

УДК 663.53

СОКОЛОВА А. В., аспирант (ТвГТУ)
ГАРМОНОВ Д. А., магистрант (ТвГТУ)

Научный руководитель ОЖИМКОВА Е. В., к.х.н., доцент (ТвГТУ)
г. Тверь

БИОЭТАНОЛ: ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ОБРАБОТКИ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Потребность в надежном, возобновляемом и экологичном энергоносителе, который не уступал бы по своим эксплуатационным характеристикам ископаемым видам топлива, ежегодно становится всё более актуальной. Это связано как с истощением запасов природных ресурсов, так и с формированием неблагоприятной экологической обстановки на планете [1].

Ключевой барьер для внедрения технологий синтеза биотоплива в крупнотоннажную производственную практику – это высокая стоимость сырья, в качестве которого в основном рассматриваются крахмало- и сахаросодержащие источники пищевого назначения. Альтернативной группой сырьевых материалов, характеризующейся высокой доступностью, дешевизной и разнообразием, выступает лигноцеллюлозная биомасса. Особый интерес в этой связи представляют отходы агропромышленных и сельскохозяйственных предприятий, которые не находят прямого практического применения и накапливаются в виде трудноразлагаемых в природных условиях отвалов [2].

Количественный химический состав лигноцеллюлозных материалов значительно варьируется в зависимости от источника, методов сбора и хранения, климатических условий региона и т.д. Тем не менее, основными структурными компонентами лигноцеллюлозной биомассы независимо от изучаемой культуры являются три полимерных соединения – целлюлоза, гемицеллюлоза и лигнин [3].

Целлюлоза – полисахарид, состоящий из мономерных звеньев глюкозы, соединенных между собой β -1,4 гликозидными связями; это высокоупорядоченный полимер с высокой степенью кристалличности.

Гемицеллюлоза представляет собой разветвленный гетерополисахарид, состоящий из различных сополимеров: пентоз (D-ксилоза, L-арabinоза) и гексоз (D-глюкоза, D-манноза, D-галактоза). Боковые цепи гемицеллюлозы характеризуются высоким содержанием ацетильных функциональных групп, что способствует увеличению аморфности полимера и, как следствие, повышению растворимости вещества [4].

Лигнин – это гидрофобный ароматический полимер со сложной внутренней структурой, содержащий фенилпропаноидные мономеры, главным образом п-кумаровый, конифериловый и синаповый спирты.

Три рассмотренных выше полимерных компонента образуют прочную стабилизированную структуру: цепи целлюлозы связываются друг с другом за счет водородных связей и образуют микрофибриллы, окруженные

гемицеллюлозой. Прилегающие фибриллы соединены друг с другом лигнином и другими полимерами, связывающимися с фрагментами гемицеллюлозы (например, пектином). В результате образуется пучок плотно упакованных микрофибрилл, что отражено на рисунке 1.

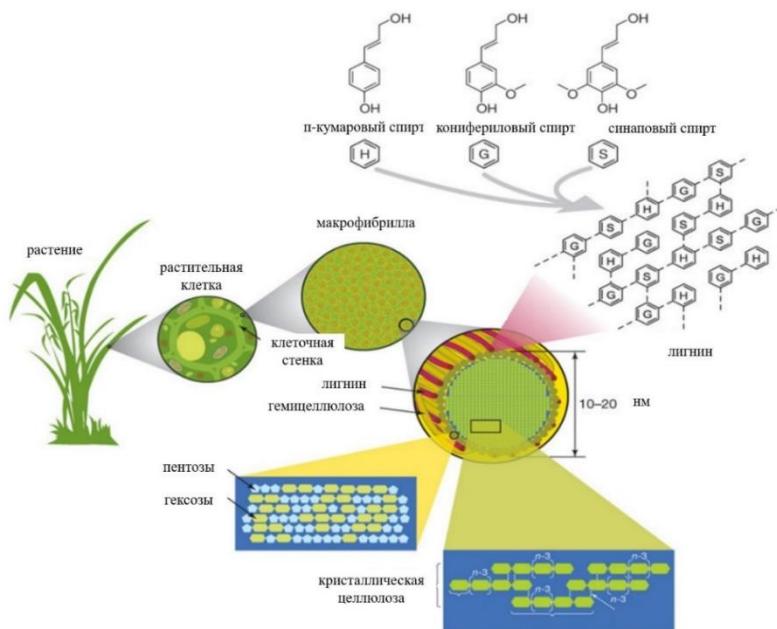


Рисунок 1. Строение лигноцеллюлозы

Таким образом, лигнин окружает микрофибриллы с внешней стороны, поэтому в природных условиях полимер выполняет защитную функцию, обуславливая устойчивость целлюлозных и гемицеллюлозных цепей растений и деревьев к воздействию внешних биологических и экологических факторов [4].

Как было отмечено ранее, термин «лигноцеллюлоза» является обобщенным; в качественном плане он определяется как структурно-опорная матрица растительных материалов. При этом количественное содержание полимерных компонентов сильно варьируется между группами источников биомассы, что отражено в таблице 1 [1].

Таблица 1. Химический состав лигноцеллюлозных материалов

	Целлюлоза, %	Гемицеллюлоза, %	Лигнин, %
Ячменная шелуха	34	36	19
Кукурузный початок	35,1 – 39,5	20,7 – 24,6	11 – 19,1
Стебель хлопка	31	11	30
Рисовая шелуха	28,7–35,6	11,96–29,3	15,4–20
Сахарная багасса	25–45	28–32	15–25
Древесина тополя	45–51	25–28	10–21

В основе получения биоэтанола из углеводсодержащих материалов лежит процесс спиртового брожения с использованием дрожжевых культур. Ферментативный комплекс традиционного продуцента этилового спирта, *Saccharomyces cerevisiae*, не способен обеспечить разложение структурных компонентов лигноцеллюлозной биомассы до доступных моносахаридов, вследствие чего требуется обязательная оптимизация стадий предварительной обработки и гидролиза сырья при разработке технологии получения биоэтанола [1].

Реологические свойства «сахарного сиропа», получаемого после воздействия гидролитических агентов на предварительно обработанный материал, а также содержание в нем редуцирующих моносахаридов (преимущественно глюкозы) — факторы, которые влияют на аспекты качественного развития культуры дрожжевых клеток (скорость адаптации и роста, интенсивность размножения, биосинтез вторичных метаболитов и т.п.) [2].

Степень извлечения целевых полисахаридов (целлюлозы и гемицеллюлозы) из исходного сырья определяется в основном методом предварительной обработки материала. На сегодняшний день известны четыре группы методов, направленных на увеличение аморфности сырья, снижение степени кристалличности целлюлозы и облегчение доступа химических или биологических агентов к участкам воздействия. Это физические, химические, физико-химические и биологические способы предобработки. Каждый из методов характеризуется определенными достоинствами и недостатками, которые следует учитывать при разработке технологии синтеза этанола. Например, большинство физических и химических методов оказываются нерациональными в масштабах предприятий ввиду высоких затрат на электроэнергию или приобретение дорогостоящих реагентов. Кроме того, в результате воздействия на лигноцеллюлозную биомассу концентрированных растворов кислот в среде накапливаются фурфуроловые соединения, тормозящие развитие продуцента на стадии ферментации [3].

В данной работе в качестве возможных подходов к предварительной обработке лигноцеллюлозного сырья рассмотрены два метода: двухэтапная последовательная обработка разбавленными растворами азотной кислоты с массовыми долями 1 и 4 масс. % соответственно, а также воздействие ультразвуком с использованием гомогенизатора Bandelin. Перспективность и обоснованность внедрения каждого способа в технологическую линию по производству биоэтанола из агропромышленных отходов может быть оценена с точки зрения накопления в среде восстанавливающих моносахаридов, а также с позиции возможных эксплуатационных затрат.

Гидролиз полисахаридов с использованием разбавленных и концентрированных растворов кислот является традиционным и широко известным способом извлечения целевых моносахаридов из углеводсодержащих природных материалов. Тем не менее, метод характеризуется существенными недостатками, препятствующими широкому внедрению подхода в производственную практику. Среди них можно назвать высокие затраты на утилизацию и переработку концентрированных растворов кислот;

необходимость приобретения дорогостоящего оборудования, устойчивого к процессам коррозии; деструкцию целевых полисахаридов; накопление в среде соединений, ингибирующих метаболическую активность дрожжевой культуры (в случае использования разбавленных растворов кислот).

Использование ультразвука в процессах предварительной обработки лигноцеллюлозных материалов в настоящее время представляет собой перспективную область исследований: известно лишь ограниченное число научных работ, в которых данный способ рассматривается как самостоятельный инструмент подготовки сырья к воздействию гидролитических агентов.

В качестве субстрата, источника лигноцеллюлозной биомассы, в данной работе рассмотрен крупнотоннажный отход предприятий по переработке льноволокна – льняная костра, представляющая собой одревесневшие фрагменты, образующиеся в процессе мятья льняных стеблей.

Сравнительный анализ химического состава исследуемых образцов (необработанная льняная костра; продукт кислотной обработки; продукт ультразвуковой обработки) представлен в таблице 2.

Таблица 2. Химический состав льняной костры и продуктов ее обработки

Образец	Массовая доля компонента в образце, %			
	Целлюлоза	Пентозаны	Лигнин	Зола
Костра льна	42,9±0,1	34,1±0,1	19,1±0,1	3,8±0,05
Продукт ультразвуковой обработки	83,6±0,1	9,3±0,1	5,4±0,1	1,7±0,05
Продукт азотнокислой обработки	79,8±0,1	9,2±0,1	8,9±0,1	2,1±0,05

Предварительно обработанные субстраты подвергались воздействию мультиэнзимной композиции на основе трех коммерческих препаратов — «Целлюлазы», «Пектиназы» и «Ксиланазы». Оптимальное соотношение ферментных препаратов в многокомпонентной системе рассчитано посредством методов математического моделирования и подтверждено экспериментальными данными. Установлено, что максимальное количество редуцирующих веществ в гидролизате идентифицируется в системе при соотношении ксиланазы:пектиназы:целлюлазы 1/4:1/2:1/4. Концентрации ферментных препаратов: «Ксиланаза» – 17,5 мг/г субстрата; «Пектиназа» – 35 мг/г субстрата; «Целлюлаза» – 17,5 мг/г субстрата соответственно.

Определение оптимальной продолжительности раздельного ферментативного гидролиза до внесения дрожжевой культуры произведено по оценке физиологического состояния дрожжей на основании общего количества клеток и количества почекущихся.

Экспериментально установлено, что продолжительность стадии раздельного ферментативного гидролиза от 8 до 15 часов создает неблагоприятные условия для жизнедеятельности дрожжей, что объясняется реологическими свойствами среды, обладающей высокой вязкостью вследствие большого количества негидролизованного субстрата.

При 72-часовом несовмещенному гидролизе концентрация редуцирующих веществ в гидролизате является максимальной, однако общее количество дрожжевых клеток при этом снижается. Такой эффект объясняется ингибированием процесса ферментативного гидролиза высокими концентрациями моносахаридов (т.н. ингибирование продуктом).

В опытах с продолжительностью стадии ферментативного гидролиза от 24 до 48 часов концентрация редуцирующих веществ на момент внесения дрожжей не является максимальной, однако в процессе спиртового брожения благодаря утилизации углеводов дрожжевыми клетками ферментативный гидролиз возобновляется и протекает одновременно с ферментацией, что способствует более высокому выходу глюкозы на 1 т льняной костры.

Список литературы:

1. Биоэтанол: технологии получения из возобновляемого растительного сырья и области применения / П.Е. Матковский, Р.С. Яруллин, Г.П. Старцева, И.В. Седов. – Текст: непосредственный // Альтернативная энергетика и экология. – 2010. – №6. С. 95 – 105.
2. Современные методы получения биоэтанола / Ф.Ш. Вильданов, Ф.Н. Латыпова, Р.Р Чанышев, С.В Николаева. – Текст: непосредственный // Башкирский химический журнал. – 2011. – №2. С. 128 – 134.
3. Варфоломеев С.Д. Химия биомассы: биотоплива и биопластики / С.Д. Варфоломеев. – Москва: Научный мир, 2017. – 790 с. – Текст: непосредственный.
4. Бессолицина Е.А. Биохимия конспект лекций модуль 2 «Структурная биохимия»: учебно-методическое пособие / Е.А. Бессолицина. – Киров: ФГБОУ ВПО «ВятГУ», 2011. – 146 с. – Текст: непосредственный.