

М. В. Харина, Р. Т. Валеева, С. Е. Орлова

ИССЛЕДОВАНИЕ КИНЕТИКИ И ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ФЕРМЕНТОЛИЗА ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ МАТЕРИАЛОВ В ЦЕЛЯХ ПРОИЗВОДСТВА ТОПЛИВНОГО ЭТАНОЛА

Ключевые слова: ферментолиз, солома, целлюлоза, редуцирующие вещества.

Проведены исследования по ферментативному гидролизу соломы при варьировании температуры, pH и концентрации фермента с целью получения ферментолизатов с максимальным содержанием редуцирующих веществ.

Key words: fermentolysis, straw, cellulose, reducing substances.

There was carried out studies on enzymatic hydrolysis of straw in the variation of temperature, pH and concentration of the enzyme in order to obtain hydrolysates with a maximum content of reducing substances.

В целях максимального выхода редуцирующих веществ при ферментативной обработке целлюлозо-содержащего сырья необходимо использовать оптимизированное сочетание ферментов. Оптимальный состав применяемого ферментного комплекса во многом определяется содержанием в субстрате различных фракций (целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина). Для того, чтобы определить, какие ферменты и метод предварительной обработки будут работать лучше всего на исследуемом сырье были проведены исследования ферментов фирмы Новозаймс, рекомендуемых для производства целлюлозного этанола.

Экспериментальные исследования кинетики и оптимизацию физико-химических условий процессов ферментативного гидролиза проводили аналогично ранее проведенным работам [1, 2] на лабораторной установке при гидромодуле 1:10 и более, в регулируемом температурном диапазоне 35 - 70 °С при pH 2,5 - 6,5 [3].

В ходе экспериментальных исследований кинетики и оптимизации условий проведения процесса ферментативного гидролиза аналогично предыдущим исследованиям [4, 5] измеряли значение pH в ферментолизате, скорость вращения мешалки, ток в цепи якоря электродвигателя, падение напряжения на якоре двигателя.

При проведении экспериментов в качестве источника целлюлозы использовали фильтровальную бумагу [4, 5].

В эксперименте 1 использовался фермент NS 22002 в количестве 12 мл, в эксперименте 2 - NS50010 в количестве 10 мл, в эксперименте 3 - NS22036 в количестве 4 мл. Учитывая рекомендации фирмы Новозаймс [6], в эксперименте 4 провели ферментолиз предварительно обработанной соломы с применением ферментов NS50010, NS22036, NS22002 и NS22035 вместе с ферментным комплексом NS50012 в суммарном количестве 14 мл.

Процессы ферментолиза проводили в соответствии с характеристикой применяемого ферментного препарата при поддержании активной

кислотности и температуры в оптимальных диапазонах для данного фермента. Длительность процессов ферментолиза составляла от 8 до 24 часов.

Фермент NS50010 - β -глюкозидаза (целлобиаза), гидролизует целлобиозу до глюкозы. Данный фермент может быть использован в дополнение к целлюлолитическим ферментам с целью повышения выхода ферментируемых сахаров для полного гидролиза доступной целлюлозы. Оптимальными условиями для фермента NS50010 являются: pH 2,5-6,5, температура 45-70°C. Активность фермента 750 AGU/g.

NS22036 - очищенная эндоксилаза с высокой специфичностью к растворимым пентозанам. NS22036 может быть использован для освобождения пентозных сахаров из биомассы фракций гемицеллюлозы. Оптимальными условиями для фермента NS22036 являются: pH 4,5-6,0, температура 35-55°C. Активность фермента 1,000 FXU- S/g.

NS22002 - состоит из смеси ферментов - β -глюканазы и ксиланазы. β -глюканаза и ксиланаза – два основных действующих фермента, но препарат также содержит другие компоненты с активностью: целлюлазы, гемицеллюлазы и пентозаназы. Оптимальными условиями для фермента NS22002 являются: pH 5,0-6,5, температура 40-60 °С. NS22002 имеет типичную стандартизованную активность 45 грибных β -глюканазных единиц/г ((FBG/г), а кроме того, он имеет около 470 единиц грибных ксиланазных единиц/г (FXU/г).

NS22035 – глюкоамилаза, используется на превращенных в жидкое состояние крахмалсодержащих субстратах. Препарат ферментов работает как на специфичных стадиях осахаривания, так и на этапах ферментации. Глюкоамилазы гидролизуют и 1,4-, и 1,6-альфа связи, освобождая глюкозу для последующего брожения дрожжей. Оптимальными условиями для фермента NS22035 являются: pH 4,5-5,5, температура 60-70°C. Активность фермента 750 AGU/g.

Количество ферментов, подаваемых при ферментолизе, варьировали от 1,2 до 15 мл.

Изменение концентрации РВ в процессах ферментативного гидролиза целлюлозы представлены на рис.1 – рис. 3.

Изменение концентрации РВ в процессах ферментативного гидролиза предварительно обработанной соломы с применением ферментов NS50010, NS22036, NS22002 и NS22035 вместе с ферментным комплексом NS50012 представлены на рис.4.

Массу полисахаридов, массу РВ и энергозатраты рассчитывали аналогично предыдущим исследованиям [3, 7].

Расчетные данные по конверсии субстратов и скорости проведенных процессов представлены в таблице 1.

Расчетные данные по удельным энергозатратам проведенных процессов представлены в таблице 2.

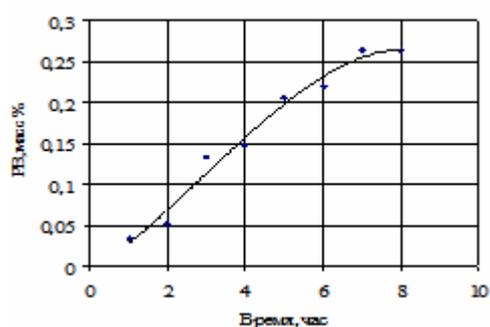


Рис. 1 - Изменение концентрации РВ в процессах ферментативного гидролиза бумаги ферментом NS 22002

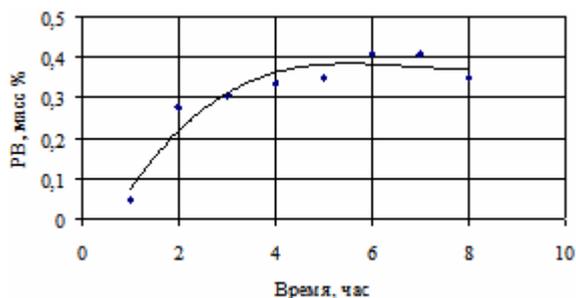


Рис. 2 - Изменение концентрации РВ в процессе ферментативного гидролиза бумаги ферментом NS50010

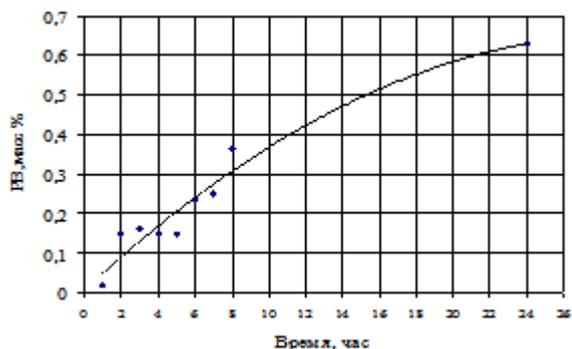


Рис. 3 - Изменение концентрации РВ в процессах ферментативного гидролиза бумаги ферментом NS22036

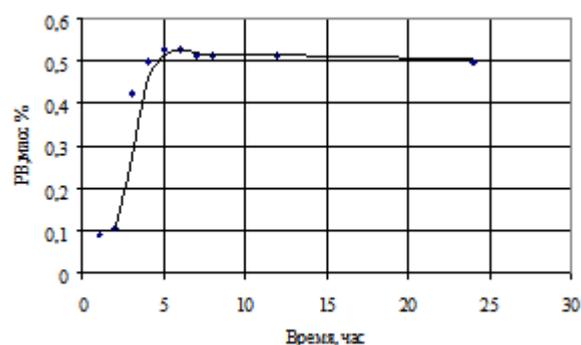


Рис. 4 - Изменение концентрации РВ в процессе ферментативного гидролиза соломы предварительно запаренной в автоклаве в нейтральной среде с применением ферментов NS50010, NS22036, NS22002 и NS22035 вместе с ферментным комплексом NS50012

Таблица 1 – Расчетные данные по конверсии субстратов и скорости проведенных процессов

| Процесс | T ср, °C | pH ср | РВ max, % | Конверсия, % | R, гРВ/л*час |
|---------------|----------|-------|-----------|--------------|--------------|
| Эксперимент 1 | 50,28 | 5,72 | 0,26 | 10,27 | 0,73 |
| Эксперимент 2 | 63,84 | 5,91 | 0,41 | 24,53 | 1,33 |
| Эксперимент 3 | 49,81 | 5,48 | 0,63 | 37,77 | 0,51 |
| Эксперимент 4 | 47,46 | 5,19 | 0,53 | 14,06 | 1,52 |

Таблица 2 - Расчетные данные по удельным энергозатратам проведенных процессов

| Процесс | I, А | U, В | Δt max, ч | W, Вт*ч | Wуд, Вт*ч/гРВ |
|---------------|------|------|-----------|---------|---------------|
| Эксперимент 1 | 1,78 | 8,39 | 7,0 | 104,54 | 20,10 |
| Эксперимент 2 | 2,03 | 8,30 | 6,0 | 101,09 | 12,33 |
| Эксперимент 3 | 2,15 | 9,52 | 24,0 | 491,23 | 38,99 |
| Эксперимент 4 | 1,37 | 7,96 | 5,0 | 54,53 | 5,14 |

Как следует из таблиц 1, 2, наилучшие показатели процесса (конверсия, скорость процесса, удельные энергозатраты) достигнуты при проведенных экспериментах 2 и 3.

Процессы ферментации гемицеллюлозы и кристаллической целлюлозы требуют различных режимных условий.

Процесс ферментации сложных по составу субстратов будет оптимальным только в том случае, если режимные параметры будут меняться соответственно стадиям ферментации компонентов сырья. Применение дополнительных ферментов позволяет повысить концентрацию сахаров в полученном гидролизате, при этом ферменты

полностью совместимы по требуемому уровню pH и температуре с исследованными ферментативными комплексами. Дополнительное внесение ферментных препаратов после существенного замедления процесса ферментолиза (из-за предполагаемой дезактивации фермента) приводит к росту технологических показателей на 5 – 12 %, но это влечет фактически двукратный расход препарата, что экономически не целесообразно. Изменение суммарного количества фермента в 5 раз приводит к увеличению конверсии только в 1,8 раза.

Литература

1. Р.М. Нуртдинов, С.Г. Мухачев, Р.Т. Валеева, В.М. Емельянов, М.Ф. Шавалиев, И.В. Шагивалеев, И.А. Якушев, Вестник Каз. технол. ун-та, 2, 143 – 147, (2011).

2. Р.М. Нуртдинов, Р.Т. Валеева, В.М. Емельянов, С.Г. Мухачев, М.В. Харина, Вестник Каз. технол. ун-та, 14, 211 – 214, (2011).
3. Р.М. Нуртдинов, Р.Т. Валеева, С.Г. Мухачев, М.В. Харина, Вестник Каз. технол. ун-та, 9, 264 – 267, (2011).
4. М.В. Харина, Р.Т. Валеева, С.Г. Мухачев, В.М. Емельянов, Вестник Каз. технол. ун-та, 13, 210 – 212, (2012).
5. М.В. Харина, Р.Т. Валеева, С.Г. Мухачев, В.М. Емельянов, А.А. Галева, Вестник Каз. технол. ун-та, 16, 184 – 185, (2012).
6. Новые ферменты «Нововзаймс» // Производство спирта и лежороводочных изделий, 1, 65-68, (2001).

© **М. В. Харина** – асп., асс. каф. химической кибернетики КНИТУ, valrt2008@rambler.ru; **Р. Т. Валеева** - канд. техн. наук, доц. той же кафедры; **С. Е. Орлова** - магистрант КНИТУ.