

УДК 557.124.23/.24:663.53

Н. С. Ручай, кандидат технических наук, доцент (БГТУ);
И. Н. Кузнецов, аспирант, ассистент (БГТУ);
Д. Н. Ремизевич, студент (БГТУ); **А. И. Лембович**, студент (БГТУ)

НЕПРЕРЫВНОЕ СБРАЖИВАНИЕ СУСЛА В ПРОИЗВОДСТВЕ ЭТАНОЛА ИЗ КРАХМАЛСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ

Предложен метод сбраживания суслу, освобожденного от взвешенных веществ, в аппарате с иммобилизованными клетками дрожжей – продуцентов этанола. В качестве носителя для иммобилизации дрожжевых клеток использован активированный уголь АГ-5, адсорбционная способность которого по сухой массе клеток дрожжей составляет в среднем 60 мг/г.

Воспроизведен непрерывный процесс сбраживания модельного раствора и фугата производственного суслу в лабораторном биореакторе кипящего слоя с иммобилизованными на активированном угле клетками дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

При скорости потока среды $0,21 \text{ ч}^{-1}$ удельная производительность биореактора по сбраживаемым редуцирующим веществам в расчете на 1 г сорбента составила $0,021\text{--}0,026 \text{ г/г}\cdot\text{ч}$ при степени конверсии углеводов 95%.

A method of mash fermentation from suspended substances in apparatus with immobilized yeast cells for producing ethanol proposed. Activated coal AG-5 for immobilization of yeast cells used as a carrier. Adsorption capacity of it on dry weight of yeast cells averages 60 mg/g.

Continuous process of fermentation of model solution and industrial mash without solids was reproduced in the laboratory fluidized bed bioreactor with immobilized cells of *Saccharomyces cerevisiae* on the activated coal.

The specific productivity of bioreactor to fermentable reducing substances per 1 g sorbent has made $0.021\text{--}0.026 \text{ g/g}\cdot\text{h}$ with conversion degree of carbohydrates 95% with flow rate 0.21 h^{-1} .

The basic technological scheme of continuous fermentation of grain mash is developed.

Введение. Наиболее масштабная биотехнологическая отрасль Республики Беларусь – спиртовая промышленность – нуждается в обновлении технологических процессов производства этанола. Прежде всего это касается технологии сбраживания суслу периодическим методом, которая остается практически неизменной более ста лет. Периодический процесс сбраживания суслу имеет ряд недостатков: низкая производительность бродильных аппаратов; большие затраты времени и тепловой энергии на межцикловые операции по подготовке аппарата к работе; нестабильные условия жизнедеятельности и физиологическое состояние популяции дрожжей, изменяющиеся в процессе брожения от начального периода с избытком субстрата до времени его полного исчерпания; сложность борьбы с инфекцией, особенно в начальный период брожения, когда субстрат в избытке, а концентрация дрожжей невысокая; сложность автоматизации процесса. Сбраживание суслу в непрерывно-циклическом режиме в громоздкой батарее из восьми бродильных аппаратов не позволяет избавиться от указанных выше недостатков.

Современный радикальный путь решения проблемы – непрерывное сбраживание суслу в бродильном аппарате с иммобилизованными на носителе или удерживаемыми в аппарате любыми другими методами клетками дрожжей.

Применение наиболее доступных методов иммобилизации дрожжевых клеток на твердых или волокнистых носителях осложнено высокой вязкостью суслу, содержащего взвешенные вещества, которые обладают абразивным действием по отношению к закрепленным на неподвижном носителе клеткам.

В настоящей работе принята концепция сбраживания суслу, освобожденного от взвешенных веществ, в декантерных центрифугах. Цель работы состоит в исследовании процесса и создании технологии непрерывного сбраживания суслу в биореакторе с интенсивным массообменом.

Основная часть. Методы исследований и экспериментальные установки. Объектом исследования являлась биосистема на основе иммобилизованных клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, предназначенная для непрерывного сбраживания зернового суслу с образованием этанола.

В качестве носителя для иммобилизации клеток дрожжей использовали активированный уголь марки АГ-5 с размером частиц $0,25\text{--}0,50 \text{ мм}$.

Эксперименты по определению адсорбционной способности угля АГ-5 по дрожжевым клеткам проводили в качалочных колбах вместимостью 250 мл, содержащих по 1 г высушенного при 105°C до постоянной массы угля и по 50 мл суспензии дрожжей в физиологическом

растворе (0,9% NaCl) с концентрацией клеток по сухой массе 100–500 мг/мл. Колбы помещали на шейкер-инкубатор ES-20 при частоте колебаний платформы 140 мин⁻¹. Продолжительность контакта жидкой и твердой фаз составляла 4 ч при температуре (20 ± 1)°C и величине pH жидкой фазы (4,7 ± 0,2). За это время достигается динамическое равновесие в системе сорбент – дрожжевая суспензия. По окончании процесса уголь отделяли на сетчатом фильтре, высушивали до постоянной массы и рассчитывали прирост массы угля за счет адсорбированных клеток дрожжей. В равновесной с углем суспензии определяли концентрацию абсолютно сухих дрожжей весовым методом и строили изотерму адсорбции дрожжевых клеток на активированном угле.

Процесс сбраживания суслу иммобилизованными на угле АГ-5 дрожжевыми клетками моделировали в биореакторе с кипящим слоем сорбента (рис. 1), представляющем собой колонку внутренним диаметром 26 мм и высотой 250 мм.

Масса сорбента в биореакторе 40 г. Слой сорбента располагается на распределительной решетке. Псевдооживление частиц угля осуществляется циркулирующим через слой сорбента потоком жидкости, создаваемым перистальтическим циркуляционным насосом. Регулируемая подача сбраживаемого суслу в биореактор производится дозирующим перистальтическим насосом. Расширение слоя частиц сорбента на 40% достигается при линейной скорости движения жидкости в биореакторе 6,5 м/ч. Температуру процесса брожения ((30 ± 0,5)°C) поддерживали термостатированием воды, циркулирующей через рубашку биореактора.

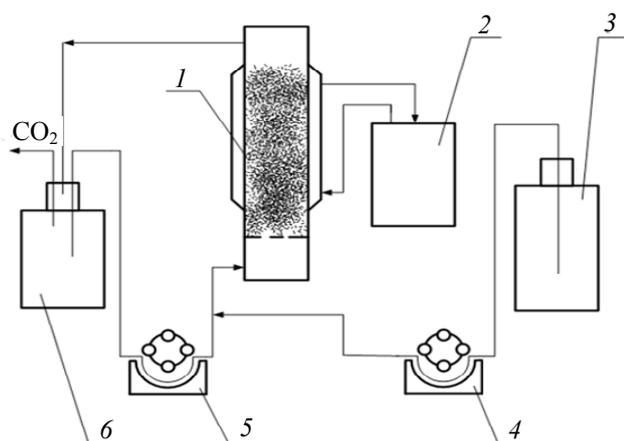


Рис. 1. Схема лабораторной установки для непрерывного сбраживания зернового суслу:

- 1 – биореактор кипящего слоя;
- 2 – термостат жидкостный ТЖ-ТС-01;
- 3 – емкость для сбраживаемого раствора;
- 4 – дозирующий перистальтический насос;
- 5 – циркуляционный перистальтический насос;
- 6 – емкость для сброженного раствора

Для иммобилизации клеток спиртообразующих дрожжей на сорбенте готовили суспензию дрожжей в физиологическом растворе объемом 500 мл, содержащем 1% глюкозы. Дрожжевую суспензию циркулировали через слой сорбента в биореакторе по замкнутому контуру в течение 6 ч, а затем заменяли ее модельным раствором глюкозы или производственным зерновым суслom.

Процесс брожения контролировали по изменению содержания редуцирующих веществ (РВ) в сброженном растворе, концентрации суслу (по сахарометру), используя стандартные методики [1].

Концентрацию этанола в бражке определяли газохроматографическим методом с использованием микронабивной колонки и пламенно-ионизационного детектора. Относительная погрешность определения 4,5%.

Результаты исследований и их обсуждение. Эксперименты показали (рис. 2), что изотерма адсорбции клеток дрожжей на активированном угле АГ-5 относится к изотермам I типа по классификации изотерм сорбции по БЭТ [2, 3], для описания которых используют простое эмпирическое уравнение Фрейндлиха

$$A = K \cdot C^{1/n},$$

где K и n – константы.

Как видно из изотермы, емкость активированного угля АГ-5 по сухой биомассе дрожжевых клеток в условиях проведенного эксперимента составляет 60 мг/г.

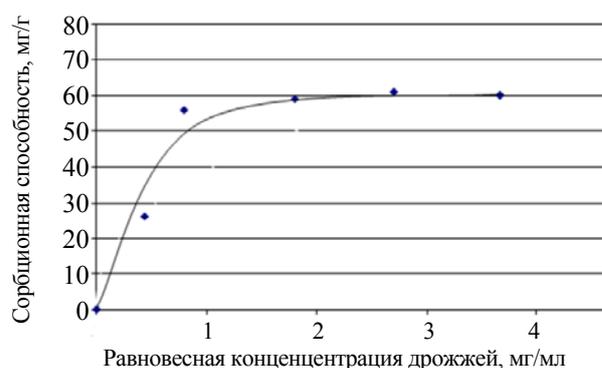


Рис. 2. Изотерма адсорбции клеток дрожжей на активированном угле

На процесс адсорбционного закрепления микробных клеток на носителе может оказывать влияние физиологическое состояние клеток популяции. Для оценки этого влияния провели эксперименты по адсорбции на угле марки БАУ дрожжевых клеток, находящихся в начальной и в логарифмической фазах роста. Эксперименты проводили в двукратном повторении в идентичных условиях по изложенной выше методике определения сорбционной способности угля АГ-5.

Для перевода в логарифмическую фазу роста дрожжи выдерживали в течение 12 ч в среде Ридер, содержащей 20 г/л глюкозы. Сорбцию клеток, находящихся в начальной фазе роста, проводили из физиологического раствора, а клеток, находящихся в логарифмической фазе роста, – из физиологического раствора, содержащего 0,5 г/л глюкозы.

Результаты исследований показали (рис. 3), что в физиологически активном состоянии дрожжевые клетки закрепляются на сорбенте в большем количестве: сорбционная емкость угля возрастает на 20%.

На следующем этапе исследований моделировали непрерывный процесс сбраживания углеводов иммобилизованными на активированном угле АГ-5 дрожжевыми клетками в биореакторе с кипящим слоем сорбента. Эксперименты проводили с использованием модельного раствора (раствор глюкозы) и фугата производственного сусла Бобруйского спиртового завода, полученного центрифугированием при 5000 мин^{-1} в течение 20 мин. В экспериментах процесс брожения осуществляли при одинаковой скорости протока среды через биореактор ($0,21 \text{ ч}^{-1}$) с изменением концентрации углеводов в среде от 2 до 7%. Общая продолжительность непрерывного эксперимента составила 12 сут. В течение этого времени биореактор устойчиво функционировал, обеспечивая высокую скорость сбраживания углеводов (таблица). Удельная производительность биосистемы с иммобилизованными на сорбенте дрожжевыми клетками при степени сбраживания углеводов по РВ 95% составляет 0,02 г РВ на 1 г сорбента в час.

На основании результатов исследований разработана технология непрерывного сбраживания сусла (рис. 4), которая заключается в следующем. После глубокого осахаривания суслу при температуре 58–60°C осветляется в декантерной центрифуге с получением кека и фугата. Кек промывается горячей водой с кратностью промывки по воде (1–2) : 1, обезвоживается шнековым прессом до влажности твердого остатка не более 60% и используется для получения гранулированного сухого корма. Промывная вода направляется на приготовление замеса.

Фугат суслу охлаждается до температуры 26–28°C и подается в биореактор с иммобилизованными клетками дрожжей-продуцентов этанола. Процесс брожения протекает в режиме хемостата, при котором концентрация субстрата в сбраживаемом сусле минимальна, а концентрация этанола высокая, что ограничивает развитие бактериальной инфекции. Переработка бражки, содержащей небольшое количество взвешенных веществ (отмершие клетки дрожжей), облегчает эксплуатацию бражной колонны (реже подвергается чистке) и снижает расход пара на ректификацию бражки.

Заключение. Таким образом, предложена концепция сбраживания суслу, освобожденного от взвешенных веществ, в аппарате с иммобилизованными клетками дрожжей – продуцентов этанола. В качестве носителя для иммобилизации дрожжевых клеток использован активированный уголь.

Определена адсорбционная способность активированного угля АГ-5 и БАУ по сухой массе спиртообразующих дрожжей, которая составляет в среднем 60 мг/г.

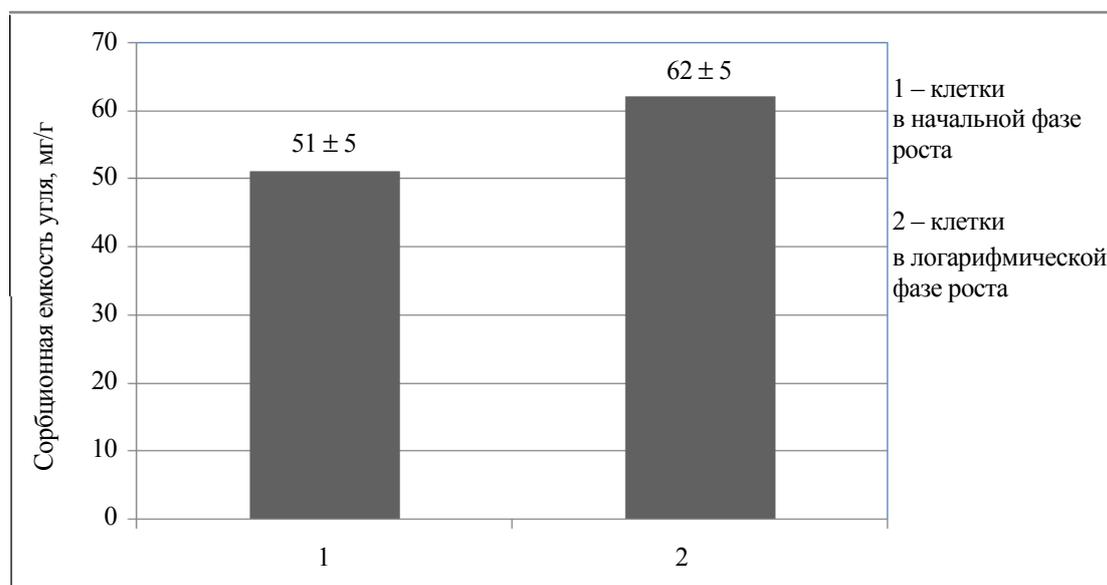


Рис. 3. Влияние физиологического состояния дрожжевых клеток на адсорбционную способность

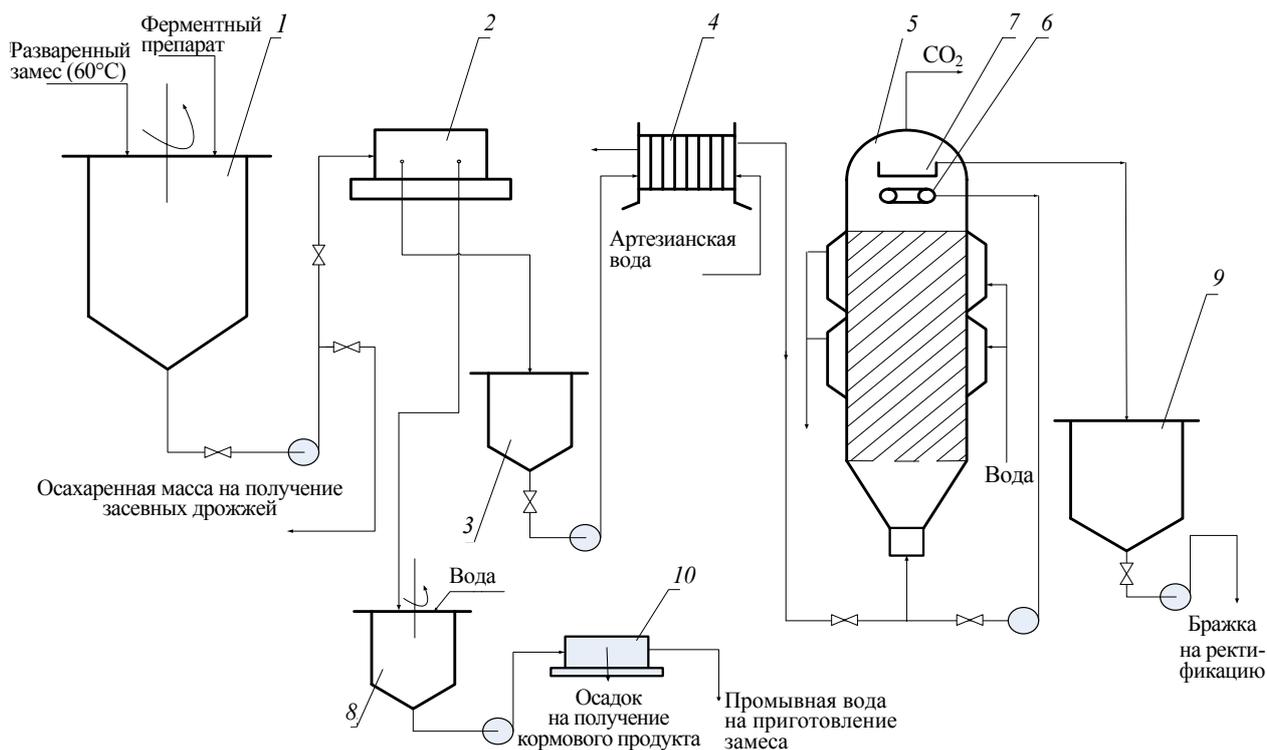


Рис. 4. Технология непрерывного сбраживания сула

1 – осахариватель; 2 – декантерная центрифуга; 3 – приемник фугата; 4 – пластинчатый теплообменник; 5 – биореактор кипящего слоя; 6 – кольцевой лоток; 7 – лоток для отбора бражки; 8 – приемник кека; 9 – приемник бражки; 10 – пресс шнековый

Непрерывное сбраживание углеводов в биореакторе с кипящим слоем сорбента

Расход жидкости на циркуляцию, мл/ч	Линейная скорость движения жидкости в биореакторе, м/ч	Удельная скорость протока среды, ч ⁻¹	Продолжительность процесса брожения в биореакторе, ч	Концентрация РВ, %		Удельная производительность биосистемы по РВ, г/(г·ч)	Концентрация спирта в бражке, %
				в исходной среде	в бражке		
Раствор глюкозы							
3450	6,5	0,21	4,8	2,0	0,01	0,011	0,8
				4,0	0,20	0,021	1,7
				5,0	0,26	0,026	2,2
Фугат производственного сула							
3450	6,5	0,21	4,8	5°Б	0,18	0,026	2,4
				7°Б	1,60	0,035	2,8

Моделирование процесса сбраживания модельного раствора и фугата производственного сула в биореакторе кипящего слоя с иммобилизованными на активированном угле клетками дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* показало, что биосистема обеспечивает высокую скорость конверсии углеводов в этанол и способна к длительному функционированию. В течение непрерывного 12-суточного сбраживания углеводов при скорости протока среды 0,21 ч⁻¹ удельная производительность биореактора по сбраживаемым РВ в расчете на 1 г сорбента составила 0,021–0,026 г/г·ч при степени конверсии углеводов 95%.

Разработана принципиальная технологическая схема непрерывного сбраживания зернового сула.

Литература

1. Емельянова, И. З. Химико-технический контроль гидролизных производств / И. З. Емельянова. – М.: Лесная промышленность, 1976. – 328 с.
2. Смирнов, А. Д. Сорбционная очистка воды / А. Д. Смирнов. – Л.: Химия, 1982. – 168 с.
3. Адсорбция из растворов на поверхностях твердых тел: пер. с англ. / под ред. Г. Парфита, К. Рочестера. – М.: Мир, 1986. – 488 с.

Поступила 07.03.2011