

УДК 630.86 +674.031.623.237.7:630.86

СОСТАВ, СВОЙСТВА И ПЕРЕРАБОТКА ОТХОДОВ ВЕГЕТАТИВНОЙ ЧАСТИ ТОПОЛЯ ПОСЛЕ ИЗВЛЕЧЕНИЯ ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ. СООБЩЕНИЕ 2. ПОЛУЧЕНИЕ БЕЛКОВЫХ КОРМОВЫХ ДОБАВОК НА ОСНОВЕ ГИДРОЛИЗАТОВ ВЕГЕТАТИВНОЙ ЧАСТИ ТОПОЛЯ БАЛЬЗАМИЧЕСКОГО

© *Е.В. Исаева**, *Т.В. Рязанова*

Сибирский государственный технологический университет, пр. Мира, 82, Красноярск, 660049 (Россия), e-mail: isaevaelena08@mail.ru

Сообщение посвящено исследованию способности дрожжей *Candida scotti* утилизировать компоненты гидролизата, полученного из вегетативной части тополя бальзамического методом кислотного гидролиза. Выход дрожжей от содержания редуцирующих веществ субстрата составил 58% по абсолютно сухим дрожжам.

Ключевые слова: тополь, вегетативная часть, полисахариды, гидролиз, оптимизация, редуцирующие вещества, гидролизат, культивирование, кормовые дрожжи.

Введение

В настоящее время вновь уделяется большое внимание развитию микробиологической промышленности. В развитии этого направления кроются большие резервы дальнейшего улучшения состояния сельского хозяйства. В устранении белкового дефицита важная роль принадлежит микробному синтезу белка с использованием дешевых органических природных ресурсов и отходов промышленного производства.

В данной статье приведены результаты исследования вегетативной части тополя бальзамического в качестве сырья для получения белковых кормовых добавок. В плане комплексной переработки рассмотрена возможность использования всей поступающей биомассы тополя: почек, однолетних побегов, одревесневших побегов (ветвей).

Экспериментальная часть

Объектом исследования служили образцы вегетативной части тополя бальзамического (*Populus balsamifera* L.): побеги с почками, однолетние побеги и ветви после выделения из них экстрактивных веществ. Для экстракции сырья использовали этиловый спирт [1].

Содержание легко- и трудногидролизруемых полисахаридов в сырье определяли, применяя различные условия гидролиза минеральными кислотами; пентозанов – бромид-броматным полумикрометодом; лигнина – метод гидролиза 72%-ной серной кислотой в модификации Комарова [2].

Высокотемпературный кислотный гидролиз сырья осуществляли в течение двух часов в ампулах при температуре 170 °С, концентрации серной кислоты 1,0%, гидромодуле 10. Исследование состава гидролизата проводили по методикам, принятым в технологии гидролизных и микробиологических производств [3]. Определение моносахаридов в гидролизатах осуществляли методом бумажной хроматографии [4].

Исаева Елена Владимировна – профессор кафедры химической технологии древесины и биотехнологии, доктор технических наук, e-mail: isaevaelena08@mail.ru
Рязанова Татьяна Васильевна – заведующая кафедрой химической технологии древесины и биотехнологии, профессор, доктор технических наук, e-mail: tatyana-htd09@mail.ru

* Автор, с которым следует вести переписку.

Для получения субстрата гидролизат нейтрализовали известковым молоком до pH 4,0–4,2 и разбавляли до содержания в нем 0,14% бромлируемых веществ, концентрация редуцирующих веществ при этом составила 1,2%. В гидролизат были дополнительно внесены питательные соли (KH_2PO_4 , K_2HPO_4 в количестве 0,5 г/л; NH_4NO_3 – 1 г/л) и смесь микроэлементов.

Субстрат засевают дрожжами рода *Candida*, вид *C. scotti*, с концентрацией 2 г/л по прессованным дрожжам. Культивирование проводили в нестерильных условиях при постоянной аэрации и температуре 25–28 °С в течение 48 ч.

Обсуждение результатов

Технологическая ценность сырья в гидролизной промышленности определяется содержанием как общих полисахаридов, так и пентозанов, способностью полисахаридов подвергаться гидролизу и составом продуктов гидролиза. В таблице 1 приведен химический состав различных элементов биомассы тополя. Учитывая факт существования в мировой практике производства по переработке листьев тополя быстрорастущего с получением белкового и провитаминного концентратов [5], нами были исследованы листья тополя бальзамического.

Как свидетельствуют результаты таблицы 1, в составе различных элементов вегетативной части тополя значительна доля экстрактивных веществ. Наибольшее их количество установлено в листьях, поскольку в них в процессе фотосинтеза идет образование низкомолекулярных соединений. Наименьшее количество экстрактивных веществ содержится в одревесневших побегах (ветка), где значительна доля древесины.

Содержание спирторастворимых веществ в общей доле экстрактивных веществ зависит от объекта исследования и составляет для однолетних побегов и побегов с почками 85–88%, листьев – 71% и ветвей – 62%.

Содержание веществ, экстрагируемых горячей водой, в листьях тополя бальзамического почти в два раза выше, чем в ветвях. Количество редуцирующих веществ в водном экстракте листьев тополя составило 2%, ветвей тополя – 7,6%, однолетних побегов – 19,51% от массы сухих веществ экстракта. Следовательно, водорастворимые соединения представляют большой интерес для химической переработки вегетативной части тополя бальзамического и могут служить источником получения углеводов (4–11% от а.с.с.).

Исследования твердых остатков вегетативной части тополя после извлечения экстрактивных веществ показали, что образцы представляют собой лигноуглеводный комплекс (табл. 2).

Из таблицы 2 следует, что содержание полисахаридов в твердых остатках после экстракции составляет 48–62%. На долю пентозанов приходится от 16 до 22% от массы сухого остатка в побегах с почками и ветвях соответственно.

Таблица 1. Химический состав элементов вегетативной части тополя бальзамического

Компонент	Содержание, % а.с.с.			
	листья	ветка	однолетние побеги	побеги с почками
Минеральные вещества	9,84	1,00	2,61	3,18
Вещества, экстрагируемые этиловым спиртом	35,72	12,78	23,46	27,47
Вещества, экстрагируемые горячей водой	14,53	7,90	4,10	3,68
Всего экстрактивных веществ	50,25	20,68	27,56	31,15
Легкогидролизуемые полисахариды	13,14	19,00	14,38	14,06
Трудногидролизуемые полисахариды	10,56	29,14	20,13	18,35
Сумма полисахаридов,	23,70	48,14	34,51	32,41
в том числе пентозанов	...	18,26	14,43	12,18
Негидролизуемый остаток	14,66	27,10	28,96	29,74

Таблица 2. Содержание полисахаридов и лигниновых веществ в послеэкстракционном остатке вегетативной части тополя бальзамического

Компонент	Содержание, % а.с.о.		
	ветви	однолетние побеги	побеги с почками
Полисахариды,	60,69	47,67	47,71
в том числе:			
- легкогидролизуемые	23,67	20,02	20,99
- трудногидролизуемые	37,02	27,65	26,71
Лигниновые вещества	34,17	39,98	43,20

Наибольшее количество трудногидролизуемых полисахаридов находится в ветвях тополя (61% от суммы углеводов), что обусловлено большей долей древесины в составе образца. В однолетних побегах и побегах с почками содержание трудногидролизуемых полисахаридов составляет 57–58% от суммы углеводов.

Полученные результаты дают основание рекомендовать данное сырье для переработки методом гидролитической деструкции с целью дальнейшей биохимической переработки гидролизата.

Для гидролиза использовали образцы однолетних побегов, ветви тополя, а также побегов с почками после предварительного извлечения из них экстрактивных веществ.

Ферментативный гидролиз остатков с использованием ферментного препарата целловиридин Г20х производства ООО «СИББИОФАРМ» (г. Бердск), несмотря на низкую степень полимеризации целлюлозы [1], не дал положительных результатов. Ферменты гидролизовали лишь слабоориентированные участки полисахаридов, не разрушая плотноупакованные участки целлюлозы.

Из известных способов гидролиза полисахаридов более приемлемым для данного вида сырья может быть кислотный способ гидролиза. Поэтому в данной работе применяли высокотемпературный кислотный гидролиз. Процесс гидролиза был оптимизирован.

Оптимизация процесса гидролиза вегетативной части тополя. Основными факторами, влияющими на режим гидролиза полисахаридов разбавленной серной кислотой, являются температура, продолжительность и концентрация серной кислоты.

В основу решения задачи оптимизации был положен план Бокса-3. Температуру (x_1) варьировали от 160 до 180 °С, продолжительность (x_2) – от 60 до 180 мин, концентрацию кислоты (x_3) – от 0,8 до 1,2%. Задача оптимизации сводилась к определению значений технологических параметров, обеспечивающих максимальный выход редуцирующих веществ (y_1) и минимальный выход бромлируемых веществ (y_2).

По результатам опытов получены уравнения регрессии, адекватно отражающие процесс гидролиза при доверительной вероятности 95 % и имеющие вид

– для содержания редуцирующих веществ

$$y_1 = 1,899375 + 0,209 x_1 + 0,664 x_2 + 0,01 x_3 + 0,050625 x_1^2 - 0,62438 x_2^2 - 0,02438 x_3^2 - 0,04875 x_1 x_2 - 0,04375 x_1 x_3 + 0,05625 x_2 x_3;$$

– для содержания бромлируемых веществ

$$y_2 = 0,1055625 + 0,0521x_1 + 0,0971x_2 + 0,00017x_3 + 0,0534375x_1^2 + 0,0404375x_2^2 - 0,0335625x_3^2 + 0,045875x_1x_2 - 0,0007375x_1x_3 + 0,02512x_2x_3.$$

Оптимальные условия были найдены методом сканирования уравнений регрессии и имели следующие значения: концентрация серной кислоты – 1%; температура – 170 °С; продолжительность процесса 120 мин.

В оптимальном режиме была получена опытная партия гидролизата. Практический выход редуцирующих веществ составил 98%, что еще раз подтверждает адекватность полученных моделей.

Для оценки пригодности полученных гидролизатов к биохимической переработке определяли содержание редуцирующих веществ, продуктов неполного гидролиза (олигосахаридов, декстринов) и других соединений. Результаты исследования приведены в таблице 3.

Как свидетельствуют результаты таблицы 3, при данном способе гидролиза содержание редуцирующих веществ в гидролизатах исследуемых образцов составляет 2–2,5%, в промышленных гидролизатах – 3,0–3,8% [6].

Таблица 3. Химический состав гидролизатов различных элементов вегетативной части тополя бальзамического

Показатель	Содержание, % а.с.в.		
	ветви тополя	однолетние побеги	побеги с почками после экстракции
Редуцирующие вещества	2,10	2,05	2,50
Истинные сахара	2,00	2,00	2,45
Серная кислота	0,54	0,61	0,59
Органические кислоты	0,87	0,9	0,96
Бромлируемые вещества	0,33	0,26	0,23
Олигосахариды	0,05	0,05	0,02
Лигноуминовые вещества	2,06	2,10	2,35

Наибольший выход редуцирующих веществ от суммы полисахаридов получен при гидролизе однолетних побегов и побегов с почками (45%) после экстракции. В гидролизатах ветвей тополя выход редуцирующих веществ составил 34%. Установлено, что в гидролизатах различных элементов вегетативной части тополя редуцирующие вещества на 95–98% представлены веществами сахарной природы. Качественный анализ сахаров гидролизатов показал наличие в них глюкозы, галактозы и ксилозы.

Установлено, что содержание олигосахаридов в 10 раз ниже по сравнению с промышленными гидролизатами (0,1–0,4%) [6], в силу чего при подготовке гидролизатов из вегетативной части тополя к биохимической переработке стадию инверсии можно исключить.

При оценке кислотности гидролизатов получены следующие результаты: общая кислотность гидролизата ветви составляет 1,41%, однолетних побегов – 1,51%, побегов с почками – 1,55%. Содержание серной и органических кислот в исследованных гидролизатах примерно одинаково (0,5–0,9%) и сопоставимо с таковым для промышленных гидролизатов (0,76–1,77%) [6].

Содержание бромлируемых веществ в гидролизатах вегетативной части тополя составляет 0,2–0,3%, что свидетельствует об их биологической доброкачественности. Обычно содержание бромлируемых веществ в древесных гидролизатах составляет от 0,23 до 0,33%. В промышленных гидролизатах диапазон несколько шире 0,2–0,6% [6].

Лигногуминовые вещества, образуясь при гидролизе растительных тканей в результате взаимодействия растворимого лигнина, главным образом с фурфуролом, придают гидролизату темную окраску и снижают ферментативную активность микроорганизмов-продуцентов. Содержание данных веществ в гидролизатах вегетативной части тополя примерно одинаково и составляет в среднем 2%.

Таким образом, на основании полученных результатов можно заключить, что гидролизаты вегетативной части тополя являются химически и биологически доброкачественными и могут быть использованы при биохимической переработке.

Культивирование дрожжей рода Candida. Для подтверждения вывода о пригодности гидролизатов вегетативной части тополя к биохимической переработке было проведено культивирование производственного штамма дрожжей *C. scotti*, предоставленного нам ЗАО «Биоэтанол», на субстрате на основе гидролизата ветвей тополя, полученного в оптимальных условиях, по режимам, принятым на данном предприятии.

Прирост биомассы составил 280%. Выход дрожжей от содержания редуцирующих веществ субстрата составил 58% по абсолютно сухим дрожжам и соответствовал заводскому показателю. По литературным данным, выход кормовых дрожжей от редуцирующих веществ древесных гидролизатов составляет 55–60% [6].

С целью более глубокой конверсии углеводов субстрата были проведены опыты, где при прочих равных условиях продолжительность культивирования увеличивалась до четырех суток. Как показали результаты исследования, в предлагаемых условиях дрожжами было утилизировано 60% сахаров. Прирост биомассы составил 480%, выход дрожжей от редуцирующих веществ – 61% по абсолютно сухим дрожжам.

Таким образом, показано, что вегетативная часть тополя бальзамического может быть использована в качестве сырья для получения белковых кормовых добавок.

Список литературы

1. Исаева Е.В., Рязанова Т.В. Состав, свойства и переработка отходов вегетативной части тополя после извлечения экстрактивных веществ. Сообщение 1. Химический состав твердых и жидких отходов // Химия растительного сырья. 2012. №3. С. 59–65
2. Рязанова Т.В., Чупрова Н.А., Исаева Е.В. Химия древесины. Ч. 2. Основные компоненты древесины. Красноярск, 2011. 228 с.
3. Емельянова И.З. Химико-технологический контроль гидролизных производств. М., 1976. 328 с.
4. Исаева Е.В., Рязанова Т.В. Групповой состав углеводов почек тополя // Химия растительного сырья. 2006. №1. С. 33–36.
5. Использование древесной зелени. Экспресс информация по зарубежным источникам. М., 1980. Вып. 20. С. 1–7.
6. Холькин Ю.И. Технология гидролизных производств. М., 1989. 495 с.

Поступило в редакцию 19 ноября 2013 г.

*Isayeva E.V.**, *Ryazanova T.V.* COMPOSITION, PROPERTIES AND RECYCLING OF THE VEGETATIVE POPLAR AFTER REMOVAL OF EXTRACTIVES. POST 2. PREPARATION OF PROTEIN FEED ADDITIVES BASED ON HYDROLYSATES OF VEGETATIVE PARTS OF POPLAR

Siberian State Technological University, Mira ave., 82, Krasnoyarsk, 660049 (Russia), e-mail: isaevaelena08@mail.ru

Communication is devoted to the study of the ability of the yeast *Candida scotti* dispose components hydrolyzate obtained from the vegetative parts of poplar by acid hydrolysis. Exit from the yeast content of reducing substances of the substrate was 58% in absolutely dry yeast.

Keywords: poplar, vegetative part, polysaccharides, hydrolysis, optimization, reducing agents, hydrolyzate, cultivation, fodder yeast.

References

1. Isaeva E.V., Riazanova T.V. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2012, no. 3, pp. 59–65. (in Russ.).
2. Riazanova T.V., Chuprova N.A., Isaeva E.V. *Khimiia drevesiny. Ch. 2. Osnovnye komponenty drevesiny*. [Wood chemistry. Part 2. The main components of wood]. Krasnoyarsk, 2011, 228 p. (in Russ.).
3. Emel'ianova I.Z. *Khimiko-tehnologicheskii kontrol' gidroliznykh proizvodstv*. [Chemical Technology hydrolytic production control]. Moscow, 1976, 328 p. (in Russ.).
4. Isaeva E.V., Riazanova T.V. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2006, no. 1, pp. 33–36. (in Russ.).
5. *Ispol'zovanie drevesnoi zeleni. Ekspress informatsiia po zarubezhnym istochnikam*. [The use of wood greens. Express Information on foreign sources]. Moscow, 1980, no. 20, pp. 1–7. (in Russ.).
6. Khol'kin Iu.I. *Tekhnologiia gidroliznykh proizvodstv*. [Hydrolysis technology industries]. Moscow, 1989, 495 p. (in Russ.).

Received November 19, 2013

* Corresponding author.

