

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им.Г.К.Скрябина, РАН

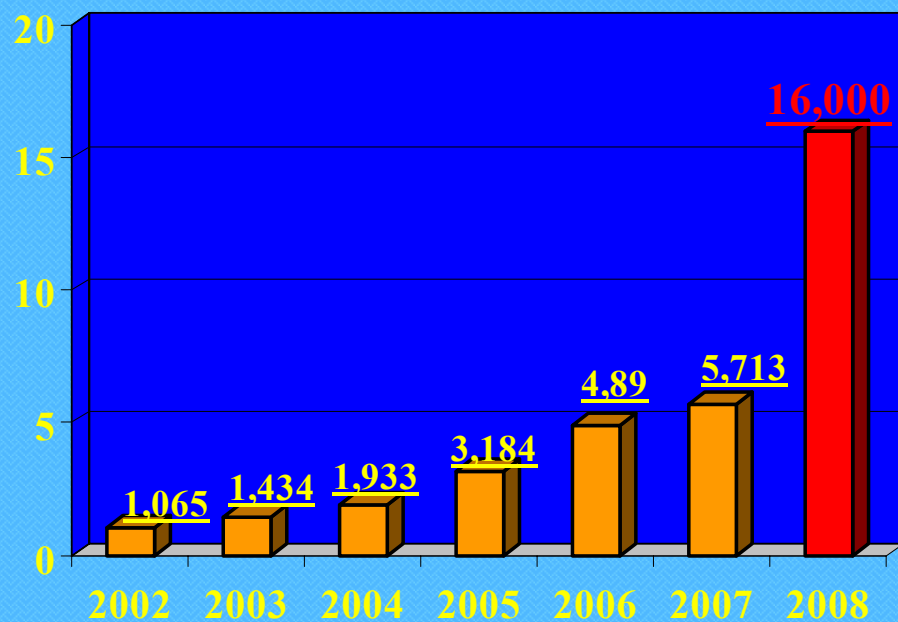
Пушино, Московская область

**ГЛИЦЕРИН-СОДЕРЖАЩИЕ ОТХОДЫ
ПРОИЗВОДСТВА БИОДИЗЕЛЯ – НОВЫЙ
СУБСТРАТ ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО
ПОЛУЧЕНИЯ ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ**

И.Г. Моргунов

Заведующий Лабораторией аэробного метаболизма микроорганизмов

Производство биодизеля в странах ЕС (млн. тонн)



1. Германия – 50,6%;
2. Франция – 15,3%;
3. Италия – 6,3%;
4. Австрия – 4,7%;
5. Испания – 2,9%;
6. Великобритания – 2,6%;
7. Польша – 1,4%;
8. Чехия – 1,1%;
9. Другие страны – 15,1%.

Директива ЕС 2003 г.
(2003/30/ЕС Article 3(1))

- 5,75% к 2010 г.
- 10% к 2020 г.
- 25% к 2030 г.





Схема получения биодизеля и лимонной кислоты из отходов





Эритритол

1,2-пропандиол

Лимонная кислота

Лимонная кислота



Масштаб производства – 1 400 000 тонн в год, ежегодный прирост 3-5%

Основные производители –

Западная Европа	–	400 000 – 500 000т,
США	–	200 000 – 300 000 т ,
Китай	-	100 000 – 200 000 т.

В Германии за 10 лет Vogelbusch построил 11 заводов.

Для российского рынка ЛК производится в Китае (60%), и еще около 40% производит «Белгородский завод лимонной кислоты (Цитробел)», который после распада СССР остался единственным производителем ЛК в России.

Емкость российского рынка - около 13 млн. евро (4% мирового рынка в денежном выражении), или около 10 тыс. тонн ЛК в год.

Назначение – пищевая промышленность, включая напитки – 65-70%,
фармакология и косметика – 10%,
детергенты – 19%,
химическая и др. промышленность < 10%



Merritts Mill Pond
Photo by Jess Van Dyke
Copyright 2003 Jess Van Dyke





В странах ЕС использование полифосфатов в составе СМС запрещено законодательно.

Заменители полифосфатов в Европе – циолиты и цитрат натрия.

По оценкам НПАО “РОССА” потребность в цитрате натрия в составе СМС - 10 -12 тыс. тонн в год.

Возможные потребители цитрата натрия в России:

НПАО “РОССА” (г. Пермь),
НПАО “Синтез ПАВ” (г. Щебекино),
ГПО “Алексинский химкомбинат”,
ОАО “ХенкелЭра” (г. Тосно),
“Procter Gamble ” (г. Новомосковск)
“Аист” (г. Санкт-Петербург).

Трудности при осуществлении традиционного процесса производства лимонной кислоты с помощью грибов

1. Быстрая потеря продуцентом активности
2. Посевной материал – конидии гриба ("споровый консерв"), необходимость иметь цех по производству конидий
3. Сильная зависимость активности продуцента от концентрации микроэлементов (Mn, Fe, Zn)
4. Необходимость освобождения сырья от избытка микроэлементов обработкой $K_4[Fe(CN)_6]$
5. Сложность формирования мицелиальных глобул гриба
6. Отвалы гипса в результате процедуры выделения кислоты
7. *Aspergillus niger* – причина аллергических заболеваний

Yarrowia lipolytica
(этанол, глицерин, масло)

Ферментация
↓
Отделение биомассы
↓
Обесцвечивание
↓
Подтитровка
↓
Выпаривание
↓
Кристаллизация
↓
Фильтрация
↓
Сушка

Na-цитрат техн.

Na-цитрат
концентрат.

Aspergillus niger
(меласса)

Обработка мелассы

Ферментация
↓
Отделение биомассы
↓
Обработка известью
↓
Отделение и промывка Ca-цитрата
↓
Обработка H_2SO_4
↓
Фильтрация гипса
↓
Обесцвечивание
↓
Подтитровка
↓
Выпаривание
↓
Кристаллизация
↓
Фильтрация
↓
Сушка

Na-цитрат техн.

**Сравнение процессов производства лимонной кислоты
с помощью грибов и дрожжей**

Биосинтез ЛК на неочищенных растительных маслах

Субстрат	А.с.б. (г/л)	ЛК (г/л)	ИЛК (г/л)	Сумма (г/л)	ЛК:ИЛК	УЛК %
Оливков.	13,5	64,4	3,5	67,9	18:1	121
Рапсовое	12,2	95,1	10,0	105,1	9,5:1	131
Подсолн.	12,3	100,0	13,1	113,1	8:1	123

Отбор продуцентов лимонной кислоты из глицерина



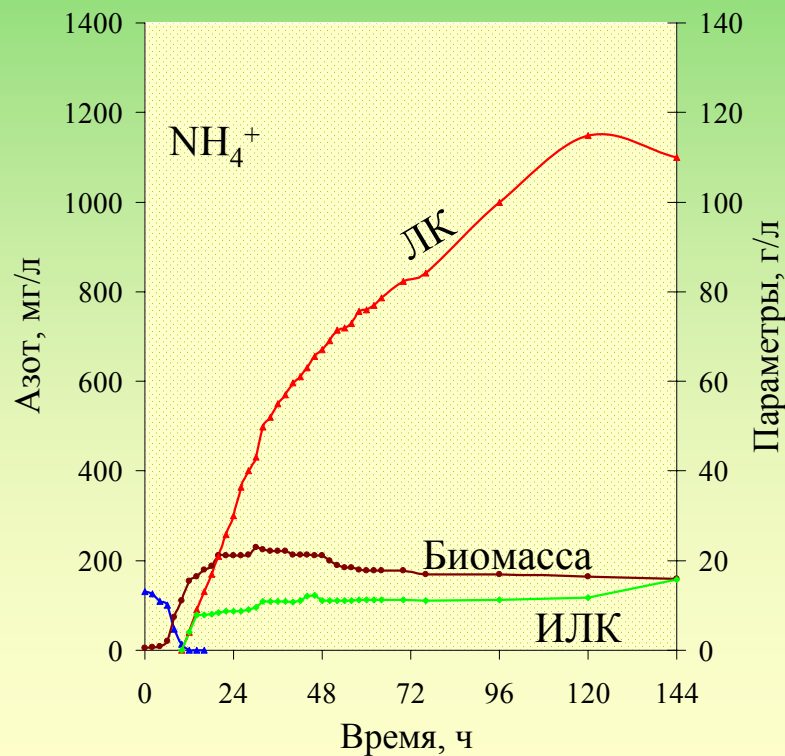
Экспресс-метод оценки
кислотообразования дрожжей.
Дрожжи выращивали в условиях лимитирования роста азотом при избытке глицерина на агаризованной среде с мелом. При экскреции кислоты вокруг колоний появлялись различные по величине зоны растворения мела, соответствующие количеству образованных кислот.

Вид дрожжей	Рост	Диаметр зоны
<i>Debaryomyces</i> sp. 1 шт.	+	-
<i>C. catenulate</i> 2 шт.	+	-
<i>C. guilliermondii</i> 1 шт.	+	-
<i>C. olea</i> 1шт.	+	-
<i>C. rugosa</i> 1 шт.	+	-
<i>C. paludigena</i> 1 шт.	+	2,0 мм
<i>C. pelliculosa</i> 1 шт.	+	-
<i>C. zeylanoides</i> 4 шт.	+	-
<i>Pichia besseyi</i> 1 шт.	+	-
<i>Pichia media</i> 1 шт.	+	-
<i>P. inositovora</i> 1 шт.	+	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1 шт.	+	-
<i>Torulopsis candida</i> 2 шт.	+	-
<i>Yarrowia lipolytica</i>		
16 шт.	+	2,0 мм
10 шт.	+	2,0-4,0 мм
8 шт.	+	4,5-8,0 мм
3 шт.	+	более 8,0

мм

Рост и биосинтез лимонной кислоты у дрожжей *Yarrowia lipolytica* в среде с очищенным глицерином

Глицерин



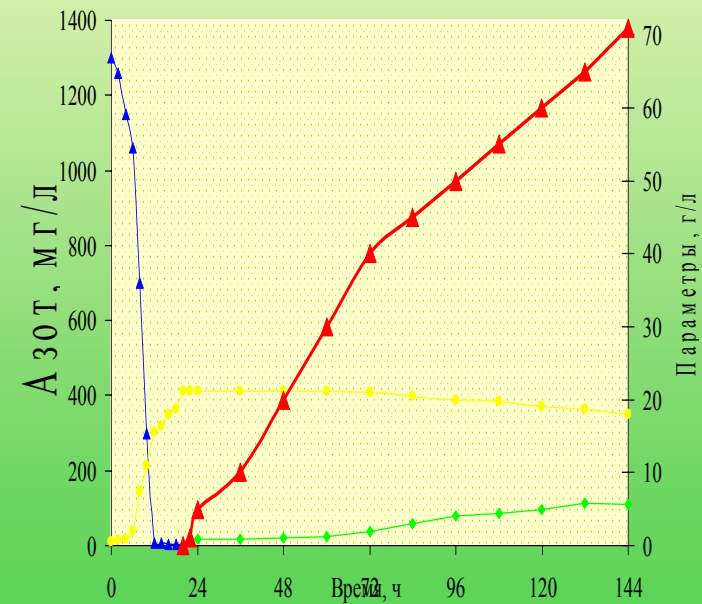
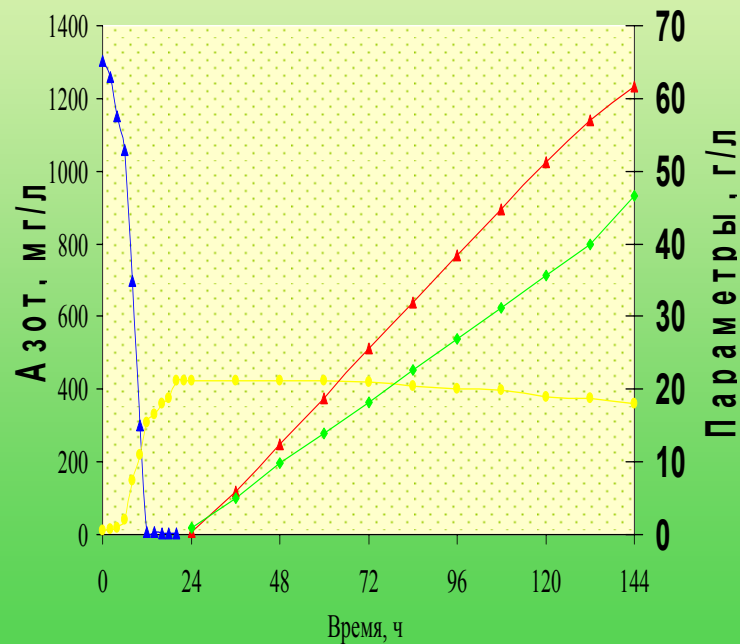
На 144 ч накапливалось 110 г/л ЛК, соотношении ЛК : ИЛК составляло 7 : 1.

Объемная продуктивность процесса биосинтеза ЛК - 1,62 г/(л·ч)

Рост и биосинтез лимонной кислоты в среде с глицерин – содержащими отходами производства биодизеля.

Природный штамм *Yarrowia lipolytica*

Мутантный штамм N 15



Выводы

- 1. Впервые показана принципиальная возможность получения ЛК с помощью дрожжей из глицерин-содержащих субстанций (отходов биодизельного производства).**
- 2. Селекционирован мутантный штамм дрожжей *Y. lipolytica*, способный продуцировать ЛК при отсутствии побочных продуктов.**
- 3. Подобраны условия культивирования, обеспечивающие направленный синтез ЛК из глицерина, в том числе: лимитирование роста клеток азотом, интенсивная аэрация, pH=5,0, концентрация глицерина -30-40 г/л, равномерная подача глицерина в среду.**
- 4. Разработан новый перспективный способ получения ЛК и цитрата с концентрацией конечного продукта ЛК - 100 г/л или цитрат натрия - 130 г/л).**
- 5. Разработана эффективная схема выделения и очистки ЛК и цитрата натрия, позволяющая получать конечный продукт с чистотой более 99 %.**

БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ