

УДК 577.15 : 661.722.2

## Биоэтанол из плодовых оболочек овса, предварительно обработанных методом щелочной делигнификации.

### I. Химическая и ферментативная трансформация сырья

@ 2017 г. Е.А. СКИБА\*, В.В. БУДАЕВА, Е.И. МАКАРОВА, О.В. БАЙБАКОВА, В.Н. ЗОЛОТУХИН, Г.В. САКОВИЧ

ФГБУН «Институт проблем химико-энергетических технологий» (ИПХЭТ), Сибирское отделение  
Российской академии наук, Бийск, 659322

e-mail: \*ipcet@mail.ru, eas08988@mail.ru

Поступила 31.08.2016

Принята в печать 22.11.2016

Показана эффективность плодовых оболочек овса как сырья для получения биоэтанола. Предварительная обработка ПОО методом щелочной делигнификации при атмосферном давлении позволяет получить качественный субстрат для дальнейшего ферментативного гидролиза (содержание гидролизуемых компонентов 93,7 %). Показано преимущество обработки сырья в одну стадию методом щелочной делигнификации по сравнению с двухстадийной обработкой (разбавленной щелочью и затем разбавленной кислотой): при концентрации субстрата 30,0 г/л выход редуцирующих веществ от суммы гидролизуемых компонентов составил 90,8 % и 83,7 %, соответственно. Установлено, что при ферментативном гидролизе продукта щелочной делигнификации плодовых оболочек овса повышение начальной концентрации субстрата от 30 г/л до 120 г/л приводит к снижению выхода редуцирующих веществ от 85,1 % до 68,7 %. Ферментативные гидролизаты представлены преимущественно глюкозой, доля пентоз составляет 3,2–4,0 %. Для получения биоэтанола рекомендовано использовать продукт щелочной делигнификации ПОО в концентрации от 60 г/л до 90 г/л.

*Ключевые слова:* концентрация субстрата, плодовые оболочки овса, ферментативный гидролиз, щелочная делигнификация.

**doi:** 10.1016/0234-2758-2017-33-2-68-75

Для внедрения промышленных технологий получения биоэтанола из целлюлозосодержащего сырья необходимы источники сырья, характеризующиеся обилием, доступностью, возобновляемостью, низкой себестоимостью и стабильностью при хранении. В этой связи привлекательными являются отходы агропромышленного комплекса, полностью отвечающие указанным требованиям [1–4].

Коротковолокнистая однолетняя целлюлоза имеет меньшую степень полимеризации, чем древесная или тем более хлопковая целлюлоза; она доступнее для конверсии в сахара, т.е. в целом более технологична как сырье для производства биоэтанола [5]. Ежегодно целлюлозосодержащие отходы сельского хозяйства – солома и плодовые оболочки злаков – остаются неиспользованными. Проблемой переработки соломы является необхо-

димость ее очистки от остатков земли, а затем измельчения и уплотнения для обеспечения высокой степени загрузки реакторов.

Таких недостатков лишены плодовые оболочки злаков: они аккумулированы на зерноперерабатывающих предприятиях, откалиброваны природой по размеру и готовы к технологической переработке. В пленчатых культурах (например, овсе) плодовые оболочки могут составлять до 30 % от массы зерна, а массовая доля целлюлозы в плодовых оболочках овса (ПОО) составляет 35–45 %, что позволяет рассматривать их в качестве перспективного источника этого вида сырья.

По данным Росстата, средний валовый сбор овса в России в 2009–2015 гг. составил 4674,57 тыс. т в год, что соответствует 1308,9 тыс. т плодовых оболочек в год; данный вид сырья распространен также в глобальном масштабе.

*Список сокращений:* а.с.с. – абсолютно сухое сырье; ПОО – плодовые оболочки овса; ПЩД – продукт щелочной делигнификации; РВ – редуцирующие вещества; ТЦ – техническая целлюлоза.

Ранее ПОО использовали как источник получения фурфурола и ксилита из-за высокого содержания гемицеллюлоз (32–35 %) [6]. Простыми путями утилизации ПОО могут представляться применение их в качестве корма для сельскохозяйственных животных или сжигание с целью получения энергии. Однако из-за жесткости ПОО не могут быть использованы на корм без обработки, а их сжигание (в натуральном виде или в виде пеллет) приводит к образованию нагара и выводит из строя печи, что объясняется высокой зольностью плодовых оболочек овса (4,5–5,2 %) и легкоплавкостью образующейся золы [7].

ПОО успешно применяют в сельском хозяйстве для мульчирования почвы; имеются сведения о применении ПОО в качестве сырья для получения пищевых волокон [8] и в качестве сорбента ионов тяжелых металлов [9]. Следует, однако, признать, что доля практически утилизируемых ПОО весьма ограничена. В то же время, плодовые оболочки овса являются перспективным сырьем для биотехнологической переработки, что обусловлено особенностями их морфологии и химического состава, широкой распространенностью в мире, доступностью, ежегодной возобновляемостью в промышленных масштабах, нулевой себестоимостью (как отхода сельскохозяйственного производства) и высокой технологичностью. В Канаде корпорация Logen в 2000 г построила опытный завод мощностью 50 т/сут по производству биоэтанола из различных видов биомассы, в том числе из плодовых оболочек овса. После предварительного гидролиза серной кислотой при 200–250°C ПОО подвергают ферментативной обработке, а в качестве продуцентов биоэтанола используют различные рекомбинантные штаммы *Zyomonas mobilis* [10]. Поиск эффективных способов трансформации ПОО в биоэтанол ведется и в Бразилии [11].

В ИПХЭТ СО РАН разработана технология получения биоэтанола из плодовых оболочек овса, включающая следующие стадии: (сырье) → предварительная химическая обработка → (субстрат) → ферментативный гидролиз → (ферментативный гидролизат) → спиртовое брожение → (бражка) → выделение биоэтанола из бражки → (биоэтанол-сырец) → концентрирование и ректификация биоэтанола [12–17].

Известно, что ферментативный гидролиз нативного целлюлозосодержащего сырья затруднен, поскольку растение содержит несколько полимеров – целлюлозу, гемицеллюлозы и лигнин – которые в совокупности образуют композицион-

ный материал, более прочный и устойчивый к действию физических и химических факторов, чем отдельные компоненты. Для того, чтобы ферментные комплексы могли расщепить индивидуальные полимеры, необходимо разрушить композитную матрицу, для чего нативное сырье подвергают химической или физико-химической обработке [1–3, 18].

Ранее нами были проведены исследования ферментативного гидролиза технической целлюлозы (ТЦ) плодовых оболочек овса [12–14] в ферментере объемом 11 л [15, 16]. Полученный ферментативный гидролизат был превращен в биоэтанол [17].

Выделение ТЦ включало две стадии: ПОО обрабатывали при атмосферном давлении разбавленным раствором гидроксида натрия и затем разбавленным раствором азотной кислоты [12]. Однако получение технической целлюлозы достаточно затратно и ее использование для последующего ферментативного гидролиза и синтеза биоэтанола представляется нецелесообразным. ТЦ может служить материалом для получения сложных эфиров, бумаги и других продуктов с высокой добавленной стоимостью [19, 20].

Для упрощения технологической схемы и удешевления конечного продукта целесообразным представляется использование субстрата, полученного одностадийно методом щелочной делигнификации. Можно прогнозировать, что такой субстрат будет иметь сложный химический состав и состоять, кроме целлюлозы, из гемицеллюлоз, лигнина и золы. Результат ферментативного гидролиза субстрата сложного химического состава неоднозначен и зависит от вида сырья, режимов предварительной обработки, параметров ферментативного гидролиза и вида используемых ферментных препаратов [2, 3, 18, 21–25].

Для получения биоэтанола с применением в технологической цепи метода ферментативного гидролиза важным моментом является выбор наиболее эффективной концентрации субстрата. Высокая начальная концентрация РВ по технико-экономическим причинам является предпочтительной для масштабирования процесса. Она обеспечивает повышенное содержание биоэтанола в бражке, а значит, и экономию капиталозатрат, снижение себестоимости ферментативного гидролизата, а также минимизацию энергозатрат на стадии дистилляции и ректификации биоэтанола [26].

С учетом вышесказанного, целью настоящей работы было исследование щелочной делигнификации ПОО и последующего ферментатив-

ческого гидролиза делигнифицированного субстрата для производства биоэтанола как конечного продукта.

## УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

**Щелочная делигнификация** заключалась в одностадийной химической обработке ПОО (ЗАО "Бийский элеватор", Россия) разбавленным раствором гидроксида натрия (АО «Каустик», Россия) при атмосферном давлении. Процесс проводили при 94–96°C в течение 4 ч в сосуде емкостью 250 л на опытном производстве ИПХЭТ СО РАН.

Предварительно обработанные ПОО отжимали от раствора щелочи на фильтр-прессе (ФЕР-04-0,16/0,15, Россия) и промывали водой до нейтральной реакции. Полученный продукт щелочной делигнификации (ПЩД) ПОО использовали как субстрат для ферментативного гидролиза.

**Определение основных характеристик сырья (ПОО) и субстрата (ПЩД ПОО)**, а именно, содержания целлюлозы (по Кюршнеру), пентозанов, кислотонерастворимого лигнина и золы, проводили по стандартным методикам [27].

**Ферментативный гидролиз** осуществляли в колбах Эрленмейера объемом 500 мл в 0,5 М ацетатном буфере при pH 4,7–4,8, температуре 45°C и постоянном перемешивании на платформе «ПЭ-6410 М» («Экрос», Россия) с частотой колебаний 150 мин<sup>-1</sup> в течение 72 ч. Для гидролиза использовали промышленно доступные ферментные препараты «Целлюлюкс-А»<sup>1</sup> («Сиббиофарм», Россия) (0,04 г/г субстрата) и «Брюзайм ВГХ»<sup>2</sup> (BrewZyme ВГХ, Polfa Tarchomin Pharmaceutical Works S.A., Польша, для Diadic International Inc., США) (0,1 г/г субстрата).

**Реакционную способность ПЩД ПОО при ферментативном гидролизе** изучали при концентрации субстрата 30 г/л. Зависимость эффективности процесса от начальной концентрации субстрата исследовали при его содержании 30 г/л, 60, 90 и 120 г/л.

Концентрацию редуцирующих веществ (РВ) в пересчете на глюкозу в гидролизате определяли спектрофотометрическим методом с использованием реактива на основе 3,5-динитросалициловой кислоты (Papeas, Испания) на приборе

UNICO UV-2804 (США); относительная погрешность метода составляла 3,45 %.

Выход РВ от массы субстрата и от массы гидролизуемых компонентов (за вычетом нецеллюлозных примесей золы и лигнина) рассчитывали с использованием коэффициента 0,9, обусловленного присоединением молекулы воды при ферментативном гидролизе к ангидроглюкозным остаткам соответствующих мономерных звеньев целлюлозы. Концентрацию пентоз в пересчете на ксилозу в ферментативных гидролизатах определяли спектрофотометрически по модифицированной методике<sup>3</sup> с использованием железоорсинового реактива (орсинола моногидрат 99 %, CAS 6153-39-5, Acrosorganics, США).

**Морфология ПОО и ПЩД ПОО** исследована методом растровой электронной микроскопии с помощью микроскопа JSM-840 (Япония).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Химическая трансформация ПОО

Сущность щелочной делигнификации заключается в удалении лигнина из композитной матрицы растения при одновременном гидролизе гемицеллюлоз. Механизм реакции включает омыление межмолекулярных эфирных связей, которыми «прошиты» гемицеллюлозы и лигнин; в результате происходит расщепление этих связей и осуществляется воздействие щелочи на микрофибриллы целлюлозы. Степень полимеризации последней при этом снижается и происходит ее набухание, что приводит к увеличению внутренней поверхности целлюлозы и делает ее более доступной для действия ферментов [18].

ПЩД ПОО представляет собой рыхлую массу светло-серого цвета с желтоватым оттенком без запаха; при растирании в руках становятся видны остевые остатки ПОО. На рис. 1 представлены результаты электронной микроскопии поверхности ПОО до и после обработки разбавленной щелочью.

Видно, что поверхность ПОО до щелочной делигнификации была ровной, волокна были расположены правильными рядами, визуально напоминающими укладку петель вязаных изделий (рис. 1, а). После делигнификации поверхность

<sup>1</sup> <http://www.sibbio.ru/catalog/spirtoproizvodstvo/tsellolyuks-a/> (дата обращения: 09.11. 2015)

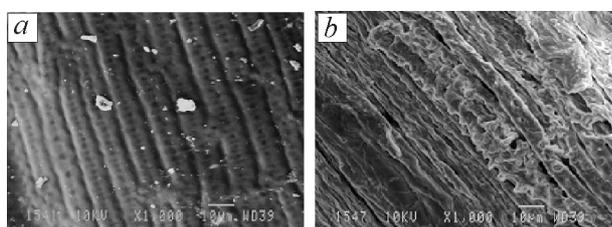
<sup>2</sup> <http://www.rusferment.ru/preparaty-dlya-proizvodstva/gemitsellyulaza/bryuzajm-bgx.html> (дата обращения: 09.11. 2015).

<sup>3</sup> ГОСТ 10820 – 75 Целлюлоза. Метод определения массовой доли пентозанов. Издание официальное. М.: Изд-во стандартов, 1991, 8 с.

**Химические показатели ПОО до и после щелочной делигнификации**

**Chemical characteristics of oat hulls before and after alkaline delignification**

Вещество	Содержание, % от а.с.с.	
	ПОО	ПЩД ПОО
Целлюлоза (по Кюршнеру)	44,7	86,7
Пентозаны	30,8	7,0
Лигнин	18,1	5,4
Зола	4,6	1,1



**Рис. 1.** Микрофотографии ПОО до (а) и после (б) щелочной делигнификации

**Fig. 1.** Microphotographs of oat hulls before (a) and after (b) alkaline delignification

стала более развитой, набухшей, неоднородной (см. рис.1, б).

Химические показатели сырья для щелочной делигнификации (ПОО) и ее продукта (ПЩД ПОО) представлены в табл. 1.

Из табл. 1 видно, что щелочная делигнификация ПОО позволяет почти в 2 раза повысить содержание целлюлозы, в 4,4 раза снизить содержание пентозанов, в 3,3 раза лигнина и в 4,1 раза золы.

Сумма гидролизуемых компонентов ПЩД ПОО составляет 93,7 %, что позволяет предположить их высокую реакционную способность при ферментативном гидролизе и пригодность для последующего биосинтеза биоэтанола.

Преимуществами щелочной делигнификации являются доступность основного реагента (гидроксида натрия), безопасность процесса (обработка производится разбавленным раствором при атмосферном давлении), простота аппаратного оформления (применяется стандартное емкостное оборудование), возможность многократ-

ного проведения процесса, а также его экономичность (промывная вода используется циклически и подается противотоком). К недостаткам относятся сложность регенерации растворов гидроксида натрия и его большая стоимость по сравнению с гидроксидом кальция. В данном процессе вклад гидроксида натрия в стоимость сырья для производства ПЩД ПОО составляет 20,8 % (см. Приложение<sup>1</sup>, табл. П1)

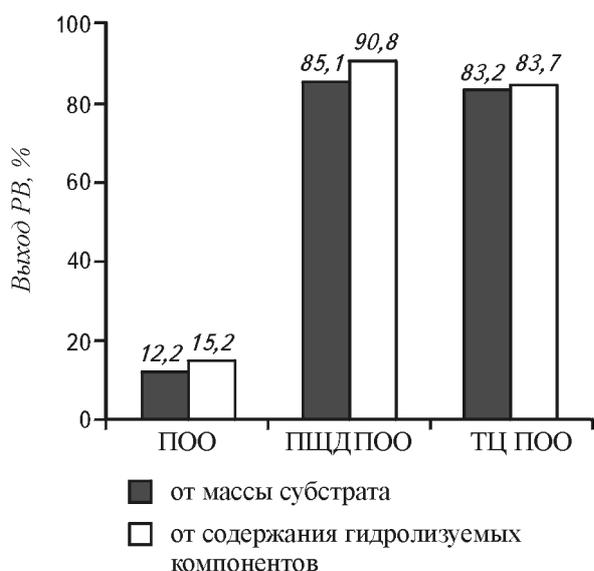
**Изучение реакционной способности ПЩД ПОО при ферментативном гидролизе**

Результаты определения способности служить субстратом ферментативного гидролиза у нативных ПОО, ПЩД ПОО и ТЦ ПОО (см. [13]) показаны на рис. 2. ТЦ ПОО имела следующие показатели: содержание α-целлюлозы – 92,5 %, пентозанов – 6,9 %, кислотонерастворимого лигнина – 0,5 %, золы – 0,1 %. Сумма гидролизуемых веществ в ТЦ ПОО составила 99,4 %, в то время как в нативных ПОО – 75,5 %, а ПЩД ПОО – 93,7 % (см. табл.1).

Нативные ПОО характеризуются крайне низкой реакционной способностью при ферментативном гидролизе: выход редуцирующих веществ от массы субстрата составлял 12,2 %, а от содержания гидролизуемых компонентов – 15,2 %, что обусловлено прочными связями между полимерами, образующими композитную матрицу ПОО.

Химическая обработка в одну (ПЩД ПОО) или две (ТЦ ПОО) стадии повышает реакционную способность при ферментативном гидролизе в 6,8–7,0 раз по сравнению с нативным сырьем.

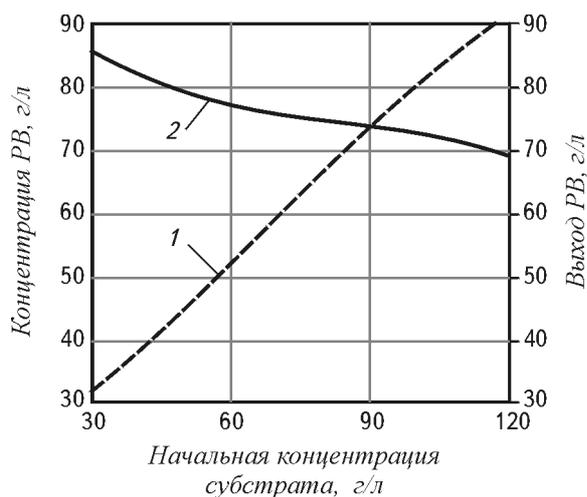
<sup>1</sup> Приложение опубликовано в электронной версии статьи.



**Рис. 2.** Выход РВ при ферментативном гидролизе нативных ПОО, ПЩД ПОО и ТЦ ПОО

**Fig. 2.** RS yield after enzymatic hydrolysis of native oat hulls, oat hulls alkaline delignification product and oat hulls technical cellulose

Выход редуцирующих веществ у ПЩД ПОО и ТЦ ПОО от массы субстрата практически совпадает (соответственно 85,1 % и 83,2 %), а от содержания гидролизуемых компонентов выход РВ различается на 7 % в пользу ПЩД (90,8% и 83,7%, соответственно).



**Рис. 3.** Зависимость концентрации (1) и выхода (2) РВ в ферментативных гидролизатах от начальной концентрации ПЩД ПОО

**Fig. 3.** Dependency of RS concentration (1) and RS yield (2) in enzymatic hydrolysates on starting concentration of oat hulls alkaline delignification product

Обработка азотной кислотой после щелочной делигнификации (в случае получения ТЦ) приводит к гидролизу гемицеллюлоз и аморфной составляющей целлюлозы. Поэтому, несмотря на то, что ТЦ является более очищенным целлюлозосодержащим субстратом, ее способность расщепляться при ферментативном гидролизе ниже, чем у ПЩД. Эти данные согласуются с ранее опубликованными, которые свидетельствуют об устойчивости к ферментативной обработке микрокристаллической целлюлозы (авицела) [28] и технической целлюлозы мискантуса [29], обусловленной именно высокой химической чистотой субстратов.

Таким образом, показано, что для ферментативного гидролиза предпочтительнее использовать ПЩД ПОО, полученный в одну стадию, чем ТЦ ПОО, полученную в две стадии.

### Изучение зависимости эффективности ферментативного гидролиза ПЩД ПОО от начальной концентрации субстрата

Была изучена зависимость эффективности ферментативного гидролиза ПЩД ПОО от его начальной концентрации (рис. 3).

Из рис. 3 видно, что концентрация редуцирующих веществ в гидролизатах увеличивается прямо пропорционально повышению начальной концентрации субстрата, а выход РВ снижается, что справедливо в любой момент времени. Это можно объяснить следующими факторами: явлением субстратного ингибирования, проявляющегося индивидуально для разных видов сырья и типов его предварительной обработки [18, 26]; трудностью массопереноса целлюлолитических ферментов в высоковязкой суспензии субстрата [26]; необратимой адсорбцией ферментов на хорошо развитой поверхности ПЩД [28]; ингибирующим эффектом образующихся сахаров [26].

Из полученных результатов можно сделать вывод, что тестовое определение реакционной способности при начальной концентрации субстрата 30 г/л недостаточно для прогнозирования эффективности ферментативного гидролиза при высоких концентрациях субстрата.

При повышении концентрации ПЩД от 30 г/л до 120 г/л концентрация РВ в ферментативных гидролизатах повышается на 60,8 г/л (от 31,5 до 92,3 г/л); при этом выход РВ снижается на 16,4 % (от 85,1 % до 68,7 %). В связи с этим, для получения биоэтанола можно рекомендовать использование ПЩД в концентрации от 60 г/л до 90 г/л.

**Концентрация и выход пентозанов в ферментативных гидролизатах в зависимости от начального содержания субстрата**

**Pentosan concentrations and yields after enzymatic hydrolysis depending on starting substrate content**

Концентрация субстрата, г/л	Концентрация пентоз, г/л	Выход пентоз от содержания пентозанов в сырье, %	Доля пентоз от суммы РВ в гидролизате, %
30	1,0	65,3	3,2
60	2,1	66,0	4,0
90	2,7	58,7	3,6
120	3,3	54,7	3,6

При большем его содержании высокая вязкость реакционной системы не позволяет применять стандартное емкостное оборудование; кроме того, снижается эффективность процесса и падает выход РВ. При более низких начальных концентрациях в процессе трансформации субстрата РВ накапливаются в низких концентрациях РВ ( $\leq 52$  г/л), что предопределяет снижение концентрации биоэтанола в бражке.

Полученные данные хорошо согласуются с исследованиями зависимости эффективности ферментативного гидролиза ТЦ ПОО от концентрации субстрата [13], в которых при аналогичных условиях выход РВ снижался от 86,2% до 65,1%. Сопоставление этих данных позволяет еще раз подтвердить вывод о предпочтительности использования одностадийной обработки ПОО методом щелочной делигнификации (а не двухстадийного получения ТЦ) в целях дальнейшей энзиматической трансформации ПЩД.

В табл. 2 показаны результаты определения концентрации пентозанов в гидролизатах и расчета их выхода.

Из табл. 2 видно, что при повышении концентрации субстрата от 30 до 120 г/л выход пентоз снижается на 10,6 % (от 65,3 % до 54,7%). При этом доля пентоз в ферментативных гидролизатах составляет 3,2–4,0 %. Такое низкое относительное содержание пентоз не может оказать существенное влияние на последующее спиртовое брожение.

По результатам работы можно сделать следующие выводы:

1) предварительная обработка плодовых оболочек овса методом щелочной делигнифика-

ции при атмосферном давлении позволяет получить качественный субстрат для дальнейшего ферментативного гидролиза с содержанием гидролизуемых компонентов 93,7 %;

2) для ферментативного гидролиза предпочтительнее использовать продукт щелочной делигнификации плодовых оболочек овса, полученный обработкой в одну стадию, чем техническую целлюлозу плодовых оболочек овса, полученную в две стадии: при концентрации субстрата 30 г/л выход РВ в пересчете на массу гидролизуемых компонентов составил для продукта щелочной делигнификации 90,8 %, а для технической целлюлозы – 83,7 %;

3) повышение концентрации субстрата от 30 г/л до 120 г/л при ферментативном гидролизе продукта щелочной делигнификации плодовых оболочек овса приводит к линейному снижению выхода РВ с 85,1 % до 68,7 %;

4) при ферментативном гидролизе продукта щелочной делигнификации плодовых оболочек овса образуется преимущественно глюкоза, доля пентоз составляет 3,2–4,0 %;

5) для последующего получения биоэтанола рекомендуется при ферментативном гидролизе использовать концентрацию продукта щелочной делигнификации от 60 г/л до 90 г/л.

Расчеты экономичности использования ПЩД ПОО по сравнению с другим сырьем, проведенные на основе полученных в настоящей работе результатов, приводятся в электронной версии статьи.

## ЛИТЕРАТУРА

- Somerville C. Feedstocks for lignocellulosic biofuels. *Science*, 2010, 329(5993), 790–792. doi: 10.1126/science.1189268
- Mussatto S.I., Dragone G., Guimaraes P.M.R., et al. Technological trends, global market, and challenges of bio-ethanol production. *Biotechnology Advances*, 2010, 28(6), 817–830. doi: 10.1016/j.biotechadv.2010.07.001
- Варфоломеев С.Д., Ефременко Е.Н., Крылова Л.П. Биотоплива. *Успехи химии*, 2010, 79(6), 544–564. doi: <https://doi.org/10.1070/RC2010v079n06ABEH004138> (Varfolomeev S.D., Efremenko E.N., Krylova L.P. Biofuels. *Russian Chemical Reviews*, 2010, 79(6), 491–509).
- Дебабов В.Г. Биотопливо. *Биотехнология*, 2008, (1), 3–14. (Debabov V.G. Biofuel. *Biotechnologiya* (Biotechnology), 2008, (1), 3–14).
- Новый справочник химика и технолога. Сырье и продукты промышленности органических и неорганических веществ. Ч.II/–СПб, НПО «Профессионал», 2006, 492–493. (A novel guidebook for chemist and technologist. Raw materials and products in industry of organic and inorganic compounds. Part II, St.-Petersburg: NPO Professional, 2006, 492–493).
- Холькин Ю.И. Технология гидролизных производств. Москва, Лесная промышленность, 1989, 23–26. (Khol'kin Yu.I. Technology of hydrolysis industry. Moscow: Lesnaya Promyshlennost).
- Земнухова Л.А., Будаева В.В., Федорищева Г.А., и др. Неорганические компоненты соломы и шелухи овса. *Химия растительного сырья*, 2009, (1), 147–152. (Zemnukhova L.A., Budaeva V.V., Fedorishcheva G.A., et al., Inorganic components of straw and oat husks. *Khimiya Rastitel'noy Syria* (Chemistry of Plant Material)).
- Кузнецов Б.Н., Данилов В.Г., Яценкова О.В., и др. Разработка способа получения пищевых волокон из соломы пшеницы и шелухи овса. *Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Химия*, 2009, 2(2), 156–164. (Kuznetsov B.N., Danilov V.G., Yatsenkova O.V., et al. Development of Method of Food Fibers Obtaining from Wheat Straw and Oats Husk. *Zhurnal Sibirskogo Federal'nogo Universiteta. Ser. Khimiya* (J. Siberian Federal University. Chemistry)). [http://elibrary.sfu-kras.ru/bitstream/handle/2311/1299/06\\_Kuznecov.pdf;jsessionid](http://elibrary.sfu-kras.ru/bitstream/handle/2311/1299/06_Kuznecov.pdf;jsessionid)
- Степанова С.В., Шайхiev И.Г. Удаление ионов цинка из модельных растворов плодовыми оболочками зерновых культур. *Вестник Казанского технологического университета*, 2014, 17(3), 166–168. (Stepanova S.V., and Shaikhiev I.G., Removal of Zinc Ions in Model Solutions of Cereal Husks. *Vestnik Kazanskogo Tekhnologicheskogo Universiteta* (J. Kazan University of Technology)). [http://www.kstu.ru/article.jsp?id=1910&id\\_e=23840](http://www.kstu.ru/article.jsp?id=1910&id_e=23840)
- Lawford H.G., Rousseau J.D., Tolan J.S. Comparative ethanol productivities of different *Zymomonas* recombinants fermenting oat hull hydrolysate. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2001, 91(1), 133–146. doi: 10.1385/ABAB:91-93:1-9:133
- Chaud L. C. S., da Silva D. D. V., de Mattos R.T., et al. Evaluation of oat hull hemicellulosic hydrolysate fermentability employing *Pichia stipites*. *Brazilian Archives Biology Technology*, 2012, 55(5), 771–777. doi: 10.1590/S1516-89132012000500017
- Макарова Е.И., Будаева В.В., Кухленко А.А., Орлов С.Е. Кинетика ферментализации образцов целлюлозы мискантуса и плодовых оболочек овса. *Успехи современного естествознания*, 2015, (1-5), 798–803. Makarova E.I., Budaeva V.V., Kukhlenko A.A., and Orlov S.E., Kinetics of Enzymatic Hydrolysis of Cellulose from Miscanthus and Oat Husks. *Uspekhi Sovremennogo Estestvoznaniya* (Proc. Current Life Sciences). <http://www.natural-sciences.ru/ru/article/view?id=34946>
- Makarova E.I., Budaeva V.V., Skiba E.A. Enzymatic Hydrolysis of Cellulose from Oat Husks at Different Substrate Concentrations. *Russ. J. Bioorganic Chem.*, 2014, 40(7), 726–732. doi 10.1134/S1068162014070103
- Makarova E.I., Budaeva V.V., Skiba E.A., Sakovich G.V. Enzymatic hydrolysis of celluloses obtained via the hydrothermal processing of Miscanthus and oat hulls. *Catalysis Industry*, 2014, 6(1), 67–71. doi: 10.1134/S20700504140061
- Сакович Г.В., Будаева В.В., Скиба Е.А., и др. Опыт масштабирования ферментативного гидролиза технических целлюлоз из мискантуса и плодовых оболочек овса. *Ползуновский вестник*, 2012, (4), 173–176. (Sakovich G.V., Budaeva V.V., Skiba E.A., et al., Scaling Experience of Enzymatic Hydrolysis of Technical Celluloses from Miscanthus and Oat Husks. *Polzunovskii Vestnik* (Polzunovsky Herald)).
- Pavlov I.N. A Setup for Studying the Biocatalytic Conversion of Products from the Processing of Nonwood Raw Materials. *Catalysis Industry*, 2014, 6(4), 350–360. doi: 10.1134/S207005041404014X
- Скиба Е.А., Будаева В.В., Макарова Е.И., и др. Биотанол из целлюлозы плодовых оболочек овса. *Вестник Казанского технологического университета*, 2013, 16(22), 202–205. (Skiba E.A., Budaeva V.V., Makarova E.I., et al., Bioethanol from cellulose of oat hull // *Vestnik Kazanskogo Tekhnologicheskogo Instituta* (Bulletin of Kazan Technological University) [http://www.kstu.ru/article.jsp?id=1910&id\\_e=23840](http://www.kstu.ru/article.jsp?id=1910&id_e=23840).
- Hu F., Ragauskas A. Pretreatment and lignocellulosic chemistry. *Bioenerg. Res.*, 2012, 5(4), 1043–1066. doi: 10.1007/s12155-012-9208-0
- Якушева А.А. Нитраты целлюлозы из нового источника целлюлозы – плодовых оболочек овса. *Фундаментальные исследования*, 2014, 8(2), 360–364. (Yakusheva A.A., Cellulose Nitrates from a New Cellulose Source – Oat Husks. *Fundamental'nye Issledovaniya* (Fundamental Research)).
- Гладышева Е.К. Обоснование выбора питательной среды для синтеза бактериальной целлюлозы. *Вестник Алтайской науки*, 2014, 1(19), 307–310. (Gladysheva E.K., Substantiation of Selection of Nutrient Medium for Bacterial Cellulose Synthesis. *Vestnik Altaiskoy Nauki* (J. Alatay Science)).
- Синицын А.П., Осипов Д.О., Рожкова А.М., и др. Получение высокоэффективных ферментных комплексов целлюлаз и гемицеллюлаз для гидролиза растительного сырья на

- основе штамма *Penicillium verruculosum*. *Биотехнология*, 2013, (5), 40–53. (Sinityn A.P., Osipov D.O., Rozhkova A.M., et al. Production of Highly Effective Enzyme Complexes of Cellulases and Hemicellulases on the basis of *Penicillium verruculosum* Strain for Hydrolysis of Plant Raw Materials. *Biotechnologiya* (Biotechnology). doi: <http://dx.doi.org/10.21519/0234-2758-2013-5-40-53>)
22. Chekushina V., Dotsenko G.S., Kondratieva E.G., et al. Component composition of commercial enzyme preparations designed for the bioconservation of plant raw materials and obtained using *Trichoderma* fungi genus. *Biotechnologiya* (Biotechnology), 2013, (3), 58–68.
  23. Rainina E.I., Bachurina G.P., Makhlis T.A., et al. Usage of *Zymomonas mobilis* bacteria for fermentation of cellulosic materials. *Biotechnologiya* (Biotechnology), 1986, (4), 65.
  24. Hallac B.B., Ragauskas A.J. Analyzing cellulose degree of polymerization and its relevancy to cellulosic ethanol. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 2010, (5), 215–225. doi: 10.1002/bbb.269
  25. Budaeva V.V., Skiba E.A., Baibakova O.V., et al. Kinetics of the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials at different concentrations of the substrate. *Catalysis in Industry*, 2016, 8(1), 81–87. doi: 10.1134/S2070050416010025
  26. Ioelovich M., Morag E. Effect of cellulose structure on enzymatic hydrolysis. *BioResources*, 2011, 6(3), 2818–2834. doi: 10.15376/biores.6.3.2818\_2835
  27. Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. Москва: Экология, 1991, 71–168. (Obolenskaya A.V., El-nitskaya Z.P., and Leonovich A.A. Laboratory works on wood and cellulose chemistry. Moscow: Ekologiya.
  28. Zhiying Yu. Evaluation of the factors affecting avicel reactivity using multi-stage enzymatic hydrolysis. *Biotechnology Bioengineering*, 2012, 109(5), 1131–1139. doi: 10.1002/bit.24386
  29. Makarova E.I. Results of *Miscanthus* cellulose fermentation in the acetate buffer and in water medium. *Chemistry for Sustainable Development*, 2013, (2), 209–214. [http://sibran.ru/en/journals/issue.php-ID=149051&ARTICLE\\_ID=149064](http://sibran.ru/en/journals/issue.php-ID=149051&ARTICLE_ID=149064)

## Bioethanol from Oat Hulls Pretreated by Alkaline Delignification.

### I. Chemical and Enzymatic Material Conversion

E.A. SKIBA\*, V.V. BUDAeva, E.I. MAKAROVA, O.V. BAIBAKOVA, V.N. ZOLOTUKHIN, and G.V. SAKOVICH  
*The Institute for Problems in Chemical-and-Energy Technologies, Russ. Acad. Sci., Siberian Branch, 659322, Biysk Russia*  
*e-mail: \*ipcet@mail.ru, eas08988@mail.ru*

Received August 31, 2016  
 Accepted November 22, 2016

**Abstract** – The efficiency of oat hulls as a substrate for the ethanol production has been shown. A pretreatment of oat hulls by alkaline delignification at atmospheric pressure allows a quality substrate for enzymatic hydrolysis to be obtained with the hydrolyzables content of 93.7%. It was shown that the one-stage alkaline delignification is more efficient than the two-stage pretreatment (by diluted alkali and then diluted acid): the yields of reducing sugars were 90.8% and 83.7% of overall hydrolyzables basis, respectively, at the substrate loading of 30.0 g/L. The yield of reducing sugars resulting from the enzymatic hydrolysis of the oat hulls alkaline delignification product was found to drop from 85.1% to 68.7% when the substrate loading was raised from 30 to 120 g/L. The enzymatic hydrolyzates are mainly composed of glucose, the pentose proportion being 3.2–4.0%. It is recommended that the alkaline delignification product loading of 60 to 90 g/L be used for bioethanol obtaining.

*Key words:* alkaline delignification, enzymatic hydrolysis, oat hulls, substrate loading.

**doi:** 10.1016/0234-2758-2017-33-2-68-75