

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 °C 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 ферментоллизате, 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 ферментоллиз предварительно обработанной соломы с применением ферментов NS50010, NS22036, NS22002 и NS22035 вместе с ферментным комплексом NS50012 в суммарном количестве 14 мл. Процессы ферментоллиза проводили в соответствии с характеристикой применяемого ферментного препарата при поддержании активной кислотности и температуры в оптимальных диапазонах для данного фермента. Длительность процессов ферментоллиза 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 стандартизированную 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 ферментализации, 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 1
2	63,84	5,91	0,41	24,53	1,33	Эксперимент 2
3	49,81	5,48	0,63	37,77	0,51	Эксперимент 3
4	47,46	5,19	0,53	14,06	1,52	Эксперимент 4

Таблица 2 - Расчетные данные по удельным энергозатратам проведенных процессов

Процесс	I, A	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 1
2	2,03	8,30	6,0	101,09	12,33	Эксперимент 2
3	2,15	9,52	24,0	491,23	38,99	Эксперимент 3
4	1,37	7,96	5,0	54,53	5,14	Эксперимент 4

Как следует из таблиц 1, 2, наилучшие показатели процесса (конверсия, скорость процесса, удельные энергозатраты) достигнуты при проведенных экспериментах 2 и 3. Процессы ферментализации гемицеллюлозы и кристаллической целлюлозы требуют различных режимных условий. Процесс ферментализации сложных по составу субстратов будет оптимальным только в том случае, если режимные параметры будут меняться соответственно стадиям ферментализации 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 ферментализации (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.