

УДК 663.534

Л. А. Сергеенко, В. С. Болтовский, Н. П. Саевич
Белорусский государственный технологический университет
**ФЕРМЕНТАТИВНОЕ ОСАХАРИВАНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ
РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ В ПРОИЗВОДСТВЕ ЭТАНОЛА**

В статье приведены результаты исследования эффективности применения ферментных препаратов «Вискоферм», «Ликвафло» и «Сахзайм плюс 2Х» для осахаривания полисахаридов зерна и соломы тритикале, а также их смеси в различном соотношении. Установлен оптимальный состав полиферментной композиции с их использованием, а также определены оптимальные параметры процесса ферментативного осахаривания сырья.

Предложена принципиальная схема реализации процесса непрерывного осахаривания сырьевой смеси с отдельной предварительной обработкой крахмал- и целлюлозосодержащих компонентов.

Ключевые слова: растительное сырье, ферментные препараты, осахаривание, моносахариды, сусло, полиферментная композиция.

L. A. Sergeyenko, V. S. Boltovskiy, N. P. Saevich
Belarusian state technological University
**ENZYMATIC SACCHARIFICATION OF PLANT
POLYSACCHARIDES IN ETHANOL PRODUCTION**

The article presents research results of effectiveness of the enzyme preparations “Viscoferm”, “Likvaflo” and “Sakhazaym plus 2X” usagge for the saccharification of grain and straw triticale polysaccharides, as well as their mixtures in different ratios. The optimal composition of the polyenzyme composition from these enzymes and the optimal parameters of its action were determined.

The basic scheme of the saccharification process of the raw material mixture with separate preliminary processing of starch and cellulose-containing components was proposed.

Key words: vegetable raw materials, enzyme preparations, saccharification, monosaccharides, wort, polyenzyme composition.

Введение. В настоящее время этанол широко применяется в различных отраслях промышленности.

Он является необходимым компонентом спиртных напитков, применяется как консервант в кондитерских и хлебобулочных изделиях [1], зарегистрирован в качестве пищевой добавки E-1510 [2].

Этанол может использоваться как топливо для автомобилей, что впервые было предложено еще Генри Фордом в 1880 г. [3], а также в бытовых приборах (лабораторных, походных «спиртовках»).

Этиловый спирт является ценным сырьем для синтеза различных веществ (диэтилового эфира, ацетальдегида, этилена, хлороформа, уксусной кислоты и т. д.), распространенным растворителем технического и бытового назначения (в том числе в косметике и парфюмерии в качестве действующего вещества и консерванта) [4].

В медицине он применяется как растворитель для лекарственных средств, в качестве наружного подсушивающего и антисептического средства, при получении настоек и экстрактов на основе растительного сырья,

а также для фиксирования и консервирования биологических препаратов [5].

Производство и совершенствование технологии этилового спирта является актуальной задачей. Основными способами его производства являются синтетический (из нефтепродуктов) и микробиологический (из возобновляемого растительного сырья, с получением так называемого биоэтанола).

В связи с прогрессирующим сокращением ископаемых запасов органического сырья актуальным является использование растительной биомассы, особенно в виде отходов ее промышленной переработки. Острую актуальность данная задача приобретает для стран, не имеющих собственных значительных запасов источников энергии.

Традиционно в мире этанол получают в основном из крахмал- и сахаросодержащего сырья по технологии, включающей следующие этапы [6]:

- подготовка и измельчение сырья;
- осахаривание под действием ферментных препаратов (ФП);
- сбраживание полученного сусла;
- извлечение спирта из бражки и очистка от примесей ректификацией.

Получение биоэтанола из различных видов крахмалсодержащего сырья ограничено их использованием в пищевых и кормовых целях. В настоящее время во многих странах проводятся исследования по разработке способов получения этанола из лигноцеллюлозного растительного сырья, не обладающего пищевой ценностью (древесины, отходов деревопереработки и сельскохозяйственного производства). Крупнотоннажное производство этанола микробиологической переработкой гидролизатов, полученных кислотным гидролизом хвойной древесины, было организовано в СССР [7], однако в настоящее время оно приостановлено.

Одними из направлений, обеспечивающих уменьшение количества пищевых видов сырья (в т. ч. зернового) при производстве спирта, является его частичная замена лигноцеллюлозными растительными отходами и совершенствование технологии производства [8].

Важной стадией производства этанола является осахаривание сырья, при которой необходимо обеспечить наиболее полное использование углеводных компонентов сырьевой смеси. Это обуславливает необходимость применения ФП комплексного действия, обеспечивающих глубокую переработку полисахаридных компонентов биомассы. Для интенсификации процесса и уменьшения контаминации суслу при организации непрерывного производства целесообразно использовать термостабильные ФП препараты с оптимальной температурой действия не ниже 75°C.

Основная часть. Основными преимуществами ферментативного гидролиза (ФГ) растительного сырья по сравнению с кислотным являются специфичность ферментативного катализа, который обеспечивает избирательный гидролиз полисахаридов и отсутствие вторичных превращений моносахаридов, что позволяет получить их выход, близкий к теоретически возможному, а также проведение процесса при невысоких температурах.

В то же время процесс ФГ лигноцеллюлозной растительной биомассы имеет большую продолжительность. Это обуславливает необходимость проведения предварительной обработки сырья различными способами, а также применения комплексных ФП с высокой активностью.

Ферментативный гидролиз растительных материалов под действием ферментных препаратов осуществляется при температуре 5–90°C, рН 3–9 [9]. Технология осахаривания крахмал- и сахаросодержащего сырья в настоящее время изучена и отработана [10]. Однако при его осахаривании с частичной заменой лигноцеллюлозным сырьем необходима корректировка

применяемых ферментных препаратов и условий процесса.

В качестве частичной замены основного сырья (зернового) лигноцеллюлозным целесообразно использовать солому злаковых культур, являющуюся крупнотоннажным отходом сельскохозяйственного производства и имеющую невысокую стоимость.

При определении компонентного состава различных видов и сортов соломы сельскохозяйственных культур, районированных в Республике Беларусь [11], установлено, что суммарное содержание полисахаридов в соломе различных видов и сортов зерновых культур (54,0–63,1%) отличается несущественно.

Среди зерновых культур, возделываемых в Республике Беларусь, наиболее активно культивируются пшеница (669 тыс. га посевных площадей на 2018 г.), ячмень (443 тыс. га), тритикале (436 тыс. га) и рожь (254 тыс. га) [12]. При этом наибольшее соотношение «солома : зерно» соответствует культуре тритикале.

В качестве объектов исследования для осахаривания и получения суслу использовали зерно и солому тритикале (как крахмал- и целлюлозосодержащие компоненты сырьевой смеси соответственно), а также три варианта сырьевой смеси со следующим соотношением «солома : зерно»:

- смесь 1 (5% : 95%);
- смесь 2 (10% : 90%);
- смесь 3 (15% : 85%).

Поскольку реакционная способность лигноцеллюлозной биомассы значительно ниже, чем крахмалсодержащей, проводили предварительную обработку соломы пропариванием. Солому, измельченную до 0,5–2,0 мм размещали на перфорированной поверхности над водяной баней (100°C при атмосферном давлении) и обрабатывали паром в течение 4–8 ч. После чего определяли (табл. 1) содержание редуцирующих веществ (РВ), легко- и трудногидролизуемых полисахаридов (ЛГПС и ТГПС соответственно) по методикам, принятым в гидролизном производстве [13].

Таблица 1

Содержание РВ, ЛГПС, ТГПС в соломе тритикале до и после предварительной обработки пропариванием

Показатель, % мас. а. с. с.	Продолжительность обработки, ч			
	без обработки	4	6	8
РВ	0,1	7,2	7,8	8,5
ЛГПС	17	15,6	14,7	13,8
ТГПС	37	31,1	28,3	27,5

Полученные результаты показывают, что при обработке соломы пропариванием уже в течение 4 ч произошло уменьшение содержания ЛГПС на 10% (с повышением количества моносахаридов) и ТГПС – на 20% по сравнению с исходным. Дальнейшая обработка приводит к незначительному изменению количества РВ, ЛГПС и ТГПС. Кроме того, более длительная обработка экономически нецелесообразна, поскольку основные процессы гидротермической деструкции проходят в течение первых 4 ч. Дальнейшие исследования проводили на образцах соломы, обработанной пропариванием в течение 4 ч.

Для осахаривания сырья использовали термостабильные ФП, обладающие амило-, ксило-, целлюло- и глюколитической активностями, характеристики которых представлены в табл. 2. На основании сравнения активности и оптимальных условий действия выбраны следующие ферменты для составления полиферментной композиции комплексного действия:

- «Ликвафло» (амилолитический компонент);
- «Вискоферм» (ксило- и целлюлолитический компонент);
- «Сахзайм плюс 2Х» (глюколитический компонент).

Несмотря на достаточно высокие значения активностей ФП «Ламинекс» по сравнению с «Вискоферм», в качестве основного целлюлолитического препарата выбран «Вискоферм», поскольку он действует при более высоких температурах.

Таблица 2

Характеристики ферментных препаратов

Название ФП	Условия действия		Паспортная активность при оптимальных условиях, ед/см ³
	pH	t, °C	
«Амилекс 5Т»	4,8–6,9	70–90	АС – 1 815
«Ликвафло»	4,5–6,5	60–95	АС – 5 000
«Ламинекс ЦелюСтар»	3,2–6,2	30–65	АС – 735 КсА – 3 750 ЦлА – 1 520 БгА – 1 780
«Сахзайм плюс 2Х»	3,0–6,0	30–80	ГлС – 22 500 АС – 200
«Диазим SG2»	2,8–6,2	25–70	ГлС – 13 500
«Вискоферм»	4,0–6,5	30–85	АС – 550 КсА – 1 150 ЦлС – 650 БгА – 400

Примечание. АС – амилолитическая активность; КсА – ксилитическая активность; ЦлА и ЦлС – целлюлолитические активности, определенные различными методиками; БгА – β-глюканазная активность; ГлС – глюколитическая активность.

Исследования по определению эффективности ферментативного осахаривания с использованием индивидуальных ФП проводили при оптимальных условиях для каждого из них:

- «Ликвафло»: 83°C и pH 5,5;
- «Вискоферм»: 73°C и pH 5,2;
- «Сахзайм плюс 2Х»: 78°C и pH 4,8.

Реакционную смесь (гидромодуль 5) выдерживали на греющей магнитной мешалке с термопарой и таймером. Уровень pH регулировали 10%-ным раствором уксусной кислоты с помощью pH-метра HANNA pH-100.

Для определения эффективности процессов осахаривания в каждом образце определяли содержание РВ в гидролизате и негидролизованном полисахариде (НПС) в твердом остатке (от исходной массы а. с. с.).

Результаты исследования представлены в табл. 3. Наибольший выход РВ при одинаковой продолжительности получали с применением препарата «Вискоферм», обладающего комплексной активностью (амило-, ксило- и целлюлолитической). Препарат «Ликвафло», обладающий амилолитической активностью, также обеспечивает высокий выход РВ. Препарат «Сахзайм плюс 2Х», обладающий только глюколитической активностью, не дает значимых результатов.

При проведении дальнейших экспериментов выявлено синергическое взаимодействие данных ферментных препаратов. Так, например, для смеси 3 при добавлении трех ФП в соотношении 1 : 1 : 1 выход РВ составил 29,8% мас.

Статистическая обработка результатов экспериментов (на базе программы Microsoft Excel) показала, что оптимальным соотношением ФП «Вискоферм», «Ликвафло» и «Сахзайм плюс 2Х» является 2 : 1 : 3 соответственно, а оптимальными для данной композиции являются следующие условия: температура 78°C, pH 5,0, гидромодуль 10–14, продолжительность 100 мин.

Исходя из особенностей химического состава и технологических свойств сырьевых компонентов предложен способ непрерывного осахаривания их смеси, принципиальная схема которого представлена на рисунке.

Процесс осуществляется следующим образом:

- предварительная подготовка крахмалсодержащего компонента смеси (зерна тритикале): сухой размол сырья до фракции 0,5–1,0 мм;
- предварительная подготовка целлюлозосодержащего компонента смеси (соломы тритикале): пропаривание в течение 3–6 ч с ее последующим мокрым размолем до фракции 0,5–1,0 мм (возможно добавление ФП, обладающего ксилитической и целлюлолитической активностями) при температуре 55–60°C, pH среды 5,8 и продолжительности процесса 60 мин;

– разваривание и осахаривание смеси: температура 75–80°C, рН среды 5,2–5,4, продолжительность процесса 100 мин, введение полиферментной композиции;

– декантация до полного осветления сусла (в лабораторных условиях проводили в центрифуге при следующих параметрах: скорость 5000 мин⁻¹, продолжительность 22 мин). После

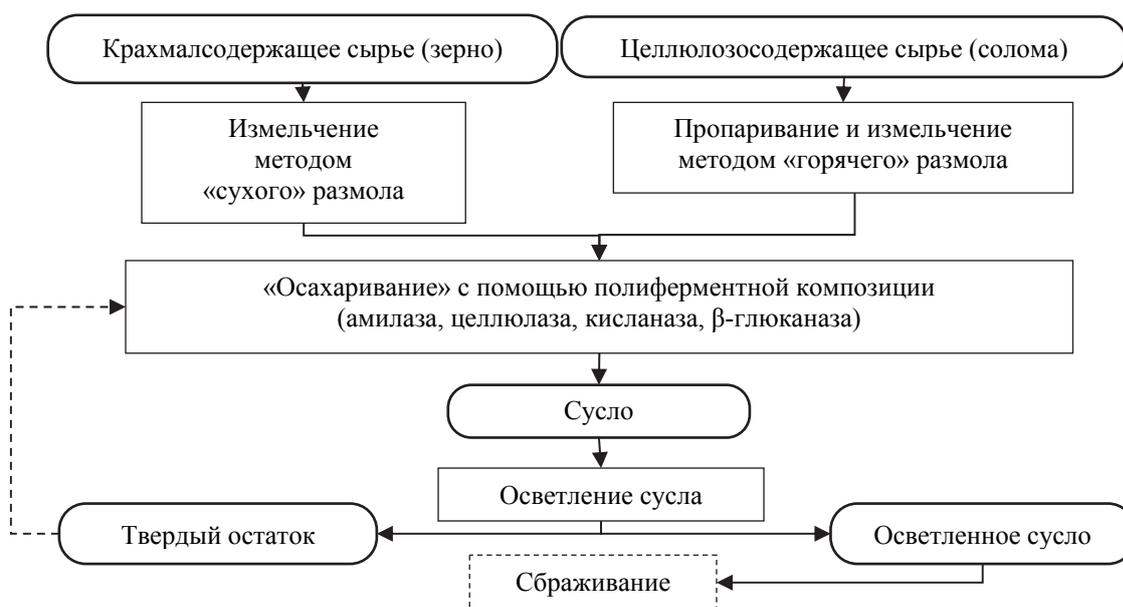
стадии осветления твердый остаток может быть возвращен на стадию разваривания, осветленное сусло подается далее на сбраживание.

В результате проведения смоделированного в лабораторных условиях процесса был получен выход моносахаридов 88,1% от теоретически возможного.

Таблица 3

Эффективность ферментативного осахаривания крахмал- и лигноцеллюлозного сырья и их смесей

ФП	Продолжительность, мин	Показатель, % мас.	Зерно	Солома	Смесь 1	Смесь 2	Смесь 3
«Ликвафло»	60	РВ	15,9	7,7	15,7	14,4	14,1
		НПС	30,8	38,2	30,9	31,1	34,2
	80	РВ	19,3	8,2	18,6	17,9	17,6
		НПС	25,1	35,7	25,9	27,4	27,6
	100	РВ	18,5	8,8	20,5	19,9	18,1
		НПС	25,8	35,2	26,0	26,3	26,9
	120	РВ	20,1	8,9	19,6	19,0	18,9
		НПС	22,8	33,9	25,0	25,2	27,0
«Вискоферм»	60	РВ	18,7	11,8	19,9	21,0	22,4
		НПС	24,8	30,4	23,4	22,1	20,2
	80	РВ	19,6	12,1	20,9	21,4	22,9
		НПС	24,8	27,9	23,0	22,0	20,0
	100	РВ	20,1	12,8	21,0	22,4	22,6
		НПС	24,8	27,1	21,8	20,8	20,1
«Сахзайм плюс 2Х»	60	РВ	5,5	3,1	5,1	5,5	5,2
		НПС	54,8	56,7	50,3	50,4	50,8
	80	РВ	5,9	3,4	5,5	5,1	4,9
		НПС	53,1	57,1	50,1	51,2	52,0



Принципиальная схема проведения осахаривания непрерывным способом

Заключение. Установлено максимальное технологически оправданное количество добавляемого к зерну целлюлозосодержащего компонента (соломы тритикале) – 15% мас.

Определены параметры процесса осахаривания и эффективность действия ферментных препаратов «Вискоферм», «Ликвафло» и «Сахзайм плюс 2Х» на зерно и солому тритикале, а также их смеси в различном соотношении.

Статистическими методами определен оптимальный состав полиферментной композиции из использованных ферментных препаратов, а также установлены оптимальные параметры ее действия: температура 78°C, pH 5,0, гидромодуль 10–14, продолжительность 100 мин.

Предложена принципиальная схема реализации процесса непрерывного ферментативного осахаривания сырьевой смеси с отдельной предварительной обработкой крахмал- и целлюлозосодержащих компонентов.

Список литературы

1. Russel N. Food preservatives. New York: Kluwer Academic, 2003. 198 p.
2. Спирт этиловый. Пищевые добавки. URL: <https://prodobavki.com/dobavki/E1510.html> (дата доступа: 10.01.2020).
3. Дебабов В. Г. Биотопливо // Биотехнология. 2008. № 1. С. 3–14 (обзор).
4. Нефтехимические биотехнологии: вызовы и возможности для России // Информационно-аналитический центр «РУПЕС». 2014. URL: <http://www.rupec.ru/analitics/30699> (дата доступа: 06.05.2020).
5. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Минск, 2016. Т. 2. Ст. 1317.
6. Глубокая переработка биомассы и отходов сельскохозяйственного производства: науч. аналитический обзор / В. С. Тихонравов [и др.]. М.: Росинформагротех, 2014. 252 с.
7. Суходолов А. П., Хаматаев В. А. Развитие отечественной гидролизной промышленности // Известия Байкальского государственного университета. 2009. № 3 (65). С. 49–52
8. Применение ферментных препаратов в производстве этанола при частичной замене зернового сырья отходами растительного происхождения / А. С. Макаренко [и др.] // Микробные катализаторы и перспективы развития ферментных технологий в перерабатывающих отраслях АПК (международный научно-практический симпозиум). Москва, 27 апреля 2009. М., 2009. С. 157–161.
9. Донков С. А., Кадетова М. Ю. Ферментативный гидролиз крахмала и крахмалсодержащего растительного сырья при получении сахаросодержащих продуктов для животноводства (обзор патентов) // Вестник КрасГАУ. 2019. № 3. С. 116–121.
10. Технология спирта / под ред. В. А. Яровенко. М.: Колос-Пресс. 2002. 465 с.
11. Богданович А. А., Конопелько Л. А., Болтовский В. С. Определение компонентного состава соломы зерновых и масличных культур, районированных в Республике Беларусь, и перспективные направления ее переработки // Труды БГТУ. Сер. 2, Химические технологии, биотехнология, геоэкология. 2017. № 2. С. 233–240.
12. Статистический ежегодник Республики Беларусь / Нац. стат. ком. Респ. Беларусь. Минск, 2019. 471 с.
13. Оболенская А. В., Ельницкая З. П., Леонович А. А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. М.: Лесная пром-сть, 1991. 316 с.

References

1. Russel N. Food preservatives. New York, Kluwer Academic Publ., 2003. 198 p.
2. *Spirit etilovyy. Pishchevyye dobavki* [Ethanol. Nutritional supplements]. Available at: <https://prodobavki.com/dobavki/E1510.html> (accessed 10.01.2020).
3. Debabov V. Biofuels. *Biotehnologiya* [Biotechnology], 2008, no. 1, pp. 3–14 (review) (In Russian).
4. *Neftexhimicheskiye biotekhnologii: vyzovy i vozmozhnosti dlya Rossii* [Petrochemical biotechnology: challenges and opportunities for Russia]. Available at: <http://www.rupec.ru/analitics/30699> (accessed 06.05.2020).
5. *Gosudarstvennaya farmakopeya Respubliki Belarus'* [State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus]. Minsk, 2016, vol. 2. article 1317.
6. Tikhonravov V. S., Fedorenko V. F., Buklagin D. S., Mishurov N. P. *Glubokaya pererabotka biomassy i otkhodov sel'skokhozyaystvennogo proizvodstva: nauchno-analiticheskiy obzor* [Deep processing of biomass and agricultural waste: scientific. analit. review]. Moscow, Rosinformagrotekh Publ., 2014. 252 p.
7. Sukhodolov A. P., Khamataev V. A. Development of the domestic hydrolysis industry. *Izvestiya Baykal'skogo gosudarstvennogo universiteta* [News of Baikal State University], 2009, no. 3 (65), pp. 49–52 (In Russian).

8. Makarenko A. S., Sokolov A. V., Rimareva L. V., Overchenko M. B., Ignatova N. I., Ostanina E. V. The use of enzyme preparations in the production of ethanol in the partial replacement of grain raw materials with plant waste. *Mikrobnyye katalizatory i perspektivy razvitiya fermentnykh tekhnologiy v pererabatyvayushchikh otraslyakh APK (mezhdunarodnyy nauchno-prakticheskiy simpozium)* [Microbial catalysts and prospects for the development of enzyme technologies in the processing industries of the agro-industrial complex (international scientific and practical symposium)]. Moscow, 2009, pp. 157–161 (In Russian).
9. Donkov S. A., Kadetova M. Yu. Enzymatic hydrolysis of starch and starch-containing plant materials in the preparation of sugar-containing products for animal husbandry (patent review). *Vestnik KrasGAU* [Bulletin of the KrasSAU], 2019, no. 3, pp. 116–121 (In Russian).
10. *Tekhnologiya spirta* [Alcohol technology]. Ed. by Yarovenko V. A. Moscow, Kolos-Press Publ., 2002. 465 p.
11. Bogdanovich A. A., Konopel'ko L. A., Boltovskiy V. S. Determination of the component composition of straw of cereals and oilseeds zoned in the Republic of Belarus, and promising directions for its processing. *Trudy BGTU* [Proceedings of BSTU], series 2, Chemical Technology, Biotechnology, Geology, 2017, issue 2, pp. 233–240 (In Russian).
12. *Statisticheskiy ezhegodnik Respubliki Belarus'* [Statistical Yearbook of the Republic of Belarus]. Minsk, 2019. 471 p.
13. Obolenskaya A. V., El'nitskaya Z. P., Leonovich A. A. *Laboratornyye raboty po khimii drevesiny i tsellyulozy* [Laboratory work on the chemistry of wood and cellulose]. Moscow, Lesnaya promyshlennost' Publ., 1991. 316 p.

Информация об авторах

Сергеенко Лидия Александровна – магистр технических наук, аспирант кафедры химической переработки древесины. Белорусский государственный технологический университет (220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13а, Республика Беларусь). E-mail: sjargejenka.lidziya@yandex.by

Болтовский Валерий Станиславович – доктор технических наук, доцент, профессор кафедры химической переработки древесины. Белорусский государственный технологический университет (220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13а, Республика Беларусь). E-mail: v-boltovsky@rambler.ru

Саевич Николай Петрович – кандидат технических наук, доцент кафедры процессов и аппаратов химических производств. Белорусский государственный технологический университет (220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13а, Республика Беларусь). E-mail: saevichm@belstu.by

Information about the authors

Sergeyenko Lidiya Aleksandrovna – Master of Engineering, PhD student, the Department of Chemical Processing of Wood. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlova str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sjargejenka.lidziya@yandex.by

Boltovskiy Valeriy Stanislavovich – DSc (Engineering), Associate Professor, Professor, the Department of Chemical Processing of Wood. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlova str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: v-boltovsky@rambler.ru

Saevich Nikolay Petrovich – PhD (Engineering), Associate Professor, the Department of Processes and Apparatus of Chemical Production. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlova str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: saevichm@belstu.by

Поступила 06.05.2020