынок продуктов, производимых на основе лекарственного сырья. Поэтому отме-