

УДК 663.15

ВЛИЯНИЕ ГИДРОЛИТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ НА СОДЕРЖАНИЕ РЕДУЦИРУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В НЕЙТРАЛЬНО-СУЛЬФИТНЫХ ЩЕЛОКАХ

© Л.А. Мингазова^{1*}, Е.В. Крякунова¹, З.А. Канарская¹, А.В. Канарский¹, И.В. Кручина-Богданов², Е.В. Белкина³

¹ Казанский национальный исследовательский технологический университет, ул. Толстого, 8, Казань, 420015 (Россия),
e-mail: zleisan1@mail.ru

² ООО «АМТ», ул. Новороссийская, 50, Санкт-Петербург, 194021 (Россия)

³ ООО «Прикамский картон», ул. Бумажников, 1, Пермь, 614037 (Россия)

Цель настоящей работы – разработка технологии подготовки нейтрально-сульфитных щелоков, образующихся при получении волокнистых полуфабрикатов – целлюлозы из древесины березы для последующего использования в качестве питательной среды для культивирования микроорганизмов. Кислотный гидролиз проводили при температуре 100 °С при соотношении 10%-ного раствора серной кислоты к пробе щелока 1 : 1. Ферментативный гидролиз нейтрально-сульфитных щелоков осуществляли ферментными препаратами Accellerase XY и Accellerase XC при температуре 50±2 и 60±2 °С. Окончание гидролиза определялось по прекращению увеличения содержания редуцирующих веществ (РВ) в гидролизате. Исходный нейтрально-сульфитный щелок содержал 9.4% сухих веществ, 2.17% редуцирующих веществ, рН 5.3±0.2. Показано, что в результате ферментативного гидролиза происходит снижение содержания нерастворимого сухого остатка в гидролизате до 8.32 и 8.41% соответственно, а при кислотном гидролизе – до 7.8%. Содержание РВ в нейтрально-сульфитном щелоке после кислотного гидролиза увеличивается в среднем в 3 раза, тогда как после ферментативного гидролиза – максимум в 2 раза.

Методом газожидкостной хроматографии было установлено, что в полученных гидролизатах преобладают пентозы. Микробиологическая переработка сред с подобным углеводным составом возможна рядом штаммов микроорганизмов, способных ассимилировать пентозы, например, дрожжеподобными грибами семейства *Saccharomycetaceae* и бактериями семейства *Enterobacteriaceae*.

Ключевые слова: береза, нейтрально-сульфитный щелок, углеводы, кислотный гидролиз, ферментативный гидролиз, редуцирующие вещества.

Введение

Мингазова Лейсан Азатовна – аспирант кафедры пищевой инженерии малых предприятий, e-mail: zleisan1@mail.ru

Крякунова Елена Вячеславовна – доцент кафедры пищевой инженерии малых предприятий, кандидат биологических наук, e-mail: oscillatoria@rambler.ru

Канарская Зося Альбертовна – доцент кафедры пищевой биотехнологии, кандидат технических наук, e-mail: zosya_kanarskaya@mail.ru

Канарский Альберт Владимирович – профессор кафедры пищевой биотехнологии, доктор технических наук, e-mail: alb46@mail.ru

Кручина-Богданов Игорь Вадимович – генеральный директор, кандидат химических наук, e-mail: igogo011@gmail.com

Белкина Екатерина Васильевна – инженер, заведующий исследовательской лабораторией, e-mail: ekaterina.belkina@pcbк.ru

В настоящее время интенсивно развивается биотехнологическая индустрия, позволяющая получать ценнейшие целевые продукты в сочетании с механической и химической переработкой растительного сырья. Комплексная переработка растительного сырья – биорефайнинг – позволяет перейти на инновационный путь решения проблем в экономике и экологии [1].

Следует отметить, что комплексная переработка лесных ресурсов осуществляется с зарождения целлюлозно-бумажной и лесохимической отраслей промышленности, эффективная работа которых насчитывает более столетия. Традиционные технологии получения целлюлозы из древесного

* Автор, с которым следует вести переписку.

сырья и однолетних растений предусматривают последующее использование образующихся вторичных ресурсов. Переработка сульфатных щелоков биохимическими методами на современных предприятиях не производится. Это связано с тем, что образующиеся при сульфатном производстве целлюлозы щелока, содержащие лигнин и углеводы, используют в качестве источника тепловой энергии и для регенерации химических веществ. Получаемую тепловую энергию направляют на производство бумаги и картона, что экономически и экологически целесообразно [2–4].

Наряду с сульфатным способом производства целлюлозы из древесины традиционным способом является сульфитный способ получения целлюлозы. В составе сульфитных щелоков содержатся углеводы, пригодные для утилизации разнообразными видами микроорганизмов. Однако простой отбор щелоков при варке целлюлозы не дает возможности культивирования микроорганизмов по целому ряду причин. Так, известно, что в этих средах нет легкоусваиваемых соединений азота и недостаточно фосфорных соединений, кроме того, отсутствуют биостимуляторы роста и витамины, но самым важным фактором, подавляющим развитие микроорганизмов, является присутствие в этих средах в значительном количестве ингибиторов роста: фурфурола, 5-оксиметилфурфурола, диоксида серы и др. [5–7].

С целью создания питательной среды для культивирования микроорганизмов сульфитные щелока подвергают предварительной очистке. Ранее были предложены многоступенчатые технологии подготовки щелока к биохимической переработке, включающие такие стадии, как улавливание целлюлозного волокна, десульфитация и удаление летучих веществ, окисление сульфитов и фенолов, нейтрализация, введение питательных веществ, осветление и охлаждение [8–10].

Опубликованные данные свидетельствуют о том, что биоресурс сульфитных щелоков используется не в полной мере и разработка способов подготовки сульфитных щелоков для культивирования микроорганизмов находится в постоянном фокусе внимания исследователей [11–12]. В работе [13] показан способ переработки продукта биохимического окисления сульфитных щелоков. Предложенная технология включает стадии: упаривания, смешивания со щелочным реагентом, обработки продукта озono-воздушной смесью, выдерживания при подаче воздуха под давлением при повышенной температуре и охлаждения. Обогащение сульфитных щелоков редуцирующими веществами позволяет эффективно перерабатывать этот субстрат микроорганизмами на этанол и кормовой белок. Одновременно по рассматриваемой биотехнологии получают лигносульфонаты – продукт, востребованный во многих отраслях промышленности.

Несмотря на более эффективное использование сульфитных щелоков по сравнению с сульфатными щелоками, сульфитный способ производства целлюлозы до сих пор недостаточно проработан с точки зрения экологии и регенерации химикатов. Такое положение стимулирует совершенствование методик химической переработки древесины и способствует созданию различных вариантов бисульфитных и нейтрально-сульфитных способов получения волокнистых полуфабрикатов для производства бумаги и картона. Вариации сульфитных способов получения волокнистых полуфабрикатов позволили расширить перечень используемых пород древесины, снизить антропогенную нагрузку на окружающую среду и в некоторых случаях осуществить регенерацию химикатов путем сжигания щелоков [14].

Вместе с тем при всестороннем изучении сульфитных щелоков как сырья для получения питательных сред для микроорганизмов из поля зрения исследователей практически исчезли субстраты, содержащиеся в бисульфитных и нейтрально-сульфитных щелоках. Реальных технических и технологических решений по биохимической переработке бисульфитных и нейтрально-сульфитных щелоков не предлагается. На предприятиях, получающих волокнистые полуфабрикаты бисульфитным и нейтрально-сульфитным способами, отсутствуют биотехнологические производства. При значительном содержании в таких щелоках углеводов – основного источника углерода для микроорганизмов – из них получают только лигносульфонаты, качество которых не соответствует качеству лигносульфонатов, получаемых при биохимической переработке сульфитных щелоков.

Из приведенного выше анализа существующих способов использования щелоков, образующихся при получении целлюлозы из древесины, следует вывод о необходимости создания устойчивой технологии биорефайнинга лигноцеллюлозосодержащих отходов ЦБК, отвечающей современным экономическим и экологическим требованиям и направленной на получение широкого ассортимента таких товарных продуктов, как кормовые добавки для кормления сельскохозяйственных животных, жидкое и газообразное биотопливо (биогаз, биоэтанол и биодизель), различные химические соединения (бутанол, органические кислоты, аминокислоты, ацетон, изопропанол, формиаты, лактаты и т.д.) [15–18].

Цель настоящей работы – разработка технологии подготовки нейтрально-сульфитных щелоков для последующего использования в качестве питательной среды для культивирования микроорганизмов. Для достижения поставленной цели проводили кислотный и ферментативный гидролиз нейтрально-сульфитных щелоков, образующихся при получении волокнистых полуфабрикатов (целлюлозы) из древесины березы.

Экспериментальная часть

Используемый в работе черный щелок, полученный при производстве нейтрально-сульфитной целлюлозы высокого выхода, был предоставлен ООО «Прикамский картон». В качестве сырья для серии нейтрально-сульфитных варок использовали древесину березы. В состав варочного раствора входили сульфит натрия, вода техническая и для забуферивания раствора подавался гидроксид натрия. Содержание SO_2 в варочном растворе составляло 68–72 г/л, температура – не ниже 40 °С, pH – 10.6–10.8. Нейтрально-сульфитная варка осуществлялась при следующих параметрах процесса: давление пара на варку – 7–9 кгс/см², температура варки – 168–175 °С, время варки – 32–40 мин, гидромодуль – 1 : 1, остаточное содержание SO_2 – не менее 3.0 г/л, pH конца варки – не менее 5.0, выход волокнистого полуфабриката – 69.0%, жесткость целлюлозы высокого выхода – 95±5 ед. Каппа. Отработанный нейтрально-сульфитный щелок содержал нерастворимых сухих веществ 9.4%, взвешенных веществ – 1000 мг/л, редуцирующих веществ – 2.17%, имел зольность 27.4%, pH 5.3±0.2.

Для кислотного гидролиза применялась серная кислота по ГОСТ 2184-2013 [19]. Кислотный гидролиз проводили 10%-ным раствором серной кислоты при температуре 100 °С в течение 2 ч. Соотношение объемов раствора кислоты и пробы составляло 1 : 1. Кислотный гидролиз контролировали определением содержания редуцирующих веществ (РВ) и считали окончанным после прекращения увеличения содержания РВ в гидролизате.

Ферментные препараты, используемые для ферментативного гидролиза, характеризовались следующими показателями:

– Accellerase XC, фирмы «DuPont», производства США. Активность: эндоглюканаза 1000–1400 ед./г по КМЦ, кислая ксиланаза 2500–3800 ед./г, оптимальная температура 45–65 °С и pH 3.5–6.5;

– Accellerase XY, фирмы «DuPont», производства США. Активность: эндоглюканаза 1000–1400 ед./г по КМЦ, кислая ксиланаза 20000–30000 ед./г, оптимальная температура 50–75 °С и pH 4.5–7.0.

Ферментативный гидролиз нейтрально-сульфитных щелоков проводили при температурах 50±2 °С и 60±2 °С, pH 5.3±0.2. Расход фермента Accellerase XY составлял 0.03–0.08 мл на грамм абсолютно сухой клетчатки, расход фермента Accellerase XC составлял 0.075–0.1925 мл на грамм абсолютно сухой клетчатки. Ферментативный гидролиз контролировали определением содержания редуцирующих веществ (РВ) и считали окончанным после прекращения увеличения содержания РВ в гидролизате.

Гидролизат отделяли от взвешенных веществ центрифугированием при 7000 мин⁻¹ в течение 10 мин. Определение редуцирующих веществ в гидролизатах проводили следующим методом: к 120 мкл исследуемой пробы добавляли 1200 мкл дистиллированной воды и 600 мкл 3,5-динитросалициловой кислоты (DNSA). Выдерживали пробы 10 мин при 100 °С, затем 5 мин при 0–5 °С. Далее добавляли во все пробы по 6 мл дистиллированной воды и измеряли оптическую плотность при 540 нм при рабочей толщине кюветы 5 мм. В контрольный образец вместо пробы вносили 120 мкл дистиллированной воды [20].

Определение сухого нерастворимого остатка проводили гравиметрическим методом [21].

Анализ состава жидких фаз исходного сырья, кислотного гидролизата и ферментализата определяли методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) триметилсилильных производных [22]. Подготовка пробы осуществлялась следующим образом: экстракт образца в 50%-ном этаноле (1 : 15 вес/объем) высушивали в вакууме при температуре 38 °С, после чего обрабатывали 1,1,1,3,3,3-гексаметилдисилазаном в смеси 1 мл пиридина и 1 мл ацетонитрила в присутствии трифторуксусной кислоты при 60 °С в течение 1 ч. Полученный раствор помещали в пробозадатчик хроматографа GC-2010 (Shimadzu, Япония). Условия анализа: колонка SBP5-25 (25 м×0.25 мм×0.2 мкм); газ-носитель N_2 , 20 см/с; программа температур – 1 мин при 70 °С, подъем 4 °С/мин до 320 °С, 5 мин при 320 °С; температура ввода пробы 240 °С, делитель потока 1 : 30, объем пробы 2 мкл (автоматический пробозадатчик АОС-20i); детектор пламенно-ионизационный, температура 325 °С, скорость подачи водорода 40 мл/мин, азота 25 мл/мин, кислорода 250 мл/мин. Отнесение пиков осуществляли по временам удерживания после серии калибровочных анализов модельных смесей заданного состава. Расчет содержания компонентов по усредненной площади пиков проводили после калибровки по внешнему стандарту.

Обсуждение результатов

При анализе результатов кислотного гидролиза разбавленной серной кислотой нейтрально-сульфитных щелоков с содержанием нерастворимых сухих веществ 9.4% было установлено, что в течение первого часа происходит выделение 90% редуцирующих веществ, тогда как через 2 ч наблюдается максимальный выход редуцирующих веществ (рис. 1).

Повышение эффективности гидролиза высокомолекулярных углеводов в нейтрально-сульфитных щелоках имеет важное практическое значение, поскольку позволяет увеличить выход РВ, однако образующийся гидролизат имеет низкое значение pH 1.5 ± 0.2 и требует дальнейшей нейтрализации и очистки.

Обработка нейтрально-сульфитных щелоков, содержащих высокомолекулярные углеводы, ферментными препаратами Accellerase XC и Accellerase XY приводила к ферментативной деструкции полисахаридов в нейтрально-сульфитных щелоках. Эндоглюканаза (эндо- β -1,4-глюканаза, КМЦаза, целлюлаза) гидролизует внутренние β -1,4-глюкозидные связи, удаленные от концов полимерной цепи целлюлозы, уменьшая степень полимеризации и приводя к образованию коротких волокон целлюлозы и целлоолигосахаридов [23]. Ксиланаза – фермент, осуществляющий деградацию ксилана до ксилозы путем гидролиза β -1,4-связи в ксиланах. Ксиланазы катализируют гидролиз 1,4- β -ксилозидной связи в ксиланах по эндодеполимеризационному механизму [24]. Совместное действие ксиланаз и эндоглюканаз обеспечивает быстрое снижение вязкости обрабатываемых растворов.

Ферментативный гидролиз нейтрально-сульфитных щелоков проводили при температуре 50 ± 2 °C и 60 ± 2 °C с различной концентрацией используемых ферментных препаратов. Как показали проведенные исследования, наибольшее повышение редуцирующих веществ (более чем в 2 раза) наблюдается через 6 ч при применении ферментного препарата Accellerase XC с расходом 0.195 мл/г абсолютно сухого вещества нейтрально-сульфитного щелока.

Следует отметить, что в течение первых 4 ч ферментативного гидролиза происходит интенсивное увеличение РВ, затем интенсивность образования РВ снижается (рис. 2 и 3). При проведении ферментативного гидролиза в промежуток от 4 до 6 ч наблюдается незначительный прирост РВ. По истечении этого времени увеличение РВ прекращается, что можно объяснить исчерпанием в субстрате доступных для ферментативного гидролиза углеводов.

Данные исследования показали, что ферментативный гидролиз можно проводить в менее агрессивных для оборудования условиях, в частности, при pH 5.3 ± 0.2 , что дает преимущество по сравнению с кислотным гидролизом. Однако при кислотном гидролизе образуется большее количество РВ за 2 ч обработки (рис. 1), что является свидетельством более полного расщепления углеводов в нейтрально-сульфитном щелоке.

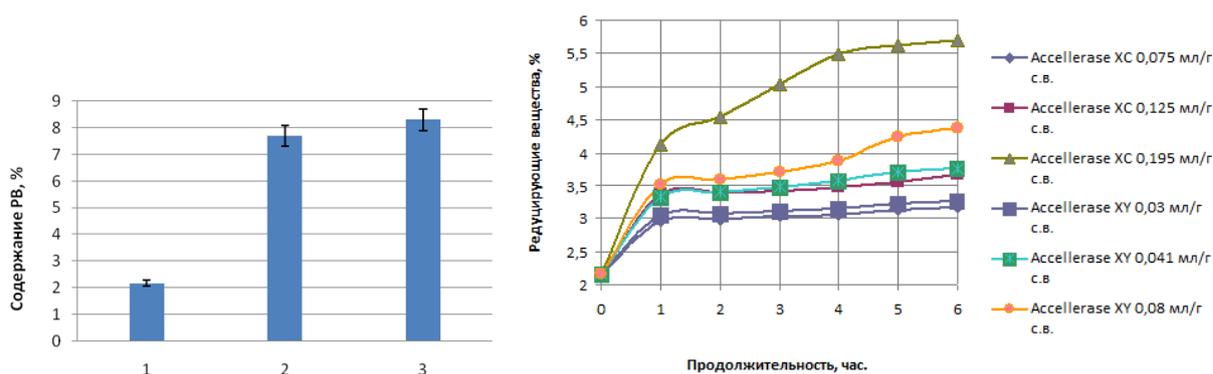


Рис. 1. Зависимость содержания РВ в гидролизате от продолжительности проведения кислотного гидролиза: 1 – исходный нейтрально-сульфитный щелок; 2 – гидролизат после 1 ч кислотного гидролиза; 3 – гидролизат после 2 ч кислотного гидролиза

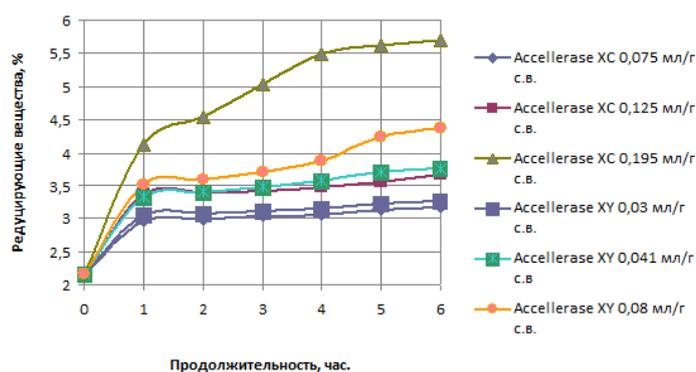
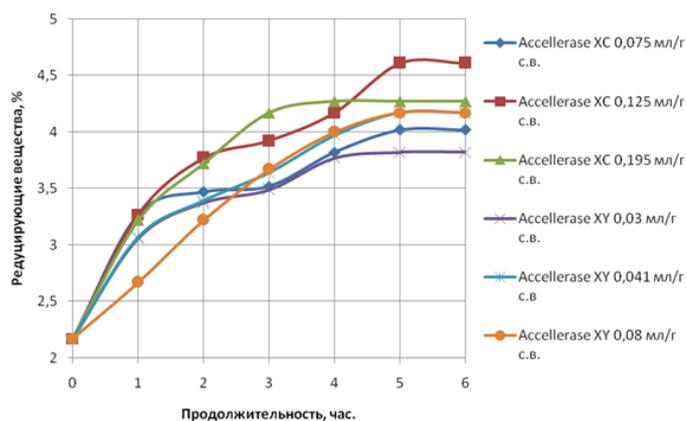


Рис. 2. Влияние продолжительности ферментативного гидролиза нейтрально-сульфитных щелоков на содержание редуцирующих веществ при температуре 50 ± 2 °C

Рис. 3. Влияние продолжительности ферментативного гидролиза нейтрально-сульфитных щелоков на содержание редуцирующих веществ при температуре 60 ± 2 °С



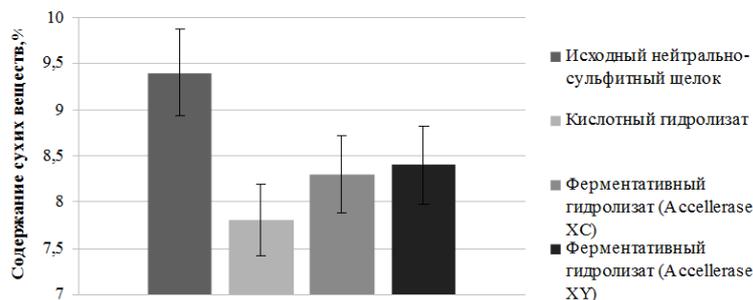
На полноту гидролиза углеводов указывают результаты анализа содержания сухого нерастворимого остатка в гидролизате (рис. 4).

Согласно результатам исследования, исходный нейтрально-сульфитный щелок содержал в своем составе 9.4% сухих нерастворимых веществ. Снижение концентрации сухих нерастворимых веществ до 7.8% при кислотном гидролизе нейтрально-сульфитных щелоков связано с частичным осмолением за счет дегидратации углеводов при кислотном катализе и коагуляции коллоидных веществ.

Следует отметить, что ферментативный гидролиз нейтрально-сульфитных щелоков приводит к незначительному уменьшению сухого нерастворимого остатка: до 8.32% при обработке комплексом ферментов Accellerase XC и до 8.41% – при обработке комплексом ферментов Accellerase XY.

Изменение углеводного состава нейтрально-сульфитного щелока после кислотного и ферментативного гидролиза представлено в таблице.

Рис. 4. Изменение содержания сухого нерастворимого остатка в гидролизатах нейтрально-сульфитного щелока



Состав моно- и дисахаридов нейтрально-сульфитных щелока и его гидролизатов

Углевод	Исходный нейтрально-сульфитный щелок	Кислотный гидролизат нейтрально-сульфитного щелока	Ферментативный гидролизат нейтрально-сульфитного щелока после обработки препаратом Accellerase XC
Арабиноза	1.21	18.56	5.61
2-Дезоксиглюкоза	0.58	0.82	Менее 0.1
Целлобиоза	61.14	Менее 0.1	9.95
Фруктоза	9.04	3.89	4.64
Фукоза	Менее 0.1	Менее 0.1	0.68
Галактоза	2.02	24.59	6.04
Глюкоза	5.21	15.28	8.24
Ликсоза	Менее 0.1	Менее 0.1	0.12
Мальтоза	6.91	Менее 0.1	1.26
Рамноза	1.07	8.31	0.51
Сахароза*	8.92	Менее 0.1	1.61
Сорбоза	0.42	Менее 0.1	Менее 0.1
Ксилоза	3.14	27.60	61.35

* – Вместе с сахарозой суммированы другие дисахариды, которые не были идентифицированы.

Как следует из данных, представленных в таблице, при кислотном гидролизе произошло значительное изменение углеводного состава нейтрально-сульфитного щелока, связанное с расщеплением остаточных гемицеллюлоз до моносахаров. При этом суммарное содержание идентифицированных моносахаридов увеличилось с 5.9 до 6.3%, что соответствует средней степени полимеризации около 3 моносахаридных остатков на молекулу расщепленного олигосахариды.

При ферментативном гидролизе в присутствии препарата Accellerase XC селективно проявилась ксиланазная активность последнего, в результате чего расщеплению до моносахаридов подверглись именно олигосиланы, вклад же других видов ферментативной активности был менее существенен.

В составе полученных гидролизатов преобладают пентозы – ксилоза в ферментативном, ксилоза+арабиноза – в кислотном. Для микробиологической переработки сред с таким углеводным составом необходимо использование штаммов эукариотических и прокариотических микроорганизмов, способных к ассимиляции пентоз. Известно, что в природных экосистемах микробиологическая утилизация лигноцеллюлозосодержащих продуктов осуществляется в 2 этапа. На первом этапе молекулы лигнина, целлюлозы и гемицеллюлоз расщепляются гидролазами мицелиальных грибов, таких как *Trichoderma* sp. (сем. *Hypocreaceae*), *Aspergillus* sp. (сем. *Trichocomaceae*), *Fusarium* sp. (сем. *Nectriaceae*), до моносахаров – пентоз и гексоз. На втором этапе получившиеся пентозно-гексозные субстраты подвергаются биоконверсии разнообразными штаммами бактерий и дрожжей. Использование для биоконверсии моносахаров мицелиальных грибов не рационально, так как у них даже при незначительном снижении процентного содержания кислорода в среде ассимиляция пентоз практически полностью останавливается. Среди дрожжевых грибов семейства *Saccharomycetaceae*, таких как *Candida* sp., *Pichia* sp., *Debaryomyces hansenii*, *Pachysolentanophilus* и др., достаточно часто встречается способность утилизировать L-арабинозу и D-ксилозу, однако даже незначительное снижение степени аэрации среды приводит практически к полной блокировке путей катаболизма D-ксилозы. Многообразие метаболических путей бактерий позволяет утилизировать пентозы даже при полном отсутствии кислорода. К факультативно-анаэробным бактериям, способным ассимилировать L-арабинозу и D-ксилозу, относят: азотофиксирующие бактерии *Azospirillum brasiliense* (сем. *Rhodospirillaceae*), *Herbaspirillum* sp. (сем. *Oxalobacteraceae*), почвенные штаммы *Amphibacillus xylanus* (сем. *Bacillaceae*), *Escherichia coli* (сем. *Enterobacteriaceae*), *Enterobacter aerogenes* (сем. *Enterobacteriaceae*) и т.д. Дрожжевые грибы выгодно отличает от бактерий их ацидофильность и способность сохранять метаболическую активность в присутствии таких токсичных для бактерий соединений, содержащихся в щелоках, как фурфурол, 5-гидроксиметилфурфурол, летучие органические кислоты и т.п. [25].

Выводы

В работе обсуждается способ подготовки нейтрально-сульфитных щелоков, полученных при производстве целлюлозы из древесины березы, для микробиологической переработки.

Показано, что содержание редуцирующих веществ в нейтрально-сульфитном щелоке после кислотного гидролиза увеличивается в среднем в 3 раза, тогда как после ферментативного гидролиза – максимум в 2 раза.

Установлено, что ферментативный гидролиз нейтрально-сульфитных щелоков ферментами Accellerase XC и Accellerase XY приводит к снижению содержания нерастворимого сухого остатка в гидролизате до 8.32 и 8.41% соответственно, а кислотный гидролиз – до 7.8%.

Модифицированные нейтрально-сульфитные щелока рекомендуются для использования в качестве питательной среды для культивирования бактерий и дрожжевых грибов, способных к ассимиляции преобладающих в составе гидролизатов пентоз.

Список литературы

1. Аким Э.Л. Биорефайнинг древесины // Химические волокна. 2016. №3. С. 4–13.
2. Area M.C., Felissia F.E., Nunez C.E., Venica A., Valade J.L. Upgrading spent liquors from NSSC process: III separation of spent liquors components by ultrafiltration // Cellul. Chem. Technol. 2000. Vol. 34. Pp. 173–182.
3. Area M.C., Felissia F.E., Nunez C.E., Venica A., Valade J.L. Upgrading spent liquors from NSSC process: quality and quantity of organic components // Cellul. Chem. Technol. 2000. Vol. 34. Pp. 525–535.
4. Saeed A., Jahan M.S., Li H.M., Liu Z.H., Ni Y.H., van Heiningen A. Mass balances of components dissolved in the pre-hydrolysis liquor of kraft-based dissolving pulp production process from Canadian hardwoods // Biomass Bioenergy. 2012. Vol. 39. Pp. 14–19. DOI: 10.1016/j.biombioe.2010.08.039.

5. Plaza G.A., Wandzich D. Biorefineries – new green strategy for development of smart and innovative industry // Management Systems in Production Engineering. 2016. N3. Pp. 150–155. DOI: 10.2478/mspe-02-03-2016.
6. Carvalheiro F., Duarte L.C., Girio F.M. Hemicellulose biorefineries: a review on biomass pretreatments // Journal of Scientific & Industrial Research. 2008. Vol. 67. Pp. 849–864.
7. Schaidle J.A., Moline C.J., Savage P.E. Biorefinery Sustainability Assessment // Environmental Progress & Sustainable Energy. 2011. Vol. 30. N4. Pp. 743–753. DOI: 10.1002/ep.10516.
8. Hamelinck C.N., van Geertje H., Faaij A. Ethanol from lignocellulosic biomass: Techno-economic performance in short-, middle and long-term // Biomass and Bioenergy. 2005. Vol. 28. Pp. 384–410. DOI: 10.1016/j.biombioe.2004.09.002.
9. Wellisch M., Jungmeier G., Karbowski A., Patel M.K., Rogulska M. Biorefinery systems - potential contributors to sustainable innovation // Biofuels, Bioprod, Biorefining. 2010. Vol. 4. Pp. 275–286. DOI: 10.1002/bbb.217.
10. Bozell J.J. Feedstocks for the Future - Biorefinery Production of Chemicals from Renewable Carbon // CLEAN – Soil, Air, Water. 2008. Vol. 36. Pp. 641–647. DOI: 10.1002/clen.200800100.
11. Schieb P.-A., Philp J.C. Biorefining policy needs to come of age // Trends Biotechnol. 2014. Vol. 32. Pp. 496–500. DOI: 10.1016/j.tibtech.2014.08.006.
12. Stuart P. The forest biorefinery: Survival strategy for Canada's pulp and paper sector? // PulpPapCanada. 2006. Vol. 107. Pp. 13–16.
13. Боголицын К.Г., Резников В.М. Химия сульфитных методов делигнификации древесины. М., 1994. 288 с.
14. Deshpande R., Sundvall L., Grundberg H., Germgard U. The influence of different types of bisulfite cooking liquors on pine wood components // BioRes. 2016. Vol. 11. Pp. 5961–5973. DOI: 10.15376/biores.11.3.5961-5973.
15. Christoph L.P. Integrated Forest Biorefineries: Challenges and Opportunities. Cambridge, 2013. 313 p.
16. Cherubini F., Jungmeyer G., Wellisch M., Willke T., Skiadas I., Van Ree R., de Jong E. Toward a common classification approach for biorefinery systems // Biofuels, Bioprod. Bioref. 2009. Vol. 3. Pp. 534–546. DOI: 10.1002/bbb.172.
17. Demirbas A. Biorefineries: For Biomass Upgrading Facilities. London, 2010. Pp. 75–92.
18. Hamalainen S., Nayha A., Pesonen H.-L. Forest biorefineries – a business opportunity for the Finnish forest cluster // J. Cleaner Prod. 2011. Vol. 19. Pp. 1884–1891. DOI: 10.1016/j.jclepro.2011.01.011.
19. ГОСТ 2184-2013. Кислота серная техническая. М., 2014. 37 с.
20. Морозова Ю.А., Скворцов Е.В., Алимова Ф.К., Канарский А.В. Биосинтез ксиланаз и целлюлаз грибами рода *Trichoderma* на послеспиртовой барде // Вестник Казанского технологического университета. 2012. №19. С. 120–122.
21. Александрова Э.А., Гайдукова Н.Г. Аналитическая химия в 2 книгах. Книга 1. Химические методы анализа. Москва, 2018. 551 с.
22. Мухутдинов Р.Р., Пилипенко Т.В., Кручина-Богданов И.В. Идентификация порошкообразных продуктов методом газовой хроматографии с предварительной дериватизацией проб // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». 2019. №4. С. 75–84. DOI: 10.14529/food190408.
23. Чулкин А.М., Логинов Д.С., Вавилова Е.А., Абянова А.Р., Зоров И.Н., Курзеев С.А., Королева О.В., Беневоленский С.В. Энзимологические свойства эндо-(1-4)-β-глюканазы EGL2P *Penicillium canescens* и характеристика структурного гена EGL2 // Биохимия. 2009. №6. С. 805–813.
24. ГОСТ Р 55302-2012. Ферментные препараты для пищевой промышленности. Метод определения ксиланазной активности. М., 2013. 12 с.
25. Болотникова О.И., Михайлова Н.П., Базарнова Ю.Г., Аронова Е.Б., Болотникова Т.А., Акинина Ю.Н. Проблемы и перспективы использования микроорганизмов для утилизации отходов лигноцеллюлозы // Известия Вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. №4. С. 679–693. DOI: 10.21285/2227-2925-2019-9-4-679-693.

Поступила в редакцию 25 января 2021 г.

После переработки 1 марта 2021 г.

Принята к публикации 14 марта 2021 г.

Для цитирования: Мингазова Л.А., Крякунова Е.В., Канарская З.А., Канарский А.В., Кручина-Богданов И.В., Белкина Е.В. Влияние гидролитической обработки на содержание редуцирующих веществ в нейтрально-сульфитных щелоках // Химия растительного сырья. 2021. №3. С. 309–317. DOI: 10.14258/jcrpm.2021039160.

Mingazova L.A.^{1*}, Kryakunova Ye.V.¹, Kanarskaya Z.A.¹, Kanarskiy A.V.¹, Kruchina-Bogdanov I.V.², Belkina Ye.V.³
 INFLUENCE OF HYDROLYTIC TREATMENT ON THE CONTENT OF REDUCING SUBSTANCES IN NEUTRAL-SULPHITE ALKALI

¹ Kazan National Research Technological University, ul. Tolstogo, 8, Kazan, 420015 (Russia),
 e-mail: zleisan1@mail.ru

² LLC "AMT", ul. Novorossiyskaya, 50, St. Petersburg, 194021 (Russia)

³ LLC "Prikamskiy karton", ul. Bumazhnikov, 1, Perm, 614037 (Russia)

The aim of this work is to develop a technology for the preparation of neutral-sulfite liquors formed during the production of fibrous semi-finished products - cellulose from birch wood - for subsequent use as a nutrient medium for the cultivation of microorganisms. Acid hydrolysis was carried out at a temperature of 100 °C at a ratio of a 10% sulfuric acid solution to a liquor sample of 1 : 1. Enzymatic hydrolysis of neutral sulfite liquors was carried out with the enzyme preparations Accellerase XY and Accellerase XC at 50±2 °C and 60±2 °C. The end of hydrolysis was determined by the cessation of the increase in the content of reducing substances (RS) in the hydrolyzate. The original neutral sulphite lye contained 9.4% dry matter, 21.7 g/l of reducing substances, pH 5.3±0.2. It has been shown that as a result of enzymatic hydrolysis, the content of insoluble dry residue in the hydrolyzate decreases to 8.32% and 8.41%, respectively, and during acid hydrolysis – to 7.8%. The content of RS in neutral sulfite lye after acid hydrolysis increases by an average of 3 times, while after enzymatic hydrolysis - a maximum of 2 times.

It was found by gas-liquid chromatography that pentoses predominate in the obtained hydrolysates. Microbiological processing of media with a similar carbohydrate composition is possible by a number of strains of microorganisms capable of assimilating pentoses, for example, yeast-like fungi of the Saccharomycetaceae family and bacteria of the Enterobacteriaceae family.

Keywords: birch, neutral sulfite lye, carbohydrates, acidic, enzymatic hydrolysis, reducing substances.

References

1. Akim E.L. *Khimicheskiye volokna*, 2016, no. 3, pp. 4–13. (in Russ.).
2. Area M.C., Felissia F.E., Nunez C.E., Venica A., Valade J.L. *Cellul. Chem. Technol.*, 2000, vol. 34, pp. 173–182.
3. Area M.C., Felissia F.E., Nunez C.E., Venica A., Valade J.L. *Cellul. Chem. Technol.*, 2000, vol. 34, pp. 525–535.
4. Saeed A., Jahan M.S., Li H.M., Liu Z.H., Ni Y.H., van Heiningen A. *Biomass Bioenergy*, 2012, vol. 39, pp. 14–19. DOI: 10.1016/j.biombioe.2010.08.039.
5. Plaza G.A., Wandzich D. *Management Systems in Production Engineering*, 2016, no. 3, pp. 150–155. DOI: 10.2478/mspe-02-03-2016.
6. Carvalheiro F., Duarte L.C., Gírio F.M. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 2008, vol. 67, pp. 849–864.
7. Schaidle J.A., Moline C.J., Savage P.E. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 2011, vol. 30, no. 4, pp. 743–753. DOI: 10.1002/ep.10516.
8. Hamelinck C.N., van Geertje H., Faaij A. *Biomass and Bioenergy*, 2005, vol. 28, pp. 384–410. DOI: 10.1016/j.biombioe.2004.09.002.
9. Wellisch M., Jungmeier G., Karbowski A., Patel M.K., Rogulska M. *Biofuels, Bioprod, Biorefining*, 2010, vol. 4, pp. 275–286. DOI: 10.1002/bbb.217.
10. Bozell J.J. *CLEAN – Soil, Air, Water*, 2008, vol. 36, pp. 641–647. DOI: 10.1002/clen.200800100.
11. Schieb P.-A., Philp J.C. *Trends Biotechnol.*, 2014, vol. 32, pp. 496–500. DOI: 10.1016/j.tibtech.2014.08.006.
12. Stuart P. *PulpPapCanada*, 2006, vol. 107, pp. 13–16.
13. Bogolitsyn K.G., Reznikov V.M. *Khimiya sul'fitnykh metodov delignifikatsii drevesiny*. [Chemistry of sulfite methods of wood delignification]. Moscow, 1994, 288 p. (in Russ.).
14. Deshpande R., Sundvall L., Grundberg H., Germgard U. *BioRes.*, 2016, vol. 11, pp. 5961–5973. DOI: 10.15376/biores.11.3.5961-5973.
15. Christoph L.P. *Integrated Forest Biorefineries: Challenges and Opportunities*. Cambridge, 2013, 313 p.
16. Cherubini F., Jungmeyer G., Wellisch M., Willke T., Skias I., Van Ree R., de Jong E. *Biofuels, Bioprod. Bioref.*, 2009, vol. 3, pp. 534–546. DOI: 10.1002/bbb.172.
17. Demirbas A. *Biorefineries: For Biomass Upgrading Facilities*. London, 2010, pp. 75–92.
18. Hamalainen S., Nayha A., Pesonen H.-L. *J. Cleaner Prod.*, 2011, vol. 19, pp. 1884–1891. DOI: 10.1016/j.jclepro.2011.01.011.
19. *GOST 2184-2013. Kislota sernaya tekhnicheskaya*. [GOST 2184-2013. Technical sulfuric acid]. Moscow, 2014, 37 p. (in Russ.).
20. Morozova Yu.A., Skvortsov Ye.V., Alimova F.K., Kanarskiy A.V. *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta*, 2012, no. 19, pp. 120–122. (in Russ.).
21. Aleksandrova E.A., Gaydukova N.G. *Analiticheskaya khimiya v 2 knigakh. Kniga 1. Khimicheskiye metody analiza*. [Analytical chemistry in 2 books. Book 1. Chemical methods of analysis]. Moscow, 2018, 551 p. (in Russ.).
22. Mukhutdinov R.R., Pilipenko T.V., Kruchina-Bogdanov I.V. *Vestnik YuUrGU. Seriya «Pishchevyye i biotekhnologii»*, 2019, no. 4, pp. 75–84. DOI: 10.14529/food190408. (in Russ.).
23. Chulkin A.M., Loginov D.S., Vavilova Ye.A., Abyanova A.R., Zorov I.N., Kurzeyev S.A., Koroleva O.V., Benevolenskiy S.V. *Biokhimiya*, 2009, no. 6, pp. 805–813. (in Russ.).

* Corresponding author.

24. GOST R 55302-2012. *Fermentnyye preparaty dlya pishchevoy promyshlennosti. Metod opredeleniya ksilanaznoy aktivnosti*. [GOST R 55302-2012. Enzyme preparations for the food industry. Method for determination of xylanase activity]. Moscow, 2013, 12 p. (in Russ.).
25. Bolotnikova O.I., Mikhaylova N.P., Bazarnova Yu.G., Aronova Ye.B., Bolotnikova T.A., Akinina Yu.N. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya khimiya i biotekhnologiya*, 2019, no. 4, pp. 679–693. DOI: 10.21285/2227-2925-2019-9-4-679-693. (in Russ.).

Received January 25, 2021

Revised March 1, 2021

Accepted March 14, 2021

For citing: Mingazova L.A., Kryakunova Ye.V., Kanarskaya Z.A., Kanarskiy A.V., Kruchina-Bogdanov I.V., Belkina Ye.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2021, no. 3, pp. 309–317. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2021039160.

