

**МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО  
ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН**

**САМАРКАНДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

*На правах рукописи  
УДК 578. 08*

**ВАХАБОВА НИЛУФАР АБДУХАЛИЛОВНА**

**ИЗУЧЕНИЕ МЕТОДОВ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЭТАНОЛА ИЗ БИО-  
МАССЫ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ДИКОРАСТУЩИХ ПУСТЫННЫХ  
ТРАВ**

**Специальность 5А- 140104 «Биотехнология»**

**ДИССЕРТАЦИЯ**

**На соискание академической степени магистра**

**Диссертация рассмотрена  
и допущена к защите.  
Зав. кафедрой «Генетики и биохимии»  
Кандидат биологических наук  
доц. И.Ш.Джабборов**

---

«\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2016 год

**Научный руководитель :  
Кандидат биологических наук  
доц. Кан С.В**

---

«\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2016 год

САМАРКАНД – 2016 г

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА I. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	7
1.1.Современные виды биотоплива и их классификация.....	7
1.2.Характеристика сырья для получения биоэтанола и микроорганизмов используемых в гидролизном производстве.....	15
1.3.Современные технологии получения биоэтанола.....	24
1.4.Утилизация отходов гидролизного производства.....	32
Выводы по I главе .....	38
ГЛАВА II. ОБЪЕКТЫ, МЕСТО И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	39
2.1.Место исследований .....	39
2.2. Объекты исследований.....	39
2.3.Методы исследований.....	40
Выводы по II главе.....	42
ГЛАВА III. ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	43
3.1. Изучение морфологических особенностей и химического состава некоторых видов пустынных растений.....	43
3.2. Изучение методов получения биоэтанола из некоторых видов пустынных трав.....	49
3.2.1.Изучение процессов гидролиза разбавленной серной кислотой.....	49
3.2.2.Изучение процессов гидролиза концентрированной серной кислотой.....	58
3.3.Изучение процесса ферментации микроорганизмами биомассы некоторых видов пустынных трав.....	66
3.4. Обсуждение результатов.....	74
ВЫВОДЫ .....	79
РЕКОМЕНДАЦИИ .....	81
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ .....	82

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность работы.** Развитие мировой экономики, рост населения и уровень его благосостояния привели к дефициту энергоресурсов. Необходимость решения глобальных проблем, связанных с ограниченностью ископаемых запасов топлива, обеспечение экологической и энергетической безопасности обуславливает развитие в мире возобновляемой энергетики, особенно биоэнергетики - быстроразвивающаяся самостоятельная отрасль современной энергетики. В настоящее время наступает эпоха использования биотехнологических методов получения нетрадиционных источников энергии из возобновляемых природных ресурсов [1,7].

Особое место в структуре возобновляемых источников энергии занимает жидкое биотопливо. Будучи одним из немногих видов альтернативного топлива в транспортном секторе, биотопливо рассматривается в качестве важного источника энергии и является ресурсом, обеспечивающим энергетическую безопасность, развитие сельского хозяйства и сельских регионов, а также смягчает последствия изменения климата путем сокращения выбросов парниковых газов в атмосферу. Самыми важными видами такого топлива являются биоэтанол и биодизель [17,33].

В настоящее время производство биоэтанола является наиболее динамично развивающимся сектором биотопливной отрасли. На его долю приходится 85 % объема мирового производства биотоплива. Увеличение объемов производства биоэтанола в мире является следствием решения задач защиты окружающей среды, постепенный отказ от нефти и газа и переход на новые возобновляемые виды топлива. Основное направление использования биоэтанола получение смесевых топлив (этанол + бензин) с достаточно высоким энергосодержанием.

В качестве сырья для производства биоэтанола можно использовать сахаросодержащие, крахмалосодержащие и целлюлозосодержащие культуры, но наиболее перспективным является целлюлозное сырье.

В зависимости от вида используемого сырья процессы производства биоэтанола могут значительно отличаться. Но некоторые из основных этапов в процессе остаются теми же, несмотря на то, что они могут протекать в различных условиях температуры и давления, могут использоваться различные микроорганизмы. Гидролиз является предварительной обработкой, в результате которого полисахариды расщепляются до моносахаридов, которые затем сбраживаются [23].

Актуальность разработок технологий получения гидролизного этанола из растительного сырья признается и в Узбекистане, так как около 60% ее территории составляют пустыни и полупустыни с характерным для них видовым составом растений. В настоящее время современное состояние естественных пустынных пастбищ радикально изменяется под влиянием хозяйственной деятельности человека, превращая их на деградационные территории с преобладанием растений, которые мало или почти не имеют хозяйственного значения. В связи с этим разработка методов получения биоэтанола из растительной биомассы пустынных трав является актуальной научно - практической проблемой биотехнологии и ее современного направления – биоэнергетики.

**Предмет и объекты исследования.** Предмет исследования относится к биотехнологии и направлен на изучение методов получения биоэтанола биохимическим путем, в основе которого лежит спиртовое брожение.

Объектами исследования являются малопригодные для сельского хозяйства виды многолетних пустынных трав: гармала обыкновенная (*Peganum Harmala*), зопник коровяковидный (*Phlomis thapsoides*), ирис джунгарский (*Iris songarica*), псоралея костянковая (*Psoralea drupacea*), а также промышленные штаммы спиртовых дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [11,35].

**Цель исследования.** Целью наших исследований является изучение и разработка методов получения биоэтанола из биомассы пустынных трав, являющихся источником целлюлозосодержащего сырья.

### **Основными задачами исследования являются:**

1. Изучение различных видов биотоплива и сырья, а также современных технологий их получения.

2. Изучение морфологических особенностей и химического состава некоторых видов пустынных растений для использования их при получении биоэтанола.

3. Изучение некоторых параметров кислотного гидролиза и ферментации биомассы некоторых видов пустынных трав.

4. Разработка методов получения биоэтанола из целлюлозосодержащего сырья.

**Научная новизна.** Впервые показана возможность использования вегетативной массы пустынных трав гармала обыкновенная, зопник коровяковидный, ирис джунгарский, псоралея костянковая в качестве сырья для получения биоэтанола. Изучены оптимальные параметры кислотного гидролиза и ферментации биомассы пустынных трав с целью получения биоэтанола. Разработана технологическая схема получения биоэтанола с использованием биомассы пустынных трав и *Saccharomyces cerevisiae*.

**Содержание литературы по теме.** Работа выполнена в соответствии с проблемно - тематическим планом кафедры генетики и биохимии по изучению методов получения биоэтанола из некоторых видов пустынных трав. При проведении исследований по работе в основном использовалась следующая литература: 1. Абрамов Ш.А. Новое в биотехнологии синтеза этанола в сбраживаемой среде // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2006. - №12. - С.46-48; 2. Алдошин Р. С, Матковский С.М, Ярулин Р. С. Биоэтанол: технологии получения из возобновляемого растительного сырья и области применения // Инженер-технолог. - 2009. - № 2. - С. 15-24; 3. Безбородов А.М. Биохимические основы микробиологического синтеза. - М.: Легкая и пищевая промышленность. 2004.; 4. Гарасимчук С. М., Азаренкова А. А., Бойченко М. С. Биохимический метод получения этилового спирта // Научно-технические технологии. 2014. - №1 -

С. 18 -22; 5. Ражабов Т. Ф. Пространственно - временные изменения растительного покрова полупустыни по градиенту выпаса. Автореф. канд. биол. наук. Ташкент, 2011; 6. Яровенко В. Л., Маринченко В. А. Технология спирта. - М.: Колос - Пресс. - 2002. - 465 с.

**Методы исследования:** Биомасса пустынных трав подвергается кислотному гидролизу, для расщепления сложного полисахарида в мономер - глюкозу. Варьируются параметры гидролиза – концентрация кислоты и продолжительность процесса. На сахарометре определяется содержание глюкозы. Ферментацию гидролизатов пустынных трав проводили в анаэробных условиях с применением штаммов спиртовых дрожжей. Дистилляцию браги пустынных трав проводили методом простой перегонки с конденсацией пара в жидкость.

**Научно - практическая значимость работы.** Изучение методов получения биоэтанола из некоторых видов пустынных трав позволяет рассматривать эти растения в качестве целлюлозного сырья для получения биоэтанола как альтернативного источника энергии.

**Публикации:** По теме диссертации опубликовано 3 статьи. Материалы исследований опубликованы в: «XV Научная конференция магистрантов» (апрель, 2015г.); Научный вестник СамГУ «Илмийахборотнома» (2016, №1)

**Содержание диссертации.** Магистерская диссертация изложена на 87 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, место и объекта исследований, полученных результатов и их обсуждений, выводов и списка литературы, включающая 71 источник, из которых 10 иностранная литература и 11 источников интернета. Работа иллюстрирована 8 рисунками и 15 таблицами, 2 схемами, 2 приложениями.

## **ГЛАВА I. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР**

### **1.1. Современные виды биотоплива и их классификация**

В настоящее время наступает эпоха использования биотехнологических методов получения нетрадиционных источников энергии из возобновляемых природных ресурсов. Одним из таких альтернативных источников является биоэнергетика, основанная на получении топлива и энергии из биомассы, в том числе из органических отходов растительного и животного происхождения. Из всего этого сырья можно производить жидкое топливо- биоэтанол и биодизель, биогазы-метан и смесь метана с другими газами, а также твердое топливо- пеллеты и брикеты [1].

Сегодня одним из нетрадиционных источников энергии является биотопливо, получаемое в результате переработки биомассы. Одним из важных достоинств биомассы в том, что она получается из растений, которые легко возобновляются, так как их можно выращивать повторно. Потенциал использования биомассы очень велик и на сегодняшний день известны различные способы её преобразования в энергию:

- получение растительных углеводов (предельные углеводороды, растительные масла, высокомолекулярные жирные кислоты);
- прямое сжигание биомассы, газификация, пиролиз, сжижение;
- биотехнологическая конверсия биомассы в топливо (при влажности более 75%): низкоатомные спирты, жирные кислоты, биогаз) [3].

Все виды биотоплива можно классифицировать следующим образом:

1. Первичное древесное топливо (дрова, лесосечные отходы, щепа, энергетический лес и т.д.). Древесный ствол, брошенный в огонь, является первым видом биотоплива, примененным для обогрева человека.

2. Вторичное древесное топливо (кора, опилки, стружка, гранулы, пеллеты, брикеты, древесный уголь).

3. Утилизированное древесное топливо (отработанные остатки целлюлозного производства, бумажное и картонное вторсырье).

4. Торф.

5. Утилизационное топливо из промышленных и бытовых отходов (биогаз из различной биомассы, и в том числе от анаэробной очистки бытовых и промышленных стоков).

6. Жидкие виды биотоплива (биоэтанол, дизельное топливо).

7. Недревесные биомассы (солома, отходы растениеводства и т. д.).

В последние десятилетия появились и сравнительно новые виды биотоплива, которые являются биотопливом второго поколения. К ним относятся:

1. Пеллеты, представляющие собой небольшие цилиндры-карандашики, спрессованные из мелких стружек и опилок хвойных пород дерева.

2. Биогаз, получаемый из твердых бытовых отходов метановым брожением биомассы.

3. Бионефть и биоэлектричество- это продукты жизнедеятельности микроорганизмов.

Биотопливо третьего поколения вырабатывается из водорослей. В отличие от сырья для первого и второго поколений, водоросли можно выращивать в водоемах и землях, непригодных для сельского хозяйства. Для их выращивания могут быть использованы и закрытые фитобиореакторы. По мере роста за счет естественного фотосинтеза водоросли накапливают жиры и биомасла, имеющие молекулярную структуру, аналогичную традиционной нефти [1].

К твердому биотопливу относят древесную щепу, топливные брикеты, топливные гранулы (пеллеты), торфяные пеллеты и брикеты. Из всех этих продуктов древесная щепа является самым низкотехнологичным продуктом, традиционно используемым в топочных устройствах для прямого сжигания. Преимуществами твердого биотоплива являются:

- экологическая чистота (низкое содержание золы, вредных веществ);
- высокая теплотворная способность;
- снижение стоимости транспортировки,

- уменьшение на 50% потребности в складских помещениях;
- возможность полной автоматизации процесса сжигания;
- возобновляемость исходного сырья;
- возможность вторичного использования отходов (золы для внесения в почву в качестве удобрения) [4].

Наиболее распространенным сырьем являются отходы древесины (наилучшее сырье - на основе древесины хвойных и лиственных пород) в любом виде - опилки, стружка, древесная мука, обрезки, горбыль. Отходы с корой идут на производство так называемых "серых" пеллет более низкого качества. Пеллеты обладают высокой гигроскопичностью и требуют особых условий при хранении и перевозке.

В основе процессов изготовления пеллет и брикетов лежат общие подходы: максимальное уплотнение измельченной биомассы, соблюдение определенных параметров влажности исходного сырья и конечного продукта. В технологии производства конечного продукта используется способность лигнина под воздействием давления и температуры переходить из одномолекулярной формы в полимолекулярную форму (процесс полимеризации лигнина), тем самым скрепляя гранулы (брикеты). Поэтому получаемые топливные продукты не включают в себя никаких дополнительных связующих веществ [19].

Технология производства топливных брикетов (прессования) сходна с технологией гранулирования, но более простая. Сырьем является тот же материал, что и для изготовления пеллет. Для брикетирования используется процесс сжатия материала под высоким давлением (применяют поршневые прессы), за счет чего в древесине происходит выделение лигнина. При использовании сырья с меньшим, чем у древесины, содержанием лигнина (например, агросырье), добавляются связующие компоненты (до 2%) [18].

Большая популярность пеллет объясняется их лучшими потребительскими качествами. Пеллеты 1-го класса («белые») используются, в

первую очередь, в небольших и средних котлах, печах и каминах. Пеллеты 2-го класса («серые») используются в более мощных промышленных установках для теплоснабжения городских микрорайонов и поселков. Работы по совершенствованию технологий твердого биотоплива идут в направлении улучшения потребительских свойств и снижения стоимости конечного продукта [8].

Для производства твердого биотоплива 2-го поколения используется новая, эффективная энергосберегающая технология обработки древесной биомассы и иных видов сырья путем торрефикации (термохимическая конверсия). При торрефикации твердая биомасса обжигается без доступа кислорода при температуре 200-300 °С. При этом свойства биомассы кардинально меняются: более эффективно разрушается структура целлюлозы, испаряется значительно большая, чем при традиционном производстве, часть влаги, образуются свободные молекулы углерода, водорода и кислорода. По структуре торрефицированные гранулы схожи с углем, так как в ходе химических процессов в древесине и при торрефикации весь углерод превращается в биоуголь [13].

Среди всех видов биотоплива особое место занимают жидкие виды биотоплива - биоэтанол и биодизель. Жидкие моторные биотоплива производятся на основе биотехнологической конверсии биомассы. К настоящему времени производятся биотоплива трех поколений. Принадлежность к тому или иному поколению определяется как видами биомассы, так и технологическими особенностями ее переработки [19].

К основным технологиям производства биодизеля относятся: циклическая, безкаталитическая и суперкритическая.

Циклическая технология производства биодизеля заключается в переэтерификации масел растительного или животного происхождения метанолом в присутствии щелочи, гидроксида калия или натрия с использованием катализатора. Легкие фракции представляют метил - эфир - биодизельное топливо. Тяжелые фракции - фаза, из которой после

дополнительной обработки получают ценный продукт - глицерин. Он может применяться для производства биоэтанола. Жмых, образующийся в процессе производства растительного масла, используется в качестве корма для скота, что позволяет более полно утилизировать биомассу растения [8].

Безкаталитическая технология заключается в введении в реакционную смесь вспомогательного растворителя тетрагидрофурана, что улучшает взаимную растворимость метанола с маслами, уменьшает температуру и продолжительность процесса этерификации. Без катализатора улучшается разделение на фракции и исключается необходимость в промывке и сушке продукта.

Суперкритическая технология существенно отличается от всех других технологий режимными параметрами проведения процесса этерификации и его длительностью. В настоящее время указанные технологии производства биодизеля хорошо освоены и широко распространены [3].

Следующим видом жидкого биотоплива является биоэтанол, сырьем для производства которого служат сахаросодержащие и крахмалосодержащие культуры. Технология производства биоэтанола основана на брожении пищевого сырья (зерна, сахарной свеклы, сахарного тростника, картофеля) [3,17].

В настоящее время использование новых видов биомассы позволяет создавать еще более совершенные технологии и продукты: биотоплива 3-го и 4-5-го поколений. Для производства биотоплива 3-го поколения (биодизеля и биоэтанола) создаются технологии на основе переработки нового источника энергонасыщенной биомассы фототрофных микроводорослей. Продуктивность микроводорослей в расчете на площадь в среднем в 2-3 раза выше, по сравнению с сельскохозяйственными культурами, а технология производства биотоплива имеет минимальное количество промежуточных этапов. В настоящее время жидкое биотопливо производят из микроводорослей, культивируемых в фотобиореакторах [22].

Для получения энергонасыщенной биомассы в промышленных объемах производят культивирование микроводорослей в открытых прудах либо в закрытых фотобиореакторах, которые являются более предпочтительными [38].

Некоторые виды автотрофных водорослей (*Chlamydomonas*, *Chlorella* и др.) возможно выращивать как в открытых водоёмах, так и в фотобиореакторах, устанавливаемых вблизи от теплоэлектростанций, как источников углекислого газа и бросового тепла.

Разрабатываются также технологии культивирования гетеротрофных водорослей с культивированием на питательных средах в обычных ферментерах. Водоросли для этих целей создают с применением методов генной инженерии (получен генномодифицированный штамм *Chlorellaprotothecoides*, который способен накапливать липидов в 4 раза больше, чем при автотрофном культивировании) [33,34].

При искусственном культивировании одноклеточной микроводоросли *Botryococcusbrauni*, которая может накапливать до 80% углеводов, из биомассы получают 65% газаolina, 15% авиатоплива и 3% масел. Сегодня разрабатываются недорогие методы культивирования водорослей в сточных водах.

Основной путь переработки биомассы из водорослей – производство «зеленого» дизеля (биодизеля) путем каталитической гидрообработки и «зеленого» газаolina - на основе каталитического крекинга масел. Другая фракция – углеводов – менее энергетически эффективна, чем липиды, и может быть использована для производства различных видов топлива - например, этанола, бутанола, авиационного топлива. Остатки и отходы биомассы, образующиеся после экстрагирования, могут перерабатываться путем анаэробного брожения в газ метан или термохимическим методом - в синтез-газ, а также в сопутствующие ценные продукты, корма для животных и др [20].

Использование микроводорослей для получения биотоплива имеет следующие преимущества:

- высокая способность микроводорослей к связыванию атмосферного углекислого газа сокращает парниковый эффект;
- культивирование микроводорослей не создает конкуренцию сельхозпроизводителями за землю;
- выращивание микроорганизмов не наносит ущерба запасам питьевой воды, лесам и зеленым насаждениям [4].

Особенностью технологий биотоплива 4-го поколения является прямой синтез целевых продуктов (как полисахаридов или липидов, так и непосредственно жидких топлив) из углекислого газа атмосферного воздуха генетически модифицированными цианобактериями в ходе фотосинтеза. Преимуществом использования цианобактерий является возможность непрерывного получения жидкого биотоплива, так как эти бактерии способны к усиленному фотосинтезу в среде, насыщенной углекислым газом и самопроизвольному выведению продуктов из клеток в среду во время роста [21,38].

В настоящий момент 5-е поколение жидкого биотоплива оценивается как самое многообещающее технологическое направление производства биотоплива. Его особенностью является использование микроорганизмов, способных к использованию электрического тока. Комбинация таких микроорганизмов с полупроводниковыми батареями позволяет добиться эффективности конверсии солнечного света, что на порядок превосходит эффективность фотосинтеза. Технология электробиосинтеза может использоваться в условиях, где эффективное протекание процесса фотосинтеза невозможно из-за неблагоприятного климата (например, в условиях Арктики) или отсутствует возможность использовать значительных площадей для роста фотосинтезирующих микроорганизмов (удаленные и труднодоступные районы) [20,21].

В настоящее время разрабатываются технологии применения различных методов термообработки для получения бионефти и дальнейшей ее переработки в авиационное топливо. Бионефть - это обычная по химическому составу нефть с той лишь разницей, что она не содержит серы и вредных веществ. Экологически чистая нефть производится из микроорганизмов, обитающих естественным образом на поверхности стеблей морских водорослей. Под воздействием солнечных лучей микроорганизмы способны произрастать и давать хорошую биомассу. В результате переработки это сырье получают бионефть. Коэффициент теплоотдачи использования такого топлива в 1,5 раза больше, чем при сжигании угля[7,17].

Для решения проблемы автономного энергоснабжения применяются технологии получения биогаза путем анаэробной биохимической конверсии влажной или жидкой биомассы. В качестве сырья для производства биогаза используются отходы животноводства, птицеводства, растениеводства, которые наносят значительный ущерб экологии.

При переработке отходов выход биогаза составляет около 0,3 м<sup>3</sup> на 1 кг сухого вещества. Теплота сгорания 1 м<sup>3</sup> биогаза составляет 22 МДж, что эквивалентно сжиганию 0,6 л бензина, или 0,85 л этанола, или 1,75 кг древесины. Биогазовые технологии основаны на анаэробном сбраживании органических отходов (с влажностью выше 75%) с получением горючего газа, содержащего до 60% метана. При анаэробном сбраживании органические вещества разлагаются в три стадии с участием двух различных групп бактерий.

На 1-й стадии сложные органические соединения (протеины, углеводы, жирные кислоты) превращаются в более простые соединения в результате ферментационного гидролиза. На 2-й стадии они подвергаются воздействию группы анаэробных (кислотообразующих) бактерий, что приводит к образованию летучих жирных кислот, которые на 3-й ста-

дии под действием строго анаэробных (метанообразующих) бактерий превращаются в диоксид углерода и метан[21].

Метановое брожение проходит в специальных реакторах-метантенках, которые эксплуатируются в периодическом и в непрерывном режимах. Особенно важным в процессе анаэробного сбраживания является создание оптимальных технологических условий в метантенке: температуры, доступа кислорода, достаточной концентрации питательных веществ, требуемого значения pH, отсутствия или низкой концентрации токсичных веществ [38].

Таким образом, одним из нетрадиционных возобновляемых источников энергии в настоящее время является биотопливо различного производства. Все виды биотоплива можно разделить на твердое биотопливо (древесные брикеты и пеллеты), жидкое биотопливо (биоэтанол и биодизель), утилизованное топливо из бытовых и промышленных отходов (биогаз).

Среди всех видов биотоплива особое место занимают жидкие виды - биоэтанол и биодизель, которые производятся на основе биотехнологической конверсии биомассы. Принадлежность к тому или иному поколению определяются как видами биомассы, так и технологическими особенностями ее переработки.

### **1.2.1. Характеристика сырья для получения биоэтанола**

Возрастающая мировая потребность в энергии, неустойчивые и дорогие нефтяные ресурсы вызывают необходимость разработки возобновляемых источников энергии, которые могут дополнить ископаемые запасы. Одним из альтернативных источников энергии является биотопливо, основанное на использовании органических отходов растительного и животного происхождения. Из этого сырья можно производить жидкое топливо - биоэтанол и биодизель, биогазы - метан и смесь метана с другими газами [1].

На данный момент большой интерес представляет жидкое биотопливо, которое используется на транспортные цели. Одним из больших достоинств биотоплива является разнообразие сырья, из которого оно может быть произведено. Растительные культуры, используемые в качестве сырья для производства биотоплива можно разделить: для биоэтанола - сахаросодержащие, крахмалосодержащие, целлюлозосодержащие культуры; для биодизеля- маслянистые культуры (табл. 1.1).

Таблица 1.1

Источники биомассы для производства жидкого биотоплива.

Культуры	Методы переработки	Биотопливо
Сахароносные культуры: сахарный тростник, сахарная свекла, сахарное сорго	Ферментация и дистилляция	Этанол
Крахмалосодержащие культуры: кукуруза, ячмень, пшеница, рожь, картофель	Сахарообразование, ферментация и дистилляция	
Целлюлозосодержащие культуры: просо, ива, тополь, солома с/х культур		
Масличные культуры: рапс, масличная пальма, подсолнечник, арахис	Экстракция и этерификация	Биодизель

К сахаросодержащим культурам относятся: сахарный тростник, сахарная свекла, сладкое сорго, меласса, маниока, фрукты, ягоды, виноград, а также отходы сахарного производства.

В составе сахарного тростника содержание сахара составляет 12-17%, 10% из которых является глюкозой, а остальные 90% сахарозой. При измельчении можно извлечь 95% от общего содержания сахаров, а сок может быть использован для производства сахара или для производства биоэтанола. Жмых (т.е. оставшиеся после размола остатки) - твердый остаток может быть использован в качестве источника энергии и тепла.

Сахарная свекла растет в регионах с холодным умеренным климатом. Визобилие растет в Европе, Северной Америке и Азии. В процессе производства сахарную свеклу нарезают и сок используется для производства сахара или биоэтанола, а мякоть высушивают и используют в качестве животного корма или для фармацевтических целей [22].

Сладкое сорго является отличным сырьем для производства биоэтанола так как является и крахмалосодержащим и сахароносным сырьем одновременно. Зерна, полученные из этого растения богаты крахмалом, стебли имеют высокое содержание сахарозы, а листья и выжимки имеют высокое содержание лигноцеллюлозного происхождения. Это растение хорошо растет в умеренных и тропических странах, выносит засуху, наводнения и засоленность почвы. В настоящее время ведутся работы по использованию гибридных и генетически модифицированных видов этого растения.

В качестве крахмалосодержащего сырья используются различные зерновые культуры и картофель. Основными зерновыми культурами, используемыми при получении биоэтанола, являются пшеница, рожь, ячмень, овес, кукуруза и просо. Такие виды сырья, как рис, ячмень, сорго, гречиха, горох, чумиза, гаолян, вика, чечевица перерабатываются на биоэтанол сравнительно редко, поэтому их принято называть редкими видами сырья [32].

Химический состав зерна зависит от культуры, сорта, почвенно-климатических условий, агротехники, срока и условий хранения. В

зерне содержится в среднем 14-15% влаги и 85-86% сухих веществ. В зерне содержатся следующие важнейшие ферменты, имеющие значение для технологии спирта: карбогидразы, гидролизующие углеводы (мальтаза, амилаза); протеазы, гидролизующие белковые вещества (протеиназы, полипептидазы); липазы, расщепляющие жиры на глицерин и жирные кислоты. В зерне различных культур содержатся витамины А, В и D, в небольшом количестве имеются витамины С, Е и РР. Содержание минеральных веществ колеблется у разных культур от 1,24 до 2,95% [28,33].

Из всех видов крахмалосодержащего сырья при производстве биоэтанола картофель наиболее полно отвечает технологическим требованиям спиртового производства, так как образует достаточную подвижную массу, содержащая необходимое количество азотистых веществ для питания дрожжей, дает наиболее высокий выход спирта.

К целлюлозосодержащим культурам относятся просо, ива, тополь, мискантус. Ель привлекает к себе большое внимание в качестве сырья для производства биоэтанола, так как является лигноцеллюлозным материалом, состоящим в основном из гексоз, которые легче конвертируются чем пентозы. Ива относится к покрытосеменным растениям и характеризуется жесткой древесиной. При обработке серной кислотой, а затем и при ферментативном гидролизе, удалось получить высокий выход этанола - 79%. В производстве биоэтанола все чаще используется корневищное травянистое растение мискантусгигантус. Это тетраплоидный гибрид, характеризующейся высокой урожайностью и может вырасти до 4 м высоты. На орошаемых почвах выход биомассы составляет 10-25 т. сырья с 1 гектара [23].

Химический состав целлюлозного сырья, используемого для получения биоэтанола, неодинаков и колеблется в широких пределах.

Главная составная часть этого сырья - полисахариды, количество которых в разных видах растительного сырья колеблется от 40 до 75%. Вторым по количеству компонентом растительного сырья является лигнин,

содержание которого колеблется от 15 до 60%. Третий компонент растительного сырья - прочие вещества, количество которых колеблется обычно от 3 до 8%. В состав этих веществ входит растворимая при гидролизе часть смолы и зольных веществ [16,25].

Главным полисахаридом является целлюлоза, которая является составной частью клеточных стенок растений. В хлопковом волокне содержится 95-98% целлюлозы, в лубяных волокнах 60-85 %, в зеленых листьях и траве 10-25%. Полисахариды растительного сырья в свою очередь делятся на легко- и трудногидролизуемые. Легкогидролизуемая часть полисахаридов состоит из гемицеллюлоз и пектиновых веществ. Количество их изменяется в различных видах растительного сырья от 16 до 39%. При количественном гидролизе их образуется сложная смесь моносахаридов: глюкоза, манноза, галактоза, ксилоза, арабиноза [43].

Трудногидролизуемые полисахариды, количество которых колеблется от 25 до 49%, состоят в основном из целлюлозы с небольшой примесью гемицеллюлоз. Конечным продуктом распада целлюлозы является D-глюкоза. При гидролизе легко и трудногидролизуемых полисахаридов образуется сложная смесь моносахаридов, состоящих из пентоз (ксилоза и арабиноза) и гексоз (глюкоза, галактоза, манноза) [38].

Вторым по количеству компонентом растительного сырья является лигнин. Лигнин является скелетным веществом растений, из-за накопления которого происходит одревеснение. Он вместе с гемицеллюлозами заполняет пустоты между фибриллами целлюлозы и обеспечивает клеткам растений механическую прочность. Лигнин не растворяется ни в одном из известных растворителей. Наиболее легко его получают из древесины в результате удаления из нее путем растворения, экстракции и гидролиза их высококонцентрированной соляной кислотой. Остаточный лигнин в основном используется как сырье в производстве активного угля, пористого кирпича и как топливо.

Важным требованием, предъявляемым к гидролизному сырью, является его дешевизна. По этой причине при производстве биоэтанола используются в первую очередь отходы лесопиления, деревообработки, а также отходы переработки сельскохозяйственного сырья [13].

К отходам лесопиления относятся горбыль (периферийная часть бревна), рейки, обрезки бревен, древесная стружка, опилки, отходы кроны: сучья ветви, вершины, древесная зелень. К отходам растениеводства относятся различные листья, солома, шелуха, гузапая, хлопковая шелуха, кочерыга кукурузы. Такие отходы содержат примерно 45% целлюлозы, которые могут одновременно подвергаться гидролизу и ферментации при производстве биоэтанола.

Для получения биоэтанола в качестве сырья могут быть использованы также сырьевые источники животного происхождения. К ним относятся различные виды органических удобрений: конский навоз, коровий навоз, птичий помет. При производстве биодизеля источником сырья являются различные масляничные культуры: рапс, масляная пальма, подсолнечник, арахис [33,34].

Таким образом, к наиболее важным сырьевым ресурсам, пригодных для производства биотоплива относят сахаросодержащие, крахмалосодержащие и целлюлозосодержащие культуры. В основном их используют при производстве биоэтанола. При производстве биодизеля в качестве сырья используют различные масляничные культуры. К технологическим свойствам сырья относятся такие показатели как химический состав, гидролизруемость полисахаридов, их фильтрующая способность. Эти показатели влияют на скорость гидролиза, состав промежуточных и конечных продуктов, выход продукции и его экономическую эффективность.

В основе получения биоэтанола из растительного сырья лежит спиртовое брожение, основными возбудителями которого являются дрожжи. Дрожжи, используемые при получении спирта, относятся к роду *Saccharomyces*. К этому роду относится семь видов дрожжей, размножаю-

щихся вегетативно, преимущественно в диплоидной фазе: *Sacchcerevisiae*, *Sacch.kluuyveri*, *Sacch.exiguous*, *Sacch.dairensis*, *Sacch.servazii*, *Sacch. tellustris*, *Sacch.unisporus*.

Наибольшее значение имеет *Saccharomycescervisae*. К этому виду относятся расы дрожжей, используемые в хлебопечении, спиртовом производстве, пивоварении, виноделии, производстве кваса [2,5].

Колонии у этих дрожжей пастообразные, кремовые или коричневатокремовые, обычно с довольно ровной, гладкой иногда слегкапузырчатой или покрытой точками поверхностью, с блестящими или тусклыми секторами. Аскообразование легко вызвать при высеве дрожжей на агарс ацетатом. Аски обычно содержат от одной до четырех спор шаровидной или эллипсоидной формы. Сбраживают галактозу, глюкозу, сахарозу, мальтозу и раффинозу. Способность к использованию L-сорбозы, трегалозы, мелецитозы, инулина, L- арабинозы, D-рибозы, глицерина, D-маннита варьирует. Не ассимилирует целлобиозу, лактозу, мелибиозу, крахмал, ксилоту, арабинозу, маннозу, эритрит, янтарную, лимонную кислоты [2,8,24].

По внешнему виду клеток можно определить физиологическое состояние дрожжей. В производственных средах одновременно присутствуют молодые, зрелые, почкующиеся старые и отмершие клетки. Наибольшей бродильной энергией обладают зрелые клетки. Дрожжи, применяемые в бродильных производствах продуцируют комплекс ферментов – зимазы, под действием которых гексозы превращаются в этиловый спирт и углекислый газ. В составе дрожжей основными энзимами являются: сахараза, мальтаза, лактаза, гликогеназа [24].

Различают дрожжи верхового брожения и низового. Верховые дрожжи при интенсивном брожении всплывают на поверхность сбраживаемой среды и в виде слоя пены остаются до окончания брожения. Затем они оседают на дно бродильного сосуда, не образуя плотного осадка. Низовые дрожжи, развиваясь в сбраживаемой жидкости, быстро оседают по окончании брожения, образуя плотный слой на дне бродильного сосуда.

Спиртовые дрожжи относятся к верховым дрожжам вида *Saccharomyces cerevisiae*. Дрожжи, применяемые в производстве спирта, должны иметь высокую бродильную энергию (быстро и полно сбраживать сахара) и анаэробный тип дыхания, быть устойчивыми к продуктам своего обмена и к продуктам обмена посторонних микроорганизмов, а также к изменению состава среды, переносить большую концентрацию солей и сухих веществ, содержащихся в сусле [26,28].

При сбраживании сусла из крахмалсодержащего сырья применяют дрожжи расы XII, II и M. Они хорошо сбраживают мальтозу, сахарозу и фруктозу, но не сбраживают конечные декстрины. Гидролиз конечных декстринов продолжается во время сбраживания сусла под действием декстриназы солода или глюкоамилазы микробного происхождения. Поэтому скорость сбраживания сусла из крахмалсодержащего сырья лимитируется скоростью гидролиза конечных декстринов. Большое практическое значение имеют результаты селекции термотолерантных рас дрожжей, позволяющих ускорить процесс выращивания производственных дрожжей и сбраживания сусла из крахмалсодержащего сырья, частично гидролизовать и сбраживать конечные декстрины, увеличивать выход спирта. Такими дрожжами являются, например, *Schizosaccharomyces* и *Saccharomyces cerevisiae* К-81 [2,17].

Оптимальная температура сбраживания сусла этими дрожжами 35-36 °С. В зрелой бражке, полученной с применением термотолерантных дрожжей, содержится примерно в 10 раз меньше декстринов по сравнению с контрольной бражкой при использовании дрожжей *Sacch. cerevisiae* расы XII. Термотолерантные дрожжи расы К-81 в 2-2,5 раза больше накапливают высших спиртов и на 40-45 % меньше глицерина по сравнению с расой XII [32,34].

Дрожжи живут и размножаются в ограниченных температурных пределах и для нормальной их жизнедеятельности необходима температура 29-30 °С. При очень высокой или очень низкой температуре жизнедеятельности

тельность дрожжей ослабляется или прекращается. Максимальная температура для развития дрожжей 38 °С, минимальная 5 °С; при температуре 50 °С дрожжи погибают. Оптимальные температуры для развития и проявления максимальной бродильной активности не всегда совпадают. Дрожжи, выращенные при температуре, например, 17-22 °С, имеют большую бродильную энергию. Сбраживание меласногосула при температурах выше 30 °С отрицательно отражается на выходе и качестве дрожжей, выделяемых из зрелой бражки и используемых в качестве хлебопекарных. Ферментативная активность, подъемная сила и стойкость таких дрожжей при хранении понижаются, поэтому для выращивания дрожжей и сбраживания меласногосула рекомендуется следующий температурный режим: 28-29 °С в дрожжегенераторах, 30-31 °С в двух головных бродильных аппаратах и 28-29 °С в концевых аппаратах. Сусло из крахмалсодержащего сырья сбраживают при 28-32 °С [1,4].

При повышении температуры дикие дрожжи и бактерии размножаются значительно быстрее сахаромисетов. Если при 32 °С коэффициент размножения диких дрожжей в 2-3 раза больше коэффициента размножения сахаромисетов, то при 38 °С уже в 6-8 раз больше. В результате ускоренного развития бактерий повышается кислотность бражки. В обоих случаях уменьшается выход спирта.

На жизнедеятельность дрожжей значительно влияет активная кислотность среды. От значения рН зависят скорость поступления питательных веществ в клетку. О потребности дрожжей в питательных веществах судят по их химическому составу, зависящему от питательной среды, условий культивирования дрожжей и их физиологических особенностей [22,23].

### **1.3. Современные технологии получения биоэтанола**

В настоящее время производство биоэтанола является наиболее динамично развивающимся сектором биотопливной отрасли. На его до-

люприходится 85% объема мирового производства биотоплив. Крупнейшие страны производители биоэтанола – США и Бразилия, на них приходится 89 % объемов его производства [39,42].

Увеличение объемов производства и потребления биоэтанола является следствием решения задач мировой стратегии защиты окружающей среды и борьбы с глобальным потеплением планеты, направленный на постепенный отказ от нефти и газа и переход на новые возобновляемые виды топлива. Основное направление использования биоэтанола- получение смесевых топлив (этанол+бензин) с достаточно высоким энергосодержанием [11,56].

Биоэтанол в качестве топлива имеет ряд преимуществ. К несомненным достоинствам биоэтанола относятся низкая токсичность и практическое полное отсутствие выброса CO<sub>2</sub> в продуктах сгорания, биоразлагаемость, возможность повышения эффективности использования органических отходов, снижение парникового эффекта.

Различают следующие технологии получения этанола:

- гидратация этилена (синтетический этанол);
- брожение пищевого сырья (зерна, картофеля, свеклы) (пищевой этанол);
- гидролиз и брожение возобновляемого растительного сырья (отходы сельскохозяйственного производства и деревопереработки) (биоэтанол).

Существует два типа процессов производства этанола прямой гидратацией этилена: 1) сернокислотная гидратация; 2) прямая каталитическая гидратация. Условия процесса сернокислотной гидратации олефинов серной кислотой сильно зависят от реакционной способности олефина и выбираются так, чтобы свести к минимуму побочные процессы олигомеризации олефинов. Наименее реакционноспособным в процессе сернокислотной гидратации является этилен. Он гидратируется в этанол в среде концентрированной серной кислоты (96 мас. %) при давлении 2,5 МПа и температуре 70 °С. В процессах сернокислотной гидратации олефинов необходимо упаривать большой объем (до 4 т на 1 т этанола) образую-

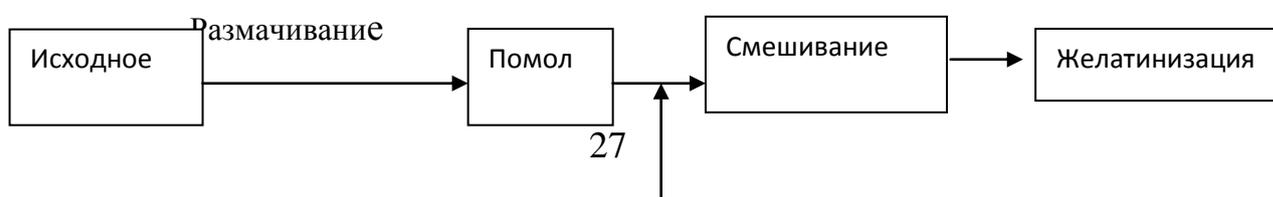
щейся разбавленной до 40-50% серной кислоты, что экономически невыгодно. Поэтому в настоящее время сернокислотная гидратация сохранила свое значение только для получения изопропанола и изобутанолов, производимых и потребляемых в относительно небольших количествах [16].

При гидратации этилена используется также метод прямой каталитической гидратации. Реакция гидратации в этом случае катализируется кислотными и нейтральными, в частности, цеолитными катализаторами. Наиболее распространенным катализатором прямой гидратации этилена является фосфорная кислота на силикагеле. Активность катализатора зависит от концентрации кислоты на поверхности частиц катализатора, от давления паров воды в системе и от температуры. При концентрациях кислоты ниже 83 мас. % активность катализатора резко уменьшается. Поэтому процесс гидратации нельзя вести в избытке водяного пара. Оптимальные условия процесса: температура 260–300 °С; давление 7–8 МПа [13,22].

Современными технологиями получения биоэтанола являются брожение пищевого сырья и гидролиз брожение возобновляемого растительного материала.

При брожении пищевого сырья выделяют два основных способа производства биоэтанола. Это технологии мокрого и сухого помола. На первом этапе важное значение для получения биоэтанола имеет первичная обработка сырья. Если сырьем являются злаки, то на процесс заметно влияет равномерное распределение частиц, в результате которого крупные частицы отделяются от мелких. Крупные частицы повышают выход продукта на стадиях сахараживания и сбраживания, а равномерный помол ускоряет переработку (1.3.1).

#### Мокрый помол



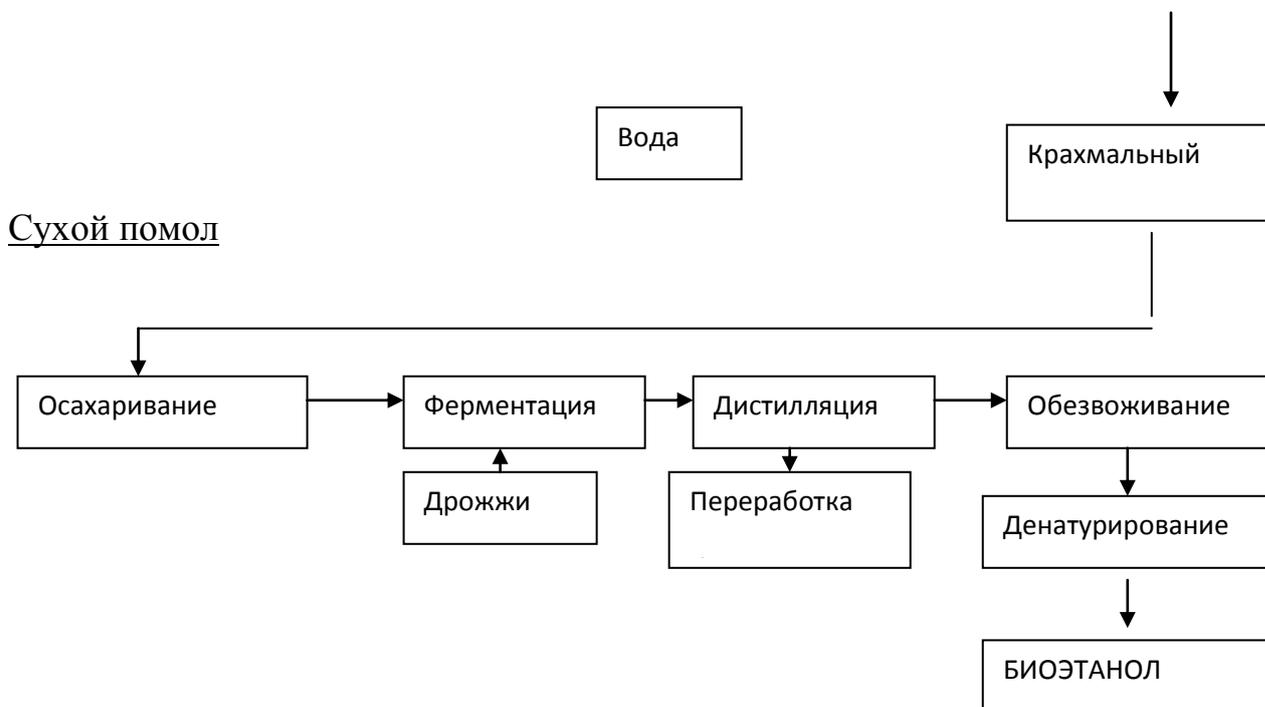


Рисунок.1.3.1.Технология получения биоэтанола методом мокрого и сухого помола.

Первичная переработка сырья по технологии мокрого помола заключается в том, что исходное сырье (зерно), поступает на переработку, очищается от песка, пыли, семян сорных растений, сколотых частиц зерен. Затем зерно замачивается в течение 24-40 часов, что позволяет размягчение его зародыша и освобождение из него крахмала, это достигается путем его разламывания. Для отделения зародыша от общей массы полученный раствор сепарируется. Он может использоваться в производстве высокопродуктивных кормовых добавок. Оставшийся раствор подвергается второму, более интенсивному и тонкому измельчению и еще раз сепарируется с целью отделения крахмального раствора и глютена от оставшейся клетчатки, которые также могут быть использованы для производства высокопродуктивных кормовых добавок [23].

Крахмальный раствор, полученный в результате сепарации, поступает на стадию желатинизации и последующей переработки. Такое фракционирование дает возможность получить ценные побочные продукты, кото-

рые не используются в производстве этанола, и увеличить эффективность процесса.

Первичная переработка сырья по технологии сухого помола заключается в том, что, исходное сырье (зерно), поступает на переработку, очищается от песка, пыли, семян сорных растений, сколотых частиц зерен. Прошедшее стадию очистки, зерно размалывается для высвобождения крахмала. Потом этот материал растворяют в воде, контролируя содержания сухих веществ в замесе. Далее замес поступает на стадию желатинизации и последующей переработки [12].

Вторым этапом получения биоэтанола является основная переработка сырья по технологии мокрого и сухого помола, где в результате ферментации происходит сахаривание полисахарида крахмала в сбраживаемые моносахариды. Крахмальное молоко (замес) смешивается с ферментами ( $\alpha$ -амилазы), которые синтезирует штамм *Bacillus subtilis*-82, и нагревается до температуры оптимальной для их действия. Под действием ферментов и высоких температур молекулы крахмала распадаются на низко- и средномолекулярные сахара и мальтодекстрины в раствор олигосахаридов (этот процесс называется гидролизом). Полученный раствор охлаждается, и в него добавляются осаживающие ферменты – глюкоамилазы, которые преобразовывают молекулы мальтодекстрина в простые сахара, способные перерабатываться дрожжами в этанол. Далее в осаживаемое сусло добавляют дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, которые преобразуют молекулы сахаров в этанол и углекислый газ, который можно извлекать и использовать как баллонный газ в предприятиях по производству напитков. Данные технологии ферментной обработки и сбраживания снижают вязкость раствора, время гидролиза, температуру процесса и увеличивают выход продукта [40,43].

Третьим этапом является очистка этанола, где происходит его дистилляция и ректификация. Полученная в результате брожения бражка содержит до 10% этанола. Дистилляция начинается с бражной колонны.

Здесь из продукта брожения отгоняется смесь этанола и воды. Бражка, освобожденная от дрожжевой массы, непрерывным потоком подается в многоколонную систему ректификации, где происходит выделение этанола, его последующее укрепление и очистка от сопутствующих примесей. На этом спирт максимально освобождается от воды и приближается к азеотропной точке. Далее этанол поступает на стадию обезвоживания, где избавляется от остаточного количества воды [51].

Обезвоживание этанола является неотъемлемым процессом. На сегодняшний день известны следующие способы обезвоживания этанола: связывание воды твердыми или жидкими водопоглощающими веществами; соляная и азеотропная ректификация; диффузионное испарение и технология молекулярных сит. Наиболее прогрессивными и экономичными технологиями являются адсорбция на молекулярных ситах и мембранное обезвоживание, работа которых основана на использовании цеолитов - природных соединений [13,16].

Установка обезвоживания этанола, основанная на использовании молекулярных сит, состоит из двух адсорберов, функционирующих периодически. Один из адсорберов находится в фазе адсорбции - обезвоживания, а другой в фазе десорбции. На обезвоживание поступает водно-спиртовой пар с ректификационной колонны. Обезвоженный этанол конденсируется, охлаждается и отводится в сборник. За время работы второго адсорбера проходит регенерация молекулярных сит в первом адсорбере. Третий адсорбент обеспечивает плавное переключение между активным и восстановленным аппаратами и позволяет восстанавливать цеолит в мягком режиме, что продлевает срок службы материала [47].

При азеотропной ректификации в системах перегонки в смесь воды и спирта добавляется разделяющий агент, такой как циклогексан и гликоль, который образует азеотроп с этанолом или водой. В регенерационной колонне этот азеотроп разделяется на разделяющийся агент и компонент исходной смеси. Завершающим этапом производства биоэтанола является

процесс денатурации, где в него добавляется 2-5% бензина, что делает его непригодным употреблению[51,57].

Одним из ценных побочных продуктов производства является барда, который содержит питательные вещества – минералы и несброженные сахара, а зерновая барда еще и большую долю белков, жиров и клетчатки. Для удобства хранения и транспортировки барду необходимо обработать. Первоначально барда механически отделяется от воды в декантирующих центрифугах. Фугат, жидкая барда, содержит растворенные вещества и взвешенные частицы. Часть жидкой барды возвращается в бродительный аппарат, где она снижает pH суслу, опасность бактериального загрязнения и служит источником азота и других питательных веществ, необходимых для брожения. Остальная жидкая барда с содержанием сухих веществ от 5 до 10% концентрируется в выпарном аппарате. Кроме фугата в декантирующей центрифуге образуется осадок, дробина, которую можно использовать для производства более ценного продукта [33].

Наиболее перспективной технологией получения биоэтанола является технология гидролиза и брожения возобновляемого растительного сырья. Гидролиз протекает по формуле:  $(C_6H_{10}O_5) + H_2O = nC_6H_{12}O_6$  и может быть в основном двух типов: кислотный (с использованием разбавленных или концентрированных кислот) и ферментативным. Лигниноцеллюлоза биомасса более трудно подвергается гидролизу, чем чистая целлюлоза, потому что содержит трудногидролизуемые компоненты такие как лигнин и кристаллическая целлюлоза. Лигноцеллюлозная биомасса, подвергаясь кислотному гидролизу в основном образует ксилозу, в то время как целлюлозная фракция остается неизменной. Это происходит потому, что ксилан более подвержен гидролизу в умеренно кислых условиях из-за своей аморфной структуры, в то время как целлюлоза требует более жестких условий из-за его кристаллической природы [65].

Если гидролиз осуществляется с использованием 1% разбавленной серной кислоты, то в первую очередь деполимеризуется гемицеллюлоза,

так как она имеет менее сложную структуру, чем целлюлоза. Этот процесс обычно проводится в двух следующих друг за другом этапов. Одним из наиболее важных характеристик этого типа гидролиза является скорость гидролиза. Реакции, вовлеченные в этот процесс, обеспечивают непрерывность протекания процесса. Для ускорения диффузии кислоты, сырье механически измельчается до размеров в несколько миллиметров [25,32].

Гидролиз с концентрированными кислотами (10-30%), с другой стороны, быстро и полностью преобразует целлюлозу в глюкозу и гемицеллюлозы в ксилозу, с некоторой степенью деградации. Наиболее часто используемыми кислотами при гидролизе являются серная кислота, соляная кислота, а также ортофосфорная кислота. Этот тип кислотного гидролиза имеет большое преимущество и очень эффективно для извлечения сахаров так как приблизительно 90% гемицеллюлозы и целлюлозы деполимеризуются в мономерный сахар. С экономической точки зрения, этот процесс позволяет уменьшить издержки производства по сравнению с разбавленным раствором кислоты, особенно, если кислоты извлекаются и снова концентрируются. Кислоты и сахара в растворе разделяются через ионообменные мембранные поры. Далее кислоту концентрируют через многоступенчатые испарители и снова готовят к использованию. Оставшиеся твердые фракции биомассы, богаты лигнином, собираются и могут быть изготовлены в виде гранул для использования в качестве топлива [16,25].

Таким образом, гидролиз концентрированной кислотой протекает в два этапа: на первом этапе, концентрированная кислота (70%) разрушает кристаллическую структуру целлюлозы, разбивая водородные связи между цепями целлюлозы; на второй стадии, гидролиз индуцирует гидролитическую реакцию в отдельных изолированных целлюлозных цепях.

Гидролиз можно также проводить различными ферментами. Однако ферментативный гидролиз природных лигноцеллюлозных материалов является очень медленным процессом. Активному протеканию фермента-

тивного гидролиза препятствует сложная структура сырья, которое состоит из целлюлозы, лигнина и гемицеллюлозы. Перспективным направлением является использование так называемого коктейля из ферментов, который способен разорвать связи в полимерной цепи. Этот коктейль обычно представляет собой смесь различных гидролитических ферментов, включая целлюлазы, ксиланазы, гемицеллюлазы и маннаоксидазы. Ферментативный гидролиз целлюлозы представляет собой сложный процесс и протекает в ограниченных условиях между твердым субстратом и жидкой фазой, где ферменты являются подвижными компонентами [52,54].

При ферментативном гидролизе на начальной фазе распад полисахаридов протекает более интенсивно, последующая вторая фаза характеризуется медленной скоростью и продолжается до тех пор, пока весь субстрат не используется. Причина такого поведения, как правило, в доступной доле целлюлозы, которая быстро гидролизуется на первом этапе, а затем происходит медленная активация адсорбированных молекул фермента.

При ферментативном гидролизе важное значение имеет степень измельчения сырья. Измельченная биомасса увеличивает площадь поверхности, доступной для ферментов и уменьшается полимеризация и степень кристалличности целлюлозы, таким образом обеспечивая использование меньшего количества ферментов. Это в свою очередь сокращает издержки производства [52,54].

Фермент целлюлазу для гидролиза лигниноцеллюлозного сырья могут производить как бактерии так и грибки. Бактерии могут быть аэробными или анаэробными, мезофильные или термофильные. Чаще всего используются *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Thermomonospora*, *Ruminococcus*, *Bacteroides*, *Erwinia*, *Acetovibrio*, *Microbispora* и *Streptomyces*. Продуцируемые ими ферменты, как правило, классифицируются в соответствии с их специфичностью воздействия. Поэтому они могут быть внутриклеточными или внеклеточными. Основная функция внеклеточных ферментов заключается

в преобразовании субстрата во внешнюю среду, принимая эффект на клеточной массы компонентов. И наоборот, внутриклеточные ферменты нуждаются в субстрате для распространения через клеточную массу прежде чем он может быть преобразован [57].

Таким образом, различают несколько технологий получения биоэтанола в зависимости от состава сырья. Наиболее приемлемыми и современными технологиями является брожение пищевого сырья и гидролиз и брожение возобновляемого растительного материала. Основными этапами получения биоэтанола являются: первичная переработка сырья, ферментация, дистилляция, ректификация, обезвоживание и денатурирование.

#### **1.4. Утилизация отходов биоэтанольного производства**

Утилизация отходов позволяет не только решать экологические проблемы, но и служит эффективным источником получения «чистой», возобновляемой энергии. В зависимости от состояния перерабатываемого субстрата технологии энергетической утилизации отходов можно разделить на две основные группы, в первой из которых преобладают технологии термохимической конверсии биомассы с генерацией синтез-газа для получения электрической и тепловой энергии и спектра топливных продуктов второго передела, во второй – технологии биохимической (биотехнологической) конверсии - анаэробного сбраживания (ферментации) с получением биогаза и применением его для тех же целей [15,21].

При гидролизе растительных тканей разбавленными и концентрированными кислотами остается нерастворимый остаток называемый техническим лигнином. Основную массу его составляет лигнин клеточных стенок растений. В состав технического лигнина также входит 5-20% не прогидролизованной целлюлозы, значительная часть смол, восков, жиров, содержащихся в исходном сырье, а также нерастворившаяся при гидролизе часть белков [27,31].

В настоящее время имеется ряд разработок, позволяющих использовать вторичные сырьевые ресурсы в химической промышленности, в металлургической промышленности и других производственных отраслях.

1. В качестве топлива для котельных. Высушенный лигнин смешивают с другими видами топлива, например углем, и подается для сжигания топлива в паровых котлах.

2. В качестве топлива для населения. Из гидролизного лигнина изготавливают сухие брикеты.

3. В качестве восстановителя в металлургической промышленности. Сухой лигнин используется как топливо, не содержащее серы и богатого углеродом, в доменном процессе.

4. Для получения карбонизированного лигнина. Для получения реакционно способного угля, применяемого при производстве сероуглерода, влажный лигнин предварительно пластифицируется и формируется с помощью прессов в гранулы диаметром 20 см.

5. Для получения растворимого в спиртах феноллигниновой смолы. Эта смола получается конденсацией фенола с лигнином в щелочной среде. Раствор этой смолы используется для обработки формовочной земли, применяемой при изготовлении опок. Такая земля после органического растворителя заполняет опоку и нагревается, после охлаждения опока хорошо сохраняет форму. После заливки в опоку расплавленного металла смола легко выгорает и земля легко осыпается. Такая обработка формовочной земли иногда применяется в точном литье вместо фенолформальдегидной смолы, которая при выгорании выделяет ядовитые пары фенола [15,21,37].

6. Для получения поверхностно активных веществ, используемых главным образом при стабилизации глинистых суспензий при бурении нефтяных скважин. Таким активным веществом является сунил, который представляет собой нитролигнин, полученный при обработке лигнина из сельскохозяйственных отходов горячей 5-8 %-ной азотной кислотой и

смешанной при 98 °С с разбавленным едким натрием. Полученный раствор выпускается в виде раствора содержащего 17 % сухих веществ.

7. Для получения стимуляторов роста растений лигнин сельскохозяйственных отходов обрабатывают 30% азотной кислотой при нагревании. Лигнин при этом окисляется до бензолполикарбоновых кислот и щавелевой кислоты. Окисленная смесь освобождается от избытка азотной кислоты отгонкой под вакуумом и от щавелевой кислоты охлаждением смеси. Выпадающая при этом щавелевая кислота отфильтровывается. В этих условиях получается 10-15 % щавелевой кислоты, 30-35 % бензолполикарбоновых кислот, 4-5 % нитрофенолов. опыты показали, что смесь получаемых бензолполикарбоновых кислот обладает свойствами стимуляторов роста различных растений [44].

8. В кирпичном и цементном производстве. В кирпичном производстве влажный лигнин смешивается с глиной. Во время обжига в печах кирпичей лигнин способствует более равномерному их нагреванию и обеспечивает необходимую пористость. В цементном производстве прибавление влажного лигнина в мельнице при размоле клинкера способствует более быстрому его размолу и снижает расход электроэнергии.

Перечисленные выше области применения отходов гидролизного производства не исчерпывают всех известных направлений его использования. Например, ведутся работы по использованию лигнина в качестве сорбента редких элементов, тяжелых металлов и красителей из разбавленных водных растворов, бактерий и токсинов в фармацевтической промышленности, по гидрированию лигнина с целью получения ряда гидроароматических продуктов. Большой интерес проявляется к работам по окислению лигнина кислородом воздуха, а также щелочному расщеплению лигнина и использованию полученных продуктов для выращивания кормовых дрожжей [15,44].

Отходами биоэтанольного производства из крахмалосодержащего сырья являются зернокартофельная вторичная барда, побочные продукты

перегонки спирта: сивушное масло, эфирно-альдегидная смесь, дрожжи. Всех их можно объединить в группу вторичных сырьевых ресурсов.

В настоящее время считается наиболее целесообразным использование большей части вторичных сырьевых ресурсов (зерно-картофельной барды, дрожжевой биомассы) для кормления сельскохозяйственных животных. Однако если к спиртовой барде просто добавлять растительные компоненты, то использование ее в животноводстве не достаточно эффективно из-за низкого содержания в получаемом продукте витаминов и аминокислот. В настоящее время разрабатываются новые кормовые добавки на основе отходов спиртовых производств, аминокислотный и минеральный состав которых сбалансирован. Основной же проблемой при утилизации спиртовой барды и дрожжевой биомассы является то, что срок хранения этих вторичных сырьевых ресурсов ограничен. Предприятия сдают, без предварительной обработки, свои отходы потребителям по низким ценам, чтобы избежать штрафов и налогов за загрязнение прилегающих территорий [31,46,47].

В настоящее время имеется ряд разработок, позволяющих использовать вторичные сырьевые ресурсы спиртовой промышленности не только для прямого скармливания животным, но и в пищевой, и в химической промышленности.

Описан способ получения биосорбента из дезинтегрированных клеток микроорганизмов (биомассы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, бактерий *Zyotomonasmosilis*, *Clostridiumthermocellum*), использованных ранее в микробиологическом производстве этанола. При дезинтеграции биомасса микроорганизмов получает на поверхности клеточных оболочек отрицательный поверхностный потенциал от 22 до 75 мВ. В результате, биосорбент обладает большой сорбционной емкостью как к положительно заряженным частицам за счет отрицательного поверхностного потенциала, так и к органическим веществам за счет содержащихся в нем липидов и углеводов. Описаны несколько способов получения биосорбента. 1) Водную суспензию дрожжей

или бактерий, применяемых при сбраживании, нагревают, отделяют центрифугированием твердую фазу, которая и представляет собой искомый биосорбент. Отрицательный поверхностный потенциал при этом составляет 37-50 мВ. 2) Суспензию микроорганизмов облучают ИК –лазером при перемешивании до полной дезинтеграции клеток. Отделяют твердую фазу центрифугированием. Предлагается также способ обработки микроорганизмов сжатым оксидом углерода под давлением 6-9 Мпа. По истечению 0,5-0,7 часа давление сбрасывают, твердую фазу, представляющую абсорбент, отделяют.

Полученный любым способом биосорбент, практически полностью удаляет из водных растворов хлорорганические и фосфорорганические соединения при содержании их не свыше 1,4 мг/л, катионы тяжелых металлов (медь, свинец, кадмий, ртуть) при общем содержании их в растворе до 13 мг/л. для получения биосорбента могут быть использованы как отработанные культуры, так и свежеприготовленные [65].

Другим путем использования отходов производства этилового спирта в химической промышленности является переработка эфиральдегидной фракции и сивушного масла в растворители и использование их для приготовления лаковых покрытий. Растворитель, получаемый из сивушного масла и уксусной кислоты, может быть использован для изготовления лаковых покрытий на основе фенол-формальдегидной смолы, а также как жидкость для снятия лака с ногтей.

Еще одним способом, заслуживающим внимание, является использование отходов производства этилового спирта в составе удобрений на основе птичьего помета. При таком способе приготовления удобрения, значительно уменьшается потребление минеральных удобрений. Предлагается смешивать отходы птицеводства с отходами микробиологического производства этилового спирта, после чего смесь выдерживать до начала деградации органического компонента и вносить в качестве удобрения в почву. При реализации способа отходы

производства птицы, преимущественно, птичьего помета, смешивают с биомассой микроорганизмов, использованных при сбраживании сахар- и крахмалсодержащего сырья. В смесь добавляют порошкообразное комплексное удобрение, содержащее оксиды калия, фосфора и азот. Массу перемешивают до образования однородного состава. В смесь добавляют раствор мочевины, концентрация которого зависит от содержания воды в биомассе микроорганизмов.

С использованием шнекового пресса формируют гранулы удобрения. В результате получают комплексное минеральное удобрение, содержащее основные питательные вещества, а также биоактивную добавку, способствующую активации консорциума почвенных микроорганизмов, способствующего усвоению растениями питательных веществ. Удобрение может быть использовано либо в виде водной суспензии или в гранулированной форме. Высокая концентрация питательных веществ делает рентабельной перевозку удобрения на значительные расстояния [15,27].

Одним из примеров использования продуктов спиртового брожения в фармацевтической промышленности является получение препарата «леван». Леван- это внеклеточный полисахарид, который представляет собой полимер фруктозы. Синтезируется он в процессе спиртового брожения бактериями *Zygomonas mobilis* параллельно образованию этилового спирта. Интерес к данному полисахариду вызван возможностью его использования в качестве заменителя плазмы крови и для получения химически чистой фруктозы, а также леван способен подавлять рост некоторых типов опухолей. Наибольшая интенсивность биосинтеза левана совпадает с экспоненциальной фазой роста. В конце спиртового брожения концентрация левана достигает 28 г/л, а этилового спирта – 70 г/л.

Еще одним перспективным путем утилизации отходов спиртового производства является микробиологический синтез на основе спиртовой барды витамина B<sub>12</sub>[31,41].

## ВЫВОДЫ ПО ГЛАВЕ

Таким образом, современные виды биотоплива, которые классифицируются следующим образом: биотопливо I поколения (твердое топливо, получаемое из отходов лесной промышленности и целлюлозного производства); биотопливо II поколения ( жидкое биотопливо - биоэтанол и биодизель); биотопливо III поколения (биогаз и бионефть- топливо, получаемое с использованием различных микроорганизмов). Среди всех видов биотоплива наибольший интерес представляет жидкое топливо – биоэтанол.

К наиболее важным сырьевым ресурсам, пригодных для производства биотоплива относят сахаросодержащие, крахмалосодержащие и целлюлозосодержащие культуры. К технологическим свойствам сырья относятся такие показатели как химический состав, гидролизуемость полисахаридов, их фильтрующая способность.

Различают несколько технологий получения биоэтанола в зависимости от состава сырья. Наиболее приемлемыми и современными технологиями является брожение пищевого сырья и гидролиз возобновляемого растительного материала. Основными этапами получения биоэтанола являются: первичная переработка сырья, ферментация, дистилляция, ректификация, обезвоживание и денатурирование.

В основе получения биоэтанола лежит спиртового брожения, основными возбудителями которого являются дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Утилизация отходов биоэтанольного производства позволяет не только решать экологические проблемы, но и служит эффективным источником получения «чистой», возобновляемой энергии.

## **ГЛАВА II. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Исследования проводились в научно-исследовательской лаборатории «Биометод» при кафедре генетики и биохимии, факультета естествен-

ных наук Самаркандского Государственного Университета. Работы по определению количества сахаров, а также процентное содержание абсолютного этанола проводились в производственной лаборатории СП ОАО «Pulsargroupbrewery». Полевые работы по определению малопригодных в хозяйственном отношении видов пустынных трав проводились в степной пустыне Карнабчуль в периоде апрель-июнь 2015 г.

## 2.1. Объекты исследования

Объектами исследования является биомасса следующих видов пустынных трав:

Вид Гармала обыкновенная (*Peganum Harmala*)-многолетнее травянистое растение семейства Парнолистниковые (*Zygophyllaceae*). Крупное растение высотой 50 см. Обладает хорошей вегетативной биомассой.

Вид Зопник коряковидный (*Phlomis thapsoides*)- многолетнее травянистое растение семейства Яснотковые (*Lamiaceae*)- широко распространенное растение, составляющее основную часть травостоя и дающее большую биомассу [39].

Вид Ирис джунгарский (*Iris songarica*)-многолетнее корневищное растение семейства Ирисовые (*Iridaceae*) высотой 20-40 см. Широко распространенное растение, не поедаемое овцами.

Вид Псоралея костянковая (*Psoralea drupacea*)- многолетнее травянистое растение семейства Бобовые (*Fabaceae*) достигающее в высоту 1-1,5 м. Обладает хорошей вегетативной биомассой [11].

Объектом исследования являются также промышленные штаммы спиртовых дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

## 2.2. Методы исследования

Для распада полисахаридов до моносахаридов проводили кислотный гидролиз. Гидролиз биомассы пустынных трав проводили с исполь-

зованием  $H_2SO_4$ . Варьировались концентрация кислоты и продолжительность процесса, показатели pH среды.

Для проведения гидролиза биомассы пустынных трав разбавленной  $H_2SO_4$  приготовили растворы 0,1, 0,3, 0,5 и 1% концентрацией серной кислоты. Замерили ареометром плотность кислоты,  $\rho=1,483$ , что соответствует 90% серной кислоты. Из нее были приготовлены слабые растворы с содержанием 0,1%, 0,3%, 0,5% и 1% кислоты. Гидролиз разбавленной  $H_2SO_4$  проводили в течение 1,2,3,4 и 5 часов, на водяной бане при температуре  $100\text{ }^\circ\text{C}$ .

Для проведения гидролиза биомассы пустынных трав концентрированной  $H_2SO_4$  приготовили растворы 10, 15, 20, 25% серной кислоты. Гидролиз проводили в течение 2, 4, 6, 8 и 10 часов, также на водяной бане при температуре  $100\text{ }^\circ\text{C}$ .

Образовавшийся гидролизат отфильтровали через марлю и нейтрализовали щелочным раствором NaOH для выравнивания pH=4,5. Для качественного определения сахаров в гидролизате использовали реакцию Фелинга. Для приготовления Фелинговой пробы готовят два раствора: раствор 1 - в мерной колбе емкостью 500 мл растворили 34 гр сернокислой меди и довели водой до отметки; раствор 2 - в 200 мл воды растворяют 173 гр сегнетовой соли. Раствор количественно переносят в мерную колбу на 500 мл. Сюда же вливают раствор 50 г едкого натра в 100 мл воды и доводят водой до метки. Растворы хранят отдельно. Непосредственно в момент употребления смешивают равные объемы.

Для количественного определения сахаров пользовались денситометром. Для проведения ферментации гидролизатов пустынных трав использовали промышленные штаммы дрожжей. Дрожжи *Sacchromyces cerevisiae* выращивали в солодовом сусле. Для приготовления неохмеленного сусла в 1 л водопроводной воды добавляют 250 г размолотого сусла. Воду нагревают до температуры  $50\text{ }^\circ\text{C}$ , засыпают солод и смесь выдерживают при этой температуре 30 мин, все время перемешивая. Затем температуру

поднимают до 63 °С и, постоянно перемешивая, выдерживают 30 мин., далее нагревают до 70 °С, выдерживают 30 мин и проверяют полноту осахаривания по йодной пробе раствором Люголя. После этого сусло фильтруют через марлю, разливают по колбам и стерилизуют при температуре 100 °С в течение 20 мин [5].

Для культивирования дрожжей в сусле необходимо в 100 мл сусло добавить 0,5 г дрожжей. Посев инкубировали в термостат при 30 °С в течение 24 часов. Для определения жизнеспособности дрожжей в выделенных гидролизатах, выращенные в сусловой среде дрожжи вносили по 1 мл в пробирки с содержанием 9 мл гидролизата (1:9). Посевы инкубировали в термостате при 30 °С в течение 48 часов. Плотность углеводов в гидролизате измерили денситометром до и после инкубации.

Для количественного учета нежизнеспособных дрожжевых клеток и содержания гликогена в дрожжах готовили препараты с прижизненной окраской. Для этого на предметное стекло наносят каплю анализируемых дрожжей и каплю метиленового синего. Через 2 мин. Ведут подсчет всех дрожжевых клеток и клеток, окрашенных в синий цвет (нежизнеспособных). Подсчет ведут не менее чем в 5 полях зрения. Количество нежизнеспособных дрожжевых клеток выражают в процентах от общего числа клеток [21].

Для определения гликогена на предметное стекло наносят каплю дрожжей и 1-2 капли раствора Люголя. Капли смешивают, покрывают покровным стеклом. Микроскопируют через 2-3 мин. Гликоген окрашивается в красно-бурый цвет, цитоплазма дрожжей в светло-желтый цвет. Проматривают не мене 5 полей зрения.

После двухсуточного выращивания дрожжей в исследуемых образцах гидролизатов произвели посев дрожжей на чашки Петри с солодо-агаровой средой и инкубировали при температуре 30 °С в течение 24 часов.

Для приготовления раствора Люголя 2 г йодистого калия (KI) растворяют в 100 мл воды. Добавляют 1 г кристаллического йода и после его полного растворения доводят водой объем раствора до 300 мл [25 ].

Для приготовления метиленового синего красителя в 100 мл 70 % этилового спирта растворили 3 г метиленового синего. Раствор оставили на 2-3 суток, периодически взбалтывая, а затем отфильтровали.

Для поверхностного культивирования дрожжей использовали сусло агаровую среду. К отфильтрованному суслу добавляют 2% агар-агара. Среду расплавляют на водяной бане и разливают по стерильным чашкам.

Все данные обработаны методами статистической обработки по Стьюденту.

## **ВЫВОДЫ ПО II ГЛАВЕ**

Объектами исследования являются малопригодные в хозяйственном отношении пустынные травы. Гидролиз биомассы пустынных трав проводили с использованием  $H_2SO_4$  различной концентрации и продолжительности времени. Качественное определение сахаров определяли с применением Фелинговой пробы, количественное содержание сахаров определяли денситометрическим способом.

Дрожжи культивировали на поверхности сусло-агаровой среды, жизнеспособность которых проверяли с применением раствора Люголя и метиленового синего.

## **Глава III. ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

### **3.1. Изучение морфологических особенностей и химического состава некоторых видов пустынных трав**

Мы изучали морфологические и биохимические особенности пустынных растений, не имеющих кормового значения и возможности их использования в качестве гидролизного сырья при получении биотоплива. Были изучены следующие виды растений: осока толстолобиковая, мятлик луковичный, мак павлиний, костер, гусиный лук, гармала обыкновенная, ирис джунгарский, зопник коряковидный, псоролея косянковая.

Вид Гармала обыкновенная (лат.*Péganum hármala*)- многолетнее травянистое растение семейства Парнолистниковые (*Zygophyllaceae*). Крупнорастение высотой около 50см с мощным многоглавым корнем до 2-3 м длины, вертикально уходящим в почву к водоносным слоям. Стебли высотой 30-80см, листья короткочерешковые, сидячие, располагаются на стебле поочередно. Цветки желтые или белые, крупные, одиночно располагаются на цветоножках. Венчик состоит из пяти лепестков, длиной 1,5-2см. Тычинок 15. Плод-коробочка, диаметром 6-10мм. Семена коричневые или буровато-серые, клиновидные, трехгранные, длиной 3-4 мм, с бугорчатой поверхностью. Цветет в мае - июле, семена созревают в июле - августе. Имеет сильный специфический запах. Содержит значительное количество алкалоидов (гармин, гармалин, пеганин), причем их количество варьирует в корнях, стеблях, листьях, наибольшее количество содержится в семенах (67-78%). Являясь ядовитым растением, совершенно не поедается овцами, даже при добавлении концентратов в силос [11].

Вид Зопник коряковидный (лат.*Phlomis thapsoides*)- многолетнее травянистое растение семейства Яснотковые (*Lamiaceae*). Зопник коряковидный- широко распространенное растение, составляющее основную часть травостоя и дающее большую биомассу. Растение имеет беловолочное опушение стеблей и листьев, многочисленные, хорошо олиственные стебли имеют высоту от 25-до 40 см. Урожайность от 6 до 10 ц на га. Благодаря широкой площади распространения образует громадные

естественные запасы. Цветет в мае, а вегетирует все лето. Почти не поедается овцами в связи с жестким и густым опушением листьев и стеблей [39].

Вид Ирис джунгарский (лат.*Iris songarica*)- многолетнее корневищное растение семейства Ирисовые (*Iridaceae*) высотой 20-40 см. Растет по глинистым степям пустыни Средней Азии. Листья жесткие, мечевидные, плоские, двухрядные, иногда линейные, тонкие, с восковым налетом, собраны большей частью при основании цветоносов веерообразными пучками. Стебли цилиндрической формы. Цветки крупные (4-6 см длины) одиночные, актиноморные, душистые, бледно-голубого цвета. У отдельных видов внутренние доли редуцированы. Плод - продолговатая коробочка. Семена коротко-цилиндрические, коричнево-бурые, с твердой кожурой. Цветет весной, плодоносит в середине-конце лета, не имеет кормового значения [11].

Вид Псоралея костянковая (лат.*Psoralea drupacea*)- многолетнее травянистое растение семейства Бобовые (*Fabaceae*) достигающее в высоту 1-1,5 м. Имеет глубоко уходящее в землю твердое одревесневающее корневище. Стебель прямостоячий, листья по строению простые, нижние листья тройчатосложные. Листовая пластинка округлая или овальная, крупнозубчатая, покрыта точечными железками. Цветки мелкие, беловато-лиловые, собраны в соцветие кисть, цветет в мае-июле. Плод - нераскрывающийся односемянный боб, имеющий войлочное опушение. Растение также не поедается овцами. Морфологические особенности изученных растений представлены рис.3.1.1. табл. 3.1.1.

Основной интерес в качестве целлюлозосодержащего сырья для получения биоэтанола среди трав Карнабчуля представляют виды гармала обыкновенная, зопник коряковидный, ирис джунгарский, псоралея костянковая. Не имея кормового хозяйственного значения, эти травы являются индикаторами антропогенного влияния и могут привести к деградации естественного травостоя [58].



Гармала обыкновенная  
(*Peganumharmala*)



Зопник коровяковидный  
(*Flomisthapsoides*)



Ирисджунгарский  
(*Irissongarica*)



Псоралеякостянковая  
(*Psoraleadrupacea*)

Рисунок 3.1.1. Внешний вид объектов исследования.

Таблица 3.1.1.

## Морфологические особенности некоторых видов пустынных трав.

Вид растения	Корни	Стебли	Листья	Цветки	Плоды
Гармала обыкновенная	Стержневые	Сильно разветвленные	Сложные, трех-пятираздельные	Желтые, одиночные	Семянка
Зопник коряковидный	Толстые извилистые	Сильно разветвленные	Простые широкие, округленные	Мелкие невзрачные	Орешки
Ирис джунгарский	Одревесневевшее корневище	Цилиндрической формы	Простые мечевидные	Крупные, одиночные, бледно-голубого цвета	Коробочка
Псоралея косянковая	Одревесневевшее корневище	Прямостоячие	Нижние- простые верхние- тройчатосложные	Мелкие, собраны в соцветие кисть	Боб

При рассмотрении вопросов биоконверсии любого растительного сырья первоочередное значение имеет химический состав того или иного растения, которое будет являться объектом изучения и исследования. Мы изучали химический состав и биомассу пустынных растений, которые могут быть использованы в качестве гидролизного сырья (табл 3.1.2).

Изучение химического состава показало, что такие виды трав как гармала обыкновенная, зопник коровяковидный, ирис джунгарский, псоралея косянковая богаты зольными элементами, которые играют важную роль в метаболических процессах микроорганизмов и являются обязательными компонентами в составе питательных сред для культивирования микроорганизмов. Наибольшее количество зольных элементов содержат гармала обыкновенная и зопник коровяковидный (18,82;18,55%) [12].

Изученные растения также богаты такими веществами, как безазотистые экстрактивные вещества, легко расщепляющиеся в процессе микробной ферментации, что является важным показателем пригодности их для микробного синтеза. Наибольшее количество безазотистых экстрактивных веществ содержатся в зопнике коровяковидном и ирисе джунгарском (46,99;43,03%). Данные растения также характеризуются наибольшим содержанием клетчатки, что имеет большое значение для использования их в качестве гидролизного сырья[11].

Таким образом, изучение морфологических особенностей пустынных растений степи Карнабчуль показало, что такие виды как гармала обыкновенная, зопник коровяковидный, ирис джунгарский, псоралея косянковая не имея кормового и хозяйственного значения, ведут к деградации естественного травостоя и являются индикаторами антропогенного воздействия. Изучение химического состава разных видов пустынных растений показало, что данные виды богаты зольными элементами безазотистыми соединениями, которые играют важную роль в процессах микробиологического синтеза и имеют наибольшее содержание клетчатки.

Таблица 3.1.2.

Химический состав биомассы пустынных растений (%).

Вид растения	Вода	Зола	Протеин	Белок	Жир	Клетчатка	Безазотистые соединения
Гармала обыкновенная	6,23	18,82	25,59	24,13	3,88	27,14	32,57
Зопник коровяковидный	6,71	18,55	11,19	11,06	2,75	33,46	46,99
Ирис джунгарский	6,55	17,33	18,0	10,08	12,12	28,63	43,03
Псоралея костянковая	6,22	16,42	11,55	10,2	7,84	21,89	40,0

## **3.2. Изучение методов получения биоэтанола биомассы некоторых видов пустынных трав**

### **3.2.1. Изучение процессов гидролиза биомассы некоторых видов пустынных трав разбавленной серной кислотой**

В настоящее время производство биоэтанола является наиболее динамично развивающимся сектором биотопливной отрасли. На его долю приходится 85% объема мирового производства биотоплив [2,4,].

Увеличение объемов производства и потребления биоэтанола является следствием решения задач мировой стратегии защиты окружающей среды и борьбы с глобальным потеплением планеты, направленный на постепенный отказ от нефти и газа и переход на новые возобновляемые виды топлива. Основное направление использования биоэтанола - получение смесевых топлив (этанол+бензин) с достаточно высоким энергосодержанием.

В зависимости от вида используемого сырья процессы производства биоэтанола могут значительно отличаться. Но некоторые из основных этапов в процессе остаются теми же, несмотря на то, что они могут протекать в различных условиях температуры и давления, могут использоваться различные микроорганизмы [9].

Гидролиз целлюлозы наиболее перспективный метод химической переработки растительного сырья, так как вместе с биотехнологическими процессами позволяет получать кормовые и пищевые продукты, биологические активные и лекарственные препараты, мономеры и синтетические смолы, топливо для внутреннего сгорания и разнообразные продукты для технических целей. В качестве исходного сырья для получения этих веществ и продуктов используются углеводы, накапливающиеся в растениях. Перед гидролизом необходима предварительная обработка сырья, при которой происходит изменение ее макроскопической и микроскопической структуры, изменение его химического состава. Предварительная обработка приводит к разрушению кристаллической структуры целлюлозы и раз-

рушению гемицеллюлозы. На этом этапе происходит растворение гемицеллюлозы и уменьшается степень его кристаллизации. Одновременно при этом происходит увеличение его поверхности, т.е доступной площади, необходимой для различной реакции и увеличение пористости субстрата [22].

Эффективная предварительная обработка должна отвечать следующим требованиям:

1. При обработке необходимо увеличение образования сахара.
2. Облегчить последующее образование сахаров во время гидролиза.
3. Предотвратить ухудшение качества или потери углеводов.
4. Избегать образования побочных продуктов, способных ингибировать последующие процессы гидролиза и брожения [8].

Предварительная обработка сырья имеет особенно важное значение перед ферментативным гидролизом и может быть различного вида: физическая, химическая, биологическая, а также обработка под высоким давлением. Физическая предварительная обработка сырья представляет собой механическое измельчение материала, которая включает в себя дробление, измельчение и помол сырья. В результате измельчения лигноцеллюлозных материалов происходит увеличение удельной поверхности субстрата. Другим видом предварительной обработки сырья является химическая обработка, используемая для уменьшения содержания кристаллической целлюлозы. При химической обработке чаще всего используются различные щелочи и кислоты (серная кислота, соляная кислота), которые способствуют растворению лигниноцеллюлозной биомассы, разрушая структуру лигнина. Важное значение имеют правильно подобранные концентрации кислот, так как конечные продукты гидролиза должны сохранять способность к брожению [53].

В своих исследованиях мы проводили двухступенчатый гидролиз с использованием разбавленной и концентрированной серной кислоты. Выбор серной кислоты для гидролиза полисахаридов растительной ткани

обусловлен следующими ее преимуществами: хорошая растворяющая способность целлюлозы и сильная каталитическая активность уже при низких концентрациях; она не приводит к коррозии железа и не обладает летучестью [34,45].

Для удаления легкогидролизуемых полисахаридов был проведен гидролиз биомассы некоторых пустынных трав, для чего исходное измельченное сырье обрабатывалось 0,1%, 0,3%, 0,5% и 1 %  $H_2SO_4$  с гидромодулем 1:5 и выдерживалось при температуре кипения ( $100^{\circ}C$ ) в течение 1,2,3,4,5 часов. По истечении времени сырье отфильтровывалось от предгидролизата и использовалось для основной стадии кислотного гидролиза.

Результаты сравнительного изучения выхода редуцирующих веществ из биомассы пустынных трав в зависимости от концентрации  $H_2SO_4$  и продолжительности гидролиза в течение 1,2,3,4 и 5 часов представлены в нижеследующих таблицах. Результаты исследований массовых долей редуцирующих веществ у пустынных трав при воздействии разбавленной  $H_2SO_4$  при продолжительности гидролиза 1 час представлены в табл.3.2.1.1.

Таблица 3.2.1.1

Массовая доля РВ (%) некоторых видов пустынных трав под воздействием разбавленной  $H_2SO_4$  при продолжительности гидролиза 1 ч.

Концентрация $H_2SO_4$ , %	Название растений			
	Гармала обыкновенная	Зопник коряковидный	Ирис джунгарский	Псоралея костянковая
0,1	0,29±0,15	0,27±0,16	0,35±0,17	0,31±0,16
0,3	0,75±0,16	0,77±0,17	0,81±0,18	0,85±0,20
0,5	1,10±0,17	1,12±0,20	1,20±0,21	1,10±0,20
1	0,83±0,13	0,71±0,16	0,75±0,17	0,83±0,18

Исследования показали, что при проведении гидролиза в течение первого часа наблюдается небольшой выход редуцирующих веществ. Для травы гармала обыкновенная выход сахаров в течение первого часа составил от 0,29-1,10%, для зопника коряковидного от 0,27-1,12%; для Ириса джунгарского 0,35-1,20%; для псоралеи костянковой 0,31-1,10%. Увеличение концентрации  $H_2SO_4$  до 1% приводило к уменьшению образования редуцирующих веществ.

Результаты исследований массовых долей редуцирующих веществ у пустынных трав при воздействии разбавленной  $H_2SO_4$  при продолжительности гидролиза 2 часа представлены в табл.3.2.1.2.

Таблица 3.2.1. 2

Массовая доля РВ (%) некоторых видов пустынных трав под воздействием разбавленной  $H_2SO_4$  при продолжительности гидролиза 2 ч.

Концентрация $H_2SO_4$ , %	Название растений			
	Гармала обыкновенная	Зопник коряковидный	Ирис джунгарский	Псоралея костянковая
0,1	0,48±0,17	0,49±0,16	0,51±0,17	0,47±0,17
0,3	0,91±0,18	0,95±0,20	1,00±0,20	1,02±0,18
0,5	1,20±0,20	1,83±0,22	1,95±0,17	1,26±0,15
1	0,95±0,18	1,45±0,20	1,38±0,17	1,02±0,15

При проведении гидролиза в течение 2 часов наблюдается также небольшой прирост РВ. Для травы гармала обыкновенная выход РВ в течение второго часа составил от 0,48-1,20%; для зопника коряковидного от 0,49 до 1,83%; для ириса джунгарского от 0,51 до 1,95%; для псоралеи костянковой от 0,47-1,26%. При этом максимальный выход сахаров наблюда-

ется при концентрации  $H_2SO_4$ -0,5%. При увеличении концентрации  $H_2SO_4$ -1% происходит снижение массовых долей сахаров для всех четырех видов трав.

При продолжительности гидролиза в течение 3 часов наблюдалось увеличение массовых долей редуцирующих веществ. Результаты изучения выхода редуцирующих веществ пустынных трав при различных концентрациях и продолжительности гидролиза 3 часа представлены в табл.3.2.1.3.

Таблица 3.2.1.3

Массовая доля РВ (%) некоторых видов пустынных трав под воздействием разбавленной  $H_2SO_4$  при продолжительности гидролиза 3 ч.

Концентрация $H_2SO_4$ , %	Название растений			
	Гармала обыкновенная	Зопник коряковидный	Ирис джунгарский	Псоралея костянковая
0,1	0,67±0,13	0,65±0,12	0,66±0,13	0,61±0,15
0,3	1,10±0,14	1,02±0,15	1,26±0,16	1,28±0,20
0,5	1,61±0,15	1,49±0,20	1,61±0,22	1,47±0,21
1	1,12±0,13	1,00±0,21	1,22±0,20	1,06±0,17

Исследования показали, что при продолжительности гидролиза в течение 3 часов происходит увеличение выхода редуцирующих веществ. Для гармалы обыкновенной выход сахаров составил от 0,67 до 1,61 %, для зопника коряковидного от 0,65 до 1,49 %; для ириса джунгарского от 0,66 до 1,61%; для псоралеи костянковой 0,6-1,47 % . При концентрации  $H_2SO_4$  1% наблюдался небольшой выход редуцирующих веществ.

Наибольший выход редуцирующих веществ при гидролизе пустынных трав разбавленной  $H_2SO_4$  наблюдается при продолжительности гидролиза 4 часа. Результаты исследований представлены в табл.3.2.1.4.

Таблица 3.2.1.4

Массовая доля РВ (%) некоторых видов пустынных трав под воздействием разбавленной  $H_2SO_4$  при продолжительности гидролиза 4 ч.

Концентрация $H_2SO_4$ , %	Название растений			
	Гармала обыкновенная	Зопник коряковидный	Ирис джунгарский	Псоралея костянковая
0,1	0,99±0,12	1,01±0,13	1,02±0,13	0,97±0,12
0,3	1,53±0,22	0,47±0,14	1,53±0,21	1,53±0,20
0,5	1,92±0,21	2,27±0,20	2,43±0,21	1,78±0,20
1	1,26±0,13	1,30±0,14	1,61±0,15	1,61±0,21

Изучение продолжительности гидролиза в течение 4 часов показало, что максимальный выход редуцирующих веществ наблюдается при концентрации 0,5% и составляет для гармалы обыкновенной 1,92%; для зопника коряковидного 2,27%; для ириса джунгарского 2,43%; для псоралеи костянковой 1,78%. При увеличении концентрации  $H_2SO_4$  1% и продолжительности гидролиза 4 часа наблюдается небольшой выход сахаров.

При продолжительности гидролиза в течение 5 часов наблюдается снижение выхода РВ по сравнению с продолжительностью гидролиза в 4 часа (табл.3.2.1.5.) В зависимости от концентрации  $H_2SO_4$  выход редуцирующих веществ для гармалы обыкновенной составил от 0,75-1,43%; для зопника коряковидного от 0,87 до 1,61%; для ириса джунгарского от 0,93 до 1,88%; для псоралеи костянковой от 0,76 до 1,61%. Максимальный выход сахаров наблюдается при

концентрации  $H_2SO_4$  -0,5%. При увеличении концентрации  $H_2SO_4$  1% у всех четырех трав происходит снижение выхода редуцирующих веществ.

Таблица 3.2.1.5

Массовая доля РВ (%) некоторых видов пустынных трав под воздействием разбавленной  $H_2SO_4$  при продолжительности гидролиза 5 ч.

Концентрация $H_2SO_4$ , %	Название растений			
	Гармала обыкновенная	Зопник коряковидный	Ирис джунгарский	Псоралея костянковая
0,1	0,75±0,22	0,87±0,21	0,93±0,16	0,76±0,21
0,3	1,20±0,21	1,14±0,22	1,02±0,17	0,45±0,22
0,5	1,43±0,20	1,61±0,21	1,88±0,21	1,61±0,12
1	1,20±0,21	0,95±0,15	1,20±0,21	1,04±0,22

Исследования показали, что наибольший выход редуцирующих веществ из биомассы пустынных трав наблюдается при продолжительности гидролиза в течение 4 часов и концентрации кислоты 0,5% и составляет для гармалы обыкновенной 1,92%; для зопника коряковидного-2,27%; ириса джунгарского-2,43% псоралеи костянковой-1,78% .

Таким образом, изучение выхода редуцирующих веществ в зависимости от концентрации  $H_2SO_4$  пустынных трав показало, что в зависимости от концентрации и продолжительности гидролиза происходит увеличение выхода редуцирующих веществ. Максимальный выход редуцирующих веществ происходит при концентрации 0,5% и продолжительности гидролиза 4 часа. При дальнейшем увеличении концентрации  $H_2SO_4$  происходит уменьшение выхода сахаров. Наибольший выход редуцирующих веществ наблюдается у ириса джунгаского-2,43% и зопника коряковидного-2,27%.. Наименьший выход редуцирующих веществ наблюдается у гармалы обыкновенной-1,92% и псоралеи костянковой1,78%(рис3.2.1.1;3.2.1.2).

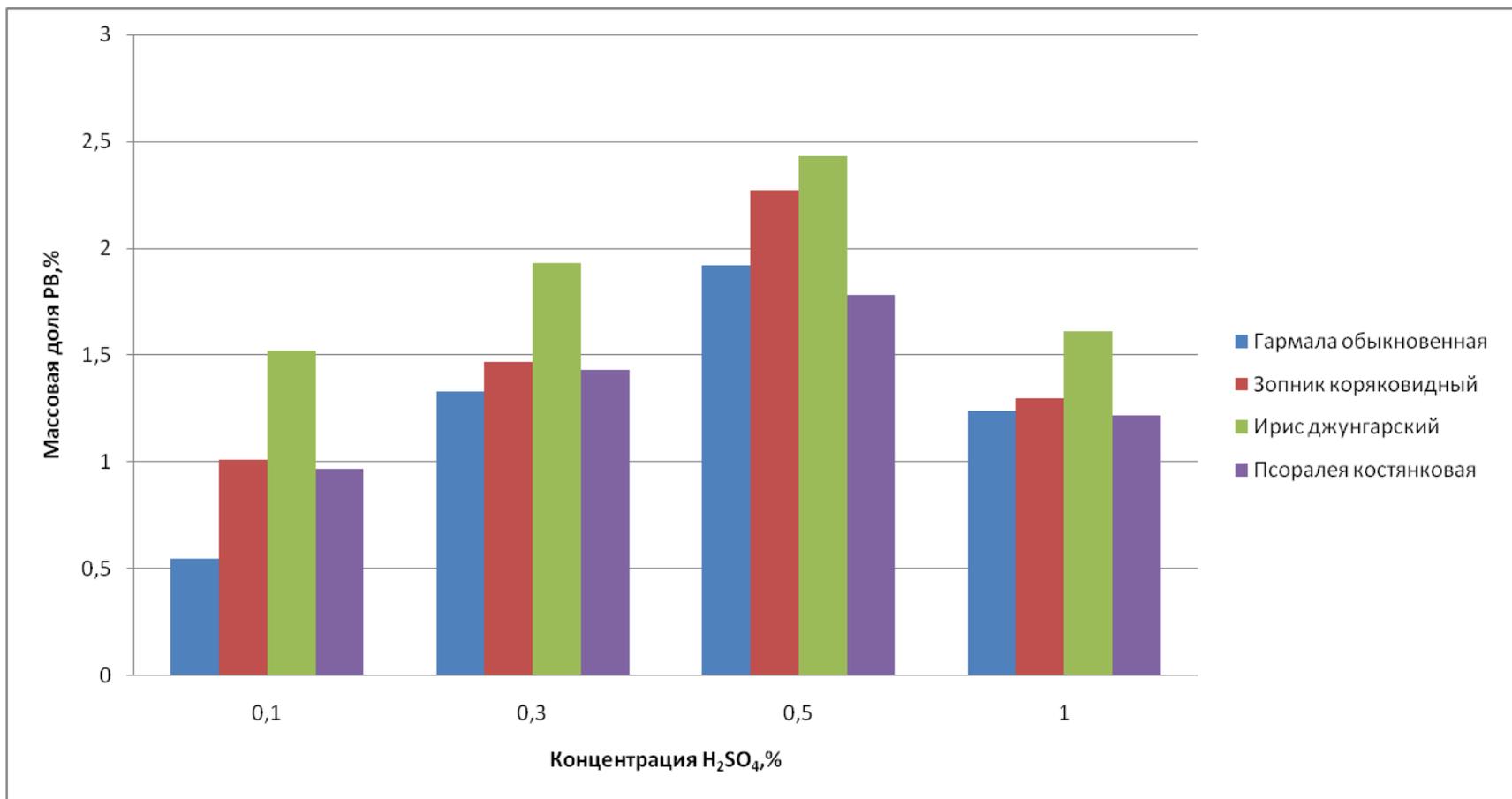


Рисунок.3.2.1.1. Зависимость выхода РВ некоторых видов пустынных трав от концентрации H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> при продолжительности гидролиза 4 часа.

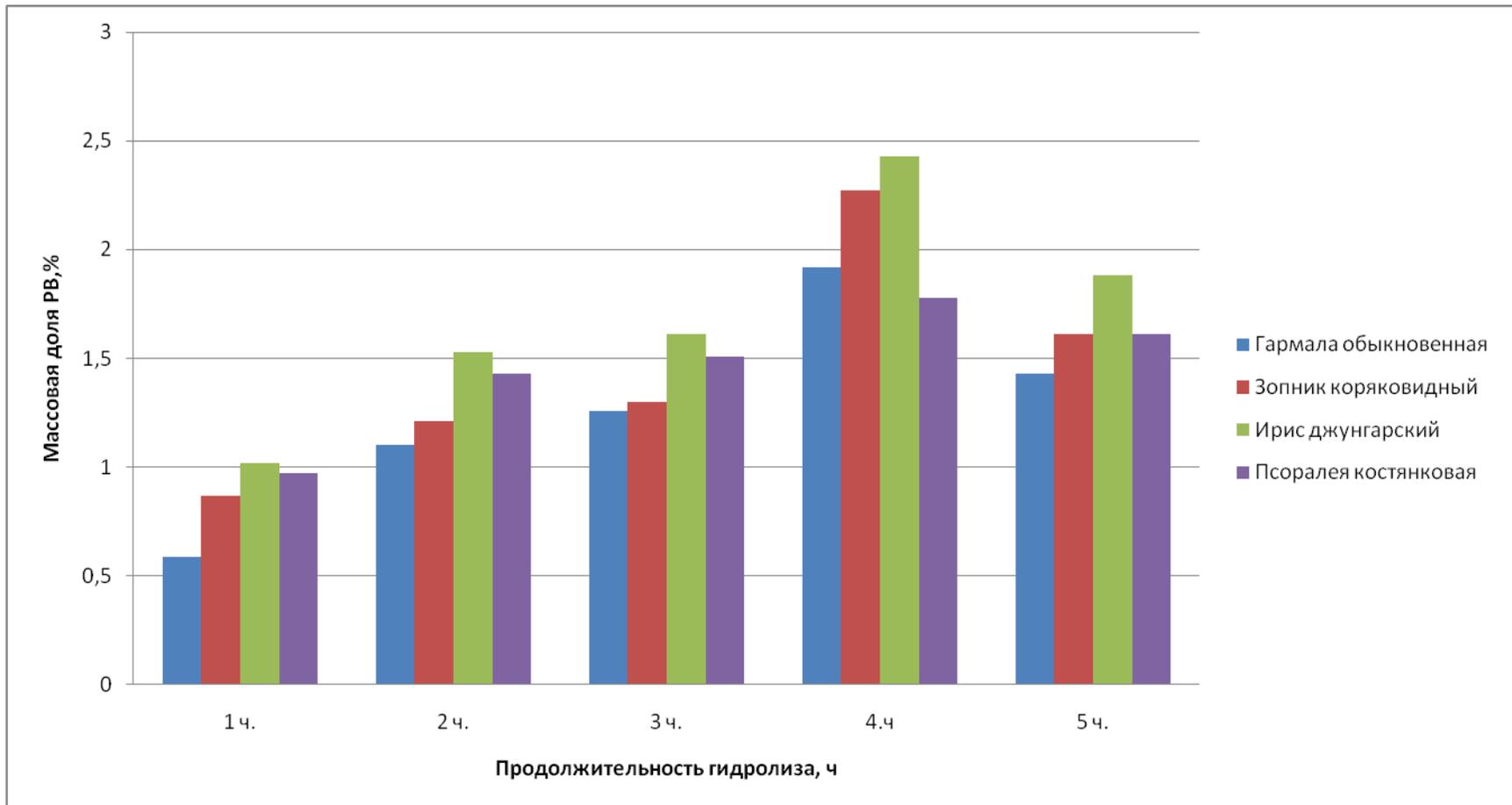


Рисунок.3.2.1.2. Зависимость выхода РВ некоторых видов пустынных трав от продолжительности времени гидроли-

за.

### **3.2.2. Изучение процессов гидролиза концентрированной серной кислотой**

Известно, что процесс гидролиза разбавленными минеральными кислотами идет только при температурах выше 100 °С и ведет к распаду легкогидролизуемых компонентов - гемицеллюлоз. В результате этого процесса образуются различные пентозы, которые плохо усваиваются микроорганизмами, поэтому их необходимо удалить из гидролизата. После удаления гемицеллюлоз остается целлолигниновый остаток [22].

Целлюлоза является трудногидролизуемым компонентом. Для растворения целлюлозы до моносахаридов, необходимо вести гидролиз концентрированными кислотами, причем скорость гидролиза повышается в гомогенной среде, то есть в условиях, когда целлюлоза оказывается растворенной в воде в присутствии катализатора. Этому условию удовлетворяет гидролиз полисахаридов растительной ткани в среде концентрированных сильных минеральных кислот, обладающих способностью растворять эти полисахариды [33].

Согласно теории процесса гидролиза, при действии сильных концентрированных минеральных кислот на целлюлозу происходит их сильное набухание, после чего начинается постепенное растворение и образование сахара [25].

Гидролиз растительной ткани концентрированными минеральными кислотами имеет ряд преимуществ и очень эффективен для извлечения сахаров. Так, при гидролизе концентрированными кислотами целлюлоза полностью преобразуется в глюкозу, а гемицеллюлоза в ксилозу и резко снижается распад сахара, вследствие чего выход его приближается к теоретически возможному. Гидролизат становится более чистым, поскольку не содержит продуктов разрушения сахаров [22].

Примерно 90% гемицеллюлозы и целлюлозы деполимеризуется в мономерный сахар. С экономической точки зрения, этот процесс позволяет уменьшить издержки производства по сравнению с разбавленным раство-

ром кислоты, особенно, если кислоты извлекаются и снова концентрируются.

Кислоты и сахар в растворе разделяются через ионообменные мембранные поры. Далее кислоту концентрируют через многоступенчатые испарители и снова готовят к использованию. Оставшиеся твердые фракции биомассы, богатые лигнином, собираются и могут быть изготовлены в виде гранул для использования в качестве топлива.

Гидролиз концентрированной кислотой протекает в два этапа: на первом этапе, концентрированная кислота разрушает кристаллическую структуру целлюлозы, разбивая водородные связи между цепями целлюлозы; на второй стадии гидролиз индуцирует гидролитическую реакцию в отдельных изолированных целлюлозных цепях [53].

При этом методе гидролиза получающиеся гидролизаты имеют концентрацию сахара в несколько раз выше, чем при гидролизе разбавленными кислотами. Конечным продуктом распада целлюлозы является D-глюкоза, которая хорошо усваивается микроорганизмами [25,33].

Для изучения зависимости выхода гексоз из гидролизатов пустынных трав, были взяты следующие концентрации  $H_2SO_4$ : 10,15,20,25%. Гидролиз травы вида гармала обыкновенная концентрированной  $H_2SO_4$  проводился при температуре  $100\text{ }^{\circ}C$  с гидромодулем 1:5, в течение 2,4,6,8,10 часов.

Содержание моносахаридов, определяемое как суммарное содержание гексоз, отражает массовую долю целлюлозы, при гидролизе которой образуется глюкоза. С повышением концентрации кислоты наблюдалось увеличение сахаров в гидролизате.

На выход сахаров, кроме концентрации кислоты, существенное влияние оказывает и продолжительность гидролиза. Для изучения временной зависимости образования гексоз, мы проводили гидролиз в течение 2,4,6,8,10 часов. Полученные данные приведены в нижеследующих таблицах. Зависимость образования гексоз показана на рисунке 3.2.2.2.

Мы изучали образование гексоз из гидролизатов пустынных трав при воздействии концентрированных кислот различной концентрации при продолжительности гидролиза 2 часа (табл.3.2.2.1). Проведенные исследования показали, что при проведении гидролиза концентрированной  $H_2SO_4$  в течение 2 часа наблюдалось небольшое образование гексоз в гидролизатах.

Таблица 3.2.2.1

Массовая доля гексоз некоторых пустынных трав при воздействии концентрированной  $H_2SO_4$  при продолжительности гидролиза 2 ч.

Концентрация $H_2SO_4$ , %	Название растений			
	Гармала обыкновенная	Зопник коря- ковидный	Ирис джун- гарский	Псоралея костянковая
10	2,03±0,13	2,34±0,14	2,53±0,22	2,15±0,14
15	3,59±0,14	3,55±0,15	3,53±0,21	3,53±0,15
20	3,86±0,15	4,23±0,17	4,41±0,12	4,25±0,14
25	3,69±0,16	3,68±0,34	3,51±0,33	3,32±0,17

В зависимости от концентрации  $H_2SO_4$  массовая доля гексоз для гармалы обыкновенной составила от 2,03% до 3,86%, для зопника коряковидного от 2,34% до 4,23%, для ириса джунгарского соответственно от 2,53% до 4,41%, для псоралеи костянковой от 2,15 % до 4,25%. При концентрации  $H_2SO_4$  25% наблюдалось снижение гексоз для всех четырех трав. Максимальный выход гексоз составил при концентрации  $H_2SO_4$  20%. Для гармалы обыкновенной 3,86%, зопника коряковидного 4,23%, ириса джунгарского 4,41%, псоралеи костянковой 4,25%, что почти в 2 раза выше, чем при действии 10%  $H_2SO_4$ .

Результаты изучения массовых долей гексоз гидролизатов пустынных трав при различных концентрациях  $H_2SO_4$  и продолжительности гидролиза 4 часа представлены в табл.3.2.2. Исследования показали, что массовая доля гексоз в зависимости от концентрации  $H_2SO_4$  для травы гармала обыкновенная составило от 2,19 % до 4,81%, для зопник коряковидный от 2,38% до 4,81%, для ириса джунгарского от 2,76% до 5,0%, для псоралеи костянковой от 2,57% до 4,63%. При этом массовая доля гексоз при концентрации 25% уменьшалась.

Таблица 3.2.2.2

Массовая доля гексоз некоторых пустынных трав при воздействии концентрированной  $H_2SO_4$  при продолжительности гидролиза 4 ч.

Концентрация $H_2SO_4$ , %	Название растений			
	Гармала обыкновенная	Зопник коряковидный	Ирис джунгарский	Псоралея костянковая
10	2,19±0,14	2,38±0,15	2,76±0,16	2,57±0,17
15	4,06±0,13	4,14±0,17	4,20±0,14	4,01±0,15
20	4,81±0,22	4,81±0,21	5,0±0,22	4,63±0,17
25	3,71±0,15	3,73±0,16	3,62±0,15	3,36±0,16

Однако выход гексоз при продолжительности гидролиза 6 часов был выше, чем при экспозиции гексоз 4 часа в гидролизатах пустынных трав (табл.3.2.2.3).

Массовая доля гексоз для травы гармала обыкновенная составило от 2,42 до 5,73 %. Для травы зопника массовая доля гексоз составило от 2,61 до 5,91%. Для ириса джунгарского массовая доля гексоз составило от 3,17 до 6,44 %. Для псоралеи костянковой от 3,17 до 5,73%. Также наблюдалось уменьшение выхода гексоз при концентрации  $H_2SO_4$  25%.

Массовая доля гексоз некоторых пустынных трав при воздействии концентрированной  $H_2SO_4$  при продолжительности гидролиза 6 ч.

Концентрация $H_2SO_4$ , %	Название растений			
	Гармала обыкновенная	Зопник коряковидный	Ирис джунгарский	Псоралея костянковая
10	2,42±0,14	2,61±0,15	3,17±0,14	3,17±0,12
15	4,63±0,21	4,53±0,21	4,55±0,22	4,51±0,21
20	5,73±0,12	5,91±0,13	6,44±0,14	5,73±0,13
25	3,73±0,14	3,75±0,14	3,73±0,13	3,57±0,12

Максимальный выход сахаров наблюдается при проведении гидролиза концентрированной  $H_2SO_4$  различной концентрации при продолжительности гидролиза 8 ч. у гидролизатов пустынных трав (табл.3.2.2.4).

Таблица 3.2.2.4

Массовая доля гексоз (%) некоторых пустынных трав при воздействии концентрированной  $H_2SO_4$  при продолжительности гидролиза 8 ч.

Концентрация $H_2SO_4$ , %	Название растений			
	Гармала обыкновенная	Зопник коряковидный	Ирис джунгарский	Псоралея костянковая
10	2,84±0,13	3,02±0,14	3,40±0,15	3,32±0,17
15	5,01±0,22	4,81±0,15	4,85±0,16	4,63±0,21
20	6,54±0,14	6,71±0,16	7,06±0,14	6,54±0,22
25	3,77±0,21	3,77±0,12	3,75±0,15	3,69±0,14

Исследования показали, что происходит дальнейшее увеличение выхода сахаров из данных субстратов. Массовая доля гексоз для травы гармала обыкновенная составило от 2,84 до 6,54%, для зопника от 3,02 до 6,71%, для ириса джунгарского от 3,40 до 7,06%, для псоралеи костянковой от 3,40 до 6,54%. Наибольший выход гексоз наблюдается при концентрации 20%  $H_2SO_4$ . Увеличение концентрации  $H_2SO_4$  приводит к уменьшению выхода гексоз почти в 2 раза.

Результаты изучения выхода гексоз из гидролизатов пустынных трав при различных концентрациях и продолжительности гидролиза 10 часов представлены в табл.3.2.2.5. Установлено, что увеличение продолжительности гидролиза приводит к уменьшению выхода гексоз из гидролизатов пустынных трав и при концентрации 20 %  $H_2SO_4$  составило для гармала обыкновенной 6,22 %, зопника 6,4%, ириса 6,57% , псоралеи 6,53 %. При концентрации 25%  $H_2SO_4$  наблюдается значительное уменьшение гексоз почти в 2 раза, происходит распад и снижение содержания образовавшихся сахаров. Продолжительность гидролиза 10 часов отрицательно сказывается на качестве гидролизатов.

Таблица 3.2.2.5

Массовая доля гексоз (%) некоторых пустынных трав при воздействии концентрированной  $H_2SO_4$  при продолжительности гидролиза 10 ч.

Концентрация $H_2SO_4$ , %	Название растений			
	Гармала обыкновенная	Зопник коряковидный	Ирис джунгарский	Псоралея костянковая
10	2,78±0,12	2,97±0,34	2,97±0,22	3,27±0,16
15	4,81±0,14	4,75±0,13	4,71±0,15	4,43±0,16
20	6,22±0,12	6,40±0,15	6,57±0,16	6,53±0,17
25	3,69±0,15	3,67±0,14	3,69±0,22	3,64±0,21

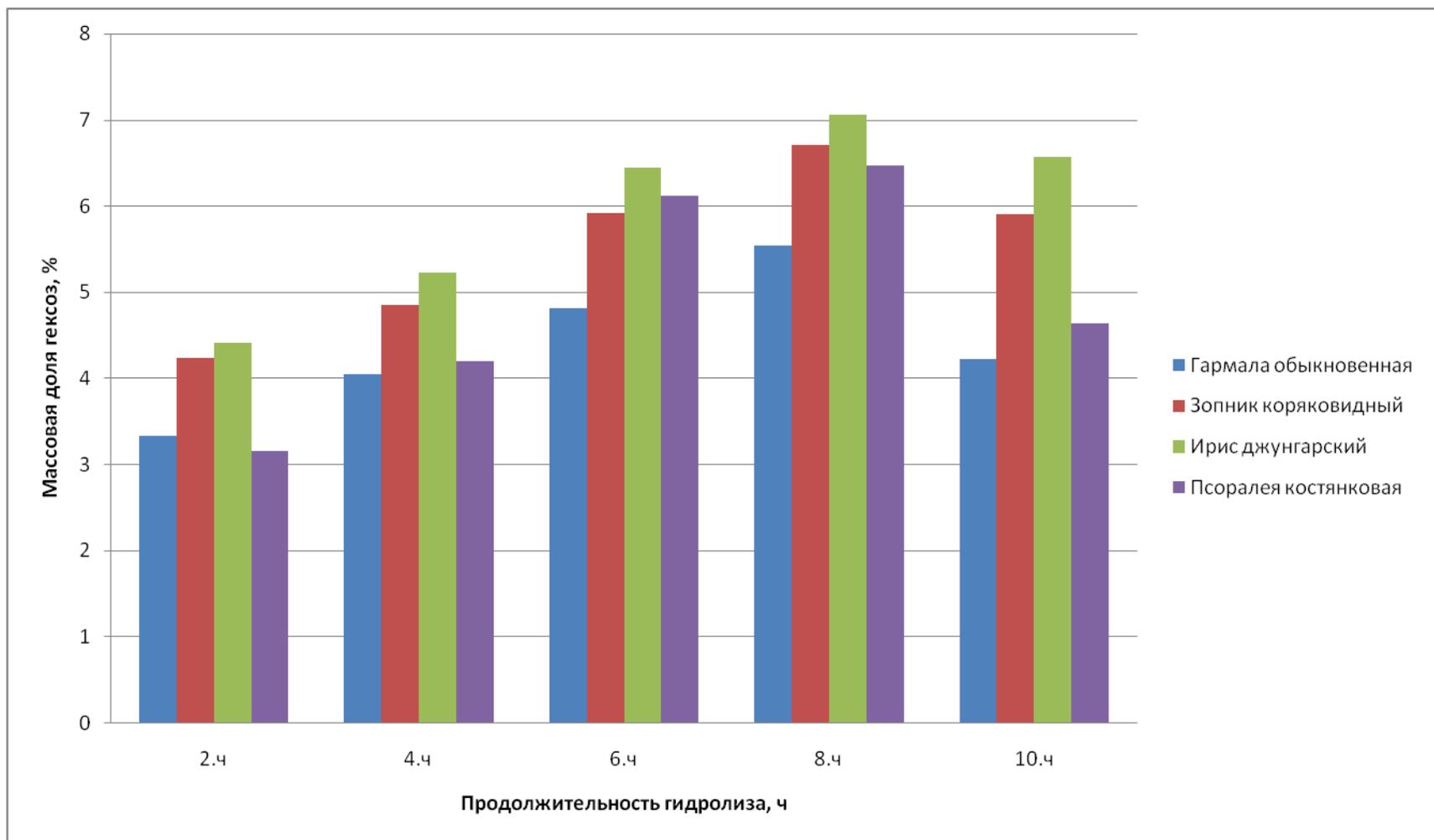


Рисунок.3.2.2.1. Зависимость образования гексоз некоторых видов пустынных трав от продолжительности гидролиза.

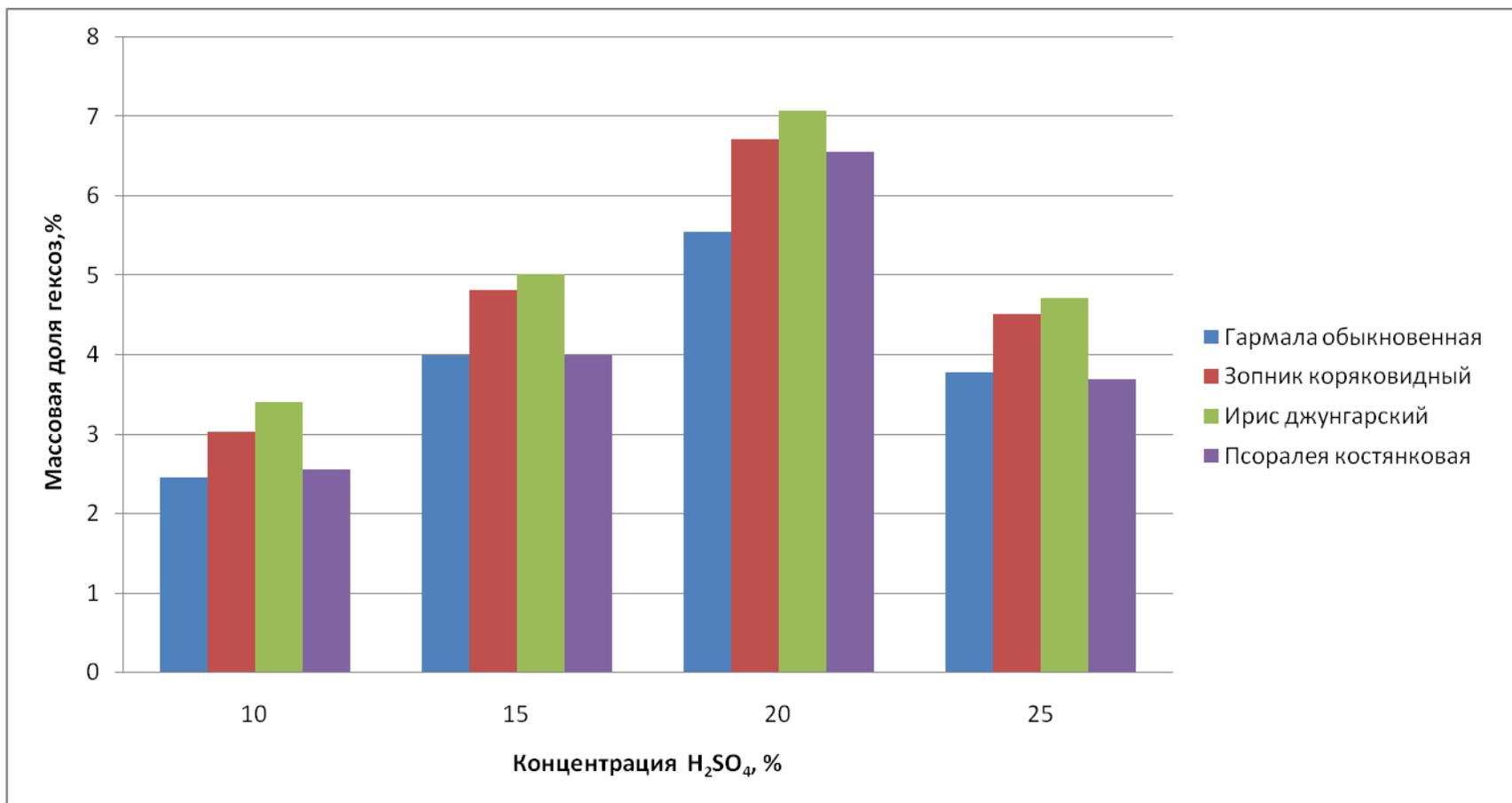


Рисунок.3.2.2.2.Зависимость образования гексоз при гидролизе некоторых видов пустынных трав от концентрации H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> .

Таким образом, проведенные исследования показали, что в зависимости от концентрации  $H_2SO_4$  происходит увеличение содержания сахаров в гидролизатах пустынных трав с их максимальным выходом при концентрации  $H_2SO_4$  20% и продолжительности гидролиза 8 часов (рис.3.2.2.1).

На скорость гидролиза и образования сахаров значительное влияние оказывает и продолжительность протекания процесса (рис.3.2.2.2). Максимальный выход гексоз наблюдается при продолжительности гидролиза 8 часов. При дальнейшем гидролизе происходит распад и снижение содержания образовавшихся сахаров и продолжительность гидролиза в течение 10 часов отрицательно сказывается на качестве гидролизата

### **3.3. Изучение процесса ферментации микроорганизмами гидролизатов некоторых видов пустынных трав**

После гидролиза, гидролизованные продукты должны быть ферментированы с помощью микроорганизмов. Так как гидролизаты состоят в основном из глюкозы и небольшого количества арабинозы, ксилозы, целлобиозы, используемые микроорганизмы должны быть способны ферментировать все эти соединения для эффективного производства биоэтанола в больших масштабах.

Существует несколько способов проведения ферментации.

Классический метод, используемый при брожении гидролизованной биомассы - это отдельное использование продуктов гидролиза и дальнейшая их ферментация. Оба процесса протекают в различных условиях. При втором, обычно используемом, способе одновременно происходит осахаривание и ферментация субстрата. При этом способе процессы гидролиза и ферментации протекают в одних и тех же условиях и единицах времени[53].

При классическом способе ферментации растительную биомассу первоначально подвергают гидролизу, в результате которого образуются глюкоза. Этот процесс называется осахариванием. При этом жидкую фракцию биомассы отделяют от твердой. Далее жидкую фракцию фермен-

тируют, используя различные микроорганизмы. Затем эту фракцию перегоняют для извлечения биоэтанола. Непрореагировавшую ксилозу ферментируют во втором реакторе и направляют на заключительный этап дистилляции. Главное преимущество этого способа в том, что раздельное проведение процессов гидролиза и ферментации можно осуществить в различных условиях, подбирая различные параметры процесса. Недостатком этого метода является необходимость в двух отдельных реакторах, так как ферменты для гидролиза целлюлозы могут подавлять конечные продукты. Этот процесс иногда используется для производства биоэтанола из различных твердых бытовых отходов: в этом случае утилизация ферментов гидролиза была осуществлена с помощью микро- и ультрафильтрации продуктов гидролиза. Эффективность гидролиза целлюлозы и ее ферментации составляет 90 % [29].

При втором способе брожения, ферментативный гидролиз и ферментация субстрата происходят одновременно. Целлюлазы и микроорганизмы взаимодействуют одновременно. Образовавшаяся глюкоза в результате гидролиза немедленно усваивается микроорганизмами и преобразуется в биоэтанол. При этом способе брожения можно достичь наибольшего выхода биоэтанола с наименьшими затратами, так ферменты при гидролизе эффективно действуют в малых количествах. Этот способ ферментации является прерывистым способом и часто используется для получения биоэтанола из природных материалов, содержащих лигнин, пектин и лигноцеллюлозу. Преимуществами этого способа ферментации являются: высокая скорость гидролиза, использование небольшого количества ферментов, потребность в менее стерильных условиях проведения процесса, необходимость в небольших реакторах. Одним из требований к этому процессу является то, что необходимо подобрать такие ферменты и микроорганизмы, которые сохраняют способность к метаболизму в широких диапазонах температуры и pH [52].

Третий способ ферментации это использование комбинированных биопроцессов в одной стадии. На этой стадии происходит использование гликолитических ферментов целлюлаз и гемицеллюлаз, а также ферментация пентоз и гексоз, которые образуются в результате гидролиза. Трудность этого способа ферментации заключается в том, что для осуществления этого процесса необходимо подобрать такие микроорганизмы, которые способны одновременно синтезировать ферменты, разрушающие целлюлозу и ферменты, усваивающие глюкозу. Последняя стадия преобразование растительной биомассы в биоэтанол - это сбраживание гидролизатов. Необходимо, чтобы на этой стадии обеспечивалось быстрое и эффективное сбраживание всех имеющихся сахаров.

Спиртовое брожение могут вызвать также некоторые бактерии относящиеся к роду *Zymomonas*, *Clostridium* и *Thermoanaerobacter*, *Lactobacillus* и др. К микроорганизмам используемым в производстве биоэтанола предъявляются определенные требования такие как способность усваивать пентозы и гексозы и выживать в контролируемых условиях pH [53].

Основными возбудителями спиртового брожения являются дрожжи, относящиеся к роду *Saccharomyces*, из которых *Saccharomyces cerevisiae* имеет наибольшее значение. Это вид одноклеточных грибов из класса сахаромикетов. По способу питания *Saccharomyces cerevisiae* являются хемоорганогетеротрофами и используют органические соединения как для получения энергии, так и в качестве источника энергии. Им необходим кислород для дыхания, однако при его отсутствии многие виды способны получать энергию за счёт брожения с выделением спиртов (факультативные анаэробы). В анаэробных условиях дрожжи могут использовать в качестве источника энергии только углеводы, причём в основном гексозы. В результате ферментации из одной молекулы глюкозы образуется две молекулы этанола и две молекулы углекислого газа [26].

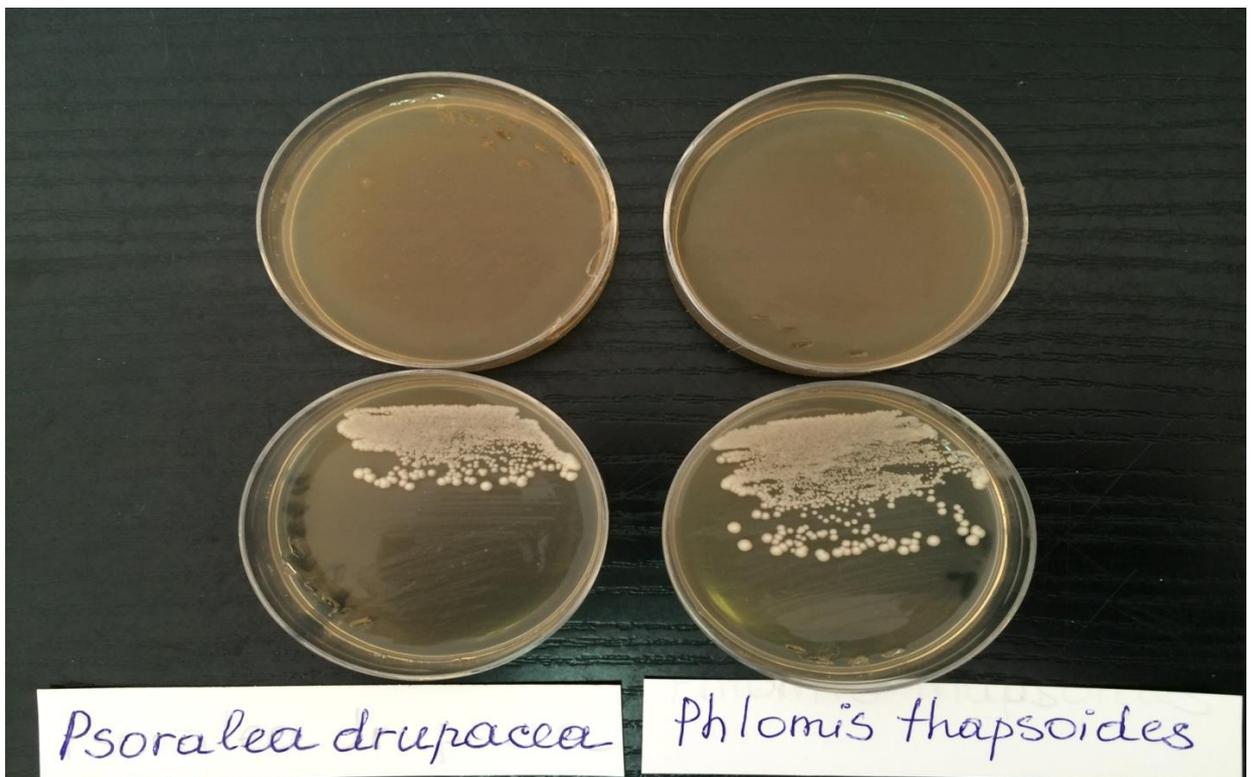


Рисунок 3.3.1. Форма колоний *Saccharomyces cerevisiae*, выращенной на плотной питательной среде СА.

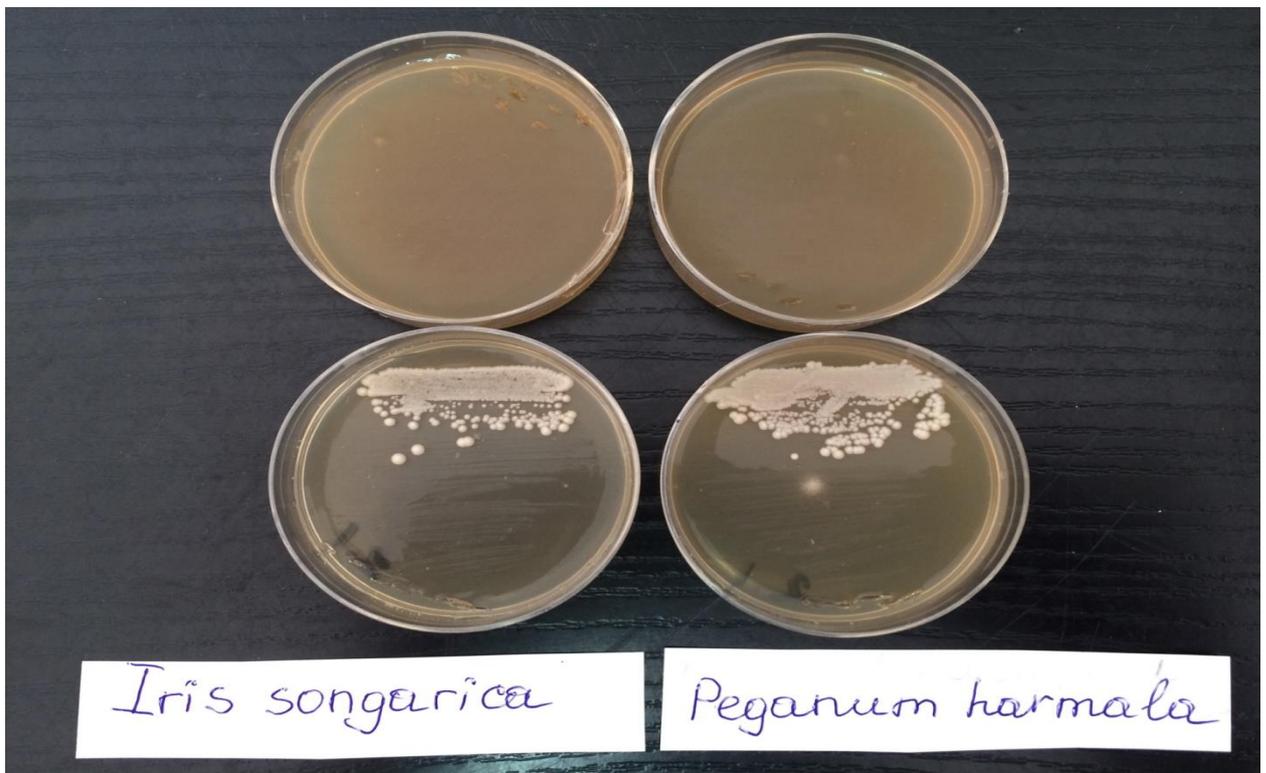


Рисунок 3.3.2. Форма колоний *Saccharomyces cerevisiae*, выращенной на плотной питательной среде СА.

Для проведения ферментации биомассы пустынных трав мы использовали промышленные штаммы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Дрожжи культивировали на поверхности агаро-сусловой питательной среды в течение 2-х суток при  $t=28^{\circ}\text{C}$ .

Изучение морфологического строения дрожжей выращенных на плотной агаро-сусловой питательной среде в двухсуточной культуре при  $28^{\circ}\text{C}$  показало, что клетки гриба имеют сферическую, эллипсоидальную и несколько удлинённую формы. Располагаются единично или парами, либо образуют короткие цепочки или мелкие грозди (рис.3.3.1, 3.3.2).

Мы изучали жизнеспособность дрожжей по содержанию гликогена в их клетках. Исследования показали, что жизнеспособность клеток дрожжей увеличивается с момента их попадания дрожжей в питательную среду и достигает максимального количества в течение 48 часов. Количество жизнеспособных клеток в гидролизате пустынных трав находится в пределах 75-80%. Клетки дрожжей становятся крупнее, в них происходит накопление питательных веществ в виде гликогена. В этот период происходит брожение сахара. Через 48 часов происходит снижение количества жизнеспособных клеток дрожжей, что свидетельствует об уменьшении сахара в гидролизате [23].

После изучения жизнеспособности дрожжей, гидролизаты пустынных трав были использованы для сбраживания, которое проводилось с использованием дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. В гидролизаты каждого вида пустынных трав были внесены по 5 г суспензий дрожжей и спиртовое брожение проводилось в анаэробных условиях при температуре  $27^{\circ}\text{C}$ , в течение 3 суток, pH 4,5.

Исследования показали, что в процессе ферментации продолжительностью 48 часов идет эффективное усвоение сахаров дрожжами. В брагах полученных после ферментации биомассы пустынных трав содержание сахаров уменьшилось почти в 5 раз. Массовая доля сахаров после ферментации в бражке гармалы составило 1,02%, зопникекоряковидном 0,87% ,

ирисе джунгарском 0,59%, псоралеи костянской 0,97% (табл.3.3.1, рис.3.3.3).

Таким образом, полученные нами гидролизаты представляют собой благоприятную среду для размножения и метаболизма дрожжей. В этих средах клетки характеризуются высокой физиологической активностью, эффективно усваивая глюкозу.

Таблица 3.3.1

Массовая доля сахаров в процессе ферментации некоторых видов пустынных трав.

Название растений	Продолжительность ферментации, ч				
	0	12	24	36	48
Гармала обыкновенная	6,54±0,14	4,92±0,12	3,26±0,13	2,11±0,20	1,02±0,33
Зопник коряковидный	6,71±0,15	4,27±0,12	3,36±0,13	2,21±0,14	0,87±0,24
Ирис джунгарский	7,06±0,22	3,96±0,14	3,61±0,14	2,53±0,21	0,59±0,22
Псоралея костянская	6,54±0,13	4,78±0,12	3,72±0,15	1,43±0,13	0,97±0,12

Следующим этапом при получении биоэтанола является дистилляция бражки, полученной в результате ферментации. В процессе дистилляции происходит отделение этанола от воды [43,52].

В дальнейших исследованиях мы проводили простую дистилляцию с конденсацией пара в жидкость при температуре кипения 78<sup>0</sup>С, в течение 3-3,5 часов. Полученный биоэтанол представляет собой азеотропную смесь, содержащая небольшое количество воды. Для определения содержания абсолютного спирта в этой смеси мы измерили его, используя ариометр. Полученные результаты представлены в табл.3.3.3. В своих исследованиях наибольшего количества биоэтанола мы получили из биомассы травы Ирис джунгарский и Зопник коряковидный что составил 247 мл и 226 мл соответственно.

Таблица 3.3.3

Выход биоэтанола из некоторых видов пустынных трав.

Название растений	Массовая доля РВ	Массовая доля гексоз	Массовая доля сахаров после ферментации	Количество биоэтанола, мл	Содержание абсолютного спирта, %
Гармала обыкновенная	2,05	6,64	1,02	144	62
Зопник коряковидный	2,26	6,71	0,87	226	65
Ирис джунгарский	2,54	7,06	0,59	247	66
Псоралея косянковая	2,05	6,54	0,97	172	63

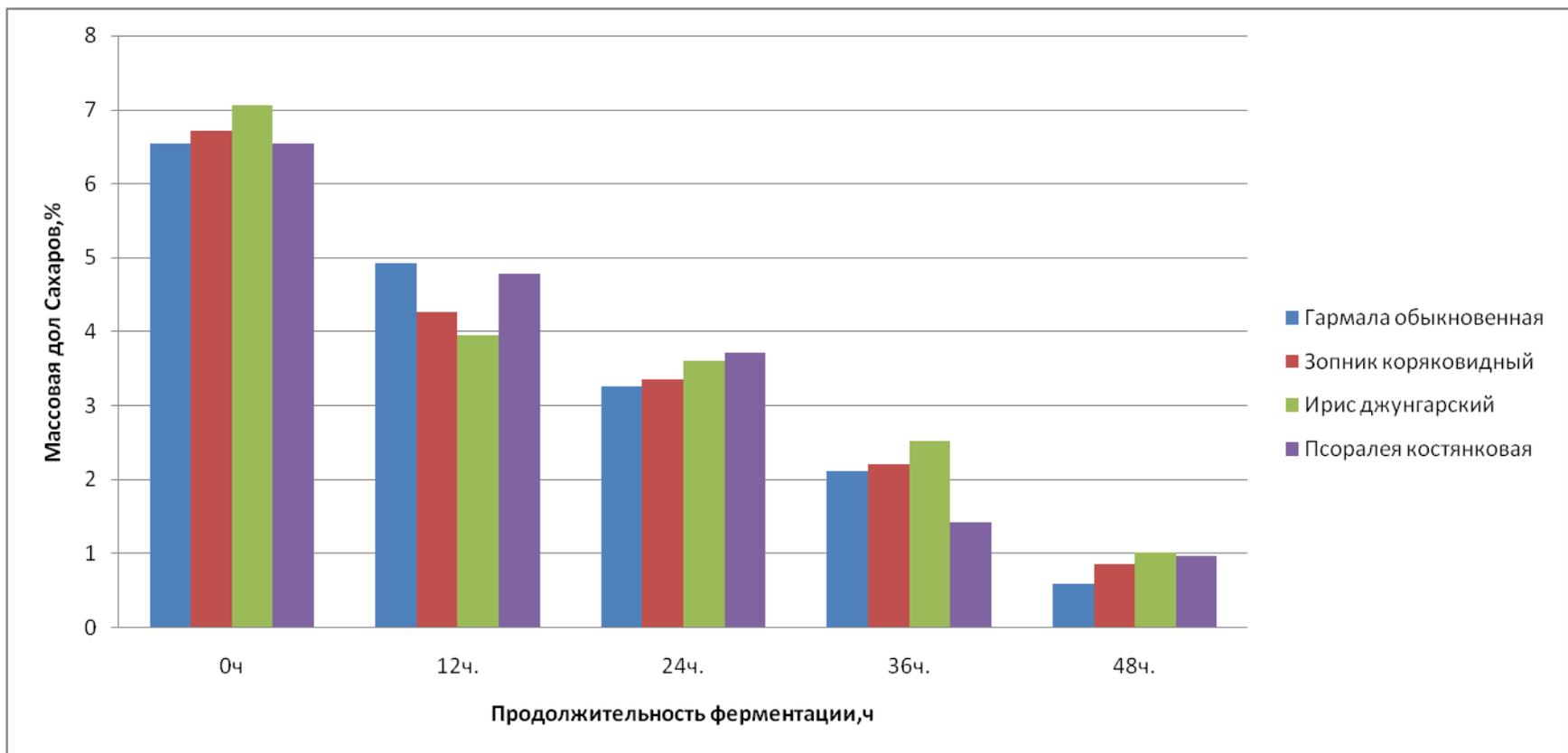


Рисунок 3.3.3. Массовая доля сахаров в процессе ферментации некоторых видов пустынных трав.

Таким образом, результаты исследований проведения ферментации гидролизатов пустынных трав показали, что в процессе ферментации продолжительностью 48 часов идет эффективное усвоение сахаров и их уменьшение почти в 5 раз. Наибольшая утилизация сахаров наблюдается для растения Ириса джунгарского и составляет 0,59% и выход биоэтанола 247

### **3.4. Обсуждение результатов**

Развитие мировой экономики, рост численности населения и уровня его благосостояния привели к глобальному дефициту энергоресурсов. Необходимость решения глобальных проблем, связанных с ограниченностью ископаемых запасов топлива, обеспечение экологической и энергетической безопасности обуславливает развитие в мире возобновляемой энергетики, особенно биоэнергетики. В настоящее время наступает эпоха использования биотехнологических методов получения нетрадиционных источников энергии из возобновляемых природных ресурсов, наиболее перспективным из которых признана органическая биомасса, способная удовлетворения потребности населения, промышленности и сельского хозяйства в электрической и тепловой энергии. Сегодня актуальность биотоплива признается и в Узбекистане.

Переработка полисахаридов растительных материалов методом гидролиза в простые сахара и получение на этой основе ряда таких продуктов как глюкоза, ксилит, кормовые дрожжи, этиловый спирт, фурфурол и др., актуальна связи с ростом объемов использования возобновимого растительного сырья. К растительным материалам, которые могут быть использованы в качестве гидролизного сырья, относятся различные виды отходов лесопереработки и деревообработки, отходы переработки сельскохозяйственных культур, некоторые сорта дровяной древесины, солома и другие отходы, биомасса ряда дикорастущих растений. При рассмотрении вопросов биоконверсии любого растительного сырья первоочередное значение

имеет химический состав того или иного растения, которое будет являться объектом изучения и исследования.

В настоящее время современное состояние естественных пустынных пастбищ радикально изменяется под влиянием хозяйственной деятельности человека, превращая их на деградационные территории с преобладанием растений, которые мало или почти не имеют хозяйственного значения. Мы изучали химический состав и биомассу пустынных растений, которые могут быть использованы в качестве гидролизного сырья. Основным интересом в качестве целлюлозосодержащего сырья для получения биоэтанола среди трав Карнабчуля представляют виды гармала обыкновенная (*Peganum Harmala*), зопник коряковидный (*Phlomis thapsoides*), Ирис джунгарский (*Irissongarica*), псоралея костянковая (*Pso-raleadrupacea*). Не имея кормового и хозяйственного значения, эти травы являются индикаторами антропогенного влияния и могут привести к деградации естественного травостоя.

Изучение химического состава пустынных трав показало, что гармала обыкновенная, зопник коряковидный, ирис джунгарский, псоралея костянковая богаты зольными элементами и экстрактивными веществами, что является важным показателем пригодности их для микробного синтеза [12].

Гидролиз является предварительной обработкой, в результате которой полисахариды расщепляются до образования моносахаридов, которые затем сбраживаются. В своих исследованиях мы проводили двухступенчатый гидролиз.

На первом этапе гидролиза, для удаления легкогидролизуемых полисахаридов биомассы пустынных трав, мы проводили гидролиз с разбавленной  $H_2SO_4$  с концентрациями 0,1%, 0,3%, 0,5% и 1% в течение 1,2,3,4,5 часов, с гидромодулем 1:5, при температуре 100 °С. Наибольший выход редуцирующих веществ наблюдается при концентрации  $H_2SO_4$  0,5% и продолжительности гидролиза 4 часа. Выход редуцирующих веществ для гар-

малы обыкновенной составил 1,92%, для зопникакоряковидного 2,72%, для ириса джунгарского 2,42%, для Псоралеи костянковой 1,78%. При дальнейшем увеличении концентрации  $H_2SO_4$  и продолжительности времени гидролиза наблюдалось снижение выхода редуцирующих веществ.

На втором этапе, для расщепления целлюлозы биомассы пустынных трав до глюкозы, мы проводили гидролиз концентрированной  $H_2SO_4$  с концентрациями 10%, 15%, 20%, 25% в течение 2,4,6,8,10 часов, при температуре 100 °С. Максимального выхода гексоз наблюдалось при концентрации  $H_2SO_4$  20% и продолжительности гидролиза 8 часов. Выход гексоз при этом составил для гармалыобыкновенной 6,54%, для зопникакоряковидного 6,71%, для ириса джунгарского 7,06%, для псоралеи костянковой 6,54%.

При дальнейшем гидролизе происходит распад и снижение содержания образовавшихся сахаров и продолжительность гидролиза в течение 10 часов отрицательно сказывается на качестве гидролизата.

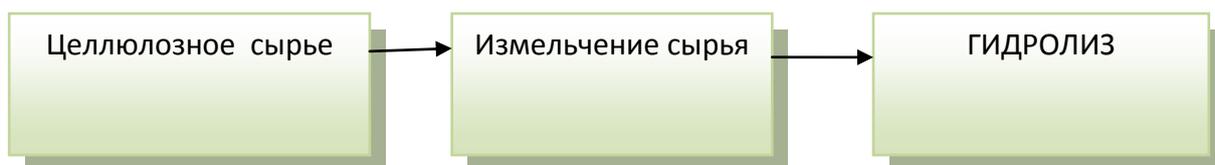
Для проведения ферментации гидролизатов пустынных трав мы использовали промышленные штаммы дрожжей, первоначально изучая их жизнеспособность. Ферментацию полученных гидролизатов пустынных трав проводили с использованием дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в анаэробных условиях при температуре 27 °С, в течение 3 суток, pH 4,5. Исследования показали, что в процессе ферментации продолжительностью 72 часа идет эффективное усвоение сахаров дрожжами. В брагах, полученных после ферментации биомассы пустынных трав содержание сахаров уменьшилось почти в 5 раз и составила в зависимости от растения от 0,59% у ириса джунгарского до 1,05% у гармалы обыкновенной.

Таким образом, полученные нами гидролизаты представляют собой благоприятную среду для размножения и метаболизма дрожжей. В этих средах клетки характеризуются высокой физиологической активностью и эффективно усваивают глюкозу.

В дальнейших исследованиях мы проводили простую дистилляцию с конденсацией пара в жидкость при температуре кипения  $78^{\circ}\text{C}$ , в течение 3-3,5 часов. Полученный биоэтанол представляет собой азеотропную смесь, содержащая небольшое количество воды. Для определения содержания абсолютного спирта в этой смеси мы измерили его, используя ариометр.

Наибольшее количество биоэтанола мы получили из биомассы травы ирис джунгарский и зопник коряковидный. Выход биоэтанола из ириса составил 247 мл, при массовой доле РВ 2,54 % и массовой доле гексоз 7,06%. Содержание абсолютного спирта составило 66%. Выход биоэтанола из зопника составил 226 мл, при массовой доле РВ 2,26% и массовой доле гексоз 6,71%. Выход биоэтанола из гармалы составил 144 мл, с массовой долей РВ 2,05% и массовой долей гексоз 6,64%. Содержание абсолютного спирта составило 62%. Выход биоэтанола из псоралеи составил 172 мл, с массовой долей РВ 2,05% и массовой долей гексоз 6,54%. Содержание абсолютного спирта составило 63%.

Таким образом, мы предлагаем следующую схему получения гидролизного биоэтанола из биомассы пустынных трав. Она включает: целлюлозное сырье  $\longrightarrow$  измельчение сырья  $\longrightarrow$  гидролиз (кислотный  $\text{H}_2\text{SO}_4$ )  $\longrightarrow$  гидролиз разбавленной  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $\longrightarrow$  гидролиз концентрированной  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $\longrightarrow$  нейтрализация  $\longrightarrow$  ферментация  $\longrightarrow$  дистилляция  $\longrightarrow$  биоэтанол. Исходное целлюлозное сырье сушится, затем измельчается до 1-2 мм. Далее проводится двухступенчатый кислотный гидролиз серной кислотой. На первом этапе измельченная биомасса пустынных трав подвергается гидролизу разбавленной  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , на втором этапе биомасса пустынных трав гидролизуется концентрированной  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Далее гидролизат нейтрализуется щелочью и ферментируется промышленными штаммами спиртовых дрожжей в анаэробных условиях. Полученная брага пустынных трав подвергается простой дистилляции с конденсацией пара в жидкость (рис.3.4.1)



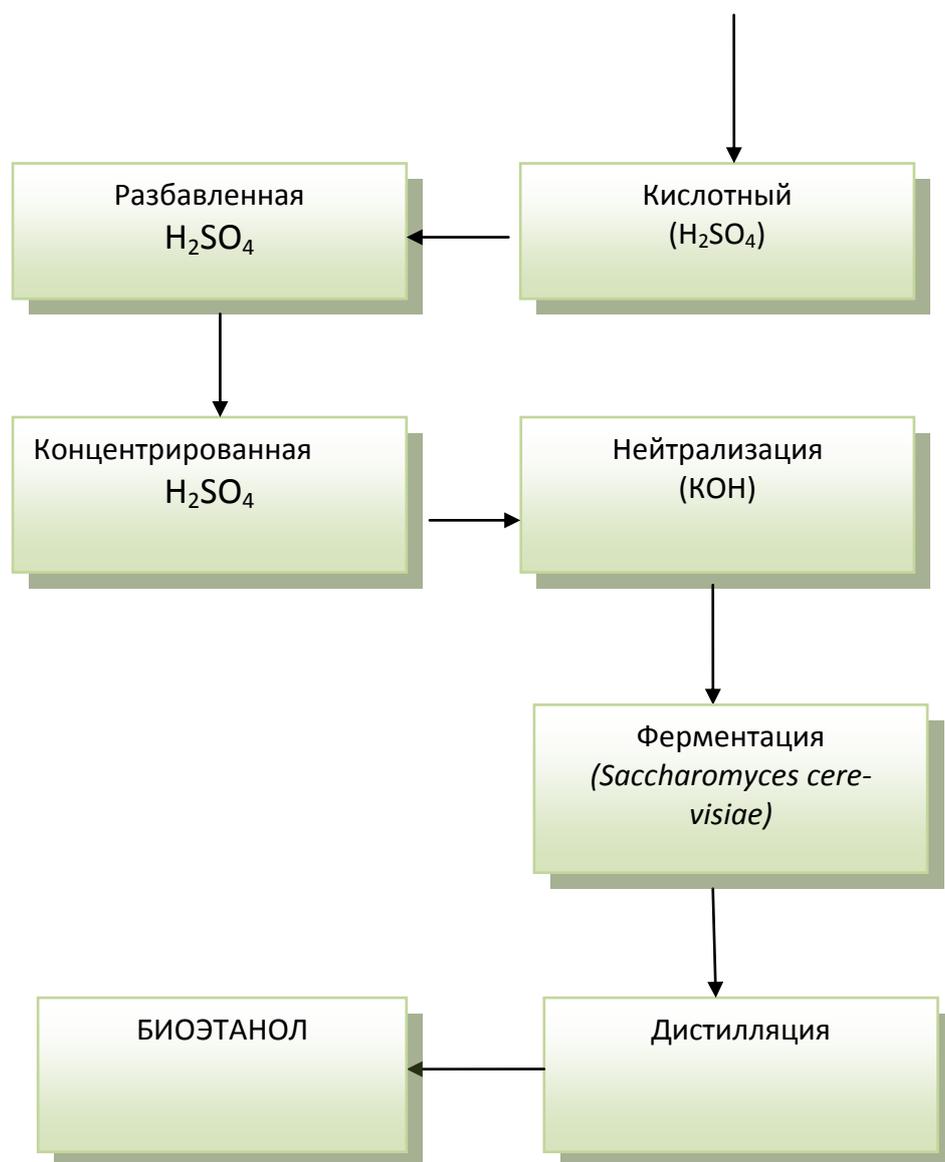


Рисунок 3.4.1. Схема получения биоэтанола из целлюлозосодержащего сырья.

## ВЫВОДЫ

1. Для получения биоэтанола можно использовать в качестве целлюлозосодержащего сырья зопник коровяковидный и ирис джунгарский. Они не имеют кормового и хозяйственного значения, ведут к деградации естественного травостоя, но богаты зольными элементами и безазотистыми соединениями, играющими важную роль в процессах ферментации.

2. В качестве предварительной обработки сырья можно использовать технологию двухступенчатого кислотного гидролиза с использованием разбавленной и концентрированной  $H_2SO_4$  и продолжительностью процесса 4 и 8 часов.

3. Для получения биоэтанола можно использовать различные параметры гидролиза: температура, продолжительность процесса и концентрация кислоты. В качестве катализатора можно использовать кроме  $H_2SO_4$ , и другие виды кислот (соляная, ортофосфорная).

4. Изучение процессов ферментации гидролизатов пустынных трав с использованием дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в анаэробных условиях показало эффективность этого процесса продолжительностью 72 часа и в брагах полученных после ферментации содержание сахаров уменьшилось почти в 5 раз.

5. Разработана схема получения биоэтанола из пустынных трав, которая включает: целлюлозное сырье → измельчение сырья → гидролиз (кислотный  $H_2SO_4$ ) → гидролиз разбавленной  $H_2SO_4$  → гидролиз концентрированной  $H_2SO_4$  → нейтрализация → ферментация → дистилляция → биоэтанол.

## РЕКОМЕНДАЦИИ

Изучив методы получения биоэтанола из некоторых видов пустынных трав, мы рекомендуем использовать в качестве сырья такие виды как зопник коровяковидный и ирис джунгарский. Они не имеют кормового и хозяйственного значения, ведут к деградации естественного травостоя, но богаты зольными элементами и безазотистыми соединениями, играющими важную роль в процессах ферментации.

В качестве предварительной обработки сырья рекомендовано технологию двухступенчатого кислотного гидролиза с использованием разбавленной  $H_2SO_4$  (0,5%) с продолжительностью процесса 4 часа и концентрированной  $H_2SO_4$  (20%) с продолжительностью гидролиза 8 часов.

При проведении гидролиза рекомендуются в качестве катализатора процесса гидролиза кроме  $H_2SO_4$  и другие виды кислот (соляная, ортофосфорная) различные параметры гидролиза такие как температура, продолжительность времени процесса и концентрация кислоты.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.

1. Абрамов Ш.А., Халилова А.Э. Новое в биотехнологии синтеза этанола в сбраживаемой среде // Хранение и переработка сельхозсырья. -2006. - №12. - С.46-48.
2. Абрамов Ш.А. Активность ферментов углеводного обмена штамма *Saccharomyces cerevisiae* в анаэробных условиях культивирования // Хранение и переработка сельхозсырья. -2007. - №10. - С. 49-51.
3. Алдошин Р.С., Матковский С.М., Ярулин Р.С. Биоэтанол: технологии получения из возобновляемого растительного сырья и области применения // Инженер-технолог. - 2009. - № 2. - С. 15-24.
4. Безбородов А.М. Биохимические основы микробиологического синтеза.-М.: Легкая и пищевая промышленность.2004.
5. Булаткин Г. А. Перспективы и ограничения производства биотоплива II поколения из растительного сырья // Экологический вестник России. -2009. -№ 10. - С. 49-52.
6. Василев Р.Г. Технологическая платформа биоэнергетики. Стратегическая программа исследований. М., 2014.
7. Воробьев, И. Г. О проблемах производства биотоплива в мире // Наука и техника.-2005.-№ 11. - С. 12-14.
8. Воробьева Л.И. Техническая микробиология.- М.:Изд-во МГУ.1987.
9. Вавилин О.А. Защита атмосферы от промышленных выбросов отходов гидролизных предприятий. - М.: Лесная промышленность. 2006.
10. Вильданов Ф.Ш. История популяризации моторных топлив на основе биоэтанола. // Современные проблемы истории естествознания в области химии, химической технологии и нефтяного дела. – Уфа, 2008. - С. 30-33.
11. Гаевская Л.С. Каракулеводческие пастбища Средней Азии.-Т.: Изд-во УзФАН, 1985.
12. Гарасимчук С.М., Азаренкова А.А. Биохимический метод получения этилового спирта/Научно-технические технологии.2014.-№1-С.18-22.
13. Гельфанд Е.Д. Основы технологии биоэтанола : учеб.пособие / Е.Д. Гельфанд. –Архангельск : Изд-во АГТУ, 2005. – 55 с.

14. Герасименко В.Л. Лабораторные методы определения глюкозы: метод. Рекомендации. Ижевск, 2002.-С.6-7.
15. Гнеушева И.А. Биотехнологическая переработка отходов гречихи и получение ценных продуктов. дисс. канд. тех. наук. Воронеж, 2014.
16. Голязимова О.В. Механическая активация ферментативного гидролиза целлюлозы и лигноцеллюлозных материалов: авто-реф. дис. д-р.хим. наук. Новосибирск, 2010.
17. Горбунов С. И. Перспективы использования биоэтанола // Вавиловские чтения – 2007 . – М., 2007. – С. 82-84.
18. Гордиенко И.И., Бабкин В.А. Изучение зависимости выхода редуцирующих веществ от параметров кислотного гидролиза целлюлололигнина лиственницы// Химия растительного сырья.2005.-№4-С.25-2
19. Гютт А. Мини-дрова на экспорт и не только// Биоэнергетика. 2007. № 1. – С 55-57.
20. Доржиев С.С., Патева И.Б. Энергосберегающая технология получения биоэтанола из зеленой массы растений рода *Heracleum*// Ползуновский вестник №2/2 2011 –С.251-255.2
21. Дьяков А. Ф. Малая энергетика России. Проблемы и перспективы. - М.: НТФ "Энергопресс", 2003. - 128 с
22. Егорова Н.С. Практикум по микробиологии. М., 1996.
23. Жуков Н.А. Теоретические основы и технологические принципы непрерывной конверсии растительного сырья: автореф. дис. д-ра техн. наук, Киров, 2001.
24. Исламмагомедова Э.А. Влияние минеральных веществ на физиологические функции дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*// Хранение и переработка сельхозсырья. – 2008. - №7. – С. 59-61.
25. Ковернинский И.Н. Основы технологии химической переработки древесины. М.: Изд. «Лесная промышленность» 1984.
26. Коваленко С.П, Дуксина В.В, Петряев Е.П. Микробный синтез на основе целлюлозы// Биотехнология.-1987.-Т.3-№.3.с 376-379.

27. Кокорин А.О. Климат-проблема экономическая/ Академия энергетики.-2007.-№5.-С.-4-7.
28. Колесников Б.В. Биотехнологическая переработка отходов сельского хозяйства и пищевой промышленности/ Рос.хим.журн.-2011.-Т.1.№1.-С.22.
29. Котенко, С.Ц. Влияние условий спиртового брожения на содержание витаминов в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*// Хранение и переработка сельхозсырья. – 2008. - №7. – С. 54-57.
30. Лобанок А.Г., Бабицкая В.Г., Богдановская Ж.Н. Микробный синтез на основе целлюлозы: Белок и другие ценные продукты. - М.: Наука и техника, 1988.
31. Лотош В. Е. Переработка отходов природопользования. - Екатеринбург: Изд-во УРГУПС, 2002. - 463 с
32. Макарова Е.А., Будаева В.В. Использование мультиэнзимных композиций для гидролиза нетрадиционного целлюлозосодержащего сырья // Ползуновский вестник.- 2010.-№4.-С.192-199.
33. Матковский П.Е., Ярулин Р.С. Биоэтанол: технологии получения из возобновляемого растительного сырья и области применения// Альтернативная энергетика и экология. 2006.-№ 6.-С.95-106.
34. Митин С.Г. Состояние и перспективы развития биоэнергетики в Российской Федерации // Техника и оборудование для села. -2007.- № 3.- С.3-7
35. Ражабов Т.Ф. Пространственно-временные изменения растительного покрова полупустыни по градиенту выпаса. Автореф. дисс. канд-та. биол. наук. Ташкент, 2011.
36. Роговин З.А., Химия целлюлозы. М.: Химия.2009.-136 с.
37. Рустамов Н. А., Зайцев Н.И., Ча Н.И. Биомасса – источник энергии // Энергия. –2005. – № 6. – С. 20–28
38. Синицин А.П, Гусаков А.В. Черноглазов В.М. Биоконверсия лигно-целлюлозных материалов. М.: Изд-во МГУ, 1995.
39. Сухих Р.А., Матвеев А.С. Технология получения биоэтанола из сельскохозяйственной продукции//Вестник МИТХТ.-2010.-№4.-С.77-86.

40. Сушкова В.И. Разработка технологии безотходного производства этилового спирта и кормовых белковых продуктов на гидролизных заводах: авто-реф. дис.д-ра биол. наук. Щелково, 2004.
41. Сушкова В.И. Сравнительный анализ сернокислотного гидролиза растительного сырья. Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья. Изд-во Алт.ун-та., 2007. 299 с.
42. Третьяков В.Ф. Биоэтанол – стратегия развития топливного и нефтехимического комплекса // Хим. техника. – 2008. -№ 1. - С. 8-12.
43. Трофимова Н.Н, Бабкин В.А, Черемис М.М. Катализируемый паровзрывной гидролиз целлолигнинового остатка древесины лиственницы // Химия растительного сырья. 2002. -№2.-С.53-56.
44. Трофимова Н.Н., Бичевина О.Б., Бабкин В.А. Углеводный состав целлолигнина лиственницы//Химия растительного сырья.2004.-№3.-С.11-14.
45. Халилова Э.А. Образование побочных метаболитов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в зависимости от условий спиртового брожения//Хранение и переработка сельхозсырья.- 2007. - №9.-С. 64-66.
46. Чачина С.Б., Дворян А.В. Получение биоэтанола из органического сырья/ Омский научный вестник.№2. 2014.-С.224-228.
47. Чупрова Н.А, Рязанова Т.В. Получение биоэтанола из вегетативной части топинамбура// Химия растительного сырья.2010.№2.С.49-52.
48. Шевелуха В.С., Сельскохозяйственная биотехнология, М.: Высшая школа -2003-г., стр 297-317.
49. Яровенко В.Л. Справочник по производству спирта. Сырье, технология и техноконтроль. М.:Изд-во « Легкая и пищевая промышленность», 1991.
50. Яровенко В.Л., Маринченко В.А. Технология спирта. М.: Колос–Пресс, 2002. – 465 с.
51. Avgerinous O.S. Hydrolysis of xilan and fermentation of xylose to ethanol // Adv. Biotechnol. Proc. Int. Ferment.-London.1980.-Vol 2.-P.119-124.

52. Jovani Di Nicola, EleonoraSantecchina. Advances in the Development of bioethanol: A Review Biofuel's Engeneering Process Technology/INTEC.2011.p.611-638
53. Hayashida S., Ahn B., Yashimo S. Fermentation of cellulose by a newly isolated thermophilic Clostridium // J.Fac.Arg. Kyushu Univ.-1983.-Vol.27.-No 4.-P.99-107.
54. Kim, S. & Dale, B.E. (2004). Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues.Biomass and Bioenergy, Vol.26.No.4, pp.361-375.
55. Lal, R. (2005). World crop residues production and implications of its use as a biofuel. Environment International, Vol.31, No.4, pp.575-584
56. Payton M.A.Production of bioethanol by thermophilic bacteria // Trends in biotechnology.-1984.-Vol.2.-No.6.-P 153-162.
57. Rajabov T. Ecological assessment ofspatio-temporal changes of vegetation in response to phiosphere effects in semi-arid rangeland of Uzbekistan// Land Restoration Training Program. – Reykjavik, 2009. – P. 109-143.
58. Christmann S, Aden Aw-Hassan, Rajabov T, Rabbimov A. Collective action for common rangelands improvement: a climate change adaptation strategy in Uzbekistan // Journal of Society and National reusorces.0:1-16.
59. Petersson A.; Thomsen, M.H.; Hauggaard-Nielsen H. & Thomsen, A.B. (2007). Potential bioethanol and biogas production using lignocellulosic biomass from winter rye, oilseed rape and faba bean. Biomass and Bioenergy, Vol.31, No.11-12, pp. 812-819.
60. Pimentel D. (2003). Ethanol fuels: energy balance, economics, and environmental impacts are negative. Natural Resources Research , Vol.12, No.2, pp.127-134.
61. PouloupoulosS.G., Samaras D.P. &Philippopoulos C.J. (2001). Regulated and unregulated from an internal combustion engine operating on ethanol-containing fuels. Atmosphere Environment, Vol.35, No.26, pp.4399-4406.

62. <http://ru.wikipedia.org/>
63. [http:// google.akademiya.org/](http://google.akademiya.org/)
64. [http:// cyberleninka.org/](http://cyberleninka.org/)
65. <http://www.bio-energy.ru>
66. <http://www.eprussia.ru>
67. <http://www.recyclers.ru>
68. <http://www.greencarcongress.com>
69. <http://www.aenergy.ru>
70. <http://www.spg.uz>
71. <http://www.nauka.ru>