

УДК 664.162.036.4 : 577.15

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ ПРОДУКТОВ ГИДРОТЕРМОБАРИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ МИСКАНТУСА И ПЛОДОВЫХ ОБОЛОЧЕК ОВСА

© 2013 г. **В.В. Будаева,**
Е.И. Макарова, Е.А. Скиба,
Г.В. Сакович

Институт проблем химико-энергетических технологий СО РАН, г. Бийск

Введение

Целлюлозосодержащее сырье (ЦСС), включая недревесное, в том числе отходы сельскохозяйственной переработки и биомассу энергетических растений, является самым распространенным возобновляемым сырьем на планете с годовым мировым производством порядка 200 млрд т, только в Алтайском крае — 10 млн т. Доступность и дешевизна недревесных видов позволили предложить их в качестве альтернативных энергетических источников для получения топлива (биоспиртов) и топливных компонентов [1–4]. Химический гидролиз — реакция образования сбраживаемых моносахаридов из целлюлозы и гемицеллюлоз — по ряду причин уступил место ферментативному гидролизу. Предварительная обработка ЦСС необходима для преодоления природной стойкости матрицы из трех полимеров (целлюлозы, гемицеллюлоз и лигнина) к ферментативному гидролизу. Эта стадия определяет экономическую целесообразность способа подготовки субстрата и эффективность стадии ферментативного гидролиза. Известны различные способы предварительной обработки сырья: обработка ЦСС разбавленными кислотами, термобарическая обработка без катализаторов и с катализаторами, щелочная делигнификация [4, 5]. Гидротермобарическая

обработка (ГТБО) сама по себе и дополнительно со сбросом давления («со взрывом») как способ получения обогащенного целлюлозой сырья является предметом современных исследований [4, 6–13].

Цель данной работы — исследование ферментативного гидролиза волокнистых продуктов, полученных ГТБО «со взрывом» мискантуса и плодовых оболочек овса в реакторе высокого давления.

Экспериментальная часть

Исходное сырье. В качестве сырья использовали два вида ЦСС. Первый — *Мискантус китайский* (веежник китайский) — отдел Magnoliophyta, класс Liliopsida, порядок Poales, семейство Poaceae, род *Miscanthus*, вид *sinensis* Andersson, урожая 2008 г., выращенный на плантациях в Новосибирской области сотрудниками Института цитологии и генетики СО РАН [14]. Исследования по переработке российского мискантуса проводятся в течение последних 5 лет [11, 12, 15–18]. Второй — концентрированные в процессе получения овсяной крупы на предприятии ЗАО «Бийский элеватор» плодовые оболочки овса (ПОО), массовая доля которых от зерна составляет 28 %. Отличительными чертами данного вида сырья являются калиброванный в процессе природного образования размер частиц (не более 15 мм) и наличие тонких стенок растительного материала, обеспечивающих высокую степень превращения сырья в целевой волокнистый продукт.

Гидротермобарическая обработка сырья (ГТБО). Процесс ГТБО сырья проводили в реакторе высокого давления (РВД) [11–13, 19] следующим образом: предварительно измельченное в случае мискантуса и увлажненное сырье помещали в цилиндрический

Будаева В.В. — канд. хим. наук, доцент, зав. лабораторией биоконверсии Института проблем химико-энергетических технологий СО РАН. Тел.: (3854) 30-59-85. E-mail: budaeva@ipcet.ru, ipcet@mail.ru

Макарова Е.И. — аспирант, мл. науч. сотрудник той же лаборатории того же института. Тел. тот же. E-mail: massl@mail.ru, ipcet@mail.ru

Скиба Е.А. — канд. техн. наук, науч. сотрудник той же лаборатории того же института. Тел. тот же. E-mail: ipcet@mail.ru, eas08988@mail.ru

Сакович Г.В. — д-р техн. наук, академик РАН, науч. руководитель Института проблем химико-энергетических технологий СО РАН. Тел.: (3854) 30-59-55. E-mail: ipcet@mail.ru, admin@ipcet.ru

реактор объемом 0,44 л, имеющий на внешней поверхности электронагревательный элемент; содержимое реактора нагревали до заданной температуры и начинали отсчет продолжительности выдержки. По окончании выдержки производили резкую декомпрессию; волокнистый материал, локализованный в приемной емкости, промывали дистиллированной водой, отжимали, сушили для определения выхода и качественных характеристик. Обработка одного вида сырья при одинаковых условиях проводилась по четыре раза для сравнения и накопления целевого продукта. Определение основных характеристик в пересчете на абсолютно сухое вещество (а.с.в.): массовой доли (м.д.) целлюлозы по методу Кюршнера, зольности, м.д. кислотонерастворимого лигнина, м.д. пентозанов проводили по стандартным методам для сырья и продуктов их обработки [20].

Были проведены несколько серий гидротермобарической обработки сырья с вариацией условий, давление (МПа)/продолжительность (с): мискантус — 1,5/300; 1,5/600; 2,0/1200; 2,5/600; ПОО — 1,5/600.

Гидролиз. Ферментативный гидролиз [18] проводили в конических колбах вместимостью 0,5 дм³ следующим образом: навеску субстрата (исходного сырья или волокнистого продукта) 0,005 кг помещали в 0,150 дм³ ацетатного буфера (рН 4,7), вводили ферментные препараты; процесс осуществляли при температуре (50±2) °С в течение 72 ч при постоянном перемешивании реакционной массы на горизонтальной платформе ПЭ-6410М (Россия) с частотой колебания 150 мин⁻¹. Через каждые 8 ч отбирали пробу суспензии 2 см³ для определения концентрации редуцирующего вещества (РВ) в пересчете на глюкозу. Образцы исходного сырья: мискантуса и ПОО, а также волокнистого продукта (ВП), полученного обработкой мискантуса (ВП М) при давлении 2,0 МПа и продолжительности 1200 с, — ВП М (2,0/1200) — ферментировали без отбора проб.

Анализ продуктов. Концентрацию РВ в пересчете на глюкозу определяли спектрофотометрически на UNICO UV-2804 (США) с использованием реактива на основе 3,5-динитросалициловой кислоты («Panreac», Испания). Относительная погрешность данного метода составляет 3,45 %.

Предварительно были построены калибровочные графики определения РВ по глюкозе, ксилозе и смеси глюкозы с ксилозой. Было установлено, что калибровочные графики на основе глюкозы, ксилозы и смеси ксилозы и глюкозы практически

идентичны. Следовательно, при определении концентрации РВ в пересчете на глюкозу в растворе, в котором кроме гексоз содержатся и пентозы, отклонение от истинного значения концентрации РВ будет незначительным.

По окончании процесса суспензию фильтровали под вакуумом, остаток на фильтре отжимали. В фильтрате анализировали концентрацию РВ в пересчете на глюкозу и концентрацию пентоз железорсиновым способом [20] (относительная погрешность составляет 5,00 %). Выход РВ рассчитан в двух вариантах: на массу субстрата (0,005 кг) и на массу гидролизуемых компонентов (с вычетом нецеллюлозных примесей золы и лигнина). Для обоих случаев выход РВ рассчитан с учетом коэффициента 0,9, обусловленного присоединением молекулы воды к ангидроглюкозным остаткам соответствующих мономерных звеньев в результате ферментативного гидролиза. Абсолютная погрешность определения выхода РВ составила не более 1 %.

Ферментные препараты (ФП). В работе использовались доступные ФП: «Целлолюкс-А» (производитель ООО ПО «Сиббиофарм», г. Бердск), «Брюзайм ВGX» и «Рапидаза ЦР» (поставщик — компания «Русфермент», г. Москва). «ЦеллоЛюкс-А» и «Брюзайм ВGX» в соответствии с аналитическими паспортами стандартизованы по целлюлазной и ксиланазной активности, а «Рапидаза ЦР» обладает высокоэффективным комплексом гемицеллюлазных ферментов и целлобиазной активностью. Ранее нами было показано на других субстратах [18], что совместное использование этих препаратов приводит к увеличению скорости гидролиза и большему накоплению РВ в гидролизате.

ЦеллоЛюкс-А (стандартизирован по целлюлазе), грибного происхождения, в соответствии с паспортом обладает следующими способностями: целлюлазная (2000±200) ед/г; ксиланазная: 8000 КС; β-глюкоамилазная способность до 1500 β-ГлС.

Препарат «Брюзайм ВGX» (стандартизирован по гемицеллюлазе), продуцент *Trichoderma longibrachiatum*, в соответствии с паспортом обладает следующими характеристиками: ксиланазная способность (6500±5 %) ед. КС/см³; β-глюканазная способность (1700±5 %) ед. β-ГКС/см³ и целлюлазная (1500±5 %) ед. КМЦ/см³.

Рапидаза ЦР (стандартизирован по пектиназе), продуцент — генетически модифицированный *Aspergillus niger* представляет собой комплекс пектолитических и гемицеллюлитических ферментов,

информация о численном выражении активностей в паспорте отсутствует.

Результаты и их обсуждение

Состав исходного сырья. Массовые доли основных компонентов исходного сырья — мискантуса и ПОО — в пересчете на а.с.в. представлены в табл. 1.

Сравнение мискантуса и ПОО свидетельствует о близких значениях суммы м.д. гидролизуемых компонентов (целлюлозы и пентозанов) — 81 и 82 % соответственно, но содержание легкогидролизуемых пентозанов в ПОО выше (35 %), чем в мискантусе (23 %).

Влияние гидротермообработки на характеристики сырья. После обработки в реакторе высокого давления (РВД) вследствие разрушения первичной структуры частиц сырья полученные продукты по

внешнему виду представляли собой темно-окрашенные мелковолоконистые порошковые материалы (волоконистый продукт, ВП) с приятным фруктовым запахом. Наименования образцов ВП и условия их получения — обработки мискантуса и ПОО в РВД — указаны в табл. 2.

Выходы и м.д. основных компонентов ВП — субстратов в пересчете на а.с.в. представлены в табл. 3.

Как следует из представленных в табл. 3 данных, выходы ВП для разных видов сырья различались значительно: для ВП М — в пределах 60–72 %, для ВП ПОО — всего 44 %. Выходы ВП, полученных из мискантуса при одном и том же давлении (1,5 МПа) и различной продолжительности 300 и 600 с составили 72 и 66 % соответственно, увеличение давления ГТБО с 1,5 до 2,5 МПа сопровождалось последовательным уменьшением выхода ВП от 72–66 до 60 %.

Таблица 1

Состав исходного сырья

Сырье	Массовая доля, %			
	целлюлозы	пентозанов	кислотонерастворимого лигнина	зола
Мискантус	57,4	23,3	19,1	3,9
ПОО	47,1	35,3	18,6	4,6

Таблица 2

Наименования образцов ВП и условия их получения – обработки мискантуса и ПОО в РВД

Наименование субстрата	Условия обработки сырья в РВД		
	Давление, МПа	Время выдержки, с	Температура, °С
ВП М (1,5/300)	1,5	300	196–197
ВП М (1,5/600)	1,5	600	196–197
ВП М (2,0/1200)	2,0	1200	209–210
ВП М (2,5/600)	2,5	600	219–220
ВП ПОО (1,5/600)	1,5	600	196–197

Таблица 3

Выходы и м.д. основных компонентов ВП – субстратов

Наименование субстрата (давление/время)	Выход, %	Массовая доля, %			
		целлюлозы	пентозанов	лигнина	зола
ВП М (1,5/300)	72	76,7	14,2	19,2	1,7
ВП М (1,5/600)	66	72,3	5,80	22,4	2,9
ВП М (2,0/1200)	65	74,4	0,91	27,3	2,1
ВП М (2,5/600)	60	66,3	0,41	27,1	2,0
ВП ПОО (1,5/600)	44	65,1	6,19	23,4	7,3

При сравнении химических составов образцов ВП (см. табл. 3) и исходного сырья (см. табл. 1), становится очевидным, что процесс ГТБО приводит к удалению легкогидролизуемых гемицеллюлоз (пентозанов) и, соответственно, накоплению целлюлозы и лигнина в образцах.

Поэтому химический состав субстратов представлен в основном гидролизуемыми компонентами — целлюлозой (65—77 %) и пентозанами (0,4—14,2 %). М.д. негидролизуемых примесей — кислотонерастворимого лигнина и золы — составляют 19—27 и 2,0—7,3 % соответственно.

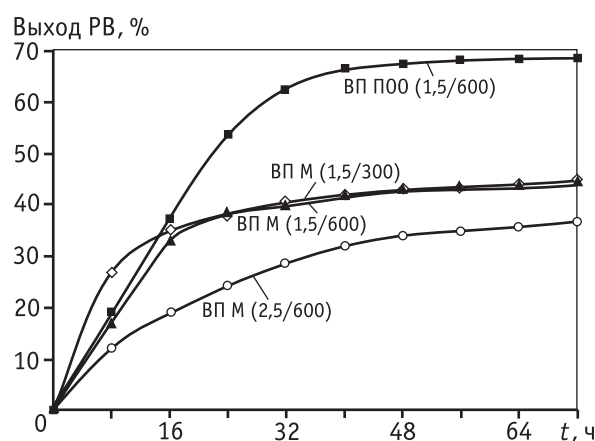
Сравнение характеристик ВП, полученных из мискантуса и ПОО при одинаковых условиях, показало, что м.д. целлюлозы в ВП М больше, чем в ВП ПОО (72 против 65 %), что можно объяснить более высоким содержанием целлюлозы в исходном сырье (57 против 47 %). Но образец ВП ПОО характеризовался более высоким значением зольности (7,3 против 2,9 %), в то же время пентозаны — на одном уровне: 6,2 % в ВП ПОО и 5,8 % в ВП М.

Сравнение между собой характеристик образцов ВП, полученных из одноименного сырья, но при разных условиях, показало, что при увеличении давления обработки с 1,5 до 2,5 МПа возрастает м.д. кислотонерастворимого лигнина в ВП (с 22 до 27 %), снижается содержание гидролизуемых компонентов: целлюлозы — с 72 до 66 %, пентозанов — с 5,8 до 0,4 %.

Ферментативный гидролиз ВП. Результаты исследования ферментативного гидролиза смесью ФП «Целлолюкс-А», «Брюзайм ВGX», «Рапидаза ЦР» в виде зависимостей выхода редуцирующего вещества (РВ) в гидролизате от продолжительности ферментации для четырех из пяти образцов ВП представлены на рисунке. Выход РВ рассчитан на массу субстрата (0,005 кг а.с.в.).

Как следует из представленных на рисунке данных, все зависимости выхода РВ от продолжительности ферментации ВП имели вид типичной кривой зависимости концентрации глюкозы или степени конверсии от продолжительности ферментации целлюлозы [21].

Этот факт свидетельствовал об успешном гидролизе как легкогидролизуемого компонента ВП — пентозанов, так и целлюлозы, но с различной степенью конверсии для разных видов сырья. Через 72 ч выход РВ для образца ВП ПОО (1,5/600) составил 68 %, что в 1,5 раза больше выхода РВ для ВП М (44 %), полученного в тех же условиях. Однако в пер-



Зависимость выхода РВ в пересчете на глюкозу от продолжительности ферментации субстратов (ВП М и ВП ПОО), полученных при различных условиях в РВД

вые 8 ч скорости гидролиза субстратов ВП ПОО (1,5/600) и ВП М (1,5/600) близки: выходы РВ составили 18,9 и 16,8 % соответственно. Далее гидролиз образца из ПОО продолжается примерно с той же скоростью, достигая выхода РВ 52 % за 24 ч гидролиза, и только потом замедляется. К этому времени кривая зависимости выхода РВ образца из М практически выходит на плато 38—39 %. Учитывая близкий химический состав этих субстратов, наблюдаемое расхождение можно связать только с различиями в природной структуре образцов.

Исследование ферментативного гидролиза образцов, полученных при самых мягких условиях из мискантуса, — ВП М (1,5/300) и ВП М (1,5/600) — показало различные скорости гидролиза в первые 8 ч: выходы РВ достигли 27 % для продукта после обработки в течение 300 с и 17 % для ВП М после обработки в течение 600 с соответственно. Но спустя всего 16 ч, т.е. через 24 ч с начала ферментации, кривые зависимостей выхода РВ для обоих образцов совпали (38 %). Такое различие в поведении субстратов можно объяснить только разным содержанием пентозанов в образцах ВП М: 14,2 % — в первом и 5,8 % — во втором. Таким образом, можно проследить, как продолжительность обработки в РВД определяет химический состав и поведение субстратов в первые часы ферментации.

В отличие от результатов ферментации образцов, полученных при давлении 1,5 МПа, кривая зависимости выхода РВ от продолжительности ферментации образца ВП М (2,5/600), полученного при более высоком давлении, имеет более пологий вид, что

можно объяснить отсутствием легкогидролизуемой целлюлозы (м.д. пентозанов 0,41 %, табл. 3). Выход РВ за первые 8 ч составил всего 12 %, далее продолжая медленно расти. На плато кривая выходит только в интервале 64–72 ч, что свидетельствует о завершении работы ФП и недоступности для гидролиза остатка субстрата, выход РВ составил лишь 37 %. Кроме того, данный субстрат отличается от предыдущих трех самой высокой м.д. кислотонерастворимого лигнина, который может ингибировать ферментацию, и исключить его отрицательное действие в данном эксперименте не удастся [10].

Гидролиз исходных мискантуса и ПОО. Конечные концентрации РВ и пентозанов, выходы РВ в пересчете на массу субстрата (0,005 кг а.с.в.) и на массу только гидролизуемых компонентов в гидролизатах исходных мискантуса и ПОО (через 72 ч) приведены в табл. 4.

Как следует из данных табл. 4, ферментативный гидролиз необработанного сырья проходит с низкой скоростью, тем не менее ПОО конверсируются более успешно, чем мискантус. Вклад пентоз в РВ при ферментации ПОО составил 2,9 %, тогда как в случае мискантуса — 1,5 %, что, очевидно, связано с более высоким содержанием гемицеллюлоз в ПОО (см. табл. 1).

Характеристики гидролизатов ВП мискантуса и ПОО. Конечные концентрации РВ и пентозанов,

выходы РВ в пересчете на массу субстрата (0,005 кг а.с.в.) и на массу только гидролизуемых компонентов в гидролизатах субстратов — ВП мискантуса и ПОО (м.д. основных компонентов ВП — в табл. 3) — приведены в табл. 5.

В результате исследований ферментативного гидролиза установлено, что из всех субстратов наибольшей реакционной способностью к ферментации характеризуется ВП ПОО с выходами РВ 68 % (от массы субстрата) и 95 % (от массы гидролизуемых компонентов), вклад пентоз в которые составляет всего 6 %. Другими словами, гидролиз данного субстрата гарантирует получение гидролизата, содержащего преимущественно глюкозу.

Субстрат ВП М (1,5/600), выделенный из мискантуса при тех же условиях, что и ВП ПОО, обеспечивает выходы РВ 44 % (от массы субстрата) и 56 % (от массы гидролизуемых компонентов), вклад пентоз в которые в 1,5 раза больше и составляет 9 %. Поскольку химические составы этих двух субстратов близки, то большую реакционную способность к ферментации ВП ПОО можно связать с физической природой этого уникального сырья, представляющего собой тонкие пластинки лигноцеллюлозы, физико-химическая обработка которой приводит к образованию ленточных волокон, легко расщепляющихся продольно [22]. После окончания ферментации ВП ПОО и отделения гидролизата осадок на

Таблица 4

Характеристики гидролизатов, полученных после 72 ч ферментации исходных мискантуса и ПОО

Наименование субстрата	Конечная концентрация, г/л		Выход РВ, %	
	РВ	пентозы	от массы субстрата	от массы гидролизуемых компонентов
Мискантус	4,1	0,06	11,1	13,7
ПОО	4,5	0,13	12,2	14,9

Таблица 5

Характеристики гидролизатов, полученных после 72 ч ферментации субстратов – ВП мискантуса и ПОО

Наименование субстрата (давление/время)	Конечная концентрация, г/л		Выход РВ, %	
	РВ	пентозы	от массы субстрата	от массы гидролизуемых компонентов
ВП М (1,5/300)	16,50	2,40	44,8	49,4
ВП М (1,5/600)	16,21	1,47	43,7	56,0
ВП М (2,0/1200)	15,75	0,40	42,5	56,4
ВП М (2,5/600)	13,50	0,23	36,5	54,7
ВП ПОО (1,5/600)	25,16	1,47	68,0	95,4

фильтре представляет собой только порошковую форму лигниноподобных веществ в отличие от прочих частиц ВП мискантуса, сохраняющих свою форму после ферментации.

Особое поведение демонстрирует субстрат ВП М (2,5/600), полученный в РВД при высоком давлении (2,5 МПа), гидролиз этого образца прошел с выходом 37 % (от массы субстрата). Поскольку содержание гемицеллюлоз в гидролизате составило всего 0,4 %, основным гидролизуемым компонентом была целлюлоза, но только половина ее (55 % от массы гидролизуемых компонентов) вступила в реакцию. Этот факт можно объяснить образованием при высоком давлении так называемого «псевдолигнина», ингибирующего процесс ферментации [10], или недоступностью оставшейся части целлюлозы.

Проведенные исследования показали, что ГТБО двух видов недровесного сырья (мискантуса и ПОО) в устройствах типа РВД без катализаторов приводит к получению продуктов с высокой реакционной способностью к ферментации. Использование мультиэнзимной композиции доступных ферментов обеспечивает высокий выход РВ при гидролизе волокнистых продуктов, несмотря на значительное содержание лигнина в субстратах.

Исследования условий ГТБО обработки мискантуса и ПОО с целью получения субстратов для успешного ферментативного гидролиза будут продолжены на новом оборудовании вместимостью 2 л, в так называемом универсальном термобарическом устройстве (ИПХЭТ СО РАН) [23].

Заключение

Установлено, что ГТБО сырья (мискантус и ПОО) в РВД при давлении 1,5 МПа и продолжительности 600 с позволяет получить продукты, обладающие высокой реакционной способностью к ферментации мультиэнзимной композицией, состоящей из смеси ФП «Целлюлюкс-А», «Брюзайм BGX» и «Рапидаза ЦР». Показано, что гидролиз продукта обработки ПОО в РВД приводит к максимальному выходу РВ: 68 % (от массы субстрата) или 95 % (от массы гидролизуемых компонентов) с обеспечением преимущественно глюкозного гидролизата. В случае волокнистого продукта мискантуса, полученного в тех же условиях, выход РВ составляет 44 % (от массы субстрата) или 56 % (от массы гидролизуемых компонентов). С повышением давления при ГТБО мискантуса м.д. гемицеллюлоз в продуктах

обработки уменьшается с 5,8 до 0,4 %, реакционная способность к ферментации продуктов обработки уменьшается: выход РВ составляет 37 % (от массы субстрата) или 55 % (от массы гидролизуемых компонентов). Результаты проведенных исследований позволяют планировать схему получения ферментативных гидролизатов с использованием промышленно доступных ФП из двух видов недровесного ЦСС (российского мискантуса и ПОО), предусматривающую стадию ГТБО в качестве предварительной и стадию непосредственно ферментативного гидролиза. Поскольку ферментация глюкозы является старейшим методом производства этанола [24], представленная в целом схема «ЦСС → ГТБО → ВП → ферментативный гидролиз → глюкоза → ферментация → этанол» является перспективной для разработки промышленной технологии.

Работа выполнена в рамках проекта фундаментальных исследований № 5 «Химическое обогащение возобновляемого “концентрированного” целлюлозосодержащего сырья в различных средах в реакторах под давлением» Программы 3 Президиума РАН.

Литература

1. Варфоломеев С.Д. Биотоплива — энергоносители из возобновляемого сырья // Катализ в промышленности. 2010. № 5. С. 8—10.
2. Разумовский С.Д., Подмастерьев В.В., Зеленецкий А.Н. Механо-химические методы активации процессов предобработки биомассы // Катализ в промышленности. 2010. № 5. С. 53—57.
3. Сульман Э.М., Сульман М.Г., Прутенская Е.А. Исследование влияния ультразвуковой предобработки на состав лигноцеллюлозного материала в биотехнологических процессах // Катализ в промышленности. 2010. № 5. С. 58—63.
4. Hu F., Ragauskas A.J. Pretreatment and Lignocellulosic Chemistry // Bioenerg. Res. 2012. 5. P. 1043—1066.
5. Рабинович М.Л. Производство этанола из целлюлозосодержащих материалов: потенциал российских разработок // Прикладная биохимия и микробиология. 2006. № 1. С. 5—32.
6. Koegel R.G., Sreenath H.K., Straub R.J. Liquid Hot Water (LHW) Pretreatment of Alfalfa Fiber Destined for Ethanol Production // Research Summaries. 1997. P. 25—27.
7. Zaldivar J., Nielsen J., Olsson L. Fuel ethanol production from lignocellulose: a challenge for metabolic engineering and process integration // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2001. 56. P. 17—34.

8. *Miscanthus: For Energy and Fibre*. By Michael B. Jones, Mary Walsh. Published by Earthscan, 2001. 192 p.
9. *Sun R.-C.* Cereal straw as a resource for sustainable biomaterials and biofuels. First edition 2010. P. 134—135.
10. *Hu Z., Ragauskas A.J.* Hydrothermal Pretreatment of Switchgrass // *Ind. Eng. Chem. Res.* 2011. 50. P. 4225—4230.
11. *Будаева В.В., Бычин Н.В., Сакович Г.В.* Свойства мискантуса после обработки в реакторе высокого давления — 2009 // *Ползуновский вестник*. 2010. № 4—1. С. 144—149.
12. *Цуканов С.Н., Будаева В.В.* Предобработка мискантуса китайского в условиях гидротермобарического взрыва в нейтральной среде // *Ползуновский вестник*. 2010. № 4—1. С. 209—214.
13. *Цуканов С.Н., Будаева В.В.* Гидротермобарический способ получения целлюлозы из отходов злаков // *Ползуновский вестник*. 2011. № 4—1. С. 236—239.
14. *Shumny V.K.* A new form of *Miscanthus* (Chinese silver grass, *Miscanthus sinensis* -Anderson) as a promising source of cellulosic biomass / V.K. Shumny, S.G. Veprev, N.N. Nepochiporenko, T.N. Goryachkovskaya, N.M. Slynko, N.A. Kolchanov, S.E. Peltek // *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 2010. Vol. 1. P. 167—170.
15. *Бурцева Е.А., Гора А.А., Будаева В.В.* Ферментативный и химический гидролиз недревесного целлюлозосодержащего сырья // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: материалы IV Всерос. конф., Барнаул, 21—23 апреля 2009 г.: В 2 кн. / Под. ред. Н.Г. Базарновой, В.И. Маркина. Барнаул: Изд-во Алтайского ун-та, 2009. Кн. 1. С. 148—151.
16. *Будаева В.В., Митрофанов Р.Ю., Золотухин В.Н., Сакович Г.В.* Переработка мискантуса китайского // *Ползуновский вестник*. 2009. № 3. С. 328—335.
17. *Шумный В.К., Колчанов Н.А., Сакович Г.В., Пармон В.Н., Вепрев С.Г., Нечипоренко Н.Н., Горячкова Т.Н., Брянская А.В., Будаева В.В., Железнов А.В., Железнова Н.Б., Золотухин В.Н., Митрофанов Р.Ю., Розанов А.С., Сорокина К.Н., Слынько Н.М., Яковлев В.А., Пельтек С.Е.* Поиск возобновляемых источников целлюлозы для многоцелевого использования // *Вестник ВОГиС*. 2010. Т. 14. № 3. С. 569—578.
18. *Макарова Е.И., Будаева В.В., Митрофанов Р.Ю.* Использование мультиэнзимных композиций для гидролиза нетрадиционного целлюлозосодержащего сырья // *Ползуновский вестник*. 2010. № 4. С. 192—198.
19. Пат. 2472808 Россия, С 1. Способ получения целлюлозы (варианты) и устройство для его осуществления / Будаева В.В., Цуканов С.Н., Сакович Г.В. — № 2011134207/05, заявлено 15.08.2011; опубл. 20.01.2013, Бюл. № 2. 10 с.
20. *Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А.* Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. М.: Экология, 1991. 320 с.
21. *Березин И.В., Клесов А.А., Швыдас В.К., Угарова Н.Н., Варфаломеев С.Д., Ярополов А.И., Казанская Н.Ф., Егоров А.М.* Инженерная энзимология. М.: Высшая школа, 1987. С. 32—42.
22. *Будаева В.В., Сакович Г.В.* Нетрадиционные целлюлозы для технической химии / *Фундаментальные и прикладные проблемы технической химии: сб. науч. тр.* Новосибирск: Наука, 2011. С. 281—295.
23. *Павлов И.Н., Будаева В.В., Сакович Г.В.* Термобарическая обработка плодовых оболочек овса в водной среде / *Химическая технология и биотехнология новых материалов и продуктов: тезисы докладов IV Международной конференции РХО им. Д.И. Менделеева: в 2 т. Т. 2, г. Москва, 24—25 октября 2012. М.: РХТУ им. Д.И. Менделеева: ИФХЭ им. А.Н. Фрумкина РАН, 2012. С. 135—137.*
24. *Третьяков В.Ф., Макарги Ю.И., Третьяков К.В., Французова Н.А., Талышинский Р.М.* Каталитическая конверсия биоэтанола в углеводородные топлива // *Катализ в промышленности*. 2010. № 5. С. 11—29.