

УДК 663.54

C.H. Гармаш

БИОТРАНСФОРМАЦИЯ ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩИХ ОТХОДОВ С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ ЭТАНОЛА

ГВУЗ «Украинский государственный химико-технологический университет», г. Днепропетровск

Представлен обзор существующих микробиологических методов получения этанола для использования его в пищевой, фармацевтической промышленности, а также в качестве биотоплива для транспортных средств. Показаны преимущества применения определенных продуцентов ферментов (активных штаммов микроорганизмов-деструкторов целлюлозы) с целью получения спирта из целлюлозосодержащего материала. Приведены основные источники сырья для производства биотоплива в Украине.

В настоящее время больше половины мирового производства этанола используется как добавка к топливу для двигателей внутреннего сгорания и лишь 15% для производства спиртных напитков. Использование биотоплива дает возможность существенно уменьшить содержимое вредных компонентов в выхлопных газах (оксидов углерода, азота, других токсичных выбросов). Топливный этанол имеет наибольший потенциал среди других видов топлива из биомассы, учитывая неисчерпаемые источники его получения. Основным способом удешевления этого продукта может быть замена традиционного сырья для получения спирта на сорго, то-пинамбур (земляную грушу), сахарный тростник, сахарную свеклу.

Этанол применяется для получения белка, является источником углерода для производства лизина и глутаминовой кислоты с использованием *Brevibacterium* и *Corynebacterium*. На среде с этанолом выход глутаминовой кислоты повышается на 50% [1].

Этанол усваивают и многие бактерии. Наиболее перспективные продуценты белка – бактерии рода *Acinetobacter*. Они хорошо растут на среде с этанолом без добавления витаминов и накапливают до 10 г/л биомассы, а в некоторых случаях – до 24 г/л [2].

Этанол, используемый в качестве биотоплива, позволяет снизить в бензине содержание ароматических углеводородов, повысить октановое число, уменьшить вредные выбросы в окружающую среду. Поэтому биоэтанолу во всем мире уделяют большое внимание.

Сырьем для производства этилового спирта микробиологическим способом служат различные сельскохозяйственные и дикорастущие

растения, содержащие сахар или крахмал: зерно, картофель, сахарная свекла, сахарный тростник, фрукты и др.

Производство спирта на основе гидролиза целлюлозосодержащих материалов минеральными кислотами разрабатывалось в Германии, США, СССР в конце XIX–начале XX в.

Процесс, предложенный Wilke et al. [3] заключается в том, что целлюлозосодержащее сырье (древесину, хлопчатобумажные ткани, рисовую и пшеничную солому, бумагу) измельчают, а затем осахаривают целлюлазой или культуральной жидкостью микроорганизмов *Trichoderma viride* или *T. reesei*. Полученный раствор глюкозы сбраживают до спирта, используя дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia* или микроскопические грибы *Rhizopus javanikus*. Была создана установка, рассчитанная на переработку 885 т газетной бумаги в день при выходе конечного продукта (глюкозы) 238 т 4%-ного раствора в день. Проектная производительность установки составляла 81,5 т 95%-ного спирта в день, а ежедневное производство кормовых дрожжей – 32,8 т. Этот способ утилизации газетной бумаги признан рентабельным.

Изучение ферментативного осахаривания целлюлозы фильтратом культуральной жидкости *Trichoderma viridae* QM 9414 показало, что процесс ферментативного гидролиза наиболее активно протекает при 45–50°C, что свидетельствует о целесообразности использования термофильных штаммов дрожжей. Установлено, что выход этанола зависит от концентрации ферментов, активности отдельных компонентов целлюлазного комплекса и концентрации глюкозы. Присутствие целлюлаз не подавляет накопление этанола в ферментативной среде, а увеличение концентрации ферментов повыша-

ет его выход. Подобный процесс ферментации возможен при применении различных целлюлозосодержащих субстратов [4].

Фирма «Галф Ойл» (США) разработала способ получения биоэтанола из целлюлозосодержащих отходов сельскохозяйственного производства, твердых бытовых отходов, макулатуры. Внедрена в эксплуатацию установка производительностью 2 тыс. т/сутки. Процесс получения этанола по способу фирмы «Галф Ойл» основан на обработке предварительно подготовленной суспензии с содержанием целлюлозы 7,5–15,0% ферментами *Trichoderma reesei* целлобиогидролазой и глюкозидазой. Образовавшуюся при этом глюкозу сбраживают в биоэтанол дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, *S. bergensis* и *Candida brassicae*. В качестве сырья испытаны древесные опилки, кора деревьев и стоки целлюлозно-бумажного производства [5].

В процессе исследования [6] изучен способ получения биоэтанола из размельченной рисовой соломы путем одновременного гидролиза целлюлозосодержащих компонентов соломы и сбраживания образующихся при этом сахара в спирт. Процесс предусматривает использование целлюлаз грибов рода *Trichoderma* и культивирование термофильных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* NCYC 716. В ходе этого процесса в среде не накапливается целлобиоза 181 и тем самым устраняется ингибирование образования целлюлолитических ферментов.

Разработанный способ ферментативного гидролиза пшеничной или ячменной соломы и сбраживания позволяет получать этанол с выходом 75% [7]. Показано, что выход этанола зависит от способа обработки соломы и способа экстракции целлюлозы, а также от концентрации ферментного препарата целлюлаз. Установлено, что при использовании комплекса целлюлолитических ферментов гриба *Trichoderma harzianum* выход этанола выше, чем при гидролизе целлюлозы ферментами гриба *Trichoderma reesei*, что объясняется более высоким содержанием р-глюкозидазы в культуральной жидкости *Trichoderma harzianum*.

Способ превращения твердых бытовых отходов в биоэтанол включает систему разделения органических и неорганических отходов, гидролиз целлюлозы до глюкозы, сбраживание глюкозы и отгонку этанола. Авторы предлагают два способа гидролиза целлюлозы: кислотный и ферментативный с одновременным сбраживанием сахара. Они позволяют получать этанол с выходом 80% [8].

Городские домашние отходы также могут служить сырьем для получения этанола. В этом случае гидролиз осуществляют в колонном реакторе целлюлазами *Trichoderma reesei*. Даже при низких концентрациях субстрата за 48 ч гидро-

лиза выход сахаров составляет 45–50%. В гидролизатах преобладает глюкоза (60%), присутствуют также ксилоза (8,5%) и целлобиоза (7%). Процесс может быть улучшен путем повторного использования целлюлаз [9].

Особое внимание привлекает способ прямой микробиологической трансформации целлюлозосодержащих субстратов в этанол, органические кислоты и другие ценные продукты без предварительного химического или ферментативного гидролиза. Выделены три анаэробные мезофильные целлюлолитические культуры и *Clostridium thermocellum* [10]. Изучена способность указанных бактерий расщеплять целлюлозу, накапливать сахара и другие продукты при культивировании на среде с целлюлозой. Все культуры разлагали хлопковую целлюлозу, делигнифицированную целлюлозную пульпу и обработанную паром древесину. Наибольшей способностью к деградации целлюлозы обладали *Clostridium thermocellum* и мезофильная бактерия РВ-25, которые разлагали около 80% обработанной древесины. Степень конверсии субстрата снижалась при повышении концентрации до 10 г/л.

Изучено взаимодействие клеток и адгезия различных штаммов *Clostridium thermocellum* на волокнах целлюлозы различного происхождения и нерастворимых агрегатах гемицеллюлозы из древесины. Количество клеток, адсорбированных на гемицеллюлозе, значительно меньше, чем на целлюлозе; адгезия подавляется в присутствии смеси ксилозных олигомеров. Добавление к культурам, которые развиваются на целлюлозе или гемицеллюлозе, ксилозы в количестве 0,15%, глюкозы 0,2% или 0,1% целлобиозы ингибирует или полностью подавляет прикрепление клеток к волокнам [11].

При культивировании на свекловичном жоме в качестве основных продуктов *Clostridium thermocellum* образует ацетат, сукцинат, этанол, водород и метанол. Изучена способность *Clostridium thermocellum* ATCC 27405 использовать для роста и образования этанола модельные пектини, моно- и полигалактуроновые кислоты, а также свекловичный жом, содержащий до 20% пектина. Бактерии утилизируют полигалактуроновую кислоту, накапливая при этом главным образом уксусную кислоту и незначительное количество этанола. За 80 ч ферментации расщепляется 70% пектинов. В процессе роста клеток на питательной среде с пектином повышается активность пектонолитических ферментов – пектингидролазы и пектинлиазы [12].

Термофильное анаэробное разложение целлюлозы в природе рассматривается как сложный процесс. Целлюлолитические бактерии являются первым звеном микробного ценоза. Продукты разложения целлюлозы служат источником углерода для других групп микроорганиз-

мов. Поэтому на элективных средах с целлюлозой выделяют не только целлюлолитические бактерии, вызывающие ее осахаривание, но и ассоциации микроорганизмов.

Обнаружены бактериальные штаммы, производящие этанол и способные эффективно «работать» в анаэробных условиях при высоких температурах [13]. Это бактерии *Thermoanaerobacter ethanolicus*, характеризующиеся исключительно широкой субстратной специфичностью в отношении углеводов и сохраняющие жизнедеятельность в широком диапазоне температур. При помощи *Thermoanaerobacter ethanolicus* можно получать этанол из отходов целлюлозно-бумажной и пищевой промышленности, отходов сельскохозяйственного производства. Целлюлоза при анаэробной ферментации трансформируется до целлобиозы и глюкозы, которые далее превращаются в этанол.

Эффективность трансформации целлюлозосодержащего сырья возрастает при применении для ферментации *Thermoanaerobacter ethanolicus* совместно с *Clostridium thermocellum* [14]. Показана перспективность получения этанола из целлюлозного сырья и осадка сточных вод пищевых производств с помощью бактериальных штаммов, производящих этанол. Дрожжи менее пригодны для получения жидкого топлива из растительного сырья, так как скорость процесса образования этанола из целлюлозосодержащих субстратов значительно ниже.

Изучено образование этанола алкогольтерантным штаммом *Clostridium thermohydrosulfuricum* 39EA при изменении температуры от 45 до 68°C, который был получен в процессе адаптации исходного штамма к повышенным концентрациям спирта. Этот штамм превосходит исходный по скорости роста и выходу этанола. При использовании мутанта в промышленных условиях возможна биоконверсия ксилозы и глюкозы в этанол, выход этанола составляет более 4% [15].

Для получения этанола из гидролизатов древесины, содержащих целлобиозу, глюкозу и ксилозу [16] использовали *Zymomonas anaerobia* и устойчивый к спирту штамм *Clostridium saccharolyticum*. Преимуществом совместной культуры для получения этанола из гидролизатов древесины является способность утилизировать целлобиозу и ксилозу.

Гидролиз целлюлозы можно интенсифицировать путем оптимизации условий культивирования *Clostridium thermocellum*. Снижение pH среды до 6,5 приводит к подавлению синтеза уксусной кислоты. Максимальная продуктивность составляла 1,0 г этанола на 1 г целлюлозы [17].

Установлено, что микроорганизмы *Acetivibrio cellulolyticum* разрушают целлюлозу с образованием уксусной кислоты. Этот мезофильный

организм выделен накопительным методом из сточных вод при pH 6,5–7,7, температуре 20–40°C. При оптимальной температуре 35°C и pH 7,0 он утилизирует целлюлозу, целлобиозу и салицин с образованием уксусной кислоты, водорода и углекислого газа [18].

Исследовано влияние различных условий культивирования на деградацию целлюлозы бактериями *Bacteroides succinogenes* [19]. Оптимум pH для роста составляет 7,0, температуры 37°C. При культивировании в среде с целлюлозой образуются H₂, CO₂, уксусная кислота и редуцирующие сахара, главным образом глюкоза и целлобиоза. Глюкоза этими бактериями не используется.

Установлено, что бактерии рода *Clostridium* при росте на среде с 1% целлюлозы синтезируют этанол, бутанол, уксусную и масляную кислоты. Целлюлоза подвергается расщеплению на 80% [20].

Разработан одностадийный процесс ферментации целлюлозы с использованием целлюлолитических бактерий, усваивающих глюкозу [14]. Монокультура *Clostridium* за девять дней инкубации расщепляет 34% внесенной целлюлозы Solka Floe и 25% целлюлозы MN 300. Через 48 ч после посева культуры *Clostridium acetobutylicum* (при pH 7,0) степень расщепления целлюлозы достигает 85–100%. В среде накапливаются масляная и уксусная кислоты, бутанол и этанол. Производственные опыты показали, что совместное использование *Clostridium thermocellum* и *Thermoanaerobacter ethanolicus* ATCC 3150 позволяет практически полностью исключить стадию предобработки целлюлозы кислотами или щелочью. Наряду с этанолом образуются H₂, CO₂, лактат и формиат. Доказана возможность получения этанола из фильтровальной бумаги, древесины щепы, кукурузной и пшеничной соломы, различных сельскохозяйственных остатков. Максимальный выход этанола при ферментации целлюлозы смешанной культурой достигается при pH 6,8–7,8 и температуре 45–70°C. При времени ферментации 7–21 суток выход этанола равен 8,3–31,8% общего количества целлюлозы.

Внедрен способ избирательной делигнификации целлюлозосодержащих материалов обработкой системой растворителей NaOH–этанол–вода в условиях, приводящих к минимальной потере ферментируемых углеводов в целлюлозной биомассе. Делигнифицированную целлюлозную массу отделяют центрифугированием, промывают водным этанолом и высушивают при температуре 50°C. Полученная целлюлоза служит основным субстратом для синтеза этанола с участием *Clostridium thermocellum* ATCC 31924 и *Clostridium thermosaccharolyticum* HG-4. Заметно увеличивается скорость деградации субстра-

та и образования спирта при помощи двух культур, использующих делигнифицированные кукурузную и пшеничную солому, в спирт превращается 85% субстрата [21].

Щепу осины и пшеничную солому, а также эти же субстраты после предобработки острым паром, водой и NaOH применяли для культивирования *Clostridium thermocellum* в монокультуре и сокультуре с *Clostridium thermohydrosulfuricum*. Скорость образования этанола и конечная концентрация его заметно возрастают в варианте с предобработкой [19].

Использование термофильных бактерий в процессе получения этанола имеет преимущества: термофильные культуры меньше подвержены вытеснению, их ферменты термостабильны. Кроме этого, не требуется жесткая стерилизация среды и оборудования, снижаются затраты на охлаждение. При температуре 50–60°C осуществляется самопроизвольная дистилляция этанола. Следовательно, снимается проблема ингибирования процесса его образования. Применение термофильных бактериальных культур при промышленном получении этанола из сахаров и целлюлозосодержащих субстратов позволяет снизить себестоимость этанола примерно на 25% [22].

В настоящее время более 60% расходов на производство этанола составляют затраты на сырье, поэтому в ряде стран наметились тенденции к расширению переработки дешевых видов сырья, в частности отходов деревообрабатывающей промышленности и сельского хозяйства.

Ученые США пришли к выводу, что к 2020 г. 30% энергии будут получать за счет использования древесины и других видов растительного сырья. Наиболее целесообразным считают применение для получения этанола лигноцеллюлозных материалов, отходов сельского и лесного хозяйства [23].

Японская компания Gekkeikan Sake анонсировала успешное окончание разработки технологии получения биоэтанола из целлюлозы с помощью микроорганизмов. Ранее для первичного расщепления целлюлозы до глюкозы, необходимой для дальнейшей ферментации в этанол, требовалась предварительная обработка исходного материала (рисовой соломы и мякоти) серной кислотой, или при высокой температуре и давлении. Разработан метод получения энзима, содержащего модифицированные на хромосомном уровне бактерии *Koji mold* (*Aspergilli*). Полученные микроорганизмы, способные расщепить целлюлозу, назвали *Super koji mold*. Эти бактерии используются в традиционном процессе производства саке. Разработанный метод позволяет экономить энергию, необходимую для расщепления целлюлозы и дистилляции биоэтанола после ферментации, а также

уменьшить количество воды, используемой в технологическом цикле.

В 2010 году разработаны методы генной инженерии разложения целлюлозы дрожжами с целью увеличения выхода этанола [24]. Известно, что целлюлолитические грибы (*Neurospora crassa*) прекрасно растут на целлодекстринах и разлагают их. Благодаря этому свойству исследователи из Калифорнийского университета в Беркли (США) и из Тяньцзиньского института индустриальной биотехнологии (Китай) решили вжить клеткам дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*) те гены нейроспоры, которые позволяют ей транспортировать внутрь клетки и расщеплять фрагменты целлюлозы.

Исследователи выбрали два целлодекстриновых переносчика нейроспоры и вживили каждый в свою линию дрожжей. Каждая дрожжевая линия получила ген внутриклеточной бетагалактозидазы, расщепляющей целлодекстрины до глюкозы. Достоинство этого метода в том, что глюкоза «не выходит» из клетки, а значит, уменьшается риск заражения субстрата другими организмами, питающимися глюкозой.

Полученные линии неплохо росли на целлобиозе (целлодекстрине, состоящем из двух глюкозных остатков). При ферментации целлобиозы эта линия дрожжей дает выход этанола 86,3%. Новая дрожжевая линия – очень перспективная разработка, снижающая количество отходов после производства биотоплива.

На протяжении 30 лет мировым лидером в производстве биоэтанола является Бразилия [25].

В Бразилии объем производства биоэтанола составляет более 20 млрд. л (в 2020 г. ожидаемый объем потребления биоэтанола – 54,0 млрд. л), в странах ЕС – 2,2 млрд. л (в 2020 г. – 10,0 млрд. л), в Китае – 1,8 млрд. л (в 2020 г. – 7,4 млрд. л). Ожидаемый объем производства биоэтанола в мире в 2020 г. составит 281,5 млрд. л, в России – 2,2 млрд. л [26].

В Бразилии сегодня себестоимость производства этого топлива из сахарного тростника ниже стоимости аналогичного минерального топлива. На заправочных станциях продают как чистый этанол (E95), так и газохол – смесь 25%-го этанола и 75%-го бензина (E25).

Биоэтанол вырабатывается в США (из кукурузы), во Франции (из сахарной свеклы), в Италии, Голландии и Швеции.

Возможности для производства биотоплива в Украине значительны. Энергетический потенциал биомассы в стране составляет около 23 млн. т в год [27]. Только из кукурузы при валовом сборе 12 млн. т можно производить 8 млн. т биотоплива в год. Источником сахара для ферментации могут быть растительные отходы и другие целлюлозосодержащие материалы. Но более выгодно получать биоэтанол из отхо-

дов сахарной свеклы. Сегодня из 79 спиртовых заводов в Украине работает лишь 28, мощность которых используется лишь на 30% [26]. При полном использовании этих мощностей в Украине есть возможность производить ежегодно свыше 280 млн. л биоэтанола.

Производство биоэтанола на предприятиях спиртовой отрасли в Украине в январе-апреле 2013 года составило 15,2 тыс. т, что в 9 раз больше, чем за 4 месяца 2012 года [29].

Украина в ближайшие годы может увеличить производство биоэтанола в 8 раз – до 320 тыс. т.

Верховная Рада Украины приняла в 2012 г. проект Закона «О внесении изменений в некоторые законы Украины о производстве и использовании моторных топлив с содержанием биокомпонентов», в соответствии с которым рекомендуемая норма биоэтанола в бензинах моторных, которые производятся и/или реализуются на территории Украины, будет составлять в 2013 г. не менее 5%, с 2014-2015 г.г. обязательное его содержание должно быть не менее 5%, а с 2016 г. – не менее 7% [30].

В настоящее время производство биоэтанола и добавок на основе биоэтанола налажено и осуществляется на ГП «Наумовский спиртовой завод», ГП «Гайсинский спиртовой завод», ГП «Лужанский экспериментальный завод» и Хоростковском МПД ГП «Укрспирт» [30].

Потенциал спиртовой отрасли по производству биоэтанола может составить 370 тыс. тонн в год, что позволит заменить более 7% бензинов моторных. В процессе биологической конверсии сахаросодержащего сырья в биоэтанол будут широко использоваться полупродукты сахарного производства (диффузионный сок, сироп, зеленая патока и т.д.) и меласса.

Таким образом, анализ существующих методов получения спирта для использования в пищевых производствах и в качестве биотоплива показал, что экономически и экологически выгодно использовать целлюлозосодержащие отходы перерабатывающих отраслей промышленности и сельского хозяйства с использованием активных штаммов микроорганизмов-деструкторов целлюлозы (*Trichoderma*, *Aspergillus* и др.). Перспективно применение энзимов, содержащих модифицированные на хромосомном уровне бактерии *Koji mold*, а также методов генной инженерии разложения целлюлозы дрожжами *Saccharomyces cerevisiae*, в клетки которых включаются гены целлюлолитических грибов (*Neurospora crassa*).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бекер М.Е. Трансформация продуктов биосинтеза

// Биотехнология. – 1985. – № 6. – С.14-24.

2. Коваленко С.П., Дуксина В.В., Петряев Е.П. Микробный синтез на основе целлюлозы // Биотехнология. – 1987. – Т.3. – № 3. – С.376-379.

3. Wilke C.R., Cysewski G.R., Yang R.D. Raw material evaluation and process development studies for conversion of biomass to sugars and ethanol IF Biotechnol // Bioeng. – 1976. – Vol.18. – № 9. – P.1315-1323.

4. Blotkamp P.J., Takagi M., Pemberton M.S. Enzymatic Hydrolysis of Cellulose and Simultaneous Fermentation to Ethanol // Biochem. Eng. – 1978. – Vol.74. – № 181. – P.85-90.

5. Black C. Distillation modeling of ethanol recovery and dehydration processes for ethanol and gasohol // Chem. Eng. Progress. – 1980. – Vol.76. – № 9. – P.78-85.

6. Kim J.H. Cellulase production by a solidstate culture system // Biotechnol. Bioeng. – 1985. – Vol.27. – P.1445-1450.

7. Mes-Hartree M. The enzymatic hydrolysis and fermentation of agricultural residues to ethanol // Biotechnology and Bioengineering Symposittm. – 1984. – № 14. – P.397-405.

8. Laughlin Tehomas J. Hydrolysis of cellulose // Biotechnology and Bioengineering Symposium. – 1984. – № 14. – P.581-587.

9. Clenet M. Applications of Enzymes to Lignocellulosics // Bioenergy-84: Proc. Int. Conf. – Goteborg, 15-21 June, 1984. – 1985. – Vol.3. –P.167-172.

10. Guiliiano C., Khan A. Conversion of cellulose to sugars by resting cells of a mesophilic anaerobe, *Bacteroides cellulosolvens* // Biotechnol. Bioeng. – 1985. – Vol.27. – № 7. – P.980-983.

11. Wiegel J., Dykstra M. Clostridium thermocellum adhesion a sporulation while adhered to cellulose and hemicellulose // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 1984. – Vol.20. – № 1. – P.59-65.

12. Spinnler H., Lavigne B., Blachere H. Pectinolytic activity of *Clostridium thermocellum*: Its use for anaerobic fermentation of sugar beet pulp // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 1986. – Vol.23. – № 6. – P.434-436.

13. Carreira L. H., Ljungdahl L. G., Bryant F. Control of products formation with Thermoan- aerobacter ethanolicus // Proc. IV Int. Symp. Genet. Ind. Microorg. – Kyoto, 6-11 June, 1982. – Tokyo. – 1983. – P.351-355.

14. Miller J.A. Advances in microbial delignification // Sci. News. – 1979. – Vol.116. – № 18. – P.317-323.

15. Lovitt R.W., Longin R., Zeikus J.G. Ethanol Production by Thermophilic Bacteria: Physiological Comparison of Solvent Effects on Parent and Alcohol-Tolerant Strains of *Clostridium thermohydrosulfuricum* // Appl Environ Microbiol. – 1984. – Vol.48. – № 1. – P.171-177.

16. Enebo L. Bacterial fermentation of cellulose // Physiol. Plant. – 1951. – Vol.4. – P.652-660.

17. Volfova O., Suchardova O., Krumphanzl V. Ethanol formation from cellulose by thermophilic bacteria // III Симп. соц. стран по биотехнологии. – Братислава. – 1983. – С.95.

18. Patel G.B. Metabolism of *Acetivibrio cellulolyticus* during optimized growth on glucose, cellobiose and cellulose // Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. – 1982. – Vol.16. – № 4. – P.212-218.

19. Saddler J N. Advances in Biotechnology // II Can. J. Microbiol. – 1984. – Vol.30. – № 2. – P.212-220.

20. *Hayashida S., Ahn B., Yoshino S.* Fermentation of cellulose by a newly isolated thermophilic Clostridium sp. [from compost] // J. Fac. Agr. Kyushu Univ. – 1983. – Vol.27. – № 4. – P.99-107.
21. *Avgerinos O.C.* Hydrolysis of xylan and fermentation of xylose to ethanol // Adv. Biotechnol. Proc. Int. Ferment. Symp. – London (Canada), 20-25 Jul, 1980. – Toronto. – 1981. – Vol.2. – P.119-124.
22. *Payton M A.* Production of ethanol by thermophilic bacteria // Trends in Biotechnology. – 1984. – Vol.2. – № 6. – P.153-158.
23. *Новости Hardware/ Разработана усовершенствованная технология получения биоэтанола, Александр Харьковский: [Электрон. ресурс].* – Режим доступа: http://www.3dnews.ru/news/razrabotana_usovershenstvovannaya_tehnologiya_polucheniya_bioetanola/
24. *Jonathan M. Galazka, Chaoguang Tian, William T. Beeson.* Celloextrin Transport in Yeast for Improved Biofuel Production // Science. – 2010. – Vol.330. – № 10. – P.84–86.
25. *Усенко Л.* Біопаливо на експорт // Агрополітика. – 2007. – № 25. – С.1–7.
26. *Безуглій М.* Науково-технічна програма “Біосиропродукти” // Аграрний тиждень. – 2008. – № 25. – С.8.
27. *Макарчук О.* Світові та вітчизняні тенденції розвитку виробництва // Аграрний тиждень. – 2007. – № 46. – С.12.
28. *Бугай Б. І.* Техніко-економічне обґрунтування будівництва цехів по переробці насіння олійних культур (ріпак) в біодизель в селянських господарствах потужністю 1200 літрів біопалива в добу // Нетрадиційні і поновлювані джерела енергії як альтернативні первинним джерелам енергії в регіоні: зб. наук. ст. IV Міжнар. наук.-практ. конф. – Львів, 2007. – С.93-98.
29. *УНИАН-економика:* Украина за 4 месяца нарастила производство биоэтанола в 9 раз [Электрон. ресурс]. – Режим доступа: <http://economics.unian.net/rus/news/169148-ukraina-za-4-mesyatsa-narastila-proizvodstvo-bioetanola-v-9-raz.html>
30. *АПК информ:* Украина намерена производить биотопливо, а готова ли? [Электрон. ресурс]. – Режим доступа: <http://www.apk-inform.com/ru/exclusive/topic/1006235>

Поступила в редакцию 17.07.2013