

ОПЫТ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЭТАНОЛА ИЗ ПРОДУКТА АЗОТНОКИСЛОЙ ОБРАБОТКИ ШЕЛУХИ ОВСА НЕИЗОТЕРМИЧЕСКИМ СПОСОБОМ С ПОДПИТКОЙ

Г. Ф. Миронова, Е. А. Скиба

*Низкая концентрация этанола в бражке, приводящая к нерентабельности его дистилляции и ректификации, является проблемой в технологии биоэтанола из практически любого вида целлюлозосодержащего сырья. Это связано с известной закономерностью снижения эффективности биоконверсии целлюлозы с увеличением концентрации сухих веществ в реакционной массе. Один из путей преодоления этой проблемы – применение подпитки субстратом, и/или ферментными препаратами, и/или дрожжами в совмещенном процессе ферментативного гидролиза и спиртового брожения. Известна перспективность продукта азотнокислой обработки (ПАО) шелухи овса, тем не менее концентрация этанола на данный момент не превышала 3 % об. Целью данной работы являлось исследование неизотермического процесса получения биоэтанола с подпиткой из ПАО шелухи овса. Процесс проводился в ферментере при начальном объеме реакционной массы 6 л и начальной концентрации субстрата 60 г/л. Подпитка осуществлялась внесением по 30 г/л ПАО шелухи овса и соответствующего количества мультиэнзимной композиции (0,04 кг «Целлолюкс-А»/кг субстрата и 0,2 кг «Брюзайм ВГХ»/кг субстрата) через 4 ч, 8 ч и 16 ч от начала ферментативного гидролиза до концентрации субстрата 150 г/л. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693 вносились после охлаждения реакционной массы до 28 °С при достижении степени конверсии субстрата в редуцирующие вещества 51 %. В результате крепость биоэтанола в бражке составила 5,1 % об., что соответствует известному технико-экономическому пределу для дистилляции и ректификации биоэтанола.*

Ключевые слова: биоэтанол, шелуха овса, продукт азотнокислой обработки, ферментативный гидролиз, спиртовое брожение, неизотермический процесс, подпитка.

ВВЕДЕНИЕ

В связи с ежегодно растущим мировым спросом на энергию получение из постоянно возобновляемого целлюлозосодержащего сырья такого источника энергии, как биоэтанол, является перспективным направлением развития промышленности [1]. Для переработки такого сырья в биоэтанол необходимо гидролизовать целлюлозу и гемицеллюлозы сырья до соответствующих моносахаридов, которые далее ферментировать в этанол микроорганизмами. Хотя есть опыт использования кислотного гидролиза для получения моносахаридов [2-3], применение ферментов видится наиболее приемлемой стратегией, поскольку ферментативный гидролиз лишен недостатков, присущих способам, основанным на кислотном гидролизе. Ферментативный гидролиз осуществляется в гораздо более мягких условиях по температуре, давлению и кислотности среды. Это требует значительно меньших расходов энергии, предотвращает деструкцию сахаров и образование веществ, снижающих биологическую цен-

ность гидролизатов (органических кислот, фурфурола, оксиметилфурфурола). Кроме того, появляется возможность решения экологических проблем.

В последние годы сделано множество работ, решающих основные проблемы, связанные с низкой эффективностью трансформации нативных целлюлозосодержащих материалов в биоэтанол: в первую очередь, разработаны эффективные технологии предобработки сырья [4-5] и созданы ферментные препараты, направленные на гидролиз целлюлозы и гемицеллюлоз [6].

Однако сегодня существует проблема, имеющая место в технологии получения биоэтанола из практически любого вида целлюлозосодержащего сырья: низкая концентрация этанола в бражке, приводящая к нерентабельности его дистилляции и ректификации. Одной из причин является известная закономерность: эффективность биоконверсии целлюлозы при ферментативном гидролизе уменьшается с увеличением концентрации сухих веществ в реакционной массе [7]. Один из путей решения этой проблемы – ме-

ОПЫТ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЭТАНОЛА ИЗ ПРОДУКТА АЗОТНОКИСЛОЙ ОБРАБОТКИ ШЕЛУХИ ОВСА НЕИЗОТЕРМИЧЕСКИМ СПОСОБОМ С ПОДПИТКОЙ

тод подпитки субстратом, и/или ферментными препаратами, и/или дрожжами при применении правильно подобранной для конкретного субстрата технологической схемы [8].

Целью данной работы являлось исследование неизотермического процесса получения биоэтанола с подпиткой из ПАО шелухи овса.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ПАО получен из шелухи овса, предоставленной ОАО «Бийский элеватор», на опытном производстве ИПХЭТ СО РАН в количестве 13,8 кг (влажность 72 %) по схеме: шелуха овса → промывка водой → обработка 4%-ной азотной кислотой в течение 4,5 ч при атмосферном давлении и температуре 90-96°C → промывка водой до получения бесцветных промывных вод. Химические показатели ПАО в сравнении с сырьем отражены в таблице 1.

Таблица 1 – Химические показатели сырья и субстрата

Характеристики	Массовая доля, % в пересчете на а.с.в.	
	Шелуха овса	ПАО
Целлюлоза по Кюршнеру	40,9	81,4
Пентозаны	34,6	9,2
Лигнин и зола	24,5	9,4

Неизотермический процесс получения биоэтанола с подпиткой из свежего ПАО шелухи овса проводился в ферментере объемом 11 дм³ [9] при начальном объеме реак-

ционной массы 6 л и начальной концентрации ПАО 60 г/л согласно блок-схеме (рисунок 1).

Для ферментативного гидролиза использовалась мультиэнзимная композиция (МЭК) из ферментных препаратов целлюлазно-глюканазно-ксиланазного действия: «Целлолюкс-А» («Сиббиофарм», Россия) в дозировке 0,04 кг/кг субстрата и «Брюзайм ВGX» («Polfa Tarchomin Pharmaceutical Works S.A.», Польша) в дозировке 0,2 кг/кг субстрата.

Подпитка системы до концентрации субстрата равной 150 г/л осуществлялась внесением по 30 г/л ПАО и соответствующего количества МЭК через 4 ч, 8 ч и 16 ч от начала ферментативного гидролиза.

Для исключения контаминации реакционной массы посторонней микрофлорой разово был внесен препарат бензилпенициллина натриевой соли из расчета 30 тыс. ЕД/л в начале процесса.

В качестве продуцента биоэтанола применялся штамм ВКПМ *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693. Для адаптации к среде ферментативного гидролизата дрожжи предварительно культивировались 24 ч при 28 °С на смешанной питательной среде, состоящей из солодового сусле и ферментативного гидролизата ПАО шелухи овса. В систему дрожжи вносились через 32 ч отдельной стадии ферментативного гидролиза после охлаждения реакционной массы до 28 °С.

Одновременно с посевным материалом *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693 в реакционную массу вносился питательный раствор на основе сульфата аммония, монофосфата калия, дрожжевого экстракта, сульфата магния и кальция хлористого [10].

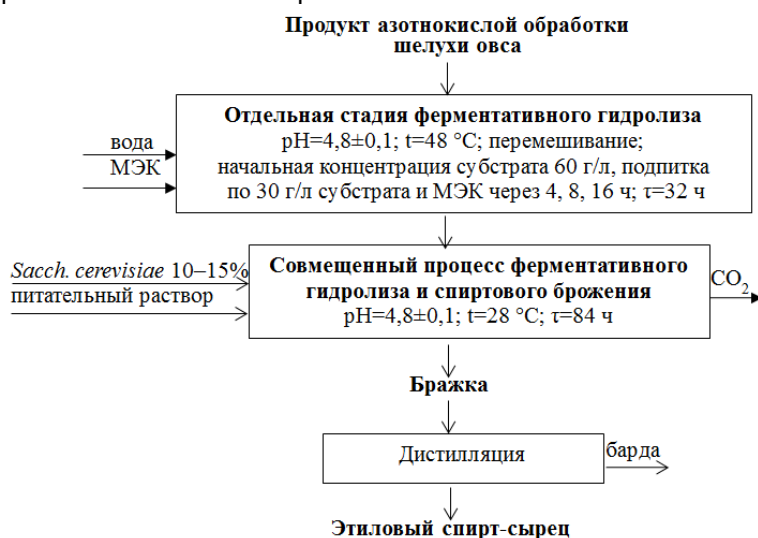


Рисунок 1 – Блок-схема получения биоэтанола

В ходе проведения процесса каждые 2 ч измерялась активная кислотность реакционной массы с помощью иономера И-160МИ и при необходимости корректировалась растворами гидроксида аммония и ортофосфорной кислоты. Каждые 4 ч отбирались пробы для анализа концентрации редуцирующих веществ (РВ) спектрофотометрическим методом с помощью спектрофотометра UNICO UV-2804 (США) с использованием реактива на основе 3,5-динитросалициловой кислоты, каждые 8 ч – пробы для определения концентрации сухих веществ (СВ) методом высушивания до постоянной массы. Объемная концентрация спирта в бражке определялась в бражном дистилляте, доведенном до объема бражки, с помощью ареометра для спирта по ГОСТ 3639-79. При наложении времени отбора проб и подпитки сначала производился отбор, затем подпитка.

По окончании процесса биоэтанола из бражки был выделен дистилляцией с помощью бражной колонны GS-2 (Россия). Во время перегонки одновременно этанол подвергался фракционному разделению; температуры и скорости отбора фракций выбирались согласно [11].

Работа выполнена при использовании приборной базы Бийского регионального центра коллективного пользования СО РАН (ИПХЭТ СО РАН, г. Бийск).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изменения концентрации РВ и крепости бражки в ходе эксперимента отражены на рисунке 2.

Накопление РВ при ферментативном гидролизе шло соразмерно внесению новых порций субстрата и МЭК. На момент внесения дрожжей степень гидролиза целлюлозы и гемицеллюлоз ПАО шелухи овса составила 51 %. После внесения дрожжей концентрация РВ медленно убывала и через 116 ч от начала гидролиза установилась на уровне 10,7 г/л, крепость бражки к этому времени была равна 5,1 % об. Судя по непродолжительности периода возбуживания, адаптация дрожжей к среде ферментативного гидролизата ПАО шелухи овса прошла успешно. Период главного брожения продолжался около 22 ч.

Массовая доля СВ возрастала по мере внесения новых порций субстрата, а после внесения дрожжей сразу же начала убывать, что свидетельствует о начале процесса брожения с образованием из СВ спирта и углекислоты. Остаточная концентрация СВ в ре-

акционной смеси была равна 4,7 %. Если учесть остаточную концентрацию РВ (10,7 г/л), представленных целлобиозой, ксилозой, арабинозой и другими РВ, несбраживаемыми штаммом *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693; можно заключить, что негидролизованного или частично гидролизованного субстрата (целлоолигосахариды, целлотриозы) в реакционной смеси осталось около 36 г/л.

Выход биоэтанола от теоретического, рассчитанного по содержанию целлюлозы в субстрате, составил 58,6 %; от массы сырья – 17,1 дал/т шелухи овса.

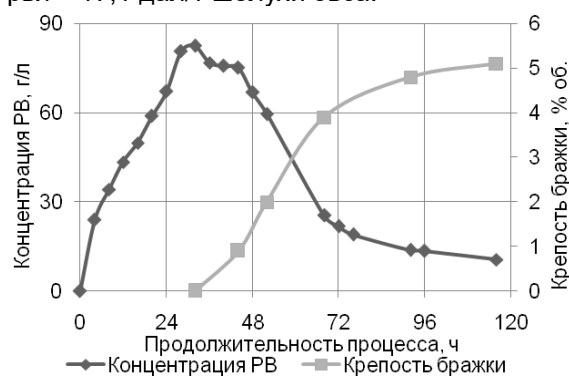


Рисунок 2 – Зависимости концентрации РВ и крепости бражки от продолжительности процесса получения биоэтанола

График изменения концентрации СВ показан на рисунке 3.

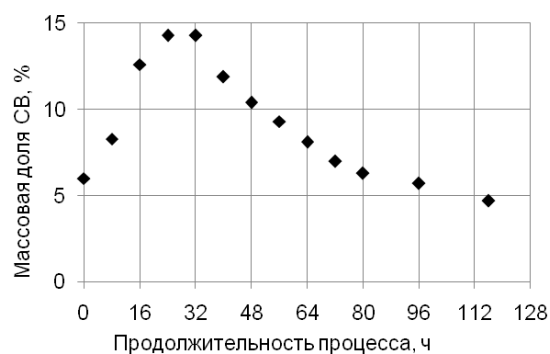


Рисунок 3 – Зависимость массовой доли СВ от продолжительности процесса получения биоэтанола

В сравнении с подобной работой [12], проведенной ранее с продуктом щелочной делигнификации шелухи овса и несколько другой схемой подпитки, выход биоэтанола повысился на 29 %. Полученный результат свидетельствует об адекватности выбранной схемы подпитки, позволяющей улучшить массообмен в ферментёре.

Концентрация биоэтанола в бражке 5,1 % об. соответствует известному технико-

ОПЫТ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЭТАНОЛА ИЗ ПРОДУКТА АЗОТНОКИСЛОЙ ОБРАБОТКИ ШЕЛУХИ ОВСА НЕИЗОТЕРМИЧЕСКИМ СПОСОБОМ С ПОДПИТКОЙ

экономическому пределу для дистилляции и ректификации биоэтанола, ниже которого в мировой практике процесс считается малоэффективным [13]. Однако полученный выход биоэтанола (58,6 % от теоретического, рассчитанного по содержанию целлюлозы в субстрате) не является максимально возможным, схема подпитки должна быть оптимизирована.

ВЫВОДЫ

Проведен неизотермический процесс получения биоэтанола с подпиткой из ПАО шелухи овса. С помощью подобранной схемы периодической подпитки порциями субстрата через 4 ч, 8 ч и 16 ч от начала ферментативного гидролиза достигнута концентрация субстрата 150 г/л. Показано, что данная концентрация субстрата и режим подпитки обеспечивают нормальный массообмен в ферментере. Получена концентрация биоэтанола в бражке 5,1 % об. что отвечает мировым требованиям его рентабельного производства.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Болтовский, В. С. Актуальные проблемы гидролизного производства и пути их решения / В. С. Болтовский // Труды БГТУ. Серия 2: Химические технологии, биотехнология, геоэкология. – 2017. – №2 (199). – С. 233-240.
2. Григорьева, О. Н. Кислотный гидролиз лигноцеллюлозосодержащего сырья в технологии получения биоэтанола / О. Н. Григорьева, М. В. Харина // Вестник технологического университета. – 2016. – Т. 19, № 10. – С. 128-132.
3. Пат. 18882 Евразийский Союз, МПК С07Н3/02, С07Н1/08, С07П1/00, С07П3/00. Способ непрерывного кислотного гидролиза целлюлозосодержащих материалов / Чернявская Н. А.; заявитель и патентообладатель БИО ТЕХ ЛТД. – № 201001438; заявл. 17.03.2008; опубл. 29.11.2013, Бюл. № 11. – 6 с.
4. Hu, F. Pretreatment and lignocellulosic chemistry / F. Hu, A. Ragauskas // Bioenergy Research. – 2012. – № 5. – P. 1043-1066.
5. Макарова, Е. И. Биоконверсия непищевого целлюлозосодержащего сырья. Часть 1 / Е. И. Макарова, В. В. Будаева // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2016. – Т. 6, № 2. – С. 43-50.
6. Donohoe, B. S. Mechanisms employed by cellulase systems to gain access through the complex architecture of lignocellulosic substrates / B. S. Donohoe, M.G. Resch // Current Opinion in Chemical Biology. – 2015. – № 29. P. 100-107.

7. Agrawal, R. Improved Enzymatic Hydrolysis of Pilot Scale Pretreated Rice Straw at High Total Solids Loading / R. Agrawal, B. Bhadana, A. S. Mathur [et al.] // Frontiers in Energy Research. – 2018. – 6:115.

8. Unrean, P. Systematic optimization of fed-batch simultaneous saccharification and fermentation at high-solid loading based on enzymatic hydrolysis and dynamic metabolic modeling of *Saccharomyces cerevisiae* / P. Unrean, S. Khajeeram, K. Laoteng // Appl Microbiol Biotechnol. – 2016. – № 100. – С. 2459-2470.

9. Pavlov, I. N. A setup for studying the biocatalytic conversion of products from the processing of Nonwood Raw Materials / I. N. Pavlov // Catalysis Industry. – 2014. – № 6 (4). – P. 350-360.

10. Skiba, E. A. Enhancing the Yield of Bioethanol from the Lignocellulose of Oat Hulls by Optimizing the Composition of the Nutrient Medium / Skiba E. A., Mironova G. F., Kukhlenko A. A. [et al.] // Catalysis in Industry. – 2018. – V. 10, № 3. – P. 257-262.

11. Скиба, Е. А. Изучение фракционного разделения на бражной колонне биоэтанола из плодовых оболочек овса / Е. А. Скиба, И. Н. Павлов // Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности: материалы 9-ой Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых с международным участием, 18-20 мая 2016 г., г. Бийск. – Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2016. – С. 367-371.

12. Миронова, Г. Ф. Исследование возможности повышения выхода биоэтанола из продукта щелочной делигнификации плодовых оболочек овса с применением метода подпитки / Г. Ф. Миронова, И. Н. Павлов, Е. И. Кашеева // Ползуновский вестник. – 2018. – № 1. – С. 111-116.

13. Fan, Z. Conversion of paper sludge to ethanol in a semicontinuous solids-fed reactor / Z. Fan, C. South, K. Lyford [et al.] // Bioprocess. Biosyst. Eng. – 2003 – № 26. – P. 93-101.

Миронова Галина Федоровна, младший научный сотрудник лаборатории биоконверсии, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук (ИПХЭТ СО РАН), e-mail: yur_galina@mail.ru, тел. (3854) 30-59-85.

Скиба Екатерина Анатольевна, кандидат технических наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории биоконверсии, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук (ИПХЭТ СО РАН), e-mail: eas08988@mail.ru, тел. (3854) 30-59-85.