

ПОЛНЫЙ ЦИКЛ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЭТАНОЛА В ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

О.В. Байбакова

Исследован процесс получения биоэтанола из плодовых оболочек овса полного цикла «от сырья до готового продукта» в производственных условиях. Предварительная химическая обработка плодовых оболочек овса проведена в одну стадию разбавленным раствором гидроксида натрия в оборудовании объемом 250 л. Одностадийная обработка плодовых оболочек овса раствором гидроксида натрия позволяет получать продукт щелочной делигнификации. Химический состав продукта щелочной делигнификации в основном представлен гидролизуемыми компонентами, а именно массовая доля целлюлозы составила 86,7 %, пентозанов – 7,0 %, массовые доли нецеллюлозных компонентов составили: лигнин 5,4 %, золы 1,1 %. В производственных условиях в аппарате объемом 63 л (коэффициент масштабирования составил 1:400) получен биоэтанол с выходом 48,8 % от массы субстрата. Одновременное проведение процессов ферментативного гидролиза и спиртового брожения позволяет увеличить выход этанола, при этом исключается стадия фильтрования ферментативного гидролизата и в 1,5 раза сокращается общая продолжительность технологических стадий. Методом газожидкостной хроматографии установлено, что в опытных образцах биоэтанола продукта щелочной делигнификации из плодовых оболочек овса отсутствует метанол, который является маркером качества технического этилового спирта.

*Ключевые слова: плодовые оболочки овса, щелочная делигнификация, продукт щелочной делигнификации, полный цикл, производственные условия, емкостное оборудование, ферментные препараты, осахаривание, сбраживание, *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693.*

ВВЕДЕНИЕ

Основной проблемой получения биоэтанола в промышленном масштабе является высокая себестоимость его производства. Несмотря на это, производство биоэтанола из целлюлозосодержащей биомассы в странах ЕС динамично растет, что происходит благодаря экологически продуманной экономической политике на государственном уровне. Однако согласно Комплексной программе развития биотехнологий в Российской Федерации на период до 2020 г. № 1853п-П8 от 24 апреля 2012 г. в России полностью отсутствует система "масштабирования" научных биотехнологических разработок для целей промышленного производства и другие элементы биоэкономики, необходимые для преобразования научных знаний в коммерческие продукты. Промышленное получение биоэтанола второго поколения испытывает некоторые технологические проблемы [1], такие как высокая стоимость целевого продукта и небольшой выход биоэтанола из-за высокого содержания лигнина в целлюлозосодержащих субстратах [2].

Производство биоэтанола из растительной целлюлозосодержащей биомассы явля-

ется трудной задачей и требует разработки энергоэффективной технологии, направленной на повышение выхода биоэтанола [3-5].

В апреле 2000 года канадская корпорация Iogen запустила работу опытного завода по производству этанола из биомассы. Iogen перерабатывает 2,8 млн. тонн в год отходов сельского хозяйства (плодовых оболочек овса, соломы пшеницы и лесных отходов) в биоэтанол. Корпорация по получению биоэтанола располагается на территории завода по производству промышленных ферментов, что является преимуществом, так как сокращаются расходы на стабилизацию и хранения ферментных препаратов. В действующем производстве корпорации Iogen предварительная обработка сырья осуществляется паровым взрывом с использованием разбавленной серной кислоты при температуре 200-250°C, после чего происходит осахаривание с использованием ферментных препаратов. Дочерние компании этой корпорации в Бразилии производят биоэтанол из жмыха сахарного тростника (багассы) [6]. Датская корпорация «Inbicon A/S» разработала технологию переработки лигноцеллюлозной биомассы в топливо, предполагающую использование не только полисахаридов сырья, но и

лигнина. Заводы «Inbicon A/S» реализованы в ряде европейских стран, США, Канаде (в качестве сырья используются солома пшеницы и отходы деревообработки), Китае (сырье – сельскохозяйственные отходы), Бразилии (сырье – багасса), и Малайзии (сырьем является целлюлозная составляющая фруктов и шрот от производства пальмового масла) [6]. В каждой корпорации принята собственная схема получения биоэтанола, при этом технологические режимы не раскрываются.

Испанская корпорация Abengoa Bioenergy является глобальной в области биотехнологии и специализируется на разработке новых технологий в производстве биотоплива из древесного и недревесного целлюлозосодержащего сырья, представленного биомассой растений, сельскохозяйственными и лесными отходами. Дочерние компании Abengoa Bioenergy в США (Colwich Plant, Portales Plant, York Plant, Illinois), Испании (San Roque, Esprañoles), Франции (Francía S.A), Нидерландах и Бразилии производят биоэтанол второго поколения из стеблей кукурузы и соломы злаковых культур (пшеницы, овса, ячменя). В ИПХЭТ СО РАН проведены лабораторные исследования по получению биоэтанола из плодовых оболочек овса (ПОО) [7-9].

Целью данного исследования являлось получение биоэтанола полного цикла в производственных условиях ИПХЭТ СО РАН из плодовых оболочек овса.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Продукт щелочной делигнификации (ПШД) из ПОО был получен на опытном производстве при атмосферном давлении в емкостном оборудовании объемом 250 л. Щелочная делигнификация проводилась в три этапа, загрузка аппарата составила 80 %. ПОО подвергались щелочной делигнификации без предварительного измельчения [10]. Для ферментативного гидролиза использованы промышленно доступные ферментные препараты (ФП) в следующей дозировке: 0,04 кг ФП/кг субстрата (ФП «Целлолюкс-А»), 0,02 л ФП/кг субстрата (ФП «Брюзайм ВГХ»). ФП «Целлолюкс-А» (производитель ООО ПО «Сиббиофарм», г. Бердск) и «Брюзайм ВГХ» (поставщик компания «Русфермент», г. Москва). В соответствии с аналитическими паспортами ФП стандартизованы по целлюлазной и ксиланазной активности.

Технологические стадии осахаривания и сбраживания осуществляли одновременно. Сбраживание осуществляли с использовани-

ем дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693 Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (г. Москва). Доза инокулята составила 12 %. Брожение проводили в анаэробных условиях при 28 °С. Общую численность дрожжей определяли с использованием камеры Горяева. Дрожжи находились в экспоненциальной фазе развития и имели следующие характеристики: общее количество – 152,0 млн. КОЕ/мл, из них почкующихся – 29,2 %.

Биоэтанол получали в емкостном оборудовании объемом 63 л на опытном производстве ИПХЭТ СО РАН. Опыты повторены дважды. Дрожжи для сбраживания подготовлены следующим образом: чистая культура была пересеяна на среду неохмеленного солодового сусле в количестве 5 % к объему среды, культивирование проводилось 1 сутки при температуре 28 °С; затем эти дрожжи в количестве 5 % были перенесены на среду, состоящую из ферментативного гидролизата и неохмеленного солодового сусле в соотношении 2:1, культивирование проводилось 1 сутки при температуре 28 °С. Полученные дрожжи в дозировке 12 % внесены как инокулят, общее количество клеток составило 93 млн. КОЕ/мл, из них почкующихся – 17,2 %.

Концентрацию редуцирующих веществ (РВ) в пересчете на глюкозу в гидролизате определяли спектрофотометрическим методом с использованием реактива на основе 3,5-динитросалициловой кислоты (Panreac, Испания) на «UNICO UV-2804» (США); относительная погрешность метода составляет 3,45 %.

Выход РВ рассчитан с учетом коэффициента 0,9, обусловленного присоединением молекулы воды к ангидроглюкозным остаткам соответствующих мономерных звеньев в результате ферментативного гидролиза.

Объемную долю спирта в бражках определяли ареометром в дистилляте, полученном перегонкой спирта из бражки согласно ГОСТ Р 51135-2003 [11]. Этанол из бражки сконцентрирован методом простой перегонки и дополнительной очистке не подвергался.

Анализ этанола выполнен методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) по ГОСТ Р 51786-2001 [12] на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором «Кристалл - 2000М» фирмы «СКБ Хроматэк», г. Йошкар-Ола, Россия; условия эксперимента: колонка газохроматографическая капиллярная ZB-FFAP (США) 50 м×0,32 мм×0,52 мкм, температура детектора 220 °С, температура испарителя 190 °С, выдержка пробы при тем-

ПОЛНЫЙ ЦИКЛ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЭТАНОЛА В ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

пературе 77 °С длительностью 6 мин 30 с, затем нагрев со скоростью 10 °С/мин до температуры 210 оС, выдержка 15 мин, коэффициент деления потока 40:1, газ-носитель – азот сжатый, давление газа-носителя (азота) 77 кПа, соотношение воздух: водород равно 250:25; построение калибровочного графика по градуировочным смесям – государственным стандартным образцам; расход газа (сброс) – 30 мл/мин, расход газа (поддув в ПИД) – 30 мл/мин, расход газа (водород в ПИД) – 20 мл/мин, расход газа (воздух ПИД) – 200 мл/мин, объем пробы 1 мкл.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

После одностадийной обработки плодовых оболочек овса раствором гидроксида натрия был получен продукт щелочной делигнификации. Химический состав ПЩД в основном представлен гидролизуемыми компонентами, а именно массовая доля целлюлозы составила 86,7 %, пентозанов – 7,0 %, массовые доли нецеллюлозных компонентов составили: лигнин 5,4 %, золы 1,1 %.

Анализируя полученные результаты (рисунки 1) можно отметить, что через 4 ч осахаривания происходит скачок концентрации РВ и далее до 20 ч происходит их плавное накопление.

Через 24 ч концентрация редуцирующих веществ достигла (36,3±0,2) г/л и далее не увеличивалась, поэтому было принято решение о начале процесса сбраживания. Перед внесением инокулята было произведено охлаждение осахаренного субстрата до (28±0,1) °С, необходимого значения температура достигла через 32 ч после начала процесса, далее был внесен инокулят дрожжей.

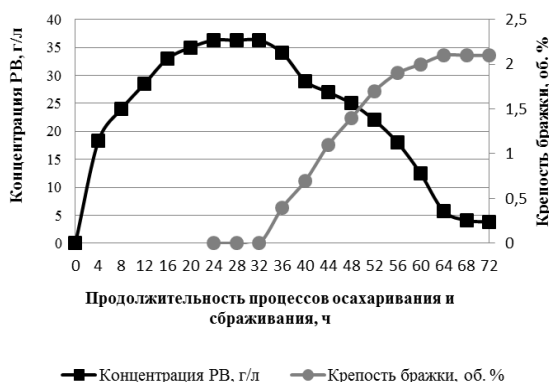


Рисунок 1 – Зависимость концентрации РВ и крепости этанола от продолжительности процессов осахаривания и сбраживания

В течение последующих 8 ч не происходило убыли концентрации РВ, далее шло ее интенсивное снижение. Синтез биоэтанола сопряжен с потреблением субстрата (так как биоэтанол относится к первичным метаболитам), в промежутке времени от 36 ч до 64 ч биоэтанол накапливался экспоненциально.

Для стабилизации работы целлюлазного ферментного комплекса и ферментов зимазного комплекса дрожжей в процессах осахаривания и сбраживания активная кислотность поддерживалась на уровне 4,7-5,1 ед. рН. При масштабировании процессов наблюдалось снижение активной кислотности и проводилась корректировка уровня рН вручную, которая осуществлялась через каждые 2 ч на стадии осахаривания и каждые 4 ч на стадии сбраживания. Снижение активной кислотности на стадии осахаривания связано с химизмом процесса, а снижение активной кислотности на стадии сбраживания обусловлено потреблением фосфористых и азотистых веществ, которые необходимы клеткам дрожжей, особенно в период размножения клеточной биомассы.

При производстве биоэтанола полного цикла получена бражка с крепостью 2,1±0,05 об. % (выход биоэтанола от массы субстрата – (48,8±0,2) %), остаточная концентрация РВ в бражке составила (3,8±0,1) г/л. Указанный в таблице 1 примесный состав биоэтанола, полученного из продукта щелочной делигнификации ПОО показывает, что содержание альдегидов, сложных эфиров и сивушного масла в опытном образце превышает нормы для технического этилового спирта. Это связано с отсутствием ректификации опытного образца.

Таблица 1 – Содержание примесей в опытном образце биоэтанола из ПЩД плодовых оболочек овса

Показатель	Опытный образец биоэтанола из ПЩД ПОО
Массовая концентрация альдегидов, в пересчете на безводный спирт, мг/дм ³	7100±200
Массовая концентрация сивушного масла, в пересчете на безводный спирт, мг/дм ³	2700±200
Массовая концентрация эфиров, в пересчете на безводный спирт, мг/дм ³	800±200
Содержание метанола в пересчете на безводный спирт, об. %	0,005±0,001

В данном образце объемная доля метанола ($0,005 \pm 0,001$ об. %) значительно меньше, чем регламентировано для спирта из пищевого ($0,13$ об. % – для спирта из мелассы) и непищевого сырья ($0,1$ об. %). Анализируемый образец биоэтанола характеризуется массовой концентрацией сивушного масла (2700 ± 200) мг/дм³, что ниже, чем норматив для спирта-сырца из всех видов пищевого сырья и объясняется низкой концентрацией предшественников биосинтеза сивушных масел аминокислот и пептидов в осахаренном субстрате (ПЩД ПОО).

ВЫВОДЫ

В производственных условиях получен биоэтанол полного цикла от сырья до готового продукта. Проведена предварительная химическая обработка плодовых оболочек овса в одну стадию разбавленным раствором гидроксида натрия. Выход биоэтанола в производственных условиях от массы субстрата составил $48,8$ %. Методом газожидкостной хроматографии установлено, что в опытных образцах биоэтанола ПЩД из плодовых оболочек овса отсутствует метанол, который является маркером качества технического этилового спирта.

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

«Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-38-00275 мол_а»

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tao J. Review of China's bioethanol development and a case study of fuel supply, demand and distribution of bioethanol expansion by national application of E10 [Text] / J. Tao, S. Yu, T. Wu // Biomass Bioenergy. – 2011. – Vol. 35. – P. 3810–3829.
2. Govumoni S.P. Evaluation of pretreatment methods for enzymatic saccharification of wheat straw for bioethanol production [Text] / S.P. Govumoni, S. Koti, S.Y. Kothagouni, S. Venkateshwar, V.R. Linga // Carbohydrate Polymers. – 2013. – Vol. 91. – P. 646–650.

3. Jordan B. Plant cell walls to ethanol [Text] / B. Jordan, M.J. Bowman, J.D. Braker, B.S. Dien, R.E. Hector, C.C. Lee, J.A. Mertens, K. Wagschal // Biochemical Journal. – 2012. – № 442. – P. 241–252.
4. Zabed H. Bioethanol production from renewable sources: Current perspectives and technological progress Renewable and Sustainable [Text] / H. Zabed, J.N. Sahu, A. Suely, A.N. Boyce, G. Faruq // Energy Review. – 2017 – Vol. 71. – P. 475–501.
5. Saha B.C. Pilot scale conversion of wheat straw to ethanol via simultaneous saccharification and fermentation [Text] / B.C. Saha, N.N. Nichols, N. Qureshi, G.J. Kennedy, L.B. Iten, M.A. Cotta // Biore-source Technology. – 2015. – Vol. 175. – P. 17–22.
6. Larsen J. The IBUS Process – Lignocellulosic Bioethanol Close to a Commercial Reality [Text] / J. Larsen, P. M. Østergaard, L. Thirup, H. Wen Li, F.K. Iversen // Chemical Engineering and Technology. – 2008. – Vol. 31. – № 5. – P. 765.
7. Skiba E.A. Dilute nitric-acid pretreatment of oat hulls for ethanol production [Text] / E.A. Skiba, V.V. Budaeva, O.V. Baibakova, V.N. Zolotukhin, G.V. Sakovich, // Biochemical Engineering Journal. – 2017. – Vol. 126. – P. 118–125.
8. Байбакова О.В. Химико-энзиматическая конверсия в биоэтанол отходов злаковых культур [Текст] / О.В. Байбакова // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2016. – Т. 6, № 2. – С. 51–56.
9. Байбакова, О.В. Превращение лигноцеллюлозного материала из плодовых оболочек овса в биоэтанол [Текст] / О.В. Байбакова, Е.А. Скиба // Ползуновский вестник. – 2014. – № 3. – С. 181–185.
10. Байбакова, О.В. Щелочная делигнификация недревесного целлюлозосодержащего сырья в условиях опытного производства [Текст] / О.В. Байбакова, Е.А. Скиба, В.В. Будаева, В.Н. Золотухин // Ползуновский вестник. – 2016. – Т. 1, № 4. — С.147–152.
11. ГОСТ Р 51135-2003. Изделия ликероводочные. Правила приемки и методы анализа. Технические требования. – Введ. 1998-03-02. – М.: ИУС, 2003. – 116 с.
12. ГОСТ Р 51786-2001. Водка и спирт этиловый из пищевого сырья. Газохроматографический метод определения подлинности. – М.: Изд-во стандартов, 2001. – 8 с.

Байбакова Ольга Владимировна, кандидат технических наук, младший научный сотрудник лаборатории биоконверсии, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук (ИПХЭТ СО РАН), olka_baibakova@mail.ru, тел. (3854) 30-59-85.