

Оригинальная статья / Original article

УДК 661.728.7:66.083.4

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-303-313>

Влияние автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson на выход редуцирующих веществ при последующем ферментоллизе

© И.Н. Павлов

Институт проблем химико-энергетических технологий

Сибирского отделения Российской академии наук, г. Бийск, Российская Федерация

Резюме: Определено влияние автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson на выход редуцирующих веществ при последующем ферментоллизе. Установлено, что при изменении условий автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson образуются твердые фракции, содержащие целлюлозу, лигнин, гемицеллюлозу и минеральные вещества, соотношение которых зависит от фактора жесткости – температуры и продолжительности обработки. Показано, что при факторе жесткости 5,67 происходит практически полный гидролиз гемицеллюлозы, однако наблюдается увеличение содержания лигнина в твердой фракции до 46,0 % относительно содержания лигнина в исходном сырье (20,8 %), что обусловлено конденсацией лигнина с образованием псевдолигнина. Наибольшее содержание целлюлозы в твердой фазе наблюдается при гидролитической обработке сырья с фактором жесткости от 4,17 до 4,39, температуре от 160 °С и продолжительности обработки 25 мин. На фоне повышения температуры увеличение кислотности среды катализирует гидролиз целлюлозы и снижает ее содержание в твердой фракции до 60 % при факторе жесткости 5,67. При автогидролитической обработке *Miscanthus sacchariflorus* Andersson наблюдается повышение зольности в твердой фракции. Полученные после обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson твердые фракции использовались в качестве субстрата и были подвергнуты ферментативному гидролизу ферментными препаратами «Целлолюкс-А» и «Брюзайм ВГХ» при начальной концентрации субстрата 33 г/л. Повышение выхода редуцирующих веществ имеет устойчивый рост по мере удаления гемицеллюлоз и достигает максимального значения (45,1 %) при увеличении фактора жесткости обработки до 4,48. Доступность поверхности целлюлозы для действия ферментов при повышении фактора жесткости свыше 4,48 снижается вследствие накопления лигнина в твердой фазе, о чем свидетельствует снижение выхода редуцирующих веществ в ферментализате до 31,8 %.

Ключевые слова: *Miscanthus sacchariflorus* Andersson, автогидролиз, твердые фракции, целлюлоза, ферментативный гидролиз

Благодарность: Исследование выполнено по проекту в рамках Государственной программы с регистрационным номером темы АААА-А17-117011910006-5.

Информация о статье: Дата поступления 11 октября 2019 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Павлов И.Н. Влияние автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson на выход редуцирующих веществ при последующем ферментоллизе. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2020. Т. 10. N 2. С. 303–313. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-303-313>

Effect of the autohydrolytic treatment of *Miscanthus sacchariflorus* Andersson on the yield of the reducing substances during the subsequent fermentolysis

Igor N. Pavlov

Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies SB RAS,
Biysk, Russian Federation

Abstract: The effect of the autohydrolytic treatment of *Miscanthus sacchariflorus* Andersson on the yield of the reducing substances during the subsequent fermentolysis has been determined. It was established that a change in the conditions of the auto-hydrolytic treatment of *Miscanthus sacchariflorus* Andersson induces a formation of solid fractions containing cellulose, lignin, hemicellulose and mineral substances, the ratio of which depends on the severity factor, i.e. temperature and processing time. It was shown that at the severity factor of 5.67, almost complete hydrolysis of hemicellulose occurs, however, there is an increase in the lignin content in the solid fraction (up to 46.0 %) relative to the lignin content in the feedstock (20.8 %), which is due to lignin condensation with a consequent formation of pseudo lignin. The highest content of cellulose in the solid phase is observed as a result of hydrolytic processing of raw materials with a severity factor of 4.17 to 4.39, a temperature of 160 °C and a processing time of 25 min. At an increased temperature, an increase in the acidity of the medium catalyzes the hydrolysis of cellulose and reduces its content in the solid fraction to 60 % at a severity factor of 5.67. During the auto-hydrolytic treatment of *Miscanthus sacchariflorus* Andersson, an increase in the ash content in the solid fraction is observed. The solid fractions obtained after treatment with *Miscanthus sacchariflorus* Andersson were used as a substrate and were subjected to enzymatic hydrolysis with the enzyme preparations "Cellolux-A" and "BrewZime BGX" at an initial substrate concentration of 33 g/l. The increase in the yield of reducing substances has shown a steady increase with the removal of hemicelluloses and reached its maximum value (45.1 %) with an increase in the treatment severity factor to 4.48. The availability of the cellulose surface for the action of enzymes has decreased with an increase in the stiffness factor beyond a value of 4.48 due to the accumulation of lignin in the solid phase, as evidenced by a decrease in the yield of reducing substances in the enzyme to 31.8 %.

Keywords: *Miscanthus sacchariflorus* Andersson, autohydrolysis, solid fractions, cellulose, enzymatic hydrolysis

Acknowledgement: The study was conducted under the State Assignment Program with Theme Registration no. AAAA-A17-117011910006-5.

Information about the article: Received October 11, 2019; accepted for publication May 29, 2020; available online June 30, 2020.

For citation: Pavlov I.N. Effect of the autohydrolytic treatment of *Miscanthus sacchariflorus* Andersson on the yield of the reducing substances during the subsequent fermentolysis. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):303–313. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-303-313>

ВВЕДЕНИЕ

Растительная биомасса является сырьем для получения целлюлозы, из которой после соответствующей физико-химической модификации получают ценные продукты. В частности, широко востребован биокаталитический процесс, при котором обработка целлюлозных субстратов ферментными препаратами позволяет получать доброкачественные гидролизаты, в свою очередь используемые в качестве питательных сред в технологии биосинтеза бактериальной целлюлозы [1, 2] или для дальнейшего сбраживания в технологии получения биоэтанола [3]. Однако из-за сложного строения клеток тканей растений, обусловленного содержанием лигнина, гемицеллюлозы и смоляных веществ, целлюлоза растительного сырья неэффективно гидролизуеться при ферментативном гидролизе. Эффективность этого процесса может быть увеличена путем предварительной обработки сырья, способствующей изменению структуры клеток тканей растений и обеспечивающей доступность ферментов к активным центрам целлюлозы в клетках тканей растений [4, 5]. Широкое применение

находят методы гидротермической предварительной обработки (автогидролиз), когда растительное сырье подвергается воздействию высоких температур и давления, иногда в сочетании с механической обработкой, что делает целлюлозу более доступной для ферментативного гидролиза [6–8]. При автогидролизе используются технологии, в которых обработка растительного сырья ведется водой. При предварительной обработке из растительного сырья удаляется основная часть гемицеллюлоз, происходит изменение структуры целлюлозы, деградация лигнина, что делает целлюлозу более восприимчивой к ферментативному гидролизу. Метод использован для предварительной обработки многих видов растительного сырья, включая сельскохозяйственные отходы и травянистые растения [9, 10].

Настоящая работа была посвящена определению влияния автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson на выход редуцирующих веществ при последующем ферментализе.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В исследованиях использовалось быстрорастущее травянистое растение *Miscanthus sacchariflorus* Andersson, надземная часть которого имеет жесткий стебель с междоузлиями и листьями. Это растение рекомендуется использовать в виде сырья для производства целлюлозы [11]. Перед автогидролизом сырье высушивали, измельчали до частиц размером 10–15 мм.

Обработка сырья автогидролизом проводилась в реакторе объемом 2,3 л. Реактор оснащен внешним электрическим нагревательным элементом и позволяет проводить процесс при максимальной температуре 300 °С и избыточном рабочем давлении 10 МПа [12]. Для проведения обработки использовалась очищенная вода, прошедшая стадии обратного осмоса и ионного обмена с целью удаления примесей. Для получения очищенной воды по ФС 42-2619-97 использовалась установка «Аквалаб» УВОИ-«МФ»-1812. В реактор загружалось сырье и заливалась вода из расчета гидромодуля 1:10. Сырье подвергалось обработке водой в температурном диапазоне 160–220 °С с варьированием продолжительности обработки от 25 до 120 мин. Для обработки сырья при температуре выше 100 °С в реакторе создавалось избыточное давление (3,0 МПа) путем подачи в реактор CO₂ из баллона со сжатым газом.

Перемешивание сырья осуществлялось колебанием реактора с амплитудой 150°. По завершении обработки сырья реактор охлаждался до температуры менее 100 °С, вскрывался, образовавшаяся суспензия выгружалась и разделялась на твердую и жидкую фракции на ручном корзиночном прессе. Твердая фракция промывалась водой при температуре 60–70 °С и высушивалась на воздухе до влажности 10±0,1 %.

Основные характеристики сырья и твердой фракции (содержание целлюлозы, гемицеллюлоз, кислотонерастворимого лигнина) определяли стандартными методами, представленными в работе А.В. Оболенской, З.П. Ельницкой, А.А. Леоновича¹.

Метод определения массовой доли целлюлозы по Кюршнеру основан на обработке целлюлозы спиртовым раствором азотной кислоты и количественном определении нерастворившегося остатка. Содержание кислотонерастворимого лигнина в твердой фазе определяли по методу Комарова. Для нахождения массовой доли гемицеллюлоз использован железоорсиновый метод – обработка твердой фазы 13 %-м раствором соляной кислоты при

нагревании и определении отогнанного фурфурола спектрофотометрическим методом. Содержание золы оценивали путем полного сжигания твердой фазы при 600 °С в течение 3 ч. Выход твердой фракции после варки рассчитывали относительно массы исходного сырья по формуле:

$$n = \frac{m_{\text{вл}} \frac{(100 - W)}{100}}{m_{\text{м}}} \cdot 100 \%,$$

где $m_{\text{вл}}$ – масса твердой фракции, г; $m_{\text{м}}$ – масса исходного образца мискантуса, г; W – влажность твердой фракции, %.

Для определения влияния условий обработки сырья на состав и выход твердой фазы использовался фактор жесткости автогидролиза, который является функцией продолжительности и температуры обработки (этот критерий оценки эффективности обработки растительного сырья использован многими исследователями, например авторами работ [13, 14]):

$$R = \log \left(t \cdot \exp \left(\frac{T - T_R}{14.5} \right) \right),$$

где t – продолжительность обработки, мин; T – температура обработки, °С; T_R – эталонная температура реакции (равна 100 °С). Значение 14,75 является эмпирическим параметром, связанным с энергией активации и температурой.

Твердая фракция использовалась в качестве субстрата для ферментации, который проводили ферментными препаратами «Целлолюкс-А» (ООО ПО «Сиббиофарм», Россия) и «Брюзайм BGX» (Polfa Tarchomin Pharmaceutical Works S.A., Польша). Ферментативная активность препарата «Целлолюкс-А»: целлюлазная – 2000±10 % ед. ЦлС/г; ксиланазная – 8000±10 % ед. КС/г; β-глюканазная – до 1500±10 % ед. β-ГКС/г. Ферментативная активность препарата «Брюзайм BGX»: целлюлазная – 2100±5 % ед. ЦлС/г; ксиланазная – 4200±5 % ед. КС/г; β-глюканазная – 530±5 % ед. β-ГКС/г.

Образец субстрата массой 5±0,01 г в пересчете на абсолютно сухое вещество (АСВ) помещался в коническую колбу 0,5 л и заливался ацетатным буферным раствором (рН = 4,6±0,1) с растворенными в нем ферментными препаратами из расчета получения 150 мл субстрата концентрацией 33 г/л. Ферментные препараты вносились по 0,04 г/г субстрата. Ферментативование субстрата прово-

¹Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы: учеб. пособие для вузов. М.: Экология. 1991. 320 с.

дили в течение 72 ч при постоянном перемешивании на платформе «ПЭ-6410 М» (Россия) с частотой колебания 150 мин⁻¹. Условия ферментативного гидролиза: температура – 45±2 С, pH = 4,6±0,1 [15].

В проведенных исследованиях оценка гидролиза субстрата проводилась определением концентрации редуцирующих веществ (РВ), глюкозы и пентоз в гидролизате. Для этого отбирались пробы объемом 5 мл с их последующим фильтрованием. В фильтрате определялась концентрация РВ на спектрофотометре Unico UV-2804 (United products and instruments, США) с использованием реактива на основе 3,5-динитросалициловой кислоты (Panreac, Испания). Содержание глюкозы определяли спектрофотометрическим методом с использованием реактива на основе 3,5-динитросалициловой кислоты на спектрофотометре Unico UV-2804 [16]. Концентрация пентоз определялась с использованием раствора орсиана. Метод основан на образовании фурфурола из пентозанов при обработке целлюлозы раствором с массовой долей соляной кислоты 13 % при нагревании и определении отогнанного фурфурола спектрофотометрическим методом.

По результатам анализа рассчитывался конечный выход РВ от массы субстрата по формуле:

$$n_{\text{РВ}} = \frac{C_{\text{РВ}} \cdot V_{\text{г}}}{m_{\text{с}}} \cdot 0,9 \cdot 100,$$

где $n_{\text{РВ}}$ – выход редуцирующих веществ от массы субстрата, %; $C_{\text{РВ}}$ – конечная концентрация редуцирующих веществ в гидролизате, г/л; $V_{\text{г}}$ – объем гидролизата, л; 0,9 – коэффициент, обусловленный присоединением молекулы воды к ангидроглюкозным остаткам соответствующих мономерных звеньев в результате ферментативного гидролиза целлюлозы; $m_{\text{с}}$ – масса субстрата, г.

По результатам анализа установлено, что содержание глюкозы и пентоз в общей концентрации РВ составляет 79–83 и 1–2 % соответственно, что свидетельствует о преимущественно глюкозном составе полученных гидролизатов. Другие сахара в составе РВ не определялись, так как их содержание составляет менее 20 %. Поскольку содержание пентоз в составе РВ низкое, влияние реакции взаимодействия альдегидной группы с 3,5-динитросалициловой кислотой не учитывали.

Исследования проводились при использовании оборудования Бийского регионального центра коллективного пользования СО РАН (Институт проблем химико-энергетических технологий (ИПХЭТ) СО РАН, г. Бийск).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Определен химический состав сырья (сухого мискантуса), % к АСВ:

- целлюлоза по Кюршнеру – 52,1;
- гемицеллюлозы – 20,6;
- лигнин – 20,8;
- зола – 5,3.

После автогидролиза сырья (сухого мискантуса) определялся состав твердой фракции. В таблице представлен выход твердых фракций, выделенных из сырья предварительной обработкой, в зависимости от температуры и продолжительности обработки, при которых фактор жесткости автогидролиза находился в пределах 3,20–5,67, а также массовая доля золы и pH в автолизате.

Из представленных результатов видно, что выход твердой фракции и pH автолизата снижаются, а массовая доля золы повышается с увеличением фактора жесткости обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson.

На рис. 1 графически представлено изменение состава твердой фракции после автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson.

Состав твердых фракций после автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

Composition of solid fractions after pretreatment *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

Параметр	Температура автолиза, °С											
	160			180			200			220		
	Продолжительность обработки, мин											
	25	60	120	25	60	120	25	60	120	25	60	120
Фактор жесткости автогидролиза, <i>R</i>	3,20	3,58	3,88	3,79	4,17	4,48	4,39	4,77	5,07	4,99	5,37	5,67
Выход, %	92,0	89,0	84,1	63,2	61,9	61,2	62,6	57,0	50,8	52,0	45,5	40,1
Массовая доля золы*, %	2,49	2,53	2,64	2,86	3,09	3,19	3,54	3,67	3,85	3,99	4,13	4,20
pH автолизата	4,84	4,70	4,64	4,22	4,01	3,84	3,79	3,78	3,75	3,65	3,42	3,25

Примечание. * – в пересчете на АСВ.

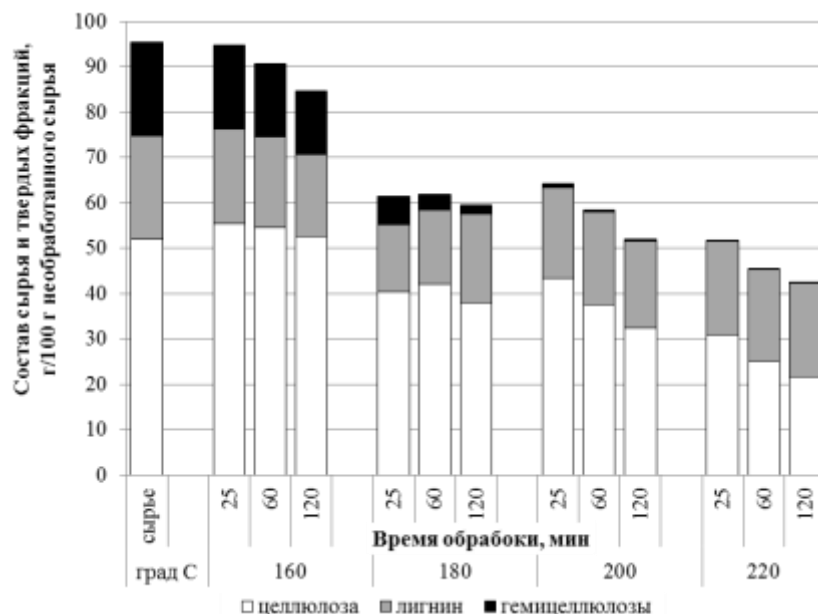


Рис. 1. Изменение состава твердых фракций после автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

Fig. 1. Variation in the composition of solid fractions after autohydrolysis treatment of *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

Анализ полученных результатов показал, что удаление компонентов из сырья связано с изменением температуры. Компоненты сырья, в первую очередь гемицеллюлозы, имеют различную восприимчивость к действию температуры, приводящей к интенсивному гидролизу этого углевода. Повышение температуры также приводит к гидролизу целлюлозы, что в совокупности вызывает существенное изменение выхода твердой фракции. Так, с изменением температуры при средней продолжительности обработки 60 мин выход твердой фракции снижается с 89,0 % при 160 °С до 45,5 % при температуре 220 °С, что связано с удалением большей части гемицеллюлоз из сырья [17]. Этот эффект обусловлен увеличением содержания ионов воды в реакционном растворе, что способствует проявлению действия воды как слабого полярного растворителя. С увеличением температуры повышается уровень ионизации воды и образование уксусной кислоты из ацетильных групп гемицеллюлоз. Образующиеся ионы гидроксония являются катализаторами гидролиза компонентов сырья. С ростом температуры в гидролиз компонентов сырья больший вклад вносит уксусная кислота.

Установлена взаимосвязь состава твердой фракции с фактором жесткости автогидролиза. На рис. 2 приведено изменение содержания гемицеллюлоз в твердой фракции в зависимости от фактора жесткости автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

Автогидролиз сырья привел к значительному гидролизу гемицеллюлоз. Из результа-

тов, представленных на рис. 2, видно, что при равной продолжительности обработки сырья основное влияние на удаление гемицеллюлоз оказывает изменение температуры. При повышении фактора жесткости автогидролиза сырья с 3,20 до 4,39 происходит основное снижение содержания гемицеллюлоз в твердой фазе с 19,4 до 1,2 %. Последующее повышение фактора жесткости при обработке сырья от 4,39 до 5,67 остаточное содержание гемицеллюлоз в твердой фазе снижается с 1,2 до 0,1 %. Таким образом, при обработке сырья с фактором жесткости свыше 4,39 происходит практически основное удаление гемицеллюлоз из твердой фазы. Полученные результаты согласуются с результатами многих работ после проведения гидротермической обработки (например, [18]). Сахара, полученные из гемицеллюлоз в результате увеличения температуры и времени обработки, продолжают разрушаться, в результате чего образуются органические кислоты, такие как муравьиная, уксусная, молочная, гликолевая. Соответственно, происходит повышение концентрации кислот, о чем свидетельствует снижение значения pH автолизата (см. таблицу) [19]. Термическое воздействие при сочетании, например, с механической обработкой может привести к позитивному изменению структуры лигноцеллюлозного комплекса в обрабатываемом сырье [20]. На рис. 3 показано изменение содержания лигнина в твердой фазе в зависимости от фактора жесткости автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson.

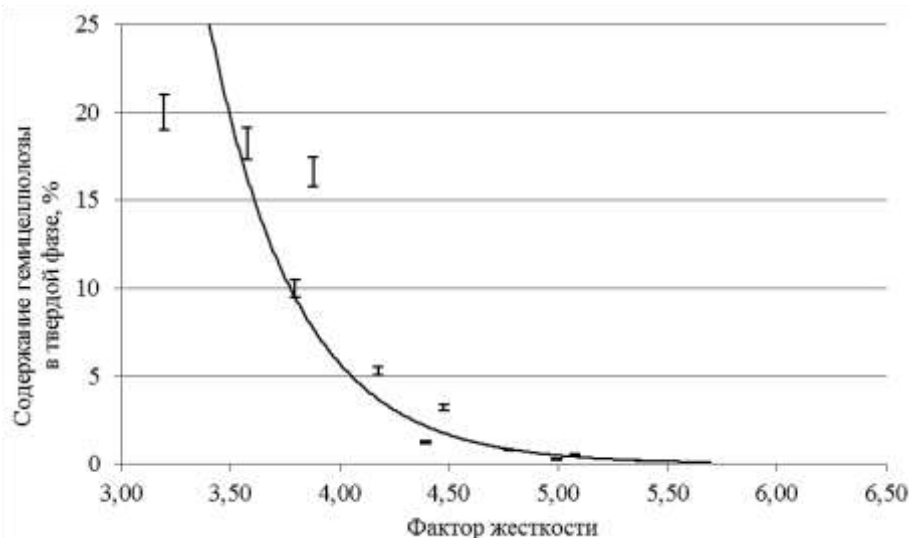


Рис. 2. Изменение содержания гемицеллюлоз в твердой фазе в зависимости от фактора жесткости автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

Fig. 2. Variation in the content of hemicelluloses in the solid phase, depending on the harshness of autohydrolysis treatment of *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

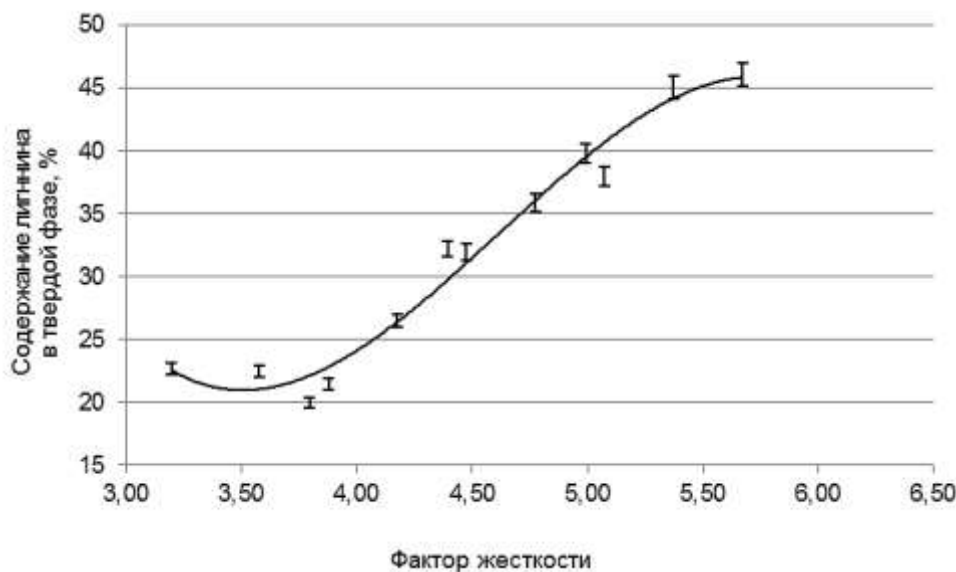


Рис. 3. Изменение содержания лигнина в твердой фазе в зависимости от фактора жесткости автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

Fig. 3. Variation in the content of lignin in the solid phase, depending on the harshness of autohydrolysis treatment of *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

Содержание лигнина в твердом остатке незначительно снижается, когда жесткость обработки составляет от 3,20 до 3,79 (см. рис. 1). В этих условиях снижение содержания лигнина в твердой фракции составляет до 20,1 %. Дальнейшее повышение фактора жесткости обработки, связанное с ростом температуры в интервале от 3,79 до 5,67, приводит к обратному явлению – содержание лигнина в твердой фракции увеличивается. Известно, что при увеличении жесткости обработки возможно

протекание реакции конденсации лигнина. В результате обработка при высоком факторе жесткости приводит к тому, что реакция конденсации лигнина преобладает над гидролизом, что приводит к образованию псевдолигнина, который осаждается повторно на поверхность твердой фракции [21].

В отличие от гемицеллюлоз и лигнина целлюлоза в меньшей степени подвержена автогидролизу в воде (рис. 4).

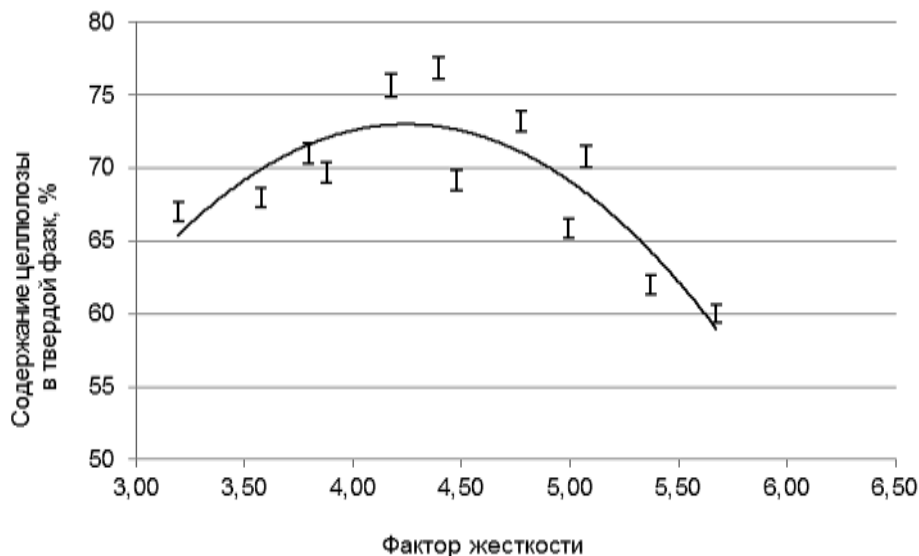


Рис. 4. Изменение содержания целлюлозы в твердой фазе в зависимости от жесткости автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

Fig. 4. Variation in the content of cellulose in the solid phase, depending on the harshness of autohydrolysis treatment of *Miscanthus sacchariflorus* Andersson

Как отмечается, гидролиз целлюлозы при гидротермической обработке обычно является низким и зависит от происхождения растительного сырья. Установлено, что при обработке древесных видов сырья гидролиз целлюлозы незначителен, а в случае обработки травянистого сырья и сельскохозяйственных отходов возможно существенное разрушение целлюлозы при гидролизе [22]. Так, при факторе жесткости до 4,17, что соответствует температурному диапазону 160–180 °С, независимо от продолжительности обработки гидролиз целлюлозы незначительный, а ее содержание в твердой фазе увеличивается по сравнению со снижением гемицеллюлозы (см. рис. 2). Интенсивное снижение содержания гемицеллюлоз происходит при увеличении фактора жесткости от 3,20 до 4,17, что приводит к заметному повышению в составе твердой фазы содержания целлюлозы – до 75,7 % (см. рис. 4). Наибольшее содержание целлюлозы в твердой фракции (75,7 и 76,9 %) образуется при факторе жесткости обработки сырья 4,17 и 4,39, что соответствует температуре обработки сырья 180 и 200 °С и продолжительности обработки сырья 60 и 25 мин. Снижение содержания целлюлозы в твердой фракции от 76,9 до 60,0 % происходит при повышении температуры обработки от 200 до 220 °С. При этом в зависимости от продолжительности обработки сырья фактор жесткости меняется от 4,39 до 5,67. Это показывает, что в рассматриваемых условиях происходит гидролиз целлюлозы в твердой фракции. С повышением температуры обработки сырья происходит рост концентрации уксусной кислоты в реакционной массе,

которая катализирует гидролиз гликозидных связей в целлюлозе, прежде всего на аморфных участках [23]. При повышении жесткости обработки от 4,77 до 5,67 гидролиз целлюлозы происходит более выражено, что и приводит к снижению содержания целлюлозы в твердой фракции до 60 %.

Обработка сырья в рассматриваемых условиях автогидролиза существенно влияет на ферментативный гидролиз твердых фракций. На рис. 5 показано влияние фактора жесткости автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson на ферментативный гидролиз твердых фракций.

Из представленных результатов видно, что повышение жесткости обработки приводит к улучшению условий для действия ферментов в интервале фактора жесткости автогидролиза 3,20–4,17. Повышение уровня накопления редуцирующих веществ показывает устойчивый рост по мере удаления гемицеллюлоз и достигает максимального значения – 45,1 %, что соотносится со снижением содержания гемицеллюлоз до уровня 5,3 % (см. рис. 2) и достижением минимального содержания лигнина – 26,5 % (см. рис. 3). Этот выход редуцирующих веществ в 2,9 раза превышает выход редуцирующих веществ из необработанного автогидролизом исходного сырья. После гидролиза необработанного сырья получена концентрация редуцирующих веществ 15,5 % после 72 ч обработки ферментами. С ужесточением условий обработки сырья (фактор жесткости более 4,48) уровень накопления редуцирующих веществ сократился до 31,78 %. Известно, что слишком жесткие условия обработки расти-

тельного сырья могут способствовать конденсации и осаждению растворимых соединений лигнина на поверхности целлюлозы [24]. В данном случае повышение жесткости условий обработки сырья привело к накоплению лигнина в твердой фракции (см. рис. 3) и снижению

эффективности ферментативной обработки целлюлозы. Таким образом, обработка сырья при факторе жесткости 3,20–4,48 создает наиболее благоприятные условия для ферментативного гидролиза углеводов и образования редуцирующих веществ.

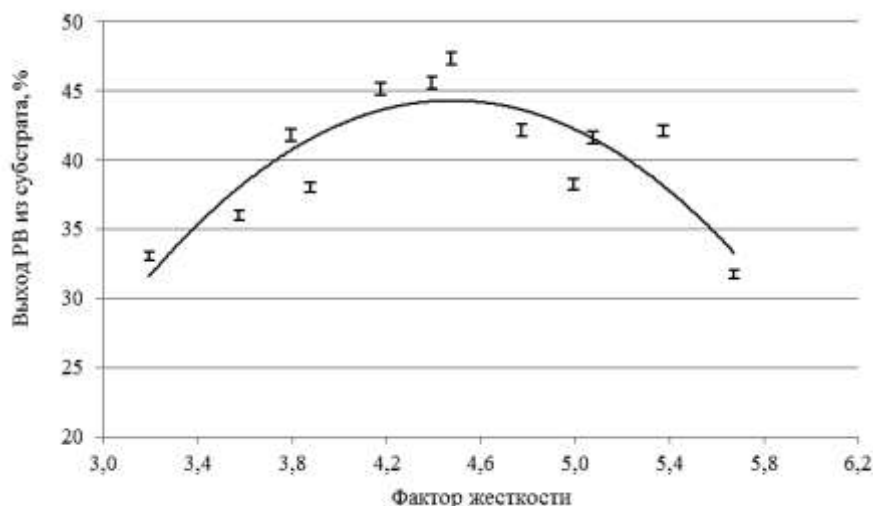


Рис. 5. Влияние фактора жесткости автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson на выход РВ при ферментативной обработке твердых фракций

Fig. 5. Harshness effect of autohydrolysis treatment of *Miscanthus sacchariflorus* Andersson on the reducing sugars yield during enzymatic hydrolysis of solid fractions

ВЫВОДЫ

Установлено, что при изменении условий автогидролитической обработки *Miscanthus sacchariflorus* Andersson образуются твердые фракции, содержащие целлюлозу, лигнин, гемицеллюлозу и минеральные вещества, соотношение которых зависит от фактора жесткости.

Показано, что при факторе жесткости 5,67 происходит практически полный гидролиз гемицеллюлозы, однако наблюдается увеличение содержания лигнина в твердой фракции, что обусловлено конденсацией лигнина с образованием псевдолигнина. Наибольшее со-

держание целлюлозы в твердой фазе наблюдается при гидролитической обработке сырья с фактором жесткости 4,39 при температуре 200 °С и продолжительности обработки 25 мин.

Определено, что гидролитическая обработка *Miscanthus sacchariflorus* Andersson при факторах жесткости от 3,20 до 4,48 приводит к образованию субстрата, обработка которого ферментными препаратами «Целлолюкс-А» и «Брюзайм BGX» позволяет получать ферментализаты с содержанием редуцирующих веществ до 45 %.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Гладышева Е.К., Голубев Д.С., Скиба Е.А. Исследование биосинтеза бактериальной наноцеллюлозы продуцентом *Medusomyces gisevii* Sa-12 на ферментативном гидролизате продукта щелочной делигнификации мискантуса // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. N 2. С. 260–269. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-2-260-269>
2. Kashcheyeva E.I., Gismatulina Y.A., Budaeva V.V. Pretreatments of non-woody cellulosic feedstocks for bacterial cellulose synthesis // Polymers. 2019. Vol. 11. Issue 10. P. 1645. <https://doi.org/10.3390/polym11101645>
3. Байбакова О.В., Влияние предвари-

тельной обработки энергетической культуры мискантуса на выход биоэтанола // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2018. Т. 8. N 3. С. 79–84. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-3-79-84>

4. Mahmood H., Moniruzzaman M., Iqbal T., Khan M.J. Recent advances in the pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuels and value-added products // Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry. 2019. Vol. 20. P. 18–24. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2019.08.001>

5. Bychkov A.L., Podgorbunskikh E.M., Ryabchikova E.I., Lomovsky O.I. The role of mechanical action in the process of the thermome-

chanical isolation of lignin // *Cellulose*. 2018. Vol. 25. Issue 1. P. 1–5. <https://doi.org/10.1007/s10570-017-1536-y>

6. Jiang K., Li L., Long L., Ding S. Comprehensive evaluation of combining hydrothermal pretreatment (autohydrolysis) with enzymatic hydrolysis for efficient release of monosaccharides and ferulic acid from corn bran // *Industrial Crops and Products*. 2018. Vol. 113. P. 348–357. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.047>

7. Jiang W., Chang S., Qu Y., Zhang Z., Xu J. Changes on structural properties of biomass pretreated by combined deacetylation with liquid hot water and its effect on enzymatic hydrolysis // *Bioresource Technology*. 2016. Vol. 220. P. 448–456. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.087>

8. Gu B.-J., Dhumal G.S., Wolcott M.P., Ganjyal G.M. Disruption of lignocellulosic biomass along the length of the screws with different screw elements in a twin-screw extruder // *Bioresource Technology*. 2019. Vol. 275, P. 266–271. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.033>

9. Lyu H., Zhou J., Geng Z., Lyu C., Li Y. Two-stage processing of liquid hot water pretreatment for recovering C5 and C6 sugars from cassava straw // *Process Biochemistry*. 2018. Vol. 75. P. 202–211. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.10.003>

10. Cardona E., Llano B., Penuela M., Juan Pena J., Rios L.A. Liquid-hot-water pretreatment of palm-oil residues for ethanol production: An economic approach to the selection of the processing conditions // *Energy*. 2018. Vol. 160. P. 441–451. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2018.07.045>

11. Da Costa R.M.F., Pattathil S., Avci U., Winters A., Hahn M.G., Bosch M. Desirable plant cell wall traits for higher-quality miscanthus lignocellulosic biomass // *Biotechnology for Biofuels*. 2019. Vol. 12. Issue 1. Article:85. 18 p. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1426-7>

12. Pavlov I.N., Denisova M.N., Makarova E.I., Budaeva V.V., Sakovich G.V. Versatile thermobaric setup and production of hydrotropic cellulose therein // *Cellulose Chemistry and Technology*. 2015. Vol. 49. Issue 9-10. P. 847–852

13. Batista G.O., Souza R.B.A., Pratto B., Dos Santos-Rocha M.S.R., Cruz A.J.G. Effect of severity factor on the hydrothermal pretreatment of sugarcane straw // *Bioresource Technology*. 2019. Vol. 275. P. 321–327. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.073>

14. Sabanci K., Buyukkileci A.O. Comparison of liquid hot water, very dilute acid and alkali treatments for enhancing enzymatic digestibility of hazelnut tree pruning residues // *Bioresource Technology*. 2018. Vol. 261. P. 158–165. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.03.136>

15. Кашеева Е.И., Будаева В.В. Опреде-

ление реакционной способности к ферментативному гидролизу целлюлозосодержащих субстратов // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2018. Т. 84. N 10. С. 5–11. <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2018-84-10-5-11>

16. Miller G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar // *Analytical Chemistry*. 1959. Vol. 31. N 3. P. 426–428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>

17. Michelin M., Teixeira J.A. Liquid hot water pretreatment of multi feedstocks and enzymatic hydrolysis of solids obtained thereof // *Biore-source Technology*. 2016. Vol. 216. P. 862–869. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.018>

18. Moniz P., Pereira H., Duarte L.C., Carvalho F. Hydrothermal production and gel filtration purification of xylo-oligosaccharides from rice straw // *Industrial Crops and Products*. 2014. Vol. 62. P. 460–465. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.09.020>

19. Liu L., Liu W., Hou Q., Chen J., Xu N. Understanding of pH value and its effect on autohydrolysis pretreatment prior to poplar chemithermomechanical pulping // *Bioresource Technology*. 2015. Vol. 196. P. 662–667. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.034>

20. Podgorbunskikh E.M., Ryabchikova E.I., Bychkov A.L., Lomovskii O.I. Changes in structure of cell wall polymers in thermomechanical treatment of highly lignified plant feedstock // *Doklady Physical Chemistry*. 2017. Vol. 473. Issue 1. P. 49–51. <https://doi.org/10.1134/S0012501617030046>

21. Ko J.K., Kim Y., Ximenes E., Ladisch M.R. Effect of liquid hot water pretreatment severity on properties of hardwood lignin and enzymatic hydrolysis of cellulose // *Biotechnology and Bioengineering*. 2015. Vol. 112. Issue 2. P. 252–262. <https://doi.org/10.1002/bit.25349>

22. Gan S., Zakaria S., Chen R.S., Chia C.H., Padzil F.N.M., Moosavi S. Autohydrolysis processing as an alternative to enhance cellulose solubility and preparation of its regenerated bio-based materials // *Materials Chemistry and Physics*. 2017. Vol. 192. P. 181–189. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2017.01.012>

23. Zhu R., Yadama V. Effects of hot water extraction pretreatment on physicochemical changes of Douglas fir // *Biomass and Bioenergy*. 2016. Vol. 90. P. 78–89. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.03.028>

24. Chena T.-Y., Wena J.-L., Wanga B., Wanga H.-M., Liub C.-F., Suna R.-C. Assessment of integrated process based on autohydrolysis and robust delignification process for enzymatic saccharification of bamboo // *Bioresource Technology*. 2017. Vol. 244. P. 717–725. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.032>

REFERENCES

1. Gladysheva EK, Golubev DS, Skiba EA. Investigation of bacterial nanocellulose biosynthesis by *Medusomyces gisevii* Sa-12 from enzymatic hydrolyzate obtained by alkaline delignification of miscanthus. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(2):260–269. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-2-260-269>
2. Kashcheyeva EI, Gismatulina YA, Budaeva VV. Pretreatments of non-woody cellulosic feedstocks for bacterial cellulose synthesis. *Polymers*. 2019;11(10):1645. <https://doi.org/10.3390/polym11101645>
3. Baibakova OV. Effects of the pretreatment of the miscanthus energy crop on the ethanol yield. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2018;8(3):79–84. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-3-79-84>
4. Mahmood H, Moniruzzaman M, Iqbal T, Khan MJ. Recent advances in the pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuels and value-added products. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*. 2019;20:18–24. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2019.08.001>
5. Bychkov AL, Podgorbunskikh EM, Ryabchikova EI, Lomovsky OI. The role of mechanical action in the process of the thermomechanical isolation of lignin. *Cellulose*. 2018;25(1):1–5. <https://doi.org/10.1007/s10570-017-1536-y>
6. Jiang K, Li L, Long L, Ding S. Comprehensive evaluation of combining hydrothermal pretreatment (autohydrolysis) with enzymatic hydrolysis for efficient release of monosaccharides and ferulic acid from corn bran. *Industrial Crops and Products*. 2018;113:348–357. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.047>
7. Jiang W, Chang S, Qu Y, Zhang Z, Xu J. Changes on structural properties of biomass pretreated by combined deacetylation with liquid hot water and its effect on enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*. 2016;220:448–456. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.087>
8. Gu B-J, Dhumal GS, Wolcott MP, Ganjyal GM. Disruption of lignocellulosic biomass along the length of the screws with different screw elements in a twin-screw extruder. *Bioresource Technology*. 2019;275:266–271. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.033>
9. Lyu H, Zhou J, Geng Z, Lyu C, Li Y. Two-stage processing of liquid hot water pretreatment for recovering C5 and C6 sugars from cassava straw. *Process Biochemistry*. 2018;75:202–211. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.10.003>
10. Cardona E, Llano B, Penuela M, Juan Pena J, Rios LA. Liquid-hot-water pretreatment of palm-oil residues for ethanol production: An economic approach to the selection of the processing conditions. *Energy*. 2018;160:441–451. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2018.07.045>
11. Da Costa RMF, Pattathil S, Avci U, Winters A, Hahn MG, Bosch M. Desirable plant cell wall traits for higher-quality miscanthus lignocellulosic biomass. *Biotechnology for Biofuels*. 2019;12(1). Article: 85. 18 p. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1426-7>
12. Pavlov IN, Denisova MN, Makarova EI, Budaeva VV, Sakovich GV. Versatile thermobaric setup and production of hydrotropic cellulose therein. *Cellulose Chemistry and Technology*. 2015;49(9-10):847–852
13. Batista GO, Souza RBA., Pratto B, Dos Santos-Rocha MSR, Cruz AJG. Effect of severity factor on the hydrothermal pretreatment of sugarcane straw. *Bioresource Technology*. 2019;275:321–327. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.073>
14. Sabanci K, Buyukkileci AO. Comparison of liquid hot water, very dilute acid and alkali treatments for enhancing enzymatic digestibility of hazelnut tree pruning residues. *Bioresource Technology*. 2018;261:158–165. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.03.136>
15. Kashcheyeva EI, Budaeva VV. Determination of the reactivity of cellulosic substrates towards enzymatic hydrolysis. *Zavodskaya laboratoriya. Diagnostika materialov* = Industrial Laboratory. Diagnostics of Materials. 2018;84(10):5–11. (In Russian) <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2018-84-10-5-11>
16. Miller GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*. 1959;31(3):426–428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
17. Michelin M, Teixeira JA. Liquid hot water pretreatment of multi feedstocks and enzymatic hydrolysis of solids obtained thereof. *Bioresource Technology*. 2016;216:862–869. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.018>
18. Moniz P, Pereira H, Duarte LC, Carneiro F. Hydrothermal production and gel filtration purification of xylo-oligosaccharides from rice straw. *Industrial Crops and Products*. 2014;62:460–465. <https://doi.org/10.1016/j.ind-crop.2014.09.020>
19. Liu L, Liu W, Hou Q, Chen J, Xu N. Understanding of pH value and its effect on autohydrolysis pretreatment prior to poplar chemithermomechanical pulping. *Bioresource Technology*. 2015;196:662–667. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.034>
20. Podgorbunskikh EM, Ryabchikova EI, Bychkov AL, Lomovskii OI. Changes in structure of cell wall polymers in thermomechanical treatment of highly lignified plant feedstock. *Doklady Physical Chemistry*. 2017;473(1):49–51. <https://doi.org/10.1134/S0012501617030046>
21. Ko JK, Kim Y, Ximenes E, Ladisch MR.

Effect of liquid hot water pretreatment severity on properties of hardwood lignin and enzymatic hydrolysis of cellulose. *Biotechnology and Bioengineering*. 2015;112(2):252–262. <https://doi.org/10.1002/bit.25349>

22. Gan S, Zakaria S, Chen RS, Chia CH, Padzil FNM, Moosavi S. Autohydrolysis processing as an alternative to enhance cellulose solubility and preparation of its regenerated bio-based materials. *Materials Chemistry and Physics*. 2017;192:181–189. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2017.01.012>

Критерии авторства

Павлов И.Н. выполнил экспериментальную работу, на основании полученных результатов провел обобщение и написал рукопись. Автор несет полную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Автор прочел и одобрил окончательный вариант рукописи.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ

Павлов Игорь Николаевич,
к.т.н., доцент,
старший научный сотрудник,
Институт проблем химико-энергетических технологий СО РАН,
659322, г. Бийск, ул. Социалистическая, 1,
Российская Федерация,
e-mail: pawlow-in@mail.ru

23. Zhu R, Yadama V. Effects of hot water extraction pretreatment on physicochemical changes of Douglas fir. *Biomass and Bioenergy*. 2016;90:78–89. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.03.028>

24. Chena T-Y, Wena J-L, Wanga B, Wanga H-M, Liub C-F, Suna R-C. Assessment of integrated process based on autohydrolysis and robust delignification process for enzymatic saccharification of bamboo. *Bioresource Technology*. 2017;244:717–725. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.032>

Contribution

Igor N. Pavlov carried out the experimental work, analyzed the experimental results and prepared the text of the manuscript. Igor N. Pavlov has exclusive author's rights and bears responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The author declares no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by the author.

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Igor N. Pavlov,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Senior Research Scientist,
Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies SB RAS,
1, Sotsialisticheskaya St., Biysk, 659322,
Russian Federation,
e-mail: pawlow-in@mail.ru