

РАЗРАБОТКА СПОСОБОВ ХИМИЧЕСКОЙ ПРЕДОБРАБОТКИ МИСКАНТУСА ДЛЯ ПОСЛЕДУЮЩЕЙ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ В ЦЕННЫЕ ПРОДУКТЫ

Е.А. Скиба, А.Н. Кортусов, Ю.А. Гисматулина

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химико-энергетических технологий
Сибирского отделения Российской академии наук, Бийск, Россия*

Мискантус занимает устойчивое лидирующее положение среди разнообразного целлюлозосодержащего сырья, применяемого для получения широкого круга продуктов химического и биотехнологического синтеза [1–3]. В технологических переработках используются в основном три вида мискантуса: *Miscanthus sinensis*, *Miscanthus sacchariflorus*, *Miscanthus giganteus*, продуктивность культур возрастает в указанной последовательности, но и возрастает требовательность к теплу и количеству солнечных дней в период вегетации [3, 4]. Поэтому невозможно выращивание мискантуса гигантского по всей территории РФ.

В данной работе впервые в РФ *Miscanthus giganteus* рассматривается как сырьё для последующей биотехнологической трансформации в ценные продукты, используется сорт КАМИС отечественной селекции. Мискантус с плантации возрастом 7 лет, Московская обл., д. Марушкино, любезно предоставлен ООО «Мастер Брэнд». Техническая целлюлоза (ТЦ) выделялась из мискантуса азотнокислым способом в лабораторных условиях согласно [5]. Предварительно мискантус был измельчен с помощью кормоизмельчителя КР-02 (г. Миасс, Россия), внешний вид образцов приведён на рис. 1. До измельчения образец представлял собой прочные твердые палочки около 1 см в диаметре и 30–40 см в длину. После измельчения – разнородные частицы длиной расколотые продольно, сколы неправильной формы. Химический состав мискантуса и ТЦ, полученных из него, определялись по стандартным методикам. В сырье целлюлоза определялась по Кюршнеру, в ТЦ – α -целлюлоза. Результаты приведены в табл. 1. Работа выполнялась при использовании приборной базы Бийского регионального центра коллективного пользования СО РАН (ИПХЭТ СО РАН, г. Бийск).

Табл. 1 – Химический состав мискантуса сорта КАМИС и ТЦ из него после обычного измельчения

Образец	Выход ТЦ, % от массы сырья	Химический состав, м.д., % на АСВ				
		целлюлоза	пентозаны	лигнин	зола	СП
Мискантус сорта КАМИС	–	50,1	20,0	21,5	1,70	–
ТЦ-1	31,6	94,7	1,9	1,2	0,13	1560

Азотнокислый способ выделения целлюлозы из мискантуса хорошо зарекомендовал себя на мискантуса сорта Сорановский, относящемуся к виду сахароцветкового [5, 6]. Было показано, что такая предобработка даёт хорошие результаты для последующего получения бактериальной наноцеллюлозы [7]. Однако для гигантского мискантуса сорта КАМИС предобработка оказалась недостаточной. Получен неплохой выход ТЦ – 31,6 % (для сахароцветкового мискантуса сорта Сорановский выход составлял 24–26 %), но при этом доля нецеллюлозных примесей составила около 5 % (для сахароцветкового мискантуса сорта Сорановский доля нецеллюлозных примесей не превышала 4 % [5–7]).

Причиной является особая морфология мискантуса гигантского. Он характеризуется не только толстым, крепким стеблем до 2 см в диаметре, но и прочными междоузлиями. Поэтому измельчение с помощью соломорезки до частиц размером оказалось недостаточным. Крупные частицы непроварились (варка проводилась при атмосферном давлении и температуре 92–96 °С). Применение более жестких режимов неизбежно приведет к химическому гидролизу части сырья, кроме того, будет способствовать повышению массовой доли конденсированных продуктов – так называемого «псевдолигнина», наличие которого приведёт к ещё большему снижению выхода редуцирующих сахаров.



Рисунок 1 – Внешний вид мискантуса сорта КАМИС до и после измельчения

Поэтому на втором этапе было изучено влияние способа измельчения и степени измельчения на качественные показатели получаемых технических целлюлоз. Мискантус был подвергнут дополнительному измельчению, для чего пятикратно пропущен через кормоизмельчитель КР-02. Было получено 2 фракции: крупная с выходом 90 % и мелкая с выходом 10 %. Фракции были разделены путём просеивания через стекловолоконную сетку с размером ячеек 1,5 мм. Внешний вид фракций представлен на рис. 2, а результаты отсева – в табл. 2.

Табл. 2 – Ситовой анализ фракций мискантуса после повторного измельчения

Размер ячейки сита, мм	12,0	8,0	4,0	2,5	2,0	1,0	0,63	поддон
Крупная фракция								
Массовая доля, %	13,9	20,8	49,3	10,9	4,30	0,20	0,10	0
Мелкая фракция								
Массовая доля, %	0,0	1,10	10,10	16,60	24,5	37,40	6,4	3,3

Крупная фракция мало отличалась от образца до повторного измельчения, а мелкая представляла собой расщеплённую крупную фракцию. Самым сложным было измельчение междоузлий, характеризующихся прочными продольными и поперечными волокнами. На рис. 2 представлен внешний вид междоузлий после определения в образцах, отобранных от крупной и мелкой фракций, целлюлозы по Кюршнеру. Нецеллюлозные компоненты растворяются в азотно-спиртовой смеси, остаются фрагменты целлюлозы. Видно, что междоузлия стали прозрачными, но полностью сохранили свою структуру.

Ситовой анализ показал, что 84 % средней пробы образца крупной фракции имеет размер частиц от 2 до 12 мм. Доля частиц крупнее 12 мм составила 14 %. В то время как 78,5 % средней пробы образца мелкой фракции имеет размер частиц от 1 до 2,5 мм. То есть размер частиц после пятикратного измельчения уменьшился в 2–5 раз.

Далее и крупная, и мелкая фракция были направлены на получение ТЦ азотнокислым способом (ТЦ-2 и ТЦ-3 соответственно). Кроме того, было изучено влажное измельчение, для чего ½ крупной фракции было измельчено с помощью лабораторной зерновой мельницы ЛЗМ-М (ИП Седов А.Б., Россия) после предгидролиза 1 %-ной азотной кислотой. Размер частиц после измельчения с помощью электромельницы составлял не более 8 мм. Из этого образца также была получена техническая целлюлоза азотнокислым способом (ТЦ-2–2). Химический состав полученных ТЦ приведён в табл. 3.

Крупная фракция

Мелкая фракция

внешний вид образцов



препараты, полученные после определения в образцах целлюлозы по Кюринеру



препараты, полученные после определения в образцах целлюлозы по Кюринеру, увеличение 100x

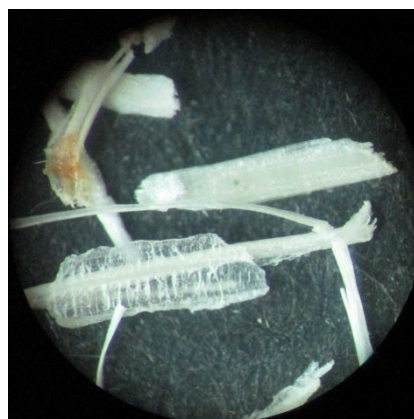
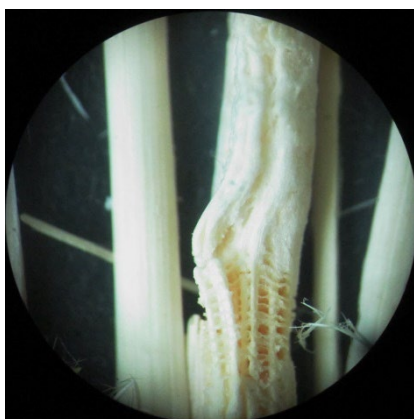


Рисунок 2 – Внешний вид мискантуса сорта КАМИС после повторного измельчения

Показатели образца ТЦ-2 и ТЦ-2-2, полученного из него очень близки. Можно сделать вывод, что влажное измельчение с помощью электромельницы – это избыточная стадия. Показатели качества образца ТЦ-3 снижаются по сравнению с образцом ТЦ-2, а именно, увеличивается массовая доля пентозанов в 1,5 раза (3,2 % против 2,0 %), лигнина в 2 раза (1,0 % против 0,5 %), золы в 3 раза (0,44 % против 0,15 %).

То есть избыточно мелкое измельчение привело к снижению качественных показателей, при этом выход ТЦ не изменился. С учетом того, что после пятикратного измельчения мискантуса с помощью кормоизмельчителя выход мелкой фракции составил всего 10 %, можно сделать вывод, что кормоизмельчитель КР-02 мало подходит для измельчения мискантуса, его конструкция должна быть доработана.

Табл. 3 – Химический состав ТЦ, полученных после повторного измельчения мискантуса

Образец	Выход ТЦ, % от массы сырья	Химический состав, м.д., % на абсолютно сухое вещество				
		α-целлюлоза	пентозаны	лигнин	зола	СП
ТЦ-2 (повторное измельчение на кормоизмельчителе, крупная фракция)	33,0	95,9	2,0	0,5	0,15	1450
ТЦ-3 (повторное измельчение на кормоизмельчителе, мелкая фракция)	32,8	93,8	3,2	1,0	0,44	1700
ТЦ-2–2 (повторное измельчение на кормоизмельчителе, крупная фракция, дополнительное влажное измельчение с помощью электромельницы)	31,0	94,0	2,2	0,8	0,18	1450

Сравнение образцов ТЦ, полученных после повторного измельчения мискантуса (ТЦ-2, ТЦ-3, ТЦ-2–2) с образцом, полученным после обычного измельчения (ТЦ-1), показал, что повторное измельчение мало влияет на химический состав ТЦ, так, показатели образцов ТЦ-2 (табл. 3) и ТЦ-1 (табл. 1) практически идентичны.

Таким образом, ни один из лабораторных способов измельчения мискантуса не привёл к улучшению процесса азотнокислой варки и повышению показателей качества ТЦ. Гигантский мискантус от других видов мискантусов отличается более крупными размерами растения, большей прочностью и твердостью стебля, поэтому с технологической точки зрения его переработка сложнее. Для преодоления данной проблемы будут проведены выработки ТЦ на опытно-промышленном оборудовании ИПХЭТ СО РАН с использованием стандартного емкостного оборудования объемом от 63 до 250 л.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22–13–00107

Литература

1. Yang F., Afzal W., Cheng K., Liu N., Pauly M., Bell A. T... & Prausnitz J.M. Nitric-acid hydrolysis of *Miscanthus giganteus* to sugars fermented to bioethanol // *Biotechnology and bioprocess engineering*. 2015. № 20(2). P. 304–314. <http://dx.doi.org/10.1007/s12257-014-0658-4>
2. Zhang Y., Oates L.G., Serate J., Xie D., Pohlmann E., Bukhman Y.V., Karlen S.D., Young M.K., Higbee A., Eilert D., Sanford G.R., Piotrowski J.S., Cavalier D., Ralph J., Coon J.J., Sato T.K., Ong R.G. Diverse lignocellulosic feedstocks can achieve high field-scale ethanol yields while providing flexibility for the biorefinery and landscape-level environmental benefits // *GCB Bioenergy*. 2018. P. 1–16. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12533>
3. Капустянчик С.Ю., Якименко В.Н., Гисматулина Ю.А., Будаева В.В. Мискантус – перспективная энергетическая культура для промышленной переработки // *Экология и промышленность России*. 2021. Т. 25, № 3. С. 66–71.
4. Dorogina O.V., Vasilyeva O. Yu., Nuzhdina N.S., Buglova L.V., Gismatulina Yu. A., Zhmud E.V., Zueva G.A., Komina O.V., Tsybchenko E.A. Resource potential of some species of the genus *Miscanthus* Anderss. under conditions of continental climate of West Siberian foreststeppe. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018. № 22(5). 53–559 <https://doi.org/10.18699/VJ18.394>
5. Gismatulina Yu. A., Budaeva V.V. Chemical composition of five *Miscanthus sinensis* harvests and nitric-acid cellulose therefrom // *Industrial Crops and Products*. 2017. Vol. 109. P. 227–232. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.08.026>
6. Kashcheyeva E.I., Gismatulina Y.A., Budaeva V.V. Pretreatments of Non-Woody Cellulosic Feedstocks for Bacterial Cellulose Synthesis // *Polymers*. 2019. № 11(10). P. 1645. <http://dx.doi.org/10.3390/polym11101645>
7. Skiba E.A., Gladysheva E.K., Golubev D.S., Budaeva V.V., Aleshina L.A., Sakovich G.V., Self-standardization of quality of bacterial cellulose produced by *Medusomyces gisevii* in nutrient media derived from *Miscanthus* biomass // *Carbohydrate Polymers*. 2021. V. 252. P. 117178, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.11717>