

## МАТЕРИАЛЬНЫЙ БАЛАНС ПРОЦЕССОВ ПОЛУЧЕНИЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОДУКТОВ ИЗ БИОМАССЫ МИСКАНТУСА ГИГАНТСКОГО

Е.А. Скиба

Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения РАН, Бийск, Россия

Мискантус занимает лидирующее положение среди целлюлозосодержащего сырья, выращиваемого за один вегетационный период. Основными сферами его применения являются энергетика, строительство, целлюлозно-бумажная промышленность, химическая промышленность, органическое земледелие и промышленная биотехнология [1]. Вопрос использования мискантуса как сырья для промышленной биотехнологии неоднозначен, в литературе есть как примеры успешного применения мискантуса, например, для синтеза биоэтанола [2, 3], так и примеры малоэффективного применения мискантуса, например, для синтеза фумаровой кислоты [4].

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».

Предобработка сырья была проведена в лабораторных условиях при атмосферном давлении и температуре 90–96 °С авторскими способами в одну или две стадии с получением следующих продуктов химической предварительной обработки: 1) продукт азотнокислой обработки (ПАО) получен обработкой сырья 4 %-ным раствором азотной кислоты в одну стадию; 2) продукт щелочной делигнификации (ПЩД) получен обработкой сырья раствором 4 %-ного гидроксида натрия в одну стадию; 3) техническая целлюлоза, азотнокислый способ (ЦАС) получен в две стадии: путём обработки ПАО 4 %-ным раствором гидроксида натрия; 4) техническая целлюлоза, модифицированный щелочной способ (ЦМЩС) получен в две стадии: путём обработки ПЩД 4 %-ным раствором азотной кислоты.

Все четыре полученных продукта были превращены в раствор сахаров путём ферментативного гидролиза с помощью композиции из ферментных препаратов Целлолюкс-А («Сиббиофарм, Россия») и «Ультрафло Коре» («Novozymes A/S», Дания).

Ферментативные гидролизаты были использованы для получения трех продуктов биотехнологического синтеза: биоэтанола с помощью *Saccharomyces cerevisiae* Y-3136 (ВКПМ), в условиях, описанных в работе [5]. Начальная концентрация субстрата 60 г/л, в течение 24 ч проводился ферментативный гидролиз, далее в течение 72 ч совмещенный ферментативный гидролиз и спиртовое брожение; бактериальной наноцеллюлозы с помощью *Medusomyces gisevii* Sa-12 (ВКПМ) в условиях, описанных в работе [6]. Начальная концентрация субстрата 30 г/л, биосинтез бактериальной наноцеллюлозы проводился после завершения ферментативного гидролиза; молочной кислоты с помощью *Lactobacillus delbrueckii subspecies bulgaricus* (ООО «Барнаульская биофабрика») в условиях, описанных в работе [7]. Начальная концентрация субстрата 90 г/л, биосинтез молочной кислоты проводился после завершения ферментативного гидролиза.

Работа выполнена с использованием приборной базы Бийского регионального центра коллективного пользования СО РАН.

Химический состав мискантуса и субстратов из него приведены в таблице 1. Одностадийная предварительная обработка мискантуса гигантского позволяет повысить содержание гидролизуемых веществ (целлюлозы и гемицеллюлоз) до 90,4–90,8 %, то есть на 13,6–14,0 % по сравнению с нативным мискантусом, а двустадийная обработка позволяет повысить содержание гидролизуемых веществ до 98,3–99,4 %, то есть на 7,5–9,0 % по сравнению с одностадийной обработкой. При этом выход субстратов, полученных двустадийно, на 10,0–18,0 % ниже, чем для субстратов, полученных одностадийно. Явление значительного снижения выхода при понижении доли нецеллюлозных компонентов в продуктах переработки (субстратах) закономерно и хорошо описано для разных видов целлюлозосодержащего сырья.

В таблице 2 приведен материальный баланс процессов получения биотехнологических продуктов мискантуса гигантского. Для трех изучаемых биотехнологических продуктов на основании ранее проделанных работ на стадии ферментативного гидролиза использованы разные начальные концентрации четырех видов субстратов: 30 г/л – для бактериальной наноцеллюлозы, 60 г/л – для биоэтанола, 90 г/л – для молочной кислоты.

Таблица 1. Химический состав мискантуса и субстратов из него

Показатели	Сырьё	Субстраты			
		ПАО	ПЩД	ЦАС	ЦМЩС
М.д. целлюлозы, %	54,0 ± 0,4	83,0 ± 0,4	86,3 ± 0,4	96,9 ± 0,4	94,0 ± 0,4
М.д. пентозанов, %	22,8 ± 0,1	7,4 ± 0,1	4,5 ± 0,1	2,5 ± 0,1	5,3 ± 0,1
М.д. кислотонерастворимого лигнина, %	21,0 ± 0,1	7,5 ± 0,1	9,0 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,1
М.д. золы, % (ЖВФ 0,5 % в сырье)	1,7 ± 0,01	2,1 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,06 ± 0,01
Сумма гидролизуемых веществ, %	76,8 ± 0,3	90,4 ± 0,3	90,8 ± 0,3	99,4 ± 0,3	98,3 ± 0,3
Выход из 100 кг сырья, %	–	50 ± 0,1	48 ± 0,1	32 ± 0,1	38 ± 0,1

Таблица 2 – Материальный баланс процессов получения биотехнологических продуктов из мискантуса гигантского

Показатели	Субстраты			
	ПАО	ПЩД	ЦАС	ЦМЩС
<b>Биоэтанол</b>				
Крепость бражки, об. %	1,7	1,6	1,9	2,0
Концентрация остаточных РВ, г/л	4,2	3,0	2,5	2,8
Выход биоэтанола, % от массы субстрата	39,5	37,2	44,2	46,5
Выход биоэтанола из 1 т мискантуса, дал	19,75	17,80	14,14	17,67
Выход биоэтанола из 1 т мискантуса, кг	155,8	140,4	111,6	139,4
<b>Бактериальная наноцеллюлоза</b>				
Концентрация РВ в гидролизате, г/л	21,5	20,8	21,0	21,0
Выход РВ от массы субстрата, %	65,2	63,0	63,6	63,6
Выход БНЦ от РВ, %	8,7	7,8	10,7	10,4
Выход сухой БНЦ из 1 т мискантуса, кг	28,4	23,6	21,8	25,1
Выход влажной БНЦ из 1 т мискантуса, кг	3550	2950	2725	3137
<b>Молочная кислота</b>				
Концентрация РВ в гидролизате, г/л	59,0	56,0	57,5	56,5
Концентрация молочной кислоты, г/л	28,9	23,5	37,4	35,6
Концентрация остаточных РВ, г/л	13,03	15,78	3,20	4,12
Выход молочной кислоты от РВ, %	49	42	65	63
Выход молочной кислоты из 1 т мискантуса, кг	144,6	112,9	119,6	135,3

Провести сопоставительный анализ стадии ферментативного гидролиза затруднительно, так как биоэтанол получен путем совмещения стадий ферментативного гидролиза и спиртового брожения, поэтому вычленив выход на стадии ферментативного гидролиза не представляется возможным. Имеется общая тенденция: наиболее эффективно стадия ферментативного гидролиза прошла для ПАО, а наименее эффективно – для ПЩД при всех изученных начальных концентрациях субстратов. Мы связываем это с высокой остаточной долей лигнина в ПЩД – 9,0 % (против 7,5 % лигнина в ПАО), что свидетельствует о недостаточной жесткости режима щелочной делигнификации в описываемых условиях для биомассы мискантуса гигантского. По прочности стебли мискантуса гигантского сравнимы с бамбуком, который, как и мискантус, относится к семейству злаковых. Видимо поэтому, классические для недревесного сырья режимы оказались недостаточны.

При анализе стадии микробиологического синтеза общим для всех трех биотехнологических продуктов является достижение большего выхода из субстратов, полученных двухстадийно. Выход продуктов из ЦАС и ЦМЩС очень близок и больше, чем выход из ПАО и ПЩД: на 11–20 % для биоэтанола, на 16–27 % для бактериальной наноцеллюлозы, на 22–35 % для молочной кислоты.

Однако если учесть общий выход продукта на стадиях химической и биотехнологической трансформации, то для всех трех биотехнологических продуктов максимальный выход зафиксирован из ПАО, что объясняется выходом ПАО 50 % на стадии химической предварительной обработки мискантуса. При этом в расчёте на абсолютно сухое вещество максимальный выход из 1 т мискантуса гигантского через ПАО зафиксирован для биоэтанола – 155,8 кг/т, на втором месте молочная кислота – 144,6 кг/т (это 93 % от выхода биоэтанола), минимальный выход зафиксирован для бактериальной наноцеллюлозы – 28,4 кг/т (это 18 % от выхода биоэтанола). Низкий выход бактериальной наноцеллюлозы связан с её низким выходом на стадии биосинтеза и является метаболической особенностью продуцента.

Бактериальная наноцеллюлоза обычно используется во влажном состоянии (влажность наших образцов 99,2 %), поэтому из 1 т мискантуса можно получить 3,5 т бактериальной наноцеллюлозы. В таблице 3 приведено сравнение среднерыночных цен на биотехнологические продукты.

Таблица 3 – Сравнение среднерыночных цен на биотехнологические продукты

Биотехнологический продукт	Цена продажи, доллар/кг	Ссылка	Выход из 1 т мискантуса, кг	Стоимость продукта при переделе 1 т мискантуса, доллар
Биоэтанол	0,7 – минимум 2,4 – максимум	[8]	155,8	109 374
Бактериальная наноцеллюлоза	0,8 – минимум 25,0 – максимум	[9] [10]	3550	2840 88 750
Молочная кислота	1,0 – минимум 4,0 – максимум	[11] [12]	144,6	144,6 578,4

По данным нашего поставщика 1 т мискантуса гигантского продается по цене 800 руб. Самым низкомаржинальным продуктом является биоэтанол, из 1 т мискантуса возможно получить 109–374 доллара. По нашим оценкам, до СВО себестоимость нашего биоэтанола из мискантуса составляла 538 руб./дал, то есть входила в литературный диапазон. В большинстве стран биоэтанол не может конкурировать с бензином. В текущем состоянии биоэтанол второго поколения остается дороже биоэтанола первого поколения в 2,2–7,9 раз (0,57–1,9 \$ / л против 0,24–0,86 \$ / л) и дороже биоэтанола третьего поколения в 1,5–2,5 раз, минимальная цена биоэтанола третьего поколения составляет 0,37–0,75 \$ / л [8].

В отличие от биоэтанола, другие продукты биотехнологического синтеза не продаются по цене ниже себестоимости и не требуют дотаций. Себестоимость 88 %-ной молочной кислоты из целлюлозосодержащего сырья составляет 1,0–4,0 \$/кг [11–12], это сопоставимо с себестоимостью молочной кислоты из зерна кукурузы – 0,84–1,25 \$/кг [13]. Бактериальная наноцеллюлоза является наиболее маржинальным биотехнологическим продуктом и этот природный полимер можно продать в 26–814 раз дороже, чем платформенные химикаты – биоэтанол и молочную кислоту.

Можно сделать вывод, что мискантус гигантский является вполне пригодным сырьём для получения конкурентно способных продуктов биотехнологического синтеза.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-13-00107, <https://rscf.ru/project/22-13-00107/>*

### Литература

1. Shavyrkina N.A.; Budaeva V.V.; Skiba E.A.; Gismatulina Y.A.; Sakovich G.V. Review of Current Prospects for Using Miscanthus-Based Polymers // *Polymers*. 2023. Vol. 15, no. 14. 3097. <https://doi.org/10.3390/polym15143097>
2. Boakye-Boaten N.A. et al. Techno-economic analysis for the biochemical conversion of Miscanthus x giganteus into bioethanol // *Biomass and Bioenergy*. 2017. Vol. 98. P. 85–94. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2017.01.017>
3. Zhang Y. et al. Diverse lignocellulosic feedstocks can achieve high field-scale ethanol yields while providing flexibility for the biorefinery and landscape-level environmental benefits // *GCB Bioenergy*. 2018. Vol. 10, no. 11. P. 1–16.
4. Sebastian J., Rouissi T., Brar S.K. Miscanthus sp. – Perennial lignocellulosic biomass as feedstock for greener fumaric acid bioproduction // *Industrial Crops and Products*. 2022. Vol. 175. 114248. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114248>
5. Skiba E.A. et al. Miscanthus bioprocessing using HNO<sub>3</sub>-pretreatment to improve productivity and quality of bioethanol and downstream ethylene // *Industrial Crops and Products*. 2022. 177. 114448. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114448>
6. Skiba E.A., et al. Self-standardization of quality of bacterial cellulose produced by *Medusomyces gisevii* in nutrient media derived from Miscanthus biomass // *Carbohydrate Polymers*. 2021. 252. 117178, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117178>
7. Shavyrkina NA Obtaining lactic acid from oat husks // *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2021. 11 (1). 99–106. (In Russian)
8. Jain, S., & Kumar, S. (2024). A comprehensive review of bioethanol production from diverse feedstocks: Current advancements and economic perspectives. *Energy*, 131130. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2024.131130>
9. Фруктовое желе nata de coco [Электронный ресурс] <https://russian.alibaba.com/g/fruit-jelly-nata-de-coco.html> // (дата обращения 12.08.2024)
10. Dourado F., et al. «Chapter 12 – Process modeling and techno-economic evaluation of an industrial bacterial nanocellulose fermentation process», in *Bacterial Nanocellulose: From Biotechnology to Bio-economy*, eds M. Gama, F. Dourado, and S. Bielecki (Amsterdam: Elsevier), 2016. – P. 199–214. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-16061-8>
11. Manandhar, A., & Shah, A. (2023). Techno-economic analysis of the production of lactic acid from lignocellulosic biomass. *Fermentation*, 9(7), 641. <https://doi.org/10.3390/fermentation9070641>
12. Ahmad, A., Banat, F., & Taher, H. (2020). A review on the lactic acid fermentation from low-cost renewable materials: Recent developments and challenges. *Environmental Technology & Innovation*, 20, 101138. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101138>
13. Manandhar, A., & Shah, A. (2020). Techno-economic analysis of bio-based lactic acid production utilizing corn grain as feedstock. *Processes*, 8(2), 199. <https://doi.org/10.3390/pr8020199>