

УДК 663.54
© 2016

С.Н. ГАРМАШ,
кандидат сільськогосподарських наук

Український державний
хіміко-технологічний
університет
E-mail: svgarmash@ukr.net
г. Дніпропетровськ, пр. Гагарина, 8

БИОКОНВЕРСИЯ ОТХОДОВ
АГРАРНОГО СЕКТОРА
ЭКОНОМИКИ
С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ
БИОЭТАНОЛА

*Показано актуальність отримання альтернативного джерела енергії біоетанолу з целюлозовміщуючих відходів промисловості та агропромислового комплексу. Представлено результати досліджень отримання біоетанолу з плодово-овочевих відходів та соломи пшениці. Обговорюються оптимальні умови проведення гідролізу досліджуваних відходів. Встановлено переваги використання дріжджів *H. polymorpha*, що дозволяють проводити одночасно процеси оцукрювання і ферментації.*

Ключові слова: біоетанол, очищення картоплі, солома пшениці, яблучно-виноградні вичавки, дріжджі *H. polymorpha*, оцукрювання і ферментація.

Многолетняя практика стран Европы и США показала, что в условиях исчерпания природных ископаемых энергетическую проблему могут решить альтернативные источники энергии (биоэтанол, биогаз и биодизель) из целлюлозосодержащего сырья. На предприятиях пищевой, перерабатывающей промышленности и аграрного производства ежегодно образуются миллионы тонн отходов – потенциального сырья для биотоплива [1].

В декабре 2008 года на саммите в Брюсселе утверждён так называемый план “20-20-20”, предусматривающий сокращение к 2020 году на 20 % от уровня 1999 года объема загрязняющих выбросов в атмосферу, повышение до 20 % в общей структуре энергопотребления доли энергии из возобновляемых источников и сокращение на 20 % общих энергозатрат. В Украине принята Государственная программа развития сельских регионов на период до 2020 года, которой предусмотрена разработка правовой базы стимулирования использования альтернативных источников энергии [2].

Этанол, используемый в качестве биотоплива, позволяет снизить в бензине содержание ароматических углеводородов, повысить октановое число, уменьшить вредные выбросы в окружающую среду. Поэтому биоэтанола во всем мире уделяют большое внимание. Лидером в производстве биоэтанола является Бразилия, где объем его производства составляет более 20 млрд л (в 2020 году ожидается 54,0 млрд л). Себестоимость производства биоэтанола из сахарного тростника ниже по сравнению со стоимостью минерального топлива, что обуславливает использование его до 40 % от общего количества топлива. Проводятся исследования и внедряются в производство технологии получения биоэтанола из кукурузы, картофеля и сахарной свеклы. Самый высокий выход биоэтанола (более 6 тыс. л/га) получен из сахарной свеклы и мелассы, свыше 4 тыс. дм³/га – из картофеля [3].

В настоящее время многие автомобильные компании мира – “General Motors” “Nissan”, “Mazda”, “BMW” и другие допу-

скают использование горючего с добавлением до 10 % этилового спирта.

Большие возможности для производства биотоплива имеет Украина (энергетический потенциал биомассы в стране составляет около 23 млн тонн в год). Ещё в 90-х годах разработаны программы по производству биоэтанола топливного назначения, которые предусматривают переоборудование 30 % спиртовых заводов, работающих не на полную мощность. Потенциал спиртовой отрасли по производству биоэтанола может составить 370 тыс. тонн в год, что позволит заменить более 7 % моторных бензинов [4].

Целлюлозосодержащие субстраты являются практически неисчерпаемыми источниками сырья, поэтому исследователи уделяют большое внимание биоконверсии с помощью микроорганизмов для получения таких ценных продуктов, как этанол, метан, витамины, белок и др. Ферментация углеродного сырья не требует применения сложного оборудования, больших капитальных и энергетических затрат. В последние годы во многих странах мира проводятся исследования по биоутилизации овощных отходов [5, 6].

В основном сухая биомасса травянистых и древесных растений состоит из лигноцеллюлозы (трех типов биополимеров): целлюлозы (полимер глюкозы), гемицеллюлозы (полимер глюкозы и другого сахара – ксилозы) и лигнина (полимер ароматических спиртов). Первые два можно гидролизировать до соответствующих мономеров, сахаров, среди которых основными являются глюкоза (около 40 %) и ксилоза (около 30 %). Методы химического и ферментативного гидролиза не являются оптимальными. Известно, что пекарские (спиртовые) дрожжи аккумулируют значительные количества этанола при ферментации ксилозы [7].

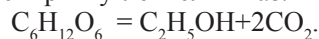
Основная проблема внедрения технологии конверсии сахаров лигноцеллюлозы в этанол – отсутствие микроорганизмов, способных эффективно ферментировать

не только глюкозу, но и ксилозу. Винные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, которые традиционно используются для получения этанола, не способны ферментировать пентозы. Известно несколько микроорганизмов, способных к алкогольной ферментации ксилозы, в частности дрожжи *Hansenula polymorpha* и *Pichia stipitis* [8].

Метилотрофные термотолерантные дрожжи *Hansenula polymorpha* – уникальный организм, способный к алкогольной ферментации ксилозы и глюкозы при высокой температуре (45–50 °С). Благодаря способности к ферментации лигноцеллюлозных сахаров при высокой температуре микроорганизмы *H. polymorpha* являются перспективными при их использовании для одновременного осахаривания и ферментации (температурный оптимум около 55 °С), при которых происходит образование этанола [9].

Метилотрофные дрожжи *H. polymorpha* являются одним из наиболее изученных видов. Промышленное использование *H. polymorpha* обусловлено их способностью к образованию значительной биомассы в ферментере, что обеспечивает высокий выход целевых продуктов. Как и *S. cerevisiae*, дрожжи *H. polymorpha* растут на простых, недорогих питательных средах; накоплен опыт в промышленном их использовании и масштабировании. *H. polymorpha* рассматриваются как генетически безопасные организмы, которые не содержат патогенные микроорганизмы или вирусные инфекции. Дрожжи *H. polymorpha* способны к высокотемпературной алкогольной ферментации глюкозы, ксилозы, целлобиозы и основных сахаров лигноцеллюлозных гидролизатов.

Продуктами спиртового брожения являются спирт и углекислый газ:



Цель работы – исследовать процесс биотрансформации отходов агропромышленного комплекса (измельченные солома пшеницы, картофельные очистки, яблочно-виноградные выжимки) в биоэтанол

с использованием дрожжей *Hansenula polymorpha* и установить оптимальные условия биоконверсии.

Методика проведения исследований. Эксперименты со всеми видами отходов проводили в трёхразовой повторности. Измельченные отходы помещали в колбы, добавляли воду в соотношении 1:2. Биомассу перемешивали и проводили тепловую обработку на водяной бане в течение 45 минут при температуре 70 °С для прохождения процесса клейстеризации крахмала.

Далее жидкость, содержащую клейстеризованный крахмал, охлаждали до температуры 55 °С и вносили дрожжи *Hansenula polymorpha*, позволяющие проводить процесс одновременного осахаривания и ферментации, при котором образуется биоэтанол.

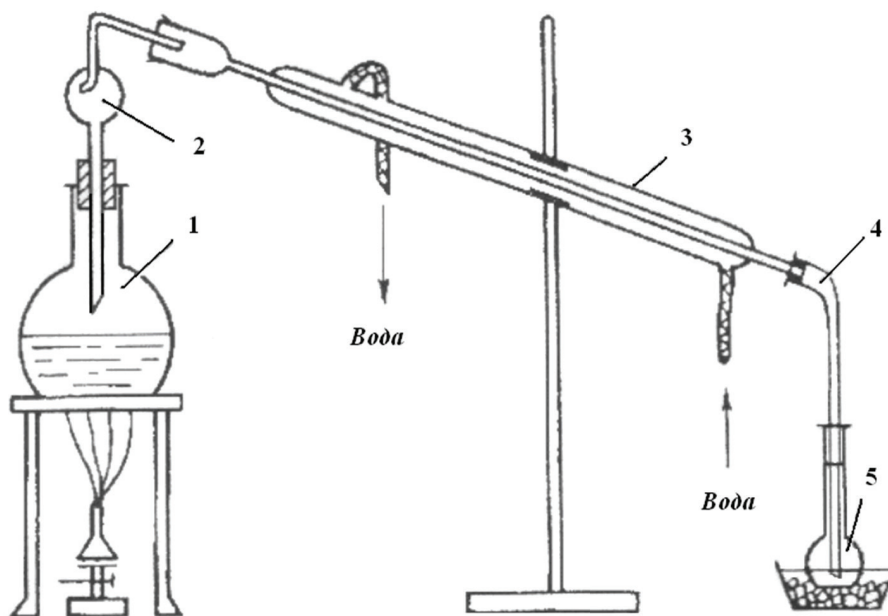
Колбу плотно закрывали пробкой с отводной трубкой (процесс анаэробный), конец которой опускали в емкость с во-

дой. Всю систему помещали в термостат ($t = 55\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Отделение этилового спирта из водно-спиртового раствора проводили методом перегонки. Жидкость после брожения переливали в круглодонную колбу, которую размещали на песчаную баню электроплиты с закрытой спиралью. Через шлифы к колбе был подсоединен холодильник (рисунок). По окончании перегонки определяли объем биоэтанола.

Для проведения качественной реакции на этанол в пробирку с 2 мл 0,1 н раствора йодистого калия добавляли 1–2 капли исследуемого водно-спиртового раствора, затем по каплям добавляли 10%-ный раствор едкого натра до перехода бурой окраски в бледно-желтую. Полученную смесь подогрели до 60 °С. Образование желтоватого осадка йодоформа свидетельствовали о присутствии этанола.

Для определения концентрации этанола в водно-спиртовом растворе использу-



Лабораторная установка для перегонки спирта:

1 – колба с жидкостью после брожения; 2 – стеклянный переходник со шлифами;
3 – холодильник; 4 – алонж; 5 – колба-сборник этанола

Схема эксперимента и его результаты

Исходное сырье (промежуточные продукты)	Стадия и условия протекание процесса	Результаты процесса
а) Измельченная солома пшеницы; б) измельченные очистки картофеля; в) яблочно-виноградные выжимки (100 г сырья на 200 мл воды)	Тепловая обработка на водяной бане ($t = 70\text{ }^{\circ}\text{C}$)	Клейстеризация крахмала
Дрожжи <i>Hansenula polymorpha</i>	Гидролиз клейстеризованного крахмала в анаэробных условиях ($t = 55\text{ }^{\circ}\text{C}$)	Осахаривание и брожение
Растворы – продукты брожения	Отделение жидкости и её охлаждение до $30\text{ }^{\circ}\text{C}$	Образование водно-спиртового раствора
а) водно-спиртовый раствор на основе соломы пшеницы; б) водно-спиртовый раствор на основе очисток картофеля; в) водно-спиртовый раствор на основе яблочно-виноградных выжимок	Перегонка водно-спиртового раствора	а) биоэтанол (21 мл) б) биоэтанол (15 мл) в) биоэтанол (13 мл)

ется пикнометрический метод. Концентрацию раствора определяли по формуле

$$\rho_1^{20} = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \cdot (\rho_{H_2O} - \rho) + \rho,$$

где – m_1 , m_2 , m_3 соответственно массы пустого пикнометра, пикнометра с дистиллированной водой и пикнометра с водно-спиртовым раствором;

ρ_{H_2O} – плотность воды при $20\text{ }^{\circ}\text{C}$;

ρ – плотность воздуха.

В таблицах справочника по величине плотности водно-спиртового раствора устанавливали его концентрацию (%) [10].

Результаты исследования и их обсуждение. Во всех вариантах опытов брожение начиналось через час, о чем свидетельствовала образовавшаяся пена и пузырьки газа в ёмкости с водой. Ёмкость с пеной 2–3 раза перемешивали. Прекращение выделения пены и углекислого газа отмечено по окончании процесса брожения. Регистрировали осаждение дрожжей и осветление жидкости.

При тепловой обработке субстрата на

водяной бане происходил процесс клейстеризации крахмала. Внесение дрожжей *Hansenula polymorpha* способствовало процессу одновременного осахаривания и ферментации. После брожения в анаэробных условиях, отделения жидкости и её охлаждения образовался водно-спиртовой раствор, при перегонке которого получили биоэтанол (таблица).

Результаты исследований показали, что из 100 г сырья (соломы пшеницы, очисток картофеля, яблочно-виноградных выжимок) получено соответственно 21, 15 и 13 мл биоэтанола с концентрацией спирта 65–72 %.

Внедрение предложенного метода биоконверсии отходов в аграрном производстве позволит в промышленных условиях из 100 000 т отходов получить от 13 до 21 млн литров биотоплива.

Разработанная технология – безотходная, поскольку возможно использование образовавшихся осадков после отделения водно-спиртового раствора в качестве органического удобрения и кормовой добавки.

Выводы

1. Биоконверсия исследованных целлюлозосодержащих отходов аграрного производства (соломы пшеницы, картофельных очисток, яблочно-виноградных выжимок) позволит существенно расширить сырьевую базу для получения альтернативного источника энергии – биоэтанола.
2. Биoutilization отходов поможет улучшить экологическую обстановку на территориях, где перерабатывается сельскохозяйственная продукция.
3. Экологически безопасные отходы можно использовать как удобрение и кормовые добавки для сельскохозяйственных животных.

Библиография

1. Гелетуха Г.Г. Место биоэнергетики в проекте обновленной энергетической стратегии Украины до 2030 года / Г.Г. Гелетуха, Т.А. Железная // Промышленная теплотехника. – 2013. – Т. 35, № 2. – С. 64–70.
2. Макаручук О. Світові та вітчизняні тенденції розвитку виробництва біопалива / О. Марчук // Аграрний тиждень. – 2007. – № 46. – С. 12.
3. Українець А. Спиртова галузь: на шляху до інноваційного розвитку / А. Українець, Л. Хомчак, П. Шиян // Харчова і переробна промисловість. – 2007. – № 2. – С. 16–19.
4. Гармаш С.М. Перспективи використання відходів сільського господарства та переробної промисловості для отримання біопалива в Україні / С.М. Гармаш // Біотехнологія ХХІ століття: Міжнар. науково-практ. конф. до 200-річчя Т.Г. Шевченка (м. Київ, 25.04.2014 р.). – К.: НТУУ “КПІ”, 2014. – С. 117.
5. Vazirzadeh M. Investigation of bio-ethanol Production from Waste Potatoes / M. Vazirzadeh, R. Robati // Annals of Biological Research. – 2013. – Vol. 4, № 1. – P. 104–106.
6. Meenakshi A. Ethanol Production from Corn, Potato Peel Waste and its Process / A. Meenakshi, R. Kumaresan // Development International Journal of ChemTech Research. – 2014. – Vol. 6, № 5. – P. 2843–2853.
7. Гармаш С.Н. Биотрансформация целлюлозосодержащих отходов с целью получения биоэтанола / С.Н. Гармаш // Вопросы химии и химической технологии. – 2013. – № 5. – С. 17–22.
8. Розанов А.С. Рекомбинантные штаммы *Saccharomyces cerevisiae* для получения этанола из растительной биомассы / А.С. Розанов, А.В. Котенко, И.Р. Акбердин // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2014. – Т. 18, № 4/2. – С. 989–998.
9. Дмитрук К.В. Метаболическая инженерия дрожжей *Hansenula polymorpha* для создания эффективных продуцентов этанола / К.В. Дмитрук, А.А. Сибирный // Цитология и генетика. – 2013. – Т. 47, № 6. – С. 3–21.
10. Волков А.И. Большой химический справочник / А.И. Волков, И.М. Жарский. – Минск: Современная школа, 2005. – 608 с.

Рецензент – доктор сельскохозяйственных наук,
профессор **Н.Н. Харитонов**