

Биотоплива

С.Д.Варфоломеев, Е.Н.Ефременко, Л.П.Крылова

Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля Российской академии наук

119334 Москва, ул. Косыгина, 4, факс (499) 137–4101

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Химический факультет

119991 Москва, Ленинские горы, факс (495) 939–3589

Проанализированы основные виды биотоплива, которые могут быть получены из биовозобновляемых источников энергии. В качестве последних рассматриваются различные виды биомассы, которая накапливается в результате фотосинтетического преобразования солнечной энергии. Характерной особенностью получения биотоплив является комбинирование химических и биотехнологических подходов.

Библиография — 260 ссылок.

Оглавление

I. Введение	544
II. Эффективность преобразования солнечной энергии посредством фотосинтетического производства биомассы	546
III. Биометан	548
IV. Биоэтанол	549
V. Биобутанол	552
VI. Биодизельное топливо	553
VII. Биоводород	557
VIII. Новые подходы к получению биотоплива	559

I. Введение

Энергообеспеченность и энерговооруженность — ключевые проблемы устойчивого развития современного технологического общества. Одним из первых на необходимость качественного изменения энергетики и развития возобновляемых источников энергии указал лауреат Нобелевской премии академик Н.Н.Семенов. Анализируя динамику энергопотребления и экологических показателей теплового загрязне-

ния и загрязнения CO_2 , он писал:¹ «Быстрое истощение в будущем ресурсов обычного топлива и увеличение диоксида углерода в атмосфере настоятельно ставит перед человечеством проблему создания принципиально новой базы мировой энергетики. Времени на создание этой базы у нас мало, по-видимому, около 100 лет».

Реалии сегодняшнего дня ставят вопрос о глобальной энергетической безопасности и проведении антикризисной энергетической политики.² Существенную и все возрастающую роль в мировой энергетике играют возобновляемые источники энергии, основанные на использовании солнечной энергии. По мнению еще одного лауреата Нобелевской премии академика Ж.И.Алферова, ставку на солнечную энергетику следует рассматривать не только как беспроигрышную, но в долгосрочной перспективе и как безальтернативный выбор для человечества.³ В последнее десятилетие стало очевидно, что формы и методы преобразования солнечной энергии весьма разнообразны и диверсифицированы. Традиционными в настоящее время являются способы получения электроэнергии с помощью ветроэнергетических установок. Интенсивно развиваются системы преобразования солнечной энергии, основанные на использовании тепла и тепловых машин. Плотность светового потока солнечной энергии весьма высока, в пустынных горных районах на южных широтах эта величина достигает $0.5–1.8 \text{ кВт} \cdot \text{м}^{-2}$. Термальные солнечные электростанции с применением параболоцилиндрических и параболических концентраторов способны осуществлять конверсию солнечной энергии в электричество

С.Д.Варфоломеев. Член-корреспондент РАН, доктор химических наук, профессор, директор ИБХФ РАН. Телефон: (495)939–3589, e-mail: sdvarf@sky.chph.ras.ru

Область научных интересов: химические основы процессов конверсии солнечной энергии в биотопливо.

Е.Н.Ефременко. Доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ. Телефон: (495)939–3170, e-mail: elena_efremenko@list.ru

Область научных интересов: биотехнологические основы конверсии различного сырья в биотопливо.

Л.П.Крылова. Кандидат химических наук, начальник информационно-аналитического отдела ИБХФ РАН.

Телефон: (495)939–7285, e-mail: lpkrylova@sky.chph.ras.ru
Область научных интересов: химические основы процессов конверсии солнечной энергии в биотопливо.

Дата поступления 22 января 2010 г.

с кпд 25–30%. В 2008 г. в Национальной лаборатории Сандиа (Sandia, США) достигнута эффективность в 31.2% с использованием параболического концентратора с двигателем Стирлинга. Солнечные электростанции становятся весьма существенным конкурентом традиционным способам получения электроэнергии.

Исключительно быстрыми темпами развиваются системы прямого преобразования солнечной энергии в электричество с помощью полупроводниковых преобразователей. Мировая динамика роста установленных мощностей фотоэлектрических полупроводниковых преобразователей имеет экспоненциальный характер, при этом время удвоения составляет 1.5–1.8 года. Лидерами в этой «гонке» являются Китай, Япония и страны Евросоюза.⁴

Современное развитие фотовольтаических преобразователей солнечной энергии весьма динамично.^{5,6} На рис. 1 представлен рост суммарных мощностей полупроводниковых фотоэлектрических преобразователей по сравнению с существующим и прогнозируемым ростом глобального производства электроэнергии всеми используемыми в настоящее время способами (тепловые электростанции на угле, нефти и газе, гидроэлектростанции, атомные станции). Видно, что в 2025–2035 гг. количество электроэнергии, полученной с использованием фотовольтаических преобразователей солнечной энергии, может сравняться с количеством электроэнергии, полученной традиционными способами. Похожая картина наблюдается при сравнении динамики роста производства нефти и жидкого биотоплива (биоэтанола и биодизельного топлива) (рис. 2). Если принять во внимание быстрые темпы развития ветровой энергетики и солнечной термоэнергетики, то можно весьма обоснованно утверждать, что в первой четверти XXI в. заканчивается эпоха традиционных ископаемых топлив и на первое место в энергообеспеченности человечества выступает солнечная энергия. Реальное развитие событий подтверждает предвидение академика Н.Н.Семенова.

Потребности в энергии в целом определяются численностью населения планеты, т.е. развитие мировой энергетики и рост производства энергии в мире коррелируют с ростом народонаселения.

В последние 30–50 лет удельная скорость роста производства энергии (в расчете на одного человека) начинает

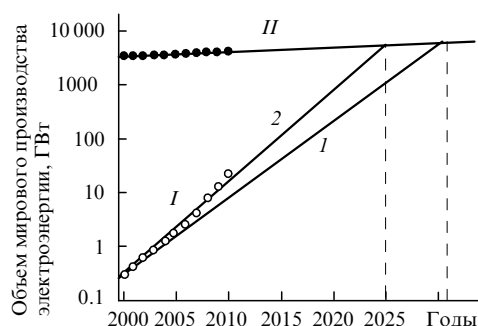


Рис. 1. Динамика производства электроэнергии с применением полупроводниковых солнечных преобразователей (I) в сравнении с производством электроэнергии традиционными способами (II).⁴

Экстраполяция по данным для 2000–2005 гг. (I) и 2005–2010 гг. (2).

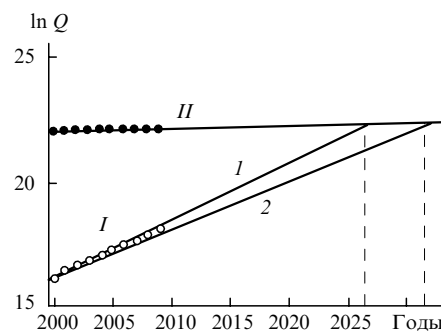


Рис. 2. Динамика производства биоэтанола и биодизельного топлива (I) в сравнении с добычей нефти (II).⁶ Экстраполяция по данным для 2000–2005 гг. (I) и 2005–2010 гг. (2). Q — объем производства, млрд т.

отставать от скорости роста численности народонаселения. С середины 60-х гг. XX в. производство энергии в год на одного человека планеты вышло на постоянный уровень (~60 ГДж) и имеет тенденцию к снижению. Это определяется исключительно высокой скоростью роста народонаселения Земли.^{7,8}

Какое количество энергии потребуется человечеству и способны ли возобновляемые источники энергии, в частности биотоплива, обеспечить эти объемы?

Показано, что в настоящее время наблюдается уменьшение скорости роста численности человечества.⁹ Математическое моделирование процесса позволяет прогнозировать динамику роста с переходом системы в устойчивое состояние с предельной численностью около 9–11 млрд человек через 80–100 лет. Если принять, что энергопотребление одного человека увеличится и достигнет 100 ГДж, то энергия, необходимая для устойчивого существования человечества, будет составлять $\sim 10^{21}$ Дж. С учетом развития энергосберегающих технологий, которые позволяют существенно уменьшить расход энергии, будущее народонаселение Земли будет комфортно обеспечено этими объемами энергии. Плотность энергии в солнечных районах Земли достаточно высока и составляет $800–1500 \text{ Вт} \cdot \text{м}^{-2}$. Подсчитано, что при утилизации энергии $800 \text{ Вт} \cdot \text{м}^{-2}$ с кпд 30% при 12-часовом освещении необходимая энергия может быть собрана с поверхности $2.6 \cdot 10^5 \text{ км}^2$. Это ничтожная доля поверхности планеты (для сравнения, площадь пустыни Сахара равна $8.6 \cdot 10^6 \text{ км}^2$).

Существенный вклад в развитие энергетики вносят биотоплива — энергоносители, получаемые в результате конверсии солнечной энергии посредством фотосинтеза с последующим химическим и биотехнологическим превращением в жидкое или газообразное топливо. Фундаментальные проблемы получения биоэнергоносителей неоднократно ранее обсуждались,^{10–13} однако эта область развивается достаточно быстро и требует непрерывного анализа. Рост производства биотоплив развивается экспоненциально и удваивается за 2–4 года.¹³ В 1974 г. стартовал бразильский спиртовой проект, который в определенной степени обеспечил рост производства топливного этанола. В 2002–2008 гг. мировое производство этанола возросло в 3.5 раза в основном за счет биоэтанольной промышленности США. В настоящее время ежегодно в мире добывается

$5.5 \cdot 10^{12}$ л нефти. Современное мировое производство этанола составляет $\sim 5 \cdot 10^{10}$ л в год. Нетрудно подсчитать, что если темпы роста биотопливной продукции сохранятся, то мировая индустрия производства биотоплив может достичь современного уровня нефтяной промышленности по производству традиционных видов топлива через 15–25 лет (см. рис. 2). При этом речь идет о производстве биотоплив не из зерна, а из лигноцеллюлозосодержащих материалов, прежде всего из отходов сельского хозяйства и перерабатывающих отраслей промышленности.

В целом ряде работ анализируется научный и технический потенциал производства биотоплив в различных странах мира,^{14–18} в том числе в Швеции, Нидерландах,¹⁹ Греции,^{20,21} Бразилии,²² Аргентине,^{23,24} Китае,²⁵ Англии,²⁶ Тайване,²⁷ Корее.²⁸ Обсуждаются также экономические аспекты производства.²⁹

Принципиальным стимулом к развитию биотопливной индустрии являются экологические преимущества использования биотоплив. Биотоплива — продукты фотосинтетического восстановления CO_2 , крупномасштабное производство и использование которых вместо традиционного углеводородного топлива может обеспечить стабилизацию существующего уровня накопления диоксида углерода в атмосфере и предотвратить его рост.

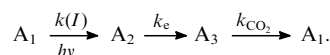
Широкое использование солнечной энергии способно качественно изменить состояние окружающей среды на Земле. В результате применения ископаемых топлив в атмосферу выбрасывается большое количество тяжелых металлов, соединений серы, канцерогенных углеводородов. Всего этого нет в методах, использующих солнечное излучение. Принципиальной особенностью освоения энергии Солнца является отсутствие теплового загрязнения. Любые другие источники производства энергии (ископаемое топливо, атомная и термоядерная энергия) связаны с производством дополнительного количества тепла, что при росте энергетики на их основе неминуемо ведет к тепловому загрязнению и глобальному перегреву планеты.¹ Будущее развитие этой области, безусловно, зависит от экономической доступности материалов для изготовления солнечных преобразователей, т.е. от уровня развития их производства.

II. Эффективность преобразования солнечной энергии посредством фотосинтетического производства биомассы

Основой получения биотоплив является фотосинтез — сложный физико-биохимический процесс, который приводит к восстановлению диоксида углерода до углеводов и других органических соединений с одновременным разложением воды, сопровождающимся образованием молекулярного кислорода. В данном обзоре фотосинтез рассматривается с точки зрения эффективности преобразования солнечной энергии. Проанализирована потенциально возможная и реально достижимая продуктивность различных систем по производству биомассы как источника сырья для вторичных процессов получения биоэнергетических носителей.

Построение количественно обоснованных моделей процесса представляется необходимым как с точки зрения демонстрации предельных характеристик систем, так и с точки зрения оценки возможности улучшения реальных характеристик. Недавно был проведен анализ эффективности и продуктивности фотосинтезирующих систем в рамках кинетического приближения.³⁰

Состояние фотосинтетической единицы в рамках такой кинетической схемы можно представить следующим образом:



Сложный физико-биохимический процесс восстановления CO_2 условно разбит на стадии: первичный процесс, протекающий под действием квантов света ($A_1 \rightarrow A_2$) и зависящий от интенсивности поглощения света ($k(I)$), электронно-транспортный процесс ($A_2 \rightarrow A_3$), который может быть охарактеризован константой скорости k_e , и, наконец, транспорт электронов на CO_2 с получением углеводов. Какая стадия будет лимитирующей, зависит от условий и соотношения величин констант скоростей указанных процессов.

Коэффициент преобразования энергии (η) в рамках фотосинтетического процесса можно определить как

$$\eta = \eta_1 \cdot \eta_2 \cdot \eta_3 \cdot \frac{J_p}{I},$$

где J_p — поток генерируемого продукта, выраженный в энергетических единицах; I — интенсивность поглощенного света; η_1 , η_2 , η_3 — коэффициенты, определяемые особенностями механизма фотосинтеза: η_1 — доля фотосинтетически активного излучения (спектр поглощения пигмента) в общем световом потоке солнечного излучения, этот коэффициент равен ~ 0.45 ; η_2 отражает двухквантовый механизм переноса электрона в рамках функционирования фотосистемы I и фотосистемы II, значение этого коэффициента равно 0.41 по потенциальной энергии и ~ 0.35 по свободной энергии;¹⁰ коэффициент η_3 характеризует отражающую способность системы и равен 0.8–1.0.

В соответствии с кинетической схемой, величина потока генерируемого продукта определяется уравнением

$$J_p = \frac{k(I)A_0}{\{1 + [k(I)/k_e]\} + [k(I)/k_{\text{CO}_2}]\{\text{CO}_2\}} - \beta A_0, \quad (1)$$

где A_0 — общая концентрация фотосинтетических единиц на единицу поверхности, $\{\text{CO}_2\}$ — концентрация CO_2 . Добавочный член βA_0 связан с расходом запасенной энергии для функционирования системы.

Уравнение (1) характеризует продуктивность фотосинтеза и отражает важную особенность в поведении систем, а именно — «насыщение» потока продукта при высоких интенсивности света и концентрации CO_2 . В пределе при «насыщающих» интенсивности света и концентрации конечного акцептора электронов (CO_2) получаем

$$J_p = (k_e - \beta)A_0 \quad \text{при} \quad I \rightarrow \infty, \{\text{CO}_2\} \rightarrow \infty.$$

Предельно высокое значение коэффициента преобразования энергии, реализуемое при $J_p/I = 1$, равно $\eta_1 \cdot \eta_2 \cdot \eta_3 \approx 0.15$.

Зависимость величины η от интенсивности света имеет две особенности.

1) Существует пороговая интенсивность света (I_0), ниже которой запасание энергии в системе не происходит. Чем выше величина β (темновое использование запасенной энергии), тем выше величина пороговой интенсивности света, при превышении которой происходит запасание энергии.

2) Зависимость коэффициента преобразования энергии от интенсивности света представляет собой функцию с максимумом (при $I = I_m$).

Можно количественно оценить предельную продуктивность, которая может реализоваться в системах на основе фотосинтеза. Если принять, что в пределе одному реакционному центру соответствует одна молекула фотосинтетического пигмента, при коэффициенте экстинкции $10^4 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ поверхностная концентрация фотосинтетических единиц будет равна $10^{-3} \text{ моль} \cdot \text{м}^{-2}$. Предельная продуктивность системы по поглощению CO_2 равна $0.27 \text{ г} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, по образованию углеводов — $0.19 \text{ г} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. Если принять, что время высокоинтенсивного освещения системы $\sim 10 \text{ ч}$, то предельная суточная производительность по поглощению CO_2 равна $9.9 \text{ кг} \cdot \text{м}^{-2}$, по получению углеводов — $6.75 \text{ кг} \cdot \text{м}^{-2}$. Следует подчеркнуть, что это предельная теоретическая величина, которая может быть реализована при предельно высокой концентрации реакционных центров (одна молекула пигмента на один реагирующий центр) при насыщающих интенсивностях света и насыщающих концентрациях CO_2 .

Реальная продуктивность фотосинтетических систем существенно ниже теоретического предела. Как правило, системы лимитированы светом, низкими концентрациями CO_2 или такими факторами, как ограничения по воде, минеральным солям и др.

Наибольшей продуктивностью обладают микроскопические водоросли, культивируемые в различных, в том числе и проточных, системах. Известны данные³⁰ по конверсии световой энергии в системе с термофильной микроводорослью *Chlorella*. Теоретическая модель достаточно адекватно описывает зависимость коэффициентов преобразования энергии от интенсивности поглощенного света и концентрации диоксида углерода. Параметры системы таковы: предельная продуктивность по CO_2 $k_e A_0 = 350 \pm 50 \text{ л} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сут}^{-1}$ ($680 \text{ г} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сут}^{-1}$); параметр, характеризующий использование запасаемой энергии (дыхание), $\beta A_0 = 6 \text{ л} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сут}^{-1}$ CO_2 . Соответственно, $I_0 > 20 \text{ Вт} \cdot \text{м}^{-2}$, $I_m = 170 \text{ Вт} \cdot \text{м}^{-2}$. С учетом того что $\eta_1 \cdot \eta_2 \cdot \eta_3 = 0.15$, коэффициент преобразования солнечной энергии при общей интенсивности света I_m равен 5.5%. Предельная производительность системы $k_e A_0$, получаемая при экстраполяции экспериментальных данных на насыщающие интенсивность света и концентрации CO_2 , по углеводам равна $\sim 470 \text{ г} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сут}^{-1}$.

Это весьма большая величина, однако в 15 раз меньше теоретического предела. Анализ позволяет наметить пути увеличения продуктивности фотосинтезирующих систем и повышения коэффициентов преобразования солнечной энергии.

- 1) Уменьшение непродуктивного использования энергии.
- 2) Переход к термофильному фотосинтезу.

3) Увеличение числа реакционных центров по отношению к числу молекул пигмента «фотосинтетической» системы.

Повышение температуры (путь 2) при прочих равных условиях увеличивает константу скорости межбелкового переноса электрона (k_e) и тем самым увеличивает производительность системы. В работе³⁰ приведены теоретические зависимости продуктивности фотосинтетических систем от интенсивности света при различных температурах в предположении, что k_e зависит от температуры по закону Аррениуса с энергией активации $12.5 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$ (экспериментально определенное значение энергии активации).

Известно, что один реакционный центр обслуживает ≥ 100 молекул хлорофилла. Соответственно, задаваемая высокая степень поглощения света при высокой concentra-

Таблица 1. Продуктивность по биомассе различных систем и достигаемая эффективность конверсии солнечной энергии.³¹

Источник биомассы	Продуктивность, $\text{т} \cdot \text{га}^{-1} \cdot \text{год}^{-1}$	Эффективность конверсии, %
Водный гиацинт (США, Миссисипи)	11–33	0.31–0.94
Сорго (США, Техас)	22–40	0.55–0.94
Кукуруза (США, Миннесота; Израиль)	24	0.79
Лес (Англия)	34.1	1.79
Рис (Австралия, Новый Южный Уэльс)	35.5	1.04
Плантации деревьев (Конго)	36.1	0.95
Водоросли на предприятиях очистки сточных вод (США, Калифорния)	49–74	1.3–1.9
Сахарный тростник (Ява)	75–87	2.2–2.6
Водоросли (Таиланд)	164	4.9

ции хлорофилла ведет к относительно низким концентрациям реакционных центров в системе. Усовершенствование системы может быть связано с применением методов селекции, молекулярной генетики и геной инженерии (путь 3).

Теоретически оптимальный фотосинтез может быть реализован при плотностях солнечной энергии в «несколько Солнц» и в принципе при очень высоких солнечных потоках в «десятки» и «сотни» Солнц. При этом на первое место выйдут проблема устойчивости фотосинтетического процесса к высоким температурам, фотоокисление и другие фотодеструктивные процессы. Возможно, эти проблемы могут быть решены при переходе к искусственным молекулярно-организованным системам, моделирующим фотосинтез.

Реальные фотосинтезирующие системы достаточно сильно различаются по продуктивности и эффективности преобразования солнечной энергии. В табл. 1 приведены данные³¹ по продуктивности различных видов биомассы и эффективности преобразования солнечной энергии. Видно, что эффективность преобразования энергии лежит в диапазоне 0.2–5%, при этом продуктивность растений может достигать 100–150 т биомассы с 1 га в год.

Высокими продуктивностями характеризуются тростниковые растения (сахарный тростник, мискантус) — $\sim 75\text{--}100 \text{ т} \cdot \text{га}^{-1} \cdot \text{год}^{-1}$. Показано,³² что микроскопические водоросли в оптимальных условиях культивирования способны фиксировать CO_2 и накапливать до $300\text{--}400 \text{ т} \cdot \text{га}^{-1} \cdot \text{год}^{-1}$ биомассы.

Теоретический предел продуктивности такого рода систем равен $21\,600 \text{ т} \cdot \text{га}^{-1} \cdot \text{год}^{-1}$. Таким образом, самые продуктивные реальные системы достигают всего лишь 1.5–2% от теоретического предела по продуктивности, определяемого скоростями электронного транспорта в белковых системах. Эти расчеты показывают, что данные способы преобразования солнечной энергии имеют значительный потенциал развития.

При продуктивности $50\text{--}100 \text{ т} \cdot \text{га}^{-1} \cdot \text{год}^{-1}$ биомассы (тростник, мискантус, микроскопические водоросли) энергетическая эффективность соответствует $28\text{--}56 \text{ т} \cdot \text{га}^{-1} \cdot \text{год}^{-1}$ сырой нефти (при расчетах учтены теплотворные способности хлореллы и нефти).³¹ Ниже приведены теплоты сгора-

ния различных компонентов биомассы и некоторых видов топлива.³¹

Вещества	Теплота сгорания, МДж · кг ⁻¹
Моносахариды	15.6
Полисахариды	16.7
Белки	24.0
Лигнин	25.1
Липиды	39.8
Терпены	45.2
Триглицериды	36.5–40.0
Древесина	
береза	20.0
сосна	21.0
Хлорелла	27.0
Растительное масло (рапс)	39.8
Аморфный углерод	33.8
Алифатические углеводороды	43.3
Сырая нефть	48.2

Значительный ресурс биомассы для производства биотоплив связан с использованием отходов сельскохозяйственного производства. В среднем непродуктивная часть сельскохозяйственных растений по весу больше, чем продуктивная (т.е. их отношение $Q > 1$):³²

Культура	Q	Культура	Q
Кукуруза	1.1	Ячмень	2.5
Рапс	1.43	Рис	2.5
Хлопок	2.45	Овес	3.0

Соответственно, для России, производящей 70–80 млн т зерна в год, объемы отходов биомассы составляют 175–200 млн т. Согласно приведенным выше данным, энергосодержание этого количества биомассы составляет 89–102 млн т в эквиваленте алифатических углеводородов. Для сравнения: ежегодное потребление бензина в России равно ~30 млн т. Проблема заключается в создании эффективной и экономически привлекательной технологии получения биоэнергосистем из биомассы этого типа.

В настоящем обзоре рассмотрен широкий набор продуктов, включающий метан, этанол, бутанол, биодизельное топливо, водород и биоуглеводороды в качестве различных видов биотоплива. Особенностью развития этого научно-технического направления является комбинированное сочетание химических и биотехнологических методов и решений. При этом экологический критерий является одним из главных при выборе направления развития. Как известно, эффективное сочетание химических и биотехнологических методов ведет к экологически приемлемым и безопасным процессам.

III. Биометан

Горючий болотный газ — метан, образующийся в результате сложного биологического процесса, известен давно, но только в последние десятилетия в понимании природы и механизмов метанообразования и в практическом использовании этого явления наблюдается существенный прогресс, который определяется решением ряда сложных вопросов:

— детально исследована и продолжает исследоваться природа микробиологического сообщества, осуществляющего данный процесс;

— идентифицированы основные химические реакции, по которым происходит трансформация веществ, и ферментные системы микроорганизмов, которые играют роль катализаторов этих процессов;

— развиты кинетические модели действия симбиотрофных метаногенных ассоциаций, количественно описывающие динамику процесса с выявлением основных регуляторных факторов, определяющих устойчивость процесса;

— созданы и находят применение различные реакторные устройства, позволяющие эффективно трансформировать органические соединения в биогаз, реализованы высокоскоростные схемы процесса.

В задачи настоящего обзора не входит детальное описание микробиологии процесса метаногенеза, которая изложена в других публикациях.^{33–41}

Главной особенностью процесса метаногенеза является его многостадийность, при этом многие стадии катализируются отдельными группами микроорганизмов. Метаногенерирующая микробная ассоциация является симбиотрофной, т.е. продукты реакции одного микроорганизма или группы микроорганизмов являются субстратами для жизнедеятельности других.

Процесс образования метана протекает в строго анаэробных условиях с участием нескольких принципиально различных друг от друга групп микроорганизмов.⁴² Большая группа бактерий (ассоциация) участвует в разложении биополимерных молекул на мономерные составляющие с их последующим химическим модифицированием. Бактериальные ассоциации конвертируют полисахариды, белки и липиды до низкомолекулярных соединений с превращением их в уксусную кислоту, водород и CO₂.³¹

Большая и разнообразная группа микроорганизмов, входящая в ассоциацию, включает *Bifidobacterium*, *Butyrovibrio*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*. Под действием экзогенных ферментов происходит гидролиз белков до аминокислот, полисахаридов — до олиго- и моносахаридов, триглицеридов — до глицерина и жирных кислот, нуклеиновых кислот — до азотистых гетероциклов, рибозы и неорганического фосфата. Дальнейшая конверсия углеводов происходит по классическому гликолитическому пути (путь Эмбдена–Мейергофа) с образованием пировиноградной и молочной кислот или этанола.

Следующая группа микроорганизмов под общим названием ацетогенные бактерии осуществляет образование уксусной кислоты. Ацетогены конвертируют спирты и высшие кислоты, образующиеся в процессе гликолиза, в уксусную кислоту, CO₂ и водород. Далее уксусная кислота под действием метаногенных бактерий превращается в метан и диоксид углерода.

Метаногены характеризуются большим разнообразием, которое касается морфологии, структуры клеточных стенок, метаболических и физиологических свойств. Объединение этих микроорганизмов в одну большую группу продиктовано наличием трех важных характеристик: накоплением большого количества метана, строгим анаэробизмом, принадлежностью к домену архей.⁴²

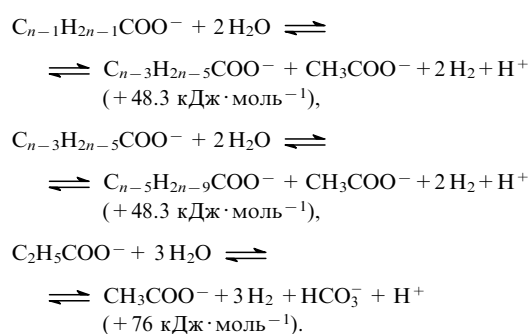
Основным материалом, доминирующим в биомассе, являются углеводы. При конверсии углеводов (глюкозы) реакция может быть представлена так:



Микроорганизмы участвуют в конверсии вещества в каталитических количествах. Стандартная свободная энергия и энтальпия реакции при pH 7 и 25°C равны 418 и 131 кДж соответственно. При этом в метане концентрируется 27% массы и 95% энергосодержания. Это в высшей степени привлекательная в энергетическом плане реакция. Экзотермические потери относительно малы, процесс протекает самопроизвольно с отделением метана от водной фазы.

В процессе метаногенеза каталитической трансформации подвергаются самые различные соединения: спирты, аминокислоты, глицерин и др. Показано, что практически любые органические соединения, в том числе различные ксенобиотики, могут подвергаться биodeградации. Иприт, зарин, зоман и продукты их химического модифицирования с помощью метаногенной микробной ассоциации могут быть конвертированы в диоксид углерода, неорганический фосфат, аммиак, сероводород с получением метана.^{43, 44}

Отдельные реакции, протекающие в симбиотрофной метангенерирующей ассоциации, представляются достаточно необычными. В частности, вода в этих процессах может выступать в качестве окислителя с образованием молекулярного водорода (окисление водой этилового спирта, масляной и пропионовой кислот). Трансформация жирных кислот с образованием уксусной кислоты (процесс β -окисления) протекает по следующей схеме:



В стандартных условиях термодинамически процесс направлен в обратную сторону. В реально функционирующих метангенерирующих ассоциациях этот процесс возможен в силу эффективной трансформации продуктов (уксусной кислоты и молекулярного водорода) в метан. Положительные свободные энергии реакции β -окисления относительно невелики (48.3 кДж · моль⁻¹). За счет существенных отрицательных свободных энергий поглощения водорода и конверсии уксусной кислоты протекание всего процесса становится термодинамически возможным.

При некоторых режимах, когда рост и функционирование метаногенных микроорганизмов затруднены или заблокированы (например, при низких значениях pH), в системе происходит накопление уксусной кислоты и водорода и реакции окисления воды идут в обратном направлении. Это дополнительно блокирует метаногенез и ведет к накоплению жирных кислот (масляной, валериановой и др.).

Представляет интерес математическое моделирование динамики образования метана с учетом накопления и расхода промежуточных соединений, а также динамики роста микроорганизмов. Базой для моделирования являются работы по теории функционирования симбиотрофных ассоциаций.^{45, 46} Исследование основывается на экспериментальном изучении процесса с идентификацией изменений во времени максимально большого числа химических соединений.^{45, 47–50} Предполагается, что отдельные стадии ка-

тализируются ферментными системами отдельных микроорганизмов, при этом рост микробов зависит от концентрации этих субстратов. Минимальная система дифференциальных уравнений включает динамику изменения концентраций исходного вещества и катализирующего процесс микроорганизма с учетом ингибирования процесса водородом и pH-зависимого лизиса каталитической системы; динамику изменений концентрации водорода, этанола, уксусной и масляной кислот с учетом эффектов pH-зависимости, ингибирования избытком водорода, масляной кислотой и этанолом; динамику накопления CO₂ и метана. Найдено хорошее соответствие теории и эксперимента. Моделирование позволило определить кинетические параметры процесса и прогнозировать поведение системы во всем диапазоне исследованных временных интервалов. Важно идентифицировать параметры, к изменению которых система наиболее чувствительна. Это, в первую очередь, удельные скорости роста отдельных микроорганизмов и константы ингибирования ионами водорода и молекулярным водородом. Кинетический анализ обеспечивает получение динамической информации об участниках процесса, непосредственное измерение которых экспериментально затруднено, например концентрации отдельных микроорганизмов ассоциации. Полученные данные являются рациональной основой для разработки высокопроизводительных реакторов получения биометана.

В настоящее время созданы, апробированы и находятся в эксплуатации различные реакторы конверсии биомассы в метан.

Существенным этапом в интенсификации процессов метаногенеза явилось использование иммобилизованных клеток метаногенных ассоциаций. Исследование процесса метаногенеза в концентрированных клеточных суспензиях обнаружило эффект самоассоциации клеток в гранулы с получением гетерогенного биокатализатора. Использование высокой концентрации биокатализатора позволило повысить продуктивность процесса по метану при использовании растворимых органических веществ в 50–100 раз.^{51–54} В настоящее время значительная часть производств пищевой промышленности оснащена биогазовыми установками очистки сточных вод компании Biothane (Нидерланды). Базовая установка модульного типа включает реактор объемом 50 м³, сделанный из стеклопластика, и реактор для кондиционирования биомассы с насосным отделом. Размеры модуля — 5.8 м², производительность — до 1000 кг ХПК в сутки (ХПК — химическое потребление кислорода), объем обрабатываемых стоков — 480 м³ · сут⁻¹, производительность по газу — 0.04–0.1 л · с⁻¹ · м⁻³ реактора.

IV. Биоэтанол

В настоящее время этиловый спирт в смеси (до 10%) с бензином эффективно используется в качестве топлива для двигателей внутреннего сгорания. На сегодняшний день лишь 7% этанола производится путем химического синтеза, а 93% — биотехнологическим способом с применением в качестве основных катализаторов клеток дрожжей (чаще всего *Saccharomyces cerevisiae*), которые могут продуцировать и выдерживать концентрации спирта до 18 об. %.

Современный объем мирового рынка этанола оценивается около 40–50 млрд л в год,⁵⁵ из которых ~60% используется как добавка к моторному топливу, 25% применяется в химической промышленности, 15% — в пищевой, причем эта доля постоянно убывает. Вместе с тем, согласно мнению разных исследователей,⁵⁶ создание рен-

табельного процесса производства топливного этанола возможно только при дальнейшем существенном снижении его себестоимости. Основными способами удешевления этого продукта могут быть замена зернового сырья для его производства на отходы различных отраслей народного хозяйства и усовершенствование технологии получения этанола биотехнологическим способом, а именно: поиск природных или конструирование генетических штаммов продуцентов, их стабилизация посредством иммобилизации, оптимизация условий организации процесса, включающая одновременное проведение различных стадий.

Для получения этанола традиционно используют зерно (крахмалсодержащее сырье): под действием амилолитических ферментов крахмал превращается в глюкозу, а последняя — в целевой продукт. В то же время существует еще несколько источников для получения этанола. Так, лигноцеллюлозное сырье после его предварительной физико-химической обработки, подвергнутое химическому или ферментативному гидролизу до моносахаридов (преимущественно до глюкозы и ксилозы) с помощью целлюлолитических ферментов (целлюлаз и гемицеллюлаз), может быть успешно использовано для получения этанола.

В качестве сырья для производства этилового спирта могут также использоваться отходы пищевой промышленности, в частности содержащие лактозу, которая под действием β -галактозидазы может быть гидролизована до глюкозы и галактозы с последующей конверсией моносахаридов в этанол.⁵⁷

Усовершенствование технологии получения этанола биотехнологическим способом связано в первую очередь с применением гетерогенных биокатализаторов (ГБК) в виде иммобилизованных клеток дрожжей и бактерий.^{58–61} Использование ГБК значительно упрощает технологические операции по отделению клеток от ферментационной среды, обеспечивает высокие концентрации клеток в реакторах и резистентность микроорганизмов к низким значениям pH (~ 3.0), высоким концентрациям этанола, побочных продуктов, химических компонентов самого сырья, позволяет многократно использовать ГБК в биотехнологическом процессе, а также обеспечивает более высокие степени конверсии исходного субстрата в целевой продукт.⁶² Иммобилизация позволяет использовать уже применяемые на производстве, хорошо изученные и адаптированные к условиям процесса

культуры микроорганизмов, увеличивать эффективность их действия, не прибегая к поиску и введению в процесс новых штаммов (табл. 2).

Особый интерес представляют процессы, в которых возможно совмещение нескольких технологических стадий, необходимых для получения биоэтанола, например стадии ферментативного гидролиза исходного сырья до моносахаридов и стадии их конверсии в биоэтанол.

Установлено, что при совмещении процесса ферментативного гидролиза лактозы в составе молочной сыворотки и конверсии глюкозы в этанол в одну стадию при температуре 36°C увеличивается концентрация целевого метаболита на 20%, а общая продолжительность процесса сокращается в 2 раза по сравнению с раздельным проведением стадий. Степень гидролиза лактозы увеличивается с 70 до 80%.^{63, 64} При этом по сравнению с двухстадийным процессом становится возможным снижение в 2 раза концентрации иммобилизованных клеток и ферментного препарата (до 20 и $2.5 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ соответственно).

Показана возможность длительного применения иммобилизованных клеток в условиях совмещенного процесса при оптимальных условиях в реакторе объемом 50 л. По мере увеличения числа отработанных циклов продолжительность их не сильно изменялась и оставалась в пределах 22–25 ч. Среднее значение концентрации этанола, накапливавшегося в сыворотке по окончании каждого цикла, составляло $22 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$, т.е. $\sim 90\%$ от теоретически возможного.⁶³

Сравнение результатов, полученных при использовании свободных клеток дрожжей, с результатами, полученными с ГБК в совмещенном процессе гидролиза лактозы и конверсии глюкозы в этанол, показало очевидные преимущества последнего. Интегральная продуктивность клеток по этанолу в иммобилизованном виде превышала продуктивность свободных клеток в 14 раз.

Использование целлюлозосодержащего сырья (ЦСС) в качестве основного источника для получения этанола предопределяет необходимость предварительного гидролиза гемицеллюлозы и целлюлозы до моносахаридов. Эффективность такого гидролиза зависит от условий физико-химической предобработки сырья (паровой взрыв, кислотный гидролиз, измельчение, делигнификация щелочными растворами) и его последующей ферментативной гидролитической обработки.

Таблица 2. Примеры получения этанола из различного сырья с использованием иммобилизованных ГБК на основе клеток микроорганизмов.⁶²

Микроорганизмы	Носитель	Субстрат	Редуцирующие сахара, $\text{г} \cdot \text{л}^{-1}$	Этанол, $\text{г} \cdot \text{л}^{-1}$
<i>Saccharomyces pastorianus</i> + <i>Aspergillus awamori</i>	Целлюлозные гранулы	Крахмал	100	44.5
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Криогель ПВС или гель альгината кальция	Творожная сыворотка	60	22
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	То же	Тростниковая меласса	140	52–57
<i>Zymomonas mobilis</i>	Гель каррагинана с противоионом K^+	Кукурузный крахмал	162	70
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	То же	Отходы переработки ананасов	82.3	37
<i>Aspergillus niger</i> + <i>Zymomonas mobilis</i>	Гель альгината кальция	Крахмал картофельный	50	18.9
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	То же	Свекловичная меласса	109	46.2
<i>Zymomonas mobilis</i> + <i>Saccharomyces diastaticus</i>	»	Крахмал маниоки	150	46.9
<i>Kefir yeast</i> (<i>Torulopsis kefir</i>)	Делигнифицированная целлюлоза	Молочная сыворотка	52.5	20.3

Известно, что в результате физико-химической обработки ЦСС в получаемых средах содержится большое количество веществ (продуктов деградации целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина), снижающих каталитическую эффективность действия ферментов и ингибирующих бродильную активность свободных клеток дрожжей (фурфурол, танины, уксусная кислота, терпены и др.).⁶⁵ что уменьшает продуктивность процесса получения этанола в целом. В связи с этим интерес к использованию высокостабильных ГБК на основе иммобилизованных клеток микроорганизмов особенно высок.^{58–61, 66}

При конверсии различных гидролизovaných субстратов выход этанола составлял 50–80% при использовании свободных клеток дрожжей.^{67–69} Установлено, что концентрация накапливающегося в среде этанола во многом предопределяется концентрацией сахаров, доступных клеткам для превращения их в этанол, т.е. фактически эффективностью действия подобранных ферментных комплексов.⁷⁰ При этом иммобилизованные клетки способны максимально эффективно катализировать процесс образования этанола в ферментализатах ЦСС как с удалением, так и без удаления взвешенных частиц исходного сырья.

Большое внимание привлекает ферментативный гидролиз ЦСС, совмещенный с конверсией глюкозы в этанол,^{71–76} когда происходит одновременное осахаривание и ферментация сырья (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF). В таком процессе ферменты гидролизуют полисахариды до моносахаридов, которые немедленно конвертируются микроорганизмами в этанол, что позволяет снизить концентрацию сахаров в среде и избежать их ингибирующего воздействия на ферментативный катализ,⁷⁷ сместить в процессе в целом химическое равновесие в сторону образования конечного продукта, увеличив степень гидролиза исходного субстрата и повысив продуктивность процесса. Хотя исследования, связанные с поиском путей интенсификации данного процесса и снижения его стоимости, ведутся сейчас во всем мире, работы, в которых обсуждается возможность промышленного использования иммобилизованных ГБК в SSF, малочисленны,^{78–80} что, безусловно, продиктовано отсутствием практически значимых образцов ГБК на современном мировом рынке. Более того, сегодня возможность использования ГБК на основе иммобилизованных клеток микроорганизмов для получения этанола обсуждается больше в отношении крахмалосодержащего сырья^{71, 78–80} и лактозосодержащих отходов,⁸¹ чем ЦСС, поскольку последний источник сахаров считается труднообрабатываемым и содержащим большее количество веществ, способных оказывать негативное воздействие на клетки, по сравнению с первыми двумя источниками.

Помимо иммобилизации клеток большой интерес в связи с проведением SSF вызывает выбор и использование в процессе микроорганизмов, продуцирующих этанол в условиях, максимально благоприятных для ферментативного гидролиза ЦСС, т.е. при pH 5.0 и температуре 45°C. В связи с этим высок интерес к термотолерантным дрожжам, которые наряду с высокой продуктивностью по этанолу при низких значениях pH среды культивирования, предотвращающей загрязнение посторонней микрофлорой, способны по своей природе катализировать эффективную ферментацию при повышенных температурах (45–50°C).^{66, 67, 79, 82}

Интерес к бактериям *Zymomonas mobilis* как продуцентам этанола сегодня уже практически утерян,⁶⁰ поскольку эти бактерии толерантны к концентрациям спирта только до 120 г·л⁻¹, не выдерживают низких значений pH среды (< 3.5) и повышенных температур культивирования.

Особое внимание привлекают генетически модифицированные штаммы дрожжей, которые дополнительно приобретают различные ферментные активности, позволяющие клеткам совмещать метаболическую активность по этанолу с гидролитической активностью в отношении полисахаридных субстратов.^{69, 76} Однако существуют известные ограничения по активному применению генетически модифицированных организмов в крупномасштабных промышленных процессах, поэтому предпочтение по-прежнему отдается природным культурам.

Известно, что природные штаммы дрожжей, традиционно применяемые для конверсии в этанол сахаров, не способны не только осуществлять ферментализацию различного ЦСС, но и превращать в этанол пентозы (ксилозу и арабинозу), часто присутствующие в больших концентрациях (до 20 г·л⁻¹) в используемых средах. Как оказалось, для конверсии пентоз в этанол могут применяться мицелиальные грибы,^{83, 84} которые являются, с одной стороны, гетеротрофными эукариотическими микроорганизмами, а с другой — обладают чрезвычайным многообразием ферментативных систем. В связи с этим подбором среды и условий культивирования можно направленно влиять на метаболические свойства клеток данных микроорганизмов и получать биомассу с необходимыми индуцированными ферментными характеристиками.⁸⁵ Мицелиальные грибы родов *Aspergillus*, *Mucor* и *Rhizopus* можно использовать в процессах получения этанола из широкого спектра субстратов.⁸⁶ Выход этанола от теоретически возможного уровня по ряду субстратов достигает 76% при исходной концентрации сахаров 50 г·л⁻¹. Более высокие концентрации сахаров, как было установлено, ингибируют процесс брожения, и выходы этанола снижаются. Оказалось также, что клетки этих микроорганизмов в свободном виде весьма чувствительны к концентрациям этанола, накапливающегося в среде.

Продемонстрирована возможность применения свободных и иммобилизованных клеток мицелиальных грибов для конверсии сахаров в составе ферментализатов различных сельскохозяйственных отходов. Установлено, что концентрации этанола в случае применения иммобилизованных клеток были выше (до 22.5 раз в зависимости от штамма и используемого исходного сырья), чем в тех же условиях для свободных клеток.⁸⁷

Согласно полученным данным, клетки мицелиального гриба *Fusarium oxysporum* могут использоваться для получения этанола в процессе SSF целлюлозы как в свободном виде,⁸⁸ так и в иммобилизованном состоянии,⁸⁷ но при этом процесс является довольно длительным (~ 200 ч), а выход этанола от теоретически возможного не превышает 60%. Очевидно, что скорость конверсии сахаров в этанол у мицелиальных грибов существенно ниже по сравнению с дрожжами. Исследователи объясняют это тем, что побочным продуктом брожения является уксусная кислота, накапливающаяся в среде, к которой клетки мицелиальных грибов очень чувствительны.⁸⁸ К тому же полученные концентрации этанола (~ 20 г·л⁻¹) довольно высоки для клеток мицелиальных грибов, и, согласно литературным данным,⁸³ это может заметно ингибировать их метаболическую активность.

Таким образом, на сегодняшний день лучшими продуцентами биоэтанола при проведении SSF оказались иммобилизованные клетки дрожжей, обладающие более высокими скоростями продуцирования этанола по сравнению с иммобилизованными клетками мицелиальных грибов вследствие более высокой толерантности к негативным факторам, сопровождающим процесс.

V. Биобутанол

В настоящее время бутанол производят из нефти гидролизом галогеналканов или гидратацией алкенов. Однако в связи с растущим интересом к биотопливам большой интерес представляет производство биобутанола,⁸⁹ т.е. бутанола, полученного из биомассы.

Биобутанол имеет те же характеристики, что и бутанол, полученный из нефти, и рассматривается как один из видов биотоплива.⁹⁰ Как автомобильное топливо он имеет ряд преимуществ:

- бутанол на 25% более энергоемок, чем этанол, и выделяет на 10% больше энергии за рабочий цикл, чем бензин;

- бутанол безопасен в использовании, так как в 6 раз меньше испаряется, чем этанол, и в 13.5 раз менее летуч, чем бензин;

- бутанол не обладает коррозионной активностью и поэтому может транспортироваться по существующим топливным трубопроводам;

- бутанол может не только смешиваться с бензином, но и полностью заменять бензин в двигателях внутреннего сгорания.

Ферментация сахаров клетками *Clostridium acetobutylicum* с образованием смеси растворителей ацетон–бутанол–этанол (АБЭ) является одним из первых и одним из главных способов получения биобутанола. Промышленное производство бутанола началось в 1919 г., в 1927 г. был отмечен его резкий подъем из-за развития автомобилестроения, поскольку на основе бутанола производился быстросохнущий лак, а во время Второй мировой войны бутанол использовался в производстве синтетического каучука. В 50-х гг. XX в. в производстве бутанола произошел переход от микробиологического метода к получению из нефти путем гидролиза галогеналканов или гидратации алкенов. Сегодня наблюдается обратная тенденция, обусловленная возможностью использования биомассы вместо нефти для получения бутанола. Этот процесс представляет собой анаэробную конверсию, например, глюкозы в масляную, пропионовую, молочную и уксусную кислоты (стадия производства органических кислот), при этом pH среды понижается (рис. 3). Если значение pH равно 4.5 и ниже,⁹¹ процесс сдвигается в сторону накопления ацетона, бутанола и этанола. Такую зависимость от pH у АБЭ-ферментации обнаружил В.Н.Ша-

пошников еще в 1939 г. Выход бутанола при ферментации глюкозы составляет максимально 25%. Его производство ограничено тем, что при концентрации 1–2% бутанол существенно ингибирует метаболизм клеток. В связи с этим на практике в большинстве случаев концентрация бутанола не превышает 1.3%.^{89,90}

Исследование влияния температуры на производство растворителей клетками *Clostridium acetobutylicum* показало, что общий выход нейтральных продуктов понижается с повышением температуры, в основном из-за уменьшения количества образующегося ацетона.⁹² Производство бутанола практически не подвергается изменению при варьировании температуры процесса в диапазоне 25–40°C.

Установлено, что при 32%-ной конверсии глюкозы клетками *Clostridium acetobutylicum* в растворители соотношение растворителей в смеси АБЭ составляет 1.9:0.6:6. Если в среду добавить уксусную кислоту в концентрации $2 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$, то увеличивается количество ацетона и соотношение АБЭ становится 3:0.5:6. Введение в среду в той же концентрации масляной кислоты приводит к другому соотношению АБЭ — 2.4:0.8:6 (см.⁹³).

Показано, что повышение парциального давления водорода в АБЭ-ферментации приводит к увеличению выходов бутанола и этанола из глюкозы в среднем на 18 и 13% соответственно, в то время как выходы ацетона и водорода понижаются в среднем на 40 и 30%.⁹⁴

В 80-е гг. XX в. к культуре *Clostridium acetobutylicum* был повышенный интерес как к продуценту биобутанола. Установлено, что концентрация клеток в питательной среде существенным образом влияет на скорость накопления биобутанола в минимальной среде с глюкозой.⁹⁵ На основании этих данных стало очевидно, что необходимо создавать высокие концентрации клеток в среде, чтобы сделать АБЭ-процесс коммерчески привлекательным. Поскольку анаэробные клетки рода *Clostridium* характеризуются довольно низкими удельными скоростями роста, то для создания высоких концентраций в реакторах предложено использовать их в иммобилизованном виде.^{96–98}

При использовании клеток, иммобилизованных в гель альгината кальция, было выявлено, что барботирование азота с 10%-ным содержанием водорода через питательную среду приводит к повышению выходов растворителей почти в 5 раз, а если в барботируемый газовый поток добавить еще и 10% CO_2 , это дополнительно увеличивает выход бутанола на 15%.⁹⁷

В ряде исследований показана высокая эффективность одновременного использования в АБЭ-процессе нескольких штаммов рода *Clostridium*.⁹⁹ На сегодняшний день использование компанией Environmental Energy иммобилизованных культур *Clostridium tyrobutyricum* и *Clostridium acetobutylicum* позволяет получить максимальную производительность АБЭ-процесса по бутанолу, которая составляет $4.64 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$; при этом компания добилась высокой (42 мас.%) конверсии потребленной глюкозы в растворители.^{89,90}

Показана возможность организации непрерывного АБЭ-процесса. При этом установлено, что свободные клетки *Clostridium acetobutylicum*, удерживаемые в проточном реакторе, способны ферментировать смеси субстратов, состоящие, например, из глюкозы и глицерина.¹⁰⁰ Следует подчеркнуть, что иммобилизованные клетки оказываются существенно более эффективными катализаторами процесса в аналогичных условиях по сравнению со свободными. Так, клетки *Clostridium acetobutylicum*, иммобилизованные на

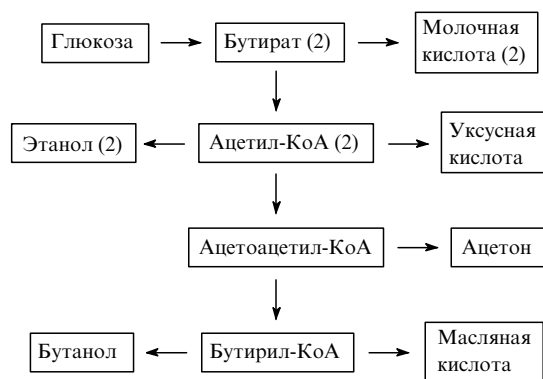


Рис. 3. Схема конверсии глюкозы в АБЭ-процессе под действием клеток рода *Clostridium*. Цифры в скобках — число молекул.

полых волокнах, обеспечивают невероятно высокую продуктивность по бутанолу,¹⁰¹ которая составляет $4.6 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$ при скорости разбавления среды в реакторе 0.9 ч^{-1} и pH среды 4.3.

Значительный интерес представляет собой генная инженерия клеток рода *Clostridium* как продуцентов биобутанола.^{102–105} Усилия генетиков направлены на снижение уровня синтеза продуктов, сопутствующих бутанолу, например ацетона, и накапливающихся в среде в процессе ферментации. Известно использование технологии Target-гоп для разрушения гена ацетоацетатдекарбоксилазы.¹⁰² При этом содержание ацетона в среде резко снижается (от $50 \text{ ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$ для исходного штамма до $5 \text{ ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$ для модифицированного), а содержание бутанола от общего количества растворителей составляет более 70%.

В США создан новый штамм *Clostridium beijerinckii*,^{103, 104} который на данный момент представляет коммерческий интерес в производстве биобутанола. Показан высокий уровень конверсии глюкозы в растворители с использованием этих клеток, взятых как в свободном, так и в иммобилизованном виде. Так, иммобилизация клеток *Clostridium beijerinckii* в виде биопленок в проточном реакторе¹⁰⁴ обеспечила получение бутанола в концентрации $4.3 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ с утилизацией глюкозы на 30.3% при скорости разбавления среды 1.0 ч^{-1} .

Вместе с попытками генетического улучшения штаммов, продуцирующих бутанол, продолжается поиск новых штаммов, которые имеют метаболизм, смещенный в сторону образования бутанола. Недавно были выделены клетки нового штамма *Clostridium saccharobutylicum*, которые, как оказалось, могут ферментировать различные углеводы с выходом бутанола до 80% ($9.2–9.7 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$) от общего количества образующихся растворителей.¹⁰⁵

Работы по повышению привлекательности АБЭ-процесса в настоящее время связаны не только с конструированием или поиском новых штаммов продуцентов бутанола, но и с расширением круга субстратов, которые могут быть конвертированы в биобутанол. В частности, показана возможность утилизации ферментативных гидролизатов активного ила, являющегося основным компонентом систем очистки сточных вод при изготовлении пальмового масла, и крахмала саговых пальм в АБЭ-ферментации, катализируемой клетками *Clostridium saccharoperbutylacetonicum*.¹⁰⁶ Гидролизат ила был использован как заменитель полноценной среды для роста и метаболизма клеток, содержащий источник углерода, азота и микроэлементов. Бутанол образовывался в этом случае в концентрации $3.5 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$. Барботирование среды азотом без контроля pH среды повышало выход бутанола. Использование крахмала саговой пальмы в качестве основного компонента среды вместо глюкозы позволило достичь высокой концентрации бутанола ($10.4 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$).

Однако в настоящее время производство биобутанола находится лишь на начальной стадии разработки, и, к сожалению, существует много сопутствующих проблем. Причина в том, что технологически получение этого вида топлива сложнее, чем получение, например, биоэтанола. Большие затраты энергии и воды на подготовку исходного сырья, многостадийность процесса превращения биомассы в энергоносители или компоненты топлива, высокая чувствительность клеток к бутанолу и ацетону, высокая стоимость генетически модифицированных штаммов микроорганизмов и сложность их культивирования, высокие затраты на отде-

ление целевого продукта от побочных продуктов — все это создает трудности в технологии получения биобутанола.¹⁰⁷

VI. Биодизельное топливо

Использование растительного масла и его производных в качестве энергоносителей и топлива имеет длинную историю. Изобретатель дизельного двигателя Рудольф Дизель демонстрировал на Всемирной выставке в Париже в 1900 г. работу своего двигателя, используя в качестве топлива арахисовое масло; он отмечал, что «использование растительных масел с течением времени в будущем может иметь такое же значение, какое имеет в настоящее время использование нефти или угольной смолы». В 1911 г. Дизель писал: «Дизельный двигатель может питаться растительным маслом и существенно может помочь в развитии сельского хозяйства странам, которые будут использовать этот двигатель».³¹

Несмотря на ряд таких очевидных преимуществ, как относительная доступность, возобновляемость, высокое энергосодержание (около 88% от традиционного дизельного топлива нефтяного происхождения), отсутствие загрязнений серой и ароматическими соединениями, высокая биоразлагаемость,^{108–112} прямое использование растительных масел в двигателях не нашло применения. Это связано прежде всего с их высокой вязкостью и низкой текучестью, из-за чего они не сгорают полностью.¹⁰⁸ Предложены многочисленные методы переработки растительных масел, улучшающие их характеристики: получение микроэмульсий со спиртами (этанолом, метанолом), пиролиз с термическим разложением на углеводороды, каталитический крекинг. Однако наиболее распространены методы переэтерификации жирных кислот этанолом или метанолом, поскольку получаемые при этом продукты по эксплуатационным характеристикам весьма близки к традиционным дизельным топливам, а технологическая схема весьма проста и надежна.^{108, 113–121} Жирные кислоты и их производные — триглицериды — представляют собой класс наиболее энергоемких биологических молекул. Большинство растений, животных, грибов и бактерий содержат жирные кислоты и триглицериды жирных кислот с четным числом атомов углерода.¹²²

Комплекс ферментов в первую очередь синтезирует неразветвленные C_{16} - и C_{18} -ацильные производные коэнзима А. Процесс начинается с ацилкофермента А, ацильная группа которого при участии ацетилтрансферазы переносится на ацилпереносящий белок (АСР). Затем следуют две ферментативные стадии восстановления с участием НАДФН с получением бутирил-АСР. Дальнейшее взаимодействие с малонил-АСР с выделением CO_2 приводит к удлинению углеводородной цепи до шести углеродных атомов. Последующее восстановление с помощью НАДФН оксо- и гидроксигрупп заканчивается получением гексаноил-АСР. Процессы повторяются, приводя к жирным кислотам с числом атомов углерода 16, 18, 20.¹²³ Жирные кислоты с нечетным числом атомов углерода образуются в результате конденсации пропионил-АСР с малонил-АСР. У высших растений и животных насыщенные жирные кислоты претерпевают дальнейшие превращения под действием ферментов-десатураз, вводящих в алифатическую цепь одну или несколько двойных связей в *cis*-конфигурации. Многие полиненасыщенные жирные кислоты обладают ярко выраженной физиологической активностью.¹²⁴

Продуктивности различных систем по производству липидов, масел, триглицеридов алифатических кислот очень разнообразны. Ниже приведены сравнительные данные по продуктивности различных систем по биодизельному топливу.^{29, 111, 125}

Источник триглицеридов, алифатических кислот	Потенциальная продуктивность, л·га ⁻¹ ·год ⁻¹
Пальма	6000
Кокос	2600
Рапс	1180
Арахис	1050
Подсолнечник	950
Соя	450
Кукуруза	160
Микроскопические водоросли	20 000 – 80 000

Реакцией переэтерификации с метанолом или этанолом могут быть получены биодизельные топлива с высокими эксплуатационными характеристиками. Состав различных источников по алифатическим кислотам весьма разнообразен;^{29, 108} при этом следует отметить выдающийся потенциал микроскопических водорослей (табл. 3).

Эксплуатационные характеристики получаемых биотоплив в определенной степени зависят от состава жирных кислот.¹²³ В частности, цетановое число, характеризующее способность топлива к воспламенению при сжати (за 100 условно принята характеристика углеводорода цетана — гексадекана), коррелирует с длиной углеводородной цепи и степенью насыщенности.^{126–128} Для метиловых эфиров стеариновой, олеиновой, линолевой и линоленовой кислот цетановые числа соответственно равны 77, 54, 37 и 27. Увеличение степени ненасыщенности уменьшает цетановое число топлива.

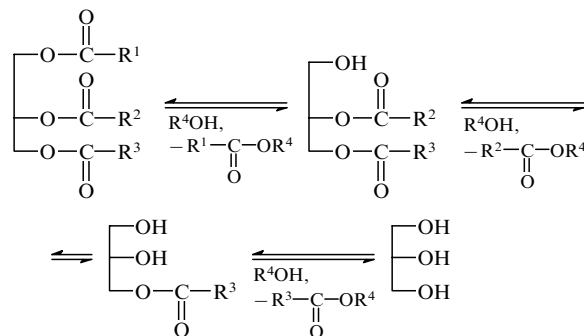
Таблица 3. Состав жирных кислот липидов различных источников.^a

Источник	Пальми- тиновая (16/0)	Пальми- толеи- новая (16/1)	Стеа- рино- вая (18/0)	Олеи- новая (18/1)	Лино- левая (18/2)	Лино- леновая (18/3)
Хлопок	28.7	0	0.9	13.0	57.4	0
Рапс	3.5	0	0.9	64.1	22.3	8.2
Подсол- нечник	6.4	0.1	2.9	17.7	72.9	0
Лен	5.1	0.3	2.5	18.9	18.1	55.1
Пшеница	20.6	1.0	1.1	16.9	56.0	2.9
Масличная пальма	42.6	0.3	4.4	40.5	10.1	0.2
Кукуруза	11.8	0	2.0	24.8	61.3	0
Соя	13.9	0.3	2.1	23.2	56.2	4.3
Арахис	11.4	0	2.4	48.3	32.0	0.9
Оливки	5.0	0.3	1.6	74.7	17.6	0
Микро- водоросли	12–21	55–57	1–2	58–60	4–20	14–30
Грибы	7–23	1–6	2–6	19–81	8–40	4–42
Бактерии	8–10	10–11	11–12	25–28	14–17	—

^a В скобках указаны число атомов углерода/число двойных связей.

1. Химические основы получения биодизельного топлива

Реакция переэтерификации триглицеридов жирных кислот с метиловыми и этиловыми эфирами (биодизельное топливо) представляет собой «классическую» реакцию нуклеофильного замещения, протекающую в несколько стадий с образованием ди- и моноэфиров глицерина.



$\text{R}^4 = \text{Me, Et.}$

Конечными продуктами являются эфиры жирных кислот и глицерин. Принципиальных различий в проведении реакции или в свойствах получаемых топлив нет. Однако из экономических соображений предпочтение обычно отдается метанолу.^{108, 129, 130}

Разработано несколько способов конверсии растительных масел и жиров в биодизельное топливо:

- процесс, катализируемый кислотами;
- процесс, катализируемый основаниями (в том числе щелочами);
- проведение реакции в сверхкритических метаноле или этаноле;
- ферментативный процесс, катализируемый липазами.

2. Переэтерификация, катализируемая кислотами

Кислотный процесс предпочитают проводить в случае исходных материалов с относительно высоким содержанием свободных жирных кислот. Традиционно в качестве катализатора используют серную кислоту.^{131–138}

Реакция идет при температуре 50–65°C в течение 0.5–5 ч с выходом до 95–99%. Обычно берут молярный избыток спирта в 6–20 раз, однако в некоторых случаях отношение спирт : триглицерид может достигать 56.¹³³ Так, реакцию с метанолом проводили в присутствии 1%-ного раствора серной кислоты при молярном соотношении метанол : триглицерид = 30 : 1 при 65°C, за 50 ч была достигнута конверсия 99%. Реакция с этанолом при 78°C обеспечивала ту же конверсию за 18 ч, а с бутанолом при 117°C — за 3 ч.

Описана реакция с участием сульфоновой кислоты.^{139, 140} Сообщалось также о реакции, в которой в качестве гетерогенного катализатора выступает Fe_2SO_4 или катионообменная смола.¹⁴¹

3. Переэтерификация, катализируемая основаниями

Наиболее исследованным и используемым является процесс, в котором в качестве катализатора применяются щелочи (NaOH , KOH).^{129, 132–138, 141–146} Реакция, катализируемая основаниями, протекает существенно быстрее, чем катализируемая кислотами.¹¹⁵ Обычно используют 0.5–1%-ный гидроксид натрия или калия. Реакцию проводят при температурах ниже кипения спирта с отношением спирт : тригли-

перид 5–10. Продолжительность реакции от 5 мин до 5 ч. Проведено сравнение трех гомогенных катализаторов — NaOH, KOH и MeONa.¹⁴⁷ Лучшие характеристики в этом ряду показал метоксид натрия.^{147, 148}

С точки зрения достижения конечного выхода целевого продукта гидроксида натрия и калия показывают практически одинаковый результат,¹³⁸ однако в технологическом плане гидроксид калия предпочтительней. Это связано со свойствами солей жирных кислот, образующихся в небольшом количестве в качестве побочных продуктов. Соли калия, в отличие от солей натрия, представляют собой жидкие продукты и легко могут быть удалены из реакционных сосудов.^{138, 147}

В качестве катализаторов использовались также системы $\text{TiO}_2\text{—ZrO}_2$, $\text{Al}_2\text{O}_3\text{—ZrO}_2$ при высоких температурах (175–200°C). Хорошие результаты показали цеолиты, MgO, CaO.^{149–155}

Кинетические закономерности процесса и математическое моделирование динамики реакции проведены в ряде работ.^{140, 156–158} Получено достаточно адекватное описание экспериментальных данных и определены константы скорости элементарных стадий (при 50°C).

4. Переэтерификация в сверхкритических жидкостях

Высокоинтенсивный процесс конверсии триглицеридов в биодизельное топливо реализован при проведении реакции в сверхкритических спиртах. Значения критических температур и критических давлений спиртов позволяют проводить реакцию в относительно мягких условиях с высокими скоростями.^{108, 114, 129, 155, 156, 159–162} Обычно используется избыток спирта, продолжительность процесса 5–40 мин.

Спирт	T_{crit} , °C	p_{crit} , МПа
Метанол	239.2	8.1
Этанол	243.2	6.4
<i>n</i> -Пропанол	264.2	5.1
<i>n</i> -Бутанол	281.2	4.9

Преимущество процесса состоит в том, что в реакции не применяется катализатор; в результате существенно упрощается выделение продукта.

Кинетические закономерности переэтерификации в сверхкритическом метаноле исследованы в работе¹⁶⁰.

5. Ферментативная переэтерификация с участием липаз

Достаточно привлекательным представляется процесс ферментативного модифицирования триглицеридов в биодизельное топливо с участием липаз. Преимущества такого процесса состоят в экологической чистоте метода, приемлемых временах реакции и простоте выделения продуктов.^{156, 163–166} Липазы обычно используют в иммобилизованной форме.^{167–169}

Основная проблема применения липаз связана с невысокой стабильностью ферментов и их чувствительностью к высоким концентрациям метанола.

Сравнение различных методов переэтерификации триглицеридов показывает, что каждый из них имеет свои преимущества и недостатки.

Процессы, катализируемые кислотами или основаниями, протекают при относительно невысоких температурах (55–80°C) с технологически приемлемыми скоростями. Кислотный процесс нечувствителен к присутствию свободных жирных кислот в исходном сырье, в то время как в случае щелочного процесса это приводит к накоплению нежелательных солей, представляющих собой мыла. Выделение глицерина в том и в другом случае создает определенные технологические сложности. Реакция чувствительна к наличию следов воды в исходном материале.

Этих недостатков лишены методы, основанные на использовании иммобилизованных ферментов и сверхкритических жидкостей. В то же время к недостаткам этих методов следует отнести высокую стоимость и нестабильность ферментных катализаторов, высокие температуры и давления проведения процесса в сверхкритических спиртах, относительную сложность применяемого технологического оборудования.

В настоящее время наибольшее распространение получила технология, использующая щелочной метод переэтерификации триглицеридов.^{31, 157}

В табл. 4 сравниваются некоторые свойства дизельных топлив нефтяного происхождения и биодизельных топлив.³¹ Видно, что указанные биотоплива обладают несколько более низкой энергоемкостью и более высокой вязкостью. Вместе с тем биодизельное топливо характеризуется более высоким цетановым числом и более высокими температурами застывания, т.е. лучшими эксплуатационными характеристиками.

Биодизельное топливо гораздо более «дружелюбно» к окружающей среде.^{129, 170} При использовании биодизельного топлива снижаются выбросы CO на 10%, углеводородов — на 20%, твердых частиц — на 10%. Единственным неблагоприятным фактором является некоторое увеличение выброса

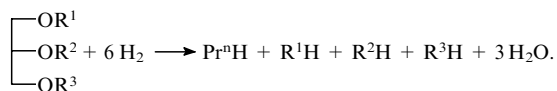
Таблица 4. Сравнительные свойства дизельных топлив нефтяного происхождения и биодизельных топлив.³¹

Свойства	Дизельное топливо нефтяного происхождения	Биодизельное топливо			
		соевое масло		рапсовое масло	
		метиловый эфир	этиловый эфир	метиловый эфир	этиловый эфир
Удельный вес	0.849	0.886	0.881	0.880	0.876
Кинематическая вязкость (40°C), мм ² ·с ⁻¹	2.98	3.89	4.49	5.65	6.17
Температура кипения, °C	~ 190	339	357	347	373
Температура воспламенения, °C	74	188	171	179	124
Температура застывания, °C	~ -20	-3	-3	-15	-10
Цетановое число	49	55	53	62	65
Энергоемкость, МДж·кг ⁻¹ /МДж·л ⁻¹	45/38.6	39.7/52.2	39.9/35.2	40.54/35.7	40.51/38

оксидов азота (2%). Принципиально важна биоразлагаемость биодизельного топлива.^{171–173} в почве за год происходит практически полное исчезновение биодизельного топлива даже в арктических условиях.¹⁷⁴

6. Идеальное биодизельное топливо «Суперцетан»

Помимо переэтерификации для получения дизельного топлива из биомассы могут быть использованы и другие реакции. В частности, интерес представляет процесс каталитического восстановления триглицеридов водородом до соответствующих углеводов.^{175, 176}



Процесс идет при температуре 300–400°C, давлении 2–10 атм с использованием кобальт-молибденовых катализаторов. Получаемые продукты являются идеальным дизельным топливом с цетановым числом 75–100 (обычно используется дизельное топливо нефтяного происхождения с цетановым числом 40–50) и могут служить добавками, повышающими цетановое число традиционных топлив. При каталитическом дезоксигенировании стеариновой кислоты наблюдалось образование *n*-гептадекана и *n*-пентадекана.¹⁷⁷

Исследуется возможность использования углеводов, получаемых из растительных или микробиологических триглицеридов, в качестве авиационного топлива.

7. Биодизельное топливо из микроскопических водорослей

В последние годы большой интерес вызывает получение биодизельного топлива с применением фотосинтезирующих микроскопических водорослей. Идея использования таких водорослей как первичного преобразователя солнечной энергии с последующей переработкой биомассы или химических компонентов клетки в различные энергоносители не нова.^{10, 11, 178–180} Микроводоросли представляют собой достаточно эффективный преобразователь солнечной энергии с хорошо организованными стадиями восстановления диоксида углерода до всего комплекса энергоемких биомолекул, включая углеводы, белки, липиды, триглицериды.^{181–193}

Из биомассы водорослей могут быть получены различные виды биотоплива, в том числе метан,^{10, 186, 187, 190, 194–196} однако наибольший интерес представляет получение биодизельного топлива.^{111, 180, 197–204}

Преимущества использования микроводорослей для производства биодизельного топлива заключаются в следующем:

1. Многие виды микроскопических водорослей содержат большое количество липидов и триглицеридов жирных кислот. Иногда эта величина достигает рекордных значений (до 70% по массе).
2. Микроскопические водоросли в оптимальных условиях роста размножаются достаточно быстро (за сутки может происходить до трех удвоений клеток), что позволяет получать рекордный «урожай» биомассы.
3. Рост микроскопических водорослей может быть интенсифицирован введением диоксида углерода, при этом возможна организация процесса поглощения диоксида угле-

рода, промышленно продуцируемого электростанциями (на 1 кг биомассы водоросли поглощают 1.8 кг CO₂).

4. Микроскопические водоросли — потенциально удобный объект генной инженерии с целью улучшения фотосинтетической и триглицеридпродуцирующей активности.

5. Микроскопические водоросли могут культивироваться на землях, непригодных для выращивания сельскохозяйственных растений, в пустынях и полупустынях, на открытых водных пространствах, с использованием морской воды или сточных вод промышленности либо коммунального хозяйства.

С точки зрения производства биодизельного топлива, микроскопические водоросли в 20–50 раз более производительны по сравнению с традиционными растительными источниками триглицеридов.^{125, 204} Интересно отметить, что применение микроводорослей может покрыть 50% потребности США в дизельном топливе при использовании 1.1–2.5% территории сельскохозяйственных угодий страны (при производительности 58 700–136 900 л топлива на 1 га).²⁰⁴ С учетом возможности использования морских территорий и территорий полупустынь ресурсный потенциал биодизельного топлива из микроводорослей практически безграничен.

Помимо использования микроводорослей представляет интерес применение гетеротрофных микроорганизмов,^{205, 206} производящих большое количество триглицеридов.²⁰⁷

Существует более 100 тысяч различных микроскопических водорослей. Очень небольшая доля из них исследована на содержание липидов и триглицеридов. Практически микроводоросли всех таксономических групп могут быть использованы для производства биодизельного топлива.²⁰⁴ Триглицериды микроскопических водорослей характеризуются относительно высоким содержанием олеиновой кислоты.

Принципиально важной технологической стороной производства биодизельного топлива с использованием микроводорослей является стадия культивирования, для которой предложены самые разнообразные реакторы. Технически значимыми и приемлемыми являются открытый проточный реактор²⁰⁸ и трубчатый фотобиореактор.^{209–211} Было проведено сравнение эффективности этих двух систем.²⁰⁴ Открытый проточный реактор представляет собой канал глубиной 0.25–0.40 м с изменяемым направлением (978 м²) потока, покрывающим определенную площадь, фотобиореактор — трубчатую систему. Последний имеет существенно более высокую (в 10–15 раз) производительность с единицы освещаемой поверхности. Биомассу отделяют от водной фазы центрифугированием, триглицериды получают экстракцией органическими растворителями.

Очень важным развитием микробиологического способа получения биодизельного топлива является использование биомассы, оставшейся после выделения триглицеридов. Показано, что анаэробная конверсия отходов в метан с использованием остатка в виде азотных и фосфорных удобрений делает процесс экономически привлекательным.^{212, 213}

Некоторым отличием микробиологического биодизельного топлива от растительного является относительное повышение в первом содержании полиненасыщенных жирных кислот, включая эйкозопентаеновую и докозагексаеновые кислоты.²¹⁴ Это приводит к большей нестабильности топлива в силу возрастающей склонности к окислению.²¹⁵ Европейский стандарт на биодизельное топливо ограничивает содержание в нем метилового эфира линолевой кислоты (не более 12%). Содержание ненасыщенных кислот в био-

дизельном топливе может быть существенно снижено каталитическим гидрированием.^{216, 217}

VII. Биоводород

Водород как топливо обладает рядом исключительных характеристик, поскольку по энергоемкости на единицу массы превышает все соединения, используемые в качестве топлива; при этом практически единственным продуктом его сгорания является вода.

В современной промышленности большую часть водорода получают паровой конверсией метана или каталитической конверсией углеводов. Однако серьезным недостатком этих методов является наличие значительных выбросов CO₂ в атмосферу. Водород также можно получать электролизом воды, но из-за высокой стоимости электроэнергии доля этого способа в мировом производстве не превышает 5%.

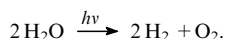
Вследствие этого особый интерес представляют процессы получения водорода с использованием биологических катализаторов, которые можно классифицировать следующим образом:²¹⁸

- биофототоллиз воды с использованием зеленых и сине-зеленых водорослей (цианобактерий);
- фоторазложение органических веществ фотосинтетическими бактериями;
- темновая ферментация органических веществ;
- гибридные системы, в которых используются фотосинтезирующие организмы и бактерии — продуценты водорода.

1. Биофототоллиз воды с использованием микроводорослей

Фотосинтез в растениях и микроскопических водорослях идет с окислением воды (образованием кислорода) и передачей электронов на переносчики (ферредоксины, НАДФН), окислительно-восстановительный потенциал которых по величине близок к потенциалу водородного электрода. При наличии в системе катализаторов переноса электронов на ионы водорода (ферментов гидрогеназ) можно наблюдать образование молекулярного водорода.¹⁰ Таким образом, фотосинтезирующие системы способны разлагать воду на водород и кислород и осуществлять биофототоллиз воды.

Зеленые и сине-зеленые водоросли расщепляют молекулы воды на водород и кислород путем прямого и непрямого биофототоллиза. Прямой биофототоллиз, протекающий непосредственно с участием электрон-транспортной цепи, представляет собой превращение воды в водород зелеными водорослями по следующей общей реакции:

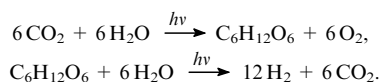


Такой процесс могут осуществлять клетки хорошо изученной водоросли *Chlamydomonas reinhardtii*, которые содержат две ферредоксин-зависимые гидрогеназы. Эти гидрогеназы обладают высокой активностью, но синтезируются стабильно лишь в анаэробных условиях. Образовавшийся кислород инактивирует гидрогеназу. Вследствие этого значительно ограниченной оказывается длительность выделения водорода.²¹⁹ Изучению свойств гидрогеназ и механизму их действия посвящено большое число исследований.^{218, 220–228}

Была проведена иммобилизация *Chlamydomonas reinhardtii* на стекле в условиях недостатка серы при высокой

плотности клеток.²²¹ Максимальный объем водорода, производимый этой системой, составил 380 мл за 23 сут, и самая высокая скорость накопления водорода оказалась равной 45 мл·сут^{−1}. Если клетки *Chlamydomonas reinhardtii* включить в альгинат кальция,²²² то в анаэробных темновых условиях при избытке азота продуктивность по водороду составляет 0.032 мкмоль·ч^{−1}·мг^{−1} сухой биомассы.

Непрямой биофототоллиз представляет собой совокупность двух реакций, осуществляемых зелеными или сине-зелеными водорослями, в которых водород выделяется благодаря наличию гидрогеназы или нитрогеназы:



Процесс может идти в двух различных реакторах, что обеспечивает раздельное получение водорода и кислорода.

Нитрогеназа в цианобактериях преимущественно локализована в гетероцистах, в которых отсутствует фотосистема II, т.е. они не способны к выделению кислорода. Кислород же образуется в вегетативных клетках.²¹⁹

Водородпродуцирующие цианобактерии могут быть азотфиксирующими и не азотфиксирующими. К первому типу относятся пресноводные *Anabaena* sp., морские *Calothrix* sp., *Oscillatoria* sp., примерами второго типа служат *Synechococcus* sp., *Gloeobacter* sp. и *Anabaena* sp. Все они являются наиболее продуктивными по водороду по сравнению с представителями других видов цианобактерий.²¹⁸

Показано, что продуктивность клеток *Spirulina platensis* по водороду ухудшается с понижением pH среды, однако при поддержании pH ~ 7 можно добиться более высоких значений выхода водорода.²²³

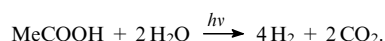
Скорость продуцирования водорода штаммом *Anabaena* sp. через 24 ч после начала процесса составляла 85 и 9 мкмоль·ч^{−1}·мг^{−1} хлорофилла под аргоном и азотом соответственно, что значительно превышает данные, полученные на воздухе. При этом в целом также наблюдалось и улучшение выхода кислорода.²²⁴

Изучено влияние режима свет/темнота на производство водорода клетками цианобактерии *Nostoc muscorum*.²²⁵ Согласно полученным данным, чем дольше световой период, тем больше выход водорода, причем количество выделяемого кислорода было во всех случаях незначительным.

Однако в целом применение цианобактерий затрудняют низкие эффективность и скорость процесса, а также одновременное выделение кислорода.²¹⁹

2. Фоторазложение органических веществ фотосинтетическими бактериями

Фоторазложение органических веществ осуществляется пурпурными несерными бактериями благодаря присутствию нитрогеназы в условиях недостатка любых форм азота с использованием световой энергии и широкого спектра органических кислот, в частности уксусной кислоты.²²⁹



Фотосинтетические бактерии давно являются объектом изучения из-за достаточно разнообразных метаболических способностей этих микроорганизмов и отсутствия фотосистемы II, что автоматически решает проблему ингибирования кислородом производства водорода. Примером таких бактерий могут служить *Rhodobacter sphaeroides*. В им-

мобилизованном состоянии (на пористом стекле) они могут выделять H_2 в количестве $1.1 \text{ л} \cdot \text{ч}^{-1}$ на 1 л матрицы стабильно в течение 1000 ч.²¹⁹

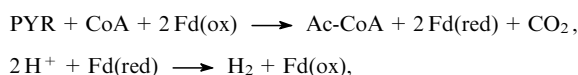
Показано, что биофототоллиз воды может осуществляться с помощью системы, содержащей цианобактерии *Spirulina platensis* и фотосинтетические бактерии *Rhodobacter sphaeroides* RV.²²³ Цианобактерия на свету в азотдефицитной среде накапливает гликоген, который затем в темноте разлагается на органические кислоты с образованием водорода. Эти органические кислоты также с образованием водорода перерабатываются фотосинтетическими бактериями на свету. В результате общее количество выделившегося водорода практически равно сумме стехиометрических значений, рассчитываемых исходя из разложения каждой органической кислоты.

В другой похожей системе сначала проводили культивирование клеток *Chlamydomonas* sp. на свету.²²⁶ При этом в среде накапливался крахмал, который затем в темноте в анаэробных условиях расщеплялся на такие продукты, как уксусная кислота, этанол, глицерин и водород. Далее с помощью микрофилтра среда отделялась от микроводоросли, и в нее помещали фотосинтетические бактерии *Rhodovulum sulfidophilum* sp., продуцирующие водород на свету. В результате в такой системе в течение 23 сут накапливалось 78 л H_2 .

Экономически перспективным считается использование не двух отдельных реакторов с двумя культурами, а одного реактора, содержащего две ко-культуры применяемых клеток. Показано, что рост двух разных микроорганизмов (*Rhodospirillum rubrum* и *Chlamydomonas reinhardtii*) может регулироваться интенсивностью света. При оптимальных условиях освещения и составе среды каждая из двух культур может производить H_2 в количестве максимально $50 \text{ мл} \cdot \text{ч}^{-1}$ на 1 л среды.²²⁷

3. Темновая ферментация органических веществ

Процесс темновой ферментации происходит при росте бактерий на различных субстратах, его общая схема выглядит следующим образом:²¹⁸



где PYR — пируват, CoA — кофермент А, Fd — ферредоксин, ox и red — окисленная и восстановленная формы соответственно. Например, строго анаэробные бактерии *Clostridium acetobutylicum* могут осуществлять конверсию глюкозы главным образом в ацетон, бутанол, этанол, водород и диоксид углерода, причем продуктивность образования водорода лежит в интервале $25\text{--}55 \text{ мл} \cdot \text{ч}^{-1} \cdot \text{л}^{-1}$ среды.²²⁷

В экспериментах с разными бактериями и их консорциумами обычно получают $0.5\text{--}4$ моль H_2 на 1 моль глюкозы в зависимости от инокулята, состава среды, значения pH, температуры и типа реактора,²³⁰ при этом максимальное количество H_2 обеспечивают термофильные анаэробные бактерии. Например, клетки *Clostridium thermocellum* ферментируют целлюлозу, при этом максимальная удельная скорость накопления водорода достигает $14.6 \text{ ммоль} \cdot \text{ч}^{-1} \cdot \text{г}^{-1}$ сухой биомассы.²³¹

Продуктивность по водороду у клеток *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* в зависимости от того, какой углевод был взят в качестве субстрата, варьируется в диапазоне

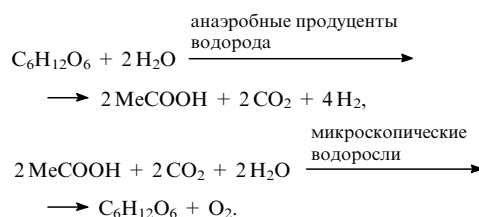
$1.2\text{--}2.8$ моль H_2 на 1 моль сахара, при этом наиболее предпочтительна сахароза.²³² При $\text{pH} < 6.0$ наблюдается уменьшение выхода водорода, вырабатываемого микроорганизмами, а при $\text{pH} 5.0$ он становится равным нулю. Однако если изначально $\text{pH} \geq 7.0$, возможно достижение более высоких выходов по водороду.²³²

На накопление водорода клетками *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* влияет также их исходная концентрация в среде.²³³ Еще одним перспективным кандидатом для ферментативного получения водорода являются клетки *Clostridium beijerinckii*.²³⁴

Для получения водорода известно использование ко-культуры, состоящей из клеток *Clostridium beijerinckii* и *Bacillus thermoamylovorans*.²³⁵ Также описана ко-культура на основе клеток *Clostridium butyricum* и *Rhodobacter sphaeroides*.²²⁸

Проведено сравнение анаэробных продуцентов водорода и клеток микроводорослей, продуцирующих водород,²³⁶ и сделан вывод о том, что более предпочтительна темновая ферментация, так как она не требует света и позволяет эффективно использовать различные биологические отходы.

Принципиально новые возможности открывает использование для целей биофототоллиза системы микроводорослей и ферментативных клеток. Реакцию фоторазложения воды на водород и кислород можно провести с применением микроскопических водорослей и анаэробных продуцентов водорода. Схему процесса можно представить в следующем виде:¹⁰



Первая стадия процесса (темновая) — реакция, которую эффективно проводят анаэробные микроорганизмы рода *Clostridium*, вторая стадия — фотосинтез в микроскопических водорослях.

Впервые процесс такого типа был реализован в 1985 г.¹⁹⁴ Особенностью процесса является раздельное получение водорода и кислорода под действием солнечного света. Достигнута производительность по водороду до $0.5 \text{ л} \cdot \text{ч}^{-1} \cdot \text{л}^{-1}$ среды.

Весьма интересным представляется исследование²³⁷, в котором сначала в течение 3 сут выращивали микроводоросль *Chlamydomonas reinhardtii*, а затем подвергали ее ферментации анаэробными бактериями *Clostridium butyricum* с целью получения водорода.

4. Гибридные системы

Побочными продуктами темнового получения водорода в основном являются летучие жирные кислоты, которые легко усваиваются пурпурными бактериями, поэтому предлагается объединить темновое выделение водорода со светозависимым. В этом случае можно увеличить выход водорода при использовании целлюлозосодержащих отходов до 11 моль на 1 моль глюкозы. Однако требуются значительные усилия по оптимизации обоих процессов и по их интеграции.²¹⁹ Сравнение различных двухстадийных процессов производства водорода с участием ферментативных и фото-

синтетических бактерий было проведено авторами работы²³⁸. Установлено, что система клеток *Clostridium pasteurianum* и *Rhodospseudomonas palustris* позволяет получить целевой продукт в количестве $14.2 \text{ моль} \cdot \text{моль}^{-1}$ сахарозы.²³⁹ Системы раздельного получения водорода и кислорода путем биофотоллиза воды пока не вышли на уровень технологического освоения. Однако в последние годы они интенсивно совершенствуются. Можно ожидать, что качественное улучшение технологических характеристик систем будет связано с переходом к использованию иммобилизованных клеток. При технологической реализации систем преобразования солнечной энергии путем фоторазложения воды технологии этого класса способны обеспечить общество предельно экологически чистой возобновляемой энергией. При этом, несомненно, большую роль будут играть процессы, основанные на использовании различных отходов промышленности, муниципального и сельского хозяйства в качестве основного сырья для получения водорода.^{187, 240–242}

VIII. Новые подходы к получению биотоплива

Современное развитие технологии получения биотоплива определяется возникновением новых решений и подходов. Нетрадиционные решения связаны как с использованием новых комбинаций химико-биотехнологических стадий, так и с применением для получения энергоемких продуктов новых химических реакций. Ниже рассмотрены некоторые из таких подходов.

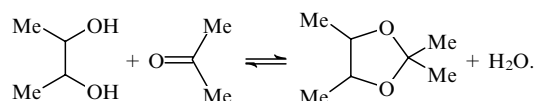
1. Биокетали

В классическом варианте технологии конверсии биомассы в спирты (этанол, бутанол) биотехнологическую трансформацию претерпевает только глюкоза, получаемая химическим или ферментативным гидролизом целлюлозы. Пятиуглеродные сахара являются отходами процесса. При получении биодизельного топлива побочным продуктом, не находящим масштабного применения, является глицерин. Эти вещества могут быть превращены в автомобильное топливо путем прямого химического модифицирования и гидрофобизации.

Возможна химическая трансформация пентоз с прямым переводом углеводов в гидрофобную фазу традиционных топлив. Этот подход применяется для любых органических молекул, содержащих вицинальные гидроксильные группы, например этиленгликоля, глицерина.^{243, 244}

В результате химического превращения получают кетали, выделяется молекула воды, происходит гидрофобизация углеводов или полиолов. Органические продукты растворимы в спиртовой и углеводородной фазах, в результате удаления воды увеличивается их относительное энергосодержание.

Наиболее практически значимым кетоном является ацетон — доступный и относительно дешевый продукт крупнотоннажного органического синтеза, а также побочный продукт биотехнологического производства биобутанола.



Новый способ получения биотоплива из лигноцеллюлозного сырья включает в себя стадии химического или ферментативного гидролиза целлюлозы и гемицеллюлозы с последующей прямой химической конверсией сахаров в

топливную углеводородрастворимую форму.²⁴⁴ Это существенно упрощает технологическую схему процесса, позволяет отказаться от малоэффективной трудоемкой и ресурсоемкой микробиологической стадии, увеличивает выход биотоплива на 50–80%.

Современные автомобили требуют высокооктанового топлива с антидетонационными свойствами, характеризующимися моторным октановым числом 92, 95 или 98. Высокие антидетонационные характеристики достигаются либо глубоким модифицированием бензинов с использованием процессов каталитического крекинга, изомеризации, алкилирования или с помощью введения в топливо специальных высокооктановых добавок. Последний путь на сегодняшний день является наиболее экономически целесообразным и востребованным.

В настоящее время с целью повышения октанового числа бензинов используют ароматические амины, ферроцены, метил-*трет*-бутиловый эфир (МТБЭ), но все эти соединения опасны для человека и окружающей среды. Наиболее широко применяется МТБЭ, однако в силу токсичности и экологической опасности он был запрещен в Калифорнии в 2004 г., и планируется его запрет в целом в США в 2010 г.

Кетали пятиуглеродных сахаров и глицерина при введении в бензины совместно с этанолом позволяют существенно увеличить октановое число бензинов.^{243, 244} Известные антидетонационные препараты (ароматические амины, ферроцен и его производные, марганецсодержащие комплексы) при использовании их в допустимых концентрациях позволяют повысить октановое число бензинов на 3–6 единиц. Аналогичный эффект дают МТБЭ и этанол.

Циклические кетали глицерина, арабинозы, гидролизатов биомассы в концентрации от 1 до 10% способны стабилизировать воду в спиртово-бензиновых композициях и предотвращать расслоение и выпадение твердой фазы льда до температуры -30°C .

2. Конверсия продуктов термической газификации биомассы в биотопливо

Один из традиционных способов конверсии биомассы связан с термическим пиролизом и газификацией. Разработаны десятки процессов, использующих реакции термического разложения древесины и родственных продуктов с получением жидкого и газообразного топлива.^{245–248} Продуктом термической газификации биомассы является смесь водорода, CO, CO₂, низших углеводородов. Аналогичные продукты получают путем газификации угля (синтез-газ). Известны биотехнологические процессы, позволяющие получать из синтез-газа продукты органического синтеза, в том числе и биотоплива.

В работах^{247, 249, 250} детально исследована реакция восстановления CO₂ (CO) молекулярным водородом с получением ряда органических соединений: ацетата натрия, этанола и бутанола. В качестве катализаторов используются свободные и иммобилизованные клетки родов *Thermoanaerobacter*, *Clostridium*, *Moorella*, *Carboxydocella*.^{247, 251} В зависимости от микроорганизма процесс ферментации синтез-газа характеризуется преобладанием того или иного продукта. Так, в случае клеток *Clostridium ljungdahlii* наблюдается максимальный выход этанола. Компания Coskata (США) при поддержке компании General Motors планирует строительство завода мощностью 160 тыс. л этанола в год с использованием технологии, совмещающей термическое получение синтез-газа практически из любого органического сырья (твер-

дых бытовых отходов, старых покрышек, отходов деревообрабатывающей промышленности и сельского хозяйства) с его биотехнологической конверсией в этанол.

3. Пиролизное биомасло

Проведение быстрого пиролиза различного биоорганического сырья (древесины, отходов сельского хозяйства, биомассы микроводорослей^{248, 252, 253}) при температуре 400–500°C в течение 5 мин приводит к образованию так называемого пиролизного биомасла, которое по своим характеристикам и составу очень похоже на углеводородное топливо, получаемое из «легкой» нефти, но в отличие от него не имеет серо- и азотсодержащих компонентов. На сегодняшний день производство такого пиролизного биомасла обсуждается как одно из возможных направлений дальнейшего развития биотопливной промышленности по пути децентрализации топливных потоков.

4. Дизельное топливо из бактериальных клеток

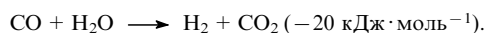
Развитие методов генной инженерии позволяет ожидать появления принципиально новых процессов, в том числе и в области получения биотоплив, в частности микробного биодизельного топлива (Microdiesel).^{254, 255} Сегодня уже известно, что на основе клеток *E. coli* может быть сконструирован продуцент, обеспечивающий эффективное аэробное получение этилолеата при введении в среду в качестве основных источников питания глюкозы и олеиновой кислоты. Такой результат достигается за счет экспрессии в трансформированных клетках генов *pdc* и *adhB* из бактерий *Zymomonas mobilis*, кодирующих синтез соответственно пируватдекарбоксилазы и алкогольдегидрогеназы, и гена *atfA* из *Acinetobacter bayalyi*, кодирующего синтез ацилтрансферазы.

5. Биобензин из биоэтанола

Перспективными представляются исследования новой реакции — восстановительной дегидратации спиртов, в ходе которой алканол превращается в алкан с удвоенной (как минимум) длиной углеродной цепи по сравнению с исходной молекулой спирта. Реакция протекает при 250–350°C и давлении 7–50 атм в присутствии полиметаллических катализаторов.²⁵⁶ Показано, что этанол, полученный в результате биохимической конверсии ЦСС, может быть превращен с конверсией 60–70% в высокооктановые компоненты моторного топлива, в частности алканы C₄–C₁₀.²⁵⁷ Дальнейшее развитие таких процессов в комбинации с биотехнологическими подходами к переработке возобновляемых источников сырья может сформировать платформу для получения биобензина на основе новых экологически чистых технологических решений.

6. Биоводород из монооксида углерода и воды

Весьма перспективными выглядят результаты исследований по микробиологическому синтезу водорода из СО и воды (реакция сдвига). Монооксид углерода является одним из основных компонентов синтез-газа, который может быть получен в результате газификации возобновляемой биомассы.



Реакция осуществляется бактериями нескольких родов (*Rhodobacter*, *Rhodospseudomonas*, *Rhodospirillum*, *Eubacterium*, *Butyribacterium*, *Citrobacter*^{258, 259}) и археями *Methanosarcina barkeri*.²⁶⁰ Показана возможность проведения этого процесса в условиях периодически или непрерывно действующего биореактора с клетками микроорганизмов. Максимальный выход процесса по водороду, достигнутый на сегодняшний день, составляет 80%.²⁵⁹ Стабильность максимального уровня конверсии СО под действием одного и того же образца биокатализатора, в роли которого выступают суспензионные клетки, может быть обеспечена в течение 27 сут в проточном реакторе. Максимальная продуктивность по водороду в таком процессе 12–14 ммоль · ч⁻¹. Оптимизация условий синтеза и используемых конструкций биореакторов, очевидно, станет в ближайшее время основным направлением развития этого процесса.

* * *

Интенсивное развитие исследований в области получения биоэнергетических и создание новых технологических процессов определяются растущими потребностями в энергообеспечении общества, экологическими преимуществами использования солнечной энергии и прогрессирующим дефицитом доступного углеводородного сырья. Девиз «углеводы вместо углеводородов» становится базовым для развития многих химических и топливных компаний. Данный обзор иллюстрирует разнообразие биотопливных продуктов, подходов и технологий, направленных на создание новой отрасли индустрии — биотопливной промышленности.

Развитие биотопливной индустрии как одного из наиболее востребованных и крупномасштабных методов конверсии веществ влечет за собой становление многих новых отраслей химической промышленности. Очевидно, что следующим этапом развития является создание масштабированных процессов получения экоматериалов, био-разлагаемых полимеров, биопластиков, новых видов биоэластомеров и резин, новых продуктов тонкого органического синтеза. В настоящее время закладываются предпосылки перехода к новым экологически чистым технологиям.

Литература

1. Н.Н.Семенов. В кн. *Избранные труды. Т. 4.* Наука, Москва, 2006. С. 231
2. В.В.Фортов, А.А.Макаров, Т.А.Митрова. *Вестн. РАН*, **77**, 99 (2007)
3. Zh.I.Alferov, V.M.Andreev, V.D.Rumyantsev. *Semiconductors*, **38**, 899 (2004)
4. S.W.Jones. *Photovoltaics World*, (4), 9 (2009)
5. А.Р.Аблаев. *Эколог. вестн. России*, **2**, 23 (2009)
6. M.Aleck. *Vital Signs 2005*. International Energy Agency, Washington, 2005. P. 38
7. S.D.Varfolomeev, K.G.Gurevich. *J. Theor. Biol.*, **212**, 367 (2001)
8. С.Д.Варфоломеев, А.В.Луковенков. *Ежегодник Ин-та проблем хим. физики РАН*, **5**, 65 (2008)
9. С.П.Капица. *Общая теория роста человечества*. Наука, Москва, 1999
10. С.Д.Варфоломеев. *Конверсия энергии биокаталитическими системами*. Изд-во МГУ, Москва, 1981
11. С.Д.Варфоломеев, С.В.Калужный, Д.Я.Медман. *Успехи химии*, **57**, 1201 (1988)
12. И.И.Моисеев, С.Д.Варфоломеев, Н.А.Платэ. *Вестн. РАН*, **76**, 427 (2006)

13. И.И.Моисеев, С.Д.Варфоломеев, Б.Ф.Мясоедов. *Вестн. РАН*, **79**, 95 (2009)
14. M.C.Gopinathan, R.Sudhakaran. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, **45**, 350 (2009)
15. F.Wang, X.-R.Xiong, C.-Z.Liu. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, **45**, 342 (2009)
16. D.D.Songstad, P.Lakshmanan, J.Chen, W.Gibbons, S.Hughes, R.Nelson. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, **45**, 189 (2009)
17. H.Fukuda, A.Kondo, S.Tamalapudi. *Biochem. Eng. J.*, **44**, 2 (2009)
18. I.Boukis, N.Vassilakos, G.Kontopoulos, S.Karellas. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, **13**, 971 (2009)
19. I.Boukis, N.Vassilakos, G.Kontopoulos, S.Karellas. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, **13**, 703 (2009)
20. J.O.B.Carioca, J.J.Hiluy Filho, M.R.L.V.Leal, F.S.Macambira. *Biotechnol. Adv.*, **27**, 1043 (2009)
21. J.van Dam, A.P.C.Faaij, J.Hilbert, H.Petruzzi, W.C.Turkenburg. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, **13**, 1679 (2009)
22. J.van Dam, A.P.C.Faaij, J.Hilbert, H.Petruzzi, W.C.Turkenburg. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, **13**, 1710 (2009)
23. T.Wiesenthal, G.Leduc, P.Christidis, B.Schade, L.Pelkmans, L.Govaerts, P.Georgopoulos. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, **13**, 789 (2009)
24. X.Zhou, B.Xiao, R.M.Ochieng, J.Yang. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, **13**, 479 (2009)
25. R.L.Rowe, N.R.Street, G.Taylor. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, **13**, 271 (2009)
26. B.Amigun, R.Sigamoney, H.von Blottnitz. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, **12**, 690 (2008)
27. W.T.Tsai. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, **11**, 331 (2007)
28. B.-H.Um, Y.-S.Kim. *J. Ind. Eng. Chem.*, **15**, 1 (2009)
29. S.A.Khan, Rashmi, M.Z.Hussain, S.Prasad, U.C.Banerjee. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, **13**, 2361 (2009)
30. S.Varfolomeev. *Pure Appl. Chem.*, **80**, 2069 (2008)
31. D.L.Klass. *Biomass for Renewable Energy, Fuels and Chemicals*. Academic Press, San Diego, CA, 1998
32. R.Retrovsky. In *Theoretical and Continuous Culture of Microorganisms*. (Eds I.Malek, Z.Fencel). Academic Press, New York, 1966
33. J.G.Zeikus. *Bacteriol. Rev.*, **41**, 514 (1977)
34. J.G.Zeikus, R.Kerby, J.A.Krzycki. *Science*, **227**, 1167 (1985)
35. Е.А.Бонч-Осмоловская. *Успехи микробиологии*, **45**, 347 (1979)
36. С.В.Калужный, А.Н.Кожевникова, С.Д.Варфоломеев. *Микробиология*, **54**, 257 (1985)
37. R.Einspanier, B.Lutz, S.Rief, O.Berezina, V.Zverlov, W.H.Schwarz, J.Mayer. *Eur. Food Technol.*, **218**, 269 (2004)
38. H.D.Ariesyady, T.Ito, S.Okabe. *Water Res.*, **41**, 1554 (2007)
39. C.A.O'Sullivan, P.C.Burrell, W.P.Clarke, L.L.Blackall. *Biotechnol. Bioeng.*, **92**, 871 (2005)
40. K.Syutsubo, Y.Nagaya, S.Sakai, A.Miya. *Water Sci. Technol.*, **52**, 79 (2005)
41. M.Klocke, P.Mähnert, K.Mundt, K.Souidi, B.Linke. *Syst. Appl. Microbiol.*, **30**, 139 (2007)
42. Л.И.Воробьева. В кн. *Археи*. ИКЦ Академкнига, Москва, 2007. С. 447
43. V.I.Sklyar, T.P.Mosolova, I.A.Kucherenko, N.N.Degtyarova, S.D.Varfolomeev, S.V.Kalyuzhnyi. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **81**, 107 (1999)
44. S.D.Varfolomeev, S.V.Kalyuzhnyi. In *Enzymes in Action Green Solutions for Chemical Problems. Vol. 33. (NATO Sci. Ser.)*. (Eds B.Zwanenburg, M.Mikolajczyk, P.Kielbasinski). Kluwer Academic, Dodrecht, 1999. P. 297
45. С.Д.Варфоломеев, С.В.Калужный. В кн. *Биотехнология: кинетические основы микробиологических процессов*. Высшая школа, Москва, 1990. С. 295
46. С.Д.Варфоломеев, К.Г.Гуревич. В кн. *Биокинетика*. ФАИР-ПРЕСС, Москва, 1999. С. 716
47. С.В.Калужный, С.Д.Варфоломеев. *Биотехнология*, **2** (1), 94 (1986)
48. С.В.Калужный, С.Д.Варфоломеев. *Биотехнология*, **2** (3), 70 (1986)
49. С.В.Калужный, Ч.Д.Тоай, С.И.Спивак. *Вестн. МГУ. Сер. химия*, **25**, 411 (1984)
50. С.В.Калужный, С.И.Спивак, С.Д.Варфоломеев. *Биотехнология*, **2** (5), 94 (1986)
51. G.Lettinga, L.W.H.Pol, I.W.Koster, W.M.Wiegant, W.J.Dezeeuw, A.Rinzema, P.C.Grün, R.E.Roersma, S.W.Hobma. *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.*, **2**, 253 (1984)
52. G.Gonzalez-Gil, R.Kleerebezem, A.van Aelst, G.R.Zoutberg, A.I.Versprille, G.Lettinga. *Water Sci. Technol.*, **40**, 195 (1999)
53. S.Kortekaas, G.Vidal, Y.L.He, G.Lettinga, J.A.Field. *J. Ferment. Bioeng.*, **86**, 97 (1998)
54. L.Seghezzo, C.M.Cuevas, A.P.Trupiano, R.G.Guerra, S.M.Gonzalez, G.Zeeman, G.Lettinga. *Water Sci. Technol.*, **54**, 223 (2006)
55. W.Soetaert, E.Vandamme. *Biotechnol. J.*, **1**, 756 (2006)
56. L.D.Pimentel, T.W.Patzek. *Nat. Res. Res.*, **14**, 65 (2005)
57. Ю.Я.Свириденко, Э.Ф.Кравченко, О.А.Яковлева. *Сыроделье и маслоделие*, 40 (2006)
58. J.Yu, X.Zhang, T.Tan. *J. Biotechnol.*, **129**, 415 (2007)
59. J.Yu, X.Zhang, T.Tan. *Biomass Bioenerg.*, **33**, 521 (2009)
60. Y.Yamashita, A.Kurosumi, C.Sasaki, Y.Nakamura. *Biochem. Eng. J.*, **42**, 314 (2008)
61. R.Liu, J.Li, F.Shen. *Renew Energy*, **33**, 1130 (2008)
62. E.N.Efremenko, I.V.Lyagin, O.V.Senko, N.A.Stepanov, O.V.Spiricheva, R.E.Azizov. In *Leading-Edge Environmental Biodegradation. Ch. 1*. (Ed. L.E.Pawley). Nova Science Publ., New York, 2007. P. 11
63. Ю.Я.Свириденко, Л.В.Абдуллаева, Е.И.Райнина, Е.Н.Ефременко. *Пищевая пром-ть*, 6 (1994)
64. Ю.В.Свириденко, В.Ю.Смурыгин, Л.В.Абдуллаева, Е.Н.Ефременко, Е.И.Райнина. *Докл. РАСХН*, 42 (1994)
65. T.A.Clark, K.L.Mackie. *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **34**, 101 (1984)
66. A.K.Chandel, N.M.Lakshmi, G.Chandrasekhar, A.Manikyam, R.L.Venkateswar. *Bioresource Technol.*, **100**, 2404 (2009)
67. M.Ballesteros, J.M.Oliva, M.J.Negro, P.Manzanares, I.Ballesteros. *Process Biochem.*, **29**, 1843 (2004)
68. M.Ballesteros, J.M.Oliva, M.J.Negro, P.Manzanares, I.Ballesteros. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **18**, 559 (2002)
69. C.Martin, M.Galbe, F.Wahlbom, B.Hahn-Hägerdal, L.J.Jönsson. *Enzyme Microb. Technol.*, **31**, 274 (2002)
70. М.В.Семенова, И.Н.Зоров, А.П.Синицын, Н.А.Степанов, Е.Н.Ефременко, О.В.Сенько, С.С.Щербаков. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 72 (2009)
71. K.Olofsson, M.Bertilsson, G.Liden. *Biotechnol. Biofuels*, **1**, 1 (2008)
72. A.Isci, J.N.Himmelsbach, A.L.Pometto, D.R.Raman, R.P.Anex. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **144**, 69 (2008)
73. K.Ohgren, O.Bengtsson, M.F.Gorwa-Grauslund, M.Galbe, B.Hahn-Hägerdal, G.Zacchi. *J. Biotechnol.*, **126**, 488 (2006)
74. M.Linde, M.Galbe, G.Zacchi. *Enzyme Microb. Technol.*, **40**, 1100 (2007)
75. A.Rudolf, H.Baudel, G.Zacchi, B.Hahn-Hägerdal, G.Liden. *Biotechnol. Bioeng.*, **99**, 783 (2008)
76. Y.Shen, Y.Zhang, T.Ma, X.Bao, F.Du, G.Zhuang, Y.Qu. *Bioresource Technol.*, **99**, 5099 (2008)
77. P.Andrić, A.S.Meyer, P.A.Jensen, K.Dam-Johansen. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **160**, 280 (2010)
78. N.Fujii, T.Oki, A.Sakurai, S.Suye, M.Sakakibara. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **27**, 52 (2001)
79. L.Jamai, K.Ettayebi, J.E.Yamani, M.Ettayebi. *Bioresource Technol.*, **98**, 2765 (2007)
80. V.V.R.Bandaru, S.R.Somalanka, D.R.Mendu, N.R.Madicherla, A.Chityala. *Enzyme Microb. Technol.*, **38**, 209 (2006)

81. M.Staniszewski, W.Kujawski, M.Lewandowska. *J. Food Eng.*, **82**, 618 (2007)
82. S.Gough, N.Barron, A.L.Zubov, V.I.Loizinsky, A.P.McHale. *Bioprocess Eng.*, **19**, 87 (1998)
83. K.Karimi, G.Emtiazi, M.J.Taherzadeh. *Enzyme Microb. Technol.*, **40**, 138 (2006)
84. K.Karimi, G.Emtiazi, M.J.Taherzadeh. *Proc. Biochem.*, **41**, 653 (2006)
85. Е.Ефременко, О.Сенко, Д.Зубаерова, Е.Подороzhко, В.Лоизинский. *Food Technol. Biotechnol.*, **46**, 208 (2008)
86. Заявка 2008135918 РФ; *Бюл. изобр.*, (7), (2010)
87. Е.Н.Ефременко. Дис. д-ра биол. наук. ИБХФ РАН, Москва, 2009
88. G.Panagiotou, P.Christakopoulos, L.Olsson. *Enzyme Microb. Technol.*, **36**, 693 (2005)
89. П.Степаненко. *The Chem. J.*, (9), 30 (2008)
90. О.И.Шаповалов, Л.А.Ашкинази. *Хим. пром-сть*, **85**, 203 (2008)
91. H.Chin, Z.Chen, C.P.Chou. *Biotechnol. Prog.*, **19**, 383 (2003)
92. B.McNeil, B.Kristiansen. *Biotechnol. Lett.*, **7**, 499 (1985)
93. J.R.Martin, H.Petitdemange, J.Ballongue, R.Gay. *Biotechnol. Lett.*, **5**, 89 (1983)
94. L.Yerushalmi, B.Volesky, T.Szczesny. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **22**, 103 (1985)
95. J.C.Gottschal, J.G.Morris. *Biotechnol. Lett.*, **4**, 477 (1982)
96. О.А.Никитина, С.С.Зацепин, С.В.Калужный, Е.И.Райнина, С.Д.Варфоломеев, А.Л.Зубов, В.И.Лозинский. *Микробиология*, **62**, 477 (1993)
97. A.H.Mollah, D.C.Stuckey. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **37**, 533 (1992)
98. L.Häggström, S.Enfors. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **7**, 35 (1982)
99. E.K.C.Yu, M.K.Chan, J.N.Saddler. *Biotechnol. Lett.*, **7**, 509 (1985)
100. J.C.Andrade, I.Vasconcelos. *Biotechnol. Lett.*, **25**, 121 (2003)
101. W.Huang, D.E.Ramey, S.Yang. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **113–116**, 887 (2004)
102. Y.Jiang, C.Xu, F.Dong, Y.Yang, W.Jiang, S.Yang. *Metab. Eng.*, **11**, 284 (2009)
103. S.Lee, M.O.Cho, C.H.Park, Y.Chung, J.H.Kim, B.Sang, Y.Um. *Energy Fuels*, **22**, 3459 (2008)
104. J.Lienhardt, J.Schripsema, N.Qureshi, H.P.Blaschek. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **98–100**, 591 (2002)
105. O.V.Berezina, A.Brandt, S.Yarotsky, W.S.Schwarz, V.V.Zverlov. *System. Appl. Microbiol.*, **32**, 449 (2009)
106. C.N.Hipolito, E.Crabbe, C.M.Badillo, O.C.Zarrabal, M.A.M.Mora, G.P.Flores, M.A.H.Cortazar, A.Ishizaki. *J. Clean. Prod.*, **16**, 632 (2008)
107. У.Ольховская. *The Chem. J.*, (12), 38 (2008)
108. A.Demirbas. *Prog. Energy Combust. Sci.*, **31**, 466 (2005)
109. W.R.Nitschke, C.M.Wilson. In *Rudolph Diesel. Pioneer of the Age of Power*. The University of Oklahoma Press, Norman, OK, 1965
110. B.R.Moser. In *Vitro Cell. Dev. Biol. — Plant*, **45**, 229 (2009)
111. T.M.Mata, A.Martins, N.S.Caetano. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, **14**, 217 (2010)
112. А.Б.Вишпер. *Нефтепереработка и нефтехимия. Научно-технические достижения и передовой опыт*, (3), 51 (2007)
113. G.Knothe, R.O.Dunn, M.O.Bagby. *ACS Symp. Ser.*, **666**, 172 (1997)
114. H.Fukuda, A.Kondo, H.Noda. *J. Biosci. Bioeng.*, **92**, 405 (2001)
115. B.K.Barnwal, M.P.Sharma. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, **9**, 363 (2005)
116. J.Van Gerpen. *Fuel Process. Technol.*, **86**, 1097 (2005)
117. P.Felizardo, M.J.N.Correia, I.Raposo, J.F.Mendes, R.Berkemeier, J.M.Bordado. *Waste Manag.*, **26**, 487 (2006)
118. M.G.Kulkakni, A.K.Dalai. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **45**, 2901 (2006)
119. L.C.Meher, D.Vidya Sagar, S.N.Naik. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, **10**, 248 (2006)
120. M.Canakci, H.Sanli. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **35**, 431 (2008)
121. P.T.Vasudevan, M.Briggs. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **35**, 421 (2008)
122. D.E.Kolattukudy. In *Recent Advances in Chemistry and Biochemistry of Plant Lipids*. (Eds T.Galliard, E.I.Merxer). Academic Press, New York, 1975. P. 203
123. С.Дэгли, Д.Никольсон. В кн. *Метаболические пути*. Мир, Москва, 1973. С. 164
124. М.Г.Сергеева, А.Т.Варфоломеева. В кн. *Каскад арахидоновой кислоты*. Народное образование, Москва, 2006. С. 255
125. J.Pratoomyot, P.Srivilas, T.Noiraksar. *J. Sci. Technol.*, **27**, 1179 (2005)
126. B.Freedman, M.O.Bagby, T.J.Callhan, T.W.Ryan III. *SAE Paper No. 900343*. Society of Automotive Engineers, Warrendale, PA (1990)
127. L.D.Clements. In *Proceedings of the Third Liquid Fuel Conference «Liquid Fuels and Industrial Products from Renewable Resources»*. (Ed. J.F.Cundiff). Nashville, TN, 1996. P. 44
128. G.Knothe, M.O.Bagby, T.W.Ryan. In *Proceedings of the Third Liquid Fuel Conference «Liquid Fuels and Industrial Products from Renewable Resources»*. (Ed. J.F.Cundiff). Nashville, TN, 1996. P. 54
129. Y.C.Sharma, B.Singh, S.N.Upadhyay. *Fuel*, **87**, 2355 (2008)
130. S.J.Clark, L.Wagner, M.D.Schrock, P.G.Pinnaar. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **61**, 1632 (1984)
131. S.V.Ghadge, H.Raheman. *Biomass Bioenergy*, **28**, 601 (2005)
132. A.S.Ramadhass, S.Jayaraj, C.Muraleedharan. *Fuel*, **84**, 335 (2005)
133. H.Xu, X.Miao, Q.Wu. *J. Biotechnol.*, **126**, 499 (2006)
134. X.Miao, Q.Wu. *Bioresource Technol.*, **97**, 841 (2006)
135. V.B.Veljkovic, S.H.Lakicevic, O.S.Stamenkovic, Z.B.Todorovic, M.L.Lazic. *Fuel*, **85**, 2671 (2006)
136. P.K.Sahoo, L.M.Das, M.K.G.Babu, S.N.Naik. *Fuel*, **86**, 448 (2007)
137. A.K.Tiwari, A.Kumar, H.Raheman. *Biomass Bioenergy*, **31**, 569 (2007)
138. Y.C.Sharma, B.Singh. *Fuel*, **87**, 1740 (2008)
139. Пат. 356317 Европа; *Chem. Abstr.*, **113**, 58504k (1990)
140. B.Freedman, R.Butterfield, E.Pryde. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **63**, 1375 (1986)
141. Y.Wang, S.Ou, P.Liu, Z.Zhang. *Energy Conv. Manag.*, **48**, 184 (2007)
142. S.K.Karmee, A.Chadha. *Bioresource Technol.*, **96**, 1425 (2005)
143. F.Xue, X.Zhang, H.Luo, T.Tan. *Process Biochem.*, **41**, 1699 (2006)
144. J.Ji, J.Wang, Y.Li, Y.Yu, Z.Xu. *Ultrasonics*, **44**, 411 (2006)
145. R.Sarin, M.Sharma, S.Sinharay, R.K.Malhotra. *Fuel*, **86**, 1365 (2007)
146. N.S.Kitakawa, H.Honda, H.Kuribayashi, T.Toda, T.Fukumura, T.Yonemoto. *Bioresource Technol.*, **98**, 416 (2007)
147. D.Y.C.Leung, Y.Guo. *Fuel Process Technol.*, **87**, 883 (2006)
148. N.Ellis, F.Guan, T.Chen, C.Poon. *Chem. Eng. J.*, **138**, 200 (2008)
149. M.L.Granados, M.D.Z.Poves, D.M.Alonso, R.Mariscal, F.C.Galisteo, R.Moreno-Tost, J.Santamaria, J.L.G.Fierro. *Appl. Catal., B*, **73**, 317 (2007)
150. T.F.Dossin, M.F.Reyniers, R.J.Berger, G.B.Marin. *Appl. Catal., B*, **67**, 136, (2006)
151. U.Meyer, W.F.Hoelderich. *Appl. Catal., A*, **178**, 159 (1999)
152. A.Corma, S.Iborra, S.Miquel, J.Primo. *J. Catal.*, **173**, 315 (1998)
153. S.Grylewicz. *Appl. Catal., A*, **192**, 23 (2000)
154. H.Hattori, M.Shima, H.Kabashima. *Stud. Surf. Sci. Catal.*, **130**, 3507 (2000)
155. M.DiSerio, R.Tesser, A.Ferrara, E.Santacesaria. *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **212**, 251 (2004)
156. D.Kusdiana, S.Saka. *Fuel*, **80**, 693 (2001)
157. J.M.Marchetti, V.U.Miguel, A.F.Errazu. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, **11**, 1300 (2007)
158. H.Nouredini, D.Zhu. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **74**, 1375 (1997)

159. D.Darnoko, M.Cheryan. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **77**, 1263 (2000)
160. G.Madras, C.Kolluru, R.Kumar. *Fuel*, **83**, 2029 (2004)
161. F.Ma, M.A.Hanna. *Bioresource Technol.*, **70**, 1 (1999)
162. D.Wen, H.Jiang, K.Zhang. *Prog. Nat. Sci.*, **19**, 273 (2009)
163. L.A.Nelson, T.A.T.A.Folgia, W.N.Marmer. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **73**, 1191 (1996)
164. Y.Shimada, Y.Watanabe, A.Sugihara, Y.Tominaga. *J. Mol. Catal., B*, **17**, 133 (2003)
165. W.Du, W.Li, T.Sun, X.Chen, D.Liu. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **79**, 331 (2008)
166. Y.Watanabe, Y.Shimada, A.Sugihara, H.Noda, H.Fukuda. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **77**, 355 (2000)
167. H.Zeng, K.Liao, X.Deng, H.Jiang, F.Zhang. *Process Biochem.*, **44**, 791 (2009)
168. H.Noureddini, X.Gao, R.S.Philkana. *Bioresource Technol.*, **96**, 769 (2005)
169. A.B.R.Moreira, V.H.Perez, G.M.Zanin, H.F.de Castro. *Energy Fuels*, **21**, 3689 (2007)
170. S.K.Chauhan, S.Gangopadhyay, N.Singh. *Environ. Chem. Lett.*, **7**, 289 (2009)
171. X.Zhang, C.Peterson, D.Reece, G.Moller, R.Haws. *Trans. Am. Soc. Agric. Eng.*, **41**, 1423 (1998)
172. R.Boopathy. *Bioresource Technol.*, **94**, 143 (2004)
173. S.Mukherji, S.Jagadevan, G.Mohopatra, A.Vijay. *Bioresource Technol.*, **95**, 281 (2004)
174. W.W.Mohn, C.Z.Radziminski, M.C.Fortin, K.J.Reimer. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **57**, 242 (2001)
175. M.Stumborg, D.Soveran, W.Craig, W.Robinson, K.Ha. In *Energy from Biomass and Wastes. Vol. 16.* (Ed. D.L.Klass). Institute of Gas Technology, Chicago, IL, 1993. P. 721
176. A.Wong, Y.Feng. In *Proceedings of the Second Biomass Conference of the Americas Energy, Environment, Agriculture, and Industry*. National Renewable Energy Laboratory, Golden, CO, 1995. P. 902
177. S.Lestary, I.Simakova, A.Tokarev, P.Mäki-Arvela, K.Eränen, D.Y.Murzin. *Catal. Lett.*, **122**, 247 (2008)
178. Y.Chisti. *J. Ramsay Soc.*, **27–28**, 24 (1980–1981)
179. N.Nagle, P.Lemke. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **11**, 278 (1990)
180. S.Sawayama, S.Inoue, Y.Dote, S.-Y.Yokoyama. *Energy Convers. Manag.*, **36**, 729–731 (1995)
181. B.Metting, J.W.Pyne. *Enzyme Microb. Technol.*, **8**, 386 (1986)
182. R.E.Schwartz. *J. Ind. Microbiol.*, **5**, 113 (1990)
183. R.A.Kay, L.L.Barton. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **30**, 555 (1991)
184. Y.Shimizu. *Annu. Rev. Microbiol.*, **50**, 431 (1996)
185. M.A.Borowitzka. In *Chemicals from Microalgae*. (Ed. Z.Cohen). Taylor and Francis; London, 1999. P. 313
186. M.L.Ghirardi, J.P.Zhang, J.W.Lee, T.Flynn, M.Seibert, E.Greenbaum, A.Melis. *Trends Biotechnol.*, **18**, 506 (2000)
187. I.Akkerman, M.Janssen, J.Rocha, R.H.Wijffels. *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**, 1195 (2002)
188. A.Melis. *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**, 1217 (2002)
189. R.T.Lorenz, G.R.Cysewski. *Trends Biotechnol.*, **18**, 160 (2003)
190. P.Spolaore, C.Joannis-Cassan, E.Duran, A.Isambert. *J. Biosci. Bioeng.*, **101**, 87 (2006)
191. T.L.Walter, S.Purton, D.K.Becker, C.Collet. *Plant Cell Rep.*, **24**, 629 (2005)
192. G.C.Dismukes, D.Carrieri, N.Bennette, G.M.Ananyev, M.C.Posewitz. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **19**, 235 (2008)
193. B.Wang, L.Yanqun, W.Nan, Q.C.Lan. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **79**, 707 (2008)
194. С.Д.Варфоломеев, Д.Я.Медман, Е.Е.Пинчукова, Ч.Д.Тоай. *Докл. АН*, **284**, 1275 (1985)
195. I.K.Kapdan, F.Kargi. *Enzyme Microb. Technol.*, **38**, 569 (2006)
196. A.S.Fedorov, S.Kosourov, M.L.Ghirardi, M.Seibert. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **121–124**, 403 (2005)
197. P.G.Roessler, L.M.Brown, T.G.Dunahay, D.A.Heacox, E.E.Jarvis, J.C.Schneider, S.G.Talbot, K.G.Zeiler. *ACS Symp. Ser.*, **566**, 255 (1994)
198. T.G.Dunahay, E.E.Jarvis, S.S.Dais, P.G.Roessler. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **57–58**, 223 (1996)
199. J.Sheehan, T.Dunahay, J.Benemann, P.Roessler. *National Renewable Energy Laboratory*. Golden, CO, 1998. Report NREL/TP-580-24190
200. M.Gavrilescu, Y.Chisti. *Biotechnol. Adv.*, **23**, 471 (2005)
201. A.B.M.S.Hossain, A.Salleh, A.N.Boyce, P.Chowdhury, M.Naqiuddin. *Am. J. Biochem. Biotechnol.*, **4**, 250 (2008)
202. P.M.Schenk, S.R.Thomas-Hall, E.Stephens, U.C.Marx, J.H.Mussnug, C.Posten, O.Kruse, B.Hankamer. *BioEnergy Res.*, **1**, 20 (2008)
203. J.N.Rosenberg, G.A.Oyler, I.Wilkinson, M.J.Betenbaugh. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **19**, 430 (2008)
204. Y.Chisti. *Biotechnol. Adv.*, **25**, 29406 (2007)
205. C.Ratledge. *Trends Biotechnol.*, **11**, 278. (1993)
206. C.Ratledge, J.P.Wynn. *Adv. Appl. Microbiol.*, **51**, 1 (2002)
207. Q.Li, W.Du, D.Liu. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **80**, 749 (2008)
208. K.L.Terry, L.P.Raymond. *Enzyme Microb. Technol.*, **7**, 474 (1985)
209. E.Molina-Grima, F.G.A.Fernández, F.García-Camacho, Y.Chisti. *J. Biotechnol.*, **70**, 231 (1999)
210. M.R.Tredici. In *Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis and Bioseparation*. (Eds M.C.Flickinger, S.W.Drew). Wiley, New York, 1999. P. 395
211. A.S.Mirón, A.Contreras-Gómez, F.García-Camacho, E.Molina-Grima, Y.Chisti. *J. Biotechnol.*, **70**, 249 (1999)
212. B.Sialve, N.Bernet, O.Bernad. *Biotechnol. Adv.*, **27**, 409 (2009)
213. S.S.Yazdani, R.Gonzalez. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **18**, 213 (2007)
214. E.H.Belarbi, E.Molina-Grima, Y.Chisti. *Enzyme Microb. Technol.*, **26**, 516 (2000)
215. G.Knoth. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **83**, 823–833 (2006)
216. E.S.Jang, M.Y.Jung, D.B.Min. *Comp. Rev. Food Sci. Saf.*, **4**, 22 (2005)
217. A.J.Dijkstra. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **108**, 249 (2006)
218. D.Dasa, T.N.Veziroglu. *Int. J. Hydrogen Energy*, **33**, 6046 (2008)
219. A.A.Цыганков. *Рос. хим. журн.*, **50** (6), 26 (2006)
220. J.R.Benemann. *J. Appl. Phycology*, **12**, 291 (2000)
221. T.V.Laurinavichene, A.S.Fedorov, M.L.Ghirardi, M.Seibert, A.A.Tsygankov. *Int. J. Hydrogen Energy*, **31**, 659 (2006)
222. K.Miyamoto, S.Matsuoka, Y.Miura, N.Negoro. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **34–35**, 459 (1992)
223. K.Aoyama, I.Uemura, J.Miyake, Y.Asada. In *BioHydrogen*. (Ed. O.R.Zaborsky). Plenum, New York, 1998. P. 305
224. S.Kumazawa. *Mar. Biotechnol.*, **5**, 222 (2003)
225. V.Shah, N.Garg, D.Madamwar. *Folia Microbiol.*, **48**, 65 (2003)
226. Y.Ikuta, T.Akano, N.Shioji, I.Maeda. In *BioHydrogen*. (Ed. O.R.Zaborsky). Plenum, New York, 1998. P. 319
227. A.Melis, M.R.Melnicki. *Int. J. Hydrogen Energy*, **31**, 1563 (2006)
228. H.Fang, H.Zhu, T.Zhang. *Int. J. Hydrogen Energy*, **31**, 2223 (2006)
229. M.J.Barbosa, J.M.S.Rocha, J.Tramper, R.H.Wijffels. *J. Biotechnol.*, **85**, 25 (2001)
230. J.Wang, W.Wan. *Int. J. Hydrogen Energy*, **34**, 799 (2009)
231. R.Islam, N.Cicek, R.Sparling, D.Levin. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **72**, 576 (2006)
232. M.Ferchichi, E.Crabbe, W.Hintz, G.Gil, A.Almadidy. *World J. Microb. Biotechnol.*, **21**, 855 (2005)
233. W.M.Alalayah, M.S.Kalil, A.A.H.Kadhun, J.M.Jahim, N.MAlauj. *Int. J. Hydrogen Energy*, **33**, 7392 (2008)
234. C.Pan, Y.Fan, P.Zhao, H.Hou. *Int. J. Hydrogen Energy*, **33**, 5383 (2008)
235. J.Chang, C.Chou, C.Ho, W.Chen, J.Lay, C.Huang. *Int. J. Hydrogen Energy*, **33**, 5137 (2008)
236. S.Ust'aka, B.Havrland, J.Munoz, E.Fernandez, J.Lachman. *Int. J. Hydrogen Energy*, **32**, 1736 (2007)
237. M.Kim, J.Baek, Y.Yun, S.Sim, S.Park, S.Kim. *Int. J. Hydrogen Energy*, **31**, 812 (2006)

238. H.Kayano, T.Matsunaga, I.Karube, S.Suzuki. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **638**, 80 (1981)
239. C.Chen, M.Yang, K.Yeh, C.Liu, J.Chang. *Int. J. Hydrogen Energy*, **33**, 4755 (2008)
240. C.L.Li, H.H.P.Fang. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, **37**, 1 (2007)
241. D.Liu, D.P.Liu, R.J.Zeng, I.Angelidaki. *Water Res.*, **40**, 2230 (2006)
242. X.Gomez, A.Moran, M.J.Cuetos, M.E.Sanchez. *J. Power Sources*, **157**, 727 (2006)
243. С.Д.Варфоломеев. *The Chem. J.*, (8), 36 (2009)
244. Пат. 2365617 РФ; *Бюл. изобрет.*, (24), 605 (2009)
245. P.R.O.van Vliet, A.P.C.Faaij, W.C.Turkenburg. *Energy Convers. Manag.*, **50**, 855 (2009)
246. А.Лысого, В.Сердюк. *Современная АЭС*, (1), 76 (2007)
247. D.Antoni, V.V.Zverlov, W.H.Schwarz. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **77**, 23 (2007)
248. N.H.Tran, J.R.Bartlett, G.S.K.Kannangara, A.S.Milev, H.Volk, M.A.Wilson. *Fuel*, **89**, 265 (2010)
249. E.I.Rainina, M.A.Pusheva, A.M.Ryabokon, N.P.Bolotina, V.I.Loizinsky, S.D.Varfolomeyev. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, **19**, 321 (1994)
250. М.В.Кевбрина, А.М.Рябоконе, М.А.Пушева. *Микробиология*, **6**, 753 (1996)
251. A.M.Henstra, J.Sipma, A.Rinzema, A.J.M.Stams. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **18**, 200 (2007)
252. S.Wang, M.Fang, C.Yu, Z.Luo, K.Cen. *Chin. Particuology*, **3**, 136 (2005)
253. X.Miao, Q.Wu. *J. Biotechnol.*, **110**, 85 (2004)
254. R.Kalscheuer, T.Stölting, A.Steinbüchel. *Microbiology*, **152**, 2529 (2006)
255. D.O'Connell. *Nat. Rev. Microbiol.*, **4**, 723 (2006)
256. М.В.Цодиков, В.Я.Кугель, Ф.А.Яндиева, Г.А.Клигер, Л.С.Глебов, А.И.Микая, В.Г.Заикин, Е.В.Сливинский, Н.А.Платэ, А.Е.Гехман, И.И.Моисеев. *Кинетика и катализ*, **45**, 904 (2004)
257. I.M.Gerzeliev, M.V.Tsodikov, S.N.Khadzhiev. *Pet. Chem.*, **49**, 1 (2009)
258. G.Y.Jung, J.R.Kim, J.-Y.Park, S.Park. *Int. J. Hydrogen Energy*, **27**, 601 (2002)
259. K.S.K.Ismail, G.Najafpour, H.Younesi, A.R.Mohamed, A.H.Kamaruddin. *Biochem. Eng. J.*, **39**, 468 (2008)
260. L.Bhatnagar, J.A.Krzycki, J.G.Zeikus. *FEMS Microbiol. Lett.*, **41**, 337 (1987)

BIOFUELS

S.D.Varfolomeev, E.N.Efremenko, L.P.Krylova

*N.M.Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences
4, Prosp. Kosygina, 119334 Moscow, Russian Federation, Fax +7(499)137-4101
Department of Chemistry, M.V.Lomonosov Moscow State University
Leninskie Gory, 119991 Moscow, Russian Federation, Fax +7(495)939-3589*

The principal types of biofuels that can be obtained from biorenewable energy sources are analyzed. As these sources, various sorts of biomass, which is accumulated upon photosynthetic conversion of solar energy, are considered. A typical feature of biofuel production is combination of chemical and biotechnological approaches.

Bibliography — 260 references.

Received 22nd January 2010