

*It was obtained that the model of relationship between suspension viscosity and temperature on the basis of exponential trend provides the minimum coefficient of determination. It is noted that the conducted experimental studies allow us to state the existence of the dependence of dynamic viscosity on the suspension composition.*

**Keywords:** *algae, measurement, kinematic viscosity, dynamic viscosity, suspension, composition, temperature.*

Об авторах:

КУЗНЕЦОВ Николай Викторович – аспирант, Тверской государственный технический университет, Тверь. E-mail: nikola9841@gmail.com

АХРЕМЧИК Олег Леонидович – доктор технических наук, профессор кафедры автоматизации технологических процессов, Тверской государственный технический университет, Тверь. E-mail: axremchik@mail.ru

About the authors:

KUZNETSOV Nikolai Viktorovich – Postgraduate Student, Tver State Technical University, Tver. E-mail: nikola9841@gmail.com

AKHREMCHIK Oleg Leonidovich – Doctor of Science, Professor of Automation Department, Tver State Technical University, Tver. E-mail: axremchik@mail.ru

**УДК 663.53**

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОСИНТЕЗА ЭТАНОЛА ИЗ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО СЫРЬЯ**

**А.В. Уткина, Е.В. Ожимкова, М.Е. Григорьев**

**© Уткина А.В., Ожимкова Е.В.,  
Григорьев М.Е., 2024**

*Аннотация.* В статье отмечено, что роль биоэтанола как технического продукта в мировой и российской экономике постоянно возрастает, и это обусловлено широким спектром сфер его использования. Указано, что превращение лигноцеллюлозного сырья в этанол полностью соответствует принципам циркулярной экономики и отвечает концепции опережающего развития. Рассмотрены возможности оптимизации биотехнологического процесса путем использования

*ферментных препаратов в процессе подготовки сырья к сбраживанию. При выполнении работы экспериментально подобран состав мультиэнзимной композиции, обеспечивающий наибольший выход доступных моносахаридов из лигноцеллюлозного сырья, а также установлен оптимальная продолжительность стадии ферментативного гидролиза.*

**Ключевые слова:** *отходы переработки льна, льняная костра, биоэтанол, лигноцеллюлозное сырье, ферментная обработка, мультиэнзимная композиция.*

Льняной комплекс Тверской области представлен 11 основными льносеющими предприятиями, 5 заводами по первичной переработке льна и 2 предприятиями по переработке льноволокна. Первичная переработка льна сопровождается образованием и накоплением промышленных отходов. Костра составляет примерно 60–70 % от массы переработанной льняной тресты, из-за чего остро встает вопрос оптимальной утилизации лигноцеллюлозного сырья [1, 2].

Производство биоэтанола из сырья, содержащего лигноцеллюлозу, – привлекательный и устойчивый процесс, поскольку лигноцеллюлозная биомасса является возобновляемой и не используется для производства продуктов питания [3]. Целлюлозосодержащее сырье отличается высокой прочностью, поскольку полимеры, входящие в состав матрицы растения, образуют устойчивый биокомпозиционный материал [4].

Лигноцеллюлозное сырье состоит из трех основных полимерных компонентов, связанных в сложную структуру: целлюлозы (40–50 %); гемицеллюлозы (20–30 %); лигнина (10–25 %). В состав также входит незначительное количество пектина, белковых и экстрактивных веществ (хлорофилла, неструктурных сахаров, воска) [4, 5]. Процентное содержание компонентов сырья варьируется в зависимости от природы, возраста, климатических условий выращивания, процессов сбора и хранения растительного материала [6].

Целлюлоза и гемицеллюлозы, входящие в состав клеточной стенки лигноцеллюлозных отходов, являются потенциальными субстратами для получения моносахаридов, доступных для биотехнологического превращения в биоэтанол [7].

Предварительная обработка сырья направлена на снижение степени полимеризации, разрушение лигнин-углеводных связей, удаление лигнина и гемицеллюлозы и увеличение пористости материала [1, 8].

Жесткие условия (например, кислотный гидролиз), используемые во время предварительной обработки, приводят к синтезу токсичных для *Saccharomyces cerevisiae* соединений, что создает необходимость поиска альтернативных методов с применением ферментных препаратов, работающих в мягких условиях [9].

Ключевыми ферментами процесса гидролиза являются целлюлазы, которые осуществляют разложение целлюлозы до доступных *Saccharomyces cerevisiae* редуцирующих моносахаридов. В гидролизе целлюлозы принимают участие по меньшей мере три основные группы целлюлаз: эндоглюканызы, экзоглюканызы/целлобиогидролазы и  $\beta$ -глюкозидазы.

Вследствие непродуктивной адсорбции целлюлаз на лигнине доступность целлюлозы для ферментативного гидролиза зависит от степени удаления ксилана из структуры лигноцеллюлозы с помощью соответствующих ферментов – ксиланаз. В отличие от целлюлозы для ксилана нехарактерна плотно упакованная кристаллическая структура, поэтому он более восприимчив к ферментативному гидролизу. Полный гидролиз ксилана требует совместного действия нескольких ферментов: эндо-1,4- $\beta$ -ксиланазы,  $\beta$ -ксилозидазы,  $\alpha$ -арабинофуранозидазы и  $\alpha$ -глюкуронидазы [10, 11].

Ферментативный гидролиз очень специфичен и протекает в мягких условиях (например, при pH = 5 и температуре ниже 50 °C) с меньшим потреблением энергии и воздействием на окружающую среду, чем при кислотном гидролизе лигноцеллюлозы. Он также дает высокий выход глюкозы при низком образовании побочных продуктов, что благоприятно сказывается на дальнейшем использовании гидролизата в процессе ферментации [12].

В настоящей работе в качестве сырья для получения гидролизата моносахаридов использован многотоннажный отход агропромышленного комплекса – костра льна. Отходы переработки льняного волокна предоставлены ФГБНУ «Федеральный научный центр лубяных культур».

Химические показатели сырья указаны в табл. 1 [13].

Таблица 1

Химические показатели сырья

Сырье	Массовая доля компонента в образце костры льна, %			
	Целлюлоза	Пентозаны	Лигнин	Зола
Костра льна	40,9 ± 0,1	40,9 ± 0,1	19,1 ± 0,1	5,3 ± 0,05

Для составления мультиэнзимной композиции в работе были применены следующие ферментные препараты: «Целлюлаза», «Ксиланаза», «Пектиназа» (порошкообразные, ООО «ТД "Биопрепарат"», Россия).

Эффективность процесса ферментативного гидролиза льняной костры определяется составом мультиэнзимной композиции.

Ферментативный гидролиз субстрата проводится при  $\text{pH} = 5$  в ацетатном буфере. Начальная концентрация субстрата составляет 50,0 г/л. Процесс ведется при постоянной температуре порядка  $50 \pm 2$  °С без перемешивания. Продолжительность процесса – 48 ч.

Экспериментально установлено, что максимальный конечный выход редуцирующих веществ (33 г/л) в гидролизате достигается при следующих концентрациях ферментных препаратов, мг/г субстрата: «Целлюлаза» – 150, «Пектиназа» – 54, «Ксиланаза» – 36.

Зависимости концентрации глюкозы и редуцирующих веществ от продолжительности ферментативного гидролиза при концентрациях мультиэнзимной композиции 240 мг/г субстрата представлены на рис. 1 и 2 соответственно.

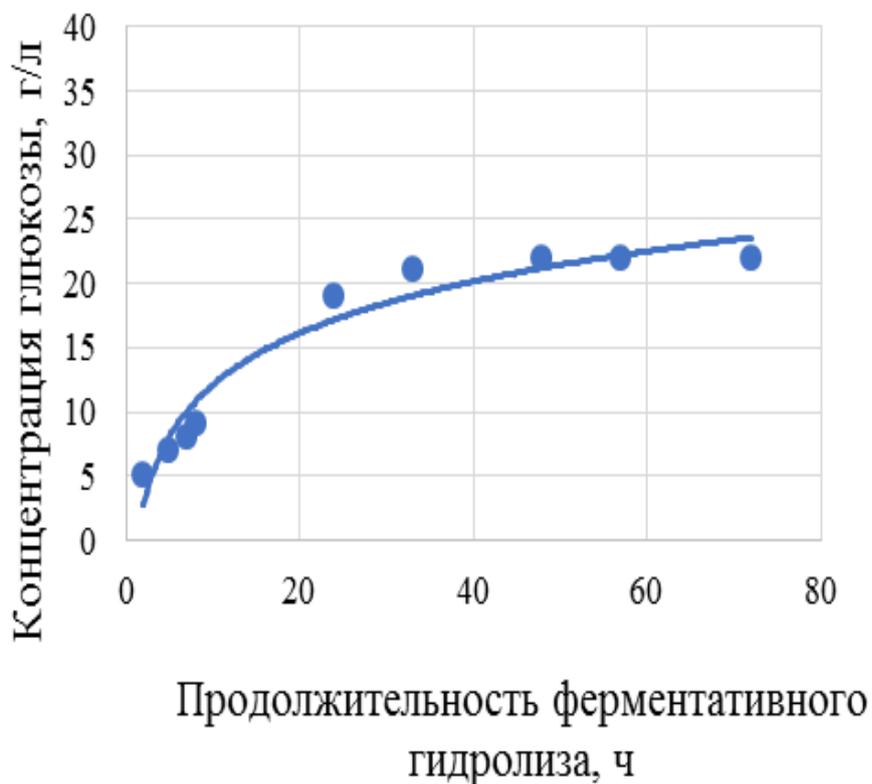


Рис. 1. Зависимость содержания глюкозы в гидролизате от продолжительности процесса

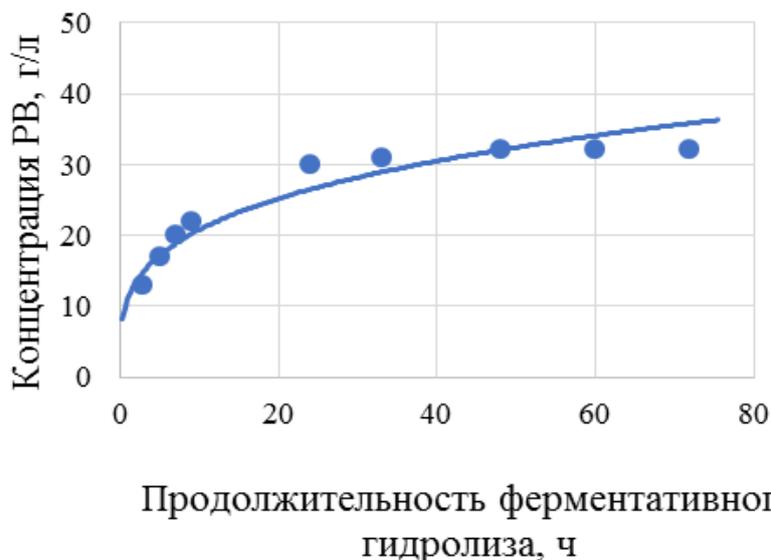


Рис. 2. Зависимость содержания редуцирующих веществ в гидролизате от продолжительности процесса

Из данных, представленных на графиках, видно, что увеличение продолжительности процесса (более 48 ч) не приводит к большему накоплению редуцирующих веществ в растворе.

Накопление глюкозы идет медленнее, чем накопление редуцирующих веществ, но доля глюкозы в редуцирующих веществах не остается постоянной и медленно растет: через 24 ч гидролиза доля глюкозы составляет 63 % (19 г/л), через 72 ч – 67 % (22 г/л). Это объясняется механизмом реакции гидролиза целлюлозы с образованием дисахарида целлобиозы и моносахарида глюкозы. На заключительном этапе дисахарид целлобиоза медленно гидролизует до глюкозы.

Технологически важно подобрать экономически обоснованную продолжительность стадии отдельного ферментативного гидролиза перед внесением в среду *Saccharomyces cerevisiae*.

Была проведена серия экспериментов, в которой при одинаковых условиях (температурном режиме, рН, количестве вносимого субстрата, составе мультиэнзимной композиции) варьируется продолжительность стадии гидролиза: 8, 15, 24, 39, 48, 72 ч.

По истечении запланированного времени отдельной стадии ферментативного гидролиза реакционная масса охлаждается до 28 °С и в нее вносится 10–15 % засевных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Сбраживание, совмещенное с осахариванием, проводится в анаэробных статистических условиях в течение 5 сут.

В первый период, продолжающийся приблизительно 60 ч (взбраживание), происходит медленное накопление дрожжевой массы, количество сброженных сахаров очень мало. Во второй период (60–120 ч)

размножение дрожжей и сбраживание сахаров за каждый час резко усиливаются, достигая максимума (главное брожение). В третий период кривая брожения выходит на плато, асимптотически приближаясь к оси абсцисс (дображивание).

По окончании ферментации в каждой пробе методом микрокопирования (камера Горяева) определялось общее количество дрожжевых клеток (млн КОЕ/мл) и количество почкующихся клеток (%). Результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2

Оптимизация продолжительности отдельной стадии ферментативного гидролиза перед ее совмещением со спиртовым брожением

Продолжительность отдельной стадии гидролиза, ч	Общее количество дрожжевых клеток, млн КОЕ/мл	Количество почкующихся клеток, %
8	5,5–8,0	7
15	7,0–21,0	12–25
24	17,0–24,0	
39	17,0–27,5	
48	17,0–28,5	
72	6–30,5	12

Продолжительность стадии ферментативного гидролиза 8–15 ч создает неблагоприятные условия для жизнедеятельности дрожжей, что объясняется высокой вязкостью среды (большим количеством негидролизованного субстрата).

Наибольшее число клеток дрожжей наблюдается при 72-часовом несовмещенном гидролизе (30,5 млн КОЕ/мл).

**Библиографический список**

1. Биоэтанол: технологии получения из возобновляемого растительного сырья и области применения / П.Е. Матковский [и др.] // Альтернативная энергетика и экология. 2010. № 6. С. 95–105.
2. Современные методы получения биоэтанола / Ф.Ш. Вильданов [и др.] // Башкирский химический журнал. 2011. № 2. С. 128–134.
3. Биоконверсия лигноцеллюлозных материалов / А.П. Сеницын [и др.]. М.: Изд-во МГУ, 1995. 224 с.
4. Fuel Ethanol Production from Lignocellulosic Biomass: an Overview on Feedstocks and Technological Approaches / H. Zayed [et al.] // Renewable and Sustainable Energy Reviews. 2016. Vol. 66. P. 751–774.

5. Харина М.В., Логинова И.В. Ресурсы лигноцеллюлозосодержащей биомассы на территории Российской Федерации // Вестник Казанского технологического университета. 2015. № 19. С. 265–269.
6. Варфоломеев С.Д. Химия биомассы: биотоплива и биопластики. М.: Научный мир, 2017. 790 с.
7. Inambao F. Bioethanol Technologies. London: IntechOpen, 2021. 154 p.
8. Tsegaye B. Microbial Delignification and Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass to Enhance Biofuel Production: an Overview and Future Prospect // Bulletin of the National Research Centre. 2019. Vol. 43 (51).
9. Технология спирта / В.Л. Яровенко [и др.]. М.: Колос, 2002. 464 с.
10. Григорьева О.Н., Харина М.В. Кислотный гидролиз лигноцеллюлозосодержащего сырья в технологии получения биоэтанола // Вестник технологического университета. 2016. № 10. С. 128–132.
11. Методы подготовки растительного сырья к биоконверсии в кормовые продукты и биоэтанол / В.И. Сушкова [и др.] // Химия растительного сырья. 2016. № 1. С. 93–119.
12. Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. М.: Экология, 1991. 320 с.

## **THE USE OF ENZYME PREPARATIONS TO INCREASE THE EFFICIENCY OF ETHANOL BIOSYNTHESIS FROM LIGNOCELLULOSE RAW MATERIALS**

**A.V. Utkina, E.V. Ozhimkova, M.E. Grigoriev**

***Abstract.** The article notes that the role of bioethanol as a technical product in the global and Russian economy is constantly increasing, and this is due to a wide range of spheres of its use. It is pointed out that the transformation of lignocellulosic raw materials into ethanol is fully consistent with the principles of circular economy and meets the concept of advanced development. Possibilities of biotechnological process optimisation by using enzyme preparations in the process of preparation of raw materials for digestion are considered. The composition of multi-enzyme composition providing the highest yield of available monosaccharides from lignocellulosic raw materials was experimentally selected and the optimal duration of the stage of enzymatic hydrolysis was established.*

***Keywords:** flax processing waste, flax bonfire, bioethanol, lignocellulose raw materials, enzyme treatment, multienzyme composition.*

Об авторах:

УТКИНА Алена Владимировна – магистрант, Тверской государственной технической университет, Тверь. E-mail: alena.svet.00@yandex.ru

ОЖИМКОВА Елена Владимировна – кандидат химических наук, доцент кафедры биотехнологии, химии и стандартизации, Тверской государственной технической университет, Тверь. E-mail: eozhimkova@mail.ru

ГРИГОРЬЕВ Максим Евгеньевич – кандидат химических наук, доцент кафедры биотехнологии, химии и стандартизации, Тверской государственной технической университет, Тверь. E-mail: GE.Max2015@yandex.ru

About the authors:

UTKINA Alyona Vladimirovna – Master's Student, Tver State Technical University, Tver. E-mail: alena.svet.00@yandex.ru

OZHIMKOVA Elena Vladimirovna – Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor, Department of Biotechnology, Chemistry and Standardization, Tver State Technical University, Tver. E-mail: eozhimkova@mail.ru

GRIGORIEV Maxim Evgenievich – Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor, Department of Biotechnology, Chemistry and Standardization, Tver State Technical University, Tver. E-mail: GE.Max2015@yandex.ru

**УДК 553.97: 662.641**

## **ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ЭКСПЕРИМЕНТА ПО ВОССТАНОВЛЕНИЮ ЖЕЛЕЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТОРФА**

**Т.Б. Яконовская**

**© Яконовская Т.Б., 2024**

***Аннотация.** Установлено, что множество предприятий металлургической промышленности в России для выплавки стали преимущественно используют дорогой коксующийся уголь или природный газ, однако почти все регионы России обладают большими запасами торфа, способного заменить дорогостоящее углеводородное сырье и материалы в металлургических процессах. Отмечено, что по этой причине использование торфяного сырья в металлургии представляет научный и практический интерес. Приведены результаты исследования влияния вида*