

УДК 612.015.161

ПЛОДОВЫЕ ОБОЛОЧКИ ОВСА В КАЧЕСТВЕ СЫРЬЯ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЭТАНОЛА ПРИ МАСШТАБИРОВАНИИ ПРОЦЕССА ПО ОБЪЕМУ

Байбакова О.В.

*ФГБУН «Институт проблем химико-энергетических технологий» Сибирского отделения
Российской академии наук, Бийск, e-mail: olka_baibakova@mail.ru*

Получение биоэтанола исследовано на новом источнике целлюлозосодержащего сырья – отходах сельского хозяйства – плодовых оболочках овса. В качестве субстрата для ферментативного гидролиза использовался волокнистый продукт из плодовых оболочек овса, полученный в установке с роторно-пульсационным аппаратом, обработка проводилась циркулирующей суспензией в 2%-ном растворе щелочи. Субстрат обладает высокой реакционной способностью к ферментативному гидролизу. Спектрофотометрическим методом установлено, что концентрация редуцирующих веществ в полученном ферментативном гидролизате составляет 35,5 г/л. С помощью штамма *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693 на среде ферментативного гидролизата волокнистого продукта из плодовых оболочек овса получен биоэтанол с выходом 52,6% от теоретического. Процесс получения биоэтанола из субстрата, полученного в установке с роторно-пульсационным аппаратом, масштабирован на опытно-производстве ИПХЭТ СО РАН в емкостном оборудовании объемом 63 л.

Ключевые слова: биоэтанол, ферментативный гидролиз, волокнистый продукт, плодовые оболочки овса, масштабирование процесса

OAT HULLS AS RAW MATERIAL TO PRODUCE BIOETHANOL WHILE SCALING UP THE PROCESS BY VOLUME

Baybakova O.V.

*Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies, Siberian Branch of the Russian Academy
of Sciences, Biysk, e-mail: olka_baibakova@mail.ru*

Bioethanol production from oat hulls – a new source of cellulose-containing raw materials, grain-processing residues – was studied. The substrate (fibrous product) for enzymatic hydrolysis was obtained in a setup equipped with a rotary pulsed apparatus; the treatment was performed by circulating the suspension in a 2% alkaline solution. The resultant fibrous product has a high reactivity to enzymatic hydrolysis. The concentration of reducing sugars in the enzymatic hydrolyzate obtained from the oat hull fibrous product was found by spectrophotometry to be 35,5 g/L. Bioethanol is synthesized on the enzymatic hydrolyzate broth with 52,6% yield of the theoretical using the *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693 producer. The bioethanol production process from the substrate derived in the setup having a rotary pulsed apparatus was successfully scaled up at the IPCET SB RAS pilot production in 63-L capacitive equipment.

Keywords: bioethanol, enzymatic hydrolysis, fibrous product, oat hulls, process scale-up

Целлюлозосодержащая биомасса является перспективным и альтернативным источником энергии для получения биоэтанола. В переработке биомассы главным образом задействовано два процесса: гидролиз целлюлозы лигноцеллюлозной биомассы с получением редуцирующих сахаров и спиртовое брожение сахаров в биоэтанол [11]. Предварительная обработка целлюлозосодержащей биомассы также является важным этапом в процессе получения биоэтанола и необходима для устранения прочности матрицы сырья и повышения выхода сбраживаемых сахаров на этапе ферментативного гидролиза [9].

В качестве источника сырья для получения биоэтанола в данной работе выбраны плодовые оболочки овса (ПОО). Они составляют 28% от массы зерна, и для перерабатывающих заводов со средней производительностью 1400 т овса в месяц отсутствие схемы их утилизации является нерешенной проблемой. Следует отметить, что ранее плодовые оболочки овса рассматривались

как гемицеллюлозное сырье и источник получения фурфурола и ксилита, так как содержание гемицеллюлозы составляет 32–35% [5]. Высокое содержание целлюлозы (до 35%) и размещение плодовых оболочек овса непосредственно в промышленных районах позволяет их позиционировать как потенциальный источник недревесной целлюлозы. Известно, что за рубежом плодовые оболочки овса признаны сырьем, пригодным для получения биоэтанола [8]. Целью данной работы являлось масштабирование процесса получения биоэтанола в емкостном оборудовании объемом 63 л из нового источника целлюлозосодержащего сырья – плодовых оболочек овса, полученных в установке с роторно-пульсационным аппаратом.

Материалы и методы исследования

Для получения биоэтанола в качестве субстрата использовался волокнистый продукт (ВП) из плодовых оболочек овса, полученный в установке с роторно-пульсационным аппаратом (РПА) в ИПХЭТ СО РАН.

Обработку в установке с РПА проводили циркулирующей суспензией 1,5 кг целлюлозосодержащего продукта в 60 л 2%-ного раствора NaOH в течение 1 ч [2, 4]. Плодовые оболочки овса до обработки в установке с РПА и после нее представлены на рис. 1 а, в. Определение основных характеристик сырья и субстрата (массовой доли (м.д.) целлюлозы по Кюршнеру, м.д. пентозанов, м.д. кислотонерастворимого лигнина, зольность) проводилось по стандартным методикам. Характеристики представлены на рис. 1 б, г.

Биоконверсия полученного субстрата в биоэтанол осуществлялась на опытном производстве ИПХЭТ СО РАН согласно ТП 10018691.01101.00071 «Технологическая пропись получения биоэтанола из мискантуса и плодовых оболочек овса». Ферментативный гидролиз проводился в водной среде в емкостном оборудовании объемом 63 л, при этом уровень активной кислотности поддерживался вручную в диапазоне 4,7–5,1 путем добавления растворов ортофосфорной кислоты и аммиака. Концентрация субстрата составила 60 г/л в пересчете на абсолютно сухое вещество. В работе использовались промышленно доступные ферментные препараты «Целлолюкс-А» (производитель ПО «Сиббиофарм», Бердск) и «Брюзайм ВGX» (производитель «Polfa Tarchomin Pharmaceutical Works S.A.», Польша, для компании «Diadic International Inc.», США). Препар

ат «Целлолюкс-А» позиционируется на рынке как целлюлаза для расщепления некрахмалистых полисахаридов, «Брюзайм ВGX» – как гемицеллюлаза. Ферментные препараты были внесены в избытке. Температура ферментативного гидролиза составила 46,5–47°C, продолжительность – 24 ч, после этого среда охлаждалась до 28°C, вносились засевные дрожжи и в течение последующих 44 ч проводилось спиртовое брожение, совмещенное с ферментативным гидролизом, активная кислотность поддерживалась вручную на уровне 4,7–5,1.

Спиртовое брожение осуществлялось с использованием дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693 Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (г. Москва). Дрожжи для сбраживания подготовлены следующим образом: чистая культура была пересеяна на среду неохмеленного солодового суслу в количестве 5% к объему среды, культивирование проводилось 1 сутки при температуре 28°C; затем эти дрожжи в количестве 5% были перенесены на среду, состоящую из ферментативного гидролизата и неохмеленного солодового суслу, культивирование проводилось 1 сутки при температуре 28°C. Полученные дрожжи в дозировке 12% внесены как инокулят в ферментативный гидролизат, полученный на опытном производстве, общее количество клеток составило 93 млн КОЕ/мл.

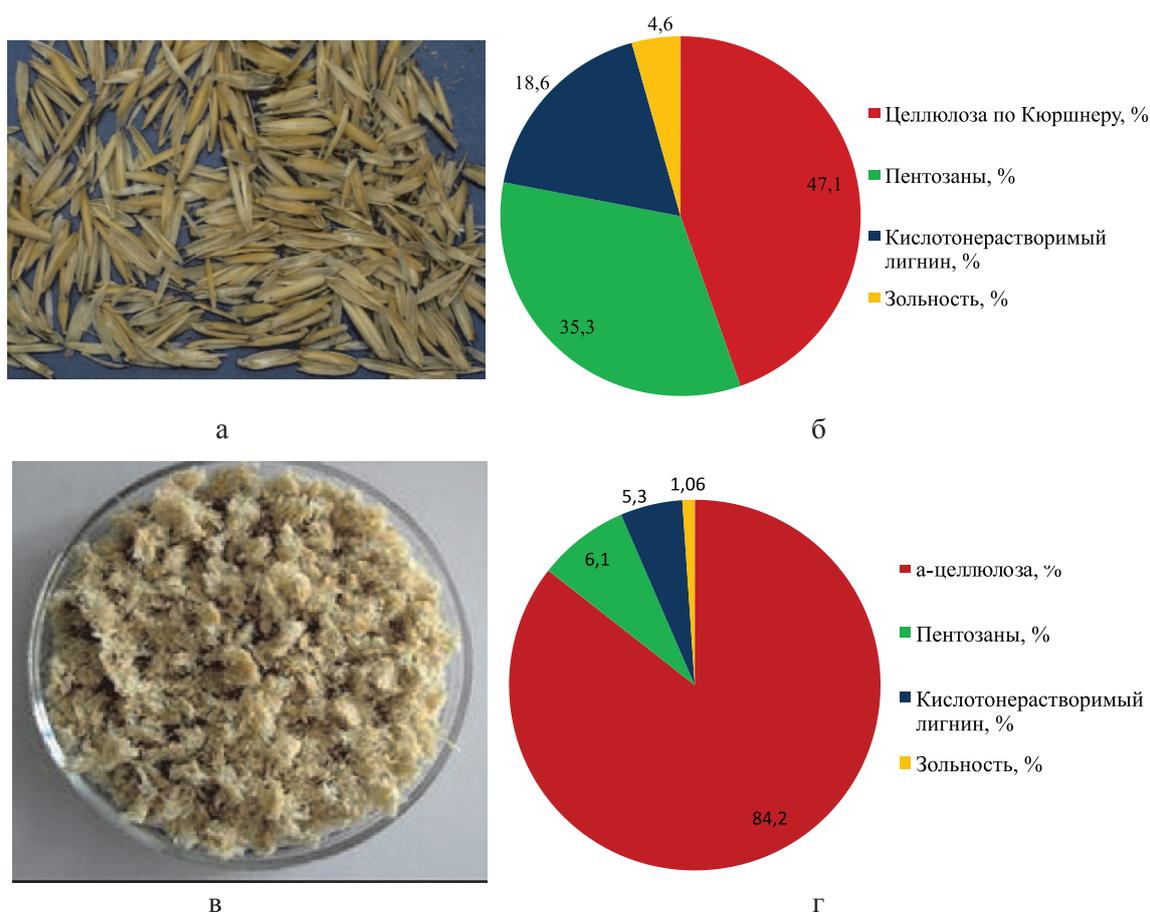


Рис. 1.

а – плодовые оболочки овса; б – химический состав ПОО;
в – волокнистый продукт плодовых оболочек овса; г – химический состав ВП ПОО

Концентрация сахаров в пересчете на глюкозу определялась спектрофотометрически. Выход редуцирующих веществ (РВ) рассчитан как отношение массы РВ к массе субстрата. Крепость бражек (объемная доля спирта) определялась ареометром для спирта в дистилляте, полученном после предварительной перегонки спирта из бражки, в соответствии с ГОСТ Р 51135-2003 [1]. По крепости полученных бражек и концентрации РВ в исходной среде рассчитывался выход биоэтанола. Теоретическая концентрация этанола рассчитывалась по стехиометрическому уравнению брожения, выход биоэтанола – как отношение экспериментальной концентрации этанола к теоретической.

Результаты исследования и их обсуждение

По данным, представленным на рис. 1 б, г, видно, что предобработка плодовых оболочек овса в установке с РПА позволяет снизить содержание пентозанов в 5,8 раза, содержание кислотонерастворимого лигнина в 3,5 раза, зольность в 4,4 раза. Массовая доля целлюлозы в ВП ПОО составляет 84,2%.

На рис. 2 представлена зависимость концентрации РВ от продолжительности процессов ферментативного гидролиза и спиртового брожения ВП плодовых оболочек овса.



Рис. 2. Зависимость концентрации РВ от продолжительности процессов ферментативного гидролиза и спиртового брожения ВП плодовых оболочек овса

Накопление редуцирующих веществ происходит экспоненциально, через 20 ч накапливается максимальная концентрация РВ – 35,5 г/л, т.е. выход РВ составил 53,3%. После внесения дрожжей наблюдалось снижение концентрации РВ. Неполный ферментативный гидролиз волокнистого продукта из плодовых оболочек овса может объясняться как несогласованностью действия индивидуальных ферментов, входящих в состав ферментной композиции (известно, что препараты, синтезированные, продуцентами рода *Trichoderma*, обеднены целлюбиазой [6]), так и явлениями субстратного ингибирования и адсорбции ферментов на субстрате [10].

Таким образом, химическая предварительная обработка сырья в установке с РПА позволяет получать качественный субстрат для ферментативного гидролиза [3].

Результаты спиртового брожения ферментативного гидролизата волокнистого продукта плодовых оболочек овса представлены в таблице. Крепости бражек, получаемых в результате сбраживания химических гидролизатов древесины, составляют 1,0–1,5 об. % [7], в данной работе получена бражка с крепостью 2,0 об. %. Эти результаты подтверждают перспективность применения именно ферментативного способа получения гидролизатов из целлюлозосодержащего сырья. Остаточная концентрация РВ в бражке невелика и составляет 5,3 г/л, что свидетельствует о биологической доброкачественности ферментативного гидролизата волокнистого продукта из плодовых оболочек овса.

Выход биоэтанола на гидролизной среде ВП ПОО составляет 52,6% от теоретического. Известно, что выход этанола на гидролизных заводах составляет 55–58 л из 100 кг

сбраживаемых сахаров [7], или 85–90% от теоретического. Меньший выход биоэтанола по сравнению с литературными данными объясняется неполноценностью состава нативного гидролизата, а именно нехваткой азота и фосфора. Оптимизация состава питательных сред по этим элементам позволит увеличить выход этанола до нормативных показателей. В процессе простой перегонки бражки с последующим концентрированием водно-спиртовой смеси был получен 50% раствор биоэтанола. Методом газожидкостной хроматографии, принятой в отрасли, было установлено, что метанол в опытном образце биоэтанола отсутствует.

Результаты спиртового брожения
для волокнистого продукта
плодовых оболочек овса

Показатель	Субстрат
Концентрация РВ в ферментативном гидролизате, г/л	35,5
Крепость бражки, об. %	2,0
Остаточная концентрация РВ в бражке, г/л	5,3
Выход биоэтанола, % от теоретического	52,6

Выводы

Установлено, что обработка плодовых оболочек овса в установке с РПА позволяет получать субстрат с высокой реакционной способностью к ферментативному гидролизу: выход редуцирующих веществ составил 35,5 г/л.

На среде ферментативного гидролизата волокнистого продукта из плодовых оболочек овса при использовании продуцента *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693 получен биоэтанол с выходом 52,6% от теоретического. Оптимизация стадии спиртового брожения позволит увеличить выход этанола до нормативных показателей.

Процесс получения биоэтанола из субстрата, полученного в установке с РПА, масштабирован на опытном производстве ИПХЭТ СО РАН в емкостном оборудовании объёмом 63 л.

Список литературы

- ГОСТ Р 51135-2003. Изделия ликероводочные. Правила приемки и методы анализа. Технические требования. – Введ. 1998-03-02. – М.: ИУС, 2003. – 116 с.
- Кухленко А.А., Василишин М.С., Орлов С.Е., Иванова Д.Б., Золотухин В.Н., Макарова Е.И., Будаева В.В. Влияние способа предварительной обработки плодовых оболочек овса на эффективность ферментативного гидролиза // Ползуновский вестник. – 2013. – № 3. – С. 238–243.
- Кухленко А.А., Орлов С.Е., Байбакова О.В. Разработка экспериментально-статистической модели процесса ферментативного гидролиза технической целлюлозы, полученной из плодовых оболочек овса // Южно-сибирский вестник. – 2014. – № 2 (6). – С. 164–166.
- Кухленко А.А., Орлов С.Е., Карпов А.Г., Иванова Д.Б., Иванов О.С., Василишин М.С., Берещина М.Н. Исследование процесса щелочной делигнификации плодовых оболочек овса в роторно-пульсационном аппарате методами математического планирования эксперимента // Химическая технология. – 2015. – № 7. – С. 443–447.
- Новый справочник химика и технолога. Сырье и продукты промышленности органических и неорганических веществ. Ч. II. – СПб.: АНО НИО «Профессионал», 2006. – 1142 с.
- Синицын А.П., Гусаков А.В., Скомаровский А.А., Кондратьева Е.Г., Осипов Д.О., Правильников А.Г., Андрианов Р.М., Окунев О.Н., Беккаревич А.О., Матис В.В., Кошелев А.В., Бубнова Т.В., Берлин А.Х. Новые препараты целлюлаз для высокоэффективного осахаривания лигноцеллюлозных материалов // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. – 2010. – Т. 6. – № 2. – С. 11–15.
- Холькин Ю.И. Технология гидролизных производств: учебник для вузов. – М.: Лесная промышленность, 1989. – 496 с.

8. Chaud LCS, da Silva DDV, de Mattos RT, Felipe MGA. Evaluation of oat hull hemicellulosic hydrolysate fermentability employing *Pichia stipites* // Braz Arch Biol Technol. 2012; 55: 771–777.

9. Hu F., Ragauskas A. Pretreatment and Lignocellulosic Chemistry // Bioenerg. Res. – 2012. – № 5. – P. 1043–1066.

10. Zhiying Yu Evaluation of the factors affecting avicel reactivity using multi-stage enzymatic hydrolysis // Biotechnology and Bioengineering, 2012. – Vol. 109, № 5 – P. 1131–1139.

11. Wagschal K. Plant cell walls to ethanol // Biochem. J. – 2012. – № 442. – P. 241–252.

References

- GOST R 51135-2003. Izdelija likerovodochnye. Pravila priemki i metody analiza. Tehnicheskie trebovanija. Vved. 1998-03-02. M.: IUS, 2003. 116 p.
- Kuhlenko A.A., Vasilishin M.S., Orlov S.E., Ivanova D.B., Zolotuhin V.N., Makarova E.I., Budaeva V.V. Vlijanie sposoba predvaritelnoj obrabotki plodovyh obolochek ovsa na jeffektivnost fermentativnogo gidroliza // Polzunovskij vestnik, 2013. no. 3. pp. 238–243.
- Kuhlenko A.A., Orlov S.E., Bajbakova O.V. Razrabotka jeksperimentalno-statisticheskoy modeli processa fermentativnogo gidroliza tehniceskoy celljulozy, poluchenoj iz plodovyh obolochek ovsa // Juzhno-sibirskij vestnik. 2014. no. 2 (6). pp. 164–166.
- Kuhlenko A.A., Orlov S.E., Karpov A.G., Ivanova D.B., Ivanov O.S., Vasilishin M.S., Bereshhinova M.N. Issledovanie processa shhelochnoj delignifikacii plodovyh obolochek ovsa v rotornno-pulsacionnom apparate metodami matematicheskogo planirovanija jeksperimenta // Himicheskaja tehnologija. 2015. no. 7. pp. 443–447.
- Novyj spravocnik himika i tehnologa. Syre i produkty promyshlennosti organicheskikh i neorganicheskikh veshhestv. Ch. II. Spb.: ANO NPO «Professional», 2006. 1142 p.
- Sinicyn A.P., Gusakov A.V., Skomarovskij A.A., Kondrateva E.G., Osipov D.O., Pravilnikov A.G., Andrianov R.M., Okunev O.N., Bekkarevich A.O., Matys V.V., Koshelev A.V., Bubnova T.V., Berlin A.H. Novye preparaty celljulaz dlja vysokoeffektivnogo osaharivanija lignocelljuloznyh materialov // Vestnik biotehnologii i fiziko-himicheskoy biologii imeni Ju.A. Ovchinnikova. 2010. T. 6. no. 2. pp. 11–15.
- Holkin Ju.I. Tehnologija gidroliznyh proizvodstv. Uchebnik dlja vuzov. M.: Lesnaja promyshlennost, 1989. 496 p.
- Chaud LCS, da Silva DDV, de Mattos RT, Felipe MGA. Evaluation of oat hull hemicellulosic hydrolysate fermentability employing *Pichia stipites* // Braz Arch Biol Technol. 2012; 55: 771–777.
- Hu F., Ragauskas A. Pretreatment and Lignocellulosic Chemistry // Bioenerg. Res. 2012. no. 5. pp. 1043–1066.
- Zhiying Yu Evaluation of the factors affecting avicel reactivity using multi-stage enzymatic hydrolysis // Biotechnology and Bioengineering, 2012. Vol. 109, no. 5 pp. 1131–1139.
- Wagschal K. Plant cell walls to ethanol // Biochem. J. 2012. no. 442. pp. 241–252.

Рецензенты:

Меледина Т.В., д.т.н., профессор, заведующая кафедрой пищевой биотехнологии продуктов из растительного сырья Института холода и биотехнологий, ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики», г. Санкт-Петербург;

Канарский А.В., д.т.н., профессор кафедры пищевой биотехнологии, ФГБОУ ВПО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», г. Казань.