

ISSN 0023-1118

# ХИМИЧЕСКИЕ ВОЛОКНА

*Полимеры • Волокна • Текстиль • Композиты*

**KHIMICHESKIE VOLOKNA**  
**POLYMERS • FIBRES • TEXTILES • COMPOSITS**

[www.khimvol.su](http://www.khimvol.su)



2022



УДК 628.3364:577.15

## ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДОМ ПОВЕРХНОСТИ ОТКЛИКА ПРОЦЕССА ДЕЛИГНИФИКАЦИИ СУЛЬФАТНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЕРМЕНТА ЛИПАЗЫ

И.А. Федоскин, Д.Д. Эрнандес Гарсиа,  
В.А. Липин, М.Н. Тараченкова, Е.Д. Софронова

Санкт-Петербургский государственный университет промышленных технологий и дизайна.  
Высшая школа технологии и энергетики

*Влияние переменных процесса делигнификации, таких как количество фермента липаза, температура и продолжительность реакции на число Каппа, исследовано с применением методологии поверхности отклика (RSM). Было обнаружено, что эффективность делигнификации увеличивается с повышением и температуры продолжительности реакции и при выборе оптимального количества фермента. Наблюдались синергетические эффекты влияния изменяемых экспериментальных параметров. Получено полиномиальное уравнение третьего порядка зависимости числа Каппа от переменных величин с помощью модуля оптимизации в программном обеспечении Design-Expert, определены оптимальные условия делигнификации.*

При использовании фермента липаза для делигнификации сульфатной целлюлозы [1-3] было показано, что ферментная обработка крафт-целлюлозы позволяет снизить расход химических реагентов на отбелку и тем самым снизить количество выбросов, уменьшив нагрузку на окружающую среду. При этом по ряду параметров использование ферментов класса эстераз более предпочтительно в сравнении с ксиланазами и лакказами.

Настоящее исследование касается оценки степени ферментной делигнификации сульфатной целлюлозы с помощью статистического экспериментального плана, поскольку в статистическом построении эксперимента его параметры могут изменяться одновременно. Статистический план эксперимента является полезным инструментом для наблюдения за взаимодействием двух или более переменных при минимальном количестве испытаний. В настоящем исследовании для оптимизации эффективности ферментной делигнификации сульфатной целлюлозы использовалась методология поверхности отклика (RSM). Эта методология широко применяется с целью производства высококачественной продукции либо для более экономичного управления процессом и обеспечения его стабильности и надежности [4-7].

В публикации [3] рассматривается влияние на число Каппа температуры и продолжительности процесса. Было установлено, что наиболее сильное влияние на число Каппа оказывает температура ферментной обработки, после него по силе влияния следует продолжительность ферментной обработки. Однако узкий диапазон ис-

пользованного количества фермента не позволил получить полную картину влияния параметров для выбора оптимальных условий использования ферментной обработки.

Целью данных исследований было определение интерактивных эффектов независимых переменных на эффективность делигнификации и построение статистической модели, представляющей собой зависимость числа Каппа от изменения этих независимых переменных в более широком интервале количества фермента. В качестве независимых переменных были выбраны температура в интервале от 20 до 80 °С, продолжительность реакции от 30 до 120 мин и количество фермента от 0 до 10 % от массы абсолютно сухой целлюлозы.

Для определения оптимальных условий проведения ферментной обработки в выбранных пределах переменных параметров использовались экспериментальные данные работы [3], дополненные новыми данными исследований в более широких интервалах значений по методикам, приведенным в указанной работе.

RSM является одним из наиболее часто используемых методов определения влияния независимых переменных на отклик и получение оптимального отклика. Температура, количество фермента и продолжительность реакции были выбраны в качестве независимых переменных, каждая на трех уровнях. (табл. 1).

Для анализа экспериментальных данных, оценки уравнения регрессии и оптимизации экспериментальных условий использовали пробное программное обеспечение Design-Expert версии 11. Эмпирическая связь между ответом  $Y$  и независимыми переменными была определена путем при-

Ernandes20@yandex.ru

Таблица 1. Независимые переменные и их уровни при проведении процесса ферментации липазой

Независимые переменные	Обозначение	Уровень		
		-1	0	+1
Температура, °С	X <sub>1</sub>	20	50	80
Время, ч	X <sub>2</sub>	0,5	1,25	2
Количество фермента липазы, % от массы сухой целлюлозы	X <sub>3</sub>	1	5,5	10

Таблица 2. Экспериментальные и прогнозируемые значения числа Каппа в зависимости от параметров модели центрального композиционного плана (CCD)

№	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Экспериментальные значения	Прогнозируемые значения
1	20	0.5	3	11.1	11.54
2	30	0.5	3	10.8	10.42
3	40	0.5	3	9.4	9.44
4	50	0.5	3	7.5	8.60
5	60	0.5	3	7.4	7.89
6	70	0.5	3	6.5	7.30
7	80	0.5	3	6.1	6.84
8	20	1	3	11	10.39
9	30	1	3	10	9.23
10	40	1	3	9.4	8.18
11	30	0.5	1	10.1	9.77
12	40	0.5	1	9.43	8.88
13	50	0.5	1	7.5	8.13
14	60	0.5	1	8.11	7.53
15	70	0.5	1	7.45	7.07
16	80	2	3	4.9	4.89
17	20	0.5	10	15.11	15.03
18	30	1	1	9.87	9.83
19	40	1	1	9.15	8.86
20	50	1	1	7.5	8.02
21	50	0.5	10	13.8	13.72
22	60	0.5	10	13.7	13.45
23	70	0.5	10	13.6	13.26
24	80	0.5	10	13.47	13.14
25	20	1	10	10	10.46
26	30	1	10	9.87	9.91
27	40	1	10	9.15	9.43
28	50	1	10	8.3	9.01
29	60	1	10	8	8.65
30	70	1	10	7.6	8.35

менения уравнения регрессии, которая включает линейное и перекрестное влияние переменных.

$$\begin{aligned}
 Y = & a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + \\
 & + a_{23}X_2X_3 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{33}X_3^2 + a_{123}X_1X_2X_3 - \\
 & - a_{112}X_1^2X_2 + a_{113}X_1^2X_3 + a_{122}X_1X_2^2 + a_{133}X_1X_3^2 + \\
 & + a_{223}X_2^2X_3 + a_{233}X_2X_3^2 + a_{111}X_1^3 + \\
 & + a_{222}X_2^3 + a_{333}X_3^3, \quad (1)
 \end{aligned}$$

где  $a_0$  – модельная постоянная;  $a_1, a_2, a_3$  – линейные коэффициенты;  $a_{12}, a_{13}, a_{23}, a_{112}, a_{113}, a_{122}, a_{133}, a_{223}, a_{233}, a_{123}$  – интерактивные коэффициенты;  $a_{11}, a_{22}, a_{33}$  – квадратичные коэффициенты,  $a_{123}, a_{111}, a_{222}, a_{333}$  – кубические коэффициенты.

Дисперсионный анализ (ANOVA) применялся для оценки несоответствия, коэффициента детерминации ( $R^2$ ) и адекватности модели. Взаимодействие между переменными процесса оценивалось с использованием трехмерных графиков поверхности и соответствующих контурных графиков.

Связь между числом Каппа и тремя изменяемыми параметрами была вычислена с использованием уравнения (1), которое выражается в кодированных переменных следующим образом:

$$\begin{aligned}
 Y = & 6,87 - 2,6X_1 + 0,1811X_2 + 0,2211X_3 - \\
 & - 0,0474X_1X_2 + 0,6054X_1X_3 + 0,0636X_2X_3 + \\
 & + 0,3749X_1^2 + 2,06X_2^2 + 1,6X_3^2 + \\
 & + 0,0622X_1X_2X_3 - 0,1318X_1^2X_2 - \\
 & - 0,1465X_1^2X_3 + 0,2706X_1X_2^2 + \\
 & + 0,8091X_1X_3^2 + 2,64X_2^2X_3 + \\
 & + 0,4826X_2X_3^2 - 0,0145X_1^3 - 1,06X_2^3, \quad (2)
 \end{aligned}$$

где  $Y$  представляет собой значение числа Каппа, а  $X_1, X_2$  и  $X_3$  являются независимыми переменными температуры, продолжительности реакции и количества фермента соответственно. Из уравнения (2) следует, что наиболее значимыми факторами являются температура и сочетание температура-количество и продолжительность-количество.

Результаты расчетов и экспериментальные отклики, полученные в ходе исследований, приведены в табл. 2. Как можно видеть, экспериментальные отклики показывают, что число Каппа варьируется от 4.9 до 15.11 ед.

Полиномиальная модель третьего порядка была получена путем применения множественного регрессионного анализа к экспериментальным данным. Это модельное уравнение показывает эмпирическую связь между числом Каппа и независимыми переменными:

Таблица 3. Параметры кубической модели для расчета числа Каппа

Фактор	Коэффициенты	Сумма квадратичных отклонений	Количество степеней свободы	Среднеквад- ратичное значение	F-критерий	P-критерий > F-критерий
$a_0$	6.87					
$X_1$	-2.60	18.79	1	18.79	65.10	< 0.0001
$X_2$	0.1811	0.09	1	0.09	0.31	0.5805
$X_3$	0.2211	1.08	1	1.08	3.76	0.0557
$X_1X_2$	-0.0474	0.06	1	0.06	0.21	0.6461
$X_1X_3$	0.6054	12.16	1	12.16	42.14	< 0.0001
$X_2X_3$	0.0636	0.17	1	0.17	0.58	0.4474
$X_1^2$	0.3749	2.30	1	2.30	7.96	0.0058
$X_2^2$	2.06	92.88	1	92.88	321.87	< 0.0001
$X_3^2$	1.60	21.10	1	21.10	73.12	< 0.0001
$X_1X_2X_3$	0.0622	0.09	1	0.09	0.30	0.5836
$X_1^2X_2$	-0.1318	0.16	1	0.16	0.55	0.4582
$X_1^2X_3$	-0.1465	0.29	1	0.29	1.01	0.3187
$X_1X_2^2$	0.2706	0.72	1	0.72	2.50	0.1176
$X_1X_3^2$	0.8091	2.39	1	2.39	8.28	0.0050
$X_2^2X_3$	2.64	125.42	1	125.42	434.65	< 0.0001
$X_2X_3^2$	0.4826	1.06	1	1.06	3.68	0.0581
$X_1^3$	-0.0145	0.00	1	0.00	0.00	0.9532
$X_2^3$	-1.06	4.94	1	4.94	17.12	< 0.0001
$X_3^3$	0	0.00	0			
Модель		774.58	18	43.03	149.13	< 0.0001
Невязка		26.84	93	0.2886		
Неадекватность		26.84	65	0.4129		
“Чистая” ошибка		0.0000	28	0.0000		
Сумма		801.41	111			

$$\begin{aligned}
 Y = & 13,46 - 0,1292X_1 - 3,6959X_2 + 1,6764X_3 - \\
 & - 0,02605X_1X_2 + 0,00732X_1X_3 - 2,9666X_2X_3 + \\
 & + 0,0009X_1^2 + 6,528X_2^2 - 0,02716X_3^2 + \\
 & + 0,000615X_1X_2X_3 - 0,000195X_1^2X_2 - \\
 & - 0,000036X_1^2X_3 + 0,016036X_1X_2^2 - \\
 & + 0,001332X_1X_3^2 + 1,04206X_2^2X_3 + \\
 & + 0,03178X_2X_3^2 - 0,0000000539X_1^3 - \\
 & - 2,5043X_2^3
 \end{aligned} \quad (3)$$

Результаты проверки статистической значимости и адекватности модели в формуле (3), ANOVA и F-тест представлены в табл. 3.

В табл. 3 F-значение модели составляет 149.13. Множественный коэффициент корреляции ( $R^2$ ) модели составил 0.967 (рис.1). Это свидетельствует о хорошем соответствии между экспериментальными и прогнозируемыми по модели значениями числа Каппа.

Значения вероятности (P-критерии), указанные в табл. 3, можно использовать как инструмент для проверки значимости каждой переменной и их взаимодействия. Если P-критерий боль-

ше критерия Фишера менее чем на 0.050, то связанная независимая переменная в модели влияет на число Каппа. В табл. 3 P-критерий больше F-критерия для определенных переменных модели, что указывает на значимость модели. Таким образом, можно сказать, что закодированные значения из  $X_1$ ,  $X_1X_3$ ,  $X_1^2$ ,  $X_2^2$ ,  $X_3^2$ ,  $X_1X_3^2$ ,

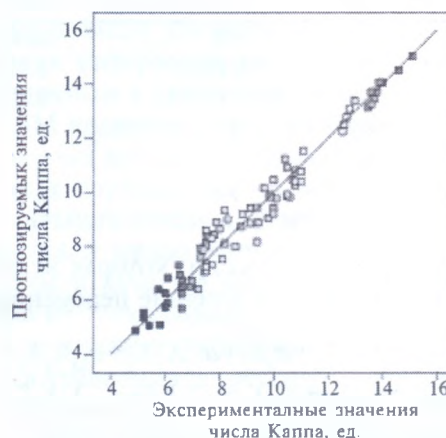


Рис. 1. Корреляция между экспериментальными и прогнозируемыми значениями числа Каппа.



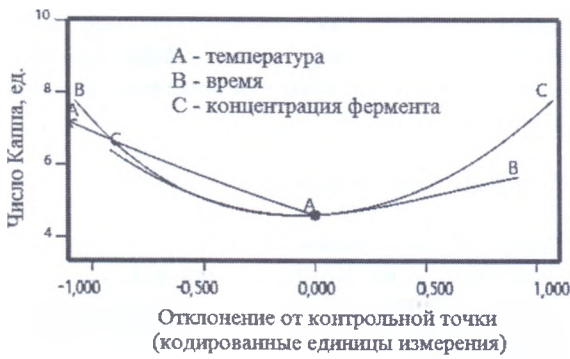


Рис. 2. Влияние независимых закодированных переменных на число Каппа: A – температура; B – время; C – количество фермента.

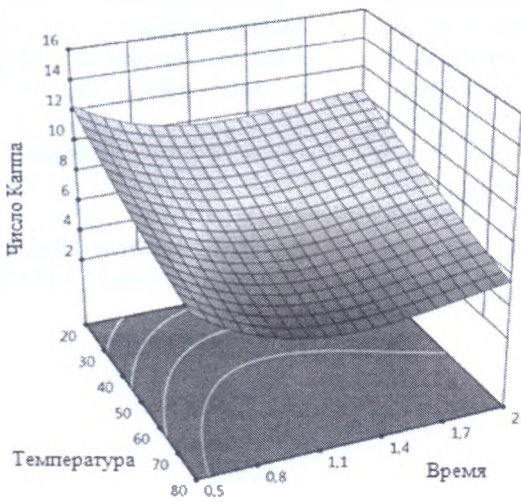


Рис. 3. Интерактивное влияние температуры и продолжительности реакции на значение числа Каппа.

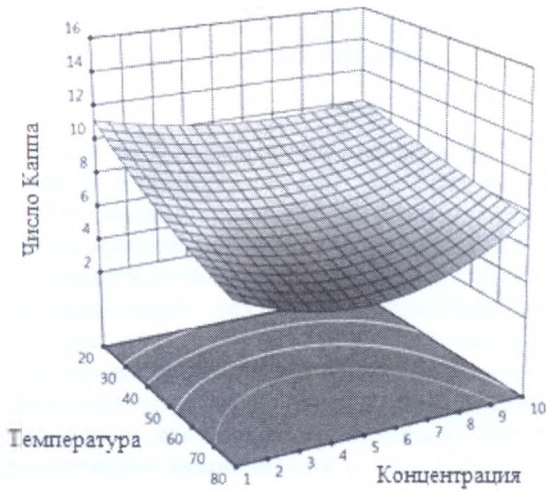


Рис. 4. Интерактивное влияние температуры и количества липазы на значение числа Каппа.

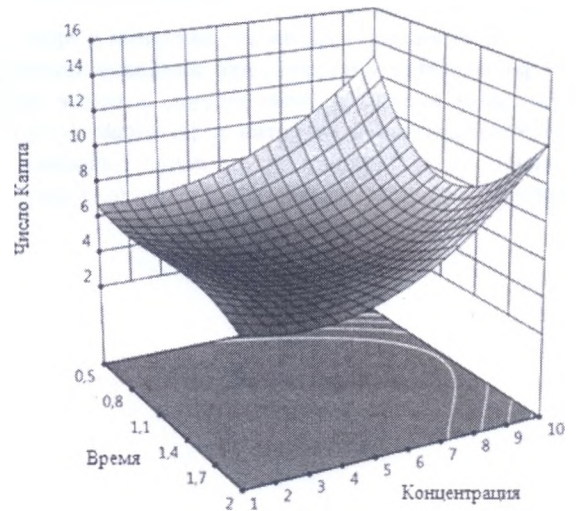


Рис. 5. Интерактивное влияние продолжительности реакции и количества липазы на значение числа Каппа.

$X_2^2 X_3$  и  $X_2^3$  в формуле (3) являются статистически значимыми величинами.

Графики возмущений (рис.2) показывают сравнение между закодированными переменными модели и их влиянием на желаемое значение числа Каппа. Эти графики показывают, что повышение температуры вызывает монотонное уменьшение числа Каппа, в то время как продолжительность реакции и количество фермента имеют экстремумы, в которых значение числа Каппа оказывается минимальным во всем промежутке изменения этих параметров реакции при неизменном значении остальных параметров. Из рис.2 следует, что существует такое соотношение параметров, при котором достигается минимальное значение числа Каппа.

Трехмерные поверхности отклика и контурные графики, полученные из кубической модели

для числа Каппа, были рассчитаны с использованием заявленного программного обеспечения. На рис. 3-5 показано соотношение между значениями числа Каппа и экспериментальными значениями для каждой переменной. Эти поверхности можно использовать, чтобы обнаружить влияние любой из двух переменных, в то время как третья переменная остается постоянной. На рис. 3 и 4 видно, что степень делигнификации увеличивается с повышением температуры.

С помощью модуля оптимизации в заявленном программном обеспечении были определены оптимальные экспериментальные условия. Оптимальные значения температуры, количества фермента и продолжительности реакции составили

79.81 °С, 5.14 % и 1.31 ч соответственно, в этом случае число Каппа может достигнуть значения 4.61 ед.

– Метод RSM был использован для оптимизации значений температуры, продолжительности реакции и количества фермента как независимых переменных параметров в процессе делигнификации целлюлозы, осуществленной с использованием фермента липаза с последующей пероксидной обработкой. Определение влияния интерактивных эффектов переменных процесса произведено путем анализа с помощью множественной регрессии (ANOVA). Получена репрезентативная статистическая модель, показывающая соотношение между числом Каппа и независимыми переменными. Полученные результаты свидетельствуют о том, что на процесс делигнификации положительно влияет повышение температуры, увеличение продолжительности реакции и уменьшение количества фермента до определенного значения.

– С помощью модуля оптимизации в программе Design-Expert11 показано, что наиболее значимыми факторами являются температура, а также сочетание температура-количество и продолжительность-количество, и найдены оптимальные значения температуры, количества фермента и продолжительнос-

ти реакции, которые равны соответственно 79.81 °С, 5.14 % и 1.31 ч. В этих условиях эффективность делигнификации, предсказанная моделью, определена как 4.61 ед.

#### Библиографический список

1. *Rashedi H., Amoabediny Gh., e. a.* // Cellulose Chem. a. Tech. 2008. V. 42. No. 7. – P. 397-402.
2. *Nguyen D., Zhang X., e. a.* // Enzyme a. Microbial Technol. 2008. V. 43. No. 2. – P. 130-136. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2007.11.012
3. *Lipin V.A., Fedoskin I.A., Demyantseva E. Yu.* // Fibre Chemistry. 2021. V. 53. No. 3. – P. 149-154. DOI: 10.1007/s10692-021-10256-4
4. *Montgomery D.C.* Design and Analysis of Experiments. 2019. 10th Edition. John Wiley & Sons, Inc. – 688 p.
5. *Brown S.D., Tauler R., Walczak B.* (Eds.): Comprehensive chemometrics. Chemical and biochemical data analysis. 2020. 2nd Edition. Elsevier. Inc. – 2994 p. DOI:10.1007/s00216-009-3284-9.
6. *Meyers R.A.* Encyclopedia of Physical Science and Technology. 2003. 3rd Edition. Elsevier, Inc. -- 15453 p. DOI:10.1016/B0-12-227410-5/00731-6
7. *Gan P.G., Sam S.T., e. a.* // Bioresources. 2020. V. 15. No.1. – P. 1154-1170. DOI: 10.15376/biores.15.1.1154-1170