

Учреждение образования
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Н. С. Ручай, О. В. Остроух

ПРОМЫШЛЕННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ

*Электронный курс лекций
для студентов специальности 1-48 02 01 «Биотехнология»*

Минск 2013

УДК 60-7(034.2)
ББК 28.072
Р92

Рассмотрен и рекомендован редакционно-издательским советом университета

Р е ц е н з е н т ы:

кандидат биологических наук,
заведующий отделом промышленных биотехнологий
унитарного предприятия «ЛОТИОС» *К. М. Белявский*;
генеральный директор ООО НПП «Биогазпро» *М. В. Есис*

Ручай, Н. С.

Р92 Промышленная биотехнология : электронный курс лекций для студентов специальности 1-48 02 01 «Биотехнология» / Н. С. Ручай, О. В. Остроух. – Минск : БГТУ, 2013. – 109 с.

Электронный курс лекций посвящен технологическим процессам промышленного производства этанола, биогаза, кормовых и технических препаратов аминокислот и биологическим методам очистки сточных вод. Рассмотрены технологии, применяемые в отечественной практике, а также новые разработки, перспективные для реализации в Республике Беларусь.

УДК 60-7(034.2)
ББК 28.072

© УО «Белорусский государственный
технологический университет», 2013
© Ручай Н. С., Остроух О. В., 2013

ВВЕДЕНИЕ

К промышленной биотехнологии относят производства, базирующиеся на использовании биологических агентов: микроорганизмов, культур клеток и тканей многоклеточных организмов, составных частей клеток, а также ферментов и их комплексов. Биотехнология широко распространена в различных отраслях экономики и затрагивает многие сферы жизнедеятельности человека. В ведущих странах мира биотехнология по капитализации занимает третье место, уступая нефтегазовому и банковскому секторам. Это основной фактор, определяющий макроэкономику отдельных государств и мировую в целом.

В мировом сообществе принята следующая «цветовая» классификация биотехнологии. «Красная» биотехнология связана с производством биофармацевтических препаратов (протеинов, ферментов, моноклональных антител) и обеспечением здоровья человека; «зеленая» биотехнология направлена на создание генетически модифицированных растений и определяет современные методы ведения сельского и лесного хозяйства; «белая» – это промышленная биотехнология, связанная с производством кормовых препаратов аминокислот, ферментов, белка, а также бактериальных удобрений, средств защиты растений, биотоплива, пищевых продуктов и т. д.; «серая» биотехнология ориентирована на природоохранную деятельность: очистку сточных вод и газовоздушных выбросов, биоремедиацию почв и загрязненных акваторий; «синяя» биотехнология направлена на использование морских организмов и сырьевых ресурсов.

В настоящем курсе рассмотрены биотехнологические производства, используемые в отечественной практике, а также новые разработки, перспективные для реализации в Республике Беларусь.

1. ТЕХНОЛОГИЯ АМИНОКИСЛОТ

В состав природных белков (в том числе микробных) входят 20 аминокислот, из которых десять не синтезируются в организме животных и человека и должны поступать с кормами и продуктами питания. К незаменимым аминокислотам относятся лейцин, изолейцин, фенилаланин, валин, метионин, триптофан, треонин, лизин, аргинин, гистидин.

В животноводстве сбалансированность кормов по аминокислотам определяет полноту использования их животными и, следовательно, затраты кормов на единицу продукции.

Добавка к рациону животных незначительных количеств (десятые доли процента) недостающих незаменимых аминокислот приводит к снижению расхода кормов более чем в 2 раза.

Помимо сельского хозяйства, крупным потребителем аминокислот является пищевая промышленность. Незаменимые аминокислоты применяют для обогащения пищевых продуктов. Суточная потребность человека в незаменимых аминокислотах составляет 0,5–2,2 г в зависимости от вида аминокислоты. Многие аминокислоты обладают оригинальным вкусом и являются компонентами сложных композиций, определяющих вкусовые особенности ряда пищевых продуктов. Цистеин и цистин в сочетании с глутаматом натрия используют для имитации запаха и вкуса мяса при создании новых видов пищи. Некоторые аминокислоты и их производные важны для диабетического питания. Например, производные аспарагиновой кислоты в 130 раз слаще сахарозы. Глутамат натрия широко используется как консервант и усилитель вкусовых качеств пищевых продуктов. Аминокислоты находят применение при производстве дезодорантов, антиоксидантов, антиокислителей жиров, пищевых красителей.

Все большее внимание уделяется использованию аминокислот и их производных в фармакологии в качестве лекарственных препаратов для профилактики и лечения различных заболеваний. В последние годы перечень аминокислот, применяемых в фармацевтических целях, значительно расширился (триптофан, глутаминовая кислота, треонин, аргинин, гистидин и др.). Большие перспективы связывают с производством полиаминокислот, на основе которых получают искусственные материалы, аналогичные по внешнему виду коже, шелку, шерсти. Специальная искусственная кожа из аминокислот легко и без вреда

рассасывается в живом организме и используется при лечении ожогов, в хирургии. Для получения полимеров чаще всего применяют глутаминовую кислоту.

Масштабы производства аминокислот в мире оцениваются величиной около 600 тыс. т в год, в том числе глутаминовая кислота – 300 тыс. т, лизин – 100 тыс. т, метионин – более 150 тыс. т. Существуют следующие *способы* промышленного производства аминокислот:

- кислотный, щелочной или ферментативный гидролиз природных белков (белки микробной биомассы, белоксодержащие отходы переработки растений (например, соевый шрот), отходы мясной промышленности (кератиновое сырье), казеин молока и др.);

- химический синтез;

- микробиологический синтез;

- получение аминокислот методом биотрансформации предшественника (химико-энзиматический синтез).

Первый способ пригоден для получения кормовой смеси аминокислот из белоксодержащих отходов. Выделение индивидуальных аминокислот из белковых гидролизатов – весьма сложная и дорогостоящая операция. При щелочном и кислотном гидролизе белков некоторые из аминокислот в значительной степени разрушаются, а протеолитические ферменты не обеспечивают полный гидролиз пептидных связей.

Разработан и реализован в промышленных масштабах химический синтез ряда аминокислот: метионина, глутаминовой кислоты, лизина, триптофана, треонина, глицина и др. Метионин получают из акролеина ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CHO}$), глутамат натрия – из акрилонитрила ($\text{NC}-\text{CH}=\text{CH}_2$), триптофан – из индола и нитроуксусного эфира, лизин – из циклогексанона.

В результате химического синтеза всегда образуются рацематы – равновесные смеси D- и L-форм аминокислоты. Биологически активны L-аминокислоты. Разделение D- и L-форм аминокислот – сложный и (или) дорогостоящий процесс. D-форма в готовом продукте представляет собой балласт, поскольку не усваивается организмом человека и животного, а у некоторых аминокислот она обладает токсичными свойствами. Исключение составляют глицин и метионин. Для первого не существует оптически активных изомеров, а D- и L-формы метионина усваиваются организмом человека и животных в равной степени.

В мировой практике около 60% всего объема производимых аминокислот получают микробиологическим синтезом. Главным преиму-

ществом этого способа является то, что микроорганизмы образуют аминокислоты в биологически активной L-форме. Образование аминокислот в D-форме является редким исключением. Это обстоятельство в значительной степени упрощает выделение и очистку аминокислот и позволяет получать кормовые препараты с низкой себестоимостью.

В ближайшем будущем прямому микробиологическому синтезу составит конкуренцию метод биотрансформации, который обладает рядом *преимуществ*:

1) незначительное количество побочных продуктов в ферментационной среде, что упрощает стадию выделения и очистки целевого продукта;

2) высокая концентрация аминокислот в ферментационной среде;

3) отсутствие жестких требований по стерильности процесса и возможность осуществления его в непрерывном режиме.

Эти факторы обуславливают значительную экономию энергетических ресурсов, снижение себестоимости продукта при производстве чистых аминокислот и более высокий уровень экологической чистоты производства. В качестве примера промышленной реализации биотрансформационного метода можно привести производство L-аспарагиновой кислоты биотрансформацией фумарата аммония с применением аспартазы иммобилизованных клеток *E. coli* (фирма «Танабэ», Япония) или производство L-лизина из циклогексана (фирма «Торэй», Япония).

В отечественной практике наибольшее распространение получил метод прямого микробиологического синтеза аминокислот с использованием ауксотрофных мутантов, способных к сверхсинтезу целевой аминокислоты. Ауксотрофные мутанты получают путем воздействия различных мутагенов (рентгеновское излучение, химические агенты) на исходную культуру микроорганизма с последующей селекцией штамма по заданным признакам. У мутантов появляется дефектный ген, детерминирующий фермент, без которого не может осуществляться биосинтез определенной аминокислоты.

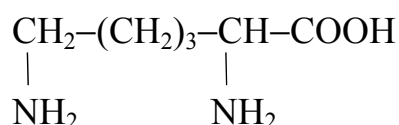
Получение ауксотрофных мутантов, способных к сверхсинтезу аминокислот, возможно только для микроорганизмов, которые имеют разветвленный путь биосинтеза по крайней мере двух аминокислот, образующихся из одного предшественника. Их биосинтез контролируется на уровне первого фермента общего участка ингибированием конечными продуктами. У таких ауксотрофных мутантов избыток одной аминокислоты при дефиците другой не приводит к подавлению активности первого фермента. Аминокислота, биосинтез которой бло-

кирован в результате мутагенного воздействия, должна присутствовать в исходной ферментационной среде в ограниченном количестве.

Технология микробиологического синтеза различных аминокислот имеет много общего. Среди кормовых препаратов аминокислот наибольшее распространение получили препараты на основе лизина.

1.1. Производство препаратов лизина

Лизин (α , ϵ -диаминокапроновая кислота) имеет структурную формулу



В организме животных и человека лизин увеличивает коэффициент использования белка, способствует секреции пищеварительных ферментов, транспорту кальция в клетки.

Существует два принципиально различных пути биосинтеза лизина у микроорганизмов. Грибы, микроводоросли, дрожжи и актиномицеты осуществляют синтез лизина по аминокадипиновому пути из α -кетоглутаровой кислоты через аминокадипиновую кислоту. Регуляция активности ферментов этого пути исследована недостаточно, и среди указанных групп микроорганизмов еще не получены мутанты, способные к сверхпродукции лизина. В клетках бактерий (и в высших растениях) биосинтез лизина начинается с аспарагиновой кислоты и протекает через диаминопимелиновую кислоту (диаминопимелиновый путь).

Аспарагиновая кислота под действием фермента аспартаткиназы превращается в аспартат-3-полуальдегид. От этого важнейшего промежуточного соединения один путь биосинтетических превращений ведет к синтезу лизина, другой – к синтезу гомосерина. Гомосерин является промежуточным продуктом для синтеза треонина и изолейцина, с одной стороны, и метионина – с другой.

При нарушении биосинтеза гомосерина ход реакций превращения аспарагиновой кислоты сдвигается в сторону образования лизина (например, облучение γ -лучами (^{60}Co) приводит к потере способности синтезировать фермент гомосериндегидрогеназу). Регуляция биосинтеза L-лизина у промышленных продуцентов этой аминокислоты осуществляется по первому ферменту – аспартаткиназе. Этот фермент

Ауксотрофные мутанты, продуцирующие лизин, дефицитны по гомосерину. Для обеспечения нормального развития микроорганизмов требуется введение в состав ферментационной среды гомосерина. Результаты исследований показали, что гомосерин может быть заменен совместным присутствием в среде двух аминокислот: треонина и метионина. При этом концентрация треонина в среде должна быть строго регламентирована в связи с тем, что, как указывалось выше, треонин совместно с лизином при их определенном соотношении ингибируют аспараткиназу.

Таким образом, недостаточное количество треонина тормозит рост микроорганизмов, а его избыток снижает продуктивность культуры по лизину. Экспериментальным путем установлено, что концентрация L-треонина в питательной среде для различных мутантов должна находиться в пределах 0,2–0,8 г/л. Метионин также влияет на рост микроорганизмов, но не участвует в процессе регуляции биосинтеза лизина. Оптимальная концентрация его в среде составляет 0,15–0,25 г/л.

На рост и развитие продуцентов лизина оказывают воздействие также и другие аминокислоты, не принимающие прямого участия в процессах, которые протекают при биосинтезе лизина. Для каждого продуцента лизина аминокислотный состав среды уточняется экспериментальным путем. В промышленные среды не добавляются чистые аминокислоты. Их содержание в питательной среде регулируется путем введения богатых аминокислотами отходов различных производств или гидролизатов белоксодержащего сырья: кукурузного экстракта, гидролизатов кормовых дрожжей.

Продуценты лизина являются биотинзависимыми микроорганизмами. Оптимальная концентрация биотина в среде составляет 10–20 мкг/л, что значительно выше концентрации, необходимой для нормального роста и развития микробной клетки (4–5 мкг/л). При низкой концентрации биотина (1–2 мкг/л) уровень продукции лизина снижается в 20–30 раз, и процесс смещается в сторону накопления глутаминовой кислоты (до 30 г/л).

При высокой концентрации в среде биотин обуславливает образование цитоплазматической мембраны, легко проницаемой для основных аминокислот (в частности, лизина) и трудно проницаемой для кислых и нейтральных аминокислот. Это создает благоприятные условия для накопления внеклеточного лизина. Продуценты лизина рода *Brevibacterium* требуют обязательного присутствия в питательной среде витамина В₁ (тиамина). При отсутствии тиамина бактерии плохо развиваются и синтезируют вместо лизина преиму-

щественно α -аланин. В промышленных питательных средах источником биотина и тиамин являются кукурузный экстракт и свекловичная меласса.

Необходимым компонентом питательной среды является источник углерода. Для продуцентов лизина в качестве источников углерода могут быть использованы моно- и дисахариды: глюкоза, сахароза, мальтоза, фруктоза. Практически не усваиваются продуцентами лизина пентозы и лактоза. Максимальный биосинтез лизина достигается на средах с сахарозой. Важное значение имеет концентрация источника углерода в ферментационной среде. С увеличением его концентрации содержание лизина в среде возрастает, но степень потребления источника углерода снижается. Экономически целесообразно проводить ферментацию при концентрации углевода 6–12%. Предпочтительно осуществлять подачу углевода в ферментатор дробно, по мере его потребления микроорганизмами.

В промышленных условиях в качестве источников углеводов используют чаще всего свекловичную мелассу. Выход лизина составляет 25–33% от углеводов мелассы.

Перспективными источниками углерода являются нормальные углеводороды, уксусная кислота, этанол и метанол, этиленгликоль, на которых культивируются специальные виды микроорганизмов. Наибольшее промышленное значение имеет уксусная кислота, которая хорошо ассимилируется применяемыми продуцентами и обеспечивает образование лизина в количестве до 90 г/л. Особенность ацетатных сред состоит в том, что ацетат угнетает биосинтез ферментов ЦТК, и его высокая концентрация в среде снижает лизинообразующую способность микроорганизмов. Максимально допустимая концентрация ацетата в среде не должна превышать 2%. При этом выход лизина составляет 25–27% от потребленного ацетата. При культивировании микроорганизмов-продуцентов лизина осуществляют дробную подачу ацетата в ферментатор. Ацетатная среда требует меньшего количества биотина (до 1 мкг/л).

Для обеспечения нормальной жизнедеятельности продуцентов лизина в составе среды должны присутствовать соединения азота и фосфора. Источником азота могут быть соли аммония или мочевины. Выбор источника азота осуществляется экспериментально для каждого промышленного штамма. Например, для *Brevibacterium flavum* 22L максимальный выход лизина наблюдается при использовании NH_4Cl или $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ в количестве 1,5–2,0%. Высокий уровень

биосинтеза лизина обеспечивает применение полностью ассимилируемого источника азота – мочевины. Для каждой культуры выдерживается определенное соотношение углерод : азот (для *Corynebacterium glutamicum* 95 C : N = 11 : 1). Недостаток азота приводит к снижению выхода лизина, а избыток его изменяет направление биосинтеза в сторону накопления аланина.

Источником фосфора являются калиевые соли фосфорной кислоты (дигидрофосфат в большей степени, чем гидрофосфат калия). Содержание соединений фосфора в среде строго регламентируется (0,08–0,20%), в связи с чем нельзя использовать фосфорнокислый аммоний в качестве источника азота.

Потребность продуцентов лизина в макро- и микроэлементах (Mg, Fe, Cu, Mn и др.) удовлетворяется за счет таковых, которые содержатся в достаточном количестве в кукурузном экстракте и мелассе. При необходимости (для ацетатных сред) эти элементы вводят в питательную среду, как правило, в виде сульфатов.

Существенное влияние на биосинтез лизина оказывают условия культивирования продуцентов: pH среды, длительность и температура ферментации, степень аэрации среды, возраст и доза посевного материала.

Продуценты лизина относятся к мезофильным микроорганизмам, имеющим оптимальную температуру роста и биосинтеза 28–33°C. Понижение температуры резко увеличивает продолжительность биосинтеза (при практически неизменном выходе), повышение температуры снижает выход лизина и приводит к автолизу культуры.

Оптимальное значение pH среды различается по отдельным стадиям культивирования: 6,8–7,2 для накопления биомассы, 7,6–8,2 для биосинтеза лизина, а также при использовании различных источников углерода и азота. Применяемые в отечественной промышленности продуценты обеспечивают наилучшие результаты по биосинтезу лизина при pH среды 7,0–7,6.

Биосинтез лизина связан с высокой активностью дегидрогеназных ферментов цикла трикарбоновых кислот и глиоксилатного цикла и по этой причине требует интенсивной аэрации среды. Недостаточная аэрация приводит к снижению выхода лизина и усилению образования аланина. Чрезмерно интенсивная аэрация приводит к росту культуры в ущерб выходу лизина. Аэрирующие устройства в ферментаторах должны быть рассчитаны на подачу такого количества воздуха, чтобы величина парциального давления кислорода в период макси-

мального роста культуры (примерно через 16–20 ч) не падала ниже 20–30% от полного насыщения.

Посевной материал обычно используется в возрасте 16–24 ч и имеет титр $(2-4) \cdot 10^9$ клеток на 1 мл. Доза посевного материала, как правило, составляет 5–8% от объема засеваемой среды.

Очень важное значение имеет устойчивость культуры к поражению фагами. В производственных условиях целесообразно использовать фагоустойчивые культуры. На территории заводов, производящих лизин, выделено более 50 различных фагов, способных подвергнуть лизису клетки продуцентов лизина. Все выделенные фаги поражают клетки бактерий рода *Brevibacterium*. Продуценты лизина рода *Corynebacterium* отличаются фагоустойчивостью, но менее продуктивны по лизину.

При культивировании продуцентов лизина накопление биомассы и синтез лизина не совпадают по времени (рис. 1.1). Первая стадия – наращивание биомассы продуцента – длится 12–20 ч. В этот период клетки интенсивно потребляют из среды треонин и метионин. Когда содержание треонина в среде становится незначительным, синтез биомассы прекращается и клетки начинают синтезировать лизин. Характерным признаком начала биосинтеза лизина является почти полное потребление из среды треонина.

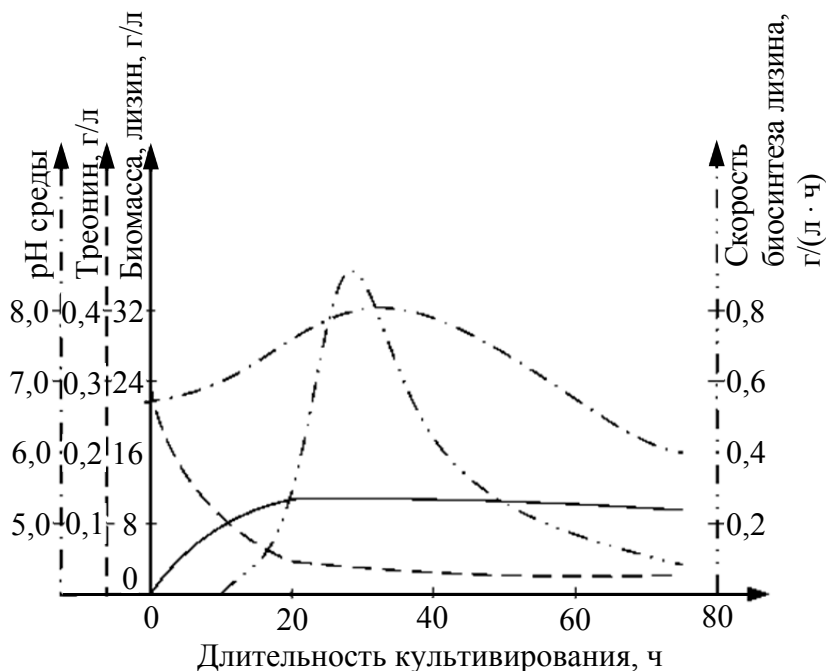


Рис. 1.1. Динамика развития продуцента и изменения состава питательной среды при культивировании *Corynebacterium glutamicum* 95

Синтез лизина осуществляется с 12–20 ч от начала процесса культивирования до 60–72 ч. В период накопления биомассы клетки продуцента имеют крупный размер. Со времени начала образования лизина клетки сильно уменьшаются в размерах. Наибольшая скорость биосинтеза лизина наблюдается на 20–30-м часу роста и достигает 0,8–1,0 г/(л · ч).

Вторая стадия ферментации характеризуется уменьшением количества биомассы продуцента за счет частичного автолиза клеток.

При периодическом культивировании продуцента концентрация лизина в культуральной жидкости составляет 40–48 г/л при содержании биомассы 10–15 г/л по сухому веществу. Содержание лизина в культуральной жидкости можно значительно повысить, если по мере истощения среды вводить в ферментатор небольшие порции свежей питательной среды (дробная подпитка). Подпитка активизирует биосинтетическую деятельность продуцентов лизина, и концентрация его в культуральной жидкости может достигать 60 г/л.

На основе культуральной жидкости получают кормовые препараты лизина с различным содержанием целевого компонента: жидкий концентрат лизина – ЖКЛ (7–8% лизина); сухой кормовой концентрат лизина – ККЛ (7–10%); кормовой кристаллический лизин (70–72%); высококонцентрированный кормовой кристаллический лизин (92–95%). Для кормовых целей целесообразнее получать технические препараты ЖКЛ и ККЛ, так как они содержат помимо лизина значительное количество других очень важных для животного организма соединений, в частности витамины: рибофлавин, пантотеновую кислоту, фолиевую кислоту, никотинамид и др.

Технические препараты лизина получают на основе всей суммы веществ, присутствующих в культуральной жидкости, включая биомассу продуцента и твердые нерастворимые частицы среды. Поскольку культуральная жидкость имеет сравнительно низкое содержание сухих веществ (10–14%) и не обладает стабильностью при хранении, необходимо увеличить концентрацию сухих веществ.

Технология производства ЖКЛ основана на упаривании культуральной жидкости в 3–4-корпусной вакуум-выпарной установке со стекающей пленкой до содержания сухих веществ 40–45%. При длительном нагревании имеют место существенные потери лизина, связанные с окислением и конденсацией аминокрупп лизина с редуцирующими веществами (углеводами). Эти процессы приводят к образованию окрашенных продуктов – меланоидинов.

Поэтому исходную культуральную жидкость предварительно стабилизируют 25%-ным раствором бисульфита натрия (0,4% от объема культуральной жидкости), который блокирует альдегидные группы углеводов, и подкисляют соляной кислотой до pH 4,5–5,0. Образующийся при этом монохлоргидрат лизина более устойчив к термическому воздействию. ЖКЛ сохраняет свое качество без изменения в течение 3 мес. Считается, что он обладает большей биологической ценностью, чем сухой ККЛ.

Сухой препарат ККЛ получают высушиванием ЖКЛ (рис. 1.2). Распылительная сушка для этих целей непригодна из-за больших отложений продукта на внутренней поверхности сушилки, его высокой гигроскопичности и слеживаемости. Эти недостатки устраняются введением в упаренную культуральную жидкость наполнителя – пшеничных отрубей в соотношении 1 : 1 по массе. Смесь имеет влажность 30–35% и легко гранулируется. Гранулы высушивают в сушилке кипящего слоя при низких потерях лизина (0,8–1,5%). Продукт негигроскопичен, имеет срок годности 6 мес.

Жидкий концентрат лизина подается в шнек-смеситель с температурой 70–85°C для лучшего насыщения наполнителя. Отруби поступают в смеситель из бункера через дозатор. Продолжительность перемешивания около 2 мин. Из гранулятора смесь продавливается через фильтры в камеру сушилки кипящего слоя. Образующиеся гранулы отрываются от гранулятора потоком горячего воздуха и подсушиваются, что предотвращает их слипание. В кипящем слое гранулы быстро высыхают и пневмотранспортом направляются в бункер. Отработанный воздух очищается в циклоне. Производительность сушилки – 2 т/ч по сухим гранулам.

Сушилки с кипящим слоем обеспечивают удельный влагосъем в 2–3 раза выше, чем распылительные и в 4–5 раз выше в сравнении с ленточными.

Гранулы, содержащие 8–10% влаги, измельчают в дробилке до порошкообразного состояния и затем упаковывают в полиэтиленовые мешки, которые герметизируют и дополнительно упаковывают в крафт-мешки. Полученный таким методом препарат (порошок коричневого цвета) негигроскопичен.

Сухой ККЛ может отправляться потребителю россыпью крытым железнодорожным или автомобильным транспортом.

Данный препарат должен содержать монохлоргидрат лизина в пересчете на сухое вещество не менее 7% при влажности не более 10%.

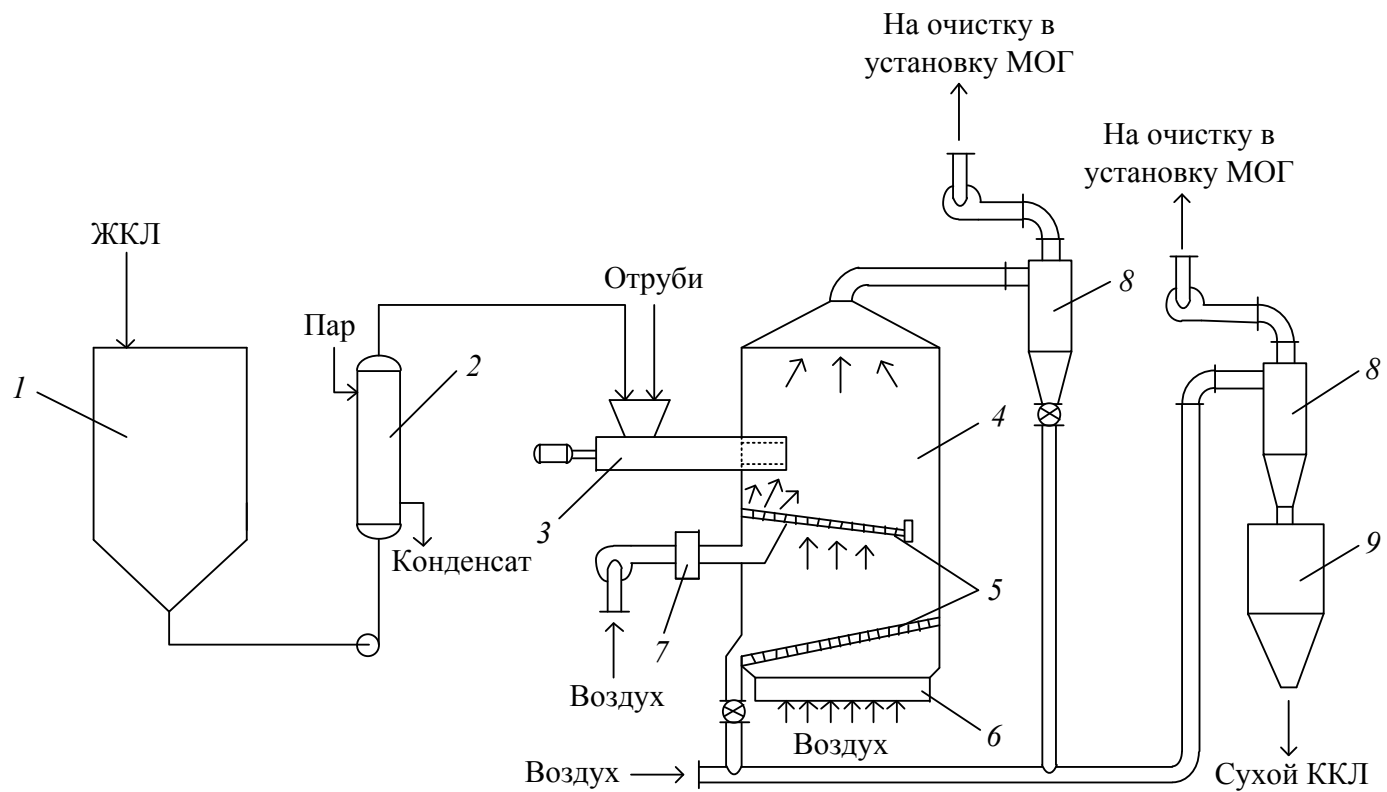


Рис. 1.2. Схема получения кормового концентрата лизина:
 1 – сборник ЖКЛ; 2 – подогреватель; 3 – гранулятор; 4 – сушилка кипящего слоя; 5 – сетки; 6 – основной калорифер;
 7 – дополнительный калорифер; 8 – циклон; 9 – бункер-охладитель

Кристаллические препараты получают ионообменным выделением лизина из культуральной жидкости на сульфокатионите КУ 2-8 в NH_4^+ -форме. Сорбционная емкость катионита около 100 кг лизина на 1 м^3 влажного ионита. Эффективная сорбция лизина на катионите обеспечивается предварительным переводом молекулы в форму двухзарядного катиона за счет подкисления культуральной жидкости серной кислотой до рН 1,6–2,0.

Ионообменное выделение лизина (рис. 1.3) осуществляют без предварительного удаления биомассы продуцента из культуральной жидкости с последующей промывкой катионита теплой водой и использованием промывной воды, содержащей клеточную массу, для производства побочного продукта – аминокислоты. Элюируют лизин 3–5%-ным раствором аммиака, элюат упаривают под вакуумом до 40–45% сухих веществ, подкисляют соляной кислотой до рН 4,5–5,0 для перевода лизина в форму монохлоргидрата. Концентрат сушат в распылительной сушилке в мягких условиях. Кормовой кристаллический лизин содержит не менее 70% основного вещества.

Цикл (процесс) ионообменного выделения лизина из культуральной жидкости (КЖ) складывается из следующих *операций*:

- сорбция лизина на катионите КУ 2-8;
- вытеснение КЖ и промывка катионита;
- десорбция лизина со смолы КУ 2-8 элюентом;
- промывка смолы после десорбции.

С целью сокращения расхода воды и количества стоков предусматривается повторное использование промывных растворов.

Подготовка катионита к работе. Катионит КУ 2-8 – сильнокислотный сульфополистирольный катионит. Термостойкость 120–140°C. Представляет собой сферические зерна от желтого до коричневого цвета размером 0,315–1,250 мм. Эффективный размер зерен – 0,4–0,6 мм.

Исходную смолу выдерживают в 20–25%-ном растворе NaCl в течение суток и в виде водной суспензии подают в ионообменную колонну. После заполнения колонны смолой ее отмывают от мелких фракций подачей водопроводной воды снизу вверх. Для полного удаления пузырьков воздуха из смолы скорость подачи воды изменяют (чередуют) от наименьшей (1 об./об. смолы в час) до предельной (2 об./об. смолы в час). Процесс ведут до полной отмывки мелкой фракции (контролируют унос смолы в пробах промывных вод).

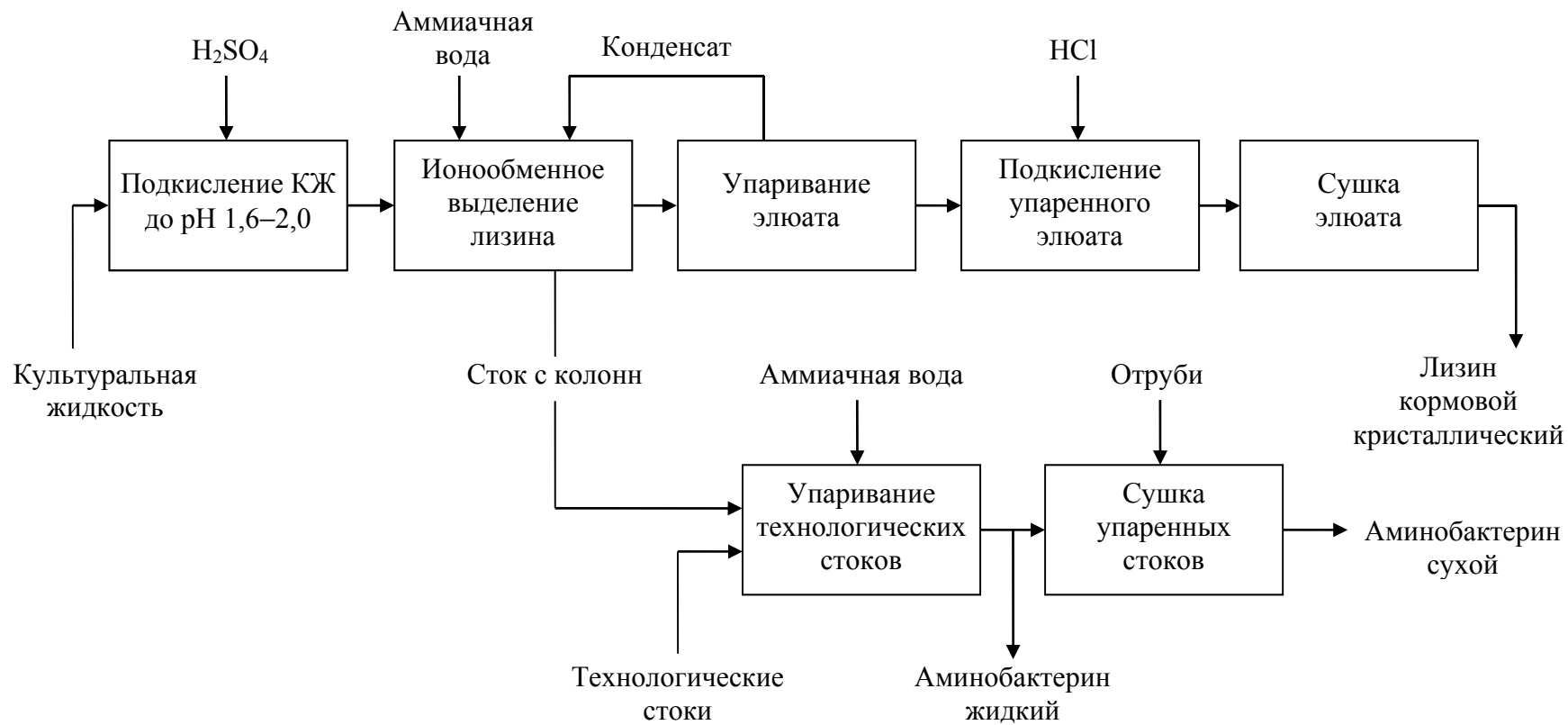


Рис. 1.3. Схема получения кормового кристаллического лизина

После окончания фракционирования смолу обрабатывают 5%-ным раствором HCl с целью удаления мономеров, ионов железа и других примесей. Для этого из колонны сливают воду, снизу подают 5%-ный раствор HCl до верхнего уровня смолы и выдерживают на протяжении 5 ч. После выдержки смолу отмывают от ионов Cl⁻ водопроводной водой. Отмывку заканчивают при pH 4–5. Для перевода смолы в рабочую NH₄⁺-форму в колонну подают сверху вниз 1%-ный раствор аммиака со скоростью 0,5 об./об. смолы в час. Обработку ведут до равенства концентрации аммиака на входе и выходе из колонны. Затем смолу промывают водопроводной водой до pH 8,5 в направлении снизу вверх. Аналогично проводится регенерация смолы, которую выполняют после каждых 120–180 циклов работы. Смолу до замены регенерируют 1–3 раза.

Подкисление КЖ перед ионным обменом. Культуральную жидкость подкисляют в стальном гуммированном аппарате концентрированной серной кислотой до величины pH 1,6–2,0. Серная кислота подается в количестве 20–30 л на 1 м³ КЖ со скоростью не более 15 л/мин. При сильном вспенивании добавление кислоты замедляют.

При pH 1,6–2,0 лизин находится главным образом в виде двухвалентного катиона, что способствует более полной его сорбции на катионите КУ 2-8 в NH₄⁺-форме (рис. 1.4).

При pH < 9,7 молекула лизина заряжена положительно. В интервале 4 < pH < 7 суммарный заряд молекулы равен +1. При дальнейшем уменьшении pH величина заряда возрастает, достигая +2 при pH ≤ 1.

С увеличением pH раствора выше определенного значения лизин десорбируется с ионообменной смолы (комплекс «ионит-лизин» обратимо диссоциирует вследствие ионизации карбоксильной группы лизина и конкурентной сорбции других катионов).

Сорбция лизина на катионите. В начале процесса сорбции производится извлечение лизина из обедненной КЖ (КЖ с «проскоком» лизина), полученной при извлечении лизина из КЖ в предыдущем цикле. Применяют ионообменные колонны объемом 25 м³, вмещающие 20 м³ смолы с емкостью по лизину 100 кг/м³. Обедненная КЖ (20 м³) подается на колонну снизу вверх со скоростью 1 об./об. смолы в час. Вытесняемый из межгранулярного пространства катионита раствор (0,5 объема смолы, ~10 м³) направляют в сборник промывного раствора. Последующий сток отработанной КЖ поступает в нейтрализатор.

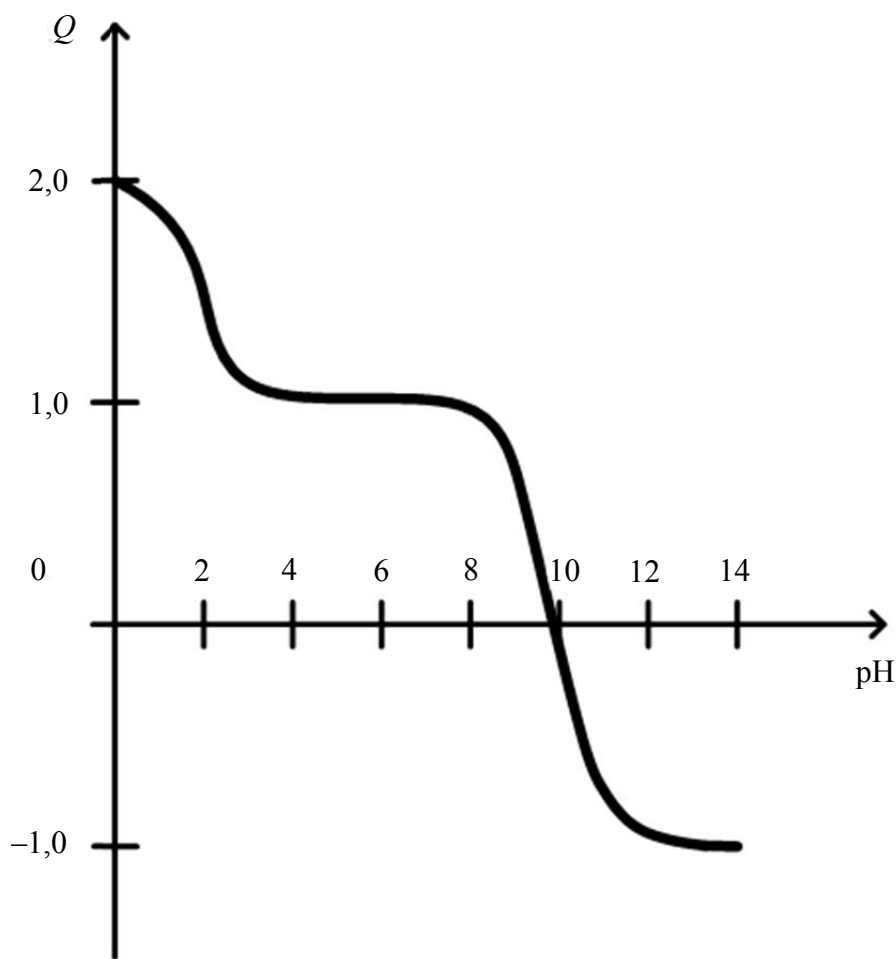


Рис. 1.4. Зависимость величины заряда от значения рН

По окончании подачи КЖ с «проскоком» лизина в колонну подают культуральную жидкость в направлении снизу вверх со скоростью 1 об./об. смолы в час. Выходящая из колонны жидкость с содержанием лизина не более 0,5 г/л направляется на нейтрализацию. При насыщении катионита лизином начинается «проскок» лизина – резкое повышение его концентрации в выходящем из колонны потоке. Жидкость с «проскоком» лизина (10 м³) собирается в сборник обедненной КЖ, откуда подается для исчерпывающей сорбции лизина до концентрации менее 0,5 г/л.

Вытеснение КЖ и промывка катионита. По окончании процесса сорбции КЖ вытесняется из колонны со скоростью 1 об./об. смолы в час промывным раствором (30 м³ на операцию). Начальный сток колонны – вытесненная из межгранулярного пространства КЖ с «проскоком» лизина в количестве 0,5 объема смолы (10 м³) – направляется в сборник с обедненной КЖ. Последующий сток поступает в нейтрализатор.

При сорбции лизина из КЖ, содержащей биомассу, катионит отмывают от биомассы дополнительно конденсатом вакуум-выпарных установок (ВВУ) или горячей (50–55°C) водой в количестве 10 м³ на операцию со скоростью 1 об./об. смолы в час. Сток направляют в нейтрализатор.

Десорбция лизина элюентом. Десорбция производится 3–5%-ным раствором аммиака. Элюент подают в направлении снизу вверх со скоростью 0,4 об./об. смолы в час (8 м³/ч). Общее количество элюента, необходимое для полного извлечения лизина в одном цикле, составляет 2 объема смолы (40 м³).

Первую порцию выходящей из колонны жидкости в количестве 10 м³ направляют в сборник промывного раствора. После этого собирают богатую фракцию элюата (1 объем смолы, 20 м³) с концентрацией лизина 90–100 г/л, которая поступает на упаривание. Последующий сток – бедную фракцию элюата (0,5 объема смолы, 10 м³) – направляют в сборник для приготовления элюента. Последующий сток (10 м³) поступает в сборник промывного раствора.

Упаривание элюата. Перед упариванием из элюата отгоняют аммиак на роторно-пленочном испарителе в следующем режиме: подача элюата – 15–25 м³/ч, температура кипения в аппарате – 45–60°C, давление – 0,08–0,09 МПа.

Пары конденсируются в конденсаторе. Содержащий аммиак конденсат направляется в емкость для приготовления элюента. Элюат после отгонки основного количества аммиака (остаточное содержание аммиака не более 0,5%) поступает на упаривание в ВВУ с ниспадающей пленкой до содержания сухих веществ 45–50%. Конденсат вторичного пара используется для приготовления элюента.

Подкисление упаренного элюата. Упаренный элюат подкисляют до pH 4,0–4,2 концентрированной соляной кислотой (300–400 л 27,5%-ной HCl на 1 м³ упаренного элюата) при перемешивании. Подкисленный упаренный элюат передается на сушку. Аппарат для подкисления элюата покрыт кислотостойкой эмалью.

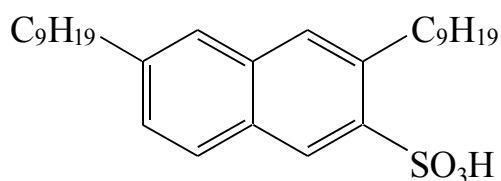
Сушка упаренного элюата. Подкисленный упаренный элюат сушат в распылительной сушилке при температуре теплоносителя на входе в сушилку 105–110°C, на выходе из сушилки – 80–85°C (температура в топке – 700–720°C).

Перед расфасовкой крупные фракции кристаллического лизина отсеивают на сите и измельчают на дробилке тонкого помола до размера частиц 100–150 мкм.

Нейтрализация стока. Сток ионообменных колонн в смеси с другими технологическими стоками нейтрализуют в нейтрализаторе

аммиачной водой до pH 4,0–4,5 и направляют на упаривание с целью получения аминокислоты. При одновременном получении ККЛ и кристаллического лизина возможно упаривание нейтрализованного стока в смеси с КЖ при условии получения ККЛ с содержанием лизина не менее 7%.

Разработана **технология ионообменно-экстракционного выделения лизина** из культуральной жидкости, предусматривающая использование жидкого катионита – сульфэкса, который представляет собой раствор смеси полинонилнафталинсульфокислот в алифатических углеводородах (например, в октане). Доминирующим компонентом смеси является динонилнафталинсульфокислота



Для извлечения аминокислоты культуральную жидкость, освобожденную от биомассы продуцента, смешивают с экстрагентом и выдерживают в смесителе в течение 3–4 мин, затем эмульсию разделяют на органическую и водную фазы в экстракторе-сепараторе. Реэкстракцию аминокислоты из органической фазы осуществляют 15–17%-ным раствором NH_4OH с последующим разделением фаз в экстракторе-сепараторе. Применение жидких катионитов для извлечения аминокислот из культуральной жидкости имеет ряд *преимуществ*:

- 1) малое количество катионита (в 10–20 раз меньше, чем твердого);
- 2) высокая скорость процессов экстракции и реэкстракции (время контакта с жидким катионитом до 10 мин, с твердым – около 12 ч);
- 3) жидкие катиониты менее подвержены «отравлению» и не теряют своей активности на протяжении 200 рабочих циклов.

Высококонцентрированные кристаллические препараты лизина (рис. 1.5) также получают на основе элюата, который после упаривания и подкисления соляной кислотой подвергают кристаллизации при температуре 10–12°C и pH 4,5–5,0. Высушенные кристаллы содержат 92–95% лизина монохлоргидрата.

Для получения высокоочищенного препарата кристаллы растворяют в воде, раствор обрабатывают активированным углем для удаления красящих веществ, упаривают под вакуумом и кристаллизуют лизин из водно-спиртового раствора. Этиловый спирт добавляют к концентрату в соотношении 3 : 1 по объему.

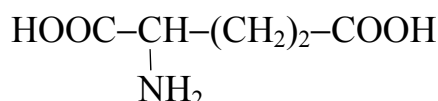


Рис. 1.5. Схема получения высокоочищенного кристаллического лизина

Кристаллы промывают деионизированной водой и сушат под вакуумом при температуре до 60°C. Продукт содержит 97–98% монохлоргидрата лизина. Выход лизина на стадии выделения его из культуральной жидкости составляет 75%.

1.2. Производство глутаминовой кислоты

Глутаминовая кислота (α -аминоглутаровая кислота) имеет следующую структурную формулу:

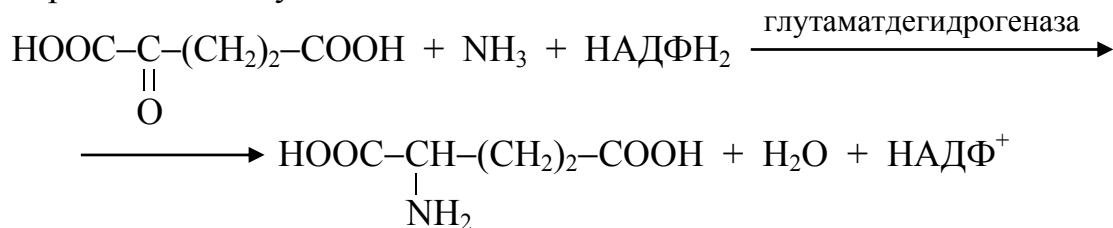


Глутаминовая кислота не является незаменимой, однако она находит широкое применение в различных областях промышленности. В наибольших масштабах глутаминовую кислоту в виде глутамата натрия используют в пищевой промышленности как усилитель вкусовых качеств пищевых продуктов и консервант. Приоритет в производстве этой аминокислоты, бесспорно, принадлежит Японии. Крупнейшим производителем глутамата натрия является фирма «Адзиномото».

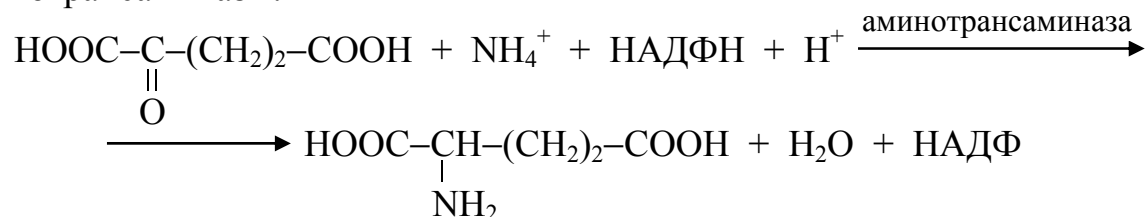
Для биосинтеза глутаминовой кислоты используют культуры *Corynebacterium glutamicum* ВНИИгенетика-490, *Corynebacterium glutamicum* 541P, *Brevibacterium species* 22.

Глутаминовая кислота может образовываться микроорганизмами двумя путями:

– восстановительным аминированием α -кетоглутаровой кислоты с образованием глутаминовой кислоты:



– переаминированием α -кетоглутаровой кислоты с участием свободных аминокислот микробной клетки в присутствии фермента аминотрансминазы:



В том и другом случае предшественником глутаминовой кислоты является α -кетоглутаровая кислота, содержание которой пополняется за счет реакций, протекающих в цикле трикарбоновых кислот. Для интенсивного синтеза глутаминовой кислоты необходимо иметь мутантный штамм микроорганизма с нарушенной ферментативной системой превращения α -кетоглутаровой кислоты в янтарную кислоту (нарушено образование α -кетоглутаратдегидрогеназы).

В отличие от биосинтеза лизина концентрация биотина в среде в процессе биосинтеза глутаминовой кислоты не должна превышать 2–5 мкг/л. В противном случае интенсивно накапливаются другие аминокислоты (аланин, аспарагин, лизин, а также янтарная кислота). С увеличением концентрации биотина возрастает синтез биомассы и снижается уровень накопления глутаминовой кислоты. Максимум образования биомассы не совпадает с максимумом биосинтеза глутаминовой кислоты, так как потребность этих процессов в биотине различна. Некоторые антибиотики (пенициллин, тетрациклин) снимают тормозящее действие избытка биотина.

Например, биосинтетическая способность штамма *Brevibacterium species 22*, применяемого в производстве лизина, может быть переключена с лизина на глутаминовую кислоту путем добавления в обычную кукурузно-мелассную среду небольших количеств пенициллина (2–4 ед./мл среды), который изменяет проницаемость плазмалеммы клетки. Штамм *Corynebacterium glutamicum* ВНИИгенетика-3144 способен синтезировать глутаминовую кислоту на средах, содержащих до 40 мкг/л биотина, что в 8–10 раз превышает концентрацию биотина для известных продуцентов (1–5 мкг/л).

Основным источником углерода для получения глутаминовой кислоты является сахароза, глюкоза, свекловичная меласса, гидролизат крахмала. В качестве источника азота чаще всего используют мочевины в количестве 1,5–2,0%. В питательную среду также вносят биостимуляторы, например кукурузный экстракт, дрожжевой экстракт. Недостаток азота в среде приводит к снижению концентрации глутаминовой кислоты и накоплению в среде повышенных количеств α -кетоглутаровой кислоты.

При культивировании штамма *Corynebacterium glutamicum* 541P используется среда, состав которой приведен в таблице.

Состав питательной среды для культивирования штамма *Corynebacterium glutamicum* 541P

Компоненты среды	Среда для получения посевного материала, %	Среда для ферментации, %
Сахароза	5,0	8,5–10,0
Меласса	1,5	1,2

Компоненты среды	Среда для получения посевного материала, %	Среда для ферментации, %
Мочевина	1,0	0,5
K ₂ HPO ₄	0,1	0,1
KH ₂ PO ₄	0,1	0,1
ZnSO ₄	–	0,1
MgSO ₄	0,1	0,1

Температура культивирования продуцентов 28–30°C, величина рН среды 6,8–7,5. Производственное культивирование длится 48 ч при интенсивной аэрации среды (50–60 м³/(м³ · ч)). Уровень накопления глутаминовой кислоты в культуральной жидкости составляет 50–55 г/л.

Получение технической глутаминовой кислоты или глутамата натрия осуществляют по следующей схеме (рис. 1.6).

Для осаждения биомассы продуцента КЖ нагревают глухим паром до температуры 35–40°C, добавляют известковое молоко (15–20% СаО) в количестве 0,75–1,0% от массы КЖ (в пересчете на СаО) и перемешивают 10–12 мин. Вводят концентрированную ортофосфорную кислоту (75%) до величины рН 6,5–7,0 (~1 л на 100 л суспензии). Реакция сопровождается выделением тепла и разогревом жидкости. Жидкость нагревают до 60–65°C, перемешивают и подают на фильтрование. Гидроокись кальция вызывает коагуляцию микробных клеток и белковых веществ, содержащихся в КЖ. Ортофосфорная кислота нейтрализует Са(ОН)₂ с образованием малорастворимых фосфатов кальция в виде поверхностно-активного геля, который адсорбирует высокомолекулярные органические соединения, пигменты и одновременно увлекает в осадок микробные клетки. Осадок отделяют фильтрованием и используют как кормовой препарат. Количество влажного осадка – 200–300 кг/м³ КЖ.

Фильтрат подкисляют до величины рН 4,5–5,0 для эффективного удаления окрашенных соединений сорбцией на ионите ИА-1. На 1 объем сорбента подают не более 5 объемов осветляемого раствора. Регенерацию ионита проводят щелочью, затем промывают водой. Осветленный раствор упаривают в вакуум-выпарных аппаратах при температуре 60–70°C до содержания сухих веществ 45–50%. Упаренный раствор охлаждают до 50°C, подкисляют соляной кислотой до рН 4,0–4,5 с одновременным внесением затравки в виде кристаллов глутаминовой кислоты в количестве 0,5–1,0% от массы аминокислоты в растворе.

Затем раствор подкисляют до рН 3,2–3,5 (изоэлектрическая точка), охлаждают до температуры 5–10°C и кристаллизуют в течение 30–48 ч при периодическом перемешивании.

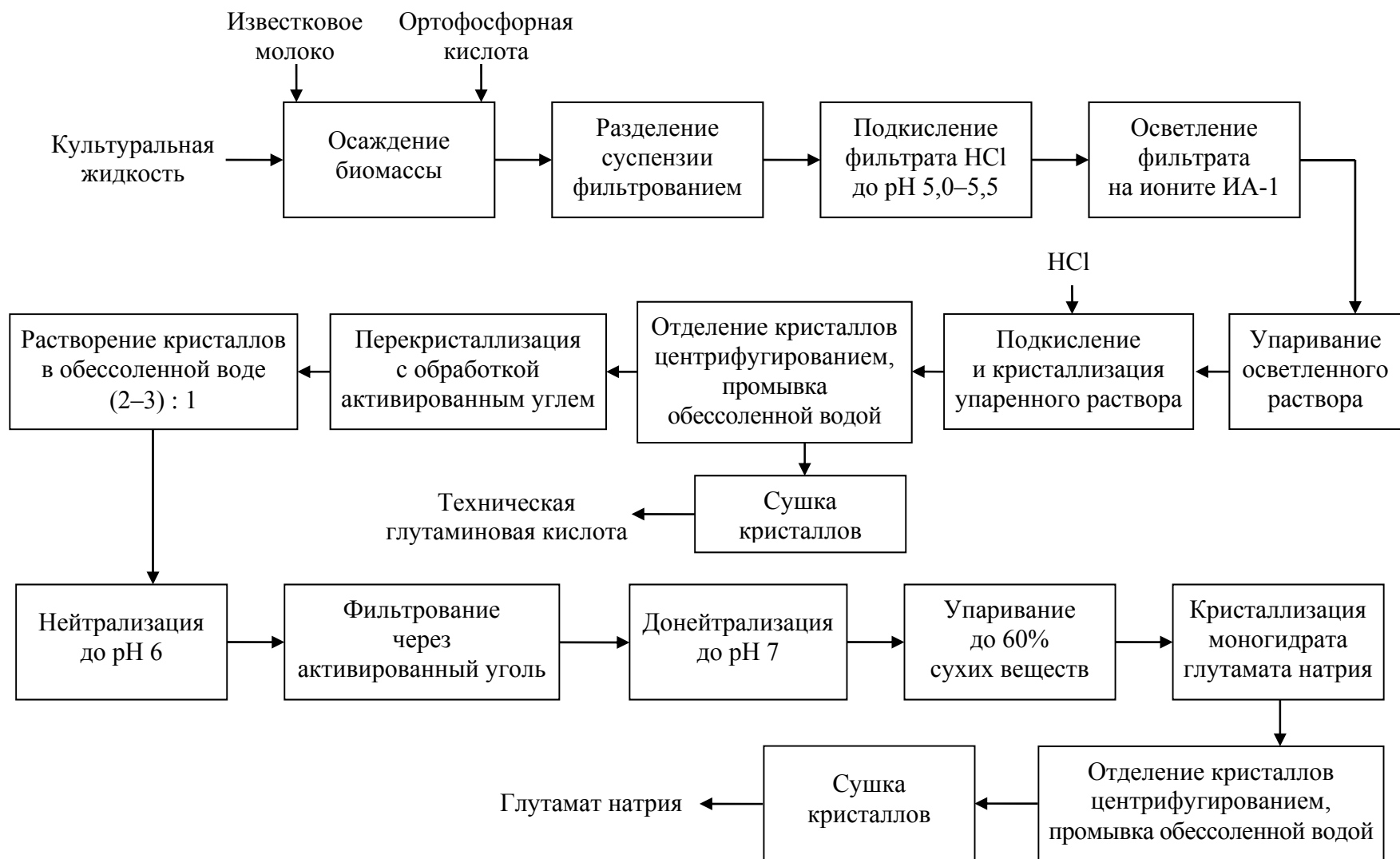


Рис. 1.6. Схема переработки культуральной жидкости с получением технической глутаминовой кислоты и глутамата натрия

Кристаллизацию заканчивают при снижении концентрации глутаминовой кислоты в маточном растворе до 20 г/л. На этой стадии можно отделить кристаллы центрифугированием, высушить и получить техническую глутаминовую кислоту.

Для получения глутамата натрия производят перекристаллизацию глутаминовой кислоты с обработкой активированным углем (1% от массы фильтруемого раствора), затем нейтрализуют аминокислоту 30%-ным раствором NaOH до величины рН 5,8–6,0, поскольку последующая очистка раствора активированным углем наиболее эффективно протекает при данном значении рН. После очистки раствор окончательно нейтрализуют до величины рН 6,8–7,0. Кристаллизацию глутамата натрия проводят при температуре 5–10°C и в течение 40–48 ч, кристаллы отделяют центрифугированием и высушивают в барабанной сушилке.

Конечный продукт представляет собой моногидрат глутамата натрия в виде белого порошка без запаха. Вкус аналогичен вкусу куриного бульона. Содержание основного вещества – не менее 99%, содержание влаги – не более 0,5%.

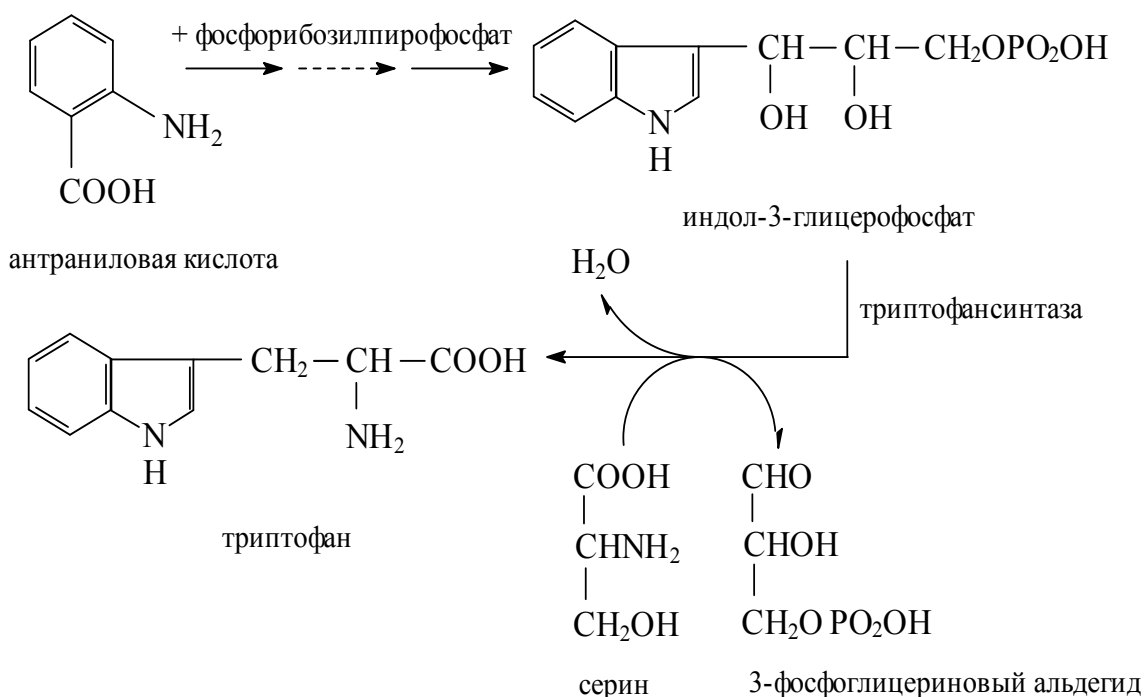
1.3. Технология триптофана

Триптофан является незаменимой аминокислотой. Среди других аминокислот триптофан отличается многообразием производных, широко используемых для производства фармакологических средств (лекарственные препараты для лечения ожирения, заболеваний печени, восстановления функций мозга, регулирования кровяного давления, лечения алкоголизма и др.). Эффективно применение триптофана для обогащения низкокалорийной пищи и создания специализированного питания для космонавтов. В небольших количествах триптофан используется в животноводстве. Повышению уровня применения триптофана в качестве пищевых и кормовых добавок препятствует его высокая цена. В то же время потребность в триптофане непрерывно возрастает.

В мировой производственной практике триптофан получают микробиологическим и химическим способами. Химический метод производства позволяет получать рацемическую форму аминокислоты из акрилонитрила (в Японии производится около 80 т триптофана в год этим способом). Однако разделение оптических изомеров дорогостоящая и трудоемкая операция. Микробиологический синтез позволяет получать L-форму аминокислоты, легкоусвояемую организмом человека и животных.

Путем микробного синтеза триптофан можно получить двумя способами. По первому методу осуществляют синтез триптофана с помощью мутантных штаммов бактерий, дефицитных по фенилаланину и тирозину. Для синтеза используются бактериальные штаммы, относящиеся к виду *Bacillus subtilis*, имеющие нарушения в цепи синтеза фенилаланина и тирозина.

Второй путь микробного синтеза триптофана – трансформация предшественника аминокислоты с помощью ферментных систем микроорганизмов до триптофана. В качестве предшественника используется антраниловая кислота. Особые штаммы дрожжей *Candida utilis* трансформируют антраниловую кислоту в индол-3-глицерофосфат, а затем с участием серина в присутствии фермента триптофансинтазы образуется триптофан:



В отечественной практике отработана технология биотрансформации антраниловой кислоты в L-триптофан с помощью ферментных систем дрожжей *Candida utilis* 295-t.

Для получения посевного материала дрожжи *Candida utilis* выращивают на питательной среде следующего состава (г/л): меласса – 100; мочевины – 5; K₂HPO₄ – 0,1; MgSO₄ – 0,05; CaCl₂ – 0,1. Величина pH среды 7,0–7,5, температура культивирования 28–30°C.

Производственная питательная среда отличается от посевной тем, что содержание мелассы составляет 60 г/л. Ферментацию осуществляют в асептических условиях.

Процесс производственной ферментации можно разделить на два периода: накопление биомассы дрожжей и трансформация предшественника ферментными системами дрожжей в триптофан. Продолжительность периода накопления биомассы дрожжей составляет 24 ч при интенсивной аэрации (не менее 7 г O₂/(л · ч)). Во втором периоде ферментации в КЖ небольшими порциями добавляют 5%-ный спиртовой раствор антралиловой кислоты и 50%-ный раствор мочевины. Антралиловую кислоту и мочевину вносят через каждые 6 ч. Через 3–4 ч после добавления антралиловой кислоты и мочевины с периодичностью в 12 ч дополнительно вводят мелассу в виде 25%-ного стерильного раствора. Дробное внесение антралиловой кислоты связано с тем, что она токсична и содержание ее в среде не должно превышать уровня 0,5–0,7 г/л. В качестве предшественника можно использовать и другие соединения (например, индол), однако наибольший выход триптофана наблюдается при применении антралиловой кислоты (до 98,8%).

Во втором периоде ферментации уровень аэрации снижается по сравнению с первым вдвое – до 3–4 г O₂/(л · ч). Длительность второго периода около 120 ч. Общая продолжительность процесса около 144 ч. Культуральная жидкость в конце ферментации содержит 7–12% сухих веществ, в том числе 0,3–0,6% триптофана (обычно 6 г/л).

Триптофан на 85–88% находится в жидкой фазе (КЖ). Для получения очищенного препарата триптофана используют фильтрат КЖ, для кормовых целей получают кормовой концентрат, в который входит и биомасса продуцента.

С целью получения кормового концентрата триптофана культуральную жидкость упаривают под вакуумом в 3 раза и полученный концентрат высушивают в распылительной сушилке при температуре входящего теплоносителя 110–120°C. Готовый продукт представляет собой порошок светло-коричневого цвета, имеющий следующий состав (%): сухое вещество – 90; белковые вещества – 48–54; триптофан – 1–3; аминокислоты – 6 (в том числе лизин 3,22% от общей суммы аминокислот), витамины группы В.

Очищенные препараты триптофана получают непосредственно из КЖ или из фильтрата КЖ ионообменным выделением.

Для этой цели используют двухколонный ионообменный аппарат: первая колонна заполнена анионитом ИА-1, а вторая – катионитом КУ 2-8. Цикл ионообменного выделения триптофана из КЖ включает следующие операции: сорбция триптофана на смоле ИА-1; промывка смолы водой; элюирование триптофана с анионита ИА-1 с одновременной сорбцией его на катионите КУ 2-8; элюирование триптофана с катионита; регенерация катионита КУ 2-8; регенерация анионита ИА-1.

КЖ в смеси со стоком от промывки ферментатора (5% от КЖ) подают на колонну со смолой ИА-1 снизу вверх со скоростью 1 об./об. смолы в час. Первая порция стоков (0,5 объема смолы) поступает в сборник промывной воды. Остальные стоки (отработанная КЖ) направляются на получение кормового белоксодержащего препарата (содержание триптофана менее 0,2 г/л). По окончании подачи КЖ на колонну поступает (при тех же условиях) упаренный маточный раствор. На этой стадии отделяется биомасса продуцента, компоненты среды, кислые продукты метаболизма (окрашенные соединения сорбируются на смоле). Для вытеснения остатков КЖ из смолы производят кратковременную промывку анионита водой в количестве 0,5 объема смолы со скоростью 1 об./об. смолы в час в направлении снизу вверх.

Элюирование триптофана с анионита ИА-1 осуществляют водой. Для этого к выходу колонны со смолой ИА-1 подсоединяют колонну с катионитом КУ 2-8 и через двухколонный аппарат пропускают воду в количестве 5 объемов смолы со скоростью 2 об./об. смолы в час. При этом триптофан, элюированный со смолы ИА-1, сорбируется на катионите КУ 2-8. Сток сливается в канализацию. Для полного элюирования триптофана производят циркуляцию воды, находящейся в системе, в течение суток. Затем колонны разъединяют и осуществляют элюирование триптофана со смолы КУ 2-8 и регенерацию анионита ИА-1. Элюентом является 1,6%-ный раствор NH_4OH в 50%-ном растворе этанола. Количество элюента – 3 объема катионита. Для приготовления элюента используют бедную фракцию элюата с предыдущего цикла и водно-спиртовой конденсат со стадии упаривания маточного раствора. Элюент подают в колонну сверху вниз со скоростью 1,5 об./об. смолы в час. Первый сток (1 объем смолы) – бедная фракция элюата. Богатая фракция (1,5 объема смолы) содержит 5–60 г/л триптофана. Последний сток (0,5 объема смолы) – бедная фракция, которая используется для приготовления элюента.

По окончании элюирования катионит регенерируют 0,5 н. раствором HCl (4 объема смолы), подаваемым в колонну снизу вверх со скоростью 1 об./об. смолы в час. Катионит переводится в H^+ -форму, сток направляется в канализацию.

Для регенерации анионита ИА-1 в колонну снизу вверх подают 3%-ный раствор NH_4OH (3 объема смолы со скоростью 1 об./об. смолы в час) и затем промывают водой (до 10 объемов смолы). Анионит переводится в OH^- -форму. Замену катионита и анионита в колоннах производят через 180–200 циклов работы колонн.

Богатую фракцию элюата нейтрализуют уксусной кислотой до рН 6,5–7,0, охлаждают до температуры 0–5°C и выдерживают в течение 24 ч. Триптофан кристаллизуется в количестве до 80% от содержания в элюате. Кристаллы отделяют центрифугированием (влажность кристаллов до 70%) и затем высушивают в барабанной сушилке очищенным на фильтрах грубой и тонкой очистки воздухом, имеющим температуру 90–95°C (температура отработанного воздуха 60–65°C). Высушиваемый материал не должен прогреваться до температуры более 40°C. Сухой продукт упаковывают в двойные полиэтиленовые пакеты (1–2 кг), которые помещают затем в бумажные или картонные мешки. Влажность продукта не более 5%. Содержание триптофана в конечном продукте не менее 90%.

Потери триптофана составляют: при сорбции на анионите ИА-1 – 3%; на стадии элюирования с анионита ИА-1 – 12%; при сорбции на катионите КУ 2-8 – 4%; на стадии элюирования с катионита КУ 2-8 – 3,5%; потери при сушке – 4%. Общий выход продукта 70%.

Сорбционная емкость по триптофану анионита ИА-1 и катионита КУ 2-8 составляет соответственно 64 и 60 кг/м³ влажной смолы.

2. ПРОИЗВОДСТВО ЭТАНОЛА

Мировой рынок этанола составляет около 4 млрд. дал (декалитров абсолютного алкоголя) в год. Лидерами в производстве этанола являются США, Бразилия, Китай. В США функционирует 97 заводов по производству этанола из кукурузы (строится еще 35 заводов) общей мощностью 1,5 млрд. дал в год.

Основные *направления* использования этанола в мировой практике:

- 1) 60% – добавка к моторному топливу;
- 2) 25% – химическая промышленность;
- 3) 15% – пищевая промышленность (доля ее сокращается).

Автомобильное топливо на основе этанола содержит 10% этанола (топливо E-10) или 85% этанола (топливо E-85). При стоимости нефти 60–70 дол. США за баррель биоэтанол становится конкурентоспособным топливом. Введение этанола в бензин позволяет отказаться от добавки в топливо тетраэтилсвинца, в результате чего снижается токсичность выхлопных газов и расход горючего.

В США проводятся масштабные исследования по производству биоэтанола из возобновляемого растительного сырья (из стеблей кукурузы, тростника и др.).

В промышленных условиях этанол получают гидратацией этилена в присутствии катализатора (H_3PO_4 на силикагеле), из гидролизатов растительного сырья (древесина, стебли кукурузы, тростник), а также из крахмалсодержащего сырья (пшеница, рожь, тритикале, картофель), мелассы, молочной сыворотки, топинамбура. Средний выход 95,5%-ного этилового спирта из 1 т различных видов сырья представлен в таблице.

Выход этанола из различных видов сырья

Сырье	Выход спирта, л
Пшеница	321,7
Кукуруза	317,9
Гречиха	315,6
Рис	300,9
Ячмень	299,7
Рожь	298,2
Меласса	266,4

Сырье	Выход спирта, л
Овес	240,7
Картофель	86,3
Сахарная свекла	83,6
Яблоки	54,5
Сливы	42,1
Морковь	37,0
Молочная сыворотка с 4% лактозы	25,4

На спиртовых заводах Республики Беларусь (функционирует около 70 спиртовых заводов общей мощностью более 9 млн. дал в год) для производства этанола используют крахмалсодержащее сырье, главным образом зерно злаков. Содержание крахмала в различных видах зерна составляет (%): пшеница – 48–57; рожь – 46–53; ячмень – 43–55; овес – 34–40; просо – 42–60; кукуруза – 61–70. В зерне содержатся также (в среднем) сахара ~ 3%; клетчатка ~ 6%; пентозаны и пектиновые вещества ~ 9%; азотистые (белковые) вещества ~ 11%, жир ~ 3%.

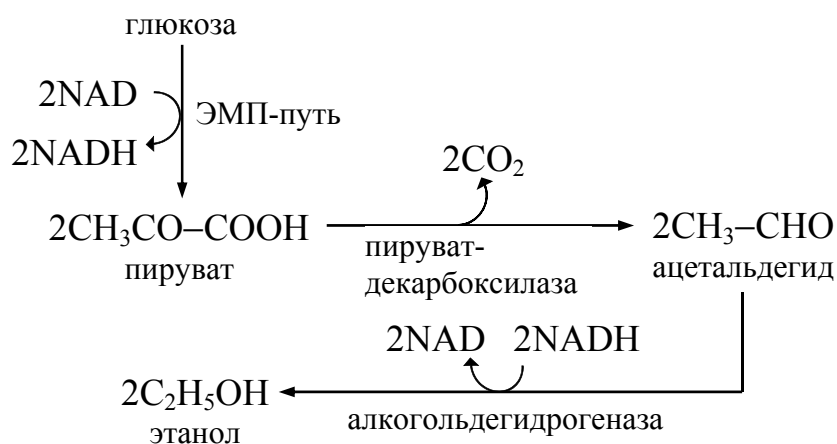
2.1. Продуценты этанола

При микробиологическом синтезе классическими продуцентами этанола являются дрожжи – сахаромицеты и шизосахаромицеты. Чаще других используют дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces vini*, *Schizosaccharomyces pombe*.

Сахаромицеты имеют клетки округлой формы размером 10–15 мкм, размножаются почкованием. Шизосахаромицеты имеют крупные палочковидные клетки диаметром 4–5 мкм и длиной 18–20 мкм, размножаются делением. И те, и другие дрожжи хорошо сбраживают глюкозу, маннозу, фруктозу, сахарозу, мальтозу, труднее сбраживают галактозу и не сбраживают пентозные сахара (ксилозу, арабинозу).

Теоретический выход этанола из 100 кг сброженной глюкозы составляет 51,14 кг или 64,80 л (при этом образуется 48,86 кг CO₂). На практике выход спирта составляет 82–92% от теоретического в связи с расходом части субстрата на размножение и рост дрожжей и образование побочных продуктов.

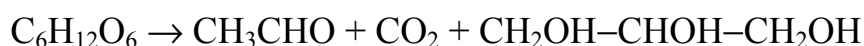
Синтез этанола в дрожжевой клетке осуществляется по следующей схеме:



Побочными продуктами спиртового брожения являются глицерин, высшие (сивушные) спирты, органические кислоты (уксусная, пировиноградная, молочная, янтарная), альдегиды. При спиртовом брожении сахар (глюкоза) расходуется на образование различных веществ в следующем количестве (%): этанола – 46–47; диоксида углерода – 44–46; биомассы дрожжей – 1,8–4,0; глицерина – 3–4; высших спиртов – 0,3–0,7; органических кислот – 0,2–1,0; альдегидов – 0,1–0,2. При многократном возврате дрожжей на брожение расход сахара на образование биомассы сокращается, а интенсивность брожения даже несколько возрастает.

Образование глицерина при спиртовом брожении объясняется тем, что в индукционный период (до образования уксусного альдегида) между двумя молекулами фосфоглицеринового альдегида под действием фермента альдегидмутазы при участии молекулы воды происходит реакция дисмутации. При этом одна молекула фосфоглицеринового альдегида восстанавливается, образуя фосфоглицерин, а другая окисляется в 3-фосфоглицериновую кислоту. Фосфоглицерин в дальнейших реакциях не участвует и после отщепления фосфорной кислоты является побочным продуктом спиртового брожения. 3-Фосфоглицериновая кислота претерпевает превращения по ЭМП-пути с образованием уксусного альдегида. После появления уксусного альдегида наступает стационарный период брожения, при котором окисление фосфоглицеринового альдегида в фосфоглицериновую кислоту протекает более сложным путем, с присоединением неорганического фосфата (ЭМП-путь). В связи с этим наряду с этанолом при брожении всегда образуется некоторое количество глицерина.

При связывании уксусного альдегида бисульфитом процесс брожения направляется в сторону образования глицерина:



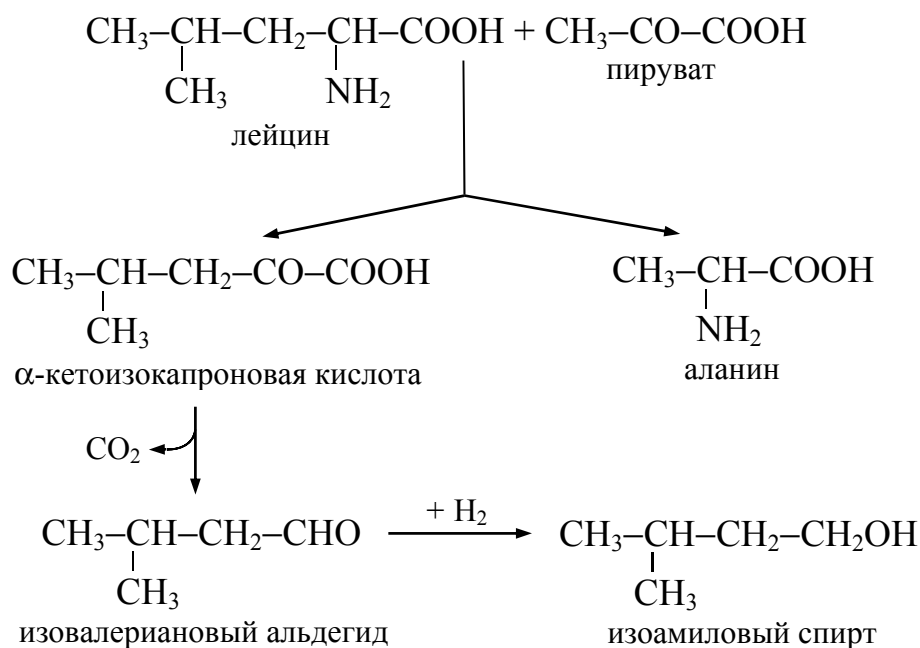
В щелочной среде молекула уксусного альдегида вступает в окислительно-восстановительную реакцию со второй молекулой, образуя этанол и уксусную кислоту. Одновременно идет накопление глицерина. Суммарно процесс выражается следующим уравнением:



Эти приемы используются для промышленного получения глицерина.

Высшие спирты образуются из аминокислот (в меньшей степени из кетокислот), содержащихся в ферментационной среде, в результате последовательно протекающих реакций дезаминирования аминокислот, декарбоксилирования образовавшихся кетокислот и восстановления альдегидов.

Из высших спиртов в бражке присутствуют: пропиловый (образуется из треонина), изобутиловый (из валина), амиловый (из изолейцина) и изоамиловый (из лейцина):



В настоящее время ведется интенсивный поиск нетрадиционных микроорганизмов-продуцентов этанола, которые способны сбрасывать широкий круг субстратов, имеющих высокую продуктивность по этанолу, обладающих повышенной устойчивостью к этанолу и высокой температурой. Представляют интерес этанолсинтезирующие бактерии. Например, бактерии *Zymomonas mobilis* отличаются от дрожжей интенсивным метаболизмом: имеют высокую удельную скорость

конверсии глюкозы в этанол, обеспечивают более высокий выход этанола (до 95% от теоретически возможного), более толерантны к спирту. Но эти бактерии чувствительны к присутствию в питательных средах ингибиторов (фурфурола, фенолов) и требуют осуществления процесса брожения в условиях асептики.

Термофильные бактерии *Clostridium thermocellum* (оптимальная температура роста 68°C) способны непосредственно трансформировать целлюлозу растительного сырья в этанол, но при этом сырье должно быть освобождено от лигнина. Достичь высокого выхода спирта при прямой конверсии растительного сырья пока не удастся.

Получены штаммы дрожжей, способные сбраживать пентозные сахара (*Pachysolen tannophilus*, *Pichia stipitis*, *Candida shehata*). Выход этанола при сбраживании 100 кг ксилозы достигает 35–47 л.

В отечественной практике производства этанола из крахмалсодержащего сырья используют дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, имеющие оптимальную температуру брожения 29–30°C.

2.2. Ферментативное осахаривание крахмала

Традиционные продуценты этанола не способны к расщеплению полисахаридов, поэтому при получении сусле крахмалсодержащее сырье подлежит развариванию и осахариванию. Крахмал большинства растений содержит 20–25% амилозы и 75–80% амилопектина. В растительных клетках крахмал находится в виде зерен (гранул), размер которых колеблется от 1 до 120 мкм (картофельный крахмал имеет гранулы размером 40–50 мкм, гранулы крахмала зерна – 10–15 мкм). Крахмал, амилоза и амилопектин нерастворимы в холодной воде, спирте, эфире. Амилоза легко растворяется в теплой воде, амилопектин – при нагревании под давлением. Сетчатая структура молекул амилопектина обуславливает набухание крахмальных гранул без их растворения (вторичные связи ослабляются гидратацией). При определенной температуре гранулы разрыхляются, разрываются связи между отдельными структурными элементами, нарушается целостность гранул. При этом резко возрастает вязкость раствора – происходит клейстеризация крахмала. Для клейстера характерны беспорядочное расположение молекул, потеря кристаллической структуры. При температуре 120–130°C клейстер становится легкоподвижным. Наиболее полное растворение амилопектина происходит у пшеничного крахмала при 136–141°C, у картофельного – при 132°C.

Растворенный при разваривании зерна или картофеля крахмал гидролизуют (осахаривают) амилолитическими ферментами зернового солода или культур микроорганизмов, преимущественно мицелиальных грибов и бактерий. Из растительных материалов наиболее богато амилолитическими ферментами пророщенное зерно злаков, называемое солодом. В настоящее время в спиртовой промышленности широко применяют ферментные препараты на основе культур мицелиальных грибов (или бактерий рода *Bacillus*), которые имеют ряд преимуществ по сравнению с солодом. Культуры мицелиальных грибов выращивают на пшеничных отрубях или кукурузной муке, тогда как для получения солода требуется кондиционное зерно. С солодом в сусло вносятся в большом количестве посторонние микроорганизмы, что отрицательно сказывается на выходе этанола. Глубинные культуры грибов выращивают в стерильных условиях, они не загрязняют сусло посторонними микроорганизмами. Выращивание поверхностной культуры грибов осуществляется намного быстрее (1,5–2,0 сут), чем проращивание зерна (9–10 сут). Грибы образуют комплекс ферментов, которые глубже гидролизуют крахмал, а также расщепляют гемицеллюлозы до моносахаридов, что повышает выход этанола из сырья.

В процессе осахаривания крахмалсодержащего сырья участвуют различные ферменты. Наибольшее производственное значение имеют амилазы. α - и β -амилазы катализируют разрыв только α -1,4-глюкозидных связей. Под действием α -амилаз связи разрываются беспорядочно, но преимущественно внутри цепей. В результате образуются главным образом декстрины, небольшое количество мальтозы и олигосахаридов. Исходя из характера действия, α -амилазу называют эндогенной, или декстриногенной, амилазой.

Действие β -амилазы направлено на концевые (внешние) связи в крахмале, при этом последовательно, начиная с нередуцирующих концов цепей, отщепляется по два остатка глюкозы (мальтоза). β -Амилаза не может обойти места ветвления в макромолекуле крахмала, поэтому гидролиз прекращается на предпоследней α -1,4-глюкозидной связи и остаются высокомолекулярные декстрины при гидролизе амилопектина. Амилоза практически полностью превращается β -амилазой в мальтозу, амилопектин – только на 50–55%.

В результате совместного действия α - и β -амилаз образуется смесь сахаридов, состоящая из мальтозы, небольшого количества глюкозы и низкомолекулярных декстринов, в которых сосредоточены все α -1,6-глюкозидные связи крахмала.

В бактериях и микроскопических грибах отсутствует β -амилаза, но содержится активная α -амилаза, отличающаяся композицией аминокислот в белке и специфичностью действия. В частности, при катализе α -амилазой микроскопических грибов образуется большое количество глюкозы и мальтозы. Среди бактериальных амилаз имеются как сахарогенные, так и декстриногенные. Первые гидролизуют крахмал на 60% и более, вторые – на 30–40%. α -Амилазы микробного происхождения, как и α - и β -амилазы солода, не атакуют α -1,6-глюкозидные связи.

В микроскопических грибах содержится глюкоамилаза, которая катализирует разрыв α -1,4- и α -1,6-глюкозидных связей в крахмале. При катализе этим ферментом от нередуцирующих концов амилозы и амилопектина последовательно отщепляются остатки глюкозы. По месту разрыва связей присоединяется молекула воды, поэтому теоретический выход глюкозы в процессе гидролиза составляет 111,11% к массе крахмала.

Известны три вероятных способа взаимодействия фермента с субстратом (содержащим большое количество цепей): многоцепочный, одноцепочный и комбинированный.

По *многоцепочному способу* молекула фермента в случайном порядке атакует одну из полисахаридных цепей, отщепляя от нее звено, а затем также в случайном порядке атакует следующие цепи, в том числе, возможно, и атакованную ранее. Таким образом, за время существования фермент-субстратного комплекса происходит только один каталитический акт.

При *одноцепочном способе* молекула фермента, атаковав в случайном порядке одну из полисахаридных цепей, последовательно отщепляет от нее звенья до полного расщепления цепи. За время существования фермент-субстратного комплекса гидролизуются все доступные для фермента связи.

Комбинированный способ, или *способ множественной атаки*, заключается в том, что за время существования фермент-субстратного комплекса гидролизуются несколько связей. При этом после отщепления одного звена фермент не отталкивается, а задерживается. Атака происходит с чередованием одно- и многоцепочного способов.

Исследования показали, что α - и β -амилазы осуществляют гидролиз по способу множественной атаки (многоцепочный способ характерен для α -амилазы бактерий).

На отечественных спиртовых заводах для осахаривания крахмала сырья применяют сырцовый (несушенный) солод в виде солодового

молока, ферментные препараты (глюкаваморин, амилоризин, амило-субтили́н) различного уровня активности или смесь солодового молока и ферментного препарата.

Технология получения солода включает следующие основные процессы: замачивание сырья с достижением влажности 38–40%; проращивание зерна в течение 10 сут в пневматической солодовне в слое толщиной 0,5–0,8 м; измельчение солода в дисковых или молотковых дробилках; дезинфекция солода формалином или раствором хлорной извести и приготовление солодового молока. Солодовое молоко получают смешиванием измельченного солода с водой (4–5 л воды на 1 кг солода).

В солоде, приготовленном из зерна различных злаков, содержится неодинаковое количество каждого из амилолитических ферментов. Например, солод из ячменя имеет высокую α - и β -амилолитическую активность, а солод из проса отличается сильной декстринолитической активностью. Чаще всего готовят смесь из трех видов солода: ячменного (50%), просяного (25%) и овсяного (25%). Запрещается использовать солод из одной культуры при производстве спирта из той же культуры.

2.3. Водно-тепловая обработка крахмалсодержащего сырья с получением сусла

Различают следующие *способы* разваривания крахмалсодержащего сырья:

- периодическое разваривание при высоком давлении;
- непрерывное разваривание измельченного сырья при повышенном давлении;
- механико-ферментативная обработка сырья.

В настоящее время на предприятиях используют в основном непрерывные методы разваривания сырья, которые в отличие от периодических процессов проводятся при более низких температурах (и давлении) и меньших энергетических затратах.

Периодическое разваривание сырья применяют при переработке цельного или грубодробленого зерна. На практике реализовано одно- и трехступенчатое разваривание.

Одноступенчатое разваривание зерна пшеницы осуществляют при температуре 155°C, давлении 0,45 МПа и продолжительности процесса 85–90 мин. При разваривании зерна воду подают непосредственно в разварник до загрузки сырья. В процессе разваривания производят

циркуляцию (сдвдку пара продолжительностью 1,0–1,5 мин в выдерживатель или бак с водой) через каждые 7–10 мин для усреднения и равномерного разваривания сырья.

Трехступенчатое разваривание осуществляют по схеме: предразварник (температура 50–85°C), разварник (температура 150–155°C, продолжительность 60–65 мин), выдерживатель (температура 102–106°C, выдержка 40–45 мин). В разварнике через каждые 5–7 мин проводят циркуляцию продолжительностью 1,0–1,5 мин. Разваренная масса зернового сырья имеет темно-желтый цвет.

Схема **непрерывного разваривания** сырья при повышенном давлении включает измельчение сырья; смешивание с водой; подваривание замеса; разваривание подваренного замеса; охлаждение разваренной массы.

Подваривание замеса обеспечивает использование вторичного пара, а также частичное набухание и клейстеризацию крахмала, что смягчает режим последующего разваривания.

Качество зерна, идущего на разваривание, не регламентируется. Различают четыре *степени дефектности* зерна:

- 1) с солодовым запахом (вышедшее из стадии биологического покоя);
- 2) с плесенно-затхлым запахом;
- 3) с гнилостно-затхлым запахом;
- 4) зерно, подвергшееся сильному саморазогреванию, с оболочкой бурого или черного цвета.

Перерабатывается также морозобойное и перезимовавшее зерно.

Измельченное крахмалсодержащее сырье разваривают в варочных колоннах в одну или в две ступени при температуре 132–135°C (пшеница) или 150°C (картофель). Предварительное измельчение зерна увеличивает выход этанола. Обычно средний размер крупки, полученной при дроблении зерна, составляет 1,5–1,7 мм. Измельчение зерна до прохода 90–100% через сито с отверстиями диаметром 1 мм позволяет повысить выход спирта на 0,3–0,4 дал из 1 т крахмала, снизить температуру разваривания до 130°C и сократить продолжительность разваривания на 10–15 мин.

Зерно хранится в силосных башнях, из которых винтовым или ленточным конвейером и норией подается на очистку от примесей в зерноочистительной машине и магнитном сепараторе. Очищенное зерно хранится в силосных башнях, из которых передается конвейером и норией через надвесовой бункер и весы на измельчение в дезинтеграторе. Измельченное зерно поступает в смеситель-предразварник, где смешивается с горячей водой (80–85°C) в соотношении (2,5–2,8) : 1 при выдержке не более 5–7 мин (при большей выдержке

сильно возрастает вязкость замеса, что затрудняет передачу его насосом). Замес подогревается паром до 110°C и поступает в варочную колонну первой ступени, в которую противотоком (снизу вверх) подается острый пар, разогревающий замес до 130°C. Объем варочной колонны первой ступени обеспечивает время пребывания массы 25 мин. Вторая ступень разваривания включает три отдельных колонны. Время пребывания развариваемого замеса в каждой из колонн по 20 мин. Для выравнивания давления все колонны сообщаются между собой по паровой фазе через уравнивательный коллектор. Уровень отбора замеса из колонн последовательно понижается для облегчения протока вязкой массы.

Через поплавковый регулятор уровня, установленный внутри последней колонны (или вне колонны), масса выводится в паросепаратор, вторичный пар из которого используется для подогрева развариваемого замеса. На выходе из паросепаратора разваренная масса имеет температуру около 100°C и охлаждается до температуры осахаривания (60–62°C) в испарителе первой ступени при остаточном давлении 20–22 кПа. Передача массы из паросепаратора в испаритель осуществляется за счет разрежения.

Разваренную массу сырья осахаривают при температуре 58–60°C с перемешиванием в течение 20 мин в присутствии осахаривающего агента (ферментного препарата или солодового молока). Осахаривание крахмала продолжается при сбраживании суслу в бродильных аппаратах. Часть осахаренной массы (10–12%) передается в дрожжанки для приготовления засевных дрожжей. Остальная масса охлаждается в испарителе второй ступени при остаточном давлении 2,0–2,2 кПа до температуры «складки» (20–22°C) с целью угнетения развития посторонних микроорганизмов, пока концентрация дрожжей в сусле невелика. Концентрация суслу должна быть на уровне 16–18% по сахарометру. Сусло поступает в буферную емкость, откуда передается в бродильное отделение (рис. 2.1).

Механико-ферментативная обработка тонкоизмельченного зернового сырья производится в мягких температурных условиях при интенсивном механическом перемешивании.

Измельченное зерно поступает в смеситель, куда одновременно задают воду в соотношении (2,8–3,0) : 1 по массе сырья и α -амилазу (1,5–2,0 ед. на 1 г крахмала). Температура в смесителе (50–55°C) поддерживается за счет подачи горячей воды. Замес из смесителя через контактную головку подается насосом в аппарат гидродинамической и ферментативной обработки первой ступени ГДФО-1.

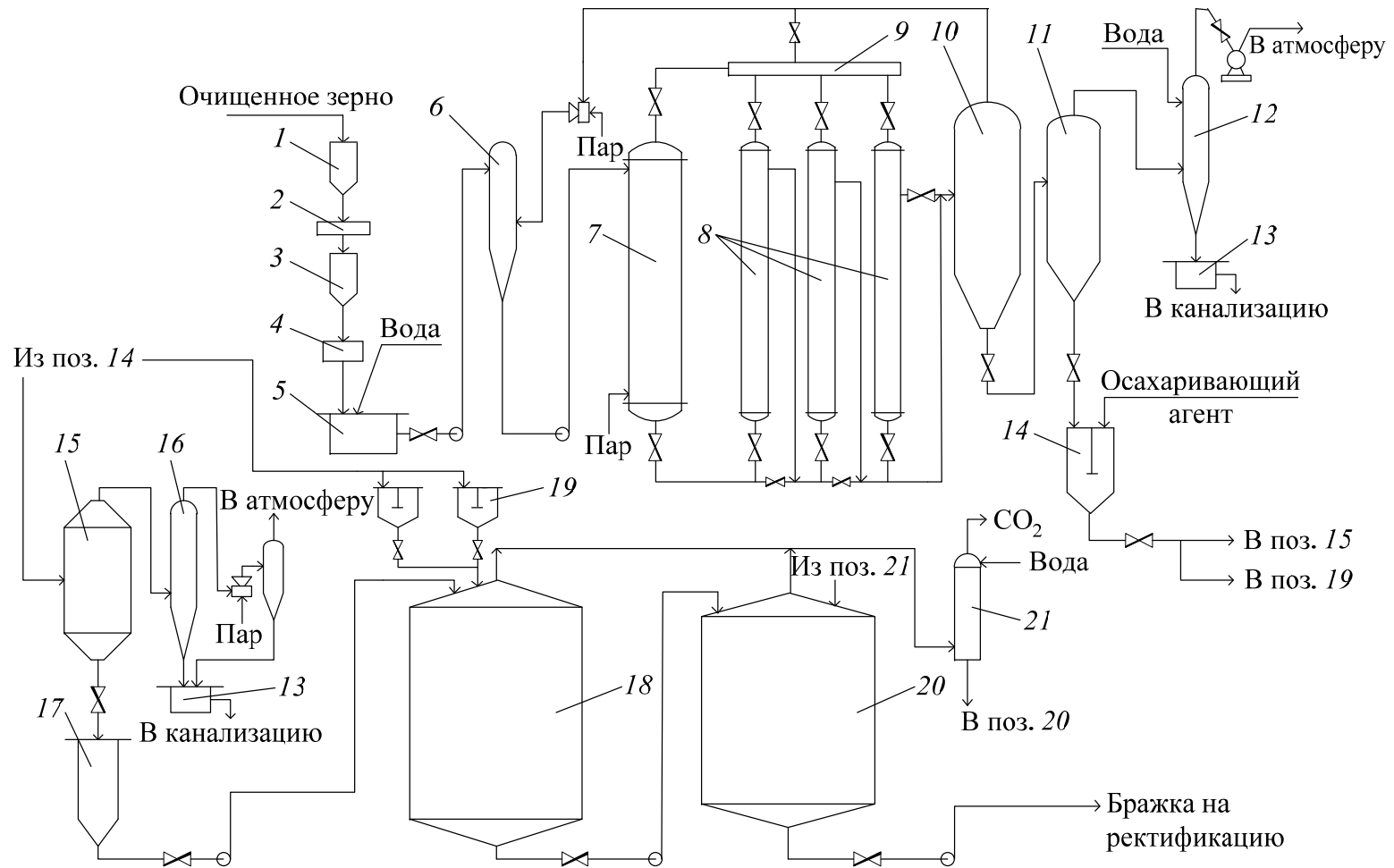


Рис. 2.1. Схема непрерывного разваривания сырья при повышенном давлении:
 1 – надвесовой бункер; 2 – весы; 3 – подвесовой бункер; 4 – дезинтегратор; 5 – смеситель-предразварник; 6 – подогреватель;
 7 – варочная колонна I ступени; 8 – варочная колонна II ступени; 9 – уравнильный коллектор; 10 – паросепаратор;
 11 – испаритель I ступени; 12, 16 – барометрические конденсаторы; 13 – барометрический ящик; 14 – осаживатель;
 15 – испаритель II ступени; 17 – сборник сусле; 18 – бродильный аппарат;
 19 – дрожжанки; 20 – сборник бражки; 21 – спиртоловушка

В контактной головке замес нагревается до 65–70°C и выдерживается в аппарате ГДФО-1 в течение 120–150 мин при перемешивании мешалкой и циркуляционным насосом. Аппарат ГДФО-1 имеет рубашку или змеевик для поддержания температуры. Контактная головка может быть включена в циркуляционный контур, тогда замес поступает в аппарат из смесителя самотеком.

Из аппарата ГДФО-1 замес передается в аппарат ГДФО-2, где нагревается до 90–95°C и выдерживается при перемешивании и непрерывном протоке 30–40 мин. Разваренная масса поступает в паросепаратор.

При переработке дефектного сырья используют более жесткий тепловой режим. В этом случае замес из аппарата ГДФО-2 подается на контактную головку, где подогрывается до 110–130°C, а затем масса проходит через трубчатый выдерживатель в паросепаратор (рис. 2.2).

Такой механико-ферментативный процесс успешно осуществляется при условии обеспечения степени измельчения зерна с проходом через сито диаметром 1 мм не менее 75–85%.

Для разжижения замеса используют бактериальную (*Bacillus subtilis*) α -амилазу, образующую главным образом декстрины, чтобы исключить накопление и распад моносахаридов при повышенной температуре. Механико-ферментативная обработка сырья обеспечивает получение качественного суслу при низких энергетических затратах и отсутствии оборудования, работающего под давлением, что в значительной степени упрощает осуществление процесса.

2.4. Сбраживание суслу

При сбраживании суслу из крахмалсодержащего сырья применяют дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* расы X, XII, не способные сбраживать декстрины. Гидролиз декстринов продолжается во время сбраживания суслу под действием декстриназ солода или глюкоамилазы микробного ферментного препарата. Поэтому скорость сбраживания суслу из крахмалсодержащего сырья лимитируется скоростью гидролиза конечных декстринов.

Ведется поиск дрожжей, способных не только ферментировать моносахариды, но и синтезировать амилолитические ферменты, гидролизующие крахмал. Амилолитическая способность обнаружена у дрожжей *Schwanniomyces castellii*, которые образуют α -амилазу и две амилоглюкозидазы, гидролизующие α -1,6-связи и концевые α -1,4-связи с образованием глюкозы.

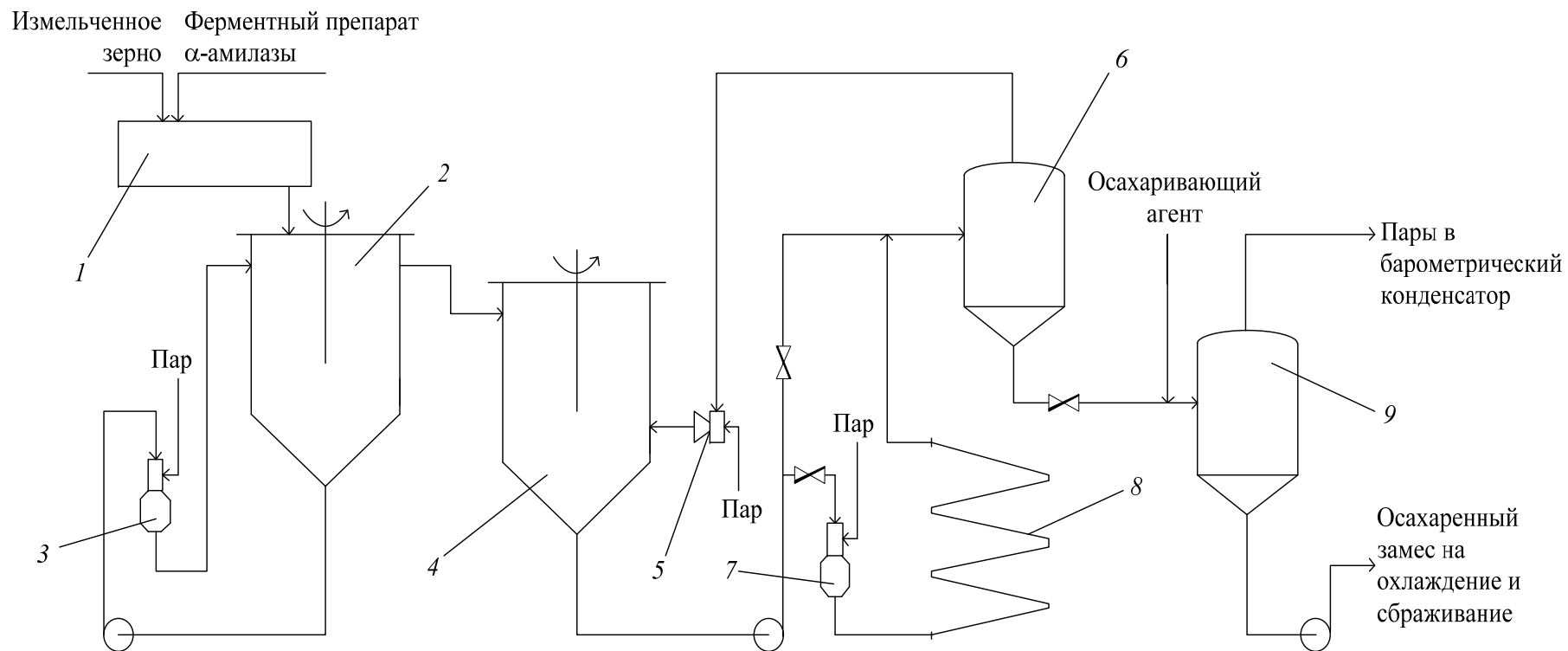


Рис. 2.2. Схема механико-ферментативной обработки зернового сырья:
 1 – смеситель; 2 – аппарат ГДФО-1; 3, 7 – контактные головки; 4 – аппарат ГДФО-2; 5 – паровый эжектор;
 6 – паросепаратор; 8 – трубчатый выдерживатель; 9 – испаритель-осахариватель

Прямую конверсию крахмала и декстринов в этанол могут осуществлять штаммы *Saccharomyces cerevisiae* var. *diastaticus*. Для усиления амилалитической активности дрожжей применяют методы генетической инженерии.

В производственных условиях сусло сбраживают при температуре 28–30°C и рН 4,5–5,0 периодическим или непрерывным методом. Продолжительность **периодического процесса** брожения около 3 сут. Бродильные аппараты оборудованы устройствами (змеевиками или водяной рубашкой) для отвода выделяющегося биологического тепла (при сбраживании 1 кг глюкозы выделяется 650 кДж тепла). Во время главного брожения поддерживают температуру 29–30°C, в процессе дображивания – 27–28°C. Снижение температуры при дображивании исключает голодание дрожжей и способствует предотвращению нарастания кислотности бражки.

Для засева сусла в бродильных аппаратах используют дрожжи, выращенные в дрожжанках по методу естественно чистой культуры, т. е. в условиях ограничения роста посторонних микроорганизмов снижением активной кислотности среды до рН 3,8–4,0 с помощью серной или молочной кислоты. Количество суспензии засевных дрожжей составляет 10–12% от объема сусла.

Брожение считают законченным, когда содержание несброженных сахаров (редуцирующих веществ) в бражке достигает 0,2–0,3%, а количество сухих веществ (по сахарометру) не изменяется в течение последних 2–3 ч. Концентрация спирта в бражке составляет 8–11 об. %. По окончании процесса бродильные аппараты промывают горячей водой и пропаривают острым паром с повышением температуры до 100°C и выдержкой не менее 30 мин.

Диоксид углерода создает давление в бродильных аппаратах 50–70 кПа и применяется для получения жидкой и твердой углекислоты.

При сбраживании сусла одной из главных задач является борьба с сопутствующей микробиотой, появлению которой способствует нестерильность процесса брожения и нарушение технологических режимов. Посторонние микроорганизмы используют для своей жизнедеятельности сахара и этанол, продуцируют органические кислоты, снижая выход продукта. Об инфицировании процесса брожения судят по нарастанию кислотности бражки. Чаще всего инфекция развивается в сборниках сусла, бродильных аппаратах, дрожжанках. Резкие нарушения технологических режимов могут привести к массовому развитию посторонней микробиоты, в состав которой входят главным образом бактерии, а также «дикие» дрожжи.

Бактериальная микробиота представлена в основном молочнокислыми, реже уксуснокислыми и маслянокислыми бактериями. Представителем молочнокислых бактерий является *Leuconostoc agglutinans*. Это бесспорные факультативно-анаэробные палочки, которые сбраживают углеводы с образованием кислот (молочной, уксусной, пропионовой), этанола и диоксида углерода. Клетки бактерий имеют слизистую капсулу. Развиваясь совместно с дрожжевыми клетками, бактерии агглютинируют их в комочки, что затрудняет обмен веществ и нарушает жизнедеятельность дрожжей. Нарастание кислотности сбраживаемого сусла приводит к частичной инактивации амилолитических ферментов, осаживающих крахмал, и снижает выход этанола. Уксуснокислые бактерии (*Acetobacter melanogenum*) окисляют этанол до уксусной кислоты, являются строгими аэробами, развиваются в сборниках бражки. Маслянокислые бактерии (*Clostridium butyricum*) – строго анаэробные споровые бактерии. Образуют масляную кислоту, которая подавляет жизнедеятельность дрожжей при концентрации более 0,0005%.

Для предотвращения развития инфекции регулярно проводят профилактическую стерилизацию оборудования и коммуникаций. Продолжительность межстерилизационного периода работы оборудования составляет не более 3 сут. При развитии инфекции применяют следующие *способы борьбы*:

- снижение рН среды до 3,5 на 1–3 ч (это негативно сказывается на бродильной способности дрожжей);

- введение в сбраживаемое сусло антибиотиков, не угнетающих дрожжи (например, лактомицина, в количестве 50–60 ед./мл среды), или антисептика (широко используется антисептик фриконт).

Непрерывный способ брожения сложнее осуществить в промышленных масштабах из-за инфицирования зернокартофельного сусла посторонними микроорганизмами, что вызывает значительное увеличение кислотности ферментационной среды, инактивацию амилолитических ферментов и снижение выхода этанола. Непрерывный процесс реализуется только в батарее из четырех и более аппаратов. На практике используют бродильные батареи из восьми аппаратов (два головных и шесть дображивающих).

Опытным путем доказано, что если непрерывный проток жидкой среды совмещать с профилактической стерилизацией последовательно освобождаемых аппаратов многоступенчатой батареи, то такая система может неограниченное время сохранять наведенную стерильность. Профилактическую стерилизацию бродильных аппаратов (в том числе

трубопроводов и арматуры) проводят строго последовательно, по номерам аппаратов – от головного к концевому через определенные промежутки времени (обычно 3 сут) независимо от стадии брожения. Непрерывный приток сусла в батарею переключается с первого на второй головной аппарат, и в него же перекачивается содержимое первого головного аппарата, который затем моют, стерилизуют паром, охлаждают, заполняют, восстанавливая приток свежего сусла, и засевают дрожжами. Пока первый головной аппарат заполняется, содержимое второго перекачивают в третий аппарат, а второй моют, стерилизуют и наполняют перетоком из первого аппарата. По такому принципу осуществляют последовательную стерилизацию всех аппаратов батареи.

Непрерывное сбраживание осуществляют следующим образом.

Для получения засевных дрожжей в маточник подают сусло из осахаривателя, выдерживают 2 ч и стерилизуют при 120°C глухим паром на протяжении 30 мин. Затем сусло охлаждают и засевают дрожжами. Дрожжи выращивают в маточнике в течение суток. Полученную суспензию перепускают в дрожжанку. Сусло в дрожжанке также выдерживают 2–3 ч, затем пастеризуют при 75–80°C на протяжении 20 мин. Охлажденное сусло подкисляют серной кислотой до величины рН 3,6–3,8. Содержимое дрожжанки сбраживают до остаточной концентрации сусла по сахарометру 5–6%. Зрелые дрожжи передают во взбраживатель, в котором сусло сбраживают в течение суток при рН 4,0–4,2 с накоплением клеток до 90–100 млн./мл и перепускают в головной бродильный аппарат. Сусло подают в головной аппарат и через него заполняют бродильные аппараты всей батареи, состоящей из восьми аппаратов. Пять первых бродильных аппаратов батареи оснащены змеевиками для отвода тепла. Батарея работает в режиме протока. Температуру брожения в первых трех аппаратах батареи поддерживают на уровне 27–29°C, в последующих – 27–28°C. Продолжительность процесса брожения в батарее составляет 60–62 ч. Бродильная батарея производительностью по этанолу 1500 дал/сут включает следующие аппараты: маточник объемом 1,5 м³ – 2 шт., дрожжанка (15 м³) – 2 шт., сбраживатель (28 м³) – 2 шт., головной бродильный аппарат (70 м³) – 2 шт., дображиватели (70 м³) – 6 шт., сборник бражки (70 м³) – 1 шт.

2.5. Ректификация бражки

Выделение спирта из бражки и его очистку производят на трех- или четырехколонных ректификационных установках непрерывного действия.

Бражка содержит значительное количество разнообразных примесей, поведение которых в процессе ректификации бражки в большой степени зависит от концентрации этанола.

Все примеси в спиртовой бражке по коэффициенту относительной летучести ($K_{\text{отн.лет}}$) разделяют на четыре группы: головные, хвостовые, промежуточные и концевые.

Головные примеси (альдегиды, эфиры) имеют $K_{\text{отн.лет}} > 1$ и легко извлекаются из бражки и концентрируются на верхних тарелках ректификационной колонны.

Для **хвостовых примесей** $K_{\text{отн.лет}} < 1$, и они при ректификации остаются в остатке. Типичными хвостовыми примесями являются уксусная кислота, фурфурол.

Промежуточные примеси обладают двойными свойствами: при высоких концентрациях этанола имеют характер хвостовых примесей ($K_{\text{отн.лет}} < 1$), а при низких – характер головных примесей ($K_{\text{отн.лет}} > 1$). При определенной концентрации этанола в растворе летучесть промежуточных примесей равна летучести этанола ($K_{\text{отн.лет}} = 1$). Промежуточные примеси отбирают из зоны максимального их накопления, как правило, в средней части колонны. Представителями промежуточных примесей являются изобутиловый, изоамиловый, пропиловый спирты, уксусно-изоамиловый и изовалерианово-этиловый эфиры.

Концевые примеси, как и промежуточные, имеют различную относительную летучесть, но в противоположность им имеют $K_{\text{отн.лет}} > 1$ при высоких концентрациях этанола и $K_{\text{отн.лет}} < 1$ при низких концентрациях этанола. Эти примеси не накапливаются в средней части ректификационной колонны, а в зависимости от концентрации этанола поднимаются вверх (как головная примесь) или опускаются вниз (как хвостовая примесь). Характерный представитель – метанол. Технологическая схема брагоректификационной установки учитывает особенности поведения сопутствующих этанолу примесей.

Основными колоннами брагоректификационной установки являются бражная, эшюрационная и ректификационная (спиртовая) колонны. Назначение бражной колонны (27–30 тарелок) – перегонка бражки и укрепление спирта до концентрации 40–50 об. %. Эшюрационная колонна (30–40 тарелок) обеспечивает выделение из укрепленного дистиллята головных примесей (эфиров, альдегидов) в виде головной фракции (термин «эшюрация» означает отделение летучих примесей). Ректификационная (спиртовая) колонна (70 тарелок) предназначена для максимального укрепления и пастеризации спирта с отбором фракций сивушных масел и сивушных спиртов. *Пастеризация спир-*

та – это дополнительная очистка его от головных примесей и метанола за счет наличия тарелок над зоной отбора спирта.

В брагоректификационных установках косвенного действия в бражной колонне укрепляется этанол и выделяются водно-спиртовые пары, содержащие все примеси спирта. Установки прямого действия отличаются тем, что в них выделение примесей производится непосредственно из бражки (в одной колонне совмещены бражная и элюационная колонны), т. е. из разбавленного водно-спиртового раствора.

В установках полупрямого действия бражка не подвергается элюации, однако бражные пары в этом аппарате не конденсируются, а направляются в элюационную колонну. Освобожденный от летучих примесей элюат поступает в ректификационную колонну. Установки прямого действия более экономичны, но на практике широко применяются установки косвенного действия, которые стабильны в работе и просты в управлении и регулировании процесса.

Кроме основных колонн брагоректификационные установки могут быть оснащены вспомогательными колоннами: экстрактивно-ректификационной (сивушной) колонной для регенерации этанола из фракции сивушных масел (12 тарелок), разгонной колонной для регенерации этанола из головной фракции (40 тарелок) и колонной окончательной очистки (70 тарелок), обеспечивающей высокое качество товарного этанола повторной очисткой ректифицированного спирта.

Трехколонная брагоректификационная установка косвенного действия представлена на рис. 2.3.

Поступающая на установку бражка подогревается в первых двух секциях дефлегматора бражной колонны, освобождается от диоксида углерода в сепараторе и вводится на 23-ю тарелку бражной колонны. Неконденсирующиеся газы из сепаратора проходят конденсатор и спиртоловушку для улавливания паров этанола, конденсат которых направляется в элюационную колонну. Дистиллят бражной колонны, содержащий около 50% этанола, поступает на 23-ю тарелку элюационной колонны. Из кубовой части бражной колонны выводится обесспиртованная бражка (послеспиртовая барда), содержащая не более 0,02 об. % этанола и являющаяся отходом производства.

Пары, выходящие из элюационной колонны, конденсируются в дефлегматоре и дополнительном конденсаторе, из которого отбирается головная фракция, содержащая 85–90% этанола, 2–6% летучих примесей и 5–6% воды.

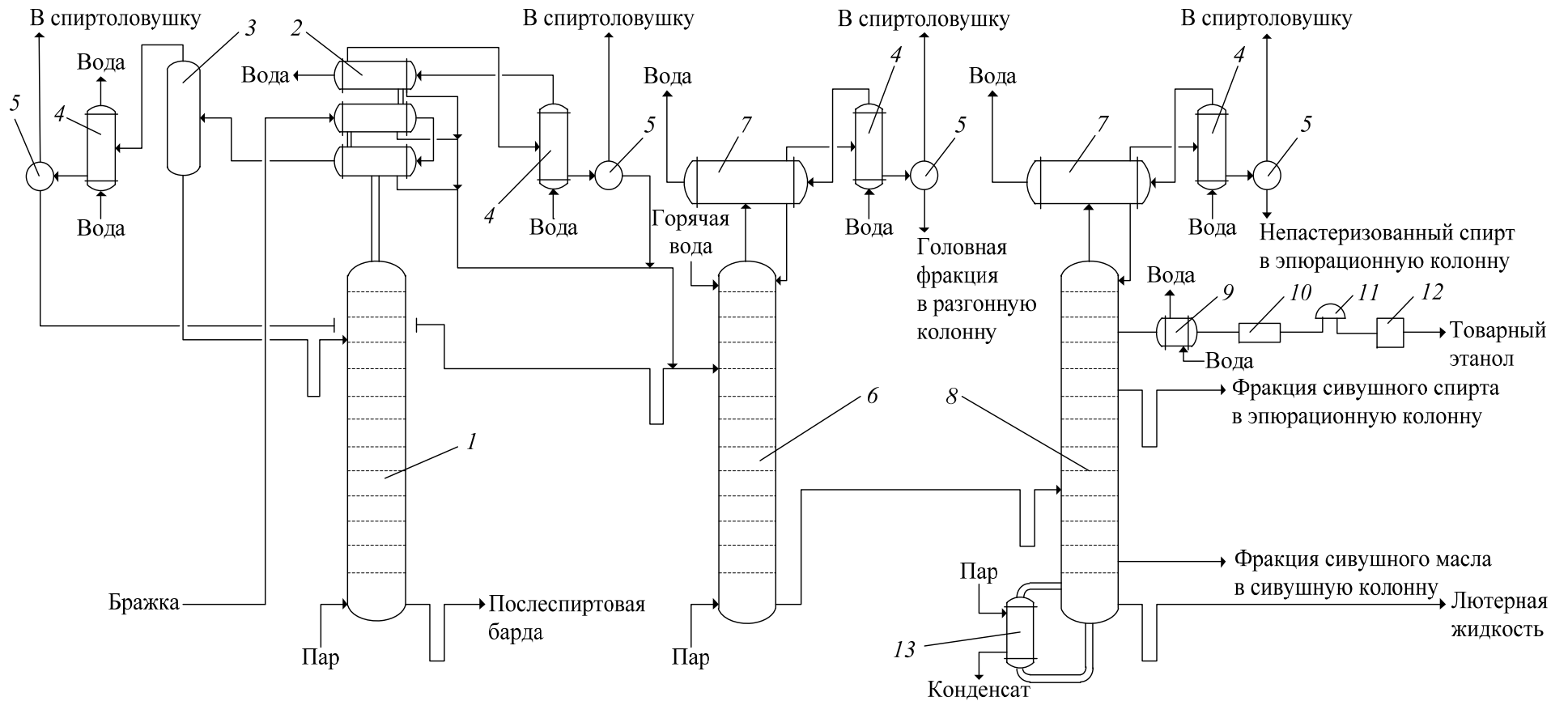


Рис. 2.3. Схема трехколонной брагоректификационной установки косвенного действия:

1 – бражная колонна; 2 – 3–5-секционный дефлегматор; 3 – сепаратор CO_2 ; 4 – конденсатор; 5 – подпорная бутылка; 6 – элюационная колонна; 7 – дефлегматор; 8 – спиртовая колонна; 9 – холодильник этанола; 10 – фильтр; 11 – эпруvetteка; 12 – контрольный снаряд; 13 – греющая камера

Головная фракция направляется в разгонную колонну для регенерации этанола и концентрирования головных примесей, используемых в парфюмерной промышленности. Конденсат из дефлегматора поступает на орошение колонны. Для эффективного отделения летучих примесей на верхнюю тарелку колонны подают воду (для разбавления этанола) в таком количестве, чтобы концентрация спирта в эюрате (на выходе из кубовой части колонны) была не ниже 35 об. %. Такой прием получил название *гидроселекция*.

Эюрат поступает самотеком на 16-ю тарелку спиртовой колонны, также оснащенной дефлегматором и конденсатором. Основная масса пара, выходящего из колонны, конденсируется в дефлегматоре и используется в виде флегмы. Из конденсатора отбирается непастеризованный спирт, который содержит головные и концевые примеси и в связи с этим направляется в эюрационную колонну. Ректифицированный (пастеризованный) спирт (96,4–96,6 об. % этанола) отбирается с 8–10 тарелки, считая от верха колонны. Товарный этанол проходит холодильник, фильтр, эпруветку (смотровой фонарь), контрольный снаряд (счетчик этанола) и поступает в спиртоприемное отделение.

Промежуточные примеси выводятся из спиртовой колонны в виде двух фракций: фракции сивушных масел (в основном изоамиловый, амиловый и изобутиловый спирты), которая отбирается с 7–9 тарелки от низа колонны, и фракции сивушного спирта (главным образом пропиловый спирт), отбираемой с 17–19 тарелки. Сивушный спирт возвращается в эюрационную колонну и периодически удаляется из установки в виде побочного продукта.

Фракция сивушного масла содержит около 60 об. % этанола и направляется в сивушную (экстрактивно-ректификационную) колонну для регенерации этанола и получения товарного сивушного масла. Из кубовой части спиртовой колонны отбирается лютерная жидкость, содержащая не более 0,02 об. % этанола.

Выход фракций от содержащегося в бражке этанола составляет: фракции сивушного масла – 0,4%, головной фракции – 2,5%, непастеризованного спирта – 3,0%.

Бражная и эюрационная колонны могут обогреваться как глухим, так и острым паром. Спиртовая колонна обогревается только глухим паром, чтобы исключить разбавление товарного спирта.

Колонна окончательной очистки гарантирует получение товарного спирта высокого качества и может работать в режиме повторной эюрации или в режиме повторной ректификации спирта. В первом случае спирт из ректификационной колонны поступает на

тарелку 14 или 20, считая снизу колонны. Головные примеси и метанол отбираются из конденсатора и отводятся в эспурационную колонну. Товарный спирт выводится из кубовой части колонны. При работе колонны окончательной очистки в режиме повторной ректификации спирт из спиртовой колонны поступает на тарелки 2 или 4 (считая снизу колонны). Непастеризованный спирт отбирается из конденсатора и направляется в эспурационную колонну (тарелки 3, 4, считая сверху).

Товарный спирт отбирается с тарелок 8–10, считая от верха колонны.

В *сивушной колонне* проводят дальнейшее концентрирование сивушного масла и других примесей, начатое в спиртовой колонне. Фракция сивушного масла отбирается из спиртовой колонны в паровой фазе и транспортируется греющим технологическим паром с помощью эжектора под нижнюю тарелку колонны. На верхнюю тарелку колонны для рассиропки (снижения концентрации этанола) подается горячая вода (95°C) с таким расчетом, чтобы концентрация спирта в кубовой жидкости составляла 1,5–3,0%. Водно-спиртовые пары конденсируются в дефлегматоре и конденсаторе. Конденсат разделяется в декантаторе. Нижний слой (водный раствор этанола) поступает в колонну в виде флегмы, а верхний (сивушное масло) направляется в промыватель для экстракции водой остаточного этанола. Смесь расслаивается в декантаторе с получением товарного сивушного масла, которое может быть использовано для получения чистых высших спиртов (амилового, изоамилового, бутилового). Водно-спиртовой раствор возвращается в эспурационную (или бражную) колонну.

Схема обвязки сивушной колонны приведена на рис. 2.4.

Выделение спирта из головной фракции осуществляют в *разгонной колонне* (40 тарелок, питающая 16-я тарелка). На верхнюю тарелку колонны также подается горячая вода (90°C) для гидроселекции. Колонна обогревается острым паром. Пары летучих примесей конденсируются в дефлегматоре и конденсаторе. Конденсат разделяется в декантаторе. Нижний слой (водный раствор этанола) поступает в колонну в виде флегмы, а верхний слой представляет собой эфиральдегидный концентрат, который находит применение в производстве душистых веществ. Для промывки сивушного масла и гидроселекции используют лютерную жидкость спиртовой колонны.

Допустимые потери спирта в брагоректификационных установках составляют 0,8–1,2%.

Ректификация бражки является энергоемким процессом. Расход пара на 1 дал ректифицированного спирта достигает 30–35 кг.

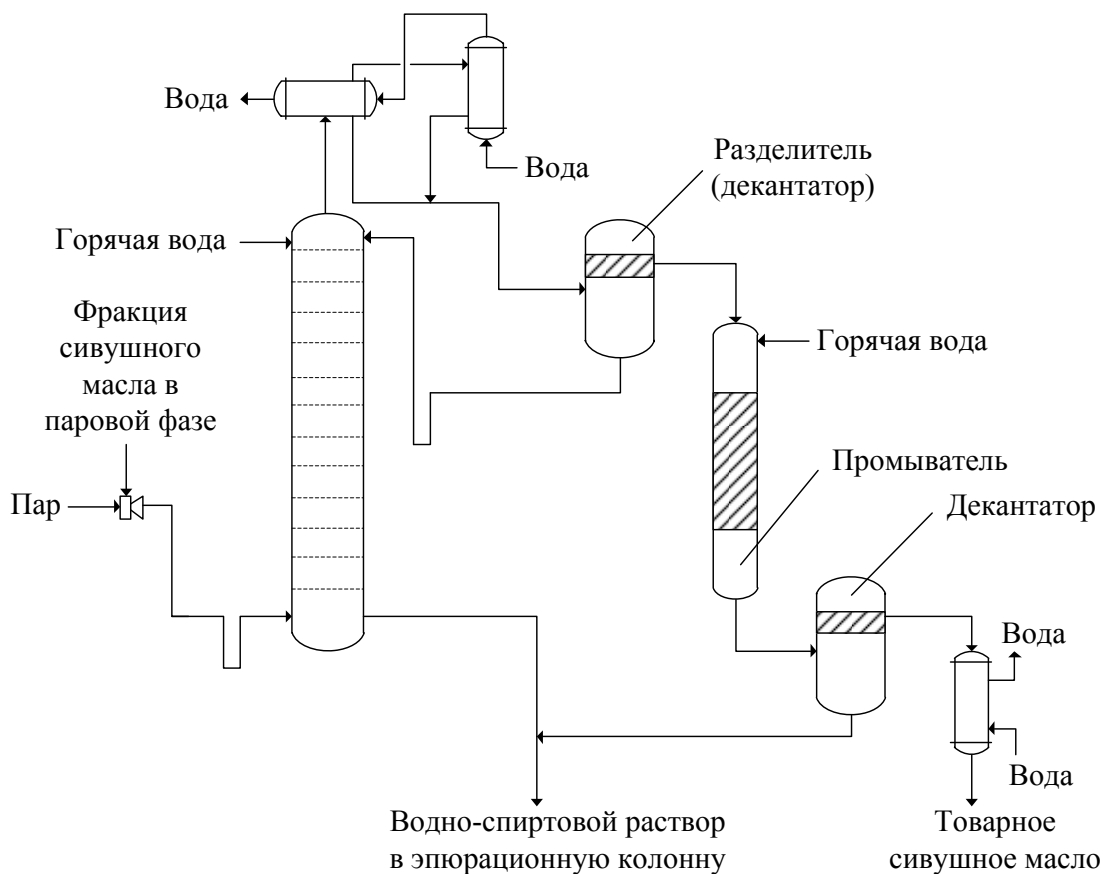


Рис. 2.4. Схема обвязки сивушной колонны

Около 70% от общего расхода пара приходится на бражную колонну. Одним из путей снижения энергозатрат является перевод одной или нескольких колонн брагоректификационной установки на работу под разрежением. Чаще всего под разрежением работает бражная колонна, которая обогревается в этом случае за счет теплоты конденсации спиртоводных паров, выходящих из спиртовой колонны. На установках с вакуумными колоннами расход пара может быть снижен на 35–40%. Однако установки с колоннами, работающими под разрежением, более сложны в аппаратном оформлении и в эксплуатации.

2.6. Безопасная эксплуатация брагоректификационных установок

Пары спирта и в особенности сопутствующих ему примесей (прежде всего метанола) даже при небольшом содержании в воздухе обладают токсичностью для обслуживающего персонала и в определенных соотношениях с воздухом образуют взрывоопасную смесь. Спирт и его примеси легко воспламеняются. Особую опасность представляет метанол

(в составе головной фракции), поражающий зрительные нервы и приводящий к летальному исходу при приеме внутрь в количестве более 30 мл.

Ректификационное отделение по пожарной опасности относится к категории А, по взрывоопасности – к классу В-1А. Оно должно иметь надежно работающую (в том числе аварийную) вентиляцию и необходимые средства для пожаротушения.

При обслуживании ректификационных установок *запрещается*:

1) эксплуатировать колонны, если имеются подтеки горючих жидкостей в сальниках, трубопроводах, фланцевых соединениях и других элементах установки;

2) применять открытый огонь, выполнять действия с нагретыми металлическими предметами (паяльниками), с оборудованием и инструментами, способными дать искру;

3) хранить в ректификационном отделении самовоспламеняющиеся материалы;

4) повышать давление в ректификационных колоннах сверх нормативного;

5) чистить отдельные аппараты во время работы ректификационной установки.

Перед ремонтом установок или отдельных их элементов необходимо провести стяжку спирта из установки, промывку и пропаривание водяным паром колонн, дефлегматоров, конденсаторов, холодильников, а емкости, содержавшие спирт, промыть с полным заполнением водой.

Фланцевые соединения на трубопроводах спирта и фракций должны быть закрыты опломбированными кожухами, чтобы исключить несанкционированный отбор жидкостей. Предусматривается защита оборудования, емкостей и трубопроводов от накопления статического электричества заземлением.

3. ПРОИЗВОДСТВО БИОГАЗА

В современных условиях для человечества очень важны две проблемы: дефицит энергоносителей и охрана окружающей среды. Именно эти проблемы обусловили формирование нового научно-технического направления – *биоэнергетики*, суть которого состоит в получении и использовании энергии топлива из возобновляемого органического сырья: растительной биомассы, сельскохозяйственных, бытовых и промышленных отходов. Запасы растительной биомассы на Земле оцениваются в 1836 млрд. т, что по энергосодержанию эквивалентно 640 млрд. т нефти. Природоохранный аспект биоэнергетики очевиден: энергетическая переработка отходов приводит к значительному уменьшению загрязненности окружающей среды.

Способы получения энергии и топлива из растительной биомассы и отходов разнообразны: сжигание, сухая перегонка, гидролиз с последующей биоконверсией продуктов гидролиза, ферментативное анаэробное разложение.

Наибольший интерес представляют экономичные анаэробные технологии: метановое сбраживание с получением биогаза; биоконверсия в этанол; анаэробная ферментация с образованием ацетона, бутанола и водорода. Одним из наиболее эффективных методов переработки органических отходов является метановое сбраживание, в результате которого органические вещества отходов превращаются в биогаз. Состав биогаза, а также его выход сильно зависят от природы (химического состава) перерабатываемого отхода и колеблется в достаточно широких пределах (об. %): CH_4 – 55–80; CO_2 – 15–50; N_2 – до 5; O_2 – до 3; H_2S – до 3. Энергетический потенциал биогаза составляет 20–27 МДж/н. м³, плотность при нормальных условиях – 0,98–1,40 кг/м³. По теплотворной способности 1 н. м³ биогаза эквивалентен 0,6 дм³ керосина, или 1,5 кг угля.

Известно, что развитие биогазовых технологий позволяет решать *проблемы*, которые особенно характерны для сельской местности:

- экологическую – утилизация отходов агропромышленного комплекса, бытовых отходов;
- энергетическую – получение газообразного топлива, электрической и тепловой энергии;
- агрохимическую – производство экологически чистых органических удобрений;
- социальную – улучшение условий труда и быта сельского населения.

Мировое производство биогаза для практического применения составляет более 700 млрд. м³ в год. Биогазовые технологии широко распространены в Китае, Индии, США, Канаде, Германии, Англии, Швейцарии и в ряде других стран. В Китае и Индии количество находящихся в эксплуатации биогазовых установок исчисляется миллионами. В Российской Федерации имеется небольшое число действующих промышленных биогазовых установок, предназначенных главным образом для переработки осадков коммунальных очистных сооружений крупных городов. Часть построенных метантенков не эксплуатируется либо функционирует без утилизации биогаза, что объясняется, как правило, отсутствием оборудованных контрольно-измерительными приборами систем биогазоснабжения, а также низким качеством метантенков. В Республике Беларусь анаэробные технологии утилизации органических отходов только начинают внедряться в результате закупки единичных биогазовых установок за рубежом.

3.1. Характеристика метанового брожения

Анаэробная переработка органических отходов осуществляется при создании анаэробных условий без специальной микробной инокуляции за счет спонтанно развивающихся микроорганизмов, присутствующих в отходах и окружающей среде.

Процесс анаэробного превращения органических веществ с образованием биогаза (метановое брожение) протекает через четыре последовательных *стадии* (рис. 3.1):

1) стадия гидролиза сложных биополимерных молекул (белков, липидов, полисахаридов и др.) на более простые олиго- и мономеры: аминокислоты, углеводы, жирные кислоты и др.;

2) кислотогенная стадия – образовавшиеся мономеры конвертируются бактериями-бродильщиками в ряд простых соединений: летучие жирные кислоты, спирты, молочную кислоту, метанол, CO₂, H₂, NH₃ и H₂S;

3) ацетогенная стадия – образовавшиеся на предыдущей стадии продукты конвертируются в ацетат, H₂, CO₂;

4) метаногенная стадия – уксусная кислота, H₂ и CO₂, муравьиная кислота и метанол трансформируются в метан и CO₂.

Все эти превращения осуществляет сложное по составу сообщество микроорганизмов (несколько сотен видов), среди которых преобладают бактерии.

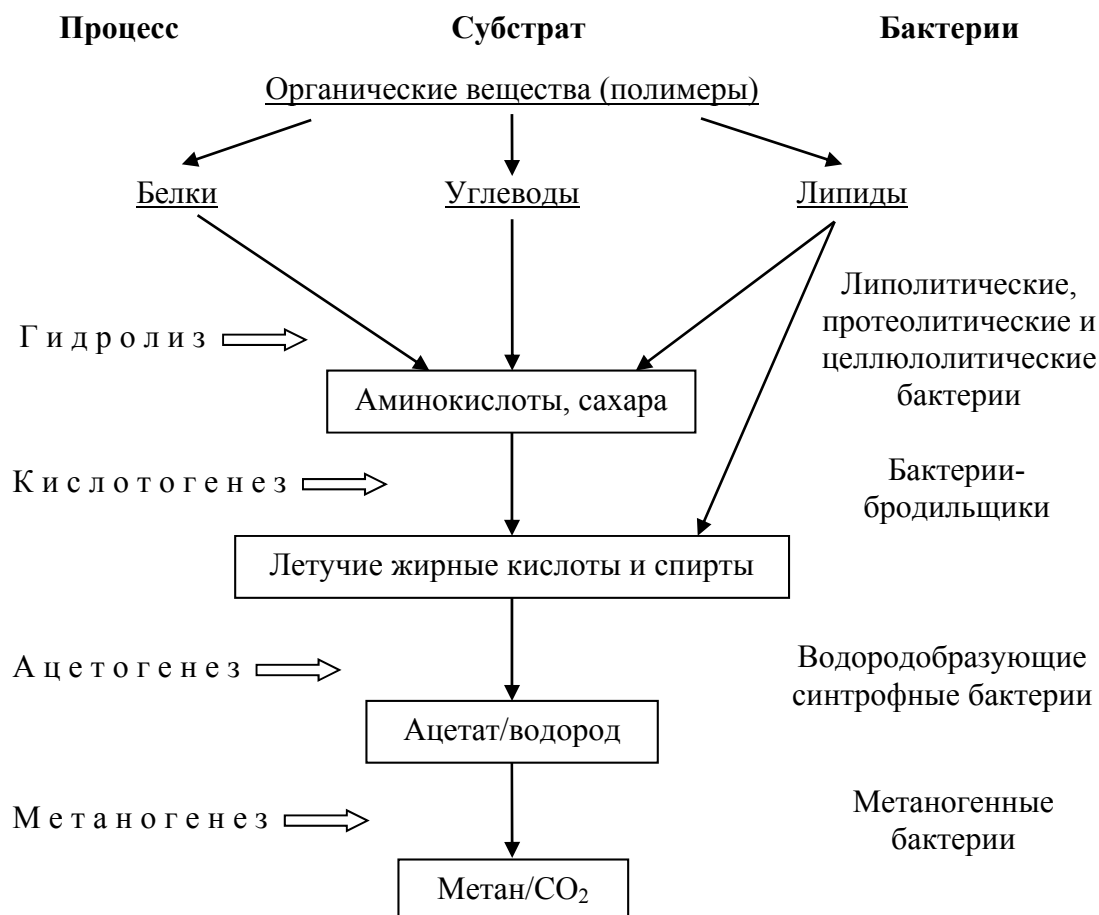


Рис. 3.1. Общая схема метаногенеза

Гидролиз биополимеров осуществляется экзогенными ферментами, экскретируемыми в ферментационную среду гидролитическими микроорганизмами. Выделены и описаны анаэробные гидролитические бактерии, разлагающие целлюлозу, гемицеллюлозу, крахмал, пектин. Они принадлежат к родам *Clostridium*, *Bacteroides*, *Acetivibrio*, *Eubacterium*, *Bacillus*, *Lactobacillus* и др.

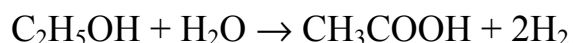
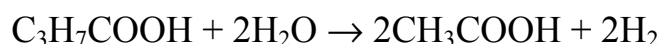
Большинство протеолитических бактерий метантенков являются клостридиями. Обнаружены также обладающие протеолитической активностью бактерии родов *Peptococcus*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Termobacteroides*.

Наименее изучен процесс анаэробного гидролиза липидов. Микроорганизмы с липолитической активностью представлены клостридиями и микрококками.

Присутствующий в растительных тканях лигнин в анаэробных условиях практически не гидролизуется. Лишь небольшие его фрагменты с низкой молекулярной массой могут разлагаться в метантенках с образованием CO₂, CH₄ и ацетата.

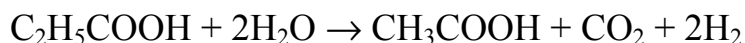
Стадия гидролиза при анаэробном сбраживании тесно связана с кислотогенной стадией (брожением). Между этими стадиями нет четкой границы, так как обладающие гидролитической активностью микроорганизмы используют продукты гидролиза для накопления биомассы. Большая часть бактерий-бродильщиков является строгими анаэробами (*Clostridium*, *Bacteroides*, *Eubacterium* и др.), но в значительном количестве присутствуют и факультативные анаэробные бактерии, например рода *Streptococcus*. Из-за широкого видового разнообразия кислотогенные бактерии достаточно устойчивы к изменениям условий среды метантенка. Отходы, содержащие в значительном количестве соединения серы и азота, могут индуцировать рост сульфатредуцирующих бактерий и денитрификаторов.

Ацетогенные бактерии осуществляют разложение продуктов кислотогенной стадии: дегидрогенизацию жирных кислот с более длинной, чем у уксусной кислоты цепью и расщепление спиртов до ацетата:



Это протонвосстанавливающие синтрофные бактерии (*Syntrophomonas*, *Syntrophobacter*), нуждающиеся в водородиспользующих партнерах, роль которых выполняют метановые бактерии и сульфатредукторы.

Различают две группы ацетогенных бактерий, одна из которых образует ацетат из продуктов стадии кислотообразования с выделением водорода, а вторая приводит к образованию уксусной кислоты с использованием водорода для восстановления CO_2 :

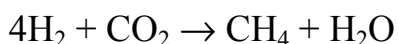
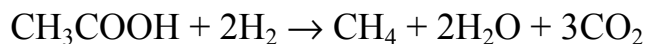


Фактически ацетогенные бактерии подготавливают субстрат, пригодный для жизнедеятельности метанобразующих бактерий, завершающих сложный процесс распада органического вещества в анаэробных условиях.

В метаногенном биоценозе имеет место более чем 10-кратное численное превосходство разнообразия ферментативных бактерий над метанобразующими (из 300 видов анаэробных микроорганизмов продуцируют метан около 30 видов).

Метаногенные бактерии – наиболее капризная с точки зрения условий культивирования группа среди симбионтов, участвующих в

анаэробном сбраживании. Они требуют строжайшего анаэробноза, нейтральной или слабощелочной реакции среды (рН 6–8), нуждаются в микроколичествах кобальта, молибдена, никеля, могут использовать в качестве источников энергии и углерода только 8 субстратов (CO₂ + H₂, формиат, закись углерода, метанол, ацетат, моно-, ди- и триэтанолламины), из которых наиболее важными являются ацетат и CO₂ + H₂:



При анаэробном разложении сложных органических веществ более 70% метана образуется из ацетата. Метаногенные бактерии 90–95% используемого углерода превращают в метан, и только 5–10% углерода расходуется на прирост биомассы.

Известно более 45 видов метаногенов, принадлежащих к 13 родам: *Methanobacter*, *Methanococcus*, *Methanogenum*, *Methanosarcina*, *Methanotherix* и др. Метанообразующие бактерии отличаются морфологическим разнообразием. Среди них имеются палочковидные, округлые, спиральные, нитевидные формы.

Процесс анаэробной конверсии органических веществ в метан лимитируется либо скоростью гидролитического расщепления биополимеров (если таковые содержатся в перерабатываемом сырье в большом количестве), либо скоростью трансформации ацетата в метан. Последнее обстоятельство связано с низкими скоростями роста и размножения ацетатиспользующих и метаногенных бактерий. Например, время генерации (удвоение биомассы) бактерий рода *Methanosarcina* составляет 20–30 ч, рода *Methanotherix* – 200–300 ч. Для сравнения укажем, что при 35°C время удвоения биомассы гидролитических микроорганизмов составляет 10–20 ч, кислотогенов – 1–10 ч, синтрофных (ацетогенных) бактерий – около 100 ч, водородиспользующих метаногенов – 15–100 ч.

Общая скорость метангенерации определяется температурой процесса, химическим составом сырья, плотностью бактериальной ассоциации, степенью гомогенизации ферментационной среды.

Термофильный процесс (40–55°C) протекает в 2–3 раза быстрее, чем мезофильный (20–40°C). При температуре ниже 20°C активность анаэробной биомассы значительно уменьшается. Чаще всего скорость поступления сырья в метантенк, функционирующий в проточном режиме, составляет 7–20% от рабочего объема аппарата в сутки (удельная скорость протока 0,07–0,20 сут⁻¹). При наличии в ферментационной

среде только растворенных соединений скорость метангенерации выше, чем в средах, содержащих твердые органические включения.

Экономически целесообразно разделение процесса на две стадии (фазы) – кислотную (рН 6,0–6,5) и метановую (рН 6,5–8,0), осуществляемые в двух последовательно соединенных аппаратах. Это технологическое решение требует увеличения капитальных вложений, но за счет пространственной сукцессии микроорганизмов общая скорость анаэробной трансформации субстрата возрастает примерно в 1,5 раза.

С каждой тонны сброженного сухого органического вещества образуется 300–600 н. м³ биогаза. Чем больше содержится в перерабатываемом сырье восстановленных органических соединений, тем выше концентрация метана в биогазе. В частности, при анаэробном сбраживании углеводов образуется больше диоксида углерода (выход метана составляет 0,42–0,47 м³/кг), жиры в этих условиях расщепляются с образованием преимущественно метана (до 1 м³/кг).

3.2. Технологические аспекты производства биогаза

В качестве сырья для производства биогаза могут быть использованы отходы, содержащие биологически разлагаемое органическое вещество, имеющие высокую влажность (90–94%), нейтральную или близкую к нейтральной величину рН и не содержащие токсичных химических соединений (антибиотиков, СПАВ и др.) в концентрациях, ингибирующих рост и размножение бактерий. Прежде всего это отходы животноводческих комплексов и птицефабрик, осадки коммунальных и производственных сооружений по очистке сточных вод, промышленные органосодержащие отходы. В США и некоторых странах Западной Европы получает распространение анаэробная переработка городского мусора. Твердофазная метангенерация возможна при условии, что влажность отходов не ниже 30–40%.

Одним из основных сырьевых ресурсов для получения биогаза является *навоз*. Концентрация животных на крупных фермах и комплексах приводит к резкому увеличению объемов навозных отходов, являющихся серьезным источником загрязнения окружающей среды, в том числе нитратами, патогенными микроорганизмами. Метановое сбраживание является рациональным способом обезвреживания навозных отходов с одновременным получением экологически чистого органического удобрения и газообразного энергоносителя. Анаэробная обработка навоза обеспечивает его дезодорацию, дегельминтизацию, потерю способности

семян сорных растений к всхожести, практически полное сохранение важнейших питательных элементов – азота, фосфора, калия.

В мировой практике получили распространение биогазовые установки двух типов: внутрифермерские, обеспечивающие переработку навоза фермы (комплексов) с использованием полученного биогаза на внутрипроизводственные и бытовые нужды; крупные централизованные установки производственного типа, перерабатывающие навозные отходы близлежащих животноводческих ферм и поставляющие очищенный биогаз внешним потребителям.

По принципу функционирования различают установки непрерывной (проточной), периодической и аккумулятивной (бассейновой) систем сбраживания. **Непрерывная система** наиболее пригодна для крупных биогазовых установок, обеспечивает равномерное образование и максимальный выход биогаза. Исходный субстрат поступает в камеру сбраживания (метантенк) непрерывно или порциями, равномерно, до 10 раз в сутки.

Установки **периодической системы** включают две или несколько камер сбраживания, которые загружаются и разгружаются попеременно. При загрузке камеры исходный субстрат смешивается с затравочным остатком сброженного на предыдущей операции навоза. Выделение биогаза неравномерное; начинается по истечении 5–10 сут, достигает максимума и постепенно уменьшается до минимума. Коэффициент использования полезного объема камеры значительно ниже по сравнению с непрерывной системой.

При **аккумулятивной (бассейновой) системе** сбраживания хранилище для навоза выполняет роль камеры сбраживания и одновременно служит для хранения сброженного навоза до его выгрузки. Эта система используется редко, главным образом при переработке жидкого сточного навоза.

Основным оборудованием биогазовой установки является камера сбраживания (метантенк, ферментатор) с нагревательным и перемешивающим устройствами и емкость для хранения биогаза – газгольдер. Метантенки имеют объем от одного десятка до нескольких тысяч кубических метров. Аппараты должны быть герметичными, иметь хорошую теплоизоляцию (практикуется заглубление метантенков в грунт), высокую коррозионную стойкость. Метантенки малых размеров изготавливаются из листовой стали или пластика (полистирола, полипропилена), большие камеры сооружаются из сборного железобетона. Форма метантенков разнообразна (рис. 3.2).

Наиболее благоприятные гидродинамические условия для перемешивания и тока жидкости создаются в метантенках овальной формы. Цилиндрические камеры с коническими нижней и верхней частями более просты в изготовлении и обеспечивают возможность удаления сверху корки и снизу отстоявшейся жидкой массы. Перемешивание содержимого в цилиндрических метантенках с плоскими крышкой и днищем требует больших удельных затрат энергии. Преимущество камер такой конструкции заключается в технологичности их изготовления. Расположение горизонтальных камер под углом к горизонту способствует лучшему заполнению, смешиванию и выгрузке навоза.

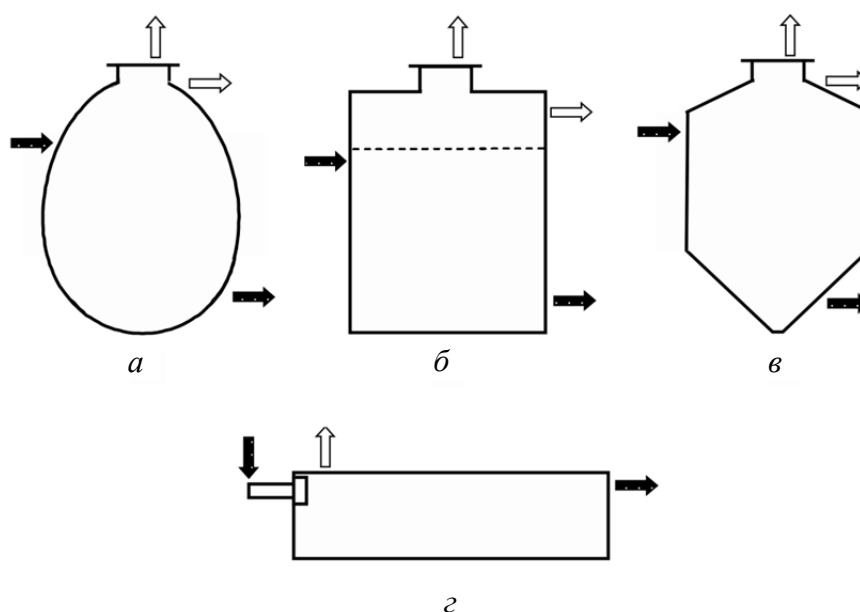


Рис. 3.2. Формы камер сбраживания:
a – овальная; *б* – цилиндрическая; *в* – цилиндроконическая;
г – наклонно-горизонтальная

Нагревательные устройства. Биометаногенез может протекать при различных температурных режимах: психрофильном (до 20°C), мезофильном (20–40°C) и термофильном (40–50°C). Повышение температуры увеличивает скорость сбраживания субстрата. Одновременно возрастает потребность в тепловой энергии на поддержание требуемой температуры ферментационной среды в метантенке. В среднем на стабилизацию температуры в мезофильном процессе расходуется 15–25% образующегося биогаза, а в термофильном – 35–50%.

Подогрев перерабатываемого навоза может осуществляться перед его загрузкой или непосредственно в метантенке. Наиболее характерные технические решения нагревательных устройств приведены на рис. 3.3.

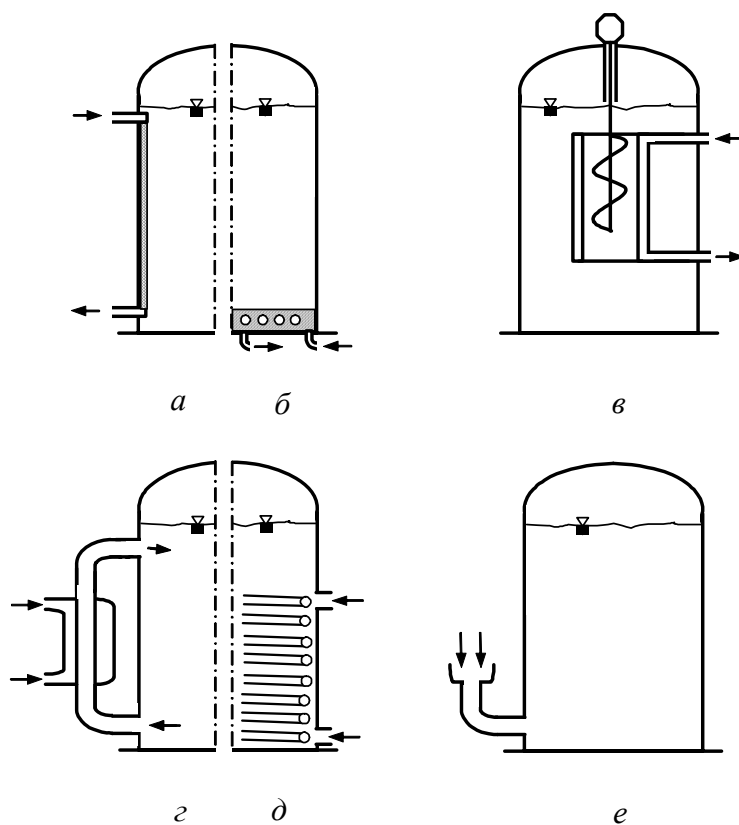


Рис. 3.3. Схемы нагревательных устройств:
a – настенное отопление; *б* – донное отопление; *в* – отопительный цилиндр;
г – теплообменник; *д* – отопительный змеевик; *е* – нагнетание пара

Греющим агентом в теплообменных устройствах является вода. При малой скорости движения ферментационной среды у поверхности нагревателя и температуре греющего агента выше 60°C взвешенные вещества отлагаются на теплопередающей поверхности и коэффициент теплопередачи снижается. Наиболее эффективен нагрев сбраживаемого материала острым паром или циркуляцией содержащего метантенка через обогреваемый горячей водой теплообменник. Следует учитывать, что в первом случае возрастает содержание влаги в отводимом из метантенка биогазе.

Перемешивание ферментационной среды. При переработке навоза перемешивание сбраживаемого материала является непременным условием эффективной ферментации в связи с тем, что происходит выравнивание температуры в реакционном объеме, ликвидируется градиент концентрации биомассы микроорганизмов и взвешенных веществ по высоте аппарата, улучшается контакт бактерий с субстратом, интенсифицируются массообменные процессы.

Распространенные системы перемешивания среды в метантенках представлены на рис. 3.4.

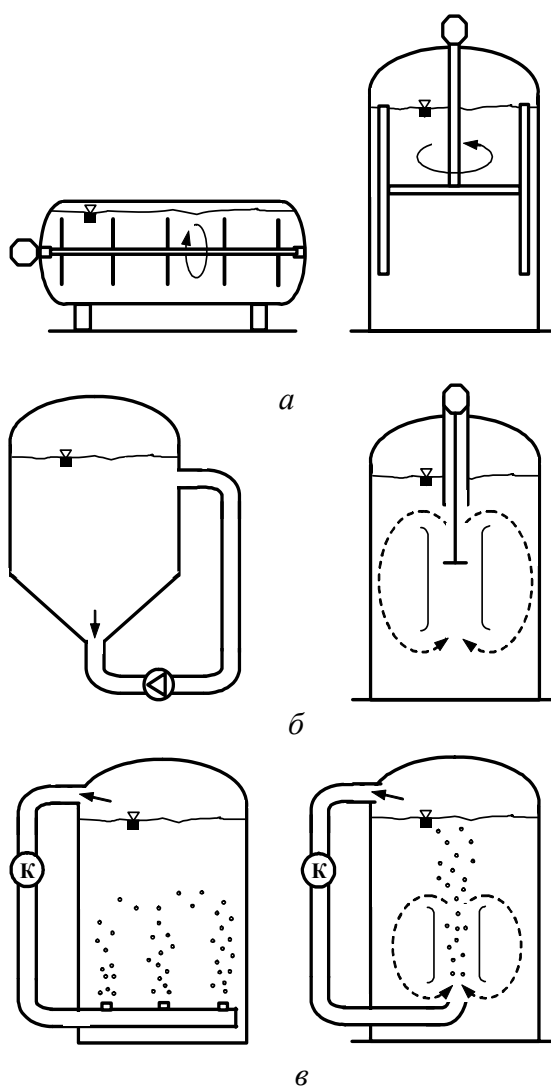


Рис. 3.4. Схемы устройств для перемешивания субстрата:
а – механическое перемешивание; *б* – гидравлическое перемешивание;
в – перемешивание газом

Механические перемешивающие устройства целесообразно применять в метантенках небольшого объема (до 100 м³). Наличие сальниковых уплотнений вала мешалки в реакторе снижает взрывобезопасность устройства. В крупных метантенках эффективно гидравлическое перемешивание или за счет барботаж биогазом, нагнетаемым компрессором из газовой зоны реактора, или из газгольдера. При перемешивании биогазом возникает опасность флотации включений и интенсивного коркообразования на поверхности среды.

Хранение биогаза. В подавляющем большинстве случаев целесообразно использовать биогаз в качестве топлива на месте его производства. При равномерном потреблении биогаза обеспечивают его резерв в объеме не более суточного расхода в емкостных аппаратах-хранилищах различного типа (рис. 3.5).

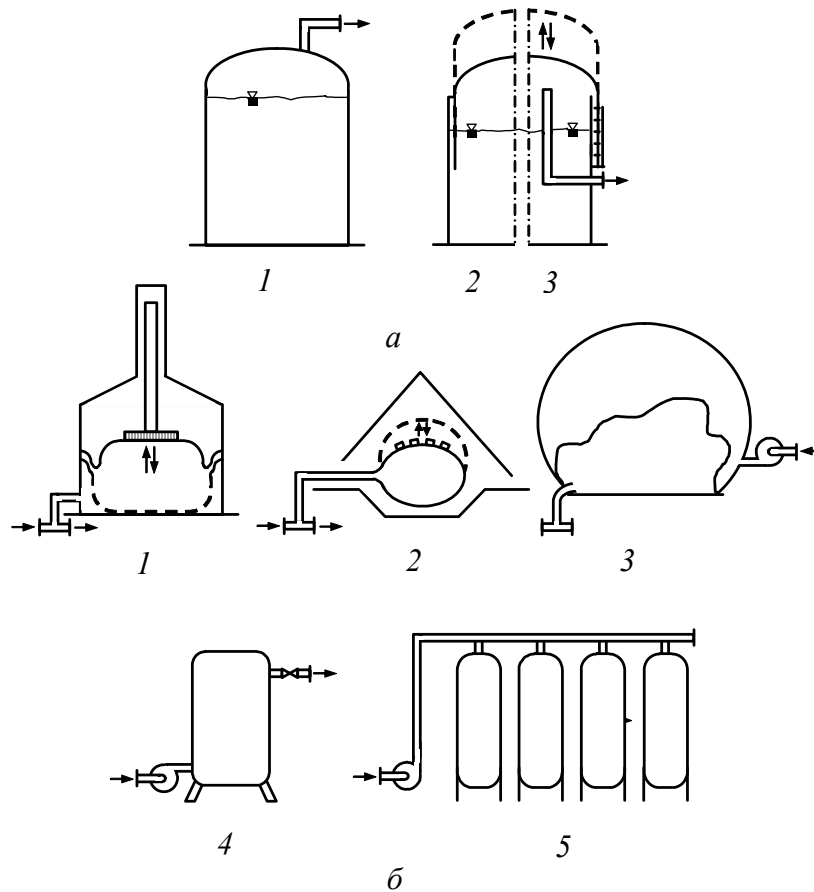


Рис. 3.5. Типы газгольдеров:

a – совмещенные низкого давления:

1 – постоянного объема; *2, 3* – переменного объема;

б – отдельные низкого давления:

1, 2 – переменного объема «сухие»; *3* – пневморегулируемый;

4 – отдельный среднего давления; *5* – отдельный высокого давления

Газгольдеры изготавливаются из стального листа, пластика, газонепроницаемых прорезиненных тканей или синтетических пленок. Они могут быть «сухими» и «мокрыми», постоянного или переменного объема, низкого (<5 кПа), среднего (0,2–2,0 МПа) или высокого (>20 МПа) давления.

Чаще всего в биогазовых установках используют газгольдеры низкого давления (давление в метантенках обычно находится в преде-

лах 4–10 кПа). Высокое давление необходимо, если биогаз применяется в качестве горючего для транспортных средств.

Принимая давление биогаза после гидрозатвора метантенка 4 кПа, рекомендуют при проектировании системы сбора и транспортировки биогаза рассчитывать диаметр газопроводов так, чтобы давление биогаза у потребителя составляло 1,2–1,5 кПа, а в газгольдере поддерживалось на уровне 3 кПа. Система утилизации биогаза снабжается факельной «свечой» (для сжигания биогаза), на которую может быть направлен образовавшийся по каким-либо причинам излишек биогаза.

На газгольдер приходится значительная доля стоимости биогазовой установки, поэтому объем его рассчитывают на 2–4-часовой запас биогаза или на суточный запас для установок малой мощности с неравномерной выработкой биогаза.

Конструкции биогазовых установок. Несмотря на простой аппаратный состав, существует множество конструкций биогазовых установок, которые различаются главным образом устройством основного аппарата – метантенка, а также уровнем контроля и управления процессом. Можно выделить четыре *типа* установок:

- без подогрева и перемешивания сбраживаемой массы;
- без подогрева, но с перемешиванием ферментационной среды;
- с подогревом и перемешиванием сбраживаемого субстрата;
- с предварительной подготовкой субстрата к сбраживанию, подогревом и перемешиванием, с системой контроля и управления процессом анаэробного сбраживания.

Простейшие установки первого типа в большом количестве используются в странах с жарким климатом (Индия, Корея, Сингапур и др.). Разогрев, перемешивание и сбраживание массы в этих установках протекает неуправляемо и бесконтрольно, что обуславливает большую продолжительность процесса сбраживания (40 сут и более) и низкий удельный выход биогаза (не более 0,5 м³ на 1 м³ полезного объема метантенка в сутки). Повышение температуры сбраживания до 30°C и перемешивание ферментационной среды увеличивает выход биогаза в 2–2,5 раза (до 1,2 м³/м³ в сутки) и сокращает продолжительность процесса до 20–25 сут. Подземное расположение метантенков ограничивает возможности использования современных теплоизоляционных материалов, из-за чего ухудшаются теплотехнические показатели процесса.

Схема классической биогазовой установки для переработки навоза приведена на рис. 3.6. Метаногенез осуществляют, как правило, при температуре 30–37 или 50–57°C. Считают рациональной технологию двухстадийной ферментации со смешанным температурным

режимом. Первую стадию – кислотогенную – проводят при температуре 30–37°C, вторую – метаногенную – при 50–57°C. Такая технология позволяет экономить энергию при сохранении высокой скорости метаногенеза.

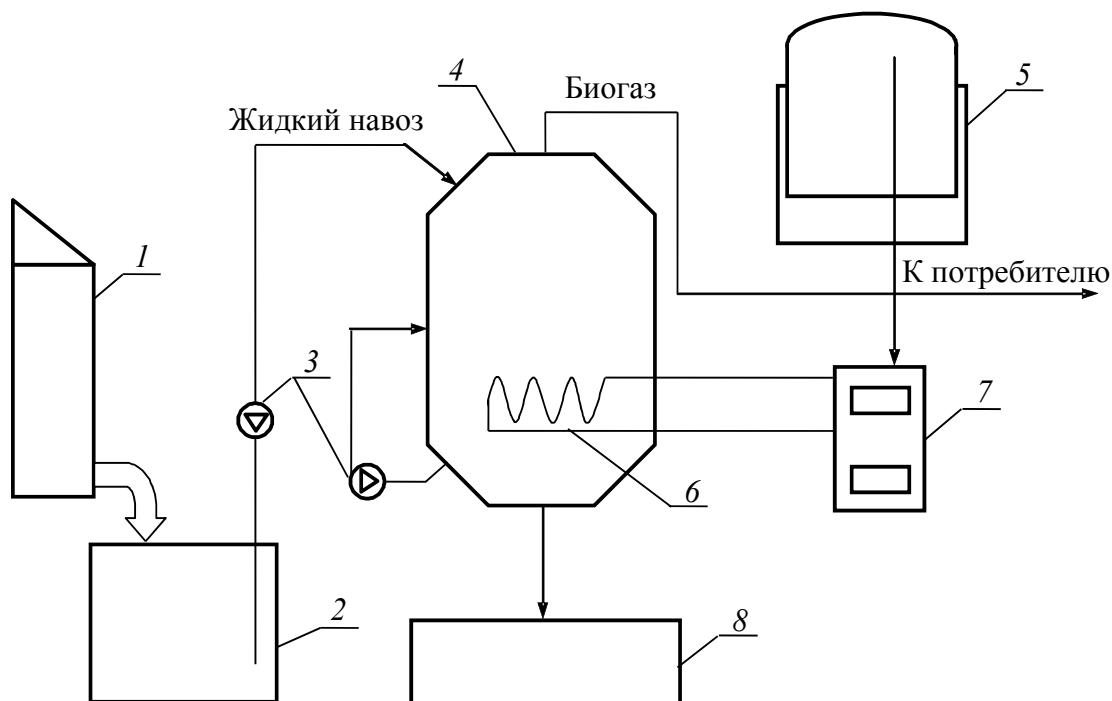


Рис. 3.6. Технологическая схема производства биогаза:
 1 – ферма; 2 – навозоприемник; 3 – насос; 4 – метантенк; 5 – газгольдер;
 6 – теплообменник; 7 – котел; 8 – приемник сброженной массы

Степень разложения органического вещества навоза при метановом сбраживании составляет 30–40%. Сброженный навоз удаляется из метантенка в накопитель насосом или самотеком через шлюзовую камеру. Способствует повышению выхода биогаза предварительное диспергирование твердых включений в потоке поступающего в метантенк навоза с помощью мешалки-измельчителя.

В современных биогазовых установках предусматривается автоматическое регулирование температуры сбраживания, уровня ферментационной среды в метантенке, операций по загрузке и разгрузке аппарата. За счет стабилизации оптимальных параметров технологического процесса можно обеспечить выход биогаза около 2 м³ в расчете на 1 м³ метантенка. Установлено, что на скорость процесса и выход биогаза влияет предварительная подготовка навоза, которая включает измельчение включений и выстаивание навоза при температуре метаногенеза до полного потребления кислорода из рабочей

суспензии, в результате чего создаются микроаэрофильные условия, способствующие активизации кислотогенных микроорганизмов. Запатентованы способы предварительной химической обработки навоза щелочью или слабой кислотой (до pH 3,5) с выдержкой в течение 6–12 ч при температуре 35–200°C и последующей корректировкой величины pH до оптимальной.

Современные технологии предусматривают отстаивание сброженного навоза на протяжении 10–12 ч, обезвоживание сформировавшегося осадка центрифугированием с получением удобрения и доочистку осветленной жидкости и фугата на аэробных очистных сооружениях. Возможно использование жидкой фракции в системе орошения сельскохозяйственных угодий. Сброженный навоз вносят на поля в осенне-весенне-летний период, в связи с чем предусматривают хранилище жидкого навоза вместимостью на 3-месячный запас и склад для хранения твердой фазы сброженного навоза. При анаэробной обработке навоза фосфор и калий практически полностью сохраняются в сброженной массе. Потери азота в процессе метаногенеза не превышают 5%.

Исходя из накопленного производственного опыта, в табл. 3.1 представлены усредненные данные по выходу навоза от сельскохозяйственных животных и птицы и количеству получаемого из него биогаза.

Таблица 3.1

Показатели по выходу биогаза из навоза

Показатель	Навоз		
	молочных коров	птицы	свиней
Выход на 1 голову в сутки:			
– навоза, кг	55,0	0,2	3,5
– биогаза, м ³	1,62	0,02	0,32
Объем биогаза, м ³ на 1 т сухого вещества навоза	300	600	500

Для экономии энергии на поддержание термофильного процесса сбраживания проектируют биогазовые установки в комплексе с солнечными водонагревателями или ветровыми двигателями для привода перемешивающего устройства.

Американские эксперты утверждают, что при максимальной утилизации сельскохозяйственных отходов можно за счет биогаза полностью обеспечить потребности сельского хозяйства в энергии.

Сбраживание *осадков городских очистных сооружений канализации* чаще всего осуществляют в мировой практике в мезофильном режиме (33–37°C) при продолжительности процесса 20–25 сут. Преимуществом такой обработки является высокая степень распада органического вещества (40%) и, соответственно, высокий выход биогаза, хорошие водоотдающие свойства осадка после сбраживания, а также минимальный расход тепла на поддержание требуемой температуры. Однако длительное время пребывания осадка в метантенках требует больших капитальных затрат на строительство установок.

В термофильных условиях (50–55°C) продолжительность сбраживания осадка значительно меньше (5–7 сут), но степень распада органического вещества и водоотдающие свойства осадка недостаточно высоки.

Лимитирующей стадией процесса сбраживания осадков сточных вод является гидролиз взвешенного (твердого) вещества, в связи с чем эту стадию целесообразно проводить в более интенсивном (термофильном) режиме. В дальнейшем процесс следует продолжать в мезофильных условиях для получения оптимальных водоотдающих свойств осадка. С учетом этого обстоятельства в ведущих странах мира стали применять термофильно-мезофильный режим сбраживания осадков.

Российскими учеными разработана технология двухфазного сбраживания осадков городских сточных вод, основанная на экстра-термофильном режиме работы метантенков первой фазы (температура 65°C, продолжительность процесса 0,6–1,0 сут) и мезофильном режиме второй фазы (температура 30°C, время пребывания осадка не менее 10 сут). Двухфазная технология обеспечивает увеличение степени распада органического вещества осадка по сравнению с мезофильным режимом в 1,2–1,6 раза (в зависимости от концентрации сухого вещества в осадке) и снижение дозы флокулянта при последующем механическом обезвоживании сброженного осадка на 40–50% (расход флокулянта составляет 3–4 кг/т сухого вещества осадка против 5–6 кг/т при обезвоживании термофильно сброженного осадка).

В основу технологии анаэробной переработки осадков очистных сооружений, разработанной на кафедре биотехнологии и биоэкологии, положены следующие технологические *решения*:

- 1) предварительная ферментативная обработка смеси сырого осадка и избыточного активного ила с целью разрушения трудно-расщепляемых полисахаридных компонентов;

- 2) разделение процесса анаэробного сбраживания осадков на стадиях преацидификации и метангенерации, реализуемых в отдельных аппаратах;

3) совмещение в одном аппарате процессов преацидификации осадков при температуре 50°C, ферментативной обработки и гравитационного разделения суспензии на осветленную жидкость и концентрат взвешенных веществ;

4) раздельное анаэробное сбраживание (метангенерация) осветленной жидкости в высокопроизводительном UASB-реакторе, а концентрата взвешенных веществ – в метантенке.

Разработанная технологическая схема анаэробного сбраживания осадков очистных сооружений приведена на рис. 3.7.

Исходная смесь сырого осадка и активного ила (содержание сухих веществ 1,6–1,9%) ступенчато подогревается до температуры 50°C и поступает в преацидификатор-разделитель 3. Подогрев осадков производится последовательно в спиральном теплообменнике 6 с использованием вторичного тепла сброженной массы и горячей водой в кожухотрубчатом теплообменнике 2. Во всасывающую линию подающего насоса дозируется раствор ферментного препарата. Продолжительность процесса преацидификации, совмещенного с ферментативной обработкой, составляет 20–24 ч. Повышенная температура в преацидификаторе (50°C) ускоряет ферментативное расщепление компонентов осадков. Экспериментально установлено, что за время выдержки в преацидификаторе происходит расслоение суспензии с образованием верхнего и нижнего слоев, содержащих взвешенные вещества, и среднего слоя осветленной жидкости.

Осветленная жидкость, занимающая около 70% общего объема преацидификатора и содержащая 0,23–0,45% сухих веществ, выводится из его средней части через гребенку штуцеров, смотровой фонарь 5 и спиральный теплообменник 6 в UASB-реактор 7, функционирующий в мезофильном режиме (36°C).

Трансформация растворенных веществ в биогаз в UASB-реакторе 7 осуществляется спонтанно формирующимся в аппарате гранулированным активным илом. Концентрат взвешенных веществ (около 30% от общего объема исходной смеси осадков) содержит 5,9–6,2% сухих веществ. Из сборника 12 концентрат направляется в метантенк 8, где сбраживается в мезофильном режиме (36°C) с образованием биогаза. Сброженная масса из метантенка совместно с избыточным активным илом из UASB-реактора поступает на обезвоживание центрифугированием 13. Кек используется в качестве удобрения в лесопитомниках. Осветленная жидкость из центрифуги 13 и UASB-реактора 7 поступает на городские очистные сооружения.

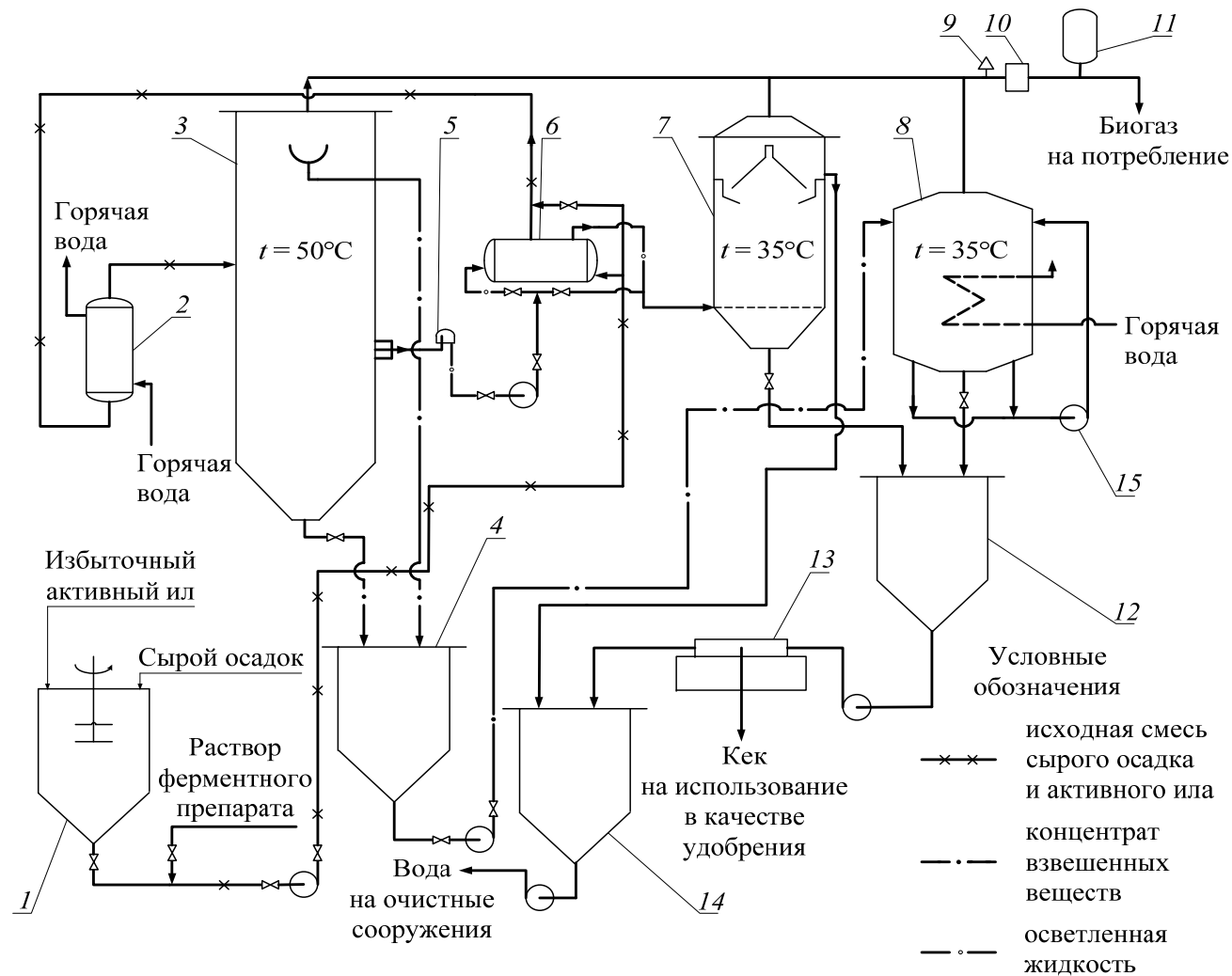


Рис. 3.7. Технологическая схема переработки осадков сточных вод:

- 1 – приемник-смеситель осадков; 2 – подогреватель кожухотрубчатый; 3 – преацидификатор-разделитель фаз;
 4 – сборник концентрата взвешенных веществ; 5 – смотровой фонарь; 6 – спиральный теплообменник; 7 – UASB-реактор;
 8 – метантенк; 9 – факельная «свеча» безопасности; 10 – установка сухой очистки биогаза от сероводорода; 11 – газгольдер;
 12 – приемник сброженной массы; 13 – декантерная центрифуга; 14 – сборник осветленной жидкости; 15 – циркуляционный насос

Биогаз после удаления водного конденсата и очистки от сероводорода направляется потребителю.

Достоинства предлагаемой технологии:

– интенсификация процесса генерации биогаза за счет ферментативной обработки осадков и применения высокоскоростного UASB-реактора;

– снижение капитальных затрат за счет резкого уменьшения требуемого объема метантенков в результате переработки 60–70% от общего объема осадков в высокоскоростном UASB-реакторе;

– уменьшение в 2,5–3 раза объема сброженной массы, подлежащей обезвоживанию, что снижает затраты реагентов и электроэнергии на процесс;

– возможность использования высокопроизводительного UASB-реактора для совместной анаэробной переработки осветленной жидкой части осадков и сточных вод других (например, молокоперерабатывающих) производств.

3.3. Подготовка и использование биогаза

При полном разложении органического вещества количество и состав биогаза определяется соотношением С : Н : О в исходном материале и температурой процесса брожения. Биогаз, полученный сбраживанием осадков городских очистных сооружений, отличается более стабильным составом (60–68% метана). При переработке отходов сельского хозяйства состав биогаза сильно колеблется (50–75% метана). Достаточно высокое содержание метана в биогазе обуславливает ряд *направлений* его использования:

1) в качестве топлива для получения пара, горячей воды, горячего воздуха или топочных газов;

2) для подпитки сетей природного газа;

3) с целью получения электроэнергии;

4) в качестве топлива для автомобильных двигателей и для бытовых газовых плит.

Кроме того, разработаны технологии получения из биогаза кормового белка и товарной углекислоты. В зависимости от способа использования биогаза степень его очистки от нежелательных компонентов (взвешенные частицы, H_2S , CO_2 , H_2O) может быть различной (табл. 3.2).

Требования по очистке биогаза

Способ использования биогаза	Необходимость удаления (+) компонентов			
	взвешенные частицы	H ₂ S	CO ₂	H ₂ O
Топки котельных агрегатов и сушильных установок	+	+	–	–
Бытовые газовые плиты	+	+	–	–
Стационарные газовые двигатели	+	Частичное удаление	–	–
Топливо для автомобильных двигателей	+	+	+	+
Подпитка сети природного газа	+	+	+	+

Содержащиеся в биогазе взвешенные частицы отлагаются в газопроводах и забивают арматуру. Их отделяют в гравийных или тканевых (из стекловолокна) фильтрах. Биогаз на выходе из метантенка имеет температуру 30–35°C (мезофильный режим) или 50–55°C (термофильный процесс) и насыщен влагой. В результате охлаждения биогаза при транспортировке в газопроводах образуется конденсат, который может замерзнуть в холодный период года. Для осушки биогаза устанавливают на газосборном пункте влагоотделитель, из которого конденсат отводится в сливную емкость, а в нижних точках газопровода предусматриваются конденсатосборные устройства. Барботаж биогаза через слой охлажденной до 10°C воды обеспечивает отделение взвешенных частиц и осушку охлаждением, достаточную при использовании биогаза для получения тепла. Применение биогаза в качестве моторного топлива требует глубокой осушки от влаги силикагелем, хлоридом кальция или этиленгликолем.

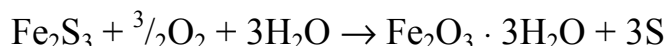
Наиболее вредным компонентом биогаза является сероводород. Он токсичен, обладает неприятным запахом, в присутствии влаги и особенно в комбинации с диоксидом углерода вызывает коррозию металлического оборудования, при сгорании образует оксид и диоксид серы, которые, взаимодействуя с парами воды, превращаются в сернистую и серную кислоты, имеющие высокую коррозионную активность.

Очистку биогаза от сероводорода осуществляют различными методами. В биогазовых установках небольшой мощности (сотни м³/сут) применяют адсорбционный («сухой») способ удаления H₂S за счет

образования сульфидов при взаимодействии с оксидом железа (ферроокисный фильтр):



Оптимальная влажность адсорбента (5–20%) поддерживается присутствующими в биогазе парами воды. 1 кг оксида железа сорбирует около 250 г H_2S . Регенерацию адсорбента производят продувкой воздухом. При этом образуется элементарная сера, отлагающаяся на поверхности оксида железа:



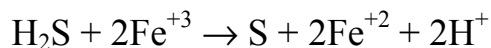
После каждой регенерации сорбционная способность оксида железа уменьшается в среднем на 15%, что обуславливает необходимость регулярной замены отработанного сорбента.

Для непрерывной десульфуризации биогаза применяют двухколонную установку с переменным режимом работы колонн: в одной колонне протекает процесс поглощения сероводорода, а в другой – регенерация сорбента продувкой воздухом (рис. 3.8).

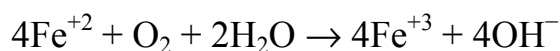
В качестве поглотителя сероводорода может быть использован гидроксид железа ($\text{Fe}(\text{OH})_3$) в виде загрузки с размером частиц 10–20 мм, размещенной в колонне (диаметром 1,0–1,2 м, высотой 2–3 м) слоями с низким гидравлическим сопротивлением. Для очистки 100 м³ биогаза, содержащего 0,35% H_2S , требуется около 2 кг $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Расход $\text{Fe}(\text{OH})_3$ по стехиометрическому соотношению составляет 2,1 кг на 1 кг извлеченного H_2S .

Основной недостаток «сухого» метода десульфуризации биогаза – опасность самовозгорания материала во время регенерации из-за значительного количества выделяющегося тепла.

При больших расходах биогаза (тысячи м³/сут) с высоким содержанием H_2S очистку производят абсорбционным («мокрым») способом с помощью растворов солей железа. В восстановительной колонне (абсорбере) восходящий поток биогаза промывается раствором Fe^{+3} (суспензией $\text{Fe}(\text{OH})_3$):



Элементарная сера отделяется от промывного раствора в отстойнике. Раствор регенерируется в окислительной колонне продувкой воздухом:



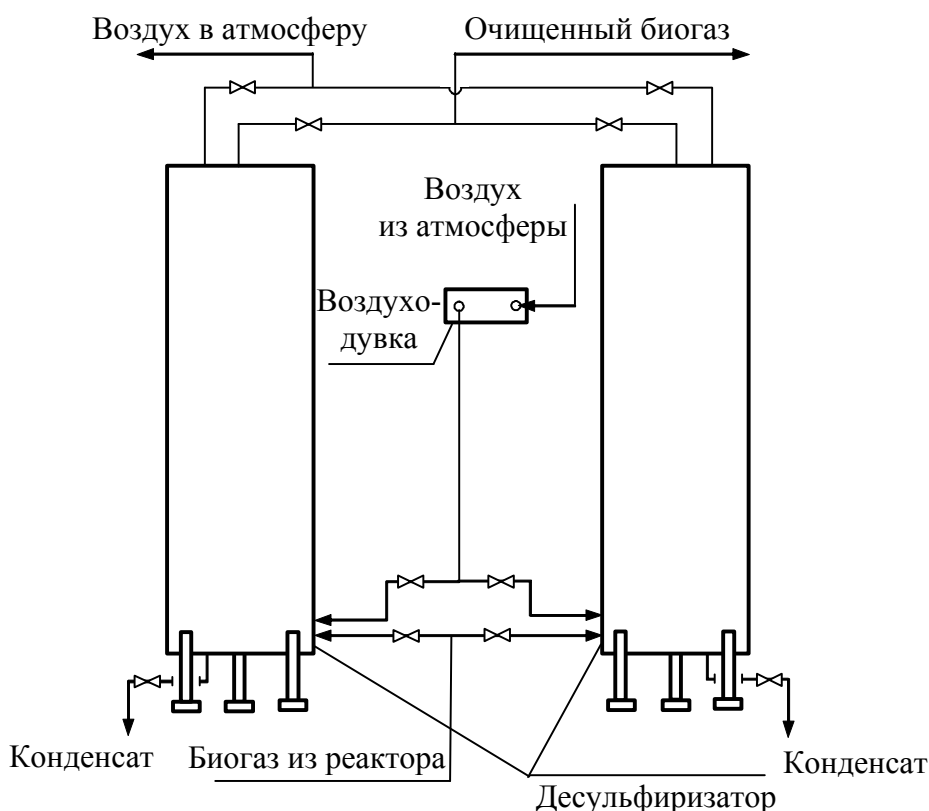
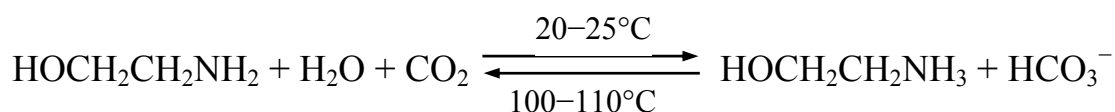
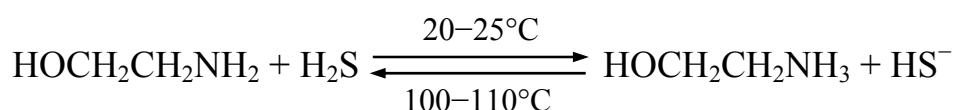


Рис. 3.8. Двухколонная установка для очистки биогаза от сероводорода

Используя водные растворы определенных химических соединений, можно обеспечить одновременную очистку биогаза от H_2S и CO_2 . Например, моноэтаноламин, являясь слабым основанием, обратимо взаимодействует с H_2S и CO_2 :



Равновесие обратимых реакций легко сдвигается изменением температуры. Способ моноэтаноламиновой очистки обеспечивает полное удаление из биогаза CO_2 и снижение концентрации H_2S до 0,001 об. %.

Простым и дешевым способом очистки биогаза от CO_2 с частичным удалением H_2S является промывка водой в абсорбере под давлением порядка 0,1 МПа. Насыщенная диоксидом углерода вода регенерируется продувкой воздухом при атмосферном давлении. Энергетические затраты на предварительное компримирование неочищенного биогаза компенсируются высоким содержанием метана в очищенном

газе. Водяная промывка под давлением используется на практике как вторая ступень очистки биогаза после десульфуризации.

На крупных биогазовых установках (тысячи м³/ч) перспективно обогащение биогаза за счет удаления СО₂ методами мембранного разделения и адсорбцией на молекулярных ситах. Мембранный метод основан на различной проницаемости мембраны для компонентов биогаза. Этот способ широкого распространения не получил. Чаще применяется разделение метана и диоксида углерода на молекулярных ситах (цеолитах). Их микропористая структура обеспечивает быструю адсорбцию диоксида углерода, азота и кислорода. Метан адсорбируется медленно, что и вызывает разделение этих компонентов биогаза. Адсорбцию газов проводят при повышенном давлении, а при снижении давления в аппарате происходит регенерация молекулярных сит. Адсорбция и регенерация протекают поочередно. Для реализации этого метода необходима предварительная очистка биогаза от сероводорода. В зарубежной практике при эксплуатации биогазовых установок часто применяется комбинированная (многоступенчатая) очистка биогаза.

В качестве автомобильного топлива используется очищенный компримированный или сжиженный биогаз. Сжатый до давления 20 МПа при температуре 0°С 1 м³ биогаза занимает объем 2,95 л. В баллонах емкостью 50 л при таких условиях можно хранить 17 м³ биогаза.

Производственный опыт свидетельствует об экономической целесообразности применения биогаза в газовых двигателях с электрогенератором. В этом случае сжигание 1 м³ биогаза позволяет выработать 1,6–2,1 кВт · ч электроэнергии. Большой опыт работы с газовыми двигателями накоплен в Германии, где эксплуатируется более 250 теплоэлектростанций, работающих на биогазе.

4. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЧИСТКА СТОЧНЫХ ВОД

4.1. Аэробная механобиологическая очистка сточных вод

Во всем мире большое внимание уделяют решению экологических проблем, среди которых важнейшей является очистка сточных вод промышленных предприятий. Сточные воды содержат, как правило, разнообразные химические соединения, индивидуальное определение которых представляет сложную задачу. В связи с этим уровень загрязненности сточной воды оценивают, прежде всего, по общим показателям загрязненности – химическое потребление кислорода (ХПК) и биохимическое потребление кислорода (БПК). Эти показатели измеряются количеством кислорода в миллиграммах на литр, которое требуется в первом случае для полного химического окисления загрязнений, содержащихся в 1 л сточной воды (ХПК), а во втором – для биохимического окисления загрязнений аэробными микроорганизмами (БПК).

Биохимическое окисление загрязнений в отличие от химического протекает достаточно медленно, поэтому ограничиваются определением 5-суточной потребности в кислороде (БПК₅). Окисление в течение 20 сут считают полным и потребность в кислороде обозначают БПК_п. Не все загрязнения сточных вод подвергаются биодеструкции, поэтому значение ХПК, как правило, выше, чем БПК.

Существуют различные методы очистки сточных вод: механические – отстаивание, фильтрование, центрифугирование, ультрафильтрация; физико-химические – флотация, коагуляция, ионный обмен, сорбция; термические – полное окисление загрязнений при высокой температуре; биохимические.

В производственной практике доминирует биохимическая очистка стоков, которая чаще всего используется как основной метод очистки в сочетании с другими методами, например механической очисткой. Преобладание биохимических способов очистки стоков обусловлено рядом достоинств: возможностью удаления из сточной воды широкого спектра органических загрязнений; способностью биосистемы к саморегуляции при изменении состава и концентрации загрязнений; простотой аппаратного оформления; относительно

невысокими эксплуатационными затратами. Существенный недостаток биохимического метода – большие капитальные затраты на сооружение очистных систем.

В технологии биохимической очистки стоков существуют два принципиально различающихся направления: аэробные и анаэробные технологические процессы. Широко распространенные классические очистные сооружения базируются на использовании сообщества аэробных микроорганизмов, спонтанно формирующихся в естественных условиях, – активного ила.

Биоценоз активного ила (бионаселение) представлен микроорганизмами разных систематических групп – бактериями, простейшими, грибами, водорослями, а также некоторыми многоклеточными животными (коловратками, червями, личинками насекомых, водными клещами). Биоценозы формируются под влиянием экологических факторов: химического состава и концентрации загрязнений в обрабатываемой сточной воде, концентрации растворенного кислорода, температуры, значения среды.

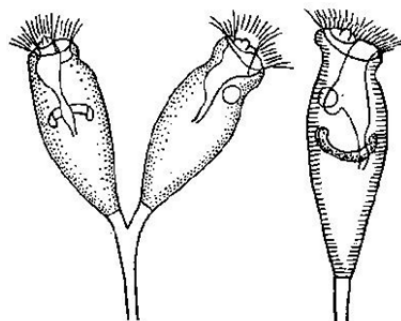
Главную роль в окислении загрязнений играют бактерии, количество которых в активном иле составляет 10^8 – 10^9 клеток на 1 г сухого вещества. В активном иле присутствуют бактерии родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Bacterium*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium*. К числу самых распространенных бактерий относятся псевдомонады (количество их может достигать 50–80% от всего бактериального населения). Некоторые типичные бактерии активного ила образуют в нем скопления за счет слияния капсул отдельных клеток, например *Zoogloea ramigera*.

Бактерии активного ила относятся к разным физиологическим группам (с различными пищевыми потребностями). В активном иле присутствуют аммонифицирующие, целлюлозоразлагающие, жирорасщепляющие, нитрифицирующие и денитрифицирующие бактерии.

Существенная роль в функционировании активного ила принадлежит простейшим (рис. 4.1). В активном иле встречаются представители трех классов простейших: саркодовые, жгутиковые и инфузории (обычно насчитывается 10–15 видов простейших). Последние разделяют на два подкласса – ресничные и сосущие.

Функции простейших в активном иле многообразны. Прежде всего, питаясь бактериями, простейшие регулируют их численность в иле. Выполняют они и санитарную функцию, поглощая наряду с обычными сапрофитами и патогенные микроорганизмы (например,

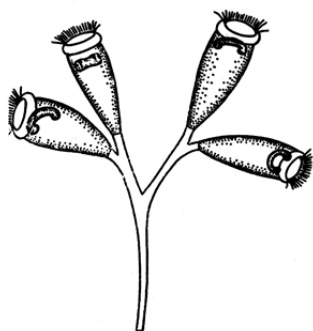
бактерии группы кишечной палочки (БГКП)). Важнейшая функция простейших – осветление воды. Пропуская через свой организм тонкие взвешенные в воде частицы, инфузории склеивают их и выбрасывают обратно в воду в виде легко оседающих комочков.



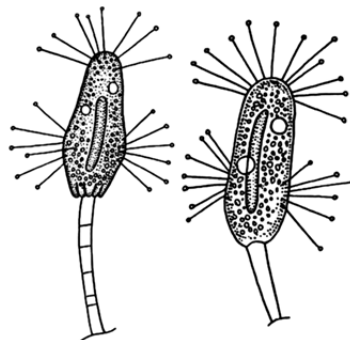
Opercularia curvicaula



Rotaria citrina



Epistylis plicatilis



Rhabdophrya sp.

Рис. 4.1. Индикаторные простейшие активного ила

Коловратки – микроскопические животные длиной 0,1–2,5 мм – также питаются в основном бактериями. Их функции в воде аналогичны функциям инфузорий.

Микрофауна активного ила более чутко, чем бактерии, реагирует на любые нарушения технологического режима, вызывающие ухудшение качества очищенной воды. В связи с этим представители микрофауны, главным образом простейшие, служат индикаторами процессов очистки сточной воды. При снижении качества очистки в активном иле уменьшается число видов простейших и их численность. Об условиях функционирования активного ила судят не только по присутствию индикаторных микроорганизмов, но и по их размерам и состоянию. Например, у инфузорий рода *Opercularia* в условиях обес-

печенности кислородом и питанием ресничная зона раскрыта и реснички двигаются очень активно. В условиях дефицита кислорода *Opercularia* замыкает ресничную зону.

При избытке органических веществ ил перегружен, хлопья ила уплотняются и приобретают темный цвет, так как содержат массу посторонних включений в виде нерастворимых примесей сточной воды. Характерно появление опалесценции отстоянной воды. Если ил «голодает», хлопья ила становятся прозрачными, у простейших исчезают пищеварительные вакуоли. Появляются сосущие инфузории.

Средний размер хлопьев активного ила 1–4 мм, но в зависимости от условий обработки сточной воды может изменяться от долей миллиметра до 30–40 мм. В диапазоне рН 4–9 хлопья активного ила несут отрицательный заряд. Активный ил имеет очень развитую поверхность, что обуславливает его большую адсорбционную способность. Механизм хлопьеобразования (биофлокуляция) связан с накоплением на поверхности клеток внеклеточных полимеров, способных вести себя как полиэлектролиты. Основная масса внеклеточных полимеров состоит из полисахаридов и белков. Образовывать хлопья способны бактерии многих родов: *Zoogloea*, *Pseudomonas*, *Bacillus*. В смешанных культурах хлопья формируются интенсивнее. На поверхности хлопьев адсорбируются коллоидные и взвешенные вещества. Таким образом, хлопья активного ила представляют собой сложную совокупность микроорганизмов, продуктов их жизнедеятельности и инертных частиц.

Способность активного ила образовывать хорошо оседающие хлопья – важнейшее его свойство, которое оценивается величиной илового индекса, представляющего собой объем в миллилитрах, занимаемый 1 г сухого вещества ила в его естественном состоянии после 30-минутного отстаивания. Илы с индексом до 120 мл/г оседают хорошо, с индексом 120–150 мл/г – удовлетворительно, а при индексе больше 150 мл/г – плохо.

Структура хлопьев ила резко видоизменяется при массовом развитии в активном иле нитчатых бактерий и некоторых грибов. Хлопья увеличиваются в размере, становятся рыхлыми, плохо осаждаются. Активный ил вспухает. Вспухание ила наблюдается при избытке углеводов в сточной воде или недостатке биогенных элементов, при недостаточной аэрации или резком изменении концентрации загрязнений в сточной воде. Вспухший активный ил выносятся из вторичных отстойников, ухудшая качество очищенной воды.

Основными факторами, влияющими на биологическую очистку, являются: температура, рН среды, концентрация растворенного кислорода, уровень питания, присутствие в сточной воде биогенных элементов и токсичных примесей.

Температура. Оптимальная температура для аэробных процессов в очистных сооружениях $+20...+30^{\circ}\text{C}$. При этом биоценоз представлен наиболее разнообразными и хорошо развитыми микроорганизмами. В то же время микроорганизмы сохраняют свою жизнеспособность при колебаниях температуры в значительных диапазонах: психрофилы – $-8...+30^{\circ}\text{C}$; мезофилы – $-5...+50^{\circ}\text{C}$; термофилы – $+30...+85^{\circ}\text{C}$. Наиболее неблагоприятное влияние на функционирование активного ила оказывает резкое изменение температуры. При аэробной очистке сточной воды воздействие температуры усугубляется соответствующим изменением растворимости кислорода: повышение температуры приводит к снижению растворимости кислорода в воде, что заставляет интенсифицировать аэрацию. Влияние температуры учитывается при расчетах продолжительности аэрации сточной воды в биосооружениях.

Реакция среды. Кислотность среды существенно влияет на развитие микроорганизмов. Большинство бактерий требует для развития нейтральной среды (или близкой к нейтральной); грибы и дрожжи хорошо развиваются в кислой среде (рН 4–6); актиномицеты – в слабощелочной. Биологическая очистка наиболее эффективна, если значение рН находится в пределах 5–9. Оптимальной считается среда с рН 6,5–7,5. Отклонение значения рН за пределы 5–9 уменьшает скорость окисления загрязнений из-за замедления обменных процессов в клетке. Очень важно, что микроорганизмы сами способны регулировать величину рН среды, хотя и в ограниченных пределах.

Если температура и значение рН поступающих на очистку сточных вод выходят не только за пределы оптимальных, но и допустимых, то эти параметры корректируют.

Биогенные элементы. Для эффективной очистки сточной воды в среде должны присутствовать в достаточной концентрации все основные элементы питания: органический углерод, азот, фосфор. Содержание микроэлементов в сточной воде обычно достаточно для удовлетворения потребностей микроорганизмов. Часто (при очистке стоков химических производств) микроорганизмы активного ила испытывают недостаток в азоте, фосфоре. Обеспеченность элементами питания для биоценоза в сточной воде определяется соотношением БПК : N : P. При обработке городских сточных вод это соотношение

должно быть не менее 100 : 5 : 1. На практике в бытовых сточных водах БПК : N : P \approx 100 : 20 : 2,5, вследствие чего целесообразна совместная очистка бытовых и производственных сточных вод, если последние бедны биогенными элементами. Потребность в биогенных элементах рассчитывают на беззольную часть ожидаемого прироста ила из условия, что активная биомасса ила содержит около 12% азота и 2–3% фосфора.

Уровень питания. За меру питания принимают величину суточной нагрузки по загрязнению на 1 м³ сооружения, или на 1 г сухой биомассы активного ила, или на 1 г беззольного активного ила (БАИ). По степени нагруженности очистные сооружения разделяют на высоконагружаемые, классические и низконагружаемые.

В высоконагружаемых системах (более 400 мг БПК на 1 г БАИ в сутки) прирост ила наибольший, степень очистки наименьшая, ил содержит незначительное число видов простейших.

Классические системы (150–400 мг БПК на 1 г БАИ в сутки) обеспечивают высокую степень очистки по БПК, имеют хорошо флокулирующийся ил, населенный большим числом микроорганизмов различных групп. Прирост ила меньше максимального в связи с глубоко проходящими процессами эндогенного окисления ила.

В низконагружаемых аэротенках (менее 150 мг БПК на 1 г БАИ в сутки) степень очистки по БПК колеблющаяся, часто высокая, прирост ила минимален, население его разнообразно.

Кислородный режим. В аэробных биологических системах подача воздуха (а также чистого кислорода или обогащенного кислородом воздуха) должна обеспечивать наличие в среде растворенного кислорода не ниже 2 мг/л. Биосистема способна функционировать при более низком уровне кислорода (до 1 мг/л). Однако в связи с тем, что при отделении активного ила во вторичных отстойниках теряется от 1 до 2 мг/л кислорода, установлен минимальный уровень 2 мг/л, что исключает продолжительное пребывание ила в анаэробных условиях.

Токсичные вещества. Токсичными могут быть как органические, так и неорганические вещества. Токсичное действие веществ определяется в большинстве случаев их концентрацией. За величину ПДК принимают максимальную концентрацию токсичного вещества, находящегося в воде и не оказывающего заметного отрицательного воздействия на функционирование активного ила биологических очистных сооружений. Наименьшую величину ПДК имеют: тетраэтилсвинец – 0,001 мг/л; соединения висмута, ванадия, кадмия, никеля (в пересчете на элемент) – 0,1 мг/л; сульфат меди (в пересчете на медь) – 0,1 мг/л;

цианистый калий – 2 мг/л. Наименее токсичны соли натрия, лития, магния (10 мг/л). Соли калия имеют величину ПДК, равную 1–560 мг/л, в зависимости от вида аниона (самый токсичный – железистосинеродистый, наименее токсичный – фосфорнокислый). Соли кальция менее токсичны, чем соли калия. Иногда при относительно высоком значении ПДК само вещество биохимически не окисляется (например, четыреххлористый углерод, трифторхлорпропан (фреон 253)).

Микроорганизмы очистных сооружений не всегда могут справиться с новыми видами производственных загрязнений. Надежда возлагается на адаптационные свойства биоценозов очистных сооружений (индуцируются новые специфические ферментные системы). Однако адаптационные возможности микроорганизмов не беспредельны. Ряд органических веществ не усваивается микроорганизмами. К категории биохимически неокисляемых веществ отнесены орто- и паранитрохлорбензолы, гексахлорбензол, дихлордифенилтрихлорэтан, дихлорэтан, тетрахлорбензол, циклогексан.

Технологический процесс аэробной биологической очистки сточной воды (рис. 4.2) включает следующие стадии: усреднение и осветление сточной воды от взвешенных веществ (усреднители, песколовки, первичные отстойники); биологическую очистку (аэротенки, биофильтры); отделение активного ила от воды (вторичные отстойники); доочистку сточной воды (биологические пруды, фильтры-осветлители); обеззараживание очищенной воды; обезвоживание осадков.

Сточные воды поступают в приемную камеру 1, которая предназначена для гашения скорости потока жидкости и сопряжения трубопроводов с открытым лотком. Механическая очистка сточных вод производится на решетках 2, в песколовках 3 и первичных отстойниках 4.

Осветленная в первичных отстойниках сточная вода поступает в аэротенк 5, где интенсивно аэрируется. В аэротенке осуществляется окисление загрязнений с приростом биомассы активного ила. Иловая смесь (смесь очищенной сточной воды и активного ила) из аэротенка направляется во вторичные отстойники 6, где осаждаются активный ил и основная его масса возвращается в аэротенк (циркуляционный активный ил).

Очищенная сточная вода подается в контактный резервуар 7 для обеззараживания и направляется в водоем. На практике часто производят доочистку сточных вод в биопрудах (до величины показателя БПК₅ 5–7 мг/л). В этом случае нет необходимости в обеззараживании биологически очищенной воды.

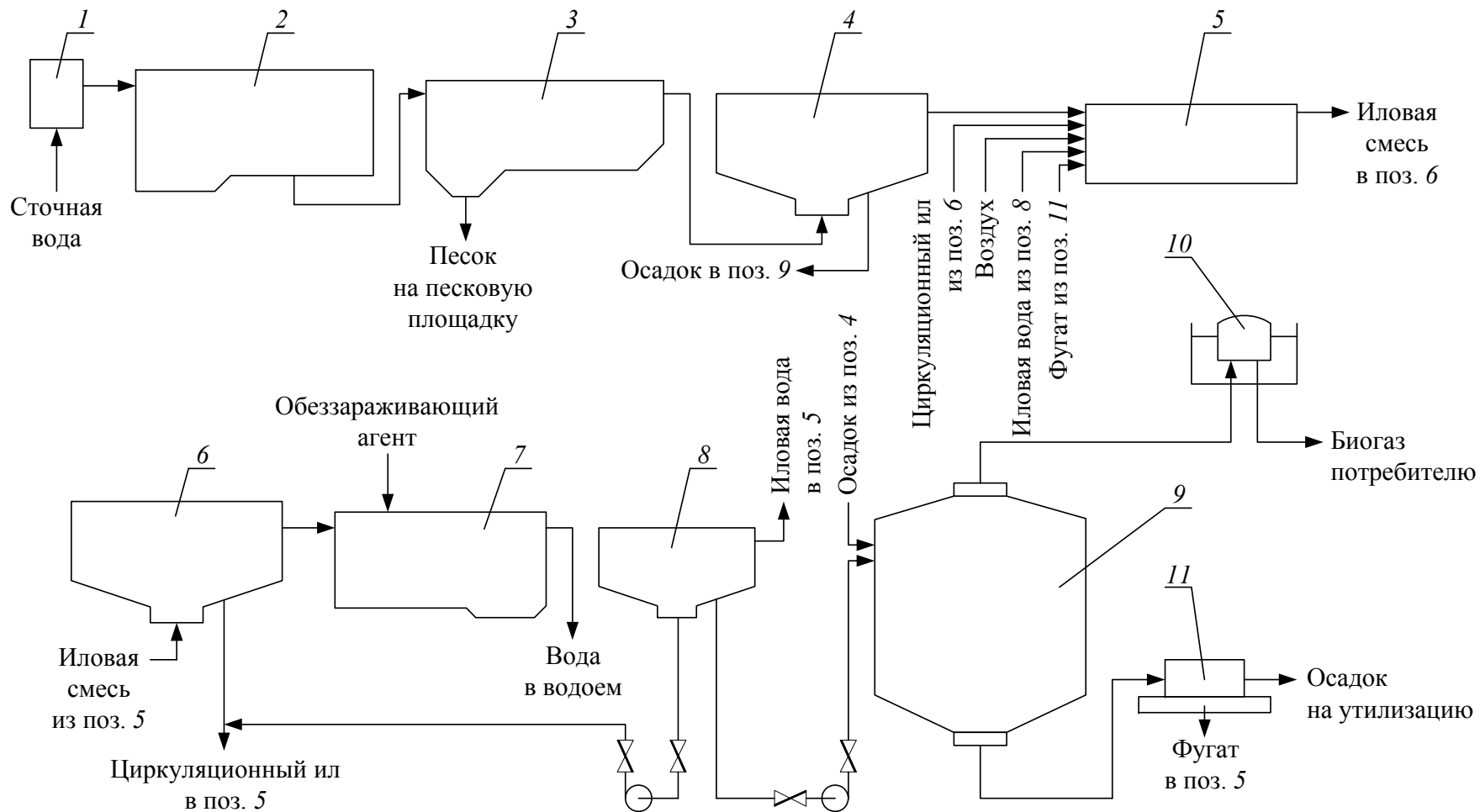


Рис. 4.2. Технологическая схема механобиологической очистки сточных вод:

1 – приемная камера; 2 – решетка-дробилка; 3 – песколовка; 4 – первичный отстойник; 5 – аэротенк; 6 – вторичный отстойник; 7 – контактная камера; 8 – илоуплотнитель; 9 – метантенк; 10 – газгольдер; 11 – центрифуга

Избыточный активный ил уплотняется в илоуплотнителе 8 и поступает для анаэробного сбраживания в метантенк 9. Сюда же подается сырой осадок из первичных отстойников. Образующийся в процессе брожения биогаз собирается в газгольдере 10.

Осадок обезвоживается в центрифугах 11 и направляется на утилизацию. Иловая вода из илоуплотнителя и фугат подаются для очистки в аэротенк.

Основным сооружением биологической очистки является аэротенк, представляющий собой открытый железобетонный резервуар прямоугольной в плане формы, разделенный продольными перегородками на коридоры, на дне которых расположены фильтросные элементы для диспергирования поступающего воздуха. Расход воздуха на очистку 1 м³ сточных вод составляет от 3,5 до 15,0 м³. На окисление 1 кг загрязнений по показателю БПК в среднем требуется 30–55 м³ воздуха.

В зависимости от гидродинамического режима работы различают аэротенки-вытеснители, аэротенки-смесители и аэротенки с рассредоточенным впуском сточной воды (рис. 4.3).

В *аэротенке-вытеснителе* сточная вода и возвращаемый из вторичного отстойника активный ил движутся последовательно по коридорам в режиме, близком к идеальному вытеснению. В *аэротенке-смесителе* активный ил и сточная вода вводятся по всей длине сооружения, и режим работы приближается к полному смешению. Конструкция *аэротенков с рассредоточенным впуском сточной воды* позволяет совмещать режимы смешения и вытеснения.

Различия в гидродинамических режимах работы аэротенков влияют на физиологическое состояние биоценоза активного ила и определяют скорость и степень деструкции загрязнений сточной воды. Аэротенки-вытеснители обеспечивают высокую степень очистки стоков при сравнительно низкой скорости окисления загрязнений. Они очень чувствительны к резким увеличениям или колебаниям уровня загрязненности сточной воды. В аэротенках-смесителях за счет выравнивания концентрации загрязнений и активного ила во всем объеме достигается высокая скорость деструкции в ущерб глубине очистки. На практике при очистке стоков с высоким уровнем загрязненности применяют двухступенчатую систему очистки с использованием на первой ступени аэротенка-смесителя, а на второй – аэротенка-вытеснителя.

Естественный прирост биомассы активного ила не обеспечивает высокую скорость очистки сточной воды в аэротенках. Концентрацию активного ила искусственно повышают до 3–4 г/л частичным возвратом его в аэротенки из вторичных отстойников.

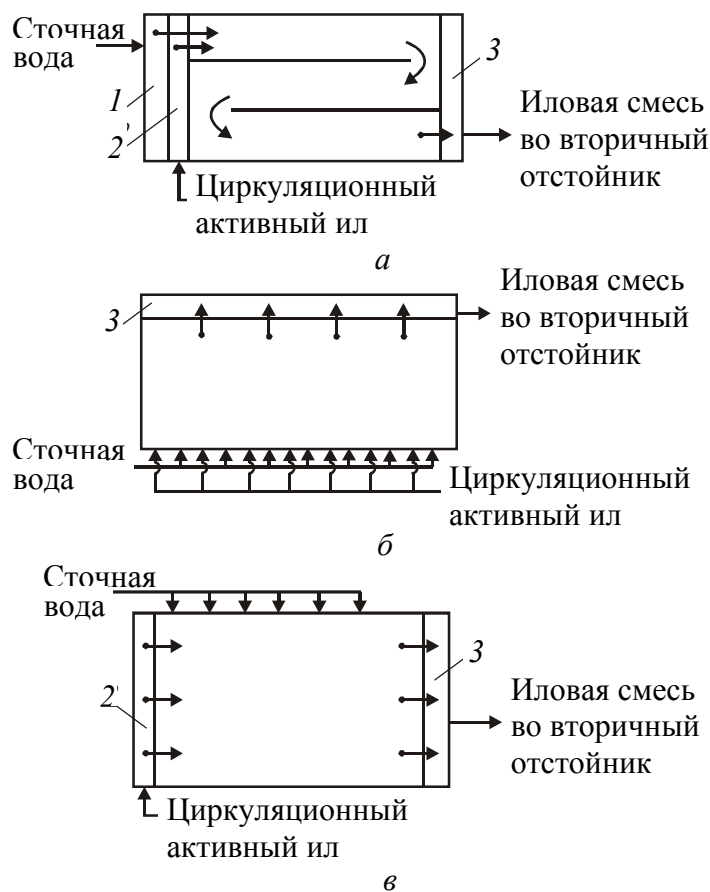


Рис. 4.3. Конструкции аэротенков:
a – аэротенк-вытеснитель; *б* – аэротенк-смеситель;
в – аэротенк с рассредоточенным впуском сточной воды:
 1 – канал сточной воды; 2 – канал циркуляционного активного ила;
 3 – канал иловой смеси

Циркуляционный активный ил должен проходить регенерацию в одном из коридоров аэротенка, т. е. дополнительную интенсивную аэрацию при отсутствии вновь поступающих загрязнений (сточная вода в коридор-регенератор не подается).

Сущность системы регенерации заключается в окислении трудно-окисляемых органических соединений, сорбированных на иле, и восстановлении его окислительных свойств и сорбционной способности. В системах с регенератором уменьшается прирост ила и улучшаются его водоотдающие свойства. Объем возвратного ила, удаляемого из вторичных отстойников и направляемого в регенератор, составляет от 30 до 70% от объема очищаемых сточных вод. Для каждого очистного сооружения этот показатель индивидуален. Чем ниже средняя доза ила и выше иловый индекс, тем больший объем ила требуется возвращать в регенераторы. Регенерация требует увеличения времени

пребывания ила в системе до 8–18 ч и более, в то время как время пребывания ила в активной зоне аэротенка составляет 2–6 ч.

Возраст активного ила – это среднее время пребывания хлопьев ила в системе «аэротенк – вторичный отстойник». Его величина обратно пропорциональна скорости прироста ила. Чем больше нагрузка на ил, тем больше его прирост и больше объем образующегося избыточного ила, который удаляется, и, следовательно, возраст ила уменьшается.

Молодые, активно растущие хлопья способны быстро извлекать загрязняющие вещества, но могут иметь недостаточную способность к седиментации. Вместе с тем хорошо оседающий ил с большим возрастом может иметь низкую активность окисления загрязняющих веществ.

Возраст ила более 8 сут обеспечивает глубокую минерализацию органических веществ с последующей нитрификацией.

Удельная окислительная мощность аэротенков (количество органических загрязнений, снимаемых в единицу времени биомассой активного ила, находящейся в единице объема аэротенка) составляет 1–3 кг БПК/(м³ · сут).

Затраты на обезвоживание и утилизацию избыточного активного ила составляют до 40% общих затрат на очистку воды.

4.2. Анаэробная биологическая очистка сточных вод

Биологические методы удаления загрязнений общепризнанно считаются наиболее экономически эффективными и экологически приемлемыми. Но для широко распространенных аэробных технологий характерны труднопреодолимые недостатки: большие затраты энергии на аэрацию стоков; сложность очистки стоков с высоким уровнем загрязненности; образование в больших количествах труднообезвоживаемого и не находящего применения избыточного активного ила.

Современные достижения науки и техники позволяют с высокой эффективностью использовать альтернативный анаэробный процесс обезвреживания стоков. За рубежом достигнут значительный прогресс в области разработки и практического применения анаэробных биореакторов второго поколения, которые обеспечивают очистку стоков в очень широком диапазоне концентраций загрязнений, с высокой скоростью и эффективностью. В настоящее время анаэробные методы широко и успешно используют для очистки стоков различных производств в странах Западной Европы, Латинской Америки, в Канаде, США, Индии.

Бурное развитие анаэробных технологий очистки сточных вод объясняется их серьезными *преимуществами* перед традиционными аэробными методами:

1) низкая потребность в электроэнергии ввиду отсутствия аэрации стока и циркуляции активного ила. Энергопотребление анаэробного процесса составляет примерно 10% от энергетических затрат на аэробный процесс;

2) малый прирост биомассы активного ила, который является обременительным отходом. В аэробных процессах образуется 1,0–1,5 кг ила на 1 кг деструктированных загрязнений (по БПК), в анаэробных – 0,1–0,2 кг;

3) образующийся избыточный анаэробный ил стабилен, может храниться длительное время при температуре до 15°C без значительной потери активности, что очень важно для предприятий с периодическим циклом производства;

4) это единственный способ очистки сточной воды, который позволяет частично (иногда даже полностью) компенсировать затраты, связанные с организацией этого процесса, за счет генерации биогаза, используемого в качестве энергоносителя. На 1 кг деструктированных загрязнений по ХПК образуется 0,26–0,34 м³ метана (или 0,30–0,45 м³ биогаза);

5) анаэробные методы пригодны для очистки высококонцентрированных стоков. Допустимы очень высокие нагрузки по загрязнению – до 30 кг ХПК/(м³ · сут);

6) современные анаэробные биореакторы занимают небольшие производственные площади, устойчивы к длительным перерывам в подаче сточной воды, что позволяет эффективно использовать их при очистке стоков периодически действующих и сезонных производств.

Тем не менее метод анаэробной очистки имеет и *недостатки*:

– метод пригоден для предварительной очистки сточной воды со снижением величины БПК на 80–90%;

– анаэробные бактерии, особенно метаногенные, растут очень медленно. Пуск биореактора требует длительного времени, если отсутствует инокулят с аналогичных установок;

– при очистке стоков с высоким содержанием сульфатов образуются продукты с неприятным запахом, что требует герметизации оборудования.

Факторы, влияющие на процесс анаэробной очистки стоков. Особенность анаэробной деструкции загрязнений сточных вод состоит в том, что 80–90% органического вещества, разлагаемого метано-

генным консорциумом, превращается в биогаз. Чем больше выход биогаза, тем выше степень очистки стока.

Остановимся на важнейших факторах, влияющих на эффективность функционирования анаэробных биореакторов.

Состав и концентрация загрязнений. Многообразие состава метаногенного биоценоза позволяет при определенных условиях осуществить очистку практически любого вида стоков, содержащих органические загрязнения, но скорость и глубина этого процесса будут определяться химической природой загрязнений и их фазовым состоянием. Наиболее благоприятны для очистки стоки, содержащие растворенные загрязнения. Присутствие взвешенных веществ в высокой концентрации отрицательно влияет на работу биореакторов второго поколения, имеющих различные устройства для удержания биомассы в реакционной зоне в виде биопленки, флокул, гранул.

Взвешенные вещества могут забивать насадку, предназначенную для закрепления микроорганизмов, абразивно воздействовать на биопленку, способствовать вытеснению из реакционной зоны биореактора флокул активной биомассы.

Классификация сточных вод по уровню загрязненности для анаэробного метода очистки сильно отличается от общепринятой для аэробных биосистем. Применительно к анаэробным биореакторам второго поколения сточные воды относят к низкоконтрированным при величине показателя ХПК 1000–5000 мг/дм³, к концентрированным – при ХПК 5000–20 000 мг/дм³, к высококонцентрированным – при ХПК более 20 000 мг/дм³. Считают, что минимальная концентрация загрязнений в сточной воде, при которой целесообразна анаэробная очистка, составляет по показателю БПК 500 мг/дм³, хотя уже разрабатываются технологии анаэробной очистки городских стоков с загрязненностью по БПК около 300 мг/дм³. Предельная величина загрязненности стока зависит от конструкции биореактора и варьирует от 10 000 до 15 000 мг/дм³ по ХПК.

Величина рН сточной воды и температура процесса. Метаногенез возможен при рН ферментационной среды 6–8. В условиях стабильного функционирования биореактора анаэробная биосистема способна к саморегулированию рН среды в оптимальных пределах за счет сбалансированных процессов образования подкисляющих и подщелачивающих метаболитов. Подкисление среды происходит преимущественно образующимися летучими жирными кислотами (ЛЖК), а подщелачивание – в результате потребления ЛЖК и образования ионов аммония при дезаминировании азотсодержащих соединений.

Основной причиной нарушения баланса между образованием и потреблением ЛЖК чаще всего является перегрузка реактора по загрязнениям, что приводит к сдвигу рН среды в кислую область. Длительное (более 3 сут) сохранение рН среды в биореакторе на уровне ≤ 5 вызывает долговременную дестабилизацию биосистемы. Повышение рН среды в реакционной зоне > 9 полностью затормаживает метаногенез, но процесс быстро возобновляется при восстановлении оптимальной величины рН.

В связи с приведенными выше особенностями анаэробного процесса важное значение имеет буферная емкость ферментационной среды, которая в естественных условиях метаногенеза создается прежде всего угольной кислотой, ЛЖК и ионами аммония. Чем больше буферная емкость среды в биореакторе, тем устойчивее биосистема к изменениям рН.

Повышение температуры увеличивает скорость биохимических процессов, в связи с чем термофильный режим ($50\text{--}55^\circ\text{C}$) функционирования биореакторов является наиболее производительным. Однако получаемый эффект от интенсификации процесса, как правило, не компенсирует затраты на поддержание требуемой температуры в биореакторе. Кроме того, формирующийся в термофильных условиях метаногенный биоценоз отличается значительно меньшим видовым разнообразием и в ряде случаев при очистке стоков с широким спектром загрязнений этот фактор нивелирует положительный эффект от повышения температуры процесса. Поэтому большинство анаэробных биореакторов функционируют в мезофильном режиме ($30\text{--}40^\circ\text{C}$), при котором выгодно сочетаются достаточно высокая скорость деструкции загрязнений и небольшие затраты энергии на стабилизацию температурного режима. При температуре ферментационной среды в биореакторе ниже 20°C скорость биохимических превращений значительно снижается, тем не менее в настоящее время уже разрабатываются анаэробные технологии очистки сточной воды в психрофильном режиме ($10\text{--}20^\circ\text{C}$).

Наличие в сточной воде биогенных элементов, ингибиторов и токсичных веществ. Как уже отмечалось, анаэробный биоценоз вследствие низкого прироста биомассы менее требователен к содержанию в реакционной среде биогенных элементов, чем аэробный активный ил. Если для аэробного процесса необходимые количества азота и фосфора определяются соотношением БПК : N : P = 100 : 5 : 1, то при анаэробной очистке достаточно количества этих элементов в пропорции 100 : 1 : 0,2.

Имеет значение соотношение C : N, оптимальная величина которого колеблется по различным данным от 20 : 1 до 100 : 1. При большей доле азота в сточной воде наблюдается ингибирование метаногенеза высокой концентрацией образующегося аммиака, который присутствует в реакционной среде в двух находящихся в равновесии формах: в виде растворенного аммиака и иона аммония. Более токсичным является растворенный аммиак, при концентрации которого 50 мг/дм³ скорость биохимических превращений уменьшается в 2 раза. Кроме аммиака, ингибирующим действием при высокой концентрации обладают собственные интермедиаты метаногенеза – ЛЖК и водород, а также побочный продукт – сероводород. Ингибирующий эффект ЛЖК проявляется при концентрации 2000 мг/дм³, причем большей токсичностью обладают не анионы кислот, а недиссоциированные молекулы, которые легче проникают через клеточную стенку микроорганизмов. Наиболее токсична и труднорастворима из ЛЖК – пропионовая кислота.

Если pH реакционной среды >7, то концентрация недиссоциированных молекул ЛЖК низкая и ингибирование маловероятно.

Сильным ингибитором является водород. При нарушении баланса в образовании и потреблении водорода и достижении концентрации его в газовой фазе 0,2–0,5% метаногенез затормаживается. Присутствие в сточной воде соединений серы приводит к развитию сульфатвосстанавливающих бактерий, продуцирующих сероводород, который распределяется между газовой и жидкой фазами. Токсичностью обладает растворенный сероводород при концентрации свыше 200 мг/дм³. Продукт его диссоциации – сульфид-ион – не токсичен. В процессе метаногенеза часть растворенного сероводорода взаимодействует с тяжелыми металлами с образованием нерастворимых в воде сульфидов, что способствует предотвращению ингибирования.

В числе потенциально токсичных соединений являются также тяжелые металлы, антибиотики, галогенсодержащие органические соединения и другие ксенобиотики. В то же время установлено, что микроорганизмы метанового биоценоза обладают достаточно высокими адаптационными способностями и проблема ингибирования биометаногенеза не так серьезна, как предполагали раньше.

Конструкции современных анаэробных биореакторов. Типичным представителем анаэробных биореакторов первого поколения является метантенк, который широко применяется и в настоящее время в производстве биогаза сбраживанием сельскохозяйственных отходов и осадков сточных вод. Анаэробные биореакторы второго поколения принципиально отличаются тем, что их кон-

струкция предусматривает удержание биомассы метанового биоценоза в реакционном пространстве путем использования разнообразных инженерно-технических решений.

Концентрация микроорганизмов в реакционном объеме является важнейшим фактором, определяющим производительность анаэробного биореактора и продолжительность обработки стоков. В биореакторах второго поколения низкая удельная метаболическая активность метанового биоценоза компенсирована высокой концентрацией биомассы в аппарате. В современных анаэробных биореакторах концентрация активного ила по сухой массе достигает 100 кг/м^3 и более (для сравнения в аэротенках – $2\text{--}4 \text{ кг/м}^3$). Такая высокая концентрация ила недостижима в аэробных сооружениях из-за лимитации роста и размножения микроорганизмов кислородом.

Разработаны различные *методы* удержания биомассы микроорганизмов в реакционном объеме биореактора:

1) формирование биопленки на поверхности частиц носителя (подвижных (псевдооживленных) или неподвижных);

2) удержание флокул биомассы в пустотах неподвижного загрузочного материала;

3) ультрафильтрация выводимой из аппарата жидкости через синтетические мембраны;

4) применение газоилоотделительных устройств, обеспечивающих формирование в аппарате агрегатов клеток (компактных флокул и гранул) с высокой седиментационной способностью.

В начале 80-х гг. XX в. зарубежными учеными был разработан ряд конструкций высокопроизводительных анаэробных биореакторов. К настоящему времени в Западной Европе сотни таких аппаратов успешно функционируют в составе промышленных установок для очистки стоков различных производств.

Распространенными *типами* анаэробных биореакторов являются:

– биореакторы с прикрепленной биомассой – анаэробные биофильтры с неподвижным слоем загрузки, биореакторы с псевдооживленным слоем носителя;

– биореакторы с гранулированной биомассой активного ила;

– комбинированные биореакторы.

В качестве загрузки (носителя) для закрепления биопленки и улавливания флокул активного ила используют самые разнообразные материалы: пластмассовые керамические элементы (гофрированные или гладкие кольца, трубы, листы), пенополиуретан, «Ерши» и «Вии» из стекловолокна или синтетических нитей, гранулы из вспененных и

композиционных материалов, синтетические ткани и нетканые материалы, активированный уголь, специальные носители из обожженного пористого стекла (материал SIRAN) и т. д.

В настоящее время за рубежом уделяется большое внимание разработке и производству специальных видов носителей для закрепления (иммобилизации) микроорганизмов.

Рассмотрим конструкции основных типов анаэробных биореакторов.

Анаэробный биофильтр с восходящим потоком жидкости. Является наиболее простым анаэробным реактором с прикрепленной биомассой микроорганизмов. Имеет неподвижный слой загрузки, через который восходящим потоком проходит очищаемая сточная вода (рис. 4.4). Биомасса анаэробного активного ила удерживается в виде флокул в пустотах загрузочного материала и биопленки на его поверхности. Основную роль в очистке сточной воды выполняют флоккулы. Поэтому определяющим фактором является не адгезионная способность материала загрузки, а удельный объем пустот в загрузке и их способность задерживать флоккулы биомассы. Большая пустотность загрузки (90–95%) обуславливает низкую скорость движения жидкости через материал, что способствует удержанию флоккул в пустотах. Большая часть биомассы скапливается в нижних слоях загрузки. Гидравлический режим в аппарате близок к режиму идеального вытеснения, что приводит к формированию значительных градиентов концентраций биомассы, загрязнений и продуктов метаболизма (ЛЖК) по высоте биореактора.

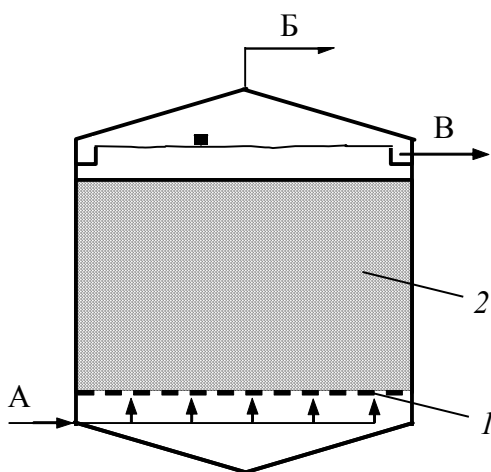


Рис. 4.4. Анаэробный биофильтр:

1 – поддерживающая решетка; 2 – слой засыпного загрузочного материала;
А – исходная сточная вода; Б – биогаз; В – очищенная сточная вода

При высоком содержании в очищаемой сточной воде труднорастворимых взвешенных веществ возможно заиливание (кольматация) загрузки в нижней части биореактора с образованием каналов, по которым проходит большая часть сточной воды, минуя основной слой загрузки с активной биомассой. В результате снижается эффективность очистки стоков. Для предотвращения каналообразования в конструкции биофильтров предусматривают равномерное распределение подаваемой на очистку сточной воды по сечению аппарата. Вероятность заиливания резко уменьшается, если в нижней части биореактора располагают вертикально ориентированную загрузку (например, в виде труб или плоских элементов), а в верхней – засыпной загрузочный материал (например, из гофрированных колец).

Анаэробные биофильтры могут работать при достаточно высоких нагрузках по загрязнению ($7\text{--}12 \text{ кг ХПК}/(\text{м}^3 \cdot \text{сут})$), они устойчивы к колебаниям величины рН и температуры сточной воды, гидравлическим и органическим перегрузкам, перерывам в подаче субстрата.

Биореактор с нисходящим потоком жидкости. Отличается от анаэробного биофильтра тем, что сточная вода подается в верхнюю часть аппарата и нисходящим потоком проходит через слой загрузочного материала (рис. 4.5). Развивающийся в аппарате метановый биоценоз сосредоточен главным образом в биопленке, формирующейся на поверхности загрузки. Взвешенная биомасса в пустотах загрузки представлена преимущественно быстрорастущими гидролитическими и кислотогенными микроорганизмами. Для закрепления медленно растущих метановых бактерий в биопленке очень важны поверхностные (адгезионные) свойства материала загрузки. Толщина биопленки составляет 1–4 мм, в ней сосредоточено до 90% активной биомассы реактора. Производительность биореактора находится в прямой пропорциональной зависимости от удельной поверхности загрузочного материала, в качестве которого считают наиболее целесообразным использование мягкой плоскостной загрузки, например нетканых материалов из синтетических нитей.

Встречные потоки очищаемой воды и пузырьков биогаза создают в реакторе режим, близкий к полному перемешиванию, что значительно повышает устойчивость аппарата к заиливанию. Чрезмерный рост биопленки контролируется абразивным действием взвешенных веществ сточной воды и потоком пузырьков биогаза. В отличие от анаэробного биофильтра нет необходимости в тщательном распределении сточной воды в аппарате.

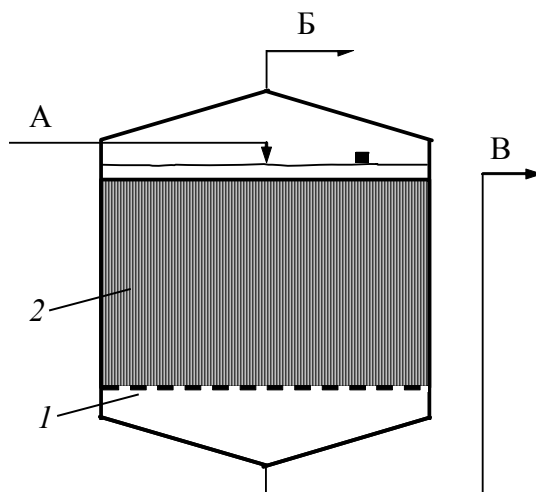


Рис. 4.5. Биореактор с нисходящим потоком сточной воды:
 1 – поддерживающая решетка; 2 – слой вертикально ориентированного
 загрузочного материала; А – исходная сточная вода;
 Б – биогаз; В – очищенная сточная вода

Биореакторы с нисходящим потоком жидкости наиболее эффективны при очистке сильно загрязненных сточных вод (ХПК более 5–10 г/л) с высоким содержанием взвешенных веществ. К недостаткам биореакторов следует отнести относительно невысокое количество удерживаемой биомассы (3–15 кг/м³) из-за малой доли флокул и длительный период запуска, связанный с формированием на поверхности загрузочного материала биопленки. Особенно медленно происходит колонизация гладких поверхностей пластмассовых элементов загрузки.

В промышленных установках для очистки сточной воды удельная производительность биореакторов с нисходящим потоком по деструктируемым загрязнениям колеблется в пределах 7–10 кг ХПК/(м³ · сут).

Биореактор с гранулированной биомассой активного ила. В начале 80-х гг. XX в. голландский ученый G. Lettinga установил, что микроорганизмы метанового биоценоза в процессе очистки сточной воды способны к агрегированию с образованием плотных легкооседающих гранул размером 1–4 мм. Явление самопроизвольного гранулообразования было положено в основу конструкции нового типа биореактора, которому G. Lettinga дал название Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor (UASB-реактор) – реактор с восходящим потоком сточной воды через слой анаэробного ила. Биореактор отличается от предыдущих типов тем, что не имеет загрузки. Удержание активного ила производится за счет встроенного в верхней части аппарата газоилоотделительного устройства, обеспечивающего в процессе экс-

плуатации биореактора формирование флокулированного и гранулированного ила с высокой седиментационной способностью.

UASB-процесс оказался настолько эффективным, что к настоящему времени эксплуатируется более 500 UASB-реакторов в составе промышленных установок по очистке сточных вод предприятий пищевой, фармацевтической, спиртовой, целлюлозно-бумажной, химической и других отраслей промышленности. В странах с теплым климатом (Индия, Португалия, Колумбия) UASB-реакторы успешно применяют для очистки коммунальных сточных вод.

В гранулах активного ила диффузионные расстояния минимальны и наиболее благоприятны для транспорта промежуточных продуктов разложения органического вещества. Исследователи считают, что агрегация выгодна прежде всего для межвидового переноса основного регулятора метаногенной системы – водорода – между кислотогенными, ацетогенными и метановыми бактериями. Компактное расположение бактерий в гранулированной биомассе благоприятствует эффективному массопереносу и увеличивает скорость анаэробной деградации загрязнений. Метаногенная активность гранулированного ила выше, чем у флокулированного, и значительно превышает активность дисперсной биомассы.

Агрегирование метаногенного биоценоза является уникальным явлением спонтанного формирования микроэкосистемы и играет исключительно важную роль в интенсификации процесса очистки стоков.

Гранулы могут иметь разнообразную форму: сферическую, дисковидную, округлую или неправильную. Плотность их колеблется в пределах 1040–1080 кг/м³. В составе гранул присутствуют представители всех групп бактерий метанового ценоза – кислотогенов, синтрофов, метаногенов, сульфатредукторов. Электронно-микроскопические исследования показали, что в микробной массе гранул преобладают нитчатые бактерии рода *Methanothrix*, которые, как считают большинство исследователей, играют решающую роль в формировании гранул. Между нитями метанотрикса в виде микроколоний и в свободной форме располагается большое количество морфологически разнообразных форм бактерий. Значительная часть микроколоний представлена ассоциацией синтрофных бактерий (*Syntrophomonas*, *Syntrobacter*) и водородиспользующих метаногенов (*Methanobacter*, *Methanobrevibacter*). Формирующиеся в производственных стоках гранулы активного ила имеют, как правило, черную окраску, обусловленную адгезией на нитях метанотрикса сульфида железа, который, как предполагают, принимает

участие в иницировании процесса гранулообразования и стабилизации агрегатов.

У исследователей нет однозначного мнения о роли внеклеточных полимеров в процессе агрегирования, хотя их присутствие в матрице гранул хорошо просматривается на электронно-микроскопических снимках. Содержание экзополимеров полисахаридной природы в гранулированном иле составляет обычно 2–5% от сухой массы. Большинство исследователей признают определяющую роль экзополимеров в образовании матрицы для удержания клеток бактерий и придания стабильности формирующимся агрегатам.

На процесс образования гранулированной биомассы в биореакторе влияет ряд факторов: наличие центров, иницирующих гранулообразование, состав сточной воды, температура и величина рН ферментационной среды, концентрация в среде двухвалентных катионов, гидродинамический режим в аппарате.

В результате многочисленных исследований предложено несколько гипотез относительно механизма инициации и образования гранул анаэробного ила. Считается общепризнанным, что центрами инициации гранулообразования являются присутствующие в сточной воде частицы органических и неорганических материалов и мелкие, но плотные бактериальные агрегаты, а доминирующим микроорганизмом в гранулах является метанотрикс. Отрицательно влияют на качество гранулированного ила взвешенные частицы с волокнистой структурой, которые ухудшают седиментационные свойства ила и даже вызывают его всплывание.

Способствует образованию гранул присутствие в сточной воде катионов кальция, формирующих сильные связи с анионными группами органической матрицы через так называемые «кальциевые мостики». Установлено, что оптимальные концентрации ионов кальция для получения высококачественного гранулированного ила находятся в диапазоне 150–450 мг/дм³.

Процесс гранулирования активного ила ускоряется, если сточная вода содержит углеводы и летучие жирные кислоты.

Разработанные зарубежными фирмами многочисленные модификации UASB-реактора различаются конструкцией газоилоотделительного устройства, выполняющего функции сепаратора трехфазной смеси: жидкости, частиц ила и биогаза. В простейшем варианте это устройство представляет собой перегородки конусной формы, перекрывающие собой все сечение аппарата и разделяющие его по высоте на зоны сбразивания и отстаивания (рис. 4.6).

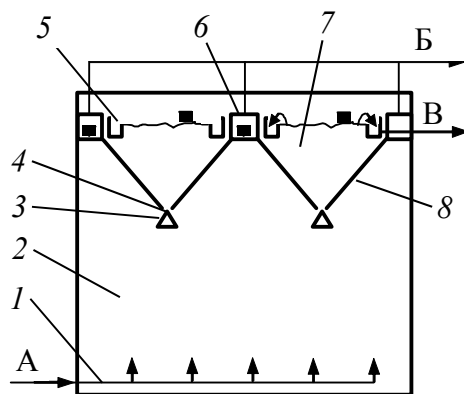


Рис. 4.6. UASB-реактор:

- 1 – распределительная система; 2 – зона сбраживания; 3 – дефлектор;
 4 – щель (вход в отстойную зону); 5 – водосборный лоток; 6 – газосборный короб;
 7 – отстойная зона; 8 – газонаправляющая перегородка;
 А – исходная сточная вода; Б – биогаз; В – очищенная сточная вода

Вверху направляющие перегородки образуют газосборные колпаки. Вход очищаемой сточной воды в зону отстаивания прикрывают перегородки-дефлекторы. Хлопья активного ила, транспортируемые потоком пузырьков образовавшегося биогаза или облегченные неотделившимися пузырьками, поднимаются вертикально вверх и контактируют с поверхностью направляющей перегородки. Пузырьки биогаза отделяются, биогаз скапливается в колпаках, а отяжелевшие хлопья ила опускаются вниз. В результате многократной циркуляции хлопья уплотняются и формируются гранулы, которые образуют в нижней части реактора плотный слой активного ила с концентрацией сухого вещества 50–100 кг/м³.

Сточная вода через щели между конусом и дефлектором поступает в зону отстаивания, образованную наружными поверхностями конусных перегородок. Коническое расширение зоны отстаивания уменьшает скорость восходящего потока сточной воды, частицы унесенной биомассы активного ила седиментируют и через щель над дефлектором возвращаются в зону активного сбраживания, в которой создается высокая концентрация гранулированной биомассы. Удельная производительность UASB-реакторов достигает 30 кг ХПК/(м³ · сут).

UASB-реакторы просты по конструкции, высокопроизводительны, но имеют один серьезный недостаток: продолжительность периода формирования в реакционном объеме гранулированного активного ила в достаточно высокой концентрации составляет 5–7 мес. Ускорить запуск биореактора (достижение расчетной производительности)

можно внесением в ферментационную среду частиц инертного материала (например, угольной пыли), инициирующих образование гранул, или инокулированием гранулированным активным илом из другого анаэробного биореактора. В последнем случае продолжительность периода запуска UASB-реактора сокращается до двух недель.

Комбинированный (гибридный) биореактор. Аппарат состоит из двух частей: верхняя часть (25–40% от общего объема) заполнена загрузкой и функционирует как анаэробный биофильтр, а нижняя, не заполненная загрузочным материалом, представляет собой UASB-зону. Биореактор можно рассматривать как анаэробный биофильтр с «укороченным» слоем загрузки или как UASB-реактор с газоилоотделительным устройством в виде загрузочного материала (рис. 4.7).

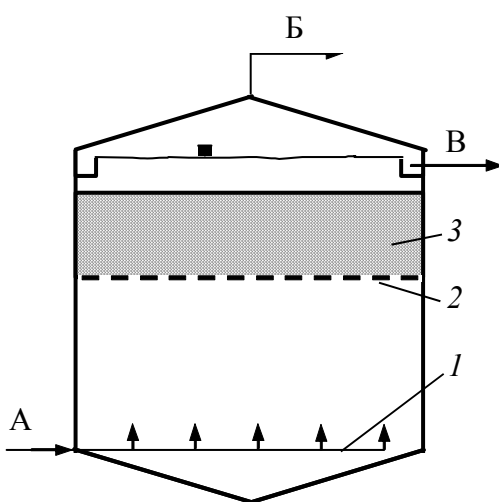


Рис. 4.7. Гибридный биореактор:

- 1 – распределительная система; 2 – поддерживающая решетка;
3 – слой загрузочного материала; А – исходная сточная вода;
Б – биогаз; В – очищенная сточная вода

Опыт эксплуатации гибридных биореакторов показал, что сильно-го обрастания загрузочного материала биопленкой не наблюдается, концентрация биомассы в загрузочном слое составляет 2–6 кг/м³. Основная функция загрузочного материала – удержание в пустотах флоккул биомассы, поднятых вверх пузырьками биогаза.

По сравнению с анаэробными биофильтрами в гибридных биореакторах экономится 60–75% дорогостоящего загрузочного материала, исключается заиливание загрузки. Период запуска гибридного биореактора менее продолжительный, чем для UASB-реактора. Указанные достоинства и опыт эксплуатации свидетельствуют о больших перспективах для биореакторов комбинированного типа.

Биореактор с псевдоожиженным слоем носителя. Среди современных систем анаэробной очистки стоков биореактор с псевдоожиженным слоем носителя биопленки является наиболее производительным. Биореакторы такого типа (рис. 4.8) в настоящее время успешно применяются во всех видах биологической очистки воды – аэробная и анаэробная очистка, нитрификация и денитрификация, глубокая доочистка сточных и природных вод. Псевдоожижающим агентом может быть жидкость, газ или газожидкостная смесь. В анаэробных процессах оживание частиц носителя осуществляют, как правило, восходящим потоком циркулирующей в замкнутом контуре очищаемой воды.

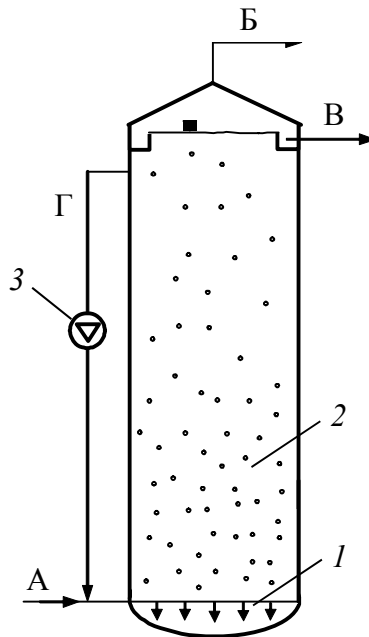


Рис. 4.8. Биореактор с псевдоожиженным слоем частиц носителя:
 1 – распределительная система; 2 – слой частиц носителя; 3 – насос;
 А – исходная сточная вода; Б – биогаз; В – очищенная сточная вода;
 Г – рециркуляция сточной воды

Некоторый (небольшой) вклад в оживание вносит также образующийся биогаз. В принципе возможно псевдоожижение в результате рециркуляции биогаза.

В биореакторе носитель может находиться в состоянии псевдоожижения (свободное витание частиц в объеме слоя) или в виде расширенного слоя (колебательное движение частиц). В качестве носителя исследованы различные материалы, но на практике получил распространение кварцевый песок с размером частиц 0,2–0,3 мм. Частицы меньшего диаметра вымываются из аппарата, а оживание слоя из крупных частиц песка требует больших энергозатрат. Линейная ско-

рость восходящего потока сточной воды для создания расширенного слоя носителя составляет 2–10 м/ч. Режим псевдооживления требует значительно большей скорости – 6–35 м/ч. На частицах носителя формируется биопленка толщиной 0,06–0,20 мм, что позволяет поддерживать в биореакторе высокую концентрацию биомассы – 20–40 кг/м³.

Небольшая толщина биопленки и витание частиц носителя в жидкой среде способствует интенсивному массообмену, следствием чего является высокая активность биопленки. Движение жидкости и контакт между частицами приводят к удалению отмершей биомассы и постоянному обновлению биопленки. Чрезмерное увеличение толщины биопленки снижает плотность частиц и повышает вероятность вымывания их из аппарата. Для эффективного удержания частиц носителя в реакторе предусматривают расширение его верхней части и размещение газоилоотделительных устройств, аналогичных применяемым в UASB-реакторах.

Несмотря на высокую производительность, биореакторы с псевдооживленным слоем в составе промышленных установок используются гораздо реже, чем, например, UASB-реакторы, что объясняется сложностью создания экономичной системы распределения и рециркуляции сточной воды в аппарате, повышенными эксплуатационными затратами.

В зависимости от характеристик сточной воды и местных условий любой из рассмотренных типов анаэробных биореакторов может оказаться наиболее пригодным.

Технологические особенности анаэробных методов очистки сточных вод. Как было указано ранее, анаэробный метод применим для предварительной очистки сточных вод на локальных очистных сооружениях с последующим сбросом сточной воды в коммунальную канализационную систему либо как первая ступень глубокой анаэробно-аэробной очистки в составе комплекса очистных сооружений.

Многие предприятия в Республике Беларусь не располагают собственными очистными сооружениями и сбрасывают сточные воды в городскую канализационную сеть. В последние годы все в большей степени ужесточаются требования к уровню загрязненности сточных вод, принимаемых на очистку городскими очистными станциями (таблица), и возникла потребность в компактных, малоэнергозатратных и малоотходных установках для предварительной очистки стоков непосредственно на территории предприятий. Этим условиям в полной мере отвечают современные анаэробные технологии. В ряде случаев целесообразно разделение сточных вод предприятия с выделением и локальной очисткой наиболее загрязненного стока.

Общие требования к производственным сточным водам предприятий биотехнологического профиля, поступающим в водоотводящую сеть г. Минска

Показатель состава и свойств сточных вод	Предельно допустимая величина
Взвешенные вещества, мг/дм ³	400
БПК ₅ , мг О ₂ /дм ³	400
ХПК, мг О ₂ /дм ³	1000
рН	6,0–9,0
Азот аммонийный, мг/дм ³	30
Фосфаты, мг/дм ³	10
Хлориды, мг/дм ³	350
Сульфаты, мг/дм ³	500
Сухой остаток, мг/дм ³	1000
Нефтепродукты, мг/дм ³	0,9
Сероводород (сульфиды), мг/дм ³	1,0
Железо, мг/дм ³	2,0

Существующая инфраструктура предприятия (наличие котельной, реагентного хозяйства, горячей оборотной воды) значительно упрощает решение задачи кондиционирования сточной воды по рН, температуре и эффективного использования образующегося биогаза.

На рис. 4.9 приведена одна из наиболее сложных схем локальной очистки производственного стока, которая, помимо основного процесса анаэробной деструкции загрязнений в биореакторе, включает предварительную подготовку сточной воды, очистку биогаза от сероводорода, удаление сульфидов из биологически очищенной сточной воды и обезвоживание образующихся осадков. Необходимость в каждой из перечисленных технологических операций определяется характеристиками сточной воды и конкретными местными условиями.

Предварительная обработка стока может заключаться в удалении грубодисперсных и минеральных примесей, усреднении расхода и уровня загрязненности, отстаивании, нейтрализации, обогащении биогенными элементами, подогреве, частичной преацидификации (выдержке в кислотогенной фазе) или физико-химической обработке. Практический опыт свидетельствует о необходимости удаления грубодисперсных примесей при очистке сточных вод свеклосахарных, картофеле- и овощеперерабатывающих заводов, мясокомбинатов, заводов по производству пива.

Усреднение стока является обязательной операцией для производств с периодической промывкой оборудования, значительными колебаниями расхода, концентрации загрязнений и величины рН.

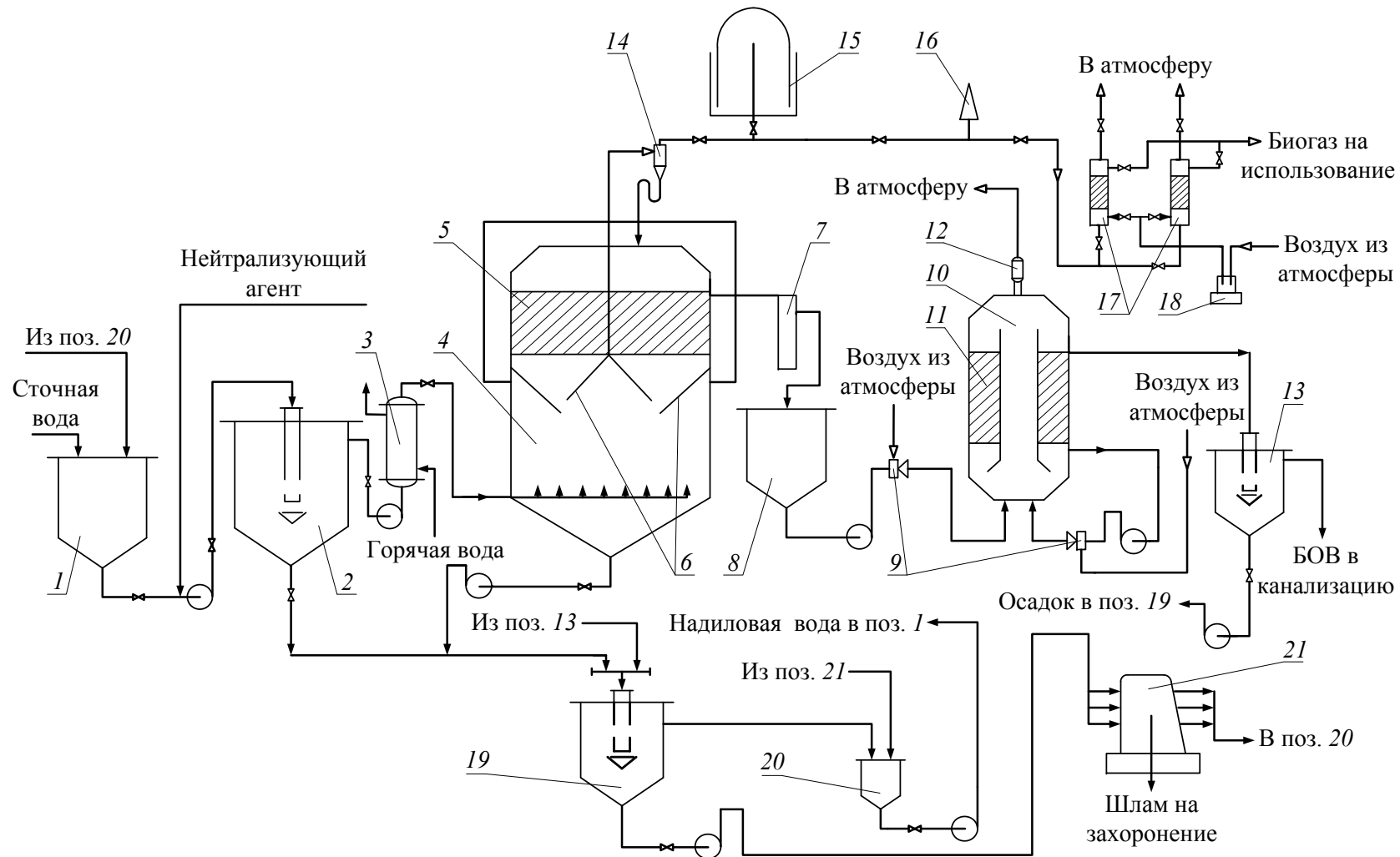


Рис. 4.9. Технологическая схема предварительной анаэробной очистки сточной воды:

- 1 – приемник сточных вод; 2, 13 – вертикальные отстойники; 3 – подогреватель; 4 – комбинированный анаэробный биореактор; 5 – фиксированная насадка; 6 – газоилоотделительное устройство; 7 – гидрозатвор; 8 – приемник биологически очищенной сточной воды; 9 – аэратор эжекторного типа; 10 – биореактор для удаления растворенного сероводорода из воды; 11 – волокнистая загрузка; 12 – каплеотделитель сетчатый; 14 – циклон-каплеотделитель; 15 – газгольдер; 16 – предохранительная «свеча»; 17 – установка для десульфуризации биогаза; 18 – нагнетатель воздуха; 19 – илоуплотнитель; 20 – сборник надиловой воды; 21 – фильтр-пресс

Усреднитель одновременно может выполнять функции отстойника, емкости для преацидификации и нейтрализации сточной воды. Как правило, при нейтрализации требуется подщелачивание стоков до оптимальной величины рН (6,5–7,5), значительно реже сточная вода нуждается в подкислении. В качестве нейтрализующих агентов используют NaOH, NH₄OH, Ca(OH)₂, Na₂CO₃. Наиболее дешевым реагентом является гидроксид кальция, но применение ее в большой дозе приводит к накоплению нерастворимого карбоната кальция в иле и снижению его активности. При нейтрализации сточной воды следует учитывать не только величину рН, но и содержание органических соединений азота, которые разлагаются в биореакторе с образованием аммиака, эффективно подщелачивающего среду. Высокое содержание органического азота (больше 500 мг/дм³) позволяет осуществлять очистку кислых (рН не ниже 3,5) стоков без подщелачивания реагентами, только за счет рециркуляции очищенной воды.

В настоящее время накоплен значительный положительный опыт анаэробной очистки низкоконцентрированных сточных вод (1–3 г/л по ХПК) в условиях невысокой и колеблющейся температуры исходного стока (20–30°C), вопреки существовавшим ранее представлениям о необходимости строгого поддержания оптимальной температуры. Низкая температура (20°C и менее) неприемлема при очистке концентрированных сточных вод или содержащих значительную часть загрязнений в виде биохимически трудногидролизующих взвешенных веществ.

При очистке сточных вод, содержащих загрязнения в виде простых органических соединений, рекомендуют применять частичную преацидификацию (со снижением ХПК на 20–30%), которую часто проводят не в отдельных кислотофазных биореакторах, а в усреднителях. В результате создаются более благоприятные условия для функционирования метаногенных бактерий в основном биореакторе. По поводу целесообразности полного разделения кислотогенной и метаногенной фаз применительно к очистке стоков в биореакторах второго поколения единого мнения у специалистов нет.

Выявлены следующие недостатки двухфазных технологий: увеличение капитальных затрат; в ряде случаев возникает необходимость в нейтрализации ЛЖК, образующихся в кислотофазном реакторе и закисляющих сток до величины рН < 5; дисперсная биомасса кислотогенных бактерий, содержащаяся в стоке после первой фазы обработки, способствует вытеснению метаногенного ила из биореактора второй фазы. В связи с этим при двухфазной обработке концентрированных стоков рекомендуется отделение кислотогенной биомассы отстаиванием.

Кроме того, целесообразна оптимизация кислородного брожения для конкретного вида стоков с целью получения интермедиатов наиболее благоприятного для последующего метанового сбраживания состава.

Считают выгодным применение глубокого разделения фаз анаэробного брожения при очистке сточных вод с высоким содержанием соединений серы. В этом случае большая часть сероводорода, образующегося в результате протекающей на первой стадии брожения сульфатредукции, отводится с «кислотогенным» биогазом, что повышает качество биогаза, получаемого на второй стадии.

Избыточная биомасса активного ила удаляется из биореактора с очищенной водой в виде взвешенных веществ. В реакторах со взвешенно-седиментирующей биомассой (гибридный, UASB-реактор) необходим периодический отбор избыточного ила из нижней части аппарата. При очистке сточных вод с уровнем загрязненности по ХПК 2–3 г/дм³ прирост избыточной биомассы ила составляет в среднем 150–200 мг/дм³, что позволяет сбрасывать очищенный сток без отставивания в городскую канализационную сеть или направлять на доочистку в аэробные сооружения. Количество избыточного ила, удаляемого непосредственно из биореактора, составляет в этих условиях не более 0,006–0,009 м³/м³ сточной воды.

Анаэробный ил может длительное время храниться при температуре 15–20°C (в течение года активность ила снижается на 20–30%). Резервный запас ила используется в качестве инокулята при резких нарушениях режима работы биореактора или при запуске других реакторов. В странах Западной Европы гранулированный ил производится как товарный продукт, предназначенный для запуска анаэробных установок. Хорошие водоотдающие свойства ила позволяют обезвоживать его в центрифугах или фильтр-прессах без применения реагентов.

Удаление из очищенной сточной воды растворенного сероводорода при необходимости производят посредством контакта со стальной стружкой или биохимическим окислением до серы в аэробных условиях с помощью иммобилизованных бактерий рода *Thiobacillus*, спонтанно развивающихся в аэробном активном иле. Требуемая продолжительность аэрации при исходной концентрации сероводорода 150–180 мг/дм³ составляет 3–4 ч.

Общим недостатком анаэробных биореакторов является длительный период выхода на проектную производительность из-за низкой скорости роста и невысокой адгезионной способности метаногенных бактерий. Стабилизация функционирования биореакторов с прикрепленной биопленкой может продолжаться до года. Значительно

быстрее (за 4–6 мес.) происходит запуск реакторов со взвешенно-сидиментирующей биомассой (UASB-реактор, гибридный), но в период запуска необходимо соблюдать следующие *требования*:

1) разбавление сточной воды при высоком содержании загрязнений или токсичных компонентов;

2) поддержание низкой скорости протока сточной воды (до $0,01 \text{ ч}^{-1}$), исключающей вымывание флокул и гранул активного ила из аппарата;

3) постепенное увеличение нагрузки по органическим загрязнениям только после достижения степени очистки стока по биоразлагаемой части ХПК не менее 80%;

4) поддержание оптимальных значений рН среды (не ниже 6) и температуры процесса.

Резко сокращает продолжительность запуска UASB-реактора (до 2–3 недель) инокулирование его гранулированным илом (5–15 кг органического вещества на 1 м^3 объема ферментационной среды) из другого биореактора, функционирующего на аналогичном стоке. При отсутствии ила анаэробных биореакторов могут быть использованы и другие источники посевного материала. В этом отношении наиболее пригодны анаэробно сброженные осадки очистных сооружений. Большая неожиданность состоит в том, что, как показали исследования, в качестве инокулята для анаэробных биореакторов применим даже активный ил из аэротенков, в котором содержится до 10^8 клеток метаногенных бактерий в расчете на 1 г сухого вещества.

Опыт эксплуатации анаэробных биореакторов в Западной Европе свидетельствует, что возникающие технические проблемы связаны с утечкой биогаза, засорением распределительных устройств для сточной воды, коррозией и недостаточной теплоизоляцией аппаратов. Специалисты оценивают эксплуатацию современных анаэробных биореакторов как нетрудоемкую. Капитальные затраты на строительство анаэробной установки с UASB-реактором объемом 1000 м^3 составляют в условиях Западной Европы 500–750 тыс. дол. США. Эксплуатационные затраты на анаэробную очистку 1 м^3 сточной воды – 0,06–0,08 дол. США. С учетом дохода от реализации биогаза анаэробная очистка стоков с высоким уровнем загрязненности может стать прибыльной.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Ручай, Н. С. Экологическая биотехнология / Н. С. Ручай, Р. М. Маркевич. – Минск: БГТУ, 2006. – 311 с.
2. Технология микробных белковых препаратов, аминокислот и жиров / И. И. Грачева [и др.]. – М.: Пищевая промышленность, 1980. – 448 с.
3. Технология спирта / В. Л. Яровенко [и др.]; под ред. В. Л. Яровенко. – М.: Колос, 1999. – 464 с.
4. Ручай, Н. С. Биотехнология: Лабораторный практикум / Н. С. Ручай, Р. М. Маркевич, И. А. Гребенчикова. – Минск: БГТУ, 2005. – 165 с.
5. Гюнтер, Л. И. Метантенки / Л. И. Гюнтер, Л. Л. Гольдфарб. – М.: Стройиздат, 1991. – 128 с.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
1. ТЕХНОЛОГИЯ АМИНОКИСЛОТ	4
1.1. Производство препаратов лизина	7
1.2. Производство глутаминовой кислоты	23
1.3. Технология триптофана	27
2. ПРОИЗВОДСТВО ЭТАНОЛА	32
2.1. Продуценты этанола	33
2.2. Ферментативное осахаривание крахмала	36
2.3. Водно-тепловая обработка крахмалсодержащего сырья с получением сусла	39
2.4. Сбраживание сусла	43
2.5. Ректификация бражки	47
2.6. Безопасная эксплуатация брагоректификационных установок	53
3. ПРОИЗВОДСТВО БИОГАЗА	55
3.1. Характеристика метанового брожения	56
3.2. Технологические аспекты производства биогаза	60
3.3. Подготовка и использование биогаза	72
4. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЧИСТКА СТОЧНЫХ ВОД	77
4.1. Аэробная механобиологическая очистка сточных вод	77
4.2. Анаэробная биологическая очистка сточных вод	87
РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА	107

Учебное издание

Ручай Николай Степанович
Остроух Олег Владиславович

ПРОМЫШЛЕННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ

Курс лекций

Редактор *Е. С. Ватеичкина*
Компьютерная верстка *Д. А. Столбунов*
Корректор *Е. С. Ватеичкина*

Издатель:

УО «Белорусский государственный технологический университет».

ЛИ № 02330/0549423 от 08.04.2009.

Ул. Свердлова, 13а, 220006, г. Минск.