

BIOFUELS PRODUCTION



edited by
VIKASH BABU
ASHISH THAPLIYAL
GIRIJESH KUMAR PATEL

 Scrivener
Publishing

WILEY

Возобновляемая энергия. Производство биотоплива

Издательство Scrivener Publishing
Каммингс центр 100, офис 541J Беверли, МА 01915-6106

Издатели в Scrivener
Мартин Скривенер (martin@scrivenerpublishing.com) Филип
Кармикал (pcarmical@scrivenerpublishing.com)

Возобновляемая энергия: Производство биотоплива

Под редакцией

**Викаш Бабу П.Д.,
Ашиш Таплиял П.Д.
и Гириеш Кумар Патель П.Д.**



Авторское право © 2014 издательства Scrivener Publishing LLC. Все права сохранены.

Издана совместно с «John Wiley & Sons, Inc.», Хобокен, Нью Джерси и ТОО «Scrivener Publishing», Салем, Массачусетс.

Одновременно опубликовано в Канаде.

Запрещается частичное или полное воспроизведение, хранение в информационно-поисковой системе, передача в любой форме или любыми средствами (электронными, механическими, фотокопированием, записью, сканированием или иначе) за исключением, когда разрешается пунктом 107 или 108 Закона о защите авторских прав в США 1976г., без предварительного письменного разрешения издателя, или без предоставления полномочий посредством оплаты соответствующего гонорара за копию Copyright Clearance Center Inc. Роузвуд Драйв 222, Дэнверс, МА 01923, (978) 750-8400, факс (978) 750-4470, или на веб-сайте www.copyright.com. Запросы на получение разрешения от издателя должны направляться отделу выдачи разрешений, John Wiley & Sons Inc., ул. Ривер 111, Хобокен, NJ 07030, (201) 748-6011, факс (201) 748-6008, или онлайн на <http://www.wiley.com/go/permission>.

Предел ответственности/освобождение от гарантии: в ходе подготовки данной книги издатель и автор приложили максимальные усилия, и они не делают никаких заявлений или гарантий касательно точности или полноты содержания данной книги и прямо отказываются от любых подразумеваемых гарантий годности для продажи или пригодности для определённой цели. Никакие гарантии не могут быть созданы или продлены торговыми представителями или письменными материалами продаж. Рекомендации и стратегии в данном документе могут быть неприемлемыми для вашей ситуации. В случае необходимости вы должны проконсультироваться с профессионалом. Ни издатель, ни автор не несут ответственности за потерю прибыли или любые другие коммерческие убытки, включая, помимо прочего, особые, случайные, косвенные или иные убытки.

Для получения общей информации о наших других продуктах и услугах или для технической поддержки, пожалуйста, свяжитесь с нашим отделом обслуживания клиентов в США по телефону (800) 762-2974, за пределами США по телефону (317) 572-3993 или по факсу (317) 572- 4002.

Wiley также публикует свои книги в различных электронных форматах. Некоторый контент, который появляется в печати, может быть недоступен в электронных форматах. Для получения дополнительной информации о продуктах Wiley посетите наш веб-сайт www.wiley.com.

Для получения дополнительной информации о продуктах Scrivener, пожалуйста, посетите веб-сайт www.scrivenerpublishing.com.

Дизайн обложки Криса Хакеротта

Данные каталогизации в публикации Библиотеки Конгресса:

ISBN 978-1-118-63450-9

Отпечатано в Соединенных Штатах Америки

Моему любящему сыну Дакшу в первый день рождения
- **Викаш Бабу**

Посвящается моей жене, Дэв Субх семье и друзьям
- **Ашиш Таплиял**

Моим любящим родителям
- **Гиреш Кумар Патель**

Содержание

Предисловие	xvii
Список соавторов	xix
1 Введение: биотопливо	1
<i>Прамоод Кумар и Викаш Бабу</i>	
1.1 Глобальный сценарий производства и экономики биотоплива	4
Использованная литература	7
2 Достижения в производстве биотоплива	11
<i>М.Д. Берни, И.Л. Дорилео, Дж.М. Прадо, Т. Фостер-Карнейро и М.А.А. Мейрелес</i>	
2.1 Введение	12
2.2 Достижения в производстве биотоплива первого, второго и третьего поколения	16
2.2.1 Традиционное и усовершенствованное биотопливо	16
2.2.2 Биотопливо первого поколения	18
2.2.3 Биотопливо второго поколения	23
2.2.4 Биотопливо третьего поколения	35
2.2.5 Солнечное топливо	41
2.2.6 Биорафинирование	42
2.3 Будущие тренды развития биотоплива	44
2.3.1 Достижения в производстве биомассы для биотоплива	46
2.3.2 Генная инженерия	50
2.3.3 Биотопливо четвертого поколения	51
2.3.4 Экономические аспекты	52
2.3 Выводы	54
Выражение признательности	55
Использованная литература	55
3 Переработка биотоплива	59
<i>Дивья Гупта, Аджит Сингх, Ашвани Шарма и Анишул Нигам</i>	
3.1 Введение	59
3.1.1 Биотопливо первого поколения	60
3.1.2 Биотопливо второго поколения	60
3.2 Биодизель из водорослей	61
3.2.1 Производство водорослевой биомассы	61
3.2.2 Извлечение масла	65
3.2.3 Трансэтерификация/ Основной катализ	68
3.2.4 Пиролиз	70
3.2.5 Гидропроцессинг	71
3.3 Целлюлозный этанол	72
3.3.1 Измельчение	73
3.3.2 Ферментативный гидролиз	74

3.3.3	Химический метод	76
3.3.4	Процесс ферментации	77
3.4	Синтез-газ	78
3.5	Выводы	80
	Ссылки	80
4	Биоконверсия лигноцеллюлозной биомассы для производства биоэтанола	85
	<i>Вирендра Кумар, Пурнима Дхалл, Рита Кумар и Анил Кумар</i>	
4.1	Введение	86
4.1.1	Источники лигноцеллюлозной биомассы	88
4.1.2	Лигноцеллюлозную биомассу можно использовать для производства биоэтанола	89
4.2	Процесс производства биоэтанола	90
4.2.1	Предварительная обработка	90
4.2.2	Гидролиз	97
4.2.3	Детоксикация	104
4.2.4	Ферментация	106
4.2.5	Дистилляция	109
4.3	Генная инженерия для производства биотоплива	109
4.4	Будущие перспективы	111
	Использованная литература	112
5	Недавний прогресс в микробиологической метаболической инженерии в целях преобразования отходов лигноцеллюлозы для производства биотоплива	119
	<i>Шубхангини Шарма, Рина, Анил Кумар и Паллави Миттал</i>	
5.1	Введение	120
5.2	Роль генетической и метаболической инженерии в производстве биотоплива	122
5.3	Проблемы с различными видами биотоплива и области улучшения	124
5.3.1	Этанол	124
5.3.2	Бутанол	125
5.3.3	Высшие липиды	126
5.3.4	Терпеноиды	126
5.4	Общий процесс метаболической инженерии	127
5.4.1	Выбор организма хозяина	128
5.4.2	Оптимизация, трансформация и отбор кодонов	129
5.4.3	Процедура ферментации	131
5.4.4	Ферментационная среда	132
5.4.5	Процесс ферментации	132
5.5	Метаболическая инженерия в разных микроорганизмах	133
5.5.1	Кишечная палочка (E. Coli)	134
5.5.2	Дрожжи	136
5.5.3	Clostridium Cellulolyticum	138
5.6	Выводы	141
5.6.1	Области исследований по улучшению производства биотоплива	141
	Использованная литература	142

6	Микробиологическое производство биотоплива	147
	<i>А.С. Панвар, Дж. Джунгран и Г.К. Джоши</i>	
6.1	Введение	147
6.2	Типы биотоплива, производимого микроорганизмами	149
6.2.1	Биоэтанол	151
6.2.2	Бутанол	154
6.2.3	Биодизель	156
6.2.4	Биоводород	158
6.2.5	Биогаз	159
6.3	Будущие перспективы и выводы	163
	Ссылки	165
	Микроводоросли в производстве биотоплива - текущий статус и будущие перспективы	167
	<i>Навнит Сингх Чаудхари</i>	
7.1	Введение	168
7.2	Микроводоросли в производстве биотоплива	170
7.3	Сравнение цианобактерий и микроводорослей в производстве биотоплива	171
7.4	Применение цианобактерий и микроводорослей микроводорослей в производстве биотоплива	172
7.4.1	Преимущества микроводорослей над высшими растениями	173
7.4.2	SWOT-анализ микроводорослей в производстве биотоплива	175
7.5	Отбор микроводорослей в производстве биотоплива	177
7.6	Культивация микроводорослей для производства биотоплива и побочных продуктов	179
7.7	Сбор и сушка микроводорослей	181
7.8	Переработка, экстракция и сепарация Микроводорослей	182
7.9	Биотопливо и побочные продукты из микроводорослей	184
7.9.1	Биодизель	184
7.9.2	Биоводород	186
7.9.3	Биоэтанол	188
7.9.4	Биогаз как биотопливо	190
7.9.5	Побочные продукты	191
7.10	Трудности и препятствия в производстве биотоплив	192
7.10.1	Биотехнические трудности	193
7.10.2	Экологические трудности	195
7.10.3	Экономические трудности	197
7.11	Генная и метаболическая инженерия микроводорослей для производства биотоплива и биоэнергии	198
7.11.1	Потенциальные возможности генной и метаболической инженерии	199
7.11.2	Развитие и усилия, предпринимаемые во многих странах	202
7.12	Заключение и перспективы на будущее	204
	Использованная литература	206

8	Процессы производства биоэтанола	211
	<i>Мохаммед Дж. Тахерзаде, Патрик Р. Леннарссон, Оливер Тейхерт и Хакан Нордхольм</i>	
8.1	Введение	211
8.2	Мировой рынок биоэтанола и перспективы на будущее	212
8.3	Общий процесс производства биоэтанола	213
8.4	Производство сахара из сырьевого материала	213
8.4.1	Сахарный сироп из кристаллического материала	215
8.4.2	Кислотный гидролиз крахмала	216
8.4.3	Ферментативный гидролиз крахмала	216
8.5	Характеристика лигноцеллюлозного материала	218
8.5.1	Целлюлоза	218
8.5.2	Гемицеллюлоза	219
8.5.3	Лигнин	219
8.6	Сахарный сироп из лигноцеллюлозного материала	220
8.6.1	Химический гидролиз лигноцеллюлозного материала	220
8.6.2	Предварительная обработка перед ферментативным гидролизом	223
8.6.3	Ферментативный гидролиз из лигноцеллюлозного материала	224
8.7	Основные понятия ферментации	225
8.8	Превращение простых сахаров в этанол	225
8.9	Биохимическая основа производства этанола из гексоз	226
8.10	Биохимическая основа для производства этанола из пентозы	228
8.11	Микроорганизмы, относящиеся к ферментации этанола	229
8.11.1	Дрожжи	229
8.11.2	Бактерии	231
8.11.3	Мицелиальные грибы	232
8.12	Процессы ферментации	233
8.12.1	Периодические процессы	234
8.12.2	Процесс периодической подпитки	235
8.12.3	Процесс непрерывного потока	236
8.12.4	Серийно организованный непрерывный поток брожения	238
8.12.5	Стратегии ферментации ферментативных лигноцеллюлозных гидролизатов	239
8.12.6	Раздельный ферментативный гидролиз и ферментация (SHF)	240
8.12.7	Одновременное засахаривание и ферментация (SSF)	240
8.12.8	Сравнение ферментативного и кислотного гидролиза лигноцеллюлозных материалов	241
8.13	Восстановление этанола	242
8.14	Дистилляция	243
8.15	Альтернативные процессы для извлечения и очистки этанола	245
8.16	Дегидратация этанола	246

8.16.1	Адсорбция на молекулярных ситах	246
8.16.2	Мембранная технология	246
8.17	Сухая гранулированная барда	247
8.18	Устойчивость производства биоэтанола	248
8.19	Заключительные замечания и перспективы на будущее	249
	Использованная литература	249
9	Производство бутанола: биотопливо	255
	<i>Сапна Джайн, Мукеш Кумар Ядав и Аджай</i>	
9.1	Введение	256
9.2	Бутанол и его свойства	257
9.3	Бутанол как топливо	257
9.4	Промышленное применение бутанола и его производные	260
9.5	Способы производства бутанола	261
9.5.1	Химический метод	261
9.5.2	Биологический метод	263
9.6	Методы разделения бутанола в естественных условиях	273
9.6.1	Отдувка газом	274
9.6.2	Адсорбция	274
9.6.3	Экстракция жидкости жидкостью (перстракция)	277
9.6.4	Первапорация	277
9.6.5	Вакуумная дистилляция	278
9.7	Перспективы на будущее	279
	Использованная литература	280
10	Производство биодизеля из различных источников	285
	<i>Комал Саксена, Авинаш Кумар Шарма, Лалит Агравал и Ашиш Дип Гупта</i>	
10.1	Введение	285
10.2	Источники/сырье для производства биотоплива	286
10.2.1	Производство биотоплива из растений	287
10.2.2	Производство биотоплива с помощью бактерий	287
10.2.3	Производство биотоплива из грибов	288
10.2.4	Производство биотоплива из сточных вод	289
10.2.5	Производство биотоплива из микроводорослей	289
10.3	Различные процессы производства биотоплива	290
10.3.1	Трансэтерификация	290
10.3.2	Микрокапсулированная эмульсия	298
10.3.3	Термический крекинг (пиролиз)	299
10.3.4	Стратегии производства биодизеля из микроводорослей	299
10.3.5	Производство биодизеля гетеротрофным культивированием	301
10.4	Определение выхода продукта, оптимизация процесса и стандартизация биодизеля	302
10.5	Заключение	304
	Использованная литература	304

11 Производство биоводорода: текущие сценарии и перспективы на будущее	309
<i>Сумита Шривастав, Прашант Антвал, Трибхуван Чандра и Ашиш Таплиял</i>	
11.1 Введение	310
11.2 Стандартные методы производства водорода	310
11.2.1 Процесс парового риформинга	311
11.2.2 Реакция пара с углеродом	311
11.2.3 Электролитическое производство водорода	311
11.2.4 Термическая деструкция воды для получения водорода	312
11.2.5 Химическое взаимодействие воды с водой	312
11.3 Водород из возобновляемых источников	312
11.3.1 Получение водорода из биомассы	
11.3.2 Водород из возобновляемых источников, за исключением биомассы	314
11.4 Способы получения водорода путем биологических доступов с использованием биохимических процессов	315
11.4.1 Получение водорода из топлива, полученного из биомассы	315
11.4.2 Водород из биомассы путем газификации	316
11.4.3 Производство водорода с использованием биофотолиза	316
11.4.4 Производство водорода с использованием фотоферментации	317
11.4.5 Получение водорода из темновой ферментации	318
11.4.6 Получение водорода с использованием биологической реакции конверсии водяного газа	319
11.5 Последние достижения в производстве биоводорода	319
11.5.1 Получение водорода из бионефти	320
11.5.2 Получение водорода из синтетического газа	321
11.5.3 Получение водорода из фотоферментации	324
11.5.4 Получение водорода из темновой ферментации (DF)	324
11.5.5 Производство водорода с помощью интегральных технологий	327
11.6 Состояние производства биоводорода	329
11.7 Заключение	329
Использованная литература	331
12 Производство биометана	333
<i>Ручика Гоял, Викаш Бабу и Гириеш Кумар Патель</i>	
12.1 Введение	334
12.2 Характеристики биометана	337
12.2.1 Преимущества	337
12.2.2 Преимущества биометана перед метаном	338
12.2.3 Оценка затрат	339
12.2.4 Полезность	339
12.3 Мировой сценарий производства биометана	339
12.4 Производство биометана – технология переработки отходов в топливо	341
12.4.1 Компоненты биогазовой установки	341
12.4.2 Предварительная обработка	342
12.4.3 Производство биогаза	342
12.5 Очистка и обогащение биогаза	343
12.5.1 Удаление гидросульфида (H ₂ S)	344
12.5.2 Удаление кислорода	347
12.5.3 Удаление азота	347
12.5.4 Удаление аммиака	348
12.5.5 Удаление силоксана	348

12.5.6 Удаление галоидуглеводородов	348
12.5.7 Удаление микрочастиц	349
12.5.8 Удаление водяных паров	349
12.5.9 Удаление двуокиси углерода	350
12.6 Заключение	354
Использованная литература	354
Алфавитный указатель	357

Предисловие

«Любой, кто серьезно занимался научной работой любого рода, понимает, что перед входом в ворота храма науки написаны слова: «Вы должны иметь веру»».

Макс Планк

Истинным признаком интеллекта является не знание, а воображение.

Альберт Эйнштейн

В настоящее время биотопливо является новой областью для исследований, поскольку существующие ископаемые виды топлива, вероятно, сократятся в течение нескольких лет, и многие правительства хотели бы уменьшить свою зависимость от ископаемых видов топлива. Поэтому, развитие биотоплива и альтернативных источников энергии является одним из приоритетов многих стран. В настоящее время необходимо использовать новейшие научные подходы и объединить их с надлежащим использованием природных ресурсов, и тогда технология может повлиять на жизнь простого человека. Новое технологическое положение требует эффективной координации между различными организациями, такими как университеты, академические колледжи, исследовательские институты, правительственные агентства, неправительственные организации и люди, конечные пользователи технологии. Эта книга является попыткой предоставить новейшую информацию о последних научных методиках, связанных с биотопливом. В интернете доступно множество исследовательских и обзорных статей, посвященных различным видам биотоплива. Трудно осмыслить эти достижения в одной обзорной статье. Поэтому необходимо собрать в одну книгу разрозненную информацию с учетом последних достижений. Каждая глава в этой книге предоставлена экспертами в своей области. В этой книге обобщены методы производства биотоплива, такие как производство биодизеля, биометана, биоэтанола, биобутанола и биоводорода. Помимо методов производства были основательно обобщены их глобальный сценарий, последние достижения, переработка, микробиологическая метаболическая инженерия для производства биотоплива и роль микроорганизмов в производстве биотоплива. Благодаря всем усилиям соавторов, эта книга будет очень полезна всем выпускникам, аспирантам и исследователям, которые работают в этой области. Редакция благодарна всем соавторам за сотрудничество.

В заключение, авторы просят предоставить предложения по улучшению и расширению этой книги от исследователей, студентов и читателей.

**Викаш Бабу
Ашиш Таплиял
Гириеш Кумар Патель**

Список соавторов

Викаш Бабу

Кафедра биотехнологии, Graphic Era University, Дехрадун-248002, Индия

Гириеш Кумар Патель

Кафедра биотехнологии, Graphic Era University, Дехрадун-248002, Индия

Ашиш Таплиял

Кафедра биотехнологии, Graphic Era University, Дехрадун-248002, Индия

М.Д. Берни

Междисциплинарный центр энергетического планирования, государственный университет Кампинаса, УНИКАМП, Бразилия

И.Л. Дорилео

Междисциплинарный центр энергетического планирования, федеральный университет Мату Гросу, УМФТ, Бразилия

Ж.М. Прадо

LASEFI/DEA/FEA (Университет пищевой технологии) / УНИКАМП (Университет Кампинаса), Р. Монтейру Лобато, 80, Кампинас, 13083-862, СП, Бразилия

Т. Фостер-Карнейро

LASEFI/DEA/FEA (Университет пищевой технологии) / УНИКАМП (Университет Кампинаса), Р. Монтейру Лобато, 80, Кампинас, 13083-862, СП, Бразилия

М.А.А. Мейрелес

LASEFI/DEA/FEA (Университет пищевой технологии) / УНИКАМП (Университет Кампинаса), Р. Монтейру Лобато, 80, Кампинас, 13083-862, СП, Бразилия

Прамод Кумар

Факультет биотехнологии, Индийский технологический институт Рурки, Рурки-247667 (Индия)

Дивья Гупта

Факультет биотехнологии, Политехнический колледж Г.Б. Панта, Паури Гархвал, Уттаракханд-246001, Индия

Аджит Сингх

Факультет биотехнологии, Политехнический колледж Г.Б. Панта, Паури Гархвал, Уттаракханд-246001, Индия

Ашвани Шарма

Computer-Chemie-Centrum, Университет Эрланген-Нюрнберг, ул. Негельсбах 25, 91052, Эрланген, Германия

Аншул Нигам

IPLS (переименован в BUILDER), Университет Пондичерри, г. Пудучерри-605014, Индия

Вирендра Кума

Институт геномики и интегративной биологии, Молл Роуд, Дели-110007, Индия

Пурнима Дхалл

Институт геномики и интегративной биологии, Молл Роуд, Дели-110007, Индия

Рита Кумар

Институт геномики и интегративной биологии, Молл Роуд, Дели-110007, Индия

Шубхангини Шарма

РКЛ, Intas Biopharmaceutical, Ахмедабад, Гуджарат, Индия

Рина

Институт геномики и интегративной биологии, Молл Роуд, Дели-110007, Индия

Анил Кумар

Национальный институт иммунологии, Нью-Дели, Индия

Паллави Миттал

Парамедицинская школа ITS, Газиабад, УП, Индия

А.С Пансвар

Факультет биотехнологии, Университет им. Х.Н.Б. Гарвала, Шринагар (Гарвал), Уттаракханд, Индия

Дж. Джугран

Факультет биотехнологии, Университет им. Х.Н.Б. Гарвала, Шринагар (Гархвал), Уттаракханд, Индия

Г.К Джоши

Факультет биотехнологии, Университет им. Х.Н.Б. Гарвала, Шринагар (Гархвал), Уттаракханд, Индия

Навнит Сингх Чаудхари

Кафедра биотехнологии, университет сэра Падампата Сингхания (УСПС), Удайпур-313001, Раджастхан, Индия

Мохаммад Дж. Тахедзарех

Инженерный факультет, Университет Бурое, Бурое, Швеция

Патрик Р. Леннартссон

Инженерный факультет, Университет Бурое, Бурое, Швеция

Оливер Тайхерт

Lantmännen Agroetanol AB, Норкёпинг, Швеция

Хакан Нордхольм

Lantmännen Agroetanol AB, Норкёпинг, Швеция

Сапна Джайн

Факультет биотехнологии,
Институт биомедицинского образования и исследований, Университет Мангалаятан, Алигарх-202145, Индия

Мукеш Кумар Йадав

Факультет биотехнологии, институт биомедицинского образования и исследований, Университет Мангалайатан, Алигарх-202145, Индия

Аджай Кумар

Факультет биотехнологии, институт биомедицинского образования и исследований, Университет Мангалайатан, Алигарх-202145, Индия

Комал Саксена

Департамент биотехнологии, Институт биомедицинского образования и исследований,

Университет Мангалаятан, Алигарх-202145, Уттар-Прадеш, Индия.

Авинаш Кумар Шарма

Департамент биотехнологии, Институт биомедицинского образования и исследований,
Университет Мангалаятан, Алигарх-202145, Уттар-Прадеш, Индия

Ашиш Дип Гупта

Департамент биотехнологии, Институт биомедицинского образования и исследований,
Университет Мангалаятан, Алигарх-202145, Уттар-Прадеш, Индия

Лалит Агравал

СНПИ, Национальный ботанический исследовательский институт, Рана Пратап Марг, Лакхнау,
226 001, Уттар-Прадеш, Индия

Сумита Шривастав

Физический факультет, государственный институт последипломного образования, Уттаркаши,
Уттаракханд

Прашант Анвал

Факультет биотехнологии, Graphic Era University, Дехрадун, Уттаракханд

Трибхуван Чандра

Факультет биотехнологии, Graphic Era University, Дехрадун, Уттаракханд

Ручика Гойал

Факультет биотехнологии, Graphic Era University, Дехрадун-248002, Индия

Введение: биотопливо

Прамо́д Кума́р¹ и Вика́ш Бабу^{2,*}

¹*Факультет биотехнологии, Индийский технологический институт Рурки,
Рурки-247667 (Индия)*

²*Факультет биотехнологии, Graphic Era University, Дехрадун-248002*

С момента открытия огня биотопливо давно и широко использовалось. Уже много лет сырьем для биотоплива является древесина, которая используется в твердом виде и, в основном, для приготовления пищи и отопления. Позднее эволюционировавшая форма биотоплива появилась в виде жидкого масла, которое с незапамятных времен ежедневно использовалось для освещения домов и путей. Одним из древних видов биотоплива, использованных для этой цели является оливковое и китовое масло; его, в основном, получали из растений и животных и пользовались в течение очень длительного периода времени, пока его не заменил керосин [1, 2]. Более того, с конца восемнадцатого века начали преобладать другие виды биотоплива; этанол является одним из наиболее широко используемых видов биотоплива из-за широкого применения, особенно в транспортном секторе [3]. Этанол, полученный из кукурузы, впервые использовался вначале для транспортировки, главным образом, для автомобилей. Впоследствии, в качестве источников получения биотоплива было использовано несколько других кормовых культур, таких как, арахис, конопля, зерно и картофель [4]. Позже открыли вид биотоплива, биодизель, который появился только в двадцатом веке [5]. В настоящее время эти два класса являются крупнейшими используемыми видами биотоплива.

Двадцатый век был эпохой исследований, и обеспокоенность из-за наличия запасов используемых ресурсов не была серьезным вопросом. Однако, с ростом населения и урбанизации, поиск энергетического решения стал областью первостепенной важности. Основной вклад в энергетику ожидается из транспортных, промышленных и сельскохозяйственных секторов. Ключевыми источниками для удовлетворения всей потребности являются ископаемые виды топлива, но постоянно растущий спрос и ограниченный запас таких видов топлива вынуждают нас использовать альтернативные подходы для возобновляемого и устойчивого производства энергии [6]. Поэтому, биотопливо считается одним из замечательных решений этой проблемы. Топливо, полученное из биологического материала, недавно вывезенного из естественных мест выращивания или являющееся побочным продуктом живых организмов, классифицируется как биотопливо, в отличие от продуктов, полученных из ископаемого топлива, которое получается из ископаемых организмов, захороненных в течение миллионов лет под земной корой, и превращенных в вид топлива под воздействием высокого давления и температуры.

В связи с возобновляемостью и огромными возможностями совершенствования и разработки, биотопливо становится многообещающим источником энергии, в сравнении с ограниченной и локализованной доступностью ископаемого топлива. Кроме того, биотопливо, возможно, является решением зависимости от иностранных источников энергии, а также подходит для решения экологических проблем. Существует большой скрытый потенциал в источниках энергии из биотоплива, особенно когда он сочетается с эффективным ведением сельского хозяйства и научным применением, что позволяет ему снабжать человечество различным сырьем, необходимым для пищевой клетчатки и энергии [7].

Существует несколько видов топлива, которые можно получить из биомассы, обычно называемые биотопливом, и охватывают жидкие виды топлива, такие как этанол, метанол или биодизель, и газообразные, такие как метан и водород.

*Ответственный автор: vikash.iitroorkee@gmail.com

Др. Викаш Бабу, др. Ашиш Таплиял и др. Гириеш Кумар Патель (ред.) Производство биотоплива, (1–10) 2014 © ТОО «Scrivener Publishing»

В зависимости от применения и использования сырья, биотопливо можно подразделить на два этапа: биотопливо первого поколения и второго поколения [8]. Наиболее распространенными видами биотоплива первого поколения являются этанол, метиловый эфир жирной кислоты (МЭЖК или биодизель) и чистое растительное масло (ЧРМ). Наиболее распространенным видом биотоплива, используемого в мире, является биоэтанол, объем мирового производства которого увеличился с 17 тысяч млн. литров в 2000 г. до 68 тысяч млн. литров в 2008 г. [9, 10]. Основными видами сырья для производства этанола являются сахарный тростник, пшеница, сахарная свекла, рапс, соевое и пальмовое масло [11]. Большая часть мирового производства этанола приходится на Соединенные Штаты и Бразилию, которые используют кукурузу или сахарный тростник в качестве основного сырья, в то время как Европа производит его из картофеля, пшеницы или сахарной свеклы. Что касается биодизеля, основной производитель - это Европа, где лидером является Германия, производство которого удовлетворяет 3% от всей потребности страны в топливе [12]. Рапс используется в качестве наиболее широко используемого сырья, примерно 70% европейского производства биодизеля, за которым следует соя, около 17% производства. Меньший объем продукции получается из подсолнечного и пальмового масла [13].

Чистое растительное масло является относительно новым ресурсом биотоплива, и в последнее время оно приобретает все большую важность в связи с ранним ограниченным локальным производством. Ключевыми характеристиками, связанными с этим видом, являются экономическая ценность и возможность получения высокого урожая на гектар продукции. Эти свойства делают его пригодным для рынков развивающихся стран. Хорошим примером являются такие страны, как Малайзия и Индонезия, из-за низкой стоимости рабочей силы и производства в сравнение со странами Европы и Северной Америки. В последнее время приобрел значение импорт из этих стран [14]. Основными преимуществами биотоплива первого поколения являются ограничение выбросов CO₂ и обеспечение внутренней энергетической безопасности. Тем не менее, наличие сырья, неблагоприятные воздействия на биоразнообразие и конкуренция за сельскохозяйственные угодья являются основными препятствиями. Кроме того, основными проблемами, связанными с биотопливом первого поколения, являются устойчивость ресурсов, из которых они производятся, а также их прямая конкуренция за продовольственные культуры и экологические угрозы, связанные с экосистемами.

В настоящее время есть хорошо обоснованный анализ биотоплива, согласно которому они должны быть очень эффективными с учетом сокращения выбросов и чистого жизненного цикла выбросов парниковых газов (ПГ), которые, безусловно, должны соответствовать критериям социальной и экологической устойчивости. За исключением биоэтанола из сахарного тростника, ни одно из биотоплива первого поколения, по-видимому, не является выгодным для будущего транспортного топлива. Все эти проблемы породили следующую стадию производства биотоплива, так называемое биотопливо второго поколения [15]. Благодаря выбору сырья и технологии выращивания, биотопливо второго поколения имеет огромные преимущества, такие как использование отходов и заброшенных земель, поэтому второе поколение биотоплива прокладывает путь для огромного применения в производстве биотоплива, которое также может удовлетворить экономические, социальные и экологические критерии. Но неоправданное использование биотоплива второго поколения также может сказаться на спросе обычных продовольственных культур и привести к неустойчивости ресурсов. Поэтому, крайне важно установить некоторые контрольные показатели для их использования, такие как сокращение ПГ в течение минимального жизненного цикла, изменения в землепользовании и строгие ограничения с учетом социальных и экономических стандартов.

Критерии для использования непищевой биомассы хорошо учитываются в биотопливе второго поколения путем использования нескольких стратегий, таких как применение сырья, содержащего лигноцеллюлозный материал, который может быть получен из биопродуктов сельского хозяйства, таких как рисовая шелуха, кукурузная мука, опилки и остатки лесопереработки, жмых сахарного тростника и т.д. [16]. Согласно отчету АОС США, за 2009 год (Агентства по охране окружающей среды), целлюлозный этанол является гораздо более перспективным, чем любое биотопливо первого поколения, кроме биоэтанола из сахарного тростника Бразилии. Кроме того, высокое содержание органических веществ в отходах и шламе также обладает хорошим потенциалом для использования в качестве исходного сырья благодаря наличию достаточно высокой доли углеводов и белков. Применение анаэробного сбраживания осадка делает его очень полезным для производства биоэнергии [17]. Небольшая модификация в переработке отходов может дать другие соединения, такие как уксусная кислота и родственные органические кислоты, имеющие дополнительные экономические преимущества [18]. Уксусная кислота и органическая кислота являются очень важными

промышленными промежуточными веществами, которые действуют как источники углерода для роста нескольких видов микробов, которые могут производить различные виды биотоплива и химических веществ. Помимо этих источников, благодаря недавнему прогрессу в области микробной инженерии, сырье, полученное из водорослей, также демонстрирует значительный потенциал для производства биотоплива [19]. Из-за разностороннего характера условий роста водорослей, он обладает огромным потенциалом для роста практически в любых суровых условиях окружающей среды, таких как соленая вода, сточные воды, прибрежная морская вода и неплодотворные земли [20]. Кроме того, водорослевая биомасса особенно подходит для получения высокого выхода липидов, необходимых для производства биодизеля [21]. Поскольку производство водорослевого сырья слабо сказывается на спросе на обычные продовольственные культуры, это делает его более пригодным для производства биотоплива.

В целом, совокупный подход, включающий конкретные применения с учетом источников сырья, доступности земли, рабочей силы, социально-экономических условий и выбора подходящего вида биотоплива, обладает огромной возможностью для эффективного и устойчивого удовлетворения потребностей в топливе.

1.1 Глобальный сценарий производства и экономики биотоплива

В настоящее время возможности, лежащие в основе энергетических решений, касающихся биотоплива, привлекают внимание всего мира, и стали очевидной формой политики, предпринимаемой несколькими правительствами по сокращению их зависимости от ископаемого топлива путем использования экологически безопасного подхода. Некоторые из ведущих стран, занимающихся продвижением биотоплива - Соединенные Штаты, Бразилия, страны-участники ЕС, Канада, Китай и Индия. Правительство США сделало один из самых амбициозных прогнозов по биотопливу, выступив за трехкратное увеличение биоэнергии в течение следующих десяти лет [22]. Под названием «биотопливо» скрываются два основных товара: биоэтанол и биодизель. Сырьем для производства биоэтанола являются главным образом сахар, кукуруза, соя, пшеница и подсолнечник, ятрофа, растительное масло, пальма, рапс и соя являются сырьем для биодизеля. Биоэтанол является наиболее перспективным типом биотоплива, которое способно заменить бензин, и в настоящее время является частью политики многих правительств по использованию биотоплива, что наблюдается в некоторых крупных странах, таких как Бразилия, с обязательным использованием 22% биоэтанола, 10% в нескольких штатах США и Китае. Более того, водосодержащий биоэтанол (96% биоэтанола с 4% воды) также широко используется в этих странах [23]. В соответствии с Законом США об энергетической независимости и безопасности от 2007 г. предусмотрено, что к 2022 году вклад возобновляемой энергии от биоэтанола и других видов биотоплива будет увеличиваться до 36 млрд. галлонов ежегодно. Более того, АООС (Агентство по охране окружающей среды) США в настоящее время разрешает смешивать 10% этанол из-за поправки к Закону о чистоте воздуха. Связанные с этим эффекты этой политики видны в виде увеличения производства этанола из кукурузы на рынке США [24]. Влияние политики, разработанной для производства и использования этанола, дает положительные результаты, которые наблюдаются в течение последних двух десятилетий в отношении социальных издержек и выгод, получаемых в результате мониторинга налогов, тарифов и кредитных эффектов сельскохозяйственного сектора, связанных с биотопливом [25]. Это видно в виде снижения средней цены на 14 центов за галлон, по анализу данных, полученных за период 1995-2008 гг. [26]. Такая политика демонстрирует связь между сельскохозяйственным и энергетическим рынками, что видно в виде превышения обязательного объема этанола из-за высоких цен на нефть и высокого урожая кукурузы [24].

Сельскохозяйственное управление торговли Сан-Паулу предположило, что общее производство этанола в 2012 году составит 25,5 млрд. литров. За этим последовал общий объем производства в 21,1 млрд. литров в 2011 году, что составляет примерно 24,9 процента от общего объема мирового биотоплива, несмотря на кризисную фазу, возникшую по многим причинам [27, 28]. Бразилия является примером создания конкурентного рынка, на котором успешное применение биоэтанола коммерциализируется без субсидий с использованием сахарного тростника в качестве сырья [29], более того, Бразилия является крупнейшим экспортером биоэтанола и вторым по величине производителем после США.

Европейский Союз – это третий по величине производитель биотоплива, реализующий прогноз по биотопливу с долей в пять процентов к 2015 году и дальнейшим ростом до десяти процентов к 2020 году [30]. У директивы EU2009 имеется прямая связь, чтобы соотнести потребление и производство биотоплива и сделать его устойчивой отраслью [31]. Кроме того, ЕС избрал безопасный путь,

установив приоритет импорта в 30 процентов сырья или биотоплива, чтобы снизить ценовое давление на сырье ЕС. Для ожидаемого производства биотоплива в 2012 году, ЕС требуется 10,3 млн. тонн сахарной свеклы и 9,7 млн. тонн растительного масла и животного жира. По биоэтанолу, в сравнение с США и Бразилией, ЕС является лишь второстепенным производителем, и на его долю приходится 28 процентов всего рынка биотоплива в секторе автомобильного транспорта [32]. В то время как по биодизелю, ЕС является крупнейшим производителем с 60 процентами доли рынка [33]. В Европейском Союзе Германия является крупнейшим производителем биотоплива, а Франция является вторым по величине производителем [34]. Франция также поставила амбициозную цель к 2015 году достичь доли биотоплива в 10 процентов [35].

Для Канады обязательное содержание возобновляемого топлива было снижено до 5 процентов к 2010 году в соответствии с рекомендациями федерального законодательства 2008 года [36]. Кроме того, по федеральному мандату также ввели закон, требующий двухпроцентного возобновляемого содержания в дизеле к 2011 году. Что касается производства биоэтанола, Канада достигла почти 2 млрд. литров производства в год [37], где основным сырьем для производства биоэтанола в Канаде является кукуруза и пшеница, биодизель предпочтительно изготавливается из канолы [38]. В Канаде также субсидировали импорт биодизеля по тарифу 6,5 процента как наиболее благоприятствуемой нации и три процента по общему льготному тарифу [36]. Политика, принятая ранее, чтобы сделать биоэтанол альтернативой энергии, теперь видна в форме разумного роста производства этанола и его устойчивости. Но из-за ограниченного производства биотоплива как в краткосрочной, так и в среднесрочной перспективе, похоже, что в ближайшем будущем Канада может не стать основным игроком в производстве этанола.

Китай также принимает требование на смешивание этанола до 10 процентов к 2020 году. С политикой использования сырья из незерновых культур для производства биотоплива второго поколения, пять китайских провинций Хэйлунцзян, Цзилинь, Ляонин, Аньхой и Хэнань работают над этим требованием [39]. Всего в Китае пять заводов по производству этанола, из них четыре используют зерновое сырье (кукуруза и пшеница), а другой использует клубень маниоки. Производство этанола из зерна составило 2 103 млн. литров, в то время как производство из маниоки составило 152 млн. литров. С другой стороны, производство биодизеля в Китае оценивается в 3 408 млн. литров, где основными используемыми исходными материалами являются использованные / отработанное кухонное масло и остатки жмыходробилки [40].

Индия производит ожидаемое количество биоэтанола, достаточного для достижения требования о смешивании биотоплива (около 2-%) с топливом на 2012 год. Производство биодизеля из растения ятрофы в настоящее время незначительно. В соответствии с национальной политикой в области биотоплива, утвержденной правительством Индии в 2009 году, было предложено смешать 20 процентов биотоплива с ископаемым топливом к концу 12-го пятилетнего плана (2017 год). Существующие требования о добавке 5% биоэтанола находятся в прямой зависимости от избыточного производства сахара в течение последних трех лет, тогда как из-за отсутствия подходящего сырья для производства биодизеля невозможно достичь замены биодизеля в 20 процентов. Чтобы удовлетворить потребность в требовании о добавках биотоплива 5% в биодизель в 2011–12 годах, требуется 3,21 млн. тонн биодизеля из 3,42 млн. гектаров земли [41]. При среднем урожае ятрофы в 2,5 тонны с гектара считается наиболее перспективным сырьем с коэффициентом для получения биодизеля с 30 процентами. При таких показателях к 2017 году требуется культивирование ятрофы в объеме 18,6 млн. га для поддержки требования о смешивании (20 процентов). Кроме того, производство энергии из биомассы, особенно энергии сетевого качества, работает достаточно хорошо при предполагаемом уровне в 31 000 МВт, при использовании излишка жмыха в 10 000 МВт на топливные заводы по производству из сахара, нефтехимический, ликероводочный завод, рисо завод, сахарный завод и текстильную фабрику. Прогнозируемый рост производства этанола в 2012 году на 29 процентов за счет каскадного результата более высокого производства сахара и связанной с ним более высокого производства патоки [41], Индия достигает определенного прогресса на пути к устойчивому рынку биотоплива.

Используемая литература

1. A. Arsuf and V. Sussman, "The Samaritan Oil Lamps from Apolonia-Arsuf" T.A. 10, pp.71-96, 1983.
2. L.S. Russell, *A Heritage of Light: Lamps and Lighting in the Early Canadian Home*, University of Toronto Press, 2003.
3. N.A. Otto, Apparatus for heating the ignition tube of gas motor engines, US patent 388301, Assigned to N.A. Otto, August 21, 1888.
4. Ford Predicts Fuel from Vegetation, *New York Times*, Sept. 20, p. 24, 1925.
5. M. Fangrui and M.A. Hanna, *Bioresource Technology*, 70, 1-15, 1999.
6. B. Kamm, P.R. Gruber and M. Kamm, *Biorefinery industrial processes and products. Status and future direction*, vols. 1. Weinheim, Wiley-Vch GmbH and Co KGaA; 2006.
7. C.V. Stevens and R. Verhe, *Renewable bio resources scope and modification for nonfood application*, Chichester, John Wiley and Sons Ltd, 2004.
8. S.N. Naik, V.V. Goud, P.K. Rout and A.K. Dalai, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 14, p. 578-597, 2010.
9. M. Balat, *Energy Exploration and Exploitation*, Vol. 25, p. 195-218, 2007.
10. Biofuels Platform, Production of Biofuel in the EU. Biofuels Platform, Lausanne. <http://www.biofuels-platform.ch/en/infos/eu-bioethanol.php>. 2010.
11. M. Balat, and H. Balat, *Applied Energy* Vol. 86, p. 2273-2282, 2009.
12. Status Report Biodiesel, Biodiesel Production and Marketing in Germany 2005, Union for the Promotion of Oil and Protein Plant, Berlin, Germany 2005.
13. Biofuels Annual, EU Annual Biofuels Report, Global Agriculture Information Network, GAIN Report Number:NL0019, 2010.
14. S.H. Gay, M. Mueller and F. Santuccio, Analysing the implication of the EU 20-10-20 targets for world vegetable oil production, paper presented in '07th EAAE Seminar" Modelling of Agricultural and Rural Development Policies". Sevilla, Spain, January 29th -February 1st, 2008.
15. E.H.S. Ralph, W. Mabey, J.N. Saddler and M. Taylor, *Bioresource Technology*, Vol. 101, p. 1570-1580, 2010.
16. G. Chaudhary, L.K. Singh, and S. Ghosh, *Bioresource Technology*. Vol. 124, p. 111-118, 2012.
17. Y. Chen, J.J. Cheng and K.S. Creamer, *Bioresource Technology*. Vol. 99, p. 4044-4064, 2008.
18. H. Rughoonundun, C. Granda, R. Mohee and M.T. Holtzapfel, *Waste Management*. Vol. 30, p. 1614-1621, 2010.
19. P. M. Schenk, S.R. Thomas-Hall, E. Stephens, U.C. Marx, J.H. Mussgnug, C. Posten, O. Kruse and B. Hankamer, *Bioenergy Research*, Vol. 1, Issue 1, 20-43, 2008.
20. A. Singh, P.S. Nigam and J.D. Murphy, *Bioresource Technology*, Vol. 102, Issue 1, p. 10-16, 2011.
21. L. Yanqn, M. Horsman, N. Wu, C. Lan and N. D. Calero, *Biotechnology Progress* Vol. 24, p. 815-820, 2008.
22. M.F. Demirbas and M. Balat, *Energy Conversion and Management*, Vol. 47, p. 2371-2381, 2006.
23. W.D. Walls, F. Rusco and M. Kendix, *Energy Policy*, Vol. 39, p. 3999-4006, 2011.
24. W. Thompson, S. Meyer and P. Westhoff, *Energy Policy*, Vol. 37 Issue 2, p. 745-749, 2009.
25. M.S. Luchansky and J. Monks, *Energy Economics*, Vol. 31, p 403-410, 2009.
26. X. Du and D.J. Hayes, *Energy Policy*, Vol. 37, Issue 8, p. 3227-3234. 2009.
27. Renewable Fuels Association, Accelerating industry innovation: 2012, ethanol industry outlook. In: Renewable Fuels Association, http://ethanolrfa.3cdn.net/d4ad995ffb7ae8fbfe_1vm62ypzd.pdf. 2012.
28. R. Colitt and S. Nielsen (2012-03-13). "Brazil Ethanol Drive Falts on Domestic Supply Shortage". *Bloomberg Businessweek*. Retrieved 2012-03-22.
29. S. Macrelli, J Mogensen and G. Zacchi, *Biotechnology for Biofuels*, 5:22, 2012.
30. Directive 2009/28/EC of the European Parliament and of the Council of 23 April 2009 on the promotion of the use of energy from renewable sources and amending and subsequently repealing Directives 2001/77/EC and 2003/30/EC.
31. P. Genovesi, *Current Opinion in Environmental Sustainability*, Vol. 3, Issues 1-2, p. 66-70, 2011.
32. EU-27 Biofuel Annual. EU biofuel annual 2012.
33. R. Steenblik, BIOFUELS - AT WHAT COST? Government support for ethanol and biodiesel in selected OECD countries, The Global Subsidies Initiative (GSI) of the International Institute for Sustainable Development (IISD), Geneva, Switzerland, 2007.
34. R. Brand, Networks in renewable energy policies in Germany and France, Berlin conference on the human

dimension of global environmental change: greening of policies—policy integration and interlinkages, Berlin, 3-4 December, 2004.

35. European Commission (EC). Green Paper, "A European strategy for sustainable, competitive and secure energy". Brussels, March 8, 2006.
 36. Global Subsidies Initiative (GSI-2009), Biofuels-At What Cost? Government support for ethanol and biodiesel in Canada. Available online at: <http://www.globalsubsidies.org/files/assets/oecdbiofuels.pdf>, verified May 10th 2011.
 37. Growing beyond oil delivering our energy future, a report card on the Canadian renewable fuels industry, Canadian renewable fuel association, November 2010.
 38. GAIN (Global Agriculture Information Network) report number CA0023, Canada Biofuel Annual 7/13/2010.
 39. C.A. Tisdell, Working Paper - "The Production of Biofuels: Welfare and Environmental Consequences for Asia 2009".
 40. GAIN (Global Agriculture Information Network) report number 12044, China-Peoples republic of Biofuel Annual 07/09/2012.
- GAIN (Global Agriculture Information Network) report number IN2081, India, Biofuel Annual 6/20/2012.

Достижения в производстве биотоплива

М.Д. Берни¹, И.Л. Дорилео², Дж.М. Прадо³, Т. Фостер-Карнейро^{3,*}
и М.А.А. Мейрелес³

¹Междисциплинарный центр энергетического планирования, Государственный университет Кампинаса - УНИКАМП, Бразилия. tberni@unicamp.br

²Междисциплинарный центр энергетического планирования, Федеральный университет Мату-Гросу - УФМТ, Бразилия.

³LASEFI/DEA/FEA (Школа пищевой инженерии) / УНИКАМП (Университет Кампинаса), Р. Монтейру Лобато, 80, Кампинас, 13083–862, SP, Бразилия

Краткое изложение

Основными движущими силами развития биотоплива являются нестабильность мировых цен на нефть, надежность энергоснабжения, глобальное потепление и создание новых возможностей для сельского хозяйства. Интерес к коммерческому производству биотоплива для транспорта возобновился в середине 1970-х годов, когда из сахарного тростника (Бразилия) и кукурузы (США) начали производить этанол с учетом требований о добавках в топливо, определяющее долю биотоплива, которое должно использоваться для транспортного топлива. В настоящее время более 50 стран приняли требования о добавках в топливо. Однако биотопливо все еще мало представлено в сравнение с ископаемым топливом. В этой главе будут обсуждаться достижения в производстве биотоплива первого, второго и третьего поколений, главным образом этанола из сахара и крахмала, обычного биодизеля, биогаза и биометана, целлюлозного этанола, синтез-газа, биомасла путем пиролиза и гидротермального процесса, водорода, и концепция биопереработки. Производство биомассы для биотоплива и будущие тенденции развития биотоплива также обсуждаются в этой главе.

Ключевые слова: биодизель, биотопливо, биогаз, биомасса, биомасло, этанол, водород

2.1 Введение

Проблемы, связанные с нестабильностью мировых цен на нефть, безопасностью энергоснабжения, глобальным потеплением и созданием новых возможностей для сельского хозяйства, стимулируют поиск источников энергии, которые являются чистыми, устойчивыми и конкурентоспособными с ископаемым топливом. Это основные движущие силы развития биотоплива, которое стало одним из наиболее перспективных видов энергии для обеспечения устойчивой энергетической матрицы [1, 2]. Биотопливо начали производить в конце 19-го века, когда биоэтанол был получен из кукурузы, а первый двигатель Rudolf Diesel работал на арахисовом масле. До 1940 г. биотопливо считалось жизнеспособным транспортным топливом, но падение цен на ископаемое топливо остановило их дальнейшее развитие. Интерес к коммерческому производству биотоплива для транспорта вновь возрос в середине 1970-х годов, когда этанол начали производить из сахарного тростника в Бразилии, а затем из кукурузы в Соединенных Штатах. В большинстве регионов мира самый быстрый рост производства биотоплива произошел за последние 10 лет при поддержке амбициозной государственной политики.

*Ответственный автор: taniaforsterc@gmail.com

Др. Викаш Бабу, др. Ашиш Таплиял и др. Гириеш Кумар Патель (ред.), Производство биотоплива, (11–58) 2014 ©
TOO «Scrivener Publishing»

Помимо вопросов энергетической безопасности и устойчивого сельского хозяйства, сокращение выбросов CO₂ в транспортном секторе стало особенно важной движущей силой для развития биотоплива. Одной из наиболее распространенных мер поддержки является требование о добавках, определяющий долю биотоплива, которое должно использоваться в автомобильном топливе, и часто сочетается с другими мерами, такими как налоговые льготы [3]. Более 50 стран приняли постановления или требования о добавках, и еще несколько стран объявили квоты на биотопливо на будущие годы [4, 5]. Поэтому биотопливо приобретает все большее значение среди альтернатив ископаемому топливу.

Тем не менее, биотопливо все еще мало представлено по сравнению с ископаемым топливом (рис. 2.1). Их крупномасштабное производство в конечном итоге зависит от повышения производительности, чтобы смягчить любые негативные последствия, связанные с ними, такие как сокращение численности коренных лесов или рост цен на сельскохозяйственные товары в результате землепользования. В свете этого идет всемирная технологическая гонка по разработке биотоплива второго и третьего поколений, основные программы поддержки которого осуществляются Соединенными Штатами (США) и Европейским союзом (ЕС).

Биотопливо получают из возобновляемых источников биомассы. Преобразование солнечного света в химическую энергию является одним из наиболее важных процессов для поддержания жизни на планете. Процесс преобразования солнечной энергии в химическую энергию, ответственную за воспроизводство растений, включает потребление O₂ и производство CO₂ и растительных ресурсов. Термин «биомасса» используется для наименования растительных ресурсов, используемых для производства биоэнергии.

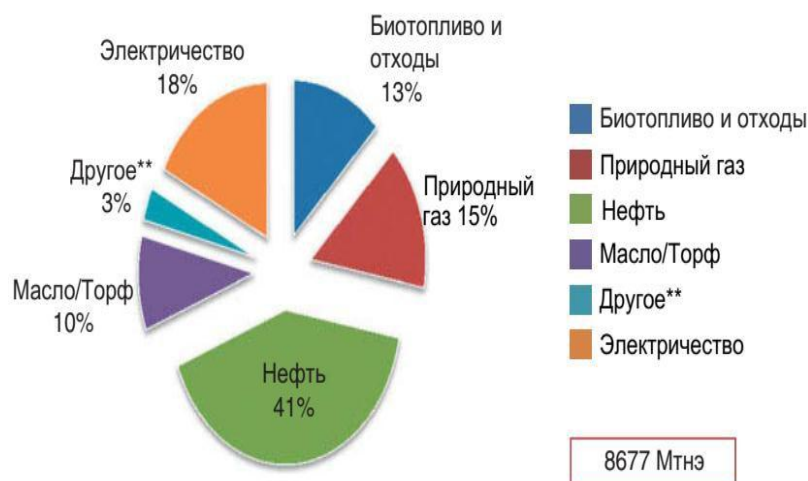


Рисунок 2.1 Процент источников энергии в 2010 году. По материалам МЭА [6].

Основными источниками биомассы являются леса, сельскохозяйственные культуры и отходы, полученные в результате агролесоводства и животноводства.

Биомасса классифицируется как современная или традиционная, в зависимости от ее происхождения и типа обработки. Традиционная биомасса связана с производством энергии при использовании ресурсов неустойчивого управления и методов, которые характеризуются низкой эффективностью и высоким уровнем выбросов загрязняющих веществ. Современная биомасса получается путем правильного управления, с использованием технологий, которые гарантируют высокую эффективность процессов производства и конверсии и обеспечивают получение высококачественного биотоплива, такого как этанол, биогаз и биомасло из растительных масел, лесоматериалов, промышленных и коммунальных отходов и т.д. [7].

Биомасса является одним из древнейших энергетических ресурсов, используемых человечеством. Хотя точных данных нет, по оценкам, одна треть населения мира зависит от традиционной биомассы в качестве основного источника энергии (дерево, сельское хозяйство, животноводство и лесное

хозяйство, среди прочих источников), так что около 90% потребления биомассы - традиционная биомасса. В некоторых регионах Африки, Азии и Латинской Америки семьи используют традиционную биомассу для удовлетворения своих энергетических потребностей, главным образом для приготовления пищи. В этих случаях использование биомассы обычно неэффективно, что приводит к обесцениванию природных ресурсов и наносит ущерб здоровью людей, пользующихся устройствами для приготовления пищи. Качество энергоуслуг, предоставляемых этим типом применения, обычно низкое, и работы по сбору и транспортировке топлива являются трудоемкими. Эти работы обычно выполняются женщинами и детьми. Кроме того, производство топлива из традиционных источников биомассы может усугубить проблему обезлесения, увеличивая нагрузку на местную экосистему и чистые выбросы парниковых газов (ПГ). Несмотря на эти недостатки, миллиарды людей по-прежнему используют традиционные источники биомассы для удовлетворения своих энергетических потребностей, поскольку они более доступны и дешевле. Сухую биомассу легко получить и хранить, и ее использование имеет культурные корни во многих обществах. Более того, в отсутствие этой функции многим странам пришлось бы увеличить импорт энергии, а многим нуждающимся семьям пришлось бы тратить больше денег на приобретение других видов энергии [7]. Биотопливо – энергоносители, произведенные из современной биомассы. Их преобразование происходит посредством физических, химических и/или биологических процессов. Производство жидкого биотоплива для замены нефти (особенно дизельного топлива и бензина) вызвало особый интерес и считается многообещающей альтернативой энергетическому рынку. Американский национальный план по биотопливу указывает на пять стратегических областей в цепочке производства биотоплива, у которых должны быть федеральные инвестиции: производство сырья; логистика распределения сырья; лучший процесс преобразования; системы распределения топлива; и технологии для эффективного использования топлива. Конгресс США в 2007 году принял «Стандарт на возобновляемое топливо» (СВТ) в рамках Закона об энергетической независимости и безопасности (ЗЭНБ). Этот закон направлен на сокращение потребления бензина на 20% к 2017 году. Это будет достигнуто за счет увеличения внутреннего производства биотоплива. Для реализации этого предложения необходимо ежегодно увеличить производство биотоплива на 35 млрд. галлонов.

Европа также стимулировала производство биотоплива. Общая сельскохозяйственная политика (ОСП), пересмотренная в 2003 году, стимулирует фермеров, которые выбирают европейские виды для энергетических целей, таких как рапс и сахарная свекла. Новая политика предусматривает специальное вознаграждение в размере 45 фунтов стерлингов за гектар для производства биоэнергии, и в этих районах нельзя выращивать продовольственные культуры [8].

Мировое производство биотоплива достигло 105 млрд. литров в 2010 г., что представляет собой увеличение на 17% в сравнение с примерно 90 млрд. литрами в 2009 г. (Рисунок 2.2). Однако эта цифра значительно отстает от увеличения на 35 млрд. галлонов, предложенного ЗЭНБ для сокращения потребления бензина. Поэтому еще многое предстоит сделать для достижения цели и превращение биотоплива в рентабельную замену топлива из нефти.

Бразилия является вторым по величине производителем этанола в мире и вторым по величине производителем биотоплива в мире. Бразильская программа по алкоголю (этанолу) (ProAlcool) была начата в 1975 г. как политика, направленная на уменьшение зависимости страны от импорта нефти.

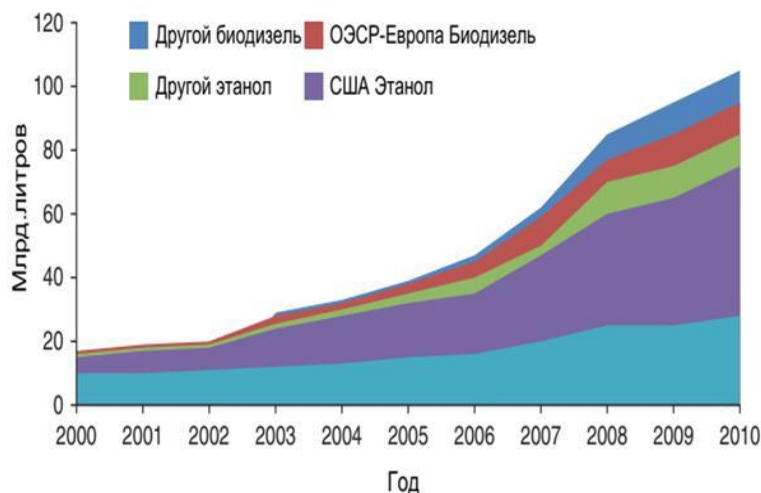


Рисунок 2.2 Мировое производство биотоплива в период 2000–2010 гг. По материалам МЭА (Международное энергетическое агенство) [9].

Она поощряла производство этанола из сахарного тростника, который сегодня является важной культурой для экономического развития Бразилии и замены бензина для транспорта. Сегодня около 50% бразильских самолетов летают на двигателях с гибким выбором топлива: бензин, этанол или их смеси. Кроме того, сахарный тростник является источником остаточной биомассы (жмых), которая используется для выработки электроэнергии при сжигании, но которую также можно использовать в процессах второго поколения для производства биоэтанола [10].

По оценкам, в 2010 г. во всем мире было произведено 86 млрд. литров этанола и 19 млрд. литров биодизеля. Десять лет назад производство биотоплива не превысило 20 млрд. литров (рис. 2.2.) [9]. Однако, несмотря на все экологические преимущества, предоставляемые биотопливом, расширение их производства ограничено их высокой себестоимостью по сравнению с конкурентами: ископаемое топливо (дизель и бензин). Одним из основных факторов, делающих производство биотоплива первого поколения более дорогим, является стоимость сырья. У сырья для производства биотоплива, обычно высокая добавленная стоимость, такое как кукуруза и сахарный тростник, которые используются для производства биоэтанола и соя, которая используется для производства биодизеля. Таким образом, стоимость продукции обычно высока. Из-за этого, за исключением этанола из сахарного тростника, производимого в Бразилии, биотопливу по-прежнему требуются субсидии для производства [11].

В 2011 г., согласно прогнозам, биоэтанол превзойдет отрасль кормления животных как крупнейшего потребителя кукурузы в США, что поможет увеличить рентабельность производства и снизить потребность в субсидиях. Стандарт возобновляемого топлива (СВТ) Агентства по охране окружающей среды в США (АООС) обеспечивает гарантированный рынок в 50 млрд. литров в 2012 году, но отрасль почти достигла этой цели в 2010 г., предполагая, что только одно требование не поддержит существующий рынок. В связи с требованием производство этанола из кукурузы увеличится до 57 млрд. литров в 2015 г.

Бразильский этанол из сахарного тростника, вероятно, станет более распространенным в США, если американские субсидии и тарифы на этанол будут отменены. Биоэтанол из сахарного тростника дешевле и его эффективнее производить, хотя есть опасения, что его производство может косвенно привести к вырубке леса. Бразилия планирует построить 100 новых сахарных заводов к 2019 г., увеличив мощность на 66%, чтобы увеличить производство и экспорт бразильского этанола в ближайшие годы.

Учитывая данный сценарий, в области биотоплива предстоит еще многое сделать для повышения экономической целесообразности. Технологические достижения в производстве и переработке биотоплива могут привести к появлению более конкурентоспособных видов топлива. Развитие химических и биологических наук, наряду с новыми культурами для производства энергии, новыми ферментами и искусственным моделированием биологических процессов (анаэробное сбраживание, ферментация и т.д.) может снизить их производство [12]. Поэтому в развитие этих технологий вкладываются большие средства. Целью данной работы является обзор некоторых самых последних достижений в производстве биотоплива.

2.2 Достижения в производстве биотоплива первого, второго и третьего поколений

Термин «биотопливо» относится к жидкому и газообразному топливу, полученному из биомассы. Идут широкие дискуссии о том, как классифицировать биотопливо [3]. Они обычно подразделяются на биотопливо первого, второго и третьего поколений, но одно и то же топливо можно классифицировать по-разному в зависимости от того, является ли технология зрелой, баланса выбросов парниковых газов или сырье используется для определения различия. В этой работе используется определение, основанное на зрелости технологии, а также термины «традиционный» и «усовершенствованный» для классификации [9].

2.2.1 Традиционное и усовершенствованное биотопливо

Существует ряд технологий для преобразования энергии из биомассы, подходящих для применения в малых и крупных масштабах. Принимая во внимание конвенцию, принятую Международным энергетическим агентством (МЭА) (*Международное энергетическое агентство*) для классификации биотоплива, на рисунке 2.3 представлена сводная информация о традиционных и усовершенствованных видах биотоплива, иллюстрирующие технологии и процессы их получения.

	Усовершенствованное биотопливо			Традиционное биотопливо
	Базовые и прикладные И и Р	Выявление	Ранний коммерческий	Коммерческий
Биоэтанол		Целлюлозный этанол		Этанол из сахарных и крахмальных культур
Биотопливо дизельного типа	Биодизель из микроводорослей; Углеводород из сахара	Б-Ж1-дизель (путем газификации + ФТ2)	Гидроочищенное растительное масло	Биодизель (путем трансэстерификации)
Другие виды топлива и добавки	Новое топливо (например, фураны)	Биобутанол; ДМЕ3; Топливо путем пиролиза	Метанол	
Биометан		Био-SG4		Биогаз (анаэробная переработка)
Водород	Все остальные новые способы	Газификация с преобразованием	Преобразование биогаза	

Жидкое биотопливо
 Газообразное топливо

1. Биомасса в жидкость
 2. Фишер-Тропш
 3. Диметиловый эфир
 4. Биосинтетический газ

Рисунок 2.3 Статус основных биотопливных технологий, по материалам МЭА [9].

По количеству применений можно отметить, что особое внимание уделялось жидкому топливу [9].

Традиционные биотопливные технологии включают хорошо отлаженные процессы, в ходе которых уже производят биотопливо в промышленных масштабах. Это биотопливо, обычно называемое первым поколением, включает этанол из сахара и крахмала, биодизельное топливо из масличных культур и чистое растительное масло, а также биогаз, получаемый в результате анаэробного сбраживания. Типичные виды сырья, используемые в этих процессах, включают сахар и свеклу, крахмалосодержащие зерна, такие как кукуруза и пшеница, масличные культуры, такие как рапс, соя и масличная пальма, а в некоторых случаях животные жиры и отработанные кулинарные масла.

Передовые биотопливные технологии - это процессы преобразования, которые все еще находятся на стадии исследований и разработок, экспериментальных или демонстрационных фаз, обычно называемых вторым или третьим поколением. К этой категории относятся растительное масло с гидроочисткой (РМГ) из животного жира и растительного масла, а также биотопливо из лигноцеллюлозной биомассы, такое как целлюлозный этанол, дизельное топливо из биомассы в жидкость (Б-Ж) и биосинтетический газ. (Био-СГ). Это также включает биотопливо из водорослей и превращение сахара в биотопливо дизельного типа с использованием биологических или химических катализаторов [9, 13].

Биотопливо второго поколения может производиться из отходов, образующихся в результате промышленных процессов, сельского хозяйства или агролесоводства. Они представляют собой альтернативы для снижения себестоимости производства биоэнергии и снижения конкурентоспособности с продуктами питания. Производство целлюлозного этанола, который является одним из наиболее многообещающих источников «чистой и дешевой энергии», может, в принципе, использовать в качестве любого сырья, содержащего целлюлозу и гемицеллюлозу (например, жмых, солому, шелуху и т.д.). Однако в этой области необходимы значительные технологические достижения, так как эти технологии пока экономически неосуществимы. Процессы сложны и включают использование технологий, которые все еще находятся в зачаточном состоянии. Начиная с биотоплива третьего поколения, производство биодизеля из микроводорослевых культур является многообещающей альтернативной формой биоэнергетики по доступной цене с использованием почв, которые не представляют большой ценности для производства продуктов питания. Однако эта технология все еще находится на стадии лабораторных исследований. В ближайшее время — это будет способствовать крупномасштабному производству биотоплива.

Баланс выбросов ПГ зависит от исходного сырья и используемых процессов, и важно понимать, что улучшенные рабочие характеристики биотоплива не всегда превосходят таковые параметры обычного биотоплива. Тем не менее, экологический интерес стимулирует их развитие, поэтому они могут конкурировать как с ископаемым топливом, так и с обычным биотопливом.

Далее в документе более подробно представлены основные процессы, используемые для производства биотоплива первого, второго и третьего поколений.

2.2.2 Биотопливо первого поколения

Биотопливо первого поколения - топливо, которое в настоящее время достигло стадии коммерческого производства. В общем, их получают из продовольственных культур. Для биотоплива первого поколения используются сельскохозяйственные культуры в качестве сырья для своего производства, например, этанол из сахарного тростника и биодизель из растительных масел. В таблице 2.1 представлен обзор технологий производства биотоплива первого поколения. Далее представлены достижения в их производстве.

2.2.2.1 Этанол из сахара и крахмала

В процессе превращения сахара в этанол, сахарозу получают из сахарных культур, таких как сахарный тростник, сахарная свекла и сладкое сорго, и впоследствии ферментируют дрожжами в этанол, также образуя другие метаболические побочные продукты, такие как диоксид углерода. Затем этанол выделяют и концентрируют различными способами.

Таблица 2.1 Технологии производства биотоплива первого поколения.

Тип биотоплива	Собственное имя	Сырье	Технологии преобразования
Биодизель	Биодизель из энергетических культур: метиловые и	Масличные культуры (соя, рапс, пальма и др.)	Экстракция холодным и теплым прессованием, очистка, трансэтерификация
	Биодизель из отходов	Отходы, масло для жарки/готовки	Гидрогенизация
Биоэтанол	Обычный этанол	Сахарная свекла, сахарный тростник	Прямое брожение сока
	Крахмалистый этанол	Кукуруза, пшеница и другие зерна	Ферментативный гидролиз, ферментация

Процесс производства этанола из сахарного тростника включает в себя следующие этапы (рисунок 2.4):

- Измельчение: биомасса очищается и размалывается;
- Подготовка сусла: воду смешивают с соком сахарного тростника и патокой, чтобы отрегулировать концентрацию сахара для последующей ферментации;
- Ферментация: к смеси добавляют дрожжи, превращая сахара в этанол и диоксид углерода;
- Центрифугирование: жидкие и твердые фракции разделяются;
- Дистилляция: этанол, содержащийся в жидкой фракции, отделяется от воды, с чистотой приблизительно 95,6% (гидратированный этанол);
- Дегидратация: гидратированный этанол проходит процесс, чтобы удалить оставшуюся воду (азеотропная перегонка, экстрактивная перегонка или молекулярное просеивание), и получить обезвоженный этанол;
- Денатурирование: этанол, который будет использоваться в качестве топлива, денатурируется с небольшим процентом добавок, таких как метанол, изопропанол, ацетон, метилэтилкетон, метилизобутилкетон и т. д., чтобы сделать его непригодным для потребления человеком.

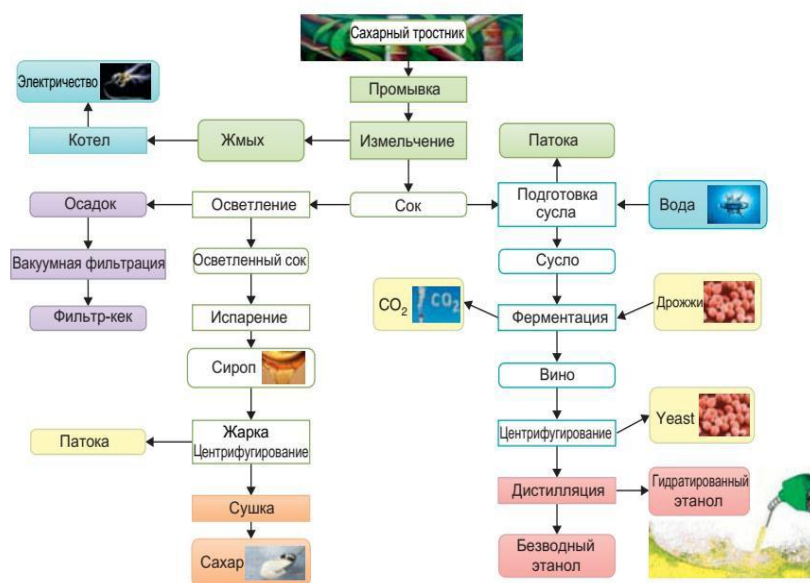


Рисунок 2.4 Этапы производства на сахарных заводах и перегонных установках. По материалам Прадо и Мейрелеса [14].

Для производства биоэтанола первого поколения из кукурузы необходимо адаптировать процесс, используемый для сахарного тростника, поскольку крахмал должен подвергаться предварительной обработке, чтобы его гидролизировали в сахар перед ферментацией. На стадии измельчения сырье размалывают на мелкие частицы. Эти частицы затем смешиваются с водой и ферментами (α -амилаза), и смесь готовится при высоких температурах (140–180 °C) для разжижения крахмала. Смесь проходит сахаризацию, где добавляется фермент глюкоамилаза для превращения молекул крахмала в сбраживаемые сахара. Стадии ферментации и дистилляции аналогичны тем, которые используются при переработке сахарного тростника. Высокие температуры варки подразумевают высокие эксплуатационные расходы, что делает экономически менее выгодным этанол из крахмала по сравнению с этанолом из сахарного тростника. Этанол первого поколения может использоваться в качестве чистого топлива или может смешиваться с бензином и другими видами топлива. Самые последние достижения в производстве этанола первого поколения были достигнуты благодаря улучшению производства этанола путем использования пероксида водорода (*Saccharomyces cerevisiae*), в частности, путем изменения генома и глобальной технологии расшифровки. Среди наиболее значительных разработок в области ферментации — это внедрение высокой технологии гравитации, использование лигноцеллюлозных гидролизатов в качестве исходного сырья и применение непрерывных процессов с клетками высокой плотности. Такие технологии выигрывают от выбора и конструирования более устойчивых штаммов дрожжей с индивидуальными свойствами для каждого из процессов. [15].

2.2.2.2 Традиционный биодизель

Разрабатываются несколько процессов, нацеленных на получение топлива со свойствами, очень похожими на дизельное топливо и керосин, одним из которых является биодизельное топливо. Биодизель определяется Американским обществом испытаний и материалов (АОИМ) как «синтетическое жидкое топливо, полученное из возобновляемого сырья и состоящее из смеси алкиловых эфиров длинноцепочечных жирных кислот, полученных из растительных масел или животных жиров». Он также может определяться как «производная от возобновляемой биомассы, которая может заменить, частично или полностью, ископаемое топливо для двигателей внутреннего сгорания или получения энергии другого типа».

Традиционный биодизель может быть получен из сырых растительных масел, полученных, среди прочего, из соевых бобов, рапса, пальмового масла или подсолнечника, а также из животных жиров и отработанного растительного масла. Растительные масла, трансэтерифицированные спиртами, являются наиболее распространенной формой биодизеля. Целью трансэтерификации является изменение молекулярной структуры растительного масла, чтобы его физико-химические характеристики были аналогичны минеральному маслу. Реакция трансэтерификации представляет собой превращение растительного масла в метиловые или этиловые эфиры жирных кислот, которые составляют биодизельное топливо. Реакция происходит в присутствии кислотного, основного или ферментативного катализатора и короткоцепочечного спирта. Наиболее используемыми спиртами в этом типе реакции являются метанол, который токсичен и получается из ископаемого топлива, и этанол, безвредный растворитель. Жирная кислота вступает в реакцию с короткоцепочечным спиртом, образуя сложный эфир (биодизель) и воду. Кроме того, глицерин образуется как побочный продукт, особенно применяется в косметической отрасли. Реакция трансэтерификации может быть медленной при проведении при комнатной температуре, но она может быть ускорена с использованием тепла и /или катализаторов, особенно основных, которые могут быть извлечены в конце реакции и использованы повторно. При типовом балансе массы на каждые 100 кг неочищенного растительного масла требуется 10–15 кг спирта для производства 100–105 кг биодизеля и 10 кг глицерина [16].

Большим преимуществом использования трансэтерифицированного масла (биодизеля) является возможность замены минерального дизеля без необходимости модификации двигателей. Биодизель является одним из видов биотоплива, которое имеет некоторые из наиболее совместимых характеристик с ископаемым топливом (дизель из нефти). Например, высокая теплотворная способность биодизеля (39–41 МДж / кг) сравнима с нефтяным дизельным топливом (43 МДж / кг), и другие важные параметры, такие как точка воспламенения, цетановое число и кинематическая вязкость, аналогичны его ископаемой альтернативе [17]. Поэтому, это топливо смешиваются с ископаемым топливом в любой пропорции, можно использовать ту же инфраструктуру, и топливо полностью совместимо с двигателями в транспортных средствах большой грузоподъемности.

Текущее мировое производство биодизеля из различного сырья из жировых продуктов достигает около 6 млрд. литров в год и составляет 10% от общего производства биотоплива. В Бразилии правительство установило требование на смешивание биодизеля с бензином, которое способствовало увеличению производства примерно с 100 млн. м³ в 2006 году до более 1,4 млрд. м³ в 2009 году, хотя устойчивость производства биодизеля еще предстоит продемонстрировать [1].

Самые последние достижения в производстве биодизеля первого поколения включают переход от использования метанола к использованию этанола из-за токсичности первого, тестирование новых катализаторов и использование различного сырья, особенно непищевого. Как правило, более насыщенный жир обеспечивает лучшие свойства биодизеля, особенно в отношении цетанового числа и стабильности, хотя они имеют более высокие точки плавления или каплепадения, что может быть проблемой в более холодных климатических условиях. Поэтому, использование сои и касторового масла малоосуществимо, тогда как талловое и пальмовое масло представляют собой более подходящие альтернативы [1]. Поэтому еще предстоит изучить ряд подходов, которые могут привести к оптимизации производства биодизеля и, таким образом, снизить его стоимость.

2.2.2.3 Биогаз и биометан

Биогаз может быть получен путем анаэробного сбраживания исходного сырья, такого как органические отходы, навоз и сточные воды, или из специальных экологически чистых сельскохозяйственных культур, таких как кукуруза, трава и пшеница. Процесс анаэробного сбраживания, или биометанизация, представляет собой привлекательную стратегию переработки для уменьшения загрязнения различных остатков из биологического твердого вещества и может принести

пользу обществу, обеспечивая возобновляемый источник биотоплива из различных органических субстратов. В основном, микроорганизмы сохраняются в биореакторе с разделением между ацидогенными и метаногенными бактериями. Процесс биометанизации биомассы осуществляется серией биохимических превращений, которые можно разделить на первую стадию, где происходит гидролиз, подкисление и оживление, и вторую стадию, на которой ацетат, водород и диоксид углерода превращаются в метан. Продукт биогаза путем биометанизации содержит от 60 до 80% метана. Биогаз часто используется для выработки тепла и электричества, но его также можно преобразовать в биометан путем удаления CO_2 и сероводорода (H_2S) и закачки его в газораспределительную сеть. Биометан также может использоваться в качестве топлива для транспортных средств на природном газе.

Существует большое количество факторов, влияющих на эффективность производства биогаза, такие как pH, температура и ингибирующие параметры (например, высокая органическая нагрузка) [18]. Последние тенденции в производстве биогаза направлены на оптимизацию этих рабочих условий для повышения выхода и снижения затрат.

2.2.3 Биотопливо второго поколения

Вместо того, чтобы использовать только легко экстрагируемые сахара, крахмалы или масла, как в предыдущем поколении, для биотоплива второго поколения не используются пищевые продукты в качестве сырья. Они сосредоточены на различных видах сырья и их частях, чтобы исследовать более широкий спектр сырья. Одним из примеров является биоэтанол, полученный из лигноцеллюлозной биомассы из различных непищевых продуктов, с использованием всех частей биомассы. Сырьем могут быть сельскохозяйственные отходы, такие как солома, отходы лесного хозяйства или культуры биомассы, такие как травы (например, просо прутьевидное) и древесина из лесных хозяйств с коротким циклом рубки. Все эти сырьевые материалы могут быть преобразованы в биотопливо путем биохимических реакций с использованием ферментов и / или микроорганизмов, включая генетически модифицированные микроорганизмы, которые были разработаны специально для этой цели [19]. Поскольку для биотоплива второго поколения используются различные пути биоконверсии, они, по-видимому, избегают дилеммы «топливо против пищи».

Основные процессы производства биотоплива второго поколения показаны на рисунке 2.5. Преобразование биомассы проходит с помощью двух общих подходов: термохимическое разложение, включая процессы газификации, биокarbonизации, сжижения и термического разложения (пиролиза); и биологическое расщепление, по существу относящееся к микробному пищеварению и ферментации. В то время как биологическая переработка обычно очень избирательна и дает небольшое количество дискретных продуктов с высоким выходом при помощи биологических катализаторов, термическая конверсия часто дает множественные и сложные продукты за очень короткое время реакции, и неорганические катализаторы часто используются для улучшения качества или спектра продукта [21].

Термин «биотопливо второго поколения» определяется в основном на основе сырья и технологий преобразования. Тем не менее, нет точного определения. Поэтому, некоторые виды биотоплива не могут быть отнесены к конкретному «поколению» (например, биометану), в то время как другие продукты претендуют на третье поколение (топливо из бактерий, улавливающих CO_2). Основными видами биотоплива второго поколения, которые были изучены в последние годы, являются:

- Гидроочищенные растительные масла (ГРМ): они не являются строго вторым поколением, потому что сырье является (в настоящее время) первым поколением;
- Топливоиз гидроочищенных сложных эфиров и жирных кислот (ГСЭЖК), также называемые биоавиатопливо: также основанные на ГРМ, они были впервые разработаны для использования в авиации, и теперь они применяются для различных видов биотоплива;
- Целлюлозный этанол: химически нет разницы между целлюлозным этанолом и обычным биоэтанолом; однако сырье изготавливается из целлюлозы второго поколения, тогда как в первом поколении простые сахара непосредственно ферментируются в биоэтанол.

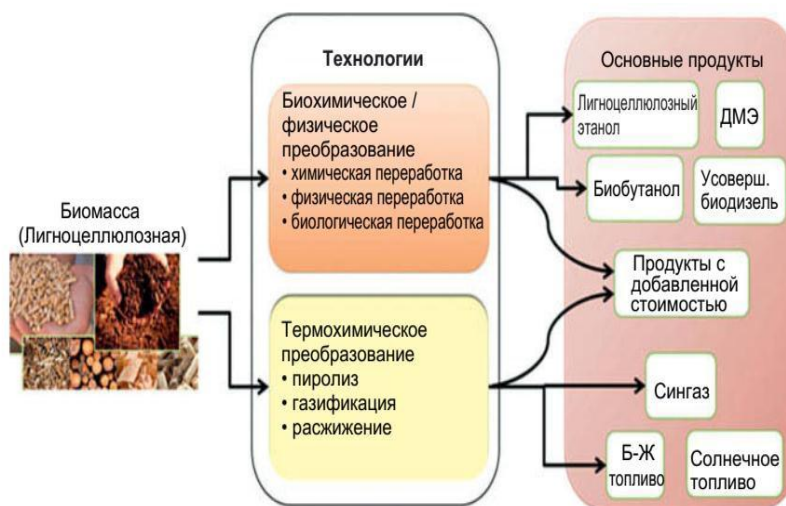


Рисунок 2.5 Основные процессы производства биотоплива второго поколения. По материалам Баковски и соавторов [22].

На протяжении более трех десятилетий биотопливо, полученное из лигноцеллюлозных продуктов, получало большое внимание. Обширная база данных в литературе подтверждает, что разработки в этой области достигли почти коммерческой стадии [23]. Далее представлены основные виды биотоплива второго поколения.

2.2.3.1 Целлюлозный этанол

Лигноцеллюлозная биомасса считается важной непищевой альтернативой для производства целлюлозного этанола. Это также дешево, много и быстро растет. Лигноцеллюлозная биомасса состоит из комбинации лигнина, целлюлозы и гемицеллюлозы. Лигноцеллюлозный комплекс обеспечивает структурную структуру, составляющую большую часть растительного вещества. Большое разнообразие видов топлива может быть получено из лигноцеллюлозного материала посредством биологического или химического синтеза продуктов биологического или химического разложения целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина. Особое внимание уделяется производству этанола этими способами для получения биоэтанола второго поколения. Также есть интерес к производству других химикатов и компонентов топлива.

Ферментация простых сахаров из сахароносных культур и из гидролиза крахмалоносных культур с получением этанола - коммерческий и широко используемый процесс производства биотоплива первого поколения. Способы получения этанола из лигноцеллюлозных материалов более сложные, чем из сахара и крахмалов, поскольку лигноцеллюлозные материалы содержат более сложные сахарные полимеры, такие как целлюлоза и гемицеллюлоза, которые сложнее расщепить [24]. В связи с этим для производства биоэтанола второго поколения из биомассы требуются дополнительные этапы обработки (рис. 2.6).

Целлюлоза (источник гексоз, таких как глюкоза), а также гемицеллюлоза (главным образом, источник пентоз, таких как ксилоза) недоступны для традиционных микроорганизмов, вырабатывающих этанол. Поэтому, эти фракции должны быть гидролизированы до ферментации. Основная цель гидролиза – расщепление полимерной структуры не содержащего лигнина целлюлозного материала на сбраживаемые мономеры сахара [22]. Для получения целлюлозного материала, не содержащего лигнин, необходима предварительная обработка. Целью предварительной обработки является разделение биомассы физико-химическими или биохимическими способами на фракции целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина. Во время этого процесса также можно иногда гидролизовать гемицеллюлозу в моносахариды. Затем целлюлоза подвергается гидролизу с образованием сбраживаемых сахаров. Сахары, полученные из гемицеллюлозы и целлюлозы, затем с использованием дрожжей сбраживаются в этанол [25].

Разрушение лигноцеллюлозного комплекса обычно достигается за счет высоких энергозатратных биохимических преобразований целлюлозных и гемицеллюлозных компонентов биомассы в сбраживаемые сахара. Стадия гидролиза целлюлозы может быть проведена химическими способами с использованием кислотных или основных катализаторов, или биологическими способами с использованием ферментативных катализаторов. Кислотный гидролиз является наиболее известным процессом, хотя кислотный и щелочной гидролиз являются относительно быстрыми методами, при

которых получают высокие концентрации глюкозы, они имеют ряд недостатков, такие как необходимость нейтрализации реакционной среды после процесса, высокая коррозия оборудования и образование твердых отходов. Из-за экологических проблем, связанных с кислотным и щелочным гидролизом, ферментативный процесс более широко используется в настоящее время [26]. Основным преимуществом ферментативного гидролиза является то, что не образуются ингибиторы микроорганизмов, вызывающих ферментацию. С другой стороны, это очень медленный процесс, что делает его дорогостоящим, и сложно извлекать и повторно использовать ферменты. Кроме того, ферменты не могут расщеплять лигноцеллюлозный комплекс, поэтому ферментативный гидролиз требует предварительной обработки, которая позволяет ферментам получить доступ к целлюлозе и гемицеллюлозе [27–28].

Значительные исследования направлены на предварительную обработку для улучшения ферментативного гидролиза. Проверяются различные подходы: кислота, щелочь, сульфат, жидкая горячая вода, обработка паром, обработка углекислым газом, перколяция с использованием рециркулируемого аммиака, озонлиз, влажное окисление, ионные жидкости, органороль, микроволновое излучение и ультразвук [24, 29–31]. Ионные жидкости используются в качестве растворителей и реакционных сред для обработки биотоплива, поскольку их гидрофобность, меньшая вязкость, космотропный анион и хаотропный катион обычно повышают активность и стабильность ферментов [32]. Другой вариант, который недавно был изучен для стадии гидролиза производства лигноцеллюлозного этанола, заключается в использовании суб / сверхкритической воды в качестве реакционной среды в автокаталитическом процессе [33–35]. Хотя процессы гидролиза развиты не полностью, в последние годы им уделялось особое внимание, и в настоящее время достигнут огромный прогресс в том, чтобы сделать их технически и экономически осуществимыми.

К сожалению, ни один природный организм не может одновременно метаболизировать как гексозы, так и пентозы, несмотря на тот факт, что многие встречающиеся в природе дрожжи и бактерии способны метаболизировать один или другой. Поскольку для штаммов дрожжей, используемых в промышленных масштабах для производства этанола нельзя использовать ксилоту, штаммы дрожжей с такой способностью были разработаны с помощью генной инженерии. Чтобы сделать лигноцеллюлозный этанол возможным, помимо использования всех гексозных и пентозных сахаров, микробные штаммы должны быть устойчивыми к соединениям, образующимся или высвобождающимся во время разрушения биомассы [36–37]. *Saccharomyces cerevisiae* и *Zymomonas mobilis* – нативные продуценты этанола, которые могут эффективно преобразовывать глюкозу в этанол, но для них нельзя

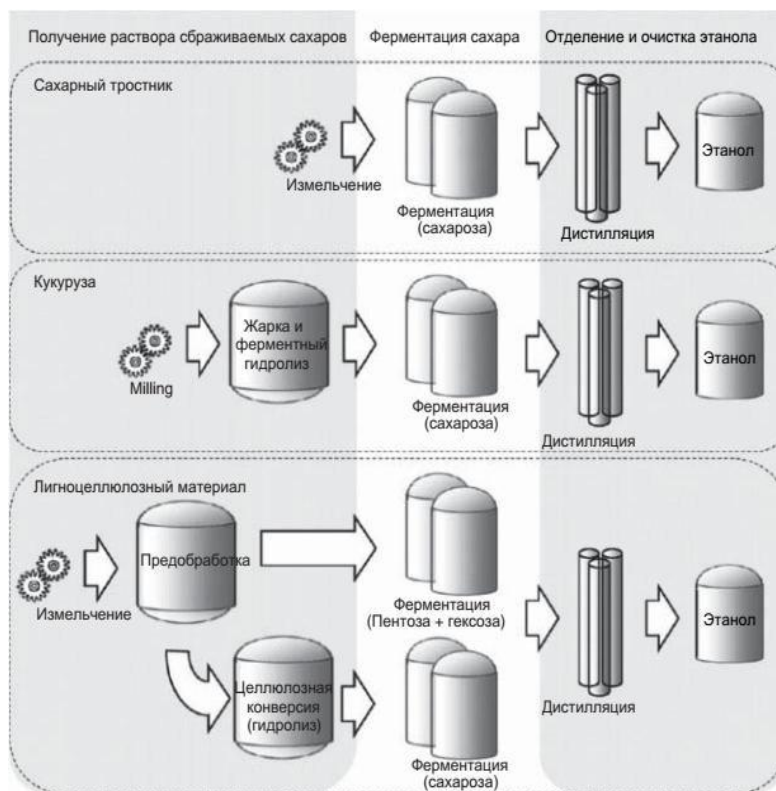


Рисунок 2.6 Этапы обработки для производства биоэтанола второго поколения из лигноцеллюлозной биомассы в сравнение с

процессами производства топлива первого поколения. Перепечатано из Достижения биотехнологии, 28, С.И. Муссато, Г. Драгоне, П.М.Р. Гуймараш, Дж.П.А. Сильва, Л.М. Карнейру, И.С. Роберто, А. Висенте, Л. Домингес, Я.А. Тейшейра, Технологические тенденции, мировой рынок и проблемы производства биоэтанола, 817–830, 2010, с разрешения

Elsevier [15] использовать пентозные сахара в качестве источников углерода. В то же время, для *Escherichia Coli* может использоваться большинство углеводных компонентов, присутствующих в лигноцеллюлозе, но она вырабатывает лишь небольшое количество этанола во время ферментации, поэтому штаммы *E. coli* были метаболически модифицированы для увеличения выработки этанола. Два научных подхода для обеспечения ферментации, как гексоз, так и пентоз в этанол включают: (i) генетически внедрить недостающий каскад реакций ксилозы в целевой организм; (ii) и совместное культивирование организмов, метаболизирующих ксилозу и глюкозу [38–39].

В этой связи, многое можно использовать в этой области для повышения выхода и уменьшения стоимости биоэтанола второго поколения. Тем не менее, каскад реакций лигноцеллюлозного этанола обеспечивают положительный (по сравнению с ископаемыми) прирост энергии и существенную возможность снизить выбросы ПГ по сравнению с бензином и этанолом из кукурузы [40].

В настоящее время Канада, Швеция, США, Дания, Испания, Италия, Франция, Япония, Индия, Австралия и Норвегия производят этанол из целлюлозного сырья на разных стадиях разработки, и в секторе биоэнергетики было разработано несколько государственных / частных международных проектов, чтобы продвигать основанную на биологии экономику [30–31, 41]. Тем не менее, технологии преобразования для производства биоэтанола из ресурсов целлюлозной биомассы, таких как лесные материалы, сельскохозяйственные отходы и городские отходы, еще не были продемонстрированы в промышленных масштабах [5].

Несмотря на существенный прогресс в исследованиях и разработках целлюлозного этанола, предстоит решить еще много задач, таких как [13, 15]:

- Разработка подходящей и экономически выгодной стадии процесса гидролиза;
- Высокая энергоемкость предварительной обработки биомассы;
- Улучшение скорости преобразования и выхода гемицеллюлозных сахаров;
- Процесс в промышленном масштабе;
- Основное оборудование, необходимое для коммерческой демонстрации некоторых технологий, таких как обработка паром, не существует;
- Восстановление химикатов предварительной очистки и сточных вод;
- Разработка микроорганизмов, которые могут вырабатывать этанол из смеси сахаров, отличной от той, которая была обнаружена при ферментации для топлива первого поколения;
- Интеграция процессов для минимизации энергопотребления.

С учетом этих условий необходимы дальнейшие исследования и разработки в этой области. Поскольку Бразилия является вторым по величине производителем биоэтанола первого поколения в мире, эта страна активно инвестирует, чтобы сделать биоэтанол второго поколения технически и экономически осуществимым. Другие страны, особенно США, также предпринимают усилия по обеспечению производства этанола второго поколения.

2.2.3.2 Синтетический газ

Биосинтетический газ (Био-СГ), также известный как синтез-газ, представляет собой биометан, полученный из биомассы с помощью термохимических процессов, таких как газификация. Газификация была разработана более 100 лет назад для производства газообразного топлива, городского газа из угля и торфа. В принципе, газификация биомассы – это просто неполное сгорание биомассы в условиях низкого содержания кислорода с образованием CO, CO₂ и H₂ вместо CO₂ и воды. Процесс включает в себя дублирующие реакции и стадии, такие как сушка, пиролиз, газификация угля и окисление. Это преобразование обычно происходит при повышенных температурах (500–1400 °C) и давлениях в условиях от атмосферного давления до 3 МПа. В качестве окислителя используется: воздух, чистый кислород, пар или смесь этих газов. Важным параметром процесса является режим работы газификатора. Обычно газификаторы работают в режиме с неподвижным слоем, псевдооживленным слоем или перемежающего потока. Этому процессу также значительно содействуют катализаторы; наиболее используемыми катализаторами являются доломит, щелочь (металл) и никель [37].

Использование синтез-газа включает прямое сгорание в котлах, турбинах или двигателе внутреннего сгорания для выработки электроэнергии, тепла или того и другого. Кроме того, газификация позволяет производить очень чистое синтетическое биотопливо, которое можно сжигать в широком диапазоне жидких топлив, включая биодизельное топливо [37].

Использование транспортных средств на природном газе начало быстро расти, особенно в последнее десятилетие, достигнув доли около 25% от общего числа транспортных средств в таких странах, как Бангладеш, Армения и Пакистан [9]. Альтернативным чистым топливом для этих транспортных средств является биометан, полученный в результате анаэробного сбраживания (первое поколение) или газификации (второе поколение) биомассы [42].

Газификация практикуется в течение многих лет, и, хотя существует множество примеров демонстрационных и предкоммерческих проектов, все еще на удивление мало успешных эксплуатационных установок [21]. Первая демонстрационная установка по термохимическому производству биометана из твердой биомассы начала работать в конце 2008 года в Гюссинге, Австрии, а завод планируется в Гетеборге, Швеции.

2.2.3.3 Усовершенствованный биодизель из биомассы

Биодизель второго поколения, также известный как синтетический биодизель, представляет собой жидкое биотопливо, полученное из лигноцеллюлозной биомассы с помощью термохимических процессов. Усовершенствованный биодизель включает в себя:

- Гидроочищенное растительное масло (ГРМ), которое получают гидрированием растительных масел или животных жиров;
- Дизель из биомассы в жидкость (Б-Ж), также называемое дизельным топливом Фишера-Тропша.

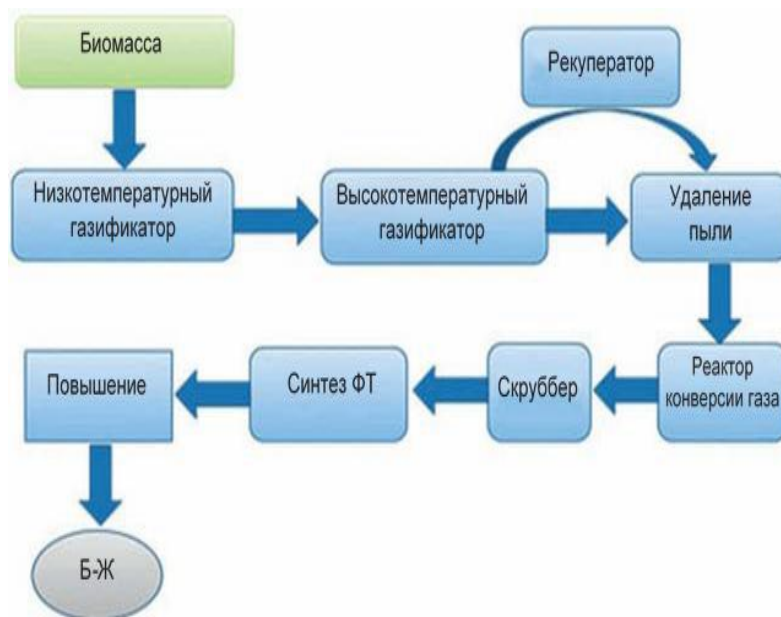


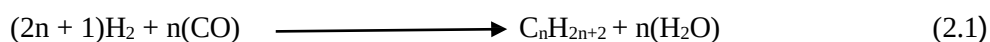
Рисунок 2.7 Типовой процесс получения биодизеля Б-Ж.

Гидропереработка масел в углеводороды с использованием подходящего катализатора и соответствующих эксплуатационных условий приводит к получению зеленого дизельного топлива, которое можно смешивать с дизельными фракциями из нефти. Помимо гораздо более высокого цетанового числа, преимущество зеленого дизельного топлива в сравнение с обычным биодизельным топливом заключается в более высокой стабильности [23].

Б-Ж является наиболее используемым процессом для производства биодизеля второго поколения. Биодизель Б-Ж можно получить из любой биомассы, особенно из лигноцеллюлозы с низким содержанием влаги. Типовой процесс производства биодизеля Б-Ж показан на рисунке 2.7.

Процесс Б-Ж состоит из двух этапов. На первом этапе, газификации, биомасса превращается в синтез-газ с высоким содержанием водородом и оксидом углерода. Синтез-газ получают в ходе трехступенчатого газификационного процесса: 1) низкотемпературная газификация, 2)

высокотемпературная газификация и 3) эндотермическая газификация перемещающегося слоя. Далее следует стадия очистки для устранения алкилирующих агентов, которые представляют собой мелкие частицы газообразных примесей (пыли). Перед использованием на следующем шаге, необходимо скорректировать соотношение H_2/CO синтез-газа путем конверсии водяного газа [23]. После очистки, синтез-газ каталитически преобразуется в широкий спектр углеводородных жидкостей, включая синтетический дизель и биокеросин. Основной каталитический процесс для превращения синтез-газа в жидкое топливо известен как Фишер-Тропш (ФТ). Этот процесс происходит при высоких температурах, это включает реакции между водородом и окисью углерода, которая выражается следующим уравнением:



Наиболее часто используемыми катализаторами являются Mo, W, Co и Ni, и последние исследования были сосредоточены на новых и более эффективных катализаторах [23]. Процесс ФТ приводит к синтезу биодизеля Б-Ж. Несмотря на то, что процесс ФТ коммерчески доступен в течение десятилетий, некоторые вопросы эффективности и охраны окружающей среды, связанные с производством синтез-газа из биомассы, все еще требуют решения, поэтому основные недавние усилия были сосредоточены на этих проблемах. Кроме того, в последние годы привлекает внимание гидрообработка в докритических и сверхкритических водных средах, а также в сверхкритических спиртах [23]. Первые крупномасштабные заводы, производящие ГРМ, были построены в Финляндии и Сингапуре, но процесс еще не полной мере коммерциализирован [22]. Некоторые инновационные процессы были оценены для производства биодизеля, такие как ферментативный гидролиз и крекинг (пиролиз), которые часто называют прорывами для преобразования растительного масла в топливо. Запатентованный компанией Petrobras процесс H-Bio представляет собой особый случай процесса крекинга, который включает каталитическую гидроконверсию смеси дизельных фракций и растительного масла в линейные углеводородные цепи, аналогично тому, что уже существует в обычном дизеле, с очень высоким выходом конверсии, как минимум 95% без выработки остатков и небольшого объема пропана, вырабатываемого как побочный продукт [1].

2.2.3.4 Биомасло путём пиролиза

Пиролиз в течение тысячелетий применялся для производства древесного угля, но только в последние 30 лет быстрый пиролиз при умеренных температурах и с очень коротким временем реакции значительно привлек интерес. Быстрый пиролиз - процесс термического разложения, состоящий из быстрого (2–3 с) нагрева наземной биомассы до температур от 400 - 600° С в условиях отсутствия воздуха с последующим быстрым охлаждением (рис. 2.8). В ходе этого процесса термически нестабильные соединения биомассы преобразуется в тяжелое жидкое топливо. Неочищенная пиролизная жидкость, или биомасло, темно-коричневого цвета и химическим составом напоминает биомассу. У полученного биомасла теплотворность примерно вдвое меньше, чем у обычного мазута. Более того, он не представляет существенных рисков для здоровья, окружающей среды или безопасности [21, 37].

Потенциальная привлекательность технологий биоконверсии для производства жидкого топлива связана с тем, что у них могут быть более низкие капитальные затраты, чем у методов термической конверсии в масштабах, которые не требуют транспортировки биомассы на большие расстояния. Масло, полученное в ходе пиролиза, больше подходит для транспортировки на большие расстояния, чем, например, солома или щепки. Кроме того, уголь, или древесный уголь, производится как побочный продукт этого процесса. Его можно использовать в качестве твердого топлива или для улавливания углерода и удобрения почвы. Пиролизное масло может быть переработано способами, аналогично сырой нефти. Кроме того, биомасло и биоуголь могут рассматриваться как сырье для производства Б-Ж [21, 36, 43].

Практически для быстрого пиролиза может рассматриваться любая форма биомассы. В то время как большая часть работ была проведена на древесине, было протестировано более 100 различных типов биомассы, начиная от сельскохозяйственных отходов, таких как солома, оливковые косточки и ореховые скорлупы, до энергетических культур, таких как мискант и сорго, лесных отходов, таких как кора, и твердых отходов, таких как канализационные осадки и кожевенные отходы [21]. С другой стороны, информация о пиролизе животных жиров, растительных масел и осадков сточных вод все еще ограничена. Это может быть, по крайней мере, частично связано с потерей ценных жидких углеводородов в газе и коксе, которое обычно наблюдаются при пиролизе биомассы.

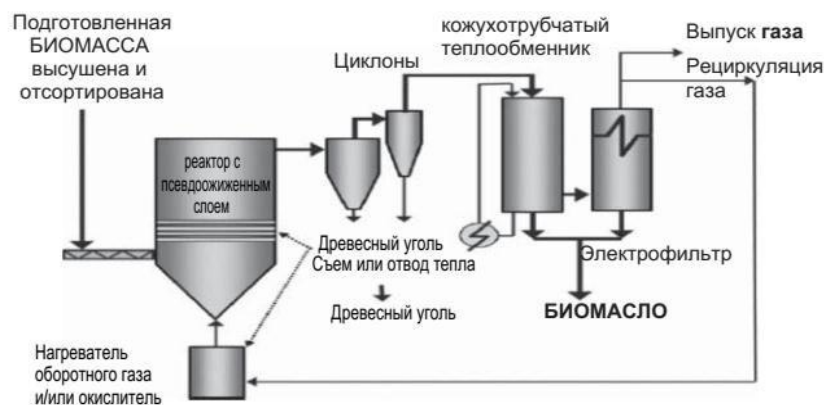


Рисунок 2.8 Схема процесса быстрого пиролиза. Перепечатано из биомассы и биоэнергии, 38, А.В. Бриджуотер, Обзор быстрого пиролиза биомассы и повышения качества продукта, 68–94, 2012, с разрешения Elsevier [21].

Кроме того, из-за высокого содержания гваяколов и фенолов, жидкости после пиролиза не являются стабильными. Поэтому, локальные катализаторы используются для улучшения качества пиролизных жидкостей. Использование подходящих катализаторов значительно увеличивает выход, а также оптимизирует состав получаемых продуктов [23, 37]. Однако многое еще предстоит сделать для оптимизации производства пиролизного биомасла.

Биологические масла представляют собой сложные коллоидные мультidisперсные системы, содержащие большое количество воды, карбоновые кислоты, углеводы и вещества, полученные из лигнина. В результате они проявляют некоторые нежелательные свойства, такие как кислотность, термическая нестабильность, высокое содержание кислорода (35–40%), низкая теплотворная способность, высокая вязкость, коррозионная активность и химическая нестабильность, что ограничивает их применение для автомобильного топлива. Поэтому в настоящее время предпринимаются некоторые усилия по исследованиям для преобразования пиролизного масла в новейшее биотопливо. Для преобразования биомасла до обычного транспортного топлива, такого как дизельное топливо, бензин, керосин, метан и сжиженный нефтяной газ, требуется полная дезоксигенация и традиционная очистка, что может быть достигнуто путем комплексного каталитического пиролиза, гидроочистки, этерификации (биодизель), газификации (водород, синтез-газ), смешивании или других процессов. Имеется также заинтересованность к частичному преобразованию до продукта, который совместим с потоками нефтепереработки, чтобы воспользоваться преимуществами экономии от масштаба и опыта на традиционном нефтеперерабатывающем заводе [21, 44–45]. С другой стороны, если биомасла станут источником химических продуктов (в отличие от топлива), технология разделения будет иметь важное значение. Фазовое разделение биомасел может происходить самопроизвольно или путем добавления воды или солей с образованием двух разных фаз. При добавлении водных солевых растворов может происходить разделение фаз пиролизного биомасла с образованием двух разных фаз: верхний слой с высоким содержанием воды, уксусной кислоты и водорастворимых соединений и нижний слой с низким содержанием воды и высоким содержанием соединения пиролиза лигнина [44–45]. Высокое содержание золы является значительным техническим барьером для производства качественного продукта из биомассы худшего качества, например, сельскохозяйственные отходы. Кислотная промывка, выщелачивание водой, фильтрация горячим газом и фильтрация после пиролиза могут улучшить качество получаемого биомасла, но необходимы дополнительные исследования в этой области. Более того, максимизация выхода жидкости после быстрого пиролиза, то возможно, потребует пересмотреть традиционную цель, если принять во внимание желательные свойства биомасла, а также требования к последовательной переработке [45]. В Канаде, Великобритании, Испании, Финляндии, Нидерландах, США, Германии, Австрии и Китае есть несколько промышленных установок с быстрым пиролизом. Эта технология была успешно продемонстрирована в небольших масштабах для производства жидкого топлива, и несколько демонстрационных и коммерческих установок находятся в эксплуатации. Этот процесс находится на грани коммерческого применения, но он все еще относительно дорог по сравнению с энергией из ископаемого топлива и, таким образом, сталкивается с экономическими и другими нетехническими барьерами при попытке проникновения на

энергетические рынки. [21, 37, 45].

2.2.3.5 Биомасло путем гидротермального процесса

Биомассу можно перерабатывать в жидкой среде (обычно в воде) под давлением при температуре 200–450 ° С. В отличие от быстрого пиролиза, время переработки составляет до 30 минут. В ходе реакции получаются масла и остаточные твердые вещества с низким содержанием воды и более низким содержанием кислорода, чем у масла после быстрого пиролиза.

Выходы при гидротермической переработке также обычно выше, чем при пиролизе. Большинство полярных компонентов, присутствующих в водной среде, могут быть преобразованы в углеводороды. Тогда разделение гидрофобной углеводородной фазы от водной фазы достаточно простое [23]. Процесс гидротермального сжижения может проводиться с катализатором или без. В до или сверхкритических условиях, вода действует как реагент, катализатор и растворитель для реакций обычно катализируемых кислотой или основанием. По всей видимости, вода также может поставлять водород для крекинга, который представляет собой гидролиз триглицеридов с последующим декарбоксилированием. Вода под высокой температурой и давлением уменьшает образование газообразных продуктов и сводит к минимуму образование частиц [23]. Недавняя тенденция в гидроочистке заключается в использовании полярных протонных растворителей (например, метанола, этанола, диэтиленгликоля и т.д.), так как однородность биомасла можно улучшить, разбавив его в этих растворителях. Это может иметь решающее значение для биологических масел, полученных из твердых бытовых отходов. Однородность среды может быть улучшена в сверхкритических условиях [23]. Эта технология разрабатывается для использования на биомассе водорослей и отходов. Разработчики этой технологии включают Changing World Technologies (Уэст-Хэмпстед, Нью-Йорк, США), EnerTech Environmental Inc. (Атланта, Джорджия, США) и Biofuel B.V. (Химскерк, Нидерланды) [37].

2.2.3.6 Диметиловый эфир

Диметиловый эфир (ДМЭ) можно получить из метанола путем каталитической дегидратации или из синтез-газа. ДМЭ является самым простым эфиром и может заменить пропан в сжиженном нефтяном газе, используемом в качестве топлива. Это перспективное топливо для дизельных двигателей благодаря высокому цетановому числу. Производство ДМЭ путем газификации биомассы находится на демонстрационном этапе и первую установку, работающую по этой технологии, начали эксплуатировать в сентябре 2010 года в Швеции [9].

2.2.3.7 Биобутанол

Биобутанол можно использовать в качестве топлива для двигателей внутреннего сгорания. У него более высокую энергоемкость (29,2 МДж / л) и в большей степени напоминает бензин, чем этанол, и таким образом, может распределяться через существующую бензиновую инфраструктуру. Биобутанол можно получить путем ферментации сахара с помощью процесса ацетон-бутанол-этанол (АБЭ) с использованием *Clostridium acetobutylicum* и некоторых разработанных бактерий *Escherichia Coli* [38]. Анаэробный рост отобранных штаммов в сочетании с удалением изобутанола из жидкой среды путем непрерывного равновесного испарения привел к более чем 90% от теоретического выхода. Были также предложены штаммы дрожжей, которые могут метаболизировать пятиуглеродные сахара [39]. Биобутанол можно получить из того же самого крахмала и сахарного сырья, которые используются для обычного этанола. Кроме того, сахара можно получить из лигноцеллюлозной биомассы с использованием тех же стадий биохимической конверсии, которые необходимы для производства усовершенствованного этанола. Этот факт подчеркивает необходимость исследования процесса биохимического преобразования биомассы в сахар [9]. Опытные заводы производят биобутанол в Германии и США, а другие находятся на стадии строительства.

2.2.4 Биотопливо третьего поколения

Биотопливо третьего поколения получают из водорослей и водорода, получаемого из лигноцеллюлозной биомассы. Продукты, полученные в результате их переработки, описываются как третье поколение, поскольку они больше не требуют использования земель. В их производственных технологиях используются способы каталитического риформинга для превращения сахара, крахмала и

всех форм лигноцеллюлозы в целевые углеродные соединения с короткой цепью. Технологии производства биотоплива третьего поколения все еще находятся на стадии разработки, и их крупномасштабное производство ожидается в средне- и долгосрочной перспективе.

2.2.4.1 Водород из биомассы

Водород, «топливо будущего», долгое время считался хорошим источником энергии из-за его высокой энергоемкости и устойчивости, и наконец, может стать важным компонентом энергетического баланса. Его спрос не ограничивается его использованием в качестве источника энергии. Газообразный водород используется для производства химикатов, для гидрирования жиров и масел в пищевой промышленности, производства маргарина, обработки стали, а также для обессеривания и изменения состава бензина на нефтеперерабатывающих заводах. Недостатки водорода, с другой стороны, включают в себя трудность простого и недорогого хранения и распределения газообразного водорода, что потребует в широко распространенных коммерческих применениях [46–49]. Разнообразные фотосинтетические и нефотосинтезирующие микроорганизмы, в том числе одноклеточные зеленые водоросли, цианобактерии, аноксигенные фотосинтетические бактерии, обязательные анаэробные и азотфиксирующие бактерии имеют гены и белки для производства H_2 , однако их эффективность все еще низка [38, 48]. Другие недорогие водородные топливные элементы с различными технологическими способами получения водорода из биомассы, можно широко классифицировать как [49]:

- термохимическая газификация, связанная с конверсией водяного газа;
- быстрый пиролиз с последующим риформингом углеводных фракций биомассы;
- прямая солнечная газификация;
- разные новые процессы газификации;
- преобразование синтез-газа, полученного из биомассы;
- сверхкритическая конверсия биомассы;
- микробиологическая конверсия биомассы.

Водород может быть получен как из ископаемых, так и из биомассы. Водород, полученный из возобновляемой биомассы, является устойчивым источником энергии и поэтому известен как биоводород. Технологии производства биоводорода все еще находятся на самой ранней стадии исследований и разработок. Оптимизация конструкций биореакторов и эксплуатационных условий для света, pH, питательных веществ и микробной флоры, тестирование и валидация биологических, химических и физических предварительных обработок, быстрое удаление и очистка газов, иммобилизация микроорганизмов и генетические модификации ферментативных метаболических способов, которые конкурируют с ферментными системами вырабатывающих водород, открывает захватывающие перспективы для улучшения систем производства биоводорода [48]. Конкретные области исследований для увеличения производства биоводорода включают [12]:

- реинжиниринг фотосинтетических микроорганизмов для достижения высокой производительности по производству водорода;
- разработка методов эффективного отделения и очистки образующегося водорода;
- разработка интегрированных систем для производства биоводорода с последующими техническими оценками и анализом затрат и выгод.

Сегодня газификация биомассы предлагает самый старый и самый экономичный способ производства возобновляемого водорода. Ожидается, что паровой риформинг природного газа и газификация биомассы станут доминирующими технологиями к концу XXI века [49].

2.2.4.2 Топливо из водорослей

Водоросли выращивались в коммерческих целях с 1950-х годов, главным образом для фармацевтической промышленности, но в последнее время они привлекли внимание как потенциальные источники биомассы, поскольку они вырабатывают химические продукты и вещества, которые используются в различных целях, включая транспортное топливо. За последние 50 лет

производство биотоплива из водорослей рассматривалось, в частности США и Японией. Однако программы США и Японии были прекращены, и исследователи не достигли конечной цели - найти экономически эффективный способ производства биотоплива из водорослей. С другой стороны, с ростом стоимости традиционных ископаемых видов топлива, озабоченностью по поводу использования пищевого сырья для производства биотоплива и разработки более совершенных инструментов для обработки водорослей возобновился интерес к этой области [25]. В этих условиях, фотосинтетические водоросли рассматривались либо как источник биомассы, либо как штамм-хозяин для производства биотоплива [38]. Основным преимуществом использования водорослей в качестве сырья для производства биотоплива является возможность эффективного использования земли и ресурсов, поскольку пруды или реакторы, в которых они выращиваются, могут быть расположены на непродуктивных землях [15, 50]. Исходное сырье из водорослей можно классифицировать как:

- Макроводоросли: водоросли, такие как морские водоросли, которые культивируются почти исключительно в море или добываются из природных ресурсов. Они в основном используются для производства продуктов питания и кормов, а также в качестве промышленного сырья. Макроводоросли можно использовать для производства биогаза и биоэтанола, но до сих пор урожайность была низкой [51];
- Микроводоросли: они используются для профессионального использования в косметической и медицинской отраслях, и сегодня их мировое производство составляет всего несколько тонн [52]. Они выращиваются в открытых резервуарах или закрытых фотобиореакторах и содержат определенный процент масла, которое может быть использовано для производства биодизеля, тогда как остальная часть биомассы, в принципе, может быть использована для производства этанола и биогаза. Для выращивания микроводорослей требуется вода и энергия для циркуляции и очистки, что может привести к значительным выбросам парниковых газов. Использование генетически модифицированных штаммов имеет решающее значение, потому что даже замкнутые системы не могут предотвратить попадание генетически модифицированных водорослей в окружающую среду с соответствующими рисками, такими как загрязнение экосистемы [53].

Микроводоросли были установлены как потенциальные источники биотоплива третьего поколения из-за их более высокой эффективности фотосинтеза, более высокой скорости роста и более высокой удельной площади по сравнению с другими источниками биомассы. Было подсчитано, что 46 000–140 000 литров этанола можно получить из 1 га микроводорослей, что на несколько порядков выше, чем у этанола из кукурузной соломы (1000–1400 л/га), сахарного тростника (6000–7 500 л/га) и проса (10 700 л/га). Кроме того, некоторые виды водорослей хорошо растут в соленых, солоноватых и сточных водах, что делает их более перспективным сырьем, чем наземные культуры, которые зависят исключительно от пресной воды. Поскольку водоросли могут расти в различных водных источниках (океанах, озерах, дельтах и т.д.), содержащих сточные воды от муниципальной, сельскохозяйственной и промышленной деятельности, то существует дополнительная возможность сочетать обработку сточных вод водорослями путем удаления питательных веществ и производства биотоплива [15, 23, 50]. На рисунке 2.9 показаны основные продукты и виды топлива, которые можно получить из водорослей, в том числе технологические способы их производства. Существуют биохимические (например, ферментация и анаэробное сбраживание) и термохимические (пиролиз и сжижение) методы преобразования водорослей в биотопливо. Первые процессы могут быть использованы для производства биотоплива первого поколения в виде этанола и биодизеля, тогда как термохимические процессы могут использоваться для производства биодизеля и газа второго поколения [23]. Используя такие микроорганизмы, как дрожжи, гетеротрофные водоросли или цианобактерии, можно превращать сахара в алканы, которые являются основными углеводородами бензина, дизельного топлива и авиатоплива. Процесс состоит в преобразовании различных водорастворимых сахаров в водородные и химические полупродукты с использованием риформинга в водной фазе, а затем в алканы посредством каталитического процесса. Использование модифицированных микроорганизмов позволяет превращать сахара в углеводороды, которые можно гидрировать в синтетическое дизельное топливо. Однако ни один из перечисленных процессов не был продемонстрирован в промышленном масштабе [9]. Производство топливного биоэтанола путем ферментации водорослей начинается с выбора штамма и его роста. Используются два подхода: использование сырья из макроводорослей, часто инвазивных, из естественной среды обитания; или рост штамма микроводорослей, выбранного надлежащим образом, в искусственных условиях. Перед обработкой макроводорослей требуется измельчение. Как и в случае целлюлозного этанола из наземного сырья, водоросли должны подвергаться предварительной обработке и осахариванию в ходе физических, химических и/или ферментативных процессов, прежде

чем их сахара могут подвергаться ферментации. Однако водорослевая биомасса менее устойчива к преобразованию в моносахариды, чем растительная биомасса из-за недостатка лигнина. Помимо целлюлозы и гемицеллюлозы, многие виды водорослей накапливают большое количество крахмала в качестве запасного вещества [15, 50]. В настоящее время более высокие выходы биоэтанола могут быть получены из микроводорослей, чем из макроводорослей. Основная причина заключается в том, что все основные организмы, ферментирующие этанол, были отобраны и разработаны для эффективного использования сахаров, высвобождаемых в ходе гидролиза крахмала, целлюлозы и гемицеллюлозы (углеводов микроводорослей), но не для углеводов макроводорослей, таких как агар или каррагинан. Поскольку углеводы из микроводорослей напоминают углеводы наземных культур, то выход во время их переработки больше. Весьма маловероятно, что произойдет существенный сдвиг в производительности этанола из макроводорослей, особенно с учетом инвестиций в производство лигноцеллюлозного этанола, что также будет благоприятствовать биомассе из микроводорослей.

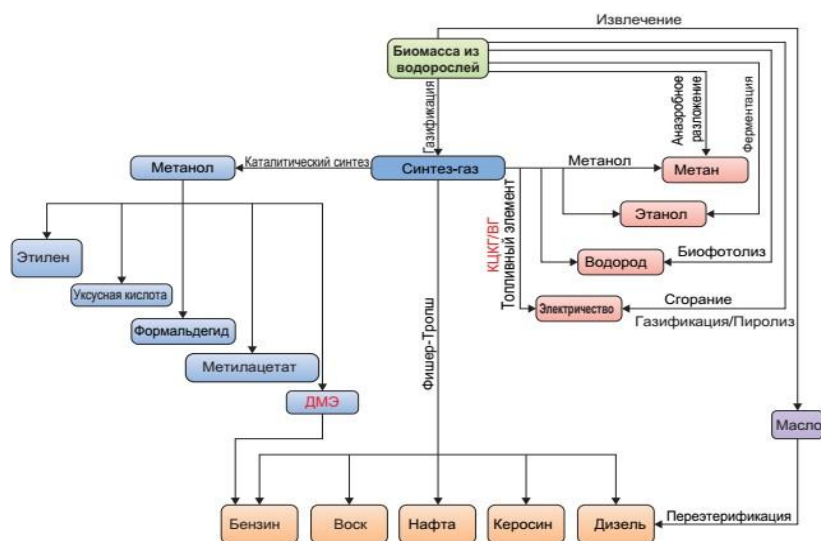


Рисунок 2.9 Обзор основных способов переработки биомассы водорослей.

Более того, с разработкой новых ферментов для сахаризации лигноцеллюлозы, как ожидается, увеличится разрыв между эффективностью преобразования исходного сырья из микро и микроводорослей. С другой стороны, использование отходов биомассы из макроводорослей для производства этанола заслуживает особого внимания. Это смещает производство биотоплива из водорослей в сторону концепции биопереработки, которая считается долгосрочным устойчивым решением с учетом энергии биомассы [50]. Высокопродуктивные микроводоросли могут быть использованы в качестве сырья для биодизеля. При правильных условиях (температура, свет, достаточное пространство) существует потенциал для преодоления недостатков, которые преостановили исследования топлива из водорослей.

Высокая теоретическая продуктивность и накопление масла, характерные для некоторых видов водорослей в условиях клеточного стресса, сделали производство биодизеля путем переэтерификации водорослевого масла логичным выбором для исследований и разработок после относительного успеха производства биодизеля из других видов сырья. До настоящего времени есть небольшой объем информации о биодизельном топливе из макроводорослей, и его урожайность намного ниже, чем у микроводорослей [50]. Обработка микроводорослей для производства биодизеля состоит из следующих этапов: рост, сбор, обезвоживание и сушка микроводорослей. Применяются два метода трансформации водорослевого масла: двухэтапный метод, который разделен на экстракцию масла и переэтерификацию масла, и локальная одностадийная переэтерификация водорослевых масел до биодизеля. Преобладают три типа методов конверсии: химический, термохимический и ферментативный.

Четыре основных типа катализаторов, выполняющих эту реакцию, были использованы для водорослевого биодизеля: щелочные, кислотные, липазные и гетерогенные катализаторы. Основным недостатком этого метода является требование к метанолу для продвижения реакции вперед, что влияет на экономическую эффективность, устойчивость и применимость глицерина, побочного продукта, для многих отраслей промышленности. Другие методы, включая гетерогенный катализ и сверхкритическую конверсию метанола, выглядят многообещающими, однако еще слишком рано говорить о том, могут ли они вытеснить гомогенный кислотный катализ в качестве основного метода

конверсии. Имеется несколько отчетов о синтезе биодизеля с биологическим катализатором липазой. Этот метод давно рассматривается как потенциальный прорыв в производстве биодизеля, однако высокая стоимость катализатора все еще препятствует развитию производства биодизеля, катализируемого липазой, в промышленных масштабах [50].

На сегодняшний день наиболее эффективными методами производства биотоплива из водорослевого сырья являются ферментация микроводорослей в биоэтанол и производство биодизеля путем локальной переэтерификации биомассы из микроводорослей. Однако как ферментативное производство этанола из водорослевого сырья, так и переэтерификация водорослевых масел требуют обширной последующей обработки, такой как обезвоживание, что считается серьезным препятствием в коммерциализации биотоплива из водорослей [54]. Таким образом, настоящий прорыв ожидается от метаболической инженерии фотосинтезирующих организмов, чтобы производить и выделять биотопливо, что обещает значительное упрощение последующей обработки [50]. В ближайшем будущем ожидается, что штаммы водорослей с улучшенной способностью вырабатывать спирты, дизели, алканы и водород будут разработаны с помощью концепций системной метаболической инженерии [38]. В США, Новой Зеландии и Израиле есть стартап-компании, которые пытаются коммерциализировать топливо из водорослей [55]. Некоторые из них ссылаются на высокий выход для производства водорослевого масла и публикуют заявления для прессы о том, что в ближайшие месяцы или годы они будут производить большое количество топливного биодизеля из водорослей. Тем не менее, ни одна из этих компаний еще не производила биотопливо из водорослей в промышленных масштабах, и ни одна из них не представила доказательств интенсивности выбросов ПГ своего топлива. Расходы на производство водорослевого масла оценивались от 2,86 долл. США/л до 3,51 долл. США/л [56]. Таким образом, хоть это и потенциально многообещающая технология, с точки зрения фундаментальных исследований еще многое предстоит сделать, чтобы понять и улучшить интенсивность выбросов ПГ у процесса.

2.2.5 Солнечное топливо

В настоящее время существует много способов производства, с низким уровнем выброса углерода, для выработки электроэнергии, включая ветровые, геотермальные, гидроэлектрические и солнечные. Рассматривая вероятный вклад этих подходов, полезно помнить, что земля получает от солнца примерно в 7000 раз больше энергии, чем вся энергия, используемая человеком. Энергия солнца может быть использована следующими тремя способами: через фотоэлектрическое преобразование в электричество, используя зеркала для нагрева жидкостей, которые приводят в движение двигатели для производства электроэнергии; или путем сбора биомассы *in situ* растений, которую можно сжигать как твердое или жидкое топливо [36]. Биомассу можно газифицировать в синтез-газ с использованием тепла, генерируемого концентрирующей солнечной установкой, что потенциально повышает эффективность конверсии и снижает выбросы ПГ. Требуется больше опытных установок и дальнейших исследований, чтобы сделать процесс более эффективным и обеспечить его эксплуатацию в коммерческих масштабах. Другой технологией, которая может развиваться как процесс производства жидкого транспортного топлива, является расщепление воды или CO₂ на водород или монооксид углерода, которые затем можно превратить в жидкое топливо в ходе каталитического процесса. Этот процесс в настоящее время находится на стадии лабораторных исследований, и необходимы значительные и масштабные исследовательские работы для поддержки дальнейшей разработки солнечного топлива в составе топливного баланса для транспортировки в долгосрочной перспективе [9]. Более того, метаболическая инженерия фотосинтезирующих организмов представляется очень перспективным способом преобразования солнечной энергии в биотопливо [50]. Цианобактерии, неоднородная группа, способная осуществлять кислородный фотосинтез, были предложены в качестве части многих возможных биотехнологических процессов. Цианобактерии привлекательны, так как они способны к прямому захвату солнечной энергии, и ее преобразованию в полезную химическую энергию с использованием воды в качестве субстрата. Эту способность можно использовать несколькими способами при производстве биотоплива. Их способность стимулировать процесс поглощения диоксида углерода с помощью энергии, вырабатываемой во время фотосинтеза, позволяет предположить, что вновь переработанный углерод может быть превращен в полезное биотопливо путем введения новых (в цианобактерии) метаболических путей. Этот процесс был назван биофототолерансностью. Это по своей сути привлекательный и концептуально простой подход, при котором богатый субстрат, вода и повсеместный источник энергии, солнечная энергия, используются для производства водорода, этанола, и в частности изобутиральдегида. Кроме того, полезные побочные

продукты могут быть получены из биомассы, полученной во время использования в производстве биотоплива [57]. Для разработки недорогих фотобиореакторов, подходящих для этой задачи (то есть прозрачных, долговечных, водонепроницаемых и т. д.), требуются достижения в области материаловедения. С биологической точки зрения, улучшения придут от применения генной инженерии. Хотя были предприняты определенные усилия для адаптации цианобактерий к некоторым жидким биотопливам, до недавнего времени было сделано относительно мало для того, чтобы попытаться улучшить производство цианобактериального водорода путем метаболического инжиниринга. Ближайшее будущее может привести к некоторым реальным попыткам продвинуть одну или несколько цианобактериальных систем на следующий уровень с некоторым реальным повышением эффективности конверсии [57].

2.2.6 Биорафинирование

Подавляющее большинство химических веществ получается из нефтяного сырья. Лишь небольшая доля от общего объема добычи нефти, около 5%, используется в химическом производстве, но ценность этих химикатов высока и приносит сопоставимый доход с топливно-энергетическими продуктами. Существует явное экономическое преимущество в создании аналогичной гибкости на рынке биотоплива за счет выделения части производства биомассы для производства химикатов. Фактически, эта концепция имеет еще больший смысл в отношении биомассы, поскольку она химически более неоднородна, чем сырая нефть, и преобразование в топливо, в частности в углеводороды, не столь рентабельно [21]. Концепция биопереработки аналогична базовой концепции традиционных нефтеперерабатывающих заводов, производство различных видов топлива и других продуктов из определенного сырья. Экономическая конкурентоспособность предприятия основана на производстве дорогостоящих низкообъемных побочных продуктов в дополнение к сравнительно малоценным массовым биотопливам. Ключевой особенностью концепции биопереработки является совместное производство топлива, химических веществ и энергии из различных видов сырья для биомассы. Поэтому, биоперерабатывающий завод (био-завод) можно определить как оптимизированное использование биомассы для материалов, химикатов, топлива и энергетики, где производительность связана с затратами, экономикой, рынками, выходом, окружающей средой, воздействием, балансом углерода и социальными аспектами. Другими словами, необходимо оптимизировать использование ресурсов, максимизировать рентабельность и выгоды, и минимизировать потери [9, 21]. Био-заводы внесут значительный вклад в устойчивое и эффективное использование ресурсов биомассы, предоставляя разнообразные продукты для различных рынков и секторов [58]. Обзор технологий производства и продуктов био-заводов показаны на рисунке 2.10. Биотопливо может производиться на отдельном био-заводе при условии, что экономические параметры являются привлекательными. В связи с этим, необходимо принять во внимание ряд важных фактов, а именно, источник и местонахождение биомассы, тип биомассы, транспортные расходы, технология конверсии, масштаб био-завода и связанные с ним капитальные затраты, общие выбросы и т.д. Попав на нефтеперерабатывающий завод, биотопливо можно смешивать с нефтяным топливом. Существующая инфраструктура нефтеперерабатывающих заводов может также подходить для совместной переработки биотоплива с топливом, полученным из нефти. По-видимому, среди биотоплива те, что получены из растительного масла, кажутся наиболее подходящими для совместной переработки с производными нефти из-за их высокой энергоемкости, низкого содержания кислорода и жидкой формы [23]. Единственный коммерческий процесс производства биотоплива, разработанный Neste Oil Corp., производит биотопливо из растительного масла. С той же целью для сырья из лигноцеллюлозы потребуется стадия стабилизации перед транспортировкой.

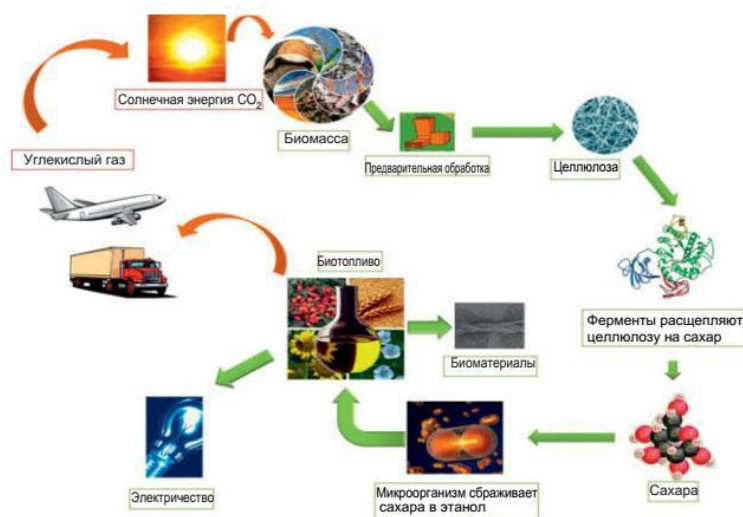


Рисунок 2.10 Концепция биорафинирования.

Стадия коммерциализации приближается к процессу UOP / Eni Eco, разработанному компанией Honeywell's UOP. Этот процесс подходит для производства зеленого дизеля и авиатоплива. Было проведено инженерное исследование на 100 миллионов галлонов в год при запуске завода в 2012 году [23].

2.3 Будущие тренды развития биотоплива

На рис. 2.11 показан обзор усовершенствованных видов биотоплива, которые в настоящее время изучаются, а на рис. 2.12 показан статус их разработки. В зависимости от степени проникновения на рынок различные технологии для производства биотоплива могут быть связаны с различными этапами цепочки исследований, разработок и инноваций. В то время как биотопливо первого поколения в настоящее время находится на этапе коммерческого применения, биотопливо второго поколения выходит на рынок, а биотопливо третьего поколения все еще находится на этапе лабораторных исследований. Однако ожидается, что все они будут производиться в промышленных масштабах в течение последующих десятилетий. Действительно, в настоящее время многие страны поощряют или оценивают программы по биотопливу, в некоторых случаях с действительно хорошими перспективами, если принять во внимание надлежащую систему производительности [1].

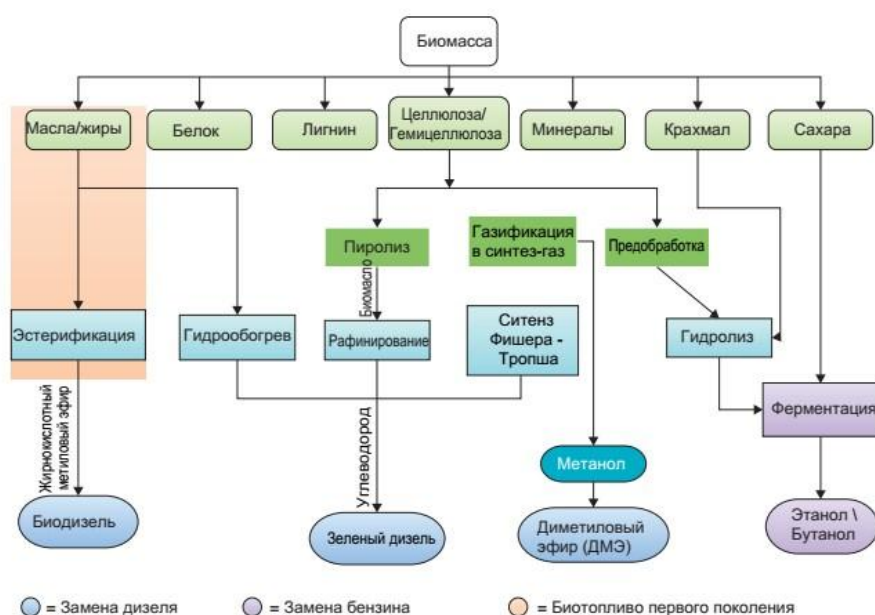


Рисунок 2.11 Обзор усовершенствованного биотоплива.

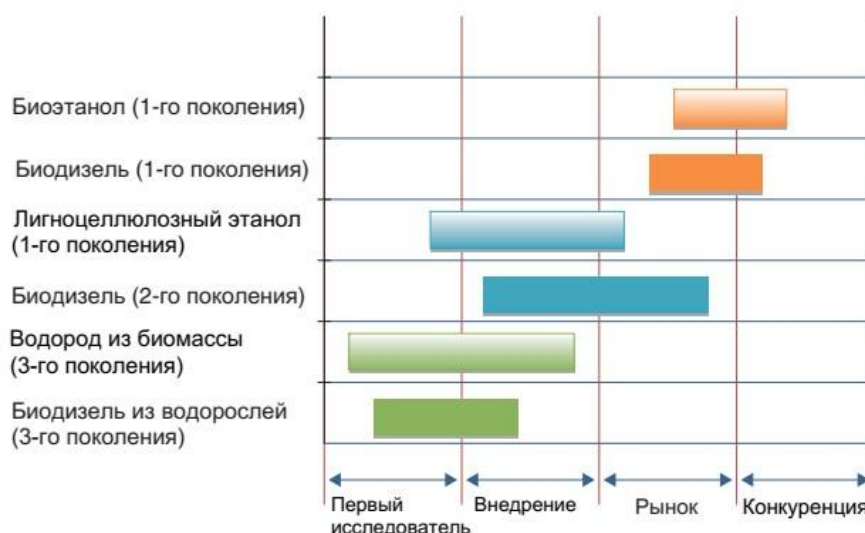


Рисунок 2.12 Статус развития биотоплива.

Успех реализации программы по биотопливу является результатом правильного взвешивания движущих сил для их производства в каждом случае с учетом характеристик имеющихся альтернатив биотоплива, чтобы максимизировать выгоды от их использования. Решение о том, какое ископаемое топливо удобнее заменить, не говоря о будущем существующей транспортной инфраструктуры, также является ключевым вопросом. Наконец, что не менее важно, наличие природных ресурсов, в основном земли и воды, должно быть включено в процессы отбора и планирования. На этом этапе необходимо хорошо понимать различия между биотопливом, используя аналитические инструменты, такие как энергетический баланс и выбросы ПГ, с учетом анализа жизненного цикла, а также спроса на ресурсы, создания рабочих мест, наличия необходимых технологий, ископаемого топлива, которое они могут заменить и затраты [1]. Усовершенствованное биотопливо должно быть экономически конкурентоспособным с существующими продуктами, преодолевая основные экономические факторы, как цены на сырье, а также общую производительность и выход процесса. Для коммерциализации требуется продвижение процессов на стадии лабораторных исследований до уровня выхода и производительности, которые приближаются к теоретически возможным, и их широкого внедрения без потери производительности [39]. Далее представлены основные области исследований, которые должны способствовать экономическому обоснованию биотоплива.

2.3.1 Достижения в производстве биомассы для биотоплива

2.3.1.1 Сырье для топлива первого поколения

Существуют культуры, которые в настоящее время широко не используются для производства биотоплива или не выращиваются в промышленных масштабах, но могут быть привлекательным сырьем для топлива первого поколения. К ним относятся ятрофа для производства биодизеля, маниока и сорго для производства биоэтанола. Они потенциально интересны в качестве исходного сырья для биотоплива первого поколения, поскольку ожидается, что интенсивность парниковых газов при производстве биотоплива, в котором они будут использоваться, будет ниже, чем у других традиционных культур. Маниока и сорго в настоящее время выращиваются в значительных масштабах по всему миру, в 2011 году было произведено более 250 млн. тонн маниоки и почти 55 млн. тонн сорго по сравнению с 1,8 млрд. тонн сахарного тростника и 880 млн. тонн кукурузы [59]. До настоящего времени маниока и сорго не использовались в качестве основного сырья для производства этанола первого поколения, однако некоторые страны и компании начинают рассматривать эти культуры как имеющие значительный потенциал в качестве исходного сырья для биотоплива, поскольку, возможно, их можно выращивать на низкокачественных землях с получением высокого урожая. Средний урожай маниоки составляет 12,2 т/га, но в некоторых странах, таких как Индия, средний урожай составляет 31 т/га. Как тропическое растение, маниоку можно выращивать в теплом и влажном климате, обычно там, где количество осадков относительно велико. Значительные объемы маниоки выращиваются в Нигерии, Бразилии, Индонезии и Таиланде [59]. Корень маниоки богат крахмалом, и его привлекательной особенностью для биотоплива является высокая урожайность. Китай, Нигерия,

Бразилия и Таиланд заинтересованы в расширении производства маниоки для топливного этанола [8, 25]. Коренные для Африки, сорго устойчиво к засухе и жаре, что делает его особенно важной культурой в засушливых районах. Его средняя урожайность намного ниже, чем у маниоки, 1,4 т/га. Причина, по которой урожай сорго может показаться таким низким, заключается в том, что в странах, где он выращивается в самых больших количествах, включая Индию и Нигерию [59], он не оптимизирован для коммерческой деятельности. Урожайность может быть улучшена за счет лучшего управления и совершенствование метода внесения удобрения. Кроме того, растет интерес к генетической трансформации сорго. На сегодняшний день пока нет трансгенных культур, которые культивируются, генетическое картирование сорго идет полным ходом, что должно предоставить научному сообществу инструменты для повышения урожайности сорго. Кроме того, некоторые исследователи в США заинтересованы в быстрорастущих сортах сорго, производящие большое количество соломы, что может использоваться в качестве лигноцеллюлозной биомассы для производства биотоплива второго поколения, в дополнение к зерну, которое будет предназначено для производства биоэтанола первого поколения [8]. Другим источником моносахаридов, которые могут быть использованы для производства этанола, является сыворотка. Большой объем сыворотки производится в качестве побочного продукта при производстве сыра. После того, как белок молочной сыворотки был собран из сыворотки путем ультрафильтрации, оставшийся фильтрат концентрируется обратным осмосом для достижения более высокого содержания лактозы для эффективной ферментации. Лактоза в сывороточном фильтрате сбраживается с некоторыми специальными штаммами дрожжей *Kluyveromyces marxianus* [15]. Биодизель в основном производится из триацилглицерина, полученного из сои, рапса и других масличных культур, или из межплодника плодов пальмы [36]. Средний урожай масличных культур в основном зависит от вида, климата и сельскохозяйственного управления и варьируется от сотен до тысяч литров растительного масла на гектар. Соевое, касторовое и пальмовое масло - некоторые культуры, которые часто рассматриваются для производства биодизеля в Бразилии. Урожай для производства биодизеля из них может достигать 0,7 т/га, 0,5 т/га и 5,0 т/га соответственно [1]. Ятрофа - несъедобная культура, семена которой можно измельчить, чтобы получить токсичное растительное масло. Ее можно выращивать на полусухих землях в теплом и влажном климате. В прошлом эта культура выращивалась для производства мыла и свечей, а также в качестве лекарства. Индия особенно заинтересована в выращивании ятрофы для производства топлива и имеет амбициозные планы по превращению более 11 млн. га пустынных земель в поля, засеянные ятрофой, поскольку в этой стране действует национальная политика, запрещающая использование пищевых масел в качестве топлива. Другие регионы, в которых можно выращивать ятрофу, включают Южную Африку, Юго-Восточную Азию и Латинскую Америку. Существуют также другие культуры, которые в настоящее время не выращиваются широко, но в настоящее время изучаются как потенциальные новые виды сырья, такие как рыжик (*Camelina sativa*). Рыжик является коренным растением Северной Европы и Центральной Азии, и в настоящее время его урожайность как у рапса. Тем не менее, он не выращивался в промышленных масштабах в течение как минимум 50 лет, и, следовательно, мало внимания уделялось повышению урожайности, что является областью, которую необходимо изучить. Рыжик нетребователен к обработке почвы и борьбе с сорняками. Однако то, что он до настоящего времени не выращивался в коммерческих целях, означает, что до сих пор не является надежным сырьем для производства биодизеля. Поскольку у масличных культур, растущих в умеренном климате, выработка биотоплива намного ниже, чем у кукурузы, экономические стимулы способствуют производству этанола везде, где можно выращивать кукурузу. Другими вариантами сырья являются жир, сало и отработанное масло для жарки, которое также может быть преобразовано в биодизельное топливо при условии достаточного предложения по конкурентоспособной цене. Эти цены в основном зависят от производства мясной промышленности, поскольку нет смысла стимулировать разведение крупного рогатого скота с целью увеличения производства жира, поэтому, это сырье доступно в относительно небольших количествах [1, 36].

2.3.1.2 Биомасса для топлива второго поколения

Было бы недальновидно заменить неустойчивую добычу нефти неустойчивым производством топлива из сельскохозяйственных культур. Поэтому, для производства биотоплива второго поколения использовались, в основном, лигноцеллюлозные остатки. В зависимости от технологии конверсии, для производства 1 млрд. галлонов жидкого топлива потребуется 10–25 млн. тонн сухой целлюлозной биомассы. Частичная замена потребления ископаемого топлива возобновляемым топливом потребует огромных объемов сырья, которое будет получено как из культивируемых, так и из собранных

ресурсов биомассы. Ежегодный цикл сырья для биопереработки может состоять из сельскохозяйственных остатков осенью, древесных отходов или сельскохозяйственных культур зимой, покровных культур, таких как рожь, весной, и энергетических культур, таких как сорго или проса, летом [37]. С учетом мирового производства зерна или семян, кукуруза является самой урожайной культурой, производящей около 880 млн. тонн зерна [59] и аналогичное количество стеблей и початков, которые в совокупности называются солома, которые потенциально доступны для производства топлива. Конверсия половины кукурузной соломы в США в целлюлозный этанол даст около 13,5 млрд. галлонов этанола [36]. В Бразилии жмых сахарного тростника – это, большей частью, доступная биомасса, представляющая одну треть растения, и если 50% от нее будет использовано для производства этанола, то выход этанола может увеличиться с 6000 л/га до 10000 л/га [60]. Площадь земель, необходимая для производства достаточного количества биотоплива для оказания существенного влияния на спрос, полностью зависит от продуктивности данного сырья на данном участке земли. Продуктивность, в свою очередь, определяется широким спектром физиологических факторов, включая генетическое разнообразие, агрономическую практику и факторы окружающей среды, такие как качество почвы, доступность воды и климат. Задача ботаников состоит в том, чтобы выявить наиболее высокопродуктивные виды растений, которые можно выращивать на различных типах малопродуктивных или заброшенных земель, оптимизировать генетические и производственные методы и оценить любые экологические риски или выгоды, которые могут возникнуть в результате поощрения широкого использования таких видов для производства энергии. Чтобы свести к минимуму площадь земель, отводимых от других целей для производства энергии, важно максимизировать «выход» - количество биомассы, произведенной на единицу площади. Это можно достигнуть путем оптимизации методов управления или генетической модификации биомасс [36]. Поскольку вода является основным ограничением продуктивности растений, основной целью развития биоэнергетических культур будет максимально увеличить эффективность водопользования и устойчивость к засухе в регионах, где не наблюдается чрезмерного количества осадков. Полузасушливые земли могут быть использованы для выращивания видов с высокой эффективностью водопользования и засухоустойчивостью, таких как *Agave spp.* Засоленные почвы можно использовать для выращивания солеустойчивых видов, таких как степная спартина и *Eucalyptus spp.* Более того, все другие внешние нагрузки на окружающую среду, такие как наводнения и холода, являются предпочтительными. Особенно важной темой в этом отношении является определение видов, которые не являются инвазивными, или разработка технологий, таких как условная стерильность, которые могут предотвратить инвазивное распространение [36]. Многолетние растения, такие как сахарный тростник, энергетический тростник, слоновая трава, просо прутьевидное и мискантус, растут в хорошо освещаемых местах, эффективно используют воду и азот, поэтому эти виды являются потенциальными источниками лигноцеллюлозной биомассы для производства биоэтанола. Кроме того, древесную биомассу можно стабильно собирать для производства пиломатериалов и бумаги и, поэтому в некоторых регионах можно обеспечить сырье для биотоплива. Во всем мире большие площади земель, которые ранее использовались для сельского хозяйства, превратились в леса, и сохраняющаяся тенденция к использованию электронных носителей и переработки бумаги может снизить спрос на целлюлозу. Это дает возможность перераспределить древесную биомассу для производства энергии [30, 36]. Другими важными источниками лигноцеллюлозной биомассы являются остатки агропромышленного комплекса, такие как жмых сахарного тростника, маниоки, солома кукурузы, пшеничная и рисовая солома и т.д. Даже твердые бытовые отходы и отходы бумажной промышленности использовались для производства биотоплива второго поколения [30]. С другой стороны, некоторые потенциальные культуры биомассы содержат вторичные метаболиты, которые токсичны для микроорганизмов. Идентификация и устранение таких соединений генетическими методами является приоритетной задачей для исследования растительного сырья, если это можно сделать без создания проблем с вредителями и патогенами [36].

2.3.2 Генная инженерия

Принятие альтернатив бензина, дизеля и авиатоплива, полученных с помощью микроорганизмов, потенциально может значительно ограничить чистые выбросы ПГ, а основные узкие места технологии для повышения общего выхода связаны с ферментацией, а не с сахаризацией [61]. В стремлении создать биотопливо, в последние годы были сделаны большие успехи в разработке микроорганизмов для производства транспортного топлива, полученного из спирта, жирных кислот и изопреноидного биосинтеза. Для разработки экономичных и устойчивых процессов производства

биотоплива производителям биотоплива необходимо оптимально изменить способы метаболических реакций для достижения высокой производительности, которая включает повышение выхода продукта, повышение концентрации и производительности продукта, а также его устойчивости. Кроме того, производственные штаммы должны быть спроектированы таким образом, чтобы весь процесс стал эксплуатационно недорогим за счет общесистемной оптимизации процессов промежуточных и последовательных процессов [38, 62]. Генетическая инженерия микроорганизмов, вызывающих ферментацию этанола, для расширения их субстратной специфичности в отношении гемицеллюлозных сахаров и полисахаридов из макроводорослей, вероятно, является наиболее разумным способом повышения общего выхода биоэтанола из лигноцеллюлозной биомассы. В течение последних нескольких десятилетий, случайный мутагенез и метаболический инжиниринг были использованы в качестве стандартных стратегий, чтобы разработать микробные штаммы для производства биотоплива. Подход случайной мутации и селекции для дальнейшего улучшения клеточных характеристик сталкивается с трудностями из-за сложности, связанной с идентификацией модифицированных генов как следствий случайной мутации. Метаболическая инженерия, напротив, нацелена на улучшение клеточных показателей путем полного изучения метаболических путей и манипулирования определенными генами. Ожидается, что эта комбинированная стратегия приведет к разработке микроорганизмов, способных эффективно производить различные виды биотоплива в промышленных масштабах [38–39, 50, 62]. Недавно была достигнута успешная разработка микроорганизмов, способных производить несколько различных видов биотоплива, включая биоэтанол, биобутанол, алкан, биодизель и даже водород. Цианобактерии были разработаны для производства этанола, бутанола и изопрена, но их производительность все еще остается низкой. Традиционные методы улучшения штаммов (например, мутагенез и селекция) также могут привести к повышению продуктивности биотоплива из штаммов водорослей, и эти методы также недавно использовались. Тем не менее, нет никаких достижений в молекулярной инженерии эукариотических водорослей для производства жидкого биотоплива. Поэтому, несмотря на некоторые успехи, все еще необходимо преодолеть трудности, чтобы продвинуть передовое биотопливо к коммерциализации с конкурентоспособной ценой по сравнению с ископаемым топливом. Кроме того, слабым звеном этой технологии является улавливание и хранение двуокиси углерода, что по-прежнему обходит угольную промышленность [38–39, 50, 57, 62].

2.3.3 Биотопливо четвертого поколения

Недавно была введена концепция под названием «биотопливо четвертого поколения из водорослей» или «фотосинтетическое биотопливо». Ожидается, что прорыв в биотопливе из водорослей произойдет благодаря метаболической инженерии фотосинтетических микроорганизмов для производства и выделения биотоплива. Технология четвертого поколения объединяет генетически оптимизированное сырье, предназначенное для улавливания большого количества углерода, с геномно-синтезированными микроорганизмами, разработанными для эффективного производства топлива. Ключом к этому процессу является улавливание и хранение CO_2 , что делает биотопливо четвертого поколения источником с негативным уровнем эмиссии углерода [1, 50, 57]. Этот подход (обеспечивающий высокую производительность биотоплива и методы разделения продуктов) значительно снизит стоимость производства биотоплива за счет сокращения затрат на разделение и переработку биомассы, связанных с традиционными подходами. Выделяемое летучее биотопливо (низшие спирты и альдегиды) может быть удалено с газом из питательной среды и сконденсировано до жидкого биотоплива, избегая энергоемких этапов обезвоживания [50, 57].

2.3.4 Экономические аспекты

В Германии и США доля дизельного топлива будет продолжать расти, что делает биодизельное топливо второго поколения особенно актуальным. В отличие от этого, Бразилия и США используют главным образом бензин в качестве автомобильного топлива, поэтому биоэтанол второго поколения особенно важен в этих странах. На рисунке 2.13 показаны потенциальные долгосрочные затраты на разработку биотоплива второго поколения по сравнению с бензином и дизелем [51]. Ожидается, что с ископаемым топливом будут связаны повышенные налоги, что в конечном итоге приведет к экономической целесообразности использования биотоплива. Более того, оптимизация технологий производства биотоплива второго и третьего поколения в конечном итоге приведет к снижению их производственных затрат. Из рисунка 2.13 можно заметить, что одной из основных проблем сегодня

является экономическое использование биотоплива.

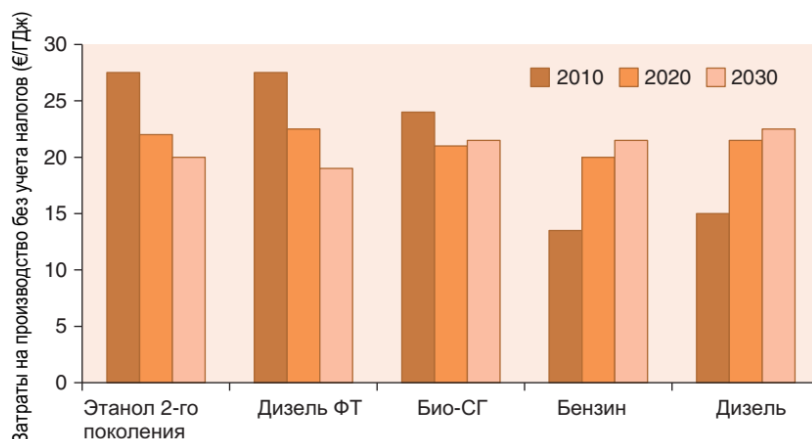


Рисунок 2.13 Возможны затраты на разработку биотоплива до 2030 года. По материалам Фритша и соавторов [51].

Тем не менее, имеется мало данных об экономических показателях этих новых технологий обработки, потому что анализы в значительной степени характерны конкретной площадки и могут значительно отличаться в зависимости от текущей и будущей региональной экономической и рыночной ситуации [5]. Для общей экономики производства биотоплива необходимо учитывать выращивание биомассы, поддержание роста, сбор урожая, транспортировку и технологию переработки. Расположение заводов по производству и модернизации биотоплива также требует внимания. Например, заводы по модернизации могут быть размещены как автономная установка в точке сбора биомассы, или как отдельный био завод. Существует также значительный потенциал для интеграции производства биотоплива с переработкой нефти. Для общего сравнения затрат с обычными видами топлива необходимо учитывать эффективность преобразования и связанных с ним выбросов, охватывающего полный цикл. Отмечается, что для производства биотоплива этим вопросам не уделяется должного внимания [23]. Некоторые проблемы еще предстоит решить по биотопливу лигноцеллюлозного происхождения до его коммерциализации. Вклад стоимости биомассы в общую стоимость производства лигноцеллюлозного биоэтанола оказывается одним из самых значительных [41]. Этап предварительной обработки также является интенсивным этапом потребления энергии, что увеличивает стоимость этанола [63]. Кроме того, вклад затрат ферментов в экономику производства лигноцеллюлозного биотоплива продолжает оставаться предметом дискуссий. В то время как некоторые авторы утверждают, что стоимость ферментов является основным препятствием для производства биотоплива, другие косвенно предполагают, что это не так, либо потому, что они оценивают стоимость как относительно низкую, либо потому, что они предполагают, что она будет снижаться благодаря технологическим инновациям или другим достижениям. Другие исследования просто признают, что общедоступная подробная информация о стоимости ферментов ограничена [61]. По оценочным данным, затратные вклады ферментов в производство лигноцеллюлозного этанола значительно варьируются от 0,3 до 0,11 долларов США/л. Было установлено, что вклад ферментов в стоимость этанола, полученного в результате конверсии кукурузной соломы, составляет 0,18 долл. США/л, если сахара в биомассе можно конвертировать с максимальными теоретическими выходами, и 0,39 долл. США/галлон, если выходы основаны на выходе после сахаризации и ферментации, о которой ранее сообщалось в научной литературе. С другой стороны, стоимость производства этанола может составлять всего 0,16 долл. США/л для сахарного тростника, 0,25 долл. США/л для кукурузы и 0,18 долл. США/л для маниоки. Следовательно, все еще требуются значительные усилия для снижения вклада ферментов в затраты на производство биотоплива [15, 61]. По другим видам биотоплива существует та же самая проблема. Несмотря на огромные инвестиции в продукты изопреноидов и жирных кислот, коммерческий успех еще предстоит доказать [39, 62]. По мере увеличения потребления биотоплива, чем в настоящее время, будет происходить процесс естественного отбора в пользу более устойчивых вариантов, где некоторые аспекты имеют решающее значение. Хороший энергетический баланс, высокий потенциал снижения выбросов ПГ, более высокая урожайность с гектара, возможность возделывания под дождем или низкая потребность в воде, более низкие производственные затраты и простое конечное использование - это требования, которые необходимо выполнить [1]. Например, использование этанола обусловлено главным образом его высоким уровнем естественного производства микроорганизмами, а не тем, что оно является оптимальным для нашей существующей

нефтегазовой транспортной инфраструктуры. У этанола только 70% энергоемкости бензина, с высокой вероятностью поглощения воды из воздуха, что приводит к коррозии в двигателях и трубах. Кроме того, его перегонка из ферментационного бульона является энергоемкой. У биодизеля также свои ограничения: в нем содержится только 91% энергоемкости дизеля, и поскольку воск может образовываться в топливе при слишком низкой температуре, его трудно транспортировать по существующей распределительной инфраструктуре, поэтому существуют географические ограничения для его использования [39].

2.4 Выводы

Биотопливо начали производить в конце 19 века. Интерес к коммерческому производству биотоплива для транспорта вновь возрос в середине 1970-х годов, и самый быстрый рост производства биотоплива произошел за последние 10 лет при поддержке амбициозной государственной политики. Помимо вопросов энергетической безопасности и устойчивого сельского хозяйства, сокращение выбросов CO₂ и политика смешанного управления автомобильным транспортом способствуют важности биотоплива среди альтернативных видов ископаемого топлива. Биотопливо является сложным предметом, который включает в себя такие аспекты, как экономика, экология, науки об окружающей среде, агрономия, ботаника, микробиология, биохимия, химия, генетика, химическая инженерия, машиностроение, юриспруденция и политика. Полная замена ископаемого топлива биотопливом не считается достижимой, но, тем не менее, современное биотопливо призвано сыграть решающую роль в долгосрочной перспективе, чтобы помочь ограничить рост выбросов парниковых газов и привести к переходу нынешнего общества, основанного на нефти к более устойчивому топливу. Биотопливо первого поколения в настоящее время коммерчески доступно, и есть культуры, которые в настоящее время не используются широко для производства биотоплива или не выращиваются в промышленных масштабах, но которые могут быть привлекательным сырьем для топлива первого поколения. Второе поколение вступает в этап коммерческого производства, и в основном для производства биотоплива второго поколения используется лигноцеллюлозный остаток. Что касается биотоплива третьего поколения, они все еще находятся на ранних стадиях разработки, а четвертое поколение все еще находится в зачаточном состоянии. Экономическая осуществимость этих процессов является целью, которая будет достигнута в ближайшие несколько лет. Коммерциализация требует совершенствования процессов лабораторных исследований для повышения выхода и производительности. Затем передовое биотопливо должно быть экономически конкурентоспособным по отношению к существующим продуктам, преодолевая основные экономические факторы, влияющие на цены на сырье и общий процесс производительности и урожайности.

Выражение признательности

Авторы отмечают финансовую поддержку со стороны Исследовательского фонда Сан-Паулу (FAPESP, проекты 2010 / 08684-8, 2011 / 19817-1, 2012 / 11561-0, 2012 / 11459-1).

Используемая литература

1. L.A. Nogueira. Does biodiesel make sense? *Energy*, Vol 36(6), p. 3659-3666, 2011.
2. I. Council. *Lighting the way: Toward a sustainable energy future*. InterAcademy Council, FAPESP, 2007.
3. IEA, *Technology Roadmap: Biofuels for Transport*. International Energy Agency, France. p. 56, 2011.
4. Fulton, L. *Biofuels for Transport: An International Perspective*. International Energy Agency: France. 2005.
5. M. Balat and H. Balat. *Applied Energy*, Vol. 86(11), p. 2273-2282, 2009.
6. IEA, *Key world energy statistics*. International Energy Agency. p. 80, 2012.
7. J. Goldemberg. Biomass and energy. *Quimica nova*, Vol. 32(3), p. 582-587, 2009.
8. FAO, *The state of food and agriculture*. Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome. p. 128, 2008.
9. IEA, *Technology Roadmap Biofuels for Transport*. International Energy Agency: France. p. 52, 2011.
10. K. Hofsetz and M.A. Silva. *Biomass and Bioenergy*, Vol. 46, p. 564-573, 2012.
11. M.D. Berni and P.C. Manduca. Bioethanol Program in Brazil: Production and Utilization Trade-Offs for CO₂ Abatement, in *3rd International Conference on Future Environment and Energy*: Rome. 2012.
12. A. Mudhoo, T.T. Forster-Carneiro and A. Sanchez. *Critical Reviews in Biotechnology*, Vol. 31(3), p. 250-263, 2011.
13. P.S. Nigam and A. Singh. *Progress in Energy and Combustion Science*, Vol. 37(1), p. 52-68, 2011.
14. J.M. Prado and M.A.A. Meireles. *Production of Valuable Compounds by Supercritical Technology Using Residues from Sugarcane Processing*, in *Biorefinery Co-Products: Phytochemicals, Primary Metabolites and Value-Added Biomass Processing*, C. Bergeron, D.J. Carrier, and S. Ramaswamy, Editors. Wiley Online Library: Malaysia. p. 133-151, 2012.
15. S.I. Mussatto, G. Dragonea, P.M.R. Guimaraes, J.P.A. Silva, L.M. Carneiro, I.C. Roberto, A. Vicentea, L. Domingues and J.A. Teixeira. *Biotechnology Advances*, Vol. 28(6), p. 817-830, 2010.
16. J. Van Gerpen, B. Shanks, R. Prusko, D. Clements and G. Knothe. Biodiesel production technology. Report for the National Renewable Energy Laboratory. USA: *Department of Energy*, 30: p. 42, 2004.
17. A. Demirbas. *Energy Conversion and Management*, Vol. 50(9), p. 2239-2249, 2009.
18. T. Forster-Carneiro, M. Fernandez, M. Perez Garcia, L.I. Romero Garcia, C.J. Alvarez Gallego and D. Sales. Diseno y optimization de la fase de arranque del proceso SEBAC en el tratamiento de la fraction organica de residuos solidos urbanos. *Residuos*, Vol. 74, p. 54-62, 2003.
19. T. Forster-Carneiro, V. Riau and M. Perez. *Biomass and Bioenergy*, Vol. 34(12), p. 1805-1812, 2010.
20. R. Rathmann, A. Szklo and R. Schaeffer. *Renewable Energy*, Vol. 35(1), p. 14-22, 2010.
21. A.V. Bridgwater. *Biomass and Bioenergy*, Vol. 38, p. 68-94, 2012.
22. D. Bacovsky, D. Michal, M. Wdrgetter. *Status of 2nd Generation Biofuels Demonstration Facilities in June 2010*. Report T39-P1b, 2010.
23. E. Furimsky. Hydroprocessing challenges in biofuels production. *Catalysis Today*, 2013.
24. P. Langan, S. Gnanakaran, K.D. Rector, N. Pawley, D.T. Fox, D.W. Cho and K.E. Hammel. *Energy & Environmental Science*, Vol. 4(10), p. 3820-3833, 2011.
25. E4TECH, *Biofuels review: advanced technologies overview*. Renewable Fuels Agency, 2008.
26. P. Alvira, E. Tomas-Pejo, M. Ballesteros and M.J. Negro. *Bioresource Technology*, Vol. 101(13), p. 4851-4861, 2010.
27. M.J. Taherzadeh and K. Karimi. *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 9(9): p. 1621-1651, 2008.
28. T. Eggeman and R.T. Elander. *Bioresource Technology*, Vol. 96(18), p. 2019-2025, 2005.
29. H. Tadesse and R. Luque. *Energy & Environmental Science*, Vol. 4(10), p. 3913-3929, 2011.
30. C.R. Soccol, L. Vandenberghe, A. Medeiros, S. Karpa, B. Buckeridge, L.B. Ramos, A. Pitarello, V. Leitao, L. Gottschalk, M. Ferrara, E. Bon, L. Moraesh, J. Araujo and F. Gonsalves. *Bioresource Technology*, Vol. 101(3), p. 4820-4825, 2010.
31. E. Tomas-Pejo. *Pretreatment Technologies for Lignocellulose-to-Bioethanol Conversion*, in *Biofuels: alternative feedstocks and conversion processes*. In: A. Pandey, C. Larroche, R. Steven, D. Claude-Gilles, G. Edgard. Editors. Elsevier: USA. p. 149-176, 2011.
32. M. Naushada, Z.A. AlOthmana, A.B. Khan and M. Ali. *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 51(4), p. 555-560, 2012.
33. C. Schacht, C. Zetzl and G. Brunner. *The Journal of Supercritical Fluids*, Vol. 46(3), p. 299-321, 2008.
34. Y Zhao, WJ Lu, HT Wang and D Li. *Environmental science & technology*, Vol. 43(5), p. 1565-1570, 2009.
35. S.E. Jacobsen and C.E. Wyman. *Industrial & engineering chemistry research*, Vol. 41(6), p. 1454-1461, 2009.
36. H. Youngs and C. Somerville. Development of feedstocks for cellulosic biofuels. *F1000 Biology Reports*, 2012.
37. M.A. Sharara, E.C. Clausen and D.J. Carrier. *An Overview of Biorefinery Technology*, in *Biorefinery Co-Products: Phytochemicals, Primary Metabolites and Value-Added Biomass Processing*, Ramaswamy, Editors. Wiley. p. 1-18, 2012.

38. Y.S. Jang, J. Park, S. Choi, Y. Choia, D. Seung, J. Cho and S. Lee. *Biotechnology advances*, Vol. 30(5), p. 989-1000, 2012.
39. P.P. Peralta-Yahya, F. Zhang, S. Cardayre and J. Keasling. *Nature*, Vol. 488(7411), p. 320-328, 2012.
40. S. Spatari, D.M. Bagley and H.L. MacLean. *Bioresource Technology*, Vol., 101(2), p. 654-667, 2010.
41. E. Gnansounou and A. Dauriat. *Technoeconomic Analysis of Lignocellulosic Ethanol*, in *Biofuels: alternative feedstocks and conversion processes*, A. Pandey, et al., Editors. Elsevier: USA. p. 123-148. 2011.
42. M. Nijboer. *The Contribution of Natural Gas Vehicles to Sustainable Transport*. International Energy Agency, 2010.
43. L.A.B. Cortez. *Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade*. Editora Blucher, 2010. 992p.
44. H.W. Chen, Q.H. Song, B. Liao and Q. Guo. Further Separation, *Energy & Fuels*, Vol. 25(10), p. 4655-4661, 2011.
45. E. Butler, G. Devlin, D. Meier and K. McDonnell. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 15(8), p. 4171-4186, 2011.
46. İ.K. Kapdan, F. Kargi. *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 38(5), p. 569-582. 2006.
47. S.M. Kotay and D. Das. *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 33(1), p. 258-263, 2008.
48. E. Eroglu and A. Melis. *Bioresource Technology*, Vol. 102(18), p. 8403-8413, 2011.
49. E. Kirtay. *Energy Conversion and Management*, Vol. 52(4), p. 1778-1789, 2011.
50. M. Daroch, S. Geng and G. Wang. *Applied Energy*, 2012.
51. U.R. Fritsche, H. Fehrenbach and S. Koppen. *Biofuels - what role in the future energy mix?* Shell Deutschland Oil: Darmstadt, Germany. p. 42. 2012.
52. IEA, *Energy technology perspectives 2012: pathways to a clean energy system*. International Energy Agency. 2012. p. 690.
53. A.A. Snow and V.H. Smith. *BioScience*, Vol. 62(8): p. 765-768. 2012.
54. N. Uduman, Y. Qi, M. Danquah, G. Forde, A. Hoadley. *Journal of renewable and sustainable Energy*, Vol. 2: p. 012701, 2010.
55. Y. Chisti and J. Yan. *Applied Energy*, Vol. 88(10), p. 3277-3279. 2011.
56. A. Sun, R. Davis, M. Starbuck, A. Amotze, R. Patea and P. Pienkos. *Energy*, Vol. 36(8), p. 5169-5179. 2011
57. P. Hallenbeck. *Hydrogen Production by Cyanobacteria*, in *Microbial Technologies in Advanced Biofuels Production*, P.C. Hallenbeck, Editor., Springer US. p. 15-28. 2012
58. M. Berni, S. Bajay and P. Manduca. Biofuels for urban transport: Brazilian potential and implications for sustainable development, in *18th International Conference on Urban Transport and the Environment*. WIT Press: Spain. 2012.
59. FAO. *FAOSTAT*. 2013 [cited 2013 February, 2013]; Available from: <http://fao-stat3.fao.org/home/index.html#VISUALIZE>.
60. A. Pandey, C.R. Soccol, P. Nigam, V. Soccol. *Bioresource Technology*, Vol. 74 (1), p. 69-80, 2000.
61. D. Klein-Marcuschamer, P. Oleskowicz-Popiel, B.A. Simmons, H.W. Blanch.. *Biotechnology and Bioengineering*, 2012.
62. Y. Kung, W. Rungtaphan and J.D. Keasling. *ACS Synthetic Biology*, Vol. 1(11), p. 498-513, 2012.
63. K.A. Ojeda, E. Sanchez, J. Suarez, O. Avila, V. Quintero, M. El-Halwagi, V. Kafarov. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, Vol. 50(5), p. 2768-2772. 2010.

Переработка биотоплива

Дивья Гупта^{1#}, Аджит Сингх¹, Ашвани Шарма² и Аншул Нигам^{3*#},

1 Факультет биотехнологии, Политехнический колледж Г.Б. Панта, Паури Гархвал, Уттаракханд-246001, Индия.

2 Computer-Chemie-Centrum, Университет Эрланген-Нюрнберг, ул. Негельсбах 25, 91052 Эрланген, Германия.

3 МПМБИ (переименован в РАЗРАБОТЧИК), Университет Пондичерри, Пудучерри-605014, Индия.

Краткое изложение

Для получения биотоплива требуется переработка, как и другим видам топлива. Вследствие растущей критики биотоплива первого поколения, которое может сказаться на спросе на продовольственные ресурсы, поэтому акцент делается на биотопливо второго поколения, поскольку оно не влияет на спрос на продукты питания. Хотя переработка биотоплива первого поколения хорошо изучена, переработка биотоплива второго поколения все еще экономически нецелесообразна. Основными препятствиями при переработке биодизеля из водорослей являются производство биомассы, извлечение масла и ее переработка. Кроме того, основным препятствием при переработке целлюлозного этанола является гидролиз целлюлозы до сахаров и перенос массы в случае синтез-газа. В этой части обсуждается обработка биотоплива, которое совместимо с автомобильными двигателями, используемыми в настоящее время.

Ключевые слова: Биотопливо, биодизель из водорослей, целлюлозный этанол и синтез-газ.

3.1 Введение

Подобно тому, как для производства топлива требуется переработка сырой нефти, аналогичная переработка необходима для производства биотоплива. Сложности, связанные с переработкой биотоплива, зависят от источника, из которого оно получено.

3.1.1 Биотопливо первого поколения

Биотопливо первого поколения получают из продуктов питания/кормов, таких как кукуруза, сахарный тростник [1] или растительное масло [2]. Переработка этих видов топлива хорошо изучена, в частности, для биоэтанола, поскольку он является наиболее широко используемым биотопливом [3]. Поскольку эти виды топлива производятся из сельскохозяйственных источников, они подвергаются серьезной критике, что ведет к дебатам касательно топлива и продуктов питания [4, 5]. Эти виды топлива составляют основную долю биотоплива, которое доступно на рынке сегодня.

3.1.2 Биотопливо второго поколения

Биотопливо второго поколения получают из непищевых / пищевых источников, таких как целлюлоза, гемицеллюлоза и лигнин из растений, биодизель из водорослевых липидов и биомассы (таблица 3.1). Их производство ограничено на уровне лабораторий/опытных масштабов и экономически нецелесообразно [6]. Многие правительства не поощряют производство биотоплива первого поколения из сырья, поскольку оно сказывается на спросе продуктов питания. Это привело к разработке биотоплива второго поколения, которое не влияет на спрос на продукты питания [7]. Научное сообщество с нетерпением ждет этих видов биотоплива, в частности биодизеля из целлюлозного спирта [8–10] из водорослей [11] и синтез-газа из биомассы [12–14]. Основным препятствием для производства биотоплива второго поколения являются высокие начальные инвестиции, что приводит к более высокой стоимости конечного продукта в сравнение с ископаемым топливом или другими видами биотоплива первого поколения.

Таблица 3.1 Биотопливо, источники и связанные с ним процессы.

№	Источник биотоплива	Конкретное биотопливо	Связанные процессы
1.	Водорослевые липиды	Биодизель	Производство биомассы водорослей / Добыча нефти / Снижение вязкости / Переэтерификация / Пиролиз и гидрообработка
2.	Целлюлоза / Лигнин	Этанол	Гидролиз / Ферментация
3.	Биомасса	Синтез-газ	Газификация / Ферментация

Цель этого раздела - познакомить читателей с процессами и оговорками, связанными с производством биотоплива второго поколения.

3.2 Биодизель из водорослей

Биодизель из водорослей вызвал значительный интерес, потому что:

- Продуктивность водорослей выше продуктивности наземных растений;
- Они могут накапливать очень большие количества триацилглицеридов и (3) не требуется использование сельскохозяйственных земель [15].

Ниже приведены этапы производства биодизеля из водорослей:

- Производство водорослевой биомассы
- Извлечение масла
- Трансэтерификация
- Пиролиз
- Гидрообработка

3.2.1 Производство водорослевой биомассы

Производство водорослевой биомассы осуществляется в фотобиореакторе. Эффективная конструкция фотобиореактора зависит от его способности обеспечивать доступ солнечного света к клеткам водорослей, усвоение CO_2 , аэрацию, использование воды и питательных веществ, температуры и pH [16]. Фотобиореактор должен быть спроектирован таким образом, чтобы он мог также включать все возможные эргономические характеристики, такие как низкие капитальные вложения и эксплуатационные расходы [17]. Параметры, кроме источников света, повсеместно распространены и в других процессах ферментации. Хотя открытый реактор представляется наиболее подходящим, но замкнутые реакторы также представляют интерес, так как в них легко контролировать параметры роста. Как правило, при производстве микроводорослей промышленного уровня используются системы с открытыми прудами из мелких резервуаров, в которых вода смешивается/циркулирует с помощью лопастного устройства. Они также известны как циркуляционные реакторы [18]. Принципиальная схема циркуляционного реактора показана на рисунке 3.1. Другие системы выращивания водорослей в открытых емкостях включают большие мешки, открытые и круглые пруды. Эти пруды могут быть с лопастными колесами для смешивания, например, циркуляционные пруды. Основным преимуществом этих реакторов является то, что они экономичны и просты в обслуживании, но подвержены низкой производительности из-за более низкой интенсивности освещения, более низкой скорости переноса массы диоксида углерода, когда он попадает в атмосферу, и ненадлежащего перемешивания.

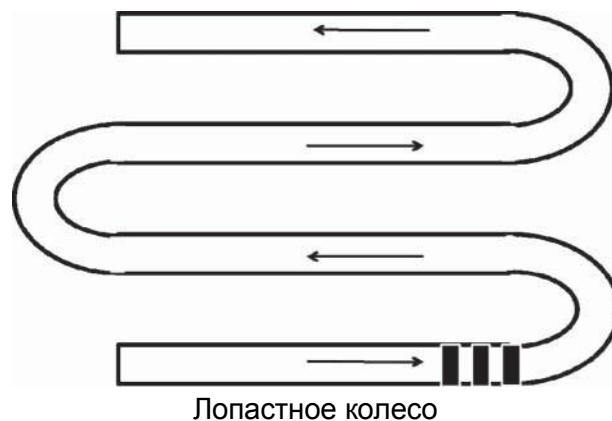


Рисунок 3.1 Схематическое изображение циркуляционного пруда. Стрелки представляют собой поток воды, в то время как лопастное колесо предназначено для смешивания.

Кроме того, они очень склонны к загрязнению, это сопряжено с риском с тем, что загрязняющие виды могут иметь антагонистические отношения с культивируемым штаммом. Более того, потеря воды в результате испарения увеличивает соленость [19]. В закрытых фотобиореакторах гораздо проще поддерживать чистую культуру, более высокую скорость освещения, смешивания, низкую потребность в воде / минералах и аэрацию. Источник света в этих реакторах может быть искусственным или естественным. С учетом конструкции закрытые фотобиореакторы были классифицированы на три типа:

3.2.1.1 Вертикальная колонна

Различные прототипы фотобиореакторов с вертикальными колоннами время от времени тестировались [20–23] и считаются наиболее перспективными для промышленного использования [24]. Эти реакторы характеризуются высокими объемными коэффициентами газопереноса. Это связано с тем, что пузырьки газа движутся вдоль колонны, что также способствует перемешиванию (рис. 3.2). Градиенты CO_2/O_2 и pH создаются по той же причине [25]. Основным ограничением этих реакторов является низкая площадь поверхности освещения и увеличение длины колонны, что вызывает эффект затенения [19]. Тень более длинной колонны падает на ближайшую.

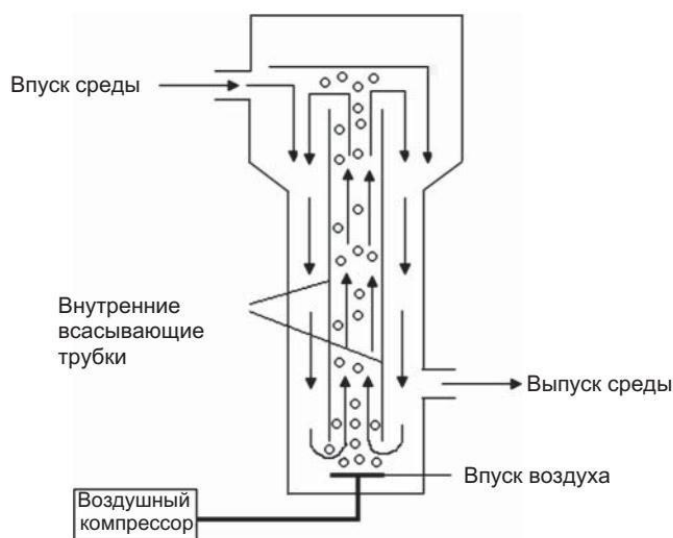


Рисунок 3.2 Схематическое изображение вертикальной колонны фотобиореактора.

3.2.1.2 Плоская пластина

Основной характеристикой этих реакторов является наличие большого отношения поверхности к площади освещения, что делает их пригодными для массового выращивания водорослей [17–19]. Прототип этого фотобиореактора был представлен Милнером [26]. Конструкции ФБР (фотобиореактор) были улучшены несколькими исследователями [27–29]. Из-за наличия большой площади освещения, была достигнута более высокая эффективность фотосинтеза [30] (рис. 3.3). Эффективность фотосинтеза может быть улучшена путем наклона угла реактора относительно земли [31]. Это увеличивает время воздействия солнечного света на реактор. Основной проблемой при разработке эргономичного реактора является стоимость панелей, рост на стенках, что ухудшает рассеивание света и, кроме того, может препятствовать росту некоторых видов вследствие гидравлического напряжения.

3.2.1.3 Трубчатый фотобиореактор

Трубчатые фотобиореакторы в основном изготавливаются из полых стеклянных или пластиковых труб (рис. 3.4). Аэрация и перемешивание в этих реакторах в основном осуществляются с помощью воздушного насоса или воздушной системы [32]. Схема установки труб может быть горизонтальной/спиральной [33, 34], вертикальной [35] и конической [36, 37]. Эти реакторы могут устанавливаться в горизонтальном, вертикальном или наклонном положении.

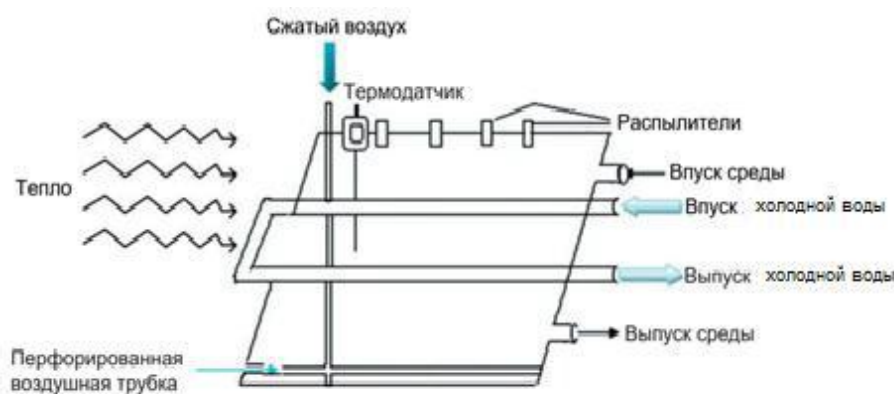


Рисунок 3.3 Схематическое изображение пластинчатого фотобиореактора.

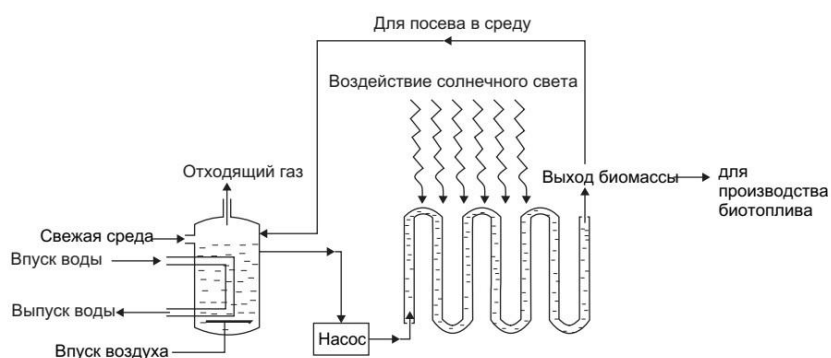


Рисунок 3.4 Схематическое изображение трубчатого фотобиореактора.

Образование градиентов кислорода и углекислого газа является уникальной характеристикой этих фотобиореакторов. Градиент углекислого газа также приводит к созданию в них градиента pH. Увеличение диаметра трубки приводит к снижению эффективности фотосинтеза из-за уменьшения соотношения поверхности к освещенности. Увеличение длины трубки не оказывает никакого влияния, если трубки расположены горизонтально. Однако смешивание значительно повышает эффективность фотосинтеза [38, 39]. Кроме того, эффективность фотосинтеза также может быть повышена путем наклона угла этих реакторов, поскольку это увеличивает время воздействия на реактор. Обсуждаемые здесь биореакторы рассматриваются для промышленного применения. Однако, лабораторные

фотобиореакторы оснащены экраном с искусственным светом, и интенсивность можно измерять/регулировать наряду с другими параметрами. Эти реакторы полезны для измерения эффективности улавливания света/углекислого газа клетками водорослей и в понимании процесса связывания углерода. Эти реакторы можно стерилизовать, поэтому можно легко поддерживать чистоту культур.

3.2.2 Извлечение масла

Содержание липидов в клетке водорослей составляет около 40% от общей массы, которую можно извлечь и превратить в топливный биодизель. Однако, добывать масло из водорослей – очень трудоемкий процесс из-за небольшого размера водорослевой клетки и толщины ее клеточной стенки. Клеточная стенка водорослей и клеточная мембрана должны быть разрушены, чтобы извлечь это масло [40]. Извлечение масла из водорослей можно в целом подразделить следующим образом (рис. 3.5):

3.2.2.1 Механический метод

3.2.2.1.1 Прессование

Этот метод основан на использовании высокого давления, которое используется для удаления клеточных стенок и клеточных мембран для извлечения масла.

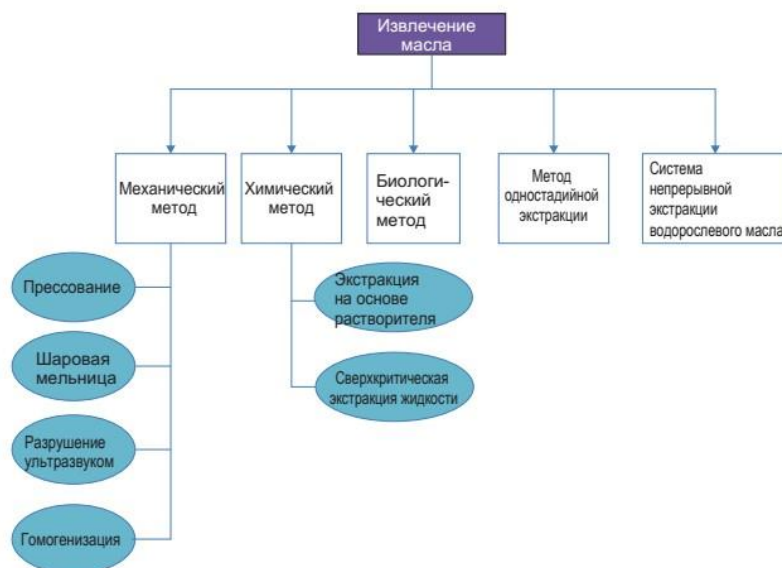


Рисунок 3.5 Различные методы экстракции масла.

При прессовании водорослей высушиваются, при этом масло остается. Затем масло можно извлечь из клеток с использованием различных типов прессов, таких как винтовой, тисковый, поршневой и т.д. [41].

3.2.2.1.2 Шаровая мельница

Помол в шаровой мельнице включает перемешивание биомассы водорослей при помощи небольших стальных или стеклянных шариков в закрытом сосуде. Столкновение между клетками и шариками приводит к высокому градиенту сдвига жидкости, который помогает разрушить клеточные стенки водорослей и позволяет извлечь масло. Чтобы повысить эффективность этого метода, в настоящее время он сочетается с методом экстракции на основе растворителя [42].

3.2.2.1.3 Ультразвуковая экстракция / Разрушение ультразвуком

Разрушение ультразвуком используется для создания пузырьков пара жидкой формы в растворителе, что приводит к кавитации. Когда эти пузырьки разрушаются возле клеток водорослей, это приводит к разрушению клеточных стенок [43, 44].

3.2.2.1.4 Гомогенизация

Это представляет собой быстрое падение давления через отверстие, создающее высокий градиент сдвига и разрушающее клеточные стенки.

3.2.2.1.5 Химический метод

Химические методы экстракции масла основаны на использовании химических веществ для его извлечения. Этот метод можно далее подразделить на две части:

3.2.2.1.6 Экстракция на основе растворителя

Органические растворители, такие как бензол, эфир, гексан, циклогексан, ацетон и хлороформ, могут быть использованы для экстракции масла из водорослевой биомассы путем проникновения в ее клеточную стенку [43]. Из них гексан обычно используется для извлечения масла. И вновь, для этого метода также требуется сушка водорослевой биомассы, что является энергоемким процессом [40]. При комбинации метода гексанового растворителя с прессованием можно извлечь около 95% масла из водорослей. Одновременное использование экстракции на основе растворителя с переэтерификацией повышает его эффективность, включая прямое превращение триацилглицеридов в метиловые эфиры путем добавления спирта и катализатора [45].

3.2.2.2 Сверхкритическая экстракция жидкости

Углекислый газ, который выступает как сверхкритическая среда, действует как органический растворитель, когда его смешивают с водорослевой биомассой. Он проникает в клеточную стенку и эффективно удаляет масло из клеток водорослей [40].

В 2010 году Коуто и другие описали экстракцию липидов с использованием сверхкритического CO₂ и с последующим превращением в биодизель [46]. Для этого метода не требуется дополнительный органический растворитель и, следовательно, позволяет получить высокоочищенные экстракты. Кроме того, сверхкритический CO₂ можно легко удалить из реакционной смеси, так как при комнатной температуре это газ [45–49]. Также этот метод помогает поддерживать липидные характеристики водорослей во время экстракции масла, так как для реакции со сверхкритическим CO₂ требуются низкие температуры [40]. Эффективность этого метода составляет около 100%. Однако, необходимость использования дополнительных дорогостоящих инструментов сокращает его использование. Использование сверхкритического CO₂ в сочетании с метанолом изменяет его полярность и вязкость, что впоследствии увеличивает сольватирующую способность и в конечном итоге приводит к более эффективному способу экстракции [48–51].

3.2.2.3 Биологический метод

Ферменты можно использовать для разрушения клеточной стенки водорослей (полностью или частично) и для высвобождения ее внутриклеточного содержимого в среду. Ферментативная экстракция является дорогостоящим методом, а также утомительным из-за его селективности расщепления. Однако, для некоторых биополимеров, а именно альгаенанам, присутствующим в трехслойной оболочке клеточной стенки водорослей, требуется приложения большей энергии во время механического разрушения и больше проходов через оборудование. В таких случаях использование специфических ферментов для разрушения клеточной стенки водорослей становится выгодным методом [52]. В 2007 году Брун и Бичер уже показали использование артемии для извлечения водорослевого масла [53].

3.2.2.4 Метод одностадийной экстракции

OriginOil ТМ недавно разработала одностадийный процесс экстракции, который включает воздействие на биомассу водорослей квантового разрушения, импульсного электромагнитного поля и CO₂ (для изменения pH) для разрушения клеточной стенки при одновременном отделении биомассы водорослей от масла с использованием отстойника. Этот метод выгоден тем, что он проще, более эффективен, обеспечивает непрерывную экстракцию, недорог, универсален и не зависит от использования химических или тяжелых инструментов [41–54].

3.2.2.5 Система непрерывной экстракции водорослевого масла

Недавно Cavitation Technologies, Inc. (CTi) выпустила нанореактор CTi, который используется для создания кавитационных пузырьков в среде с водорослевой биомассой. Ударные волны генерируются, когда эти кавитационные пузырьки разрушаются, проникая сквозь клеточные стенки и, в свою очередь, способствуя выделению содержимого внутри клеток [41].

3.2.3 Трансэтерификация/ Основной катализ

Извлеченное масло из водорослевой биомассы может быть использовано для производства биодизеля с использованием широко известного метода превращения липидов в биодизель, а именно переэтерификации [40]. В общем, трансэтерификация включает в себя превращение сложноэфирной формы в другую путем возвратно-поступательного воздействия алкоксильной группы [55] (рис. 3.6). Эту реакцию проводят с использованием основного катализатора, в результате чего образуется сложноэфирный продукт, называемый биодизельным топливом, и поэтому называется трансэтерификацией, катализируемой основанием [56]. Этот процесс начинается путем обеспечения подходящей температуры для извлечения масла с последующим добавлением спирта (обычно метанола) и катализатора (обычно этанолата натрия). Катализатор депротонирует метанол и делает его пригодным для нуклеофильной атаки на триглицерид, в конечном итоге образуя биодизель (метиловый эфир) и глицерин в качестве побочного продукта [55–57]. Глицерин, будучи более тяжелым, оседает с мыльным материалом в середине, в то время как биодизель остается на поверхности [56] (рис. 3.7). Трансэтерификация обычно проводится при температуре около 60–66° С и давлении 20 фунтов на кв. дюйм. Повышение температуры может повлиять на скорость реакции, поскольку при температуре выше точки кипения метанол (68° С) испаряется и приводит к образованию пузырьков, что в конечном итоге снижает скорость реакции [55–56].

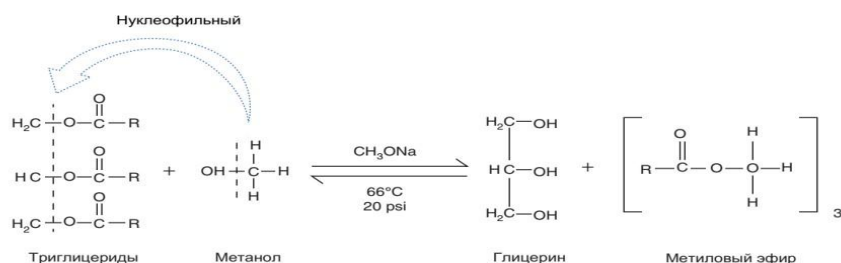


Рисунок 3.6 Механизм реакции переэтерификации между триглицеридами и метанолом.

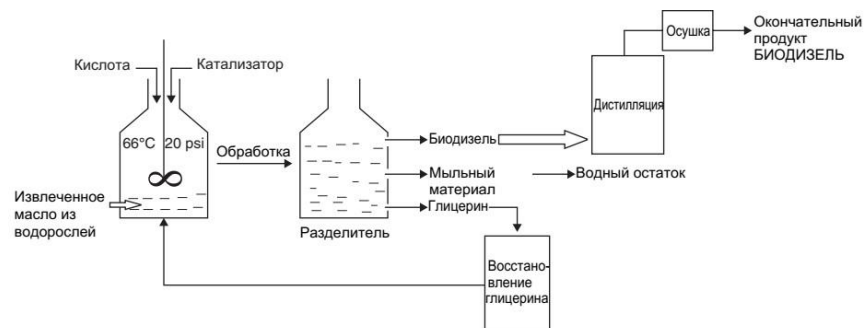


Рисунок 3.7 Схематическое представление производства биодизеля из водорослевого масла с использованием процесса переэтерификации.

Существуют различные типы катализаторов, которые могут быть включены в процесс переэтерификации. А именно, гидроксид натрия (NaOH), гидроксид калия (KOH), метоксид натрия (CH₃ONa), метоксид калия (CH₃OK) являются возможными вариантами, у каждого из которых есть свои преимущества и недостатки. В 2007 году Энсингар и другие продемонстрировали более высокую продуктивность (около 70%) метилового эфира в присутствии гидроксида калия в качестве

катализатора [58]. Демирбус в 2009 году и Гупта и другие в 2007 году продемонстрировали лучшую производительность биодизеля с использованием КОН в качестве катализатора [59, 60]. Кроме того, КОН и NaOH также недорогие и простые в обращении во время проведения экспериментов исследователями [55]. Однако для КОН и NaOH требуются высокие концентрации (около 0,5% -1,5% от веса масла) в сравнение с метоксидом натрия (около 0,3% -0,5% от веса масла) для того же выхода биодизеля [61]. Следовательно, метоксид натрия используется в экспериментальном масштабе, а NaOH или КОН используются в лабораторных исследованиях [62]. Метанол является часто используемым спиртом в реакции переэтерификации. Однако, в этом процессе также можно использовать этанол или бутанол [63, 64]. Метанол, более доступный, недорогой и обладающий меньшей пространственной устойчивостью, чем метанол, в основном используется для реакции переэтерификации [65]. При этом, этанол усиливает цетановое число, может легко смешиваться с маслом по сравнению с метанолом и у него возобновляемые источники происхождения [55]. Во время начальной фазы реакции необходимо энергичное перемешивание, чтобы масло и метанол равномерно смешивались друг с другом, поскольку они плохо смешиваются. Вместе с тем, как процесс знаменует собой образование продукта, требуется небольшое перемешивание, чтобы облегчить отстаивание глицерина, чтобы реакции могли продолжаться в верхнем слое метанола и масла [61]. Еще одним препятствием во время процесса - производство эмульсии, которая усложняет процесс разделения глицерина и биодизеля. Эти эмульсии более устойчивы в случае этанола, чем в случае метанола [66]. Одним из важных факторов при использовании алкоголя является использование подходящего количества алкоголя, поскольку эта реакция обратима. Большое количество алкоголя может сдвинуть равновесие реакции вправо и снизить производительность. В 2008 году Менгет и другие, Рефаат и другие объяснили использование соотношения 6: 1 для повышения производительности [67, 68]. Извлеченное водорослевое масло состоит из триацилглицеридов, свободных жирных кислот, фосфолипидов, гликолипидов и сульфоллипидов. Для проведения основной катализируемой переэтерификации, содержание свободной жирной кислоты должно быть менее 0,1%, в противном случае это приводит к омылению [40–61].

3.2.3 Пиролиз

Пиролиз образован из двух слов, пиро – «огонь», а лизис - «разрыв». Термин пиролиз определяет процесс использования тепла для разрыва химических связей. Пиролиз, альтернативный инструмент понижения вязкости, действует путем разрыва химических связей при высокой температуре для образования биодизеля в отсутствие воздуха [56]. Извлеченное водорослевое масло нагревают до 450–600° С в отсутствие воздуха, что приводит к разрушению химических связей, образованию паров, газов и древесного угля. Эти пары подвергаются процессу конденсации, образуется жидкость, которую можно использовать в качестве биодизеля после прохождения через катализатор, а именно цеолиты [56, 69, 70] (рис. 3.8). Пиролиз имеет преимущество перед переэтерификацией нижеследующим образом:

- Дает более высокий выход, чем переэтерификация, который составляет около 70–75%,
- Не нужно добывать масло на начальных этапах.
- После конденсации паров в жидкость и прохождения ее над катализатором нет необходимости в дополнительной промывке, сушке или перегонке.
- Побочные продукты, такие как уголь и газы, также могут быть использованы повторно. Древесный уголь можно использовать в качестве удобрения, и так как он горючий, то использовать при стадии нагрева.
- CO₂, образующийся во время горения топлива на этапе нагревания, можно использовать для ускорения роста водорослей.

Однако, для этого способа требуются высокие температуры и условия вакуума для обработки биодизеля, что является энергоемким этапом.

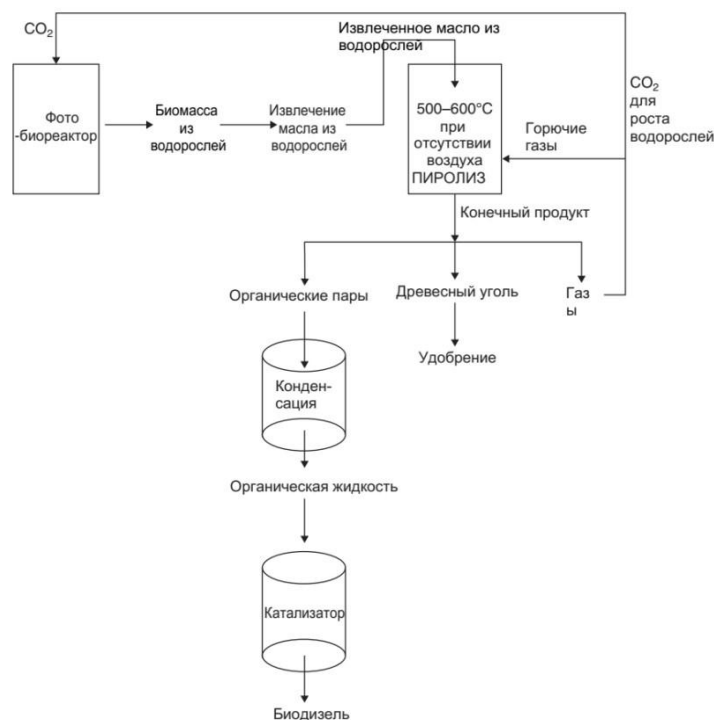


Рисунок 3.8 Схематическое изображение производства биодизеля из водорослевого масла с использованием процесса пиролиза.

3.2.4 Гидропроцессинг

Гидропроцессинг, как определяет название, представляет собой метод переработки масла после пиролиза в топливо или биодизель в присутствии водорода. Основной целью этого процесса является удаление кислорода, который удаляется в виде воды. Процесс проводится в присутствии катализатора, и масло получается в виде топлива с высоким содержанием углеводородов. Во время этого процесса глицерин образуется из триацилглицеридов и превращается в пропан. Смесь алканов, полученную на этой стадии, подвергают фракционированию. Полученные фракции включают синтетический авиационный керосин и возобновляемый дизель (ВД), полученный при гидрировании. У ВД высокое цетановое число и также может быть получен при переработке любого другого масла животного или растительного происхождения. Кроме того, он является экологически чистым, так как содержит мало серы [40]. В январе 2009 года Continental Airlines в течение двухчасового полета провела испытания Continental jet 516, двухмоторного Боинга 737–800. Один из двух двигателей Continental jet работал на топливе из 50% синтетического керосина, полученного из ятрофы и водорослевого масла, а оставшиеся 50% авиатопливо из нефти [71].

3.3 Целлюлозный этанол

Бразилия и США производят 5 млрд. галлонов этанола из тростникового сахара и крахмала из кукурузы. Производимого объема недостаточно, чтобы оказать влияние на мировое потребление нефти. По оценкам различных групп исследователей, становится ясно, что этанол из традиционных сельскохозяйственных продуктов не может влиять на использование транспортного топлива. Основным ограничивающим фактором является продуктивность сельскохозяйственных земель. Кроме того, общие энергозатраты на производство этанола составляют значительную долю вырабатываемой энергии. Многие эксперты сходятся во мнении, что целлюлозная биомасса может поддерживать производство биотоплива в таких масштабах, которое может соизмериться с мировым потреблением нефти. Синтез этанола из целлюлозы путем ферментации требует выделения сахаров из целлюлозы и гемицеллюлозы. Лигноцеллюлоза состоит в основном из целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина. Целлюлоза представляет собой линейный полимер D- глюкозных остатков, связанных с помощью $\alpha(1,4)$ гликозидных связей с высокой степенью полимеризации [72], который изменяется от растения к растению. Целлюлоза, являющаяся химически стабильной и структурированной, обеспечивает устойчивость против микробного воздействия и высокую прочность на растяжение клеточной стенки [73]. Гемицеллюлоза гетерополисахаридная состоит из пентоз (ксилоза, арабиноза), гексоз (манноза, глюкоза, галактоза) и сахарных кислот [74, 75]. Гемицеллюлоза, разветвленная и имеющий аморфный

характер, может легко гидролизироваться в ее мономерные компоненты [76]. Лигнин представляет собой очень сложную сеть фенилпропановых остатков, связанных эфирными связями [77]. Лигнин обеспечивает высокую степень механической прочности клеточной стенки. Лигнин представляет трудность во время гидролиза, поскольку предотвращает набухание клеточной стенки, экранирует целлюлозные поверхности и, следовательно, влияет на доступ фермента к целлюлозе. Еще одним препятствием в гидролизе лигнина является то, что он неуглеводный по характеру, состоит в основном из 3-х гидроксициннамиловых спиртов, метоксилированных в различной степени, а именно. р-кумарил, кониферил и синапиловый спирт [78–80]. Общее представление о превращении лигноцеллюлозной биомассы в этанол путем ферментативного и химического гидролиза показано ниже (рис. 3.9):

3.3.1 Измельчение

Самым первым шагом в производстве целлюлозного этанола является переработка путем измельчения лигноцеллюлозной биомассы с использованием физических методов, таких как размол, дробление и т.д. [71]. После этого шага весь процесс разделяется на два: первый - ферментативный гидролиз, а второй - химический гидролиз.

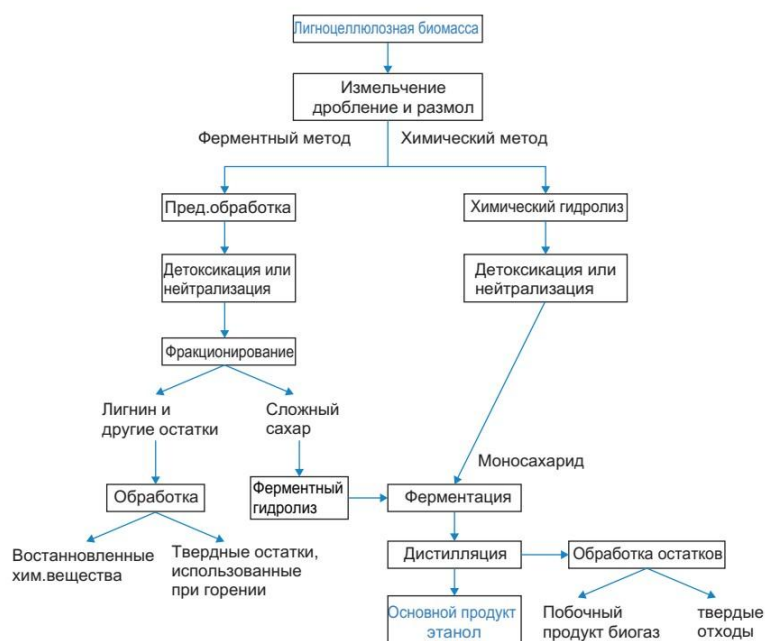


Рисунок 3.9 Основное представление о превращении лигноцеллюлозной биомассы в этанол.

3.3.2 Ферментативный гидролиз

Этот метод основан на использовании ферментов для гидролиза сложных сахаров в моносахариды.

3.3.2.1 Предварительная обработка

Ферментативный гидролиз начинается с предварительной обработки измельченных веществ с целью эффективного гидролиза целлюлозы и гемицеллюлозы в их соответствующие мономерные звенья. Предварительная обработка перед ферментативным гидролизом необходима для улучшения доступности фермента к целлюлозе или гемицеллюлозе, увеличения площади поверхности, удаления лигнина, ухудшения кристалличности целлюлозы и растворения целлюлозы или гемицеллюлозы. Существуют различные методы предварительной обработки, каждый из которых основан на различном принципе. Некоторые из них описываются ниже:

3.3.2.2 Метод паровой обработки

Метод паровой обработки основан на обработке измельченного продукта насыщенным паром под высоким давлением при температуре 180–210°C в течение 1–10 мин. Затем это сочетается с мгновенным снижением давления пара для получения взрывной разгрузки [81]. Это значительно увеличивает выход ферментативного гидролиза. Однако, это нежелательно, потому что это энергоемко,

дорого и теряется свободный сахар на стадии промывки и очистки [82]. Сегодня паровая обработка используется в сочетании с кислотой в качестве катализатора для повышения чистоты. В 2004 году Варга и другие продемонстрировали, что использование комбинации паровой обработки с 2% H_2SO_4 усиливает ферментативный гидролиз в четыре раза по сравнению с необработанной биомассой [83].

3.3.2.3 Метод разбавленной кислоты

Метод предварительной обработки разбавленной кислотой включает добавление разбавленной кислоты (обычно 0,2–3,0% H_2SO_4) и воды в измельченный продукт для образования суспензии после обеспечения надлежащей температуры ($> 160^\circ \text{C}$) путем пропаривания. Два основных различия между этим методом и методом паровой обработки заключаются в использовании меньшего размера частиц в методе разбавленной кислоты и использовании другого исходного материала (при методе паровой обработки используется влажный исходный материал, в то время как для метода разбавленной кислоты требуются суспензии с более низким содержанием сухого вещества, т.е. $<5\%$) [84].

3.3.2.4 Метод предварительной обработки известью

Этот метод включает смешивание карбоната кальция или гидроксида натрия с измельченным продуктом при $85\text{--}150^\circ \text{C}$ в течение 1 часа в течение нескольких дней, в зависимости от используемого исходного материала. Однако этот метод помогает только удалить лигнин [85, 86].

3.3.2.5 Разрушение целлюлозы аммиаком

Как следует из названия, он основан на использовании жидкого аммиака при температуре $90\text{--}100^\circ \text{C}$ и давлении 17–20 бар в течение 5–10 мин. Это быстрый метод, способный обрабатывать материал с 60% сухого вещества без потери сахара [87].

3.3.2.6 Детоксикация/Нейтрализация

Метод предварительной обработки приводит к одновременному производству некоторых токсичных компонентов, таких как фенольные соединения, производные

фурана и алифатические кислоты в результате разложения сахара и лигнина. Для детоксикации таких токсичных компонентов в реакционной смеси используются некоторые методы детоксикации и нейтрализации, такие как ионообменные смолы, обработка известью, обработка сульфитом и т.д. [88].

3.3.2.7 Ферментативный гидролиз

После прохождения методов предварительной обработки реакционная смесь в основном содержит целлюлозу и гемицеллюлозу с ограниченным количеством лигнина. Для эффективной работы ферментов требуются подходящие условия окружающей среды.

3.3.2.7.1 Ферменты, разрушающие целлюлозу

1. Эндо-1,4- β -глюканаза (ЕС 3.2.1.4): произвольно гидролизует внутреннюю Р-1,4-D-глюкозидную связь.
2. Экзо-1,4-Р-D-глюконаза/ целлобиогидролазы (ЕС3.2.1.91): гидролизует целлобиозные звенья с концов.
3. Р- глюкозидаза (ЕС 3.2.1.21): расщепляет целлобиозные звенья и вырабатывается глюкоза.

Trichoderma reesei, *Humicola*, *Acremonium* – несколько примеров целлюлаз грибкового происхождения. *Clostridium thermocellum* является примером бактериальных целлюлаз.

3.3.2.7.2 Ферменты, расщепляющие гемицеллюлозу

Ферменты, разрушающие ксилановую цепь:

4. Эндо-1, 4-0-D-ксилаза (ЕС 3.2.1.8), разрушающие основу
5. 1, 4- в-D-ксилосидаза (ЕС 3.2.1.37), гидролизует ксилоолигосахаридов в ксилозу.

Ферменты, разрушающие манназу:

1. Эндо-1, 4- β -D-маннаназы (ЕС 3.2.1.78), произвольно гидролизуют внутренние связи
2. 1, 4- α -D-маннозидазы (ЕС 3.2.1.25), гидролизуют манноолигосахариды в маннозу.

Ферменты, удаляющие боковые группы:

1. α -D-галактозидазы (ЕС 3.2.1.22)
2. α -L- арабинофуранозидазы (ЕС 3.2.1.55)
3. α - глюкуронидазы (ЕС 3.2.1.139)
4. ацетилксиланэстеразы (ЕС 3.1.1.72)
5. ферулоиловые и *p*-кумаровые кислоты эстеразы (ЕС 3.1.1.73) [89–90]

Ферменты, модифицирующие лигнин:

1. Лакказы (ЕС 1.10.3.2): с медью в качестве коэнзима, участвующего в разрушении лигнина
2. Пергидаза лигнина (ЕС 1.11.1.14): с гемом в качестве коэнзима, участвующего в окислительном распаде лигнина

3.3.3 Химический метод

Этот метод основан на использовании химических веществ для гидролиза сложных сахаров в простые сахара.

3.3.3.1 Химический гидролиз

Измельченный продукт подвергается химической обработке при подходящей температуре в течение определенного периода времени, что приводит к гидролизу целлюлозы и гемицеллюлозы в их соответствующие мономерные звенья. HCl и H₂SO₄ можно использовать для химического гидролиза, хотя H₂SO₄ является главным химическим веществом [72]. Существует два способа проведения химического гидролиза:

1. Гидролиз концентрированной кислотой
2. Гидролиз разбавленной кислотой

3.3.3.1.1 Гидролиз концентрированной кислотой

Гидролиз концентрированной кислотой сравнительно устаревшая процедура, для которой требуется низкая температура (40 ° C), чтобы обеспечить высокий выход сахара. Однако использование большого расхода кислоты в этом процессе приводит к коррозии оборудования. Кроме того, это энергоемкий и длительный процесс [72].

3.3.3.1.2 Гидролиз разбавленной кислотой

Предполагается, что гидролиз разбавленной кислотой является наиболее широко используемым процессом. Это требует низкого потребления кислоты и меньшего времени обработки по сравнению с гидролизом пентоз и гексоз в простые сахара. Однако это основано на использовании высокой температуры, что приводит к образованию некоторых нежелательных побочных продуктов. Реакторы, такие как реакторы идеального вытеснения, перколяцией, противотоком и усадочным слоем используются для гидролиза разбавленной кислотной гексоз и пентоз в периодическом режиме [72].

3.3.3.1.3 Детоксикация / Нейтрализация

После завершения процесса химического гидролиза реакционная смесь должна пройти стадию детоксикации или нейтрализации для выделения кислоты или для детоксикации некоторых компонентов. Кислотный компонент можно восстановить путем прохождения через анионную мембрану или путем превращения его в H₂S. Гидролиз разбавленной кислотой иногда приводит к образованию некоторых токсичных продуктов, таких как 5-гидроксиметилфурфурол (HMF), уксусная кислота, уроновая кислота, 4-гидроксibenзойная кислота, фенол, формальдегид и т. д., которые можно извлечь, пропустив реакционную смесь через ионообменную смолу или обработав ее известью или сульфитом.

3.3.4 Процесс ферментации

После прохождения стадий детоксикации, нейтрализации или фракционирования полученный гидролизат все еще представляет собой смесь многих соединений, включая некоторые ингибирующие соединения.

Тип, состав и концентрация этих ингибирующих соединений зависят от типа используемого лигноцеллюлозного материала, метода гидролиза (ферментативного или химического, а также от метода предварительной обработки) [72]. Кроме того, гидролиз целлюлозы приводит к образованию глюкозы, а гидролиз гемицеллюлозы приводит к образованию некоторых пентоз, в основном ксилозы, с некоторым количеством арабинозы, галактозы, маннозы и фруктозы на основе исходного материала [91]. Встречающиеся в природе микроорганизмы, такие как *Saccharomyces cerevisiae* и *Zytoplasma mobilis*, обычно используемые ферментирующие микроорганизмы, могут легко и эффективно ферментировать глюкозу, но не способны ферментировать другие сахара, такие как ксилоза или арабиноза [92]. Все это затрудняет ферментацию гидролизатов в сравнение с ферментацией сока или зерен сахарного тростника. Ниже приведены некоторые примеры микроорганизмов, которые могут ферментировать ксилозу в этанол.

Виды дрожжей: *Candida*, *Kluveromyces*, *Pichia*, *Schizosaccharomyces*

Виды грибов: *Fusarium*, *Rhizopus*, *Monilia*, *Mucor*

Виды бактерий: *Clostridium*, *Eruinia*, *Bacillus*, *Thermoanaerobacter*

[93–96]

Сегодня начинают использовать некоторые генетически модифицированные организмы, способные сбраживать глюкозу и ксилозу. Однако, поскольку это только используется в лабораторных исследованиях, то необходимо перенести его в экспериментальный масштаб. В 1996 году Padukone и соавторы показали использование рекомбинантного *E. Coli* ATCC 11303 (pLOI 297) для ферментации глюкозы и ксилозы в этанол с теоретическим выходом около 84% [97]. В 1999 году Инграм и соавторы описали использование рекомбинантного штамма *Klebsiella oxytoca* для непосредственного сбраживания целлюлозы и целлотриозы [98]. В 2004 году Аббас и соавторы использовали генетически модифицированный штамм *Saccharomyces cerevisiae* r424A для ферментации гидролизата кукурузных волокон с выходом 58 г/л этанола в ферментированной среде [99]. По завершения этого процесса ферментации, ферментированная среда подвергается процессу дистилляции для отделения этанола. Остаточная переработка лигнина, непрореагировавшей целлюлозы и гемицеллюлозы, микробиомассы, химических веществ и ферментов может привести к производству биогаза в качестве побочного продукта и остатков твердых отходов [100, 101].

3.4 Синтез-газ

Синтетический газ или синтез-газ получают из биомассы путем ее частичного окисления в газификаторе или ферментации (рис. 3.10). Синтез-газ представляет собой смесь, состоящую в основном из окиси углерода (CO), двуокиси углерода (CO₂) и водорода (H₂) [102].

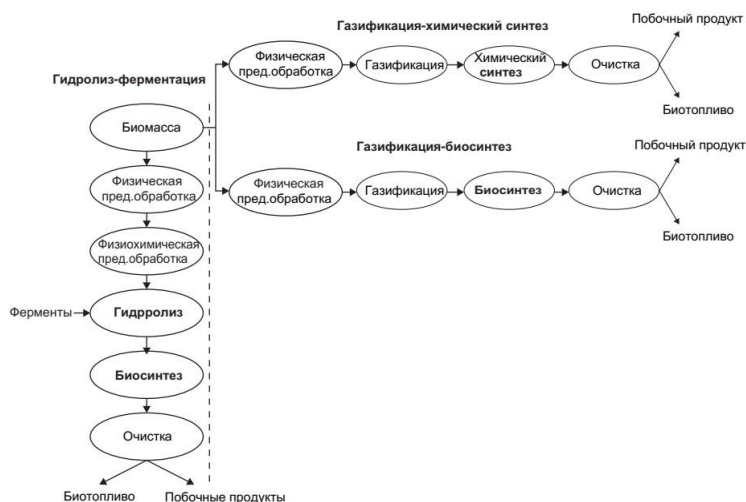


Рисунок 3.10 Схематическое изображение производства синтез-газа из биомассы методами гидролиза и газификации.

Здесь биомасса газифицируется путем ферментации, в результате чего образуются CO, CO₂ и H₂ и другие побочные продукты, такие как смола, углеводород, оксид азота (NO) и аммиак. Это можно далее преобразовать в жидкое биотопливо путем брожения. Микробы для этого преобразования, включают *Clostridium ljungdahlii* [103], *Clostridium autoethanogenum* [104] и *Butyrivacterium methylotrophicum* [105]. Эти организмы используют путь ацетил-КоА, также известный как путь Вуда/Льюнгаля для энергии и роста [106]. Ацетогены получают энергию путем снижения углекислого газа в качестве конечного акцептора электронов по отношению к ацетил-КоА [103]. Основное препятствие на пути производства биотоплива из синтез-газа связано с низкой скоростью массообмена газ-жидкость CO, CO₂ и H₂. Текущие исследования направлены на улучшение этой проблемы. Как правило, массообмен этих газов усиливается за счет увеличения скорости газового потока на единицу объема жидкости [107] или за счет использования микрораспылителей для получения микропузырьков, которые увеличивают площадь поверхности раздела газ-жидкость [108]. Поддержание высокой плотности ячеек также улучшает скорость массообмен газов, что приводит к их эффективной конверсии в топливо [109]. Вероятно, это связано с тем, что газ, поступающий в реактор, немедленно расходуется.

3.4 Заключение

Разработка биотоплива второго поколения необходима, поскольку пищевые ресурсы не могут быть поставлены под угрозу из-за топлива. Для обеспечения безопасности пищевых продуктов во многих странах производство биотоплива ограничивается растительными продуктами, которые можно выращивать на заброшенных участках или получать из отходов. Поскольку многие проблемы, связанные с промышленным производством биотоплива второго поколения, являются общими с проблемами топлива первого поколения, то можно использовать уроки, извлеченные из прошлого. Процесс рафинирования липидов водорослей в биотопливо включает в себя этапы, аналогичные растительному маслу. Можно заключить, что будущее биотоплива второго поколения зависит не только от биотехнологии, но также от совершенствования методов производства или объединения обоих.

Примечание: Здесь не рассматривается переработка биоводорода, так как она не способна приводить в движение современные автомобильные двигатели в качестве транспортного топлива. Наша цель - познакомить читателей с технологиями переработки биотоплива второго поколения, которое можно использовать в качестве транспортного топлива. Важно отметить, что как целлюлоза (после гидролиза до сахаров), так и синтез-газ также могут быть направлены на синтез бутанола путем изменения биокатализатора.

Использованная литература

1. C. Schubert, *Natural Biotechnology*, Vol. 24, pp. 777-784, 2006.
2. A. Demirbas, *Progress in Energy and Combustion Science*, Vol. 33, pp. 1-18, 2007.
3. S.N. Naik, V.V. Goud, *et al.*, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 14, pp. 578-597, 2010.
4. J. Hill, E. Nelson *et al.*, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 103, pp. 11206-11210, 2006.
5. M.J. Taherzadeh and K. K, *BioResources*, Vol. 2, pp. 707-738, 2007.
6. A. Eisentraut, Sustainable Production of Second - Generation Bio-fuels: Potential and perspectives in major economies and developing countries, Paris, France, International Energy Agency, 2010.
7. D. Kumar and G.S. Murthy, *Biotechnology for Bio-fuels*, Vol. 4, pp. 1-19, 2011.
8. Y. Sun and C. J, *Bioresource technology*, Vol. 83, pp. 1-11, 2002.
9. F. Teymouri, L. Laureano-Perez, *et al.*, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 115, pp. 951-963, 2004.
10. P. Bansal, M. Hall, *et al.*, *Biotechnology Advances*, Vol. 27, pp. 833-848, 2009.
11. M. Hannon, J. Gimpel, *et al.*, *Bio-fuels*, Vol. 1, pp. 763-784, 2010.
12. J.R. Rostrup-Nielsen, *Science*, Vol. 308, pp. 1421-1422, 2005.
13. P.C. Munasinghe and S. K. Khanal, *Bioresource Technology*, Vol. 101, pp. 5013- 5022, 2010.
14. M. Mohammadi, G.D. Najafpour, *et al.*, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 15, pp. 4255-4273, 2011.
15. S.A. Scott, M.P. Davey, *et al.*, *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 21, pp. 277- 286, 2010.
16. A.M. Kunjapur and R.B. Eldridge, *Industrial and Engineering Chemistry Research*, Vol. 49, pp. 3516-3526, 2010.
17. B. Wang, C.Q. Lan, *et al.*, *Biotechnology Advances*, Vol. 30, pp. 904-912, 2012.
18. M.A. Borowitzka, *Journal of Biotechnology*, Vol. 70, pp. 313-321, 1999.
19. C.U. Ugwu, H. Aoyagi, *et al.*, *Bioresource Technology*, Vol. 99, pp. 4021-4028, 2008.
20. F.G. Camacho, A.C. Gomez, *et al.*, *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 24, pp. 164-172, 1999.
21. S. L. Choi, I. S. Suh, *et al.*, *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 33, pp. 403-409, 2003.
22. J. Vega-Estrada, M.C. Montes-Horcasitas , *et al.*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 68, pp. 31-35, 2005.
23. S.Y. Chiu, M.T. Tsai, *et al.*, *Engineering in Life Sciences*, Vol. 9, pp. 254-260, 2009.
24. C.U. Ugwu, H. Aoyagi, *et al.*, *Bioresource Technology*, Vol. 99, pp. 4021-4028, 2008.
25. L. Xu, P.J. Weathers, *et al.*, *Engineering in Life Sciences*, Vol. 9, pp. 178-189, 2009.
26. Burlew, J. S., Ed. (1953). *Milner Rocking tray Algal Culture from Laboratory to Pilot Plant*. Washington, Carnegie Institution.
27. R.D. Ortega and J.C. Roux, *Biomass*, Vol. 10, pp. 141-156, 1986.
28. M.R. Tredici and R. Materassi, *Journal of Applied Phycology*, Vol. 4, pp. 221-231, 1992.
29. Q. Hu, H. Guterman, *et al.*, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 51, pp. 51-60, 1996.
30. A. Richmond, *Journal of Applied Phycology*, Vol. 12, pp. 441-451, 2000.
31. Q. Hu, D. Faiman, *et al.*, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, Vol. 85, pp. 230-236, 1998.
32. L. Travieso, D. O. Hall, *et al.*, *International Biodeterioration and Biodegradation*, Vol. 47, pp. 151-155, 2001.
33. D. Chaumont, C. Thepenier, *et al.*, "Scaling up a tubular photoreactor for continuous culture of *Porphyridium cruentum* - From laboratory to pilot plant," in T. Stadler, J. Morillon, M.C. Verdu, W. Karamanos, H. Morvan, D. Christiaen, eds., *Algal Biotechnology*, Elsevier Applied Science, London, pp. 199-208, 1988.
34. E. Molina, J. Fernandez, *et al.*, *Journal of Biotechnology*, Vol. 92, pp. 113-131, 2001.
35. A.A. Henrard, M. G. de Morais, *et al.*, *Bioresource technology*, Vol. 102(7), pp. 4897-4900, 2011.
36. M. Morita, Y. Watanabe, *et al.*, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 74(2), pp. 136-144, 2001.
37. M. Morita, Y. Watanabe, *et al.*, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 77(2), pp. 155-162, 2002.
38. C.U. Ugwu, J. C. Ogbonna, *et al.*, *Journal of Applied Phycology*, Vol. 15, pp. 217- 223, 2003.
39. C.U. Ugwu, H. Aoyagi, *et al.*, *Bioresource Technology*, Vol. 99, pp. 4021-4028, 2008.
40. Current Status and Potential for Algal Biofuels Production, A report to IEA bioenergy task 39, National renewable energy laboratory, Report T39-T2 6, 2010
41. Oilgae, Extraction of algal oil by mechanical methods, <http://www.oilgae>.

com/algae/oil/extract/mec/mec.html, 2013.

42. P. Mercer and R.E. Armenta, *European Journal of Lipid Science and Technology*, Vol. 113(5), pp. 539-547, 2011.
43. R. Harun, M. Singh, G.M. Forde, M.K. Danquah, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 14, pp. 1037-1047, 2010.
44. F. Wei, G.Z. Gao, X.F. Wang, X.Y. Dong, *et al.*, *Ultrasonics Sonochemistry*, Vol. 15, pp. 938-942, 2008.
45. R.L. Mendes, B.P. Nobre, M.T. Cardoso, A.P. Pereira, A.F. Palavra, *Inorganica Chimica Acta*, Vol. 356 (3), pp. 328-334, 2003.
46. R.M. Couto, P.C. Simoes, A. Reis, T.L. Da Silva, V.H. Martins, Y. Sanchez- Vicente, *Engineering in Life Science*, Vol. 10, pp. 158-164, 2010.
47. F. Sahena, I.S.M. Zaidul, S. Jinap, A.A. Karim, *et al.*, *Journal of Food Engineering*, Vol. 95, pp. 240-253, 2009.
48. J.A. Mendiola, L. Jaime, S. Santoyo, G. Reglero, *et al.*, *Food Chemistry*, Vol. 102, pp. 1357-1367, 2007.
49. R.L. Mendes, A.D. Reis, A.F. Palavra, *Food Chemistry*, Vol. 99, pp. 57-63, 2006.
50. R.L. Mendes, A.D. Reis, A.P. Pereira, M.T. Cardoso, *et al.*, *Chemical Engineering Journal*, Vol. 105, pp. 147-151, 2005.
51. M. Herrero, A. Cifuentes, E. Iban' ez, *Food Chemistry*, Vol. 98, pp. 136-148, 2006.
52. K. Sander, G.S. Murthy, Enzymatic Degradation of Microalgal Cell Walls, An ASABE Meeting Presentation, Paper Number: 1035636, 2009.
53. D.E. Brune, L.E. Beecher, Proceedings of the 29th Annual Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals, www.simhq.org/meetings/29symp/index.html, 2007.
54. Origin oil, <http://www.originoil.com/technology/overview.html>.
55. A.A. Refaat, *International Journal of Environment Science and Technology*, Vol. 7(1), pp. 183-213, 2010.
56. White Paper, Foxboro, Invensys, Instrumentation for Biodiesel fuel Production, 2012.
57. P.E. Wiley, K.J. Brennen, *Water Environment Research*, Vol. 81(7), pp. 702- 708, 2009.
58. J.M. Encinar, F. Juan, J.F. Gonzalez, A. Rodriguez-Reinares, *Fuel Processing Technology*, Vol. 88 (5), pp. 513-522, 2007.
59. A. Demirbas, *Energy Conversion and Management*, Vol. 50 (4), pp. 923- 927, 2009.
60. A. Gupta, S.K. Sharma, A. Pal Toor, *Journal of Petrotech Society*, Vol. IV (1), pp. 40-45, 2007.
61. Biodiesel Production Techniques, Food technology fact sheet, 405-744-6071, www.fapc.biz.
62. A. Singh, B. He, J. Thompson, J. van Gerpen, *Applied Engineering in Agriculture*, Vol. 22(4), pp. 597-600, 2006.
63. X. Yuan, J. Liu, G. Zeng, J. Shi, J. Tong, G. Huang, *Renewable Energy*, Vol. 33 (7), pp. 1678-1684, 2008.
64. P. Felizardo, M.J. Correia, I. Raposo, J.F. Mendes, R. Berkemeier, J.M. Bordado, *Waste Management*, Vol. 26 (5), pp. 487-494, 2006.
65. A.C. Pinto, L.N. Guarieiro, M.J. Rezende, N.M. Ribeiro, N. M., E.A. Torres, W.A. Lopes, P.A. Pereira, J.B. Andrade, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, Vol. 16(6B), pp.1313-1330, 2005.
66. W. Zhou, D.G.B. Boocock, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Vol. 83(12), pp. 1041-1045, 2006.
67. X. Meng, G. Chen, Y. Wang, *Fuel Processing Technology*, Vol. 89(9), pp. 851-857, 2008.
68. A.A. Refaat, S.T. El Sheltawy, K.U. Sadek, *International Journal of Environment Science and Technology*, Vol. 5(3), pp. 315-322, 2008b.
69. T.A. Milne, R.J. Evans, and N. Nagle, *Biomass*, Vol. 21(3), pp. 219-232, 1990.
70. M. Ringer, V. Putsche, and J. Scahill, Large-Scale Pyrolysis Oil Production: A Technology Assessment and Economic Analysis, *Technical Report NREL/ TP-510-37779*, 2006.
71. Scientific American, <http://www.scientificamerican.com/article.cfm?id=air- algae-us-bio-fuel-flight-on-weeds-and-pond-scum>, 2009.
72. M.J. Taherzadeh, K. Karimi, *Bioresources*, Vol. 2(3), 472-499, 2007.
73. J.B. Kristensen, Enzymatic hydrolysis of lignocellulose. Substrate interactions and high solids loadings, Forest & Landscape Research No. 42-2008, Forest & Landscape Denmark, Frederiksberg, 130 pp., 2008.
74. E. Sjöström, Wood chemistry: fundamentals and applications, Academic Press, New York, 1981.
75. C.E. Wyman, B.E. Dale, R.T. Elander, M. Holtzapfle, M.R. Ladisch, and Y.Y. Lee, *Bioresource Technology*, Vol. 96, pp. 1959-1966, 2005.
76. C.N. Hamelinck, G. Van Hooijdonk, and A.P.C. Faaij, *Biomass Bioenergy*, Vol. 28, pp. 384-410, 2005.
77. B.C. Saha, and R.J. Bothast, *ACS Symposium Series*, Vol. 666, pp. 46-56, 1997.
78. D.E. Akin, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 137, pp. 3-15, 2007.
79. D.E. Akin, *Bio-fuels, Bioproducts and Biorefining*, Vol. 2, pp. 228-303, 2008.
80. C.A. Mooney, S.D. Mansfield, M.G. Touhy, J.N. Saddler, *Bioresource Technology*, Vol. 64, pp. 113-119,

1998.

81. M.J. Taherzadeh, and C. Niklasson, *ACS Symposium Series*, Vol. 889, pp. 49-68, 2004.
82. B.S. Dien, N. Nagle, K.B. Hicks, V. Singh, R.A. Moreau, M.P. Tucker, N.N. Nichols, D.B. Johnston, M.A. Cotta, Q. Nguyen, and R.J. Bothast, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 113-116, pp. 937-949, 2004.
83. E. Varga, K. Reczey, and G. Zacchi, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 113-116, pp. 509-523, 2004.
84. H. Jorgensen, J.B. Kristensen and C. Felby, *Bio-fuels, Bioproducts and Biorefining*, Vol. 1, pp. 119-134, 2007.
85. C.E. Wyman, B.E. Dale, R.T. Elander, M. Holtzapple, M.R. Ladisch and Y.Y. Lee, *Bioresource Technology*, Vol. 96, pp. 1959-1966, 2005.
86. N. Mosier, C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y.Y. Lee, M. Holtzapple *et al.*, *Bioresource Technology*, Vol. 96, pp. 673-686, 2005.
87. F. Tymouri, L. Laureano-Perez, H. Alizadeh and B.E. Dale, *Bioresource Technology*, Vol. 96, pp. 2014-2018, 2005.
88. B.C. Saha, *ACS Symposium Series*, Vol. 889, pp. 2-34, 2004.
89. Q.K. Beg, M. Kapoor, L. Mahajan and G.S. Hoondal, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 56, pp. 326-338, 2001.
90. D. Shallom and Y. Shoham, *Current Opinion in Microbiology*, Vol. 6, pp. 219- 228, 2003.
91. N.N. Nichols, B.S. Dien, and R.J. Bothast, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 56, pp. 120-125, 2001.
92. B.C. Saha, *ACS Symposium Series*, Vol. 889, pp. 2-34, 2004.
93. C.L. Flores, C. Rodriguez, T. Petit and C. Gancedo, *FEMS Microbiology Reviews*, Vol. 24(4), pp. 507-529, 2000.
94. J. Zaldivar, J. Nielsen and L. Olsson, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 56 (1-2), pp. 17-34, 2001.
95. H.K. Sreenaath and T.W. Jeffries, *Bioresource Technology*, Vol. 72 (3), pp. 253-260, 2000.
96. R. Millati, L. Edebo, M.J. Taherzadeh, *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 36 (2-3), pp. 294-300, 2005.
97. N. Padukone, "Advanced process options for bioethanol production", in C.E. Wyman, eds., *Handbook on Bioethanol: Production and Utilization*, Taylor, Francis, 1996.
98. L.O. Ingram, H.C. Aldrich, A.C.C. Borges, T.B. Causey, A. Martinez, F. Morales, A. Saleh, S.A. Underwood. L.P. Yomano, S.W. York, J. Zaldivar and S.D. Zhou, *Biotechnology Progress*, Vol. 15(5), pp. 855-866, 1999.
99. C. Abbas, K. Beery, E. Dennison, and P. Corrington, *ACS Symposium Series*, Vol. 889, pp. 84-97, 2004.
100. N. Mosier, C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y.Y. Lee, M. Holtzapple and M. Ladisch, *Bioresource Technology*, Vol. 96, pp. 673-686, 2005.
101. Y. Lin, and S. Tanaka, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 69, pp. 627-642, 2006.
102. J.R. Rostrup-Nielsen, *Science*, Vol. 308, pp. 1421-1422, 2005.
103. J. Phillips, E. Clausen, *et al.*, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 45-46, pp. 145-157, 1994.
104. J. Abrini, H. Naveau, *et al.*, *Archives of Microbiology*, Vol. 161, pp. 345-351, 1994.
105. M.D. Bredwell, P. Srivastava, *et al.*, *Biotechnology Progress*, Vol. 15, pp. 834-844, 1999.
106. H.G. Wood, *FASEB Journal*, Vol. 5, pp. 156-163, 1991.
107. A.J. Ungerman, and T. J. Heindel, *Biotechnology Progress*, Vol. 23, pp. 613-620, 2007.
108. D. Birch, and N. Ahmed, *Powder Technology*, Vol. 88, pp. 33-38, 1996.
109. D.K. Kundiyana, R.L. Huhnke *et al.*, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Vol. 109, pp. 492-498, 2010.

Биоконверсия лигноцеллюлозной биомассы для производства биоэтанола

Вирендра Кумар¹, Пурнима Дхалл¹, Рита Кумар^{1,*} и Анил Кумар²

¹*Институт геномики и интегративной биологии, Молл Роуд,*

Дели-110007, Индия

²*Национальный институт иммунологии Аруна Асиф Али Марга,*

Нью-Дели-110067, Индия

Краткое содержание

Лигноцеллюлоза является наиболее распространенным источником углеводов и фенольных полимеров на земле. Это относится к сухой биомассе растений, которые состоят из целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина. В настоящее время лигноцеллюлозу получают из деревьев, которые используются в бумажной и лесной промышленности, тогда как лигноцеллюлоза из сельскохозяйственных остатков используется в качестве корма для животных и навоза. Лигноцеллюлоза, полученная из промышленных и муниципальных твердых отходов, является основным источником загрязнения окружающей среды. Использование лигноцеллюлозной биомассы для производства биотоплива в настоящее время представляет большой интерес, поскольку имеет ряд преимуществ по сравнению с обычным топливом. Производство биоэтанола из лигноцеллюлозной биомассы может удовлетворить текущий спрос на энергию, а также сократить выбросы парниковых газов и поддержать экономику сельского хозяйства. Это производство биоэтанола включает в себя пять основных этапов: предварительную обработку, гидролиз, детоксикацию, ферментацию и дистилляцию. Предварительная обработка включает растворение гемицеллюлозы и изменение структуры лигнина, чтобы обеспечить лучший доступ ферменту для гидролиза. Во время гидролиза, целлюлоза и гемицеллюлоза расщепляются на простые сахара путем ферментативной или кислотной обработки. Несколько физических, химических и биологических альтернативных методов можно использовать для уменьшения или детоксикации негативных эффектов ингибиторов, образующихся в процессе гидролиза. Сахара гексоза и пентоза, образующиеся при гидролизе лигноцеллюлозных биомасс, превращаются в этанол при использовании различных видов бактерий и дрожжей. *Saccharomyces cerevisiae* - наиболее часто используемый микроорганизм, ферментирующий глюкозу, но он не способен ферментировать сахара пентозу. Поэтому, в последнее время исследователи сосредоточены на разработке генно-инженерных микроорганизмов для полного использования лигноцеллюлозной биомассы для производства этанола.

Ключевые слова: биотопливо, целлюлоза, гемицеллюлоза, лигнин, лигноцеллюлоза

4.1 Введение

Обычно лигноцеллюлоза – это несъедобный растительный материал и наиболее распространенная возобновляемая биомасса, включая специальные культуры древесины и травы, а также агролесные отходы. Она состоит из целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина (рис. 4.1). Кроме того, незначительное количество белков, минералов и других компонентов можно найти в составе лигноцеллюлозы [1]. Соотношение трех основных компонентов варьируется среди разных видов растений. Сухая древесина обычно состоит на 40–50% из целлюлозы, на 15–20% из гемицеллюлозы и на 20–30% из лигнина. Другими составляющими лигноцеллюлозы являются экстрактивные вещества, которые обычно составляют менее 10%, и зола, содержание которой обычно менее 1%.

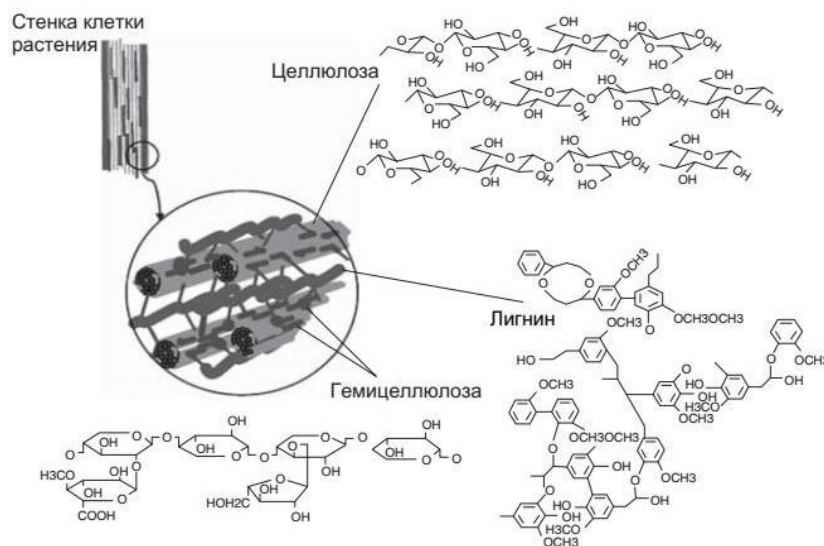


Рисунок 4.1 Структура лигноцеллюлозы.

Внутри лигноцеллюлозного комплекса целлюлоза сохраняет кристаллическую структуру волокон и является ядром комплекса. Гемицеллюлоза расположена как между микро, так и макрофибриллами целлюлозы. Лигнин обеспечивает структурную роль матрицы, в которую встроены целлюлоза и гемицеллюлоза [2]. Целлюлоза - это длинноцепной полимер, состоящий из повторяющихся звеньев D-глюкозы, моносахара. Это основной компонент стенки клеток растений. В целлюлозной цепи глюкозные звенья находятся в 6-членных кольцах, называемых пиранозами. Они соединены одиночными атомами кислорода (ацетальными связями) между С-1 одного пиранозного кольца и С-4 следующего. В виду того, что молекула воды теряется, когда спирт и полуацеталь реагируют с образованием ацетала, то глюкозные остатки в целлюлозном полимере называются ангидроглюкозным звеном. В среднем у целлюлозной цепи степень полимеризации от 9000 до 10000 звеньев. В стенке клетки есть несколько типов целлюлозы. Примерно 65 процентов целлюлозы высокоориентированы, кристаллические и недоступны для воды или других растворителей [3]. Оставшаяся целлюлоза, состоящая из менее ориентированных цепей, только частично доступна для воды и других растворителей из-за ее связи с гемицеллюлозой и лигнином.

Гемицеллюлоза - второй по распространенности компонент лигноцеллюлозы. Это гетерополимер пентоз (ксилоза и арабиноза), гексоз (глюкоза, галактоза, манноза) и сахарных кислот (уксусная кислота). Сахара связаны β -1,4- и иногда 1,3-1,3-гликозидными связями. Гемицеллюлоза также является полисахаридом и состоит из более коротких цепочек из 500-3000 единиц сахара. Гемицеллюлоза хвойных пород в основном содержит маннозу в качестве основного компонента, в то время как лиственные породы в основном содержат ксиланы [4]. Лигнин состоит из трех основных фенольных компонентов, а именно р-кумарилового спирта (Н), кониферилового спирта (G) и синапилового спирта (S). Лигнин синтезируется путем полимеризации этих компонентов. Полимер синтезируется путем образования свободных радикалов, которые высвобождаются в результате опосредованного пероксидазой дегидрирования трех фенолпропионовых спиртов. Конифериловый спирт является основным компонентом лигнина в хвойных породах, тогда как гваяциловый и сиригиниловый спирты являются основными компонентами лигнина в лиственных породах. После целлюлозы это самый распространенный возобновляемый источник углерода на земле. Лигнин противостоит агрессивному воздействию большинства микроорганизмов, а анаэробные процессы, как правило, вообще не атакуют ароматические кольца. Лигнин является природным цементом наряду с гемицеллюлозой для использования прочности целлюлозы при одновременном придании гибкости [5].

4.1.1 Источники лигноцеллюлозной биомассы

Лигноцеллюлоза - это общий термин для растительных веществ, а «отходы или биомасса» образуются в лесном и сельском хозяйстве, различных отраслях промышленности и муниципалитетах. [6-8]. Основными источниками лигноцеллюлозных соединений являются:

Сельскохозяйственные отходы: кукурузная, пшеничная и рисовая солома, жмых сахарного

тростника, рисовая шелуха, остатки ячменя, оливковая мякоть и другие сельскохозяйственные отходы (включая солому, корм, кожуру, початки, стебли, ореховые скорлупы и непродовольственные семена).

Отходы лесного хозяйства: отведенные энергетические культуры, отходы после уборочных работ, в лесу после спила стволов деревьев (ветви, листья, корни и т. д.).

Промышленные отходы: древесные отходы целлюлозно-бумажной промышленности (включая отходы лесопилки и бумажной фабрики) и отходы пищевой промышленности.

Биологические отходы: твердые бытовые отходы (в основном кухонные, садовые, и лигноцеллюлозные отходы, сточные воды), отходы деревянной тары, бытовые, рыночные, пищевой промышленности и целлюлозы (газетная бумага, макулатура, переработанная бумага)

Состав лигноцеллюлозы сильно зависит от ее источника. Существует значительное различия в содержания лигноцеллюлозы и (геми) целлюлозы в зависимости от, того из древесины твердых пород, хвойных пород или трав. В зависимости от источника биомассы лигноцеллюлозы процентное содержание целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина варьируется. В таблице 4.1 приведен состав целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина в зависимости от доступного источника [9]. Лигноцеллюлозная биомасса, которая представляет собой крупнейший возобновляемый резервуар потенциально сбраживаемых углеводов на земле [10], в основном тратится впустую в виде потерь сельскохозяйственного производства до и после сбора урожая, а также отходов пищевой промышленности. Он используется в качестве целлюлозы в бумажной промышленности и сжигается в качестве топлива, используется для корма для животных и образования навоза.

Таблица 4.1 Состав лигноцеллюлозы из нескольких источников в сухом виде [9].

Лигноцеллюлозные материалы		Целлюлоза (%)	Гемицеллюлоза (%)	Лигнин (%)
Древесина лиственных пород		40–55	24–40	18–25
Древесина хвойных пород		45–50	25–35	25–35
Ореховая скорлупа		25–30	25–30	30–40
Кукурузные початки		45	35	15
Травы		25–40	35–50	10–30
Бумага		85–99	0	0–15
Пшеничная солома		30	50	15
Листья		15–20	80–85	0
Семенное волокно хлопчатника		80–95	5–20	0
Газета		40–55	25–40	18–30
Макулатура		60–70	10–20	5–10
Первичные твердые вещества в сточных водах		8–15	нет данных	24–29
Навоз КРС		1.6–4.7	1.4–3.3	2.7–5.7
Просо		45	31.4	12.0

4.1.2 Лигноцеллюлозную биомассу можно использовать для производства биоэтанола

Лигноцеллюлоза - это возобновляемая и широко доступная биомасса, которую можно преобразовать в ценные химические вещества, включая топлива и полимерные прекурсоры, имеющие стратегическое значение для устойчивости, развития энергетики и химической промышленности [11–21].

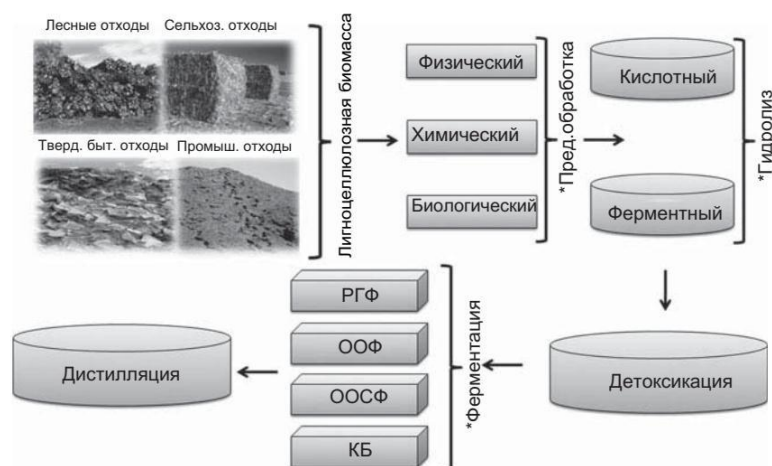
Биотопливо из лигноцеллюлозной биомассы может не только значительно вытеснить ископаемое топливо, но и повысить ценность побочных продуктов сельского хозяйства, отходов лесного хозяйства или муниципальных отходов. Лигноцеллюлозная биомасса - низкзатратное сырье с тем преимуществом, что оно либо доступно в больших количествах в виде сельскохозяйственных остатков, либо может культивироваться с высокой урожайностью на гектар и низкими затратами энергии. Поэтому она считается предсказуемым, осуществимым и устойчивым ресурсом для возобновляемого топлива. Сельскохозяйственные отходы, такие как остатки растительности, отходы лесной и пищевой промышленности, являются потенциальными источниками лигноцеллюлозы. Годовое производство биомассы оценивается во всем мире в 191010 метрических тонн [22]. Действительно, топливо из лигноцеллюлозных биомасс, представляет особый интерес, поскольку количество двуокиси углерода, получаемой в результате использования биомассы, равно количеству, поглощаемому в процессе фотосинтеза. Кроме того, биоконверсия лигноцеллюлозной биомассы для производства биотоплива представляет экологический интерес, поскольку это является еще одним решением проблемы управления отходами. Кроме того, биотопливо, которое можно использовать в качестве присадок к дизелю или бензину, способствует снижению энергетической зависимости. Имеются значительные возможности, чтобы биотопливо из целлюлозной биомассы стало будущим альтернативным топливным ресурсом. Несколько положительных примеров в поддержку производства биоэтанола из лигноцеллюлозных биомасс в том, что целлюлозная биомасса является более распространенной и менее дорогой, чем другие продовольственные культуры, обычно используемые для производства биотоплива. Объем сахара большинства форм целлюлозной биомассы в пересчете на сухую тонну равен или превышает количество сахара, получаемого обычной обработкой из кукурузы или сахарного тростника. Выбросы парниковых газов у этанола из целлюлозной биомассы намного меньше, чем этанола из кукурузы.

4.2 Процесс производства биоэтанола

Лигноцеллюлозная биомасса содержит сложную смесь углеводных полимеров в стенках клеток растений, известную как целлюлоза, гемицеллюлоза и лигнин. Это наиболее перспективный возобновляемый ресурс для производства биоэтанола. Биоконверсия лигноцеллюлозной биомассы в биоэтанол является очень сложным процессом. Общее производство топливного этанола включает пять основных этапов: предварительную обработку биомассы, гидролиз целлюлозы, ферментацию сахара и дистилляцию. Кроме того, можно провести детоксикация токсичных соединений, выделяющихся на стадии предварительной обработки и гидролиза. (Рисунок 4.2).

4.2.1 Предварительная обработка

Предварительная обработка лигноцеллюлозной биомассы является очень важным этапом для получения сбраживаемого сахара в процессе гидролиза. Предварительная обработка направлена на снижение кристалличности целлюлозы, увеличение площади поверхности биомассы, удаление гемицеллюлозы, разрушение барьера лигнина и увеличение пористости лигноцеллюлозного материала.



*Предварительная обработка путем физического / химического / биологического метода

*Гидролиз путем кислотного или ферментного метода

*Ферментация путем РГФ/ООФ/ООСФ/КБ

Рисунок 4.2 Схема производства биоэтанола с использованием различной лигноцеллюлозной биомасс

Это делает целлюлозу более доступной для гидролитических ферментов, которые способствуют быстрому превращению углеводных полимеров в сбраживаемые сахара с сопутствующим увеличением выхода. Поскольку у многих лигноцеллюлоз разные физико-химические характеристики, то необходимо использовать подходящую технологию предварительной обработки с учетом их свойств. Предварительная обработка должна отвечать следующим требованиям: улучшать образование сахаров или способность впоследствии образовывать сахара путем гидролиза, избегать разложения или потери углеводов, избегать образования побочных продуктов, которые препятствуют последующим процессам гидролиза и ферментации, и быть экономически целесообразной. Предварительная обработка включает физические, физико-химические, химические и биологические методы и их комбинации.

4.2.1.1 Физическая предварительная обработка

Физическая обработка, такая как дробление, размол, высокие температуры, циклы замораживания / оттаивания и облучение, направлены на измельчение и механическую декристаллизацию. Это уменьшает размер частиц и кристалличность и увеличивает площадь поверхности и объемную плотность. Ниже приведены методы физической предварительной обработки.

Измельчение

Для уменьшения кристалличности целлюлозы можно применять дробление и измельчение. Размеры материалов обычно составляют 10–30 мм после дробления и 0,2–2 мм после измельчения или размола. При уменьшении размера можно получить лучшие результаты [23, 24], но очень мелкий размер частиц может оказать негативное влияние на последующую обработку, такую как предварительная обработка и ферментативный гидролиз.

Это может привести к образованию комков на последующих этапах с использованием жидкости и может привести к канализированию. Это очень энергоемкий процесс, и во многих случаях потребление энергии выше, чем теоретическое содержание энергии, доступное в биомассе.

Пиролиз

Пиролиз - эндотермический процесс, при котором требуется меньше энергии. Пиролиз также используется для предварительной обработки лигноцеллюлозных материалов, поскольку биомасса может использоваться в качестве субстрата для быстрого пиролиза с целью термического превращения целлюлозы и гемицеллюлозы в сбраживаемый сахар с хорошим выходом [25]. В этом процессе материалы обрабатываются при температуре выше 300° С, в результате чего целлюлоза быстро разлагается с образованием газообразных продуктов, таких как H₂, СО и остаточный древесный уголь [26, 27]. Пиролиз в присутствии кислорода приводит к деполимеризации, окислению и дегидратации.

Излучение

По имеющимся данным облучение вызывает увеличение площади поверхности, в то время как его влияние на кристалличность целлюлозы является спорным. Лучевая обработка эффективна для разрушения комплекса лигнин-целлюлоза, о чем свидетельствует повышенное присутствие фенольных соединений в облученных образцах. Облучение целлюлозы γ -лучами приводит к расщеплению Р-1,4-гликозидных связей и дает большую площадь поверхности и более низкую кристалличность [28]. Однако этот метод слишком дорог, чтобы использовать его в полномасштабном процессе.

4.2.1.2 Физико-химический

Обработка паром является наиболее широко используемой физико-химической обработкой лигноцеллюлозной биомассы. Помимо этого, взрывы жидкой горячей воды и волокон аммиака также считаются хорошими физико-химическими предварительными обработками для лигноцеллюлозной биомассы. Ниже приведены различные физико-химические методы предварительной обработки. Помимо этого, взрывы жидкой горячей воды и волокон аммиака также считаются хорошими физико-химическими предварительными обработками для лигноцеллюлозной биомассы. Ниже приведены различные физико-химические методы предварительной обработки. Кроме этого, обработка паром и разрушение волокон аммиаком также считаются хорошими физико-химическими предварительными обработками лигноцеллюлозной биомассы. Ниже приведены различные физико-химические методы предварительной обработки.

Обработка паром (ОП)

Обработка паром является перспективным методом предварительной обработки, который делает биомассу более доступной для воздействия на целлюлозу [29]. В этом методе биомассу нагревают паром высокого давления в течение нескольких минут, затем реакцию останавливают внезапной декомпрессией при атмосферном давлении [29, 30]. Когда пар расширяется в лигноцеллюлозной матрице, он разделяет отдельные волокна [31]. Процесс вызывает разрушение гемицеллюлозы и преобразование лигнина из-за высокой температуры, тем самым повышая вероятность гидролиза целлюлозы. Считается, что гемицеллюлоза гидролизуется уксусной и другими кислотами, выделяющимися при предварительной обработке паром. Во время предварительной обработки лигнин удаляется только в ограниченной степени, но перераспределяется на поверхности волокон в результате реакций плавления и деполимеризации / реполимеризации [32].

Преимущества предварительной обработки паром включают низкую потребность в энергии в сравнение с механическим измельчением и отсутствие затрат на переработку или экологических издержек. Чтобы добиться аналогичного уменьшения размера обычным механическим методам требуется на 70% больше энергии, чем обработке паром [33].

Обработка паром признан одним из наиболее экономически целесообразных процессов предварительной обработки древесины лиственных пород и сельскохозяйственных отходов, но он менее эффективен для хвойных. [9].

Ограничения обработки паром включают разрушение части ксилановой фракции, неполное разрушение лигнин-углеводной матрицы и образование соединений, которые могут подавлять микроорганизмы, используемые в последующих процессах [34].

Из-за образования продуктов распада, которые подавляют рост микроорганизмов, ферментативный гидролиз и ферментацию, предварительно обработанную биомассу необходимо промыть водой для удаления ингибиторных материалов вместе с водорастворимыми гемицеллюлозами [35].

Разрушение волокон аммиаком

Предварительная обработка путем разрушения волокон аммиаком включает обработку жидким аммиаком и паром [31]. Это щелочная термическая предварительная обработка, при которой лигноцеллюлозные материалы подвергаются воздействию высокой температуры и давления, после чего происходит быстрый сброс давления. Этот метод не дает ингибиторов последующих процессов [9, 36]. Эта предварительная обработка имеет недостатки, заключающиеся в том, что она менее эффективна для биомассы, содержащей более высокое содержание лигнина (например, газета из мягкой древесины), а также растворяет только очень маленькую фракцию твердого материала,

особенно гемицеллюлозы [9, 37]. Он более эффективен для обработки субстратов с меньшим содержанием лигнина по сравнению с сахарным тростником. Эта система не выделяет сахара напрямую, но позволяет ферментативно воздействовать на полимеры (гемицеллюлозу и целлюлозу), которые распадаются на сахара.

Обработка CO₂

Обработка CO₂ действует аналогично обработке паром и аммиаком. Однако, обработка CO₂ более рентабельная, чем обработка аммиаком и не вызывает образования ингибиторов, как при обработке паром [26, 38]. Выходы конверсии выше в сравнение с методом паровой обработки [38].

4.2.1.3 Химическая предварительная обработка

В кристаллической целлюлозе требуется химический агент, способный разрушать водородные связи целлюлозы. Водные растворы кислоты и щелочи относятся к этой группе химических веществ. Ниже приведены химические методы предварительной обработки лигноцеллюлозных биомасс.

Озонолиз

Обработка озоном является одним из способов снижения содержания лигнина в отходах лигноцеллюлозы и, в отличие от других химических обработок, не дает токсичных остатков. Озон может использоваться для разложения лигнина и гемицеллюлозы во многих лигноцеллюлозных материалах, таких как пшеничная солома [39], жмых, недосушенное сено, арахис, хвоя, солома хлопчатника и опилки тополя [40–42]. Разрушение в основном ограничивается лигнином, незначительное разрушается гемицеллюлоза, а целлюлозу нет. Преимущество предварительной обработки озонолизом заключается в том, что реакции проводят при комнатной температуре и нормальном давлении. Кроме того, тот факт, что озон можно легко разложить с помощью каталитического слоя или повышением температуры, означает, что процессы можно разработать так, чтобы минимизировать загрязнение окружающей среды [43]. Недостаток озонолиза заключается в том, что требуется большое количество озона, что может сделать процесс дорогостоящим.

Предварительная обработка кислотой

Предварительная обработка путем кислотного гидролиза может привести к улучшению ферментативного гидролиза лигноцеллюлозных биомасс для высвобождения сбраживаемых сахаров. Предварительная обработка кислотой широко используется от древесин лиственных пород до трав и сельскохозяйственных отходов. [44] В предварительной обработке кислотой используются различные типы кислот (серная, соляная, азотная и фосфорная кислоты). Среди них серная кислота в основном используется для предварительной обработки кислотой [45]. Кислая среда воздействует на полисахариды, особенно гемицеллюлозы, которые легче гидролизуются, чем целлюлоза [45]. Таким образом, разбавленные или концентрированные кислоты улучшают гидролиз целлюлозы [31]. Концентрированные кислоты токсичные, коррозионные и опасные, поэтому требуются реакторы, устойчивые к коррозии, что делает процесс предварительной обработки очень дорогим. Кроме того, концентрированную кислоту должны удалить после гидролиза, чтобы сделать процесс экономически целесообразным [9, 46]. Гидролиз разбавленной кислотой был успешно разработан для предварительной обработки лигноцеллюлозных материалов. Высокие температуры во время обработки разбавленной кислотой эффективны для гидролиза целлюлозы. Однако, предварительная обработка кислотой приводит к получению различных ингибиторов, таких как уксусная кислота, фурфурол и 5-гидроксиметилфурфурол. Эти продукты подавляют рост микроорганизмов.

Предварительная обработка щелочью

Предварительная обработка лигноцеллюлозы щелочью разрушает матрицу лигнина и делает целлюлозу и гемицеллюлозу доступными для ферментативного расщепления [47]. Щелочная обработка лигноцеллюлозы разрушает клеточную стенку, растворяя гемицеллюлозу и лигнин. Эффект предварительной обработки щелочью зависит от содержания лигнина в материалах [35, 48]. В процессах предварительной обработки щелочью используются более низкие температуры и давление, чем при других технологиях предварительной обработки [36]. По сравнению с обработкой кислотой, обработка щелочью вызывают меньшее разрушение сахара. В процессе предварительной

обработки щелочью используются гидроксиды натрия, калия, кальция и аммония. Удаление лигнина с помощью предварительной обработки щелочью повышает эффективность фермента за счет устранения непродуктивных участков абсорбции и увеличения доступа к целлюлозе и гемицеллюлозе. Предварительная обработка щелочью удаляет ацетильные группы из гемицеллюлозы, тем самым уменьшая пространственные затруднения гидролитическим ферментам и значительно повышая перевариваемость углеводов.

Предварительная обработка органоэлю

Метод экстракции раствором – многообещающая стратегия предварительной обработки, и он привлек много внимания и продемонстрировал возможности для использования при предварительной обработке лигноцеллюлозы [49]. Использование смесей органический растворитель / вода исключает необходимость сжигания раствора и позволяет выделить лигнины. Использование смесей органический растворитель / вода исключает необходимость сжигания раствора и позволяет выделить лигнины. В процессе экстракции раствором смесь органических или водных органических растворителей с катализаторами неорганической кислоты (HCl или H₂SO₄) используется для разрыва внутренних связей лигнина и гемицеллюлозы. Другие различные органические растворители, которые можно использовать для удаления лигнина - метанол, этанол, уксусная кислота, пермуравьиная кислота, перуксусная кислота и ацетон [50].

4.2.1.4 Биологическая предварительная обработка

Физическая, физико-химическая и химическая предварительная обработка лигноцеллюлозных биомасс дорастоящая и отрицательно влияет на окружающую среду. В частности, физические и термохимические процессы требуют большого количества энергии для преобразования биомассы. Биологические методы на основе использования ферментов, особенно привлекательны. Естественное разрушение и применение лигноцеллюлозы осуществляются с помощью специфических ферментов лигноцеллюлолитических организмов (особенно грибов и бактерий, разрушающих древесину). Ферменты, преобразующие биомассу, могут обеспечить высокую специфичность, низкое потребление энергии или химикатов или низкий уровень загрязнения окружающей среды. В процессе биологической предварительной обработки лигноцеллюлозы ферменты, преобразующие биомассу, разлагают гемицеллюлозу и лигнин и повышают доступность целлюлозы для гидролиза в простые сахара, которые затем могут ферментироваться микроорганизмами в ценное топливо. Гемицеллюлоза представляет собой группу сложных полисахаридов, образованных различными глико-звеньями и гликозидными связями. Разрушение гемицеллюлозы не только «высвобождает» целлюлозу для целлюлаз, но и превращает гемицеллюлозу в ценные сахараиды. Гемицеллюлозы являются гетерополимерами и включают □-глюкан, ксилан, ксилоглюкан, арабиноксилан, маннан, галактоманнан, арабинан, галактан, полигалактуронан и др., которые подвергаются воздействию □-глюканазы, ксиланазы, ксилоглюканазы, маннаназы, арабиназы, галактаназы, полигалактуроназы, глюкуронидазы, ацетилксиаланэстеразы и других ферментов [51, 52]. Гемицеллюлоза представляет собой группу ферментов, которые работают во взаимодействии для преобразования биомассы. Функции различных гемицеллюлаз приведены в таблице 4. 2. Микробы, разрушающие лигнин, в основном грибки белой гнили, содержат ферменты оксидоредуктазы для расщепления лигноцеллюлозы [53]. Основные задачи этих оксидоредуктаз, вероятно, направлены на расщепление лигнина, высоко гетерогенного и трудно растворимого ароматического полимера, связанного с гемицеллюлозой или целлюлозой.

Расщепление лигнина является обязательным условием для промышленной конверсии ферментативной биомассы, поскольку оно не только увеличивает доступность (геми) целлюлозы для (геми) целлюлазы, но также уменьшает инактивацию (геми) целлюлазы, вызванную абсорбцией лигнина. Пероксидаза лигнина, пероксидаза Mn и свободно подвижная пероксидаза представляют собой внеклеточные пероксидазы гем с высокой способностью окислением расщеплять лигнин. При взаимодействии с H₂O₂, эти ферменты образуют высоко реакционно способные виды Fe (V) или Fe (IV) -оксо, которые окисляют лигнин либо непосредственно, либо через частицы Mn (III). Лакказа - оксид меди, выделяемый многими лигноцеллюлолитическими грибами. Этот фермент может непосредственно окислять фенольные части лигнина или косвенно окислять нефенольные части лигнина с помощью подходящего окислительно-восстановительного посредника. Оксидаза ариловых спиртов, глиоксалооксидаза и различные углеводные оксидазы также участвуют в естественном

расщеплении лигноцеллюлозы. Им не нужны химические вещества, но низкие скорости гидролиза и низкие выходы затрудняют их реализацию [31, 38,]. Недостаток биологической предварительной обработки заключается в том, что в большинстве случаев биологической предварительной обработки и гидролиза этот процесс очень медленный, и биоделигнификация обычно требует длительных периодов времени.

4.2.2 Гидролиз

Целью этого процесса является получение сбраживаемых мономерных сахаров из гемицеллюлозы и содержания целлюлозы в лигноцеллюлозной биомассе. Это можно достигнуть двумя различными процессами, а именно, кислотным гидролизом и ферментативным гидролизом.

Таблица 4.2 Ферменты для расщепления лигноцеллюлозной биомассы.

Биомасса	Фермент	Функция	Ссылка
Целлюлоза	целлобиогидралазы	Расщепление кристаллической целлюлозы	[54,55]
	эндо-1,4-β-глюканазы	Расщепление аморфная целлюлоза	[56]
	β-глюкозидазы	Расщепление целлобиозы, тогда как другие целлодекстрины действуют на невосстанавливающееся звено Glc целлобиозы или целлодекстрина	[57]
Гемицеллюлоза	эндо-β-ксиланазы	Гидролизует основные гликозидные связи в ксилане	[58]
	β-ксилосидазы	гидролизуют ксилобиозу или другие ксилоолигосахариды после их получения из ксилана с помощью эндо-β-ксиланазы,	[59]
	ацетил-ксилан-эстераза	Деацетилюет замещенные O ₂ или O ₃ участки основных гликозильных звеньев в ксилане	[60]
	ферулоилэстераза	Гидролизует ферулоилловые эфиры при α-L-Ara (O ₂ или O ₅ участки), β-D-галактозил (Gal, участок O ₆) или α-D-ксил боковых цепях арабинана / арабиноксилана, рамногалактуронана или ксилоглюкана	[61]
	глюкуроноилэстераза	Деметилюет O ₆ -метилглюкуроноил (GlcU) α(1→2), связанные с основной цепью Xyl в глюкуроноарабиноксилане	[62]
	α-L-арабинофуранозидаза	Удаление замещающего Ara	[63]

Таблица 4.2 (продолжение)

Биомасса	Фермент	Функция	Ссылка
Гемицеллюлоза	α-галактозидаза	Удаление замещающего Gal, связанного через α-гликозидные связи, с галактоманнаном, пектином или другими гемицеллюлозами	[64]
	α-глюкуронидаза	Удаление α(1→2) связанного глюкуроноила или его метилового эфира в ксилане (часто в месте O ₂) или других гемицеллюлоз	[65]
	глюканаза	Расщепление β(1→3), (1→4) или (1→6) глюкана, эндо- или экзо-действующего типа гликозидной связи, специфичный для типа	[66]
	маннаназа	Расщепление (галакто) (глюко) маннанов, β (1→4) -D-маннозильных или манно / глюкопиранозильных полимеров с переменной боковой цепью α (1→6) D-Gal, а также ацетилирования O ₂ и / или O ₃	[67]
	ксилоглюкан гидролаза	Расщепление ксилоглюкана, β(1→4) глюкана с α(1→6) связанным Xyl, замещенным либо β(1→2) L-Ara, либо α(1→2) D-Gal звеньями (частично ацетилированными или замещенными α (1-2) L-фукопиранозилом (Fuc))	[68]

	пектиназа	Расщепление пектиновых полисахаридов, состоящих из $\alpha(1\rightarrow4)$ поли- α -(рамно) галактуроновых кислот с переменным метилированием / ацетилированием и основных и боковых цепей Ara и Gal	[69,70]
--	-----------	---	---------

(продолжение)

Таблица 4.2 (продолжение)

Биомасса	Фермент	Функция	Ссылка
Лигнин	пергидаза лигнина	сильные окислители с высоким окислительно-восстановительным потенциалом, которые окисляют основные нефенольные структуры лигнина.	[71]
	Mn пероксидаза	окисляет различные органические соединения в присутствии Mn (II). Окисляет Mn (II) до Mn (III) в присутствии H ₂ O ₂	[72]
	лакказа	может непосредственно окислять фенольные части лигнина или косвенно окислять нефенольные части лигнина с помощью подходящего окислительно-восстановительного посредника	[73]
	свободноз амещаемая	объединяют каталитические активности как MnP, так и LiP и способны окислять Mn (2+)	[74]
	оксидаза ариловых спиртов	внеклеточный флавопротеин, обеспечивающий H ₂ O ₂ , необходимый лигнолитическим пероксидазам для расщепления лигнина	[75]
	глиоксало ксидаза	внеклеточные оксидазы, способные использовать простые альдегидные, альфа-гидроксикарбонильные или альфа-дикарбонильные соединения в качестве субстратов.	[76]
	пероксида за, обесцвечива ющая	окисляют антрахиноновые красители с высоким окислительно-восстановительным потенциалом, и по недавним данным, они окисляют соединения модели лигнина.	[77]

4.2.2.1 Кислотный гидролиз

Это один из самых старых методов для осахаривания лигноцеллюлозной биомассы, в котором минеральные кислоты, такие как серная кислота, соляная кислота и азотная кислота, широко используются для гидролиза лигноцеллюлозной биомассы. И во время самого старого и наиболее изученного среди них процесса используется серная кислота. Процесс гидролиза на основе серной кислоты осуществляется в двух разных условиях; (1) процесс, при котором используется концентрированная кислота при более низкой температуре, и (2) процесс, при котором используется разбавленная кислота при более высокой температуре. Лигноцеллюлозную биомассу можно гидролизовать серной кислотой с образованием ксилозы, арабинозы, глюкозы и уксусной кислоты путем расщепления 1-1,4-связи компонентов целлюлозы и гемицеллюлозы.

Некоторые исследователи использовали азотную кислоту и фосфорную кислоту при различных концентрациях и температуре для гидролиза сельскохозяйственных остатков [78, 79]. Гидролиз лигноцеллюлозной биомассы с использованием кислоты имеет ряд недостатков из-за образования различных токсических соединений, таких как фурфурол, гидроксиметилфурфурол, уксусная кислота, муравьиная кислота, левулиновая кислота и т.д. Эти соединения являются мощными ингибиторами и негативно влияют на процесс ферментации. Необходимо удалить эти соединения перед процессом ферментации, что увеличивает производственные затраты. Чтобы решить эту проблему, известь используется для нейтрализации этих кислот, но у нее есть недостаток. Обработка известью приводит к значительной потере сахара в гипсе. Однако такие процессы могут быть заменены процессом ферментативного гидролиза, который является экономичным и безопасным для окружающей среды.

4.2.2.2 Ферментный гидролиз

Гидролиз лигноцеллюлозной биомассы ферментами является эффективным методом. Ферменты очень специфичны для реакций, которые они катализируют, и не образуют токсичных веществ, как это происходит при гидролизе разбавленной кислотой. [9, 80, 81]. У ферментов дополнительное преимущество в том, что они представляют собой встречающиеся в природе соединения, которые являются биоразлагаемыми. Ферментативная технология для производства биоэтанола широко используется, что значительно снижает стоимость. Таким образом, широкомасштабное производство этанола посредством ферментативного гидролиза лигноцеллюлозной биомассы в настоящее время начинает казаться экономически выгодным. Ферменты, известные как целлюлаза, катализируют расщепление целлюлозы до глюкозы для ферментации в этанол. Целлюлаза гидролизует глюкозидную связь Р-1–4 в целлюлозе, что приводит к образованию глюкозы и коротких целлодекстринов. Целлюлазы представляют собой группу из трех основных ферментов, участвующих в гидролизе целлюлозы, а именно 1,4-Р-D-глюканцеллобиогидролазы (ЕС 3.2.1.91), 1,4-glu-D глюканогидролазы (ЕС 3.2.1.3) и Р-D глюкозидазы (ЕС 3.2.1.21). Эти ферменты обычно называют экзоглюканазой, эндоглюканазой и целлобиазой, соответственно, и эффективно работают синергетическим образом. Расщепление кристаллической целлюлозы осуществляется в основном экзоглюканазами, которые расщепляют 1,4-гликозидные связи с концов цепи. У этого фермента туннельный замкнутый активный участок, который удерживает единственную цепь глюкана и предотвращает его повторное прилипание к кристаллу целлюлозы [82, 83].

Эндоглюканазы расщепляют только внутри Р-1,4-гликозидных связей, и по-видимому, имеют открытые активные участки в виде трещины. Эндоглюканазы обычно активны в более растворимой аморфной области кристалла целлюлозы. Существует высокая степень синергии между (экзоглюканазами) и эндоглюканазами, и именно эта синергия необходима для эффективного гидролиза кристаллов целлюлозы. Продуктами экзоглюканаз и целлобиогидролаз являются целлобиоза и целлодекстраны, которые тормозят их активность. Таким образом, для эффективного гидролиза целлюлозы требуется наличие β-глюкозидаз для расщепления конечных гликозидных связей, вырабатывающих глюкозу. Таким образом, β-глюкозидазы играют ключевую роль в эффективности ферментативной системы, расщепляющей лигноцеллюлозу. Для промышленной конверсии биомассы, нацеленной на высокую загрузку исходного сырья, добавление Р-глюкозидаз к обычным микробным целлюлолитическим ферментным препаратам может быть обязательным из-за высокого уровня целлобиозы во время ферментативной конверсии. Несколько исследователей сообщили о наличии целлюлаз в бактериях и грибах. Известно, что бактерии, принадлежащие к роду *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Thermomonospora*, *Ruminococcus* и *Streptomyces*, вырабатывают целлюлазу.

Trichoderma reesei известен как самый коммерческий гриб для производства глюканазы. Согласно данным виды рода *Aspergillus*, *Schizophyllum* и *Penicillium* также используются для производства

целлюлозы [84–87]. Некоторые недавно выделенные микроорганизмы показали высокую целлюлазную активность в экстремальных условиях (при высокой температуре, pH и концентрации соли). Эти ферменты обладают потенциалом для промышленного использования при гидролизе растворимых и микрокристаллических веществ. Новый микроорганизм *Paenibacillus campinasensis* BL11, вырабатывающий целлюлазу, выделяли во время крафт-варки целлюлозы с использованием черного щелока. Это термофильная, спорообразующая бактерия, которая, как было установлено, растет при 60 °С в широком диапазоне pH и вырабатывает множество внеклеточных ферментов, расщепляющих сахараиды, включая ксиланазу, две целлюлазы, пектиназу и циклодекстрин-глюканотрансферазу.

Совсем недавно термостабильная целлюлаза была извлечена из бактерии *Bacillus subtilis* DR, обнаруженная в горячем источнике. Этот штамм является потенциально более ценным термостабильным ферментом для биоперерабатывающей промышленности из-за его предельной жаростойкости [88].

Недавно появилась новая термофильная, целлюлолитическая бактерия *Brevibacillus* sp. штамм JXL был выделен из отходов свиней. Было обнаружено, что используется широкий спектр субстратов, таких как кристаллическая целлюлоза, КМЦ, ксилан, целлобиоза, глюкоза и ксилоза [89].

Кроме того, была выделена солеустойчивая бактерия *Bacillus agaradhaerens* JAM-KU023, которая показала повышенную оптимальную термостойкость [90]. Выращивание термофилов дает несколько преимуществ, снижает риск загрязнения, снижает вязкость, облегчая тем самым смешивание, и приводит к высокой степени растворимости субстрата. Многие анаэробные микроорганизмы выделяют мультиферментные комплексы, расщепляющие биомассу в их среду, называемую целлюлозомой. Они состоят из множества целлюлозных и гемицеллюлазных ферментов, собранных с помощью специфических взаимодействий белковых каркасов, которые позволяют связывать весь комплекс с кристаллической целлюлозой с помощью неспецифического модуля связывания и сцепления углеводов (позволяют связывать широкий спектр целлюлолитических и гемицеллюлозные ферменты).

Эта пространственная кластеризация множественных ферментов, расщепляющих лигноцеллюлозу, приводит к усилению взаимодействия для расщепления лигноцеллюлозной биомассы [91–93]. Целлюлозома была впервые идентифицирована в 1983 году из анаэробного термофильного спорообразующего *Clostridium thermocellum* [68].

Этот ферментный комплекс обладает очень высокой активностью кристаллической целлюлозы и может полностью растворить целлюлозу. Например, из *Cellulomonas flavigena* была выделена бифункциональная эндоглюканаза / эндоксиланаза, что дало возможность использовать ее в промышленных процессах производства биотоплива. Было обнаружено, что этот фермент обладает целлюлазной и ксиланазной активностью. Аналогичным образом, было обнаружено, что многофункциональный фермент вырабатывается *Terendinibacter turnerae* T7902. Есть несколько других преимуществ для микроорганизмов, которые вырабатывают характеристики специфические целлюлозе, которые приводят к эффективному гидролизу целлюлозы. Благодаря целлюлозома устраняются расточительные затраты энергии на микроорганизмы, непрерывно вырабатывающие большое количество свободных ферментов наряду с которыми продукты разбавляются в объеме раствора. Исследователи признают ценность целлюлозом для их эффективного гидролиза микрокристаллической целлюлозы и начали уделять внимание исследованиям на разработку целлюлозы для рекомбинантной экспрессии в промышленности. Было показано, что рекомбинантные целлюлозомы могут быть трансплантированы в другие промышленно полезные организмы, такие как *S. cerevisiae* [95, 96] и *B. subtilis* [97]. Способность целлюлозомы к кластерной активности может предоставлять уникальные возможности как в взаимоусиливающем расщеплении субстрата, так и в целенаправленном разрушении конкретных компонентов биомассы.

4.2.3 Детоксикация

Многие процессы используются при предварительной обработке и гидролизе лигноцеллюлозной биомассы для получения сбраживаемого гидролизата [9, 36, 98–100]. Общая цель предварительной обработки состоит в том, чтобы лучше подвергнуть целлюлозу последующему гидролизу, превратить лигноцеллюлозную биомассу в простой сахар и удалить лигнин [9]. Во время физической и химической предварительной обработки и гидролиз создаются различные токсичные соединения, которые препятствуют ферментации. Образование токсичных ингибирующих соединений сильно зависит от сырья, метода гидролиза и условий гидролиза. Четыре группы соединений, которые могут действовать как ингибиторы, представляют собой фенольные соединения, алифатические кислоты и фурановые альдегиды.

Большое количество фенольных соединений образуется из лигноцеллюлозной биомассы при

гидролизе разбавленной кислотой [101, 102]. Распространенными фенольными соединениями являются ванилин, дигидрокониферилловый спирт, кониферилловый альдегид, ваниловая кислота, гидрохинон, катехол, ацетогвайякон, гомованиловая кислота и 4-гидроксibenзойная кислота [103]. Фенольные соединения сталкиваются с клеточной мембраной, которая будет влиять на функцию и изменять соотношение белка к липиду, что подавляет рост клеток и продуктивность этанола [104]. Обычными алифатическими кислотами в гидролизатах лигноцеллюлозы являются уксусная кислота, муравьиная кислота и левоулиновая кислота. Наиболее ингибирующей из этих трех кислот является муравьиная кислота, за которой следуют левоулиновая и уксусная кислоты [105]. Алифатические кислоты образуются из продуктов разложения полисахаридов при кислотном гидролизе лигноцеллюлозной биомассы. Эти алифатические кислоты попадают в клетку путем диффузии через клеточную мембрану и приводят к снижению внутриклеточного pH. Поддержание постоянного внутриклеточного pH путем откачки протонов через плазматическую мембрану требует дополнительной АТФ, что отрицательно влияет на метаболическую активность и может привести к гибели клеток [106]. Синергетический эффект возникает, когда эти соединения объединяются с несколькими другими соединениями, образующимися во время расщепления лигнина. Экстрактивные вещества (кислотные смолы, таниновая и терпеновая кислоты), а также уксусная кислота из ацетильных групп, присутствующих в гемицеллюлозе, высвобождаются во время гидролитических процессов. По показателям токсичности, экстрактивные вещества считаются менее токсичными для роста микроорганизмов, чем уксусная кислота. Другими типами ингибиторов являются ионы тяжелых металлов (железо, хром, никель и медь), которые образуются в результате коррозии реактора во время предварительной обработки кислотным гидролизом. Их токсичность действует на уровне метаболических путей, подавляя активность фермента [107]. Токсичные соединения, образующиеся в процессе предварительной обработки и гидролиза, негативно влияют на процесс ферментации. Можно использовать несколько альтернатив, чтобы избежать проблем, создаваемых ингибиторами. Можно удалить ингибиторы или уменьшить их образование во время процесса. Тип и концентрация ингибиторов в гидролизатах сахара зависят от условий гидролиза. Однако трудно достичь высокого выхода сахара без образования ингибитора, особенно при гидролизе разбавленной кислотой. Трудно согласиться с плохим выходом сахара и этанола только из-за возможных проблем с ингибированием. Чтобы уменьшить негативные эффекты ингибиторов, было разработано несколько физико-химических и биологических методов детоксикации. Эффективность методологии детоксикации зависит от химического состава гидролизата, а также от микроорганизмов, выбранных для получения биоэтанола [30, 107, 108]. По этой причине методы детоксикации нельзя сравнивать напрямую, так как механизмы ингибирования и степень нейтрализации токсичности совершенно разные [98]. Были предприняты значительные усилия для минимизации производства таких высокотоксичных соединений. Выпаривание и вакуумное испарение представляют собой физические методы детоксикации для снижения концентрации летучих соединений (таких как уксусная кислота, фурфурол и формальдегид), присутствующих в гидролизате и для увеличения концентрации сахара. Однако, эти методы также увеличивают содержание нелетучих токсичных соединений, таких как экстрактивные вещества и производные лигнина. Химическая детоксикация включает осаждение токсичных соединений и ионизацию некоторых ингибиторов при определенных значениях pH, причем последние способны изменять степень токсичности соединений [109]. Токсичные соединения могут также адсорбироваться активированным углем [110, 111] и ионообменными смолами [103, 112]. Щелочная обработка является наиболее распространенным методом детоксикации и считается одной из лучших технологий. Этот метод состоит в добавлении извести или других щелочных соединений, таких как гидроксид натрия или калия, для осаждения токсичных соединений [110–114]. Уксусную кислоту, фурфурол, ОМФ, растворимый лигнин и фенольные соединения в основном удаляют путем обработки щелочью, которая увеличивает сбраживаемость гидролизатов. Было доказано, что обработка ферментами пероксидазы и лакказы, полученными из лигнолитического грибка *Trametes versicolor*, повышает максимальную продуктивность этанола в гидролизате гемицеллюлозы [115]. Сообщалось, что нитчатый грибок мягкой гнили *Trichoderma reesei* разлагает ингибиторы в гидролизате гемицеллюлозы, полученном после предварительной обработки паром. Производные уксусной кислоты, фурфурола и бензойной кислоты были удалены из гидролизата обработкой *Trichoderma reesei* [116]. Экзоцеллюлаза отщепляет от двух до четырех звеньев с концов открытых цепей, продуцируемых эндоцеллюлазой, в то время как β -глюкозидаза гидролизует продукт экзоцеллюлазы в отдельный моносахарид. Таким образом, глюкоза не расщепляется ферментативным путем.

4.2.4 Ферментация

Это химическое преобразование органического вещества в более простое соединение с помощью ферментов. Первоначально термин «ферментация» использовался для обозначения ферментативного расщепления углеводов в отсутствие кислорода. В промышленной практике ферментация относится к любому процессу, посредством которого сырье преобразуется в определенные продукты путем контролируемого действия тщательно отобранных штаммов организмов. Однако, в данной главе это биологический метод получения этанола из лигноцеллюлозной биомассы. Реакция ферментации происходит под воздействием дрожжей или бактерий, которые питаются простыми сахарами. Глюкоза, полученная в результате гидролиза, описанного выше, сбраживается дрожжами для получения этанола.

4.2.4.1 Раздельный гидролиз и ферментация (РГФ)

Это обычный двухстадийный процесс, в котором лигноцеллюлозу гидролизуют с помощью ферментов для восстановления сахаров на первой стадии и ферментации сахаров, образующихся в этаноле, на второй стадии с использованием *Saccharomyces* или *Zygomonas* [117, 118]. В процессе РГФ гидролиз проводится отдельно от ферментации, что означает, что можно применять оптимальные температуры, как для ферментативного гидролиза, так и для ферментации. Недостаток РГФ заключается в том, что полученная целлюбиоза действует как ингибитор целлюлазы [119]. Было также доказано, что β -глюкозидаза может ингибироваться глюкозой [120]. Другим недостатком является то, что РГФ представляет собой двухэтапный процесс, который увеличивает общую стоимость процесса.

4.2.4.2 Одновременная сахаризация и ферментация (ОСФ)

В процессах одновременной сахаризации и ферментации (ОСФ) одноэтапно осуществляются гидролиз целлюлозы и ферментация глюкозы в присутствии ферментирующих микроорганизмов. Этот метод сокращает количество стадий процесса и является многообещающим способом преобразования целлюлозы в этанол [121]. В процессе ОСФ ферменты целлюлазы гидролизуют целлюлозу до D-глюкозы, которая, в свою очередь с помощью дрожжей или бактерий ферментируется в этанол [122]. Совместимость процессов сахаризации и ферментации в отношении различных условий, таких как pH, температура и концентрация субстрата, являются важными факторами, определяющими успех процесса ОСФ. Эти ферменты сильно ингибируются простыми сахарами, которые образуются при гидролизе под воздействием самих ферментами. Накопление этанола в биореакторе не подавляет целлюлазы так сильно, как высокие концентрации глюкозы [123]. Основными преимуществами процесса ОСФ для биоконверсии этанола являются повышенная скорость биоконверсии лигноцеллюлозной биомассы (целлюлозы и гемицеллюлозы) благодаря удалению сахаров, которые ингибируют активность целлюлозы, меньшую загрузку фермента, более высокий выход продукта, снижение ингибирования ферментации дрожжей в случае непрерывного извлечения этанола и снижения потребности в асептических условиях, что приводит к улучшению экономических положений [124–127]. Поскольку в процессе гидролиза сырья образуется несколько ингибирующих соединений, гидролитический процесс должен быть оптимизирован так, чтобы можно было минимизировать образование ингибитора. Процесс ОСФ, кажется, предлагает лучший вариант для коммерческого производства этанола из лигноцеллюлозной биомассы. Как сообщается, для процесса ОСФ использовались клетки *Penicillium funiculosum* cellulase и *Saccharomyces uvarum* [124]. Недостатком процесса ОСФ является то, что оптимальные температуры для целлюлаз и ферментирующих микроорганизмов не являются одинаковыми, поэтому выбранная температура является компромиссом, что означает, что ни гидролиз, ни ферментация не будут проводиться в оптимальных условиях.

4.2.4.3 Одновременная сахаризация и коферментация (ОСКФ)

Одновременные процессы сахаризации и коферментации сочетают ферментативный гидролиз целлюлозы с одновременной ферментацией ее основного производного сахара (глюкозы) в этанол. В этом процессе этапы практически такие же, как в отдельной системе гидролиза и ферментации, за исключением того, что оба процесса выполняются в одном и том же биореакторе. Таким образом, присутствие дрожжей вместе с целлюлолитическим ферментным комплексом снижает накопление ингибирующих сахаров в реакторе, тем самым увеличивая выход и скорость сахаризации. Другое преимущество этого подхода заключается в том, что для всего процесса используется один биореактор,

что снижает инвестиционные затраты. ОСКФ был признан практически осуществимым вариантом производства этанола из лигноцеллюлозных материалов с высоким содержанием ксилозы. Недавно ОСКФ был использован несколькими исследователями с генно-инженерными дрожжами на разных видах сырья [128-130].

4.2.4.4 Объединенная биообработка (ОБО)

Недавно были предприняты попытки объединить производство целлюлазы, гидролиз и ферментацию в один этап. Эта концепция называется объединенной биообработкой (ОБО), и цель состоит в том, чтобы создать микроорганизм, способный одновременно выполнять эти три шага [121]. Во время ОБО предварительно обработанная лигноцеллюлозная биомасса нейтрализуется и подвергается непосредственному воздействию микроорганизмов, способных гидролизовать целлюлозу и гемицеллюлозу в сбраживаемые сахара и сбраживать сахара в этанол. В настоящее время не существует идеального микроорганизма для ОБО, который мог бы эффективно разлагать лигноцеллюлозную биомассу и в то же время потреблять все сахара, высвобождаемые из биомассы, с образованием этанола. Тем не менее, для эффективного производства биоэтанола предпринимаются усилия по созданию дрожжей, вырабатывающих этанол (*S. cerevisiae*), способных выработать целлюлазу / гемицеллюлазу и бактерии, расщепляющие лигноцеллюлозу (*C. thermocellum*), [121]. Существует две разные стратегии создания микроорганизма для ОБО. Природный целлюлолитический микроорганизм может быть изменен генной инженерией для получения важных свойств, таких как способность давать высокие выходы этанола, или же нецеллюлолитический микроорганизм с высоким выходом этанола, который можно изменить генной инженерией для экспрессирования гетерологичных целюлаз [131]. Вышеупомянутые усилия путем биотехнологической инженерии дрожжевого генома и методов слияния протопластов, позволили разработать штаммы, которые показывают многообещающие результаты [131]. Геном *C. phytofermentans* (ATCC 700394) кодирует наибольшее количество ферментов для расщепления лигноцеллюлозной биомассы среди последовательных клостридиальных геномов [132]. Эта технология превосходит процесс ОСФ по показателям экономической эффективности, выработки выхода и сокращения времени обработки [121, 127, 133]. Относительно низкая стойкость к этанолу является основным недостатком этого процесса. Сообщается о более низком допустимом пороговом значении около 3,5% по сравнению с 10% для этанологичных дрожжей. Уксусная кислота и молочная кислота также образуются в качестве побочных продуктов в этом процессе, в котором используется значительное количество углерода.

4.2.5 Дистилляция

После ферментации в биореакторе присутствует большое количество воды. Для производства пригодного к употреблению этанола, излишки воды из жидкой промывки должны удаляться путем процесса дистилляции. Дистилляция - широко используемый метод очистки жидкостей и разделения смесей жидкостей на отдельные компоненты. Это метод разделения двух жидкостей с использованием их различных температур кипения. Чтобы отделить смесь жидкостей с разными точками кипения, их нагревают, чтобы перевести компоненты в газообразную форму, а затем конденсируют обратно в жидкую форму и собирают. Однако для достижения высокой степени очистки требуется несколько перегонок. Это потому, что все материалы имеют межмолекулярные взаимодействия друг с другом, и эти два материала будут совместно перегоняться во время перегонки. Это обусловлено тем, что этанол испаряется быстрее, чем вода, этанол поднимается через трубку, собирается и конденсируется в другой емкости, а вода остается позади. Окончательная чистота этанольного продукта ограничивается 95–96% из-за образования низкокипящего вода-этанольного азеотропа. Эту смесь называют водным этанолом [134]. Многие методы дистилляции этанола были разработаны для повышения эффективности системы [135].

4.3 Генная инженерия для производства биотоплива

Производство этанола из лигноцеллюлозной биомассы включает смешанную ферментацию сахара (пентозу и гексозу). Гидролизат лигноцеллюлозной биомассы содержит различные токсичные соединения, такие как низкомолекулярные органические кислоты, производные фурана, фенольные соединения и неорганические вещества, выделяющиеся при предварительной обработке или гидролизе биомассы [136]. Эти токсичные соединения негативно влияют на процесс ферментации. Существует потребность в подходящем микроорганизме, который может эффективно ферментировать и гексозу, и пентозу, на который не воздействуют ингибиторы. *Saccharomyces cerevisiae* является наиболее

предпочтительным организмом для производства этанола из гексоз. *P. stipitis* и *Candida shehatae* способны сбраживать, как гексозный (глюкоза), так и пентозный (ксилозный) сахар в этанол [137]. Сильноанаэробные мезофильные бактерии, такие как *Clostridium* sp. и *Thermoanaerobacter* sp. [30, 37] были предложены, чтобы исследовать преимущества ферментации при повышенных температурах. Некоторые другие термоустойчивые микроорганизмы - *K. marxianus*, *Candida lusitanae* и *Z. mobilis* [23].

Для коммерчески жизнеспособного способа производства этанола, у идеального микроорганизма должно быть широкое использование субстрата, способность выдерживать высокие концентрации этанола, высокотемпературная стойкость, целлюлолитическую активность и устойчивость к ингибиторам, присутствующим в гидролизате. Многие исследования были посвящены разработке эффективных микроорганизмов, способных ферментировать глюкозу и ксилозу по отдельности или одновременно [136].

Промышленное использование лигноцеллюлоз для производства биоэтанола затрудняется отсутствием идеальных микроорганизмов, которые могут эффективно ферментировать как пентозный, так и гексозный сахар [37]. Таким образом, генетически модифицированные или разработанные микроорганизмы используются для достижения полного использования сахаров в гидролизате и повышения эффективности производства. В последние годы концепции метаболической инженерии были использованы для производства топливного этанола [138]. Генная инженерия была использована для разработки различных аспектов ферментации от более высоких выходов к лучшему и более широкому использованию субстрата для увеличения степени извлечения. Был разработан ряд генетически модифицированных микроорганизмов, таких как *P. stipitis* BCC15191 [139], *P. stipitis* NRRLY-7124 [140, 141]), рекомбинантные *E. coli* KO11 [142], *C. shehatae* NCL-3501 [143] и *S. cerevisiae* ATCC 26603 [140]. Брожение этанола в пентозных сахарах не так часто осуществляется большинством микроорганизмов, как в случае гексозных сахаров. Ограниченное количество бактерий, дрожжей и грибов может превращать пентозный сахар в этанол с удовлетворительным выходом и продуктивностью [144]. Генетически модифицированные штаммы *E. coli*, *S. cerevisiae* и *Z. mobilis* были разработаны для ферментации ксилозы [145].

Ферментация ксилозы также достигается путем экспрессирования ксилоредуктазы и ксилитдегидрогеназы вместе со сверхэкспрессией эндогенной ксилулокиназы и ксилоизомеразы у *P. Conditionitis* и других видов бактерий или грибов [146–148]. Для получения этанола, этанологичные рекомбинантные бактерии, такие как *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Zymomonas mobilis* и дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, были успешно использованы для ферментации смешанных сахаров, полученных из биомассы, содержащей глюкозу, ксилозу, арабинозу и галактозу [149].

Генетически модифицированные микробы *Zymomonas mobilis* AX101, *Escherichia coli* KO11, *Klebsiella oxytoca* P2 и *Saccharomyces cerevisiae* рассматриваются для промышленного применения [150]. Обнаружено, что рекомбинантный штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* MT8–1 ферментирует ксилозу и целлоолигосахариды путем интеграции генов из *Pichia stipitis*, которые экспрессируют ксилоредуктазу и ксилитдегидрогеназу, а также ксилулокиназу из *Saccharomyces cerevisiae*, и ген для идентификации α -глюкулазы из *Aspergillus aculeatus* на клеточной поверхности [151]. Рекомбинантные штаммы *Saccharomyces cerevisiae* были использованы для использования гемицеллюлозных компонентов лигноцеллюлозного сырья. Гибридный штамм MN8140XX продемонстрировал улучшение выработки этанола в 1,3 и 1,9 раза по сравнению с его родительскими штаммами [152]. Был разработан еще один штамм, который экспрессировал гетерологичные ферменты на клеточной поверхности и выработал этанол из гидролизата рисовой соломы во время объединенной биообработки из гемицеллюлозного материала, содержащего ксилан, ксилоолигосахариды и целлоолигосахариды, без необходимости добавления гидролизующих сахар ферментов или детоксикации [153]. Генетически модифицированные штаммы дрожжей были разработаны методом перестановки ДНК с рекомбинацией всего генома *P. stipitis* с геномом *S. cerevisiae* путем использования модифицированного метода перестановки генома для улучшения ферментации [154]. Полученный в этом исследовании рекомбинантный штамм дрожжей был многообещающим кандидатом для промышленного производства целлюлозного этанола. Гены, ферментирующие этанол, такие как пируватдекарбоксилаза и алкогольдегидрогеназа II, были клонированы из *Zymomonas mobilis* и преобразованы в три разные целлюлолитические бактерии, а именно *Enterobacter cloacae* JV, *Proteus mirabilis* JV и *Erwinia chrysanthemi*. После этого была изучена их способность к производству целлюлозного этанола. Было обнаружено, что штамм продуцирует в два раза больше этанола, чем дикий тип, а также обладает устойчивостью к этанолу [155].

4.4 Будущие перспективы

В связи с возросшим спросом на энергию, биоконверсия линглоцеллюлозной биомассы в биоэтанол является приоритетной областью исследований. Лигноцеллюлозный этанол производится из недорогого и широко доступного сырья, которое может снизить нашу зависимость от ископаемого топлива. Биоэтанол способствует тому, чтобы окружающая среда не загрязнялась, поскольку выбросы CO_2 при сжигании биоэтанола равны объему, которое растения поглощают из атмосферы во время фотосинтеза. Следовательно, они могут уменьшить проблему глобального потепления. Биоэтанол является возобновляемой и устойчивой альтернативой ископаемому топливу, потому что сырье для его производства доступно в изобилии и можно легко вырастить. Переработка сельскохозяйственных отходов обеспечит экономическую выгоду населению сельских районов. Биоконверсия lignoцеллюлозной биомассы в простые сахара для ферментации является очень сложным процессом. Лигноцеллюлозы очень сложны с точки зрения их морфологии, и кристалличность является основным препятствием для биоконверсии. Для биоконверсии lignoцеллюлозной биомассы требуется многие ферменты, которые взаимно действуют для производства простых сахаров с целью расщепления лигнина. Не существует микроорганизма, в котором есть все ферменты, необходимые для полного процесса. Многие ферменты, которые могут разлагать lignoцеллюлозную биомассу и ингибировать конечный продукт, не могут полностью осваивать биомассу. Совместное культивирование микроорганизмов может решить проблему биоконверсии сложных lignoцеллюлозных биомасс. Микроорганизмы из экстремальных условий окружающей среды могут обеспечивать ферменты с улучшенными свойствами, подходящими для промышленного применения. Сочетание нескольких подходов, таких как метагеномика, исследования биоразнообразия и метаболическая инженерия, могут улучшить свойства ферментов. Во время гидролиза lignoцеллюлозы производится сложная смесь сахара и многих других токсических соединений, которые ингибируют активность ферментирующих микроорганизмов. Генную инженерию можно использовать для развития ферментирующих микроорганизмов, которые способны ферментировать пентозу и гексозу, без воздействия ингибиторов. Разработка генно-инженерных микроорганизмов и разработка новых биореакторов с улучшенными выходами и производительностью снизят стоимость производства биоэтанола в будущем.

Использованная литература

1. P. Raven, R. Evert, S. Eichhorn, *Biology of plants*, New York, NY, USA, 5th edition, p. 791, 1992.
2. J.L. Faulon, and P. G. Hatcher, *Energy and Fuels*, Vol. 8, p. 402-407, 1994.
3. A.J.Stamm, *Wood and Cellulose Science*, The Ronald Press Co, New York, p. 142-165, 1964.
4. V. Balan, L.D.C. Sousa, S.P.S. Chundawat, D. Marshall, L.N. Sharma, C.K. Chambliss, and B.E. Dale, *Biotechnology Process*, Vol. 25, p. 365-375, 2009.
5. R.L. Howard, E. Abotsi, E.L. Jansen van Rensburg, and S. Howard, *African Journal of Biotechnology*, Vol. 2 (12), p. 602, 2003.
6. B.C. Qi, C. Aldrich, L. Lorenzen, and G.W. Wolfaardt, *Chemical Engineering Communications*, Vol. 192(9), p. 1221-1242. 2005.
7. A. Roig, M.L. Cayuela, and M.A. Sanchez-Monedero, *Waste Management*, Vol. 26(9), p. 960-969, 2006.
8. G. Rodriguez, A. Lama, R. Rodriguez, A. Jimenez, R. Guillena, and J. Fernandez-Bolanos, *Bioresource Technology*, Vol. 99(13), p. 5261-5269. 2008.
9. Y. Sun, and J. Cheng, *Bioresource Technology*, Vol. 83, p. 1-11, 2002.
10. G. Mtui, and Y. Nakamura, *Tanzania Biodegradation*, Vol. 16(6), p. 493-499, 2005.
11. L.R. Lynd, M.S. Laser, D. Bransby, B.E. Dale, B. Davison, R. Hamilton, M. Himmel, M. Keller, J.D. McMillan, J. Sheehan, and C.E. Wyman, *Nature Biotechnology*, Vol. 26, p. 169-172, 2008.
12. R. Kumar, S. Singh, and O.V. Singh, *Journal of Indian Microbiology and Biotechnology*, Vol. 35, p. 377-391, 2008.
13. L.P. Wackett, *Current Opinion in Chemical Biology*, Vol. 12, p. 187-193, 2008.
14. A. Margeot, B. Hahn-Hagerdal, M. Edlund, R. Slade, and F. Monot, *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 20, p. 372-380, 2009.
15. M. Dashtban, H. Schraft, and W. Qin, *International Journal of Biological Science*, Vol. 5, p. 578-595, 2009.
16. C. Sanchez, *Biotechnology Advance*, Vol. 27, p. 185-194, 2009.
17. F. Xu, "Biomass-converting enzymes and their bioenergy applications", In *The Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 3rd ed. Washington, DC, USA, p. 495-508, 2010.
18. F.M. Girio, C. Fonseca, F. Carvalheiro, L.C. Duarte, and S. Marques, *Bioresource Technology*, Vol. 101, p. 4775-4800, 2010.
19. R.E.H. Sims, W. Mabee, J.N. Saddler, and M. Taylor, *Bioresource Technology*, Vol. 101, p. 1570-1580, 2010.
20. A.K. Chandel, and O.V. Singh, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 89, p. 1289-1303, 2011.
21. Y.H.P. Zhang, *Process Biochemistry*, Vol. 46, p. 2091-2110, 2011.
22. C.A. Cardona, and O.J. Sanchez, *Bioresource Technology*, Vol. 98(12), p. 2415- 2457, 2007.
23. A.B. Bjerre, A.B. Olesen, and T. Fernqvist, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 49, p. 568-77, 1996.
24. A. Pandey, *Handbook of plant-based biofuels*, New York, CRC Press, p.1-3, 2009.
25. D.S. Scott, L. Paterson, J. Piskorz and D. Radlein, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, Vol. 57, p. 169-176, 2001.
26. S. Prasad, A. Singh, and H.C. Joshi, *Resources, Conservation and Recycling*, Vol. 50, p.1-39, 2007.
27. G.Y.S. Mtui, *African Journal of Biotechnology*, Vol. 8(8), p. 1398-415, 2009.
28. E. Takacs, L. Wojnarovits, C. Foldvary, P. Hargittai, J. Borsa, and I. Sajo, *Radiation Physics and Chemistry*, Vol. 57, p. 399-403, 2000.
29. M.A. Neves, T. Kimura, N. Shimizu, and M. Global Science Books, p.1-13, 2007
30. O.J. Sanchez, and C.A. Cardona, *Bioresource Technology*, Vol.99, p. 5270-95, 2008.
31. M. Balat, H. Balat, and C. Oz, *Progress in Energy and Combustion Science*, Vol.34, p.551-73, 2008.
32. R. Vanholme, K. Morreel, J. Ralph, and W. Boerjan, *Current Opinion in Plant Biotechnology*, Vol. 11 (3), p. 278-285, 2008.
33. M. T. Holtzapple, A. E. Humphrey, and J. D. Taylor, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 33, p. 207-210, 1989.
34. K. L. Mackie, H. H. Brownell, K. L. West, and J. N. Saddler, *Journal of Wood Chemistry and Technology*, Vol. 5, p. 405-425, 1985.
35. J. D. McMillan, "Pretreatment of lignocellulosic biomass", In *Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production*, Washington, DC, p. 292-324,1994.
36. N. Mosier, C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y.Y. Lee, M. Holtzapple, *Bioresource Technology* ,Vol. 96, p. 673-86, 2005.
37. F. Talebnia, D. Karakashev, and I. Angelidaki, *Bioresource Technology*, Vol. 101(13), p. 4744-53, 2010.
38. C.N. Hamelinck, G.V. Hooijdonk, and A.P.C. Faaij, *Biomass and Bioenergy*, Vol. 28, p. 384-410, 2005.

39. D. Ben-Ghedalia, and J. Miron, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 23, p. 823-831, 1981.
40. W. C. Neely, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 26, p. 59-65, 1984.
41. D. Ben-Ghedalia, and G. Shefet, *Journal of Agricultural Science*, Vol. 100, p. 393-400, 1983.
42. P. F. Vidal, and J. Molinier, *Biomass*, Vol. 16, p. 1-17, 1988.
43. J. Quesada, M. Rubio, and D. Gomez, *Journal of Wood Chemical Technology*, Vol. 19, p. 115-137, 1999.
44. C. I. Ishizawa, M. F. Davis, D. F. Schell, and D. K. Hohnson, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, Vol. 55, p. 2575-2581, 2007.
45. C.A. Cardona, J.A. Quintero, and I.C. Paz, *Bioresource Technology*, Vol. 101(13), p. 4754-66, 2009.
46. M. V. Sivers, and G. Zacchi, *Bioresource Technology*, Vol. 51, p. 43-52, 1995.
47. A. Pandey, C.R. Soccol, P. Nigam, and V.T. Soccol, *Bioresource Technology*, Vol. 74, p. 69-80, 2000.
48. L. T. Fan, M. M. Gharpuray, and Y.H. Lee, *Cellulose Hydrolysis, Biotechnology Monographs*, Berlin, Vol. 3, p. 57, 1987.
49. J. I. Botello, M. A. Gilarranz, F. Rodriguez, and M. Olet, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, Vol. 74, p. 141-148, 1999.
50. X. Zhao, K. Cheng, and D. Liu, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 82, p. 815-27, 2009.
51. H.V. Scheller, and P. Ulvskov, *Annual Review of Plant Biotechnology*, Vol. 61, p. 263-289, 2010.
52. J. Van den Brink, and R.P. de Vries, *Applied Microbial Biotechnology*, Vol. 91, p. 1477-1492, 2011.
53. J. Wu, Y.Z. Xiao, and H.Q. Yu, *Bioresource Technology*, Vol. 96, p. 1357-1363, 2005.
54. D.J. Voadlo, and G.J. Davies, *Current Opinion in Chemical Biology*, Vol. 12, p. 539-555, 2008.
55. Y.S. Liu, J.O. Baker, Y. Zeng, M.E. Himmel, T. Haas, and S.Y. Ding, *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 286, p. 11195-11201, 2011.
56. D.B. Wilson, *Annals of the New York Academy of Sciences*, Vol. 1125, p. 289- 297, 2008.
57. J. Langston, N. Sheehy, and F. Xu, *Biochimica et Biophysica Acta*, Vol. 1764, p. 972-978, 2006.
58. B.B. Ustinov, A.V. Gusakov, A.I. Antonov, and A.P. Sinitsyn, *Enzyme Microbial Technology*, Vol. 43, p. 56-65, 2008.
59. D.B. Jordan, and K. Wagschal, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 86, p. 1647-1658, 2010.
60. P. Biely, M. Mastihubova, M. Tenkanen, J. Eyzaguirre, X.L. Li, and M. Vrsanska, *Journal of Biotechnology*, Vol. 151, p. 137-142, 2011.
61. T. Koseki, S. Fushinobu, S.H. Ardiansyah, and M. Komai, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 84, p. 803-810, 2009.
62. M. Duranova, S. Spanikova, H.A. Wosten, P. Biely, and R.P. de Vries, *Archives of Microbiology*, Vol. 191, p. 133-140, 2009.
63. B.C. Saha, *Biotechnology Advances*, Vol. 18, p. 403-423, 2000.
64. V.L.Y. Yip, and S.G. Withers, *Journal of Biocatalysis and Biotransformation*, Vol. 24, p. 167-176, 2006.
65. S.L. Chong, E. Battaglia, P.M. Coutinho, B. Henrissat, M. Tenkanen, and R.P. de Vries, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 90, p. 1323-1332, 2011.
66. K. Martin, B.M. McDougall, S. McIlroy, J.Z. Chen, and R.J. Seviour, *FEMS Microbiology Reviews*, Vol. 31, p. 168-192, 2007.
67. L. Moreira, and E. Filho, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 79, p. 165-178, 2008.
68. M.J. Baumann, *Plant Cell*, Vol. 19, p. 1947-1963, 2007.
69. V. Lombard, T. Bernard, C. Rancurel, H. Brumer, P.M. Coutinho, and B. Henrissat, *Biochemical Journal*, Vol. 432, p. 437-444, 2010.
70. A. Payasi, R. Sanwal, and G.G. Sanwal, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Vol. 25, p. 1-4, 2009.
71. M. Yadav, S.K. Singh, and S. Yadava, *Prikl Biokhim Mikrobiol*, Vol. 48(6), p. 646-52, 2012.
72. L. Banci, S. Ciofi-Baffoni, and M. Tien, *Biological Science*, Vol. 38 (10), p. 3205-3210, 1999.
73. P. M. Coll, J. M. Fernandez-Abalos, J. R. Villanueva, R. Santamaria, and P. Perez, *Applied Environmental Microbiology*, Vol. 59(8), p. 2607, 1993.
74. M.E. Brown, T. Barros, and M.C. Chang, *ACS Chemical Biology*, Vol. 7(12), p. 2074-81, 2012.
75. A. Hernandez-Ortega, P. Ferreira, and A.T. Martinez, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 93(4), p. 1395-410, 2012.
76. P. J. Kersten, and D. Cullen, *PNAS*, Vol. 90 (15), p. 7411-7413, 1993.
77. M. Ahmad, J.N. Roberts, E.M. Hardiman, R. Singh, L.D. Eltis, and T. D. Bugg, *Biochemistry*, Vol. 50(23), p. 5096-107, 2011.
78. A. Rodriguez-Chong, J. A. Ramirez, G. Garrote, and M. Vazquez, *Journal of Food Engineering*, Vol. 61, p. 143, 2004.
79. S. Gamez, J.J. Gonzalez-Cabriaes, J.A. Ramirez, G. Garrote, and M. Vazquez, *Journal of Food Engineering*, Vol. 74, p. 78-88, 2006.
80. S. Banerjee, S. Mudliar, R. Sen, B. Giri, D. Satpute, and T. Chakrabarti, *Biofuels, Bioproducts and*

Biorefining ,Vol. 4, p. 77-93, 2010.

81. M.J. Taherzadeh, and K. Karimi, *Bioresources*, Vol. 2(4), p. 707-38, 2007.
82. D.B. Wilson, *Microbiology*, Vol. 14, p. 259-263, 2011.
83. M. Maki, K.T. Leung, and W. Qin, *International Journal of Biological Science*, Vol. 5, p. 500-516, 2009.
84. V.S. Bisaria, *Bioprocessing of agro-residues to value added products*, Chapman and Hall, UK, p.197-246, 1998.
85. S.J.B. Duff, and W.D. Murray, *Bioresource Technology*, Vol.55, p.1- 33, 1996.
86. J. Kaur, B.S. Chandha, and B.A. Kumar, *Electronic Journal of Biotechnology*, Vol. 10, p. 260-270, 2007.
87. D. Sternberg, *Biotechnology and Bioengineering Symposium*, p. 35-53, 1976.
88. W. Li, W.W. Zhang, M.M. Yang, and Y.L. Chen, *Molecular Biotechnology*, Vol. 2, p. 195-201, 2008.
89. Y. Liang, J. Yesuf, S. Schmitt, K. Bender, and J. Bozzola, *Journal of Indian Microbiology and Biotechnology*, Vol. 36(7), p. 961-70, 2009.
90. K. Hirasawa, K. Uchimura, M. Kashiwa, W.D. Grant, S. Ito, T. Kobayashi, and K. Horikoshi, *Antonie Van Leeuwenhoek*, Vol. 89(2), p. 211-219, 2006.
91. S. Morais, Y. Barak, Y. Hadar, D.B. Wilson, Y. Shoham, R. Lamed, and E.A. Bayer, *MBio*, Vol. 15;2(6), p. 00233-11, 2011.
92. S.Y. Ding, Q. Xu, M. Crowley, Y. Zeng, M. Nimlos, R. Lamed, E.A. Bayer, and M.E. Himmel, *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 19, p. 218-227, 2008.
93. E.A. Bayer, R. Lamed, and M.E. Himmel, *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 18, p. 237-245, 2007.
94. K. Murashima, A. Kosugi, and R.H. Doi, *Molecular Microbiology*, Vol. 45(3), p. 617-626, 2002.
95. S.L. Tsai, and G. Goyal, *Applied Environmental Microbiology*, Vol. 76, p. 7514- 7520, 2010.
96. M. Lilly, H.P. Fierobe, W.H. van Zyl, and H. Volschenk, *FEMS Yeast Research*, Vol. 9, p. 1236-1249, 2009.
97. T.D. Anderson, S.A. Robson, X.W. Jiang, G.R. Malmirchegini, H.P. Fierobe, B.A. Lazazzera, and R.T. Clubb, *Applied Environmental Microbiology*, Vol. 77, p. 4849-4858, 2011.
98. E. Palmqvist, and B. Hahn-Hagerdal, *Bioresource Technology*, Vol. 74, p. 17-24, 2000.
99. R. Kumar, S. Singh, and O.V. Singh, *Journal of Indian Microbiology and Biotechnology*, Vol. 35, p. 377-391, 2008.
100. F. Niehaus, C. Bertoldo, M. Kahler, and G. Antranikian, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 51, p. 711-729, 1999.
101. T.A. Clark, and K.L. Mackie, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, Vol. 34, p. 101-110, 1984.
102. T. Popoff, and O. Theander, *Acta* , Vol. 30, p. 397-402, 1976.
103. S. Larsson, A. Reimann, N.O. Nilvebrant, and L.J. Jonsson, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 77, p. 91-103, 1999.
104. S. Larsson, A. Quintana-Sainz, A. Reimann, N.O. Nilvebrant, and L.J. Jonsson, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 84, p. 617-632, 2000.
105. J. Zaldivar, and L.O. Ingram, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 66, p. 203- 210, 1999.
106. C. Verduyn, E. Postma, W.A. Scheffers, and J.P. Van Dijken, *Journal of General Microbiology*, Vol. 136, p. 305-319, 1990.
107. S.I. Mussatto, J.C. Santos, and I.C. Roberto, *Journal of Chemical Technology and Biotechnoloyg*, Vol. 79, p. 590-596, 2004.
108. S. Helle, D. Cameron, J. Lam, B. White, and S. Duff, *Enzyme Microbiology and Technology*, Vol. 33, p. 786-792, 2003.
109. S. I. Mussatto, *Influencia do Tratamento do Hidrolisado Hemicelulosico de Palha de Arroz na Producao de Xilitol por Candida guilliermondii*, Brasil, p. 1-9, 2002.
110. J. M. Dominguez, C. S. Gong, and G. T. Tsao, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 57-58, p. 49-56, 1996.
111. S. I. Mussatto, and I. C. Roberto, *Biotechnology Letters*, Vol. 23, p. 1681-1684, 2001.
112. N. O. Nilvebrant, A. Reimann, S. Larsson, and L. J. Jonsson, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 91-93, p. 35-49, 2001.
113. W. Lee, J. Lee, C. Shin, S. Park, H. Chang, and Y. Chang, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 78(1), p. 547-559, 1999.
114. L. Canilha, J. B. de Almeida e Silva, and A. I. N. Solenzal, *Process Biochemistry*, Vol. 39(12), p. 1909-1912, 2004.
115. L. J. Jonsson, E. Palmqvist, N. O. Nilvebrant, and B. Hahn-Hagerdal, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 49, p. 691-697, 1998.
116. E. Palmqvist, B. Hahn-Hagerdal, Z. Szengyel, G. Zacchi, and K. Reczey, *Enzyme Microbial Technology*, Vol. 20, p. 286-293, 1997.

117. V. S. Bisaria, and T. K. Ghose, *Enzyme Microbial Technology*, Vol. 3, p. 90-104, 1981.
118. G. P. Philippidis, "Cellulose bioconversion technology". *Handbook on Bioethanol: Production and Utilization*, Ed. C. E. Wyman, p. 253-285, 1996.
119. M. Mandels, and E.T. Reese, "Inhibition of cellulases and J-glucosidases". In: *Advances in enzymatic hydrolysis of cellulose and related materials*, London, p. 115-157, 1963.
120. M. Holtzapple, M. Cognata, Y. Shu, and C. Hendrickson, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 36, p. 275-287, 1990.
121. L.R. Lynd, W.H. Van Zyl, J.E. McBride, and M. Laser, *Current Opinion in Biotechnology*, Vol.16, p. 577-583, 2005.
122. S.H. Krishna, T.J. Reddy, and G.V. Chowdary, *Bioresource Technology*, Vol. 77, p. 193-196, 2001.
123. D. R. Shonnard, *CM4710 Biochem. Processes, Course*, Michigan Technology University, Michigan, p. 1-13, 2003.
124. V. V. Deshpande, H. Sivaraman, and M. Rao, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 25, p. 1679-1684, 1981.
125. D. J. Schell, N. D. M. Hinman, C. E. Wyman, and P. J. Werdene, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 17, p. 279-291, 1988.
126. G. P. Philippidis, and T. K. Smith, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 51/52, p. 117-124, 1995.
127. J. D. Wright, C. E. Wyman, and K. Grohmann, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 18, p. 75-90, 1988.
128. K. Olofsson, A. Rudolf, and G. Liden, *Journal of Biotechnology*, Vol. 134, p. 112- 120, 2008.
129. K. Ohgren, O. Bengtsson, M.F. Gorwa-Grauslund, M. Galbe, B. Hahn- Hagerdal, and G. Zacchi, *Journal of Biotechnology* , Vol. 126, p. 488-498, 2006.
130. K. Olofsson, M. Wiman, and G. Liden, *Journal of Biotechnology*, Vol. 145, p. 168-175, 2010.
131. A.L. Demain, M. Newcomb, and J.H.D. Wu, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, Vol. 69, p. 124-154, 2005.
132. C. Weber, A. Farwick, F. Benisch, D. Brat, H. Dietz, T. Sub Til, and E. Boles, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 87, p. 1303- 1315, 2010.
133. A.K. Chandel, E.C. Chan, R. Rudravaram, M.L. Narasu, L.V. Rao, and P. Ravindra, *Biotechnology Molecular Biology Reviews*, Vol. 2, p. 14-32, 2007.
134. R.W. Rousseau, and R.F. James, *Handbook of Separation Process Technology*, NJ, USA, p. 261-262, 1987.
135. V. Griend and D. Lee, Ethanol Distillation Process. US Patent 7,297,236, November 20, p.1-12, 2007.
136. B. Hahn-Hagerdal, M. Galbe, M.F. Gorwa-Grauslund, G. Liden and G. Zacchi, *Trends in Biotechnology*, Vol. 24(12), p. 549-556, 2006.
137. S. Parekh, and M. Wayman, *Biotechnology Letters*, Vol. 8, p. 597-600, 1986.
138. T. W. Jeffries, and Y.S. Jin, *Applied Microbiology and Biotechnology* ,Vol. 63, p. 495-509, 2004.
139. B. Buaban, H. Inoue, S. Yano, S. Tanapongpipat, V. Ruanglek, and V. Champreda, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Vol. 110(1), p. 18 - 25, 2010.
140. M. Moniruzzaman, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Vol. 11, p.646, 1995.
141. J.N. Nigam, *Journal of Biotechnology*, Vol. 87, p. 17-27, 2001.
142. C.M. Takahashi, K.G.C. Lima, D.F. Takahashi, and F. Alterthum, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Vol. 16, p. 829-34, 2000.
143. M. Abbi, R.C. Kuhad, and A. Singh, *Journal of Industrial Microbiology*, Vol. 17, p. 20 - 3, 1996.
144. P. Sommer , T. Georgieva , and B.K. Ahring, *Biochemical Society Transactions*, Vol. 32(Pt 2), p. 283-9, 2004.
145. S. Kim, and M.T. Holtzapple, *Bioresource Technology*, Vol. 96, p. 1994-2006, 2005.
146. A. Eliasson, C. Christensson, C.F. Wahlbom, and B. Hahn-Hagerdal, *Applied Environmental Microbiology*, Vol. 66(8), p. 3381-3386, 2000.
147. M. Kuyper, H.R. Harhangi, A.K. Stave, A.A. Winkler, M.S. Jetten, W.T. De Laat, J.J. Den Ridder, H.J. Op Den Camp, J.P. Van Dijken, and J.T. Pronk, *FEMS Yeast Research*, Vol. 4, p. 69-78, 2003.
148. K. Karhumaa, B. Hahn-Hagerdal, and M.F. Gorwa-Grauslund, *Yeast*, Vol. 22, p. 359-368, 2005.
149. R.J. Bothast, N.N. Nichols, and B.S. Dien, *Biotechnology Progress*, Vol. 15, p. 867-875, 1999.
150. B. S. Dien, M. A. Cotta, and T. W. Jeffries, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 63, p. 258-266, 2003.
151. S. Katahira , A. Mizuike , H. Fukuda, and A. Kondo, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 72(6), p. 1136-43, 2006.
152. K. Hiroko, S. Hiroaki, Y. Ryosuke, H. Tomohisa, and K. Akihiko, *Applied Microbiology and*

Biotechnology, Vol. 94, p. 1585-1592, 2012.

153. S. Takatoshi, H. Tomohisa, H. Yoshimi, Y. Ryosuke, and K. Akihiko, *Journal of Biotechnology* , Vol. 158, p. 203- 210, 2012.

154. Z. Wei, and G. Anli, *Biotechnology for Biofuels* , Vol. 5, p. 46, 2012.

155. P. Sobana Piriya, P. Thirumalai Vasan, V. S. Padma, U. Vidhyadevi, K. Archana, and S. John Vennison Biotechnology Research International, Article ID 817549, p.1-8, 2012.

Недавний прогресс в микробиологической метаболической инженерии для преобразования отходов лигноцеллюлозы для производства биотоплива

Шубхангини Шарма¹, Рина², Анил Кумар³ и Паллави Миттал^{4,*}

¹CDL, Интас Биофармасьютикал, Ахмадабад, Гуджарат, Индия.

² Институт геномики и интегративной биологии, Молл Роуд, Нью-Дели, Индия.

³ Национальный институт иммунологии, Нью-Дели, Индия.

⁴Парамедицинский колледж ITS, Газиабад, Уттар-Прадеш, Индия

Краткое изложение

Ключевой стратегией производства биотоплива является использование химической энергии, хранящейся в стенках клеток растений, путем высвобождения сахаров из лигноцеллюлозы и преобразования их в топливо. Лигноцеллюлозы- наиболее распространенные возобновляемые органические ресурсы на земле, которые легко доступны для преобразования в этанол и другие продукты с добавленной стоимостью. Вещества, образующиеся во время предварительной обработки лигноцеллюлозного сырья, ингибируют ферментативный гидролиз, а также этапы микробной ферментации. Таким образом, для производства этих видов биотоплива с большим выходом требуется инженерия метаболизма микроорганизмов. Последние достижения в науке позволяют производить экологически чистые виды топлива из возобновляемых источников энергии путем модифицирования микроорганизмов. Существуют микроорганизмы, которые могут преобразовывать целлюлозную биомассу непосредственно в этанол, а также есть попытки генетически модифицировать микроорганизмы, хорошо вырабатывающие этанол, путем метаболической инженерии, чтобы могли расщеплять целлюлозу. Метаболическая инженерия является мощным инструментом для улучшения производства топлива с помощью микробов, либо путем разработки метаболических путей внутри нативного микроорганизма для стимулирования высокого синтеза топлива, либо путем передачи пути производства топлива в модельный организм для оптимизации. Ожидается, что будущее биотоплива заключается в усилиях в области метаболической инженерии и синтетической биологии, связанных с инженерией растительной биомассы, этанола и микроорганизмы, вырабатывающих целлюлолитические ферменты.

Ключевые слова: Биотопливо, лигноцеллюлоза, микроорганизмы, метаболическая инженерия, кишечная палочка.

5.1 Введение

Увеличение использования ископаемых видов топлива вызвало выбросы парниковых газов и нанесло нежелательный ущерб окружающей среде. На ископаемое топливо приходится 88% потребления первичной энергии, причем нефть (35%), уголь (29%) и природный газ (24%) являются основными видами топлива, в то время как ядерная энергия и гидроэнергетика составляют 5% и 6% от суммарного потребления энергии от первичных источников [1]. Нынешняя нестабильность поставок нефти и постоянное колебание цен еще больше подстегнули большой интерес к альтернативным источникам энергии, чтобы снизить зависимость от нефти и увеличить производство энергии путем изучения солнечной, ветровой, гидравлической энергии и других природных явлений. Кроме того, биомасса также обладает потенциальной целью для производства топлива и энергии, хотя в основном ее используют в качестве сырья. Эти факторы, ориентированные на экономические, экологические и геополитические проблемы, имеют центральное значение для текущего интереса к возобновляемым источникам энергии. Рост цен на нефть в последние несколько лет и экологические проблемы,

связанные с изменением климата, привели к росту интереса к производству биотоплива. Биотопливо является возобновляемым, может заменить ископаемое топливо, сократить выбросы парниковых газов, и его можно производить там, где оно необходимо, и сократить зависимость от стран-производителей нефти.

В 1925 году Генри Форд заметил, что топливо присутствует во всех растительных материалах, которые можно ферментировать, и предсказал, что американцы когда-нибудь будут выращивать свое собственное топливо. В прошлом году мировое производство биотоплива достигло 28 млрд. галлонов США, а на биотопливо пришлось 2,7% от транспортного топлива в мире. Биоэтанол, популярный вид биотоплива, в основном получают из сахаросных продовольственных культур, таких как кукуруза и сахарный тростник [2]. Таким образом, в течение длительного времени биомасса может эффективно заменить топливо из нефти [3–9]. Хотя концепция биотоплива была задумана в 1970-х годах, когда мир столкнулся с масштабным нефтяным кризисом, недавние достижения в области синтетической биологии [10, 11], метаболической инженерии [11–14] и системной биологии [15, 16] пробудили возросший интерес к производству биотоплива. В настоящее время рассматриваются различные возможные источники топлива. Среди них многие предложили использовать водород в качестве энергоносителя в будущей водородной экономике. Однако для этой экономики требуется устойчивое возобновляемое снабжение водородом. Одним из вариантов будет использование биологических средств для производства водорода. Один из подходов заключается в использовании энергии фотосинтеза для захвата солнечного света и расщепления воды, этот процесс называется биофототоллизом [17, 18]. Этот подход, хотя и привлекателен, но испытывает серьезные проблемы, которые могут потребовать годы исследований, чтобы их преодолеть. Фотоферментация, использование бактериального фотосинтеза для поглощения солнечной энергии и ее использования для выделения водорода из по иным причинам недоступных субстратов, может быть использована для демонстрации почти полного превращения субстрата в водород [19–21]. На данном этапе биотехнология играет важную роль, которая охватывает биопроизводство топлива и химикатов из возобновляемых источников [22]. Эти технологии основаны на использовании живых клеток и ферментов для синтеза продуктов, которые биологически легко разлагаются, требуют меньше энергии и создают меньше отходов при их производстве или использовании, чем те, которые производятся из ископаемых ресурсов. Эта идея широко распространена во всей области возобновляемой энергии, но она особенно ярко выражена в области развития биотоплива, когда инженеры, исследователи и лидеры отрасли сталкиваются с серьезной задачей по замене более 4,3 млрд. баррелей нефти и нефтехимического импорта ежегодно при сохранении паритета цен с учетом импорта ископаемого топлива [23]. Учитывая эти факты, многие страны Европы, Северной и Южной Америки и Азии заменяют ископаемое топливо на топливо из биомассы в соответствии с международными правилами. Одна из директив Европейского союза (2009/28/СЕ) устанавливает квоту в 10% для биотоплива на все виды топлива для транспортных средств до 2020 года [22, 24]. Многие виды сырья для биомассы, такие как продовольственные и непродовольственные культуры, целлюлозные материалы и остатки отходов из разных источников, могут быть использованы в качестве источников энергии для производства биотоплива. Чтобы сделать стоимость микробиологического топлива конкурентоспособной с продуктами из нефти, основной целью должно быть производство этих соединений непосредственно из лигноцеллюлозной биомассы в силу их избытка, невмешательство в пищевую цепь и производство биоэтанола без использования пахотных земель [25, 26]. Лигноцеллюлозная биомасса является сложным сырьем, которое можно обрабатывать различными способами для получения различных соединений с добавленной стоимостью, таких как молочная кислота, уксусная кислота, фурфурол, метанол, водород и многие другие продукты, которые можно получить из сахаров, содержащихся в биомассе. Но сложная химическая структура лигноцеллюлозной биомассы усложняет процесс переработки. Таким образом, современные процессы включают различные виды предварительной обработки и ферменты для высвобождения сахара для дальнейшей обработки. Разрабатывается альтернативная технология обработки, называемая объединенной биообработкой (ОБО), в которой производство целлюлазы, гидролиз и ферментация осуществляются за один этап с использованием генетически модифицированных микроорганизмов [27]. Модифицированный микроб обладает ферментами, которые гидролизуют предварительно обработанную биомассу и устраняют необходимость добавлять ферменты, тем самым снижая стоимость производства.

5.2 Роль генетической и метаболической инженерии в производстве биотоплива

Рассмотрение лигноцеллюлозы для производства недорогого биотоплива дает новые возможности для производства биотоплива. На сегодняшний день не найдено ни одного организма, способного с

высокой скоростью превращать лигноцеллюлозную биомассу в биотопливо. Чтобы преодолеть такие проблемы, микробиологи используют генетические методы, чтобы изменить пути производства целлюлозы. Это можно сделать двумя способами, во-первых, путем повышения выхода с использованием микроорганизмов, вырабатывающих целлюлазу, и во-вторых, путем переноса генов микробной целлюлазы в стандартные штаммы бактерий, используемых в промышленности (путем получения рекомбинантного штамма), чтобы обеспечить крупномасштабное производство целлюлазы. Как только целлюлоза разрушается, сахара могут сбраживаться дрожжами или другими микроорганизмами. Были идентифицированы новые штаммы, пригодные для ферментации в промышленности, например, теплолюбивые (термофильные) бактерии, которые могут очень эффективно сбраживать сахара в этанол при высоких температурах, что делает процесс более рентабельным. Традиционная микробиология была объединена с молекулярной биологией, что дало улучшенные рекомбинантные процессы для производства биотоплива. Перераспределение генов между двумя молекулами ДНК, образующими рекомбинантную ДНК, происходит естественным образом в микроорганизмах. Также возможно искусственно изменять ДНК, чтобы объединить гены из двух разных источников, даже из позвоночных до бактерий. Искусственная генная манипуляция известна как генная инженерия, а термин биотехнология обычно означает промышленное использование генетически модифицированных микроорганизмов. Конечной целью исследований рекомбинантной ферментации является экономически эффективное производство желаемого продукта путем максимизации объемной производительности, то есть получения наибольшего количества биотоплива в определенном объеме в кратчайший период времени. Такая биообработка рекомбинантных белков с использованием генетически модифицированных организмов требует (1) стабильного рекомбинантного клона с высоким выходом, (2) высокопродуктивного и оптимизированного процесса ферментации и (3) экономически эффективных процедур восстановления и очистки. К сожалению, запатентованный характер многих исследований генетически модифицированных водорослей затрудняет понимание того, какие виды и новые признаки находятся в процессе исследований и разработок. Соответствующие детали только начинают раскрываться в патентных заявках, финансирующих агентствах и опубликованных интервью с исполнительными директорами. Эти организмы были генетически модифицированы для расширения диапазона субстратов, включая целлюлозу или сахара, освобожденные от расщепления целлюлозы или гемицеллюлозы, как в случае этанологичных организмов, таких как *Escherichia coli* [28, 29], *Zymomonas mobilis* [30, 31], *Clostridium cellulolyticum*, *C. Reinhardtii* и *Saccharomyces cerevisiae* [32, 33]. Кроме того, повышение общей эффективности и выхода продукции растворимых сахаров из лигноцеллюлозной биомассы рассматривается с разных сторон, включая селективное разведение и генную инженерию более неустойчивых энергетических культур [34, 35], улучшенные технологии предварительной обработки [36] и направленную эволюцию гидролитических ферментов для повышения активности и стабильности [37, 38]. Ожидается, что наибольший прирост в повышении эффективности затрат с учетом производства топлива из биомассы может быть реализован путем объединения нескольких этапов производства в упрощенный процесс, в котором гидролитические ферменты одновременно производятся по месту с помощью сольвентогенного ферментативного микроба [39]. В отличие от производства крахмального этанола, где имеются надежные биокатализаторы (*Saccharomyces cerevisiae*), для объединенного биопроцесса (ОБП) требуется высоко модифицированный, наиболее удобный в использовании микроорганизм, который был разработан с учетом нескольких различных характеристик, специфичных для процесс. Эти желательные качества включают производство / стабильность ферментов, сбалансированный рост устойчивости к гексозам и пентозам к ингибиторам предварительной обработки, максимальный выход продукта и скорости производства, стойкость к растворителям и способность сохраняться за счет флуктуаций процесса. Встречающиеся в природе микробы обладают многими внутренними качествами (т.е. производством целлюлазы), которые могут выдвигать их в качестве кандидатов для использования в схеме объединенной обработки в промышленном масштабе, но недостатки в других необходимых фенотипах необходимо разработать или непосредственно встроить в хозяина.

5.3 Проблемы с различными видами биотоплива и области улучшения

Биотопливо второго поколения основано на использовании микроорганизмов для преобразования углеродного сырья в желаемое углеводородное топливо. Были идентифицированы микроорганизмы, способные продуцировать целый ряд топливных молекул и предшественников топлива, однако естественные скорости синтеза микробного топлива обычно слишком низки, чтобы поддерживать производство в промышленном масштабе. Биоконверсии лигноцеллюлозы путем микробной ферментации обычно предшествует стадия кислотной термохимической предварительной обработки,

предназначенная для облегчения ферментативного гидролиза целлюлозы. Вещества, образующиеся во время предварительной обработки лигноцеллюлозного сырья, ингибируют ферментативный гидролиз, а также стадии микробной ферментации. В связи с тем, что объема биотоплива, производимого по старым технологиям, меньше и недостаточно для промышленного и долгосрочного использования. Это приводит к увеличению производственных затрат, что является основной проблемой при производстве биотоплива. Новые методы и разработки необходимы для улучшения будущего биотоплива. Метаболическая инженерия является мощным инструментом для улучшения производства микробного топлива, либо путем разработки метаболических путей внутри нативного микроорганизма для стимулирования высокого синтеза топлива, либо путем передачи пути производства топлива в модельный организм для оптимизации.

5.3.1 Этанол

Этанол получают из пирувата в две стадии: пируватдекарбоксилаза превращает пируват в ацетальдегид, а спиртдегидрогеназа восстанавливает ацетальдегид до этанола. Пекарские дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*) уже давно используются в пивоваренной промышленности для производства этанола из 6-С сахаров, но этот микроорганизм не способен ферментировать 5-С сахаров. Многие микроорганизмы, включая бактерии и дрожжи, могут производить этанол в качестве основного продукта ферментации углеводов. Поскольку в настоящее время ни *S. cerevisiae*, ни *Z. Mobilis*, используемые для промышленной ферментации этанола, не могут использовать ксилозу или арабинозу, то микроорганизмы, за исключением *S. cerevisiae*, вышли на передний план в производстве биоэтанола из лигноцеллюлозной биомассы. Действительно, многие микроорганизмы могут эффективно использовать пентозные сахара, но не могут естественным образом производить этанол для получения достаточного выхода и продуктивности. Синтетическая биология и метаболическая инженерия широко использовали *S. cerevisiae*, *Zymomonas mobilis* и *Escherichia coli* для усиления ферментации этанола [40–44]. Микроорганизмы, которые используют пентозы, такие как бактерии *E. coli* и *Klebsiella oxytoca* и дрожжи *Pichia stipitis*, были успешно модифицированы для производства этанола [45]. Кроме того, были экспрессированы пентозные катаболические пути этанологичных микроорганизмов, таких как обычные дрожжи *S. cerevisiae* [46–48] или этанологической бактерии *Z. mobilis*. Этот путь обычно используется у дрожжевых хозяев или у грамтрицательных гамма-протеобактерий, *Z. mobilis* или рекомбинантной *E.coli* [49]. Дистилляция представляет собой более высокий процент от стоимости производства для этанола из кукурузы, чем из целлюлозы, потому что предварительная обработка исходного сырья и производство целлюлазы по прежнему преобладают над прогнозируемыми затратами на целлюлозный этанол.

5.3.2 Бутанол

В последнее время возрос интерес к превращению сахаров из лигноцеллюлозной биомассы в бутанол. Благодаря своим физическим свойствам, четырехуглеродный спирт является лучшей заменой бензина, чем этанол [50].

Другие химические вещества в семействе спиртов включают метанол (1-углерод), этанол (2-углерод) и пропанол (3-углерод). N-бутанол является продуктом ферментации *Clostridium acetobutylicum* и *Clostridium bjerinkii* [51]. Его получают из ацетил-Со А путем димеризации двух ацетил-СоА в ацетоацетил-СоА. Последующие ферменты катализируют четырехэлектронное восстановление и дегидратация ацетил-СоА до масляной кислоты. С кlostридией, ацетон часто вырабатывается одновременно с бутанолом путем декарбоксилирования ацетоацетил-СоА. Общий путь от глюкозы к бутанолу в принципе окислительно-восстановительный баланс. Однако в некоторых организмах, в том числе *C. acetobutylicum* и *E.coli*, водород вырабатывается с помощью формият-водород-лиазы [52] и представляет собой конкурирующий выход для восстановления эквивалентов. В принципе, активность гидрогеназы или альтернативных формиятдегидрогеназ [53] может восстанавливать эти восстановительные эквиваленты. В течение первой половины 20-го века производство бутанола из биологических источников было коммерческой реальностью. Как упоминалось выше, различные ферменты кlostридий использовались в процессе ферментации бутанола, хотя эти грамположительные анаэробы образуют бутанол с небольшим количеством побочных продуктов, таких как масляная кислота, ацетон, этанол, что снижает его выход [54]. С точки зрения биотехнологии, отсутствие эффективных генетических инструментов для модификации кlostридией препятствует усилиям метаболической инженерии по оптимизации синтеза бутанола и уменьшению образования побочных продуктов. В связи с этим *E. coli* [55–58, 47, 48] и *S. cerevisiae* [59]

были недавно разработаны для синтеза бутанола из сахаров. Клостридиальный путь был функционально экспрессирован у рекомбинантных хозяев *E. coli*, хотя продуктивность была ниже, чем наблюдаемая для клостридий [60]. Тем не менее, продолжаются усилия по созданию улучшенного штамма, который будет более продуктивным.

5.3.3 Высшие липиды

Длинноцепочечные жирные кислоты, метиловые эфиры [61] карбоксилированные производные [62] являются привлекательными в качестве возобновляемых заменителей дизеля. Производство липидов водорослями способно обойти существующие ограничения по биодизельному сырью [63, 64].

В последнее время появился интерес к производству биотоплива с помощью липогенных (или маслянистых) дрожжей и других микроорганизмов [65]. Эта технология позволит микробиологическую конверсию целлюлозных материалов в липиды. Альтернативная стратегия метаболической инженерии заключается в выработке секретируемых липидных продуктов. Многие детали секреции жирных кислот даже в модельных организмах, таких как *E. coli* и *S. cerevisiae*, недостаточно изучены [66].

5.3.4 Терпеноиды

Изопреноиды представляют собой широкий класс метаболитов, синтезируемых из изопренилпирофосфата (ИППФ), пирофосфатного эфира 3-метил-бут-3-ен-1-ола или его изомера диметиаллилпирофосфата (ИДПФ), пирофосфатного эфира 3-метилбут-2-ен-1-ола. Эти молекулы синтезируются либо из глицеральдегид-3-фосфата и пирувата посредством метилэритритного пути, либо из ацетил-СоА посредством эвалонатного пути. Штаммы и процессы, способные превращать сахара в терпеноиды с выходами, сходными с процессом этанола, еще не были описаны в научной литературе. Было проведено много экспериментов, и в одном из них было показано, что репрезентативного титра для этих сесквитерпеновых углеводородных аморфидиенов составляет около 0,5 г/л [67]. Производство терпеноидов обычно исследовали только в аэробных условиях, но для крупномасштабного производства с высоким выходом желательны анаэробные процессы. Устранение потребности в кислороде для перепроизводства терпеноидов является одной из ключевых задач метаболической инженерии для биотопливных применений этого пути.

5.4 Общий процесс метаболической инженерии

Метаболические инженерные подходы адаптированы для решения проблем оптимизации клеточных путей, которые в настоящее время ограничивают создание интегрированного, эффективного и желаемого продукта. Хотя за последние 20 лет действительно был достигнут значительный прогресс в преобразовании лигноцеллюлозной биомассы дрожжами, подход заключается в определении и оптимизации ограничивающих этапов. В будущем больший акцент будет сделан на геноме хозяина и регулирующей структуре, чтобы понять полное влияние биологической сложности на путь. Процесс показан на рис. 5.1.

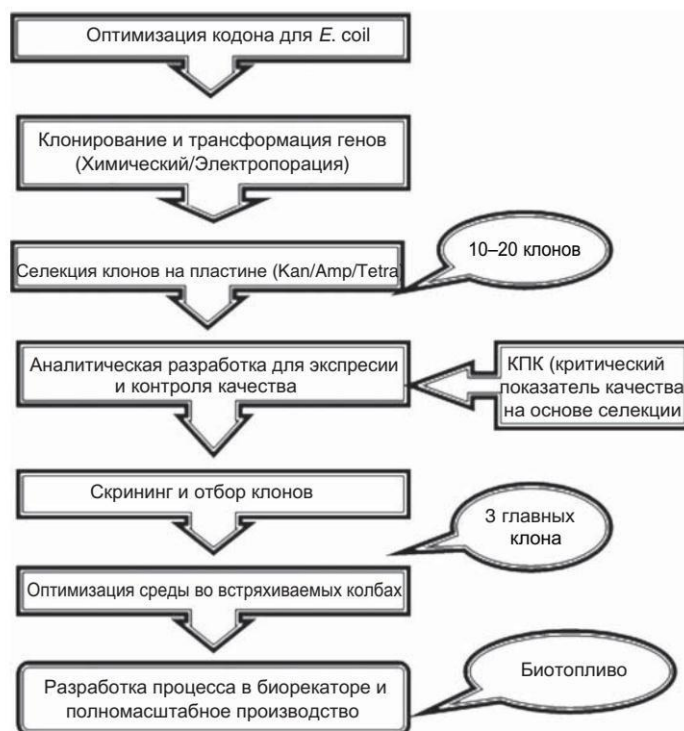


Рисунок 5.1 Этапы производства рекомбинантного продукта.

5.4.1 Выбор организма хозяина

Выбор подходящего организма-хозяина играет ключевую роль в производительности и выходе процесса производства биотоплива. Так как механизмы, связанные с производством топлива, являются специфическими для хозяина, то поиск микроорганизма с желаемыми свойствами является необходимым условием для метаболической инженерии. Как правило, микроорганизмы выбирают на основе ряда свойств и могут включать в себя возможность промышленного применения, естественную способность производить интересующее топливо, устойчивость к топливам, способность расти на уникальном сырье и способность генетически модифицировать их. Характерным примером является выбор дрожжей и кишечной палочки для их проверенного промышленного производства и легкости в проведении генетических манипуляций, а для водорослей - из-за их способности естественным образом интенсивно накапливать жирные кислоты и использовать солнечный свет в качестве «исходного сырья». Примеры промышленно значимых микроорганизмов благодаря усилиям различных компаний включают водоросли: Solazyme, Solix, Joule, Sapphire, дрожжи: Cargill, Gevo, Amyris, бактерии - LS9. Ниже перечислены наиболее часто используемые микроорганизмы для производства биотоплива. Различные микроорганизмы, такие как бактерии, водоросли и дрожжи, выбираются в зависимости от различных путей производства углеводородов, которые они используют для производства биотоплива.

5.4.1.1 Кишечная палочка (*E.Coli*) и дрожжи

Хотя для производства жирных кислот могут использоваться многочисленные штаммы-хозяева, целесообразно использовать существующую метаболическую способность у генетически отслеживаемого хозяина, такого как *Escherichia Coli* (*E.Coli*), для достижения максимальной продуктивности (г/л/ч), титр (г/л) и выход (g субстрата / g -топливный продукт) [68]. Из-за податливости микроорганизмов-хозяев, таких как *E.Coli*, можно использовать различные технологии геномной и метаболической инженерии, чтобы быстро модифицировать метаболические пути для увеличения производства жирных кислот и, в конечном итоге, достигнуть промышленно значимых показателей производства, которые приближаются к ценовому паритету с нефтяным топливом. Среди бактерий *E.coli* является хорошо изученным организмом и используется для производства ценных химикатов и биотоплива. Хотя ее можно генетически изменить для производства широкого спектра топлив, таких как этанол, изопропанол, водород и биодизель [69], она доказала свою способность наращивать производство только в случае производства 1,3-пропандиола [70]. Хотя естественный

уровень липидов в клетке *E.coli*, является низким, он играет очень важную роль в его быстрой скорости роста, способности расти в анаэробной среде, эффективном использовании различных биомасс в качестве сырья для производства биотоплива, и с высокой скоростью синтеза жирных кислот (0,2 г/л/ч/г массы сухих клеток) [71, 72]. Как описано ранее, гетеротрофные бактерии (*E. coli*) могут ферментировать глюкозу и другие сахара, полученные из лигноцеллюлозы, в качестве энергетической субстраты для производства различных видов топлива. Однако непокорная природа целлюлозной биомассы требует отделения полисахаридов от лигнина и последующей деполимеризации полисахаридов ферментом [73]. С другой стороны, природные этанологичные организмы, такие как *Saccharomyces cerevisiae* и *Zymomonas mobilis*, обладают способностью вырабатывать этанол из сахаров и приводить к теоретическому максимальному выходу 98% [74]. Однако этим организмам не хватает способности сбраживать сложные сахара, такие как пентозы. Чтобы преодолеть эту проблему, научные исследования были направлены на введение путей метаболизма пентозы в *S. cerevisiae* и *Z. mobilis* или на модификацию микроорганизмов для секреции целлюлаз и гемицеллюлаз для деполимеризации сложных сахаров в простые сахара и их последующего преобразования в топлива [75].

5.4.1.2 Организмы, использующие свет: Фотобактерии

Использование фотосинтезирующих организмов предлагает альтернативный подход к производству топливных соединений, при котором они улавливают световую энергию и впоследствии преобразуют ее в высокоэнергетические органические соединения, используя воду в качестве конечного донора. Многие фотосинтезирующие организмы, такие как водоросли и бактерии, использовались для производства ценных метаболитов, включая топливо, химикаты и органические кислоты. Сообщается, что использование фотосинтетических бактерий для производства топлива и химикатов может преодолеть энергоемкое и дорогостоящее извлечение биомассы [76, 77]. Среди фотосинтезирующих бактерий *Cyanobacterium* обладает уникальными преимуществами по следующим причинам: их фотосинтетическая способность, быстрый рост, эффективное преобразование солнечной энергии, поддающиеся эффективной генетической модификации, устойчивость к высокому содержанию CO₂ и способность развиваться в неблагоприятных условиях [78].

5.4.2 Оптимизация, трансформация и отбор кодонов

5.4.2.1 Оптимизация кодона

Оптимизация кодонов - метод обеспечения максимальной экспрессии белка в живом организме за счет повышения эффективности трансляции интересующих генов путем

преобразования последовательностей ДНК нуклеотидов одного вида в другой вид. Когда мРНК гетерологичных генов-мишеней сверхэкспрессируется в *E.Coli*, различия в использовании кодонов могут затруднять трансляцию из-за потребности в одной или нескольких тРНК, которые могут быть редкими или отсутствующими в популяции. Недостаточные группы тРНК могут привести к блокированию трансляции, преждевременному прекращению трансляции, смещению каркаса и ошибочной интеграции аминокислот. Экспрессия гетерологичного белка очень низкая, когда ген кодирует кластеры многочисленных редких кодонов *E. Coli*. Наиболее серьезные эффекты на экспрессию наблюдались, когда несколько последовательных редких кодонов находятся рядом с N-концом кодирующей последовательности. Чтобы преодолеть эти проблемы, необходима оптимизация кодонов. Оптимизацию кодонов можно использовать для получения синтетической версии чужеродного гена для более эффективной экспрессии. Предпочтения кодонов отражают естественный отбор в организмах для трансляционной оптимизации.

5.4.2.2 Трансформация

Трансформация - поглощение чужеродной ДНК клетками-хозяевами. Плазида может реплицировать свою ДНК, используя бактерию (*Escherichia Coli*) в качестве организма-хозяина.

«Трансформация» может также использоваться для описания внедрения нового генетического материала. Плазмиды - маленькие кольцевые молекулы ДНК, обнаруженные в бактериях. Они независимо реплицируют бактериальную хромосому и, в зависимости от плазмиды, могут быть от 1 до 100 копий на клетку. Если данная плазида, используемая для клонирования, присутствует в сотнях копий, то выделив плазмиду можно выделить большое количество клонированной ДНК из небольшого числа клеток. Для того чтобы кишечная палочка могла усвоить ДНК, они должны быть

компетентными. В основном два метода используются для создания компетентных клеток: 1) Электропорация, 2) Хлорид кальция.

5.4.2.3 Отбор

Создание эффективных клеточных линий по производству биотоплива для производства с высоким выходом является

очень важным шагом. Это требует генерации ряда подходящих конструкций, превращения их в клетки-хозяева и отбора подходящих клонов. Эти клоны должны происходить из одной клетки, экспрессировать целевой белок в нужном качестве и количестве и быстро расти в простой среде. Наиболее критическим и переменным этапом процесса является выбор оптимальных клонов из группы случайно сгенерированных клеточных линий. Автоматизацию можно применить для посева с ограниченным разведением, репликации планшета, оценки происхождения клона отдельных клеток, отбора клонов (на основе устойчивости к антибиотикам), скрининга экспрессии с использованием ЭЛИЗА, квантования белка и ряда методов определения характеристик белка.

5.4.3 Процедура ферментации

Процесс ферментации в основном состоит из трех параметров: микроорганизмов, ферментационных сред и ферментации.

Выбранный микроорганизм, выбранный для производства желаемого продукта, также должен обладать следующими свойствами: i) не должен быть патогенным (за исключением случаев, когда он используется для производства вакцины / токсина) и не должен вызывать аллергическую реакцию. ii) не должен терять желаемое свойство во время субкультивирования. iii) должен быть генетически устойчивым. iv) при возможности должен быть подвержен мутации, как и при желании. Комплекс лигнин-гемицеллюлоза-пектин образует один из самых жестких уплотнений вокруг целлюлозы. Первый шаг во всем процессе лигноцеллюлозной ферментации разрушает этот барьер (предварительная обработка). В общем процессе это самый важный и ограничивающий скорость шаг. Дальнейшие этапы включают выделение и гидролиз целлюлозы и гемицеллюлозы с образованием сбраживаемых сахаров (сахаризация) с последующим брожением и перегонкой. Процессы предварительной обработки включают использование кислот, щелочей и/или органических растворителей. Цель этого процесса - отделить лигнин, целлюлозу, гемицеллюлозу и пектин от лигноцеллюлозной биомассы. После предварительной обработки рекальцитрантная лигноцеллюлозная биомасса становится чувствительной к кислотному и/или ферментативному гидролизу, поскольку целлюлозные микрофибриллы подвергаются воздействию и/или становятся доступными для гидролизующих агентов. В процессе предварительной обработки небольшие количества целлюлозы и большая часть гемицеллюлозы гидролизуются до сахарных мономеров, в основном D-ксилозу и D-арабинозу. Предварительно обработанную биомассу затем подвергают фильтрации для разделения жидкостей (гидролизат гемицеллюлозы) и твердого вещества (лигнин + целлюлоза). Жидкость направляется в ксилозную (пентозную) ферментационную колонну для производства этанола. Твердые вещества подвергаются гидролизу (также называемому второй стадией гидролиза). Этот процесс в основном осуществляется ферментативными методами с использованием целлюлаз. Мягкий кислотный гидролиз с использованием серной и соляной кислот является альтернативной процедурой. Гидролизированные сахара, такие как D-глюкоза, D-галактоза и D-манноза, могут быть легко сбражены до этанола с использованием различных штаммов *Saccharomyces cerevisiae*. Пентозы (D-ксилоза и D-арабиноза) после гидролиза гемицеллюлозы нелегко используются штаммами *saccharomyces*, поэтому для их ферментации используют генетически модифицированные штаммы *Pichia stipitis*, *Zymomonas mobilis*. *Candida shehatae* способна совместно ферментировать как пентозы, так и гексозы в этанол и другие продукты с добавленной стоимостью с получением высоких выходов.

5.4.4 Ферментационная среда

Питательная среда, в которой микробы растут и размножаются, называется бродильной средой. У выбранного микроорганизма должна быть способность использовать и расти на дешевых источниках углерода и азота. Следует избегать использования таких микробов, которые требуют для своего роста дорогих питательных веществ, таких как витамины. В оптимальном процессе ферментации используется жидкая среда, содержащая *saccharomyces cerevisiae* с добавлением 22% (мас./об.) сахара, 1% (мас./об.) каждого из сульфатов аммония и дигидрофосфатов калия соответственно и

ферментируется при pH 5,0 и 30°C. [79]. В таких условиях типичный штамм *S. cerevisiae* способен продуцировать 46,3 г этанола/л жидкой среды [80]. Доказано, что тростниковая патока, обработанная ЭДТА, ферроцианидом или цеолитами и ферментированная в аналогичных условиях, увеличивает выход этанола [81]. Кроме того, было показано, что добавление минимальных концентраций кислот хмеля в сбраживаемую жидкую среду предотвращает рост бактерий и, таким образом, увеличивает выход этанола [82]. Также было показано, что ферментация с использованием иммобилизованных дрожжей и жидкой среды с добавлением пантотената Mg, Zn, Cu или кальция также повышает эффективность ферментации почти на 20% [83].

5.4.5 Процесс ферментации

В общем, процесс ферментации делится на две части, а именно: процесс подготовки сырья (ППС) и последующая обработка (ПО), как показано на рис. 5.3. ППС в основном для: а) приготовлении посевной культуры (то есть подготовке затравки), б) приготовлении ферментационной среды и ее стерилизации и в) процесс ферментации для оптимального производства метаболита. Процесс ПО связан с восстановлением, концентрацией и очисткой продукта, и удалением биологических отходов, образующихся в процессе ферментации.

Во время процесса ферментации, как гидролиз целлюлозы, так и ферментация глюкозы, осуществляются в течение одного этапа в присутствии ферментирующих микроорганизмов, и процесс оптимально работает при температуре от 37 до 38° С. Этот метод сокращает количество этапов процесса и является перспективным способом превращения целлюлозы в этанол [84, 85]. В процессе ферментации лигноцеллюлозную биомассу сначала предварительно обрабатывают разбавленной кислотой (1,1% серной кислоты при 160° С в течение 10 мин) для расщепления комплекса лигнина и гемицеллюлозы и пектина. Полученную жидкую среду фильтруют для слива жидкости из системы. Сливаемая жидкость, содержащая пентозные сахара, нейтрализуется известью и обрабатывается в процессе ферментации ксилозы. Оставшиеся твердые вещества, содержащие целлюлозу и лигнин, затем гидролизуются и ферментируются одновременно с использованием ферментов целлюлазы и дрожжей. Ферменты целлюлазы гидролизуют целлюлозу до D-глюкозы, которая в свою очередь ферментируется дрожжами в этанол [86]. Этот комбинированный процесс улучшает как кинетику ферментации, так и экономичность переработки биомассы за счет уменьшения накопления продукта гидролиза (глюкозы), который ингибирует целлюлазы. Недостатки использования этого процесса включают в себя (i) рабочая температура должна быть около 37-38° С и (ii) большая часть сахара, выделяющегося при гидролизе целлюлозы, используется для роста дрожжей, необходимых для эффективного производства этанола.

5.5 Метаболическая инженерия в разных микроорганизмах

Считается, что производство биотоплива непосредственно из целлюлозы, известное как объединенная биообработка, значительно снижает затраты по сравнению со способом, в котором расщепление целлюлозы и ферментация в топливо осуществляются в отдельных этапах. Хотя эти микроорганизмы способны эффективно гидролизовать целлюлозу, их биотопливная продуктивность значительно ниже, чем у существующих промышленных штаммов. В дополнение к повышению производства биотоплива [87], исследователи также направляют усилия на увеличение выхода этанола [88], устранение конкурирующих путей [89] и повышение устойчивости к этанолу [90].

Синтетическая биология позволила исследователям биосинтезировать эти топлива со свойствами, превосходящими этанол и бутанол, что приводит к более высокой плотности энергии, теплотворной способности и совместимости с существующей транспортной инфраструктурой, включая использование в двигателях внутреннего сгорания, компрессии и реактивных двигателях, а также возможность их транспортировки в существующей инфраструктуре трубопроводной сети. Существует ограниченное число метаболических путей, которые в настоящее время коммерциализируются, которые производят углеводороды, соответствующие химическому составу топлива, и включают производные аминокислотного пути для производства изобутанола (Гево), мевалонатного пути для получения фарнезена (амириса), поликетидового пути для производства различных видов топлива (Lygos) и путь жирных кислот для производства биодизеля (Solazyme, Solix, Joule, Sapphire и LS9).

Все эти пути естественным образом существуют во многих различных микроорганизмах и могут быть генетически изменены или перенесены в «незараженного» хозяина, чтобы увеличить способность организма к биосинтезу конкретного топливного продукта. В дополнение к различным путям производства углеводородов существуют различные микроорганизмы, используемые для

производства топлива, такие как, бактерии, водоросли и дрожжи.

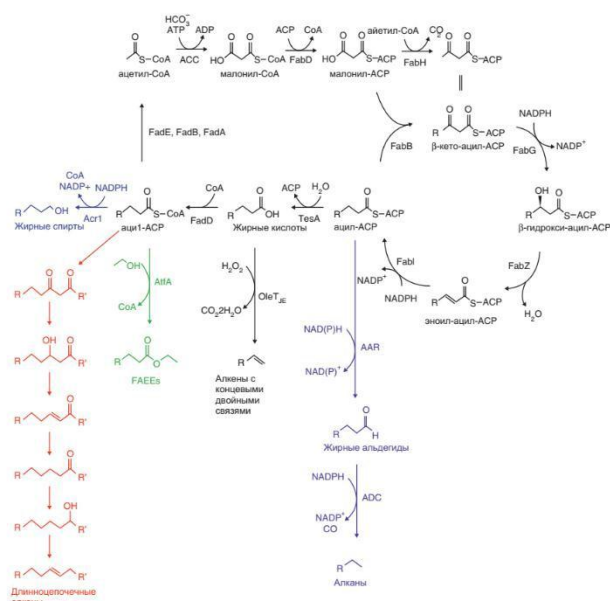
5.5.1 Кишечная палочка (E. Coli)

Как правило, микроорганизмы выбираются на основе ряда свойств и могут включать в себя возможность промышленного применения, естественную способность производить интересующее топливо, устойчивость к топливу, способность расти на уникальном сырье и способность их генетически модифицировать. Характерные примеры включают выбор дрожжей и кишечной палочки в силу их доказанной возможности промышленного применения и легкости генетических манипуляций. Здесь уделим внимание пути жирных кислот для биосинтеза углеводородного топлива. Во-первых, приводится общий обзор путей биосинтеза углеводов, обсуждается биохимия пути жирных кислот и усилия по созданию пути.

5.5.1.1 Биосинтез жирных кислот для производства биотоплива

Путь биосинтеза жирных кислот дает ряд энергетически богатых молекул, подходящих для использования в качестве биотоплива, и были проведены обширные исследования для использования этого конкретного пути, также рассмотренного в других документах. Биосинтез жирных кислот обычно используется организмами для создания своих клеточных мембран и в микроорганизмах, таких как E.coli, который катализируется ферментной системой, состоящей из отдельных белков, которые играют важную роль в росте и полном восстановлении линейной углеводородной цепочки. Исследователи успешно показали, что кишечная палочка может быть метаболически модифицирована для производства изобутанола с помощью манипулирования пути биосинтеза аминокислот кишечной палочки, изменив 2-кетокислотных посредника в целях производства биотоплива. Используя ту же стратегию метаболического инжиниринга, мы смогли достичь титра изобутанола 660 мг/л с помощью целлюлолитического мезофила C. cellulolyticum путем экспрессии kivd yqhD alsS ilvCD. Насколько нам известно, это первая демонстрация производства изобутанола непосредственно из целлюлозы. У бактерий биосинтез жирных кислот ацетил-CoA-карбоксилаза (ACC) является ферментом, ответственным за первый совершенный этап, катализирующий синтез малонил-CoA из ацетил-CoA и диоксида углерода. Малонил-CoA затем переацилируется в жирный ацильный белок-носитель (ацил-ACP) с помощью малонил-CoA: ACP-трансацилазы. Затем ацетил-ACP и малонил-ACP конденсируют, получая ацетоацетил-ACP в присутствии β -кетонацил-ACP-синтазы с сопутствующим высвобождением диоксида углерода. Затем β -кетонацильный субстрат подвергается циклу восстановления и дегидратации, что приводит к образованию четырехуглеродного жирного ацил-ACP (бутирил-ACP). Этот цикл продолжается двумя углеродными добавками в цепь жирной кислоты путем конденсации малонил-ACP, и приводит к конечному продукту с 14-18 углеродными жирными ацил-ACP (рис. 5.2).

Рисунок 5.2 Пути производства биотоплива из жирных кислот.



Нативный путь жирных кислот кишечной палочки окрашен в черный цвет. Предложенный путь биосинтеза длинноцепочечных алкенов окрашен в красный цвет. Модифицированные пути для производства других производных имеют разные цвета [92].

Путь жирных кислот в *E. Coli* тесно связан с биосинтезом фосфолипидов, и конечный продукт этого пути переносится в производные глицерина с помощью глицерол-3-фосфатацилтрансферазы для создания клеточной мембраны [91, 92]. Биосинтез жирных кислот энергетически дорог в силу свойств клетки и поэтому жестко регулируется. Транскрипционная и трансляционная регуляция уравнивает присутствие ферментов пути, в то время как регуляция потока предотвращает дальнейший ненужный биосинтез жирных кислот в условиях ограничения питательных веществ.

5.5.2 Дрожжи

Дрожжи – первый микроорганизм, который использовали для производства биотоплива. Несмотря на то, что многие организмы способны нативно преобразовывать эти сахара, наиболее часто выделяемым организмом являются пекарские дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*). Генетическая податливость, широкое промышленное использование и способность эндогенного производства этанола у дрожжей мотивируют его использование [93], однако пекарские дрожжи должны быть модифицированы для преобразования ксилозы и арабинозы. Традиционные подходы модифицирования путей позволили катаболизм ксилозы и арабинозы у дрожжей, но дальнейшая оптимизация этих штаммов требует новых инструментов и стратегий метаболической инженерии. В частности, новые подходы должны быть нацелены и использовать дополнительные клеточные механизмы, влияющие на метаболические пути, такие как молекулярный перенос, чувствительность к катаболиту и клеточная устойчивость. Чтобы эффективно получить оптимизированный штамм, необходимо расширить инструменты метаболической инженерии, чтобы модифицировать несколько взаимозависимых этапов – подход, который мы называем «панметаболическая инженерия». Методы метаболической инженерии также должны быть расширены, чтобы учесть недавние прорывы в изменении чувствительности к катаболиту и в повышении клеточной устойчивости, чтобы значительно повлиять на организмы, вырабатывающие биотопливо. После модификации, эти инструменты позволят добавлять другие субстраты в «портфолио» источника углерода для дрожжей. Интересно, что геном *S. cerevisiae* кодируется предполагаемым метаболическим путем ксилозы, хотя уровни экспрессии этих генов часто слишком низки, чтобы позволить рост ксилозе как единственному источнику углерода [94–96]. Недавняя работа дает основания полагать, что некоторые штаммы *Saccharomyces* могут иметь латентный путь оксидоредуктазы с активным путем ксилитдегидрогеназы [97] (рис. 5.3). Несмотря на это, у дрожжей отсутствуют эффективные пути применения ксилозы и арабинозы, и поэтому они требуют гетерологичной комплементации или значительной генетической модификации.

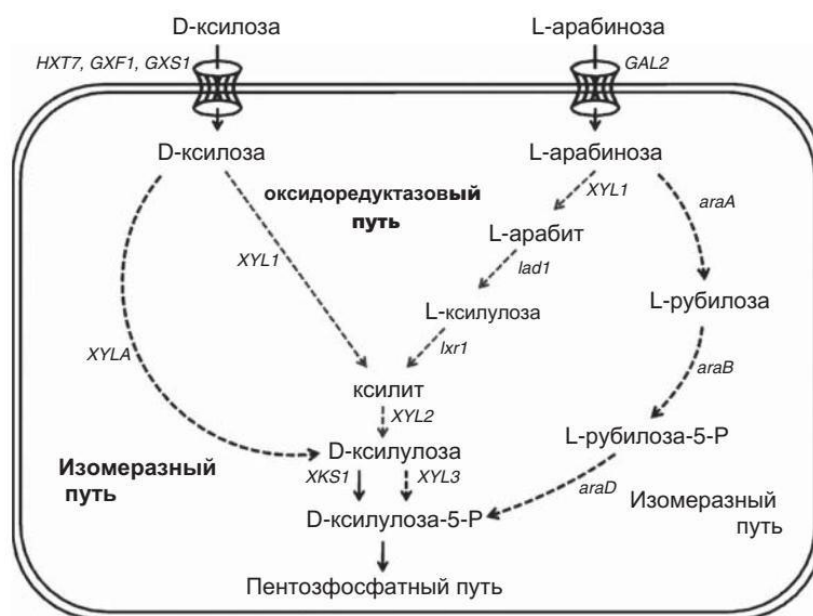


Рисунок. 5.3 Успешный экзогенный перенос и метаболические пути введены в *S. cerevisiae*. Информация об улучшении применения пентозы в дрожжах (как описано в тексте) показаны на этой схеме. (А) путь бактериальной ксилоизомеразы; (В) грибной путь ксилозооксидоредуктазы; (С) грибной путь оксидоредуктазы арабинозы; (D) Бактериальный путь изомеразы арабинозы. Гены, используемые для осуществления ферментативного этапа, выделены курсивом. Гетерологичные этапы обозначены пунктирными линиями [106].

Появление технологии рекомбинантных ДНК позволило перенести гены из нативных организмов, катаболизирующих пентозу в пекарские дрожжи, способствуя тем самым новому катаболизму пентозы [98–101]. Два типа пентозных путей были сконструированы в дрожжах: оксидоредуктазный и изомеразный. Как ксилоза, так и арабиноза могут быть метаболизированы посредством каждого из этих путей, хотя ассимиляция арабинозы включает дополнительные этапы в обоих случаях [102]. Все четыре возможных варианта пути были сконструированы ранее [102–105], и все они участвуют в метаболизме нативных дрожжей посредством D-ксилулозы или D-ксилулозо-5-фосфата (P). После преобразования в ксилулозу 5-P, эти сахара подвергаются дальнейшему метаболизму через нативный пентозофосфатный путь (ПФП). В следующих разделах дается краткий обзор этих путей. В сочетании с молекулярной переносной инженерией они составляют основу панметаболической инженерии, более подробно описанной ниже.

5.5.3 *Clostridium Cellulolyticum*

В данном разделе описана метаболическая инженерия штамма *Clostridium cellulolyticum* для синтеза изобутанола. Эта стратегия основана на использовании естественной целлюлолитической активности хозяина и пути биосинтеза аминокислот и направляет его промежуточные 2-кетокислоты на синтез спирта [107]. Большинство исследований, использующих нативную целлюлолитическую стратегию, было проведено с термофильным, целлюлолитическим *Clostridium thermocellum*. Этот штамм особенно привлекателен, потому что он способен развиваться при высокотемпературной ферментации, которая способствует высокому уровню конверсии субстрата, низкому риску загрязнения и высокому уровню выхода продукта [108]. Хотя *C. thermocellum* потенциально может быть организмом ОБО, такие проблемы, как низкая эффективность трансформации [109] и отсутствие публикаций, демонстрирующих успешную избыточную экспрессию чужеродных белков в *C. thermocellum*, значительно затрудняют технологический прогресс этого организма для получения синтетических биотопливо, такое как изобутанол.

Один из способов производства биотоплива - это сначала установить и оптимизировать желаемые пути метаболизма в тесно связанном, более податливом организме. После того, определения специфических особенностей, таких как определение того, какие гены избыточно экспрессировать, мутировать и/или удалять, ту же стратегию можно адаптировать для *C. thermocellum*. *Clostridium cellulolyticum*, который был первоначально выделен из разложившейся травы [110], является полезным кандидатом для этой первоначальной работы по метаболической инженерии, так как он также является членом группы *Clostridium* III, на основе филогенетического анализа 16S рРНК [111]. Другим преимуществом является его мезофильный характер, который связан с гетерологичной экспрессией белков в термофилах, которые их окружают. Кроме того, *C. cellulolyticum* имеет секвенированный геном (ГенБанк, инвентар. NC_011898.1) и для него существуют хорошо отработанные методы переноса ДНК [112] и методы сверхэкспрессии генов [113]. Будучи сам по себе потенциальным организмом ОБО, *C. cellulolyticum* может не только использовать целлюлозу, аналогичную *C. thermocellum*, но также может использовать дополнительные сахара, выделяющиеся при расщеплении гемицеллюлозы, включая ксилозу, арабинозу, фруктозу, галактозу, маннозу и рибозу. [114]. Ранее *C. cellulolyticum* был генетически модифицирован для улучшения производства этанола [113]. Аналогичным образом, большинство исследований, касающихся создания организма ОБО, было сосредоточено на производстве этанола.

Несмотря на это, утверждалось, что высшие спирты (то есть спирты с более чем двумя атомами углерода), такие как изобутанол, являются лучшими кандидатами для замены бензина, поскольку они имеют плотность энергии, октановое число и давление паров Рейда, которые являются более схожими со свойствами бензина [115]. В отличие от этанола, изобутанол также может смешиваться в любом соотношении с бензином или, без модификации, использоваться непосредственно в современных двигателях [116]. *C. cellulolyticum*, с точки зрения метаболизма, модифицирован для производства изобутанола. Экспрессируя ферменты, которые управляют преобразованием пирувата в изобутанол с использованием модифицированного пути валинового биосинтеза, мы смогли получить до 660 мг/л изобутанола с использованием *C. cellulolyticum*, растущего на кристаллической целлюлозе. В частности, мы подтвердили первое производство изобутанола примерно до 660 мг/л из кристаллической целлюлозы с использованием этого микроорганизма [117]. Чтобы получить продукцию изобутанола непосредственно из пирувата, гены, кодирующие ацетолактатсинтазу из *B.subtilis*, ацетогидроксикислотную изомероредуктазу, дегидратазу дигидроксикислоты из *E.coli* и кетокислотную декарбоксилазу, дегидрогеназы спирта из *Lactococcus lactis*, были клонированы (см. Рис. 5.4) в производную плазмиды

pAT187 [118]. Эти специфические гены были выбраны потому, что они были теми же генами, которые использовались для производства изобутанола в *E. coli* [119] и *Synechococcus elongatus* [120]. Различные комбинации генов были клонированы в виде единого синтетического оперона, управляемого константным ферредоксиновым (Fd) ускорителем из *Clostridium pasteurianum*. Активность первых трех ферментов в пути изобутанола была исследована путем трансформации плазмиды, экспрессирующей *alsS* или *alsS ilvCD* в *C. cellulolyticum*. В то время как *C. cellulolyticum* был успешно трансформирован с помощью пустого вектора, но трансформанты *C. cellulolyticum alsS* или *alsS ilvCD* не были получены. Такие же результаты наблюдались после многократных преобразований. В связи с тем, что не могли быть получены трансформанты *alsS* и *alsS ilvCD*, был изучен полный путь изобутанола. *C. cellulolyticum* трансформировали плазмидой, экспрессирующей *alsS ilvCD kivd adhA*. При том, что трансформация получилась, подтверждение последовательности плазмиды показало, что одиночная вставка аденина, которая не обнаружена в немутантном типе последовательности *alsS*, была обнаружена при б.т. 54 после начала процесса ATG. Эта одиночная вставка, сдвигая рамку считывания, приводит к появлению нижестоящего преждевременного стоп-кодона (TGA) и, следовательно, усеченного белка из 37 аминокислот. Было обнаружено, что эта спонтанная мутация в *alsS* (* *alsS*) произошла от штамма *E. coli*, используемого для клонирования. Мутация сдвига рамки в последовательности *alsS* вызвала серьезную обеспокоенность из-за влияния, которое она могла оказать на активность *AlsS*. Таким образом, для определения активности *AlsS* и других ферментов, экспрессируемых из синтетического оперона, были проведены ферментативные анализы на лизатах штамма *C. cellulolyticum*, экспрессирующего * *alsS ilvCD kivd adhA*.

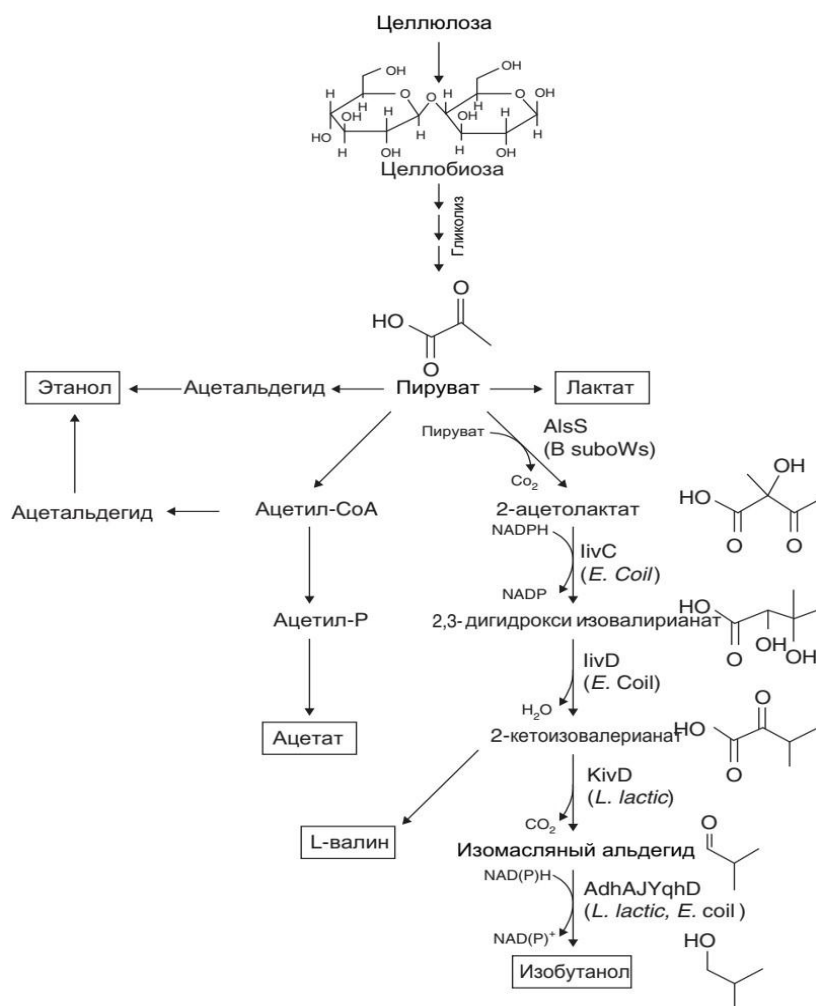


Рисунок 5.4 Путь для производства изобутанола в *C. cellulolyticum* [117].

Неожиданно для анализа *AlsS* было обнаружено, что лизаты * *alsS ilvCD kivd adhA* демонстрируют активность 282 нмоль / мин мг, что было значительно выше, чем 11 нмоль / мин мг, продемонстрированный штаммом, трансформированным вектором.

5.6 Заключение

Биомасса лигноцеллюлозы обладает значительным потенциалом в качестве экологически устойчивой альтернативы для производства биотоплива в будущем. Поскольку биотопливо экологически чистое и возобновляемое, оно может вытеснить бензин, дизельное топливо и авиатопливо в расчете галлон за галлон, напрямую попадая в современные двигатели и инфраструктуры. В современную эпоху технологий различные этапы в развитии науки, такие как геномная, транскриптомная и метаболомическая техника, несомненно, занимают нишу и дают более глубокую информацию о производстве биотоплива из различных микроорганизмов. Они могут эффективно превращать лигноцеллюлозную биомассу в биотопливо, и исследование естественного биоразнообразия является многообещающей стратегией для выявления и улучшения новых видов микроорганизмов. Тем не менее, некоторые проблемы все еще существуют в аспектах производства, сбора и переработки лигноцеллюлозы, и они должны быть решены для достижения рентабельности. Чтобы преодолеть эти проблемы, различные многочисленные рекомбинатные инженерные инструменты будут поддерживать характеристику новых мутантов и новых метаболических путей для производства желаемых сортов топлива, таким образом способствуя процессу оптимизации штамма. Усовершенствование метаболических моделей обеспечит лучшее описание физиологического поведения клеток и более быструю идентификацию целей для генетических модификаций и дальнейшей метаболической инженерии. Таким образом, все готово к изменению системы в сторону панметаболической инженерии, которая должна включать новые, глобальные и клеточные инженерные инструменты.

5.6.1 Области исследований по улучшению производства биотоплива

В настоящее время микробиологи работают в рядах областей, чтобы сделать производство биотоплива более эффективным. Это включает:

- Увеличение производства микробной целлюлазы, которая расщепит целлюлозу до сбраживаемых сахаров
- Разработка дрожжей, способных выдерживать высокие концентрации алкоголя для увеличения производства биоэтанола.
- Генетическая модификация микроорганизмов для более эффективного сбраживания сахаров с целью увеличения выхода биоэтанола.
- Оптимизация микробных штаммов, которые будут превращать сахара в биобутанол в качестве альтернативы биоэтанола.
- Поиск водорослей с высоким выходом масел или иным образом хорошо приспособленные для производства биодизеля.

Использованная литература

1. BP. BP statistical review of world energy; 2009.
2. S. Gille., *et al.*, *The plant cell online*, 2011; DOI:10.1105/tpc.111.091728
3. O. J. Sanchez and C. A. Cardona, *Bioresource Technology*, Vol. 99, No. 13, pp. 5270-5295, 2008.
4. Alvarado-Morales *et al.*, *Chemical Engineering Research & Design*, Vol. 87, No. 9A, pp. 1171-1183, 2009.
5. B. Brehmer, R. M. Boom and J. Sanders, *Chemical Engineering Research & Design*, Vol. 87, No. 9A, pp. 1103-1119, 2009.
6. S. Gonzalez-Garcia, *et al.*, *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, Vol. 13, No. 9, pp. 2613-2620, 2009.
7. R. R. Singhanian, B. Parameswaran and A. Pandey, *Handbook of Plant-Based Biofuels*, CRC Press, 2009.
8. S. I. Mussatto *et al.*, *Biotechnology Advances*, Vol. 28, No. 6, pp. 1873-1899, 2010.
9. P. Sannigrahi, Y. Pu and A. Ragauskas, *Current Opinion in Environmental Sustainability*, Vol. 2, No. 5-6, pp. 383-393, 2010.
10. J. Pleiss, *Appl Microbiol Biotechnol*, Vol. 73(4), pp. 735-739, 2006.
11. S. K. Lee, *et al.*, *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 19(6), pp. 556-563, 2008.
12. J. E. Bailey, *Science*, Vol. 252(5013), pp. 1668-1675, 1991.
13. J.D. Keasling and H. Chou, *Nature Biotechnology*, Vol. 26(3), pp. 298-299, 2008.
14. G. Stephanopoulos, *Metabolic Engineering*, Vol. 10(6), pp. 293-294, 2008.
15. A. Mukhopadhyay, *et al.*, *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 19(3), pp. 228- 234, 2008.
16. M. Rodriguez-Moya and R. Gonzalez, *Biofuels*, 2010, doi: 10.4155/BFS.10.5.
17. P. C. Hallenbeck, J. R. Benemann, *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 27, pp. 1185-1193, 2002.
18. P. C. Hallenbeck, *et al.*, *Advances in Chemistry*, J. C. Taylor ed., vol. 6 pp. 125- 154, 2011.
19. T. Keskin, M. Abo-Hashesh, and P. C. Hallenbeck, *Bioresource Technology*, Vol. 102, pp. 8557-8568, 2011.
20. A. Adessi, R. De Philippis, *Springer*, New York, pp. 53-75, 2012.
21. H. Schepens, *EuropaBio*. Lyon 2003.
22. D. Rutz and R. Janssen, *Biofuel Technology Handbook*, WIP Renewable Energies Munchen, Germany, 2008.
23. http://www.eia.gov/dnav/pet/pet_move_imp_dc_NUS-Z00_mbbldp_a.htm
24. A. M. R. B. Xavier, *et al.*, *Bioresource Technology*, Vol. 101, No. 8, pp., ISSN 0960-8524(print)1873-2976(electronic), 2012.
25. O. J. Sanchez and C. A. Cardona, *Bioresource Technology*, Vol. 99(13), pp. 5270- 5295, 2008.
26. Y. H. P. Zhang, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, Vol. 35, No. 5, pp. 367-375, 2008.
27. G. Bokinsky, *et al.*, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011.
28. R. Srivastava, G. P. Kumar, and K. K. Srivastava, *Gene*, Vol. 164, pp. 185-186, 1995.
29. J. S. Yoo, *et al.*, *The Journal of Microbiology*, Vol. 42, pp. 205-210, 2004.
30. N. Brestic-Goachet *et al.*, *Journal of General Microbiology*, Vol. 135, pp. 893-902, 1989.
31. M. Moniruzzaman *et al.*, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Vol. 13, pp. 341-346, 1997.
32. D. C. la Grange, R. den Haan, and W. H. van Zyl, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 87, pp. 1195-1208, 2010.
33. S. L. Tsai *et al.*, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 75, pp. 6087-6093, 2009.
34. X Li , J. K. Weng, C. Chapple, *Plant J*, Vol. 54, pp. 569-581, 2008.
35. H. Hisano, R. Nanda kumar, and Z. Y. Wang, *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, Vol. 45, pp. 306-313, 2009.
36. M. H. Studer *et al.*, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 105, pp. 231-238, 2010.
37. E. Hardiman *et al.*, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 161, pp. 301- 312, 2010.
38. Y. C. Li, D. C. Irwin and D. B. Wilson, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 76, pp. 2582-2588, 2010.
39. L. R. Lynd *et al.*, *Nature Biotechnology*, Vol. 26, pp. 169-172, 2008.
40. A. Aristidou and M. Penttila, *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 11(2), pp. 187-198, 2000.
41. J. Zaldivar, J. Nielsen and L. Olsson, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 56(1-2), pp. 17-34, 2001.
42. L. O. Ingram *et al.*, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 58(2-3), pp. 204-214, 1998.
43. S. Ostergaard, L. Olsson and J. Nielsen, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, Vol. 64(1), pp. 34-50, 2000
44. M. Kuyper *et al.*, *FEMS Yeast Research*, Vol. 4(6), pp. 655-664, 2004.
45. L. O. Ingram *et al.*, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 58(2-3), pp. 204-214, 1998.
46. E. Nevoigt, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, Vol. 72(3), pp. 379- 412, 2008.
47. A. Matsushika *et al.*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 84(1), pp. 37-53, 2009.
48. M. Zhang *et al.*, *Science*, Vol. 267(5195), pp. 240-243, 1995.
49. J. C. Johnson, *Technology assessment of biomass ethanol: a multi-objective, life cycle approach under*

- uncertainty. In: Johnson, J.C. (Ed.), *Chemical Engineering*. MIT, Cambridge, MA, p. 280, 2006.
50. J. Carper, *The CRC Handbook of Chemistry and Physics*. Library Journal, Vol. 124(10), pp. 192-+, 1999.
 51. T. C. Ezeji *et al.*, *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 18, pp. 220-227, 2007b.
 52. X. Liu *et al.*, *Biotechnology Progress.*, Vol. 22, pp. 1265-1275, 2006.
 53. A. M. Sanchez *et al.*, *Journal of Biotechnology*, Vol. 117, pp. 395-405, 2005.
 54. D. T. Jones and D. R. Woods, *Microbiological Reviews*, Vol. 50(4), pp. 484-524, 1986.
 55. D. R. Nielsen *et al.*, *Metabolic Engineering*, Vol. 11(4-5), pp. 262-273, 2009.
 56. J. M. Clomburg and R. Gonzalez, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010.
 57. S. Atsumi *et al.*, *Metabolic Engineering*, Vol. 10(6), pp. 305-311, 2008.
 58. M. Inui *et al.*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 77(6), pp. 1305- 1316, 2008.
 59. E. J. Steen *et al.*, *Microbial Cell Factories*, Vol. 7. pp. 8, 2008.
 60. S. Atsumi *et al.*, *Metabolic Engineering*, 2008.
 61. Y. Zhang *et al.*, *Bioresource Technology*, Vol. 89, pp. 1-16, 2003.
 62. P. Maki-Arvela *et al.*, *Energy Fuels*, Vol. 21, pp. 30-41, 2007.
 63. Y. Chisti, *Biotechnology Advances*, Vol. 25, pp. 294-306, 2007.
 64. B. Hankamer *et al.*, *Physiologia Plantarum*, Vol. 131, pp. 10-21, 2007.
 65. T. A. Voelker, and H. M. Davies, *Journal of Bacteriology.*, Vol. 176, pp. 7320- 7327, 1994.
 66. E. M. Grima *et al.*, *Biotechnology Advances*, Vol. 20, pp. 491-515, 2003.
 67. D. K. Ro *et al.*, *Nature*, Vol. 440, pp. 940-943, 2006.
 68. J. Clomburg and R. Gonzalez, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 86, pp. 419-434, 2010.
 69. T. Liu *et al.*, *Metabolic Engineering*, Vol. 12, pp. 378-386, 2010a.
 70. L. Katz, Dupont Develops Green 1,3-Propanediol (PDO), 2007.
 71. M. R. Connor and S. Atsumi, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010.
 72. P. Handke *et al.*, *Metabolic Engineering*, Vol. 13, pp. 28-37, 2011.
 73. X. Lu, *Biotechnology Advances*, Vol. 28, pp. 742-746, 2010.
 74. L. P. Yomano, S. W. York, and L. O. Ingram, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, Vol. 20, pp. 132-138, 1998.
 75. M. Zhang *et al.*, *Science*, Vol. 267, pp. 240-243, 1995.
 76. X. Liu *et al.*, Fatty acid production in genetically modified cyanobacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.
 77. X. Tan *et al.*, *Metabolic Engineering*, Vol. 13, pp. 169-176, 2011.
 78. J. Zhou and Y. Li, *Protein & Cell*, Vol. 1, pp. 207-210, 2010b.
 79. M. M. Junior *et al.*, *Journal of the Institute of Brewing*, Vol. 115, pp. 191-197, 2009.
 80. S. A. Maziar, *African Journal of Biotechnology*, Vol. 9, pp. 2906-2912, 2010.
 81. M. Ergun, S. F. Mutlu, and O. Gurel, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, Vol. 68, pp. 147-150, 1997.
 82. J. P. Maye, Use of hop acids in fuel ethanol production. US patent. Patent US2006263484, 2006.
 83. S. Nikolic *et al.*, *Food Technology and Biotechnology*, Vol. 47, pp. 83-89, 2009.
 84. L. R. Lynd *et al.*, *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 16, pp. 577-583, 2005.
 85. A. L. Demain, M. Newcomb, JHDWu, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, Vol. 69, pp. 124-154, 2005.
 86. S. H. Krishna, T. J. Reddy, and G. V. Chowdary, *Bioresource Technology*, Vol. 77, pp. 193-196, 2001.
 87. S. B. Roberts *et al.*, *BMC Systems Biology*, Vol. 4, pp. 31.
 88. S. A. Tripathi *et al.*, *Applied and Environmental Microbiology*, 2010.
 89. T. I. Williams *et al.*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 74, pp. 422- 432, 2007.
 90. C. Xu *et al.*, *Bioresource Technology*, Vol. 101, pp. 9560-9569, 2010.
 91. K. Magnuson *et al.*, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, Vol. 57, pp. 522-542, 1993.
 92. F. Zhang *et al.*, *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 22, pp. 775-783, 2011.
 93. N. Ho, Z. Chen, and A. Brainard, *Applied Environmental Microbiology*, Vol. 64, pp. 1852-1859, 1998.
 94. P. Richard, M. H. Toivari, and M. Penttila, *FEBS Letters*, Vol. 457(1), pp. 135- 138, 1999.
 95. K. Traff, L. Jonsson, and B. Hahn-Hagerdal, *Yeast*, Vol. 19, pp. 1233-1241, 2002.
 96. P. Richard, M. H. Toivari, and M. Penttila, *FEMS Microbiology Letters*, Vol. 190(1), pp. 39-43, 2000.
 97. J. W. Wenger, K. Schwartz, G. Sherlock, *PLoS Genetics*, Vol. 6(5), pp. e1000942.
 98. A. Matsushika *et al.*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 84(1), pp. 37-53, 2009.
 99. A. van Maris *et al.*, *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, pp. 179- 204, 2007.
 100. T. W. Jeffries, *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 17(3), pp. 320-326, 2006.
 101. B. Hahn-Hagerdal *et al.*, *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, Vol. 108, pp. 147-177, 2007.
 102. P. Richard *et al.*, *FEMS Yeast Research*, Vol. 3(2), pp. 185-189, 2003.
 103. P. Kotter *et al.*, *Current Genetics*, Vol. 18(6), pp. 493-500, 1990.
 104. M. Walfridsson *et al.*, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 62(12), pp. 4648-4651, 1996.
 105. J. Becker and E. Boles, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 69(7), pp. 4144-4150, 2003.
 106. Eric Young, Sun-Mi Lee and Hal Alper, *Biotechnology for Biofuels*, Vol. 3, pp. 24, 2010.
 107. Wendy Higashide *et al.*, *Applied and Environmental Microbiology*, pp. 2727- 2733, 2011.
 108. L. Lynd, *In Lignocellulosic materials*, pp. 1-52, Vol. 38, 1989.
 109. M. V. Tyurin, S. G. Desai and L. R. Lynd, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 70, pp. 883-890, 2004.

110. Petitdemange *et al.*, *International Journal of Systematic Bacteriology*, Vol. 34, pp. 155-159, 1984.
111. M. D. Collins *et al.*, *International Journal of Systematic Bacteriology*, Vol. 44, pp. 812-826, 1994.
112. C. Tardif *et al.*, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, Vol. 27, pp. 271-274, 2001.
113. E. Guedon, M. Desvaux, and H. Petitdemange, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 68, pp. 53-58, 2002.
114. C. M. Gowen and S. S. Fong, *Chemistry and Biodiversity*, Vol. 7, pp. 1086-1097, 2010.
115. R. Cascone, *Chemical Engineering Progress*, Vol. 104, pp. S4-S9, 2008.
116. P. Du rre, *Biotechnology Journal*, Vol. 2, pp. 1525-1534, 2007.
117. Wendy Higashide *et al.*, *Applied and Environmental Microbiology*, pp. 2727- 2733, 2011.
118. P. Trieu-Cuot *et al.*, *FEMS Microbiol. Lett.* Vol. 48, pp. 289-294, 1987.
119. S. Atsumi, T. Hanai, and J. C. Liao, *Nature*, Vol. 451, pp. 86-89, 2008.
- S. Atsumi, W. Higashide, and J. C. Liao, *Nature Biotechnology*, Vol. 27, pp. 1177-1180, 2009.

Микробиологическое производство биотоплива

А.С.Панвар, Дж. Джунгран и Г.К.Джоши *

Факультет биотехнологии, университет им. Х.Н.Б. Гархвала, Шринагар (Гархвал), Уттаракханд, Индия

Краткое изложение

Для удовлетворения текущего спроса на энергию быстро истощаются источники энергии. В то же время их постоянное использование представляет собой глобальную проблему в силу создания различных экологических угроз. В качестве альтернативы, биотопливо рассматривается как возобновляемое, устойчивое, эффективное, рентабельное и экологически чистое топливо, которое способно заменить традиционное топливо из нефти. Микроорганизмы играют важную роль в производстве многих видов биотоплива благодаря универсальности их экстраординарных метаболических возможностей. Возможность «точной настройки» существующих процессов производства микробиологического биотоплива, а также разработка модифицированных видов, позволяющих эффективно использовать бесполезные материалы и побочные продукты, делает микробиологическое биотопливо привлекательным для исследований. В данной главе описывается роль микроорганизмов в преобразовании биомассы в пять важных видов биотоплива.

Ключевые слова: биотопливо, биомасса, возобновляемые источники, экологически чистые, генетически модифицированные виды.

6.1 Введение

С момента своего существования человечество полагалось на возобновляемые источники энергии, такие как древесина, ветряные мельницы, водоподъемные колеса и животные, такие как лошади и волы. Разработка новых энергетических ресурсов была главной движущей силой революции.

В течение последних двух веков ископаемое топливо стало основным источником энергии в каждом промышленном секторе. Транспортировка по всему миру сильно зависит от использования ископаемого топлива и без него целый мир остановится. Интенсивное использование ископаемого топлива имеет свою цену. Во-первых, природные ресурсы быстро истощаются и могут удовлетворить нынешние потребности в энергии только в течение еще нескольких десятилетий. Во-вторых, их возрастающее использование привело к выбросам и накоплению различных токсических веществ, что отрицательно повлияло на изменение климата, отступление ледников, повышении уровня моря, потере биоразнообразия и т.д. Это альтернативные, возобновляемые, устойчивые, эффективные и экономичные источники энергии с меньшим уровнем выбросов. Среди других альтернативных источников энергии, биотопливо рассматривается как один из стратегически важных устойчивых источников энергии, которое может в значительной степени удовлетворить мировой спрос на энергию. Биотопливо - это возобновляемое жидкое или газообразное топливо, производимое с помощью или из живых организмов или отходов, которые они производят. Существует заметная и растущая тенденция использования биотоплива для эффективной конверсии биоэнергии. Для этой цели используется ряд видов биотоплива. Как развивающиеся, так и промышленно развитые страны рассматривают биотопливо в качестве соответствующей технологии с учетом различных факторов таких как, безопасность, экологические проблемы, сбережений в иностранной валюте и социально-экономические проблемы, связанных с аграрным сектором. У биотоплива ряд преимуществ, включая легкодоступность, экологически чистое горение, биоразлагаемость и устойчивость. Учитывая рост цен на сырую нефть и растущую политическую нестабильность в нефтедобывающих странах, разработки в области биотоплива имеют первостепенное значение. В сравнение с почти полным отсутствием кислорода в нефти, у биотоплива уровень кислорода от 10% до 45%, что делает химические свойства биотоплива совершенно несхожим с нефтью [1]. Во многих странах биотопливо широко используется для производства тепла и энергии. В разных странах были приняты различные меры по внедрению биотоплива с разной стоимостью производства, которая зависит от местоположения, сырья и ряда

других факторов. Кроме того, политические программы и экологические соображения играют роль в использовании биотоплива. Растительная биомасса является широкораспространенным и возобновляемым источником энергии, богатым соединениями, которые могут быть эффективно преобразованы с помощью термохимических путей в биотопливо различных типов. Микроорганизмы в процессе ферментации также могут превращать различные виды сырья в биотопливо, такое как спирт, бутанол и т.д. В последние годы сообщалось, что микроорганизмы, в частности микроводоросли, усваивают углерод в форме различных липидов, которые могут быть переработаны для использования в качестве превосходного биотоплива. Одной из основных проблем, связанных с производством большинства видов биотоплива, по-прежнему являются производственные затраты, которые можно свести к минимуму путем разработки более сложных технологий, основанных на химической конверсии или использовании микроорганизмов.

6.2 Типы биотоплива, производимого микроорганизмами

Микроорганизмы могут преобразовывать углеродистые вещества сырья в биотопливо, такое как этанол, бутанол и т.д. Растительные отходы являются идеальным материалом, служащим сырьем для такого преобразования. Общая схема производства биотоплива показана на рис. 6.1. На первом этапе, сложное сырье преобразуется в простые сахара либо химическими средствами, либо с помощью микробов, секретирующих разлагающие ферменты. Простые сахара затем преобразуются в биотопливо путем микробной ферментации. Следующие виды биотоплива могут производиться с участием микроорганизмов, которые приведены в таблице 6.1.

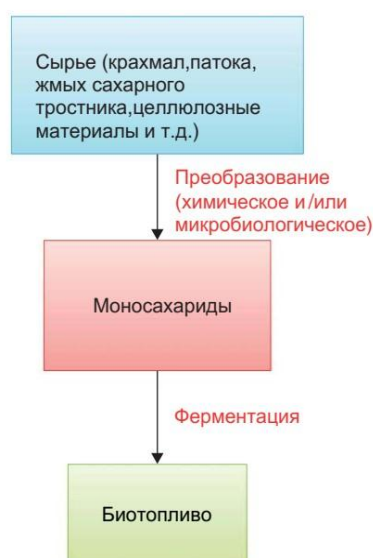


Рисунок 6.1 Общая схема ферментации при производстве биотоплива.

Таблица 6.1 Микроорганизмы и их субстраты для производства биотоплива.

Бактериальный штамм	Субстрат	Продукт
<i>Clostridium thermocellum</i>	Источники богатые целлюлозой	Биогаз [2]
<i>Slackia heliotrinireducens</i>	Целлюлоза, органический материал	Биогаз [2]
<i>Carboxydothemushydrogenoformans</i>	Органические кислоты	Биогаз [2]
<i>Methanosarcina barkeri</i>	Летучие органические кислоты, CO ₂ and H ₂	Биогаз [2]
<i>Methanoculleus marisnigri</i> ,	Летучие органические кислоты, CO ₂ and H ₂	Биогаз [2]

<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Отходы из апельсиновой кожуры (сахара)	Биоэтанол [3]
<i>Staphylococcus warneri</i>	Пальмовое масло	Биодизель [4]
<i>Candida rugosa</i>	Пальмовое масло	Биодизель [4]
<i>Fusarium solani</i>	Пальмовое масло	Биодизель [4]
<i>Clostridium cellulolyticum</i>	Целлюлозная субстанция	Биоэтанол [5]
<i>Lactobacillus casei</i>	Целлюлозная субстанция	Биоэтанол [5]
<i>Zymomonas mobilis</i>	Глюкоза и фруктоза	Биоэтанол [6]
<i>Plchia stipitis</i> NRRL Y-7124	Пшеничная солома	Биоэтанол [7]
<i>Klebsiella oxytoca</i> M5A1 (pLOI555)	Целлюлозная субстанция	Биоэтанол [8]
<i>Clostridium acetobutylicum</i> .	Солома, листья, трава, испорченные зерно и фрукты и т.д.	Биоэтанол [9]
<i>Enterobacter Aerogenes</i> HU-101	Неочищенный глицерин	Водород [10]
<i>Caldicellulosiruptor saccharolyticus</i>	Источник, богатый углеводами	Водород [11]
Бактериальный штамм	Субстрат	Продукт
<i>Thermotoga elfii</i>	Источник, богатый углеводами	Водород [11]
<i>Caldicellulosiruptor owensensis</i>	Источник, богатый углеводами	Водород [12]
<i>Thermoanaerobacter ethanolicus</i>	Источник, богатый углеводами	Биоэтанол [13]

6.2.1 Биоэтанол

Алкогольное топливо обычно получают из биологических источников, а не из нефти. Поскольку они происходят из биологических источников, их иногда называют биоспиртами. Этанол или этиловый спирт, полученный из биомассы путем гидролиза с последующей ферментацией, называется биоэтанолом. Биоэтанол может использоваться в сочетании с бензином в качестве топлива для двигателей внутреннего сгорания автомобилей. Биоэтанол в концентрации до 5% можно добавлять в бензин без модификации двигателя. Концентрация биоэтанола в допустимой смеси может быть до 85% для модифицированных двигателей. Топливо из смеси этанола и бензина, имеет более низкое содержание серы, чем только из бензина. Это приводит к снижению выбросов оксида серы, основного компонента кислотных дождей и канцерогена. Такие культуры, как сахарный тростник, пшеница и кукуруза, являются наиболее важными видами природных биоресурсов, которые можно использовать для производства биоэтанола. Растительный материал содержит большое количество углеводов с общей формулой $(\text{C}_n\text{H}_{2n}\text{O})_n$, которые могут быть преобразованы в этанол различными химическими и биохимическими методами. Большая часть этанола, получаемого в виде биотоплива, производится из сахара или крахмала. Сахарный тростник, сахарная свекла и сорго являются обычными культурами, используемыми в качестве сырья для производства биоэтанола, в то время как сырье для крахмала включает кукурузу, пшеницу и маниоку. Растительная целлюлоза может также использоваться в

качестве сырья для производства сахара для последующего производства биоэтанола. Однако из-за сложной структуры трудно деполимеризовать целлюлозу в простые сахара. С другой стороны, гемицеллюлозы легко расщепляются на составляющие сахара, такие как ксилоза и пентоза, но последующий процесс ферментации затруднен, поскольку для этого требуются высокоэффективные микроорганизмы, способные сбраживать 5-углеродные сахара до этанола. Хотя сам лигнин можно использовать в качестве топлива, он практически не ферментируется. Производство биоэтанола из растительного сырья осуществляется в три этапа. На первом этапе проводится предварительная обработка растительного материала с использованием химических методов: обработка паром, обработка аммиаком волокон, обработка CO₂, кислотный или щелочной гидролиз. Обычно эти химические обработки используются в экстремальных условиях, таких как высокая температура и т.д. В некоторой степени биохимический гидролиз, катализируемый гидролитическими ферментами, является подходящей альтернативой. На следующем этапе углеводы в растительном материале можно преобразовать в простые сахара с помощью процесса осахаривания. Ферменты, такие как целлюлаза, используются для осахаривания целлюлозы в простые сахара. Эффективность гидролиза целлюлозы зависит от пористости, кристалличности и наличия лигнина и гемицеллюлозы. Лигнин и гемицеллюлоза оказывают негативное влияние на целлюлазу, уменьшая доступность фермента для его субстрата. Таким образом, процесс гидролиза можно значительно улучшить путем удаления лигнина и гемицеллюлозы, снижения кристалличности целлюлозы и увеличения пористости в процессах предварительной обработки [14]. Ферментация является конечным этапом, когда сахара превращаются в спирт под действием микроорганизмов в отсутствие кислорода. Полученный биоэтанол можно очистить путем дистилляции. Дрожжи - микроорганизм, обычно используемый для спиртового брожения. Он выделяет фермент инвертазу, который превращает сахарозу в сырье в глюкозу и фруктозу. Эти новые соединения затем превращаются в этанол с помощью «зимазы», другого фермента, присутствующего в дрожжах. Конвертируемость любого конкретного типа биомассы в сахара определяет его ценность в качестве исходного сырья для ферментации.

6.2.1.1 Микроорганизмы, участвующие в производстве биоэтанола

Этанол широко потребляется фармацевтической, химической и пищевой промышленностью для различных целей. Приблизительно, 80% производства этанола в промышленности осуществляется путем ферментации. Различные виды микроорганизмов могут использоваться в зависимости от используемого сырья для производства биоэтанола. Дрожжи являются обычно предпочтительными микроорганизмами для промышленного производства биоэтанола, для этого *Saccharomyces cerevisiae* продается во всем мире. Сообщалось, что некоторые из термофилов, связанные с выработкой этанола, это *Clostridium hermosaccharolyticum* и *Thermoanaerobacter ethanolicus*. Они предпочтительно используют пентозу и гексозу в качестве субстрата. Самый высокий выход этанола (1,9 моль на моль потребляемой глюкозы) отмечен у термофильных бактерий *Thermoanaerobacter ethanolicus* [15]. Для производства биоэтанола термофилы предлагают преимущества высоких скоростей роста и использования широкого спектра субстратов. Наряду с этим многие термофилы производят меньше типов нежелательных конечных продуктов по сравнению с мезофилами. Грибки, такие как *Trichoderma reesei* и *Aspergillus niger*, продуцируют фермент целлюлазу, которая может превосходно преобразовать целлюлозу в жмыхе сахарного тростника в сбраживаемые сахара для производства этанола. В тропических регионах, биоэтанол был получен с использованием *Zymomonas mobilis*, но его спектр ферментации углеводов не слишком широк, что делает его немного не впечатляющим. В последнее время популярна генная инженерия для экспрессии чужеродных генов, связанных с катаболизмом различных типов органических веществ. *Zymomonas mobilis* и *E.coli* были успешно преобразованы в эффективных производителей этанола [16, 17]. Компания DuPont недавно начала использовать генетически модифицированный *Z. mobilis* для производства целлюлозного этанола [18].

6.2.1.2 Субстраты для производства биоэтанола

Пока что большая часть мирового производства биоэтанола основана на таких культурах, как сахарный тростник и сахарная свекла. Зерновые, такие как кукуруза, также используются во многих областях в качестве сырья для производства этанола с помощью микроорганизмов. В настоящее время ученые исследуют лигноцеллюлозную биомассу в качестве субстрата из-за широкого распространения. Лигноцеллюлоза представляет собой смесь лигнина, гемицеллюлозы и целлюлозы. Лигноцеллюлоза является частью растения, которая остается непереваренной людьми и большинством животных. Это

непродовольственный продукт, например стебли, опилки и щепа. Лигноцеллюлозная биомасса можно гидролизовать в сахар. Различные технологии гидролиза для различных лигноцеллюлозных исходных материалов дают смесь сахаров (таких как глюкоза, ксилоза, арабиноза), некоторые из которых очень трудно эффективно ферментировать в биоэтанол с использованием обычных микроорганизмов. Для достижения высокого выхода биоэтанола необходима ферментация сложных сахаров, образующихся в результате гидролиза лигноцеллюлозной биомассы. Для этого требуются микроорганизмы, способные сбраживать сложные сахара. Генная инженерия привела к разработке новых штаммов микроорганизмов, способных эффективно ферментировать сложные сахара, такие как ксилоза. Существует огромное количество несъедобных растительных отходов, которые можно переработать для производства биоэтанола. Жмых сахарного тростника - побочный продукт, широко доступный и дешевый в сахарной промышленности. Он богат целлюлозой, которая может гидролизываться целлюлазным ферментом для производства биоэтанола. Аналогичным образом, для производства биоэтанола можно использовать другую целлюлозную биомассу, такую как древесина, бумажная масса или сельскохозяйственные отходы. Апельсиновую корку, отходы листьев агавы, отходы саго и картофельный крахмал, мы также используем для производства биоэтанола.

6.2.2 Бутанол

Биобутанол часто ошибочно называют «новым» топливом. Он непрерывно производится с начала 20-го века в качестве растворителя и основного химического вещества. Однако в последнее время появились новые способы применения биобутанола, например, в качестве замены дизельного топлива и керосина, консерванта силоса, биоцида и соединения C4 для химической промышленности. Это четырехуглеродный спирт, который содержит больше углерода и водорода, чем этанол, и поэтому его легче смешивать с бензином и другими углеводородными продуктами. Он менее агрессивен, чем этанол, и следовательно, его можно легко отправить и распределить по заправочным станциям. Смесь 85% бутанола/ бензина может использоваться в немодифицированных бензиновых двигателях. В дизельном двигателе с воспламенением от сжатия его можно смешивать до 30% (70% дизеля). Бутанол гораздо менее испаряющийся, чем бензин или спирт. Это делает его более безопасным в использовании, так как он вырабатывает меньше летучих органических соединений при использовании в двигателях внутреннего сгорания. При сгорании образуется только углекислый газ, что делает его более экологически чистым, чем биотопливо [14]. Бутанол существует в четырех изомерных формах, а именно н-бутанол (нормальный бутанол), 2-бутанол (вторичный бутанол), изобутанол (изобутанол) и t-бутанол (трет-бутанол). Их топливная эффективность с учетом выделения энергии и свойств смешивания при сравнении с бензином аналогична. Однако их производственные процессы весьма различны. В основном н-бутанол можно получить путем ферментации в больших масштабах. Фактически, промышленное производство н-бутанола путем ферментации крахмала и сахара является многовековой практикой. Это также известно как ферментация «ацетон-бутанол-этанол» или ферментация АБЭ, которая включает анаэробную конверсию углеводов с помощью штаммов *Clostridium acetobutylicum* в ацетон, бутанол и этанол (рис. 6.2). Бактерии выделяют многочисленные ферменты, которые облегчают расщепление полимерных углеводов на мономеры. Извлечение и очистка н-бутанола из ферментационной среды является дорогостоящим и трудным, поскольку его низкая концентрация накапливается в ферментационной среде из-за ингибирования продукта.

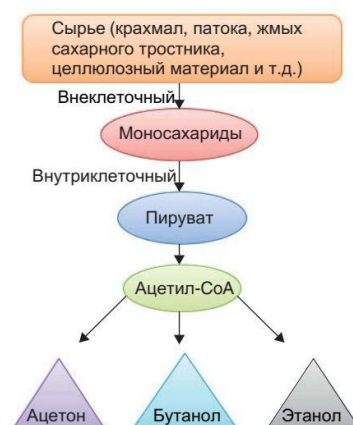


Рисунок 6.2 Схематическое изображение схемы пути АБЭ.

Тем не менее, предпринимаются усилия по увеличению концентрации путем разработки передовых технологий, главным образом, с помощью генетически модифицированных микробов. Т-бутанол является нефтехимическим продуктом, и процесс его ферментации, как известно, не производит его. Небольшое количество изобутанола можно получить с помощью дрожжей в качестве побочного продукта при производстве вина. Однако это нежелательно в этом процессе из-за его токсического характера. Производство 2-бутанола частично включает ферментацию, когда первоначально бактериальная ферментация превращает глюкозу в сырье в промежуточный продукт. Этот промежуточный продукт химически модифицируется и превращается в 2-бутанол. По сравнению с н-бутанолом и изобутанолом у 2-бутанола температура кипения ниже, чем у воды, поэтому его восстановление после ферментации экономически выгодно.

6.2.2.1 Микроорганизмы, участвующие в производстве биобутанола

Бутанол производится бактериями *Clostridium acetobutylicum* и *Clostridium beijerinckii* в анаэробных условиях. В процессе ферментации ацетон, бутанол и этанол производятся в соотношении 3:6:1. Основной проблемой этих микробов является низкий выход продукта, так как накопление бутанола в ферментационном бульоне препятствует их росту. Недавно были разработаны генетически модифицированные штаммы *C. acetobutylicum*, которые могут выдерживать высокие концентрации бутанола, что приводит к высокому выходу бутанола.

6.2.2.2 Субстрат для производства биобутанола

Использование продуктов растениеводства для ферментации бутанола не очень экономично, в первую очередь из-за их высокого спроса на продукты питания, что приводит к быстрому росту цен на сырье. Поэтому сельскохозяйственные отходы, такие как солома, листья, трава, испорченные зерна, фрукты и т.д., обычно используются в качестве сырья для производства бутанола путем ферментации. Другими источниками производства биобутанола могут быть растительная биомасса и водоросли.

6.2.3 Биодизель

(М) Этиловые эфиры из растительного масла, обычно называемые «биодизелем», являются видным кандидатом в качестве альтернативного топлива. Производство биодизеля значительно увеличилось за последние несколько лет, как и количество остатков, образующихся в процессе производства. Европа по-прежнему является крупнейшим производителем биодизеля, в то время как в Бразилии наблюдался самый высокий рост объемов производства за последние несколько лет по сравнению с США и Европой. Само растительное масло можно использоваться в качестве топлива для дизельных двигателей, но его высокая вязкость является ограничением и, следовательно, требует модификации двигателя. Растительные масла можно преобразовать в биодизельное топливо с помощью процесса переэтерификации в присутствии катализатора. Алкоксиды калия и натрия являются такими катализаторами, которые используются для получения метиловых, этиловых, пропиловых и бутиловых эфиров из растительного масла. Переэтерификация снижает вязкость масла. Это потенциально менее дорогой способ преобразования большой разветвленной молекулярной структуры биомасел в более мелкие молекулы с прямой цепью того типа, который требуется в обычных дизельных двигателях внутреннего сгорания [1]. При использовании в автомобильных двигателях биодизель обеспечивает немного более низкую мощность и крутящий момент с высокой скоростью потребления по сравнению с нефтяным дизельным топливом. Тем не менее, у него есть преимущества - низкое содержание серы, температура воспламенения, содержание ароматических веществ и биоразлагаемости. Биодизель-дизельная смесь до 5% (объем / объем) может использоваться в обычном дизельном двигателе. Обычные дизельные двигатели также можно модифицировать по приемлемой цене, чтобы они подходили для чистого биодизеля. Однако, у него есть недостаток – необходимость в частой замене моторного масла.

6.2.3.1 Микроорганизм, участвующий в производстве биодизеля

Биодизель является экологически чистым альтернативным жидким топливом. Биодизель

производится из возобновляемых ресурсов, и обладает экологическим преимуществом, которое делают его более привлекательным. Микроорганизмы не играют прямой роли в синтезе биотоплива. Фактически, микробиология биодизеля является проблемой из-за бактериального окисления во время хранения, а также из-за неизбежного содержания воды, приводящего к коррозии. Однако преобразование растительного масла в метиловые или другие сложные эфиры с короткой цепью можно катализировать в одной реакции переэтерификации с использованием микробных липаз в неорганических растворителях. Липазы с высокой специфической активностью получают из ряда микроорганизмов, например *Staphylococcus warneri*, *Candida rugosa*, *Fusarium solani* и т.д. были успешно испытаны в лабораторных исследованиях для такого преобразования. Процесс производства в промышленных масштабах все еще находится на стадии разработки. Стратегии, такие как иммобилизация фермента и гиперэкспрессия цитоплазмы, разрабатываются для катализа метанолиза в реакционной системе без растворителей. В последние годы была предложена совершенно новая концепция микродизеля, полученного с помощью бактерий. Существуют экспериментальные доказательства выработки этерифицированного липида бактериями с использованием передовой концепции метаболической инженерии. Значительное дальнейшее развитие необходимо в этом направлении [19].

6.2.3.2 Субстраты для производства биодизеля

Биодизель можно использовать в любом дизельном двигателе без модификации экологически безопасным способом. Он экологически чистый и возобновляемый, поэтому во всем мире растет интерес к разработке биодизеля из различных видов растительных масел. Большая часть используемого в настоящее время биодизеля производится из соевого масла. Однако соевое масло является продуктом питания, что делает экономически эффективное производство биодизеля очень сложной задачей. Другими источниками биодизеля являются масла из горчицы, жожоба, ятрофы, кокоса, подсолнечника и т.д. Недорогие жиры и масла, такие как отходы ресторанов и животные жиры, также успешно использовались для производства биодизеля, но выход является низким из-за присутствия свободных жирных кислот, которые трудно преобразовать в биодизель с помощью любого катализатора. Некоторые водоросли накапливают в них большое количество липидов, и это свойство делает их хорошим источником биодизеля. Кроме того для производства биодизеля, водоросли можно выращивать с использованием таких отходов, как сточные воды, без использования плодородных земель, что делает их привлекательной альтернативой растительному маслу. Прокариотические микроводоросли, то есть цианобактерии (*Chloroxybacteria*) и эукариотические микроводоросли, например, зеленые водоросли (*Chlorophyta*), красные водоросли (*Rhodophyta*) и диатомовые водоросли (*Bacillariophyta*) можно использовать для производства липидов с помощью микроорганизмов. *Neochloris oleabundans* (пресноводная микроводоросль) и *Nannochloropsis* sp. (морская микроводоросль), благодаря своему высокому содержанию масла, пригодны для производства биодизеля [20].

6.2.4 Биоводород

Биоводород - это потенциальное биотопливо, которое можно получить из органических отходов. Использование водорода в качестве источника энергии может улучшить глобальное изменение климата, энергоэффективность и качество воздуха. Его можно использовать в качестве альтернативы ископаемому топливу, потому что легко преобразуется в электрическую энергию в топливных элементах или сгорает и преобразуется в механическую энергию без чрезмерного производства CO₂. Как топливо будущего, водород рассматривается для снижения зависимости от нефти, уменьшения загрязнения и минимизации выбросов парниковых газов. Биомасса можно преобразовать в водород с помощью процессов термохимической конверсии, таких как пиролиз или газификация пара. Биологически его можно получить с помощью водорослей или цианобактерий путем биофотоллиза воды. Другие биологические пути производства водорода включают фото-брожение и темное брожение. При фотоферментации водород вырабатывается из органических веществ фотосинтезирующими бактериями. С другой стороны, анаэробные организмы могут производить H₂ из органических веществ в процессе «темного брожения». Комбинация как темной, так и фотоферментации в настоящее время считается наиболее эффективным методом получения водорода путем ферментации. Используется ряд этапов, во-первых, отходы разбиваются на органические кислоты в процессе темного брожения, и эти органические кислоты затем используются в качестве субстрата в процессе фото-брожения. Производство водорода путем ферментации биомассы является непрерывным процессом, который требует нестерильного субстрата с легко доступной смешанной

микрофлорой. Простота обработки сырья для получения ферментируемого сырья определяет общую скорость превращения биомассы в водород. Разнообразные реакторные системы были разработаны для производства водорода с помощью бактериальной ферментации сахара. Концентрация гексозы в среде, температура, pH и время гидравлического задержания в реакторе (ВГЗ) являются важными факторами, определяющими выход H_2 . Ферментацию водорода можно проводить в жидкой фазе с иммобилизованными клетками или путем образования самофокусированных гранулярных клеток. Несмотря на различные данные лабораторных исследований, микробиологический водород еще не превратился в экономически эффективную технологию в промышленном масштабе.

6.2.4.1 Микроорганизмы в производстве биоводорода

Три типа бактерий можно использовать для производства водорода: цианобактерии, анаэробные бактерии и ферментативные бактерии. Для фотобиологического производства водорода цианобактерии считаются идеальным источником, поскольку у них простая потребность в питании. Они могут расти в воздухе (N_2 и CO_2), воде и минеральных солях, где светом в качестве единственного источника энергии, и осуществлять эффективное фотопреобразование воды в водород. Для немедленного получения водорода практикуется культивирование цианобактерий в среде без нитратов в атмосфере воздуха и CO_2 с последующей инкубацией на свету под аргоном и в атмосфере CO_2 . Анаэробные бактерии, такие как *Clostridium spp.* были использованы для производства H_2 . Среди ферментирующих бактерий смешанная кислотная ферментация *E.coli* и бутиленгликоль, ферментируемая *Aerobacter*, также приводит к образованию газообразного водорода. Высокий выход водорода (3,3–4,0 моль H_2 на моль использованного углевода) отмечен у гипертермофилов *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* и *Thermotoga elfi* [21]. Фиолетовые несернистые бактерии (PNS) (например, род *Rhodobacter*) также обладают значительными перспективами для получения водорода путем аноксигенного фотосинтеза и фотоферментации.

6.2.4.2 Субстрат для производства биоводорода

Разнообразие биомассы использовалось для производства водорода посредством термохимических и ферментативных процессов. Газификация паром оболочки скорлупы и черного щелока приводит к образованию водорода. Солома зерновых культур, чайные отходы и оливковая шелуха подвергаются пиролизу для производства водорода. Целлюлозно-бумажные отходы и навозная суспензия используются для производства водорода путем ферментации.

6.2.5 Биогаз

Анаэробное сбраживание органической фракции биомассы можно разбить на смесь метана и углекислого газа, называемую «биогазом». Это возобновляемый источник энергии, такой как энергия солнца и ветра. Биогаз является экологически чистым биотопливом, которое можно произвести из регионального сырья, такого как навоз или сточные воды, в биореакторах. Сбраживание может занять от десяти дней до нескольких недель. Биогаз, в основном, представляет собой смесь метана (CH_4) и углекислого газа (CO_2) с небольшим количеством сероводорода (H_2S), влаги и силоксанов (таблица 6.2).

Таблица 6.2 Состав биогаза

Соединение	Процент (%)
Метан (CH_4)	50–75
Двуокись углерода (CO_2)	25–50
Азот (N_2)	0–10
Водород (H_2)	0–1
Сульфид водорода (H_2S)	0–3

Состав биогаза зависит от условий анаэробного сбраживания. Основным компонентом биогаза является метан, который составляет 50% от общего объема. Прогресс в технологиях обработки отходов

увеличил этот предел до 55–75% метана. В реакторах со свободными жидкостями концентрация метана может достигать 80–90% при использовании методов локальной очистки газа [22]. В некоторых случаях биогаз содержит силоксаны. Эти силоксаны образуются в результате анаэробного разложения материалов, обычно встречающихся в мылах и моющих средствах. Для производства биогаза используется система биореактора, обычно называемая анаэробным биореактором. В биореакторе происходит разложение биомассы и ее сложных органических соединений на более простые соединения и газообразные продукты. Есть в основном три типа биореакторов: (1) системы вертикальных резервуаров, (2) системы горизонтальных резервуаров или поршневой проточный и (3) системы с несколькими резервуарами. Несколько других типов биореакторов также были разработаны, например с плавающим цилиндром, фиксированным куполом, пластиковыми трубками. Производство биогаза посредством анаэробного разложения органического вещества само по себе является сложным процессом. Это включает в себя пошаговую серию реакций, требующих совместного действия нескольких организмов. Общий процесс можно разделить на четыре этапа (рис. 6.3). На первом этапе, известном как процесс гидролиза, углеводы расщепляются на простые сахара, белки на пептиды и свободные аминокислоты, а жиры превращаются в жирные кислоты внеклеточными ферментами, такими как целлюлазы, амилазы, протеазы и липазы, высвобождаемые микроорганизмами.

На втором кислотообразующем этапе продукты гидролиза превращаются в органические кислоты, такие как углекислота и низшие спирты, с помощью кислотообразующих бактерий.

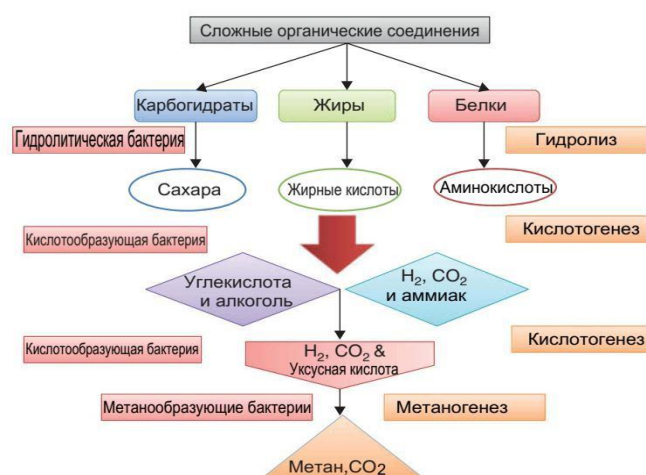


Рисунок 6.3 Схематическое изображение производства биогаза.

Поскольку эти бактерии являются факультативно-анаэробными и способны расти в кислой среде, впоследствии продукты ацидогенного процесса превращаются в уксусную кислоту (CH_3COOH), диоксид углерода (CO_2) и водород (H_2). Микроорганизмы нуждаются в кислороде и углероде для производства уксусной кислоты, и это создает анаэробную среду, подходящую для метанообразующих микроорганизмов. И наконец, бактерии, производящие метан, разлагают продукт ацидогенеза и производят метан. Если процесс хорошо сбалансирован, эти фазы синхронизируются. Температура является важным фактором, который определяет скорость производства биогаза. Биогаз можно получить при использовании психрофилов, мезофилов и термофилов в диапазоне температур. По мере повышения температуры скорость производства метана также увеличивается. Но повышение температуры связано с повышением концентрации свободного аммиака, что приводит к ингибированию производства метана. Другие факторы, такие как природа и концентрация субстрата, скорость подачи, значение pH (входной смеси в биореакторе должна составлять от 6 до 7), бактериальная популяция и химические индукторы и т.д., также существенным образом влияют на производство биогаза.

6.2.5.1 Микроорганизм в производстве биогаза

Биогаз - метан, получаемый в результате анаэробного сбраживания органического материала анаэробами. Различные микробы участвуют в пищевой цепи микробов и постепенно разлагают сложные молекулы, образуя смесь CH_4 и CO_2 . Первый этап гидролиза биомассы включает в себя ряд микроорганизмов, таких как *Clostridium thermocellum*, *Bi-dobacterium longum*, *Clostridium*

celluloliticum, Bacteroides thetaiotaomicron, Enterococcus faecalis, Bacteroides capillosus и др. Во втором этапе ацидогенеза, Slackia heliotrinireducens, Cloacamonas acidaminovorans, Clostridium kluyveri, Clostridium acetibutlicum, Clostridium perfringens, Clostridium saccharolyticum, Caldanaerobactersubterraneus, Finegoldia magna, Enterococcusfaecium, Lactobacillus helveticus и Streptococcus pneumoniae играют важную роль [2]. Микрофлора, состоящая в основном из Arboxydotherrnus hydrooformans, Morella thermoacetica и Pelotomaculum thermopropionicum участвуют в третьем этапе производства уксусной кислоты и CO₂. Наконец, метаногенез осуществляется с помощью ацетотрофов, включающих Methanosarcina barkeri, Methanosarcina acetivorans и гидрогенотрофы, которые включает Methanoculleus marisnigri, Methanoregula boonei, Methanosphaerula palustris, Methanospirillum hungatei, Methanoplanus petrolearius и Methanocorpusculum labreanum. Эти микроорганизмы очень чувствительны к изменениям окружающей среды, поскольку они строго анаэробны.

6.2.5.2 Субстраты для производства биогаза

Биогаз производится путем анаэробного сбраживания или ферментации биоразлагаемых материалов, таких как сточные воды, муниципальные отходы, зеленые отходы, растительный материал и сельскохозяйственные культуры (рис. 6.4 и 6.5). Фермеры могут производить биогаз из навоза крупного рогатого скота с помощью анаэробных реакторов. Можно также использовать навоз других сельскохозяйственных животных, таких как лошади, куры, свиньи. Помимо этого, отработанное масло, жир из отходов скотобойни, богатые органическими отходами промышленные стоки, органические бытовые или муниципальные твердые отходы, садовые отходы и гнилые пищевые продукты - все это можно потенциально использовать для производства биогаза. Органические отходы больниц, которые могут включать бумагу и хлопок, отходы сельского хозяйства или производства продуктов питания, осадок городских сточных вод и т.д., также являются расходными субстратами для производства биогаза. Некоторые культуры, такие как кукуруза (целое растение, включая початки), трава, клевер, молодой тополь и ива, специально выращиваются для производства биогаза.



Рисунок 6.4 Содержание метана в биогазе из различных отходов [23, 24].



Рисунок 6.5 Возможность производства биогаза из различных отходов [23, 24].

Однородное качество субстрата можно поддерживать в течение всего года путем хранения зеленого растительного материала в виде силоса. На рис. 6.4 и 6.5 показано содержание метана и потенциал производства биогаза в различных типах отходов.

6.3 Будущие перспективы и заключение

С экономической точки зрения для промышленности важно, чтобы сырье для производства

биотоплива было в широко доступно в течение года. В этом смысле некоторые страны могут не иметь достаточной биомассы в течение четырех сезонов, особенно из-за конкуренции биомассы для других целей. Диверсификация сырья биомассы в промышленности и регионализация производственных предприятий могут обеспечить решение этой проблемы. В будущем доступность пищевых продуктов для биотоплива в глобальном масштабе будет все более и более сокращаться по мере того, как возрастает потребность в продуктах питания для обеспечения большей продовольственной безопасности и для питания растущего населения планеты и удовлетворения растущего потребления продуктов, богатого белками. Следовательно, увеличение количества биомассы для производства биотоплива в любом значительном объеме, должно происходить главным образом из непищевых частей растений или из сельскохозяйственных отходов. Существует возможность для использования муниципальных органических отходов, отходов сельского хозяйства и отходов лесного и сельского хозяйства для производства жидкого биотоплива или биогаза (биотопливо второго поколения). Однако, для биогаза потребуются значительные вложения в переработку отходов путем анаэробного сбраживания, и ожидается, что биотопливо второго поколения не будет играть важную роль в биоэнергетике до 2020 года. Есть основания проявлять осторожность в отношении вклада биотоплива второго поколения из сельскохозяйственных отходов и лесного хозяйства, главным образом потому, что эти материалы выполняют важные функции экосистемы, которые ограничивают объемы извлечения. Некоторые сельскохозяйственные отходы также являются очень важными источниками корма. Производимые в настоящее время биотопливо первого поколения, по-видимому, обеспечивают незначительное или нулевое сокращение выбросов парниковых газов, если принять во внимание все последствия выращивания биомассы и производства топлива. Несмотря на разработку критериев защиты биоразнообразия и экосистемных услуг и схем сертификации, существуют серьезные опасения относительно устойчивости производства биотоплива и его воздействия на окружающую среду. Манипуляции с микроорганизмами для обеспечения конкурентоспособного с коммерческого производства топлива и химических веществ, таких как этанол, бутанол, изопреноиды и другие, из сахара и лигноцеллюлозы значительно продвинулись в последние годы. Действительно, было разработано и внедрено несколько процессов, основанных на модифицированных микроорганизмах, особенно видах дрожжей и бактерий. [25]. Задача получения микробных штаммов, способных работать в условиях промышленного процесса, все еще остается очень сложной. Использование модифицированных штаммов, обычно используемых в промышленности, особенно дрожжей и кишечной палочки, может решить эту проблему. Тем не менее, стратегии метаболической инженерии должны использоваться для стимулирования синтеза метаболитов через гомологичные и гетерологичные пути. Хотя в промышленности наиболее часто используемыми штаммами являются модифицированные продуценты топлива и химикатов, обычно рекомендуется тщательный анализ биоразнообразия, поскольку микроорганизмы могут естественным образом производить широкий спектр соединений. После того, как ферменты и метаболические пути в таких микроорганизмах идентифицированы и выделены, их можно использовать для разработки рекомбинантных штаммов для производства биотоплива. Ожидается, что штаммы для промышленного использования этих биологических процессов должны появиться в ближайшие годы.

Использованная литература

1. A. Demirbas, *Energy Conversation and Management*, Vol. 49 (8), p. 2106-2116, 2008.
2. R. Wirth, E. Kovacs, G. Maroti, Z. Bagi, G. Rakhely and K. L. Kovacs, *Biotechnology for Biofuels*, Vol. 5, p. 41, 2012.
3. M.R. Wilkins, L. Suryawati, N.O. Maness, and D. Chrz, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Vol. 23, p. 1161-1168, 2007.
4. P. Winayanuwattikun, *African Journal of Biotechnology*, Vol. 10 (9), p. 1666-1673, 2011.
5. V.S. Kumar, P. Gunasekaran, *Journal of scientific and industrial research*, Vol. 64, p. 845-853, 2005.
6. B.S. Dien, M.A. Cotta, and T.W. Jeffries, *Applied Journal of Biotechnology*, Vol. 63, p. 258-266, 2003.
7. J.N Nigam, *Journal of Biotechnology*, Vol. 87, p. 1727, 2001.
8. B.S Dien, M.A. Cotta, and T.W. Jeffries, *Applied Journal of Microbial. Biotechnology*, Vol. 63, p. 258-266, 2003.
9. N. Qureshi, and I.S Maddox, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, Vol. 80 (2), p. 185-189, 1995
10. T. Ito, Y. Nakashimada, K. Senba, T. Matsui and N. Nishio, *Journal of Bioscience and Bioengineering* Vol. 100, p. 260-265, 2005.
11. E.W. Van Niel, M.A. Budde, G.G. de Haas, F.J. Van der Wal, P.A. Claassen, and A.J. Stams, *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 27, p. 1391-8, 2002.
12. A.A. Zeidan, Ed. W.J. Van Niel., *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 35, p. 1128-37, 2010.
13. J. Wiegel, L.G. Ljungdahl, *Archives of Microbiology*, Vol. 128, p. 343-8, 1981.
14. P.S. Nigam and A. Singh, *Progress in Energy and Combustion Science*, Vol. 37(1), p. 52-68, 2011.
15. P. Sommer, T. Georgieva, B.K. Ahring, *Biochemical Society Transactions*, Vol. 32, p. 283-9, 2004.
16. H. Yanas, M. Masuda, T. Tamaki and K. Tonomura, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, Vol. 70, p. 1-16, 1990.
17. P. Su, S. F. Delaney and P. L. Rogers, *Journal of Biotechnology*, Vol. 9, p. 139-152, 1998.
18. DuPont Danisko Cellulosic Ethanol LLC, Fermentation, In: *Technology*, (April 4, 2011), Available from <http://www.ddce.com/technology/fermentation.html>, 2011.
19. Dominik, V.Z. Vladimir, W.H. Schwarz, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 77, p. 23-35, 2007.
20. Luisa Gouveia • Ana Cristina Oliveira, *Journal of Indian Microbiology and Biotechnology*, Vol. 36, p. 269-274, 2009.
21. E.W. Van Niel, M.A. Budde, G.G. de Haas, F.J. van der Wal, P.A. Claassen, and A.J. Stams, *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 27, p. 1391-8, 2002.
22. B. Richards, F.G Herndon, W.J Jewell, R.J Cummings, and T. E. White, *Biomass and Bioenergy*, Vol. 6 (4), p. 275-274, 1994.
23. B. Mursec, P. Vindis, M. Jansekovic, *Journal of achievements in Materials & Manufacturing Engineering*, vol. 37, p. 652-659, 2009.
24. A. Olukemi, Bolarinwa, and O Esther Ugoji, *Journal of Science Research & Development*, vol 12, p. 34-45, 2010.
25. J. Wiegel, L.G. Ljungdahl, *Archives of Microbiology*, Vol. 128, p. 343-8, 1981.

Микроводоросли в производстве биотоплива - текущий статус и будущие перспективы

Навнит Сингх Чаудхари
Факультет биотехнологии, университет
им. сэра Падампата Сингхания (SPSU),
Удайпур-313001, Раджастан (Индия)

Краткое изложение

Энергия играет ключевую роль в социально-экономическом развитии любой страны, что ведет к повышению уровня жизни и качества жизни. Текущая потребность в энергии удовлетворяется в основном за счет невозобновляемых ископаемых видов топлива. В будущем, возможно, будет чрезвычайно трудно удовлетворить растущий глобальный спрос на энергию со стороны стран с развивающейся экономикой мира из-за истощения и невозобновляемости ископаемого топлива.

Производство биотоплива из возобновляемых источников может снизить зависимость от ископаемого топлива и помочь в поддержании здоровой окружающей среды и экономической устойчивости. В настоящее время применяется несколько подходов к использованию микроорганизмов, таких как микроводоросли/цианобактерии, в производстве различных видов биотоплива, таких как биодизель, биоводород, биогаз и биоэтанол / биобутанол.

Микроводоросли с высоким содержанием биомассы и жирных масел для производства биотоплива и рассматриваются как потенциальные источники различных видов биотоплива. Многие виды микроводорослей/цианобактерий были исследованы для отбора, обработки, экстракции, разделения, и некоторые из них были модифицированы генетически и метаболически для производства соответствующего биотоплива из микроводорослей для удовлетворения быстро растущего спроса на энергию с учетом ограничений на земельные и водные ресурсы. Производство биотоплива из микроводорослей потенциально устойчиво при некоторых биотехнологических, экологических и экономических проблемах. Ключевые слова: биотопливо, микроводоросли, биоводород, биодизель, биогаз (биосинтез), биоэтанол, цианобактерии, генетическая и метаболическая инженерия.

7.1 Введение

Энергетика играет ключевую роль в социально-экономическом развитии любой страны, что ведет к повышению уровня жизни и качества жизни. Исследования биотоплива в настоящее время представляют огромный интерес из-за растущего мирового спроса на энергию со стороны развивающихся экономик и недавнего роста мировых цен на нефть. По данным Международного энергетического агентства World Energy Outlook, спрос на энергию, вероятно, увеличится на 40% в период до 2030 года. Спрос на жидкое биотопливо утроился с 2000 по 2007 год. Биотопливо обеспечивает 10% мирового энергопотребления, в то время как жидкое биотопливо составляет лишь 1,5% от транспортного топлива. Существует четыре основных типа коммерческого биотоплива: (i) биоводород, полученный из лигноцеллюлозной биомассы путем микробного фотолиза и ферментации, (ii) биогаз, полученный из сельскохозяйственных и животных отходов или из лигноцеллюлозой биомассы путем анаэробного сбраживания, (iii) биобутанол и биоэтанол, полученный из сахара, крахмальных культур и лигноцеллюлозной биомассы путем осахаривания и ферментации (iv) биодизель, полученный из масличных культур и лигноцеллюлозных материалов. В настоящее время изучается множество подходов к использованию микроорганизмов для производства различных видов биотоплива, таких как спирт, водород, биодизель и биогаз из нескольких исходных материалов. Как пищевые, так и непищевые масла могут служить сырьем для производства биодизеля. Когда для производства биодизеля используются пищевые масла, это

оказывается неэффективным с учетом затрат, поскольку оно также повышает стоимость приготовления пищи, когда в основном используется растительное масло. Исследования по производству этанола из растительного сырья были начаты немецкими учеными еще в 1898 году и продолжались в Соединенных Штатах во время Первой мировой войны. Эти процессы включали использование окисления для производства глюкозы из древесины и последующую ферментацию анаэробными микроорганизмами. Но в таких странах, как Индия, где производство пищевого масла не намного выше, особое внимание уделяется непищевым маслам из растений, таких как ятрофа, понгамия, махуа и т.д. Эти растения можно выращивать в промышленных масштабах на сельскохозяйственных, деградированных, заброшенных землях, чтобы сырье было доступно для производства биодизеля на уровне фермерских хозяйств. Наличие земли считается основным ограничением для производства биотоплива из непищевого масла. Это создает конкурентную ситуацию посевным площадям, из-за которых цены могут расти на продукты питания из сельскохозяйственного сырья. Кроме того, биотопливо из масличных культур, отработанного кулинарного масла и животного жира может быть недостаточно для удовлетворения существующего спроса на транспортное топливо. Вышеуказанные ограничения можно в значительной степени избежать путем изучения получения биодизеля из микроводорослей. Микроводоросли являются перспективным и потенциальным источником триглицеридов, и в некоторых случаях продуктивность микроводорослей в масле значительно превышает продуктивность масел лучших масличных культур [1]. Содержание масла в микроводорослях варьируется от 20 до 50% и иногда может достигать 80% от массы сухой биомассы в сравнение с 5% лучших сельскохозяйственных масличных культур. Как и растения, микроводоросли также используют солнечный свет для производства масел, но они делают это более эффективно, чем сельскохозяйственные растения. В отличие от масличных культур, микроводоросли растут быстрее, и для их выращивания требуется меньше земли. Обычно они удваивают свою биомассу в течение 24 часов в сравнение с растениями, когда требуется несколько лет для того, чтобы из них можно было извлечь масло. Микроводоросли можно выращивать в ряде сред, которые не подходят для выращивания других культур, таких как пресная, солоноватая или соленая вода или неплохотные земли, которые не подходят для традиционного сельского хозяйства. Для производства биодизеля использование микроводорослей не будет негативно влиять на производство продуктов питания, кормов или других продуктов, полученных из сельскохозяйственных культур. Масло, извлеченное из микроводорослей, преобразуется в сложные алкиловые эфиры (биодизельное топливо) в присутствии катализатора, и глицерин выделяется в качестве основного побочного продукта, который можно использовать для других промышленных целей. Наконец, биомассу после экстракции масла, можно переработать в этанол или метан, чтобы также использовать как биотопливо, корм для скота или органическое удобрение. Биодизель из микроводорослей обладает огромным потенциалом для поддержания устойчивости энергетических запасов и снижения климатических изменений в результате выброса парниковых газов. Исследования в середине двадцатого века убедительно продемонстрировали способность различных грибов и бактерий расщеплять целлюлозу и другие растительные полимеры. Такие исследования представляли в основном академический интерес из-за наличия обильных, безопасных и недорогих поставок ископаемого топлива. Производство биотоплива из возобновляемых источников может снизить зависимость от ископаемого топлива и помочь в поддержании здоровой окружающей среды и экономической устойчивости. Биомасса производимого в настоящее время биотоплива - это продовольственный запас человека, который, как считается, вызывает нехватку продовольствия и неудовлетворенность во всем мире, особенно в развивающихся странах. Таким образом, микроводоросли могут обеспечить альтернативное сырье для биотоплива благодаря их быстрому росту, способности к улавливанию парниковых газов и высокого содержания липидов, и в виду того, что микроводоросли не влияют на спрос на продовольственные культуры для человека и животных. Более того, их можно выращивать на неплохотных землях и в соленой воде. В этой главе обсуждается главным образом потенциал микроводорослей в производстве жидкого биотоплива и побочных продуктов. Многие полезные свойства, такие как высокое содержание липидов, высокая скорость роста, способность быстро улучшать штаммы, образование побочных продуктов и отказ от пахотных земель, делают микроводоросли прекрасным дополнением к портфолио устойчивого топлива. Таким образом, существует большое требование для установления микроводорослей как экологически и экономически жизнеспособную платформу с уделением внимания на сочетание производства биотоплива с производством побочных продуктов, что является важной стратегией для экономической жизнеспособности и широкого применения этого потенциального источника

биотоплива.

7.2 Микроводоросли в производстве биотоплива

Биотопливо обычно называют твердым, жидким или газообразным топливом, полученным из органических веществ. Значительная часть дискуссий о производстве биотоплива была посвящена высшим растениям и проблемам, связанных с их использованием, таких как потеря экосистем, глобальное потепление, отступление ледников, повышение уровня моря, потеря биоразнообразия или повышение цен на продукты питания. [2, 3]. Несколько вариантов на основе микроорганизмов создает возможность для производства большого количества возобновляемой энергии без сбоев. Нынешняя потребность человеческих обществ в энергии стимулирует критическую зависимость от ископаемого топлива. Таким образом, интерес к биотопливу из микроводорослей растет, что вызвано пиковыми ценами на сырую нефть, энергетической безопасностью, выбросами парниковых газов и конкуренцией на сельскохозяйственные продовольственные товары. У микроводорослей большой потенциал для производства биотоплива, потому что содержание масла может превышать 70% в сравнении с 5% лучших сельскохозяйственных масличных культур. Микроводоросли представляют собой одноклеточные микроскопические организмы, обитающие в пресной воде и морской среде. Микроводоросли считаются одними из древнейших живых организмов на нашей планете. Связь между микроводорослями и биотопливом является многообещающей из-за собственной автотрофной способности микроводорослей. Микроводорослям требуется только вода, атмосферный CO_2 и солнечный свет для синтеза биомассы, которая доступна практически без затрат. Существует более 300 000 видов микроводорослей, которые значительно разнообразнее растений [4]. Это таллофиты, лишённые корней, стеблей и листьев, у которых хлорофилл является основным фотосинтетическим пигментом и у которых отсутствует бесплодная оболочка вокруг репродуктивных клеток [5]. Механизм фотосинтеза у микроводорослей аналогичен механизму сосудистых растений, и они обычно являются более эффективными преобразователями солнечной энергии из-за простоты их клеточной структуры и функции. Кроме того, поскольку клетки микроводорослей растут в водной суспензии, они имеют более эффективный доступ к воде, CO_2 и другим питательным веществам [6]. В нормальных условиях автотрофные микроводоросли используют солнечный свет и извлекают неорганический углерод из атмосферы для усваивания их в виде углеводов и липидов, которые можно использовать для производства биотоплива [7]. Как правило, микроводоросли классифицируются в соответствии с их цветами. Современные системы классификации микроводорослей основаны на следующем i) виды пигментов, ii) химический характер запасных веществ и iii) компоненты клеточной стенки [6, 7]. Ясно, что некоторые виды микроводорослей могут иметь содержание масла до 80% от их сухой массы тела. Как упоминалось ранее, некоторые микроводоросли могут удвоить свою биомассу в течение 24 часов, а самое короткое время удвоения в течение их роста составляет около 3,5 часов, что делает микроводоросли идеальным возобновляемым источником для производства биотоплива.

7.3 Сравнение цианобактерий с микроводорослями в производстве биотоплива

Цианобактерии, иначе называемые сине-зелеными водорослями, с их выдающимися способностями к фотосинтезу, могут преобразовывать до 10% энергии солнца в биомассу против 1%, зарегистрированного традиционными энергетическими культурами, такими как кукуруза или сахарный тростник, или 5%, достигнутыми водорослями. Фотосинтетические цианобактерии, такие как микроводоросли, потенциально могут использоваться для производства биотоплива экономически эффективным и экологически устойчивым методом [8]. Цианобактерии - это кислородсодержащие фотосинтетические бактерии, которые играют важную роль во всеобщем органическом связывании углерода, производстве кислорода и круговороте азота. Цианобактерии могут быть освоены в качестве отличной фабрики микробных клеток, способной улавливать солнечную энергию и перерабатывать атмосферный CO_2 в полезные продукты. Цианобактерии были обнаружены около миллиарда лет назад и, скорее всего, сыграли ключевую роль в образовании атмосферного кислорода, в конечном итоге превращаясь в хлоропласты водорослей и зеленых растений. [9]. Цианобактерии проявляют разнообразие в своем метаболизме, структуре, морфологии и среде обитания. Более того, цианобактерии и микроводоросли имеют простые требования к росту и

эффективно используют свет, CO₂ и другие неорганические питательные вещества. Цианобактерии и микроводоросли - это единственные известные на сегодняшний день организмы, способные образовывать как водород, так и кислородный фотосинтез. Биологическое производство H₂ микроорганизмами с использованием солнечной радиации представляет большой общественный интерес, поскольку оно дает надежды на возобновляемый носитель энергии из самых обильных природных ресурсов, солнечной энергии и воды.

Их исследовали для получения всевозможного сырьевого материала для производства энергии, таких как водород, путем прямого синтеза в цианобактериях, углеводородах и изопреноидах в целях производства бензина, липидов для производства биодизеля и реактивного топлива и углеводов для производства этанола. Помимо этого, вся водорослевая биомасса также может быть перерабатываться для производства биосинтетического газа, гидротермальной газификации для производства водорода или метана, производства метана путем анаэробного сбраживания и совместного сжигания для производства электроэнергии. Поскольку системы цианобактерий и микроводорослей могут способствовать устойчивому производству биоэнергии, необходимо преодолеть различные биотехнологические, экологические и экономические проблемы, прежде чем энергетические продукты из этих систем станут достоянием общественности. Существует несколько аспектов производства биотоплива из цианобактерий и микроводорослей, которые в совокупности привлекли интерес исследователей и предпринимателей во всем мире [9]. Преимущества следующие:

Оба способны выполнять кислородный фотосинтез, используя воду в качестве донора электронов.

- Массовое культивирование для промышленной добычи как цианобактерий, так и микроводорослей эффективно можно выполнить с учетом их высокой плотности и высокой производительности, в сравнении с обычными наземными пищевыми и масличными культурами.
- Оба являются сырьевыми ресурсами на непищевой основе и используют непродуцирующие необрабатываемые земли.
- Оба используют широкий круг водных источников, таких как пресная вода, солоноватая вода, морская вода и сточные воды.
- Оба производят биотопливо и ценные побочные продукты.

7.4 Применение цианобактерий и микроводорослей в производстве биотоплива

Прежде всего, индустрия микроводорослей ориентирована на пищевые продукты для личного потребления, на долю которых приходится 83–90% общей мировой стоимости морских водорослей. Некоторые важные свойства микроводорослей, типичные для высших растений, такие как эффективный кислородный фотосинтез, простые потребности в питании, высокие скорости роста и способность накапливать, или выделять метаболиты, обеспечат главное обоснование целесообразности биотехнологии микроводорослей в ближайшем будущем. Кроме того, огромный запас существующих видов микроводорослей (по оценкам, от 100 000 до 300 000) представляет собой уникальный резервуар биоразнообразия, который обеспечивает потенциальное промышленное освоение многих продуктов с высокой добавленной стоимостью, например, витаминов, пигментов и полиненасыщенных жирных кислот [10, 11]. Эти соединения могут благоприятно способствовать повышению конкурентоспособности производства биотоплива из микроводорослей с учетом биоперерабатывающего подхода. Научно-исследовательские достижения, направленные на разработку биотоплива из водорослей, значительно выросли в последние годы из-за экономической жизнеспособности операций с микроводорослями в больших фотобиореакторах, обработки биомассы и метаболитов до достаточно высоких уровней и экстрагируемых форм [12, 13]. Исследования последних шести десятилетий показали, что цианобактерии и микроводоросли производят разнообразные химические полупродукты и углеводороды, предшественников биотоплива. Следовательно, микроводоросли/ цианобактерии для топлива обещают стать потенциальным заменителем продуктов, получаемых в настоящее время из ископаемого топлива. Микроводоросли и цианобактериальную биомассу можно прямо использовать в качестве источников пищи или различных видов сырья. Можно получить всевозможные важные биомолекулы, такие как антиоксиданты, пигменты, лекарственные средства и биоактивные соединения. При вываривании в анаэробных условиях биомасса может быть преобразована в биогаз (биометан). Фотосинтетическая система цианобактерий способна разбивать электроны, возникающих в результате двух первичных

реакций, непосредственно в выработку H_2 . Кальвина цикл приводит к выработке углеводов, белков, липидов и жирных кислот. Углеводы могут перерабатываться в биоэтанол путем биологического разложения. Липиды могут превращаться в биодизель. Жирные кислоты в процессе биологического разложения образуют ацетат, бутират и пропионат, которые при стабилизации образуют CH_4 , H_2 и e^- [14].

7.4.1 Преимущества микроводорослей над высшими растениями

В настоящее время эти два вида наиболее распространенных и оправданных биотоплива для крупносерийного производства - это этанол из кукурузы или сахарного тростника и биодизель из масличных культур, таких как соевое или пальмовое масло [15]. Эти продовольственные культуры привлекают интерес и широко используются в качестве сырьевого материала для производства биотоплива благодаря хорошо зарекомендовавшим себя агротехнике и простым, недорогим процессам выделения крахмалов, сахаров и масел. Однако использование продовольственных культур для производства биотоплива является лишь частичным решением и не может полностью удовлетворить спрос на возобновляемые виды топлива. Например, в Соединенных Штатах для получения федерального мандата 2020 года на возобновляемое топливо с кукурузным этанолом потребовалось бы приблизительно 100% доступного в настоящее время урожая зерна в стране [16]. В последние годы увеличение спроса на пищевые культуры, используемых в области применения топлива, привел к обеспокоенности по поводу нехватки продовольствия, роста цен на продовольственные товары и загрязнения сельскохозяйственных земель [7]. Что касается перечисленных проблем, микроводоросли являются заманчивым возобновляемым источником для производства биотоплива, обладающим многими преимуществами по сравнению с земной биомассой из пищевых или целлюлозных материалов. Ниже приведены преимущества морских водорослей (макроводорослей и микроводорослей) как привлекательного возобновляемого источника для производства биотоплива по сравнению с биомассой из традиционных наземных растений [8, 17, 18]. Данные преимущества сформулированы ниже.

Традиционные наземные растения малоэффективно поглощают солнечную энергию, и в сравнении с микроводорослями могут достигать 10%.

Ориентировочное время их удвоения (~ 24 ч) происходит значительно быстрее, чем у любой масличной культуры, и, в принципе, не зависит от погоды при минимуме солнечных часов.

Они требуют даже еще меньше воды, чем наземные культуры для орошения.

Обыкновенная морская вода, дополненная промышленными нитратными и фосфатными удобрениями, и несколько дополнительных микробиогенных элементов, доступных в продуктах аквакультуры, являются единственными питательными веществами, требующихся для микроводорослей, потому что атмосферный CO_2 доступен бесплатно, а их галофильный характер обеспечивает экологические преимущества по сравнению с быстрорастущими микроорганизмами, таких как бактерии.

Морские водоросли обладают относительно высокой эффективностью конверсии фотонов, и, таким образом, могут быстро синтезировать биомассу в ходе ассимиляции природных богатств, таких как солнечный свет, CO_2 и неорганических питательных веществ.

Для быстрой эволюции штаммов могут использоваться высокопроизводительные технологии, с учетом того, что морские водоросли представляют собой одноклеточные организмы, размножающиеся путем деления. Это может сократить процессы, которые занимают годы у сельскохозяйственных растений, до нескольких месяцев у водорослей.

Урожайность водорослей на единицу площади значительно выше, чем у наземной биомассы.

Их можно выращивать на земле, которая не будет использоваться для традиционного сельскохозяйственного назначения, и они очень эффективны при удалении питательных веществ из воды. Таким образом, производство биотоплива из водорослей сводит к минимуму использование земли по сравнению с наземными растениями.

Микроводоросли имеют большую способность для закрепления CO_2 по сравнению с наземной биомассой в повышенном размере.

Микроводоросли лишены гемицеллюлозы и лигнина и, по этой причине, могут относительно легко деполимеризоваться по сравнению с лигноцеллюлозной биомассой у большинства наземных растений.

Водорослевые производственные штаммы, также способны быть биотехнологическими,

допуская улучшение специфических особенностей и выработку ценных побочных продуктов, что может позволить водорослевому биотопливу экономически конкурировать с ископаемым топливом.

Микроводорослям не требуются пахотные земли, они могут быть выращены в различных условиях морской среды, включая пресную, солоноватую и бытовую сточную воду.

• Способность микроводорослей расти в солоноватых или сточных водах имеет решающее значение для устойчивого производства биотоплива, во избежание конкуренции с продовольственными культурами, требующих пресную воду и обрабатываемую землю.

Виды микроводорослей, исследуемые в качестве потенциальных биотопливных культур, происходят из групп, родственные отношения которых значительно шире, чем у самых разных наземных растений.

Несмотря на то, что они выращиваются в водных средах, микроводорослям требуется более низкая скорость обновления воды, по сравнению с тем, как наземным культурам требуется оросительная вода.

Их можно культивировать в солоноватых водах, и они не нуждаются в применении пестицидов.

7.4.2 SWOT-анализ микроводорослей в производстве биотоплива

Что касается крупномасштабной, перспективной и экономически обоснованной работы, желательные характеристики для производства биотоплива ограничены несколькими помехами. Краткий анализ сильных и слабых сторон, возможностей и угроз (SWOT) кратко описан здесь [18]:

Преимущества:

- Микроводоросли используют солнечный свет и CO₂ (источник углерода), которые всегда доступны из атмосферы и дымовых газов.
- Все микроводоросли способны производить масла, богатые энергией, а ряд видов микроводорослей, как оказалось, естественным образом накапливает повышенные уровни масла в общей сухой биомассе.
- Морские микроводоросли выдерживают сильносоленую среду, что является конкурентоспособным преимуществом по сравнению с большинством негалофильных микробиологических хищников, таких как бактерии.
- Особи микроводорослей растут в широком разнообразии водных сред, от пресной воды до насыщенного солевого раствора
- Разнообразие водорослей, с потенциальными миллионами видов, дает исследователям множество вариантов для идентификации производственных штаммов, а также предоставляет источники генетической информации, которую можно использовать для улучшения этих производственных штаммов.
- Физиологическое состояние микроскопических водорослей можно метаболически изменить с целью контроля синтеза биоактивных соединений.

Недостатки:

- Биохимическая оптимизация трудна в отношении микроводорослей, так как большинство метаболических путей не полностью известны и изучены.
- Затрудненное выделение микроводорослей из их питательных сред в связи с их небольшим размером и планктонного распространения.
- Разрушение клеточной стенки для искоемых внутриклеточных метаболитов является затрудненным и приводит к неопределенным смесям.
- Комплексный контроль внутриклеточных реакций затруднен из-за зарождающейся структуры регулирования обмена веществ у микроводорослей.
- Потенциальные возможности:
- CO₂ является важным компонентом дымовых газов и служит причиной глобального потепления через парниковый эффект.
- При нескольких формах стресса индукции вторичного метаболизма микроводорослей останавливают рост и запускают синтез липидов.
- Разработка инструментов метаболической и геномной инженерии для усиления производства метаболитов благодаря исследованиям геномов микроводорослей.

Риски:

- Из-за чрезмерного разбавления и плохой растворимости атмосферного CO_2 в воде выработка биомассы и липидов из микроводорослей низкая.
- Поглощение CO_2 микроводорослями приводит к нежелательному увеличению pH, что приводит к образованию H_2CO_3 и ионизации воды.
- Условия, доступные в настоящее время для микроводорослей, не были рассчитаны на конкретный синтез метаболитов, поэтому метод проб и ошибок с типовыми средами является общепринятой практикой.
- Солнечному свету трудно проникнуть в культуры микроводоросли с высокой плотностью, как требуется для поддержания капитальных затрат на арендованные земли и реакторы.
- Экономическая оценка должна содержать всю биоперерабатывающую методику, поэтому готовность платить за товары и допускать воздействие на окружающую среду является частью процесса принятия решений.
- Главными задачами являются: изолирование штаммов, получение и использование питательных веществ, управление добычей, сбор урожая, разработка побочных продуктов, добыча топлива, очистка и утилизация остаточной биомассы.
- Утилизация и сжигание отходов биомассы микроводорослей, оставшейся после выделения метаболитов, приводит к загрязнению.

7.5 Выбор микроводорослей для производства биотоплива

Микроводоросли содержат явные преимущества по сравнению с высшими растениями с точки зрения продуктивности масла. Помимо синтеза накопленных липидов в форме триглицеридов, они могут вызывать появление их значительного количества вследствие отдельных форм стресса [19]. Однако для успешного отбора особого дикого штамма микроводорослей следует рассматривать много стандартную стратегию [19, 20]. Эти стандарты следующие:

- Скорость роста штаммов микроводорослей.
- Количество и качество липидов, особенно спектр остатков жирных кислот в ацилглицеролах.
- Реакция на режим обработки, такие как температура, поступление питательных веществ, потребность в освещении и конкуренция с другими видами микроводорослей и бактерий.
- Потребность в питательных веществах и скорость поглощения CO_2 , азота и фосфора в меньшей степени (особенно, когда необходимо искать солоноватые воды и сельскохозяйственные стоки).
- Простота сбора биомассы, добычи нефти и дальнейшей обработки.
- Возможность одновременно получать химикаты с высокой добавленной стоимостью для пищевых продуктов, косметических препаратов или фармацевтической продукции.
- И наконец, выбор штамма следует проводить в интерактивном режиме с использованием среды для выращивания и конструкции реактора.

Сильные стороны и возможности выбора микроводорослей для производства биодизеля представлены, как описано в предыдущем разделе SWOT-анализа. Тем не менее, технологические помехи, возникающие из-за слабых мест и рисков, требуют рационального подхода, при котором свойственные и вторичные параметры играют роль в метаболизме микроводорослей. Поэтому конкретные штаммы микроводорослей, которые будут отобраны для производства биодизеля, должны планомерным образом решать следующие проблемы [18, 19, 21]

- Оптимальный, а не ускоренный рост, поэтому вместо эмпирических подходов следует искать структурные модели и объективную оптимизацию.
- Для возможности учета количества и качества липидов алкан в противовес синтезу глицеридов.
- Проводимость вместо выделения CO_2 , для увеличения секвестрации помимо усвоения азота и фосфора.
- Гетеротрофный, а не автотрофный, метаболизм для использования питательных веществ в отходах и стоках.
- В целях увеличения эффективности фотосинтеза и энергосбережения необходима трансмиссия, а не падение света.
- Для снижения высоких затрат иного содержания на последующую переработку требуется

интеграция, а не разделение переработки.

- Выведение, а не накопление липидов для содействия выделению продукта (-ов).
- Экологическая устойчивость в противовес экономической, поэтому все соответствующие факторы учитываются при ценообразовании на биодизельное топливо.

7.6 Культивация микроводорослей для производства биотоплива и побочных продуктов

Сбор солнечной энергии с помощью фотохимического синтеза является одним из поразительных достижений природы. Микроводоросли находятся в существенной зависимости от достаточного запаса углерода и света для проведения фотосинтеза и превращения неорганических веществ в простые сахара с использованием захваченной энергии. В любом случае, они используют более одного типа обмена веществ, то есть гетеротрофный, миксотрофный, фотогетеротрофный и фотоавтотрофный. Они также могут подвергаться метаболическим сдвигам в ответ на условия роста [19]. Типичными примерами являются *Chlorella vulgaris*, *Haematococcus pluvialis* и *Arthrospira platensis* (*Spirulina*), все из которых могут расти в фотоавтотрофных, гетеротрофных и миксотрофных условиях [20] или *Selenastrum capricornutum* и *Scenedesmus acutus*, которые действуют как фотоавтотрофно, гетеротрофно и миксотрофно [22]. При фототрофном культивировании наблюдается значительное изменение содержания липидов, которое варьируется от 5 до 68% в зависимости от вида микроводорослей, при этом наибольшая продуктивность липидов, по имеющимся данным, составляет $179 \text{ мг L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ для *Chlorella* spp. [19]. Основными факторами, определяющими скорость роста микроводорослей, являются свет, идеальная температура, среда для роста, аэрация, pH, требования к CO_2 и периоды света и темноты. Некоторыми из важных питательных веществ, необходимых для роста микроводорослей, являются NaCl, NaNO_3 , MgSO_4 , CaCl_2 , KH_2PO_4 , лимонная кислота и некоторые микроэлементы.

Для выращивания различных микроводорослей были проведены обширные исследования с использованием различных систем культивирования, начиная с строго контролируемых лабораторных (закрытых фотобиореакторов) методов до менее предсказуемых методов в наружных водоемах (открытых прудах). Загороженные фотобиореакторы более подходят для культур, которые легко загрязняются, тогда как открытые системы предпочтительнее для микроводорослей, способных выживать в экстремальных условиях роста и окружающей среде с высоким pH (например, *Spirulina*) или соленостью (например, *Dunaliella* spp.), или которые очень быстро растут (например, *Chlorella* spp.). Наиболее распространенные системы включают малоглубинные большие водоемы, пруды, циркулярные пруды и резервуары с каналами для отвода [23–25]. Одним из основных преимуществ открытых водоемов является то, что их легче строить и эксплуатировать, чем большинство закрытых систем [26]. Однако основные препятствия в открытых водоемах включают плохое потребление света клетками, потери на испарение, рассеивание CO_2 в атмосферу, а также потребность в большом количестве воды, земли и низкой продуктивности биомассы [27]. Наземные системы прудов для выращивания микро- и макроводорослей имеют ряд преимуществ по сравнению с культивированием на открытой морской воде, такие как простое применение питательных веществ и предотвращение плохой погоды, болезней и хищничества. При этом, наземные системы могут быть объединены с аквакультурой других видов, таких как рыба, чтобы обеспечить отходы в качестве дешевого источника питательных веществ для микро- и макроводорослей. Системы открытых водоемов, на самом деле, относительно недорогие, а основные требования к фототрофному росту микроводорослей сводятся к атмосферному CO_2 и только нескольким доступным микроэлементам (помимо солнечного света). Наряду с этими преимуществами, применение систем с открытыми прудами для подачи биомассы на рынок биотоплива потребовало бы сокращения затрат на строительство пруда и технологий для значительного расширения по сравнению с современной практикой [28].

Альтернативным решением открытым водоемам являются закрытые пруды (закрытые биореакторы), где контроль над окружающей средой намного лучше, чем открытых водоемах. Закрытые биореакторные системы более дорогостоящие, чем открытые пруды, и значительно дешевле, чем фотобиореакторы. Фотобиореакторы закрытого типа обладают свойством очищать газообразные продукты горения электростанции и/или удалять питательные вещества из сточных вод, но и требуют работы в стерильных условиях, таким образом, поддерживая более жесткие санитарно-гигиенические меры, добавленные к окончательной стоимости биодизеля. Закрытые фотобиореакторы позволяют выращивать больше видов, выращивать их в преобладающем

количестве и продлевать вегетационный период. Обычно закрытые пруды используются при выращивании *спирулины* [29]. С другой стороны, они дают возможность оптимизировать путь прохождения света с помощью различительных форм, созданных для улучшения подачи света и производительности биомассы. Они могут распределять солнечный свет по большей площади поверхности, которая может быть в 10 раз выше, чем площадь зоны обслуживания реактора, и можно избежать испарения. Это позволяет культивировать микроводоросли также в засушливых районах, где классическое наземное выращивание невозможно. Закрытые фотобиореакторы имеют разные типы, такие как вертикальные реакторы, реакторы с плоскими пластинами, кольцевые реакторы, устройства из полиэтиленовых пакетов и различные формы трубчатых реакторов, все они перемешиваются механически или с помощью воздушного подъема [30]. Сдерживающими факторами являются высокая стоимость реактора и потребность во вспомогательной энергии. Тем не менее, продолжающиеся исследования в области реакторов являются перспективными и приведут к более дешевым и более энергоэффективным образцам [27].

Ожидается, что культивирование микроводорослей на станциях очистки канализации и сточных вод принесет двойную пользу окружающей среде, поскольку этот метод может быть использован для извлечения питательных веществ из сточных вод и превращения их в жиры для производства биодизеля, тем самым снижая загрязнение атмосферы [31]. Еще одним экономичным способом выращивания микроводорослей является морская вода (соленая вода). Морская вода - это раствор соли практически постоянного состава, растворенной в разном количестве воды, который содержит необходимые питательные вещества для роста микроводорослей. В морской воде растворено более 70 элементов, причем шесть из них составляют >99% всех растворенных солей; все они встречаются в виде ионов электрически заряженных атомов или групп атомов натрия (Na^+), хлора (Cl^-), магния (Mg^{2+}), калия (K^+), сульфата (SO_4^{2-}) и кальция (Ca^{2+}) [32].

7.7 Сбор и сушка микроводорослей

Со значительными трудностями сталкиваются инженеры при разработке менее затратных для крупномасштабной обработки фотобиореакторов (PBR), а также инженеры и биологи, объединяющие усилия для разработки видов, эффективно растущих в недорогих открытых системах [26]. Существует довольно низкая концентрация биомассы, получаемая системами культивирования микроводорослей вследствие ограничения проникновения света (обычно в диапазоне 1-5 г/л) и небольшого размера клеток микроводорослей (обычно в диапазоне 2 –20 мкм в диаметре). Для сбора урожая биомассы микроводорослей были исследованы различные технологии, в том числе химическая флокуляция, седиментация, фильтрование и центрифугирование. Культурам микроводорослей требуются такие стадии обработки, как сбор урожая, обезвоживание (сушка) и экстракция предшественников топлива. Выбор последующих процессов зависит от типа культуры, сырья и желаемого продукта. Получение топлива с высоким содержанием воды и высоким содержанием азота (N) и фосфора (P) является основным ограничением последующей переработки микроводорослей. Помимо этого, другие экономические и практические вопросы, такие как затраты энергии, место расположения установки, транспортировка, качество воды и вопросы переработки отходов, представляют собой серьезную проблему, требуют большего внимания и должны быть решены должным образом в целях разработки подходящей стратегии по переработке микроводорослей в топливо [14, 33].

Термин «сбор урожая» относится к концентрации взвешенных частиц водорослей до получения густотертой пасты/сухой массы в зависимости от потребности в желаемом продукте. Основные методы включают фильтрование, центрифугирование, седиментацию и флотацию. Фильтрование, простой по существу процесс, обычно выполняется на мембранах различного рода с помощью всасывающего насоса. Самым большим преимуществом фильтрования является то, что оно может собирать клетки очень низкой плотности. Тем не менее, до настоящего времени самыми большими препятствиями оставались различные проблемы, такие как засорение фильтра, эффективное восстановление клеточной массы и требования к промыванию [14, 34]. Некоторые методы, такие как вакуум обратного потока, прямой вакуум с перемешивающей лопастью над фильтром для предотвращения оседания частиц и другие изменения в установке фильтрования, делают этот процесс экономически целесообразным [35]. Центрифугирование - это метод оседания клеток водорослей на дне пробирки с применением центробежной силы. Самым большим преимуществом технологий центрифугирования является высокая производительность переработки

большого количества воды и культур. В коммерческом и промышленном масштабе методы центрифугирования экономически целесообразны на долгосрочной основе [36]. Флоккуляция - это метод, при котором флоккулянты (химические добавки) добавляются для увеличения размера клеточных соединений. Некоторые, уже изученные, химические добавки - это квасцовая мука, известь, целлюлоза, соли, полиакриламидные полимеры, поверхностно-активные вещества, хитозан и другие. Регулирование pH суспензии и биофлоккуляция (совместное культивирование с другим организмом) являются другими вариантами химических добавок. За флокуляцией всегда следует либо седиментация, либо флотация. Естественно, флокуляция приводит к седиментации во многих старых дегенерирующих культурах, в противном случае для ускорения седиментации необходима принудительная флокуляция. Чтобы вызвать флотацию, через суспензию клеток газифицируется воздух, в результате чего клеточные кластеры всплывают на поверхность, а верхний слой удаляется как накипь [14, 36–38]. Сушка биомассы перед дальнейшей экстракцией липидов/биопродуктов и/или термохимической обработкой является еще одним шагом, который необходимо принять во внимание. Обезвоживание и сушка используются для достижения более высоких концентраций сухой массы. Для обеспечения тепла, необходимого для сушки используются барабанные сушилки и другие термокамеры [39, 40]. Тем не менее, затраты круто возрастают с увеличением времени и температуры. В условиях низкой влажности также возможны сушка на воздухе и солнце. Это, вероятно, самые дешевые методы сушки, которые были использованы для переработки микроводорослевой биомассы. Однако этот метод требует длительного времени для сушки, требует большой площади сушки, а также появляется риск потерь некоторые биореактивные продукты. Полочная сушка под низким давлением является еще одной недорогой технологией сушки, которая была исследована [14, 39].

7.8 Переработка, экстракция и сепарация микроводорослей

Микроводоросли отличаются от исходного сырья традиционной биомассы в нескольких отношениях, таких как химия клеточной стенки, наличие большого количества воды и меньший размер их клеток. Эти различия подчеркивают важность особых техник экстракции. Для экстракции биомассы/биотоплива применимы различные методы, такие как механический, химический и ферментативный. Производство биодизеля требует высвобождения липидов из их внутриклеточного месторасположения, что должно быть сделано наиболее энергоэффективным и экономичным способом, чтобы избежать использования большого количества органических растворителей. Это должно максимально увеличить объем жидкого биотоплива без значительного восстановления других побочных продуктов, как, например, ДНК и хлорофилл [4]. С учетом вышесказанного, сначала следует применить расщепление клеток, потому что большинство микроводорослей обладает сильной клеточной стенкой. Общий выход экстракта во многом зависит от степени и качества разрушения клеток. Можно использовать несколько методов, и выбор зависит в зависимости от стенки микроводоросли и прицельного метаболита (-ов). Они основаны на механическом воздействии (например, клеточные гомогенизаторы, бисерные мельницы, ультразвук, автоклавирование и сушка распылением) или немеханическом действии (например, замораживание, экстракция органическими растворителями, осмотический шок и реакции на кислотной основе или ферментопопосредованной реакции). [20]. Клеточная структура представляет собой серьезный барьер для доступа к биомолекулам, а перед любой дальнейшей обработкой биомасса должна быть механически разрушена. Наиболее распространенными из них являются: (i) замораживание и размораживание [41, 42], (ii) измельчение клеток при замораживании в жидком азоте [43], (iii) молекулярная сушка с последующим измельчением, (iv) прессование (с помощью экспеллера), (v) ультразвуковая обработка, (vi) биение шариков и (vii) гомогенизаторы. Химические методы включают: (i) метод гексанового растворителя [44], (ii) экстракцию Сокслета (гексан/петролейный эфир) [45], (iii) две системы растворителей [46], (iv) сверхкритическую флюидную экстракцию (метанол или CO₂) [47], (v) ускоренную экстракцию растворителем при высоком давлении, (vi) субкритическую водную экстракцию [48, 49], (vii) выжимание (двухфазную систему водосодержащей и органической фаз) [50], и (viii) трансэтерификацию [51]. Ферментативная экстракция использует такие ферменты, как целлюлоза и ксиланаза, для разрушения клеточных стенок, что значительно облегчает фракционирование. Однако затраты на этот процесс экстракции на данный момент делают этот процесс неэффективным. Осмотический шок - это внезапное изменение осмотического давления, которое может привести к разрыву клеток в растворе. Осмотический шок приводит к

высвобождению клеточных компонентов. После разрушения клеток липиды должны быть извлечены из клеточного дебриса. Этот процесс должен быть связан с липидами для увеличения восстанавливающихся нейтральных липидов, содержащих моно-, ди- и триацилглицериновые компоненты, и уменьшения совместной экстракции нелипидных материалов. На биомассе, в основном, используется типичное экстрагирование твердого тела жидкостью с использованием органических растворителей, поскольку оно быстрое и достаточно практичное для предотвращения существенной деградации. Можно использовать несколько растворителей, например, гексан, этанол (96% по объему в воде) или их смесь. Также внимание привлек ряд альтернативных методов экстракции, таких как ультразвуковая, микроволновая и сверхкритическая экстракция диоксида углерода [19, 52].

7.9 Биотопливо и побочные продукты из микроводорослей

Микроводоросли/цианобактерии – это неоднородная группа фотосинтезирующих микроорганизмов, которые могут стремительно расти благодаря своему простому строению. Они были исследованы для производства различных видов биотоплива, включая биоводород, биодизель, биоэтанол и биометан. Чтобы сделать производство биотоплива экономически целесообразным, необходимо использовать оставшуюся водорослевую биомассу для побочных продуктов коммерческой заинтересованности. Для удовлетворения быстрорастущего спроса, в пределах ограниченных земельных и водных ресурсов, стало возможным производить микробное биотопливо, отвечающее всем требованиям.

7.9.1 Биодизель

Биодизель – это дизельное топливо не нефтяного происхождения, состоящее из алкиловых эфиров (в основном, метиловых, но также этиловых и пропиловых) длинноцепочных жирных кислот. Биодизель можно выработать из различных животных и растительных источников (масличных культур, таких как рапс, соя, подсолнечник и пальма) с помощью процесса моноалкогольной трансэтерификации, в котором триглицериды вступают в реакцию с моноспиртом (чаще всего метанолом или этанолом) с катализом ферментов. Тем не менее, использование микроводорослей и цианобактерий может быть подходящей альтернативой, поскольку водоросли являются наиболее эффективным биологическим продуцентом нефти на планете, универсальным источником биомассы и могут вскоре стать одной из самых важных возобновляемых топливных культур на Земле [8, 53]. Практические исследования биодизеля из водорослей финансировались в национальных лабораториях США через программу водных биовидов, начатой в 1978 году и спонсируемой Министерством энергетики. В производстве биодизеля из микроводорослей имеется множество преимуществ, и оно было названо биотопливом третьего поколения. В отличие от других масличных культур, микроводоросли растут чрезвычайно быстро, и многие из них чрезвычайно богаты маслом. Микроводоросли обычно удваивают свою биомассу в течение 24 часов, а время удвоения биомассы во время роста на экспоненциальной фазе обычно составляет всего 3,5 часа. Содержание масла в микроводорослях может превышать 80% по массе сухой биомассы, а уровни масла в 20-50% довольно широко [1, 54, 55]. Биодизель из фотосинтетических водорослей, которые растут с помощью CO₂, имеет большой потенциал в качестве биотоплива. Что особенно важно, автотрофные водоросли не конкурируют с исходными растительными материалами для производства биотоплива из-за их фотосинтетической природы. Напротив, водоросли протравляют, а, следовательно, и уменьшают количество CO₂ в атмосфере, газ, который способствует процессу глобального потепления. Эти организмы всерьез рассматриваются в качестве замены растительных масел при производстве биодизеля. Производство биодизеля из водорослей обеспечивает наибольшую полезную энергию, потому что преобразование нефти в биодизель намного менее энергоемко, чем методы преобразования в другие виды топлива. Эта особенность сделала биодизель наиболее предпочтительным конечным продуктом из водорослей. Производство биодизеля из водорослей требует выбора штаммов с высоким содержанием масла и разработки экономически эффективных методов сбора, извлечения масла и превращения масла в биодизель. Предполагается, что водоросли можно выращивать для производства биодизеля в специальных искусственных водоемах. Водоросли растут в виде тонкого поверхностного слоя в прудах, поэтому необходимо собирать километры и километры роста, чтобы получить большое количество биодизеля. Огромные пруды необходимы для

выращивания микроводорослей в количествах, которые делают этот процесс экономически целесообразным. Было предложено выращивать микроводоросли в естественных озерах или берегах океана [55]. В дополнение к этому, в настоящее время проводятся исследования по использованию гетеротрофных водорослей для производства биодизеля с использованием сахаров в качестве субстратов. Гетеротрофные водоросли имеют преимущество в достижении гораздо более высоких плотностей роста по сравнению с фототрофными водорослями. Кроме того, темный рост гетеротрофных водорослей не представляет инженерной проблемы по сравнению с фототрофными водорослями [55, 56]. Тем не менее, инвазивность водорослей может представлять опасность для окружающей среды, поскольку выращенные водоросли разрушат и опередят экосистему.

Экономика производства биодизеля может быть улучшена благодаря достижениям в технологии производства. Особо заметными технологическими проблемами являются эффективные методы извлечения биомассы водорослей из разжиженных бульонов, полученных в фотобиореакторах. Другим дополнительным методом для повышения продуктивности микроводорослей является генетическая и метаболическая инженерия. Этот метод, вероятно, больше всего отразится на улучшении экономики производства микроводорослевого дизеля [14, 53]. Многообещающей альтернативой традиционному процессу, который может снизить затраты на обработку, является трансэтерификация в естественных условиях. Этот процесс дает возможность преобразовывать жирные кислоты в их алкиловые эфиры прямо внутри биомассы, устраняя тем самым этап селективной экстракции и устраняя необходимость сушки биомассы при сборе урожая. Такая форма комплексного алкохолиза приводит к более высокому выходу биодизеля, что на 20% лучше, чем в обычном процессе, а также сокращается количество отходов [57].

7.9.2 Биоводород

Молекулярный водород является одним из наиболее перспективных видов биотоплива, поскольку при сжигании он не выделяет CO_2 (газ, вызывающий парниковый эффект), но выделяет большое количество энергии на единицу массы при горении. Достижения в технологии водородных топливных элементов наряду с пониманием того, что при горении H_2 выделяет простую воду, делают данное сырье особенно привлекательным. Газообразный водород рассматривается в качестве будущего энергоносителя, потому что он является возобновляемым. По сравнению с производством водорода биологическое производство водорода имеет ряд преимуществ в виде фотоэлектрохимических или термохимических процессов. Водород может быть получен естественным путем с помощью различных способов, включая паровой риформинг биомасс, темновую и фотоферментацию органических материалов и фотолиз воды, катализируемый особыми видами микроводорослей.

На данный момент в центре современных исследований по производству биоводорода находятся три основных процесса. Наиболее прямой подход заключается в использовании фотосинтезирующих микроорганизмов (*цианобактерий* и микроводорослей) для производства биоводорода. Фотосинтетические микроорганизмы обладают способностью расщеплять воду на электроны и кислород из одной молекулы воды, используя солнечный свет. Полученные электроны используются для энергетической продуктивности (через цепочку транспорта электронов), производства биомассы и сахарного производства с использованием цикла Кальвина. Так или иначе, они также могут быть преобразованы в водород ферментами гидрогеназы. Привлекательность этой системы заключается в том, что она использует воду в качестве субстрата и солнечный свет в качестве источника энергии. Поэтому теоретически этот подход чрезвычайно перспективен для производства недорогого водорода. Второй подход касается использования ферментов нитрогеназы у анаэробных фотогетеротрофных микроорганизмов (пурпурных несернистых бактерий) для производства водорода. Функция нитрогеназы предназначена для превращения газообразного азота N_2 в аммоний, что позволяет азотфиксирующим микроорганизмам расти при отсутствии источников органического или неорганического азота в питательной среде. Ферменты нитрогеназы также способны вырабатывать водород из электронов и протонов в отсутствие кислорода и в присутствии света. При выращивании на свету и в отсутствие кислорода фиолетовые несернистые бактерии могут получать аденозинтрифосфат (АТФ) и электроны путем циклического анаэробного фотосинтеза, а также углерод из органических субстратов. Электроны, извлеченные из органических субстратов, могут быть использованы для получения водорода с использованием ферментов нитрогеназы. Такая фотогетеротрофная изменчивость пурпурных несернистых бактерий теоретически позволяет

перенаправить 100% электронов, образующихся в процессе метаболизма углерода, на выработку водорода, поскольку путем фотосинтеза электроны, необходимые для анаболических, можно получить биосинтетические реакции. Исследование данного метода было проведено группой Кэролайн Харвуд из Вашингтонского университета с использованием *Rhodospseudomonas palustris* в качестве модели пурпурной несернистой бактерии, а с помощью дополнительных генетических манипуляций был получен штамм *R. palustris*, способный производить 7,5 мл водорода/литр культуры, а также были предложены предварительные технологические проекты [18, 55, 58, 59]. Третий подход заключается в получении водорода ферментативными бактериями с использованием органических субстратов, например сахара, лигноцеллюлозной биомассы, промышленных, бытовых и сельскохозяйственных отходов для анаэробной ферментации. Известны несколько групп микроорганизмов, производящих водород в качестве конечного продукта ферментации, например *E. coli*, *Enterobacter aerogenes* и *Clostridium butyricum*. Данные реакции «темновой ферментации» не требуют световой энергии, поэтому они способны непрерывно, в течение дня и ночи, производить водород из органических соединений. Впрочем, производство водорода является лишь одним из нескольких акцепторов электронов, используемых ферментативными микроорганизмами, в то время как другие конечные продукты ферментации образуются вне водорода [55, 60, 61].

Для получения биологического водорода с помощью фотосинтетических микроорганизмов, например, требуется использование простого солнечного реактора, такого как прозрачная закрытая коробка, с низкими потребностями в энергии, тогда как, с другой стороны, для электрохимического производства водорода с помощью расщепления воды на основе солнечной энергии требуется использование солнечных батарей с высокими требованиями к энергии. Тем не менее, его технологическая жизнеспособность в значительной степени зависит от разработки экономически эффективных неистощимых систем производства H_2 в больших масштабах, которые способны заменить классические процессы парового риформинга природного газа, перегонки нефти и газификации угля [14, 19]. Выделение водорода действительно является особенностью многих фототрофных организмов, включая несколько сотен видов из различных групп микроводорослей, цианобактерий и анаэробных фотосинтетических бактерий. В настоящее время *Chlamydomonas reinhardtii* остается лучшим фотосинтетическим производителем эукариотического водорода, причем у цианобактерий *Nostoc* и *Synechocystis* также есть многообещающий статус в качестве претендентов для производства H_2 [62, 63]. Выделение водорода микроводорослями рождается после анаэробного инкубационного периода в темноте; гидрогеназа (содержащая Fe в качестве простетической группы) проявляется во время такой инкубации и катализирует опосредованную светом продукцию H_2 с высокой специфической активностью. Этот фермент кодируется в ядре, но зрелый белок локализован и функционирует в строме хлоропластов. Для выработки водорода абсорбция света фотосинтетическим аппаратом имеет важное значение, поскольку она вызывает окисление воды, которая высвобождает электроны и протоны, и облегчает эндотермическое перемещение упомянутых электронов в ферредоксин (Fd). Таким образом, этот ферредоксин служит физиологическим донором электронов для Fe-гидрогеназы, поэтому он связывает этот фермент с цепочкой транспорта электронов в хлоропластах микроводорослей [19, 64, 65]. Цианобактерии можно использовать для производства молекулярного водорода (H_2), возможного будущего энергоносителя. Цианобактерии способны расщеплять электроны, возникающие в результате двух основных реакций кислородного фотосинтеза, непосредственно в производство H_2 , делая их привлекательными для производства возобновляемого H_2 из солнечной энергии и воды. Цианобактерии могут использовать два естественных пути производства H_2 . Первый путь - это фиксация азота нитрогеназами, вырабатывающего H_2 , а второй путь использует активность двухнаправленных гидрогеназ для выработки H_2 . Нитрогеназам требуются АТФ, тогда как двунаправленные гидрогеназы не требуют АТФ для производства H_2 , что делает их более эффективными и благоприятными для продукции H_2 со значительно большим оборотом [9, 14, 66–68].

7.9.3 Биоэтанол

Цианобактерии и водоросли способны выделять глюкозу и сахарозу. В результате анаэробного сбраживания в темноте эти простые сахара производят этанол. При условии, что этанол можно добывать непосредственно из питательных сред, возможно, обработка может использовать гораздо меньше капитала и энергии, чем на конкурентные процессы биотоплива. Этот процесс практически устранил необходимость отделения биомассы от воды, а также экстракции и обработки

масел. Тем не менее, технически можно утверждать, что этанол не является лучшим соединением для биотоплива. Например, растворимость этанола в воде делает его менее пригодным для перекачки по трубопроводу и облегчает разбавление водой. Кроме того, содержание энергии в этаноле составляет примерно две трети от такого же объема стандартной нефтяной смеси, в отличие от 86% для спиртов с более длинной цепью [54]. По нескольким причинам, до настоящего времени в литературе было доступно лишь небольшое количество исследовательской информации и данных о производстве биоэтанола из микроводорослей; (1) большое внимание было отведено производству биодизеля из микроводорослей, поскольку некоторые штаммы способны накапливать большое количество липидов в своих клетках естественным путем; (2) с помощью метода культивирования с дефицитом азота (для экономии энергии и стоимости), содержания липидов внутри клеток микроводорослей значительно повышается путем блокирования пути синтеза углеводов, в то время как углеводы являются основным субстратом для производства биоэтанола; (3) биодизель имеет более высокую калорийность, чем биоэтанол, 37,3 МДж/кг и 26,7 МДж/кг, соответственно. Тем не менее установлено, что по сравнению с другими видами сырья биоэтанола первого и второго поколений микроводоросли являются превосходным сырьем для производства биоэтанола. Биоэтанол первого поколения создается на основе пищевого сырья, такого как сахарный тростник и сахарная свекла, при котором чрезмерная эксплуатация этих сырьевых запасов создает вопрос «еда и топливо» и поднимает ряд экологических проблем, включая вырубку леса и неэффективное землепользование. Биоэтанол второго поколения производится из лигноцеллюлозных биомасс, таких как древесина, стебли риса и кукурузная солома. На первоначальном этапе лигноцеллюлозная биомасса должна быть подвергнута предварительной очистке для расщепления сложной структуры лигнина и уменьшения доли кристаллической целлюлозы путем превращения в аморфную целлюлозу [69, 70].

Биоэтанол может быть очень важен для способствования энергонеzáвисимости и сокращения выбросов парниковых газов. Очень сильные дебаты о последовательной замене нефти путем применения таких возобновляемых альтернативных вариантов, как биотопливо, доминируют в политической и экономической повестке дня во всем мире [71]. Необходимо разработать альтернативные методы производства биоэтанола из цианобактерий и микроводорослей, чтобы можно было избежать затрат на землю, труд и время, связанных с традиционно ферментированными культурами. В 1996 году Йеда и соавторы [72] запатентовали двухэтапный процесс ферментации микроводорослей. На первом этапе для образования этанола микроводоросли подвергаются ферментации в анаэробной среде. CO₂, образующийся в процессе ферментации, может быть переработан в качестве питательного вещества при выращивании водорослей. Вторая стадия включает использование оставшейся водорослевой биомассы для производства метана для процесса анаэробного дигерирования, которое затем может быть преобразовано в производство электроэнергии. В 2006 году Буш и Холл отметили, что технология Йеда и соавторов, запатентованная в 1996 году, не была коммерчески адаптируемой из-за ограничений в отношении одноклеточных свободно плавающих водорослей [72, 73]. Они запатентовали модифицированный процесс ферментации дрожжей, *Saccharomyces cerevisiae* и *Saccharomyces uvarum*, и были добавлены в бульон для ферментации водорослей для выработки этанола. В 2010 году Харун и соавторы [74] изучали пригодность микроводорослей *Chlorococum* sp. в качестве субстрата, используя дрожжи для производства биоэтанола путем ферментации. Они достигли уровня продуктивности около 38% по весу, что подтверждает пригодность микроводорослей в качестве перспективного субстрата при производстве биоэтанола [14].

7.9.4 Биогаз как биогенное топливо

Когда биомасса перерабатывается при высоких температурах в отсутствие кислорода, продукты производятся в три этапа: паровая фаза, жидкая фаза и твердая фаза. Биогаз, смесь метана и углекислого газа образуются в результате метаногенного разложения органических отходов в анаэробных условиях. Производство биогаза может быть достигнуто с помощью определенной культуры ферментера и/или синтрофа в сочетании с разложением ацетата и гидрогенотрофным (потребляющим водород) метанопродуцентом. В дополнение к этому, неопределяемые культуры (например, микроорганизмы в коровьем навозе или в сточных водах) могут быть использованы в качестве инокулята для производства биогаза [55, 75]. Такие органические материалы, как биомасса, могут быть использованы для производства биогаза путем анаэробного дигерирования и ферментации. Органические биополимеры (то есть углеводы, липиды и белки) гидролизуются и

расщепляются на мономеры, которые затем превращаются в богатый метаном газ посредством ферментативного расщепления. Двуокись углерода является вторым основным компонентом в биогазе (приблизительно 25–50%) и, как и другие интерферирующие примеси, должна быть удалена перед использованием метана [14, 53]. Метан в форме сжатого природного газа используется в качестве топлива для транспортных средств и, как утверждается, является более экологически чистым, чем ископаемое топливо, такое как бензин, горючее и дизельное топливо. В любом случае, на местном уровне биогаз мог бы применяться и в данный момент применяется и эксплуатируется. К примеру, такие предприятия по производству биогаза, как установки обработки сточных вод и полигоны захоронения отходов, для работы завода могут применять произведенный при эксплуатации биогаз, что делает их энергетически нейтральными. Использование биогаза в местном, жилом масштабе может быть использовано в сельской местности развивающихся стран. Индия имела огромный успех в использовании биогаза, произведенного в прямых, соединенных с деревенскими домами, без коммунальных услуг, для выработки биогаза для приготовления пищи и электричества [76]. В этой работе в качестве материала для прививки использовался коровий навоз. В настоящее время такие методы рассматриваются в Египте для обработки рисовой соломы и других сельскохозяйственных отходов с низким содержанием питательных веществ, которые не могли быть введены в сырье и в настоящее время сжигаются.

7.9.5 Побочные продукты

Все исходные компоненты водорослевой биомассы, то есть углеводы, жиры (масла), белки и различные неорганические и сложные органические молекулы, необходимо переработать в различные продукты с помощью химических, ферментативных или микробиологических средств преобразования с использованием соответствующих технологий для производства экономически целесообразного биотоплива. Использование технологий будет определяться, прежде всего, характером конечных продуктов и экономикой системы, которая может варьироваться в зависимости от региона и стоимости сырья. Большое количество всевозможных коммерческих изделий было получено из микроводорослей. К их числу относятся продукты питания человека и животных, полиненасыщенные жирные кислоты, антиоксиданты, окрашивающие вещества, удобрения и структурообразователи почвы, а также различные специальные продукты, такие как биологические флокулянты, биоразлагаемые полимеры, косметика, фармацевтические препараты, полисахариды и стабильные изотопы для исследовательских целей [14, 77].

7.9.5.1 Подпитка и удобрения

Потребление биомассы микроводорослей и цианобактерий в качестве пищевой добавки для здоровья человека в настоящее время ограничено только несколькими видами, например *Spirulina* (*Arthospira*), *Chlorella*, *Dunaliella* и, в меньшей степени, *Nostoc* и *Aphanizomenon*. Тем не менее, ожидается, что в будущем рынок будет расти. Микроводоросли и цианобактерии также используются в качестве корма в аквакультуре моллюсков, ракообразных (креветок) и рыбы. Наиболее часто используемыми видами являются *Chaetoceros*, *Chlorella*, *Dunaliella*, *Isochrysis*, *Nannochloropsis*, *Nitzschia*, *Pavlova*, *Phaeodactylum*, *Scenedesmus*, *Skeletonema*, *Spirulina*, *Tetraselmis* и *Thalassiosira*. Содержание белка и уровень ненасыщенных жирных кислот одновременно определяют пищевую ценность кормов для микроводорослей. Биомасса микроводорослей и цианобактерий также использовалась с такими потенциальными достоинствами, как улучшенная иммунная реакция, фертильность, внешний вид, увеличение массы в качестве кормовой добавки для коров, лошадей, свиней, домашних птиц и даже собак и кошек. В рационах домашних птиц биомасса до уровня 5–10% масс, может безопасно использоваться в качестве частичной замены обычных белков. Основными видами, используемыми в кормах для животных, являются *Spirulina*, *Chlorella* и *Scenedesmus* [14, 56, 78]. Биомасса микроводорослей используется для улучшения влагосвязывающей способности, минерального состава истощенных почв и в качестве растительного удобрения. Более того, в качестве удобрения для производства биометана можно также использовать эффлюент, образующийся при анаэробном дигерировании [48].

7.9.5.2 Биомолекулы

Фикобилипротеины, фикоэритрин, фикоциан и аллофикоцианин, продуцируемые цианобактериями, используются в качестве пищевых красителей, пигментов в косметике и в качестве флуоресцентных реагентов в клинических или исследовательских лабораториях. Красящие вещества, производимые микроводорослями, используются в качестве натуральных красителей для пищевых продуктов, косметики и исследований или в качестве пигментов в кормах для животных. Ряд антиоксидантов, продаваемых для рынка здоровой пищи, также производятся микроводорослями. Наиболее известным является β -каротин из *Dunaliella salina*, который продается либо в виде экстракта, либо в виде целого клеточного порошка. Кроме того, биополимеры, биополимеры и биоразлагаемые пластики, косметика, фармацевтические препараты и биоактивные соединения, полисахариды и стабильные изотопы для исследований являются другими важными побочными продуктами, полученными из видов микроводорослей и цианобактерий [14, 41, 42, 56, 78–83]. Микроводоросли и цианобактерии также можно культивировать из-за их высокого содержания в полиненасыщенных жирных кислотах (ПНЖК): ПНЖК, которые можно добавлять в пищу человека и корм для животных из-за их лечебно-профилактических свойств. Наиболее часто встречающимися ПНЖК являются: арахидоновая кислота (AA), докозагексаеновая кислота (DHA), гамма-линоленовая кислота (GLA) и эйкозапентаеновая кислота (EPA), как было показано, арахидоновая кислота синтезируется *Porphyridium*, докозагексаеновая кислота - *Cryptocodinium* и *Schizochytrium*, гамма-линоленовая кислота – *Arthrospira*, а эйкозапентаеновая кислота - *Nannochloropsis*, *Phaeodactylum* и *Nitzschia* [56, 78, 81].

7.10 Трудности и препятствия в производстве биотоплива

Во всем мире отрасли промышленности сосредоточились на экономически целесообразных процессах. На коммерческую цену продукции влияют многие факторы, такие как цена на доступное сырье, стоимость земли, водные ресурсы, транспортные расходы и другие. В результате успешная стратегия в одном месте может потерпеть неудачу в другом месте или наоборот. Компания «PetroSun», расположенная в Аризоне, США, использует для выращивания пруды с морской водой, в то время как «Aqua Flow Binomics» пытается стать первой компанией по производству биотоплива из диких водорослей. Компания «Solazyme Inc.», расположенная в Сан-Франциско (США), выращивает водоросли в темноте с сахарной подпиткой для роста. Чтобы биотопливо было экономически выгодным, компании сосредотачивают внимание на остаточной водорослевой биомассе для побочных продуктов. Соседние отрасли промышленности и их потребности в сырье, источниках пищи, социальной приемлемости и других подобных аспектах могут помочь в выборе биотоплива и побочных продуктов. Промышленные предприятия «Нептун», расположенные в Бока-Ратоне (США), имеют запатентованную систему «Aqua-Sphere», в которой рыбные отходы используются для создания дополнительных источников дохода за счет роста водорослей для биотоплива и метана. «GreenFuel Technologies» в Кембридже, штат Массачусетс (США), разработали систему, с помощью которой они могут улавливать до 80% CO_2 , выбрасываемого из энергоустановки. Основное исследование компаний сосредоточено на управлении цианобактерий или микроводорослей с помощью генной инженерии или прочих методов, в целях повышения продуктивности и простого и менее дорогого извлечения желаемых продуктов. Компания «Auroga Biofuels» использует генетически модифицированные водоросли для эффективного создания биодизеля с помощью запатентованного технологического способа, разработанного в Калифорнийском университете в Беркли, который заявляет, что создает биотопливо с выходом в 125 раз выше и по цене на 50% меньше, чем другие способы производства [14, 19]. Производство биотоплива из микроводорослей оказалось технологически осуществимым, а использование биомассы микроводорослей, богатой липидами, в сравнении с сельскохозяйственными культурами, может значительно сократить использование пахотных земель. Однако некоторые вопросы, касающиеся качества и количества таких земель, должны решаться в каждом конкретном случае. К сожалению, биодизель микроводорослей еще не достиг четкой экономической целесообразности. Самая большая проблема связана с относительно высокими затратами на производство биомассы микроводорослей и экстракцию/отделение липидов для биодизеля. Структура микроводорослей может способствовать неистощимому производству биоэнергии, однако необходимо преодолеть различные биотехнологические, экологические и экономические проблемы, прежде чем энергетические продукты из этих систем смогут поступить на рынок.

7.10.1 Биотехнические задачи

Основными биотехническими задачами являются культивирование, крупномасштабное производство, сбор, выделение, экстракция и генная инженерия микроводорослей и цианобактерий.

7.10.1.1 Проблемы культивирования и крупносерийного производства

Преобладающее большинство промышленной добычи происходит в простых искусственных водоемах с низкой производительностью и малой урожайностью [1].

Устойчивое производство прудов-испарителей является успешным только для ограниченного числа культур, таких как спирулина и *Dunaliella*, с экстремальными условиями, такими как очень высокая соленость или высокий pH.

Для будущих достижений в культивировании могут потребоваться замкнутые системы, поскольку не все представляющие интерес виды микроводорослей растут в высокоселективных условиях. Однако их высокая стоимость до недавнего времени в значительной степени исключала их промышленное применение.

Чрезмерная интенсивность освещенности может привести к фотоингибированию или перегреванию. Таким образом, распределение света и его использование внутри фотобиореактора является одной из основных биотехнических задач при проектировании биореактора.

7.10.1.2 Трудности сбора, заготовки и отбора

Конечные расходы, потребность в энергии и технологическое время для восстановления и сбора сильно разбавленной суспензионной культуры микроводорослей и цианобактерий очень высоки, потому что эти культуры требуют фильтрации, центрифугирования, осаждения и флокуляции для восстановления высокой плотности и количества биомассы [84].

Современные способы сбора урожая не применимы для крупномасштабной и недорогой уборки с целью производства малоценных энергетических продуктов.

Технический прием с низким энергопотреблением - это заселение водорослей путем индуцированной флокуляции. Однако флокуляция водорослевой биомассы до сих пор мало изучена, что затрудняет контроль этого процесса сбора [14].

Извлечение липидов из микроводорослей является биотехнологической проблемой из-за прочной клеточной стенки, затрудняющей выход масла.

Альтернативой тому является использование сверхкритических жидкостей, но процесс требует специального оборудования, увеличивающего расходы.

7.10.1.3 Трудности генной инженерии в получении модифицированных штаммов

Из 10 000 видов водорослей, которые, как считается, существуют, только несколько тысяч хранятся в коллекциях для модификации штаммов из-за отсутствия большого количества данных исследований.

На химическое содержание исследованы только несколько сотен видов микроводорослей, и только несколько видов культивируются в промышленных количествах.

В настоящее время метаболическая инженерия, с использованием методов генной инженерии, представляется необходимой в целях повышения их продуктивности и оптимизации для выращивания и сбора урожая.

Крупномасштабное культивирование генетически модифицированных штаммов микроводорослей сопряжено с риском утечки и загрязнения окружающей среды и скрещивания с нативными штаммами.

Генетически модифицированные штаммы могут переноситься в воздухе на большие расстояния и выживать в различных суровых условиях в стадии покоя.

Выращивание генетически модифицированных штаммов может иметь непреднамеренные последствия для общественного здравоохранения и окружающей среды.

Развитие ряда трансгенных штаммов водорослей, обладающих синтезом рекомбинантного

белка, инженерным фотосинтезом и улучшенным метаболизмом, стимулируют перспективы создания микроводорослей.

7.10.2 Проблемы экологии

Основное преимущество цианобактерий и микроводорослей - это их способность извлекать дополнительные экологические выгоды, такие как переработка отходов CO_2 и водоочистка. Однако для реализации этих преимуществ необходимо преодолеть некоторые препятствия. Эти проблемы рассматриваются ниже.

7.10.2.1 Переработка двуокиси углерода

Требуется дешевый источник CO_2 для подпитки фотосинтетического процесса, потому что концентрация CO_2 в атмосфере ограничивает рост фотосинтезирующих организмов.

Если целью выращивания водорослей является секвестрация промышленных выбросов CO_2 на электростанциях, работающих на ископаемом топливе, то следует учитывать, что в ночное время и в пасмурные дни водоросли замедляют коэффициент воспроизводства и, таким образом, поглощают меньше CO_2 .

Существует значительная необходимость в установке хранилищ газа, чтобы справиться с притоком CO_2 в течение ночи.

До того, как промышленная подготовка систем микроводорослей станет выполнимой, необходимо решить проблему ограниченной доступности земли для крупномасштабного улавливания CO_2 микроводорослями из промышленных или электрических станций с помощью сложных методов, эффективных с точки зрения площади, для рециркуляции CO_2 микроводорослями [85].

Стоит также отметить, что секвестрация промышленных продуктов двуокиси углерода (CO_2) путем культивирования водорослей является временным запасом, так как он выделяется во время преобразования водорослей и его использования в качестве энергии.

7.10.2.2 Потребность в биогенах и земле

У микроводорослей потребность в биогенах намного выше, чем у высших растений, особенно с высоким содержанием N и P.

Крупномасштабное культивирование может включать огромное количество азота и фосфора, для которых воздействие на окружающую среду и экономику может быть неустойчивым.

Водоемы с микроводорослями использовались для очистки сточных вод и жидких отходов, поскольку они обеспечивают растворенный кислород для состава бактериальной флоры органических отходов.

Основными ограничениями в переработке питательных веществ из сточных вод являются довольно низкие нагрузки, которые можно применять в единицу площади и времени, ограниченное удаление азота и фосфора, повышенная потребность в земле и высокая стоимость извлечение клеток водорослей из сточных вод.

Переработка биогенов посредством анаэробное дигерирование может быть решением проблемы с питательными веществами, но этот процесс может разлагать водорослевые отходы, содержащие органические N и P, что приводит к притоку аммония и фосфата, который можно использовать для цианобактерий и микроводорослей.

Генная технология фотосинтезирующих составов водорослей необходима для того, чтобы они позволяли усваивать азот для минимизации потребности в азотных удобрениях.

Микроводоросли дают гораздо более высокий размер выработки, чем традиционные энергетические культуры, и, следовательно, требуют гораздо меньше земли.

Неясно, сколько земли доступно и пригодно для получения высокой выработки и утилизации отходов CO_2 и биогенов.

7.10.3 Проблемы экономики

Развитие цианобактерий и микроводорослей для массового производства энергии находится в зачаточном состоянии. В связи с этим представляется крайне важным обосновывать предполагаемые

издержки на самых современных технологиях, используемых для мелкосерийного производства дорогих продуктов. Выращивание и переработка водорослей потребляют энергию как в инфраструктуре, так и в процессе эксплуатации. В зависимости от культивации и процесса сбора урожая, энергетические затраты на производство микроводорослей могут превышать отдачу энергии. Тем не менее, продолжающиеся исследования конструкции реактора являются перспективными и приведут к более дешевым и энергосберегающим конструкциям. Экономические показатели производства биотоплива из микроводорослей можно улучшить за счет получения дополнительных доходов от совместного производства продуктов питания, кормов и ценных продуктов, очистки сточных вод и чистой стоимости удобрений в случае азотфиксирующих водорослей [14, 27]. Для улучшения использования систем микроводорослей по разработке экономичных стратегий производства биотоплива необходимо учитывать следующие пункты.

К капитальным затратам на запуск проектов по производству биотоплива из водорослей могут относиться расходы на землю, создание инфраструктуры, биореакторы, оплату труда и различные накладные расходы.

В целях достижения максимального уровня производительности для успешного производства в промышленных масштабах потребуются значительное финансирование исследований.

Производственные затраты могут включать расходы на культивирование, включая расходы на биогенные вещества, сбор урожая и обезвоживание, экстрагирование и разделение, техническое обслуживание, замену компонентов, транспортировку и накладные расходы.

Во всем мире ряд компаний и правительственных организаций разработали различные методики и проекты и подготовили сметные расчеты на промышленное крупносерийное производство.

Водоросли для биотопливных заводов могут эффективно развиваться на землях, прилегающих к электростанциям (для преобразования CO_2 в топливо из выхлопных газов), на станциях очистки сточных вод или в морской воде (для экономии земли и пресной воды).

Глобальное потепление ускорится, если мы не предпримем действий по сокращению чистого прироста CO_2 в атмосфере.

Использование ископаемого топлива уменьшится только тогда, когда общество предложит возобновляемые источники энергии, такие как альтернативные виды топлива, в очень большом количестве.

Одним из лучших вариантов в долгосрочной перспективе является биоэнергетика, при которой солнечная энергия захватывается в виде биомассы и преобразуется в полезные формы энергии.

Успешная биоэнергетика сталкивается с двумя серьезными проблемами. Первая производит достаточно топлива, полученного из биомассы, чтобы заменить значительную долю ~ 13 ТВт энергии, генерируемой сегодня из ископаемого топлива. Вторая задача заключается в производстве биоэнергии без нанесения серьезного ущерба окружающей среде и системе обеспечения питанием.

Из многих вариантов биоэнергетики, стоящих на обсуждении, большинство терпит неудачу в обоих случаях. Тем не менее, варианты биоэнергии на основе микроводорослей и цианобактерий имеют потенциал для производства возобновляемой энергии в больших масштабах, без ущерба для окружающей среды или человеческой деятельности.

7.11 Генная и метаболическая инженерия микроводорослей для производства биотоплива и биоэнергии

На сегодняшний день только несколько видов водорослей были успешно подвергнуты генетическим манипуляциям. Эти модификации пришли в форме индуцированного случайного мутагенеза, чтобы идентифицировать новые гены, которые играют важную роль в процессах, представляющих интерес. В качестве средства для изменения биологической функции также использовали экспрессию гетерологичных генов, и ядерные геномы многих водорослей были преобразованы с использованием множества генов-репортеров наравне с генами, стойкими к воздействию лекарств. Хотя существуют природные микроорганизмы, способные усваивать экстракты водорослевого сахара, экономически целесообразное производство биотоплива из микроводорослей требует более продуктивного превращения смешанных сахаров в гидролизаты водорослей устойчивыми штаммами. Производство биотоплива на основе водорода и сахара

теоретически может повлиять на использование нефтяного топлива. Микроводоросли способны производить ряд вторичных метаболитов и питательных веществ, которые полезны для человека или животных и имеют характеристики, наиболее приближенные к существующим нефтяным топливам. Наиболее перспективными из них являются терпены, предлагающие потенциально свежий источник топлива вне жирных кислот, которые совместимы с нашей существующей топливной структурой. Другими ценными и побочными продуктами являются длинноцепочечные полиненасыщенные жирные кислоты (ДЦПНЖК), такие как омега-3 и омега-6, и широкий спектр полезных каротиноидов, таких как лютеин, зеаксантин, ликопин, биксин, β -каротин и астаксантин. Микроводоросли могут синтезировать многие другие специфичные молекулы с коммерческим потенциалом, такие как токсины, витамины, антибиотики, стероиды, лектины, микоспориноподобные аминокислоты, галоидзамещенные соединения и поликетиды. Дополнительными незначительными промышленными продуктами из микроводорослей являются фикобилипротеины, используемые в качестве пищевых и экспериментальных красителей (*Arthrospira* и *Porphyridium*), экстракты для косметики (*Nannochloropsis* и *Dunaliella*) и стабильные изотопные биомолекулы, используемые для исследований. Таким образом, геновая и метаболическая инженерия является потенциальным алгоритмом для получения оптимального содержания этого множества продуктов с высокой добавленной стоимостью. В связи с нарастающим беспокойством относительно энергетической устойчивости и изменения климата для развития биотоплива необходимо применять стратегии геновой и метаболической инженерии. Фотосинтетические микроорганизмы предлагают перспективное решение этих проблем и в то же время решают растущие экологические проблемы путем уменьшения выбросов CO₂.

7.11.1 Потенциальные возможности геновой и метаболической инженерии

Хотя применение геновой инженерии для увеличения производства биотоплива и энергетической продуктивности в микроводорослях находится в процессе зарождения, в последнее время были достигнуты значительные успехи в развитии генетических инструментов с помощью моделей систем микроводорослей, которые используются для управления центральным углеродным обменом в этих организмах. Вероятно, что многие из этих достижений можно применить и к промышленно используемым организмам. Следующий раздел посвящен потенциальным направлениям геновой и метаболической инженерии, которые можно рассмотреть в целях улучшения цианобактерий/микроводорослей в качестве биотопливной основы для производства биоэнергии.

Секвенирование генома цианобактерий должно проверить их потенциал в качестве одного из следующих великих источников биотоплива.

Манипулирование метаболическими путями может перенаправить клеточные функции в направлении синтеза предпочтительных продуктов.

Метаболическая инженерия позволяет напрямую контролировать клеточный механизм организма посредством мутагенеза или путем введения трансгенов [86].

Многие научно-исследовательские работы направлены на изменение свойств клеточной стенки микроводорослей/цианобактерий, преобразование новых генов для водорода или других продуктов, увеличение синтеза липидов, поиск эффективных веществ-предшественников и многих других интересных и полезных областей. Исследователи из штата Аризона полагают, что они нашли способ удешевить и облегчить производство биотоплива путем генетического программирования микробов для самоликвидации после фотосинтеза, что делает восстановление предшественников биотоплива более легким и потенциально менее затратным. Гены были взяты из бактериофагов [87–90].

В последние годы предпринимались попытки улучшить производство водорода, преимущественно методом целенаправленной геновой инженерии штаммов цианобактерий путем нацеливания на активность и сверхэкспрессию выделяющих H₂ ферментов, таких как нитрогеназы, гидрогеназы, путем введения синтетического полипептида на основе протонного канала в тилакоидные мембраны для рассеивания протонных градиентов через тилакоидные мембраны, с увеличением квантовой эффективности PS I и PS II и направлением потока электронов в сторону ферментов, продуцирующих H₂, и в сторону от любого другого конкурирующего пути [9, 14].

Asada и его коллеги предприняли попытку сверхэкспрессировать гидрогеназу из *Clostridium pasteurianum* в цианобактерии, *Synechococcus* PCC7942, разработав комплекс геновой инженерии для цианобактерий. Они продемонстрировали, что белок *кlostридиальной* гидрогеназы при

электроиндуцировании в цианобактериальные клетки занимается выработкой водорода путем получения электронов, производимых фотосистемами [91].

Для высокоэффективного производства этанола фотосинтетические цианобактерии можно переработать путем сочетания генной трансформации, развития штамма или процесса и метаболического моделирования/анализа профиля. Компания «Dexter and Fu, 2009» трансформировала гены пируватдекарбоксилазы (pdc) и алкогольдегидрогеназы II (adh) из *Zymomonas mobilis* в *Synechocystis* sp. PCC 6803. Этот штамм может превращать CO₂ в этанол фототрофным способом [92].

В отличие от водорослей, у цианобактерий имеются хорошо разработанные генно-инженерные методы, о чем свидетельствует генная инженерия цианобактерий для производства биотоплива первого поколения, включая этанол и бутанол. Кроме того, цианобактерии будут выделять свободные жирные кислоты (СЖК), предшественников биодизеля, во внеклеточную среду, упрощая выделение продукта на выходе. Эти признаки стимулируют исследование цианобактерий как потенциального источника биодизельного сырья.

Микроводоросли, природные производители фотосинтетического масла, находятся в центре большинства исследований в области биодизеля. Цианобактерии не производят масла естественным образом, как водоросли. Сверхэкспрессия ацетил-CoA-карбоксилазы (ACCCase) была использована для усиления биосинтеза липидов [86].

Метаболическая инженерия была применена для улучшения ферментации сахаров, которые можно извлечь из морских водорослей. Галактоза является основным сахарным соединением в гидролизате красных морских водорослей, составляя до 23% гидролизата из красных водорослей цейлонского мха. В связи с этим, были проведены научно-исследовательские работы в целях расширения ферментации галактозы до этанола с помощью разработки *S. cerevisiae*. Дрожжи *S. cerevisiae* дикого типа способны сбраживать галактозу, но есть две основные проблемы, которые ограничивают выход и продуктивность этанола. Во-первых, скорость производства и выхода этанола из галактозы значительно ниже, чем из глюкозы [93–97].

Генетическая трансформация, вероятно, обладает значительным потенциалом в попытках улучшить продукцию H₂, особенно в случае с *C. reinhardtii*, поскольку ее геном полностью выяснен и является одним из лучших продуцентов H₂, известных на сегодняшний день. Было получено несколько мутантов, и мутации были выполнены на различных уровнях, например фермент гидрогеназа, сульфат-пермеаза и рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилаза (RuBisCO), а также в фотосистемах PSI и PSII [98].

Технические и физиологические параметры культивирования микроводорослей также были оптимизированы для повышения эффективности производства водорода. Например, компания «Scoma and Torzillo» сообщила о взаимосвязи между интенсивностью света, концентрацией хлорофилла и смешиванием культур при продуцировании H₂ в *C. reinhardtii* [98, 99].

Потеря световой энергии может быть минимизирована путем редуцирования светособирающей антенны Фотосистемы II (PSII) с помощью генной инженерии, которая предотвращает перенасыщение фотохимически активных реакционных центров. Эта стратегия имеет дополнительное преимущество, заключающееся в уменьшении фотоповреждения, в то же время позволяя свету, который бы в противном случае рассеивался, проникать глубже в культуру, увеличивая тем самым суммарный выход H₂. Было показано, что клеточно-культуральные испытания *in vitro* удваивают эффективность производства биомассы, а для оценки эффективности таких штаммов в настоящее время проводятся испытания на открытом воздухе в реальных условиях. Одним из показательных примеров является штамм *C. reinhardtii* Stm6, который способен продуцировать в 5 раз больше H₂, нежели его дикий тип [19, 99–101].

7.11.2 Развитие и усилия, предпринимаемые во многих странах

Достижения в области генетических манипуляций с ключевыми метаболическими сетями формируют привлекательную платформу для производства многочисленных ценных соединений. Разработка ряда трансгенных штаммов, повышающих экспрессию рекомбинантных белков, сконструированный фотосинтез и усиление метаболизма, открывают перспективы модифицированных микроводорослей и других морских водорослей для создания биотоплива. До настоящего времени морским водорослям, по сравнению с наземной биомассой, до сих пор уделялось меньше внимания, однако, из-за неотложных проблем в поиске экономически выгодного

возобновляемого топлива, а также из-за проблем, связанных с наземными биотопливными культурами, в разработку биотоплива из микроводорослей вкладываются все большие усилия и инвестиции. Ниже приведены некоторые разработки и усилия, предпринимаемые многими странами по всему миру для производства биотоплива из микроводорослей и морских водорослей [86, 96]:

В Европе совместный проект Великобритании и Ирландии «Экоустойчивое топливо из морской биомассы» (проект «Биомара» [102] направлен на «демонстрацию жизнеспособности и целесообразности биотоплива третьего поколения из морской биомассы. Процесс культивации и сбора морских микроводорослей») был успешно создан в Шотландии, проект исследует производство этанола и/или образование метана из морских водорослей. «Statoil» и «Bio-Architecture Lab» («BAL») также стремятся запустить серийное производство этанола и побочных продуктов из морских водорослей (микроводорослей) в Норвегии и в Европе.

В США Агентство энергетических исследований Министерства энергетики США (ARPA-E) поддерживает разработку процесса преобразования биомассы морских водорослей в изобутанол, который осуществляется «DuPont» и «BAL» в рамках Соглашения об инвестициях в технологии. Программа направлена на улучшение аквакультуры морских водорослей, преобразование биомассы морских водорослей в сбраживаемые сахара, производство изобутанола из сахаров и экономическую и экологическую оптимизацию производственного процесса [103].

Азиатский проект, возглавляемый Научно-исследовательским институтом «Mitsubishi» в Японии, планирует продемонстрировать начало производства этанола с использованием отходов морских водорослей в 2012 году, разработать технологии культивирования сроком до 2016 году и наладить технологический процесс к 2020 году. А к 2020 году Министерство национальной энергетики Южной Кореи приступило к 10-летнему проекту с целью производства почти 400 миллионов галлонов этанола в год. Правительство Филиппин также инвестировало более 5 миллионов долларов США в строительство завода по производству этанола с технологией биоэтанола из морских водорослей из Южной Кореи.

Существует несколько биотехнологических компаний, которые находятся в процессе запуска серийного производства биоэтанола из биомассы морских водорослей, в том числе «Butamax», «Seaweed Energy Solutions», «Green Gold Algae» и «Sciences, Inc». Поскольку в некоторых азиатских странах хорошо налажено культивирование морских водорослей и микроводорослей, выращиваемых в течение десятилетий для пищевых продуктов в коммерческих масштабах, совместные усилия, которые могут объединить их, передовые знания в области преобразования биомассы морских водорослей в биотопливо и их устоявшиеся крупномасштабные технологии выращивания и сбора урожая, будут полезны для содействия развитию биотоплива из морских водорослей. Так, например, «Novozymes» сотрудничает с индийской компанией «Sea6 Energy» для разработки процесса биоэтанола из морских водорослей, причем первая компания фокусируется на развитии процесса биоконверсии, а вторая делится своими знаниями о культивировании прибрежных морских водорослей.

7.12 Заключение и перспективы на будущее

Микроводоросли, в том числе морские водоросли и цианобактерии, представляют собой неоднородную группу прокариотических и эукариотических фотосинтетических микроорганизмов, которые могут стремительно расти благодаря своей простой структуре. Их исследовали для производства различных видов биотоплива, включая биодизель, биоэтанол, биосинтез и биоводород. Производство биотоплива из микроводорослей потенциально экоустойчиво. Можно производить микроводорослевое биотопливо, отвечающее всем требованиям, в целях удовлетворения быстро растущего спроса на энергию в пределах ограниченности земельных и водных ресурсов. Для эффективного устранения существующих помех, связанных с биодизелем из микроводорослей, требуется скачок, как в базовых знаниях, так и в технологической целесообразности, и, как следствие, производство биодизеля, опосредованное микроводорослями, будет полностью конкурентным процессом. Для оптимизации производства биомассы и биодизеля из микроводорослей предпочтение следует отдавать следующим направлениям:

- Оптимизация липидной продуктивности должна основываться на механических, а не эмпирических моделях.
- Вместо продвижения глицеридов должен быть предложен прямой синтез алканов.
- CO₂ следует проводить в объем среды через пористые пустотелые волокна, а не пузырьчатые.

- При наличии большого количества органических отходов может быть более применим гетеротрофный метаболизм.
- Максимальное использование световой адсорбции клетками.
- Интегрированное разделение липидов должно быть заменено технологией производства и выделения целевого продукта.

Развитие технологий, включая достижения в разработке фотобиореакторов, сбор урожая биомассы микроводорослей, сушку и другие последующие технологии переработки, являются важными областями, которые могут привести к повышению рентабельности, а, значит, эффективная коммерческая реализация биотоплива из микроводорослей является достижимой стратегией. Что касается разработки биокатализатора, усилия должны быть сосредоточены на:

- Сбор ранее неизвестных генетических ресурсов от микроводорослей, включая определение геномной последовательности, для расширения доступности подходящих хозяев и генотеки.
- Усовершенствование традиционных и разработка новых методов ядерного превращения.
- Изучение маркерных и репортерных генов, совместимых с регулируемой гиперэкспрессией липидных метаболитов.
- Выяснение метаболических путей клеточного синтеза и накопления/ выделения липидов.
- Проектирование новых конфигураций фотобиореактора, специально предназначенных для высоких скоростей массообмена и пропускания света.
- Планирование и оптимизация технологии работы по разделению, охватывающей сбор, экстракцию и очистку липидов.

Биоразведка имеет важное значение для выявления видов водорослей, которые имеют желаемые признаки (например, высокое содержание липидов, скорости роста, плотности роста и/или наличие ценных побочных продуктов) при выращивании их в низкзатратной среде. Несмотря на возможности данной стратегии, наиболее вероятное развитие событий заключается в том, что биоразведка не позволит выявить виды, конкурентоспособные по цене с нефтью, и для того, чтобы дать этим штаммам экономическую жизнеспособность, потребуются последующая геновая инженерия и скрещивание. Только начинает осуществляться целый ряд возможностей для технологических водорослей, от улучшения биогенеза липидов и улучшения защиты растений до производства ценных ферментов или побочных продуктов белка. Ни одна устойчивая технология не обходится без трудностей, но слепое продвижение этих технологий без честного учета долгосрочных последствий может привести к принятию стратегий, чьи долгосрочные последствия перевешивают их краткосрочные выгоды. Микроводоросли могут производить большое разнообразие новых биопродуктов с широким применением в медицине, пищевой и косметической промышленности. Ожидается, что объединение выращивания микроводорослей и производства биотоплива с использованием стратегий биорафинирования значительно повысит общую экономическую рентабельность использования биотоплива из микроводорослей. Качественные прорывы действительно необходимы в отношении проектирования и разработки технологий, способных снизить затраты на обработку при одновременном увеличении выхода продукта. В конечном итоге, комплексное изучение в форме богато финансируемых программ НИОКР может помочь в выборе штаммов микроводорослей, специально адаптированных для генетического улучшения и оптимизации процесса в местных условиях. В частности, проблема биопереработки будет иметь особое значение, поскольку она позволяет модернизировать отработанную биомассу за счет производства альтернативных объемных или тонких химических соединений, что внесет позитивный вклад в общую экономическую возможность биотехнологии микроводорослей.

Невозможно дольше откладывать реакцию на экологические проблемы, в том числе и глобальное потепление, иначе человечество может быть в опасности.

Вырабатываемое из микроводорослей биотопливо является одной из загадок в области энергетической безопасности, так как в перспективе оно может заменить традиционные ископаемые виды топлива. В комбинации с мерами по эффективности использования энергии и экономии, а также с обоснованными изменениями в поведении потребителей, они могут быть полезными для энергетической потребности в ближайшем будущем.

Использованная литература

1. Y. Chisti, *Biotechnol. Adv*, Vol. 25, pp. 306-394, 2007.
2. A. Pandey, *Handbook of Plant-Based Biofuels*, CRC Press, Francis & Taylor's, Boca Raton, USA, p. 297, 2008.
3. E. Gnansounou, C. Larroche, and A. Pandey, Special issue of *J. Sci. Ind. Res*, 67, pp. 837-1040, 2008.
4. S.A. Scott, M.P. Davey, J.S. Dennis, I. Horst, C.J. Howe, D. Lea-Smith, and A.G. Smith, *Cur. Opin. Biotechnol*, Vol. 21, pp. 277-286, 2010.
5. L. Brennan and P. Owende, *Renew. Sust. Energy Rev*, Vol. 14, pp. 557-577, 2010.
6. G. Dragone, B. Fernandes, A.A. Vicente, and J.A. Teixeira, "Third generation biofuels from microalgae in Current Research", Technology and Education, Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, A. Mendez- Vilas (ed.), Formatex, pp.1355-1366, 2010.
7. P.J. Rojan, G.S. Anisha, K. Madhavan, and P. Ashok, *Bioresour. Technol.*, Vol. 102, pp. 186-193, 2011.
8. Y. Li, M. Horsman, N. Wu, C.Q. Lan, and N. Dubois-Calero, *Biotechnol. Prog*, Vol. 24, pp. 815-820, 2008.
9. P. Tamagnini, E. Leita, P. Oliveira, D. Ferriera, F. Pinto, D.J. Harris, T. Heidom, and P. Lindblad, *FEMS Microbiol. Rev*, Vol. 31, pp. 692-720, 2007.
10. T.R. Lorenz and G.R. Cysewski, *Trends Biotechnol*, Vol. 18, pp. 160-167, 2000.
11. R. Leon, M. Martin, J. Vigar, C. Vilche, and J. Vega, *Biomol Eng*, Vol. 20 , pp. 177-182, 2003.
12. M.K. Kim, J.W. Park, C.S. Park, S.J. Kim, K.H. Jeune, M.U. Chang, and J. Acreman, *BioresTechnol*, Vol. 98 , pp. 2220-2228, 2007.
13. J.F. Sanchez, J.M. Fernandez, F.G. Acien, A. Rueda, J. Perez-Parra, and E. Molina, *ProcBiochem*, Vol. 43 , pp. 398-405, 2008.
14. A. Parmar, N.K. Singh, A. Kaushal, S. Sonawala, and D. Madamwar, *Bioresour. Technol.*, Vol. 102, pp. 1795-1802, 2011.
15. D. Somma, H. Lobkowicz, and J.P. Deason, *Clean Technol. Environ. Policy*, Vol. 12, pp. 373-380, 2010.
16. C.S. Jones, S.P. Mayfield, *Curr. Opin. Biotechnol*, Vol. 23, pp. 346-351, 2011.
17. A.M.J. Kliphuis, L. de Winter, C. Vejraska, D.E. Martens, M. Janssen, and R.H. Wijffels, *Biotechnol. Prog*, Vol. 26, pp. 687-696, 2010.
18. Malcata F. Xavier, *Trends in Biotechnology*, Vol. 29, Issue 11, pp 542-549, 2011.
19. H.M. Amaro, A.C. Guedes, and F.X. Malcata , *Appl Energ*, Vol. 88 , pp. 3402-3410, 2011.
20. T.M. Mata, A.A. Martins, and N.S. Caetano, *Renew Sust Energ Rev*, Vol. 14, pp. 217-232, 2010.
21. R.H. Wijffels and M.J. Barbosa, *Science*, Vol. 329, pp. 796-799, 2010.
22. K. Chojnacka and F.J. Marquez-Rocha, *Biotechnol*, Vol. 3, pp. 21-34, 2004.
23. G. Oron, G. Shelef, and A. Levi, *Biotechnol. Bioeng*, Vol. 21, pp. 2165-2173, 1979.
24. C.V. Seshadri and S. Thomas, *Biotechnol. Lett*, Vol. 1, pp. 287-291, 1979.
25. A. Vonshak, Z. Cohen, and A. Richmond, *Biomass*, Vol. 8, pp. 13-25, 1985.
26. M.A. Borowitzka, *J Biotechnology*, Vol. 70, pp.313-321, 1999.
27. C. Posten and G. Schaub, *J. Biotechnol*, Vol. 142, pp. 64-69, 2009.
28. G Roesijadi, S.B. Jones, L.J. Snowden-Swan, and Y. Zhu, "Macroalgae as a Biomass Feedstock: A Preliminary Analysis", U.S. Department of Energy under contract DE-AC05-76RL01830 by Pacific Northwest National Laboratory, 2010.
29. C. Santillan, *Experientia*, Vol. 38, pp. 40-43, 1982.
30. R.M.A. el-Shishtawy, S. Kawasaki, and M Morimoto, *Biotechnol Tech*, Vol. 11 , pp. 403-407, 1997.
31. L. Metcalf and H.P. Eddy, *Waste Water Engineering, (second Ed.)* McGraw-Hill, San Francisco, 1980.
32. T. Matsunaga, H. Takeyama, H. Miyashita, and H. Yokouch, *Adv. Biochem. Eng. Biot*, Vol. 96, pp. 165-188, 2005.
33. R. M. Knuckey, M. R. Brown, R Robert, and D. M. F.Frampton, *Aquacult. Eng*, Vol. 35 (3), pp.300-313, 2006,
34. J.A. Borchard, and C.R. Omelia, *J. Am. Water Works Assoc*, Vol. 53, pp. 1493-1502, 1961.
35. M.K. Danguah, L. And, N. Uduman, N. Moheimani, and G.M. Forde, *J. Chem. Technol. Biotechnol*, Vol. 84 , pp. 1078-1083, 2008.

36. C.G. Golueke and W.J. Oswald, *J. Water Pollut. Con. F.*, Vol. 37, pp. 471-498, 1965.
37. D.S. Parker, "Performance of alternative algal removal systems". University of Texas Water Research Publication, no. 9, *Ponds as a Wastewater Treatment alternative*, University of Texas, Austin, 1975.
38. A. Sukenik, W. Schroder, J. Lauer, G. Shelef, and C.J. Soeder, *Water Res.*, Vol. 19, pp. 127-129, 1985.
39. J. Prakash, B. Pushpuraj, P. Carbzzi, G. Torzillo, E. Montaini, and R. Materassi, *Int. J. Solar Energy*, Vol. 18 , pp. 303-311, 1997.
40. H. Desmorieux, and N. Decaen, *J. Food Eng.*, Vol. 77, pp. 64-70, 2006.
41. N.K. Singh, A. Parmar, and D.. Madamwar, *Bioresour. Technol.*, Vol. 100, pp. 1663-1669, 2009.
42. A. Parmar, N.K. Singh, and D. Madamwar, *J. Phycol.*, Vol. 86 , pp. 285-289, 2010.
43. B. Soni, U. Trivedi, and D. Madamwar, *Bioresour. Technol.*, Vol. 99, pp. 188-194, 2008.
44. M. Cartens, E. Moina Grima, A. Robels Medina, A. Gimenez, and J. Ibanez Gonzalez , *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Vol. 73 , pp. 1025-1031, 1996.
45. P.K. Park, E.Y. Kima, and K.H. Chub, *Sep. Purif. Technol.*, Vol. 53, pp. 148-152, 2007.
46. T. Lewis, P.D. Nichols, and T.A. McMeekin, *J. Microbial. Methods*, Vol. 43, pp. 107-116, 2000.
47. M. Herraro, A. Cifuentes, and E. Ibanez, *Food Chem.*, Vol. 358, pp. 136-148, 2006.
48. B. Metting, W.J. Zimmerman, I. Crouch, and J. van Staden, "Agronomic Uses of Seaweed and Microalgae," in I. Akatsuka ed., *Introduction to Applied Phycology*, SPB Academic Publishing, The Hague, Netherlands, pp. 589-627, 1990.
49. R.S. Ayala, and L. Castro, *Food Chem.*, Vol. 75, pp. 109-113, 2001.
50. M.A. Hejazi, C. de Lamarlie, J.M.S. Rocha, M. Vermue, J. Tramper, and R.H. Wijffels, *Biotechnol. Bioeng.*, Vol. 79, pp. 29-36, 2002.
51. A.P. Carvalho, and F.X. Malcata, *J. Agr. Food. Chem.*, Vol. 53, pp. 5049-5059, 2005.
52. A. Richmond, *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*, Blackwell Science, 2004.
53. B. Hankamer, F. Lehr, J. Rupprecht, J.H. Mssgnug, C. Posten, and O. Kruse, *Physiol. Plant*, Vol. 131 , pp. 10-21, 2007.
54. J. Tollefson, *Nature*, Vol. 451, pp. 880-883, 2008.
55. S. Elshahed Mostafa, *Journal of Advanced Research*, Vol. 1, (2), pp. 103-111, 2010.
56. P. Spolaore, Joannis- C. Cassan, E. Duran, and A. Isambert, *J. Biosci. Bioeng.*, Vol. 101, pp. 87-96, 2006.
57. E.A. Ehimen, Z.F. Sun, and C.G. Carrington, *Fuel*, Vol. 89, pp. 677-684, 2010.
58. F.E. Rey, E.K. Heiniger, and C.S. Harwood, *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 73 (5), pp. 1665-1671, 2007.
59. J.L. Gosse, B.J. Engel, F.E. Rey, C.S. Harwood, L.E. Scriven, and M.C. Flickinger, *Biotechnol. Prog.*, Vol. 23 (1), pp. 124-130, 2007.
60. P.C. Hallenbeck, and D. Ghosh, *Trends Biotechnol.*, Vol. 27 (5), pp. 287-297, 2009.
61. L.T. Angenent, K. Karim, M.H. Al Dahhan, B.A. Wrenn, and R. Domiguez Espinosa, *Trends Biotechnol.*, Vol. 22 (9), pp. 477-485, 2004.
62. C.N. Dasgupta, J.J.G. ilbert, P. Lindblad, T. Heidorn, S.A. Borgvang, and K.D. Skjanes, *Int J Hydrogen Energy*, Vol. 35 , pp. 10218-10238, 2010.
63. O. Kruse, and B. Hankamer, *Curr Opin Biotechnol.*, Vol. 20 , pp. 257-263, 2010.
64. T. Happe, B. Mosler, and J.D. Naber, *J Biochem.*, Vol. 222 , pp. 769-774, 1994.
65. A. Melis, L. Zhang, M. Forestier, M.L. Ghirardi, and M. Seibert, *Plant Physiol.*, Vol. 122, pp. 127-136, 2000.
66. S.A. Angermayr, K.J. Hellingwer, P. Lindblad, and M.J. Teixeira de Mattos, *Curr. Opin. Biotechnol.*, Vol. 20, pp. 257-263, 2009.
67. D.B. Levin, P. Lawrence, and L. Murry, *Int. J. Hydrogen Energy*, Vol. 29, pp. 173- 185, 2004.
68. H. Sakurai, and H. Masukawa, *Mar. Biotechnol.*, Vol. 2, pp. 128-145, 2007.
69. C.A. Cardona, and O.J. Sanchez, *BioresourTechnol.*, Vol. 98, pp. 2415-2457, 2007.
70. M. K. Lam, and T. K. Lee, *Biotechnology Advances*, Vol. 30 (3), pp. 673-690, 2012.
71. L.A. Demain, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, Vol. 36, pp. 319-332, 2009.
72. R. Ueda, S. Hirayama, K. Sugata, and H. Nakayama, US Patent 5578,472 (1996)
73. R.A. Bush, and K.M. Hall, Process for the production of ethanol from algae. US Patent 7135,308, 2006.
74. R. Harun, M.K. Danquah, and M. Forde Gareth, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, Vol. 85 , pp. 199-203, 2010.
75. N. Youssef, D.R. Simpson, K.E. Duncan, M.J. McInerney, M. Folmsbee, T. Fincher, and R.M. Knapp, *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 73 (4), pp. 1239-1247, 2007.
76. B.P. Singh, M.R. Panigrahi, and H.S. Ray. *Energy Sources*, Vol. 22 (7), pp. 649- 658, 2000.

77. T.H. Willke, and K.D. Vorlop, *Appl. Microbiol. Biot*, Vol. 66, pp. 131-142, 2004.
78. J.R. Beneman, *J. Ind. Microbiol*, Vol. 31, pp. 247-256, 1990.
79. M.A. Borowitzka, *Curr. Microbiol*, Vol. 3, pp. 372-375, 1986.
80. G.F. Wu, Q.Y. Wu, and Z.Y. Shen, *Bioresour. Technol.*, Vol. 76, pp. 85-90, 2001.
81. R.J. Radmer, and B.C. Parker, *J. Appl. Phycol*, Vol. 6, pp. 93-98, 1994.
82. S. Philip, T. Keshavarz, and I Roy, *J. Chem. Technol. Biot*, Vol. 82, pp. 233-247, 2007.
83. M. Olaizola, *Biomol. Eng*, Vol. 20, pp. 459-466, 2003.
84. J. Benemann, and W Oswald, "Systems and economic analysis of microalgae, ponds for conversion for CO₂ to biomass". Final Report to the US Department of Energy, Pittsburgh Energy Technology Centre, 1996.
85. E.B. Sydney, W. Sturm, J. Cesar de Carvalho, V. Thomas- Soccol, C. Larroche, A. Pandey, and C.R. Soccol, *Bioresour. Technol.*, Vol. 101, pp. 5892-5896, 2010.
86. J.N. Rosenberg, G.A. Oyler, L. Wilkinson, and M.J. Betenbaugh, *Curr. Opin. Biotechnol*, Vol. 19, pp. 430-436, 2008.
87. X. Lui, and Curtiss III, *Proc. Nat. Acad. Sci*, Vol. 106, pp. 21550-21554, 2009.
88. A. Leonard, C.J. Rooke, C.F. Meunier, H. Sarmento, J.P. Descy, and B.L. Su, *Energy Environ. Sci.*, Vol. 3, pp. 370-377, 2010.
89. L. Brennan, and P Owende, *Renew. Sust. Energy Rev*, Vol. 14, pp. 557-577, 2010.
90. D. Song, J. Fu, and D Shi, *Chin. J. Biotechnol*, Vol. 24, pp. 341-348, 2008.
91. Y. Asada, and J Miyake, *J. Biosci. Bioeng*, Vol. 88, pp. 1-9, 1999.
92. J. Dexter, and P. Fu, *Energy Environ. Sci*, Vol. 2, pp. 857-864, 2009.
93. D.P. Chynoweth, *HortScience*, Vol. 40, pp. 283-286, 2005.
94. S. Ostergaard, L. Olsson, M. Johnston, and J Nielsen, *Nat. Biotechnol*, Vol. 18, pp. 1283-1286, 2000.
95. S. Ostergaard, L. Olsson, and J. Nielsen, *Metabolic Microbiol. Mol. Biol. Rev*, 64, pp. 34-50, 2000.
96. N Wei, J. Quarterman, and J Yong-Su, *Trends in Biotechnology*, Vol. 31 (2), pp. 70-77, 2013.
97. C. Bro, S. Knudsen, B. Regenberg, L. Olsson, and J Nielsen, *Appl. Environ. Microbiol*, 71, pp. 6465-6472, 2005.
98. G. Torzillo, A. Scoma, C. Faraloni, A. Ena, and U Johanningmeier, *Int J Hydrogen Energy*, Vol. 34 , pp. 4529-4536, 2009.
99. J. Beckmann, F. Lehr, G. Finazzi, B. Hankamer, C. Posten, L. Wobbe, and O. Kruse, *J Biotechnol*, Vol. 142 , pp. 70-77, 2009.
100. J.H. Mussnug, S. Thomas-Hall, J. Rupprecht, A. Foo, V. Klassen, A. McDowall, P. M. Schenk, O. Kruse, and B Hankamer, *Plant Biotechnol J*, Vol. 5 pp. 802-814, 2007.
101. A. Melis, *Plant Sci*, Vol. 177, pp. 272-280, 2009.
102. <http://www.biomara.org/>
<http://arpa.e.energy.gov/ProgramsProjects/OtherProjects/BiomassEnergy/> MacroAlgaeButanol.aspx

Процессы производства биоэтанола

Мохаммед Дж. Тахерзаде, Патрик Р. Леннарссон¹, Оливер

Тейхерт и Хакан Нордхольм²

¹Школа инженерии, Университет Бурос, Бурос, Швеция

²Lantmännen Agroetanol AB, Норчёпинг, Швеция

Краткое изложение

Этанол, объем производства которого в 2011 году составил более 86 миллиардов литров, является доминирующим биотопливом на мировом топливном рынке. В настоящее время этанол производится из источников крахмала и сахара, так называемого этанола 1-го поколения, в то время как лигноцеллюлозный этанол (2-го поколения) еще не использовался для промышленного применения. Как правило, производство включает предварительную очистку, возможный гидролиз сахарных полимеров ферментами или кислотами, ферментация дрожжами, например, и последующие процессы, такие как дистилляция, дегидратация и выпаривание. Кроме того, мировое производство и потребление этанола вызвало также этические и социальные проблемы, например, в отношении продуктов питания и топлива. В этой главе рассматривается подробное описание процесса производства биотоплива.

Ключевые слова: этанол, ферментация

8.1 Введение

Этанол (C_2H_5OH) - прозрачное, бесцветное, легковоспламеняющееся жидкое химическое вещество. В течение нескольких тысяч лет его производили и использовали в водных растворах в качестве алкогольного напитка. Этанол также имеет промышленное применение (например, в моющих средствах, гигиенической косметике, лакокрасочных материалах и фармацевтических препаратах) и более столетия использовался в качестве топлива для транспортировки. Николас Отто использовал этанол в двигателе внутреннего сгорания, изобретенном в 1897 году [1]. Однако этанол не оказывал существенного влияния на топливный рынок до 1970-х годов, когда в 1973 и 1979 годах произошли два нефтяных кризиса. С 1980-х годов этанол был основным игроком на рынке топлива в качестве альтернативного топлива, а также в качестве окислительной смеси для бензина. Этанол может быть получен синтетически из нефти и природного газа, или биологическим методом из сахара, крахмала и лигноцеллюлозных материалов. Этанол, изготовленный биологическим методом, иногда называют ферментативным этанолом или биоэтанолом. Применение биоэтанола в качестве топлива не имеет или очень ограничивает чистые выбросы CO_2 [2] и способно обеспечить выполнение Киотского протокола об изменении климата (1997 г.) для снижения чистых выбросов CO_2 [3]. Тем не менее, по поводу устойчивости этанола на основе сахара и зерна, так называемого «этанола первого поколения», было высказано множество критических замечаний. В этой главе кратко рассматриваются глобальный рынок и производство биоэтанола.

8.2 Мировой рынок биоэтанола и перспективы на будущее

Этанол производится из различных видов сырьевого материала. Ферментативный этанол получают из зерен, мелассы, тростникового сока, фруктов, излишков вина, молочной сыворотки и некоторых других аналогичных источников, которые содержат простые сахара и их полимеры. С другой стороны, синтетический этанол получают из масла, например, путем гидратации этилена [4]:



Тем не менее, биоэтанол полностью доминирует на мировом рынке, насчитывая более 95% мирового годового производства [5]. Большая часть этанола используется в качестве топлива, что

также является основной причиной расширения мирового рынка. В 2011 году было произведено 86,1 млрд. литров (68 млн. тонн) этанола по сравнению с 17,0 млрд. литров в 2000 году (Рис. 8.1) [6].

Двумя доминирующими странами-производителями этанола в мире являются Соединенные Штаты и Бразилия, на которые приходится 63% (54 млрд. литров) и 24% (21 млрд. литров) мирового производства этанола в 2011 году, соответственно. Однако по сравнению с 2010 годом производство этанола в Бразилии сократилось на 18%, отчасти из-за плохих урожаев сахарного тростника, в то время как производство в Соединенных Штатах увеличилось. Другие мировые производители, достойные внимания, - это Китай (2.1 миллиарда литров), Канада (1.8 миллиардов литров),

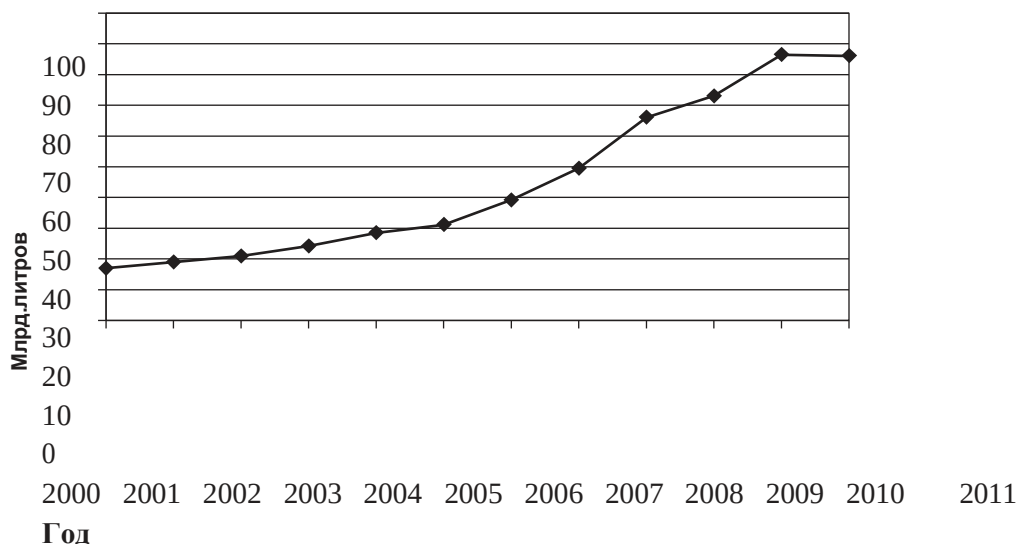


Рисунок 8.1 Общемировое производство топливного этанола с 2000 года [6].
Франция (1.1 миллиард литров) и Германия (0.8 миллиардов литров) [6].

8.3 Общий процесс производства биоэтанола

Процесс производства этанола зависит от используемого сырья. Общее упрощенное представление этих процессов показано на Рис. 8.2, а краткое описание различных элементов процесса представлено в этой главе. Стоит также отметить, что если в качестве сырья используются сахарные вещества, такие как меласса и тростниковый сок, то нет необходимости в измельчении, предварительной обработке, гидролизе и детоксификации.

Процессы измельчения, сжижения и осахаривания обычно необходимы для производства сбраживаемого сахара из крахмалистых материалов, в то время как измельчение, предварительная обработка и гидролиз обычно используются для производства этанола из лигноцеллюлозных материалов. Более того, детоксикационная установка не всегда применяется, если в биореакторы не подается токсичный субстрат.

8.4 Производство сахара из сырьевого материала

Сахарные вещества (такие как тростниковый сок и меласса), крахмалистые материалы (такие как пшеница, кукуруза, ячмень, картофель и маниока) и лигноцеллюлозные материалы (такие как отходы лесоматериала, солома и другие сельскохозяйственные отходы) считаются сырьем для производства этанола. Доминирующие сахара, доступные или произведенные из этого популярного сырья:

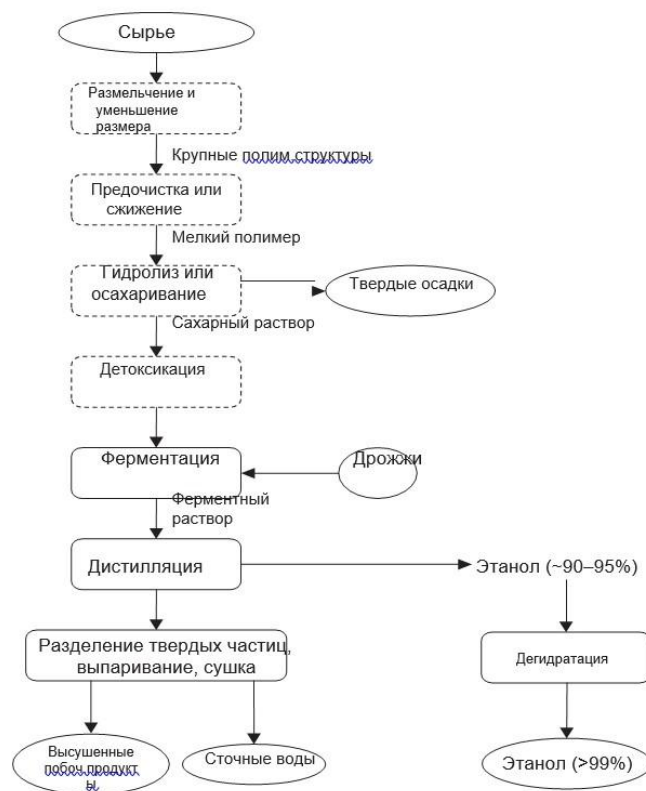


Рисунок 8.2 Общая технологическая схема производства этанола из разных видов сырья.

Глюкоза, фруктоза и сахароза в сахарных веществах

Глюкоза в крахмалистых материалах

Глюкоза из целлюлозы и либо маннозы, либо ксилозы из гемицеллюлозы из лигноцеллюлозных материалов

Большинство бактерий, продуцирующих этанол, могут использовать различные гексозы, такие как глюкоза, фруктоза, галактоза и манноза, и даже ограниченное количество дисахаридов, таких как сахароза, лактоза, целлобиоза и мальтоза, но очень редко их полимеры.

Таблица 8.1 Обработка различных типов субстратов.

Субстрат	Предварительная обработка или разжижение	Гидролиз или осахаривание	Детоксикация
Сахарное сырье	Нет	Нет	Обычно нет
Крахмалистые материалы	Да	Да	Нет
Лигноцеллюлозный материал	Да	Да	В зависимости от способа гидролиза

Следовательно, необходимо превратить сложные полисахариды, такие как целлюлоза и крахмал, в простые сахара или дисахариды. Различные типы субстратов, которые требуют обработки перед ферментацией, представлены в Таблице 8.1.

В данном разделе обсуждается производство сахара из крахмалистых материалов; лигноцеллюлозные материалы обсуждаются в Разделе 8.5.

8.4.1 Сахарный сироп из кристаллического материала

Существуют различные виды сырья, содержащие крахмал и пригодные для производства этанола. Для этой цели в промышленности широко используется кукуруза. Тем не менее, есть несколько других злаков, таких как пшеница, рожь, ячмень, тритикале, овес и сорго; и корнеплоды, такие как картофель и маниока, которые используются в качестве сырья для производства этанола. Зерновые содержат около 50–70% крахмала, 8–12% белков, 10–15% воды и небольшое количество жиров и волокон. Состав корней сельскохозяйственных культур практически идентичен составу зерновых на сухой основе, но содержание воды в корнях обычно составляет 70–80%. Точный состав каждого сырьевого материала зависит от типа и разнообразия используемых материалов и может быть найден в литературе (например, [2, 7]). Микроорганизмы используют крахмал из этих материалов в качестве источника углерода и энергии, в то время как часть содержания белка используется в качестве источника азота.

Крахмал содержит две фракции: амилозу и амилопектин. Амилоза, которая обычно составляет около 20% крахмала, представляет собой полимер с линейной решеткой субъединиц - глюкозы с молекулярной массой, которая может варьироваться от нескольких тысяч до полумиллиона. Амилоза является нерастворимым в воде полимером. Основная масса крахмала - это амилопектин, который также является полимером глюкозы. Амилопектин содержит значительное количество ответвлений в молекулярных цепях. Ответвления происходят от концов сегментов амилозы, в среднем 25 единиц глюкозы в длину. Молекулы амилопектина обычно крупнее, чем амилоза, с молекулярной массой в пределах 1-2 мг/моль. Амилопектин растворим в воде и может образовывать гель, поглощая воду при более высоких температурах.

При производстве этанола гидролиз является необходимым условием для превращения крахмала в сбраживаемый сахар, доступный для микроорганизмов. Для традиционного превращения крахмала в сахарные мономеры требуется процесса гидролиза двухэтапного: сжижение крупных молекул крахмала до олигомеров и сахаризация олигомеров до сахарных мономеров. Этот гидролиз может быть катализирован кислотными или амилалитическими ферментами.

8.4.2 Кислотный гидролиз крахмала

Кислотный гидролиз хорошо известный процесс, все еще применяемый с этанолом в некоторых отраслях. В этом процессе наиболее часто применяется серная кислота, в которой крахмал превращается в низкомолекулярные декстрины и глюкозу [8]. Основными преимуществами этого процесса являются быстрый гидролиз и более низкая стоимость катализатора по сравнению с ферментативным гидролизом. Несмотря на это, в кислотных процессах имеются недостатки, включая: а) высокие капитальные затраты для реактора кислотостойкого гидролиза, б) разрушение чувствительных биогенов, таких как витамины, присутствующие в сырье, и в) дальнейшее разложение сахара до гидроксиметилфурфуrolа (ГМФ), левулиновая кислота и муравьиная кислота, которая снижает выход этанола и ингибирует процесс ферментации [9].

Процесс кислотной переработки можно проводить либо сериями, либо в непрерывной системе. Разбавленный кислотный гидролиз также можно использовать в качестве предварительной обработки для ферментативного гидролиза. Крахмал или крахмалистый материал замачивают в разбавленной кислоте до ферментативного гидролиза, вслед за чем его непрерывно пропускают через пароструйный нагреватель в варочную трубу (называемую струйным варочным аппаратом, или варочный аппарат для смеси) с продолжительностью пребывания поршневого потока 2 минуты, а затем он подвергается ферментативному гидролизу.

8.4.3 Ферментативный гидролиз крахмала

Ферментативный гидролиз имеет несколько преимуществ по сравнению с гидролизом в кислой среде. Во-первых, специфичность ферментов позволяет производить сахарные сиропы с конкретными физико-химическими свойствами. Во-вторых, более мягкий ферментативный гидролиз приводит к меньшему количеству побочных реакций и меньшему «побурению» реакциями Майяра [8]. Типы ферментов, участвующих в ферментативном гидролизе крахмала, включают α -амилазу, β -амилазу, глюкоамилазу, пуллулазу и изоамилазу. Механизм действия этих ферментов схематически представлен на рис. 8.3.

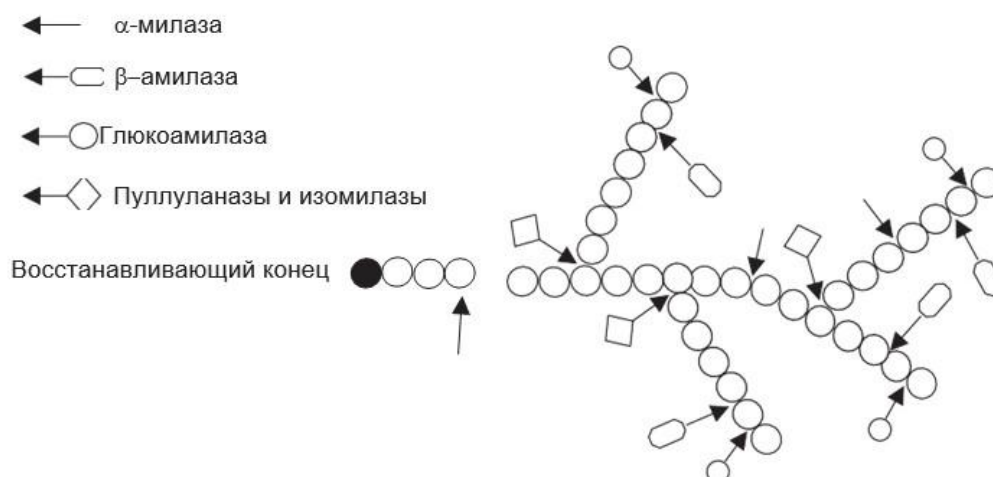


Рисунок 8.3 Механизм действия амилазы на крахмал.

Существует два популярных процесса производства из крахмальных материалов: сухое измельчение и мокрое измельчение. В процессе сухого измельчения зерна сначала измельчаются, а затем обрабатываются в цельносмолотую муку - без отделения крахмала от зародышевых и волокнистых компонентов. Ясно выражаясь, при помощи этого метода перерабатывается вся смесь крахмала и других компонентов. Крахмал превращают в сахар в два этапа: сжижение и осахаривание путем добавления воды, ферментов и тепловая энергия (ферментативный гидролиз). Процессы сухого измельчения обычно дают побочные продукты, как например, высушенная в дистилляторах гранулированная барда (DDGS), которая используется в качестве кормовых добавок для животных. Доходы от сопутствующих продуктов играют значительную роль в обеспечении экономической целесообразности всего процесса [2]. В процессе мокрого измельчения зерно замачивается и может быть разделено на крахмал, зародышевые и волокнистые компоненты. Мокрое измельчение является капиталоемким, но оно производит многочисленные побочные продукты, помогающие улучшить общую экономику производства [2]. Мельницы мокрого измельчения могут производить богатые белком фракции и волокнистые фракции в качестве компонентов кормов или даже продукты на основе микробов в качестве жмыха зародышей. При помощи данного метода после того, как зерно очищено, оно замачивается и затем измельчается для удаления микробов. Дальнейшие стадии измельчения, промывки и фильтрации отделяют волокна и клейковину. Остающийся крахмал вымывается на этих стадиях разделения и затем разлагается на сбраживаемые сахара путем добавления ферментов на стадиях сжижения и осахаривания. Полученные сбраживаемые сахара затем подвергают ферментации для производства этанола.

8.5 Характеристика лигноцеллюлозных материалов

Лигноцеллюлозные материалы, в основном, содержат смесь углеводных полимеров (целлюлозу и гемицеллюлозу) и лигнина. Углеводные полимеры прочно связаны с лигнином, преимущественно, посредством водородных связей, в том числе и через некоторые ковалентные связи. Содержание целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина в обычных лигноцеллюлозных материалах перечислено в таблице 8.2 [2, 10–13].

8.5.1 Целлюлоза

Целлюлоза является основным компонентом большинства лигноцеллюлозных материалов. Целлюлоза - это линейный полимер, содержащий до 27 000 глюкозильных остатков, связанных β -1,4 связями. При этом каждый глюкозный остаток поворачивается на 180° относительно своих соседей, так что основной повторяющейся единицей является целлобиоза, димер двухглюкозного остатка.

Таблица 8.2 Содержание целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина в обычных лигноцеллюлозных материалах.

Лигноцеллюлозные материалы	Целлюлоза (%)	Гемицеллюлоза (%)	Лигнин (%)
Стволы твердой древесины	40–75	10–40	15–25
Стволы мягкой древесины	30–50	25–40	25–35
Кукурузные початки	45	35	15
Пшеничная солома	30	50	15
Стебли риса	32–47	19–27	5–24
Жом сахар. тростника	40	24	25
Листья	15–20	80–85	0
Бумага	85–99	0	0–15
Газетная бумага	40–55	25–40	18–30
Отходы бумаги из целлюлозы	60–70	10–20	5–10
Злаки	25–40	25–50	10–30

Так как глюкозные остатки скреплены между собой в полимерные цепи, молекула воды не задействована из-за промежуточных связей, что создает химическую формулу $C_6H_{10}O_5$ для каждой мономерного звена «глюкана». Параллельные цепи полиглюкана образуют многочисленные межмолекулярные и внутримолекулярные водородные связи, в результате чего высокоупорядоченная кристаллическая структура нативной целлюлозы перемежается с менее упорядоченными аморфными областями [14–16].

8.5.2 Гемицеллюлоза

Гемицеллюлозы представляют собой гетерогенные полимеры пентоз (например, ксилозы и арабинозы), гексоз (например, маннозы, глюкозы и галактозы) и сахарных кислот. В отличие от целлюлозы гемицеллюлозы не являются однородными по химическому составу. Гемицеллюлозы относительно легко гидролизуются кислотами до их мономерных компонентов, состоящих из глюкозы, человека, галактозы, ксилозы, арабинозы и небольших количеств рамнозы, глюкуроновой кислоты, метилглюкуроновой кислоты и галактурановой кислоты. Гемицеллюлозы древесин лиственных пород содержат в основном ксиланы, тогда как гемицеллюлозы древесин хвойных пород содержат в основном глюкоманнаны. Ксиланы являются наиболее распространенными гемицеллюлозами. Ксиланы многих растительных материалов представляют собой гетерополисахариды с гомополимерными основными цепями из 1,4-связанных остатков β -D-ксилопиранозных звеньев. Ксиланы из разных источников, таких как травы, зерновые злаки, древесины хвойных или лиственных пород, различаются по составу. Помимо ксилозы ксиланы могут содержать арабинозу, глюкуроновую кислоту или ее 4-O-метилэфир, а также уксусную, феруловую и p-кумаровую кислоты. Степень полимеризации ксиланов лиственных пород (150–200) выше, чем у хвойных пород (70–130) [13, 14].

8.5.3 Лигнин

Лигнин - очень сложная молекула. Это ароматический полимер, состоящий из фенилпропановых звеньев, связанных в трехмерную структуру. Как правило, в мягкой древесине содержится больше лигнина, чем в твердой древесине. Лигнины подразделяются на два класса, а именно: гваяциловые лигнины и гваяцил-сирингиловые лигнины. Хотя основные структурные элементы в лигнине были в значительной степени прояснены, многие аспекты его химии остаются неясными. Сообщалось о химических связях между лигнином и гемицеллюлозой и даже целлюлозой. Лигнины чрезвычайно устойчивы к химической и ферментативной деградации. Биологический

распад может быть достигнут, главным образом, грибами, но также и некоторыми актиномицетами (бактериями) [14, 17].

8.6 Сахарный сироп из лигноцеллюлозного материала

Существует несколько возможных способов гидролиза лигноцеллюлозы. Наиболее часто применяемые методы можно разделить на две группы: химический гидролиз и ферментативный гидролиз. Кроме того, есть некоторые другие методы гидролиза, в которых не применяются химические вещества или ферменты. К примеру, лигноцеллюлоза может быть гидролизована радиационным или электронно-лучевым облучением или микроволновым облучением. Однако эти процессы убыточны [14].

8.6.1 Химический гидролиз лигноцеллюлозного материала

Химический гидролиз включает воздействие лигноцеллюлозных материалов на химические продукты в течение некоторого времени при определенной температуре и приводит к образованию сахарных мономеров из полимеров целлюлозы и гемицеллюлозы. В большинстве своем, кислоты применяются в химическом гидролизе. Серная кислота является наиболее исследованной кислотой, хотя также использовались другие кислоты, такие как соляная кислота (HCl). Кислотный гидролиз можно разделить на две группы: гидролиз концентрированными кислотами и гидролиз разбавленными кислотами [18].

8.6.1.1 Гидролиз концентрированной кислотой

Гидролиз лигноцеллюлозы с помощью концентрированной серной или соляной кислоты является относительно старым процессом. Сообщается, что в целом обработка концентрированной кислотой дает более высокий выход сахара и этанола по сравнению с процессами с разбавленной кислотой. Кроме того, им не требуется очень высокое давление и температура. Хотя это и успешный метод гидролиза целлюлозы, концентрированные кислоты токсичны, коррозионны и опасны и требуют, чтобы материал конструкции, используемый для реакторов и другого оборудования, обладал высокой устойчивостью к коррозии. Высокие инвестиционные и эксплуатационные затраты значительно снизили коммерческий потенциал этого процесса. Помимо этого, чтобы процесс был экономически целесообразным, после гидролиза концентрированная кислота должна быть восстановлена. Применение соляной кислоты сильно ограничено из-за воздействия на окружающую среду [11, 14].

8.6.1.2 Гидролиз разбавленной кислотой

Гидролиз разбавленной серной кислотой - это метод предварительной обработки до ферментативного гидролиза или превращения лигноцеллюлозы в сахара в один прием. В качестве предварительной обработки он дает высокие скорости реакции и значительно улучшает ферментативный гидролиз. В зависимости от используемого субстрата и применяемых условий до 95% гемицеллюлозных сахаров можно извлечь путем гидролиза разбавленной кислотой из лигноцеллюлозного сырья [2, 19]. Из всех процессов с разбавленной кислотой процессы с использованием серной кислоты наиболее глубоко изучены. Серная кислота обычно используется в концентрации 0,5–1,0%. Однако время и температура процесса могут варьироваться. При гидролизе разбавленной кислотой обычно используют одно из следующих условий:

мягкие условия, т.е. низкое давление и большое время удерживания
тяжелые условия, т.е. высокое давление и короткое время удерживания

При гидролизе разбавленной кислотой фракция гемицеллюлозы деполимеризуется при более низких температурах, чем целлюлозная фракция. При применении более высокой температуры или более длительного времени удерживания, образующиеся моносахариды будут дополнительно гидролизоваться до других соединений. Поэтому можно предположить, что процесс гидролиза проводится как минимум в две стадии. Первая стадия проходит при относительно более мягких

условиях, при которых гидролизует фракция гемицеллюлозы, а вторая стадия может быть проведена путем ферментативного гидролиза или гидролиза разбавленной кислотой, при более высоких температурах, во время которых гидролизует целлюлоза [19]. Эти первую и вторую стадии иногда называют «предварительной очисткой» и «гидролизом» соответственно.

Гидролизаты первой ступени гидролиза разбавленной кислотой обычно состоят из гемицеллюлозных углеводов. Доминирующим сахаром в гидролизате лиственных пород первой ступени (таких как ольха, осина и береза) и в большинстве сельскохозяйственных остатков, таких как солома, является ксилоза, тогда как гидролизаты хвойных пород первой ступени (например, сосна и ель) преимущественно содержат маннозу. Однако доминирующим сахаром в гидролизате второй стадии всех лигноцеллюлозных материалов путем ферментативного или разбавленного кислотного гидролиза является глюкоза, которая возникает из целлюлозы.

8.6.1.3 Детоксикация кислотных гидролизатов

Наряду с сахарами, в процессе кислотного гидролиза образуются или выделяются несколько побочных продуктов. Самыми важными побочными продуктами являются карбоновые кислоты, фурфуролы и фенольные соединения (см. Рис. 8.4).

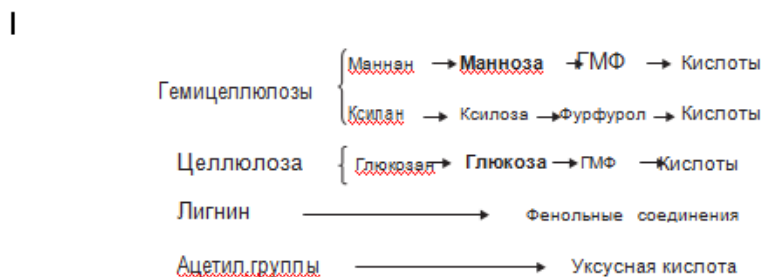


Рисунок 8.4 Образование ингибирующих соединений из лигноцеллюлозных материалов во время кислотного гидролиза.

Уксусная кислота, муравьиная кислота и левулиновая кислота являются наиболее распространенными карбоновыми кислотами, содержащимися в гидролизатах. Уксусная кислота в основном образуется из ацетилированных сахаров в гемицеллюлозе, которые уже отщепляются в мягких условиях гидролиза. Поскольку кислота не подвергается дальнейшему гидролизу, образование уксусной кислоты зависит от температуры и давления гидролиза разбавленной кислоты до тех пор, пока ацетильные группы не будут полностью гидролизованы. Поэтому выход уксусной кислоты при гидролизе зависит от степени тяжести процесса гидролиза в незначительной степени [19, 20].

Фурфурол и ГМФ являются единственными фуранами, которые чаще всего содержатся в гидролизатах в значительных количествах. Они являются продуктами гидролиза пентоз и гексоз соответственно [19]. На образование этих побочных продуктов влияют тип и размер лигноцеллюлозы, а также переменные гидролиза, такие как тип и концентрация кислоты, давление и температура и время удерживания.

Большое количество фенольных соединений было найдено в гидролизатах. Однако, сообщается, что концентрация обычно составляет несколько миллиграммов на литр. Это может быть связано с низкой растворимостью многих фенольных соединений в воде или ограниченной деградацией лигнина в процессе гидролиза. Ванилин, сирингальдегид, гидроксibenзальдегид, фенол, ваниловая кислота и 4-гидроксibenзойная кислота входят в число фенольных соединений, обнаруженных в гидролизатах разбавленной кислоты [21].

Для детоксикации лигноцеллюлозных гидролизатов использовались биологические методы (например, с использованием ферментов Мп- пероксидазы и лакказы), физические методы (например, путем испарения летучей фракции и экстракции нелетучей фракции диэтиловым эфиром) и химические методы (например, щелочной обработкой) [22, 23].

Детоксикация лигноцеллюлозных гидролизатов путем осветления является

распространенным способом, используемым для улучшения ферментации [24–27]. В этом методе $\text{Ca}(\text{OH})_2$ добавляется в гидролизаты для повышения pH (до 9–11), и это условие сохраняется в течение некоторого периода времени (от 15 минут до нескольких дней) с последующим снижением pH до pH ферментации. Выяснилось, что время, кислотность pH и температура превышения являются рабочими параметрами при детоксикации [28]. Однако недостатком этой обработки является то, что часть сахара также разлагается во время процесса осветления. Поэтому необходимо оптимизировать процесс, чтобы снизить потери сбраживаемых сахаров [23, 28]. Недавно были рассмотрены различные способы преодоления ингибиторов [29].

8.6.2 Предварительная обработка лигноцеллюлозного материала перед ферментативным гидролизом

Нативные (эндемичные) целлюлозные фракции целлюлозных материалов не поддаются ферментативному расщеплению, поэтому требуется этап предварительной очистки, чтобы сделать их поддающимися ферментативному гидролизу к глюкозе. В лабораториях разработан ряд процессов предварительной очистки, в том числе:

Предварительная физическая обработка - механическое измельчение, облучение и пиролиз.

Предварительная физико-химическая обработка - паровой взрыв или автогидролиз, перколяция с использованием рециркулируемого аммиака (AFEX), взрыв SO_2 и взрыв CO_2

Предварительная химическая обработка - озонлиз, гидролиз разбавленной кислотой, гидролиз в щелочной среде, процесс растворения органических веществ и окислительная делигнификация.

Предварительная биологическая обработка с использованием разлагающих лигнин ферментов и грибов белой гнили

Однако не все эти методы могут быть технически или экономически целесообразными для крупномасштабных процессов. В некоторых случаях один метод используется для повышения эффективности другого метода. Например, измельчение можно было бы применить для достижения лучшего парового взрыва путем уменьшения размеров крошки. Кроме того, следует отметить, что выбор метода предварительной обработки должен быть совместим с выбором гидролиза. Например, если необходимо применять кислотный гидролиз, предварительная обработка щелочью может быть нецелесообразной [21].

Помимо различных типов методов предварительной очистки были успешно разработаны методы разбавленной кислоты, SO_2 и парового взрыва для предварительной обработки лигноцеллюлозных материалов. Методы обнаруживают обнадеживающие результаты для промышленного применения. Гидролиз разбавленной серной кислотой является подходящим способом предварительной обработки до ферментативного гидролиза или для превращения лигноцеллюлозы в сахара.

8.6.3 Ферментативный гидролиз из лигноцеллюлозного материала

Ферментативный гидролиз целлюлозы и гемицеллюлозы можно выполнить высокоспецифичными ферментами целлюлазы и гемицеллюлазы (гликозил-гидролазы). В эту группу входит не менее 15 белковых семейств и несколько подсемейств [14, 32]. Ферментативное расщепление целлюлозы до глюкозы достигается, большей частью, за счет синергичного действия трех отдельных классов ферментов [2]:

1,4-Р-d-глюкан-4-глюканогидролазы или эндо-1,4-β-глюканазы, которые обычно измеряются путем определения восстанавливающих групп, высвобождаемых из карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ).

экзо-1,4-β-d-глюканазы, включая как 1,4-β-d-глюкан гидролазы, так и 1,4-β-d-глюкан целлобиогидролазы. Гидролазы 1,4-β-d-глюкана выделяют d-глюкозу, а целлобиогидролазы 1,4-glu-d-глюкана высвобождают d-целлобиозу.

β-d-глюкозид-глюкогидролазы или β-d-глюкозидазы, которые выделяют d-глюкозу из целлобиозы и растворимых целлодекстринов, а также из множества гликозидов.

Существует взаимосвязь между экзо-экзо, экзо-эндо и эндо-эндо ферментами, которая была неоднократно продемонстрирована. Свойства субстрата, активность целлюлазы и условия гидролиза (например, температура и pH) являются факторами, которые влияют на ферментативный гидролиз целлюлозы. В целях улучшения выхода и скорости ферментативного гидролиза, были проведены некоторые исследования, направленные на оптимизацию процесса гидролиза и повышение активности целлюлазы. Концентрация субстрата является одним из определяющих факторов, влияющих на выход и начальную скорость ферментативного гидролиза целлюлозы. При низких уровнях субстрата увеличение концентрации субстрата обычно приводит к увеличению выхода и скорости реакции гидролиза. Несмотря на это, высокие концентрации субстрата могут вызывать субстратное ингибирование, что значительно снижает скорость гидролиза. Степень субстратного ингибирования зависит от соотношения общего субстрата и общего фермента [11]. Увеличение дозы целлюлазы в процессе до определенной степени может улучшить выход и скорость гидролиза, но значительно повысит стоимость процесса. Загрузка целлюлазы в 10 АФБ/г целлюлозы (единиц фильтровальной бумаги на грамм) часто используется в лабораторных исследованиях, поскольку она обеспечивает спектр гидролиза с высоким уровнем выхода глюкозы в течение разумного времени (48–72 ч) при разумной стоимости фермента. Содержание фермента целлюлазы при гидролизе варьируется от 5 до 33 АФБ/г субстрата, в зависимости от типа и концентрации субстратов. В ферментативном гидролизе целлюлозы β -глюкозидаза может действовать как ограничивающий агент. Добавление дополнительной β -глюкозидазы может повысить выход сахаризации [33, 34].

Ферментативный гидролиз целлюлозы состоит из трех этапов: (1) адсорбция ферментов целлюлазы на поверхность целлюлозы, (2) биоразложение целлюлозы до простых сахаров и (в) десорбция целлюлозы [11]. Активность целлюлазы уменьшается во время гидролиза. Необратимая адсорбция целлюлазы на целлюлозе несет частичную ответственность за эту деактивацию. Добавление поверхностно-активных веществ во время гидролиза способно модифицировать свойства поверхности целлюлозы и уменьшить необратимое связывание целлюлазы с целлюлозой. Tween 20 и Tween 80 являются наиболее эффективными неионогенными поверхностно-активными веществами в этом смысле. Добавление Tween 20 в качестве добавки для одновременной сахаризации и ферментации (SSF) при 2,5 г/л оказывает на процесс немного положительное влияние. Он увеличивает выработку этанола, наращивает ферментативную активность в жидкой фракции в конце процесса, уменьшает количество загрузки фермента и сокращает время, необходимое для достижения максимальной концентрации этанола [33].

8.7 Основные понятия ферментации

Общая реакция во время ферментации при производстве этанола:



В этой реакции микроорганизмы работают в качестве катализатора.

8.8 Превращение простых сахаров в этанол

Превращение простых гексозных сахаров, таких как глюкоза и манноза, при ферментации в этанол может происходить анаэробно следующим образом:



Если, в соответствии с вышеуказанной реакцией, весь сахар превращается в этанол, то выход этанола будет составлять 0,51 г/г потребленных сахаров, что означает, что из 1,0 г глюкозы можно получить 0,51 г этанола. Это максимальный теоретический выход этанола из гексоз. Однако выработка этанола, полученного при ферментации, обычно не превышает 90–95% от максимального теоретического выхода, так как часть источника углерода в сахарах превращается в биомассу путем роста микрофлоры производства и в побочные продукты, такие, как глицерин и уксусная кислота [9, 35].

Можно рассмотреть схожую реакцию для анаэробного превращения пентоз, таких, как ксилоза, в этанол. Обычно ксилоза сначала превращается в ксилулозу путем одноэтапной реакции, активизируясь во многих бактериях ксилозоизомеразой (XI), или путем двухэтапной реакции с помощью ксилита в дрожжах и грибах. Затем он может преобразоваться в этанол анаэробно через пентозофосфатный путь (PPP) и гликолиз. Общая реакция может быть прописана как:



В данном случае, как и из глюкозы, можно ожидать теоретического выхода этанола 0,51 г/г из ксилозы. Однако окислительно-восстановительный дисбаланс и медленная скорость образования АТФ являются двумя основными факторами, которые делают анаэробное производство этанола из ксилозы затрудненным [36, 37]. В исследовательских лабораториях из ксилозы было разработано несколько штаммов, продуцирующих анаэробный этанол, но до сих пор нет штамма для процесса промышленного масштаба. Предпринимались попытки преодолеть эту проблему ассимиляции ксилозы путем совместного метаболизма или работы в микроаэробных условиях, когда кислород доступен в низкой концентрации. Целый ряд микроорганизмов может вырабатывать этанол аэробно из ксилозы, где практический выход этанола из ксилозы и других пентоз обычно ниже, чем его теоретический выход. Трудности производства этанола из ксилозы были рассмотрены ван Марисом и соавторами [38], а также и Мадхаваном и соавторами [39].

8.9 Биохимическое основание для получения этанола из гексозы

Упрощенный центральный метаболический путь для производства этанола у дрожжей и бактерий в анаэробных условиях представлен на Рис. 8.5 [14, 40–42].



Рисунок 8.5 Основной метаболический путь дрожжей в анаэробных условиях.

Три основных взаимосвязанных пути, контролирующих диссимиляцию углеводов в большинстве организмов, производящих этанол:

Путь Эмбдена-Мейергофа-Парнаса (ЕМР), или гликолиз

Пентозофосфатный путь (PPP)

Цикл Кребса или цикл трикарбоновых кислот (ТСА)

При гликолизе глюкоза анаэробно перерабатывается в пировиноградную кислоту, а затем в этанол через ацетальдегид. Этот путь обеспечивает энергию в форме АТФ в клетки. Чистый выход при гликолизе составляет два моля пирувата (или этанола) и два моля АТФ от каждого моля глюкозы. Этот путь также является вступлением других гексоз, таких как фруктоза, манноза и галактоза, в метаболические пути. Поскольку на катаболизованную глюкозу образуется только два моля АТФ, то этанола должно образовываться большое количество (не менее 3,7 г этанола на грамм биомассы) [14, 43].

Пентозофосфатный путь (PPP) обрабатывает пентозы и важен для биосинтеза нуклеотидов

(рибоза-5-фосфат) и жирных кислот. Пентозофосфатный путь (PPP) в основном используется для снижения НАДФ⁺. 6–8% доступной глюкозы у *Saccharomyces cerevisiae* проходит в анаэробных условиях через пентозофосфатный путь (PPP) [8, 14]. Функция цикла трикарбоновых кислот (ТСА) заключается в том, чтобы преобразовывать пировиноградную и молочную кислоты и этанол в конечные продукты CO₂ и H₂O аэробным путем. Она также является общим каналом в окончательном окислении жирных кислот и углеродных скелетов многих аминокислот. В клетках, содержащих эти дополнительные аэробные пути, НАДФ, образующийся во время гликолиза, приводит к образованию АТФ в цикле трикарбоновых кислот (ТСА) [8].

Производство этанола из гексозов является окислительно-восстановительным, то есть никакого чистого образования НАДН или НАДФН не происходит. Однако биосинтез клеток приводит к общему образованию НАДН и потреблению НАДФН. Пентозофосфатный путь (PPP) в основном используется для снижения НАДФ⁺ до НАДФН. Окисление избытка НАДН в анаэробных условиях у *S. cerevisiae* осуществляется через глицериновый путь. Кроме того, есть другие побочные продукты, в основном, карбоновые кислоты: уксусная кислота, пировиноградная кислота и янтарная кислота, которые добавляются к избытку НАДН. Поэтому глицерин также образуется для компенсации образования НАДН, вместе с этими карбоновыми кислотами. Таким образом, образование глицерина связано с образованием биомассы и карбоновой кислоты при анаэробном росте *S. cerevisiae* [14, 44].

Следует помнить, что рост клеток и увеличение их биомассы является конечной целью клеток. Они производят этанол в анаэробных условиях, чтобы обеспечить энергию путем реакции диссимиляции. Глицерин образуется для поддержания окислительно-восстановительного баланса клеток, а карбоновые кислоты могут вытекать из клеток в среду. Следовательно, в анаэробных условиях продуцирующие этанол микроорганизмы вырабатывают этанол в качестве основного продукта, тогда как биомасса, глицерин и некоторые карбоновые кислоты являются побочными продуктами.

8.10 Биохимическая основа производства этанола из пентоз

В большинстве случаев, дрожжи и мицелиальные грибы метаболизируют ксилозу посредством двухступенчатой реакции, прежде чем они вступают в центральный метаболизм (гликолиз) через пентозофосфатный путь (PPP). Первым этапом является превращение ксилозы в ксилит с использованием ксилозаредуктазы (XR), а вторым этапом является превращение ксилитола в ксилулозу с использованием другого фермента, ксилитдегидрогеназы (XDH) (рис. 8.6) [45–47]. В целом, эти два шага являются окислительно-восстановительными; однако у большинства видов эукариот два разных вовлеченных фермента используют разные окислительно-восстановительные носители, что приводит к дисбалансу в клетке [48, 49].

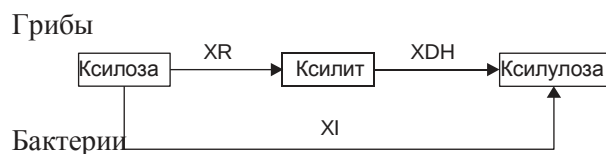


Рисунок 8.6 Ксилозный метаболизм с помощью бактерий и *S. cerevisiae*.

Дикие штаммы *S. cerevisiae* обладают ферментами XR и XDH, но их активность слишком мала, чтобы позволить расти на ксилозе. Хотя *S. cerevisiae* не может освоить ксилозу, он может использовать ее изомер - ксилулозу. Следовательно, если *S. cerevisiae* предназначен для ферментации ксилозы, ему требуется генетическая модификация для шифрования XR/XDH или ксилозаизомеразы (XI) [46, 50].

Бактерии имеют несколько отличающийся метаболический путь освоения ксилозы. Они превращают ксилозу в ксилулозу в одной реакции, используя XI [51–54].

8.11 Микроорганизмы, относящиеся к ферментации этанола

Критериями идеальных этанол-продуцирующих микробов, являются: а) высокая степень роста и ферментации, б) высокий выход этанола, в) высокая устойчивость к этанолу и глюкозе, г) осмоустойчивость, е) низкий оптимальный pH ферментации, ф) высокая оптимальная температура, г) общая выносливость при физиологическом стрессе и h) устойчивость к потенциальным ингибиторам, присутствующим в субстрате [35, 55]. Устойчивость к воздействию этанола и сахаров допускает конверсию концентрированных кормов в концентрированных продуктах, снижая энергозатраты на дистилляцию и обработку барды. Осмоустойчивость позволяет обрабатывать сравнительно грязное сырье с высоким содержанием соли. Ферментация при низком показателе pH препятствует загрязнению конкурирующими организмами. Устойчивость к высоким температурам облегчает охлаждение брожения. Универсальная стойкость позволяет микроорганизмам переживать такой стресс, как при обработке (например, центрифугирование) [55]. Микроорганизмы должны также переносить ингибиторы, присутствующие в среде. Также были обнаружены микроорганизмы, способные гидролизовать (лигноцеллюлозный) субстрат и ферментировать сахара в этанол, что именуется сплоченным биопроцессом. Сплоченный биопроцесс прошел проверку не так давно [56].

8.11.1 Дрожжи

Как показывает время, дрожжи были наиболее широко используемыми микроорганизмами для производства этанола. Штаммы дрожжей обычно выбираются среди *S. cerevisiae*, *S. ellypsoideuse*, *S. fragilis*, *S. carlsbergensis*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Torula cremoris* и *Candida pseudotropicalis*. Например, Лин и Танака рассмотрели в качестве основного продукта ферментации виды дрожжей, которые могут продуцировать этанол [8].

Среди дрожжей, продуцирующих этанол, «промышленной рабочей лошадью», безусловно, являются пекарские дрожжи *S. Cerevisiae*, наиболее известные и наиболее широко используемые дрожжи. Они могут расти как на простых гексозных сахарах, таких как глюкоза, так и на дисахаридной сахарозе. Дрожжи *S. cerevisiae* также в целом признаны безопасными в качестве пищевой добавки для потребления человеком и поэтому идеально подходит для производства спиртных напитков и для закваски хлеба. Однако им не под силу ферментация таких пентоз, как ксилоза и арабиноза, в этанол [13, 35]. Для усвоения ксилозы проводилось несколько научно-исследовательских разработок по генетической модификации *S. cerevisiae*, [36, 39, 57–59]. Было предпринято несколько попыток клонировать и экспрессировать различные бактериальные гены, которые необходимы для ферментации ксилозы в *S. cerevisiae* [60, 61]. Многим это удалось, но проблемы, связанные с ферментацией пентозы, все еще сохраняются.

В других случаях ксилоза превращается в этанол с помощью некоторого другого рекомбинанта природного происхождения. Сообщается, что среди штаммов ксилозоперерабатывающих дрожжей дикого типа, направленных на производство этанола, дрожжи *Pichia Conditionitis* и *Candida shehatae* показали обнадеживающие результаты для промышленного назначения, с учетом полного потребления сахара, минимального образования побочных продуктов, низкой чувствительности к температуре и концентрации субстрата. Кроме того, дрожжи *P. conditionitis* способны ферментировать большое количество сахаров в этанол и не нуждается в витаминах для ферментации ксилозы [2].

Олссон и Хан-Хагердал [22] представили список бактерий, дрожжей и грибов, которые производят этанол из ксилозы. Некоторые виды дрожжей *Candida*, *Pichia*, *Kluyveromyces*, *Schizosaccharomyces* и *Pachysolen* относятся к числу естественных организмов. Джеффрис и Курцман [62] рассмотрели селекцию штаммов, таксономию и генетику дрожжей, ферментирующих ксилозу.

Использование целлюлозы имеет важное значение в производстве этанола из лигноцеллюлозных материалов путем одновременного осахаривания и ферментации или SSF (см. Рис. 8.7). Однако только несколько микроорганизмов, продуцирующих этанол, способны утилизировать целлюлозу. Использование целлюлозы устраняет необходимость в одном классе ферментов целлюлазы [2]. *Brettanomyces custersii* - один из дрожжей, идентифицированных как обнадеживающий микроорганизм, ферментирующий глюкозу и целлюлозу, для SSF целлюлозы при производстве этанола [63].

Высокотемпературная устойчивость может быть хорошей характеристикой для производства этанола, поскольку он облегчает охлаждение брожения. Одной из проблем, связанных с SSF, является

разная оптимальная температура для сахаризации и ферментации. Было сделано много попыток найти термотолерантные дрожжи для SSF.

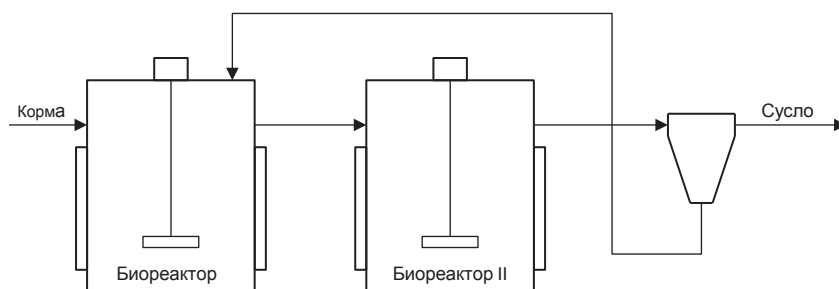


Рисунок 8.7 Двухстадийный процесс проточной ферментации этанола с рециркуляцией дрожжей [99, 100].

Шейх Идрис и Берри [64] испытали 58 штаммов дрожжей, относящихся к 12 различным видам и способных культивировать и ферментировать сахара при температуре 40–46 °С. Они отобрали несколько штаммов, принадлежащих к видам *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* и *Fabospora*, с учетом их способности ферментировать глюкозу, галактозу и маннозу при 40°С, 43°С и 46°С соответственно. Было обнаружено, что *Kluyveromyces marxianus* является подходящим штаммом для SSF [65].

8.11.2 Бактерии

Большое количество бактерий способно вырабатывать этанол, хотя многие из них, в дополнение к этанолу, образуют множество конечных продуктов. Бактерия *Zymomonas mobilis* – это особенная грамотрицательная бактерия, которая в производстве этанола обладает несколькими привлекательными свойствами ферментирующего микроорганизма. Во время метаболизма брожения гомоэтанола она допускает до 12% этанола. Ее выработку этанола можно сравнить с *S. cerevisiae*, хотя она имеет гораздо более высокую удельную производительность этанола (в 2,5 раза), чем дрожжи. Однако устойчивость бактерии *Z. mobilis* к этанолу ниже, чем у *S. cerevisiae*, поскольку некоторые штаммы *S. cerevisiae* могут вырабатывать этанол, что приводит к концентрации ферментативного бульона до 18%. Устойчивость бактерии *Z. mobilis* к ингибиторам и низким pH также низкая. Подобно *S. cerevisiae*, *Z. mobilis* не может использовать пентозы [13, 41]. Для усвоения арабинозы и ксилозы бактерией *Z. mobilis* было выполнено несколько генетических модификаций. Несмотря на это, *S. cerevisiae* больше подходит для применения в промышленных целях, возможно, из-за производственных проблем, которые могут возникнуть при работе с бактериями. Отделение *S. cerevisiae* от ферментационной среды намного проще, чем отделение *Z. mobilis*, что является важной характеристикой для повторного использования микроорганизмов в технологическом процессе производства этанола.

Использование генно-инженерных бактерий для производства этанола также было применено во многих исследованиях. Инграм и соавторы [66], а также Джоджима и соавторы [67] исследовали метаболическую инженерию бактерий в целях производства этанола. Рекombинантная кишечная палочка *Escherichia coli* является ценным бактериальным ресурсом для производства этанола. Создание штаммов *E. coli* для селективного получения этанола было одним из первых успешных применений метаболической инженерии. Кишечная палочка *E. coli* имеет несколько преимуществ при производстве этанола в качестве биокатализатора, включая способность ферментировать широкий спектр сахаров, отсутствие требований к комплексным стимуляторам роста и предшествующее промышленное потребление (например, для производства рекомбинантного белка). Основными недостатками, связанными с использованием культуры *E. coli*, являются довольно узкий, нейтральный диапазон роста pH (6,0–8,0), менее выносливые культуры, по сравнению с дрожжами, и общественное мнение об опасности штаммов культуры *E. coli*. Недостаток данных об использовании остаточной клеточной массы кишечной палочки в качестве ингредиента в кормах для животных также является препятствием для ее применения [8].

8.11.3 Мицелиальные грибы

Этанол способно производить большое количество грибковой плесени. Вирусные грибы

Fusarium, *Mucor*, *Monilia*, *Rhizopus*, *Rhizopus* и *Paecilomyces* относятся к числу тех, которые могут ферментировать пентозы в этанол [36]. Зигомицеты - это сапрофитные мицелиальные грибы, способные продуцировать несколько метаболитов, включая этанол. Среди трех видов хорошие показатели по продуктивности этанола из глюкозы, ксилозы и древесного гидролизата показали *Mucor*, *Rhizopus* и *Rhizomucor*, *Mucor indicus* (ранее *M. rouxii*) и *Rhizopus oryzae* [68]. По сравнению с хлебопекарными дрожжами для производства этанола *M. indicus* обладает рядом промышленных преимуществ, таких как: а) способность усваивать ксилозу; б) наличие ценной биомассы, например, для производства хитозана; и в) высокая оптимальная температура, равная 37 °C [69]. Скорый и соавторы [70] исследовали 19 штаммов *Aspergilli* и 10 *Rhizopus* на их способность ферментировать простые сахара (глюкоза, ксилоза и арабиноза), а также сложные субстраты. Значительный уровень этанола был произведен *Aspergillus oryzae*, *R. oryzae* и *R. javanicus*. Не так давно в целях производства этанола были измерены заквасочные культуры для индонезийской темпе, в результате чего было получено 32 изолята зигомицетов с выходом этанола до 0,47 г/г [71].

Для производства этанола из пентозного и гексозного сахаров также был исследован диморфный гриб *M. circinelloides*. Эта грибковая плесень вырабатывала большое количество этанола при аэробном развитии глюкозы. Однако производство этанола на галактозе или ксилозе было менее значимым [72]. Сообщалось о выходе 0,48 г/г этанола из глюкозы по *M. indicus* в анаэробных условиях [73]. Между тем, выход и продуктивность этанола из ксилозы ниже, чем у *P. stipitis* [74].

Несмотря на то, что в некоторых целях мицелиальные грибы долгое время использовались в промышленности, с этими микроорганизмами связан ряд проблем, связанных с технологией процесса, из-за их волокнистого роста. Проблемы могут возникнуть в переносе массы и тепла. Кроме того, прикрепление и рост на стенках биореактора, мешалках, зондах и перегородках вызывают неоднородность внутри биореактора и проблемы с измерением определяющих параметров, а также с очисткой биореактора [75, 76].

8.12 Процессы ферментации

В данном разделе обсуждаются различные процессы ферментации, применяемые в производстве этанола. Процессы ферментации наравне с другими химическими и биотехнологическими процессами можно подразделить на: периодическую, периодическую с добавлением субстрата и непрерывную работу. Все эти методы используются при промышленной ферментации сахарных веществ и крахмальных материалов. Эти процессы хорошо известны; периодические и непрерывные режимы работы являются доминирующими на рынке производства этанола. При настройке процесса ферментации следует учитывать несколько параметров, в том числе а) высокую выработку и производительность этанола, б) высокую конверсию сахаров и в) низкую стоимость оборудования. Потребность в детоксикации и выборе микроорганизма также должна оцениваться в зависимости от конфигурации ферментации.

Представление различных ингибиторов и их эффектов взаимодействия, например, в лигноцеллюлозных гидролизатах, делает процесс ферментации более сложным, чем с другими субстратами для производства этанола [17, 23]. В целях увеличения общего выхода процесса и во избежание проблем с очисткой сточных вод при ферментации этого гидролизата следует применять пентозу. Поэтому, для ферментации гидролизата трудно по-прежнему использовать организм, ферментирующий гексозу, такой как *S. cerevisiae*.

Если в среде присутствует смесь гексоз и пентоз, микроорганизмы обычно поглощают гексозы и вырабатывают этанол. По мере уменьшения концентрации гексозы они начинают поглощать пентоз. Ферментация гексоз может быть успешно проведена в анаэробных или микроаэробных условиях с высоким выходом этанола и производительностью. Однако ферментация пентоз, как правило, является медленным аэробным процессом. Если добавить воздух к ферментам пентозам, микроорганизмы также начнут использовать этанол. Это усложняет весь процесс, но требуется хорошо рассчитать и контролировать его.

8.12.1 Периодические процессы

В периодических процессах все питательные вещества, необходимые для ферментации, присутствуют в среде до культивирования. Групповая технология была предпочтительной в прошлом из-за простоты эксплуатации, низкой стоимости системы контроля и мониторинга, низких

требований к полной стерилизации, использования неквалифицированной рабочей силы, низкого риска финансовых потерь и легкого управления сырьем. Тем не менее, общая производительность процесса очень низкая из-за продолжительного времени выполнения и начальной фазы задержки [9].

В целях улучшения традиционных периодических процессов использовалась рециклинг клеток и применение нескольких биореакторов. Повторное использование полученных клеток может повысить производительность процесса. Применение нескольких биореакторов, работающих в режиме дифференцированных интервалов, может обеспечить непрерывную подачу в систему перегонки. Одним из результативных способов периодического культивирования с подпиткой, применяемых для промышленного производства этанола, является ферментация Мелле-Буано. Этот процесс позволяет сократить время ферментации и повысить выход путем переработки дрожжей и применения нескольких биореакторов, работающих в режиме дифференцированных интервалов. При данном методе дрожжевые клетки из предыдущей ферментации отделяются от среды центрифугированием и перерабатываются до 80% [9, 77]. Вместо центрифугирования клетки могут быть отфильтрованы с последующим отделением дрожжей от вспомогательного фильтрационного вещества с помощью гидроциклонов [78].

В хорошо нейтрализованных или полностью не ингибирующих кислотных гидролизатах лигноцеллюлозных материалов рост на экспоненциальной основе будет достигнут после инокуляции биореактора. Если гидролизат слегка замедляющий, то будет относительно длинная фаза задержки, в течение которой часть ингибиторов преобразуется. Если же гидролизат сильно ингибирует, то конверсии ингибиторов не произойдет, как не произойдет ни роста клеток, ни ферментации. Следовательно, слегка замедляющий гидролизат может быть нейтрализован во время периодической ферментации. Однако очень высокие концентрации ингибиторов вызывают полную инактивацию обмена веществ [21].

В целях улучшения детоксикации в естественных условиях при периодической ферментации и для получения более высокого выхода и производительности этанола можно рассмотреть несколько алгоритмов ферментации гидролизата. Имея высокую плотность первичных клеток, повышение устойчивости микроорганизмов к ингибиторам путем адаптации клеток к среде или генетической модификации микроорганизмов и выбора оптимальных условий в реакторе для снижения воздействия ингибиторов входят в число этих стратегий.

При использовании инокулятов с низкой клеточной массой волюметрическая продуктивность этанола в лигноцеллюлозных гидролизатах низкая из-за плохого клеточного роста. Обычно высокая концентрация клеток, например, 10 г/л сухих клеток, используется в различных исследованиях для определения высокого выхода и продуктивности этанола. Кроме того, высокая плотность первичных клеток способствует процессу детоксикации микроорганизмами в естественных условиях; вследствие этого, потребность в детоксикационном звене уменьшается. Детоксикация ингибиторов в естественных условиях может даже привести к увеличению выхода этанола и продуктивности из-за разбавленности в присутствии слабых кислот или из-за снижения выработки глицерина в присутствии фурфурола [23]. Адаптация клеток к гидролизату или генетическая модификация микроорганизма может значительно улучшить выход и продуктивность этанола. Оптимизация условий в реакторе можно использовать для снижения воздействия ингибиторов. Оказалось, что среди различных параметров рост клеток сильно зависит от pH [21, 23].

8.12.2 Процесс периодической подпитки

В процессах с периодической подпиткой (или в полунепрерывных процессах) субстрат и необходимые питательные вещества непрерывно или периодически добавляются в исходную среду после начала культивирования или с середины на всем протяжении периодического процесса. Процессы периодической подпитки применялись во избежание проблем, связанных с субстратами, подавляющих при высоких концентрациях скорость роста, для ослабления катаболической репрессии, меньшего потребления начальной биомассы, преодоления проблемы загрязнения, а также во избежание мутации и неустойчивости плазмид, найденных в непрерывной культуре. Более того, при периодических процессах с подпиткой мы не сталкиваемся с проблемой вымывания, которое может происходить при проточной ферментации. Основным недостатком периодического процесса с подпиткой является необходимость в дополнительных контрольных приборах, требующих значительных навыков оператора. Кроме того, для систем без управления с обратной связью, где подача додается по заранее заданному твердому графику, могут возникнуть трудности с решением

любого отклонения (то есть временные курсы не всегда могут следовать ожидаемым профилям) [79]. Процессы периодической подпитки без регуляции с обратной связью могут быть классифицированы как перемежающееся, постоянное, экспоненциальное и оптимизированное культивирование с подпиткой. Процессы с подпиткой с обратной связью были классифицированы как процессы с подпиткой непрямого и прямого регулирования [79, 80].

Техника периодической подпитки является одним из наиболее перспективных методов ферментации разбавленных кислотных гидролизатов лигноцеллюлозных материалов. Основная концепция успеха этого метода заключается в способности детоксикации гидролизатов ферментирующими микроорганизмами в естественных условиях. Поскольку дрожжи обладают ограниченной способностью к конверсии ингибиторов, достижение успешной ферментации находится в большой зависимости от степени подачи гидролизата. Во время периодической ферментации с добавлением субстрата при добавлении субстрата с низкой скоростью, концентрации биоконвертируемых ингибиторов, таких как фурфурол и ГМФ, в биореакторе остаются низкими, и поэтому ингибирующий эффект уменьшается. При очень высокой скорости подачи, при использовании ингибирующего гидролизата, производство этанола и рост клеток могут прекратиться, тогда как при очень низкой скорости добавления гидролизат все же может быть преобразован, но с очень низкой скоростью продуктивности, что было подтверждено в ходе эксперимента. Следовательно, должна существовать оптимальная скорость подачи [14, 21, 23].

Подобно периодическим загрузкам, могут быть получены более высокие оптимальные степени разбавления при периодическом культивировании с подпиткой следующими путями: а) высокой начальной концентрацией клеток, б) повышением устойчивости микроорганизмов к ингибиторам, в) путем выбора оптимальных условий в реакторе для минимизации эффекта от ингибиторов. Продуктивность при ферментации с периодической подпиткой обычно ограничена скоростью подачи, которая, в свою очередь, ограничена массовой концентрацией клеток [23].

8.12.3 Процесс непрерывного потока

Технологические исследования процесса ферментации мелассы показали, что инвестиционные затраты были значительно снижены при использовании проточной, а не периодической ферментации, и что эффективность этанола могла быть увеличена более, чем на 200%. Непрерывные операции могут быть классифицированы как проточная ферментация или без него с регуляцией с обратной связью. При проточной ферментации без регуляции с обратной связью, называемой хемостатом, питательная среда, содержащая все питательные вещества, непрерывно подается с постоянной скоростью (степень разбавления D), и культивируемый бульон одновременно удаляется из биореактора с той же скоростью. Хемостат весьма полезен для оптимизации состава сред и для исследования физиологического состояния микроорганизма [80]. Проточная ферментация микроорганизмов с регуляцией с обратной связью включает турбидостат, фоксостат и нутристат. Турбидостат с регуляцией с обратной связью - это непрерывный процесс для поддержания концентрации клеток на постоянном уровне путем контроля интенсивности питания среды. Фоксостат - это расширенный нутристат, поддерживающий значение pH среды в биореакторе на заданном уровне. Нутристат с регуляцией с обратной связью - это метод культивирования, позволяющий поддерживать концентрацию питательных веществ на постоянном уровне [80].

Если при проточной ферментации добавляют лигноцеллюлозные гидролизаты с низкой скоростью подачи, то в биореакторе обеспечивается низкая концентрация биоконвертируемых ингибиторов. Несмотря на ряд потенциальных преимуществ с точки зрения производительности, этот метод еще не получил должного развития при ферментации кислых гидролизатов. При непрерывном культивировании кислотных гидролизатов лигноцеллюлоз следует учитывать следующие моменты:

Клеточному росту необходима скорость, равная степени разбавления, во избежание вымывания клеток при непрерывном культивировании.

Скорость роста при ферментации гидролизатов низкая ввиду присутствия ингибиторов.

Клетки должны сохранять свою выживаемость и жизнеспособность в течение длительного времени.

Существенным недостатком проточной ферментации является то, что, в отличие от ситуации с периодической ферментацией с добавлением субстрата, клеткам необходимо расти со скоростью,

равной степени разбавления, чтобы избежать вымывания клеток при непрерывном культивировании [23]. Продуктивность зависит от степени разбавления, и, поскольку ингибиторы снижают скорость роста, производительность при проточной ферментации лигноцеллюлозных гидролизатов является низкой. Кроме того, при очень низкой скорости разбавления можно ожидать снижения степени конверсии ингибиторов из-за снижения удельной скорости роста биомассы. Таким образом, вымывание может происходить даже при очень низких степенях разбавления [21]. С другой стороны, одним из основных преимуществ непрерывного культивирования является возможность запуска процесса в течение длительного времени (например, несколько месяцев), между тем, как микроорганизмы обычно теряют свою активность после столкновения с условиями ингибирования гидролизата. При использовании системы удержания клеток увеличиваются концентрация клеточной массы в биореакторе, максимальная скорость разбавления и, следовательно, максимальная производительность этанола. Различные системы удержания клеток были исследованы путем иммобилизации, инкапсуляции, рециркуляции клеток путем фильтрации, осаждения и центрифугирования. Относительно старое исследование [81] показывает, что на непрерывный процесс с рециркуляцией клеток затраты инвестиций меньше, чем на проточную ферментацию микроорганизмов без рециркуляции клеток.

Концепция частичной рециркуляции как дрожжей, так и сточных вод действительно распространена в нескольких промышленных технологиях производства этанола. В этих процессах биореактор работает непрерывно; клетки разделены, например, с помощью центрифуги или осаждения (из-за флокулирующих дрожжей) и отделенные клетки возвращаются в биореактор. Большая часть обедненной этанолом бражки, включая остаточные сахара, затем возвращается в биореактор. В этом процессе, помимо обеспечения достаточной концентрации биомассы в биореакторе, потребляется меньше воды и получается более концентрированная барда. Следовательно, процесс имеет меньшую проблему сточных вод. При использовании центрифуг оборудование должно быть спроектировано таким образом, чтобы избежать дезактивации клеток [55, 82].

Применение капсульной клеточной системы при непрерывном культивировании имеет несколько преимуществ в отличие от свободных клеток или традиционно захваченной клеточной системой, например, в альгинатной матрице. Капсулирование обеспечивает более высокую концентрацию биомассы, чем свободные системы клеток в среде, что приводит к более высокой продуктивности на объем биореактора при непрерывном культивировании. Кроме того, биомасса может быть легко отделена от среды без центрифугирования или фильтрования. Преимущества капсулирования по сравнению с захватом клеток: меньшая устойчивость к диффузии через гранулы/капсулы, некоторая степень свободы в движении инкапсулированных клеток, отсутствие утечки клеток из капсул и более высокая концентрация клеток [83]. Однако капсулирование все еще нуждается в улучшении, например, прочности мембраны, в целях промышленного применения [84, 85].

8.12.4 Серийно- организованный непрерывный поток брожения

Можно получить этанол с использованием биореакторов с непрерывным потоком, расположенных последовательно с полным использованием сахара или высокой концентрацией этанола. Если два биореактора расположены последовательно, время удерживания может быть выбрано таким образом, чтобы сахар использовался в первом биореакторе лишь частично, с завершением ферментации во втором. Ингибирующее действие этанола в первом биореакторе снижается, что позволяет повысить производительность. Второй слабопродуктивный биореактор теперь может преобразовывать меньше сахара, чем во время автономной работы. При высокой концентрации продукта производительность двухступенчатой системы была в 2,3 раза выше, чем у одноступенчатой [55, 86].

Двухступенчатый процесс проточной ферментации этанола с рециркуляцией дрожжей используется для ферментации мелассы в промышленности компанией «Danish Distilleries Ltd.», Грена, (см. Рис. 8.7). Два биореактора с объемом 170 000 л образуют 66 г/л этанола за 21 ч времени удерживания [55]. В Нидерландах также использовалась серийная система из семи биореакторов (каждый биореактор объемом 70000 л) для производства 86 г/л этанола за 8-часовое время удерживания [87]. Японская компания применяла серийную систему из шести биореакторов (общий объем 100 000 л) со временем удерживания 8,5 ч для получения этанола 95 г/л [88].

8.12.5 Раздельный ферментативный гидролиз и ферментация

Целлюлозная фракция лигноцеллюлозы может быть переработана в этанол либо путем одновременного осахаривания и ферментации (SSF), либо отдельными процессами ферментативного гидролиза и ферментации (SHF). Схема этих процессов показана на рис. 8.8.



Рисунок 8.8 Основные этапы производства SSF или SHF для производства этанола.

8.12.6 Раздельный ферментативный гидролиз и ферментация (SHF)

В раздельном ферментативном гидролизе и ферментации (SHF) ферментативный гидролиз для превращения предварительно обработанной целлюлозы в глюкозу является первой стадией. Затем на второй стадии полученную глюкозу превращают в этанол. Ферментативный гидролиз можно проводить в оптимальных условиях целлюлазы. Оптимальная температура для гидролиза целлюлазой обычно составляет от 45 до 50° С, в зависимости от микроорганизма, который продуцирует целлюлазу. Основным недостатком SHF является то, что высвобождаемые сахара сильно ингибируют активность целлюлазы [32, 89]. Удаление твердых остатков также может привести к потере сбраживаемых сахаров. Другая возможная проблема в SHF – это загрязнение. Гидролиз - это длительный процесс (один или, возможно, несколько дней), а разбавленный раствор сахара всегда имеет риск загрязнения, даже при довольно высоких температурах, таких как 45-50° С.

8.12.7 Одновременное осахаривание и ферментация (SSF)

Одновременное осахаривание и ферментация (SSF) объединяет ферментативный гидролиз целлюлозы и ферментацию в одну стадию. Поскольку целлюлоза превращается в глюкозу, ферментирующий микроб, присутствующий в среде, сразу же поглощает произведенную глюкозу. Как говорилось, целлобиоза и глюкоза значительно снижают активность целлюлазы. Одновременное осахаривание и ферментация (SSF) приводит к более высоким подтвержденным выходам этанола и требует меньшего количества фермента, потому что дрожжевое брожение предотвращает ингибирование конечного продукта целлобиозы и глюкозы, образующихся во время ферментативного гидролиза. Раздельный ферментативный гидролиз и ферментация имеет следующие преимущества по сравнению с одновременным осахариванием и ферментацией:

Для SSF требуется меньше сосудов по сравнению с SHF, что приводит к экономии капитальных затрат

Меньшее загрязнение во время ферментативного гидролиза, поскольку присутствие этанола снижает вероятность загрязнения

Меньше загрязнения в силу того, что микрофлора ферментации может потреблять сахара напрямую немедленно после их высвобождения, поэтому они не доступны для других организмов.

Более высокий выход этанола

Потребность в более низкой нагрузке фермента

С другой стороны, одновременное осахаривание и ферментация SSF имеет следующие недостатки по сравнению с отдельным ферментативным гидролизом и ферментацией SHF:

SSF требует, чтобы фермент и условия культивирования были совместимы с кислотностью pH и температурой. В частности, различие между оптимальными температурами гидролизующих ферментов и ферментирующих микроорганизмов обычно является проблематичным. Целлюлазы *Trichoderma reesei*, являющиеся наиболее активными препаратами, имеют оптимальную активность от 45 до 50 °C, тогда как *S. cerevisiae* имеет оптимальную температуру от 30 до 35 °C. Оптимальная температура для SSF составляет около 38°C, что является компромиссом между оптимальными температурами для гидролиза и ферментации. Гидролиз обычно является процессом, ограничивающим скорость в одновременном осахаривании и ферментации SSF [32]. Несколько термотолерантных дрожжей (например, *C. acidothermophilum* и *K. marxianus*) и бактерий использовались в одновременном осахаривании и ферментации SSF для повышения температуры, близкой к оптимальной температуре гидролиза.

Целлюлаза ингибируется этанолом. Например, при 30 г/л этанола ферментная активность уменьшалась на 25% [2]. Ингибирование этанола может быть сдерживающим фактором в производстве высокой концентрации этанола. Однако ингибированию целлюлазы этанолом уделялось меньше внимания, поскольку практически невозможно работать с очень высокой концентрацией субстрата в SSF из-за проблемы с механическим смешиванием.

Еще одна проблема возникает из-за того, что большинство микроорганизмов, используемых для преобразования целлюлозного сырья, не могут усвоить ксилозу, продукт гидролиза гемицеллюлозы [8].

8.12.8 Сравнение ферментативного и кислотного гидролиза лигноцеллюлозных материалов

Двумя наиболее перспективными способами промышленного производства этанола из целлюлозных материалов являются двухстадийный гидролиз разбавленной кислотой (химический процесс) и SSF (ферментативный процесс). Преимущества и недостатки разбавленной кислоты и ферментативных гидролизом приведены в таблице 8.3. Ферментативный гидролиз проводят в мягких условиях, поскольку высокая температура и низкий pH приводят к коррозии при гидролизе в кислой среде. Несмотря на то что целлюлозный гидролиз, приближенный к 100%, можно получить

Таблица 8.3 Сравнение ферментативного и кислотного гидролиза лигноцеллюлозных материалов.

Параметры	Гидролиз разбавленной кислотой	Ферментативный гидролиз
Скорость гидролиза	Очень высокая	Низкая
Общая доля выхода сахаров	Низкая	Высокая и зависит от предварит. обработки
Затраты на катализ	Низкие	Высокие

Условия	Условия резкой реакции, например, высокое давление и температура	Мягкие условия (например, 50 °С, Атмосферное давление, pH 4.8)
Образование ингибиторов	Сильно ингибирующий гидролизат	Неингибирующий гидролизат
Разложение чувствительных питательных веществ, таких как витамины	Высокое	Низкое

ферментативным гидролизом после предварительной обработки, трудно достичь такого высокого выхода при гидролизе в кислой среде. Выход глюкозы из целлюлозы при гидролизе разбавленной кислотой обычно составляет менее 60%. Кроме того, ранее упомянутые ингибирующие соединения образуются во время кислотного гидролиза, тогда как эта проблема не столь серьезна для ферментативного гидролиза. Условия кислотного гидролиза могут разрушать питательные вещества, чувствительные к кислоте и высоким температурам, такие как витамины, которые могут вступать в процесс вместе с лигноцеллюлозными материалами. С другой стороны, ферментативный гидролиз имеет некоторые недостатки по сравнению с гидролизом разбавленной кислотой. Ферментативный гидролиз может занять несколько дней, тогда как кислотный гидролиз можно провести за несколько минут. Более того, стоимость фермента все еще высока, даже если в условиях улучшения в развитии новых поколений ферментных растворов.

8.13 Восстановление этанола

Ферментационный бульон, также называемый «бражкой» или «суслом», обычно содержит от 2 до 12% этанола. Кроме того, он содержит ряд других материалов: микробную биомассу, сивушное масло и летучие компоненты. Сивушное масло представляет собой смесь первичных метилбутанолов и метилпропанолов, образованных от α -кетокислот и полученных из аминокислот. В зависимости от используемого сырья, основными составляющими сивушного масла могут быть изоамиловый спирт, *n*-пропиловый спирт, втор-бутиловый спирт, изобутиловый спирт, *n*-бутиловый спирт, активный амиловый спирт и *n*-амиловый спирт. Количество сивушного масла в сусле зависит от pH биореактора. Сивушное масло используется в растворителях для красок, полимеров, лаков и эфирных масел. Ацетальдегид и следовые количества других альдегидов и летучих сложных эфиров обычно образуются из дробин и мелассы. Обычно на 1000 л этанола образуются 1 л ацетальдегида и 1–5 л сивушного масла [9, 55].

Барда состоит из сухих остатков фракционного материала, остающихся после перегонки спирта. Его состав сильно зависит от типа сырья, используемого для ферментации. В барде обычно содержатся твердые вещества, остаточные сахара, остаточный этанол, парафин, жиры, волокна и минеральные соли. Твердые примеси могут происходить из белков исходного сырья и истощенных микробных клеток [9].

8.14 Дистилляция

Сусло можно центрифугировать или отстаивать, чтобы отделить микробную биомассу от жидкости, а затем отправить в систему регенерации этанола. Дистилляция обычно используется для разделения этанола, альдегидов, сивушного масла и барды [9]. Этанол легко концентрируется из затора путем перегонки, так как летучесть этанола в разбавленном растворе намного выше, чем летучесть воды. Однако этанол и вода образуют азеотроп при 95,57% мас. / Мас. Этанол (89 мол.% Этанол) с минимальной температурой кипения 78,15 °С. Эта смесь ведет себя как отдельный компонент при простой перегонке, и при простой перегонке не может быть достигнуто никакого дополнительного обогащения, кроме 95,57% мас. / Мас. Этанол [9, 55, 90]. К различным промышленным дистилляционным системам для очистки этанола относятся: (а) простые двухколонные системы, (б) трех- или четырехколонные барбет-системы, (в) трехколонные колонны, (г) вакуумная ректификация, (д) рекомпрессия пара, (е) Мультиэффектная дистилляция и (г)

шестиканальная реагентная спиртовая система [9, 55]. Эти методы рассмотрены Kosaric [9]. Следующие параметры следует учитывать при выборе промышленных дистилляционных систем:

- Потребление энергии (например, расход пара или расход охлаждающей воды на единицу произведенного этанола)
- Качество этанола (разделение сивушного масла и легких компонентов в соответствии со спецификациями)
- Как справиться с проблемами, связанными с риском засорения дистилляционного оборудования, например, внутренних колонн и ребойлеров, из-за осадков или образования твердых веществ. Специальная конструкция и использование вакуума могут применяться для преодоления проблемы в колонне. Использование прямого пара вместо ребойлера увеличивает количество воды, которое необходимо позаботиться в последующем процессе
- Простота в управлении системой
- Простота в открытии частей колонны и очистке колонн

Конечно, снижение капитальных вложений также является одним из основных параметров при выборе систем перегонки.

Этанол присутствует на рынке с разной степенью чистоты. Большая часть этанола со степенью крепости 190 (минимум 95% или 92,4%), используется для растворителей и применяется в фармацевтике, косметике и химии. Этанол технического качества, содержащий до 5% летучих органических веществ, сложных эфиров и иногда метанола, используется для промышленных растворителей и химических синтезов. Высокочистый абсолютизированный этанол, имеющий степень крепости 200 (99,85%), выпускается для применения в области специализированной химии. Для использования топлива в смеси с бензином (газохол) используется почти безводный (99,2%) этанол, но с более высоким доступным уровнем органических примесей [55].

Здесь описана простая двухколонная система, в то время как в литературе представлены другие системы (например, [9, 55]). Простые системы с одной или двумя колоннами, имеющие только секцию десорбирующей отгонки и ректификации, обычно используются для производства низкачественного денатурированного этилового спирта и азеотропного спирта для дальнейшей дегидратации до сорта горючего. Простейшая система непрерывной дистилляции этанола состоит из секций десорбирующей отгонки и ректификации, либо вместе в одной колонне, либо разделенных на две колонки (см. Рис. 8.9).

Перебродившее сусло перекачивается в процессе непрерывной дистилляции, когда пар используется для нагрева сусла до температуры кипения в отгоночной колонке. Пары, обогащенные этанолом, проходят через ректификационную колонну, где концентрация этанола увеличивается постадийно. Сверху колонны пары выводятся из колонки, часть конденсируется и подается обратно в колонну в виде потока.

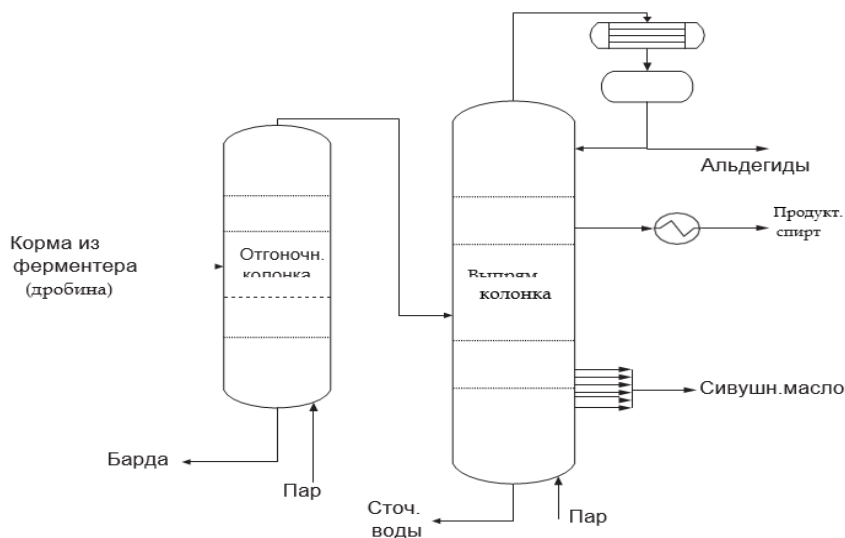


Рисунок 8.9 Двухколонная система перегонки этанола.

Очищенная от этанола барда покидает нижнюю часть колонны и перекачивается в резервуар для барды. Альдегиды десорбируются, конденсируются и частично используются в качестве обратного потока. Сивушное масло извлекается из нескольких ступеней ректификационной секции [9,55,91].

При эффективной перегонке барда должна содержать менее 0,1% этанола, поскольку присутствие этанола значительно увеличивает химическую потребность в кислороде (ХПК) сточных вод. ХПК барды увеличивается более чем на 20 г/л на каждый 1% этанола, оставшегося в барде. Вследствие возможного влияния содержания остаточного этанола, надлежащий контроль над перегонкой может сильно повлиять на ХПК барды.

8.15 Альтернативные процессы для извлечения и очистки этанола

Учитывая тот факт, что дистилляция является очень энергоемким процессом, было разработано несколько процессов очистки этанола из ферментативного бульона, в том числе экстракцию растворителем, мембранные процессы, экстракцию CO₂, системы повторного сжатия паров и низкотемпературное смешивание с бензином [9]. Однако в промышленном производстве этанола эти процессы не установлены.

8.16 Дегидратация этанола

Чтобы позволить смешивание спирта с бензином, содержание воды в этаноле должно быть уменьшено до менее 1% по объему, что невозможно при дистилляции. Повышение уровня воды может привести к разделению фаз водно-спиртовой смеси с бензиновой фазой, что может привести к отказу двигателя. Удаление воды выше последних 5% называется дегидратацией, абсолютированием или сушкой этанола. Азеотропная дистилляция использовалась ранее для получения этанола высокой чистоты путем добавления третьего компонента, такого как бензол, циклогексан или эфир, для разрушения азеотропа и получения сухого этанола [91]. Во избежание незаконного перемещения этанола с промышленного рынка на рынок питьевого спирта, где он строго регулируется и облагается налогом, для сухого спирта обычно требуется добавление денатурирующих средств, которые делают его токсичным для употребления; азеотропные химреагенты очень удачно подходят под это требование [91]. За исключением рынка высокочистого этанола с чистотой реагентов, азеотропная сушка была вытеснена технологией сушки молекулярными ситами.

8.16.1 Адсорбция на молекулярных ситах

Молекулярное сито является более энергоэффективным методом, чем азеотропная перегонка. Кроме того, этот метод позволяет избежать профессиональных опасностей, связанных с азеотропными химическими добавками. При сушке молекулярными ситами 95% этанол пропускают через слой синтетического цеолита с однородными размерами пор, которые преимущественно адсорбируют молекулы воды. Примерно $\frac{3}{4}$ адсорбированного материала - это вода, а $\frac{1}{4}$ - это этанол. Через несколько минут слой насыщается и его необходимо регенерировать путем нагревания или вакуумирования, чтобы вытеснить адсорбированную воду. Во время фазы регенерации образуется побочный поток этанола и воды (часто около 50%), который необходимо перегонять перед возвратом к процессу сушки [91].

8.16.2 Мембранная технология

Мембраны также могут быть использованы для очистки этанола. Установки обратного осмоса (RO), в котором используются мембранные фильтры, непроницаемые для этанола и пропускающие воду, могут быть использованы для очистки этанола от воды. Другим подходом является использование мембранного фильтра, проницаемого для этанола, но не для воды [9]. Первапорация, перспективный мембранный метод для разделения таких органических жидких смесей, как азеотропные смеси или смеси с близкой температурой кипения, также может быть использована для разделения этих азеотропов [90, 92]. Она включает разделение азеотропа этилового спирта или близких азеотропных соединений этилового спирта (приблизительно от 95 до 99,5 мас.% этанола) через водопроницаемые (или селективные для воды) мембраны для удаления оставшейся воды из концентрированного раствора этанола [93].

8.17 Сухая гранулированная барда

В процессе сухого помола приблизительно одна треть исходных зерновых субстратов остается в барде после ферментации и дистилляции. Барда обрабатывается в центрифуге для отделения твердых частиц от жидкостей. Твердое вещество представляет собой волокнистый материал, который обычно называют сухой гранулированной бардой, который можно сушить и использовать непосредственно в качестве корма для жвачных животных. Оставшаяся жидкость с содержанием твердого вещества приблизительно 10% конденсируется до содержания твердого вещества 30%. Ее можно использовать полностью и продавать на рынке кормов в качестве исходного сырья полужидких кормов, именуемого высушенными растворимыми веществами барды, или патокой. По причинам, связанным с обработкой и логистикой, большинство производителей этанола смешивают твердые волокна с сиропом. Затем смесь сушат, гранулируют и продают на рынке в виде высушенной в дистилляторах сухой гранулированной барды.

Побочные продукты будут отличаться по составу питательных веществ в зависимости от субстрата. Типичный состав питательных веществ для сухой гранулированной барды пшеницы, производимой в северной Европе, составляет примерно 32–36% белка, 6–7% жира, 10–12% воды, 8–9% сырого волокна, 4–6% золы, 1% фосфора и 0,1% кальция. Побочные продукты из кукурузы обычно содержат меньше белка и больше жира, чем побочные продукты пшеницы. Приблизительно 4–8% биомассы в сухой гранулированной барде происходит из отработанных дрожжей.

Обработка этанола часто обозначает разваривание при высоких температурах и большом времени удерживания. Это означает, что условия производства этанола являются грубыми для чувствительных белков. В результате реакции Майяра между сахарами и аминокислотами или пептидами снижается как усвояемость, так и качество белка в сухой гранулированной барде. Аминокислотный лизин особенно чувствителен. Поскольку содержание лизина в сырье (пшенице) низкое, это требует особого внимания при использовании сухой гранулированной барды в кормовых продуктах. Содержание серы в сухой гранулированной барде пшеницы, которое может варьироваться от 0,3% до 1,1%, также требует внимания, поскольку оно может быть высоким для некоторых видов. Фосфор в сухой гранулированной барде благодаря ферментной обработке и брожению дрожжей считается более доступным для моногастричных животных, чем другое растительное кормовое сырье. Сухая гранулированная барда пшеницы является отличным кормом для жвачных животных, поскольку микробы в рубце позволяют животным использовать корма с высоким содержанием клетчатки и могут использовать источники белка низкого качества и небелковый азот. Издавна жвачные животные также были основными потребителями сухой гранулированной барды. Если процесс сушки/нагрева на спиртозаводе оптимизирован в соответствии с качеством белка, можно получить побочный продукт с выверенным размером «RUP» или белка, защищенного от разрушения в рубце. На практике, уровень включения сухой гранулированной барды в корм для жвачных животных составляет приблизительно 25–40%, в зависимости от отдельных свойств.

Сухую гранулированную барду пшеницы можно использовать в кормах для птицы с заполнением 5–15%, и ее часто используют для замены менее устойчивых источников белка, таких как соевый шрот. Тем не менее, необходимо учитывать относительно высокое количество растворимых и нерастворимых волокон в сухой гранулированной барде. Фракция некрахмальных полисахаридов может отрицательно влиять на здоровье кишечника птицы и вызывать так называемые «липкие пометы». Необходимо добавить соответствующий тип и количество кормовых ферментов. Различия в качестве белка и составе питательных веществ у различных производителей этанола и даже обычные внутрилабораторные изменения на спиртозаводах также могут быть проблемой при составлении корма для птицы. Сухую гранулированную барду можно использовать в кормах для свиней до 25% включения с тем же учетом содержания лизина, добавления кормовых ферментов и внимания к разновидностям питательных веществ.

Имеется очень ограниченная информация о сухой гранулированной барде пшеницы в питании рыбных ферм. Вероятно, это очень полезное сырье для всеядных видов, и оно требует более тщательного рассмотрения для таких хищных видов, как лосось. Необходимо оценить разработку и усовершенствование продукта, такие как фракционирование белкового концентрата из барды и отделение пшеничных отрубей на разных этапах процесса.

8.18 Устойчивость производства биоэтанола

Внедрение крупномасштабного производства биоэтанола 1-го поколения вызвало споры относительно устойчивости процесса, а также были подняты этические проблемы [94–98]. В зависимости от того, как производится сырье, как используются побочные продукты, какой источник энергии используется для энергии процесса и, конечно, как проводится сравнение, производство биоэтанола, например, из кукурузы, может даже привести к увеличению выбросов парниковых газов [97]. Однако это не считается нормой. Помимо выбросов парниковых газов, необходимо учитывать и другие факторы окружающей среды, такие как эрозия почвы, использование воды, загрязнение воздуха и воды и утрата биоразнообразия [95]. Поскольку производство биоэтанола 1-го поколения основано на крахмале или сахаре, сырье может потенциально использоваться в качестве пищи для человека. Таким образом, также следует рассмотреть проблему продовольственной безопасности [96]. Это также главная проблема этического характера; этично ли производить топливо из потенциальных источников пищи? С другой стороны, насколько этично истощать ограниченный ресурс, такой как нефть, используя его для чего-то простого, такого как топливо для транспорта? Кроме того, белковые побочные продукты производства этанола являются отличным устойчивым источником белка в пищевой цепи.

В целом, биоэтанол 1-го поколения все еще следует считать более выгодным по сравнению с ископаемыми топливами. Более того, производство этанола 2-го поколения обещает решить большинство экологических проблем, а также этические задачи процесса производства этанола 1-го поколения.

8.19 Заключительные замечания и перспективы на будущее

Этанол хорошо зарекомендовал себя на рынке топлива, где его доля от менее чем одного миллиарда литров в 1975 году, как ожидается, увеличится до 100 миллиардов литров в 2015 году. В настоящее время зерновые, сок сахарного тростника и меласса являются доминирующим сырьем, в то время как в будущем ожидается, что лигноцеллюлозный материал будет иметь значительную долю на этом рынке. Были достигнуты большие успехи в развитии производства этанола из лигноцеллюлозных материалов, но крупномасштабные сооружения еще предстоит построить. В лигноцеллюлозном этаноле все еще сохраняются некоторые проблемы, до того момента, пока процесс не будет полностью экономически целесообразен.

Использованная литература

- H. Rothman, R. Greenshields and F.R. Calle, *The alcohol economy: fuel ethanol and the Brazilian experience*, London, Francis Printer, 1983.
- C.E. Wyman, *Handbook on bioethanol: production and utilization*, Washington, DC, Taylor & Francis, 1996.
- C. Breidenich, *et al.*, *American Journal of International Law*, Vol. 92, p. 315–331, 1998.
- F.O. Licht, *World ethanol markets : the outlook to 2015*, Tunbridge Wells, F.O. Licht, 2006.
- S.I. Mussatto, *et al.*, *Biotechnology Advances*, Vol. 28(6), p. 817–830, 2010.
- REN21, *Renewables 2012 global status report*, Paris, REN21 Secretariat, 2012.
- M. Roehr, *The biotechnology of ethanol: classical and future applications*, Weinheim, Wiley-VCH, 2001.
- Y. Lin and S. Tanaka, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 69, p. 627–642, 2006.
- N. Kosaric, *et al.*, “Ethanol fermentation”, in G. Reed, eds., *Biotechnology: A comprehensive Treatise*, Verlag-Chemie, pp. 257–386, 1983.
- J.E. Bailey and D.F. Ollis, *Biochemical engineering fundamentals*, Singapore, McGraw-Hill, 1986.
- Y. Sun and J. Cheng, *Bioresource Technology*, Vol. 83(1), p. 1–11, 2002.
- K. Karimi, G. Emtiazi and M.J. Taherzadeh, *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 40, p. 138–144, 2006.
- B.C. Saha, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, Vol. 30, p. 279–291, 2003.
- M.J. Taherzadeh, *Ethanol from lignocellulose: physiological effects of inhibitors and fermentation strategies*, Gothenburg, Chalmers University of Technology, 1999.
- P. Béguin and J.-P. Aubert, *FEMS Microbiology Reviews*, Vol. 13, p. 25–58, 1994.
- C.R. Soccol, *et al.*, “Lignocellulosic bioethanol: Current status and future perspectives”, in A. Pandey, *et al.*, eds., *Biofuels*, Academic press, pp. 2011.
- E. Palmqvist and B. Hahn-Hägerdal, *Bioresource Technology*, Vol. 74, p. 25–33, 2000.
- M.J. Taherzadeh and K. Karimi, *BioResources*, Vol. 2(3), p. 472–499, 2007.
- K. Karimi, S. Kheradmandinia and M.J. Taherzadeh, *Biomass and Bioenergy*, Vol. 30(3), p. 247–253, 2006.
- M.J. Taherzadeh, C. Niklasson and G. Lidén, *Chemical Engineering Science*, Vol. 52(15), p. 2653–2659, 1997.
- M.J. Taherzadeh and C. Niklasson, “Ethanol from Lignocellulosic Materials: Pretreatment, Acid and Enzymatic Hydrolyses and Fermentation”, in K. Hayashi, eds., *Lignocellulose Biodegradation*, American Chemical Society, pp. 49–68, 2004.
- L. Olsson and B. Hahn-Hägerdal, *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 18(5), p. 312–331, 1996.
- E. Palmqvist and B. Hahn-Hägerdal, *Bioresource Technology*, Vol. 74, p. 17–24, 2000.
- P. Persson, *et al.*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 50(19), p. 5318–5325, 2002.
- R. Millati, C. Niklasson and M.J. Taherzadeh, *Process Biochemistry*, Vol. 38(4), p. 515–522, 2002.
- A. Martinez, *et al.*, *Biotechnology Progress*, Vol. 17(2), p. 287–293, 2001.
- S. Amartei and T. Jeffries, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, Vol. 12(3), p. 281–283, 1996.
- R. Purwadi, C. Niklasson and M.J. Taherzadeh, *Journal of Biotechnology*, Vol. 114(1–2), p. 187–98, 2004.
- M.J. Taherzadeh and K. Karimi, “Fermentation inhibitors in ethanol processes and different strategies to reduce their effects”, in A. Pandey, *et al.*, eds., *Biofuels*, Academic press, pp. 2011.
- A.T.W.M. Hendriks and G. Zeeman, *Bioresource Technology*, Vol. 100(1), p. 10–18, 2009.
- S. Aslanzadeh, *et al.*, “An overview of existing individual unit operations in biological and thermal platforms of biorefineries”, in N. Qureshi, D. Hodge and A.V. Vertes, eds., *Biorefineries: Integrated biochemical processes for liquid biofuels (ethanol and butanol)*, Elsevier, pp. in press, 2013.

- G.P. Philippidis and T.K. Smith, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 51/52, p. 117–24, 1995.
- M. Alkasrawi, *et al.*, *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 33(1), p. 71–78, 2003.
- M. Linde, M. Galbe and G. Zacchi, *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 40(5), p. 1100–1107, 2007.
- T. Brandberg, *Fermentation of undetoxified dilute acid lignocellulose hydrolyzate for fuel ethanol production*, Gothenburg, Chalmers University of Technology, 2005.
- T.W. Jeffries, *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 17(3), p. 320–326, 2006.
- M. Sonderegger, *et al.*, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 87(1), p. 90–98, 2004.
- A.J.A. van Maris, *et al.*, *Antonie van Leeuwenhoek*, Vol. 90(4), p. 391–418, 2006.
- A. Madhavan, *et al.*, *Critical Reviews in Biotechnology*, Vol. 32(1), p. 22–48, 2012.
- M. Desvaux, E. Guedon and H. Petitdemange, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 66(6), p. 2461–2470, 2000.
- I.S. Horvath, *Fermentation inhibitors in the production of bio-ethanol*, Gothenburg, Chalmers University of Technology, 2004.
- M. Jeppsson, *et al.*, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 68(4), p. 1604–9, 2002.
- W.H. Kampen, “Nutritional requirements in fermentation processes”, in C.L. Todaro, eds., *Fermentation and biochemical engineering handbook*, Noyes publications, pp. 122–160, 1997.
- M.J. Taherzadeh, L. Adler and G. Lidén, *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 31(1–2), p. 53–66, 2002.
- K. Karhumaa, *et al.*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 73(5), p. 1039–1046, 2006.
- R. Millati, *Ethanol production from lignocellulosic materials*, Gothenburg, Chalmers University of Technology, 2005.
- H. Schneider, *Critical Reviews in Biotechnology*, Vol. 9(1), p. 1–40, 1989.
- P.M. Bruinenberg, J.P. van Dijken and W.A. Scheffers, *Journal of General Microbiology*, Vol. 129, p. 953–964, 1983.
- S.S. Silva, M.G.A. Felipe and I.M. Manchilha, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 70–72(1), p. 331–339, 1998.
- M. Jeppsson, *et al.*, *FEMS Yeast Research*, Vol. 3(2), p. 167–75, 2003. 51. Y.C. Bor, *et al.*, *Gene*, Vol. 114(1), p. 127–32, 1992.
- M. Gulati, *et al.*, *Bioresource Technology*, Vol. 58(3), p. 253–264, 1996.
- Y. Wang, *et al.*, *Chinese Journal of Biotechnology*, Vol. 10(2), p. 97–103, 1994.
- X. Zhu, *et al.*, *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, Vol. 56(Pt 2), p. 129–136, 2000.
- B.L. Maiorella, “Ethanol”, in M. Moo-Young, eds., *Comprehensive biotechnology: the principles, applications and regulations of biotechnology in industry, agriculture and medicine*, Pergamon press Ltd, pp. 861–914, 1985.
- D.G. Olson, *et al.*, *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 23(3), p. 396–405, 2012.
- S. Govindaswamy and L.M. Vane, *Bioresource Technology*, Vol. 98(3), p. 677–685, 2007.
- C. Martin, *et al.*, *Bioresource Technology*, Vol. 98(9), p. 1767–1773, 2007.
- L. Ruohonen, *et al.*, *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 39(1), p. 6–14, 2006.
- N. Ho, Z. Chen and A. Brainard, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 64(5), p. 1852–1859, 1998.
- M.H. Toivari, *et al.*, *Metabolic Engineering*, Vol. 3(3), p. 236–249, 2001.
- T.W. Jeffries and C.P. Kurtzman, *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 16(11), p. 922–932, 1994.
- D.D. Spindler, *et al.*, *Biotechnology Letters*, Vol. 14(5), p. 403–407, 1992.
- E.T.A. Sheikh Idris and D.R. Berry, *Biotechnology Letters*, Vol. 2(2), p. 61–66, 1980.
- M. Ballesteros, *et al.*, *Process Biochemistry*, Vol. 39(12), p. 1843–1848, 2004.
- L. Ingram, *et al.*, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 58(2&3), p. 204–214, 1998.
- T. Jojima, M. Inui and H. Yukawa, *Biofuels*, Vol. 2(3), p. 303–313, 2011.

- R. Millati, L. Edebo and M.J. Taherzadeh, *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 36(2–3), p. 294–300, 2005.
- K. Karimi, G. Emtiazi and M.J. Taherzadeh, *Process Biochemistry*, Vol. 41(3), p. 653–658, 2006.
- C.D. Skory, S.N. Freer and R.J. Bothast, *Biotechnology Letters*, Vol. 19(3), p. 203–206, 1997.
- R. Wikandari, *et al.*, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 167(6), p. 1501–1512, 2012.
- T.L. Lubbehusen, J. Nielsen and M. McIntyre, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 63(5), p. 543–8, 2004.
- A. Sues, *et al.*, *FEMS Yeast Research*, Vol. 5(6–7), p. 669–676, 2005.
- K. Karimi, *et al.*, *Biotechnology Letters*, Vol. 6, p. 1395–1400, 2005.
- P.A. Gibbs, R.J. Seviour and F. Schmid, *Critical Reviews in Biotechnology*, Vol. 20(1), p. 17–48, 2000.
- M. Papagianni, *Biotechnology Advances*, Vol. 22(3), p. 189–259, 2004.
- J.N. de Vasconcelos, C.E. Lopes and F.P. de França, *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, Vol. 21(3), p. 357–365, 2004.
- V.M. da Matta and A. Medronho Rde, *Bioseparation*, Vol. 9(1), p. 43–53, 2000.
- B. McNiel and L.M. Harvey, “Fermentation a practical approach”, in B.D. Hames, eds., *Practical Approach Series*, Oxford University press, pp. 113–120, 1990.
- Y. Harada, *et al.*, *Fermentation Pilot Plant*, 1997.
- G.R. Cysewski and C.R. Wilke, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 20, p. 1421–1444, 1978.
- B. Goggin and G. Thorsson, *Alfa-Laval, Tumba, Sweden*, 1982.
- F. Talebnia and M.J. Taherzadeh, *Journal of Biotechnology*, Vol. 125(3), p. 377–384, 2006.
- P. Ylittervo, C.J. Franzén and M.J. Taherzadeh, *Journal*, DOI: 10.1002/jctb.3944, 2012
- J.O. Westman, *et al.*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 96(6), p. 1441–1454, 2012.
- T.K. Ghose and R.D. Tyagi, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 21, p. 1401–1420, 1979.
- C.S. Chen, W. Gibson and K.I. Mashima, *Hawaii ethanol from molasses project phase 1, Final report*, Manoa, Hawaii Natural Energy Institute, 1980.
- I. Karaki, *et al.*, *Hakko KoyoKaishi*, Vol. 30, p. 106, 1972.
- G.P. Philippidis, T.K. Smith and Charles E. Wyman, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 41(9), p. 846–853, 1993.
- T. Uragami, *et al.*, *Macromolecules*, Vol. 35, p. 9156–9163, 2002.
- A.C. Wilkie, K.J. Riedesel and J.M. Owens, *Biomass and Bioenergy*, Vol. 19, p. 63–102, 2000.
- V. Dubey, L.K. Pandey and C. Saxena, *Journal of Membrane Science*, Vol. 251, p. 131–136, 2005.
- Z. Changluo, L. Moe and X. We, *Desalination*, Vol. 62, p. 299–313, 1987.
- H. Azadi, *et al.*, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 16(6), p. 3599–3606, 2012.
- M.E. Dias De Oliveira, B.E. Vaughan and E.J. Rykiel Jr, *BioScience*, Vol. 55(7), p. 593–602, 2005.
- J.C. Escobar, *et al.*, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 13(6–7), p. 1275–1287, 2009.
- M.S.d.P. Gomes and M.S. Muylaert de Araújo, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 13(8), p. 2201–2204, 2009.
- R.K. Niven, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 9(6), p. 535–555, 2005.
- R. Purwadi, *Continuous ethanol production from pilute-acid hydrolyzates: Detoxification and fermentation strategy*, Gothenburg, Chalmers University of Technology, 2006.
- K. Rosen, *Process Biochemistry*, Vol. 13(5), p. 25, 1978.

Производство бутанола: биотопливо

Сапна Джайн, Мукеш Кумар Ядав и Аджай Кумар *

Отдел биотехнологии, Институт биомедицинского образования и исследований, Университет Мангалаятан, Алигарх, 202145, Индия

Краткое изложение

Бутанол представляет собой четырехуглеродный первичный насыщенный спирт с молекулярной формулой C_4H_9OH . Бутанол хорошо известен различными способами промышленного потребления, а также в качестве потенциального топлива. Акцент на бутанол как биотопливо обусловлен растущим спросом на неископаемые биотоплива. По сравнению с традиционным биотопливным этанолом бутанол имеет много преимуществ из-за низкого давления его паров и низкой гигроскопичности, его можно смешивать с ископаемым топливом, или применять отдельно, что дает альтернативу бензину. Бутанол широко производится с помощью нефтехимических методов, но повышение цен на нефть и растущее осознание глобального потепления привлекли значительное внимание к производству бутанола из биомассы с использованием ферментации ацетон-бутанол-этанола (ABE) при помощи ABE-продуцирующих клостридий. Несмотря на ряд преимуществ, ферментации ацетон-бутанол-этанола не хватает из-за низкой продуктивности, токсичности растворителя, сложности контроля метаболизма клостридий и неэффективных, а также дорогостоящих методов извлечения продукта. На сегодняшний день для преодоления вышеуказанных проблем было проведено значительное количество исследований в различных областях, таких как микробная технология, метаболическая инженерия и системная биология. В этой главе подробно описываются свойства, области применения, химические и биологические методы производства, метаболические процессы. Инженерные подходы и методы разделения бутанола в естественных условиях.

Ключевые слова: Бутанол, нефтехимические методы, ацетон-бутанол-этанол, продуцирующие клостридий, токсичность растворителей, метаболические инженерные подходы, методы очистки в естественных условиях.

9.1 Введение

В результате непрерывного роста стоимости неочищенной нефти как основного источника энергии все более заметными становятся интенсивные исследования по разработке устойчивых, экономических и экологических альтернатив ископаемому топливу. Одной из наиболее многообещающих альтернатив топливам, полученным из нефти, является биотопливо. Биотопливо обычно работает как топливные присадки, а не как заменители нефти [1]. До сих пор биоэтанол был основным биотопливом, поскольку он экономически выгоден и прост в изготовлении. Однако биобутанол оказался гораздо более выгодным, чем биоэтанол.

Экономически серийное производство бутанола осуществляется исключительно нефтехимическими методами, но в настоящее время наблюдается всплеск производства бутанола посредством ферментации ацетон-бутанол-этанол (ABE). Бутанол, полученный из любого вида биомассы естественным путем, считается биобутанолом. Производство биобутанола путем ферментации ацетон-бутанол-этанола не является свежим вопросом. Ферментация ацетон-бутанол-этанола, стимулируемая бактериями вида *Clostridium sp.*, на самом деле является одной из старейших известных анаэробным промышленным брожением [2]. До 20-го века 66% потребляемого в мире бутанола обычно производилось биотехнологическим путем, то есть ферментацией ацетон-бутанол-этанола [3]. Однако, с ростом развития нефтехимической промышленности и ростом стоимости источников углеводов в качестве кормового субстрата, производство бутанола из биотехнологических средств стало стремительно прекращаться и пришло к полной его ликвидации к 1960-м годам.

Именно в начале 1970-х годов из-за «нефтяного кризиса» начали расти цены на нефть. Кроме того, постоянно растущее экологическое сознание и неясность поставок нефти в энергетических

сообществах по всему миру привели к возрождению интереса к этой биоиндустрии [4]. С тех пор, с незначительными улучшениями, проводились исследования процесса ацетон-бутанол-спиртовое брожения для снижения эксплуатационных расходов в достаточной мере, с целью сделать биобутанол экономически выгодным современным биотопливом.

В данной главе освещаются различные химические и биологические методы производства бутанола. Это также влечет за собой определенные метаболические инженерные подходы к модификации штаммов микроорганизмов для увеличения количества производимого биобутанола и улучшения качества процесса. Эта глава также рассматривает широко используемые методы, такие как отдувка газом, перстрекция, первапорация, вакуумная дистилляция и т. д. для отделения биобутанола от ферментационного бульона в естественных условиях.

9.2 Бутанол и его свойства

Бутанол (бутиловый спирт или 1-бутанол) представляет собой четырехуглеродный алифатический спирт с молекулярной формулой C_4H_9OH (мол.вес 74,12 г. моль⁻¹). Бутанол - бесцветная жидкость с ярко выраженным банановым ароматом и сильным алкогольным запахом. Он очень легкогорючий и немного гидрофобный. В случае прямого контакта он может вызвать раздражение глаз и кожи. При вдыхании он проявляет наркотическое действие в высоких концентрациях, и его пары могут вызывать раздражение слизистых оболочек [5].

Бутанол существует в четырех изомерных формах, а именно (стандартный) н-бутанол, изобутанол, вторичный бутанол и трет-бутанол (рис. 9.1). Все четыре изомерные формы имеют немного разные свойства и ряд отличительных областей применения. Некоторые важные физические и химические свойства четырех изомерных форм приведены в таблице 9.1.

Бутанол полностью растворим в органических растворителях, но в воде он малорастворим [6]. Другие характеристики бутанола приведены в таблице 9.2.

9.3 Бутанол как топливо

Одной из главных превалирующих ролей бутанола является его применение в качестве моторного топлива следующего поколения. Некоторые из отличительных свойств бутанола по сравнению с другими видами топлива, такими как метанол, этанол и бензин, приведены в таблице 9.3. Этанол можно использовать в качестве непосредственной замены горючего (бензина)

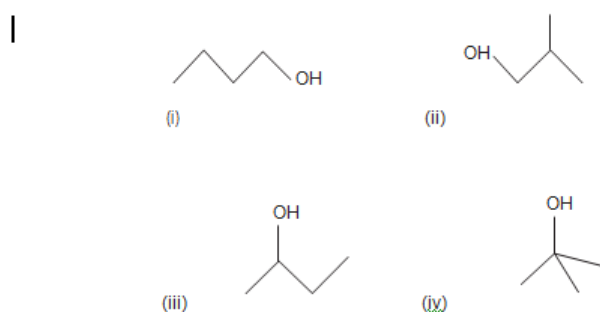


Рисунок 9.1 Структура четырех изомерных форм бутанола (i) н-бутанол (ii) изобутанол (iii) вторичный бутанол (iv) и трет-бутанол.

Таблица 9.1 Физические и химические свойства четырех изомерных свойств бутанола.

Свойства	<i>n</i> -бутанол	изобутанол	<i>Вторичный</i> бутанол	<i>трет</i> -бутанол
Физические	Жидкий, с банановым запахом	Жидкий, Со сладковато-затхлым запахом	Жидкий, Фруктовый запах	Твердый при комнатной температуре, с камфорным запахом
Плотность при 20°C (г/см ³)	0.810	0.802	0.806	0.781
Точка таяния (°C)	–90	–101.9	–115	Немного выше 25
Точка кипения (°C)	118	108	99	82
Водорастворимость (г/100мл)	7.7	8.0	12.5	Бесконечно растворимый
Точка вспышки (°C)	35	28	24	11

Таблица 9.2 Свойства бутанола.

Свойства	Бутанол
Удельная плотность	0.810–0.812
Температура воспламенения	35–37
Температура самовозгорания (°ем	343–345
Относительная плотность (вода: 1.0)	0.81
Критическое давление (гПа)	48.4
Критическая температура (°при	287
Предел взрываемости (объем % в воздухе)	1.4–11.3
Давление пара (кПа при 20°C)	0.58

Таблица 9.3 Сравнение бутанола с другими топливами.

Свойства	Бутанол	Бензин	Этанол	Метанол
Точка кипения (°C)	117–118	127–221	78	64.7
Плотность при 20°C (г/мл)	0.809	0.7–0.8	0.785	0.786
Растворимость в 100 г воды	несмешиваемый	несмешиваемый	смешиваемый	смешиваемый

Энергосодержание/ ценность (БТЕ/гал)	110000	115000	84000	76000
Избыток воздуха при горении	11.2	14.6	9	6.5
Плотность энергии (мДж/л)	27–29.2	32	19.6	16
ИОЧ	96	91–99	129	136
Октановое число ММ	78	81–89	102	104
Момент диполя (полярность)	1.66	N.A	1.7	1.6
Вязкость (10^{-3} Па. с)	2.593	0.24	1.708	0.5445
Теплота испарения (мДж/кг)	0.43	0.36	0.92	1.2
Теплоемкость жидкости при нормальных условиях (кДж/к-моль. °K)	178	160–300	112.3	81.1

или в качестве топливной присадки. Благодаря своим характеристикам, свойственным бензину (таблица 9.3), он может эффективно использоваться в любом двигателе внутреннего сгорания без каких-либо изменений или замещений. 4х-углеродные спирты с разветвленной цепью, включая изобутанол, втор-бутанол и трет-бутанол, имеют более высокие октановые числа, чем *n*-бутанол, и, таким образом, могут быть реально использованы в качестве топливных присадок [7].

При использовании бутанола в качестве топлива происходит значительное снижение выбросов CO, углеводородов и NO_x. Таким образом, он не оказывает вредного воздействия на окружающую среду.

Бутанол является лучшим вариантом присадки к топливу, чем этанол, в различных аспектах, включая: а) он менее агрессивен [8]; б) менее летучий, следовательно, менее взрывоопасный; в) он имеет примерно на 30% больше энергии/БТЕ на галлон (таблица 9.3); г) менее гигроскопичен, т. е. не впитывает влагу легко, поэтому он меньше подвержен влиянию погодных изменений; д) безопаснее, чем этанол из-за его высокой температуры воспламенения. Наибольшее преимущество бутанола перед этанолом состоит в том, что его можно распространять через существующие трубопроводы и заправочные станции [9]. Это, прежде всего, связано с двумя основными причинами, во-первых, бутанол смешивается в любых пропорциях с бензином и дизельным топливом. Во-вторых, его можно добавлять в бензин без учета выбросов в результате испарения, и последующие проблемы давления паров бутанола (4 мм рт.ст. при 20 °C) в 11 раз ниже, чем у этанола (45 мм рт.ст. при 20 °C).

9.4 Промышленное применение бутанола и его производные

В 2007 году Дональдсон и соавторы установили, что 10–12 миллиардов фунтов бутанола, производимых ежегодно, составляют 7–8,4 миллиарда долларов [10]. Также было подсчитано, что прогнозируемое расширение рынка бутанола составит 3% в год [11]. Помимо предполагаемой роли бутанола в качестве биотоплива для двигателей, он имеет широкий спектр промышленного применения. Он используется в производстве ударопрочного стекла, приспособлений, помогающих держаться на воде (например, бутилового ксантогената), моющих средств, антиобледенительных жидкостей и косметики. Бутанол также находит применение в пищевой промышленности в качестве экстракционного агента [6].

Приблизительно половина всего производимого в мире бутанола используется в форме бутилакрилатных и метакрилатных эфиров, используемых при производстве латексных поверхностных покрытий, эмалей, лаков, суперабсорбентов, флокулянтов, волокон и текстиля [11]. Бутилгликолевый эфир, бутилацетат, пластификаторы, бутиламины и аминокислоты относятся к числу других важных производных бутанола. Они превосходны при использовании в качестве разбавителей

краски, а также в составе тормозной жидкости. Бутанол также используется в качестве растворителя в парфюмерной промышленности и в производстве антибиотиков, витаминов и гормонов.

9.5 Способы производства бутанола

На начальном этапе промышленное производство бутанола основывалось в основном на ферментации бактерии *Clostridium acetobutylum*, которая действует на углеводы и производит бутанол и ацетон [6]. Однако возрастающий спрос на бутанол и резкий рост нефтехимической промышленности привели к замещению биологических процессов на более эффективные химические процессы. В этом разделе подробно описаны как химические, так и биологические методы производства бутанола.

9.5.1 Химический метод

Существует три основных химических процесса - оксосинтез, синтез Реппе и гидрирование кротонового альдегида для производства бутанола в крупных промышленных масштабах. Эти три процесса описаны ниже.

9.5.1.1 Оксосинтез

Оксосинтез, также называемый гидроформилированием, был открыт О. Руленом в 1938 году [12]. Это наиболее распространенный способ получения бутанола. В данном процессе окись углерода (CO) и водород (H₂), которые в совокупности называются синтез-газом, вступают в реакцию с пропиленом с участием металлических катализаторов, таких как замещенных гидрокарбонилы Co, Rh или Ru [13]. Хотя в процессе образуются как альдегиды, так и кетоны, для производства бутанола только альдегидная смесь подвергается гидрированию [Рис. 9.2a]. Различные изомерные соотношения бутанола получаются в зависимости от условий реакции, таких как давление, температура и тип катализатора. Например, процесс, работающий под давлением 200–300 кг/см², температура 100–180°C и использование Co в качестве катализатора производит 75% бутанола и 25% изобутанола, в то время как процесс, который работает при значительно более низком давлении (7–20 кг/см²) и использовании Rh в качестве катализатора, дает 92% бутанола и 8% изобутанола. Однако с помощью этого процесса невозможно производить вторичный и третичный бутиловый спирт.

9.5.1.2 Синтез Реппе

Процесс Реппе был разработан в 1942 году. В этом процессе пропилен, окись углерода и вода вступают в реакцию под давлением с участием катализатора [14].

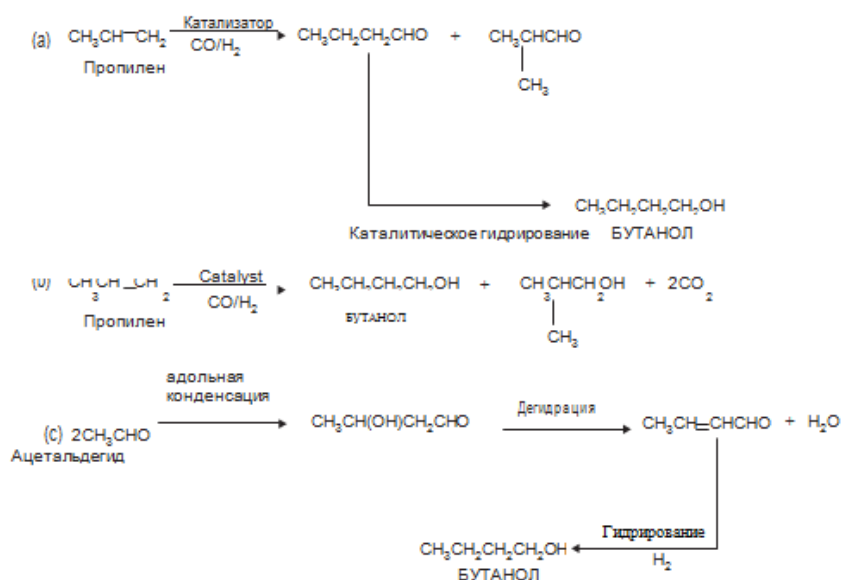


Рисунок 9.2 Химический синтез бутанола: (а) оксосинтез, (б) синтез Реппе, в) гидрирование кротонового альдегида [6].

В результате образуется смесь *n*-бутаральдегида и изобутаральдегида [рис. 9.2b], а затем первый сводится к *n*-бутанолу [15]. Этот процесс приводит к непосредственному производству бутанола при низких температурах и давлении. Этот процесс не оказался коммерчески успешным, потому что он требует дорогой технологии обработки.

9.5.1.3 Гидрирование кротонового альдегида

Гидрирование кротонового альдегида являлось распространенным способом применения синтеза бутанола из ацетальдегида еще несколько десятилетий назад [14]. Он состоит из альдольной конденсации, дегидратации и гидрирования [рис. 9.2c]. В настоящее время этот процесс используется редко, но он может играть значительную роль в будущем. В то время как другие процессы полностью зависят от нефти, процесс гидрирования кротонового альдегида обеспечивает альтернативный путь для производства бутанола из этанола, который может повсеместно вырабатываться из биомассы. В этом случае этанол дегидрируется с образованием ацетальдегида, из которого может происходить синтез бутанола [16].

9.5.2 Биологический метод

Биологическое производство бутанола с помощью ацетон-бутанол-спиртового брожения с использованием различных штаммов *Clostridium* sp. было одним из первых крупномасштабных производств промышленного брожения. В начале 20-го века ацетон-бутанол-спиртовое брожение было признано второй по величине промышленной ферментацией в мире после ферментации этанола. Результатом полного прекращения процесса ацетон-бутанол-спиртового брожения в 1960-х годах была его неспособность конкурировать с нефтехимическим методом производства бутанола и более высокая стоимость источников углеводов в качестве кормовых субстратов. Однако в Южной Африке и России процессы ацетон-бутанол-спиртового брожения продолжали действовать до конца 1980-х - начала 1990-х годов [17]. В связи с растущим экологическим сознанием и недавним ростом спроса на производство химических веществ в сочетании с достижениями в области биотехнологии, возобновился интерес к ферментативному производству бутанола.

Луи Пастер впервые сообщил о производстве бутанола путем микробной ферментации в 1861 году. В 1986 году Джонс и Вудс подробно описали полную историю развития ацетон-бутанол-спиртового брожения в обзорной статье [18]. Важные события о развитии ацетон-бутанол-спиртового брожения суммированы в таблице 9.4.

Бутанол получают путем ферментации с использованием различных штаммов *Clostridium* sp.

Процесс ферментации, осуществляемый этими микроорганизмами, является двухфазным процессом, то есть они проходят две фазы роста: кислотогенную фазу, за которой следует сольвентогенная фаза (рис. 9.3). В кислотогенной фазе происходит образование кислот, таких как уксусная кислота, масляная кислота и молочная кислота, в то время как в сольвентогенной фазе происходит производство ацетона, бутанола и этанола в массовом соотношении соответственно 3:6:1 из ранее произведенных кислот [19]. В последние десятилетия для производства бутанола использовались такие субстраты, как глюкоза, крахмал, меласса и сывороточный пермеат. Так как стоимость субстрата влияет на цену производства бутанола, также исследуется использование экономически выгодных субстратов, таких как сельскохозяйственные отходы, сточные воды и топливные культуры [18].

9.5.2.1 Микроорганизмы и метаболический путь производства бутанола

Таблица 9.4 Важные события в период разработки, частоты использования и падения ацетон-бутанол-спиртового брожения.

Год	Событие	Ссылка
1861	Луи Пастер впервые наблюдал выработку бутанола путем микробной ферментации	[20]
1911	Фернбах выделил культуру, которая могла бы сбрасывать картофель для производства бутанола	[21, 22]
1912–1914	Вайцман выделил и изучил <i>Clostridium acetobutylicum</i>	[21]
1916	Ацетон-бутанол-спиртовое брожение поступило в США и Канаду	[23]
1935	Первая промышленная ферментация растворителей (ацетона и бутанола) из мелассы	[24]
Конец 1935	Водород из ацетон-бутанол-спиртового брожения (АВЕ) использовался для гидрирования пищевых масел	[24]
После 1936	Промышленная ферментация АВЕ началась в Японии, Бразилии, Индии, Австралии, Южной Африке и Египте	[25, 26]
1937	Кукурузная дробина использовалась в качестве субстрата для производства ацетона и бутанола в Джермистоне в Южной Африке	[27]
1960	Производство ацетона и бутанола практически прекратилось в США и Великобритании (при этом последний завод работал до 1986 года в Южной Африке)	[19]

Был признан ряд различных видов бутанол-продуцирующих клостридий. Они отличаются друг от друга только типом и соотношением получаемых растворителей. Помимо производства бутанола, клостридии могут производить хиральные продукты, которые трудно получить путем химического синтеза [28], и может разлагать ряд токсичных химических веществ [29, 30]. Вид *Clostridium* был назван так Плазмовски в 1880 году [31]. Клостридии представляют собой палочковидные, строго анаэробные, спорообразующие, грамположительные бактерии, их выделение относительно легкое, поскольку они имеют очень простые потребности в питательных веществах.

Как правило, сложные источники азота, такие как дрожжевой экстракт, также необходимы для хорошего роста [32]. Сольвентогенный (продуцирующий растворитель) клостридий *Clostridia* может использовать различные субстраты от моносахаридов, таких как пентозы и гексозы, до полисахаридов [18].

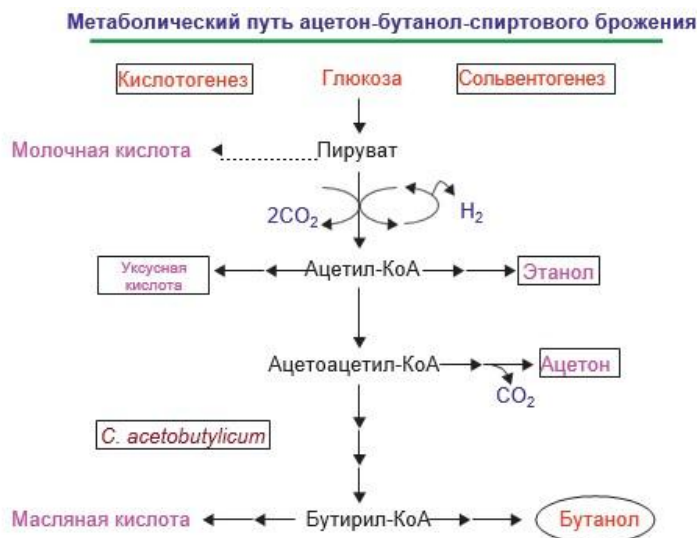


Рисунок 9.3 Двухфазный путь ацетон-бутанол-спиртового брожения [79].

Среди многих сольвентогенных *Clostridia* *Clostridium acetobutylicum*, *C. beijerinckii*, *C. pasteurianum*, *C. saccharobutylicum* и *C. saccharoperbutylacetonicum* являются основными производителями растворителей.

В размножающихся культурах *C. acetobutylicum* окрашивается как грамположительный, тогда как он окрашивается как грамтрицательный во время стационарной фазы роста при образовании спор (рис. 9.4) [33, 34]. *C. beijerinckii* производит растворитель примерно в том же соотношении, что и *C. acetobutylicum*, но вместо ацетона образуется изопропанол. Напротив, *C. aurantibutyricum* продуцирует как ацетон, так и изопропанол в дополнение к бутанолу [35], а *C. tetanomorphum* вырабатывает только бутанол и этанол в равных концентрациях [36]. Таким образом, выбор штаммов для промышленной ферментации зависит от соотношения требуемых конечных продуктов и природы используемого сырья [21, 23]. Метаболические пути клостридий, которые способствуют выработке бутанола, состоят из двух фаз, а именно кислотогенеза и сольвентогенеза. В кислотогенной фазе, которая обычно происходит во время экспоненциальной фазы роста, активируются кислотообразующие пути и в качестве основных продуктов образуются ацетат, бутират, водород и диоксид углерода [37].

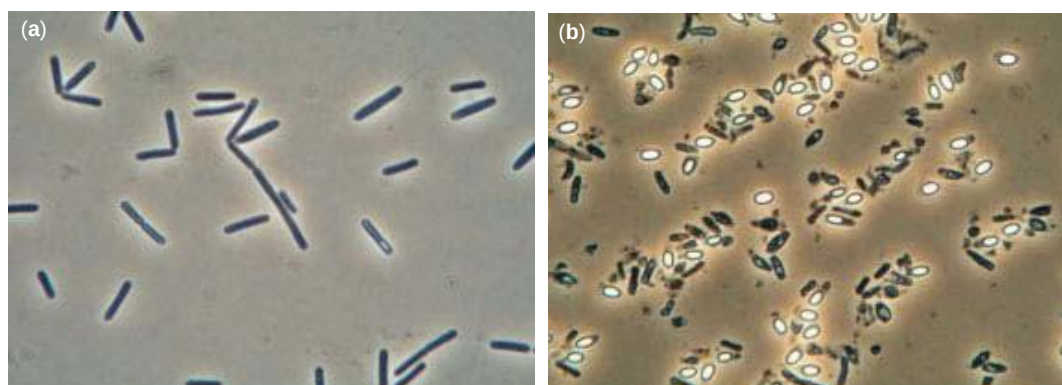


Рисунок 9.4 Бактерии *Clostridium*: (а) экспоненциальная фаза роста, во время которой происходит кислотогенез; (б) стационарная фаза роста, в ходе которого происходит образование спор и сольвентогенез [80].

В фазе сольвентогенеза кислоты повторно усваиваются бактериями и используются в производстве ацетона, бутанола и этанола. Сольвентогенная фаза связана с процессом образования спор [38]. Подробное представление о метаболических путях в *C. acetobutylicum* наряду с

способность сахарорасщепляющих клостридий использовать различные углеводы стимулировала исследования в области использования альтернативных и более дешевых субстратов. Различные исследования в области ферментации различных углеводов для производства ацетона и бутанола пришли к выводу, что фруктоза, глюкоза, манноза, сахароза, лактоза и декстрин во время ферментации потребляются полностью, в то время как галактоза, ксилоза, арабиноза, мелезитоza, инулин и маннит используются частично [18]. Нецеллюлозные субстраты, такие как топинамбур, сырная сыворотка, яблочное жмых и биомасса водорослей, также были исследованы в качестве потенциальных субстратов для ацетон-бутанол-спиртового брожения. Также изучается использование нетрадиционных субстратов, таких как сельскохозяйственные отходы и стоков, включая стебли риса, пшеничную солому, гидролизат ячменной соломы, гидролизат проса прутьевидного, древесину (лиственные породы), кукурузные волокна, однолетние и многолетние культуры и бумажную макулатуру [46, 47, 48]. Эти субстраты необходимо гидролизовать с помощью сочетания щелочно-кислотной предварительной обработки и ферментов до использования их для ферментации.

9.5.2.3 Процесс промышленной ферментации и передовые технологии

Первоначальный процесс промышленной ферментации проводился в периодическом режиме с использованием ферментеров, не имевших систем механического перемешивания, с производительностью от 50 000 до 200 000 галлонов. Наиболее распространенными субстратами были кукурузное сусло и свекольная патока, которые были приготовлены впервые в течение 60-90 мин. при 130-133 °C и 15-60 мин. при 107-120 °C соответственно. Обычной практикой было добавление патоки с дополнительными источниками органического и неорганического азота, фосфора и буферного вещества. Однако при использовании кукурузного сусла никаких дополнительных пищевых добавок не потребовалось. Ферментеры наполняли до 90-95% их емкости защитным слоем углекислого газа, а стерильный диоксид углерода часто пропускали через ферментативный бульон до и после инокуляции для облегчения перемешивания. Культуры обычно содержали в виде спор в стерильном песке или почве. Инокулят готовили путем нагревания спор при температуре от 65 до 100 °C в течение 1-3 минут. После двух-четырех этапов восстановления клетки инокулировали в ферментер. Ферментеры работали с помощью кукурузного сусла при температуре 34-39 °C в течение 30-60 часов, выдавая выход продукта от 25 до 26% на основе заменителя зерна сухого веса, в то время как те, которые использовали мелассу, работали при 29-35 °C, обеспечивая выход растворителя от 29 до 33% на основе сбраживаемых сахаров. Образующиеся в процессе ферментации углекислый газ и водород извлекали, отделяли и использовали для различных целей [18]. В таблице 9.5 приведены важные параметры для ацетон-бутанол-спиртового брожения на промышленном уровне.

Таблица 9.5 Параметры ацетон-бутанол-спиртового брожения в промышленном масштабе.

Микроорганизм
<i>Clostridium acetobutylicum</i> <i>Clostridium beijerinckii</i>
Сырье - исходная концентрация
Сусло из кукурузы – 8% вес/объем Сырье из крахмала, такие как зерновые, маниока, картофель – 8-10% вес/объем Свекловиная меласса – 5 - 7.5% вес/объем
Дрожжи
25 – 26% на основе кукурузных эквивалентов сухого веса 35 -37% крахмала
Период ферментации
30 – 60 часов

Продукция/ Соотношение растворителей
Ацетон: Бутанол: Этанол – 3:6:1 CO ₂ : H ₂ – 60:40
Типы ферментации/ емкость
Периодическая ферментация – 90 - 750 м ³ Период проточной ферментации – 1000 - 2000 м ³

pH среды играет важную роль в процессе ферментации. В кислотопродуцирующей фазе быстрое образование уксусной и масляной кислот вызывает снижение pH. Сольвентогенез начинается тогда, когда pH достигает критической точки, после которой кислоты повторно усваиваются и образуются бутанол и ацетон. Следовательно, легко понять, что низкий уровень pH является необходимым условием для производства растворителя. Другое соображение заключается в том, что, прежде чем выбрать начальную концентрацию субстрата, важно понимать, что конечная концентрация бутанола вряд ли способна превысить 13 г/л, поскольку при довольно низких концентрациях бутанол очень токсичен для биосистем, в результате чего клостридий может потерять способность производить растворители во время культивирования. Было обнаружено, что это явление дегенерации связано с потерей мегаплазмиды pSOL1 в *C. acetobutylicum* [49].

Благодаря простоте в обслуживании и пониженному риску загрязнения, реакторы периодического действия обычно предпочтительнее в биотехнологической промышленности. Однако в реакторе периодического действия производительность низкая из-за длительной лаг-фазы и ингибирования продукта. Для устранения лаг-фазы можно использовать реакторы непрерывного действия. Установки реакторов непрерывного действия также предотвращают накопление растворителя и ингибирование клеток, поскольку концентрации растворителей в реакторе никогда не превышают 6 г/л, что далеко от уровня устойчивости бактерий. Реактор периодической загрузки, интегрированный с системой удаления продукта *in situ*, оказался весьма эффективным в решении проблемы ингибирования продукта. Например, в интегрированной системе рекуперации продуктов отгонки ферментированного газа с подпиткой с использованием *C. beijerinckii* BA101, с H₂ и CO₂ в качестве газов-носителей, производительность растворителя была улучшена до 400% от контрольной производительности периодической ферментации [50].

Кроме того, с целью повышения производительности реактор с волокнистым слоем и реакторы с клеточным циклом также применяются при производстве бутанола. Реактор с волокнистым слоем, по сути, представляет собой реактор с иммобилизованным слоем, где клетки иммобилизованы на валке из волокон, таких как хлопковые волокна. Направленность волокон создает много каналов, через которые содержимое реактора течет вверх. Свежая среда постоянно подается в реактор, а растворители, которые обычно ингибируют рост клеток, постоянно удаляются. Этот биореактор также самообновляется в том смысле, что одна клетка умирает; из-за постоянного запаса питательных веществ больше клеток растет на ее месте. Следовательно, нет необходимости вводить новые клетки в биореакторы, как только первоначально инокулированная биомасса прилипнет к поверхности волокон в период иммобилизации. Биореактор имеет очень большое поровое пространство, а также большую площадь поверхности, что обеспечивает как большую плотность клеток (40–100 г/л), так и большую продуктивность, что приводит к гораздо более быстрым реакциям. Конструкция этого реактора такова, что мертвые клетки падают на дно сосуда, а газы, образующиеся в ходе процесса (CO₂ и H₂), легко вытекают через каналы, помогая перемешать содержимое реакторов. Самое большое преимущество этого биореактора заключается в том, что он может работать непрерывно в течение одного года без необходимости технического обслуживания или последовательной переработки [51].

В мембранных реакторах клеточного цикла полуволоконный ультрафильтр применяется для разделения и рециркуляции клеток при проточной ферментации [52]. С помощью этого биореактора можно достичь производительности растворителя 6,5 г/л/ч со степенью разбавления 0,5 ч⁻¹. Главным препятствием этой системы является засорение мембраны ферментативным бульоном. Тем не менее, эту проблему можно решить, разрешив фильтрацию только ферментативного бульона, с использованием иммобилизованную клеточную систему [53].

9.5.2.4 Токсичность растворителей

Во время сольвентогенной фазы клеточный метаболизм клостридий обычно продолжается до тех пор, пока концентрация растворителя не достигнет около 20 г/л, после этого уровень дальнейший метаболизм клеток прекращается. Из всех производимых растворителей липофильный растворитель бутанол является наиболее токсичным и является единственным растворителем, полученным до уровня, который становится токсичным для клеток во время ферментации. Было продемонстрировано, что добавление в ферментативный бульон от 7 до 13 г/л бутанола приводит к 50%-ному ингибированию роста [18]. Бутанол разрушает фосфолипидные компоненты клеточной мембраны, вызывая увеличение мембранной жидкости [54]. Увеличение текучести мембран приводит к нарушению устойчивости мембраны и нарушению мембраносвязанных функций, таких как захват глюкозы, процессы переноса и активность мембраносвязанной АТФазы. Токсичность бутанола является одним из основных факторов, ограничивающих количество растворителя, которое может быть получено во время ацетон-бутанол-спиртового брожения. Было выдвинуто предположение, что повышение толерантности клеток к бутанолу может помочь в устранении проблемы токсичности растворителя. Одним из важных примеров бутанол-устойчивого штамма является штамм *C.beijerinckii* BA101, полученный из *C.beijerinckii* NCIMB 8052 путем случайного мутагенеза [55]. Также была использована технология антисмысловой РНК для разработки бутанол-устойчивого мутантного штамма *C.beijerinckii* NCIMB 8052 путем нацеливания на ген *gld A*, который кодирует глицеролдегидрогеназу [56]. Наблюдение за тем, как увеличивается мембранная текучесть с повышением температуры, позволяет предположить, что понижение температуры во время фазы получения растворителя может повысить устойчивость к бутанолу. Таким образом, производство бутанола может быть увеличено путем понижения температуры с 30 °C во время фазы кислотогенеза до 24 °C во время сольвентогенной фазы. Другим подходом в преодолении проблемы токсичности растворителя является интеграция процесса извлечения растворителем *in situ* при ферментации. Также ожидается, что метаболическая и клеточная инженерия с использованием подхода системной биологии поможет разработать более устойчивый к растворителям штамм клостридий [57].

9.5.2.5 Метаболическая инженерия

Основными целями в рамках метаболической инженерии бутанол-продуцирующих клостридий являются увеличение производства бутанола с точки зрения конечной концентрации и продуктивности, повышения устойчивости к бутанолу (растворителю), расширения диапазона использования субстрата, изменения метаболической сети для улучшения дизайна среды и выборочного производства бутанола вместо производства смешанной кислоты/растворителей. Этих целей можно достичь с помощью различных инструментов генной инженерии, таких как методы преобразования, шаттл-векторы и системы нокаута генов.

C. acetobutylicum ATCC 824 обладает сильной рестрикционной системой, код *Cac824I* (эндонуклеаза рестрикции), которая распознает 5'-GCNGC-3'. Эта рестрикционная система предотвращает эффективную трансформацию рекомбинантной плазмиды, полученной в *E.coli*. Так, Мермелштейн и соавторы (1992) разработали шаттл-вектор pFNK1 *B. subtilis* - *C. acetobutylicum*, который позволил повысить эффективность трансформации [58].

С помощью этого шаттл-вектора, гены ацетоацетат декарбоксилазы (АДС) и фосфотрансбутирилазы (ФТБ) могут быть успешно экспрессированы на повышенных уровнях в *C. acetobutylicum* ATCC 824. Количество копий широко используемых плазмид в *C. acetobutylicum* составляет около 7-20 копий на клетку, что соответствует для задачи метаболической инженерии [59].

Метаболическая инженерия клостридий затруднена из-за отсутствия эффективной системы нокаута генов. В *C. acetobutylicum* были нокаутированы только пять генов *viz-buk*, *pta*, *adhE*, *solR*, *spo0A* с очень низкой воспроизводимостью [42, 60]. Хип и соавторы (2007) разработали систему нокаута генов, называемую кластроновой системой, с использованием *Lactobacillus lactis* [61]. На сегодняшний день это самая эффективная система нокаута генов для клостридий.

Первым успешным примером метаболической инженерии было усиление пути образования ацетона в *C. acetobutylicum*. В процессе ферментации с использованием *C. acetobutylicum* в качестве рекомбинанта с усиленными генами *adc* и *ctfAB* (кодирующими ацетоацетатдекарбоксилазу и CoA трансферазу, соответственно), ацетонообразующие гены активируются раньше, что приводит к более ранней индукции образования ацетона. В отличие от ферментации с использованием родительского

штамма данный процесс привел к увеличению конечной концентрации ацетона, бутанола и этанола на 95%, 37% и 90%, соответственно [62]. Согласно другого исследования, гены *buk* и *pta*, кодирующие бутираткиназу и трансацетилазу фосфора, соответственно, были демобилизованы для перенаправления потока углерода от кислотообразования к образованию растворителя. Штамм RJC4BK, имеющий инактивированный ген *buk*, продуцировал на 10% больше бутанола, чем родительский штамм [63]. Также было обнаружено, что технология антисмысловой РНК (асРНК) эффективна для снижения активности бутиратобразующих ферментов в *C. acetobutylicum*. Десаи и Папутсакис (1999) разработали две разные асРНК, одну для *buk*, а другую для *ptb*, и успешно снизили активность бутираткиназы и фосфотрансбутирилазы на 85% и 70%, соответственно. Штамм, преобразованный *buk*-асРНК, продуцировал на 50% и 35% более высокие конечные концентрации ацетона и бутанола, соответственно. Устойчивость к растворителям и реакция на стресс могут быть улучшены у *C. acetobutylicum* за счет гиперэкспрессии многих генов, включая молекулярные насосы, шапероны (например, *groES*, *dnaKJ*, *hsp18*) и гены, участвующие в споруляции, синтезе жирных кислот и регуляторах транскрипции [64]. Сверхэкспрессия белков теплового шока GroES и GroEL также увеличивает конечную концентрацию растворителя путем стабилизации сольвентогенных ферментов [65].

До 2007 года полная последовательность генома *C. acetobutylicum* была недоступна, в результате чего технологические мишени были ограничены теми генами, которые были непосредственно связаны с образованием кислоты или растворителя. Теперь, когда доступна полная последовательность генома, можно проводить более систематический процесс улучшения штамма. При помощи достижений в области системной биологии, компьютерное моделирование и симуляция также могут быть использованы в качестве эффективных инструментов для метаболического пути инженерии клостридий. Фактически, Папутсакис (1984) был первым, кто разработал такие стехиометрические модели для количественного анализа метаболических потоков в *C. acetobutylicum* [66].

Также были предприняты усилия для разработки инструментов для метаболической инженерии кишечной палочки для производства бутанола. Мутантный штамм *E. coli* BW25113, гиперэкспрессирующие гены *crt*, *bcd*, *etfAB*, *hbd* и *adhE2* бактерии *C. acetobutylicum* и ген *atoB* *E. coli*, способны продуцировать 552 мг/л бутанола с использованием 2%-ного (мас./об.) глицерина в качестве источника углерода [67]. При гиперэкспрессии генов *thl*, *hbd*, *crt*, *bcd*, *ald* и *bdhA* в *C. acetobutylicum*, участвующих в биосинтезе бутанола, 0,8 мМ, 0,19 мМ и 0,01 мМ бутанола могут быть получены путем *E. coli*, *B. subtilis* и *S. cerevisiae* соответственно [68].

9.6 Методы разделения бутанола *in situ*

Основной проблемой при производстве бутанола является высокая стоимость извлечения продукта. Дистилляция является одним из старейших методов извлечения бутанола из ферментационного бульона. Однако традиционные системы извлечения, использующие дистилляцию, страдают от высокой стоимости извлечения продукта из-за низкой концентрации бутанола в ферментационном бульоне [4]. Чтобы решить проблему токсичности растворителя и снизить эксплуатационные расходы, было использовано несколько систем извлечения *in situ*, таких как отгонка газа, адсорбция, адсорбция жидкости жидкостью, первапорация, перстракция и вакуумная дистилляция. У каждой системы есть определенные преимущества и недостатки, которые необходимо тщательно изучить, прежде чем включать какую-либо из этих систем в производственные системы на промышленном уровне. Сравнение методов перегонки, отдувки газом, первапорации, перстракции и адсорбции описано в таблице 9.6.

На процессы восстановления и очистки большое влияние оказывает производительность процесса ферментации, которая, в свою очередь, зависит от деформационных характеристик. Например, когда штамм подвергается метаболической инженерии для производства бутанола без или с очень низкой продукцией ацетона и этанола, процесс очистки будет чрезвычайно упрощен. Когда в процессе ферментации используется устойчивый к бутанолу штамм, это облегчает процесс восстановления, так как во время ферментации может быть достигнута более высокая концентрация бутанола.

9.6.1 Отдувка газом

Отдувка газом является одним из самых простых методов извлечения бутанола из ферментационного бульона, поскольку в нем не используется дорогостоящее оборудование (рис. 9.6). При помощи данного метода газ, образующийся в процессе ферментации, такой как азот (N_2) или диоксид углерода (CO_2), распыляется через ферментационный бульон во время ферментации, что приводит к испарению летучего бутанола и выходу его с потоком газа в верхней части реактора. Газ, образующийся в процессе ферментации, затем пропускают через конденсатор для извлечения растворителем, и отпаренный газ возвращают обратно в ферментер. Этот процесс продолжается, пока в ферментере не будет использован весь сахар.

Отдувка газом может быть эффективно интегрирована с реакторными системами периодического и проточного действия, а также реакторной установки периодического действия с подпиткой для извлечения растворителей из ферментационного бульона [50, 69]. Куреши и Блашек продемонстрировали, что при использовании отдувки газом производительность можно увеличить на 41%, а бактерии используют на 50% больше субстрата, чем обычно [70].

9.6.2 Адсорбция

При этой процедуре сначала делается поток ферментативного бульона, который проходит через мембранный фильтр или центрифугу для отделения от него биомассы. Полученные таким образом твердые примеси могут рециркулироваться в ферментер, в то время как жидкости проходят через адсорбционную колонну (Рис. 9.7).

Таблица 9.6 Методы разделения бутанола *in situ*.

Метод	Продуктивность	Способность	Селективность	Стадия развития	Масштаб	Текущие затраты
Отдувка газом	Средняя	Умеренная	Низкая	Изучение	Лабораторный	Высокие
Первапарация	Высокая	Умеренная	Умеренная	Отработанная	Пилотный	Высокие
Перстракция	Высокая	Высокая	Высокая	Изучение	Лабораторный	Средние
Адсорбция	Высокая	Низкая	Низкая	Изучение	Промышленный	Низкие
Дистилляция	Высокая	Умеренная	Низкая	Полная	Промышленный	Высокие

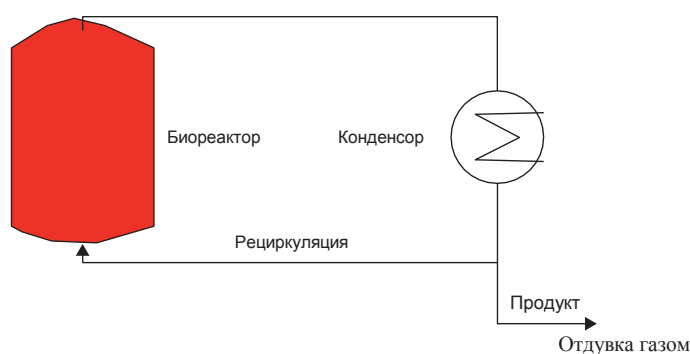


Рисунок 9.6 Блок-схема при рециркуляции при отдувке газом [77].

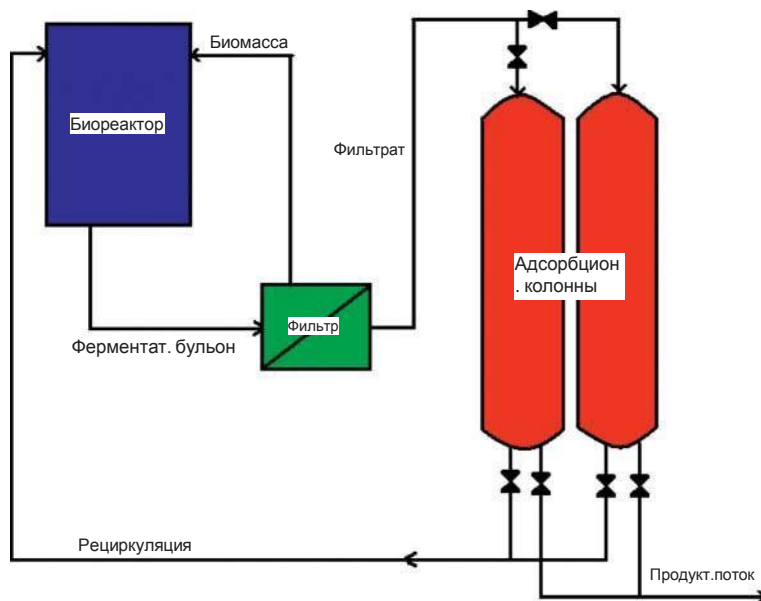


Рисунок 9.7 Адсорбция бутанола из ферментативного бульона [77].

Колонны заполнены гидрофобными адсорбентами, такими как диоксид кремния, на которые легко адсорбируется бутанол. Исследователи показали, что некоторые цеолиты могут также способствовать адсорбции бутанола [71]. После того, как колонки адсорбируют бутанол, их можно десорбировать, повышая температуру примерно до 200 ° C [72].

Этот способ более эффективен, чем обычная дистилляция, поскольку для его работы в ферментативном бульоне требуется всего 8,2 мДж/кг бутанола, тогда как для правильной работы при дистилляции требуется присутствие по меньшей мере 73,3 мДж / кг бутанола.

9.6.3 Экстракция жидкости жидкостью (перстракция)

Экстракция жидкости жидкостью считается одним из лучших методов извлечения бутанола. Этот подход использует преимущества различий в коэффициентах распределения химических веществ. Поскольку бутанол более растворим в экстрагенте (органическая фаза), чем в ферментационном бульоне (водный бульон), он селективно концентрируется в экстрагенте [6]. Двумя обычно используемыми экстрагентами являются олеиловый спирт и н-деканол. Эти экстрагенты применяются в процессе ферментации с культурами *C. beijerinckii* BA101 и *C. acetobutylicum* соответственно [73].

Экстракция жидкости жидкостью также страдает определенными недостатками из-за токсичности экстрагента для клеток и образования эмульсии.

Однако эти проблемы могут быть преодолены путем разделения ферментационного бульона и экстрагента с помощью мембраны, которая обеспечивает площадь поверхности для обмена бутанола между двумя несмешивающимися фазами (рис. 9.8). Когда процесс экстракции жидкости жидкостью проводится в присутствии мембраны, его называют «перстракция» [46].

9.6.4 Первапарация

Первапарация представляет собой мембранный процесс разделения, который позволяет избирательно удалять летучие соединения из ферментативного бульона. В этом процессе мембрана находится в контакте с ферментативным бульоном, а летучие растворители диффундируют через мембрану в виде паров, которые могут быть восстановлены путем конденсации (рис. 9.9). Процессы первапарации могут разворачивать как твердые, так и жидкие мембраны. Было показано, что жидкая мембрана, содержащая олеиловый спирт, является лучшей мембраной для жидкой среды в реакторах периодического действия и реакторах с подпиткой [74].

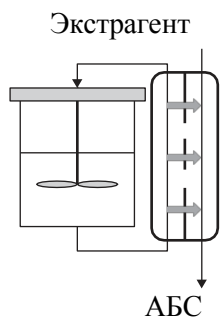


Рисунок 9.8 Ферментативный реактор, интегрированный с системой перстракции [6].

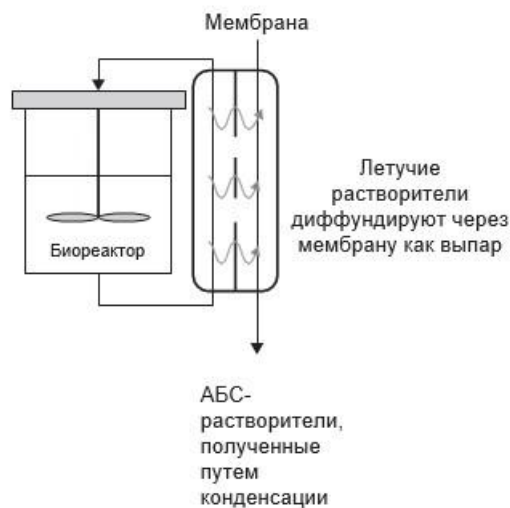


Рисунок 9.9 Реактор ферментации, интегрированный с системой первапорации [6].

Эта мембрана обладает очень высокой специфичностью по сравнению с мембраной из твердого силиконового каучука. В целях повышения селективности мембран из силиконового каучука, Куреши и соавторы синтезировали композитную мембрану из кремний-силикалита-1, которая обладает улучшенной селективностью в 2,2 раза [75]. Продуктивность растворителя при непрерывной ферментации, интегрированной с системой первапорации, может быть повышена с помощью ультрафильтрационной мембраны с ионной жидкой полидиметилсилоксаном [76].

9.6.5 Вакуумная дистилляция

Главная идея процесса вакуумной дистилляции заключается в снижении давления в ректификационных колоннах, поскольку пониженное давление приводит к более низкотемпературной температуре, так что для кипения любого компонента требуется меньше энергии [77]. Установка для вакуумной перегонки не должна сильно отличаться от обычной перегонки. Разница лишь в том, что давление в колонне нужно каким-то образом контролировать. Схема потоков, показывающая, где вакуумная дистилляция должна быть реализована в процессе ацетон-бутанол-спиртового брожения, показана на рис.9.10.

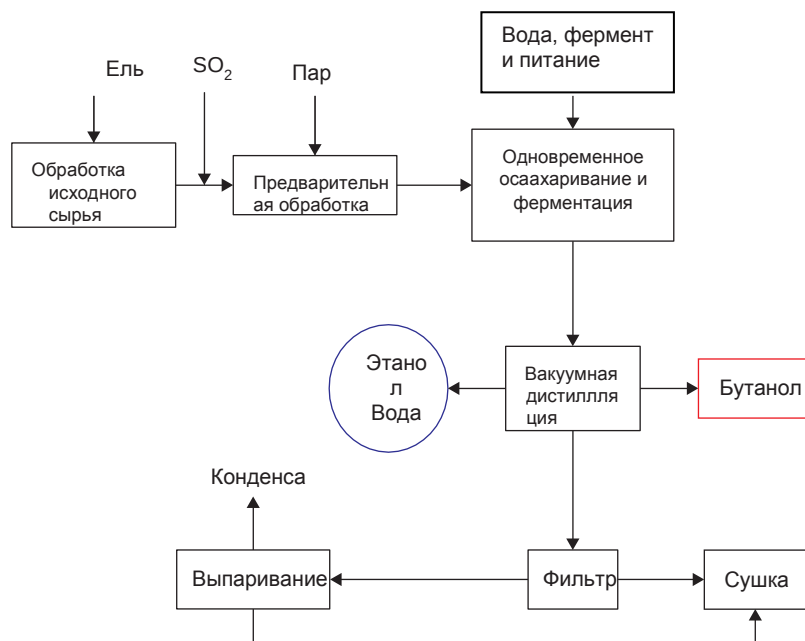


Рисунок 9.10 Упрощенная блок-схема, демонстрирующая процесс ацетон-бутанол-спиртового брожения [77].

9.7 Перспективы на будущее

Бутанол подает большие надежды в качестве биотоплива; тем не менее, необходимы дальнейшие улучшения, чтобы сделать процесс биобутанола экономически конкурентоспособным. Основное внимание следует уделить исследованиям в области разработки организмов с более высокой устойчивостью к бутанолу, лучшей специфичности конечного продукта, эффективной предварительной обработки субстрата и методов извлечения продукта. За последние 30 лет были многочисленные сообщения о процессе ацетон-бутанол спиртового брожения, проводимого с различными модификациями. Все эти изменения в совокупности способствовали значительному прогрессу в производстве бутанола. Общая конкурентоспособность биопроцесса сильно зависит от производительности штамма; в этой связи, для увеличения производства бутанола успешная метаболическая инженерия имеет решающее значение. Специфическая волюметрическая продуктивность могут быть увеличены путем оптимизации потока метаболитов. Этой цели можно достигнуть путем определения целевых генов, которые должны быть спроектированы с помощью анализа метаболического потока в геноме и исследований омиком [57]. Так как и для *C. beijerinckii*, так и для *C. acetobutylicum* доступна полная геномная последовательность, то построить метаболическую сеть клостридий в масштабе генома - это вопрос времени и денег. Модели нокаута генов также могут быть подготовлены с помощью метаболических сетей в масштабе генома для определения комбинаторных целевых генов, необходимых для манипулирования. Другой инструмент для метаболической инженерии, такой как селекция генома, можно использовать для сравнения генома *C. beijerinckii* BA101 и его родительского штамма *beijerinckii* NCIMB 8052 с мотивом выявления мутантных генов *C. beijerinckii* BA101, участвующих в усилении производства бутанола. Эти знания могут быть использованы для дальнейшего увеличения производства бутанола [78]. Анализ профиля транскриптома и протеома также может быть выполнено в различных условиях окружающей среды для распознавания генов-мишеней и метаболических путей, которыми нужно манипулировать. В дополнение к метаболической инженерии, есть много возможностей для исследований. Различные факторы транскрипции, шапероны, белки могут быть сконструированы в целях увеличения выработки бутанола и устойчивости к бутанолу. Также можно достигнуть эффективного биопроцесса для производства бутанола путем интеграции процесса ферментации с последующим процессом. Продолжающиеся исследования в области метаболической инженерии, микробной технологии, биопроцесса, последующей обработки и системной биологии, безусловно, сделают производство бутанола на биологической основе экономически целесообразным процессом в ближайшем будущем.

Использованная литература

- S.E. David and S.A. Morton III, *Separation Science and Technology*, Vol. 43, p. 2460, 2008.
- Y.L. Lin and H.P. Blaschek, *Applied Environmental Microbiology*, Vol. 45, p. 996, 1983.
- P. Dürre, *Annals of the New York Academy of Science*, Vol. 1125, p. 353, 2008.
- P. Dürre, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 49, p. 639, 1998.
- L. Gholizadeh, "Enhanced butanol production by free and immobilized *Clostridium* sp. cells using butyric acid as co-substrate" (Report), University of Boras, 2009.
- S.Y. Lee, J.H. Park, S.H. Jang, L.K. Nielsen, J. Kim, and K.S. Jung, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 101(2), p. 209, 2008.
- S. Atsumi, T. Hanai, and J.C. Liao, *Nature*, Vol. 451, p. 86, 2008.
- P. Dürre, *Biotechnology Journal*; Vol. 2, p. 1525, 2007.
- Shang-Tian Yang, Methods for Producing Butanol. Patent: US 20080248540A1, 2008.
- G.K. Donaldson, L.L. Huang, L.A. Maggio-Hall, V. Nagarajan, C.E. Nakamura, and W. Suh, Fermentative production of four carbon alcohols. International Patent WO2007/041269, 2007.
- M. Kirschner, n-Butanol, Chemical Market Reporter ABI/INFORM Global, p. 42, 2006.
- H. Weber, and J. Falbe, *Industrial and Engineering Chemistry Research*, Vol. 62(4), p. 33, 1970.
- J. Falbe, *Carbon Monoxide in Organic Synthesis*. Berlin-Heidelberg-New York; Springer Verlag, 1970.
- M. Bochman, F.A. Cotton, C.A. Murillo, and G. Wilkinson, *Advanced inorganic chemistry*. USA: John Wiley & Sons, Inc, 1999.
- L.P. Wackett, *Current Opinion in Chemical Biology*, Vol. 12, p. 187, 2008.
- W. Swodenk, *Chemie-Ingenieur-Technik*, Vol. 55, p. 683, 1983.
- V.V. Zverlov, O. Berezina, G.A. Velikodvorskaya, and W.H. Schwarz, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 71, p. 587, 2006.
- D.T. Jones, and D.R. Woods. *Microbiology Review*. Vol. 50, p. 484, 1986.
- T.C. Ezeji, N. Qureshi, P. Karcher, and H.P. Blaschek, "Production of butanol from corn", In: Minteer S (ed) *Alcoholic fuels*. Taylor and Francis Group, LLC, CRC Press, Boca Raton, pp. 99–122, 2006.
- C. L. Gabriel, *Industrial and Engineering Chemistry Research*, Vol. 20, p. 1063, 1928.
- C. L. Gabriel, and F.M. Crawford, *Industrial and Engineering Chemistry Research*, Vol. 22, p. 1163–1165, 1930.
- J. H. Hastings, "Acetone-butyl alcohol fermentation", In A. H. Rose (ed.), *Economic microbiology, Primary products of metabolism*. Academic Press, Inc., New York. Vol. 2, pp. 31–45, 1978.
- J. H. Hastings, *Advances in Applied Microbiology*, Academic Press, Inc., New York. Vol. 14, p. 1 1971.
- D. Ross, *Progress in Industrial Microbiology*, Vol. 3, p. 73, 1961.
- M. J. Spivey, *Process Biochemistry*, Vol. 13, p. 2–5, 1978.
- P. M. Robson and D.T. Jones, "Production of acetone butanol by industrial fermentation", In O. Chaude and G. Durand (ed.), *Industrielle et Biotechnologie. Production d'intermediares industriels par culture anaerobie*. Societe Francaise de Microbiologie, Paris, pp. 169–214. 1982.
- A. H. Rose, *Industrial microbiology*, Butterworths, London, p. 160–166, 1961.
- P. Rogers, *Advanced Applied Microbiology*, Vol. 31, p. 1, 1986.
- A.J. Francis, C.J. Dodge, F. Lu, G.P. Halada, and C.R. Clayton, *Environmental Science Technology*, Vol. 28, p. 636, 1994.
- J.C. Spain, *Annual Review of Microbiology*, Vol. 49, p. 523, 1995.
- Jan et al. in chapter 2 Nigel 1989.
- F. Monot, J.R. Martin, H. Petitdemange, and R. Gay, *Applied Environmental Microbiology*, Vol. 44, p. 1318, 1982.
- P. Dürre, "Sporulation I clostridia", In: P. Dürre, (ed.). *Handbook on clostridia*. Boca Raton: CRC Press. pp. 659–699, 2005.
24. H. Biebl, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, Vol. 27, p. 18, 2001.
- H. A. George, and J.S. Chen, *Applied Environmental Microbiology*, Vol. 46, p. 321, 1983.
- M. Gottwald, H. Hippe, and G. Gottschalk, *Applied Environmental Microbiology*, Vol. 48, p. 573, 1984.

- M.G.N. Hartmanis, and S. Gatenbeck, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 47, p. 1277, 1984.
- C. Paredes, K.V. Alsaker, and E.T. Papoutsakis, *Nature Review*, Vol. 3, p. 969, 2005.
- P. Dürre, A. Kuhn, M. Gottwald, and G. Gottschalk, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 26, p. 268, 1987.
- H. Bahl, H. Muller, H. Behrens, H. Joseph, and F. Narberhaus, *FEMS Microbiology Review*, Vol. 7, p. 341, 1995.
- L. Sullivan, and G.N. Bennett, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, Vol. 33, p. 298, 2006.
- L.M. Harris, N.E. Welker, and E.T. Papoutsakis, *Journal of Bacteriology*, Vol. 184, p. 3586, 2002.
- M.C. Scotcher, and G.N. Bennett, *Journal of Bacteriology*, Vol. 187, p. 1930, 2005.
- T.C. Ezeji, N. Qureshi, and H.P. Blaschek, *Current Opinions in Biotechnology*, Vol. 18, p. 220, 2007.
- N. Qureshi, T.C. Ezeji, J. Ebener, B.S. Dien, M.A. Cotta, and H.P. Blaschek, *Bioresource Technology*, Vol. 99, p. 5915, 2008.
- N. Qureshi, B.C. Saha, B. Dien, R.E. Hector, and M.E. Cotta, *Biomass and Bioenergy*, Vol. 34, p. 559, 2010.
- N. Qureshi, T.C. Ezeji, J. Ebener, B.S. Dien, M.A. Cotta, and H.P. Blaschek, *Bioresource Technology*, Vol. 99, p. 5915, 2008.
- N. Qureshi, B.C. Saha, R.E. Hector, B. Dien, S. Hughes, Liu Siqing, Iten Loren, M.J. Bowman, G. Sarath, and M.A. Cotta, *Biomass and Bioenergy*, Vol. 34, p. 566, 2010.
- T.C. Ezeji, N. Qureshi, and H.P. Blaschek, "Industrially relevant fermentations", In: Dürre P, editor. *Handbook on clostridia*. Boca Raton: CRC Press. pp. 797–812, 2005.
5. T.C. Ezeji, N. Qureshi, and H.P. Blaschek, *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 63(6), p. 653, 2004.
- Yang, Shang-Tian, Extractive Fermentation Using Convuluted Fibrous Bed Bioreactor. The Ohio State University Research Foundation, assignee, Patent 5,563,069, 1996.
- P. Pierrot, M. Fick, and J.M. Engasser, *Biotechnology Letters*, Vol. 8, p. 253, 1986.
- F. Lipnizki, S. Hausmanns, G. Laufenberg, R. Field, and B. Kunz, *Chemical Engineering Technology*, Vol. 23, p. 569, 2000.
- L.K. Bowles, and W.L. Ellefson, *Applied Environmental Microbiology*, Vol. 50, p. 1165, 1985.
- N. Qureshi, and H.P. Blaschek, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, Vol. 27, p. 287, 2001.
- H. Lyanage, M. Young, and E.R. Kashket, *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, Vol. 2, p. 87, 2000.
- S.Y. Lee, D.Y. Lee, and T.Y. Kim, *Trends in Biotechnology*, Vol. 23, p. 349, 2005.
- L.D. Mermelstein, N.E. Welker, G.N. Bennett, and E.T. Papoutsakis, *Bio/ Technology*, Vol. 10, p. 190, 1992.
- S.Y. Lee, L.D. Mermelstein, and E.T. Papoutsakis, *FEMS Microbiology Letters*, Vol. 108, p. 319, 1993.
- R.V. Nair, E.M. Green, D.E. Watson, G.N. Bennett, and E.T. Papoutsakis, *Journal of Bacteriology*, Vol. 181, p. 319, 1999.
- J.T. Heap, O.J. Pennington, S.T. Cartman, G.P. Carter, and N.P. Minton, *Journal of Microbiology Methods*, Vol. 70, p. 452, 2007.
- L.D. Mermelstein, E.T. Papoutsakis, D.J. Petersen, and G.N. Bennett, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 42, p. 1053, 1993.
- E.M. Green, Z.L. Boynton, L.M. Harris, F.B. Rudolph, E.T. Papoutsakis, and G.N. Bennett *Microbiology (UK)*, том 142, стр. 2079, 1996.
- C. Tomas, J. Beamish, and E.T. Papoutsakis, *Journal of Bacteriology*, том 186, стр. 2006, 2004.
- C.A. Tomas, N.E. Welker, and E.T. Papoutsakis, *Applied Environmental Microbiology*, Vol. 69, p. 4951, 2003.
- E.T. Papoutsakis, *Biotechnology and Bioengineering*, том 26, стр. 174, 1984.
- S. Atsumi, A.F. Cann, M.R. Connor, C.R. Shen, K.M. Smith, M.P. Brynildsen, K.J.Y. Chou, T. Hanai, and J.C. Liao, *Metabolic Engineering*, том 10, стр. 1016, 2007.
- G.K. Donaldson, L.L. Huang, L.A. Maggio-Hall, V. Nagarajan, C.E. Nakamura, and W. Suh, Fermentative production of four carbon alcohols. International Patent WO2007/041269, 2007.
- T.C. Ezeji, N. Qureshi, and H.P. Blaschek, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Vol. 19, p. 595, 2003.

- N. Qureshi, and H.P. Blaschek, *Renewable Energy*; том 22, стр. 557, 2001.
- A. Oudshoorn, L.A.M. van der Wielen, and A.J.J. Straatho, *Biochemical Engineering Journal*, том 48, стр. 99, 2009.
- E. Larsson, M. Max-Hansen, A. Pålsson, and R. Studeny, “A feasibility study on conversion of an ethanol plant to a butanol plant”, 2008.
- C. Thirnal and Y. Dahman, *The Canadian Journal of Chemical Engineering*; Vol. 90, p. 745, 2012.
- M. Matsumura, H. Kataoka, M. Sueki, and K. Araki, *Bioprocess Engineering*, Vol. 3, p. 93, 1988.
- N. Qureshi, H.P. Blaschek, *Biotechnology Progress*, Vol. 15, p. 594, 1999.
- P. Iza'k, K. Schwarz, W. Ruth, H. Bahl, and U. Kragl, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 78, p. 597, 2008.
- S. Dahlbom, H. Landgren, and P. Fransson, “Alternatives for Bio-Butanol Production”. Feasibility study presented to Statoil, 2011.
- J. Ohnishi, S. Mitsuhashi, M. Hayashi, S. Ando, H. Yokoi, K. Ochiai, и
M. Ikeda, *Applied Microbiology and Biotechnology*, том 58, стр. 217, 2002.
- D. Ramey and S.-T. Yang, “Production of Butyric Acid and Butanol from Biomass-Final Report”. U.S. Department of Energy, Morgantown, West Virginia, 2004.
- K. Melzoch, P. Patáková, M. Linhová, J. Lipovský, P. Friert, M.S.S. Toure,
M. Rychtera, M. Pospíšil and G. Šebor “Experiences in the production and use of butanol as biofuel”. *Institute of Chemical Technology Prague*, Prague 6, Czech Republic, 2010.

Производство биодизеля из различных источников

Комал Саксена¹, Авинаш Кумар Шарма¹, Лалит Агравал²

и Ашиш Дип Гупта^{*1}

¹Департамент биотехнологии, Институт биомедицинского образования и исследований, Университет Мангалаятан, Алигарх, 202 145, Уттар-Прадеш, Индия. ²CSIR-Национальный исследовательский институт ботаники, Рана Пратап Марг, Лакнау, 226 001, Уттар-Прадеш, Индия.

Краткое изложение

Мы все отдаем себе отчет в том, что истощение залежей ископаемого топлива привело к срочному поиску альтернативных форм современного топлива. Биотопливо, особенно биодизель, может стать возможным решением. Биодизель можно получить из растений, микроорганизмов, грибов, жидких отходов, микроводорослей и т. д., но данные источники имеют один или несколько препятствий. Тем не менее, микроводоросли могут выступать в качестве лучшего источника для производства биодизеля, поскольку это не приводит к противоречию земли с топливом. Данная глава, главным образом, сфокусирована на источниках производства биодизеля, процессах производства биодизеля, катализу и факторам, влияющим на производство биодизеля. Нам нужно понимать, что для наилучшего использования биодизеля в дизельных двигателях мы должны включить технические модификации в традиционные дизельные двигатели, чтобы продвигать производство биодизеля в промышленном масштабе.

Ключевые слова: биодизельное сырье, производство биодизеля, биотопливо, гомогенные катализаторы, гетерогенные катализаторы.

10.1 Введение

Из-за истощения запасов ископаемого топлива, роста цен на сырую нефть, политической нестабильности в странах и истощения выбросов CO₂ в окружающую среду, существует необходимость в экологически устойчивом, возобновляемом, с низким уровнем выбросов, нетоксичном, экономичном, экологически устойчивом и углеродно-нейтральном топливе для транспортных систем и других целей. Подробное описание существующих и будущих ископаемых видов топлива, способных заменить дизельное топливо, было рассмотрено в этой главе с учетом того, что источником производства биодизеля должен быть источник, способный удовлетворить спрос на ископаемое топливо [1]. -4].

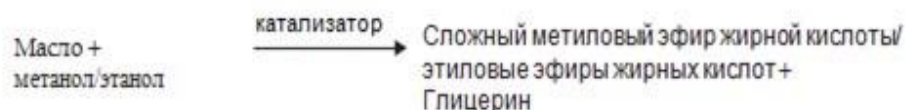


Рисунок 10.1 Реакция тансэстрификации для производства биодизеля.

В этой главе было рассмотрено подробное описание существующих и будущих ископаемых видов топлива, способных заменить дизельное топливо, с учетом того, что источником производства биодизеля должен быть источник, способный удовлетворить спрос на ископаемое топливо [1-4].

Биодизель является одним из видов биотоплива промышленного масштаба. Каталитическая трансэтерификация масла спиртом (метиловым или этиловым) выдает биодизельное топливо, представляющее собой прозрачную янтарно-желтую жидкость, а именно либо моноалкиловый эфир жирных кислот (МЭЖК), либо этиловый эфир жирной кислоты (ЭЭЖК) (рис. 10.1) [1, 2, 5]. Профиль липопротеинов МЭЖК состоит в основном из насыщенных жирных кислот, таких как пальмитиновая кислота, стеариновая кислота и ненасыщенные жирные кислоты, такие как олеиновая

кислота, линолевая кислота и линолевая кислота [6–10]. Профиль липопротеинов МЭЖК состоит из этилпальмитата, этилолеата, этилмиристата и этилпальмитидата [3, 4].

Биодизель может быть определен как метиловые эфиры жирных кислот/этиловые эфиры жирных кислот, полученные трансэтерификацией триацилглицеринов, присутствующих в масле с участием метанола/этанола соответственно.

10.2 Производство биодизеля из различных источников

Значимыми источниками производства биодизеля являются соевое масло, рапсовое масло, пальмовое масло, кукурузное масло, животный жир, несъедобные масличные культуры и отработанное пищевое растительное масло, хотя эти источники не стремятся удовлетворить планируемые или существующие расходы биодизельного топлива. Использование дешевого сырья, такого как непищевые масла, животные жиры, отработанное пищевое масло и побочные продукты переработки растительных масел для производства биодизеля, может привести к снижению затрат [11, 12]. Тем не менее, по многим причинам различные водоросли стали предпочтительным источником для производства биодизеля [11]. Ниже приведено подробное описание производства биодизеля из разных источников.

10.2.1 Производство биодизеля из растений

Известно около 350 культур, которые могут быть использованы для производства биодизеля. Однако подсолнечное масло, сафлоровое масло, соевое масло, хлопковое масло, рапсовое масло и арахисовое масло являются потенциальными источниками, поскольку они могут быть использованы в дизельных двигателях без изменений. Различные растительные источники, которые используются для производства биодизеля в определенной стране, зависят от наличия и стоимости растительного масла, произведенного из растительных источников, выращенных в этой стране [7]. Однако использование пищевых масел в качестве сырья для производства биодизеля очень дорогостоящее и поэтому не может быть коммерциализировано [13].

Непищевые масла, такие как *Mathuca indica*, *Shorea robusta*, *Pongamia glabra*, *Mesua spp.*, *Mallotus philillines*, *Garcinea indica*, *Jatropha curcas*, *Salvadova spp.*, *Nicotiana tabacum*, масло из рисовых отрубей, *Azadirachta indica*, *Hevea brasiliensis* и касторовое масло являются выдающимися источниками для производства биодизеля. Масло *Jatropha curcas* является предпочтительным сырьем для Индии [14, 15]. Это растение может хорошо развиваться в неблагоприятных условиях. Поэтому его выращивают на малопродуктивных почвах, хотя количество семян, полученных этим растением, очень маленькое [16, 17]. Профиль жирных кислот в *Jatropha curcas* состоит из насыщенных и ненасыщенных жирных кислот. Насыщенные жирные кислоты - это в основном пальмитиновая кислота (14,2%), стеариновая кислота (7,0%), а ненасыщенные жирные кислоты - в основном олеиновая кислота (44,7%) и линолевая кислота (32,8%) [6, 7, 8, 9]. Понгамия перистая *Pongamia pinnata* также способна быстро расти на малопродуктивных землях и имеет профиль жирных кислот, который состоит из олеиновой кислоты (51,8%), линолевой кислоты (17,7%), пальмитиновой кислоты (10,2%), стеариновой кислоты (7,0%) и линоленовая кислота (3,6%) [10].

10.2.2 Производство биодизеля с помощью бактерий

Будущий подход к производству биодизеля - это производство из бактерий, известное как микродизель [18, 19]. ЭЭЖК может быть получен с помощью генетически разработанной кишечной палочки *Escherichia coli* с генами, продуцирующими этанол из *Zymomonas mobilis*. Это увеличивает количество жирных кислот, полученных путем изменения ферментов в различных метаболических путях. Например, повышенные количества жирных кислот получают разнородной экспрессией ацил-КоА в кишечной палочке *E. coli*, делецией *fadE*, кодирующего ацил-КоА-дегидрогеназу, сверхэкспрессией тиоэстераз и разнородным введением *fadD* из сахаромикетов *Saccharomyces cerevisiae* в кишечной палочке *E. coli* [4].

10.2.3 Производство биодизеля из грибов

Некоторые грибковые и маслянистые дрожжи способны накапливать более 20% содержания

липидов в своих клетках, а именно *Yarrowia* spp., *Candida* spp., *Rhodotorulla* spp., *Rhodospiridium* spp., *Cryptococcus* spp., *Trichosporon* spp. И *Lipomyces* spp. Эти виды дрожжей способны использовать сельскохозяйственные отходы для производства липидов. Профиль жирных кислот липидов, накопленных в одной клетке маслянистых грибов, в основном содержит пальмитиновую кислоту (18,51%), олеиновую кислоту (67,29%), миристиновую кислоту (1,11%), стеариновую кислоту (1,25%) и линолевую кислоту (4,76%), что очень похоже на масло растительного сырья, используемого для производства биодизеля. Среди них *Rhodotorulla* 110 использует глюкозу в качестве единственного источника углерода, дрожжевой экстракт и сульфат аммония в качестве источника азота для получения высокого содержания липидов. Хотя рисовые отруби являются лучшим источником углерода, который можно использовать для накопления липидов в этих дрожжевых клетках из-за его низкой стоимости, другими источниками, которые могут быть использованы в качестве источников углерода, являются глюкоза, сахароза, лактоза и растворимый крахмал [3, 20].

Y. lipolytica - модельные маслянистые дрожжи для производства биодизеля. Они выращиваются на глюкозе и недорогих отходах, таких как растительное масло и отработанное моторное масло. *Y. lipolytica* NCIM 3589 показывает самый высокий коэффициент липида/биомассы при использовании глюкозы в качестве источника углерода, тогда как использование отработанного кулинарного масла приводит к высокому накоплению как насыщенных жирных кислот, так и мононенасыщенных жирных кислот в этих дрожжах [3]. Накопление одноклеточного масла в грибах содержит большое количество насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот, таких как пальмитиновая (C16: 0), стеариновая (C18: 0) и олеиновая (C18: 1) кислоты. Дрожжи, такие как *Saccharomyces cerevisiae* и *Pichia Conditionitis*, и грибы, такие как *Aspergillus niger* и *Trichoderma reesei*, используют гидролизат лигноцеллюлозной биомассы для накопления липидов в своей биомассе. Сообщалось о накоплении одноклеточного масла в *Aspergillus terreus* IBV M1 из мангровых экосистем. Этот грибок также содержит лигноцеллюлозную биомассу. Другими используемыми источниками углерода могут быть жом сахарного тростника, гребни винограда, раковины арахиса, сырная сыворотка и глюкоза. Хотя использование глюкозы приводит к высокому скоплению липидов и высокому росту биомассы, оно не является предпочтительным в качестве источника из-за его высокой стоимости [21]. Синтезы ферментов с восковым эфиром, полученные из *S. cerevisiae*, *Acinetobacter baylyi* ADP1, *Marinobacter hydrobonoclasticus* DSM 8798, *Rhodococcus opacus* PD630, *Mus musculus* C57BL/6 и *Psychrobacter arcticus* 273–4, могут синтезировать сложные эфиры воска из спиртов и жирных кислот. Тиоэфиры могут производить ЭЭЖК, которые можно использовать в качестве биодизеля. Производство ЭЭЖК может быть дополнительно усилено повышением регуляции ацетил-коэнзим А карбоксилазы [22].

10.2.4 Производство биотоплива из сточных вод

Говяжье сало содержит около 50% насыщенных жирных кислот от общего содержания жирных кислот, которые могут быть использованы для производства биодизеля. Другой дешевый источник для производства биодизеля - использованные бытовые отработанные масла (UDWO). Как и у многих растительных масел, проблема с бытовыми отработанными маслами заключается в большом количестве свободной жирной кислоты, которая ограничивает его реакцию переэтерификации, поскольку физико-химические свойства биодизеля, получаемого из бытовых отработанных масел, почти такие же, как и у потенциального растительного сырья, используемого в настоящее время [23]. Другие отходы, такие как твердые бытовые отходы, сельскохозяйственные отходы и промышленные отходы, не могут быть использованы в качестве источников для производства биодизеля из-за наличия в них многих опасных загрязнителей [23].

Биодизель можно вырабатывать из отработанного пищевого растительного масла с использованием смеси оксидов $\text{TiO}_2\text{-MgO}$, имеющих различные молярные соотношения Mg/Ti , полученные золь-гель методом. Преимущество использования титана состоит в том, что он улучшает каталитическую стабильность путем замены ионов Ti вместо ионов Mg в дефектной решетке оксида магния [24]. Личинки *Boettcherisca peregrine* способны расти на твердых органических отходах и могут быть использованы для производства биодизеля [13]. Личинки *Hermetia illucens* и *Chrysomya megacerphala* способны расти на органических отходах, таких как свиной навоз и пищевые отходы предприятий общественного питания, а также могут использоваться для производства биодизеля [13].

10.2.5 Производство биотоплива из микроводорослей

Микроводоросли оказались устойчивым и перспективным источником производства биодизеля из-за высокой скорости роста и высокого внутриклеточного содержания липидов [23]. Причинами выбора микроводорослей в качестве наиболее подходящего источника для производства биодизеля являются его легкодоступность, более высокий выход нефти, по сравнению с традиционным сырьем, а также то, что он обеспечивает приемлемое решение противоречия «земля или топливо», поскольку его можно выращивать вдали от сельскохозяйственных и лесов, тем самым нанося минимальный ущерб экосистеме и цепям питания. Микроводоросли имеют способность расти в сточных водах, пресной, а также морской воде. *Isochrysis zhangjiangensis* может расти в сточных водах [25], *Chlorella pyrenoidosa* на гидролизате рисовой соломы, *Botryococcus* spp., *Botryococcus* spp., *Botryococcus* spp. и *Botryococcus* spp. могут расти в прудах с пресной водой. Еще одна пресноводная микроводоросль *Scenedesmus* spp. LX1 также может накапливать большое количество липидов в своей биомассе [26–29]. Другими важными видами в производстве биодизеля являются *Nannochloropsis* spp. [30] *Scenedesmus obliquus* SJTU-3, *Chlorella pyrenoidosa* SJTU-2 [31, 25] *Chlorella vulgaris*, *Neochloris oleoabundans*, *Cylindrotheca closterium* [32] *Chlorococcum* spp. [33] *Dunaliella tertiolecta*, *Nannochloropsis oculata* и *Dunaliella salina teodoresco* [34]. Вид *Dunaliella salina teodoresco* - наиболее важные в промышленном отношении зеленые галофитные микроводоросли, поскольку он может продуцировать β -каротин в огромных количествах. Поэтому эта микроводоросль может быть использована в качестве перспективного сырья для производства биотоплива [34].

10.3 Различные процессы производства биотоплива

10.3.1 Трансэтерификация

Это наиболее часто используемый способ производства биодизеля из различных источников, потому что масло, полученное из установок, обладает вязкостью в 10-20 раз больше, чем нефтяное дизельное топливо. Трансэтерификация является важным этапом, который снижает вязкость биодизельного масла. Это процесс взаимодействия триглицеридов, присутствующих в биодизельном масле, со спиртом (метанол/этанол) с образованием метиловых эфиров жирных кислот/этиловых эфиров жирных кислот и глицерина с помощью различных катализаторов [7, 35–37]. При этом триглицериды постепенно превращаются в диглицериды, моноглицериды и глицерин. На каждой стадии сложный алкиловый эфир образуется в качестве побочного продукта наряду с образованием одного моля FAME [38–41]. При производстве биодизеля из различных источников глицерин может быть получен в качестве основного побочного продукта [1, 2, 5].

Если в сырье обнаружено высокое содержание жирных кислот, то для снижения содержания свободных жирных кислот в масле до уровня менее 1% важен двухстадийный процесс трансэтерификации. Примером является масло *Madhuca indica*, которое содержит около 20% жирных кислот [42, 43]. В двухстадийном катализе исходного нефтяного масла первая стадия - предварительная обработка масла - проводится с целью снижения содержания свободных жирных кислот, а на второй стадии проводится трансэтерификация [15]. С помощью этого метода, высокий уровень СЖК масла *Madhuca Indica* может быть снижен до менее чем 1% с использованием двухстадийного процесса каталитической трансэтерификации [15]. Наблюдается, что масла исходного сырья, метанол/этанол и МЭЖК, являются двумя фазами, частично смешивающимися во время трансэтерификации: метанол/этанол и масляная фаза [41, 44]. На основе результатов продуктов трансэтерификации, двухфазная система образует фазу, обогащенную МЭЖК, являющимися продуктом, и фазу, обогащенную глицерином, который является главным побочным продуктом [41, 44].

10.3.1.1 Типы катализа, участвующего в трансэтерификации

Выбор среди типов катализаторов зависит от количества содержания свободных жирных кислот в сырье [45]. Их можно сгруппировать по следующим категориям.

Гомогенный катализ кислотами и основной катализ

Данный метод широко применяется во время реакций трансэтерификации, но основной катализ

является предпочтительным для трансэтерификации. В гомогенном основном катализе для реакций трансэтерификации используются КОН, NaOH и алкоксиды щелочных металлов, такие как метоксид натрия и метоксид калия [35–37, 43, 46]. Хотя реакция в кислотном и основном катализе очень похожи, они различаются по диапазону температур реакции. Реакция трансэтерификации путем основного катализа эффективно происходит в интервале температур 25°C–125°C [35–37, 46], в то время как в кислотном катализе трансэтерификация происходит между 55°C–80°C [47–49].

Базовый катализ страдает от нежелательной реакции, приводящей к сапонификации. Это происходит в результате реакции катализатора со свободными жирными кислотами, присутствующими в отработанных маслах или маслах для жарения [24]. Иногда, наряду с сапонификацией, также происходит образование эмульсии, приводящее к меньшему выделению и очистке продукта и меньшему количеству рафинированного биодизеля [24]. Для решения этой проблемы предпочтительным является двухстадийный кислотный катализ с использованием серной и фосфорной кислоты, а также двухстадийный основной катализ с использованием NaOH, КОН и NaOCH₃ [50]. При проведении гомогенной каталитической трансэтерификации полученный глицерин имеет низкое качество, что повышает себестоимость производства и очистки продукта и побочных продуктов. Несколько видов сырья не могут быть использованы в основном гомогенном катализе. Более того, основные гомогенные катализаторы, такие как NaOH и КОН, являются гигроскопичными по своей природе и содействуют вредному воздействию окружающей среды [45].

Гетерогенный катализ

Гетерогенные катализаторы имеют более высокую активность, избирательную способность и водостойкость, хотя эти свойства зависят исключительно от количества и силы активных кислотных или основных участков, имеющихся в используемом катализаторе. Это выгодно, поскольку обеспечивает рециркуляцию и, таким образом, позволяет повторно использовать катализаторы. В гетерогенном катализе твердый гидроталькит Mg-Al проявляет наилучшую активность в условиях мягкой реакции. Однако этот катализатор нестабилен из-за вымывания щелочных катионов из фазы метилового эфира жирной кислоты [24, 45]. Ниже приведены гетерогенные катализаторы, используемые в промышленности для производства биодизеля [45].

Типы гетерогенных катализаторов указаны на Рис.10.2. Гетерогенными катализаторами, демонстрирующими хорошую устойчивость и хорошую активность, являются шпинель Al-Zn и Zr-La [24]. Оксид щелочноземельного металла, такой как CaO, является наиболее широко употребляемым катализатором из-за его способности обеспечивать 98% выход МЭЖК в течение первого цикла реакции. Реакционную способность CaO дополнительно определяют его температурой кальцинации. CaO, полученный из отходов яичной скорлупы, может быть повторно использован в течение 17 циклов, а Ca (OCH₃)/Ca (C₃H₇O₃)₂, который может быть использован повторно, дает около 93% выхода МЭЖК даже после 20 циклов. Более того, Ca (C₃H₇O₃)₂/CaCO также может быть использован в течение, по меньшей мере, 5 циклов, давая около 95% выхода МЭЖК [45]. Наилучшим катализатором, с точки зрения выхода, является Nano-MgO, способный обеспечить 99% выхода МЭЖК, хотя его нельзя использовать повторно. Промышленно применимым катализатором является SrO, который также широко использовался в лабораторных условиях [45].

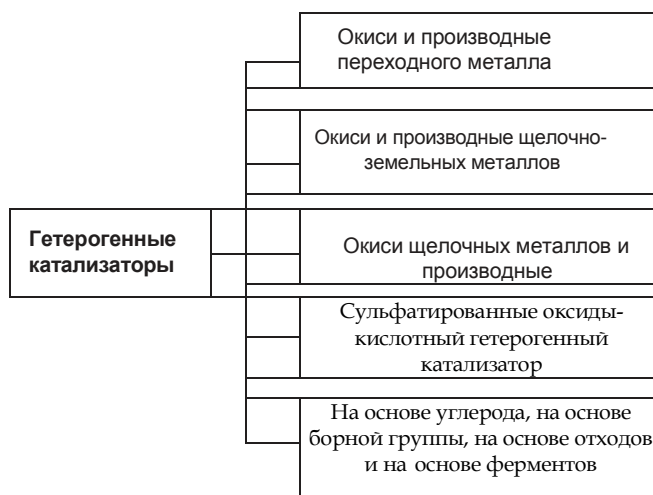


Рисунок 10.2 Гетерогенные катализаторы, используемые для промышленного применения.

Использование активированного угля вместе с КОН дает 94% выхода МЭЖК и возможность повторного использования в течение 3 циклов реакции [45]. Диметилкарбонат Na_2PEG дает выход 99% МЭЖК, но он не подлежит повторному использованию. Другими являются оксиды борной группы - хлороалюминатная ионная жидкость, катализатор S-ZrO_2 , ZrO_2 , на основе из La_2O_3 , и CaO , на основе из мезопористого диоксида кремния. Во время гетерогенного катализа побочный продукт глицерина легче отделить, и он имеет высокое качество, даже несмотря на то, что скорость преобразования триглицеридов в биодизель является низкой [45].

Использование сверхкритических или докритических жидкостей

Сверхкритические флюиды - это те вещества, которые существуют в виде жидкостей выше их критической температуры и давления [7, 35–37, 46]. Катализ рапсового масла с использованием сверхкритического метанола оказывает сильное влияние на скорость преобразования масла в биодизель при температуре реакции 35°C [14]. Этот подход в производстве биодизеля с использованием сверхкритического или докритического метанола используется во время трансэтерификации рапсового масла с участием металлооксидных катализаторов - SrO , CaO , ZnO , TiO_2 и ZrO_2 . Отмечалось, что для ZnO был наиболее эффективный катализ в сочетании с наивысшей каталитической активностью и минимальным растворением, тогда как SrO и CaO демонстрируют высокие степени растворения ввиду преобразования соответствующих оксидов в метоксиды, а именно, метоксид стронция и метоксид кальция [51]. Точно так же наблюдается растворение оксида кальция в продуктах, когда соевое масло трансэтерифицируют с обратно стекшим метанолом. При использовании $\text{KOH}/\text{Al}_2\text{O}_3$ и KOH/NaY в качестве катализаторов выщелачивается калий [51]. Трансэтерификация льняного масла включает сверхкритические жидкости, то есть метанол и этанол [7]. Алкоксиды и гидроксиды щелочных металлов, например, метоксид натрия и метоксид калия/гидроксиды натрия и калия, являются лучшими основными катализаторами, чем кислотные катализаторы [35–37, 46].

Биокатализ

Из-за различных недостатков химической трансэтерификации у ферментативной трансэтерификации появилась цель. Это наиболее распространенный катализ, включающий использование иммобилизованной липазы для процесса трансэтерификации. Иммобилизация обеспечивает простое разделение биодизеля, минимальную очистку сточных вод после производства биодизеля, простое извлечение глицерина, которое является основным побочным продуктом, получаемым при трансэтерификации, и отсутствие нежелательных побочных реакций при использовании чистой иммобилизованной липазы [52, 53]. Непищевое масло из *Jatropha carcus* периодически подвергается метанолизу без растворителей в проточных биореакторах, заполненных липазой *Burkholderia seracida*, которая иммобилизована в монолитах гидрофобного диоксида кремния, замещенных *n*-бутилом, полученных золь-гель методом. Данный способ делает реакционную смесь гомогенной, а очень высокий выход биодизеля достигается при оптимальном молярном соотношении метанол:масло, равном 3,3:3,5. Эта технология обеспечивает непрерывное производство биодизеля с использованием биореакторов с фильтрующим наполнителем. Аналогично этому, также используется иммобилизованная липаза *Candida antarctica* В. Для иммобилизации используются иммобилизованные подложки: полипропилен диатомовой земли, мезопористый диоксид кремния, каолинит и композит кремнезем-поливиниловый спирт [53]. Также используется липаза, иммобилизованная на монолитной подложке на полимерной основе, как в органических растворителях, так и в их двухфазных смесях с водой [54]. Чтобы преодолеть недостатки общепринятых, химически катализируемых процессов было предложено ферментативное производство биодизеля. Проблема с использованием трансэтерификации, опосредованной липазой, заключается в высокой стоимости серийно производимого фермента. Таким образом, с экономической точки зрения, повторное использование липазы имеет важное значение. И поэтому этот фермент иммобилизован на инертной подложке для обеспечения возможности его повторного использования вместе с повышенной стабильностью и активностью фермента. Для этой цели иммобилизовали липазу, полученную из *Candida rugosa* DSM 70761 и *Yarrowia lipolytica* ATCC 8661. Кроме того, адсорбция липазы на целите повышает активность липазы *Candida rugosa* DSM 70761, больше, чем *Yarrowia lipolytica* ATCC 8661 [55]. Полуорганические жидкости, полностью состоящие из ионов в жидкости при температуре ниже 100°C, именуются ионными жидкостями. Они

обеспечивают высокую скорость реакции и высокие выходы в процессах трансэтерификации на основе ферментов. Эти эвтектические растворители обладают такими физико-химическими свойствами, как недостаточная вязкость, высокая способность к биоразложению и совместимость с NovozymR 435, коммерческой иммобилизованной липазой *Candida antarctica* [56].

Бескатализаторная трансэтерификация

Этот метод является модифицированной формой реакции трансэтерификации. В этой методике трансэтерификация, опосредованная сверхкритическим метанолом, включает трансэтерификацию без применения катализатора, так что очистка и отделение катализаторов от продукта достигается быстро. Данный метод также требует меньше времени, чем использование щелочи в катализе, несмотря на то, что здесь требуется условие резкой реакции [51]. Хлопковое масло используется для производства биодизеля с использованием некаталитических сверхкритических жидкостей [7]. Щелочной катализ используют такие компании, как «Pacific Biodiesel», «Lurgi» и «Desmet Ballestra». «Pacific Biodiesel» предлагает решение с низким выходом за счет свободных жирных кислот. Они использовали сырье с примерно 15%-ным содержанием свободных жирных кислот, без влияния на выход биодизеля, полученного этим способом [57, 58]. Помимо широко применяемого щелочного катализа, компания «Axens Technologies» запустила в серийное производство процесс на основе гетерогенного катализа, разработанного Французским институтом нефти (IFP). Согласно «Axens Esterip-H», смешанный оксид цинка и алюминия (алюминат цинка), действует как гетерогенный катализатор трансэтерификации, так что получается высококачественный биодизель, и глицерин легко отделяется от МЭЖК. При этом, в этом процессе можно использовать оливковое масло или переработанные овощные культуры [59, 60]. Преимущества и недостатки различных типов катализа, участвующих в трансэтерификации, описаны в таблице 10.1.

10.3.1.2 Факторы, влияющие на производство биодизеля при трансэтерификации

Факторами, влияющими на скорость трансэтерификации, являются условия реакции, молярное соотношение спирта (метанола/этанола) к маслу, используемый катализатор, физические параметры, такие как температура и давление, содержание свободных жирных кислот и количество воды, присутствующей в сырье. При производстве биодизеля спирты, то есть метанол и, в меньшей степени, этанол, действуют в качестве акцепторов ацила. Другие спирты, такие как пропанол, бутанол, изопропанол, трет-бутанол, разветвленные спирты и октанол, также могут быть использованы, но они не являются предпочтительными из-за их высокой стоимости.

Таблица 10.1 Преимущества и недостатки различных типов катализа.

Тип катализа	Преимущества	Недостатки	Ссылки
Гомогенный кислотный катализ и основной катализ	Трансэтерификация в течение нескольких часов	Трудность удаления катализатора из продукта во время очистки	[51]
Гетерогенный катализ	Обеспечивает рециркуляцию и, следовательно, повторное использование катализатора, более низкую стоимость, чем гомогенный катализатор	Выщелачивание из щелочных катионов из МЭЖК (FAME)	[24]
Сверхкритические / докритические жидкости с оксидами	Подходят для производства биодизеля из отработанного коксового масла	Растворение катализатора	[51]
Биокатализ	Повторное использование катализатора	Затратно	[52]
Бескатализаторная трансэтерификация	Быстрая очистка и разделение	Требует условий резкой реакции	[51, 7, 61]

Выбор использования метанола вместо этанола заключается в том, что МЭЖК, получаемые с помощью метанола, являются более летучими, более вязкими, имеют более низкую температуру помутнения и температуру застывания [62, 63, 64]. Каранджинское масло также используется для производства биодизеля путем трансэтерификации при помощи основного катализатора, т.е. КОН (0,25-1,5%), и с молярным соотношением MeOH - масло, равным 6: 1 [64]. *Boettcherisca peregrine larva*, способную расти на твердых органических отходах, можно использовать для производства биодизеля с помощью двухстадийного процесса трансэтерификации с использованием молярного соотношения метанол-масло 12:1 с участием H_2SO_4 (1,5% мас./мас.) в качестве кислотного катализатора. На следующей стадии триглицериды преобразуются в сложные эфиры путем щелочной трансэтерификации [13]. Обработанное масло семян *Jatropha curcas* с высоким содержанием свободных жирных кислот можно уменьшить путем обработки масла с соотношением метанола к маслу (0,60 мас./мас.) в присутствии кислотного катализа H_2SO_4 (1% мас./мас.) [12]. Редька посевная *Raphanus sativus*, являющееся многолетним растением семейства Brassicaceae, используется для производства биодизеля с использованием молярного соотношения этанола к маслу 6:1. При этом, этанол используется в качестве частиц алкоголиза при трансэтерификации [65]. Эти эвтектические растворители проявляют такие физико-химические свойства, как низкая вязкость, высокая биоразлагаемость и совместимость с NovozymR 435, коммерческой иммобилизованной липазы *Candida antarctica*, когда трансэтерификация проводится с молярным соотношением холинацетат/глицерин 1: 1,5 [56].

Масла трансэтерифицируются так, что их вязкость снижается, когда триглицериды масел превращаются в сложные эфиры [64], однако процесс трансэтерификации не наблюдается, если содержание свободных жирных кислот в масле составляет более 3% [48, 66]. Хотя биодизель обладает большей смазывающей способностью в связи с присутствием свободных жирных кислот, моноглицериды и диглицериды сохраняют проблему окисления и коррозии дизельного двигателя [14, 67, 68, 69]. Однако эту проблему можно решить путем смешивания 2% дизельного топлива [68]. Кроме того, смешивание метанола улучшает его вязкость, тогда как добавление этанола в смеси снижает расход топлива. Известно, что биодизель снижает выбросы несгоревших углеводородов, окиси углерода и твердых частиц. А выбросы NO_x , влияющие на дизельный двигатель, напротив, увеличиваются. Это может быть устранено путем модификации дизельных двигателей, то есть замедления времени впрыска топлива и увеличения рециркуляции выхлопных газов [69, 70].

Преимущества биодизеля как предпочтительного источника для топлива заключаются в его более высоком коэффициенте полноты сгорания, большей температуре воспламенения, меньшем содержании серы и количестве ароматических соединений и более высоком цетановом числе, чем у дизельного топлива [71, 72]. Цетановое число, которое является мерой самовоспламенения топлива при впрыске в двигатель, используется для определения качества воспламенения дизельного топлива. Цетановое число и воспламеняемость биодизеля зависят от компонента МЭЖК. Поскольку известно, что биодизельное топливо является более вязким, чем дизельное топливо, это приводит к ухудшению распыления струи горючего в системе впрыска топлива [73, 74]. Пальмовое масло появилось в качестве потенциального источника для производства биодизеля при низкой температуре 30°C. Поскольку существуют проблемы с массопереносом при 30 ° C из-за вязкости масла, тем не менее, оптимизация загрузки фермента, скорости перемешивания, времени реакции и молярного отношения метанола к масляному субстрату 6,5:1 может дать максимум 89,29% выхода МЭЖК. Т-бутанол, метанол и гидрофобное масло образуют гомогенную реакционную смесь, которая снижает сопротивление межфазной массопередачи и увеличивает вязкость смеси, в то время как наблюдаемое внешнее сопротивление массопередаче может быть уменьшено путем увеличения скорости перемешивания в реакторе периодического действия [63]. Биодизель имеет более высокую теплотворную способность (HHV) - 39–41 МДж/кг, что меньше, чем более высокие значения нагрева нефтяного дизельного топлива - 43 МДж/кг [49]. Цетановое число биодизеля варьируется в зависимости от сырья, используемого для производства биодизеля. Например, цетановое число виноградного биодизеля составляет 48, а у пальмового биодизеля - 61 [75].

Было описано, что содержание воды влияет на процесс трансэтерификации и выход биодизеля

[76]. Предполагается, что, чем выше цетановое число биодизеля, тем легче воспламеняется топливо. Это приводит к увеличению выбросов NOx в биодизеле, так как биодизель является топливом, имеющим более высокое содержание кислорода, чем дизельное топливо, но приводящий к меньшей калорийности биодизеля, чем дизельное топливо. Это связано с потерями мощности и большим расходом топлива, что увеличивает содержание воды и углекислого газа [77–79]. Смешивание биодизеля из соевого масла можно выполнять с короткоцепными метиловыми эфирами с содержанием жирных кислот - каприловой (C8:0) и капрической (C10: 0). Присутствие этих короткоцепочечных метиловых эфиров снижает свойства холодного потока и выбросы NOx. Кроме того, йодное число увеличивается за счет превращения линолевой кислоты (C18:2) и линоленовой (C18:3) кислоты в олеиновую кислоту (C18:1) [80]. Биодизель используется в качестве смеси B20, содержащей 20% биодизеля и 80% дизельного топлива, полученного из нефти, а не B100, имеющего 100% биодизеля. Другие B30, B5 и смазочные присадки B2. Среди них смесь B5 не требует модификации в обычных дизельных двигателях [80].

Наличие металлических частиц, таких как железо, медь, а также присутствие воды/влаги в биодизеле приводит к коррозии дизельных двигателей. Это обусловлено тем, что при автоокислении биодизеля образуются муравьиная кислота, уксусная кислота, пропионовая кислота и капроновая кислота, которые ответственны за усиление коррозии и ухудшение свойств топлива, а также за изменение свойств топлива, таких как плотность и вязкость биодизеля [81–84]. Биодизель из *Jatropha curcas* и *Salvadora* содержит черные и цветные металлы, которые также разъедают биодизельные двигатели [68, 83, 85, 86].

10.3.2 Микрокапсулированная эмульсия

Сообщалось, что микрокапсулированная эмульсия метанола с растительными жирами может использоваться в качестве биодизеля [87], однако микроэмульсии дают биодизель низкого качества [88–90]. Недостаток, связанный с этим, заключается в том, что присутствующие в нем частицы углерода обеспечивают неравномерное залипание иглы инжектора [88].

10.3.3 Термический крекинг (пиролиз)

Пиролиз - это термический крекинг любого органического вещества при отсутствии кислорода. Для производства биодизеля пиролиз осуществляется термическим разложением триглицеридов, присутствующих в растительном масле, животном жире и природных жирных кислотах, которые можно использовать для производства биодизеля [91, 92]. Пиролиз также выдает низкокачественную биодизельную микроэмульсию [88–90]. Биодизельное топливо, полученное этим способом, имеет высокоцетановое число, а в его выхлопах присутствует приемлемое количество серы. При этом обычные дизельные двигатели могут разъедаться водой, осадками и металлическими примесями биодизеля с влиянием на температуру помутнения топлива [88].

10.3.4 Стратегии производства биодизеля из микроводорослей

Производство биодизельного топлива на основе микроводорослей предлагает готовое решение проблемы усвоения CO₂ во время массового культивирования микроводорослей в водоемах и фотобиореакторах с высокой скоростью роста [93]. Выростные пруды представляют собой открытые системы, тогда как фотобиореакторы являются закрытыми системами [23], тем не менее, микроводоросли должны быть сконструированы для метаболического получения молекул с высоким содержанием энергии [94]. Такие штаммы *Chlorella*, как *Chlorella protothecoides*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella emersonii* и *Chlorella sorokiniana*, могут хорошо расти в пресной воде [11]. Повышенная продуктивность биодизеля, полученного из *Chlorella vulgaris*, возможна только тогда, когда возможна продуктивность биомассы, а также увеличенное количество запасных липидов. В связи с этим, использование хелатно координированного FeCl₃ в растительной среде в поздней фазе роста увеличивает конечную плотность клеток, но не вызывает какой-либо индукции накопления липидов в клетках водорослей [11]. *Isochrysis zhangjiangensis*, который растет в сточных водах, показывает 53% липидов при высокой концентрации нитратов (9 г/л) после 24 часов культивирования [25]. Оптимизация условий реакции для более высокой продуктивности липидов, более высокой скорости роста и содержания масла показывает 50% накопления липидов вместе с высокой выработкой

биомассы (124 мг/л) в микроводорослях в условиях культуры, лишенной азота. Профилем жирных кислот являются метилпальмитат (C16:0), метилолеат (C18:1), метиллинолеат (C18:2) и метиллиноленат (C18:3) [25]. Лучше всего, микроводоросли *Nannochloropsis* spp. могут расти в комбинированных условиях 13 г/л NaCl и интенсивности света 700 мкмоль фотонов/м² для получения максимальной биомассы (47% собст.веса) и средней продуктивности липидов 360 мг общей жирной кислоты/день. Следовательно, эти виды микроводорослей являются еще одним потенциальным источником для производства биодизеля [25]. *Chlorella pyrenoidosa* - это вид микроводорослей, которые могут хорошо расти на гидролизате рисовой соломы и могут быть лигноцеллюлозным источником для роста микроводорослей, в целях получения максимальной концентрации биомассы 2,83 г/л после 48 часов роста с высоким содержанием липидов 56,3 %. Далее, после оптимизации условий реакции с 6 мл н-гексана и 4 мл метанола с 0,5М серной кислотой при 90°C после 2 часов реакции были получены 99% сложного метилового эфира и 95,5% выхода биодизельного топлива. Другой средой, подходящей для производства биомассы микроводорослей, была одностадийная культура *Chlorella vulgaris* ESP-31 в базальной среде с низким содержанием азота в среде (0,313 г/л KNO₃) для достижения максимальной продуктивности липидов 78 мг/л/сут. Кроме того, продуктивность липидов была повышена за счет роста водорослей в трубчатом фотобиореакторе с образованием 6,36 г CO₂ в течение 10 дней культивирования со скоростью фиксации CO₂ 430 мг/л/сут при насыщении 65% жирных кислот в виде пальмитиновой кислоты (C16:0), стеариновой кислоты (C18:0) и моновенасыщенных жирных кислот в виде олеиновой кислоты (C18:1). Четыре вида зеленых микроводорослей *Botryococcus* spp. TRG, *Botryococcus* spp. KB, *Botryococcus* spp. SK и *Botryococcus* spp. PSU были выделены из пресноводных озер южного Таиланда и обладают высоким содержанием липидов 35,9%, 30,2%, 28,4% и 14,7%, соответственно, при культивировании с приемлемой интенсивностью света и высокой концентрацией железа (0,74 ммоль). Еще одна пресноводная микроводоросль *Scenedesmus* sp. LX1 способна накапливать 30-50% липидов в истощенных азотом или фосфором условиях 2,5 мг/л или 0,1 мг/л, соответственно. С другой стороны, у этого вида высокая продуктивность по биомассе и липидам - 0,47 г/л и 139 мг/л, соответственно, при содержании липидов 30% на биомассу. Содержание триглицеридов на липид (~ 20% мас./мас.) и продуктивность триглицеридов (~ 23 мг/л) увеличивались на 79% и 40%, соответственно, когда в культуру вводили этил-2-метилацетоацетат. Можно предположить, что использование рисовой соломы и KNO₃ или высокой концентрации железа (0,74 ммоль) наряду с подачей культуры этил-2-метилацетоацетата вместе со сбалансированной интенсивностью света является полезным для получения высокой биомассы из микроводоросли вместе с высоким содержанием липидов [24, 25, 28, 29].

Использование жидкого газа полученного из угольных электростанций (для снижения себестоимости) и прямой трансэтерификации (использование SrO в качестве катализатора) с использованием микроволнового и ультразвукового излучений (для сбора биомассы с помощью самого простого и эффективного процесса) являются стратегией производства биодизеля из *Nannochloropsis* spp. [30]. Микроводоросли *Scenedesmus obliquus* SJTU-3 и *Chlorella pyrenoidosa* SJTU-2 демонстрируют лучший рост при 10%-ной концентрации CO₂, где скорость биофиксации CO₂ составляет 84 г/л и 0,288 г/л/сут для *S. obliquus* SJTU-3 и 1,55 г/л и 0,260 г/л/сут для *C. pyrenoidosa* SJTU-2. Более 94% жирных кислот составляют, главным образом, C16-C18. При этом профиль жирных кислот благоприятен для производства биодизеля. Гораздо более высокий уровень CO₂ способствует накоплению липидов и полиненасыщенных жирных кислот в организме. Следовательно, эти два вида микроводорослей способствуют смягчению биологического воздействия в производстве биодизеля [25, 31]. Микроводоросли *Nannochloropsis* spp. могут производить биодизель в промышленных масштабах [95]. Смешанное культивирование микроводорослей, полученных из различных бытовых сточных вод, при использовании их для производства биодизеля посредством реакций трансэтерификации, катализируемых кислотой, демонстрирует большое накопление липидов с высокой долей пальмитиновой кислоты (C16:0), наряду с 33 различными типами насыщенных и ненасыщенных жирных кислот [96]. *Chlorella vulgaris*, *Neochloris oleoabundans* и диатомовый штамм морской воды *Cylindrotheca closterium* могут расти в фотобиореакторах в условиях истощенной азотной культуры, принимая во внимание приемлемую интенсивность света и потребность среды в нитратах, фосфатах и сульфатах. В фотобиореакторе демонстрируется самое высокое липидное содержание, благоприятное для производства биодизеля микроводорослями *Neochloris oleoabundans*, составляющее 25–37% собст.веса. С другой стороны, наибольшее содержание триглицеридов было отмечено у *Chlorella vulgaris*, 11% -14% собст.веса [32].

Использование сверхкритического диоксида углерода (SCCO₂) и гексана для извлечения липидов из морских микроводорослей *Chlorococcum* spp. в лабораторных масштабах производства биодизеля демонстрирует низкий выход липидов, но профиль жирных кислот микроводорослей подходит для производства биодизеля. Профиль жирных кислот этой микроводоросли составляет C18:1 (~63%), C16:0 (~19%), C18:2 (~4%), C16:1 (~4%) и C18:0 (~3 %). С другой стороны, снижение температуры и повышение давления приводят к увеличению выхода липидов. При том, использование изопропилового спирта в качестве соразтворителя увеличивает выход липидов, когда гексан используется в качестве сверхкритической жидкости для экстракции. Также установлено, что коэффициент массопередачи для экстракции липидов увеличивается с ростом диэлектрической проницаемости жидкости и плотности жидкости [33].

10.3.5 Производство биодизеля гетеротрофным культивированием

Биодизельное топливо высокого качества может быть получено путем гетеротрофного культивирования *C. protothecoides*, *Nitzschia communis*, *Botryococcus braunii*, *Dunaliella* и диатомовых водорослей *Chaetoceros muelleri* примерно на 50–60% накопления липидов в их биомассе. Это липидное содержание видов водорослей может быть дополнительно увеличено дефицитом кремния, ограничением фосфатов, высокой минерализацией и некоторым напряжением тяжелых металлов, таких как кадмий. Было отмечено, что соиммобилизация *Azospirillum brasilense* на альгинатных гранулах приводит к значительному увеличению содержания в нем липидов [11].

Другим способом получения высококачественного биодизеля путем гетеротрофного культивирования микроводорослей и прототекоидов *Chlorella protothecoids* является использование гидролизата кукурузного порошка вместо глюкозы в качестве источника углерода. Экстракция водорослевого масла из гетеротрофных культивируемых клеток может быть достигнута путем экстракции масла *n*-гексаном в качестве растворителя и последующей кислотной трансэтерификации экстрагированного масла гетеролитическим катализом [96, 97].

10.4 Определение выхода продукта, оптимизация процесса и стандартизация биодизеля

Оптимальные условия для максимального производства биодизеля зависят от типа исходного сырья, то есть используемого растительного масла или животного жира. Методология поверхности отклика используется для определения выхода, а также оптимальных рабочих условий для реакций трансэтерификации, в целях получения самых высоких выходов биодизеля. При помощи этого метода трансэтерификация с использованием КОН и желаемой концентрации метанола осуществляется с использованием различных растительных масел, охватывающих большое разнообразие состава жирных кислот и йода, таких как подсолнечное масло, кукурузное масло, жмыховое оливковое масло, льняное масло и пальмовое масло [98]. Аналогично этому, методология поверхности отклика используется для оптимизации условий трансэтерификации этанолизом сырой нефти *R. sativus* для производства биодизеля при умеренных температурах [65].

Существует два международных стандарта стандартизации биодизеля, а именно, американский стандарт ASTM D6751 и европейский стандарт EN14214. Хотя параметры для обоих из них крайне схожи, разница заключается в их вероятном применении и методах испытаний, используемых для них, в соответствии с данными Европейского комитета по стандартизации (CEN) и Американского общества по испытаниям и материалам, соответственно. Стандарт EN 14214 используется для определения методов испытаний биодизеля для работающих дизельных двигателей. Этот стандарт дополнительно подтвержден Европейским стандартом автомобильного дизельного топлива EN-590, тогда как американский стандарт ASTM D6751 США устанавливает стандарты биодизеля B100 для смешивания биодизеля с дизельным топливом [99].

Стоимость производства биодизеля включает стоимость сырья, очистки, эксплуатации и производства [100]. Тем не менее, стоимость производства биодизеля составляет около 75% от общей стоимости производства [3]. Длительное использование биодизеля из пищевых источников, таких как те, которые производятся из растений, привело к противоречию «питание или топливо» [48]. Использование микроводорослей дает преимущества по сравнению с использованием растительных источников из-за легкости роста в биореакторах, коротких жизненных циклов, демонстрации быстрых темпов роста, нулевого влияния на пространство, легкости масштабирования и того факта,

что оно не способствует изменению климата [21]. Грибок *Pseudallescheria boydii* был выделен из осадка сточных вод и из клинических источников. Он способен хорошо расти на биодизельном агаре, но производство биодизеля для таких источников может привести к загрязнению окружающей среды такими патогенными микроорганизмами [101].

В дизельных автомобилях используется смесь биодизель-дизель до 5% объема. Кроме того, в Германии конверсия обычного дизельного двигателя для использования чистого биодизеля и эффективного использования стоит 1500 евро на автомобиль. Следовательно, вопрос о том, могут ли автомобили, работающие на биодизеле, работать на обычных дизельных двигателях без какой-либо модификации дизельного двигателя, является еще одной проблемой с точки зрения коммерциализации [12]. Однако, вместо этого, было отмечено, что объемная удельная емкость, изотермическая сжимаемость и коэффициенты объемного расширения рафинированного подсолнечного метилового эфирного масла и нерафинированного подсолнечного метилового эфирного масла, по сравнению с дизельным маслом, не показывают большой разницы. К тому же, растительные масла, полученные из масличных культур *Lesquerella* spp. представляют собой уникальный профиль жирных кислот, имеющий высокий уровень жирной оксикислоты - рицинолевой кислоты, способствующей повышению смазывающей способности получаемого биодизеля, поэтому он является решением проблемы износа системы впрыска в дизельном двигателе из-за пониженной смазывающей способности дизельного топлива по причине малого содержания серы [102, 103]. Тем не менее, существует необходимость в дальнейших исследованиях, чтобы найти точную причину, а не вероятную причину износа и старения биодизеля в дизельном двигателе [97]. Установлено, что биодизельное топливо, получаемое в результате культивирования пальмового масла, выращенного на высушенном торфяном болоте, увеличивает количество парниковых газов в атмосфере [104]. Микроводоросли *Nannochloropsis* spp. могут производить биодизель в промышленных масштабах, если, по оценкам, он будет полностью соответствовать промышленным масштабам, установленным для производства биодизеля, вместе с выбросами парниковых газов [95]. Заводы по переработке биодизельного топлива свидетельствуют, что метанол является наиболее сложным загрязнителем в производственных зонах. Совершенно аналогично, перерабатывающая индустрия пальмового масла в Малайзии потребляет более 13 миллионов тонн необработанного пальмового масла в год для производства биодизеля. Сброс отходов производства биодизеля и потери от утечки биодизеля вблизи мест выработки биодизеля увеличивают биологическую потребность в кислороде и химическую потребность в кислороде в этих районах. Тем не менее, пальмовое масло может также служить источником для производства возобновляемых биоэнергий, таких как биоэтанол и биоводород [105, 106].

10.5 Заключение

Производство биодизеля из надежного исходного сырья все еще остается проблемным моментом. По-видимому, допустимым решением для коммерческого и экономически эффективного производства биодизеля во всем мире является производство биодизеля на основе микроводорослей в морской воде в соответствии с легкой доступностью и подходящими условиями для роста путем автотрофного или гетеротрофного культивирования. Другие источники, такие как растительное масло, грибы и бактерии, которые используются для производства биодизеля, имеют много недостатков. Тем не менее, необходимо поддерживать производство биодизеля из сточных вод. Кроме того, мы должны изучить возможные решения проблемы износа традиционного дизельного двигателя при использовании биодизеля в качестве основного топлива. Необходимо включить надлежащие модификации дизельных двигателей, чтобы предотвратить их износ. См. раздел 10.4, где объясняется необходимость такой модификации.

Использованная литература

- Y. Chisti, *Biotechnology Advances*, Vol. 25, p. 294–306, 2006.
- A. Singh, P.S. Nigam, and J.D. Murphy, *Bioresource Technology*, Vol. 102, p. 10–16, 2011.
- G.,Katre, C. Joshi, M. Khot, S. Zinjarde, and A.R. Kumar, *AMB Express*, Vol. 2, p. 36, 2012.
- Y. Duan, Z. Zhu, K. Cai, X. Tan, and X. Lu, *PLoS ONE*, Vol. 6, p. e20265, 2011.
- M. Hajek, F. Skopal, J. Kwiecien, and M. Cernoch, *Talanta*, Vol. 82, p. 283–285, 2010.
- C.C. Akoh, S.W. Chang, G.C. Lee, and J.F. Shaw, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, Vol. 55, p. 8995–9005, 2007.
- A. Demirbas, *Bioresource Technology*, Vol. 99, p. 1125–1130, 2008.
- A. Demirbas, *Energy Conversion and Management*, Vol. 44, p. 2093–2109, 2003.
- D.O. Edem, *Plant Foods for Human Nutrition*, Vol. 57, p. 319–341, 2002.
- H. Raheman, and A.G. Phadatare, *Biomass and Bioenergy*, Vol. 27, p. 393–397, 2004.
- Z.Y. Liu, G.C. Wang, and B.C. Zhou, *Bioresource Technology*, Vol. 99, p. 4717–4722, 2008.
- H.J. Berchmans, and S. Hirata, *Bioresource Technology*, Vol. 99, p. 1716–1721, 2008.
- S. Yang, Q. Li, Q. Zeng, J. Zhang, Z. Yu, et al. *PLoS ONE*, Vol. 7, p. e45940, 2012.
- S. Jain, and M.P. Sharma, *Bioresource Technology*, Vol. 101, p. 7701–7706, 2010.
- M. Balat, *Energy Conversion and Management*, Vol. 52, p. 1479–1492, 2011.
- D. Agarwal, and A.K. Agarwal, *Applied Thermal Engineering*, Vol. 27, p. 2314–2323, 2007.
- M. Debnath, and H.N. Verma, *Africal Journal of Biotechnology*, Vol. 7, p. 613–616, 2008.
- A. Yousuf, F. Sannino, V. Addorisio, and D. Pirozzi, *Journal of Agricultural and Food chemistry*, Vol. 58, p. 8630–8635, 2010.
- D. Antoni, V.V. Zverlov, and W.H. Schwarz, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 77, p. 23–35, 2007.
- M. Enshaeieh, A. Abdoli, I. Nahir, and M. Madani, *Journal of Biology and today's world*, Vol. 1, p. 82–92, 2012.
- M. Khot, S. Kamat, S. Zinjarde, A. Pant, B. Chopade, et al., *Microbial Cell Factories*, Vol. 11, p. 71, 2012.
- S. Shi, J.O. Valle-Rodríguez, S. Khoomrung, V. Siewers, and J. Nielsen, *Biotechnology for Biofuels*, Vol. 5, p. 7, 2012.
- J. Liu, J. Huang, Z. Sun, Y. Zhong, Y. Jiang, et al., *Bioresource Technology*, Vol. 102, p. 106–110, 2011.
- Z. Wen, X. Yu, S.T. Tu, J. Yan, and E. Dahlquist, *Bioresource Technology*, Vol. 101, p. 9570–9576, 2010.
- D. Tang, W. Han, P. Li, X. Miao, and J. Zhong, *Bioresource Technology*, Vol. 102, p. 3071–3076, 2011.
- K.L. Yeh, and J.S. Chang, *Biotechnology Journal*, Vol. 6, p. 1358–1366, 2011.
- P. Li, X. Miao, R. Li, and J. Zhong, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, Vol. 2011, p. 141207, 2011.
- C. Yeesang, and B. Cheirsilp, *Bioresource Technology*, Vol. 102, p. 3034–3040, 2011.
- L. Xin, H. Hong-Ying, Y. Jia, and W. Yin-Hu, *Bioresource Technology*, Vol. 101, p. 9819–9821, 2010.
- M. Koberg, M. Cohen, A. Ben-Amotz, and A. Gedanken, *Bioresource Technology*, Vol. 102, p. 4265–4269, 2011.
- P.J McGinn, K.E. Dickinson, S. Bhatti, J.C. Frigon, S.R. Guiot, et al., *Photosyntheis Research*, Vol. 109, p. 231–247, 2011.
- J. Pruvost, G. Van Vooren, B. Le Gouic, A. Couzinet-Mossion, and J. Legrand, *Bioresource Technology*, Vol. 102, p. 150–158, 2011.
- R. Halim, B. Gladman, M.K. Danquah, and P.A. Webley, *Bioresource Technology*, Vol. 102, p. 178–185, 2011.
- Smith, D.R. Lee, R.W., Cushman, J.C., Magnuson, J.K., Tran, D., et al., *BMC Plant Biology*, Vol. 10, p. 83, 2010.
- F. Ma, and M.A. Hanna, *Bioresource Technology*, Vol. 70, p. 1–15, 1999.
- A. Duran, M. Lapuerta, and J. Rodriuez-Fernandez, *Fuel*, Vol. 84, p. 2080–2085, 2005.
- K. Maeda, H. Kuramochi, T. Fujimoto, Y. Asakuma, K. Fukui, et al., *Journal of Chemical Engineering Data*, Vol. 53, p. 973–977, 2008.
- A.W. Schwab, M.O. Bagby, and B. Freedman, *Fuel*, Vol. 66, p. 1372–1378, 1987.
- F. Ferella, G. MazziottiDiCelso, I. DeMichelis, V. Stanisci, and F. Vegli, *Fuel*, Vol. 89, p. 36–42, 2010.
- G. Vicente, M. Martinez, and J. Aracil, *Bioresource Technology*, Vol. 92, p. 297–305, 2004.
- C. Stavarache, M. Vinatoru, R. Nishimura, and Y. Maeda, *Ultrasonics Sonochemistry*, Vol. 12, p. 367–372, 2005.
- S.V. Ghadge, and H. Raheman, *Biomass Bioenergy*, Vol. 28, p. 601–605, 2005.

- H. Raheman, and S.V. Ghadge, *Fuel*, Vol. 86, p. 2568–2573, 2007.
- W. Zhou, and D.G. Boocock, *Journal of the American Oil Chemists Society*, Vol. 83, p. 1041–1045, 2006.
- A.P.S. Chouhan, and A.K. Sarma, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 15, p. 4378–4399, 2011.
- A.S. Ramadhas, S. Jayaraj, and K.L.N. Rao, Experimental investigation on non-edible vegetable oil operation in diesel engine for improved performance. In: National conference on advances in mechanical engineering, J.N.T.U., Anantapur, India, 2002.
- A.H. West, D. Posarac, and N. Ellis, *Journal of Bioresource Technology*, Vol. 99, p. 6587–6601, 2008.
- J.M. Marchetti, V.U. Miguel, and A.F. Errazu, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 11, p. 1300–1311, 2005.
- N.N.A.N. Yusuf, S.K. Kamarudin, and Z. Yaakub, *Energy Conversion and Management*, Vol. 52, p. 2741–2751, 2011.
- F.L. Pua, Z. Fang, S. Zakaria, F. Guo, and C.H. Chia, *Biotechnology for Biofuels*, Vol. 4, p. 56, 2011.
- S.J. Yoo, H.S. Lee, B. Veriansyah, J. Kim, J.D. Kim, *et al.*, *Bioresource Technology*, Vol. 101, p. 8686–8689, 2010.
- A. Karmakar, S. Karmakar, and S. Mukherjee, *Bioresource Technology*, Vol. 101, p. 7201–7210, 2010.
- K. Kawakami, Y. Oda, and R. Takashashi, *Biotechnology for Biofuels*, Vol. 4, p. 42, 2011.
- J. Urban, F. Svec, and J.M. Fréchet, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 109, p. 371–380, 2012.
- L. Tcacenco, A.A. Chirvase, C. Ungureanu, and E. Berteau, *Romanian Biotechnological Letters*, Vol. 15, p. 5631–5639, 2010.
- H. Zhao, G.A. Bakerb, and S. Holmesa, *Organic and Biomolecular Chemistry*, Vol. 9, p. 1908–1916, 2011.
- Pacific biodiesel, <http://www.biodiesel.com/index.php/technologies/biodieselprocess> technology, 2013.
- B. Freedman, E.H. Pryde, and T.L. Mounts, *Journal of the American Oil Chemists Society*, Vol. 61, p. 1638–1643, 1984.
- M. DiSerio, M. Cozzolino, M. Giordano, R. Tesser, P. Patrono, *et al.*, *Industrial and Engineering Chemistry Research*, Vol. 46, p. 6379–6384, 2007.
- J.A. Melero, J. Iglesias, and G. Morales, *Green Chemistry*, Vol. 11, p. 1285–1308, 2009.
- A. Demirbas, *Bioresource Technology*, Vol. 99, p. 1125–1130, 2008.
- K. Bozbas, *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, Vol. 12, p. 542–552, 2008.
- J.H. Sim, A.H. Kamaruddin, and S. Bhatia, *Bioresource Technology*, Vol. 101, p. 8948–8954, 2010.
- L.C. Meher, V.S.S. Dharmagadda, and S.N. Naik, *Bioresource Technology*, Vol. 97, p. 1392–1397, 2006.
- A.K. Domingos, E.B. Saad, H.M. Wilhelm, and L.P. Ramos, *Bioresource Technology*, Vol. 99, p. 1837–1845, 2008.
- A.A. Refaat, N.K. Attia, H.A. Sibak, S.T.E. Sheltawy, and G.I.E. Diwani, *International Journal of Environmental Science and Technology*, Vol. 5, p. 75–82, 2008.
- M. Sgroi, G. Bollito, G. Saracco, and S. Specchia, *Journal of Power Sources*, Vol. 149, p. 8–14, 2005.
- T. Tsuchiya, H. Shiotani, S. Goto, G. Sugiyama, A. and Maeda, “Japanese standards for diesel fuel containing 5% FAME blended diesel fuels and its impact on corrosion”. *SAE Technical Paper No. 2006-01-3303*, 2006.
69. J. Hu, Z. Du, C. Li, and E. Min, *Fuel*, Vol. 84, p. 1601–1606, 2005.
- S.K. Hoekman, and C. Robbins, *Fuel Processing Technology*, Vol. 96, p. 237–249, 2012.
- A. Demirbas, *Energy Source Part B: Economics, Planning, and Policy*, Vol. 4, p. 310–314, 2009.
- M.F. Demirbas, and M. Balat, *Energy Conversion and Management*, Vol. 47, p. 2371–2381, 2006.
- A.I. Bamgboye, and A.C. Hansen, *International Agrophysics*, Vol. 22, p. 21–29, 2008.
- M. Balat, *Energy Source Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, Vol. 30, p. 1856–1869, 2008.
- M.J. Ramos, C.M. Fernandez, A. Casas, L. Rodriguez, and A. Perez, *Bioresource Technology*, Vol. 100, p. 261–268, 2009.
- I.M. Atadashi, M.K. Aroua, A.R. Abdul Aziz, and N.M.N. Sulaiman, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 16, p. 3456–3470, 2012.
- G.A. Ban-Weiss, J.Y. Chen, B.A. Buchholz, and R.W. Dibble, *Fuel Processing Technology*, Vol. 88, p. 659–667, 2007.
- D. Lance, C. Goodfellow, J. Williams, W. Bunting, I. Sakata, *et al.*, “The impact of diesel and biodiesel fuel composition on a euro V HSDI engine with advanced DPNR emissions control”. *SAE Technical Paper No. 2009-01-1903*, 2009.
- A. Tsolakis, A. Megaritis, M.L. Wyszynski, and K. Theinnoi, *Energy*, Vol. 32, p. 2072–2080, 2007.

- G. Knothe, C.A. Sharp, and T.W. Ryan, *Energy Fuels*, Vol. 20, p. 403–408, 2006.
- M.A. Jakab, S.R. Westbrook, and S.A. Hutzler, Testing for compatibility of steel with biodiesel. Southwest research institute Project No. 08.13070, 2008.
- L. Diaz-Ballote, J.F. Lopez-Sansores, L. Maldonado-Lopez, and L.F. Garfias- Mesias, *Electrochemistry Communications*, Vol. 11, p. 41–44, 2009.
- J. Kaminski, and K.J. Kurzydowski, *Journal of Corrosion Measurements*, Vol. 6, p. 1–5, 2008.
- M.N. Nabi, M.M. Rahman, and M.S. Akhter, *Applied Thermal Energy*, Vol. 29, p. 2265–2270, 2009.
- M.A. Fazal, A.S.M.A. Haseeb, and H.H. Masjuki, *Fuel Processing Technology*, Vol. 91, p. 1308–1315, 2010.
- A.S.M.A. Haseeb, H.H. Masjuki, L.J. Ann, and M.A. Fazal, *Fuel Processing Technology*, Vol. 91, p. 329–334, 2010.
- A. Srivasta, and R. Prasad, *Renew Sustain Energy Reviews*, Vol. 4, p. 111–133, 2000.
- H. Fukuda, A. Kondo, H. Noda, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Vol. 92, p. 405–416, 2001.
- Z. Helwani, M.R. Othman, N. Aziz, W.J.N. Fernando, and J. Kim, *Fuel Processing Technology*, Vol. 90, p. 1502–1514, 2009.
- H. Taher, S. Al-Zuhair, A.H. Al-Marzouqi, Y. Haik, and M.M.A. Farid, *Enzyme Research*, p. 1–25, 2011.
- K. Pramanik, *Renewable Energy*, Vol. 28, p. 239–248, 2003.
- M. Canakci, A.N. Ozsezen, E. Arcaklioglu, and A. Erdil, *International Journal of Vehicle Design*, Vol. 50, p. 213–228, 2009.
- B. Sialve, N. Bernet, and O. Bernard, *Biotechnology Advances*, Vol. 27, p. 409–416, 2009.
- D. Feng, Z. Chen, S. Xue, and W. Zhang, *Bioresource Technology*, Vol. 102, p. 6710–6716, 2011.
- L. Batan, J. Quinn, B. Willson, and T. Bradley, *Environmental Science & Technology*, Vol. 44, p. 7975–7980, 2010.
- B.J. Krohn, C.V. McNeff, B. Yan, and D. Nowlan, *Bioresource Technology*, Vol. 102, p. 94–100, 2011.
- H. Xu, X. Miao, and Q. Wu, *Biotechnology Advances*, Vol. 126, p. 499–507, 2006.
- S. Pinzi, F.J. Lopez-Gimenez, J.J. Ruiz, and M.P. Dorado, *Bioresource Technology*, Vol. 101, p. 9587–9593, 2010.
- I.M. Atadashi, M.K. Aroua, and A.A. Aziz, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 14, p. 1999–2008, 2010.
- Y. Zhang, M.A. Dube, D.D. McLean, and M. Kates, *Bioresource Technology*, Vol. 90, p. 229–240, 2003.
- K. Janda-Ulfi, K. Ulfi, J. Cano, and J. Guarro, *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, Vol. 15, p. 45–49, 2008.
- J.W. Goodrum, and D.P. Geller, *Bioresource Technology*, Vol. 96, p. 851–855, 2005.
- C. Aparicio, B.R. Guignon, I.M.R. Antoan, and P.D. Sanz, *Journal of Agricultural and Food chemistry*, Vol. 55, p. 7398–7394, 2007.
- P. Campbell, T. Beer, and D. Batten, *Bioresource Technology*, Vol. 102, p. 50–56, 2011.
- M.B. Leite, M.M. de Araújo, I.A. Nascimento, A.C. da Cruz, S.A. Pereira, et al., *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 30, p. 893–897, 2011.
- M.K. Lam, and K.T. *Biotechnology Advances*, Vol. 29, p. 124–141, 2011.

Производство биоводорода: текущие сценарии и перспективы на будущее

Сумита Шривастав¹, Праштант Антвал², Трибхувал Чандра² и Ашиш Таплиял^{2,*}

¹Факультет физики, Правительственный колледж постдипломного образования, Уттаркаши,
Уттаракханд

²Факультет биотехнологии, Graphic Era University, Дехрадун, Уттаракханд

Краткое изложение

Водород является важным энергоносителем, а при использовании в качестве топлива его можно рассматривать как альтернативу основным ископаемым топливам и их производным. Его главное преимущество заключается в том, что продуктом его сгорания с кислородом является вода, больше, чем CO и CO₂, которые являются парниковыми газами. В настоящее время 95% водорода производится из традиционных ископаемых источников, таких как уголь, нефть, природный газ и т. д. Существует много способов получения водорода из возобновляемых источников. Все эти способы вполне можно подразделить на две категории: под первую подпадает производство водорода с помощью биомассы, а все другие методы получения водорода из возобновляемых источников относятся к другой категории. Производство водорода из биомассы, в основном, включает в себя топливо, полученное из биомассы, путем риформинга, процессов газификации и производства биологического биомиметического водорода. В этой главе подробно рассматриваются различные методы производства водорода из биомассы. Также представлены последние достижения в производстве биоводорода из биомасла, синтез-газа, фотоферментации, темновой ферментации и с помощью интегрированных технологий. Суммировано общие сравнительные характеристики различных методов и их текущее состояние.

Ключевые слова: водород, риформинг, газификация, фотоферментация, темновая ферментация

11.1 Введение

Водород - это чистый, надежный, возобновляемый и дешевый нетрадиционный источник энергии. Он является важным энергоносителем и имеет практическое применение в промышленности, на автомобилях и в качестве жидкого топлива в ракетах. Водород может быть получен из воды, и после сгорания продукт также является водой. Следовательно, он абсолютно возобновляем в природе.

Как известно, водород можно использовать непосредственно во в двигателях внутреннего сгорания с небольшими доработками. Он также может использоваться в водородно-кислородных топливных элементах для прямой выработки электричества с единственным продуктом - «водой». КПД эффективность энергопользования может достигать 60%. С другой стороны, системы, работающие на ископаемом топливе, обычно эффективны на 34%. При использовании элементов высокотемпературного топлива стало возможным добывать электричество, а также использовать тепло, генерируемое в топливном элементе, в целях нагревания. Таким способом, общая энергоэффективность достигает значения 80%. В транспортных средствах с электроприводом электрические двигатели могут иметь КПД энергии на уровне 90%, в то время как обычные двигатели внутреннего сгорания имеют КПД энергии около 25%. В наши дни топливные элементы стоят в 100 раз больше, чем эквивалентные двигатели внутреннего сгорания с аналогичной мощностью. В любом случае, при массовом производстве и дальнейшем развитии топливных элементов можно ожидать снижения затрат [1].

Вполне возможно, что из-за его привлекательных свойств и универсального использования

водород будет играть важную роль в будущих энергетических системах, и мир примет «экономику водородной энергетики». Для производства энергии он вступает в реакцию с кислородом, либо при горении, либо в топливных элементах, и единственным продуктом является вода. Он может быть регенерирован электролизом непосредственно из воды. Следовательно, это замкнутый химический цикл, в котором не создаются и не разрушаются никакие химические соединения, а существует чистый поток энергии.

11.2 Стандартные методы производства водорода

Одним из самых известных и наименее затратных способов получения водорода является его извлечение из природного газа, в основном из метана. Наиболее распространенный метод переработки метана в водород подразумевает использование парового риформинга с последующей реакцией конверсии водяного газа.

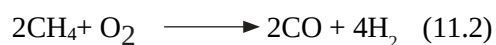
Это обеспечивает около 95% всех водородных продуктов в мире [1]. Некоторые из важных методов производства водорода заключаются в следующем.

11.2.1 Процесс парового риформинга

Первым этапом при этом методе является устранение таких загрязняющих примесей, как сера, из богатого метаном природного газа. Затем метан вступает в реакцию с паром при относительно высокой температуре, с использованием в качестве катализатора оксида никеля. Этот процесс называется паровым риформингом. Это можно записать в форме:



За этим может следовать второй этап, при котором добавляют воздух для преобразования любого оставшегося метана, который не реагировал во время паровой конверсии:



Далее следует реакция конверсии водяного газа при несколько пониженной температуре, которая производит больше водорода из CO и пара:



11.2.2 Реакция пара с углеродом

Страны, обладающие большими количествами угля, могут генерировать водород из угля. Встало возможным вызвать реакцию пара с твердым углеродом вместо метана. В этом случае продуктом является сингаз (синтетический газ), смесь CO и водорода. Затем полученный CO вступает в реакцию с паром в реакции конверсии водяного газа, аналогично примеру парового риформинга метана.

11.2.3 Электролитическое производство водорода

Второй главный метод получения водорода включает электролиз воды путем подачи напряжения между двумя электродами. Это приводит к выделению газообразного водорода на отрицательном электроде и газообразного кислорода на положительном электроде. Этим способом может быть получен относительно чистый водород. Поскольку на земле имеется огромное количество воды, она может обеспечить безграничную подачу водорода. Около 4% водорода, используемого в настоящее время в мире, производится электролизом. Однако стоимость производства является сравнительно дорогой.

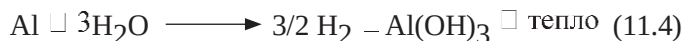
11.2.4 Термическая деструкция воды для получения водорода

При данном методе вода разлагается термически, нагреваясь до очень высокой температуры.

Требуется температура около 4300К. Поэтому этот метод практически не жизнеспособен.

11.2.5 Химическое взаимодействие воды с водой

Производить водород также можно путем химического расщепления воды. Многие виды образуют оксид при контакте с водой. Как правило, оксид создает защитный поверхностный слой, который предотвращает последующую реакцию с водой. В некоторых случаях, таких как в случае с литием, формируется гидроксид алюминия и образуется водород.



11.3 Водород из возобновляемых источников

На сегодняшний день 95% необходимого водорода производится из таких традиционных источников ископаемого топлива, как уголь, нефть, природный газ и т. д. [2]. Две основные проблемы с ископаемым топливом - это CO₂, который создает загрязнение, и ограниченная доступность источников ископаемого топлива. Поэтому внимание уделяется альтернативным и возобновляемым источникам, таким как солнечные, ветровые, тепловые, гидроэлектрические, биомассе и т. д.

Существует много способов получения водорода из возобновляемых источников. Все эти методы подразделяются на два потока. Первый относится к производству водорода с использованием биомассы, а вторая категория включает все другие методы получения водорода из возобновляемых источников, помимо биомассы.

11.3.1 Получение водорода из биомассы

Биомасса охватывает всю живую материю, существующую на земле. Она происходит из выращивания растений, включая водоросли, сельскохозяйственные культуры и навоз животных. Среди всех возобновляемых источников энергии биомасса является уникальной, поскольку она эффективно накапливает солнечную энергию. Все процессы биотехнологического получения водорода зависят от присутствия водородообразующих ферментов. Количество присущей этим ферментам активности может тормозить весь процесс в целом. Все ферменты содержат сложные металлокластеры в качестве активных центров. Эти активные центры синтезируются в сложном процессе, включающем вспомогательные ферменты и стадии созревания белка. Данные ферменты, участвующие в этом типе реакции, представляют собой нитрогеназу, Fe-гидрогеназу и Ni-Fe-гидрогеназу. В основном, существует три процесса, с помощью которых водород может быть получен из биомассы, которые описаны ниже.

11.3.1.1 Водород из топлива, полученного из биомассы, в результате риформинга

При помощи этого метода биомасса сначала преобразуется в жидкое топливо, такое как этанол, бутанол и т. д. На следующем этапе это биотопливо перерабатывается по тому же алгоритму, что и обычное ископаемое топливо, такое как природный газ, для производства водорода путем парового риформинга.

11.3.1.2 Водород из биомассы путем газификации

В этом процессе биомасса превращается в синтетический газ (сингаз) путем сжигания. Этот газ содержит CO, CO₂ и H₂. С помощью реакции конверсии водяного газа сингаз может производить больше водорода.

11.3.1.3 Биологическое и биомиметическое производство водорода (биофототризм и ферментация)

Эти процессы обычно делятся на две разновидности. Одна разновидность предусматривает падающий солнечный свет (биофототризм и фотоферментация), а другая может проводиться в отсутствие света (темновая ферментация).

Начальным процессом биофотоллиза является фотосинтез, при котором вода расщепляется на кислород, протоны и электроны (расщепление воды) с помощью солнечного света.

Начальным процессом биофотоллиза является фотосинтез, при котором вода расщепляется на кислород, протоны и электроны (расщепление воды) с помощью солнечного света. При фотоферментации водород вырабатывается анаэробными фотосинтетическими бактериями, использующими вместо гидрогеназы нитрогеназу для усиления восстановительной способности органических веществ, предпочтительно органических кислот. При темновой ферментации водорода, наряду с органическими кислотами, CO_2 также производится в отсутствие солнечного света из органических субстратов. Так, в частности, бактерии гидрогеназа производят водород из влажной биомассы в анаэробных условиях.

11.3.2 Водород из возобновляемых источников, за исключением биомассы

В эту категорию включены методы, которые используют возобновляемые источники энергии, кроме биомассы.

11.3.2.1 Водород из возобновляемых источников электроэнергии (ветер, солнечная энергия, геотермальная энергия, гидро, волна) путем электролиза

Этот метод похож на метод получения водорода путем электролиза воды. Единственное отличие состоит в том, что электричество, используемое в этом методе, вырабатывается из возобновляемых источников, таких как ветер, солнечная энергия, геотермальная энергия, гидроэнергетика и т. д.

11.3.2.2 Высокотемпературное солнечное термохимическое производство - термолиз

Термолитическое расщепление воды - это общий термин для многостадийного термохимического процесса, в котором используется высокотемпературное тепло для разделения воды на водород и кислород. Интерес к этому способу применения связан с теоретической способностью того, что такой процесс может преобразовывать высокотемпературное тепло в водород с эффективностью 50%, тем самым повышая эффективность производства водорода по сравнению с путем электричества/электролиза и предлагая альтернативу электролизу для производства возобновляемого водорода. Термолиз чаще всего предлагается в области передовых ядерных реакторов.

11.3.2.3 Фотоэлектрохимическое производство - фотоэлектролиз

Фотоэлектрохимические процессы могут производить водород в один прием, расщепляя воду, освещая погруженный в воду полупроводник солнечным светом. Это в основном комбинация фотоэлектрических батарей (PV) с электролизом воды. Существует два типа фотохимических процессов. Первый использует комплексные соединения растворимых металлов в качестве катализаторов и имитирует фотосинтез. Второй метод использует полупроводниковые электроды в фотохимической ячейке для преобразования энергии света в химическую энергию. Поверхность полупроводника выполняет две функции: поглощает солнечную энергию и действует в качестве электрода.

11.4 Способы получения водорода путем биологических доступов с использованием биохимических процессов

В этом разделе подробно обсуждаются различные методы получения водорода из биомассы, различные биохимические процессы и основные этапы, связанные с получением водорода из биомассы.

11.4.1 Получение водорода из топлива, полученного из биомассы

Возобновляемая биомасса является заманчивой альтернативой ископаемому сырью из-за потенциального практически нулевого воздействия CO_2 . К сожалению, содержание водорода в биомассе составляет всего 6–6,5% по сравнению с почти 25% в природном газе. Именно по этой

причине, на основе стоимости, производство водорода с помощью процесса газификации биомассы/водяного газа не может конкурировать с хорошо развитой технологией парового риформинга природного газа. Несмотря на это, в котором для производства более ценных материалов или химикатов интегрированный процесс, при котором используется часть биомассы, а для выработки водорода используются только остаточные фракции, может быть экономически целесообразным вариантом.

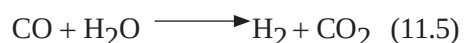
Этот метод сочетает в себе два этапа: быстрый пиролиз биомассы с образованием бионефти и каталитический паровой риформинг бионефти в водород и диоксид углерода. Быстрый пиролиз - это процесс термического крекинга, который требует высокой интенсивности теплопередачи для частиц биомассы и короткого времени пребывания пара в зоне реакции. Было показано несколько схем реактора, обеспечивающих это условие с выходом жидкого продукта вплоть до 70–80%, на основе начальной нагрузки биомассы. К ним относятся пузырьковые псевдоожигженные слои, транспортные реакторы и циклонные реакторы [3].

В 1990-х годах отдельные технологии быстрого пиролиза достигли почти коммерческого статуса. Концепция пиролиза/риформинга имеет несколько преимуществ по сравнению с традиционной газификацией/технологии конверсии водяного газа. Во-первых, бионефть гораздо легче транспортировать, чем твердую биомассу, и поэтому, в целях повышения экономической стоимости, пиролиз и риформинг можно проводить в различных местах. Вторым преимуществом, существенно влияющим на экономику всего процесса, является потенциальное производство и извлечение побочных продуктов более высокой ценности из бионефти. Согласно этой концепции, фракция, полученная из лигнина, должна быть отделена от бионефти и использована либо непосредственно, либо после определенной обработки в качестве заменителя фенола, который представляет собой фенолформальдегидный клей. Фракция, полученная из углеводов, будет подвергнута каталитическому превращению в пар с целью получения водорода.

11.4.2 Водород из биомассы путем газификации

Синтез-газ (сингаз), полученный в результате газификации биомассы, содержит водород (H_2), окись углерода (CO), диоксид углерода (CO_2), воду (H_2O), азот (N_2), метан (CH_4) и следовые количества других углеводородов. Относительная доля каждого компонента в синтез-газе зависит от технологических условий газификации, то есть температуры, давления, типа биомассы и т. д. Среди этих условий газификационный агент является наиболее весомым. Различные технологии газификации биомассы включают использование воздуха, пара или паровой смеси O_2 в качестве агента газификации.

Дальнейшее увеличение содержания водорода в продукте переработки газа требует согласования соотношения H_2/CO . Наиболее широко используемый процесс – это реакция конверсии водяного газа (КВГ), которая допускает конверсию CO в CO_2 и H_2 с участием пара.



Эта реакция является обратимой и слегка экзотермической ($\Delta H^0 = -41 \text{ кДж/моль}^{-1}$). При высокой температуре реакция имеет ограниченное равновесие, а при низкой температуре она кинетически ограничена, поэтому для реакции требуется использование катализатора. Промышленные процессы мокрой очистки газа (WGS) обычно включают в себя две стадии катализированной реакции: одну при высокой температуре, в диапазоне 350–450°C, с использованием катализаторов на основе Fe-Cr, и другую при низкой температуре, например, при комнатной температуре, 250 °C, с катализаторами на основе Cu-Zn.

11.4.3 Производство водорода с использованием биофотолиза

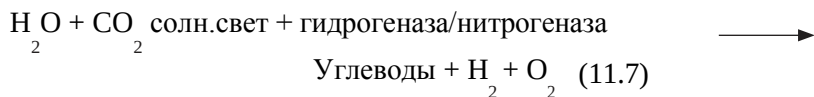
При прямом фотолизе цианобактерии разлагают воду с образованием водорода и кислорода в присутствии света в соответствии с уравнением:



Данный процесс считается устойчивым, поскольку конечным продуктом утилизации

водорода является вода. Однако скорость этой реакции низкая, потому что необходимо преодолеть большое количество свободной энергии. Как таковое, его крупномасштабное применение было затруднено из-за высокой стоимости фотобиореакторов и низкой эффективности преобразования солнечной энергии [4]. Отделение водорода от кислорода может дополнительно увеличить расходы.

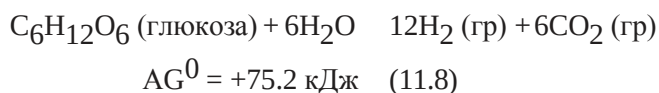
При непрямом биофотоллизе реакция фотохимического синтеза при производстве водорода на свету водорослями, пурпурной серой и не содержащими серы бактериями описывается следующим образом:



Многие фототропические организмы, такие как пурпурные бактерии, зеленые бактерии, цианобактерии и несколько водорослей, могут производить водород с помощью солнечной энергии. Микроводоросли, такие как зеленые водоросли и цианобактерии, поглощают энергию света и образуют электроны. Затем электроны переносятся в ферредоксин (FD) с использованием солнечной энергии, поглощенной фотосистемой. Однако алгоритм варьируется от организма к организму, но основные этапы аналогичны этапам фотосинтеза. Некоторые штаммы, такие как *Rhodospseudomonas capsulata*, вырабатывают водород во время облучения с участием органических соединений, таких как соли малеиновой кислоты, янтарной кислоты и т. д. Цианобактерии (водоросли B-G) представляют собой наиболее многочисленную группу фототропных прокариот, которые могут производить водород. Тем не менее, прямой биофотоллиз чувствителен к кислороду и поэтому трудно поддерживать выработку водорода. Непрямой биофотоллиз может решить эту проблему путем производства водорода и кислорода на разных стадиях для решения проблемы чувствительности к кислороду.

11.4.4 Производство водорода с использованием фотоферментации

При фотоферментации анаэробные фотогетеротрофные бактерии используют органическое сырье для производства водорода в присутствии света в соответствии с уравнением:



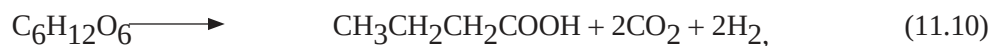
Преимущества этого процесса включают в себя умеренные потребности в энергии, высокие теоретические выходы водорода (часто представленные как моли H_2 /моль сырья) и способность стабилизировать потоки органических отходов. Недостатки включают низкую эффективность преобразования солнечной энергии (<10%), полученной из неэффективного фермента нитрогеназы, и низкую интенсивность света, при которой происходит насыщение фотосинтеза [4].

11.4.5 Получение водорода из темновой ферментации

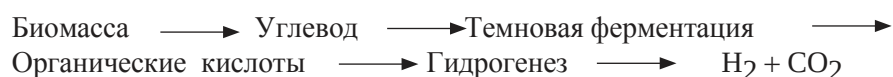
Многие ученые сосредоточили свое внимание на исследовании продукции биоводорода путем анаэробной темновой ферментации с микроорганизмами смешанного типа. Углеводы превращаются в H_2 , CO_2 , летучие жирные кислоты (ЛЖК) и другие продукты с помощью водорода, продуцирующего бактерии. Исходя из состава продуктов ферментации, определены три типа ферментации: ферментация пропионного типа, масляного типа и этанолового типа. Преобладающими продуктами ферментации пропионного типа являются пропионовая и уксусная кислота без образования водорода. Для осуществления производства водорода следует избегать ферментации пропионового типа. Ферментация масляного типа приводит к образованию H_2 , CO_2 , масляной и уксусной кислот в качестве доминантных продуктов. Ферментация по типу этанола в основном производит H_2 , CO_2 , этанол и уксусную кислоту. Различные ферментации приводят к разным продуктам, поэтому состав продуктов ферментации может отражать типы ферментации.

При темновой ферментации анаэробные бактерии и некоторые микроводоросли (такие как зеленые водоросли на богатых углеводами субстратах) могут производить водород в темной среде. Водород может быть получен неосвещенным анаэробным бактериальным ростом на богатых углеводами субстратах, давая конечные продукты органического брожения, водород и углекислый

газ. Чистые культуры, которые вырабатывают водород из углеводов, включают виды *Enterobacter*, *Bacillus* и *Clostridium*. Используемые чистые субстраты включают глюкозу, крахмал и целлюлозу. Технологические условия, включая инокуляты, оказывают существенное влияние на выход водорода, поскольку они влияют на конечные продукты ферментации. Углеводы являются приоритетным источником органического углерода для производства водорода. Глюкоза в биомассе дает выход 4 моль водорода на глюкозу, когда уксусная кислота является побочным продуктом:

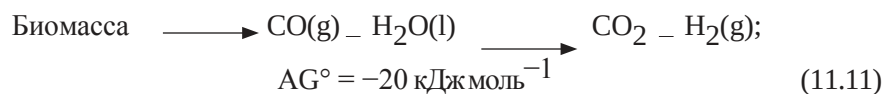


Следующий процесс может объяснить анаэробную ферментацию в темноте гетеротрофными бактериями:



11.4.6 Получение водорода с использованием биологической реакции конверсии водяного газа

Это новый способ производства водорода с помощью биологической реакции конверсии водяного газа (BWGS). Некоторые фотогетеротрофные бактерии, такие как *Rubrivivax gelatinosus*, способны проводить реакции конверсии водяного газа при температуре окружающей среды и атмосферном давлении. Если использовать СО в качестве единственного источника углерода для выработки аденозинтрифосфата (АТФ), связывающего окисление СО с восстановлением Н⁺ до Н₂, эти бактерии могут выживать в темноте:



Пурпурные несернистые бактерии осуществляют конверсию окиси углерода в водяной газ в темноте, превращая 100% СО в квазистехиометрическое количество водорода. Он также может использовать СО с участием других органических субстратов. Биомасса, существующая в природе, может быть легко преобразована в водяной газ (СО и Н₂О) путем термохимической конверсии. Исследования показали, что 1 кг клеток может производить 1 кг водорода в день в пузырьковой колонне или биореакторе с бактериальным фильтром. Скорость синтеза водорода при реакции конверсии водяного газа составила 96 ммоль Н₂ л⁻¹ ч⁻¹ по сравнению с 20-50 ммоль Н₂ л⁻¹ ч⁻¹ при темновой анаэробной ферментации. Было подсчитано, что стоимость обработки для производства водорода с помощью процессов конверсии водяного газа составит \$3,4 кг⁻¹ по сравнению с другими затратами на биологическую обработку в пределах \$12-20 кг⁻¹ [5].

11.5 Последние достижения в производстве биоводорода

В настоящее время мировое производство водорода составляет около 5 × 10⁶ м³, 95% которого производится из ископаемого топлива с чистым отрицательным приростом энергии. Производство водорода, например, путем паровой конверсии метана, дает в лучшем случае, 2,95 моль Н₂ на моль метана с отрицательным приростом чистой энергии -16 МДж/кг Н₂. Производство с помощью электролиза воды с использованием электроэнергии, вырабатываемой электростанцией с комбинированным циклом, работающей на природном газе, дает, в лучшем случае, 1,37 моль Н₂ на моль метана с отрицательным приростом чистой энергии -172 МДж/кг Н₂ [4]. Если водород широко используется в качестве постоянного заменителя ископаемого топлива, то он должен производиться из возобновляемого сырья, отличного от ископаемого топлива. Следовательно, процесс производства водорода через ископаемое сырье следует заменить биопроцессами с чистым положительным приростом энергии. Биологические процессы были предложены в качестве обнадеживающих подходов для более чистого и устойчивого производства водорода, известного как биоводород. В

отличие от современных технологий получения водорода, биологические технологии могут быть разработаны для получения водорода с использованием возобновляемого сырья в мягких условиях эксплуатации без образования каких-либо вредных побочных продуктов.

11.5.1 Получение водорода из бионефти

Черник и другие доказали, что водород может быть эффективно получен путем каталитического парового риформинга фракций бионефти, полученных из углеводов, в реакторе с псевдоожиженным слоем катализатора с использованием коммерческого никелевого катализатора [3]. Большой избыток пара, чем тот, который используется для риформинга природного газа, необходим для минимизации образования угля и кокса (или для превращения в газ этих углеродистых твердых веществ), возникающих вследствие термического разложения сложных соединений, полученных из углеводов. При 850°C и молярном соотношении пара к углероду 9, выработка водорода составляла 90% от того, который возможен для стехиометрического превращения в течение восьмичасовой работы катализатора. Этот выход мог бы быть на 5–7% больше, если бы за риформингом следовал вторичный реактор водогазовой конверсии. Наконец, отложения кокса эффективно удалялись из катализатора путем газификации паром и диоксидом углерода, что восстанавливало начальную каталитическую активность.

В технико-экономическом анализе процесса предполагалось, что объем производства водорода составляет 35,5 т/сутки, что может потребовать 930 т/сутки сухой биомассы. Биомасса считалась доступной по цене 25 долл. США/тонну. Для установок пиролиза и риформинга была принята внутренняя норма прибыли 15%. Если бы фенольная фракция биомасла можно было бы продать за 0,44 долл. США/кг (примерно половину цены фенола), оценочная стоимость водорода в рамках этого концептуального процесса составила бы 7,7 долл. США/ГДж, что находится на нижнем уровне текущая цена продажи водорода [3].

Валлес и другие (2013) сообщили о риформинге с водяным паром в непрерывном режиме водной фракции бионефти, полученной в результате быстрого пиролиза лигноцеллюлозной биомассы (древесные опилки) [6]. Для реакционной системы предусмотрели две последовательные стадии: i) термическую стадию при температуре 200°C для удержания пиролитического лигнина и ii) риформинг в потоке обработанной бионефти в реакторе с псевдоожиженным слоем, в диапазоне 600–800°C, с пространственно-временным интервалом от 0,10 до 0,45 $\text{g}_{\text{катализатора}} \text{h} (\text{g}_{\text{бионефти}})^{-1}$. Оксид лантана La_2O_3 был введен в катализатор $\text{Ni}/\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ для повышения кинетических свойств (конверсии биомасла, выхода и селективной способности водорода), а также была определена дезактивация. Была также проанализирована значительная роль температуры в газифицирующих предшественниках кокса. Полная конверсия бионефти достигается с катализатором $\text{Ni}/\text{La}_2\text{O}_3\text{-Al}_2\text{O}_3$, при 700°C и в пространственном времени 0,22 $\text{g}_{\text{катализатора}} \text{h} (\text{g}_{\text{бионефти}})^{-1}$. Дезактивация катализатора оказалась низкой, а выход водорода и достигнутая селективность составляли 96% и 70%, соответственно.

11.5.2 Получение водорода из синтетического газа

В последние несколько лет сообщалось о дальнейшей работе по производству водорода с помощью синтез-газа в сравнении с методом парового риформинга бионефти. В процессе газификации биомасса полностью превращается в более чистые газообразные продукты. Газификация происходит с помощью пара, так как газифицирующий агент способствует выработке обогащенного водородом газа. Преобразование пара и реакция конверсии водяного газа, которая происходит с участием пара, приводит к более высокому выходу водорода. Биомасса может считаться отрицательным источником выбросов углекислого газа, если диоксид углерода, образующийся в процессе газификации, улавливается во время процесса. Таким образом, паровая газификация биомассы в процессе захвата углекислого газа может стать перспективным вариантом для устойчивого производства водорода. Обнаружено, что сорбенты на твердой основе обладают различными эксплуатационными преимуществами при поглощении диоксида углерода. Они имеют более высокий коэффициент захвата при высокой температуре, там, где другие жидкие сорбенты не могут действовать. Такими типами сорбентов являются родий, оксид алюминия, твердый абсорбент на основе никеля, доломиты и CaO . Сорбенты на основе металлов дорогие и экономически невыгодны, тогда как оксид кальция дешевый и очень распространен. Он может быть эффективным

сорбентом для захвата углекислого газа при очень высокой температуре. Ачарья и соавторы провели эксперимент, чтобы выяснить потенциал образования водорода из паровой газификации биомассы с участием сорбентов CaO и его воздействие на различные рабочие параметры (отношение пара к биомассе, температуру и отношение CaO к биомассе) [7]. Продукт переработки газа с концентрацией водорода до 54,43% был получен при соотношении пар/биомасса = 0,83, CaO/биомасса = 2, $T = 670^{\circ}\text{C}$. При содержании CaO/биомасса = 2 было обнаружено понижение концентрации углекислого газа на 93,33% по сравнению с газификацией без CaO.

Одна из самых передовых установок демонстрирует выполнимость технологии газификации биомассы в «Växjö Värnamo Центре газификации биомассы» (VVBGC) в Швеции, который имеет работающую на биотопливе парогенераторную установку с комбинированным циклом газификации (IGCC) (комбинированная теплоэнергия) с 18 МВт/ч. Эта установка наглядно показывает производство чистого обогащенного водородом синтетического газа (синтез-газа) на основе газификации биомассы под давлением пара или с кислородным дутьем с последующей очисткой и обогащением. В этих условиях содержание водорода в синтез-газе может достигать значений в диапазоне от 35% до 45% объема. Мароно и другие (2010) исследовали каталитическую активность катализатора Fe-Cr WGC с точки зрения конверсии CO и образования H_2 [8]. Изучено влияние основных рабочих параметров, включая состав сырья, объемную скорость и соотношение пара к CO, на активность катализатора. В этом исследовании, несмотря на высокое содержание CO в подаваемом газе (44 - 60% сухой массы), катализатор показал очень хорошие характеристики при промежуточных температурах 350–450°C, обеспечивая увеличение содержания водорода в выходном газе в диапазоне 10–17% (сухой массы) и концентрация CO на выходе из реактора ниже 3% объема к объёму.

Ряд катализаторов на основе никеля, на основе из диоксида кремния (Ni/SiO_2) с различными загрузками Ce/Ni (молярное отношение в диапазоне от 0,17 до 0,84), были подготовлены с использованием обычного метода совместной пропитки и применяли для получения синтез-газа, комбинируя риформинг CO_2 с частичным окислением метана [9]. Среди катализаторов, содержащих церий, богатые церием катализаторы оказались более высокоактивными и устойчивыми, чем содержащие низкий уровень церия. Анализ температурно-программируемого восстановления (TPR) и спектроскопии ультрафиолетового и видимого рассеяния (DRS) показал, что добавление CeO_2 снижает химическое взаимодействие между Ni и носителем, что приводит к увеличению восстанавливаемости и дисперсии Ni. На катализаторах NiCe-x/SiO_2 ($x = 0,17, 0,50, 0,67, 0,84$) пик восстановления в профилях TPR смещается в сторону более высоких температур с увеличением молярного отношения Ce/Ni, что объясняется меньшим размером металлического никеля восстановленного катализатором. Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) и рентгеновская дифракция (РД) для постреакционных катализаторов подтвердили, что стимулятор удерживает молекулы металлического никеля и предотвращает рост частиц металла при высокой температуре реакции. Катализатор NiCe-0,84/SiO_2 с малым размером частиц Ni проявлял стабильную активность с постоянным молярным отношением H_2/CO 1,2 в течение 6-часовой реакции в сочетании риформинга CO_2 с частичным окислением метана при 850°C и атмосферном давлении.

Замена батарей топливными элементами является перспективным подходом для питания переносных устройств; однако, производство и хранение водородного топлива имеют трудности в одобрении этой технологии. Потенциальным решением этой проблемы является риформинг топлива на месте, когда насыщенная топливно-воздушная смесь превращается в богатый водородом синтез-газ. Смит и соавторы (2012) исследовали конверсию реактивного топлива (Jet-A) и бутанола в синтез-газ путем некаталитического сгорания фильтрацией в реакторе с пористой средой, работающем в широком диапазоне отношений эквивалентности и скоростей на входе [10]. Это исследование было сфокусировано на производстве синтез-газа, выходе водорода, выходе окиси углерода и эффективности преобразования энергии. Это исследование было направлено на улучшения понимания процесса фильтрации при производстве синтез-газа и выявления потенциала этих видов топлива для превращения в синтез-газ некаталитическими методами.

Газификация - это перспективный альтернативный процесс утилизации энергии осадка сточных вод. CaO был идентифицирован как эффективная добавка, которая может увеличить содержание H_2 в синтез-газе, производимым углем, биомассой и газификацией осадка. Учитывая, что гидроксид кальция (CaO) является широко применяемым кондиционирующей присадкой для очистки осадка сточных вод в фильтр-прессе, Лю и соавторы исследовали повышенную эффективность синтез-газа, особенно в отношении выхода H_2 , при каталитической паровой газификации сухого обезвоженного осадка с физически смешанным CaO и сухого осадка, обезвоженного CaO в качестве

кондиционирующей присадки [11]. Эксперименты выполнялись в электрически нагретом реакторе при 873 К, 973 К и 1073 К, соответственно. Согласно результатам, кондиционирующая присадка СаО еще больше улучшила выработку H_2 и синтез-газа, чем добавка СаО. С помощью XRD и SEM-EDX было установлено, что кондиционирующая присадка СаО полностью превращается в Са (ОН)₂, в то время как добавка СаО все еще представлена главным образом в виде СаО. Кроме того, разновидности Са кондиционирующей присадки СаО были равномерно распределены по матрице ила, в то время как разновидности Са с присадкой СаО сохраняли исходное состояние с неравномерным распределением, оба из которых могли бы увеличить образование H_2 путем взаимодействия с извлеченным газом и катализирующего термического крекинга смолы до некоторой степени. В дополнение к этому, испытания поровой структуры и анализа РФЭС показали, что, по сравнению, с присадкой СаО, кондиционирующая присадка СаО была более благоприятной при формировании пор, и у нее был больший потенциал для стимуляции частичного расщепления связей С-С и связей С-Н, что приводит к разложению органических макромолекул на относительно небольшие молекулы, которые могут быть легче преобразованы в газообразные продукты. Это указывает на то, что в процессе газификации полезно повторно использовать Са в кондиционированном иле оксида кальция.

11.5.3 Получение водорода из фотоферментации

Разложение органических соединений в присутствии гетеротрофных бактерий при освещении видимым излучением с одновременным выделением водорода и углекислого газа известно как процесс фотоферментации. Идеальными субстратами для этого процесса могут быть органические отходы с низкой концентрацией общего содержания азота (как органического, так и неорганического). Хорошо известно, что пурпурные не сернистые бактерии *Rhodobacter sphaeroides* O.U.001 являются очень эффективными биокатализаторами в процессе образования водорода из отходов, происходящих из пищевой, молочной, сахарной или спиртовой промышленности [12]. Очень высокая концентрация органических веществ (средняя химическая потребность в кислороде - ХПК: 0,8–2,5 кг/гл) в отходах пивоваренных заводов предполагает использование этих отходов в производстве водорода. Количество отходов при производстве пива огромно. Химический состав отходов сильно зависит от вида производимого пива и степени сбраживания. Такие отходы могут содержать аминокислоты, белки, органические кислоты, сахара, спирты, а также витамины группы В. Все эти субстраты могут быть эффективно использованы при фотобиологическом производстве водорода. Сейферт и соавторы (2010) применили *Rhodobacter sphaeroides* O.U.001 (концентрация инокулятов - 0,36 г сухого веса/л) и сточные воды пивоваренного завода для фотобиогенерации водорода при освещенности 116 Вт/м² [12]. Наилучшие результаты были получены при стерилизации отфильтрованных сточных вод при 120 °С в течение 20 мин и максимальной концентрации отходов в среде, равной 10% по объему. Основным продуктом в произведенном биогазе был водород (90%). После стерилизации количество генерируемого водорода утроилось (от 0,76 до 2,2 л H_2 /л среды, а эффективность конверсии света достигла значения 1,7%.

11.5.4 Получение водорода из темновой ферментации (DF)

Принимая во внимание, что темновая ферментация является спонтанной с самой высокой степенью конверсии среди трех биологических процессов, выработка является низкой, а конверсия не полная, что приводит к образованию летучих жирных кислот и спиртов в качестве конечных продуктов. Таким образом, эффективность захвата сырья для энергии темновой ферментации (на основе энергетического содержания глюкозы и водорода 16 мДж/кг и 120 мДж/кг, соответственно) составляет около 33%. Основным фактором сравнения процессов производства биоводорода является количество электронов, переносимых из исходного сырья в конечный продукт, который служит энергоносителем, и суммарный прирост энергии в процессе. В то время как почти весь электронный эквивалентность субстрата направлен на водород при биофотолизе и фотоферментации, при темновой ферментации только часть электронов в сырье направляется на водород, поскольку большая часть электронов направляется на органические конечные продукты, такие как летучие жирные кислоты и спирты. Несмотря на эти недостатки, темновая ферментация была признана более практичной, чем два других фототрофных процесса, потому что она не требует внешней энергии для управления процессами или большой площади поверхности для захвата необходимого света. Она

может использовать преимущества существующих реакторных технологий для использования органических отходов в качестве сырья, выполняющих двойную функцию энергетической продуктивности и стабилизации отходов. По сравнению с фототрофными процессами, дополнительные преимущества процесса темновой ферментации включают также ее способность усваивать органическое сырье, состоящее из частиц, и действовать в течение дня.

В качестве исходного сырья при темновой ферментации могут использоваться различные отходы, такие как жидкие отходы, получаемые при производстве пальмового масла, твердые бытовые отходы, пищевые отходы и сырная сыворотка. Анаэробный осадок, компост ила, шлам сточных вод и почва были широко распространены в качестве инокулятов в процессе ферментативного получения водорода, поскольку они содержат различные бактерии, из которых после соответствующего обогащения могут быть получены водород-продуцирующие бактерии.

Продукты ферментации зависят от рабочих параметров, таких как температура и pH. В процессе производства водорода часто исследовались четыре параметра, в том числе pH, температура, время гидравлического удержания (HRT) и концентрация или скорость органического нагружения. Ву и соавторы (2010) использовали компост коровьего навоза в качестве источника микроорганизмов [13]. Указанное оптимальное значение pH составляет от 4,0 до 9,0 из-за различных используемых штаммов. Время гидравлического удержания (HRT) считается основным фактором, влияющим на эффективность непрерывной работы. При рассмотрении экономической прибыли предпочтительно более короткое время гидравлического удержания. Температура влияет на выделение водорода, потому что гидрогеназа активна при узком диапазоне температур. В большинстве исследований температура для производства водорода установлена между 30 и 37 °C.

Но и соавторы (2010) создали экономически эффективный водород из целлюлозы путем анаэробной ферментации [14]. В первую очередь, целлюлаза, используемая для гидролиза целлюлозы, была получена с помощью твердофазной ферментации (SSF) на дешевой биомассе из *Trichoderma viride*. Были изучены некоторые условия культур для производства целлюлозы на дешевой биомассе, такие как содержание влаги, размер инокулятов и время культивирования. Максимальный выход водорода 122 мл/г-TVS был получен при концентрации субстрата 20 г/л и при времени культивирования 53 часа. Эта величина была примерно в 45 раз выше, чем у сырых отходов кукурузного стебля. Содержание водорода в биогазе составляло 44–57% об/об, и значительного количества метана не наблюдалось.

Антон Пулу и соавторы (2010) сосредоточили свои исследования на влиянии pH на ферментативную выработку водорода из сахаров экстракта сладкого сорго в биореакторе с непрерывным перемешиванием [15]. Максимальная скорость производства водорода и выработка были получены при pH 5,3. Во время другого исследования Цуй и соавторы (2010) провели эксперименты по превращению листьев тополя, предварительно обработанных различными методами, в водород с использованием анаэробных смешанных бактерий при температуре 35°C [16]. Исследовано влияние кислотной, щелочной и ферментативной предварительной обработки на осахаривание листьев тополя. Был достигнут максимальный совокупный выход водорода 44,92 мл/г сухих листьев тополя. В другой работе Кастелло и соавторы (2013) применили конфигурацию анаэробного реактора с уплотненным слоем для получения водорода с использованием сырной сыворотки в качестве субстрата [17]. Микробиологический состав был связан с работой реактора. Были использованы три фиксированные скорости загрузки по органическим веществам 22, 33 и 37 г ХПК/л-1 при фиксированном времени гидравлического удержания 24 часа. Увеличение скорости загрузки по органическим загрязнениям от исходного значения 22 г ХПК до значения 37 г ХПК и подгонка pH до значений, превышающих 5, оказало положительное влияние на выработку водорода и значения до 1 л Н. Производство водорода было стабильным во всех исследованных условиях, и проблем во время работы, о которых часто сообщали с реакторами такого типа (засорение фильтра, метаногенез и производство растворителя) не наблюдалось. Максимальный выход водорода составлял 1,1 моль H₂/моль лактозы, что далеко от максимального теоретического значения (8 моль H₂/моль лактозы), но аналогично предыдущей работе с использованием сырной сыворотки в качестве субстрата. Микробиологический анализ показал смешанную популяцию с низкой долей водородпродуцирующих ферментеров (*Clostridium* и *Klebsiella*) и других не водородных организмов.

Превращение глицерина в потоки отходов биодизельного топлива в ценные продукты (например, водород и 1,3-пропандиол (1,3-PD)) было изучено Лю и соавторами (2013) с помощью анаэробной ферментации в периодическом режиме с использованием органической почвы в качестве инокулятов [18]. Выработку водорода в устройстве ввода паровой фазы и 1,3-PD в жидкой фазе исследовали при

различном времени удерживания водорода (HyRT), которые контролировались с помощью интервалов сбора газа (GCI) и начальных моментов времени сбора газа (IGCT). Две стадии очистки биодизельного глицерина (P2 и P3) были испытаны в трех концентрациях (3, 5 и 7 г/л). Более длинный HyRT (более длинный GCI и более длинный IGCT) приводил к более низкому выходу водорода, но более высокому выходу 1,3-PD. Глицерин P3 в концентрации 7 г/л имел самый высокий выход 1,3-PD (0,65 моль/моль потребляемого глицерола) при GCI/IGCT, равный 20 ч/65 ч, и самый высокий выход водорода (0,75 моль/моль потребляемого глицерола) при GCI/IGCT 2,5 ч/20 ч) соответственно. Кинетическая модель смешанного порядка была разработана для моделирования воздействия GCI/IGCT на производство водорода и 1,3-PD. Результаты показали, что производство водорода и 1,3-PD можно оптимизировать, регулируя HyRT при анаэробной ферментации глицерина.

11.5.5 Производство водорода с помощью интегральных технологий

С недавних пор интегрированные технологии стали лучшими вариантами для производства биоводорода, поскольку метода чистого выхода недостаточен для промышленного производства. Когда интегрируется более двух методов, побочные продукты также могут быть использованы, что повышает общую эффективность интегрированного процесса.

Совмещенная темновая и фотоферментация была довольно новым подходом в производстве биологического газообразного водорода. У него есть определенные преимущества по сравнению с одностадийными процессами темновой ферментации или фотоферментации. Для этой цели может использоваться схема трехэтапного процесса, состоящая из предварительной обработки, гидролиза, темновой ферментации и фотоферментации. Первый этап предварительной обработки включает измельчение, гидролиз в кислой среде, нейтрализацию и баланс питательных веществ для получения углеводного раствора из биомассы. Сбраживаемые сахара были превращены в органические кислоты, CO₂ и водород на этапе темновой ферментации. Легкую ферментацию использовали для получения водорода из органических кислот в анаэробных условиях с участием света. Эффект темновой ферментации при производстве водорода обеспечивает достаточное количество органических кислот для фотоферментации. Следовательно, будет устранено ограничение доступностью органических кислот. При использовании биореакторов темновой и фотоферментации, технология гибридной ферментации может стать одним из наиболее перспективных путей повышения выхода H₂. Синергия процесса заключается в максимальной конверсии субстрата, который, наоборот, не может достичь полной конверсии из-за термодинамических и других ограничений [19]. Таким образом, в этой системе легкие независимые бактерии и легкие зависимые бактерии обеспечивают интегрированную систему для увеличения выхода H₂. Дальнейшее употребление органических кислот фотоферментативными бактериями могло бы обеспечить лучшее качество очищенной сточной воды с точки зрения ХПК. Так или иначе, установку необходимо хорошо контролировать, чтобы обеспечить оптимальный состав среды и условия окружающей среды для двух микробных компонентов процесса. В таких системах анаэробное сбраживание углеводов (или органических отходов) приводит к образованию промежуточных продуктов, таких как низкомолекулярные органические кислоты, которые затем, на втором этапе в фотобиореакторе, превращаются в H₂ с помощью фотосинтетических бактерий. Более высокие выходы водорода можно получить при объединении двух систем.

Примером может служить метод, подвергает эффекту темновой ферментации раствор пшеничного крахмала до легкой ферментации для производства биоводорода с помощью различных источников излучения и интенсивности в целях увеличения производства водорода [20].

Другим интегрированным процессом стало производство водорода из биотоплива в Бразилии, и с каждым годом он становится все более важным [21]. В этом контексте при производстве биоводорода могут использоваться остаточные потоки из этанола первого поколения (этанол 1G), этанола второго поколения (этанол 2G) и производства биодизеля. Поэтому гексозы, пентозы и глицерин были испытаны в качестве субстратов для производства водорода. Во-первых, влияние различных предварительных обработок инокулятом (кислотных, щелочных и тепловых) на эффективность бактериальных сообществ оценивали по уровням экспрессии гидрогеназы клостридий. Предварительно обработанный нагревом инокулят обеспечил наивысший выход H₂ (4,62 моль H₂/моль сахарозы), а также наивысший уровень экспрессии гидрогеназы, в 64 раза выше по сравнению с необработанным инокулятом через 72 часа. Сахара C₅ и C₆ и глицерин были протестированы на продуцирование H₂ (35°C и pH 5,5), в результате которого получился

обнадеживающий выход H_2 : (4,24 моль H_2 /моль сахарозы), глюкозы (2,19 моль H_2 /моль глюкозы), фруктозы (2,09 моль H_2 /моль фруктозы), ксилоза (1,88 моль H_2 /моль ксилозы) и глицерин (0,80 моль H_2 /моль глицерина).

Еще одной интегрированной технологией является одновременная добыча водорода и этанола из отработанного глицерина с помощью недавно выделенной бактерии *Enterobacter aerogenes* KCU-S1, использующей методологию поверхности отклика (RSM) с центральным композиционным планом (CCD) [22]. Метод Плакетта-Бермана был впервые использован для скрининга факторов, влияющих на одновременное производство водорода и этанола, то есть начального pH, температуры, количества раствора витаминов, концентрирование дрожжевого экстракта (YE) и концентрирование глицерина. Результаты показали, что начальный pH, температура, концентрирование дрожжевого экстракта и концентрирование глицерина оказывали статистически значимое влияние ($p \leq 0,05$) на скорость образования водорода (HPR) и этанола. При этом были оптимизированы значимые факторы с помощью центрального композиционного плана (CCD). Оптимальными условиями для одновременного увеличения продукции скорость образования водорода и производства этанола были концентрация дрожжевого экстракта 1,00 г/л, концентрация глицерина 37 г/л, начальный pH 8,14 и температура 37°C, при которых были достигнуты максимальная скорость образования водорода и этанола 0,24 ммоль H_2 /л и 120 ммоль/л.

11.6 Состояние производства биоводорода

В 2005 году 48% мировой потребности в водороде было получено в результате парового риформинга природного газа, около 30% из нефтеперерабатывающего завода сырой нефти и бензиновой фракции/химических промышленных газообразных отходов, 18% от газификации угля, 3,9% от водного электролиза, и 0,1% из других источников [19]. В связи с растущей тенденцией спроса на водород, разработка экономически эффективных и практичных технологий производства водорода привлекла значительное внимание. Технология производства биоводорода может использовать возобновляемые источники энергии, такие как биомасса, для производства водорода, самого чистого энергоносителя для применения человеком. Водород считается топливом мечты в силу того, что он имеет самое высокое содержание энергии на единицу массы любого известного топлива (142 МДж/кг), легко превращается топливом в электричество посредством топливных элементов, и во время сгорания он дает воду в качестве единственного побочного продукта. В настоящее время 40% H_2 производится из природного газа, 30% - из сырой необработанной нефти и бензиновой фракции, 18% - из угля и 4% - из электролиза, а около 1% - из биомассы [19]. В таблице 11.1 сравниваются различные процессы по таким темам, как используемое сырье, удельные затраты на топливо и общие затраты на производство.

11.7 Выводы

За последние семь лет объем выпуска биоводорода увеличился в 10 раз. Чтобы спасти окружающую среду от устаревших источников энергии, единственным вариантом представляется производство возобновляемого водорода из биотехнологических способов.

Среди множества вариантов производства биоводорода темновая ферментация является наиболее экономически эффективной, поскольку реактор работает в течение всего дня, он выполняет двойные задачи сокращения отходов и производства энергии. Она также требует меньше электричества или потребляемой мощности, чем другие процессы производства водорода. Этот процесс может использовать большое число источников углерода, а в сочетании с фотоферментацией он может стать еще более экономически эффективным процессом.

Таблица 11.1 Сравнение эффективности преобразования энергии и удельной стоимости различных биологических процессов получения водорода с обычными процессами.

Наименование процесса	Эффективность преобразования энергии сырья	Удельная стоимость энергетического запаса топлива	US \$/МБТЕ
Фотобиологический водород [23]	H ₂ O и органические кислоты	10	10
Ферментационный водород [24]	Меласса	28.34	30
Быстрый пиролиз для получения водорода [25]	Угольная биомасса	—	4
H ₂ от углубленного электролиза [25]	Вода	—	11
H ₂ от термического распада потока [25]	Вода	—	13
H ₂ из фотохимического [25]	Органические кислоты	—	21
Ферментационный этанол [26]	Меласса	—	31.5
Бензин [25]	Сырая нефть	—	6

В будущем будет полезен комплексный подход к производству биоводорода с помощью интегральных технологий. Гибридные процессы, включающие такие научные достижения, как генетическая модификация организмов, разработка ферментов гидрогеназы и разработка биореакторов, могут увеличить выход продукции биоводорода и снизить затраты.

Использованная литература

- R. A. Huggins, *Energy Storage*, Springer Press, New York, p. 95–107, 2010.
- N. Lymberopoulos: *Assessment of Hydrogen Energy for Sustainable Development*, Springer Publishers, 51–57.2006.
- R. Czernik, R. French, C. Feik, and E. Chornet, “Advances in Hydrogen Energy, in E. Catherine, P. Gregoire and L. Francis eds., Kluwer Academic/ Plenum Publishers, New York, pp87–91, 2000.
- K. R. J. Parera, B. Ketheesan, V. Gadhamshetty, and N. Nirmalakhandan. *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 35, p. 12224, 2010.
- R. C. Saxena, D. K. Adhikari, and H. B. Goyal. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. Vol. 13 p. 167, 2009.
- B. Valle, A. Remiro, A. T. Aguayo, J Bilbao, and A. G. Gayubo. *International Journal of Energy Hydrogen*, Vol. 38, p.1307, 2013.
- B. Acharya, A. Dutta, and P. Basu. *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 35 p.1582, 2010.
- M Marono, JM Sanchez, and E Ruiz. *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 35, p. 37, 2010.
- B. Li, X. Xu, and S. Zhang. *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 38, p. 890, 2013.
- C. H. Smith, D. I. Pineda, C. D. Zak, and J. L. Ellzey. *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol.38, p.879, 2012.
- H. Liu, H. Hu, G. Luo, A. Li, M. Xu, and H. Yao. *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 38, p.1332, 2013.
- K. Seifert, M. Waligorska, and M. Laniecki. *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 35 p.4085, 2010.
- X. Wu, H. Yang, and L. Guo. *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 35, 46, 2010.
- Y. P. Guo, S. Q. Fan, Y. T. Fan, C. M. Pan, and H. W. Hou. *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 35, p.459, 2010.
- G. Antonopoulou, H. N. Gavala, and I. V. Skiadas. *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 35, p.1921, 2010.
- M. Cui, Z. Yuan, X. Zhi, L. Wei, and J. Shen. *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 35 p.4041, 2010.
- V. Perna, E. Castello, J. Wenzel, C. Zampol, D. M. Lima, L. Borzacconi, M. B. Varesche, and M. Zaiat, C. Etchebehere. *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 38 p.54, 2013.
- B. Liu, K. Christiansen, R. Parnas, Z. Xu, and B. Li. *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 38 p.3196, 2013.
- K. Pandu, and S. Joseph. *International Journal of Advances in Engineering & Technology*, Vol. 2 (1) p.342–356, 2012.
- H. Argun, and F. Kargi. *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 35, p.1595, 2010.
- L. R. V. de Sá, M. C. Cammarota, T. C. Oliveira, E. M. M. Oliveira, A. Matos, and V. S. Ferreira-Leitão. *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 38, p.2986, 2013.
- A. Reungsang, S. Sittijunda, and I. Angelidaki, *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 38 p.1813, 2013.
- B. E. Logan, *Journal of Environment Science and Technology*, Vol.38 (9), p.160A, 2004.
- K. Nath, and D. Das. *Bio Energy News*, Vol. 7, p. 15, 2003.
- J. O’ M. Bockris, *International Journal of Hydrogen Energy* Vol. 6, p.223, 1981.
- S. Tanisho, “Feasibility study of biological hydrogen production from sugarcane by fermentation”, In Veziroglu T. N. Winter C. J. Basselt J. P. Kreysa G eds., *Hydrogen Energy Progress*. XI Proceedings of 11th WHEC, Stuttgart, Vol. 3 pp.2601, 1996.

Производство биометана

Ручика Гоял, Викаш Бабу и Гириеш Кумар Патель*
Факультет биотехнологии, Graphic Era University,
Дехрадун-248002, Индия

Краткое изложение

В последнее время широко используются и, как следствие, широко распространены запасы не возобновляемых источников энергии. Весь мир нуждается в безопасных, возобновляемых и интегрированных источниках энергии для удовлетворения потребностей в энергии будущего. Имея это в виду, биометан представляется одним из лучших источников энергии, который можно использовать в различных областях вместо природного газа. Анаэробное разложение органических отходов, шлама сточных вод и навоза метанообразующими бактериями приводит к образованию биогаза. Основная часть биогаза состоит из биометана, который очищается и обогащается. Из всех возобновляемых видов топлива с самым высоким значением БТЕ биометан является самым чистым и экологически чистым. Будучи конечным, но широкодоступным ресурсом, биомасса может сыграть важную роль в будущей реализации устойчивой энергетической системы. Фактически, при стандартном анаэробном дигерировании минерализуется около 20–30% органического вещества. Ввиду этого, необходимым условием для решения энергетических проблем является эффективное использование биомассы для повышения гидролиза и усвояемости. Выработка биогаза из биомассы является одним из наиболее благоприятных применений биомассы, и поэтому биометан называют возобновляемым или зеленым газом. В этой главе рассматриваются различные аспекты производства биометана, глобальный сценарий и его применение.

Ключевые слова: Биометан, БТЕ, биогаз, метанопроцент, органические отходы, теплоэнергетическая станция, возобновляемое топливо, показатель Воббе.

12.1 Введение

Биометан является возобновляемым природным газом, производным из биогаза. По химическому составу так же, как и обычный природный газ, биометан получают из анаэробного дигерирования органического материала, такого как животный навоз, сточные воды и коммунально-бытовые отходы (таблица 12.1), путем метаногенеза, т.е. производства CH_4 и CO_2 через биологические процессы, которые выполняются метанопроцентами [1]. Три главными причинами этого нового направления развития при обработке твердых отходов: i) необходимость применения процесса удаления органических твердых отходов более экологически чистым способом, чем в местах захоронения отходов ii) возможность получить возобновляемое топливо, называемое биогазом, которое может быть альтернативой ископаемому топливу; и iii) преимущества относительно низких затрат в процессе запуска и управления [2]. Биометан, полученный из биомассы, может заменить ископаемый природный газ. Таким образом, он может уменьшить выбросы парниковых газов и внести существенный вклад в устойчивую и экологически безопасную экономику энергетики. Кроме того, утилизация сельскохозяйственных отходов для производства биогаза может внести дополнительный вклад в охрану климата. Именно по этой причине биогаз и биометан можно рассматривать как оказывающие более позитивное влияние на глобальный климатический баланс, чем другие виды биомассы, используемые в настоящее время.

Таблица 12.1 Типичные источники и характеристики производства биогаза.

Источники	Основные характеристики
Места хранения отходов	Метан (CH ₄), двуокись углерода (CO ₂), гидросульфид (H ₂ S), водяной пар, другие сульфиды и меркаптаны, силоксан, кислород, азот, аммиак и другие остаточные газы
Станции очистки сточных вод	CH ₄ , CO ₂ , H ₂ S, водяной пар, азот, аммиак, силоксан и другие остаточные газы
Коровий навоз	CH ₄ , CO ₂ , H ₂ S, водяной пар
Технология производства пищевых продуктов	CH ₄ , CO ₂ , H ₂ S, водяной пар, азот, аммиак, силоксан, и другие остаточные газы
Городские сточные воды	CH ₄ , CO ₂ , H ₂ S, водяной пар, азот, аммиак, силоксан, и другие остаточные газы

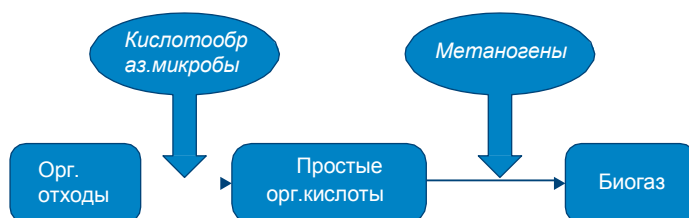


Рисунок 12.1 Основная технологическая схема производства биогаза.

Производство биогаза и биометана вносит важный вклад в стабильное и надежное энергоснабжение за счет утилизации шлама, навоза и органических отходов [3].

При анаэробном сбраживании биомассы образуется биогаз, который можно использовать в качестве мощного источника энергии. Это многоступенчатый биохимический процесс. При производстве биогаза органические отходы, содержащие углеводы, белки и жиры, превращаются в органические кислоты (например, уксусную, масляную, муравьиную, пропионовую и т. д.) с помощью кислотообразующих бактерий [3–5]. Далее эти органические кислоты превращаются в такие компоненты, как метан, диоксид углерода, аммиак, сероводород (H₂S) и водяной пар, которые входят в состав биогаза (рис. 12.1), оставляя после себя полутвердый материал, называемый дигестатом, богатый питательными веществами и пригодный для использования в сельском хозяйстве в качестве биоудобрения [6]. Многие параметры, помимо анаэробных условий, такие как температура между 37 и 42°C (мезофильные условия) или от 50 до 60°C (термофильные условия), адекватная смесь биомассы или снабжение микроорганизмов питательными веществами, влияют на эффективность и стабильность процесса производства биогаза.

Биогаз, произведенный из разных источников, будет иметь различные концентрации метана. Основными компонентами биогаза являются метан (50–80%), диоксид углерода (20–50%), азот (1–4%), водород (0–1%), другие углеводороды (0–1%), кислород (0–1%), сероводород (50–5000 ч/млн) и аммиак (0–300 ч/) [7–11]. Природный газ, поставляемый потребителям, по сути, на 100% состоит из метана и имеет энергетическую ценность около 1000 британских тепловых единиц (БТЕ) на кубический фут, в то время как значения энергии биогаза находятся в диапазоне от 500 до 650 БТЕ на кубический фут. Биогаз перерабатывают и очищают до требуемых стандартов чистоты в процессе, называемом «биогаз в биометан», который удаляет примеси в биогазе, такие как диоксид углерода, аммиак, кислород, азот, силоксаны и H₂S (рис. 12.2), а содержание БТЕ может быть улучшено до природного газа [11]. В этом процессе, наряду с удалением примесей или следовых элементов, сырой биогаз сушат и сжимают до уровня давления, требуемого для употребления полученного газа, а

также могут потребоваться такие операции как одоризация или регулировка теплотворной способности путем дозирования пропана.



Рисунок 12.2 Основная технологическая схема разделения биометана.

Удаление диоксида углерода приводит к повышению теплотворной способности и показателю Воббе.

Во время переработки неочищенный биогаз делится на два потока: первый поток метаносодержащего биометана и второй - поток отходящего газа, обогащенного CO_2 . Поскольку ни одна технология не является полностью эффективной, этот поток отходящих газов также может содержать небольшие количества метана. Исходя из концентрации метана в потоке отходящего газа он подвергается дальнейшей обработке. Существуют определенные композиционные параметры, которые должны поддерживаться или проверяться во время обработки. После обработки биометан становится возобновляемым заменителем природного газа и, будучи сжатым или сжиженным, может использоваться для заправки автомобилей, работающих на природном газе. Такое обогащение биогаза является задачей разделения газов, в результате чего получается продукт, обогащенный метаном, с требуемыми характеристиками. Это самое чистое и зеленое из всех возобновляемых видов топлива [12]. Следовательно, оно имеет трубопроводное качество и является легкодоступным низкоуглеродистым альтернативным топливом, которое может быть произведено локально из органических отходов. В настоящее время биометан относится к категории низкоуглеродистых видов топлива, но вскоре он будет перераспределен в категорию «сверхнизкого углеродного топлива», поскольку он был признан самым экологичным из всех видов биотоплива и вскоре полностью заменит «природный газ», который обычно транспортируется на рынки через свободные подземные трубопроводные системы.

По мере того, как отходы разлагаются в виде парникового газа, в двадцать раз более разрушительного, чем углекислый газ, метан попадает в стратосферу, погружая наше будущее в потемки. Производство биометана позволяет избежать выброса этого разрушительного парникового газа, поскольку биометан в автомобиле с двигателем внутреннего сгорания выделяет меньше выбросов, чем электричество, в наиболее эффективном электромобиле. В последнее время биогенные топлива собрали значительное сопротивление в большинстве стран мира, но биометану удалось избежать разногласий по поводу топлив, связанных с этанолом из пшеницы, биодизелем из сои и пальмового масла, при том, что биометан обычно перерабатывается из отходов. Сообщалось, что биометан имеет в четыре раза больше энергетической продуктивности, чем пшеничный этанол с акра земли [13].

На полигонах по переработке отходов содержатся значительные органические отходы, пригодные для анаэробного дигерирования. Это дает различные возможности для строительства электростанций, работающих на отходах. Необходимость утилизировать постоянно возрастающее количество отходов уменьшается благодаря их преобразованию в биогаз. Это дает концепцию безотходного общества, где все, что больше не используется, превращается в нечто ценное, будь то переработанная бумага, электричество, тепло или топливо. С помощью таких идей и портфеля решений можно достичь энергонезависимости и избежать глобального потепления, что приведет нас к будущему с почти нулевым уровнем выбросов [14]. Большое значение имеют энергоэффективные здания, транспорт и устойчивые условия жизни. Учитывая важность биометана, мы можем сделать акцент на следующих словах «сокращение, повторное использование и утилизация» [15–17].

12.2 Характеристики биометана

Метан - это газ в его чистом виде, лишенный запаха. Он свободно образует смесь с воздухом и имеет взрывную природу при концентрации 5–15%. Это нетоксичный газ, но в ограниченных средах

или пространствах он может привести к смерти в результате удушья при вытеснении кислорода. Теплотворная способность чистого метана составляет 1000 БТЕ/на кубический фут. Помимо этого, метан считается мощным парниковым газом, который может оставаться в атмосферном воздухе до 15 лет и примерно в 20 раз эффективнее улавливать тепло в атмосфере Земли, чем CO₂ [1].

12.2.1 Преимущества биометана

Некоторые преимущества биометана:

Биометан из возобновляемых источников, таких как молочные дигестеры и мусорные свалки, может быть надежным источником возобновляемого топлива, которое может служить источником энергии для самых чистых и эффективных объектов биоэнергетики

Уменьшает зависимость от ископаемого топлива и иностранных источников бензина

Экологичен и может снизить образование CO₂

Создает рабочие места на местах, поддерживая работоспособность местных электростанций и снижая затраты на электроэнергию, тем самым содействует успеху местных предприятий

Сокращение выбросов парниковых газов за счет вытеснения природного газа и сокращения выбросов метана в атмосферу

Во многих случаях биометан является недорогим вариантом среди возобновляемых продуктов

Очень гибкий в использовании благодаря возможностям транспортировки и хранения

Увеличивает продуктивную подготовку и использование возобновляемых ресурсов из органических

Трубопроводный биометан использует существующие трубопроводы природного газа и наиболее эффективные ресурсы производства, таким образом сохраняя ценную пропускную способность для доставки энергии ветра и солнца и оптимизации государственных инвестиций

Не требует новой дорогой перекачки или другой сетевой инфраструктуры

Возможность использовать дешевое возобновляемое топливо (биометан) при работе генераторов с комбинированным циклом, получая возобновляемые электроны с более высокой эффективностью

В отличие от ветра и солнца, выработка из биометана не является прерываемой и может быть направлена на заполнение пробелов и повышение надежности системы

Выбор технологии очистки, которая будет использоваться в широких масштабах, зависит от качества и количества неочищенного биогаза, подлежащего обогащению, а также от степени, в которой очищенный биометан должен производиться в соответствии с его конечным использованием, будь то в транспортных приспособлениях или в газораспределительной сети. Кроме того, такие факторы, как эксплуатация установки для анаэробного дигерирования, типы субстратов, используемых в растении и их постоянство, местные условия на производственной площадке также способствуют выбору технологии очистки, которая будет использоваться. В основном, этот выбор сделан технологом и будущим оператором.

12.2.2 Преимущества биометана перед метаном

По сравнению с метаном и природным газом, биометан имеет несколько преимуществ, что делает его более востребованным. Во-первых, существует неограниченная поставка биометана, в то время как метан, продаваемый газовыми компаниями, ограничен в поставках, и, во-вторых, биометан является возобновляемым, тогда как метан, продаваемый газовыми компаниями, таковым не является [12, 13, 17, 18]. Переработка, использование и производство биометана и биогаза создают «зеленые сертификаты» или «кредиты на возобновляемую энергию» для владельцев и, следовательно, благоприятны для окружающей нас среды.

12.2.3 Оценка стоимости

После установки биометанового оборудования биометан становится практически бесплатным, в отличие от покупки природного газа, который в настоящее время стоит около \$10,00/млн. БТЕ. В отличие от цены на природный газ, которая крайне сильно колеблется и является нестабильной, цена

на биометан, как правило, обычно бывает более устойчивой в течение ряда лет. Тогда биометан можно производить в безмерных количествах, а с помощью надежных и устойчивых методов можно поддерживать нашу потребность в энергии сейчас и в будущем [12, 19].

12.2.4 Полезность

Применение биометана в качестве топлива для транспорта может сократить выбросы парниковых газов до 88%, по сравнению с бензином и является важным, добываемым в пределах страны, ресурсом, который может уменьшить любую местную зависимость от иностранной нефти [20, 21].

12.3 Мировой сценарий производства биометана

21 ноября 2012 года принц Уэльский официально открыл первое в Великобритании промышленное предприятие по анаэробному дигерированию (AD) и производству биометана на сетке на ферме Rainbarrow в Паундбери, Дорсет. Этот завод принадлежит и управляется «J. V. Epergen», совместным предприятием между местными фермерами и герцогством Корнуолл. Согласно последним данным, данное предприятие является первой в Великобритании, полностью работоспособной промышленной установкой газификации промышленного масштаба, которая подает биометан (получаемый в результате разложения органических отходов) непосредственно в газораспределительную сеть. Сначала они очищают биогаз, произведенный в процессе анаэробного дигерирования, и затем вводят полученный биометан непосредственно в газораспределительную сеть. Предполагается, что для этого завода она будет вырабатывать приблизительно 400 кубических метров в час (кубометров в час) 96-процентного чистого метана (в смеси с пропаном и ароматизатором) в локальную газовую сеть, которой достаточно для подачи тепла в 4000 домов в местном сообществе в середине зимы и 56 000 домов в середине лета. Этот завод будет производить около 850 кубометров биогаза в час, используя около 41000 тонн кукурузы, травы и картофеля, выращенных местными фермерами, и органических отходов с близлежащих предприятий. Получаемый биогаз будет использоваться на теплоэлектростанции для выработки примерно 10 мегаватт электроэнергии в день [22]. Согласно отчету МЭА (IEA) «Задание 37 по биоэнергетике» [17], в настоящее время в разных странах представлено более 220 заводов по обогащению биометана, изображенных на рисунке 12.3.

Наряду с этим, в целях пропаганды данной практики проходят торжества под лозунгом «Дня биометана в Великобритании», который стартовал в 2012 году. В 2013 году этот день отмечался 21 мая в Национальном музее мотоспорта в Бирмингеме, проводимый Ассоциацией по возобновляемой энергии (REA), Лондон.

Кроме того, для соответствия стандартам использования биометана без контроля над переработкой отходов, Агентство по окружающей среде недавно пересмотрело проект протокола качества для биометана через Европейский путь к нулевым отходам (EPOW). Это также называется «Новый протокол отходов» по биометану. В настоящее время уточненный проект протокола качества находится в разработке и доступен для публичного обсуждения под следующими названиями:

Уточненный проект протокола по качеству для биометана

Оценка экологических рисков

Объяснение уточнений, внесенных в проект протокола по качеству

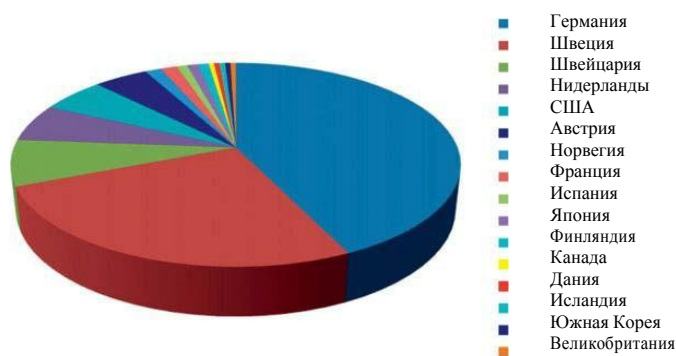


Рисунок 12.3 Данные были заимствованы из МЭА (IEA), Задание 37 [17].

Окончательная версия пересмотренного протокола выйдет в конце этого года (2013 г.). На сегодняшний момент биогаз, получаемый путем обработки отходов путем анаэробного дигерирования на полигонах для промышленных отходов и его дальнейшей переработки в биометан, может считаться отходами. Новый протокол качества внесет ясность в нормативно-правовые акты в отношении того, что биометан больше не будет рассматриваться в качестве отходов. Это также поможет установить непротиворечивое множество стандартов, необходимых для облегчения прямой подачи биометана, полученного из отходов, в газовую сеть и его использование в других приборах. Сокращая бремя нормативно-правового соответствия для предприятий, использующих биометан из источников отходов, мы надеемся стимулировать увеличение его производства и использования.

12.4 Производство биометана – технология переработки отходов в топливо

Как упоминалось ранее, биометан производится из органических материалов естественным образом путем анаэробного распада. Источники биометана включают в себя: свалки, системы общественных очистных сооружений/очистки сточных вод, каждое дерево или сельхозпродукт, который больше не жизнеспособен. Биометан также образуется в результате деятельности животных, где можно собирать навоз, а биометан - из анаэробных ферментеров, где разлагается навоз. Зарабатывание денег на экскрементах животных также дает владельцам молочных ферм сохранять свой бизнес [23, 24].

12.4.1 Компоненты биогазовой установки

Стандартная установка для получения биогаза состоит из емкости для сбора навоза, отстойника шлама, резервуара для анаэробного дигерирования и бака хранения твердых промышленных отходов (рис. 12.4), а также оборудования для переработки и использования газа [25–30]. Основные части дигестера следующие:

Емкость для сбора навоза.

Ключевым моментом при проектировании системы является количество воды и неорганические механические примеси, которые смешиваются с навозом во время сбора и обработки.

Шламный отстойник.

Он также называется смесительным баком. В этом резервуаре перерабатываемые отходы сначала перевариваются с водой для образования шлама и затем направляются в варочный котел.

Варочный котел.

В этом резервуаре подаваемый шлам оставляется для анаэробного дигерирования (AD) анаэробной микрофлорой. Анаэробная деградация разлагает подаваемые отходы на несколько более простых соединений или



Рисунок 12.4 Основная схема потока материалов в производстве биогаза.

на различные газы, которые собираются в отдельные емкости и обрабатываются для дальнейшего использования.

Сборный резервуар.

Биомасса, оставшаяся после анаэробного дигерирования, закачивается в этот резервуар и используется в качестве навозных полей в виде биоудобрения.

12.4.2 Предварительная обработка

Состав субстрата является фактором, существенно влияющим на производство метана и определение выхода при анаэробном дигерировании. На основе источника субстрата и его состава были приняты различные подходы к предварительной обработке для повышения усвояемости путем изменения физико-химических свойств. Методы предварительной обработки различны: физические (механические, термические, ультразвуковые), химические, биологические или их комбинации [26]. Подробнее о методах предварительной обработки смотрите раздел 4.2.1.

12.4.3 Производство биогаза

Анаэробное дигерирование зависит от структурных компонентов различных органических материалов, а также от микробного сообщества. После предварительной обработки образование метана происходит в четыре этапа: гидролиз, кислотогенез, ацетогенез и метаногенез. В этих процессах участвует целый ряд микроорганизмов. Микробный состав и жизнеспособность зависят от различных факторов, таких как температура, pH, аммиак, концентрация летучих жирных кислот, а также от наличия макро- и микроэлементов и т. д. Внеклеточные гидролазы, вырабатываемые микроорганизмами, отвечают за деградацию биомассы до макромолекул, например, углеводы, белки и липиды, а затем и более простые подъединицы, такие как глюкоза, фруктоза, аминокислоты и кислоты, полученные из липидов. Микроорганизмы, участвующие в гидролитическом процессе, относятся к разным таксономическим типам, таким как *Clostridia*, *Firmicutes*, *Bacilli*. При кислотогенезе простые органические соединения превращаются в летучие жирные кислоты, например, пропионовые кислоты, которые отвечают за повышенную кислотность, вызывающую расщепление уксусной, масляной, муравьиной кислот, наряду с этанолом, водородом и CO₂. Микробы, связанные с повышенной кислотностью, относятся, главным образом, к *кlostридиям*.

Возможности метаногенеза ограничиваются только *археями*. На основе основных метаболических веществ-предшественников, используемых в производстве метана, метанопродуценты делятся на две группы: 1) ацетокластический метаноген, который строго метаболизирует ацетат и вносит примерно 70% от общего производства метана; и 2) гидрогенотрофный метаноген, который использует H₂ или формиат в качестве донора электронов и CO₂ в качестве источника углерода. Некоторые метанопродуценты могут преобразовывать H₂/CO₂ и ацетат, например, *Methanosarcina spp.*, кроме того, некоторые метанопродуценты также способны превращать метильную группу, метиламин или метанол в метан [26].

12.5 Очистка и обогащение биогаза

Полезность конечного продукта, то есть биометана, служит основой для обогащения биогаза. Биогаз можно перерабатывать в различные виды высококалорийного топлива, такие как сжатый биометан (CBM), сжиженный биометан (LBM), только водород, метанол и т. д. Сжатый биометан CBM и сжиженный биометан LBM эквивалентны СПГ и СНГ соответственно. Процесс обогащения биогаза также называется осветлением, при котором удаляется большая часть CO_2 , H_2O , H_2S и других примесей. Существует небольшая разница между двумя терминами: очистка биогаза и обогащение биогаза. Очистка биогаза относится к удалению H_2S , водяного пара, NH_3 , твердых частиц и т. д., тогда как обогащение биогаза обычно относится к удалению CO_2 [31–33].

Биогаз должен находиться под давлением для впрыска природного газа или сжиматься для использования в качестве топлива, и, таким образом, процессы высокого давления особенно подходят для обогащения биогаза. Так, например, среди различных методов обогащения биогаза до биометана технология очистки высокого давления с помощью реактивного растворителя (HPRSS) использует процесс разделения, основанный на повышенном давлении, которое оказывает значительное влияние на скорость отделения CO_2 , поскольку увеличивает эффективность удаления CO_2 и уменьшает размеры очищающих реакторов. При помощи этой технологии используются реактивные растворители, такие как NH_3 и KOH , которые имеют многообещающую эффективность разделения CO_2 , а также позволяют производить ценные добавки удобрений, то есть бикарбонат аммония и карбонат калия соответственно [34, 35]. В этом технологическом способе обнаруживаются следующие экологические преимущества:

- постоянная задержка углерода в максимально возможной степени его окисления (в виде CO_2) в почве;
- внесение в почву местных удобрений N-, K- и P- элементов, обогащенными в дигестате; и
- внесение в почву местных удобрений N- или K- элементов, содержащимися в насыщенном CO_2 растворителях из установок очистки биогаза.

Нежелательные компоненты, такие как H_2S , CO_2 , N_2 , NH_3 и водяной пар из биогаза, удаляются последовательно для обогащения биогаза путем использования различных процессов. Некоторые из них описаны следующим образом:

12.5.1 Удаление гидросульфида (H_2S)

Удаление гидросульфида H_2S является предпочтительным из-за его неприятного запаха и коррозионных свойств, поскольку он разъедает варочный котел, газовые трубы, сосуды для хранения газа и газовые горелки или двигатели. Он также удаляется одновременно с CO_2 . Ниже перечислены некоторые технологии, используемые для удаления H_2S [34–36] и других сульфидов, таких как меркаптаны, из биогаза:

- Воздух впрыскивается в держатель биогаза для варочного котла.
- Применение сита с активированным углем
- Реакция осаждения
- Реакция с окиси железа или гидроксида (губчатого железа)
- Очистка гидроксида натрия
- Очистка воды

12.5.1.1 Ввод воздуха/кислорода

Впрыскивание воздуха в собранный биогаз приводит к окислению H_2S внутри водорода или воды и желтых кластеров элементарной серы. Это окисление происходит с помощью окисляющих серу (хемоавтотрофных) бактерий вида *Thiobacilli* или *Sulfolobus*, являющихся естественными на поверхности дигестата. Этот метод является примером реакции биологической фиксации и имеет низкие эксплуатационные и оперативные расходы, поскольку он дешевле и делает процесс обогащения более экономичным. Однако пропорция впрыснутого воздуха очень важна, в связи с тем, что в избытке он приводит к синтезу серной кислоты или других смесей взрывчатого газа, а остаточный кислород также может быть проблемой для газа под давлением.

12.5.1.2 Применение активированного угля

Сероводород H_2S удаляется через фильтры с активированным углем, пропитанные или смазанные йодидом калия (KI), перманганатом калия или карбонатом калия (K_2CO_3), оксидом цинка (ZnO) или серной кислотой (H_2SO_4), выступающих в роли катализаторов. Такая пропитка или смазывание делается для увеличения скорости реакции. Удаление основано на адсорбции молекул H_2S в углеродном сите. Низкий уровень O_2 в газе допускается для впрыскивания в грид или для загрузки линии. Следовательно, окисление серы не целесообразно. Таким образом, используется углерод с присадкой йодида калия KI или импрегнированный перманганатом углерод, потому что добавление кислорода не требуется применительно к йодиду калия KI при пониженной нагрузке, тогда как пропитанный ZnO углерод требует больших затрат, поэтому он также нежелателен.

Наряду с H_2S , другими молекулами, такими как CO_2 , пары воды также адсорбируются. Данный способ также используется в сочетании с методами нагнетания воздуха для повышения эффективности, так как образующаяся элементная сера быстро адсорбируется активированным углем. В любом случае, эта избирательная адсорбция достигается путем подачи давления на углеродный сетчатый фильтр в системах адсорбции с переменным давлением, а насыщенные углеродные сита регенерируются путем десорбции загрязняющих веществ для повторного использования.

12.5.1.3 Осаждение сульфидов

Применение жидкого раствора хлорида железа или добавление ионов Fe^{2+} или ионов Fe^{3+} в форме солей, таких как $FeCl_2$, $FeCl_3$ или $FeSO_4$, в смесительный резервуар или в варочный котел приводит к образованию нерастворимых частиц соли серного железа $[Fe_2(SO_4)_3]$ путем взаимодействия с H_2S в биогазовом ферментере. Поскольку они тяжелее, эти образовавшиеся частицы сульфида железа осаждаются и удаляются вместе со сброженным органическим осадком. Они положительно влияют на уменьшение запахов. Этот процесс очень эффективен для снижения высоких уровней H_2S , но менее эффективен для поддержания низких и стабильных уровней H_2S , необходимых для использования в автомобильном топливе. При таком подходе аммиак также удаляется вместе с H_2S . Осаждение сульфидов является относительно дешевым методом десульфурования.

12.5.1.4 Слой оксида или гидроксида железа (химическая адсорбция)

При помощи этого метода биогаз пропускают через среду реакционного слоя, состоящего из покрытой ржавчиной стальной ваты или гранулированного «красного шлама» (побочного продукта производства алюминия) или древесных опилок, пропитанных оксидом или гидроксидом железа, на которые H_2S реагирует эндотермически для образования железного сульфида. Пропитанные древесные опилки наиболее предпочтительны из-за легкости их доступности, низкой стоимости, большего отношения поверхности к объему, чем у стальной ваты, и более низкого отношения поверхности к массе из-за низкой плотности древесины. В анаэробных варочных котлах муниципальных очистных сооружений очистка биогаза с помощью железных стружек пропитанной древесиной является общераспространенной практикой удаления H_2S из газопровода.

Эта реакция требует воды; поэтому биогаз не абсолютизируют до этой стадии. При этом удаляется конденсация в фильтровом слое очистки высокосернистого газа, поскольку вода может уменьшить площадь реагирующей поверхности, связываясь с железooksидным веществом.

В этой технологии регенерация оксида железа довольно проста и может быть осуществлена путем потока кислорода (воздуха) на материал слоя. Обычно для этого устанавливают два реакционных слоя, причем один слой подвергается регенерации, в то время как другой слой работает для удаления H_2S из биогаза. Восстановительная реакция в этой технологии является высокоэкзотермической и может привести к самовоспламенению древесной щепы, если температура и поток воздуха не контролируются точно. Это главный недостаток этого технологического способа. Таким образом, некоторые мелкомасштабные операции с низким уровнем H_2S не предпочитают регенерацию.

Оксид железа также является десульфуратором в SOXSIA® (окисление серы и адсорбция силоксанов), катализатором, разработанным компанией «Gastreatment Services B.V. SOXSIA®»,

который адсорбирует силоксаны и удаляет H_2S из биогаза. Sulfa Treat® - еще один серийно производимый продукт для адсорбции H_2S из биогаза.

12.5.1.5 Очистка гидроокиси натрия (химическая адсорбция)

Когда биогаз растворяется в растворе гидроксида натрия ($NaOH$), он образует сульфид натрия или гидросульфид натрия, который является нерастворимым и не восстанавливаемым. Раствор $NaOH$ и воды увеличивает потенциал очистки из-за усиления физической адсорбции воды в результате химической реакции $NaOH$ и H_2S . Это также называется очисткой извести и возможностью очистки вследствие увеличения простой адсорбции воды в результате химической реакции $NaOH$ и H_2S . Это также называется очисткой извести.

12.5.1.6 Мокрая очистка

Этот процесс очистки основан на растворимости газов в воде. Например, H_2S и CO_2 более растворимы в воде, чем в метане. При помощи данного свойства, эти газы выборочно выводятся из состава биогаза. Поскольку H_2S более растворим в воде, чем CO_2 , он может быть выборочно удален в первую очередь. При помощи этого метода раствор H_2S в воде получают путем подачи биогаза через противоток воды. Из-за своей простоты этот метод обычно используется для очистки биогаза.

12.5.2 Удаление кислорода

В анаэробном процессе биогаз, как правило, не содержит кислорода в больших количествах, но является распространенной примесью в биогазе. В высоких концентрациях его обнаруживают только в том случае, если его вводят путем биологической фиксации для удаления H_2S . Большая часть кислорода, присутствующего в биогазе, потребляется факультативными аэробными микроорганизмами в варочном котле и, следовательно, присутствует в виде следов. Но он оказывает разбавляющее влияние на конечный выход энергосодержания биогаза. Не существует конкретных методов, направленных на удаление кислорода. Тем не менее, он может быть удален путем адсорбции с активированным углем, мембранной сепарации и короткоциклового безнагревной адсорбции PSA низкого давления. В некоторой степени он также удаляется при десульфурации или других методах обогащения.

12.5.3 Удаление азота

Азот является инертным газом и присутствует в больших количествах в свалочных газах, но отсутствует в биогазе, полученном на фермах, если его не вводить в виде воздуха для удаления H_2S . Его удаление довольно сложно и дорого, поскольку для его удаления используются короткоцикловая адсорбция (КЦА) и криогенные системы. Следовательно, его присутствие можно избежать, ограничивая его введение до или во время процессов очистки биогаза, если только биогаз не используется для ТЭЦ или котлов. Общие методы мембранной сепарации и адсорбции активированным углем также используются для его удаления до определенной степени. Как и кислород, он также оказывает разбавляющее влияние на содержание биогаза, и его присутствие в биогазе может привести к увеличению выбросов сгорания NO_x . Поэтому предпочтительно, чтобы азот удалялся из биогаза.

12.5.4 Удаление аммиака

Биогаз образуется в результате анаэробного дигерирования органических отходов, разложения белков на аминокислоты, и их последующее разложение приводит к образованию аммиака. Количество аммиака, присутствующего в биогазе, зависит от состава субстрата, температуры и pH в варочном котле. При этом его количество находится в минутном выражении. Из-за его высокой коррозионной природы, едкого запаха и его горючих продуктов, таких как оксиды азота (NO_x), его удаление осуществляется путем отделения от биогаза во время сушки или обогащения биогаза, с помощью методов удаления водяного пара из охлажденной воды и технологии очистки воды, где биогаз пропускается через противоток воды. В эти двух последних процесса используют преимущество растворимости аммиака в воде.

12.5.5 Удаление силоксана

Как следует из названия, силоксаны являются соединениями, имеющими связь кремний-кислород. Они широко используются в косметике, пищевых добавках, дезодорантах, мылах и шампунях. Они содержатся в биогазе, полученном из осадков сточных вод или очистных сооружений, а также в свалочном газе, но не в сельскохозяйственном биогазе из органического сырья фермы. Силоксаны, присутствующие в биогазе, могут привести к абразивному отложению силоксана на таких металлоизделиях, как трубопроводы, поршни и головки цилиндров двигателей, и т. д., что уменьшает их срок службы. Кроме того, при горении силоксанов образуется оксид кремния, который представляет собой беловатый порошок, который может создавать проблемы в газовых двигателях. И поэтому их удаление осуществляется путем охлаждения газа, адсорбции на активированном угле, активированном алюминии или геле кремниевой кислоты или на жидких смесях углеводородов [36, 37]. Коммерческие продукты, такие как SOXSIA® (окисление серы и адсорбция силоксанов), катализатор, разработанный Gastreatment Services B.V. SOXSIA®, также доступны для удаления силоксанов путем их адсорбции.

12.5.6 Удаление галоидуглеводородов

Галогенизированные углеводороды присутствуют в свалочном газе, но редко в биогазе из осадков сточных вод, а не в биогазе, полученном из органического сырья. Их присутствие в биогазе приводит к образованию диоксинов и фуранов при горении [31]. Кроме того, присутствующие галогены приводят к коррозии механических частей и сокращают их срок службы. Наиболее распространенным методом, применяемым для удаления галогенизированных углеводородов, является их адсорбция на активированном угле.

12.5.7 Удаление микрочастиц

Микрочастицы состоят из частиц пыли и масла, которые могут присутствовать в биогазе и в свалочном газе. Они вызывают механический износ двигателей внутреннего сгорания и турбин. Они разделяются с помощью механических фильтров, которые имеют размер пор 2–5 мкм и изготовлены из бумаги или ткани. После насыщения их нужно регулярно заменять [36].

12.5.8 Удаление водяных паров

Когда биогаз покидает варочный котел, он насыщается водяным паром, и при реакции CO_2 или H_2S эта вода вызывает коррозию, образуя, соответственно, углекислый газ или серную кислоту, а также приводит к засорению с регулируемым давлением, в системах транспортировки газа или в других управляющих устройствах конденсации. Содержание воды в ненасыщенном биогазе также может поступать во время некоторых процессов очистки и обогащения. Большинство устройств утилизации биогаза работают на осушенном газе, и для sprays в сетку предпочтительным является сухой биогаз. Таким образом, удаление этого содержания воды из биогаза является предварительным условием и осуществляется путем его конденсации путем изменения температуры и давления, то есть путем охлаждения, сжатия, абсорбции или адсорбции [31]. Различные механические методы, такие как установка тройников, U-образных труб или сифонов, также используются для удаления конденсата из трубопроводов. Этот процесс удаления содержания воды из биогаза называется сушкой газа. Для охлаждения следуют два практических способа. Первый - это охлаждение, в котором используются теплообменники, которые охлаждают биогаз до заданной температуры росы, при которой водяной пар конденсируется, и большее количество биогаза находится под давлением для необходимой сушки. Другим является пассивное охлаждение газа, при котором газ на короткое время выводится под землю для понижения температуры, которая конденсирует присутствующую воду. Конденсированная вода в дальнейшем собирается и удаляется. Для адсорбции используются активированный уголь, диоксид кремния, оксид алюминия или молекулярные сита. Поглощение может быть осуществлено путем использования растворов гликоля, хлорида кальция, гигроскопических солей или других органических абсорбентов на линиях до уровня утилизации биогаза.

12.5.9 Удаление двуокиси углерода

Обогащение биогаза или свалочного газа определяется как удаление углекислого газа из газа. Это приведет к увеличению удельной энергии из-за увеличения концентрации метана. Существует много процессов или технологий для удаления двуокиси углерода CO_2 из сырого биогаза [17, 31–36]. Вот некоторые из них:

- Мокрая очистка (адсорбция)
- Короткоцикловая безнагревная адсорбция (PSA)
- Химическая очистка аминами (адсорбция)
- Химическая очистка гликолями (адсорбция)
- Мембранная сепарация
- Криогенная сепарация
- Другие процессы

12.5.9.1 Мокрая очистка (Адсорбция)

Это наиболее распространенный метод обогащения биогаза. Он требует очень низких затрат на обслуживание. Этот метод основан на том факте, что CO_2 имеет более высокую растворимость в воде, чем метан, и поэтому растворяется в большей степени, особенно при более низких температурах. При помощи данного метода сырой биогаз встречается с противотоком воды в пластиковой колонне. В воде, выходящей из колонны, будет больше CO_2 , а в газе, выходящем из скруббера, будет повышенная концентрация метана. Он содержит около 95% чистого метана. Воду можно обновить путем контакта с воздухом при атмосферном давлении, либо в колонне с уплотненным слоем, либо в пассивной системе, такой как резервуар с отстойником или пруд, где давление резко снижается. Фильтрованная вода подается обратно на входном канале и используется в качестве свежей промывной среды. Такие компании, как «Biorega AB», «Metener», также разработали несколько передовых версий этой технологии. Этот тип системы, по-видимому, впервые использовался в США для удаления CO_2 из биогаза на очистных сооружениях в Модесто, штат Калифорния.

Это наиболее распространенный процесс очистки биогаза, используемый во всем мире, поскольку он простой, хорошо отлаженный и недорогой, и благодаря этому потери CH_4 относительно незначительны из-за большой разницы в растворимости CO_2 и CH_4 , хотя, если процесс не оптимизирован, потери метана могут быть больше. В сравнении с другими химикатами, воду легче утилизировать при использовании, поскольку она не требует специальной обработки и утилизации. Это еще одно преимущество этого метода.

Основным недостатком этого процесса является то, что полученный биометан требует осушки газа на конечном этапе, поскольку он насыщен водой. Более того, во время регенерации воздушные газы, такие как O_2 и N_2 , растворяются в воде и транспортируются в поток обновленного биометанового газа. Следовательно, производимый биометан всегда будет содержать O_2 и N_2 .

12.5.9.2 Адсорбция: короткоцикловая безнагревная адсорбция (PSA)

По этой методике адсорбция газов на поверхности адсорбента при повышенном давлении служит основой для разделения газов. Адсорбционные свойства различных газов при повышенном давлении различны и поэтому облегчают их разделение. Этот метод широко используется для отделения CO_2 от биогаза. Для адсорбции в качестве адсорбирующего материала используются различные типы активированного угля или молекулярные сита (цеолиты) [17, 31–33]. Благодаря избирательному удалению CO_2 достигается обогащение биогаза метаном. В пилотном масштабе имеется несколько колонок с адсорбентом, обычно четыре, шесть или девять, которые работают параллельно в разных положениях, обеспечивая тем самым непрерывную работу. Эти колонны регенерируются путем последовательного снижения давления в несколько этапов, прежде чем колонна снова загружается. Когда одна колонна насыщается, поток сырого биогаза переключается на другую колонну, в которой

регенерируется адсорбирующее вещество. Во время регенерации происходит десорбция адсорбированных газов, которые составляют отходящий газ. Чтобы уменьшить проскок метана, отходящий газ первой декомпрессии направляется обратно на входной канал необработанного биогаза, а затем на второй стадии декомпрессии он выпускается в атмосферу или направляется в установку обработки отходящего газа в зависимости от содержимого в нем. Если метан в отходящем газе имеет высокое содержание, то повторное использование на второй стадии снижения давления является дополнительным этапом. При этом, такие компоненты, как вода и сероводород, необратимо вредят или загрязняют материал адсорбента; поэтому они удаляются до операции. Такие компании, как «Quest Air» и «Acrion Systems», разработали другие различные системы модернизации, основанные на этой технологии. Сегодня также используются различные современные настройки для автоматической циклической работы нескольких колонн. Например, «Air Products, Inc.» на Olinda Landfill в Калифорнии использует одну такую установку.

12.5.9.3 Химическая очистка аминами (абсорбция)

Аминная очистка представляет собой химический процесс для удаления CO_2 из биогаза путем адсорбции. Соединения, органические амины, например, моноэтаноламин (MEA), диметилэтиламин (DMEA) и дигликоламины (DGA), используются в этом процессе очистки в качестве поглотителей CO_2 при слегка повышенном давлении (<150 фунтов/кв. дюйм). Проскок метана в этом процессе составляет менее 0,1%, поскольку амины выборочно вступают в реакцию с CO_2 , и благодаря этой селективности объем процесса значительно сокращается, т. е. на единицу объема можно растворить большие количества CO_2 . Тем не менее, из-за испарения часть жидкости теряется и должна быть заменена. Высокая производительность и высокая селективность являются основными преимуществами этого процесса. При высоких температурах (около 160°C) растворитель регенерируется путем нагревания, а CO_2 выделяется в виде практически чистого побочного продукта в конце процесса [17, 31, 32]. Данный метод предпочтительнее использовать для крупномасштабных систем, которые извлекают CO_2 из скважин природного газа, потому что в мелком масштабе этот процесс трудно применять из-за проблем расщепления амина, накопления загрязняющих веществ и коррозии. Тем не менее, биогаз из сельскохозяйственного источника содержит меньше загрязняющих веществ, чем биогаз с мусорных свалок, и коррозия сводится к минимуму с помощью трубопроводов из стальных труб. Голландская компания «Cirmas» разработала его разновидность, запатентованный процесс очистки амина (COOABTM), основанный на сложной технологии, и работает на биогазовой установке Gasslosa в Борсе, Швеция.

12.5.9.4 Физическая абсорбция органическими растворителями (всасывание)

Физическая абсорбция органическими растворителями является еще одним методом удаления CO_2 путем физического поглощения [17]. Для поглощения CO_2 используется органический растворитель, такой как полиэтиленгликоль (PEG). По сравнению с CH_4 , CO_2 и H_2S больше растворимы в полиэтиленгликоле, чем в воде. Это приводит к снижению спроса на растворители и снижению перекачки. Selexol® и Genosorb® являются легкодоступными коммерциализированными растворителями для этого метода и широко используются в газовой промышленности и в других областях. При очистке загрязняющих веществ селексом, за исключением CO_2 , то есть H_2S , вода и галогенированные углеводороды также удаляются, если они присутствуют. Однако перед обогащением их желательно удалить. Гликоль регенерируется при нагревании и/или сбросе давления в растворе полиэтилена.

12.5.9.5 Мембранная сепарация: проникновение газа

Мембраны также используются для обогащения биогаза. Они высокоселективны из-за своего специфического размера пор. Мембранная сепарация является одним из традиционных методов обогащения газа из органических отходов. В основном, в процессах мембранной сепарации применяются давление и селективная мембрана, которая позволяет преимущественное прохождение определенного газа [32]. Из-за несовершенного разделения процесс часто выполняется в несколько этапов. Количество и взаимосвязь применяемых мембранных ступеней обусловлены заданной рекуперацией метана и конкретной потребностью в энергии сжатия. В целях повышения их

производительности, перед мембранами также используются фильтры. В некоторых случаях для достижения высокой эффективности мембраны используются сериями. Они часто состоят из полимеров, таких как полисульфон, полиимид или полидиметилсилоксан. Обычно мембраны имеют форму полых волокон, соединенных вместе, для того, чтобы обеспечить достаточную площадь поверхности мембраны в компактных размерах установки. В пучках из полого волокна они объединяются, чтобы собрать ряд параллельных мембранных модулей для повышения эффективности процесса разделения. Они проницаемы для аммиака, углекислого газа и воды, в то время как сероводород и кислород в определенной степени проходят через мембрану, а метан и азот - в очень незначительной степени. При охлаждении азот отделяется от метана из-за разницы их температур кипения. Мембраны низкого давления, кажется, более эффективны для удаления CO_2 . Первые заводы были построены в США в конце 1970-х годов, а затем в Нидерландах. В этих ранних разработках потери метана снизились до 25% из-за повышенного давления, но позже новые конструкции показали гораздо меньшие потери метана или высокую регенерацию метана и довольно низкие потребности в энергии из-за редуцированного давления. Для достижения желаемого качества и количества производимого потока биометана рабочее давление и скорость компрессора строго контролируются. Такие компании, как «Axíom», играют важную роль в этой технологии.

12.5.9.6 Криогенное разделение

Это еще один метод разделения CO_2 и метана для обогащения биогаза. Этот процесс осуществляется в два этапа. Во-первых, сырой биогаз охлаждают до температуры сублимации или конденсации CO_2 , при которой 30–40% CO_2 удаляется в виде жидкости, а во-вторых, оставшийся CO_2 выделяется в виде твердого вещества. Температура сублимации чистого CO_2 составляет 194,65 К. Данный двухэтапный процесс приводит к накоплению метана в газовой фазе и облегчает отделение CO_2 в виде твердой или жидкой фракции. Во время процесса охлаждения удаляются также нежелательные вещества, такие как вода и силоксаны. Оптимизация регенерации энергии и удаление различных нежелательных газов в биогазе осуществляется в несколько этапов путем охлаждения газа. [31–33].

12.6 Заключение

Анаэробное дигерирование является одним из наиболее эффективных биологических процессов при обработке широкого спектра субстратов, приводящих к низкому содержанию биогаза. Между тем, различные факторы, такие как состав и качество субстрата и субстратного кофактора, факторы влияния окружающей среды (температура, pH, скорость органического нагружения) и динамика микробов, должны быть оптимизированы, чтобы получить максимальную выгоду от этой технологии с точки зрения энергетической продуктивности и очистки органических отходов. Резистентность биомассы создает еще одну проблему как при ферментативной, так и при микробной биологической переработке, что приводит к низкому выходу биометана. Поэтому важно понимать различные факторы, чтобы обеспечить эффективную повторную обработку и биологическую переработку, увеличить доступную поверхность и уменьшить содержание лигнина. Как правило, термический метод (физический или термофильный биологический) увеличивает производство биогаза. Ультразвуковая обработка является перспективным методом повышения способности к биологическому разложению путем нарушения физических, химических и биологических свойств осадка, что приводит к увеличению производства биогаза. Производство биометана вызывает необходимость всестороннего понимания о сохранении биоразнообразия в контексте многогранного ландшафта. Культивирование топливных культур для производства биогаза можно интегрировать в существующие агроэкосистемы и предоставляет возможности для ответственного использования природных ресурсов.

Использованная литература

- A.O Jactone., W. Zhiyou, I. John, B. Eric, E.R. Collins, Virginia Cooperative Extension Publication p 442–881, 2009.
- E.Giovanni, F.Luigi, L. Flavia, P. Antonio, P. Francesco, The Open Environmental Engineering Journal, 5, 1–8, 2012.
- “Biomethane: The energy system’s all-rounder”. German Energy Agency, Article No. 5012, Dena, Germany.
- J. C. Barker, EBAE pp 71–80, 2001.
- M.H. Gerardi, The Microbiology of Anaerobic Digesters, Wiley-Interscience. N.J. 2003
- F.Tambone, P. Genevini, G.D. Imporzano and F. Adani, Bioresource Technology, 100, 3140–3142, 2009.
- URL: www.biogas.psu.edu Accessed on 25–04-2013.
- J. Friehe, P.Weiland, A. Schattauer, Biogas guide, Gülzow, 2010.
- www.cleanenergyfuels.com/why/biomethane.html
- E.R.Collins, H.A. Hughes, Energy Management Series Publication 718, Virginia Cooperative Extension, 1976.
- J. Jensen, “Biomethane for Transportation: Opportunites for Washington State”, January 2013.
- <http://www.biomethane.com> (Accessed on Jan 25, 2013).
- “Biogas to biomethane technology review”. Deliverable Reference: Task 3.1.1, 2012.
- R.D. Treloar, Gas Installation Technology. Blackwell. p. 24. ISBN 978-1-4051-1880-4, 2005.
- EPA AgStar (URL: www.epa.gov/agstar/) Accessed on 25-04-2013.
- ASTM International. “Annual book of ASTM standards: Waste Management”, vol. 04.11, 2011.
- A. Petersson and A. Wellinger, IEA Bioenergy pp 1–20. 2009.
- E. Ryckebosch, M. Drouillon, H. Vervaeren, Biomass and Bioenergy 35, pp 1633–1645, 2011.
- “Financial Analysis of Biomethane Production in Biomethane from Dairy Waste”: A Sourcebook for the Production and Use of Renewable Natural Gas in California, pp 147–163.
- T. Persson and M. Svensso, IEA Bioenergy Conference, 2012.
- M. Kaltschmitt, H. Hofbauer, S. Stucki, M. Seiffert, Presentation at the Energy Convent, Stockholm, 2007.
- <http://www.biomethane.org.uk/> Accessed on 25-04-2013.
- A. Karagiannidis and G. Perkoulidis, Bioresource Technology, 100, 2355–2360, 2009.
- F. Raposo, V. Fernandez-Cegri, M.A. De la Rubia, et al., Journal of Chemical Technology and Biotechnology, Vol. 86, p1088–1098, 2011.
- R.A. Parsons NRAES-20, Cooperative Extension, Northern Regional Agricultural Engineering Service. 1984.
- T.S. Quinones M. Plochl et al., “Hydrolytic enzyme enhancing anaerobic digestion in: Biogas Production” A. mudhoo (ed), Scrivener-Wiley, Beverly, MA pp. 157–198, 2012.
- F. Graf, S. Bajohr et al., “Biogas – Production, preparation, supply”, Munich, 2011.
- “Demonstration of the production and utilization of synthetic natural gas (SNG) from Solid Biofuels”, Specific Targeted Research Project, 2006.
- G. Plaza, P. Robredo, O. Pacheco, T. A. Saravia, Water Science and Technology, 33,169–175, 1996.
- T. Forster-Carneiro, M. Pérez and L. I. Romero, Bioresource Technology, Vol. 99, p 6994–7002, 2008.
- K. Krich, D. Augenstein, J. P. Batmale, J. Benemann, B. Rutledge, D. Salour, A Sourcebook for the Production and Use of Renewable Natural Gas in California, pp 47–69.
- A. Makaruk, M. Miltner, M. Harasek, Separation and Purification Technology, 74 pp. 83–92, 2010.
- M. Miltner, A. Makaruk, J. Krischan, M. Harasek, Water Science and Technology, vol. 66 pp.1354–1360, 2012.
- W. F. Owen, D. C. Stuckey, J. B. Healy Jr., L. Y. Young and P. L. McCarty., Water Resources, Vol. 13, pp 485–492, 1979.
- <http://www.environment-agency.gov.uk/epow> accessed on 25-04-2013.
- “Biomethane Regions: Introduction to Production of Biomethane from Biogas”.
- IEE pp 1–47.
- P. Hook, “Siloxanes in Biomethane”. (URL: www.sgn.co.uk/greening-the-gas) accessed on 25-04-2013.

Алфавитный указатель

Абсолютирование, 246
Ацетон, 121, 173, 222
Ацетон, 261, 267
Ацетон-бутанол-спиртовое брожение (ABE), 154, 256, 263, 264, 265
Ацетил-КоА, 125
Гидролиз в кислой среде, 26, 101, 216
Кислотная предочистка, 95, 220
Кислота, 95
Кислотообразование, 266, 267, 291, 343
Активированный уголь, 345
Ацил-КоА оксидоредуктаза Дегидрогеназа, 287
Адсорбция, 274
Algae, 67
Топливо на основе водорослей, 37, 61
Водоросли, 61
Щелочная предочистка, 95
Щелочный, 96
Алкиловые эфиры, 184
Американский стандарт быстроходного дизеля, 302
Перколяция с использованием рециркулируемого аммиака (AFEX), 75, 93
Аморфадин, 126
 α -Амилаза, 126
Р-Амилаза, 126
Амилпектин, 215
Амилоза, 215
Анаэробное дигерирование, 335
Анаэробный, 313
Применение микроводорослей и цианобактерий в биотопливе, 172

Арабиноза, 124, 131, 219
Aspergillus niger, 153
Aspergillus oryzae, 232
Вызревание, 337
АТФ, 226
Азеотроп, 109, 243

Бактерия, 226, 231
Бактериальная целлюлоза, 76
Ячмень, 215
Периодический, 233, 234
Помол в шаровой мельнице, 66
Всчерпанная питательная среда, 242
Биобутанол, 35, 154, 256, 257, 271
Биокатализ, 123, 293
Биоконверсия, 90, 112
Биодизельные смеси, 298
Биодизель, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 156, 286, 184
Биоэнергия, 3, 4
Биоэтанол, 3, 4, 89, 90, 120, 151, 188, 211, 304
Биоудобрение, 335

Разработка биотоплива, 44
 Производство топлива, 4
 Биотопливо, 1, 2, 16, 89, 119, 148, 256, 260, 285
 Очистка биогаза, 343
 Биогазовая установка, 341
 Производство биогаза, 335, 342
 Обогащение биогаза, 336
 Биогаз, 159, 190
 Боводород, 158, 186, 304
 Биологическая фиксация, 345

 Биологическая предпочистка, 96–97, 223
 Биологическая реакция конверсии водяного газа (BWGS), 319
 Биологический, 96
 Биомасса, 2, 3, 6, 12, 13, 312
 Биометан, 1, 7, 12, 13, 14, 19
 Биосмягчение, 301
 Бионефть, 33, 320
 Биофотолиз, 121, 313
 Биоперерабатывающий завод, 1, 30, 33, 34, 39, 42, 43
 Биологический сингаз, 172
 Биосинтез, 134
 Биотехнические проблемы, 193
 Потемнение, 217
 Преобразование биомассы в синтетическое топливо, 30
 Бутанол, 256, 257
 Масляная кислота, 125, 173

C. acetobutylicum, 272
 Температура кальцинации, 292
Candida pseudotropicalis, 230
Candida shehatae, 230
 Двуокись углерода, 159
 Карбоновые кислоты, 222
 Маниок съедобный, 151, 215
 Бескатализаторная трансэтерификация, 295
 Катализаторы, 345
 Кавитационные пузырьки, 67
 Объединенная биообработка (ОБО), 108
 Иммобилизация клеток, 238
 Целлюлаза, 152
 Микробы-продуценты целлюлозы, 122
 Фермент, разрушающий целлюлозу, 75
 Целлюлоза, 86, 218, 101
 Целлюлозный этанол, 25
 Целлюлосома, 103
 Центрифугирование, 238
 Цетановое число, 69, 297
 Химическая адсорбция, 346
 Химический гидролиз, 76
 Химическая потребность в кислороде, 245
 Химическая предварительная обработка, 94–96, 220, 223
 Химическая обработка, 92–94
 Химический, 94
 Хемостат, 236
 Классификация биотоплива, 17
 Точка помутнения, 296

Взрыв CO₂, 94
 Совместная дистилляция, 109
 Оптимизация кодона, 129
 Компетентный, 130
 Консолидированная биообработка, 108, 122, 123
 Непрерывный, 233, 236
 Обычный биодизель, 1, 11, 20, 21
 Побочные продукты, 191
 Этанол, полученный из кукурузы, 1
 Кукуруза, 120, 215
 Противоточные реакторы, 77
 Гидрогенизация кротонового альдегида, 261, 262
 Криогенное разделение, 353
 Нанореактор CTi, 67
 Цианобактерия, 171, 317

 Темновая ферментация, 158, 187, 313, 318
 Дегидрирование, 246
 Деполимеризация, 129
 Детоксикация, 75, 104–106, 213, 221
 Гидролиз разбавленной кислотой, 220
 Диметиловый эфир, 34
 Дистилляция, 109, 125, 243
 Сушеные кукурузные дробины (DDG), 247
 Сушеные кукурузные дробины растворимые (DDGS), 217, 247
 Технология производства и выделения целевого продукта, 132
 Сушка этанола, 246
 Сухой помол, 217
 D-ксилоза 131

 Экологичное сжигание, 148
 Экологические проблемы, 195
 Проблемы экономики, 197
 Электропорация, 130
 Электролизис, 311

 Путь Эмбден — Мейергофа (ЭМП), 227
 Капсулирование, 238
 эндо-1, 4-р – глюконаза,
 Ферментативный гидролиз, 101–104, 119, 124, 216
 Кишечная палочка *Escherichia coli*, 232
 Выделение этанола, 242
 Этанол, 211
 Этанологический, 123
 Европейский стандарт автомобильного дизеля, 302
 Европейский путь к нулевым отходам (EPOW), 340
 Эвалонатный путь, 126
 Экзо-1, 4-р -d-глюканазы, 224
 Экстрактивные вещества, 105

 Гены *fadE/D*, 287
 Фарнезен, 133
 этиловые эфиры жирных кислот (ЭЭЖК), 286
 Сложный метиловый эфир жирной кислоты, 2
 Моноалкиловый эфир жирных кислот (МЭЖК), 286
 Периодическая подпитка, 233, 235
 Исходное сырье, 2, 3, 4, 5, 6
 Процессы ферментации, 233

Ферментация, 106–109, 119
 Ферментативный этанол, 212
 Нитчатые грибы, 232
 Биотопливо первого поколения, 2, 3, 5, 8, 18, 28, 34, 36, 44, 60
 Температура вспышки, 297
 Плоскопластинчатый, 63
 Флоккуляция, 182
 Формиат-дегидрогеназа, 125
 Формиат-водород лиаза, 125
 Мравьиная кислота, 216, 222
 Ископаемое топливо, 89
 Биотопливо четвертого поколения, 51
 Мутация со сдвигом фазы, 139
 Топливный рынок, 211
 Фурфурол 101, 105, 121, 222
Fusarium solani, 157
Fusarium, 232
 Сивушное масло, 243

Галактоза, 214, 219
 Галактуроновая кислота, 219
 Осушка газа, 349
 Отдувка газом, 274
 Газификация, 29
 Манипуляция с генами, 122
 Генная и метаболическая инженерия микроводорослей, 198
 Генная инженерия, 50, 109, 123
 Генетически модифицированные микроорганизмы, 110, 112
 Глюкан, 219
 Глюкоамилаза, 217
 Глюкоза, 214, 219
 Глюкуроновая кислота, 219
 Р-d-глюкозидазы, 224
 Рgd-глюкозидглюкогидролазы, 224
 1, 4-p,d-глюкан-4-глюкогидролазы, 224
 Глицеральдегид-3-фосфат, 126
 Глицерин, 11, 30, 38, 286
 Глицерин-3-фосфат ацилтрансфераза, 136
 Гликолиз, 226
 Грамоотрицательная бактерия, 231
 Грамотрицательный, 125
 Газы с тепличным эффектом, 3
 Гваяциловые лигнины, 219
 Гваяцил-сирингильные лигнины, 219

Гемицеллюлаза, 76, 87
 Гемицеллюлоза, 86, 218, 219
 Гетерогенный катализ, 292
 Гетерологичные гены, 130
 Высшая теплота сгорания (HHV), 298
 Реактивный растворитель высокого давления (HPRSS), 343
 ГМФ, 222
 Гомогенный катализ кислотами, 291
 Гомогенный основной катализ, 291
 Гомогенный катализ, 291
 Гомогенизация, 66
 Время гидравлического удержания (HRT), 158
 Соляная кислота, 220

Оксосинтез, 261
Водород, 9, 12, 13, 19, 20, 23, 24, 25, 26, 27, 29, 32, 310
Водородные ферменты, 313
Сероводород, 160
Гидрогеназа, 125, 188, 313
Возобновляемое дизельное топливо на основе гидрогенизации (HDRD), 72
Гидролиз, 97–104, 119, 160, 213, 221
Гидролазы 123
Гидролизаты, 221
Гидроочистка, 71
Гидротермальное сжижение, 34
Гидротермальный процесс, 34
Водный биоэтанол, 5
Гидроксиметилфурфураль, 216

Иммобилизация, 294
Промышленная ферментация, 268, 269
Ингибиторы, 233
Ингибиторные соединения, 222
Детоксикация в реальных условиях, 235
Способ разделения в реальных условиях, 273, 275
Изоамилаза, 217
Изопреноиды, 126, 172 Изопренил пирофосфат (ИППФ), 126

Jatropha curcas, 287
Ятрофа, 157
Жожоба, 157

Керосин, 1
керосин, л-АСР синтаза, 135
Klebsiella oxytoca, 125
Цикл Кребса или трикарбоновой кислоты (ТКА), 227
Киотский протокол об изменении климата, 212

Дакказа, 76, 97
Молочная кислота, 121
Lactococcus lactis, 139
Латентная фаза, 234
Лигнинпероксидаза, 76
Лигнин, 86, 87, 218, 219
Лигноцеллюлоза, 3, 86, 119, 153, 213
Лигноцеллюлозная биомасса, 121, 153, 168
Лигноцеллюлозный материал, 218
Лигноцеллюлозный, 88
Известковая сероочистка, 347
Липаза, 294
Липогенный, 126
Плавление, 213, 216
Жидкий биометан (ЖБ), 343
Экстракция жидкости жидкостью, 277
Левулиновая кислота, 216, 222

M. circinelloides, 233
Реакция Майяра, 217
Кукуруза, 151
Малонил КоА, 135
Манназа, 76
Манноза, 214, 219

Кормовая смесь, 242
 Медиатор, 97
 Метаболическая инженерия, 119, 124, 185, 271, 272
 Метаболический путь, 124
 Металлогеномика, 112
 Металлокластеры, 313
 Метан, 159
 Метаногенез, 334
 Метанол, 7, 10, 11, 12, 24, 30, 31, 121, 125
 Метилглюкуроновая кислота, 219
 Метилэритритовый путь, 126
 Метиловый эфир, 126
 Мевалонатный путь, 133
 Преимущества микроводорослей, 173
 Биотопливо из микроводорослей, 170
 Культивирование микроводорослей, 179
 Сбор микроводорослей, 181
 Обработка и извлечение микроводорослей, 182
 Отбор микроводорослей, 177
 Микроводоросли, 289
 Микробиологическая ферментация, 124
 МКЭ, 298
 Размельчение 92, 213
 Молярное соотношение метанола/этанола к маслу, 295
Monilia, 232
Mucor indicus, 232
 Городские отходы, 89
 Горчица, 157
 НАДН, 227
 НАДФ 227
 Протокол новых отходов, 340
 Азот, 160
 Нитрогеназа, 313, 186
 Неткаталитические сверхкритические флюиды, 295
 Нуклеофильная атака, 68
 Нутрилат, 237
 Овес, 215
 Поток отходящего газа, 336
 Извлечение масла, 65
 Оливковое масло, 1
 Органосольвентная предпочистка, 96 Органосольватация, 96
 Избыток окиси кальция, 222
 Оксидоредуктаза, 136
 Оксосинтез, 261, 262
 Озонолиз, 94

Raecilomyces, 232
 Всеобщая метаболическая инженерия, 137
 Пентозофосфатный путь, 226, 227
 Первапорация, 277, 278
 Фоксостат, 237
 Фенилпропановые соединения, 219
 Фотобактерия, 129
 Фотобиореактор, 61, 63, 181, 299
 Фотозлектролиз, 314
 Фотоферментация, 121, 313, 317, 324,
 Фотохимический синтез, 121, 170
 Физическая обработка, 91–92, 223

Физический, 91
 Физико-химическая предочистка, 223
 Физико-химический, 92
Pichia stipites, 125
 Реактор с пульсирующим потоком, 77
 Элементы политики, 4, 5
 Поликетидный путь, 134
 Полисахариды, 215
 Картофель, 215
 Точка потери текучести, 296
 Прессование, 65
 Прессование, 66
 Предварительная обработка, 90, 213, 221
 Пропанол, 125
 Пропионат, 173
 Короткоцикловая безнагревная адсорбция (PSA), 351
 Пуллуланаза, 217
 Чистое растительное масло (PPO), 2
 Пиролиз, 31, 70, 92, 299, 315
 Пируватдекарбоксилаза, 124
 Канал для отвода, 61
 Радиация, 92
 Окислительно-восстановительный дисбаланс, 226
 Кредиты на возобновляемые источники энергии, 339
 Возобновляемые источники, 312
 Реппе реакция, 261, 262
 Перестановка, 122
 Методология поверхностного отклика, 302
 Рамноза, 219
Rhizomucor, 232
Rhizopus oryzae, 232
 Рожь, 215
Rzyzypose, 232

S. carlsbergensis, 229
S. cerevisiae, 123, 125, 228, 229
S. ellypsoidese, 229
S. fragilis, 229
 Осахаривание, 101, 213
Schizosaccharomyces pombe, 230
 Биотопливо второго поколения, 2, 3, 8, 13, 14, 17, 23, 40, 42, 44, 60, 124
 Раздельный ферментативный гидролиз и ферментация (SHF), 106, 239, 240
 Биореакторы с термоуладоочным слоем, 77
 Силоксаны, 160, 348
 Одновременное осахаривание и ферментация (SSF), 107, 225, 239, 240
 Солнечное топливо, 41
 Золь-гель метод, 289
 Сольватирующая мощность, 67
 Экстракция на сольвентной основе, 66
 Токсичность растворителя, 271
 Разрушение ультразвуком, 66
 Сорго, 151, 215
 Сесквитерпен, 126
Staphylococcus warneri, 157
 Метод парового взрыва, 74
 Паровой взрыв, 93
 Паровой риформинг, 311
 Погруженный, 217
 Перегонка, 245
 Субкритические жидкости, 293

Сахароза, 214
 Сахарная свекла, 151
 Сахарный тростник, 2, 5, 6, 7, 8, 28, 37, 39, 40, 43, 120, 151
 Сахара, 214
 Серная кислота, 216
 Подсолнечное масло, 157
 Сверхкритическая флюидная экстракция, 66
 Сверхкритические флюиды, 293
 Устойчивость, 148, 248
 SWOT-анализ, 175
 Синтез-газ, 28, 78

 Синтетическая биология, 120, 125
 Синтетический этиловый спирт, 212
 Синтетический газ (сингаз), 311, 313, 316, 321
 Синтетическое керосиновое реактивное топливо, 72
 Терпеноиды, 126
 Пирогенизация, 312
Thermoanaerobacter ethanolicus 153
 Термолизис, 314
Thermotoga elfii, 159
 Биотопливо третьего поколения, 18, 35
Torula cremoris, 230
 Транскрипция, 136 Трансэтерификация/основной катализ, 68, 156, 290
 Трансформация, 130
 Трансляция, 136
 Триацилглицерин, 177
Trichoderma reesei 153 *Trichoderma reesei* cellulases, 241
 Триглицериды, 169
 Тритикале, 215
 Трубчатый, 63
 Турбидостат, 237
 Полисорбат Tween 20, 225
 Tween 80, 225
 Ультразвуковая обработка, 354
 Первичная переработка, 132
 Бытовые отработанные масла (UDWO), 289
 Вакуумная дистилляция, 278, 279
 Сосудистое растение, 170
 Вертикальный столб, 62
 Летучая жирная кислота, 318
 Полигоны для удаления и переработке отходов, 337
 Станция очистки сточных вод, 334
 Реакция конверсии водяного газа (WGS), 313, 316
 Мокрый размол, 217
 Китовый жир, 1

 Пшеница, 151, 215
 Грибы белой гнили, 97
 Ветротурбины, 147
 Показатель Уобба, 336
 Ксиланы, 87
 Ксилитолдегидрогеназа, 136
 Ксилит, 228
 Ксилозаизомераза (XI), 229
 Редуктаза ксилозы (XR), 228
 Ксилоза, 124, 214, 219, 226
 Ксилулоза, 228
 Дрожжи, 226, 229

Безотходное общество Безотходное сообщество, 337
Зимаза, 152
Zymomonas mobilis, 123, 231

Также представляет интерес

Проверьте эти другие связанные названия от Scrivener Publishing

«Производство биогаза» («Biogas Production»), под редакцией Ackmez Mudhoo, ISBN 9781118062852. Этот том охватывает сверхпередовые процессы предварительной обработки, изучаемые на сегодняшний день и используемые для производства биогаза во время процессов вываривания в анаэробных условиях с использованием различных видов сырой нефти, при помощи наиболее вероятных эффективных экономических методов. УЖЕ В ПРОДАЖЕ!

«Биоремедиация и устойчивое развитие: исследования и применение» («Bioremediation and Sustainability: Research and Applications») под редакцией Romeela Mohee и Ackmez Mudhoo, ISBN 9781118062845. Биоремедиация и устойчивое развитие - это современный и всеобъемлющий подход в исследованиях и применении некоторых наиболее важных недорогих «зеленых» новых технологий в химической и экологической инженерии. УЖЕ В ПРОДАЖЕ!

«Устойчивые цены на энергию» («Sustainable Energy Pricing»), Gary Zatzman, ISBN 9780470901632. В этой новой противоречивой книге автор исследует новую науку о ценах на энергоносители и рассказывает о возможности их устойчивости для мировой экономики и окружающей среды. УЖЕ В ПРОДАЖЕ!

«Зеленая химия и восстановление окружающей среды» («Green Chemistry and Environmental Remediation») под редакцией Rashmi Sanghi и Vandana Singh, ISBN 9780470943083. Представляет высококачественные исследовательские работы, а также подробные обзорные статьи о новом формирующемся «зеленом» лице многомерной химии окружающей среды. УЖЕ В ПРОДАЖЕ!

«Этика в технике» («Ethics in Engineering»), James и Russell Foote, ISBN 9780470626023. Охватывает этические вопросы в машиностроении, наводящие на размышления. УЖЕ В ПРОДАЖЕ!

«Хранение энергии: новый подход» («Energy Storage: A New Approach»), Ralph Zito, ISBN 9780470625910. Исследуя потенциал клеток с обратимой концентрацией, автор этой революционной книги раскрывает новые технологии для решения глобального кризиса хранения энергии.

«Биоремедиация нефти и нефтепродуктов» («Bioremediation of Petroleum and Petroleum Products»), James Speight и Karuna Arjoon, ISBN 9780470938492. Поскольку разливы нефти, взрывы и проблемы со здоровьем, связанные с нефтью, появляются в заголовках газет почти каждый день, проблема восстановления нефти и нефтепродуктов приобретает все большее значение, для выживания нашей окружающей среды, нашей планеты и нашего будущего. Эта книга - первая в своем роде, которая исследует эту сложную проблему с инженерной и научной точки зрения и предлагает решения и разумные действия.