

# АНАЛІЗ ЕФЕКТИВНОСТІ ТЕХНОЛОГІЙ ОБРОБКИ БІОМАСИ МІКРОВОДОРОСТЕЙ ДЛЯ ОТРИМАННЯ БІОПАЛИВНИХ СПИРТІВ

Козачок Н.В., Зубченко Л.С., Журомський Є.О.

КПІ ім. Ігоря Сікорського, kozachok.nazarii@iill.kpi.ua

## Abstract

*This article examines the diverse methodologies for preparing microalgae biomass for bioethanol production, delving into the comparative effectiveness of various pre-treatment strategies. It discusses the impact of physical, chemical, and enzymatic processes on enhancing the availability of fermentable sugars necessary for ethanol fermentation, highlighting the potential of microalgae as a sustainable biofuel source.*

**Keywords:** *bioethanol, microalgae, enzymatic hydrolysis, chemical hydrolysis, renewable energy.*

**Вступ.** Людство стикається з вичерпанням викопних ресурсів, що стимулює розробку альтернативних джерел палива, зокрема біопалива. Особливу увагу приділяють мікроводоростям як сировині для третього та четвертого поколінь біопалива, включаючи генетичні модифікації для підвищення їхньої ефективності. Мікроводорості, здатні накопичувати жири, використовуються для виробництва біодизелю, тоді як їхній залишок після екстракції жирів може бути перероблений у спирти.

Також водорості можуть бути вирощені спеціально як сировина для виробництва спиртів. У такому разі акцент зміщується на накопичення біомаси та синтез вуглеводів. У будь-якому випадку, в разі використання водоростей для отримання спиртів, мова йде про роботу з целюлозною сировиною.

Мікроводорості мають хімічну структуру клітинної стінки, що сильно відрізняється від структури наземних рослин. Також мікроводорості варіюють свій хімічний склад між групами. Наземні рослини мають у складі целюлозу 33-51%, геміцелюлозу 19-34% та лігнін 21-32%. Зелені водорості мають целюлозу 10-30%, ульвану 8-29% і крохмаль 1-10%. Більшість з компонентів водоростей може бути трансформована дріжджами, але спершу необхідно розірвати ланцюги полімерів, що унеможливають це. Найбільш дослідженими як сировина для виробництва біоспиртів є зелені водорості, зокрема *Chlorella* та *Ulva* [1].

Важливим етапом такого технологічного процесу є забезпечення доступності цукрів для дріжджових ферментних систем. Дріжджі не здатні розщеплювати целюлозу, тому її гідроліз є основною задачею на етапі підготовки сировини до зброджування [2].

Мета роботи полягала у виконанні огляду існуючих методів підготовки біомаси мікроводоростей для отримання біопаливних спиртів.

**Матеріали та методи.** Для проведення літературного аналізу та створення ревію використовували дані наукової літератури і досліджень, що стосуються методів підготовки біомаси мікроводоростей для отримання біопаливних спиртів.

**Результати та обговорення.** Методи підготовки сировини зелених водоростей можна розділити на хімічні, фізичні та ферментативні. Фізичні методи є етапом підготовки до гідролізу і рідко використовуються окремо. Вони

включають механічне подрібнення біомаси, що сприяє підвищенню доступності цукрів у клітинних структурах під час гідролізу. Ультразвук створює кавітаційні бульбашки, що вибухають і руйнують клітинні стінки. За даними досліджень цей метод є дуже ефективним та збільшує вміст вільних цукрів у сировині мікроводоростей з 3 до 32% [3]. Мікрохвилі генерують внутрішній нагрів, що також приводить до руйнування полісахаридів. Таким способом вдалось збільшити вміст вільних цукрів у вихідній сировині на 0,127 г/л, але цей метод досліджувався тільки у комбінації з кислотним гідролізом 0,4 н  $H_2SO_4$ . Таким чином, вдалось досягти ефективності гідролізу 30,4% [4].  $\gamma$ -випромінювання 500 кГр збільшувало кількість вільних цукрів у сировині 0,017-0,048 г/дм<sup>3</sup> (182% від початкової) [5]. До цієї категорії також можна віднести гідротермічну обробку яка використовує тепло та тиск для полегшення доступу ферментів до цукрів. Підготовка гарячою парою збільшувала кількість цукрів на 19%, також за такої технології підготовки сировини до зброджування не утворюються побічні продукти, що могли б бути шкідливими дріжджам. У комбінації з ферментами *T. asperellum* за 30°C на 21 добу вихід цукрів сягав 80% від сухої маси [2].

Хімічні методи включають застосування кислот або лугів для розщеплення складних біополімерів на більш прості сполуки, придатні до ферментації. Кислотним гідролізом 7,5%  $H_2SO_4$  вдалось досягти виходу цукрів до 50% від загальної маси сухої речовини [2]. Проблемою цього методу є можливе утворення побічних сполук, таких як гідроксиацетон, 2,5-диметил-4-гідрокси-3(2H)-фуранон і 2-гідрокси-3-метил-2-циклопентен-1-он, які в результаті зменшують ефективність подальшої ферментації. У дослідженні [2] сировина, що піддавалась ферментативному гідролізу, мала вихід етанолу 0,72-0,78 см<sup>3</sup>/г, а з кислотним гідролізом – 0,46-0,49 см<sup>3</sup>/г.

Ферментативні методи полягають у використанні специфічних ферментів, які каталізують розщеплення полісахаридів на прості цукри. Цей метод є дорожчим, але не має побічних продуктів. Ефективність методу є меншою за кислотно-лужний гідроліз, і цей метод використовується на останніх стадіях підготовки сировини. У разі використання його на початкових стадіях значно збільшувався час реакції [2]. Ефективність оцукрювання ензимами сильно варіюється (40-100%). Наприклад, у разі гідролізу шроту після екстракції олій, але без додаткової обробки іншими методами, а лише ферментами *B. licheniformis*, *A. niger* – ефективність була 43-77% [6].

У разі використання комбінованих методів ефективність гідролізу може досягати 100% від вмісту всіх вуглеводів. Це досягається за умов складного температурного режиму та рН. Для досягнення таких результатів використовували також цикли заморозки для руйнування клітинних стінок [6]. У комбінації з кислотно-лужним гідролізом 3%  $H_2SO_4$  у разі нагрівання до 95°C після обробки комерційними целюлазами вдалось досягти виходу продукту до 60,9% від сухої маси для зелених водоростей [2].

У таблиці 1 наведено ефективність методів підготовки сировини.

**Таблиця 1. Ефективність методів підготовки біомаси мікробіодоростей для отримання етанолу.**

<b>Метод</b>	<b>Умови</b>	<b>Ефективність оцукрювання</b>
Ультразвук	15 хв	32%
Мікрохвилі	150°C, оброблення СВЧ, 0,4 н H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 5 хв	30,4%
Кислотний гідроліз	7,5% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 100°C	50%
Гідротермічна обробка	pH 5,5, 0,15 МПа, 120°C, 15 хв	19%
Гідротермічна обробка + ферменти	30°C, 21 доба	80%
Подрібнення + ферменти	45°C, pH 5,5	77%
Цикли заморозки та ферменти	3 год, 37°C; 85°C, 1,5 год; 60°C, 30 хв; 60°C, pH 5,5, 48 год	100%
Кислотно-лужний гідроліз + ферменти	3% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 95°C, 1 год	60,9%

**Висновки.** Мікробіодорості, як потенційна сировина для виробництва біоетанолу, потребують ефективних методів підготовки для перетворення їх складових на більш доступні прості цукри. Фізичні методи, такі як ультразвукове та мікрохвильове оброблення, можуть бути першими етапами обробки або виступати допоміжними факторами під час основного процесу підготовки біомаси. Гідроліз розбавленими кислотами дає змогу досягти до 50% від теоретичного виходу цукрів, хоча й може призводити до утворення інгібуючих сполук. Натомість, ферментативні методи, хоч і менш економічні та часово неефективні, ніж хімічні, пропонують альтернативу без побічних продуктів, із можливістю досягнення 100% ефективності оцукрювання біомаси за оптимальних умов.

### **Список використаної літератури:**

1. Algae: The Reservoir of Bioethanol / T. Chandrasekhar et al. *Fermentation*. 2023. Vol. 9, no. 8. P. 712. URL: <https://doi.org/10.3390/fermentation9080712> (date of access: 24.04.2024).
2. Exploring the Prospects of Fermenting/Co-Fermenting Marine Biomass for Enhanced Bioethanol Production / M. E. H. Osman et al. *Fermentation*. 2023. Vol. 9, no. 11. P. 934. URL: <https://doi.org/10.3390/fermentation9110934> (date of access: 24.04.2024).
3. Ultrasonic disintegration of microalgal biomass and consequent improvement of bioaccessibility/bioavailability in microbial fermentation / B.-H. Jeon et al. *Biotechnology for Biofuels*. 2013. Vol. 6, no. 1. P. 37. URL: <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-37> (date of access: 24.04.2024).
4. Yuan Y., Macquarrie D. J. Microwave Assisted Acid Hydrolysis of Brown Seaweed *Ascophyllum nodosum* for Bioethanol Production and Characterization of Alga Residue. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 2015. Vol. 3, no. 7. P. 1359–1365. URL: <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.5b00094> (date of access: 24.04.2024).
5. Improvement of saccharification process for bioethanol production from *Undaria* sp. by gamma irradiation / M. Yoon et al. *Radiation Physics and Chemistry*. 2012. Vol. 81, no. 8. P. 999–1002. URL: <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2011.11.035> (date of access: 24.04.2024).
6. Efficient saccharification of microalgal biomass by *Trichoderma harzianum* enzymes for the production of ethanol / A. N. Bader et al. *Algal Research*. 2020. Vol. 48. P. 101926. URL: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101926> (date of access: 24.04.2024).