

УДК 577.121.2:628.336.098.4:66.098.4

## Анаэробная конверсия лигноцеллюлозы в материалы для получения биотоплива – летучие жирные кислоты и этанол

© 2018 М.А. ГЛАДЧЕНКО\*, С.Н. ГАЙДАМАКА, В.П. МУРЫГИНА, С.Д. ВАРФОЛОМЕЕВ

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет,  
кафедра химической энзимологии, Москва, 119992

\*e-mail: gladmarina@yandex.ru

Поступила 26.02.2018 г.

Принята в печать 12.04.2018 г.

Процессы окислительной деполимеризации и кислотного гидролиза последовательно применены для предобработки лигноцеллюлозной биомассы (солома, опилки и лигнин), что позволило получить высокое содержание в гидролизате растворимых органических веществ (44–94 г ХПК/л) и увеличить концентрацию восстанавливающих сахаров с 1% до 36%. Внесение бактерий *Clostridium acetobutylicum* в кислотогенный биокатализатор привело к еще большему повышению содержания в конечном продукте летучих жирных кислот и этанола. При этом максимальный среди исследованных субстратов выход масляной кислоты и этанола был получен в результате конверсии соломы – 27% (0,82 г/л) и 17,4% (0,44 г/л), соответственно. Было показано, что добавление глицерина в качестве субстрата позволяет увеличить выход масляной и уксусной кислот в процессе конверсии предобработанной биомассы; при добавлении к соломе глицерина в соотношении 1:1 максимальный выход масляной кислоты и летучих жирных кислот составил 32% (0,96 г/л) и 72% (2,67 г/л), соответственно.

*Ключевые слова:* солома, опилки, лигнин, окислительная деполимеризация, гидролиз, анаэробные процессы, биокатализатор.

**doi:** 10.21519/0234-2758-2018-34-3-42-52

Экологические и энергетические проблемы становятся в последние годы одними из основных проблем человечества. В настоящее время в огромных количествах образуются углеродсодержащие отходы [1], такие как твердые отходы сельского хозяйства (солома, опилки, целлюлоза, лигнин), агропромышленные отходы (грибные отходы, хлопковая целлюлоза), а также жидкие отходы пищевых продуктов и связанные с ними промышленные сточные воды. Такого рода необработанные отходы представляют серьезную угрозу окружающей среде и жизни человека. Одним из альтернативных решений проблемы утилизации отходов является производство на их основе возобновляемых источников энергии, таких как биоводород, биометан, биоэтанол, а также

источники биотоплива летучие жирные кислоты (ЛЖК) – уксусная, пропионовая и масляная [2, 3]. При этом лигноцеллюлоза, составляя значительную долю агропромышленных отходов, является самым распространенным сырьем для производства биотоплива.

Важное место в переработке указанных отходов занимают биокаталитические процессы, использующие специализированные микробные ассоциации [4, 5]. Наиболее изученным и энергетически выгодным является процесс анаэробной конверсии биомассы в биогаз [4–6], при котором происходит диспропорционирование углеводной компоненты с переносом основного энергосодержания в метан:



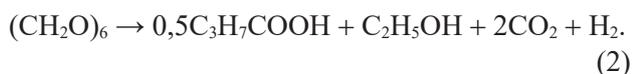
*Список сокращений:* АПК – аграрно-промышленный комплекс, БВБ – беззольное вещество биомассы, ВП – время пребывания в реакторе, ЛЖК – летучие жирные кислоты, ХПК – химическая потребность в кислороде, ЭЛЖК – эфиры летучих жирных кислот, UASB – анаэробный реактор с потоком жидкости, восходящей через слой гранулированного биокатализатора.

Главное преимущество получения биогаза из биомассы заключается в том, что разнообразные по химической природе компоненты отходов (углеводы, липиды и белки) могут быть превращены в один и тот же целевой продукт. При этом выход продукта в зависимости от химического состава перерабатываемого в биогаз сырья может достигать 90% [7].

Однако метаногенез, активно протекающий как в природных условиях, так и в рамках широко используемого технологического процесса получения биогаза, имеет ряд недостатков: это невысокая активность природного метаногенерирующего консорциума микроорганизмов; сложность деструкции лигноцеллюлозных полимерных комплексов; неустойчивость процесса, обусловленная переходом системы в состояние гиперпродукции органических кислот и резкого снижения pH среды, что приводит к ингибированию метаногенеза.

Исследуемые лигноцеллюлозные субстраты являются трудно разлагаемыми и отчасти в связи с этим в малой степени подвержены полному метаногенезу. В то же время, первая стадия этого процесса, а именно, получение летучих жирных кислот из указанных субстратов, протекает достаточно эффективно. Поэтому представляла интерес гиперпродукция летучих жирных кислот путем блокирования дальнейших стадий процесса метаногенеза. Как уже сказано выше, эти ЛЖК могут служить для дальнейшего получения биодизельного топлива (в виде этиловых эфиров жирных кислот), которое может применяться самостоятельно или в качестве добавки к дизельному топливу с небольшой модификацией двигателя или даже без нее [8]. Эфиры ЛЖК (ЭЛЖК), обнаружившие заметный октанповышающий эффект (3–6 ед.) в бензинах, можно также рассматривать как аналог традиционного биодизеля, получаемого алкоголизом триглицеридов [8].

В устойчивом стационарном состоянии при пониженных значениях pH конверсия биомассы может протекать с образованием масляной кислоты в соответствии со стехиометрическим уравнением:



В реальных условиях процесс более сложен и сопровождается накоплением небольших количеств уксусной и пропионовой кислот, однако при создании оптимальных условий он становится достаточно устойчивым и интенсивным [9, 10].

Перевод ЛЖК в форму эфиров может быть осуществлен несколькими путями. Так, ЛЖК и этанол, совместно образующиеся в биокаталитическом процессе, являются идеальным субстратом для синтеза этилкарбоксилатов. Известно, что процессы этерификации органических кислот идут весьма эффективно с большой скоростью в присутствии суперкритических спиртов, поэтому этерификация ЛЖК опробована в условиях образования суперкритических флюидов этанола [11, 12].

В большинстве случаев процесс биоконверсии лигноцеллюлозной биомассы лимитирован сложностью деполимеризации ее основных компонентов, таких как целлюлоза, гемицеллюлоза, лигнин и белки. Один из современных подходов к интенсификации процесса основан на использовании предварительной деструкции полимеров с получением растворимых соединений и последующей их конверсии в топливо [13, 14]. Существуют различные способы предобработки твердофазного лигносодержащего сырья, которые позволяют интенсифицировать анаэробные процессы его деградации [13–16].

Для получения жидких форм биотоплива была разработана технология окислительной деполимеризации техногенных углеродсодержащих отходов и создан биокатализатор для эффективной конверсии в ЛЖК нескольких видов биомассы после окислительной деполимеризации с последующей этерификацией жирных кислот в присутствии суперкритических жидкостей [8, 15–17]. Окислительная деполимеризация биомассы осуществляется в щелочной среде с использованием в качестве катализатора солей меди в диапазоне температур от комнатной до 90 °C [15, 16]. Разрушение органических соединений путем окисления кислородом нашло широкое применение в области переработки растительного сырья. Этот метод позволяет не только получить высококонцентрированный раствор олигомеров, но и увеличить количество углеводов в предобработанной биомассе. К сожалению, авторами патента [15] не был определен качественный состав углеводов в финальной смеси из-за ее крайне сложного состава. Однако авторы утверждают, что одним из конечных продуктов являются соли полиоксикислот.

Изучая метаногенерирующий консорциум и проводя его селекцию, адаптацию и реактивацию после хранения, мы решили изучить также его модификацию, а именно, обогащение другими видами анаэробных микроорганизмов, предполагая, что с помощью модифицированного катализатора предобработанная биомасса может

быть подвергнута более глубокой конверсии в соединения углеводородной природы (спирты, жирные кислоты, эфиры).

Известно также, что добавление легко деградируемого субстрата, такого, как глицерин, интенсифицирует процесс разрушения трудно разлагаемых соединений. В связи с этим интерес представлял эффект добавления глицерина, являющегося промышленным отходом, на процесс деградации исследуемых трудно разлагаемых лигноцеллюлозных субстратов.

Цель настоящего исследования состояла в последовательном применении одного из недавно разработанных методов – окислительной деполимеризации, одного из наиболее изученных методов – кислотогенного гидролиза, а также их сочетания для обработки нескольких видов лигноцеллюлозной биомассы (солома, опилки, лигнин). На основании полученных результатов планировалось разработать оптимальный вариант процесса, обеспечивающий повышение субстратной доступности предобработанной биомассы и максимальную эффективность кислотогенеза. Было также изучено влияние дополнительного внесения микроорганизмов *Clostridium acetobutylicum* в кислотогенный биокатализатор и глицерина в предобработанный комбинированным методом лигноцеллюлозный субстрат на образование ЛЖК и этанола.

## УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

### Биокатализатор

В работе использовали полученный ранее кислотогенный биокатализатор [17], выделенный в результате селекционной работы из анаэробного метаногенного или действующего анаэробного метаногенного реактора очистных сооружений завода по изготовлению чипсов «ФритоЛей» (г. Кашира). Микробный состав биокатализатора после селекции был представлен в основном гидролитическими, ферментативными и ацетогенными

бактериями исходного метаногенного консорциума, получившими преимущественный рост в кислотогенных условиях. Представители метаногенного сообщества микроорганизмов с оптимальной активностью при pH 7,0–8,0 не проявляли заметный рост при значениях pH от 5,4 до 5,6. Свойства полученного биокатализатора, определенные по методикам [18, 19], представлены в табл. 1.

Биокатализатор хранили при 4 °С в течение 6 мес, после чего производили его реактивацию в анаэробном реакторе типа UASB объемом 1,25 л и высотой 0,5 м при мезофильном (35 °С) и субмезофильном (22–28 °С) температурных режимах. Биореактор заполняли селекционным биокатализатором (750 мл, что составляет 2/3 от общего объема реактора), а в качестве субстрата использовали модельные стоки двух различных составов (см. ниже), приготовленные на минеральной среде [19]. Для приготовления 1 л минеральной среды использовали фосфатный буфер (Fluka, США), pH от 5,4 до 5,6, 10 мл раствора А и 1,4 мл раствора Б. Раствор А имел следующий состав, г/л: NH<sub>4</sub>Cl – 100; KН<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 37; CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O – 8; MgSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O – 9. Раствор Б состоял из следующих компонентов, мг/л: FeCl<sub>3</sub>·4H<sub>2</sub>O – 2000; CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O – 2000; MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O – 500; CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O – 30; ZnCl<sub>2</sub> – 50; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> – 50; (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O – 90; Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O – 100; NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O – 50 (все компоненты производства Fluka). Модельные стоки № 1 и 2 в качестве источника углерода содержали глюкозу (1–4 г/л) и молочную сыворотку (3–6 г/л), соответственно. Величину pH контролировали потенциометрически (pH-метр Mettler Toledo 8603, Швейцария). Такие характеристики процесса, протекающего в реакторе, как время пребывания в нем среды (сут), нагрузка по органическому веществу (г ХПК/л), эффективность конверсии органических веществ в этанол (концентрация этанола, г/л) и в различные ЛЖК (г/л) в процессе кислотогенеза рассчитывали по формулам, описанным в работах [17, 19].

Таблица 1

### Характеристики использованного биокатализатора

#### Characteristics of the used biocatalyst

Биокатализатор	Кислотогенная активность, мг ХПК/(г БВБ·сут)	Сухое вещество, г/л	Зольность, %	Беззольное вещество биомассы, г/л
Исходный	500,0±8	58±3	37±2	36±1
Селекционный (кислотогенный)	627,5±15	63±4	35±5	41±4

Определение и расчет удельной кислотогенной активности биокатализаторов (исходного, селекционного и реактивированного) и изучение эффективности и скорости образования ЛЖК на различных субстратах проводили согласно ранее разработанным методикам [17–19] при двух температурных режимах (35 °С и 20 °С).

Для оценки влияния микроорганизмов на образование ЛЖК и этанола в процессе конверсии предобработанной биомассы использовали суспензию ацетонобутиловых бактерий *Clostridium acetobutylicum* штамм В-1787 (ВКПМ, Москва) с концентрацией 9,25 г/л. Несмотря на то, что конечными продуктами метаболизма данных бактерий наряду с уксусной и масляной кислотой и этанолом являются также ацетон и бутанол, именно данный штамм был выбран в качестве дополнения к кислотогенному биокатализатору. Это связано со способностью микроорганизмов основного кислотогенного консорциума потреблять бутанол и ацетон и в результате накапливать целевые продукты разрабатываемого процесса, уксусную и масляную кислоты. Выращивание биомассы клеток *C. acetobutylicum* проводили путем периодического анаэробного культивирования при 37 °С в среде следующего состава, г/л: пептон (триптон) – 10; дрожжевой экстракт – 5; глюкоза – 25 (Fluka).

### Субстрат

Измельченные опилки и лигнин были любезно предоставлены Архангельским деревообрабатывающим комбинатом; измельченная пшеничная солома была получена в Тимирязевской академии (РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева). Предобработку лигносодержащего материала для последующей конверсии в ЛЖК и этиловый спирт проводили по описанным ранее методикам при помощи окисления с использованием в качестве катализатора солей меди в щелочной среде в диапазоне температур от 20 °С до 90 °С [15, 16] и последующего кислотного гидролиза [17].

Одним из косубстратов также являлся глицерин плотностью 1,261 г/мл в концентрации от 1,2 до 2,3 г/л («ХимМед», Россия).

Все исследования по биоконверсии предобработанной биомассы в ЛЖК и этиловый спирт проводили в стационарных условиях при периодическом культивировании во флаконах, используя два температурных режима – 35 °С и 20 °С. Для этого во флаконы емкостью 120 мл вносили по 50 мл исследуемого образца, разбавленного минеральной средой (см. выше) до концентрации ХПК 2,5–15,0 г/л, и добавляли по 5 мл кислотогенного

биокатализатора из рабочего реактора (9% от общего объема жидкой фазы), после чего газовое пространство реактора замещали аргоном, создавая анаэробные условия. Как уже говорилось выше, эффективность конверсии органических веществ в этиловый спирт и ЛЖК рассчитывали по формулам, описанным в работах [17, 19].

Продукты, образующиеся в процессе кислотогенеза – водород, углекислый газ и ЛЖК – анализировали с помощью газовой хроматографии. Использовали хроматограф марки ЛХМ 8 МД (Россия), модель 3 с катарометром (газ-носитель – аргон, скорость газа-носителя 20 мл/мин, длина колонки порпака QS 2 м, температура термостата колонок 50 °С), а также хроматограф GC-15A Shimadzu с пламенно-ионизационным детектором (газ-носитель – аргон, скорость газа-носителя 30 мл/мин, температура термостата колонок 190 °С, детектора – 210 °С, испарителя – 220 °С) в соответствии с [20].

Концентрацию глюкозы в глюкозосодержащем модельном стоке № 1 определяли глюкозооксидазным методом с использованием стандартного набора реагентов («Импакт», Россия).

Концентрацию органических веществ в содержащем сыворотку модельном стоке № 2 и в образцах биомассы после предобработки (ХПК, г/л), определяли известным методом, описанным в работе [21].

Сумму восстанавливающих сахаров анализировали согласно методике, описанной в [22].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее нами были изучены два отдельных метода предобработки биомассы: окислительная деполимеризация опилок и лигнина с выходом олигомеров до 100 г/л и углеводов до 1% и кислотный гидролиз соломы, позволяющий увеличить не только концентрацию углеводов до 35%, но и содержание взвешенных веществ до 50% [17]. С целью повышения субстратной доступности биомассы в данном исследовании был апробирован комбинированный способ ее предобработки с последовательным использованием обоих указанных методов. Окислительная деполимеризация с последующим кислотным гидролизом твердой пшеничной соломы, опилок хвойных пород деревьев и лигнина в оптимальных условиях позволила получить органические вещества в концентрации 48, 44 и 94 г ХПК/л, соответственно, что в свою очередь привело к увеличению количества восстанавливающих сахаров с 1% до 22–36%.

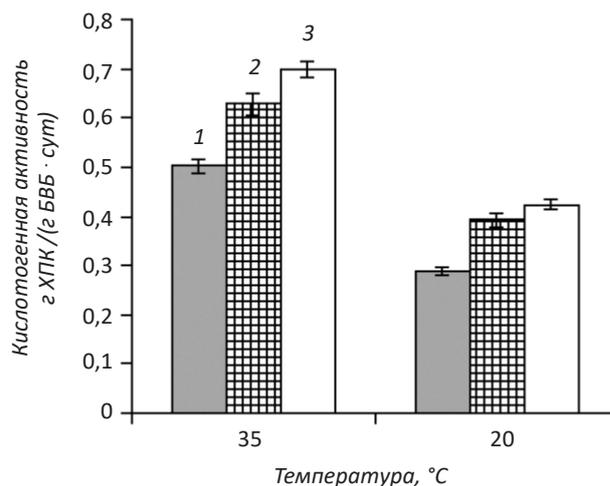
Для подготовки последующей стадии кислотогенного гидролиза проводили селекцию биокатализатора, культивируя его в течение 77 сут (39 сут на среде, содержащей глюкозу, затем 38 сут – на среде с сывороткой). Для реактивации катализатора после хранения в биореакторе проточного типа в оптимальных кислотогенных условиях использовали в качестве субстрата сначала глюкозу (16 сут), затем молочную сыворотку (22 сут). При этом в результате селекции кислотогенная активность биокатализатора увеличилась почти в 1,3 раза по сравнению с исходным метаногенным илом (рис. 1).

В результате же реактивации биокатализатора кислотогенная активность дополнительно увеличилась на 10% (см. рис. 1). Особо следует отметить, что на восстановление активности биокатализатора потребовалось в 2 раза меньше времени, чем на его селекцию.

Было изучено влияние модифицированного метода предобработки (окислительная деполимеризация с последующим кислотным гидролизом) твердых отходов сельского хозяйства (пшеничная солома) и деревообрабатывающей промышленности (опилки хвойных пород деревьев и лигнин) на выход ЛЖК в процессе конверсии реактивированным биокатализатором (рис. 2).

Последовательное применение двух указанных методов предобработки соломы повысило концентрацию органических веществ с 5,2 до 5,6 г ХПК/л и привело к существенному изменению количественного состава продуктов кислотогенеза соломы по сравнению использованием только кислотного гидролиза (рис. 2a). Эти изменения выразились в снижении выхода уксусной кислоты на 1,8–5,3%, масляной кислоты на 8,8–16,8%, этанола в среднем на 2,2% и к десятикратному росту продукции пропионовой кислоты при 35 °С и пятикратному при 20 °С. Длительность биокаталитического кислотогенеза предобработанной соломы составила 6 и 10 сут при 35 °С и 20 °С, соответственно.

При использовании предобработанных модифицированным методом опилок и лигнина наблюдали увеличение количества всех продуктов кислотогенеза при обоих температурных режимах (рис. 2b, 2c). Максимальный рост выхода пропионовой кислоты наблюдали при конверсии предобработанных опилок (в среднем в 2 раза) и при гидролизе лигнина (в 3 раза). Следует отметить появление этанола (до 2,6%) среди продуктов кислотогенеза предобработанного лигнина. Наблюдали также увеличение длительности



**Рис. 1.** Кислотогенная активность при двух температурных режимах биокатализатора до селекции (1), после селекции (2) и в результате селекции и последующей реактивации (3)

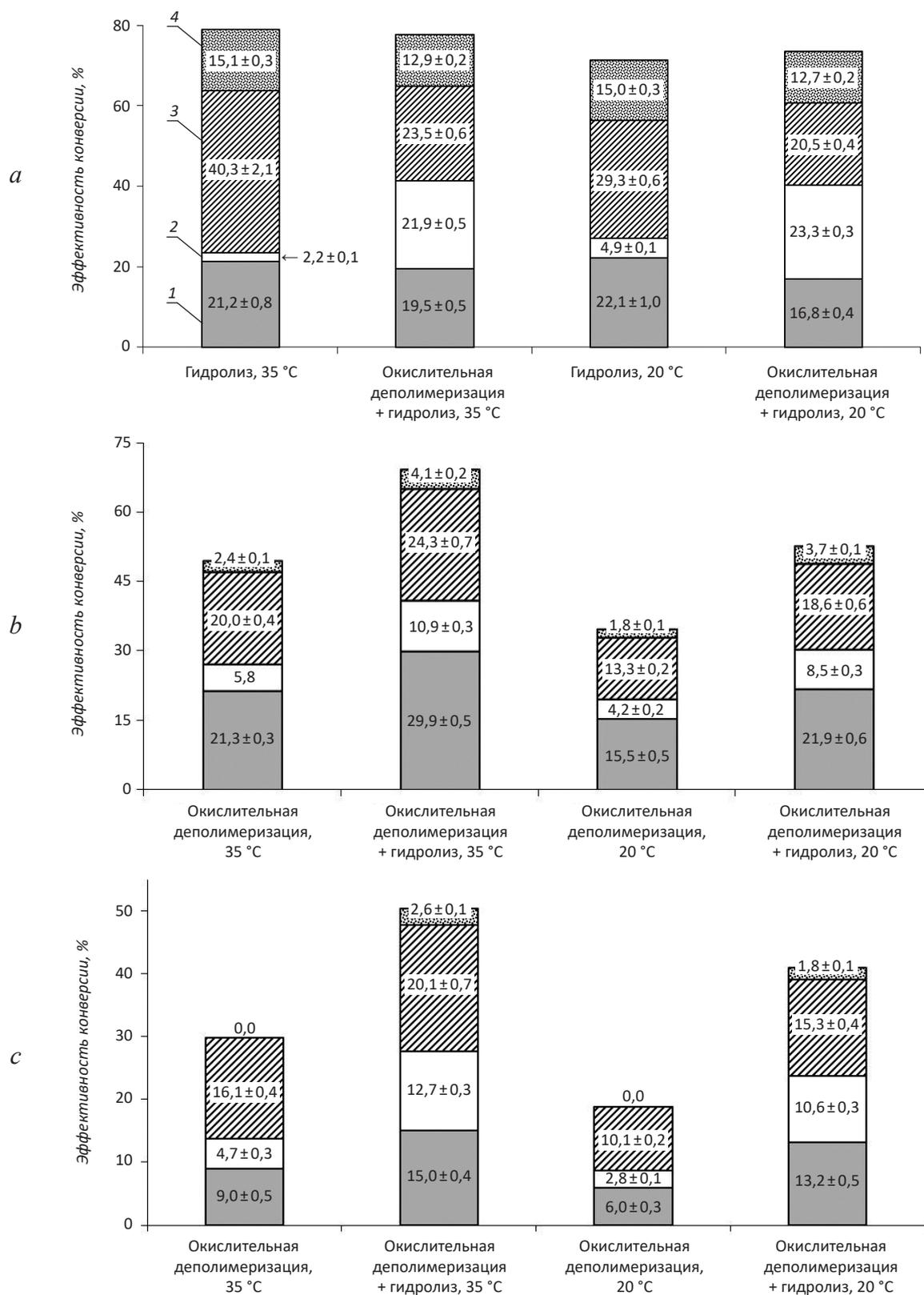
**Fig. 1.** Acidogenic activity at two temperature regimes of biocatalyst before selection (1), after selection (2), and as a result of selection and following reactivation (3)

процесса кислотогенеза при обоих температурных режимах до 12 и 16 сут при использовании предобработанных опилок и до 14 и 18 сут – лигнина. Согласно полученным данным, применение модифицированного метода предобработки было особенно эффективно при конверсии биомассы из опилок и лигнина и способствовало увеличению выхода ЛЖК в среднем на 18% и этанола на 2%.

Динамика образования ЛЖК и этанола при гидролизе соломы, предварительно обработанной комбинированным методом (рис. 3), показала, что накопление указанных соединений проходило без лаг-периода. Это свидетельствует о субстратной доступности обработанной соломы и высокой активности биокатализатора. Процесс конверсии биомассы в ЛЖК и этанол считали завершенным после установления постоянной концентрации целевых продуктов в жидкой фазе биореактора (см. рис. 3).

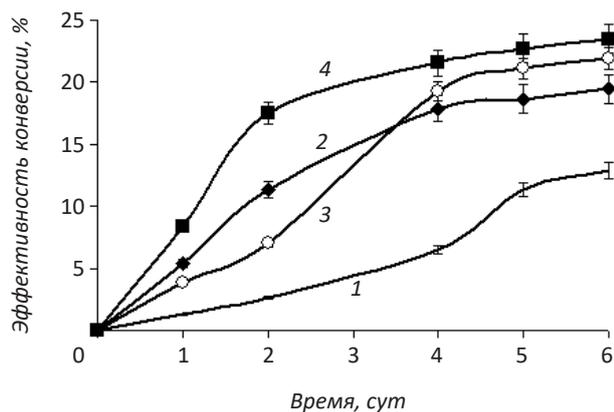
Было исследовано влияние внесения микроорганизмов *Clostridium acetobutylicum* (до 25 об. %) в реактивированный кислотогенный биокатализатор на выход ЛЖК и этанола в процессе конверсии деполимеризованных соломы, опилок и лигнина. Эксперименты проводили при двух температурных режимах, начальной концентрации субстрата от 5,3 до 5,8 г ХПК/л и продолжительности процессов кислотогенеза, установленной для каждого из субстратов ранее (в исследованиях по применению модифицированного метода

## АНАЭРОБНАЯ КОНВЕРСИЯ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗЫ В МАТЕРИАЛЫ



**Рис. 2.** Выход ЛЖК (1 – уксусная кислота, 2 – пропионовая, 3 – масляная) и этанола (4) в процессе конверсии реактивированным биокатализатором при двух температурных режимах в зависимости от метода предобработки соломы (a), опилок (b), лигнина (c)

**Fig. 2.** Yield of VFA (1, acetic acid; 2, propionic acid; and 3, butyric acid) and ethanol (4) of pretreated straw (a), sawdust (b) and lignin (c) during their conversion under two temperature regimes by reactivated biocatalyst depending on pretreatment method



**Рис. 3.** Динамика образования этанола (1) и летучих жирных кислот (2 – уксусная, 3 – пропионовая, 4 – масляная кислоты) при конверсии селекционированным реактивированным биокатализатором пшеничной соломы, предварительно обработанной комбинированным методом

**Fig. 3.** Dynamics of ethanol (1) and VFA (2, acetic acid; 3, propionic acid; and 4, butyric acid) formation during conversion with selected reactivated biocatalyst of wheat straw pretreated by combined method

предобработки биомассы), а именно, 6 и 10 сут для соломы, 12 и 16 сут для опилок и 14 и 18 сут для лигнина при температуре 35 °С и 20 °С, соответственно (рис. 4).

Как видно из полученных результатов, введение культуры *C. acetobutylicum* в катализатор приводит к повышению выхода уксусной и масляной кислот, а также этанола при обоих температурных режимах и любых исследуемых субстратах. При этом содержание масляной кислоты и этанола в гидролизате соломы было выше, чем в гидролизатах других субстратов (27% (0,82 г/л) и 17,4% (0,44 г/л), соответственно) (см. рис. 4).

Было исследовано влияние частичной замены продуктов деполимеризованной, а затем гидролизованной соломы, опилок и лигнина на глицерин в концентрации 25% и 50% от общего содержания органических веществ (составляющего около 5,6 г ХПК/л) на выход жирных кислот и этанола. На рис. 5 представлены результаты, полученные при 35 °С и 20 °С в условиях длительности экспериментов, установленной для каждого из субстратов ранее. Как видно из полученных данных, разбавление окисленно-гидролизованной биомассы соломы глицерином в 2 раза при 35 °С привело к повышению выхода уксусной и масляной кислот с 19% до 25% (с 0,95 г/л до 1,22 г/л) и с 23% до 32% (с 0,7 г/л до 0,96 г/л), соответственно, а также к существенному снижению выхода этанола и

пропионовой кислоты с 13% до 9% (с 0,32 г/л до 0,22 г/л) и с 22% до 14% (с 0,75 г/л до 0,49 г/л), соответственно. Аналогичная зависимость наблюдалась и при 20 °С. В случае двукратного разбавления глицерином предобработанных опилок при обоих температурных режимах наблюдали увеличение выхода уксусной кислоты до 38% (1,9 г/л) при 35 °С и 29% (1,5 г/л) при 20 °С. Однако выход масляной кислоты не увеличивался при разбавлении биомассы опилок глицерином ни в соотношении 3:1, ни 1:1 и составлял в среднем 30% (0,93 г/л) при 35 °С и 22% (0,70 г/л) при 20 °С. Разбавление глицерином предобработанной массы лигнина приводило при 35 °С к небольшому увеличению выхода уксусной и масляной кислот до 24% (1,24 г/л) и 23% (0,70 г/л), соответственно, и незначительному росту содержания пропионовой кислоты в среднем до 14% (0,50 г/л). Снижение температуры кислотогенеза до 20 °С сопровождалось увеличением содержания не только уксусной и масляной, но и пропионовой кислоты до 16% (0,56 г/л). Следует отметить также резкое снижение выхода этанола, вплоть до прекращения его образования, в результате использования разбавленных глицерином опилок и лигнина при обоих температурных режимах (см. рис. 5).

Таким образом, разработанный комбинированный метод предобработки отходов сельского хозяйства как сырья для получения биотоплива, делает возможным получение биомассы с минимальным количеством трудно разлагаемых полимеров и содержанием углеводов до 36%. Это позволяет снять лимитирование с процесса конверсии предобработанной биомассы биокатализатором. Использование подобного метода предобработки таких сложных видов биомассы, как опилки и лигнин, привело к повышению выхода ЛЖК и этанола на 18% и 2%, соответственно. Внесение микроорганизмов *Clostridium acetobutylicum* в биокатализатор также увеличило выход ЛЖК и этанола, причем с использованием предобработанной соломы выход масляной кислоты и этанола был самым высоким (27% (0,82 г/л) и 17,4% (0,44 г/л), соответственно) среди других субстратов. Добавление к биомассе легко конвертируемого микроорганизмами глицерина позволило увеличить не только скорость процесса кислотогенеза, но и выход летучих жирных кислот и спирта. При соотношении предобработанной биомассы соломы и глицерина, равном 1:1, наблюдали максимальный выход масляной кислоты и ЛЖК, который составил 32% (0,96 г/л) и 72% (2,67 г/л), соответственно.

АНАЭРОБНАЯ КОНВЕРСИЯ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗЫ В МАТЕРИАЛЫ

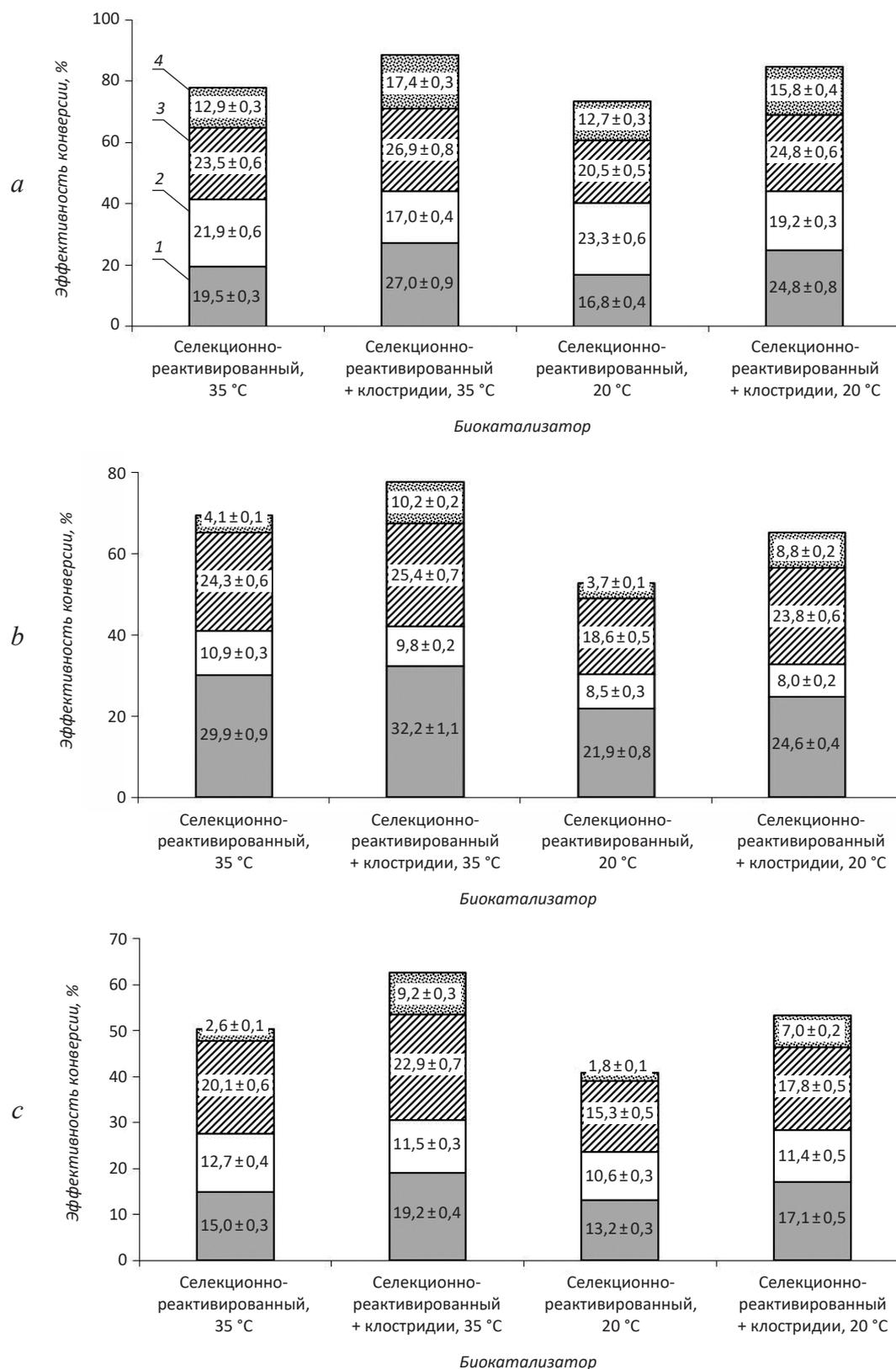
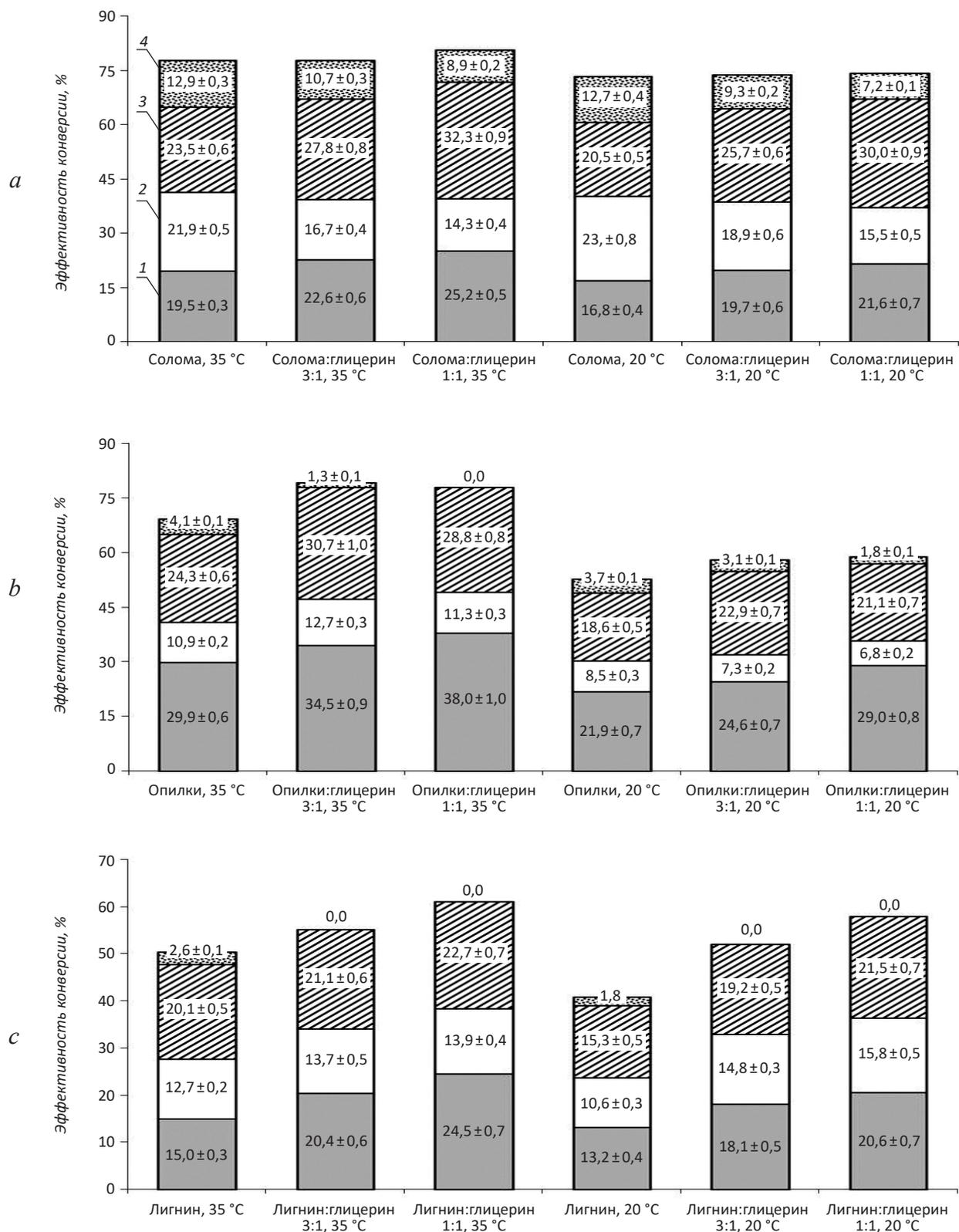


Рис. 4. Эффект внесения микроорганизмов *Clostridium acetobutylicum* в реактивированный селекционный биокатализатор на выход ЛЖК (1 – уксусная кислота, 2 – пропионовая, 3 – масляная) и этанола (4) в процессе конверсии деполимеризованной соломы (a), опилек (b) и лигнина (c) при двух температурных режимах.

Fig. 4. Effect of addition to reactivated selected biocatalyst of *Clostridium acetobutylicum* bacteria on yields of VFA (1, acetic acid; 2, propionic acid; and 3, butyric acid) and ethanol (4) during conversion of depolymerized straw (a), sawdust (b) and lignin (c) under two temperature regimes



**Рис. 5.** Влияние частичной замены глицерином предобработанных соломы (а), опилок (б) и лигнина (с) на выход ЛЖК (1 – уксусная кислота, 2 – пропионовая, 3 – масляная) и этанола (4) в процессе их конверсии реактивированным селекционным биокатализатором при двух температурных режимах

**Fig. 5.** Effect of partial substitution of glycerol for pretreated straw (a), sawdust (b) and lignin (c) on yields of VFA (1, acetic acid; 2, propionic acid; and 3, butyric acid) and ethanol (4) during their conversion by reactivated selected biocatalyst under two temperature regimes

ЛИТЕРАТУРА

- Frankó B., Galbe M., Wallberg O. Bioethanol production from forestry residues: A comparative techno-economic analysis. *Applied Energy*. 2016, 184, 727–736. doi: 10.1016/j.apenergy.2016.11.011
- Liu Chun-Min, Wu Shu-Yii. From biomass waste to biofuels and biomaterial building blocks. *Renewable Energy*. 2016, 96, 1056–1062. doi: 10.1016/j.renene.2015.12.059
- Kumar D., Singh B., Korstad J. Utilization of lignocellulosic biomass by oleaginous yeast and bacteria for production of biodiesel and renewable diesel. *Renewable and Sustainable Energy Rev.*, 2017, 73, 654–671. doi: 10.1016/j.rser.2017.01.022
- Ножевникова А.Н., Каллистова А.Ю., Литтл Ю.В., Кевбрина М.В. Биотехнология и микробиология анаэробной переработки органических коммунальных отходов. Ред. А.Н. Ножевникова. М.: Университетская книга. 2016, 320.
- Гладченко М.А., Ковалёв Д.А., Ковалёв А.А. и др. Получение метана при анаэробной переработке органических отходов овощеперерабатывающих производств. *Прикладная биохимия и микробиология*, 2017, 53(2), 1–9. doi: 10.7868/S055510991702009X
- Сенько О.В., Гладченко М.А., Лягин И.В. и др. Трансформация биомассы фототрофных микроорганизмов в метан. *Альтернативная энергетика и экология*, 2012, 107(3), 89–94.
- Maragkaki A.E., Fountoulakis M., Gypakis, A. and at. al. Pilot-scale anaerobic co-digestion of sewage sludge with agro-industrial by-products for increased biogas production of existing digesters at wastewater treatment plants. *Waste Management*. 2017, 59, 362–370. doi: 10.1016/j.wasman.2016.10.043
- Мазанов С.В., Габитова А.Р., Усманов Р.А., Габитов Р.Р. Экспериментальное исследование процесса получения биодизельного топлива в присутствии гетерогенного катализатора Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. *Вестник технологического университета*, 2015, 18(7), 159–161.
- Калюжный С.В., Данилович Д.А., Ножевникова А.Н., Анаэробная биологическая очистка сточных вод. Итоги науки и техники. Сер. Биотехнология. Ред. С.Д. Варфоломеев. М.: ВИНТИ, 1991, 29, 155.
- Варфоломеев С.Д., Калюжный С.В., Медман Д.Я. Химические основы биотехнологии получения топлив. *Успехи химии*. 1988, 57, 1201–1230.
- Santacesaria E., Trulli F., Brussani G.F. Oxidized glucosidic oligomers - a new class of sequestering agents-preparation and properties. *Carbohydrate polymers*. 1994, 23, 35–46.
- Biktashev Sh.A., Usmanov R.A., Gabitov R.R., and at. al. Transesterification of rapeseed and palm oils in supercritical methanol and ethanol. *Biomass Bioenergy*. 2011, 35, 2999–3011. doi: 10.1016/j.biombioe.2011.03.038
- Kumar P, Barrett D.M, Delwiche M.J, Stroeve P. Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2009, 48(8), 3713–3729. doi: 10.1021/ie801542g
- Agbor VB, Cicek N, Sparling R, Berlin A, Levin DB. Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. *Biotechnol. Adv.*, 2011, 29(6), 675–685. doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.05.005
- Скибида И.П., Асеева Р.М., Сахаров П.А., Сахаров А.М. Интумесцентный коксообразующий антиперен, способ его получения, способ огнезащитной обработки горючего субстрата и способ тушения очага горения. Учреждение Российской академии наук Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН (ИБХФ РАН). № RU 2204547 С1, 2001, опубл. 20.05.2003.
- Варфоломеев С.Д., Ломакин С.М., Горшенев В.Н. и др. Антипирен, способ его получения, способ огнезащитной обработки материалов и способ тушения очага горения. Учреждение Российской академии наук Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН (ИБХФ РАН). № RU 2425069 С2, 2009, опубл. 10.02.2011.
- Гладченко М.А., Гайдамака С.Н., Мурыгина В.П., Варфоломеев С.Д. Оптимизация конверсии отходов аграрно-промышленного комплекса в летучие жирные кислоты в анаэробных условиях. *Вестн. моск. ун-та. сер. 2. Химия*, 2014, 55(4), 241–248. doi: 10.3103/S0027131414040026
- Hooijmans C. M., Veenstra S., Lubberding H. J. Laboratory course process parameters and microbiology. Int. course in anaerobic waste water treatment [Ed. G. Lettinga]. Delft.: Agricultural University, Wageningen (Holland), 1990, 44.
- Гладченко М.А. Разработка биотехнологических способов утилизации отходов виноделия. Дис ... канд. техн. наук. РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва, 2001.
- Kalyuzhnyi S.V, Gladchenko M.A, Starostina E.A., et. al. Integrated biological (anaerobic-aerobic) and physico-chemical treatment of baker's yeast wastewater. *Water Sci. Technol.*, 2005, 52(10–11), 273–280.
- Dubber D., Gray N.F. Replacement of chemical oxygen demand (COD) with total organic carbon (TOC) for monitoring wastewater treatment performance to minimize disposal of toxic analytical waste. *J. Environ. Sci. Health. A. Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.*, 2010, 45(12), 1595–1600. doi: 10.1080/10934529.2010.506116
- Клесов А. А., Рабинович М. Л., Синицин А. П. Ферментативный гидролиз целлюлозы. I. Активность и количественный состав целлюлазных комплексов из различных источников. *Биоорганическая химия*. 1980, 6(8), 1225–1242.

# Anaerobic Conversion of Lignocellulose to Materials for Biofuel Obtaining, Volatile Fatty Acids and Ethanol

M.A. GLADCHENKO\*, S.N. GAYDAMAКА, V.P. MURYGINA, and S.D. VARFOLOMEEV

*Department of Chemical Enzymology, Lomonosov Moscow State University, 119992, Moscow Russia*

\**e-mail: gladmarina@yandex.ru*

Received February 26, 2018

Accepted April 12, 2018

**Abstract**—The processes of oxidative depolymerization and acidic hydrolysis have consistently been used to the pretreatment of lignocellulosic biomass (wheat straw, sawdust and lignin) which permitted to obtain high content of soluble organic compounds in the hydrolysate (44–94 g COM/L) and to enhance the RS concentration from 1% to 36%. The introduction of the *Clostridium acetobutylicum* bacteria in the acidogenic biocatalyst resulted in even greater increase in the content of volatile fatty acids and ethanol in the end product. The maximum among the studied substrates yields of butyric acid and ethanol were observed when the pretreated straw was hydrolyzed (27% (0,82 g/L) and 17,4% (0,44 g/L), respectively). It was shown that the addition of glycerol as a substrate makes it possible to increase the output of butyric and acetic acids as a result of the pretreated biomass conversion; glycerol added to straw up to the ratio of 1:1 enhanced the maximum butyric acid and VFA yields up to 32% (0.96 g/L) and 72% (2.67 g/L), respectively.

*Key words:* straw, sawdust, lignin, oxidative depolymerization, hydrolysis, anaerobic processes, biocatalyst.

**doi:** 10.21519/0234-2758-2018-34-3-42-52