

### Этап 3

Разработан новый перспективный метод активации биомассы с использованием вихревых технологий.

Разработан лабораторный стенд по переработке ЛЦ-биомассы. Изготовлены и запущены в эксплуатацию блок измельчения-активации, аналитический и каталитический блоки.

Разработаны уникальные методики синтеза твердых кислотных катализаторов, на основе углеродного материала Сибунит-4 и мезопористого оксида циркония промотированного ниобием, для процесса гидротермального гидролиза-дегидратации холлоцеллюлозы и ее компонентов (целлюлозы и гемицеллюлоз) в ценные химические соединения фуранового ряда (5-гидроксиметилфурфурол, фурфурол), моносахариды и др.

Наработаны и исследованы комплексом физико-химических методов образцы катализаторов. Установлена высокая степень стабильности углеродных и оксидных катализаторов и в гидротермальных условиях при 190 °С. Разработанные катализаторы, позволяют получать из прямо холоцеллюлозы в чистой воде ценный продукт - 5-ГМФ с селективностью (27%), наиболее высокой из известных к настоящему времени, при селективностях по глюкозе и ксилозе 80%, фурфурола - 60%. Отработаны подходы к выделению из гидролизатов 5-ГМФ и сахаров.

Продемонстрирована возможность комплексной каталитической переработки активированной целлюлозы в 5-ГМФ с последующим сбраживанием моносахаридов в этанол. Впервые показана возможность получения этанола на гидролизатах целлюлозы с использованием дрожжей *H. polymorpha*. Разработанный подход не имеет аналогов и позволяет получать этанол с выходами, близкими к альтернативным способам с использованием мезофильных дрожжей.

Иностранным партнером проведены исследования по активации биомассы путем ультразвуковой обработки и обработки водяным паром, а также ферментативной делигнификации. Подготовлены и переданы российскому партнеру образцы отходов кукурузного производства, активированные исследуемыми способами, образцы холоцеллюлозы и лигнина, полученные из биомассы кукурузной соломы и березы методом ферментативной делигнификации. Исследование образцов лигнина до и после ферментативной обработки методами ИК-спектроскопии и ГХ-МС показало, ферментативная обработка с помощью лакказ позволяет достичь высокой степени их деполимеризации и получить широкий ряд ценных востребованных соединений (фенол, ацетофенон, бензальдегид и т.д.).

Проведены исследования по выделению генов, кодирующих гликозил гидролазы из термофильных микроорганизмов. Выделены и охарактеризованы термофильные бактерии из трех термальных источников, растущие при температурах свыше 50 °С и обладающие гидрозилгидролазной активностью (всего 38 уникальных изолятов). Проведена идентификация бактерий по последовательности 16s рРНК и рестрикционный анализ фрагментов, показавший, что изоляты генетически тесно связаны друг с другом. Проведены работы по метагеномному анализу образцов ДНК, полученных из термального источника Калаф.

Индийским партнером впервые выделены пять генов, кодирующих гликозил гидролазы из термофильных бактерий и метагеномов, выделенных из термальных источников (Индия). Проведено исследование продукции целлюлаз и ксиланаз

термофильными бактериями (VCB1, VCB2, VSDB3, KBFB2 и KBFB3). Показано, что наибольшей продукцией целлюлаз обладал штамм VSDB3 (11.748 IU мл-1), эндоглюканаз VSDB3 (0.00032 IU мл-1) и ксиланаз - VCB2 и VSDB3 (2.881 и 4.937 IU мл -1).

Основная новизна использованного в проекте подхода состоит в концепции комплексной переработки отходов ЛЦ-биомассы, объединяющей новейшие механические, нанокаталитические и биотехнологические методы, основанные на разработках авторов проекта, для получения целого набора востребованных в химической, нефтехимической, топливной и других отраслях промышленности продуктов (глюкоза, ксилоза, 5-гидроксиметилфурфуrolа, изобутанол, этанол алкиларильные эфиры). Комплексный подход к переработке ЛЦ-биомассы позволит повысить экономическую эффективность процесса в целом благодаря: использованию продуктов одних процессов в качестве субстратов и реагентов в других; упрощения процессов за счет стадий выделения продуктов, уменьшения логистических затрат и т.д. Кроме того, новыми являются следующие научно-технологические решения:

- использование вихревых технологий, которые позволяют существенно интенсифицировать процесс измельчения и активации биомассы;
- твердые мезопористые углеродные и оксидные кислотные катализаторы одностадийного процесса гидролиза-дегидратации полисахаридов позволяющие получать производных фурана в одну стадию без промежуточного выделения сахаров;
- комплексной каталитической переработки активированной целлюлозы в 5-ГМФ с последующим сбразиванием моносахаридов в этанол;
- оригинальные ферменты лакказы, использованные индийским партнером для ферментативной деполимеризации лигнина;
- ранее не исследованные 38 изолятов термофильных грамположительных бактерий, растущих при температурах свыше 50°C и обладающих гидрозилгидролазной активностью.

По результатам исследований в Роспатент подана заявка № 2015120759 на изобретение «Способ получения 5-гидроксиметилфурфуrolа» от 01.06.2015 г.

Полученные результаты соответствуют требованиям к выполняемому проекту, они сопоставимы с результатами аналогичных работ, определяющими мировой уровень, а по разделам активации биомассы, твердых катализаторов для одностадийного процесса гидролиза-дегидратации холоцеллюлозы и их селективности по 5-ГМФ, получения этанола на гидролизатах целлюлозы с использованием дрожжей *H. polymorpha*, а также ферментативной биоделигнификации существенно превосходят аналогичные работы.