



На правах рукописи

**Миронова Галина Федоровна**

**Повышение эффективности процесса  
получения биоэтанола из шелухи овса**

03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата технических наук

**Москва – 2021**

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук (ИПХЭТ СО РАН)

**Научный руководитель:** **Скиба Екатерина Анатольевна**  
кандидат технических наук, доцент,  
старший научный сотрудник лаборатории биоконверсии  
ИПХЭТ СО РАН

**Официальные оппоненты:** **Гернет Марина Васильевна**  
доктор технических наук, профессор, заведующая  
Отделом технологии пивоварения ВНИИ пивоваренной,  
безалкогольной и винодельческой промышленности –  
филиала ФГБНУ «Федеральный научный центр  
пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН

**Абрамова Ирина Михайловна**  
доктор технических наук, заведующая Отделом  
технологии и контроля производства спиртных напитков,  
директор ВНИИ пищевой биотехнологии – филиала  
ФГБУН Федерального исследовательского центра  
питания, биотехнологии и безопасности пищи

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения Российской академии наук

Защита состоится «08» июня 2021 года в 11 часов 00 минут на заседании диссертационного совета Д 999.095.03 при РХТУ имени Д.И. Менделеева (125047, г. Москва, Миусская пл., 9) в конференц-зале (ауд. 443).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-библиотечном центре РХТУ имени Д.И. Менделеева, а также на официальном сайте <http://diss.muctr.ru/>

Автореферат диссертации разослан « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
Д 999.095.03,  
кандидат технических наук, доцент



И. В. Шакир

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

В настоящее время роль биоэтанола как технического продукта в мировой экономике постоянно возрастает, так как он может быть применен не только в качестве альтернативного экологически чистого вида топлива или добавки к нему, но и как универсальный растворитель и прекурсор для синтеза широкого круга химических веществ. Биотехнологическое превращение целлюлозосодержащего сырья в биоэтанол полностью соответствует принципам циркулярной экономики и отвечает концепции опережающего развития, поэтому спрос на биоэтанол из этого вида сырья устойчиво растет. Среди всего многообразия целлюлозосодержащего сырья особое значение имеют именно сельскохозяйственные отходы. Они не представляют пищевой ценности, не конкурируют с пищевым производством, но наоборот, их превращение в продукты с высокой добавленной стоимостью имеет важное экономическое и экологическое значение.

Мировой урожай овса посевного (*Avena sativa*) составляет порядка 22 млн т в год, из них около 5 млн т производится в России, и Россия занимает первое место в мире по производству овса. Овес используется не только на корм животным, но существует многотоннажное производство продуктов питания: круп, муки, хлопьев, печенья, слайсов. В пищевом производстве используется зерно, освобожденное от пленок (шелухи), которые составляют 25-35 % от массы зерна и в настоящее время не утилизируются рационально. Благодаря высокому содержанию целлюлозы и гемицеллюлоз в шелухе овса, она может быть источником технического биоэтанола (биоэтанола второго поколения).

В мировой научной литературе имеется ограниченное количество примеров получения биоэтанола из шелухи овса. В ИПХЭТ СО РАН технология получения биоэтанола из шелухи овса разрабатывается с 2012 года, получено 2 патента РФ в 2016 году (№ 2581799, № 2593724), защищена диссертация в 2017 году. Однако анализ разработанной ранее (базовой) технологии позволил выявить критические проблемные точки на стадиях ферментативного гидролиза и спиртового брожения, решение которых может существенно повысить эффективность процесса и сделать его применимым для промышленного производства.

## **Цель и задачи**

Целью работы являлось повышение эффективности процесса получения биоэтанола из шелухи овса.

В задачи входило:

1. Оптимизировать состав мультиэнзимной композиции;
2. Оптимизировать продолжительность отдельной стадии ферментативного гидролиза перед совмещением ее со спиртовым брожением;
3. Оптимизировать состав питательной среды на основе ферментативного гидролизата;
4. Подобрать эффективный штамм *Saccharomyces cerevisiae*;
5. Разработать технологические режимы фермент-субстратной подпитки при получении биоэтанола;
6. Провести апробацию оптимизированной технологии получения биоэтанола на опытно-промышленном производстве.

## **Научная новизна работы**

Впервые с привлечением математических приемов планирования и обработки экспериментальных данных оптимизированы технологические решения биотрансформации субстрата из шелухи овса на стадиях ферментативного гидролиза и спиртового брожения: найден эффективный состав мультиэнзимной композиции; оптимизирована продолжительность отдельной стадии ферментативного гидролиза перед совмещением ее со спиртовым брожением, оптимизирован состав питательной среды на основе ферментативного гидролизата стимуляторами биосинтеза этанола, что позволило повысить выход биоэтанола.

Разработаны технологические режимы подпитки субстратом из шелухи овса и ферментными препаратами. В результате преодолены ограничения перемешивания при повышении концентрации субстрата от 60 г/л до 150 г/л по сухим веществам. Это позволило повысить концентрацию биоэтанола в бражке в 2,1 раза и тем самым эффективность на стадии ректификации биоэтанола за счет снижения затрат на ректификацию более концентрированного биоэтанола.

Научная новизна технического решения подтверждена патентом РФ № 2701643.

### **Практическая значимость**

Повышена эффективность процесса получения биоэтанола из шелухи овса в сравнении с базовой технологией: концентрация биоэтанола в бражке увеличена от 2,3 % об. до 5,4 % об.

Оптимизированная технология апробирована на опытно-промышленном производстве ИПХЭТ СО РАН.

Полученный биоэтанол передан в Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, где из него методом каталитической дегидратации получен этилен, что подтверждено Актом внедрения.

### **Апробация результатов работы**

Основные результаты работы представлены на всероссийских и международных конференциях: «Инновационные решения при производстве продуктов питания из растительного сырья» (Воронеж, 2016-2017), «Ломоносовские чтения на Алтае: фундаментальные проблемы науки и образования» (Барнаул, 2017), «Химия и химическая технология переработки растительного сырья» (Минск, 2018), «Альтернативные источники сырья и топлива» (Минск, 2019), «Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности» (Бийск, 2015-2016, 2018-2020); международном форуме «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2018); школе молодых ученых «Новые каталитические процессы глубокой переработки углеводородного сырья и биомассы» (Красноярск, 2019).

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 10 статей, в том числе 10 из списка ВАК, 6 – в журналах, индексируемых международными базами Web of Science и Scopus, а также 8 тезисов докладов и материалов конференций, 1 патент.

**Личный вклад автора** состоял в анализе литературных данных, в постановке задач работы, планировании и проведении экспериментов, в обсуждении результатов, в подготовке статей, докладов конференций и их представлении.

### **Структура и объем работы**

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, экспериментальной части и обсуждения

результатов, заключения, списка литературы, приложений и представлена на 119 страницах печатного текста. Иллюстративный материал включает 23 рисунка и 17 таблиц. Библиография включает 180 наименований, в том числе 117 зарубежных.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Во введении** обоснована актуальность темы исследования, цель и задачи работы, ее научная новизна и практическая значимость.

**В первой главе** приведен обзор литературы, в котором представлены сведения о биоэтаноле и основных сырьевых источниках для его получения; дана характеристика целлюлозосодержащего сырья и шелухи овса в частности; описаны методы трансформации целлюлозосодержащего сырья в среды для сбраживания; ферменты, участвующие в биоконверсии компонентов целлюлозосодержащего сырья; продуценты биоэтанола и стимуляторы его биосинтеза; рассмотрены конфигурации проведения стадий в технологии биоэтанола из целлюлозосодержащего сырья, приведены примеры. Анализ отечественных и зарубежных литературных источников свидетельствует об актуальности и перспективности исследований, посвященных процессам получения биоэтанола из целлюлозосодержащего сырья. Анализ технологии биоэтанола ИПХЭТ СО РАН, принятой за базовую, позволяет определить цель и задачи данной работы.

**Во второй главе** представлена характеристика используемого в работе сырья и продуктов его предварительной обработки (субстратов), ферментных препаратов, продуцентов биоэтанола, описаны аналитические методы.

**В третьей главе** представлена экспериментальная часть и обсуждение результатов исследований.

### *Оптимизация состава мультиэнзимной композиции*

С целью повышения эффективности ферментативного гидролиза продукта азотнокислой обработки шелухи овса (субстрата) требовалась оптимизация состава мультиэнзимной композиции. Исследовались композиции, состоящие из промышленных ферментных препаратов «Целлолюкс-А», «Брюзайм ВГХ» и «Ультрафло Коре». Сначала проводилось определение оптимального соотношения ферментных препаратов в композиции. Для этого композиция рассматривалась как

трехкомпонентная смесь ферментных препаратов. При таком подходе содержание ферментных препаратов в композиции должно удовлетворять условию (1):

$$x_1+x_2+x_3=1, \quad (1)$$

где  $x_1=(X_1 - X_{1\min})/(X_{1\max}-X_{1\min})$ ,  $x_2=(X_2 - X_{2\min})/(X_{2\max}-X_{2\min})$ ,  $x_3=(X_3 - X_{3\min})/(X_{3\max}-X_{3\min})$  – относительные концентрации «Целлолюкс-А», «Ультрафло Коре» и «Брюзайм ВГХ» соответственно;  $X_1, X_2, X_3$  – концентрации «Целлолюкс-А», «Ультрафло Коре» и «Брюзайм ВГХ» в составе композиции, мг/г субстрата;  $X_{1\max}=40$  мг/г субстрата,  $X_{2\max}=100$  мг/г субстрата,  $X_{3\max}=200$  мг/г субстрата – максимальные концентрации «Целлолюкс-А», «Ультрафло Коре» и «Брюзайм ВГХ» в составе композиции;  $X_{1\min}=X_{2\min}=X_{3\min}=0$  мг/г субстрата – минимальные концентрации «Целлолюкс-А», «Ультрафло Коре» и «Брюзайм ВГХ» в составе композиции.

Оценка гидролитической способности мультиэнзимной композиции велась по динамике накопления в реакционной смеси редуцирующих веществ. В результате численного моделирования на основе проведенных двенадцати экспериментов зависимость концентрации редуцирующих веществ от состава мультиэнзимной композиции описывается уравнением (2):

$$C = 23,1x_1 + 24,1x_2 + 14,2x_3 + 11,6x_1x_2 + 28,7x_1x_3 + 24,7x_2x_3, \quad (2)$$

где  $C$  – конечная концентрация редуцирующих веществ, г/л.

В результате решения задачи оптимизации методом приведенного градиента с учетом условия (1) найдено, что максимальная конечная концентрация редуцирующих веществ достигается при следующих концентрациях ферментных препаратов, мг/г субстрата: «Целлолюкс-А» – 18, «Ультрафло Коре» – 55, «Брюзайм ВГХ» – 0; сумма – 73 мг/г субстрата. Найденное соотношение позволило повысить концентрацию редуцирующих веществ в 1,95 раза.

После нахождения оптимального соотношения ферментных препаратов в мультиэнзимной композиции проводилось изучение кинетики ферментативного гидролиза при различных концентрациях мультиэнзимной композиции с целью повышения выхода редуцирующих веществ и глюкозы. При повышении концентрации композиции от 73 до 219 мг/г субстрата достигнуто повышение выхода редуцирующих веществ от массы субстрата и выхода глюкозы от массы целлюлозы в субстрате на 13,0 %.

*Оптимизация продолжительности отдельной стадии ферментативного гидролиза перед совмещением ее со спиртовым брожением*

Поскольку использовалось неизотермическое совмещение стадий ферментативного гидролиза и спиртового брожения, важной задачей являлось установить достаточную и необходимую продолжительность отдельной стадии ферментативного гидролиза. В данном исследовании продолжительность отдельной стадии ферментативного гидролиза варьировалась от 8 ч до 48 ч (опыты 1-5); опыт 6 (72 ч) представлял собой последовательное проведение стадий ферментативного гидролиза и спиртового брожения и являлся контрольным опытом. Результаты эксперимента отражены в таблице 1.

Таблица 1  
Зависимость степени конверсии субстрата от продолжительности отдельной стадии ферментативного гидролиза

Номер опыта	1	2	3	4	5	6
Продолжительность отдельной стадии ферментативного гидролиза ( $t_0$ ), ч	8	15	24	39	48	72
Концентрация редуцирующих веществ в момент внесения дрожжей, г/л	17,0	24,6	29,1	32,5	34,3	34,8
Степень гидролиза целлюлозы и гемицеллюлоз субстрата в момент внесения дрожжей, %	27,6	40,0	47,3	52,8	55,7	56,6
Остаточная концентрация редуцирующих веществ после брожения, г/л	9,0	7,7	5,7	5,7	5,8	9,0
Концентрация биоэтанола, % об.	0,9	1,3	1,9	1,8	1,7	1,4
Выход биоэтанола, % от теоретического	24,9	35,9	52,5	49,7	47,0	38,7
Выход биоэтанола, дал/т шелухи овса	5,2	7,5	11,0	10,4	9,8	8,7

По результатам получения биоэтанола с варьированием времени совмещения стадий ферментативного гидролиза и спиртового брожения построена математическая модель. Сравнение результатов математического моделирования с экспериментальными данными представлено на рисунке 1, на котором наблюдается хорошая сходимость результатов.

Графическое представление выхода биоэтанола, рассчитанного по модели, при совмещении двух процессов представлено на рисунке 2.

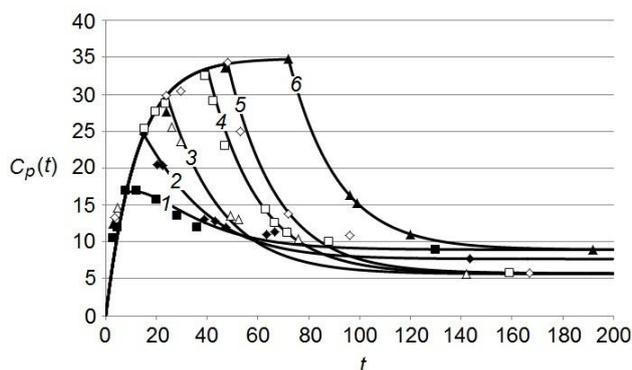


Рис. 1 Зависимости концентрации редуцирующих веществ ( $C_p(t)$ , г/л) от продолжительности процесса ( $t$ , ч)  
 1)  $t_0=8$  ч; 2)  $t_0=15$  ч; 3)  $t_0=24$  ч; 4)  $t_0=39$  ч; 5)  $t_0=48$  ч; 6)  $t_0=72$  ч; точки – экспериментальные данные; линии – теоретические

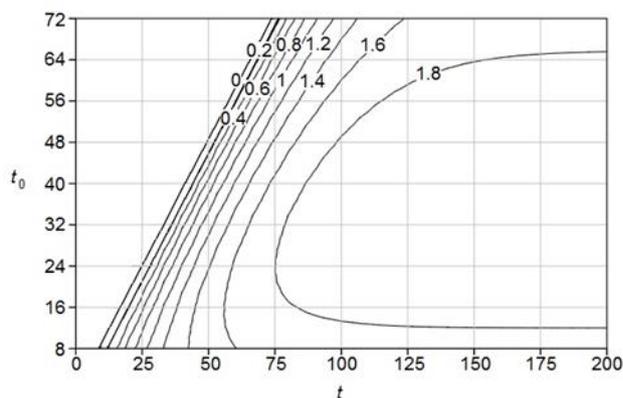


Рис. 2 Зависимость концентрации биоэтанола (% об.), рассчитанной по модели, от общей продолжительности процесса ( $t$ , ч) и времени внесения дрожжей ( $t_0$ , ч)

В качестве параметра оптимизации при совмещении процессов ферментативного гидролиза со сбраживанием рассматривался минимум общей продолжительности процессов, при котором выход биоэтанола от массы субстрата составляет не менее 45 %. Решение задачи оптимизации выполнялось методом обобщенного приведенного градиента. Минимальная продолжительность совместного проведения двух процессов, при котором достигается требуемый выход биоэтанола составляет 72 ч, что обеспечивается при условии внесения дрожжей через 24 ч от начала ферментативного гидролиза, в течение этого времени целлюлоза и гемицеллюлозы субстрата гидролизуются на 84 % от максимально возможных в данных условиях редуцирующих веществ.

*Оптимизация состава питательной среды на основе ферментативного гидролизата стимуляторами биосинтеза этанола*

Согласно плану полного трехфакторного эксперимента, исследовалось влияние на выход биоэтанола таких факторов, как концентрации сульфата аммония, монофосфата калия и дрожжевого экстракта. Кроме указанных компонентов, в среды вносились сульфат магния (1 г/л) и кальций хлористый (0,2 г/л), концентрации которых во всех опытах были одинаковыми. В результате пятнадцати экспериментов выход биоэтанола варьировал от 59,3 % (в самых неудачных опытах) до 88,9 % (максимальный выход).

На основании обработки опытных данных установлено, что зависимость концентрации биоэтанола  $K$  от состава среды описывается выражением (3):

$$K = 2,39 - 0,03X_1 - 0,04X_2 - 0,16X_3 + 0,04X_1X_2 - 0,01X_1X_3 + 0,05X_2X_3 - 0,26X_1^2 - 0,06X_2^2 - 0,26X_3^2, \quad (3)$$

где  $K$  – концентрация биоэтанола, % об.;  $X_1, X_2, X_3$  – выраженные в безразмерном виде концентрации сульфата аммония, монофосфата калия и дрожжевого экстракта соответственно. Нижние границы безразмерных факторов (-1) соответствуют минимальным концентрациям компонентов питательной среды, а именно, 0 г/л для всех трёх факторов. Верхние границы безразмерных факторов (+1) соответствуют максимальным концентрациям компонентов питательной среды в исследованном диапазоне: 4 г/л – для сульфата аммония, 4 г/л – для монофосфата калия, 20 г/л – для дрожжевого экстракта. Графическое представление функции отклика  $K$  показано на рисунке 3.

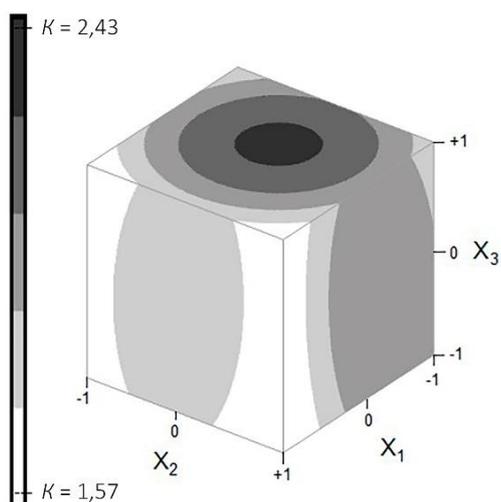


Рис. 3 Изменение концентрации биоэтанола ( $K$ , % об.) в зависимости от состава питательной среды

В результате решения задачи оптимизации установлено, что для достижения максимального выхода и концентрации биоэтанола необходимо обеспечить следующие начальные концентрации факторов: сульфата аммония – 1,82 г/л; монофосфата калия – 0,98 г/л, дрожжевого экстракта – 6,47 г/л. При указанных начальных концентрациях выход биоэтанола составит 89,9 %, что выше выхода биоэтанола в контрольном опыте на 8,4 %.

#### Выбор штамма *Saccharomyces cerevisiae*

Для получения биоэтанола протестированы штаммы *S. cerevisiae* Y-3137 и *S. cerevisiae* Y-3136 из Коллекции микроорганизмов для спиртовой, уксусной, ферментной и дрожжевой промышленности (ВНИИПБТ, Москва) и штамм *S. cerevisiae* Y-1693 из Всероссийской коллекции промышленных

микроорганизмов (ФГУП ГосНИИгенетика, Москва), который использован в качестве контрольного. Характеристика выбранных штаммов приведена в таблице 2.

Таблица 2

Характеристика штаммов спиртовых дрожжей

№	Штамм <i>S. cerevisiae</i>	Особенность	Оптимальная температура роста
1	У-3137	Термотолерантность (37°C), осмофильность (25 % сухих веществ)	32-35 °С
2	У-3136	Осмофильность (27 % сухих веществ)	30-32 °С
3	У-1693	Устойчивость к гидролизным средам	28 °С

Штаммы были использованы отдельно в качестве засевных дрожжей в трех опытах совмещенного процесса ферментативного гидролиза и спиртового брожения.

Наибольшее количество клеток дрожжей было накоплено на вторые сутки брожения во всех опытах и равнялось 36 млн КОЕ/мл (28 % почкующихся) в опыте с У-3137, 34 млн КОЕ/мл (25 % почкующихся) в опыте с У-3136, 53 млн КОЕ/мл (25 % почкующихся) в опыте с У-1693. На седьмые сутки брожения количество клеток дрожжей в первом опыте уменьшилось до 11 млн КОЕ/мл (13 % почкующихся), во втором опыте осталось на том же уровне – 34 млн КОЕ/мл (24 % почкующихся), в третьем также – 51 млн КОЕ/мл (21 % почкующихся). Несмотря на то, что количество дрожжей У-3137 и У-3136 было несколько меньше, чем контрольных У-1693, они все же проявили активность и показали устойчивость к гидролизной среде.

Объемная доля спирта в результате брожения составила в опыте с У-3137 – 2,1 % об., в опыте с У-3136 – 2,4 % об., в контрольном опыте с У-1693 – 2,2 % об., т.е. штамм *S. cerevisiae* У-3136 показал наибольшую эффективность.

*Применение метода фермент-субстратной подпитки при получении биоэтанола*

Проведено 3 опыта с применением фермент-субстратной подпитки до концентрации субстрата 90 г/л, 120 г/л и 150 г/л по сухим веществам в сравнении с опытом без подпитки при концентрации субстрата 60 г/л (опыт 1). Опыты проводились в ферментере объемом 11 л. Начальная концентрация субстрата во всех опытах составила 60 г/л, одновременно с субстратом вносилась мультиэнзимная композиция,

рассчитанная на порцию субстрата. В опыте 2 осуществлялась подпитка 30 г/л субстрата через 4 ч от начала ферментативного гидролиза, в опыте 3 – подпитка по 30 г/л субстрата через 4 ч и 8 ч от начала гидролиза, в опыте 4 – по 30 г/л субстрата через 4 ч, 8 ч и 16 ч от начала гидролиза. Дрожжи вносились спустя 16 ч от внесения последней порции субстрата.

В таблице 3 обобщены результаты серии опытов.

Выход биоэтанола с повышением концентрации субстрата от 60 г/л до 90 г/л падает на 3,8 %, до 120-150 г/л – снижается еще на 7,6-6,5 %. Данные опыты подтверждают, что эффективность биоконверсии целлюлозы и гемицеллюлоз при ферментативном гидролизе уменьшается с увеличением концентрации субстрата.

Таблица 3

Результаты опыта без фермент-субстратной подпитки (опыт 1) и трех опытов с подпиткой (опыты 2-4)

Опыт	Общая концентрация субстрата (г/л)	Концентрация редуцирующих веществ и глюкозы в момент внесения дрожжей (г/л)	Общая продолжительность процесса, ч	Остаточная концентрация редуцирующих веществ, глюкозы (г/л)	Концентрация биоэтанола (% об.)	Выход биоэтанола (%)
1	60	40,0 / 23,1	112	4,7 / 0,3	2,4	68,3
2	90	55,5 / 39,0	116	3,9 / 0,0	3,4	64,5
3	120	70,5 / 46,5	120	7,4 / 0,3	4,0	56,9
4	150	83,0 / 58,9	128	8,3 / 0,3	5,1	58,0

Сравнивая опыт 4 при наибольшей загрузке субстрата с опытом 1 без фермент-субстратной подпитки, можно заключить, что в результате повышения концентрации субстрата в 2,5 раза было достигнуто повышение концентрации биоэтанола в 2,1 раза, но при этом выход биоэтанола снизился на 10,3 %. Несмотря на работу с вязкой и в тоже время рыхлой реакционной массой, достигнуты рабочие режимы перемешивания и преодолены ограничения массо- и теплопереноса. Подпитка позволила повысить предельную концентрацию субстрата при использовании исходного оборудования.

Таким образом, найден компромисс между повышением концентрации биоэтанола в бражке и снижением его выхода. Далее при апробации технологии получения биоэтанола на опытно-промышленном производстве была применена схема подпитки опыта 4.

*Апробация оптимизированной технологии получения биоэтанола на опытно-промышленном производстве*

Получение биоэтанола из шелухи овса на опытно-промышленном производстве было проведено начиная со стадии получения субстрата (продукта азотнокислой обработки сырья) в аппарате объемом 250 л. Дальнейшие стадии ферментативного гидролиза и спиртового брожения проводились в реакторе объемом 63 л с учетом всех оптимизированных в работе параметров. Процесс проводился с применением: метода фермент-субстратной подпитки до концентрации субстрата 150 г/л, оптимизированной мультиэнзимной композиции, оптимизированного питательного раствора. Момент внесения засевных дрожжей определялся с учетом степени гидролиза целлюлозы и гемицеллюлоз субстрата. В качестве продуцента этанола использовался штамм *Saccharomyces cerevisiae* Y-3136. На рисунке 4 представлена аппаратурно-технологическая схема проведения этого процесса.

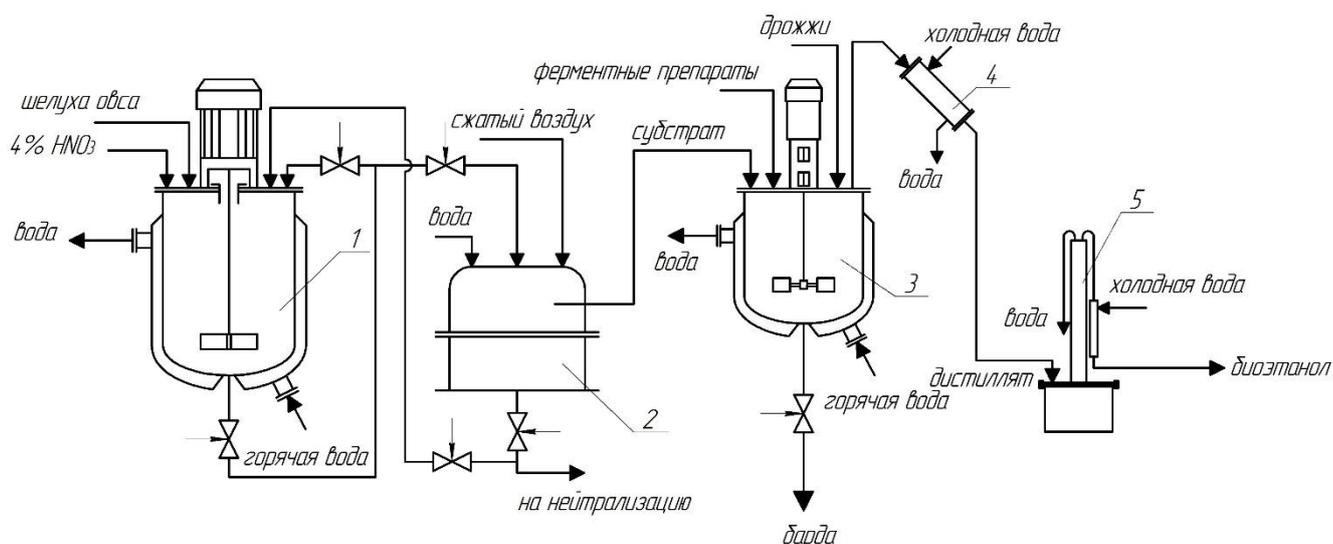


Рис. 4 Аппаратурно-технологическая схема получения биоэтанола на опытно-промышленном производстве: 1 – аппарат с перемешивающим устройством, 2 – вакуумный фильтр, 3 – реактор с перемешивающим устройством, 4 – холодильник, 5 – бражная колонна

Изменения концентрации редуцирующих веществ, глюкозы и биоэтанола в ходе эксперимента отражены на рисунке 5. Концентрация биоэтанола составила 5,4 % об., что соответствует выходу биоэтанола 61,4 %, 13,1 дал/т шелухи овса.

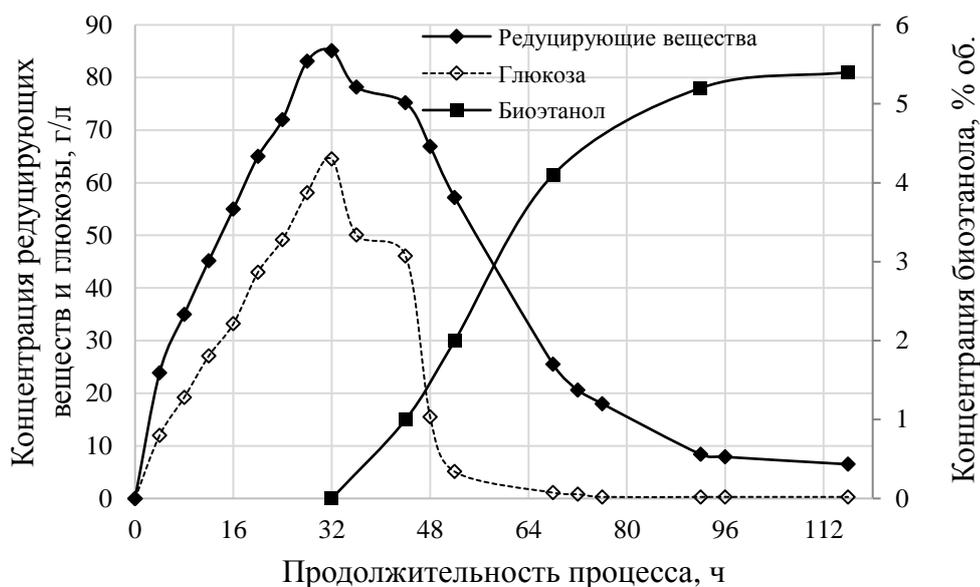


Рис. 5 Зависимости концентраций редуцирующих веществ, глюкозы и биоэтанола от продолжительности ферментативного гидролиза и спиртового брожения

Биоэтанол был выделен дистилляцией и подвергся фракционному разделению с помощью бражной колонны GS-2, после чего концентрация альдегидов в основной фракции составила 103 мг/л, эфиров – 2 мг/л, сивушных масел – 3000 мг/л, метанола – 0,015 % об. Метанол является маркером биоэтанола технического происхождения, однако в полученном образце обнаружена концентрация метанола на порядок ниже нормируемой для технического спирта (0,1 % об.).

Образец биоэтанола объемом 1 л с крепостью 92,6 % об. был передан в Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН для его применения в качестве сырья в процессе каталитической дегидратации в этилен, выход этилена составил 0,51 кг в расчете на 1 кг безводного биоэтанола, что соответствует выходу этилена из образца коммерчески доступного этанола в этих же условиях (Акт внедрения).

В сравнении с базовой технологией повышена эффективность процесса получения биоэтанола из продукта азотнокислой обработки шелухи овса за счет повышения концентрации биоэтанола от 2,3 % об. до 5,4 % об. Повышение эффективности обусловлено снижением затрат на ректификацию более концентрированного биоэтанола. В результате оценки экономической эффективности показано, что экономия от внедрения оптимизированной технологии в сравнении с базовой составит 19,8 %.

## ВЫВОДЫ

1) Выявлено оптимальное соотношение «Целлолюкс-А», «Ультрафло Коре» и «Брюзайм ВGX» в мультиэнзимной композиции (Целлолюкс-А) – 18 мг/г субстрата, «Ультрафло Коре» – 55 мг/г субстрата, «Брюзайм ВGX» – 0). Оптимизированный состав композиции позволяет повысить выход редуцирующих веществ в 1,95 раза. Установлено, что при трехкратном увеличении концентрации композиции («Целлолюкс-А» – 54 мг/г субстрата, «Ультрафло Коре» – 165 мг/г субстрата) достигается повышение выхода редуцирующих веществ и глюкозы на 13 %.

2) По результатам получения биоэтанола с варьированием времени совмещения стадий ферментативного гидролиза и спиртового брожения впервые построена математическая модель, на основе которой решена задача оптимизации продолжительности отдельной стадии ферментативного гидролиза перед совмещением ее со спиртовым брожением. Установлено, что стадия ферментативного гидролиза должна проводиться 24 ч, что обеспечивает гидролиз на 84 % от максимально возможных редуцирующих веществ в данных условиях.

3) В результате реализации трехфакторного эксперимента оптимизирован состав питательной среды стимуляторами биосинтеза этанола. Установлено, что внесение в ферментативный гидролизат сульфата аммония – 1,82 г/л, монофосфата калия – 0,98 г/л, дрожжевого экстракта – 6,47 г/л, сульфата магния – 1 г/л, кальция хлористого – 0,2 г/л позволяет повысить выход биоэтанола на 8,4 %.

4) Протестированы штаммы из Коллекции микроорганизмов для спиртовой, уксусной, ферментной и дрожжевой промышленности *S. cerevisiae* Y-3137 и *S. cerevisiae* Y-3136 в сравнении со штаммом *S. cerevisiae* Y-1693 (ВКПМ), который использован в качестве контрольного. Концентрация биоэтанола в опыте с Y-3137 была равна 2,1 % об., в опыте с Y-3136 – 2,4 % об., в контрольном опыте с Y-1693 – 2,2 % об., т.е. штамм *S. cerevisiae* Y-3136 показал наибольшую эффективность.

5) Разработаны технологические режимы фермент-субстратной подпитки до концентрации субстрата 90 г/л, 120 г/л и 150 г/л по сухим веществам, результаты сравнены с опытом без подпитки при концентрации субстрата 60 г/л. В результате преодолены ограничения перемешивания при повышении концентрации субстрата в 2,5 раза и повышена концентрация биоэтанола в 2,1 раза.

б) Проведена апробация оптимизированной технологии получения биоэтанола на опытно-промышленном производстве. Концентрация биоэтанола составила 5,4 % об. (в базовой технологии 2,3 % об.), что соответствует выходу биоэтанола 61,4 %, 13,0 дал/т шелухи овса. Экономия от внедрения оптимизированной технологии составит 19,8 %.

## СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### *Публикации в изданиях, индексируемых Web of Science и Scopus*

1. Skiba, E.A. Bioethanol from oat hulls pretreated by Alkaline Delignification. II. Scaling of alcoholic fermentation up to pilot process / E.A. Skiba, O.V. Baibakova, V.V. Budaeva, I.N. Pavlov, E.I. Makarova, **G.F. Mironova**, Y.A. Kriukov, G.V. Sakovich // *Biotekhnologiya*. 2017. Vol. 33, № 3. P. 47-56. doi: 10.21519/0234-2758-2017-33-3-47-56. EID: 2-s2.0-85054639466.

2. Skiba, E.A. Enhancing the Yield of Bioethanol from the Lignocellulose of Oat Hulls by Optimizing the Composition of the Nutrient Medium / E.A. Skiba, **G.F. Mironova**, A.A. Kukhlenko, S.E. Orlov // *Catalysis in Industry*. 2018. Vol. 10, № 3. С. 257-262. doi: 10.1134/S207005041803008X. WOS: 000446835400010. EID: 2-s2.0-85054829559.

3. **Mironova, G.F.** Optimization of pre-saccharification time during dSSF process in oat-hull bioethanol technology / G.F. Mironova, E.A. Skiba, A.A. Kukhlenko // *3Biotech*. – 2019. Vol. 9, № 12. P. 455. doi: 10.1007/s13205-019-1988-x. WOS: 000498561000001. EID: 2-s2.0-85075154493.

4. Kashcheyeva, E.I. Bioconversion of oat hull and miscanthus cellulose to glucose solutions / E.I. Kashcheyeva, **G.F. Mironova**, V.V. Budaeva, H. Khan // *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2019. Vol. 9, № 4. P. 654-664. doi: 10.21285/2227-2925-2019-9-4-654-664. WOS:000508236800008.

5. **Mironova, G.F.** Preparing Nutrient Media from Lignocellulose: Optimizing the Composition of a Multienzyme Compound / G.F. Mironova, E.A. Skiba, A.A. Kukhlenko // *Catalysis in Industry*. 2020. Vol. 12, № 2. P. 162-168. doi: 10.1134/S2070050420020063. WOS: 000543047100011. EID: 2-s2.0-85087058858.

6. **Mironova G.F.** Synthesis of Bioethanol from Oat Husk via Enzyme-Substrate Feeding / G.F. Mironova, E.A. Skiba // *Catalysis in Industry*. 2020. Vol. 12, № 4. P. 359-363. doi: 10.1134/S2070050420040054. WOS:000612367000011. EID: 2-s2.0-85099959303.

### *Публикации в изданиях из списка ВАК РФ*

7. Скиба, Е.А. Преимущества совмещения биокаталитических стадий в синтезе биоэтанола из целлюлозосодержащего сырья / Е.А. Скиба, **Г.Ф. Миронова** // *Известия ВУЗов. Прикладная химия и биотехнология*. 2016. Т. 6, № 4. С. 53-60. doi: 10.21285/2227-2925-2016-6-4-53-60.

8. **Миронова, Г.Ф.** Исследование возможности повышения выхода биоэтанола из продукта щелочной делигнификации плодовых оболочек овса с применением метода подпитки / Г.Ф. Миронова, И.Н. Павлов, Е.И. Кашеева // Ползуновский вестник. 2018. № 1. С. 111-116. doi: 10.25712/ASTU.2072-8921.2018.01.021.

9. Байбакова, О.В. Одностадийная обработка плодовых оболочек овса для получения биоэтанола – прекурсора этилена / О.В. Байбакова, Е.А. Скиба, И.Н. Павлов, В.В. Будаева, Ю.А. Крюков, В.Н. Золотухин, Е.И. Кашеева, Ю.А. Гисматулина, **Г.Ф. Миронова**, Е.К. Гладышева, А.А. Корчагина, Г.В. Сакович // Ползуновский вестник. 2018. № 3. С. 90-95. doi: 10.25712/ASTU.2072-8921.2018.03.016.

10. **Миронова, Г.Ф.** Опыт получения биоэтанола из продукта азотнокислой обработки шелухи овса неизотермическим способом с подпиткой / Г.Ф. Миронова, Е.А. Скиба // Ползуновский вестник. 2018. № 4. С. 160-163. doi: 10.25712/ASTU.2072-8921.2018.04.032.

#### *Материалы конференций*

11. **Миронова, Г.Ф.** Влияние среды на ферментативный гидролиз лигноцеллюлозного материала плодовых оболочек овса / Г.Ф. Миронова // Инновационные решения при производстве продуктов питания из растительного сырья: сборник научных статей и докладов II Международной научно-практической конференции. Воронеж: Издательско-полиграфический центр «Научная книга», 2016. С. 194-195.

12. **Миронова, Г.Ф.** Оптимизация состава ферментативного гидролизата как способ повышения выхода биоэтанола из плодовых оболочек овса / Г.Ф. Миронова // Сборник научных статей международной конференции «Ломоносовские чтения на Алтае: фундаментальные проблемы науки и образования» [Электронный ресурс] / АлтГУ; отв. Ред. Е.Д. Родионов. Электрон. текст. дан. Барнаул: ФГБОУ «Алтайский государственный университет», 2017. С. 1050-1053.

13. **Миронова, Г.Ф.** Биоэтанол из плодовых оболочек овса: оптимизация продолжительности ферментативного гидролиза перед совмещением его со спиртовым брожением // Инновационные решения при производстве продуктов питания из растительного сырья: сборник научных статей и докладов III Международной научно-практической конференции. Воронеж, 2017. С. 617-621.

14. **Mironova, G.F.** Optimizing the composition of multi-enzyme cocktail to prepare nutrient broths from cellulosic feedstocks / G.F. Mironova, E.I. Kashcheyeva, E.A. Skiba, A.A. Kukhlenko // Biotechnology: state of the art and perspectives: the proceedings of international forum, May 23-25, 2018, Moscow. Moscow: LLC «RED GROUP». P. 748-749.

15. **Миронова, Г.Ф.** Повышение эффективности процесса получения биоэтанола из шелухи овса / Г.Ф. Миронова, Е.А. Скиба // Химия и химическая технология переработки растительного сырья: материалы докладов Международной научно-технической конференции. Минск: БГТУ, 2018. С. 87-91.

16. **Миронова, Г.Ф.** Скрининг штаммов спиртовых дрожжей для получения биоэтанола из лигноцеллюлозного сырья / Г.Ф. Миронова, Е.А. Скиба // Альтернативные источники сырья и топлива: тезисы докладов VII Международной научно-технической конференции «АИСТ-2019», 28-30 мая 2019 г., Минск: Институт химии новых материалов НАН Беларуси, 2019. С. 105.

17. **Миронова, Г.Ф.** Способы интенсификации технологии биоэтанола из шелухи овса / Г.Ф. Миронова, Е.А. Скиба // Новые каталитические процессы глубокой переработки углеводородного сырья и биомассы. Третья школа молодых учёных [Электронный ресурс]: сборник тезисов докладов, 1-4 октября 2019 г., Красноярск / Институт катализа СО РАН. Новосибирск: ИК СО РАН, 2019. С. 26. URL: <http://catalysis.ru/resources/institute/Publishing/Report/2019/cat-proc-biomass-2019.pdf> (дата обращения: 10.09.2020).

18. **Миронова, Г.Ф.** Выбор штамма *Saccharomyces cerevisiae* для получения биоэтанола из шелухи овса / Г.Ф. Миронова // Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности: материалы XIII Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых с международным участием (20-22 мая 2020 г., г. Бийск) / Алт. гос. техн. ун-т, БТИ. Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2020. С. 264-267.

*Патент:*

19. Пат. 2701643 Российская Федерация, МПК С12Р7/06, С12Р7/10. Способ получения биоэтанола из целлюлозосодержащего сырья / **Миронова Г.Ф.**, Скиба Е.А., Будаева В.В., Кашеева Е.И., Байбакова О.В.; заявитель и патентообладатель ФГБУН Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук. N 2018134393; заявл. 27.09.2018; опубл. 30.09.2019, Бюл. № 28. 9 с.