

**ТРАНСФОРМАЦИЯ МИСКАНТУСА ГИГАНТСКОГО В ПРОДУКТЫ
БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО СИНТЕЗА: РАСЧЕТ МАТЕРИАЛЬНЫХ ПОТОКОВ**

E.A. Скиба

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук (ИПХЭТ СО РАН), г. Бийск, Россия.

Рентабельность трансформации целлюлозосодержащего сырья в продукты с высокой добавленной стоимостью достижима только при условии получения коммерческой продукции из всех его компонентов. В данной работе представлен расчет материальных потоков при полной переработке мискантуса гигантского в продукты биотехнологического синтеза с выпуском двух групп платформенных (промежуточных) соединений: C6-сахаров и лигнина. Внутри C6-платформы методами биотехнологии получено два платформенных химических соединения, являющимися базовыми в современной технической химии: биоэтанол и молочная кислота, кроме того, получен важнейший биополимер – бактериальная наноцеллюлоза. С целью обеспечения доброкачественности питательных сред из мискантуса гигантского, продукты биотехнологического синтеза получены через стадию ферментативного гидролиза. Для каждого продукта биотехнологического синтеза исследовано четыре авторских способа предварительной химической обработки мискантуса гигантского, проводимых при атмосферном давлении с использованием разбавленных растворов азотной кислоты и гидроксида натрия. Показана высокая эффективность трансформации мискантуса гигантского в продукты биотехнологического синтеза, достигнуты выходы, близкие к мировым лидерам. Наиболее целесообразным методом предварительной обработки мискантуса гигантского является одностадийная обработка разбавленным раствором азотной кислоты, этот способ позволяет повысить выход биоэтанола на 12-40 %, бактериальной наноцеллюлозы – на 13-30 %, молочной кислоты на 13-28 % по сравнению с другими авторскими способами предварительной обработки.

Ключевые слова: мискантус гигантский, щелочная делигнификация, азотная кислота, ферментативный гидролиз, биоэтанол, бактериальная наноцеллюлоза, молочная кислота.

**TRANSFORMATION OF MISCANTHUS GIANTUS INTO PRODUCTS
OF BIOTECHNOLOGICAL SYNTHESIS: CALCULATION OF MATERIAL FLOWS**

Ekaterina A. Skiba

*Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies of the Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences, Biysk, Russia*

The profitability of the transformation of cellulose-containing raw materials into products with high added value is achievable only if commercial products are obtained from all its components. This paper presents the calculation of material flows for the complete processing of giant miscanthus into biotechnological synthesis products with the release of two groups of platform (intermediate) compounds: C6 sugars and lignin. Within the C6 platform, two platform chemical compounds were obtained by biotechnology methods, which are basic in modern technical chemistry: bioethanol and lactic acid, in addition, the most important biopolymer, bacterial nanocellulose, was obtained. In order to ensure the high quality of nutrient media from giant miscanthus, the products of biotechnological synthesis were obtained through the stage of enzymatic hydrolysis. For each product of biotechnological synthesis, four original methods of preliminary chemical treatment of giant miscanthus were studied, carried out at atmospheric pressure using dilute solutions of nitric acid and sodium hydroxide. High

efficiency of transformation of giant miscanthus into products of biotechnological synthesis is shown, yields close to world leaders are achieved. The most appropriate method of preliminary processing of giant miscanthus is single-stage treatment with a dilute solution of nitric acid, this method allows to increase the yield of bioethanol by 12-40%, bacterial nanocellulose - by 13-30%, lactic acid by 13-28% compared to other author's methods of preliminary processing.

Key words: *Miscanthus giganteus*, alkaline delignification, nitric acid, enzymatic hydrolysis, bioethanol, bacterial nanocellulose, lactic acid

Введение

Многочисленные расчёты показывают, что рентабельность переработки целлюлозосодержащего сырья достигается только при условии получения коммерческой продукции из всех его компонентов: целлюлозы, гемицеллюлоз, лигнина, минеральной составляющей (и других, если они входят в состав конкретного вида сырья) [1, 2]. Это достаточно сложно осуществить на практике. Например, такой успешный и дешёвый способ валоризации целлюлозосодержащего сырья, как сернокислотный гидролиз, приводит к образованию отвалов отработанного лигнина, его накапливается от 50 до 70 % от массы сырья. Активно исследуются и частично внедряются технологии переработки отработанного лигнина, но они ограничены высоким содержанием серы [1, 3, 4].

Радикальным выходом из имеющейся проблемы неполной переработки целлюлозосодержащего сырья в полезные продукты является интеграция принципов зелёной химии и биотехнологии в рамках одного биоперерабатывающего завода, что отвечает концепции экономики замкнутого цикла [5]. Возможности зелёной химии позволяют воздействовать на все компоненты лигноцеллюлозной матрицы, а возможности биотехнологии позволяют получить из целлюлозосодержащего сырья не только биоэтанол, но и продукты с высокой добавленной стоимостью, что обусловлено уникальностью метаболизма продуцентов.

В данной работе представлен расчет материальных потоков при полной переработке мискантуса гигантского в продукты биотехнологического синтеза с выпуском двух групп платформенных (промежуточных) соединений: 1) С6-сахаров, 2) лигнина. Внутри С6-платформы методами биотехнологии получено два платформенных химических соединения, являющимися базовыми в современной технической химии – биоэтанол и молочная кислота, а также важнейший биополимер – бактериальная наноцеллюлоза.

Оборудование и материалы

В качестве сырья был использован мискантус гигантский российской селекции (сорт КАМИС, выведенный Калужским НИИСХ), предоставленный ООО «Мастер Брэнд», г. Москва, Россия. Предобработка сырья была проведена в лабораторных условиях при атмосферном давлении и температуре 90-96 °C авторскими способами в одну или две стадии с получением следующих продуктов химической предварительной обработки:

1) продукт азотнокислой обработки (ПАО) получен обработкой сырья 4 %-ным раствором азотной кислоты в одну стадию;

2) продукт щелочной делигнификации (ПЩД) получен обработкой сырья раствором 4 %-ного гидроксида натрия в одну стадию;

3) техническая целлюлоза, азотнокислый способ (ЦАС) получен в две стадии: путём обработки ПАО 4 %-ным раствором гидроксида натрия;

4) техническая целлюлоза, модифицированный щелочной способ (ЦМЩС) получен в две стадии: путём обработки ПЩД 4 %-ным раствором азотной кислоты.

Все четырёх полученных продукта были превращены в раствор сахаров путём ферментативного гидролиза с помощью композиции из ферментных препаратов Целлолюкс-А («Сиббиофарм», Россия) и «Ультрафло Коре» («Novozymes A/S», Дания). Ферментативные гидролизаты были использованы для получения трех продуктов биотехнологического синтеза:

– биоэтанола с помощью *Saccharomyces cerevisiae* Y-3136 (ВКПМ), в условиях, описанных в работе [6]. Начальная концентрация субстрата 60 г/л, в течение 24 ч проводился

ферментативный гидролиз, далее в течение 72 ч совмещенный ферментативный гидролиз и спиртовое брожение;

– бактериальной наноцеллюлозы с помощью *Medusomyces gisevii* Sa-12 (ВКПМ) в условиях, описанных в работе [7]. Начальная концентрация субстрата 30 г/л, биосинтез бактериальной наноцеллюлозы проводился после завершения ферментативного гидролиза;

– молочной кислоты с помощью *Lactobacillus delbrueckii* subspecies *bulgaricus* (ООО «Барнаульская биофабрика») в условиях, описанных в работе [8]. Начальная концентрация субстрата 90 г/л, биосинтез молочной кислоты проводился после завершения ферментативного гидролиза.

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

Обсуждение результатов

Расчет материальных потоков биотехнологической трансформации мискантуса гигантского приведен в таблице 1. Отражены основные и побочные продукты, при этом расчёт дан в натуральном выражении, без пересчёта масс на абсолютно сухие вещества.

На платформе лигнина возможно получение продуктов по двум направлениям. При извлечении ПАО и ЦАС используется 4 %-ный раствор азотной кислоты, под действием азотной кислоты происходит гумификация органических веществ мискантуса гигантского с получением в жидком виде комбинированного лигногуминового удобрения [9], при десятикратном использовании раствора его продуцируется 2,2 т на 1 т мискантуса и в него переходит ~ 62 % сухих веществ сырья. При извлечении ПЩД и ЦМЩС используется 4 %-ный раствор гидроксида натрия, это классический сценарий, отработанный раствор после десятикратного использования может быть применен для получения бетона повышенной прочности в строительстве [10], либо может быть использован для выделения лигнина и получения его производных [11].

На платформе С6-сахаров из мискантуса гигантского нами получены три продукта биотехнологического синтеза: биоэтанол, бактериальная наноцеллюлоза и молочная кислота. Каждый из продуктов был получен из четырех субстратов: ПАО, ПЩД, ЦАС и ЦМЩС. Поскольку в нативном мискантусе гигантском массовая доля целлюлозы составляет 54 % (что соответствует среднему содержанию в древесине), то на стадии предварительной химической обработки удалось получить неплохие выходы всех четырёх субстратов. Поэтому, несмотря на посредственную эффективность ферментативного гидролиза субстратов из мискантуса, выход продуктов биотехнологической трансформации оказался неплохим.

Выход биоэтанола из мискантуса гигантского в данной работе составляет 14,1-19,8 дал/т, а выход из хвойной древесины 17-18 дал/т [1], т.е. получен хороший выход. На мискантусе сахароцветном нами был достигнут выход биоэтанола 25,2-26,3 дал/т, но для этого мы использовали подпитку, позволившую повысить концентрацию субстрата до 100 г/л [6]; а мировым лидером достигнут выход биоэтанола из мискантуса составил 25,2 -28,4 дал/т при концентрации субстрата 17-20 % [12], поэтому прогноз по высоким выходам биоэтанола из мискантуса гигантского при ферментации с подпиткой положительный.

Таблица 1
Выход основной и побочной продукции, кг из 1 т мискантуса гигантского

Продукция	Способы химической предварительной обработки			
	ПАО	ПЩД	ЦАС	ЦМЩС
Платформа: лигнин				
<i>Основные продукты</i>				
Комбинированное лигногуминовое удобрение	2200	–	2200	–
Отработанный раствор NaOH	–	2200	–	2200
<i>Побочные продукты</i>				
Промывные воды (после HNO ₃)	20000	–	20000	20000
Промывные воды (после NaOH)	–	20000	20000	20000
С6-платформа: биоэтанол				

<i>Основные продукты</i>				
Биоэтанол	155,8	140,0	111,6	139,4
СО ₂	120	107	85	106
<i>Побочные продукты</i>				
Барда	6900	6700	4400	5200
Сивушные масла	0,4	0,7	0,2	0,3
Эфироальдегидный концентрат	0,6	0,7	0,4	0,5
Лютерная вода	230	240	200	210
С6-платформа: бактериальная наноцеллюлоза				
<i>Основные продукты</i>				
Бактериальная наноцеллюлоза	3550	2950	2725	3137
<i>Побочные продукты</i>				
Отработанная культуральная жидкость	11070	10520	6520	7810
Потери культуральной жидкости на испарение	2390	2220	1500	1780
Промывные воды (после NaOH)	7100	5900	5500	6300
Промывные воды (после HCl)	7100	5900	5500	6300
С6-платформа: молочная кислота				
<i>Основные продукты</i>				
Молочная кислота	145	113	120	135
<i>Побочные продукты</i>				
Отработанная культуральная жидкость	4855	4687	3080	3665
Гипс	110	85	90	105
ПАО – продукт азотнокислой обработки, ПЩД – продукт щелочной делигнификации, ЦАС – техническая целлюлоза, азотнокислый способ; ЦМЩС – техническая целлюлоза, модифицированный щелочной способ				

В табл. 1 представлен выход бактериальной наноцеллюлозы во влажном состоянии (влажность 99,2 %). Полученный результат близок к описанному в литературе выходу бактериальной наноцеллюлозы из мискантуса сахароцветного [7]. В работе [13] приведена продуктивность бактериальной наноцеллюлозы из мискантуса 14,88 г/л (мискантус предобработан серной кислотой, а затем пальп подвергнут ферментативному гидролизу), но выход бактериальной наноцеллюлозы от массы мискантуса не приводится и по материалам работы его посчитать невозможно.

Выход молочной кислоты из мискантуса гигантского составляет 113-145 кг/т, что в 4-5 раз больше, чем в работе [14], где молочная кислота получена из мискантуса путем гидротермической обработки, ферментативного гидролиза и глубинной ферментации с помощью *Rhizopus oryzae*; но это в 4-5 раз меньше, чем было получено из соломы кукурузы в работе [15]. Для трех представленных продуктов биотехнологической трансформации мискантуса гигантского наиболее целесообразным методом предварительной обработки является одностадийная обработка разбавленным раствором азотной кислоты, этот метод позволяет повысить выход биоэтанола на 12-40 %, бактериальной наноцеллюлозы – на 13-30 %, молочной кислоты на 13-28 % по сравнению с другими авторскими способами предварительной обработки.

Заключение

Рассчитаны материальные потоки переработки мискантуса гигантского в продукты биотехнологического синтеза с одновременным получением двух групп платформенных (промежуточных) соединений: С6-сахаров и лигнина. Показана высокая эффективность конверсии мискантуса гигантского по биотехнологическому маршруту в биоэтанол, бактериальную наноцеллюлозу и молочную кислоту. Наиболее целесообразным методом предварительной обработки является одностадийная обработка мискантуса гигантского разбавленным раствором азотной кислоты, этот метод позволяет повысить выход биоэтанола на

12-40 %, бактериальной наноцеллюзы – на 13-30 %, молочной кислоты на 13-28 % по сравнению с другими способами предварительной обработки.

Благодарности. Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда № 22-13-00107, <https://rscf.ru/project/22-13-00107/>.

Библиографический список

- Холькин Ю.И. Технология гидролизных производств: учебник для вузов. – М.: Лесная промышленность, 1989. – 496 с.
- Padella M., O'Connell A., & Prussi M. (2019). What is still limiting the deployment of cellulosic ethanol? Analysis of the current status of the sector // Applied Sciences. 2019. 9(21). 4523. <https://doi.org/10.3390/app9214523>
- Zhou, Z., Liu, D., & Zhao, X. (2021). Conversion of lignocellulose to biofuels and chemicals via sugar platform: an updated review on chemistry and mechanisms of acid hydrolysis of lignocellulose // Renewable and Sustainable Energy Reviews. 2021. 146. 111169. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111169>
- Srivastava, R. K., Nedungadi, S. V., Akhtar, N., Sarangi, P. K., Subudhi, S., Shadangi, K. P., & Govarthanan, M. (2023). Effective hydrolysis for waste plant biomass impacts sustainable fuel and reduced air pollution generation: A comprehensive review // Science of The Total Environment. 2023. 859. 160260. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160260>
- Gani, R., Bałdyga, J., Biscans, B., Brunazzi, E., Charpentier, J. C., Drioli, E., ... & Woodley, J. M. (2020). A multi-layered view of chemical and biochemical engineering // Chemical Engineering Research and Design. 2021. 155., A133-A145. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2020.01.008>
- Skiba E.A., Ovchinnikova E.V., Budaeva V.V., Banzarkatsaeva S.P., Kovgan M.A., Chumachenko V. A., Mironova G.F., Kortusov A.N., Parmon V.N., Sakovich, G. V. Miscanthus bioprocessing using HNO₃-pretreatment to improve productivity and quality of bioethanol and downstream ethylene // Industrial Crops and Products. 2022. 177. 114448. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114448>
- Skiba E.A., Gladysheva E.K., Golubev D.S., Budaeva V.V., Aleshina L.A., Sakovich G.V., Self-standardization of quality of bacterial cellulose produced by *Medusomyces gisevii* in nutrient media derived from Miscanthus biomass // Carbohydrate Polymers. 2021. 252. 117178, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117178>
- Shavyrkina NA, Skiba EA. Obtaining lactic acid from oat husks // Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2021. 11 (1). 99–106. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-1-99-10621>
- Skiba E.A., Skiba M.A., Pyatunina O.I. Nitric acid solution after treating miscanthus as a growth regulator of seed peas (*Pisum sativum* L.) in vitro // Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2021. 11(3). 413-420. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-3-413-420>
- Makul N. Modern sustainable cement and concrete composites: Review of current status, challenges and guidelines // Sustainable Materials and Technologies/ 2020. 25. e00155. <https://doi.org/10.1016/j.susmat.2020.e00155>
- Brienza, F., Cannella, D., Montesdeoca, D., Cybulska, I., & Debecker, D. P. (2024). A guide to lignin valorization in biorefineries: traditional, recent, and forthcoming approaches to convert raw lignocellulose into valuable materials and chemicals. RSC Sustainability, 2(1), 37-90. <https://doi.org/10.1039/D3SU00140G>
- Zhang Y., Oates L.G., Serate J., Xie D., Pohlmann E., Buhkman Y.V., Karlen S.D., Young M.K., Higbee A., Eilert D., Sanford G.R., Piotrowski J.S., Cavalier D., Ralph J., Coon J.J., Sato T.K., Ong R.G. Diverse lignocellulosic feedstocks can achieve high field-scale ethanol yields while providing flexibility for the biorefinery and landscape-level environmental benefits // GCB Bioenergy. – 2018. – P. 1-16. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12533>
- Son, J.; Lee, K.H.; Lee, T.; Kim, H.S.; Shin, W.H.; Oh, J.-M.; Koo, S.-M.; Yu, B.J.; Yoo, H.Y.; Park, C. Enhanced Production of Bacterial Cellulose from Miscanthus as Sustainable Feedstock through Statistical Optimization of Culture Conditions. Int. J. Environ. Res. Public Health 2022, 19, 866. <https://doi.org/10.3390/ijerph19020866>
- Gunes K, Sargin S, Celiktas MS (2023) Investigation of lactic acid production by pressurized liquid hot water from cultivated *Miscanthus × giganteus*. Prep Biochem Biotechnol 53:22–30. <https://doi.org/10.1080/10826068.2022.2035745>
- Chung, M. R. W. Y., Tan, I. S., Foo, H. C. Y., Lam, M. K., & Lim, S. (2023). Potential of macroalgae-based biorefinery for lactic acid production from exergy aspect. Biomass Conversion and Biorefinery, 13(4), 2623-2653. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01375-3>