

ЛЕКЦІЯ 8

Тема 7. Виробництво етилового спирту і розчинників

План

1. Виробництво етилового спирту.
2. Використання мікроорганізмів для отримання розчинників.

7.1. Виробництво етилового спирту

Виробництво етанолу – це найбільше біотехнологічне виробництво за витратами сировини в світі. Однак за вартістю продукту займає 3 місце серед крупнотонажних.

Етанол широко використовують у якості розчинника, як сировину для хімічного синтезу, у медицині. Етанол можна застосовувати як екстрагент і антифриз, він є субстратом для виготовлення барвників, мастильних матеріалів, миючих засобів, смол, синтетичних волокон тощо.

Одержання етанолу – одна з найстаріших біотехнологій. Добре вивчена біохімія спиртового бродіння. Енергія субстрату в процесі бродіння розподіляється таким чином: 90 % переходять в етанол і по 5 % у біомасу і тепло.

Спиртове бродіння здійснюють дріжджі-сахароміцети (*Saccharomyces cerevisiae* S. *rosei*), деякі міцеліальні гриби (*Aspergillus oryzae*), бактерії (*Zymomonas mobilis*, *Z. anaerobia*, *Sarcina ventricula*, *Erwinia amylovora*, *Clostridium thermocellum*). Проте в якості продуцентів у спиртовому виробництві використовують тільки дріжджі.

Сировина для виробництва спирту:

- крохмалевмісна сировина – зерно (жита, пшениці, кукурудзи, ячменю, вівса, проса);
- картопля;
- меляса (відходи цукрової промисловості),
- солод, солодове молоко;
- сусло;
- гідролізат деревини.

Існує декілька технологій отримання етанолу. Виробництво спирту включає низку стадій.

1. Спочатку сировину подрібнюють і розварюють з метою розчинення крохмалю. Оскільки крохмаль не зброджується дріжджами (у них відсутня амілаза), розварену масу обробляють амілолітичними ферментами солоду або мікроорганізмів (*Aspergillus niger*, *A. oryzae*, *Bacillus subtilis*, *B. amylolítica*). В останні роки використовують готові ферментні препарати амілаз.

Оцукрена у такий спосіб суміш містить вуглеводи (мальтозу, глюкозу, декстрини). Крім того, у ній є пептиди, амінокислоти, фосфорорганічні сполуки, мінеральні солі, мікроелементи.

2. Наступна стадія – зброджування оцукреної маси. З цією метою використовують чисті культури дріжджів, які вирощують у спеціальних дріжджових відділеннях. Для пригнічення розвитку в них бактерій зброджувальну суміш, охолоджену до 30°C, підкислюють сульфатною водою до pH 3,8-4,0.

Продуценти – дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* раса XII. Добре зброджують фруктозу, сахарозу, мальтозу, дещо слабше рафінозу і галактозу (нагромаджують до 11 % спирту в середовищі).

Вимоги до дріжджів-продуцентів:

- вони повинні мати високу бродильну активність;

- швидко і повністю зброджувати цукри;
- використовувати інші компоненти середовища в анаеробних умовах;
- бути стійкими до продуктів свого обміну (особливо до спирту);
- добре протистояти інфекції.

Одержання етанолу з меляси

Схема двопоточного способу зброджування меляси передбачає приготування окремих середовищ для одержання дріжджів (вміст сухої речовини 8–12 %) і для зброджування (32–36 % сухої речовини).

1. У дріжджогенераторах застосовують аерацію. Об'єм повітря, що подається – 3–4 м³ на годину. Це слабка аерація. Температура в дріжджогенераторах підтримується на рівні 28–30°C, а рН 4,2–4,5. Концентрація етанолу в дріжджогенераторах досягає 2,8–3,5%, дріжджів – 2,5–6,5% сухої речовини.

2. Вирощені дріжджі із дріжджогенератора за верхніми лініями відбору направляють до головного бродильного апарата, куди одночасно надходить поживне середовище з концентрацією сухої речовини 32–36 %.

3. Після заповнення головного апарата культуральна рідина послідовно проходить бродильні апарати і з останнього потрапляє на перегонку. Температура бродіння 29–31°C. Концентрація сухої речовини в першому бродильному апараті 7,5–8,5 %, у другому – 8–9 %, у третьому – 9–9,5 % і в останньому 5–6,5 %. Система працює без поновлення дріжджів 7–10 діб.

3. Перед перегонкою із бражки виділяють хлібопекарські або кормові дріжджі (рис. 7.1).

4. Спирт, отриманий у результаті дріжджового бродіння, містить сивушні масла (пропанол, 2-бутанол, 2-метилпропанол), аміловий та ізоаміловий спирти. Це побічні продукти обміну ізолейцину, лейцину і валіну. Відділити сивушні масла можна тільки шляхом *ректифікації*.

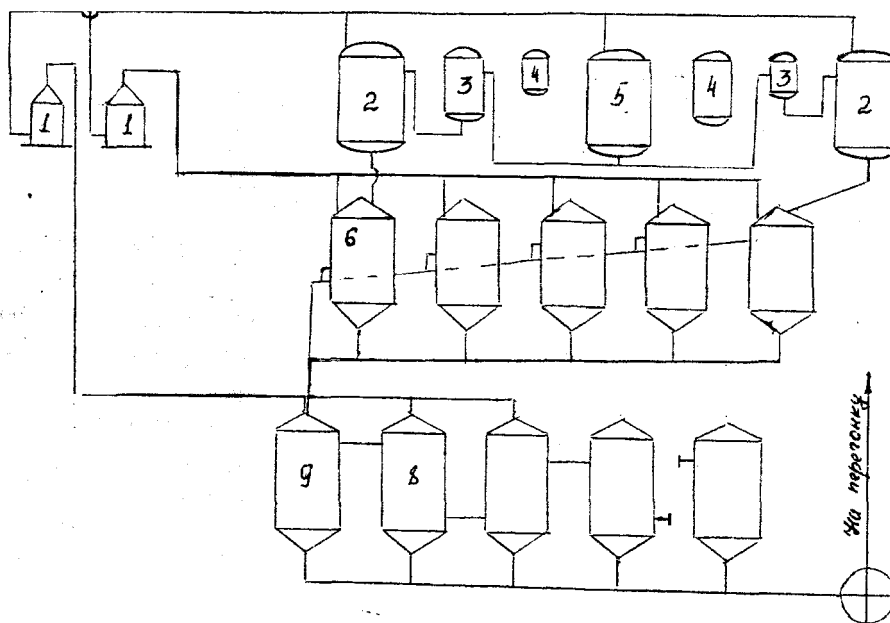


Рисунок 7.1 – Апаратурно-технологічна схема одержання етанолу з меляси: 1 – розсиропники; 2–4 – апарати чистої культури; 5 – стерилізатор; 6 – дріжджегенератор; 7 – насос; 8 – бродильний апарат; 9 – головний бродильний апарат.

Одержання технічного спирту

Технічний спирт одержують на гідролізатах деревини та інших рослинних відходах. Деревина листяних і хвойних порід містить від 40 до 75% полісахаридів. Рослинну сировину гідролізують. Одержаний гідролізат містить 3,5% редуруючи цукрі (переважно глюкозу), целобіозу і манозу, а також пентози – ксилозу, арабінозу, рамнозу. У результаті бродіння утворюється до 1,5% етанолу. Гідролізний спирт (ректифікат) містить до 0,1% метанолу, дещо більшу кількість кислот, складних ефірів, альдегідів.

Відходами целюлозного виробництва є сульфітні гідролізати, які використовують для одержання сульфітного етилового спирту. Гідролізний етанол може містити до 8 % метанолу.

Ямомото (Японія) довів, що одержаний із мікроміцетів роду *Rhizopus* ферментний препарат, володіє амілазною і пектиназною активністю, добре переводить крохмаль з розтертої маси картоплі в етанол. Процес відбувається при pH 4,2 і температурі 25°C. Тут не вимагається розварювати картоплю і оцукрювати масу.

Значний інтерес, як продуценти етанолу, представляють аеротолерантні бактерії *Zymomonas mobilis*. Вони, на відміну від дріжджів, характеризуються низькою чутливістю до етанолу. Крім того, гранична швидкість споживання глюкози і утворення етанолу в 2–3 рази вища. Ця бактерія здатна утилізувати глюкозу, сахарозу. Недолік – повільне зростання біомаси, що знижує продуктивність системи. Значних успіхів при культивуванні *Z. mobilis* для одержання етанолу було досягнуто в Канаді, де в результаті селекції одержані штами, що дають 200 г/л. При одержанні етанолу хімічним шляхом із етилену продуктивність складає 80 г/л.

Сировина при виробництві спирту (зерно, картопля) можуть бути контаміновані мікроорганізмами, які за певних умов можуть мати негативний вплив на якість продукту, а при інтенсивному розвитку перетворити її у непридатну до використання.

На зерні злакових культур міститься велика кількість епіфітної мікрофлори (з ґрунту, повітря, при зборі врожаю, транспортуванні), серед якої є шкідливі для процесу бродіння – аеробні та анаеробні бактерії.

На картоплі – при зберіганні бульб, уражених шкідниками, розвиваються гриби і гнильні бактерії, спори яких термостійкі та здатні проростати в кислому середовищі.

Мікрофлора меляси залежить від особливостей технології цукробурякового виробництва, способів транспортування і її зберігання. У концентрований мелясі (близько 50 % цукру і 76–80 % СР) мікроорганізми перебувають у латентному стані і не розмножуються. При розведенні водою меляса стає сприятливим середовищем для розмноження мікроорганізмів. Це призводить до втрати цукру та відновлення нітратів до нітритів, які пригнічують ріст і розвиток дріжджових клітин.

Солод – це продукт отриманий в результаті пророщування зерна. У період пророщування зерна мікрофлора активізується (загальна кількість збільшується у 10–15 разів). У солоді трапляються плісєневі гриби, дріжджі та бактерії, однак шкідливими для виробництва спирту є лише молочнокислі бактерії.

У **солодовому молоці** найчастіше зустрічаються молочнокислі, оцтовокислі, маслянокислі бактерії, плісєневі гриби.

У **суслі** розвиток шкідливих мікроорганізмів відбувається при зупинці оцукрювання більш як на 2–3 години, дефектах в устаткуванні, їх недосконалому митті та нерегулярній дезінфекції. У таких випадках розвиваються молочнокислі, маслянокислі бактерії та бактерії гниття, дріжджі, іноді плісєневі гриби.

Під час бродіння в суслі утворюється брага, яка також інфікується сторонньою мікрофлорою, ознакою чого є зниження темпу бродіння сусла і збільшення кислотності більше ніж на $0,2^0$, а також наявність плівки. Причиною підвищення кислотності на початкових стадіях бродіння є розвиток бактерій (молочнокислих коків). З часом у бражці починають переважати молочнокислі бактерії, які активно виділяють кислоти і використовують цукри. Леткі кислоти затримують брунькування дріжджових клітин, інактивують ферменти солоду і культур грибів, що сприяє додатковим втратам у вигляді незброджених вуглеводів. Оцтовокислі бактерії, що розвиваються в бродильних апаратах на поверхні бражки вже під кінець бродіння, можуть окислювати до 20–25 % спирту в оцтову кислоту. Іноді трапляються маслянокислі бактерії роду *Clostridium*, які легко гідролізують крохмаль і цукри з утворенням масляної кислоти, яка пригнічує розмноження дріжджових клітин.

7.2. Використання мікроорганізмів для отримання розчинників

Органічні розчинники – **ацетон і бутанол** широко використовуються не тільки в хімічній промисловості, але й в інших областях народного господарства.

Ацетоно-бутилове бродіння є анаеробним процесом і викликається бактеріями *Clostridium acetobutylicum*.

Сировина для ацетоно-бутилового бродіння – м'яса і рослинні гідролізати. Ацетон і бутанол одержують зброджуючи зернові, м'ясно-зернові суміші або м'ясу.

Схема отримання ацетону і бутанолу:

1. Якщо готують із зерна (кукурудзи), борошно грубого помелу спочатку змішують із водою (6-8 кг борошна на 100 л води). Потім суміш варять 2 години під тиском 200 кПа і стерилізують.

2. Охолоджену до $37-42^0$ С масу зброджують протягом 2-х діб при рН 5–7. У процесі бродіння з глюкози утворюється суміш, яка містить 6 частин бутанолу, 1 частину етанолу і 3 частини ацетону. З 3-х кг крохмалю можна одержати 1 кг органічних розчинників.

3. У перший період ацетоно-бутилового бродіння утворюються оцтова і масляна кислоти, водень і CO_2 . Потім масляна кислота відтворюється до бутилового спирту. Ацетон утворюється з ацетоуксусної кислоти при її декарбоксилюванні.

4. Основну ферментацію проводять у періодичному, напівперіодичному і безперервному режимах. Через 12 годин рН з 6,0 знижується до 4,5–4,2. Встановлено, що при низьких значеннях рН активуються ферменти, що каталізують трансформацію ацетоацетил-СоА в ацетон.

5. Після завершення процесу ацетоно-бутилову барду піддають сепаруванню, дистилат наполовину упарюють, після чого ацетон відділяють від етанолу і бутанолу перегонкою при різних температурах. Ацетон кипить при $56,2^{\circ}\text{C}$, етанол – $78,4^{\circ}\text{C}$, чистий бутанол при $117,7^{\circ}\text{C}$.

Ацетон і бутанол широко застосовується в хімічній промисловості. Відходами виробництва є водень і диоксид вуглецю, а також ацетон-бутилова барда. Газу уловлюють і використовують для синтезу аміаку і метанолу. Барду після відділення розчинників концентрують десятиразово у вакуум-випарювальних апаратах і висушують у розпилювальних сушарках. Одержують сухий концентрат, що містить 60-100 мг/л рибофлавіну. Вміст сухих речовин, переважно азотистих, у барді складає 3–5 %, тому її використовують для вирощування кормових дріжджів.

Зараз розроблений метод біосинтезу органічних розчинників на основі синтетичного газу. Реалізований двоступіневий безперервний процес. Спочатку із CO_2 утворюють органічні кислоти за допомогою *Butyribacterium methylotropicum*. Потім кислоти і водень газу перетворюється в бутанол, етанол, ацетон. На першій стадії процес регулюється вимірюванням рН. Він повинен бути в інтервалі 6,5–5,0. При більш низькому

pH утворюється більше бутанолу, ніж ацетону. Одержано мутант, який дає вихід розчинників 22,7 %, концентрація бутанолу в середовищі 13 г/л.

Ацетоно-бутилова брага, крім ацетону, бутилового і етилового спиртів, містить ряд побічних продуктів, для розділення яких застосовують ректифікацію. Основний відхід – барда, містить до 3 % сухих речовин, їх використовують для отримання кормових дріжджів і кормового препарату вітаміну B₁₂.

Питання для самоконтролю:

1. Дайте характеристику основних продуцентів спирту.
2. Яку сировину використовують для виробництва спирту?
3. Охарактеризуйте основні стадії промислового одержання спирту за допомогою дріжджів.
4. Поясніть, що таке технічний спирт? Яка технологія його отримання?
5. Для чого проводять ректифікацію спирту?
6. Назвіть мікроорганізми, що контамінують сировину для виготовлення спирту.
7. Поясніть, за яких умов відбувається мікробіологічний синтез ацетону, бутанолу і масляної кислоти?
8. Назвіть продуцентів, що використовують для отримання розчинників.