

На правах рукописи

Верхотурова Елена Викторовна

**ХИМИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ КОМПОНЕНТОВ СОЛОМЫ
ПШЕНИЦЫ В ДИНАМИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ СУБКРИТИЧЕСКОГО
АВТОГИДРОЛИЗА**

05.21.03 – Технология и оборудование химической переработки
биомассы дерева; химия древесины

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Архангельск – 2017

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Иркутский национальный исследовательский технический университет» на кафедре «Органической химии и пищевой технологии им. профессора В.В. Тутуриной», г. Иркутск

**Научный
руководитель:**

Евстафьев Сергей Николаевич,
доктор химических наук, профессор

**Официальные
оппоненты:**

Рощин Виктор Иванович,
доктор химических наук, старший научный сотрудник,
заведующий кафедрой технологии лесохимических
продуктов, химии древесины и физической химии
ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный
лесотехнический университет им. С.М. Кирова»
(г. Санкт-Петербург)

Рязанова Татьяна Васильевна,
доктор технических наук, профессор, заведующая
кафедрой химической технологии древесины и био-
технологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный
аэрокосмический университет имени академика М.Ф.
Решетнева» (г. Красноярск)

**Ведущая
организация:**

**ФГБУН «Иркутский институт химии
им. А.Е. Фаворского» СО РАН, г. Иркутск**

Защита состоится «__» _____ 2017 г. в __ ч __ мин на заседании диссертационного совета Д 212.008.02 по химическим наукам при ФГАОУ ВО «Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова» по адресу: 163002, г. Архангельск, Набережная Северной Двины, 17, ауд. ____

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке ФГАОУ ВО «Северный (Арктический) Федеральный университет имени М.В. Ломоносова» и на сайте www.narfu.ru. Текст автореферата размещен на сайте ВАК России <http://vak.ed.gov.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2017 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат химических наук, доцент

Т.Э. Скребец

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Предложенные на сегодняшний день технологии переработки лигноцеллюлозы в биотопливо не конкурентоспособны, и требуют существенной доработки, и, прежде всего, на стадии предобработки сырья. В связи с этим проводятся интенсивные исследования, направленные на создание экологически чистых технологий, обеспечивающих комплексное использование биомассы растительного сырья с получением не только сахаров для ферментации, но и продуктов для медицинской, парфюмерной и химической промышленности.

В этом плане одним из многообещающих методов предобработки является субкритический автогидролиз с использованием в качестве растворителя воды, обладающей в условиях процесса уникальными свойствами, обеспечивающими разделение лигноуглеводного комплекса с получением целлюлозы, раствора сахаров и продуктов фрагментации лигнина.

Научные основы процесса субкритического автогидролиза разрабатываются во многих странах. Тем не менее, в литературе нет достаточных сведений о направлениях химических превращений компонентов соломы пшеницы в динамических условиях этого вида предварительной обработки и о составе жидких и твердых продуктов, получаемых при вариации условий эксперимента. Эти сведения необходимы для разработки научных основ экологически чистой технологии комплексной утилизации биомассы соломы в ценные химические продукты на основе процесса субкритического автогидролиза.

В связи с чем систематическое исследование химических превращений компонентов соломы в условиях субкритического автогидролиза, а также состава органических соединений, образующихся при вариации режимов его осуществления, является актуальной задачей.

Степень разработанности. Большая часть известных в литературе исследований субкритического автогидролиза соломы злаковых культур выполнена в статических условиях в реакторах пакетного типа, не обеспечивающих контроль давления. Это не позволило авторам четко выявить влияние давления на выход и состав продуктов превращения компонентов соломы. Кроме того, относительно жесткие температурные условия обработки растительного сырья приводили к получению низкомолекулярных продуктов превращения, что существенно затрудняет сравнительный анализ полученных результатов и разработку научных основ процесса. Вероятно, при проведении эксперимента целесообразно предусмотреть снижение продолжительности нахождения продуктов автогидролиза в реакторе, что может быть реализовано при проведении обработки в динамических условиях.

Тем не менее, на основании имеющихся данных можно утверждать, что использование субкритического автогидролиза для переработки соломы злаковых культур имеет перспективы промышленного использования. Для реализации этого необходимы дополнительные исследования химизма не только самого процесса, но и состава и свойств, образующихся продуктов.

Целью работы является изучение химических превращений компонентов соломы пшеницы в динамических условиях субкритического автогидролиза и их влияния на реакционную способность целлюлозы соломы при ферментативном гидролизе.

В соответствии с поставленной целью были определены **задачи**:

- изучение влияния условий процесса субкритического автогидролиза на выход и состав жидких, твердых и газообразных продуктов превращения биомассы соломы пшеницы;
- исследование состава продуктов превращения полисахаридов соломы пшеницы в условиях процесса;
- исследование состава продуктов фрагментации лигнина соломы пшеницы в условиях процесса;
- изучение влияния окисления соломы пероксидом водорода на скорость и глубину превращения ее биомассы в условиях субкритического автогидролиза;
- исследование влияния предварительной обработки (окислительной, гидротермальной) на реакционную способность целлюлозы соломы при ферментативном гидролизе;
- исследование возможности использования фракций водорастворимых веществ соломы пшеницы для получения молочной кислоты.

Научная новизна. Получены новые данные о химизме превращения основных компонентов соломы пшеницы в динамических условиях субкритического автогидролиза в ценные продукты, такие как сахара, фенолы, карбоновые кислоты и аминокислоты, необходимые для биотехнологической и химической промышленности.

Выявлены зависимости степени конверсии соломы, выхода жидких продуктов и содержания в них сахаров от температуры, продолжительности и давления субкритического автогидролиза в динамических условиях.

Показано, что окисление соломы пероксидом водорода и гидротермальная обработка ее в условиях субкритического автогидролиза существенно повышает реакционную способность целлюлозы соломы при ферментативном гидролизе.

Выполнено математическое описание процесса и установлены оптимальные условия получения сахаров, которые подтверждены экспериментально.

Практическая значимость. Определены оптимальные режимы субкритического автогидролиза пшеничной соломы, обеспечивающие высокий выход сахаров и продуктов фрагментации лигнина.

Полученные в работе результаты могут способствовать дальнейшему коммерческому продвижению процесса субкритического автогидролиза не только соломы пшеницы, но и другого лигноцеллюлозного сырья для производства ценных продуктов.

Методология и методы исследования. Для исследования химического состава жидких и твердых продуктов автогидролиза соломы использованы ме-

тоды ИК-спектроскопии, спектрофотометрии, ГХ-МС и элементного анализа, а также стандартные аттестованные методы аналитической химии.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в подготовке и проведении экспериментов, интерпретации экспериментальных и расчетных данных, анализе и оформлении результатов в виде публикаций и научных докладов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Зависимости степени конверсии соломы пшеницы и выхода жидких продуктов от температуры, продолжительности и давления субкритического автогидролиза в динамических условиях.

2. Результаты исследования химического состава продуктов превращения полисахаридов и лигнина соломы в динамических условиях субкритического автогидролиза.

3. Результаты изучения влияния окислительной и гидротермальной предобработки биомассы соломы на степень ферментализации целлюлозы.

4. Результаты изучения возможности получения молочной кислоты из жидких продуктов автогидролиза соломы.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов и сделанных на их основе выводов обеспечивается значительным объемом проведенной экспериментальной работы, базируется на анализе литературных сведений по использованию субкритического автогидролиза для предподготовки различного лигноцеллюлозного сырья, в том числе и соломы пшеницы, обеспечивается применением современных методов химического анализа и подтверждается публикациями основных результатов работы в рецензируемых печатных изданиях. Основные положения и результаты диссертационной работы были представлены и обсуждены на III и IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Перспективы развития технологии переработки углеводородных, растительных и минеральных ресурсов» (Иркутск, 2013 г., 2014 г.), VI Всероссийской конференции с международным участием «Новые достижения в химии и технологии растительного сырья» (Барнаул, 2014 г.), I и II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы химии и биотехнологии» (Иркутск, 2015 г., 2016 г.), IX Всероссийской научной конференции с международным участием и школе молодых ученых «Химия и технология растительных веществ» (Москва, 2015 г.), Ежегодной международной научно-практической конференции «Биотехнология: наука и практика» (Ялта, 2015 г.), IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биотехнология в интересах экологии и экономики Сибири и Дальнего Востока» (Улан-Удэ, 2016 г.).

Публикации: По материалам диссертации опубликовано 13 научных работ, в том числе 3 статьи в журналах, входящих в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов ВАК РФ и 1 статья в издании, входящем в базу данных SCOPUS.

Структура и объем работы. Диссертационная работа состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов и списка литературы. Содержание работы изложено на 136 страницах печатаного текста, включает 38 рисунков и 29 таблиц, 176 литературных источников отечественных и зарубежных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении раскрыта актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, охарактеризована научная новизна и практическая значимость работы, а также основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе приведен анализ имеющейся информации об особенностях компонентного состава соломы пшеницы и о существующих методах активации растительного сырья для ферментативного гидролиза. Отдельный раздел посвящен применению для этой цели субкритического автогидролиза.

Во второй главе дано описание объектов и методов исследования. Объектом исследования являлась солома пшеницы сорта «Ирень», собранная по окончании вегетационного периода на полях Иркутского района. Для экспериментов использовали чистое, высушенное сырье крупностью 1–5 мм.

Определение содержания компонентов исходной соломы и твердых продуктов субкритической экстракции осуществляли по общепринятым стандартным методикам.

Субкритический автогидролиз проводили в динамических условиях в интервале температур 140–350 °С, при давлении 10, 20 и 30 МПа и продолжительности до 60 мин на лабораторной установке собственной конструкции, гидромодуль – 750–800.

Состав фракций жидких продуктов автогидролиза и продуктов молочнокислого брожения анализировали на хроматографе 7820 А с селективным масс-спектрометрическим детектором HP 5975 фирмы «Agilent Technologies». Элементный состав определяли на приборе Vario micro Cube Elementar, ИК-спектры регистрировали в диапазоне волновых чисел 4000–400 см⁻¹ на спектрометре «IRAffinity-1» с преобразованием Фурье фирмы «SHIMADZU». Оптическую плотность водных растворов жидких продуктов определяли на спектрофотометре «Agilent 8453» фирмы «Agilent Technologies» при длине волны 400 нм.

Для ферментативного гидролиза использовали ферментный препарат «Целлолюкс-А» с целлюлазной активностью 2000 ед/г, а для осуществления молочнокислого брожения – музейную культуру *Lactobacillus plantarum* VKM В-578.

Статистическую обработку полученных данных проводили в компьютерной программе *Excel 2010*.

В третьей главе приведены основные результаты исследования и их обсуждение.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Компонентный состав соломы пшеницы

Использованные в работе образцы соломы содержали, в % на а.с.м.: 38,2 целлюлозы, 21,1 пентозанов и 24,4 лигнина. Влажность – 7,7 %, зольность – 5,7 %. Суммарное содержание полисахаридов в образцах – 59,3 %, из которых около 60 % являются трудногидролизуемыми.

Обработка соломы водой при 98 °С практически не повлияла на содержание основных компонентов. При этом было выделено 15,3 % на а.с.м. водорастворимых веществ, в составе которых более 95 % приходится на моно- и олигосахариды при существенном преобладании последних. Моносахариды представлены глюкозой, фруктозой и галактозой, а в составе олигосахаридов отмечено повышенное содержание остатков арабинозы и ксилозы.

Кроме сахаров в составе водорастворимых веществ и их кислотных гидролизатов присутствуют одноосновные (C_{16} – C_{18}), двухосновные (C_4 – C_9) и трехосновные жирные кислоты, гидроксикислоты, аминокислоты, многоатомные спирты, алканы C_{14} – C_{35} с преобладающим содержанием высокомолекулярных гомологов и фенольные соединения.

Субкритический автогидролиз соломы пшеницы в динамических условиях

При обработке соломы водой в субкритических условиях термические превращения ее биомассы сопровождаются образованием газов, жидких и твердых продуктов, выход и состав которых определяется условиями процесса и, прежде всего, температурой и продолжительностью обработки (рис.1). Влияние давления автогидролиза в исследуемом интервале 10–30 МПа на степень конверсии, выход жидких и газообразных продуктов выражено слабо.

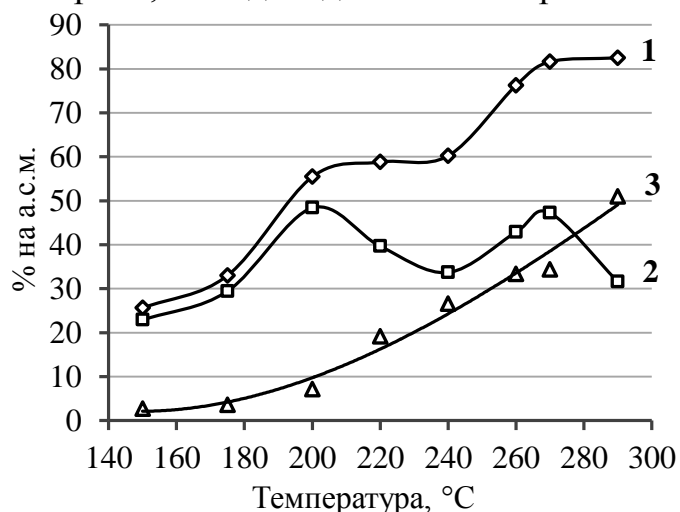


Рисунок 1 – Зависимость степени конверсии соломы (1), выхода жидких продуктов (2) и газов (3) от температуры субкритического автогидролиза (30 МПа, 60 мин)

Максимальная степень конверсии биомассы соломы составила 82,5 % при 290 °С (30 МПа, 60 мин). При дальнейшем повышении температуры интенсивно протекают процессы коксования, сопровождающиеся снижением выхода жидких продуктов и увеличением выхода газа.

Скорость превращения биомассы соломы в исследуемом интервале температур существенно различается. Достаточно высокие скорости наблюдаются в интервале 170–200 °С, что обусловлено гидролизом полисахаридов и, прежде всего, пентозанов (табл. 1).

Протекают также процессы делигнификации соломы, вследствие чего около 35 % лигнина соломы переходит в состав жидких продуктов. В результате при 200 °С (30 МПа, 60 мин) при относительно низком газообразовании (около 7% на а.с.м.) получены максимальные выходы жидких продуктов автогидролиза (48,4 % на а.с.м.) и в их составе водорастворимых сахаров (29,7 % на а.с.м.). Установлено, что независимо от температуры процесса около 60 % жидких продуктов выделяется в первые 20 мин обработки.

Таблица 1 – Компонентный состав твердых продуктов автогидролиза соломы (30 МПа, 60 мин)

Температура, °С	Компонентный состав, %			Степень гидролиза, %		Степень делигнификации, %
	Целлюлоза	Лигнин	Пентозаны	Целлюлоза	Пентозаны	
150	47,7	28,8	16,5	4,7	40,4	9,8
175	52,6	31,8	12,3	7,7	60,9	12,7
200	64,8	35,1	следы	24,4	100,0	33,9
220	61,2	33,4	–	33,9	–	43,5
240	61,5	28,3	–	36,0	–	53,9
270	70,6	54,5	–	65,9	–	58,8
290	54,9	–	–	74,9	–	–

В интервале температур 200–240 °С преобладающими являются термические превращения жидких продуктов автогидролиза. Несмотря на то, что степень гидролиза целлюлозы и степень делигнификации увеличились (каждая примерно на 10 %), выход жидких продуктов снизился до 33,7 % на а.с.м. Как следствие наблюдается практически четырехкратное повышение газообразования, а в составе жидких продуктов снижается доля высокомолекулярных компонентов.

Повышение скорости превращения биомассы соломы, обусловленное, прежде всего, гидролизом целлюлозы, наблюдается в интервале температур 240–270 °С. Побуждающим фактором, наряду с повышенной температурой, является субкритическая вода, проявляющая при температурах выше 200 °С свойства кислотного катализатора. При 270 °С получен достаточно высокий выход жидких продуктов (47,2 % на а.с.м.), но со значительно меньшим содержанием водорастворимых сахаров (около 5 % на а.с.м.). Более 65 % целлюлозы и около 60 % лигнина исходной соломы перешло в состав жидких и газообразных продуктов. При дальнейшем повышении температуры процесса отмечено интенсивное газообразование и коксование продуктов автогидролиза. Доля продуктов гидролиза полисахаридов в жидких продуктах при этом снижается, вследствие их низкой термостойкости, а доля продуктов фрагментации лигнина повышается.

Фракционирование жидких продуктов субкритического автогидролиза

Жидкие продукты автогидролиза были разделены на шесть фракций по схеме, приведенной на рис. 2.

Из раствора жидких продуктов центрифугированием выделяли соединения, нерастворимые при комнатной температуре в воде (фракция НС). Из фильтрата удаляли воду вакуумной перегонкой и лиофильно высушивали. Полученные продукты последовательно экстрагировали гексаном, этанолом и водой при температуре кипения растворителей. Продолжительность каждой экстракции – 60 мин. После отгона растворителей получали фракции ГЭ, ЭНП, НВР и ЭЛ.

Этаноллигнин растворяли в этаноле и добавляли трехкратный объем воды. Полученный раствор оставляли при комнатной температуре в темном месте на 12 ч для осаждения фракции ЭЛ-1, которую затем выделяли центрифугированием. Из оставшегося раствора отгоняли растворитель на роторном испарителе, полученную фракцию ЭЛ-2 высушивали до постоянной массы и взвешивали.

Согласно результатам исследования состава фракций установлено, что НВР и ЭНП содержали преимущественно продукты гидролиза полисахаридов, а остальные (НС, ГЭ, ЭЛ-1 и ЭЛ-2) – продукты деполимеризации лигнина.



Рисунок 2 – Схема фракционирования жидких продуктов автогидролиза

Состав продуктов гидролиза полисахаридов соломы

По результатам изучения изменения компонентного состава соломы в условиях субкритического автогидролиза установлено, что в интервале температур 150–270 °С основным процессом преобразования ее биомассы является гидролиз полисахаридов. Как следствие, в составе жидких продуктов в преобладающих количествах присутствуют продукты их фрагментации, сконцентрированные преимущественно во фракциях ЭНП и НВР (рис. 3). Максимальный суммарный выход этих фракций был получен при 200 °С и составил 41,7 % на а.с.м.

По данным ГХ-МС основными компонентами фракций ЭНП и НВР, выделенных из жидких продуктов в интервале температур 150–200 °С, являются моносахариды и олигосахариды, причем до 180 °С доля последних составляла более 70 % от суммы углеводов. Моносахариды включают ксилозу, арабинозу, глюкозу, галактозу, фруктозу, маннозу и рамнозу (табл. 2). После кислотного гидролиза олигосахаридов качественный состав моносахаридов не меняется, но существенно возрастает доля пентоз, представленных ксилозой и арабинозой, и снижается доля фруктозы, вероятно, в результате изомеризации в кислой среде с образованием глюкозы.

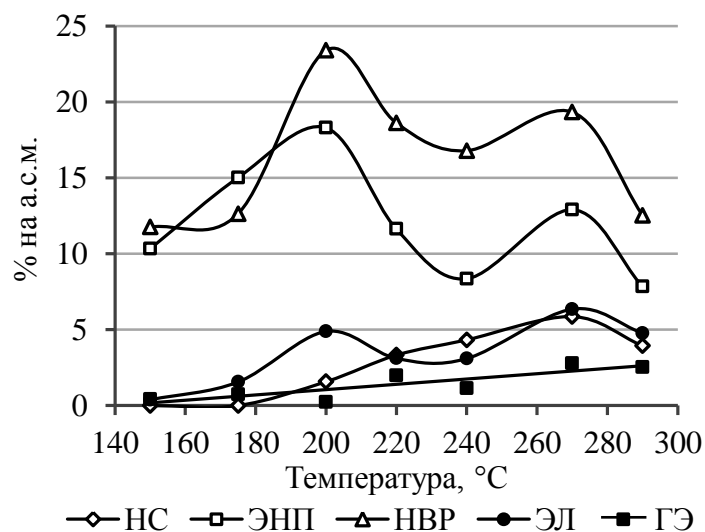


Рисунок 3 – Фракционный состав жидких продуктов автогидролиза соломы пшеницы (30 МПа, 60 мин)

Наблюдаемые изменения состава моносахаридов в гидролизатах фракций НВР и ЭНП являются следствием процессов, протекающих в определенных температурных интервалах автогидролиза соломы. Так, преобладающее содержание арабинозы и ксилозы в гидролизатах фракций водорастворимых соединений, выделенных до 200 °С, подтверждает предположение о том, что в этом интервале температур процесс гидролиза пентозанов является доминирующим. Снижение их

выхода и содержания во фракциях при повышении температуры до 240 °С вызвано, возможно, протеканием реакций дегидратации.

Таблица 2 – Состав моносахаридов исходных фракций НВР и ЭНП и их гидролизатов, в % масс. (30 МПа, 60 мин)

Фракция	Температура, °С	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc	Fru	Rha
НВР	150	17,40	14,50	0,43	4,42	45,50	1,90	0,90
	175	19,30	24,20	0,40	4,28	29,70	2,00	1,20
	200*	15,00	13,00	0,30	2,79	19,90	10,00	0,30
	200	14,20	35,10	0,28	3,92	20,40	2,00	1,10
	220	2,04	14,20	0,18	1,70	24,80	0,78	0,11
	270	1,10	3,90	0,22	0,54	15,10	–	–
	290	0,40	2,30	0,03	0,72	3,10	–	–
ЭНП	150	15,50	25,80	0,36	5,16	27,00	3,80	1,70
	200*	0,80	0,70	–	0,11	0,90	0,20	–
	200	16,80	26,90	0,24	2,99	14,60	1,90	–
	220	0,76	8,50	0,11	1,10	22,30	0,48	0,11
	270	0,30	0,60	–	0,17	8,70	–	–

* исходные фракции

При температурах процесса более 200 °С на фоне существенного снижения выхода сахаров в их составе уменьшается доля пентоз при одновременном

повышении содержания гексоз до 70–80 % от суммы полученных сахаров, что является следствием гидролиза целлюлозы соломы. С учетом индивидуального состава, сахара, полученные при температуре автогидролиза 270 °С, могут быть рекомендованы в качестве сырья для спиртового брожения.

Содержание сахаров в составе жидких продуктов автогидролиза в интервале температур 150–270 °С проходит через максимум при 200 °С и составляет 29,7 % на а.с.м. соломы (рис.4). При последующем повышении температуры до 270 °С их выход снижается до 5,3 %.

Методом математического моделирования проведена оптимизация параметров автогидролиза для получения максимального выхода сахаров в составе жидких продуктов. В результате установлено соответствие расчетных и экспериментальных данных.

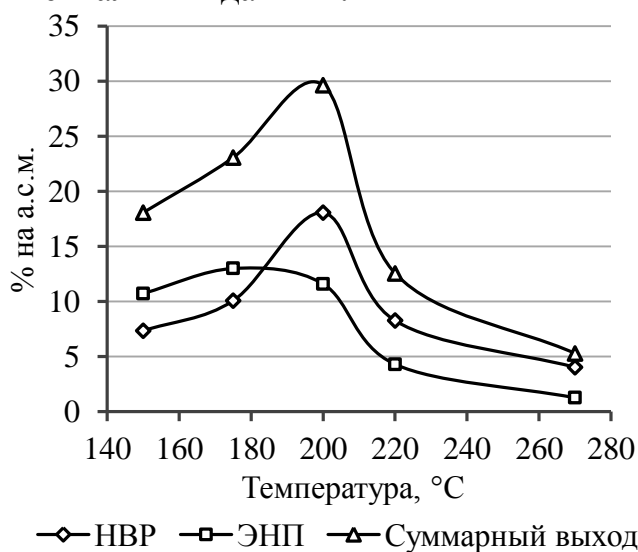


Рисунок 4 – Зависимость содержания сахаров в составе жидких продуктов от температуры субкритического автогидролиза

Установлено также, что увеличение продолжительности от 10 до 60 мин и давления от 10 до 30 МПа в исследуемом интервале температур способствует повышению суммарного выхода сахаров в составе жидких продуктов автогидролиза.

Характер ИК-спектров фракций НВР и ЭНП свидетельствует о полифункциональности входящих в их состав компонентов. При исследовании их состава методом ГХ-МС установлено, что наряду с гидролизом полисахаридов в интервале температур 150–200 °С протекают процессы, сопровождающиеся

образованием одно-, двух - и трехосновных карбоновых кислот, гидроксикислот, аминокислот, многоатомных спиртов, лактонов и фенольных соединений. Максимальное содержание аминокислот в жидких продуктах автогидролиза получено при 140 °С (10 мин). Среди семи идентифицированных аминокислот (валин, серин, пролин, треонин, фенилаланин, глицин и аминомалоновая кислота), две являются незаменимыми (треонин, фенилаланин) и одна условно заменимая (серин). Снижение выхода аминокислот и сахаров может быть следствием протекания реакций меланоидинообразования. В результате при повышении температуры процесса наблюдается потемнение раствора жидких продуктов автогидролиза.

Образование карбоновых кислот, гидроксикислот и аминокислот способствовало формированию кислой среды, что могло автокатализировать реакции гидролиза основных компонентов соломы и высокомолекулярных компонентов жидких продуктов.

Состав продуктов фрагментации лигнина

Наряду с процессами гидролитического расщепления полисахаридов при автогидролизе соломы происходит фрагментация лигнина, но менее интенсивно. Заметное повышение степени делигнификации соломы наблюдается при температурах выше 170 °С. При 200 °С она составила около 34 %.

Преобладающая часть продуктов фрагментации лигнина в жидких продуктах представлена высокомолекулярными соединениями, которые сконцентрированы преимущественно во фракциях этаноллигнина и НС. Последняя обуславливает мутность жидких продуктов автогидролиза, которая исчезает при их центрифугировании. Согласно данным ИК-спектроскопии соединения фракций имеют, преимущественно, ароматическую природу.

В кислотных гидролизатах фракций НС, выделенных при 200 °С, установлено присутствие моносахаридов (до 20 % на фракцию), среди которых на долю арабинозы и ксилозы приходится до 70 %, что подтверждает информацию о наличии эфирных связей между ксиланом и лигнином в соломе пшеницы. С повышением температуры автогидролиза доля углеводов во фракции НС существенно снижается, предположительно по данным ИК-спектроскопии в результате гидролиза эфирных связей, в том числе β -O-4- или/и α -O-4-эфирных связей лигниновых фрагментов. Ароматические соединения гидролизатов представлены, в основном, 4-гидроксибензойной, 3-метокси-4-гидроксибензойной и 3,5-диметокси-4-гидроксибензойными кислотами. С повышением температуры автогидролиза доля ароматических соединений в гидролизатах возрастает. При температурах выше 290 °С компоненты фракции НС в составе жидких продуктов отсутствуют.

Наиболее представительными фракциями, содержащими продукты фрагментации лигнина, являются фракции этаноллигнина – ЭЛ-1 и ЭЛ-2, различающиеся растворимостью в водно-спиртовой смеси (3:1). Выход фракций этаноллигнина с повышением температуры автогидролиза проходит через максимум при 290 °С. В этих условиях их суммарный выход составил 2,59 % на а.с.м. Последующее повышение температуры процесса сопровождается увеличением выхода низкомолекулярных продуктов деструкции лигнина, в том числе и за счет деструкции компонентов фракций этаноллигнина.

Структурно-химические преобразования компонентов фракции этаноллигнина с повышением температуры сопровождаются снижением степени насыщенности водородом и степени окисленности (табл. 3). Содержание метоксильных групп в образцах, полученных в интервале 150–230 °С, находится в пределах 12,1–22,3 %. Последующее снижение их содержания при повышении температуры автогидролиза может быть следствием протекания реакций деметоксирования. Во фракциях этаноллигнина, полученных при 350 °С, они присутствуют в следовых количествах. По данным ИК-спектроскопии во фракциях, выделенных при температурах выше 270 °С, отмечается снижение доли простых эфирных связей.

Как и во фракции НС, в составе фракций этаноллигнина присутствуют все три типа мооядерных арилпропановых структур: гидроксифенил-, гвая-

цил- и сиригилпропановых. Во фракциях, полученных при температурах выше 270 °С, наблюдается преобладающее содержание ароматических структур гидроксифенильного типа, что также может быть результатом протекания реакций деметоксилирования и, как следствие, снижением содержания структур гваяцильного и сиригильного типа, причем в большей степени сиригильных единиц.

Таблица 3 – Характеристика состава фракций этаноллигнина

Температура, °С	Элементный состав, в %					ОСН ₃ , %	(Н/С) _{ар}	(О/С) _{ар}	С ₉ - формула
	С	Н	N	S	O _d				
Фракция ЭЛ-1									
150	59,21	6,49	1,09	0,06	33,15	22,3	1,32	0,42	C ₉ H _{11,8} O _{3,8} (ОСН ₃) _{1,3}
200	65,78	6,31	1,41	0,10	26,4	21,4	1,15	0,30	C ₉ H _{10,4} O _{2,7} (ОСН ₃) _{1,1}
240	61,65	6,00	1,56	0,10	30,69	17,9	1,17	0,37	C ₉ H _{10,5} O _{3,4} (ОСН ₃) _{1,0}
270	66,84	6,19	1,63	0,05	25,29	6,6	1,11	0,28	C ₉ H _{10,0} O _{2,6} (ОСН ₃) _{0,3}
330	69,46	6,17	3,38	0,68	20,99	4,3	1,07	0,23	C ₉ H _{9,6} O _{2,0} (ОСН ₃) _{0,2}
Фракция ЭЛ-2									
150	61,16	6,55	0,97	0,26	31,1	12,7	1,29	0,38	C ₉ H _{11,6} O _{3,4} (ОСН ₃) _{0,7}
200	61,50	5,71	1,60	0,10	31,1	13,8	1,11	0,38	C ₉ H _{10,0} O _{3,4} (ОСН ₃) _{0,8}
240	66,31	5,99	1,60	0,21	25,9	12,1	1,08	0,29	C ₉ H _{9,8} O _{2,6} (ОСН ₃) _{0,6}
270	65,22	5,84	1,83	0,06	27,0	9,1	1,07	0,31	C ₉ H _{9,7} O _{2,8} (ОСН ₃) _{0,5}
330	65,38	6,03	3,23	0,18	25,2	1,6	1,11	0,29	C ₉ H _{10,0} O _{2,6} (ОСН ₃) _{0,1}

Низкомолекулярные продукты фрагментации лигнина сконцентрированы во фракции ГЭ, выход которой и содержание в ней ароматических соединений с повышением температуры эксперимента возрастает (рис. 5).

Доля ароматических соединений во фракции ГЭ водного экстракта, выделенного при 98 °С, составляет не более 3,0 %. В их составе в преобладающих количествах присутствует ванилин, остальная часть представлена гваяцильными фенолами (4-винилгваяколом, ванилином и изоевгенолом), сиригильным фенолом (ацетосиригеном) и его метиловым эфиром (3,4,5-триметоксиацетофеноном).

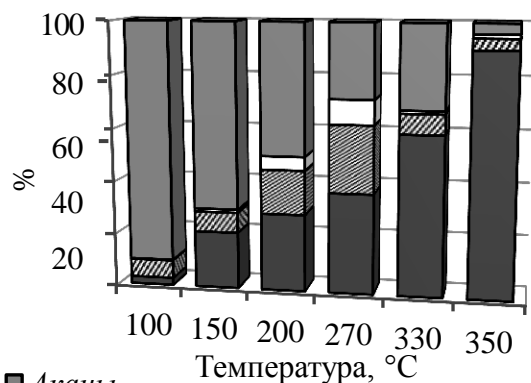


Рисунок 5 – Компонентный состав гексановых экстрактов в зависимости от температуры автогидролиза

В условиях субкритического автогидролиза при 200 °С (30 МПа, 60 мин) доля ароматических соединений во фракции возрастает до 29 %, в том числе и за счет извлечения новых компонентов: гидрокоричной кислоты, изованилина, ацетогваякола, гваяцилацетона, сиригола, сиреневого альдегида, метоксиэвгенола, вератрил-ацетона и 3-гваяцилпропена, 1,2,3-триметоксибензола и 1,2,3-триметокси-5-метилбензола. Преобладающее содержание ванилина и гваяцильных фенолов сохраняется.

В интервале температур 200–350 °С на фоне существенного увеличения выхода фракции ГЭ до 1,43 % на а.с.м. в его составе наблюдается повышение доли ароматических соединений до 92,5 % отн., а также преобладающее содержание в их составе сиригильных фенолов, прежде всего, сиригола и относительно высокое содержание вератровых фенолов. Изменяется не только относительное количественное содержание фенолов, но и их качественный состав. Появились бензойная, ванилиновая, изованилиновая, коричная и феруловая кислоты, гваяцилметанол, гваяцилэтан, вератрилэтанон, 2-гидрокси-3-метокси-фенол, 3-вератрилпропен и другие.

Присутствие коричной, гидрокоричной и феруловой кислот, гваяцил- и сиригилацетонов обусловлено деструкцией в составе лигнинов β -O-4-связей, а повышение доли соединений с короткой боковой цепочкой в составе фенолов, выделенных при температурах выше 270 °С, может быть следствием протекания в условиях автогидролиза реакций деструкции бокового радикала и деалкилирования.

Влияние предварительного окисления соломы на ее реакционную способность в условиях субкритического автогидролиза

Существенное увеличение выхода жидких продуктов из биомассы соломы и повышение реакционной способности целлюлозы и лигнина в условиях процесса субкритического автогидролиза удалось добиться при двухстадийном проведении процесса. На первой стадии – окисление 30 %-м пероксидом водорода при 98 °С, а на второй – субкритический автогидролиз при 200 °С (30 МПа, 10 мин). При этом суммарный выход жидких продуктов – 68,4 % на а.с.м. соломы, а степень делигнификации составила 43,4 % (табл. 4). Для исходной соломы, обработанной водой в тех же условиях, они были ниже и составляли 44,4 и 27,4 % соответственно. Проведение автогидролиза окисленной соломы в динамических условиях при температуре 200 °С позволило получить твердый остаток с достаточно высоким содержанием целлюлозы, низким – лигнина, который может быть использован для получения сахаров.

Таблица 4 – Компонентный состав твердых остатков автогидролиза окисленной соломы

Концентрация H ₂ O ₂ , %	Условия автогидролиза*	Степень конверсии, % на а.с.м.**	Выход газов, % на а.с.м.	Компонентный состав, %		Степень гидролиза целлюлозы %	Степень делигнификации %**
				Целлюлоза	Лигнин		
10	280/10	54,4/75,9	38,0	44,9	48,1	71,7	40,2/52,5
20	280/10	64,0/86,8	47,3	8,7	73,7	96,9	49,0/60,3
30	280/10	68,1/91,2	46,2	5,3	85,3	98,7	55,4/69,3
30	200/60	53,8/76,9	3,6	76,8	18,3	10,1	17,9/43,4
30***	280/10	38,0/61,1	13,6	67,9	17,4	28,1	57,1/70,9

* 280/10: в числителе температура, °С; в знаменателе продолжительность, мин. Давление во всех экспериментах составляло 30 МПа

**в числителе при автогидролизе (этанализе), в знаменателе – суммарная с предварительным окислением;

***сверхкритический этанализ.

Предварительное окисление повысило реакционную способность целлюлозы при температуре автогидролиза 280 °С. В этих условиях для образца окисленной соломы получена степень ее гидролиза, близкая к 100 %, в то время как для исходной соломы в этих условиях она не превышала 75 %. Как следствие, твердые продукты автогидролиза практически не содержат полисахаридов и более чем на 85 % представлены лигнином.

Замена воды на этанол при 280 °С позволила из образца соломы, окисленной 30 %-м пероксидом водорода, при существенно меньшем газообразовании получить твердый продукт с относительно высоким содержанием целлюлозы и низким – лигнина. В этих условиях степень гидролиза целлюлозы не превысила 30 %, а суммарная степень делигнификации составила более 70 %.

Влияние условий обработки на реакционную способность целлюлозы соломы при ферментативном гидролизе

Образцы исходной соломы характеризуются низкой реакционной способностью в условиях ферментативного гидролиза. Степень ферментализации целлюлозы исходной соломы при обработке ее препаратом «ЦеллоЛюкс А» в течение 4 ч составила 12,5 %.

Существенное повышение реакционной способности целлюлозы соломы получено после низкотемпературной обработки ее пероксидом водорода. Степень ферментализации соломы, окисленной 30 %-м H_2O_2 , достигла 45,5 %, прежде всего за счет снижения содержания лигнина при окислении. Установлено, что окисление соломы пероксидом водорода практически не вызывает деструкции целлюлозы, но более чем на 30 % снижает содержание лигнина (табл. 5).

Таблица 5 – Компонентный состав окисленной соломы

Концентрация H_2O_2 , %	Выход окисленной соломы, % на а.с.м.	Компонентный состав, %		Степень делигнификации, %
		Целлюлоза	Лигнин	
10	78,5	48,60	24,78	20,5
20	77,1	49,93	24,62	22,1
30	76,9	50,50	21,80	31,2

Выход водорастворимых веществ после окисления соломы был выше по сравнению с низкотемпературной обработкой водой. В их составе, наряду с сахарами, присутствовали, в основном, кислородсодержащие соединения: карбоновые кислоты, кетоны, альдегиды, сложные эфиры и фенольные соединения.

Содержание целлюлозы в твердых продуктах автогидролиза соломы, несмотря на ее гидролиз, в интервале температур 150–270 °С повышается (табл. 1). В процессе автогидролиза она очищается от примесей гемицеллюлозы и лигнина и, поэтому, имеет повышенную реакционную способность в условиях ферментативного гидролиза (рис. 6).

Установлено, что степень ферментализации целлюлозы твердых остатков с повышением температуры автогидролиза в интервале 150–200 °С при постоянном давлении (30 МПа) и продолжительности (60 мин) увеличивается.

При 200 °С она достигает максимума в исследованных условиях процесса автогидролиза, который в 2,7 раза превышает степень ферментализации исходной

соломы. При этом из твердых остатков получен максимальный выход редуцирующих сахаров – около 10 % на а.с.м. соломы.

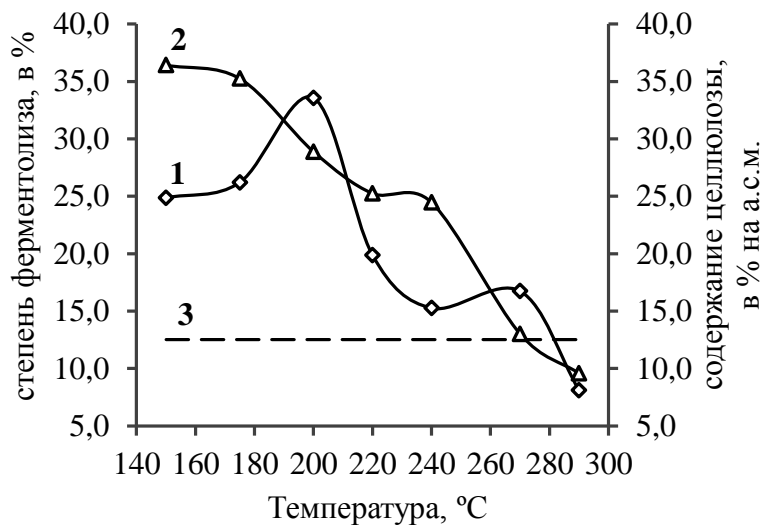


Рисунок 6 – Зависимость степени ферментативного гидролиза твердых продуктов (1) и содержания в них целлюлозы (2) от температуры обработки, (3) – степень ферментативного гидролиза исходной соломы пшеницы

Снижение степени ферментализации целлюлозы твердых остатков, полученных при температурах более 200 °С, можно объяснить тем, что кислотный гидролиз при автогидролизе протекал преимущественно по аморфным участкам целлюлозы. Как следствие происходит повышение степени кристалличности целлюлозы и снижение ее реакционной способности. При температурах более 290 °С в твердых остатках соломы наблюдается повышенное

содержание лигнина, что также негативно влияет на ферментализацию целлюлозы.

Изменение давления и продолжительности обработки соломы также оказывает влияние на степень ферментативного гидролиза и выход редуцирующих веществ. Так, при повышении давления от 10 до 30 МПа (200 °С, 10 мин) степень ферментализации увеличилась от 19,1 до 33,6 %, а при увеличении продолжительности обработки с 10 до 60 мин (200 °С, 30 МПа) – от 28,8 до 33,6 %.

Молочнокислородное сбраживание жидких продуктов субкритического автогидролиза соломы пшеницы

Относительно высокий выход водорастворимых сахаров (29,7 % на а.с.м.), полученный при 200 °С (30 МПа, 60 мин), является многообещающим фактором для бродильных производств. Высокое содержание пентоз в составе сахаров исходных фракций и их гидролизатов (табл. 2) делает их мало пригодными для спиртового брожения, но может быть использовано для получения молочной кислоты. Кроме того, в составе сбраживаемых фракций присутствуют аминокислоты, многоатомные спирты и органические кислоты, являющиеся дополнительными элементами питательной среды для молочнокислых бактерий.

С культурой молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* выполнено молочнокислородное брожение на среде МРС с использованием в качестве источника углерода гидролизатов фракций НВР и ЭНП, а также химически чистых соединений (глюкозы и смесей сахаров, соответствующих по составу моносахаридам гидролизатов фракций НВР (СМ-2) и ЭНП (СМ-3)). Состав смесей был рассчитан таким образом, чтобы суммарное содержание моносахаридов в них состав-

ляло 20 г/л. Гидролизаты были приготовлены из исходных фракций НВР и ЭНП, полученных при 200 °С (30 МПа, 60 мин).

При сбраживании глюкозы через 72 ч количество молочной кислоты достигло 17,8 г/л, что составило 89 % от теоретического выхода (рис.7). При сбраживании искусственных смесей моносахаридов СМ-2 и СМ-3 выход молочной кислоты был ниже: 9,1 и 8,6 г/л соответственно. Это составило 74–80 % от теоретического выхода.

Выход молочной кислоты при сбраживании гидролизатов фракций НВР и ЭНП оказался в 3–4 раза ниже в сравнении с брожением на искусственных смесях моносахаридов. Большой выход молочной кислоты наблюдался при

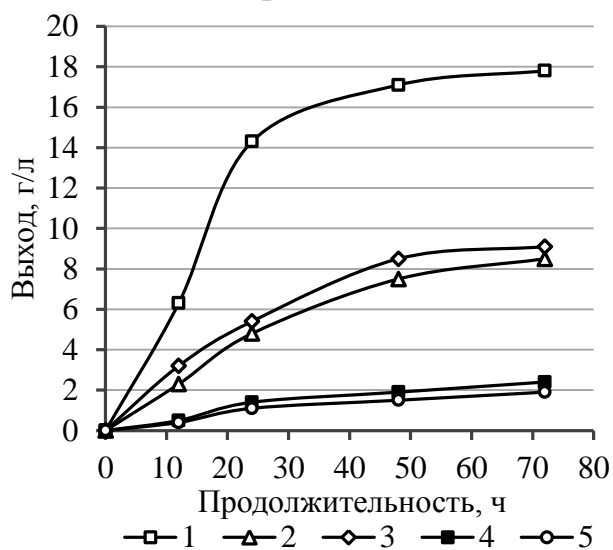


Рисунок 7 – Зависимость выхода молочной кислоты от природы источника углерода и продолжительности брожения:
 1 – глюкоза; 2 – СМ-2; 3 – СМ-3;
 4 – гидролизат фракции НВР;
 5 – гидролизат фракции ЭНП

сбраживании гидролизата фракции НВР и составил 2,4 г/л или 21 % от теоретического выхода.

Причиной низкого выхода молочной кислоты при сбраживании гидролизатов, является, вероятно, наличие в их составе ингибиторов процесса брожения, которыми могут быть водорастворимые продукты фрагментации лигнина, с содержанием до 10,4 % от суммы идентифицированных соединений. В составе фенольных соединений фракций присутствуют 3-гидрокси-бензойная, 3-метокси-4-гидроксифенилпропановая, анисовая и сиреневая кислоты, 4-гидроксибензальдегид, 3,5-диметокси-4-гидроксибензальдегид, 3-гидрокси-ацетофенон и др.

Выводы:

1. Установлено, что основными направлениями химических превращений компонентов соломы пшеницы в динамических условиях субкритического автогидролиза в интервале температур 150–350 °С являются: гидролиз полисахаридов, деполимеризация лигнина, термическое разложение, дегидратация и конденсация жидких продуктов.

2. Выявлено, что в интервале 150–270 °С доминирующим процессом является гидролиз полисахаридов с образованием олиго- и моносахаридов, выход и состав которых определяется температурой и продолжительностью процесса. Методом математического моделирования установлены и экспериментально подтверждены оптимальные условия получения сахаров.

3. Установлено, что в составе продуктов деполимеризации лигнина соломы преобладают высокомолекулярные соединения, часть которых имеет лигноуглеводную природу. С повышением температуры в результате гидролиза

эфирных связей, деметоксилирования и деалкилирования в их составе снижается доля углеводной части и повышается доля ароматических фрагментов Н-типа. Низкомолекулярные продукты фрагментации лигнина представлены гваяцильными, сиригильными и вератровыми фенолами.

4. Предложенная схема обработки соломы пшеницы, включающая на первой стадии окисление пероксидом водорода, на второй – субкритический автогидролиз, позволила практически в два раза увеличить выход жидких продуктов, в 1,5 раза – степень делигнификации соломы и получить твердый продукт с высоким содержанием целлюлозы и низким – лигнина.

5. Установлено, что предварительная окислительная обработка соломы пероксидом водорода и гидротермальная обработка в субкритических условиях автогидролиза способствуют повышению степени ферментативного гидролиза целлюлозы соломы в 2,7–3,6 раза.

6. Показана принципиальная возможность использования продуктов субкритического автогидролиза соломы пшеницы в качестве сырья для биосинтеза молочной кислоты.

Список публикаций по теме диссертации

1. Евстафьев С.Н. Состав продуктов делигнификации соломы пшеницы в условиях субкритического автогидролиза / С.Н. Евстафьев, Е.В. Чечикова // Вестник ИрГТУ. – 2015. – № 11 (106) – С. 111–118.

2. Верхотурова Е.В. Состав высокомолекулярных продуктов фрагментации лигнина соломы пшеницы в динамических условиях субкритического автогидролиза / Е.В. Верхотурова, С.Н. Евстафьев // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2016. – № 2 (6) – С. 30–37.

3. Верхотурова Е.В. Биосинтез молочной кислоты на основе продуктов автогидролиза соломы пшеницы / Е.В. Верхотурова, Т.С. Лозовая, С.Н. Евстафьев // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2016. – № 3 (6) – С. 30–37.

4. Евстафьев С.Н. Превращения полисахаридов соломы пшеницы в динамических условиях процесса субкритического автогидролиза / С.Н. Евстафьев, Е.В. Чечикова // Химия растительного сырья. – 2015. – № 1 – С. 41–49.

5. Чечикова Е.В. Изучение поведения компонентов соломы пшеницы в условиях субкритического автогидролиза / Е.В. Чечикова, С.Н. Евстафьев, Н.В. Зорина // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2013. – № 1 (4) – С. 42–46.

6. Чечикова Е.В. Продукты превращения углеводов соломы пшеницы / Е.В. Чечикова, С.Н. Евстафьев // Актуальная биотехнология: материалы III ежегодной междунар. науч.-практ. конф. «Биотехнология: наука и практика». – 2015. – № 3 (14). – С. 84–85.

7. Чечикова Е.В. Субкритический автогидролиз соломы пшеницы / Е.В. Чечикова, Н.В. Зорина, С.Н. Евстафьев // Перспективы развития технологии переработки углеводородных, растительных и минеральных ресурсов: ма-

териалы III Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – 25–26 апреля 2013. – Иркутск: Изд-во ИрГТУ. – С. 215–217.

8. Чечикова Е.В. Влияние температуры субкритического автогидролиза в динамических условиях на выход и состав водорастворимых углеводов из соломы пшеницы / Е.В. Чечикова, С.Н. Евстафьев // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: материалы VI Всерос. конф. под ред. Н.Г. Базарновой, В.И. Маркина, 22–24 апреля 2014. – Барнаул: Изд-во Алт. ун-та. – С. 64–66.

9. Чечикова Е.В. Выход и групповой состав продуктов субкритического автогидролиза соломы пшеницы/ Е.В. Чечикова, С.Н. Евстафьев, Н.Н. Самодинская // Перспективы развития технологии переработки углеводородных, растительных и минеральных ресурсов: материалы IV Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, 24–25 апреля 2014. – Иркутск: Изд-во ИрГТУ. – С. 218–221.

10. Чечикова Е.В. Извлечение углеводов из лигноцеллюлозного сырья водой в субкритических условиях/ Е.В. Чечикова, С.Н. Евстафьев, Н.Н. Самодинская // Актуальные проблемы химии и биотехнологии: материалы I Всерос. науч.-практ. конф. – 28–29 апреля 2015. – Иркутск: Изд-во ИРНТУ. – С. 96–99.

11. Чечикова Е.В. Влияние условий обработки соломы пшеницы на выход редуцирующих сахаров при ферментализе / Е.В. Чечикова, С.Н. Евстафьев // Химия и технология растительных веществ: тез. IX Всерос. науч. конф. с междунар. участием и школой молодых ученых. – 28–30 сентября 2015. – Сыктывкар–Москва. – С. 192.

12. Верхотурова Е.В. Анализ гексанорастворимых соединений соломы пшеницы/ Верхотурова Е.В., С.Н. Евстафьев // Актуальные проблемы химии и биотехнологии: материалы II Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием – 27–28 апреля 2016. – Иркутск: Изд-во ИРНТУ. – С. 12–15.

13. Верхотурова Е.В. Молочнокислое брожение продуктов автогидролиза соломы пшеницы / Е.В. Верхотурова, Т.С. Лозовая, С.Н. Евстафьев // Биотехнология в интересах экологии и экономики Сибири и Дальнего Востока: материалы IV Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, 29 июня – 3 июля 2016. – Улан-Удэ: Изд-во ВСГУТУ. – С. 16–18.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах с указанием фамилии, имени, отчества, почтового адреса, адреса электронной почты, наименования организации, должности лица, составившего отзыв, подписанные и заверенные печатью, просим направлять по адресу: 163002, г. Архангельск, Набережная Северной Двины, 17, диссертационный совет Д 212.008.02.