

## БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ПРОИЗВОДСТВЕ МОНОМЕРОВ



В.И. Будников,  
кандидат технических наук,  
старший научный сотрудник,  
Институт технической химии  
УрО РАН

В 80-х годах XX века в мировой науке произошел всплеск исследований по биотехнологии. Этому способствовали возникновение генной и клеточной инженерии, новые методологические и методические подходы, позволившие перейти к эффективному их использованию в науке и практике, и возникла реальная возможность извлечь из этого максимальный экономический эффект. Появились новые биотехнологические процессы и продукты различного назначения. По прогнозам специалистов, к 2020 году объем биотехнологической продукции будет составлять четверть всей мировой продукции.

Следует отметить, что биотехнология стала первым направлением, которое Организация объединенных наций официально признала технологией XXI века.

*Биотехнология* – это технологические процессы с использованием биологических систем для получения ценных продуктов и осуществления целевых превращений. Биологические агенты в данном случае – микроорганизмы, растительные и животные клетки, клеточные компоненты: мембраны клеток, рибосомы, митохондрии, хлоропласты, биологические макромолекулы (ДНК, РНК, белки – чаще всего ферменты). Биотехнология использует также вирусную ДНК или РНК для переноса чужеродных генов в клетки.

Человечество применяет биотехнологические процессы многие тысячи лет – в виноделии, пивоварении, хлебопечении и изготовлении молочнокислых продуктов. Сегодня биотехнологические процессы

используются в различных областях промышленности, в сельском хозяйстве, при производстве широкого спектра товаров и услуг. В настоящее время с помощью биотехнологии для медицины и фармацевтики производятся различные антибиотики, иммунобиологические препараты, генно-инженерные лечебно-профилактические препараты, для клинических исследований диагностические средства, витамины, биосовместимые материалы. Ферментные препараты находят широкое применение в производстве этилового спирта, пива, стиральных порошков, а также в текстильной и кожевенной промышленности. Особая роль принадлежит биотехнологии в сельском хозяйстве. Кроме давно существующих крупнотоннажных производств кормового белка (в настоящее время эти производства закрыты) и лизина, биологических средств защиты растений, в последние десятилетия появилось большое количе-

ство трансгенных растений (соя, кукуруза, рапс, картофель и др.). Несмотря на спорное мнение о безопасности их применения, в настоящее время более трети мирового производства сои приходится на генетически модифицированные сорта. Также появляются и трансгенные животные.

Биотехнологические процессы широко применяются для очистки сточных вод, газовых выбросов заводов и фабрик, ремедиации почв и утилизации промышленных и бытовых отходов, для повышения нефтеотдачи пластов при их истощении.

В последнее десятилетие значительное развитие получило использование микроорганизмов и их ферментов для получения химических соединений, в том числе и крупнотоннажных – для полимерных материалов. Из всего многообразия мономеров наиболее привлекательны как объекты для биотехнологии два типа — акриловые мономеры (акриламид и соли акриловой кислоты являются основой для получения полимерных материалов, имеющих широкое применение в самых разных областях народного хозяйства: подготовка питьевой воды и очистка промышленных стоков, нефтегазовая, горнорудная и строительная отрасли, целлюлозно-бумажная и текстильная промышленности, фармакология, медицина и др.) и молочная кислота (оксикислота, являющаяся основой для создания биоразлагаемых полимеров). Именно применение биокаталитических систем для получения акриловых мономеров и молочной кислоты могло бы повысить качество получаемой продукции, а также обеспечить разработку эффективных и конкурентоспособных технологий. Несмотря на постоянное совершенствование традиционных химических технологий, по экологическим и экономическим параметрам они явно уступают технологиям, основанным на биокаталитических процессах. Следует отметить, что потребление мировой промышленностью акриловых мономеров в последние десятилетия возрастает на 3–5 % ежегодно, а спрос на полимеры молочной кислоты

сдерживается отсутствием ее производства.

Первая промышленная биотехнологическая установка производительностью 4000 м<sup>3</sup> 20% раствора акриламида была создана японской фирмой Nitto Chemical Industry. В России первая промышленная установка получения 6-12% растворов акриламида была разработана ГУП «Саратовский НИИ биокатализа». Сегодня такие производства, кроме Японии и России, существуют в Корее и Китае, планируется строительство заводов в Европе. В настоящее время в России биотехнологическим способом промышленно получают также акрилат аммония (полупродукт для получения акрилата натрия). Первое крупнотоннажное производство молочной кислоты было введено в эксплуатацию в США в 2001 году.

Кратко рассмотрим, что представляют собой биотехнологические процессы на примере получения высококонцентрированных водных растворов акриламида. Технология получения акрилата аммония в общих чертах аналогична получению акриламида.

Биотехнологический способ производства акриламида включает в себя по сути два процесса – получение биокатализатора и собственно растворов амида акриловой кислоты.

Определяющим фактором эффективности биокатализатора и всего процесса синтеза мономеров является селекция микроорганизмов, обладающих высокой каталитической активностью. В России селекцией подобных микроорганизмов наиболее успешно занимаются в Государственном НИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов (Москва), ЗАО «Биоамид» (Саратов) и Институте экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН (Пермь). В результате многолетней селекционной работы на основе природных бактерий, утилизирующих нитрилы, получено большое количество штаммов-продуцентов нитрилгидратазы. Конверсия нитрильных соединений до метаболитов основного обмена изучена у ряда штаммов бактерий рода *Rhodococcus* (*Rhodococcus* sp. R312, N-771,

*R. rhodochrous* J1, M8, M33, *R. ruber* GT1), а также у представителей родов *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Acidovorax*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*. Промышленно значимыми отличительными факторами являются термостабильность, устойчивость к высоким концентрациям акриламида, активность нитрилгидратазы и наличие амидазы. Сегодня предъявляются следующие требования к штаммам микроорганизмов: термостабильность – 30–35°C (при более высоких температурах возможна самопроизвольная полимеризация акриламида), выход акриламида до 50 %, удельная активность – 200 ед. и практическое отсутствие амидазы.

Данным требованиям удовлетворяют промышленно-значимые штаммы *Rhodococcus rhodochrous* J1, *Rhodococcus rhodochrous* M8, *Rhodococcus rhodochrous* M33, *Rhodococcus ruber* gt1, *Rhodococcus erythropolis* E84.

В настоящее время биомасса бактерии *Alcaligenes denitrificans* C-32, продуцента фермента нитрилазы, используется в качестве биокатализатора для промышленного синтеза акрилата аммония. Однако по удельной каталитической активности, выраженной в эквивалентных единицах, известные продуценты нитрилаз на порядок уступают бактериям-продуцентам

нитрилгидратаз. Перспективным путем повышения нитрилазной активности является генная инженерия и клонирование в составе мультикопийных плазмид.

Биокатализатор представляет собой концентрированную биомассу, выращенную глубинным способом при аэрации в ферментере полного перемешивания и выделенную путем флокуляции и осаждения.

Процесс состоит из следующих основных стадий: приготовление и стерилизация растворов и питательных сред; подготовка и стерилизация оборудования; получение инокулята (посевого материала для основного ферментера); ферментация; осаждение и отмывка активных клеток; утилизация отходов (при масштабировании процесса).

Принципиальная технологическая схема приведена на рис. 1.

Биокаталитические процессы получения собственно растворов амидов и солей акриловой кислоты отличаются простотой аппаратного оформления (стандартное емкостное и фильтрующее оборудование), малой энергоемкостью (температура синтеза – 20–30°C) и малоотходностью (жидкие отходы и сточные воды практически отсутствуют). Количество газовых выбросов на одну тонну готового продукта при биотехнологическом

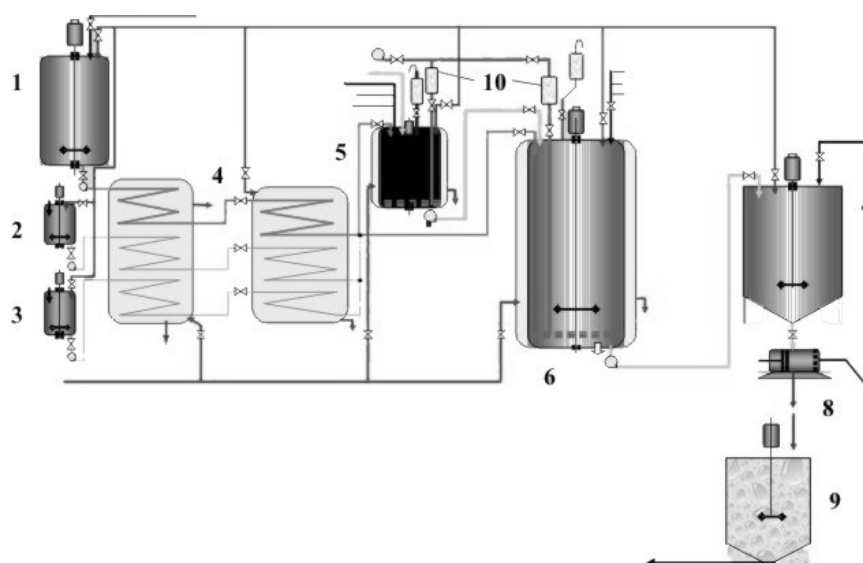


Рис.1. Принципиальная схема получения биокатализатора:

1 – реактор для приготовления питательной среды; 2 – реактор для приготовления раствора глюкозы; 3 – реактор для приготовления раствора металлов; 4 – бесконтактная установка проточной стерилизации; 5 – инокулятор; 6 – ферментер; 7 – емкость для осаждения биомассы; 8 – фильтр-пресс; 9 – емкость для иммобилизации бактерий; 10 – фильтры воздуха

способе в 70 раз меньше, чем при использовании наиболее совершенного гетерогенно-каталитического способа получения акриламида на медьсодержащих катализаторах. Твердых отходов при биотехнологическом способе в три раза меньше, но и они легко могут быть утилизированы.

Биотехнологические процессы получения высококонцентрированных растворов акриламида (20–50%) включают стадии подготовки биокатализатора, умягченной воды, дозирование акрилонитрила и очистку получаемых растворов от шлама отработанной биомассы. Основными отличительными особенностями известных процессов являются используемые штаммы микроорганизмов, способы дозировки акрилонитрила в реакционную среду и способы внесения биокатализатора.

При выборе способа дозирования акрилонитрила основным определяющим фактором является ингибирование ферментативной активности как субстратом, так и продуктом. Оптимальным является дозирование, при котором концентрация акрилонитрила в реакционной смеси не превышает 0,1 %. В промышленных способах дозирование акрилонитрила осуществляется при получении высококонцентрированных растворов периодическим или непрерывным способом.

Преимуществом периодического способа дозирования является простота его технического оформления, недостатком – увеличенный расход биокатализатора. Преимущество непрерывного способа – расход биокатализатора приближается к оптимальному, недостаток – сложная система дозирования. Для более широкого внедрения в промышленность непрерывной дозировки требуется разработка простого и надежного способа определения акрилонитрила в реакционной среде.

Биокатализаторы могут использоваться в иммобилизованной или свободной форме. Иммобилизация биокатализатора дает возможность создания непрерывной технологии получения акриламида, увеличивает устойчивость фермента к тем-

пературе, pH и ингибирующему действию акрилонитрила и акриламида. В России используется свободносуспендированная форма биокатализатора, что объясняется простотой его подготовки и возможностью использования в процессе синтеза стандартного химического оборудования.

Синтез акриламида ведется при температуре 19–27°C и pH 7,0–7,5. Время синтеза в зависимости от конечной концентрации акриламида (до 50 %) составляет от 4 до 7 часов.

Принципиальная технологическая схема приведена на рис.2.

Получаемые растворы акриламида содержат суспензию отработанного биокатализатора. Фильтрацию проводят с предварительной обработкой растворов акриламида коагулянтом, флокулянтом и вспомогательными фильтрующими веществами на основе диоксида кремния. Фильтрация может осуществляться периодическим или непрерывным способом на фильтрах различной конструкции. Существуют способы очистки растворов от шлама с помощью центрифуг и сепараторов, в том числе и саморазгружающихся. При всех существующих способах образующийся шлам биокатализатора разбавляют в большом количестве воды и сбрасывают в промышленные стоки. Все промывные воды, образующиеся после фильтрации растворов акриламида и на всех стадиях после чистки оборудования, возвращаются на стадию синтеза. Это повышает экологическую и экономическую эффективность технологического процесса.

Однако и в биотехнологических процессах существуют отходы, подлежащие обезвреживанию. Так, при получении акриламида это газовые выбросы со стадий подготовки сырья и синтеза акриламида, содержащие пары акрилонитрила. Требуется утилизация отработанной бактериальной массы, образующейся при очистке растворов акриламида.

Для обезвреживания газовых выбросов разработаны абсорбционно-биотехнологический способ обезвреживания газовых выбросов, содержащих па-

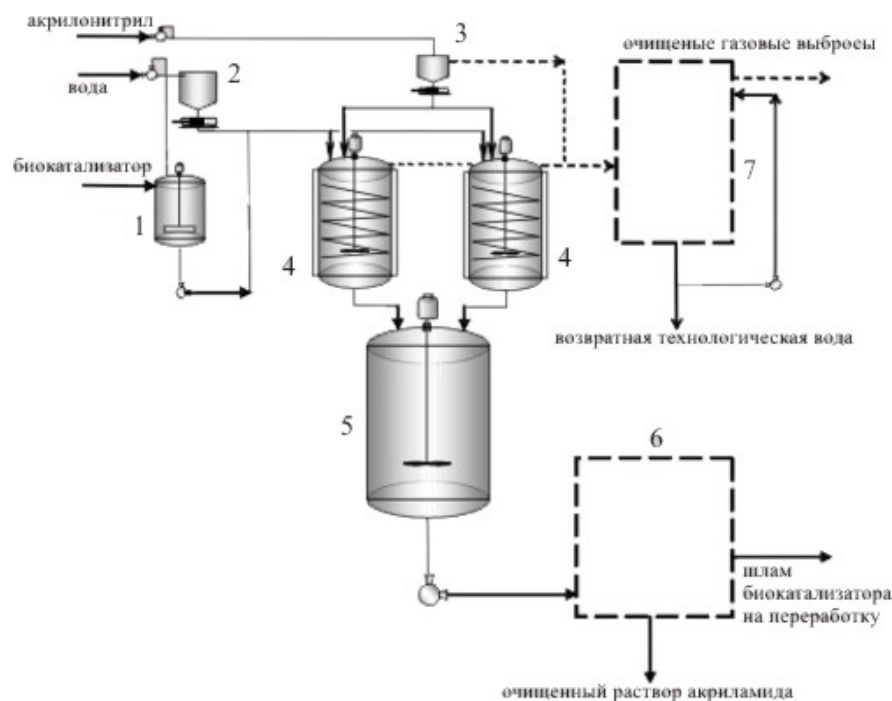


Рис. 2. Принципиальная технологическая схема получения высококонцентрированных растворов акриламида:

- 1 – реактор для приготовления суспензии катализатора; 2 – мерник воды;  
 3 – мерник НАК (нитрила акриловой кислоты); 4 – реакторы синтеза водных растворов акриламида; 5 – реактор-усреднитель; 6 – система очистки растворов акриламида; 7 – система очистки газовых выбросов производства акриламида

ры акрилонитрила, и термokatалитический способ сжигания паров акрилонитрила с использованием каталитических элементов на основе высокопористых ячеистых материалов с платино-родиевыми или перовскитными катализаторами.

Для утилизации шлама биокатализатора разработан способ его полимеризации с получением наполненного влагоудерживающего материала для использования в сельском хозяйстве и озеленении городских скверов и парков.

Абсорбционно-биотехнологический способ основан на двухступенчатом поглощении паров акрилонитрила водой, содержащей суспензию биокатализатора для трансформации плохо растворимого в воде акрилонитрила в хорошо растворимый и малолетучий акриламид.

Принципиальная схема установки представлена на рис.3.

Технологические абсорбционные газы и вентиляционные выбросы через газозапирающее устройство, содержащее суспензию биокатализатора, подаются в абсорбционные колонны очистки. В абсор-

беры из циркуляционных емкостей поступает на орошение суспензия биокатализатора. Отработанная суспензия биокатализатора, содержащая акриламид и акрилонитрил, направляется на стадию синтеза растворов акриламида. Абсорбционная колонна для повышения эффективности заполняется высокопористым ячеистым материалом. Выбор данного материала обусловлен тем, что он обладает исключительно развитой поверхностью и минимальным гидросопротивлением. Экспериментально подтвержденный уровень очистки газовых выбросов составляет до 95,5%. Содержание биокатализатора в поглотительной воде 0,2-0,4%. Отработанная поглотительная вода, содержащая биокатализатор, акриламид и акрилонитрил, возвращается на стадию синтеза растворов акриламида. Преимуществом абсорбционно-биотехнологического способа является возможность возвращения паров акрилонитрила в производство. В результате практически отсутствуют потери акрилонитрила в технологическом цикле. Однако метод недостаточно эффективен в случае залповых выбросов

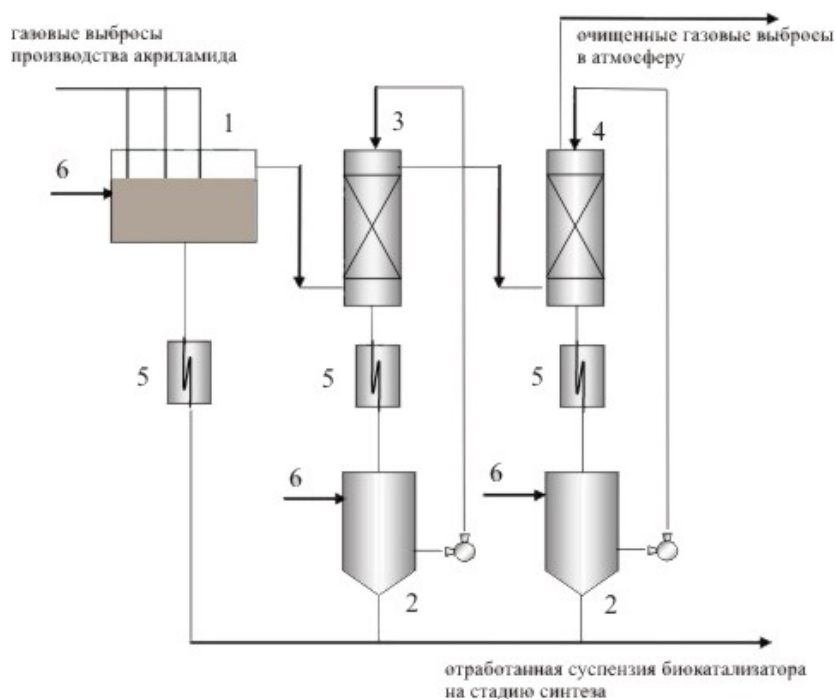


Рис. 3. Принципиальная схема биокаталитической установки очистки газовых выбросов производство акриламида:

1 – газозапирающее устройство; 2 – циркуляционная емкость; 3 – адсорбер с элементами ВПЯМ 1-й ступени; 4 – адсорбер с элементами ВПЯМ 2-й ступени; 5 – гидрозатвор; 6 – суспензия биокатализатора

акрилонитрила. Отчасти этот недостаток устраняется путем установки дополнительных фильтров с активированным углем.

С целью повышения эффективности очистки газовых выбросов разработан термокаталитический способ, который, по сравнению с предыдущим, имеет более высокую эффективность и легко справляется с залповыми выбросами (с ростом концентраций акрилонитрила при его сгорании в каталитической камере идет повышение температуры, что в свою очередь приводит к повышению эффективности). Способ основан на низкотемпературном окислении паров акрилонитрила.

Данный способ отличается высокой эффективностью (97–99 %), минимальными габаритами и массой установки, низким энергопотреблением (5–30 кВт). Указанная эффективность поддерживается в интервале концентраций акрилонитрила от 1 до 5000 мг/м<sup>3</sup>. Окисление акрилонитрила идет до молекулярного азота, двуокси углерода и воды.

Еще одной из основных экологических задач производства является утили-

зация шлама биокатализатора, образующегося на стадии очистки растворов акриламида. Собственно клетки микроорганизмов отработанного биокатализатора не токсичны, но после фильтрации содержат до 5 % остаточного акриламида. Поэтому в реальных производствах отработанный шлам биокатализатора промывается водой, которая в дальнейшем поступает вместе с водой после чистки реакторов на стадию синтеза акриламида, а отмытый шлам после анализа сбрасывается в канализацию. Так как шлам биомассы содержит остаточный акриламид, то существует возможность его полимеризации с образованием полимеров с трехмерной пространственной структурой, содержащих клеточную массу и обладающих водопоглощающими свойствами. На основании этого разработан способ утилизации шлама биокатализатора. Технологический процесс включает следующие стадии: усреднение шлама биокатализатора с введенным раствором инициатора (персульфат калия), полимеризацию шлама при температурах 50–90°C в течение 1–3 часов, сушку полученного продукта, измельчение и фасовку

конечного продукта. В результате получается полимерный материал с трехмерной пространственной структурой, наполненный биомассой, водопоглощение его составляет 30–60 г/г.

Применение таких полимеров очень широко: их можно использовать в сельском хозяйстве для удержания влаги в засушливых и песчаных почвах, для выращивания балконных и комнатных цветов, рассады в теплицах и в открытом грунте, а также для улучшения структуры грунта, озеленения площадей промышленных предприятий и городских улиц. Следует отметить, что большая его часть – биомасса, которая при внесении в почву будет являться органическим удобрением. Все это позволяет использовать получаемый полимер в сельском хозяйстве и для озеленения городских и промышленных ландшафтов в качестве эффективного, недорогого влагосберегающего материала и структуранта почв, закрепляющего легкие грунты.

Также разработаны процессы переработки шлама биокатализатора в синтетический дубитель «Биотан» для использования в кожевенной промышленности.

Приведенные способы обезвреживания и утилизации газообразных, жидких и твердых отходов биотехнологического производства растворов акриламида позволяют сделать его практически безотходным.

Создание крупнотоннажных биотехнологических производств по выпуску акриламида, акрилата аммония и быстрое развитие генной инженерии дают все основания для создания в ближайшие годы биокаталитических процессов по выпуску других акриловых мономеров.

Наиболее перспективными являются работы по получению гидратацией акрилонитрила растворов смеси мономеров акриламида и акриловой кислоты, необходимых для изготовления анионоактивных флокулянтов, особенно с учетом того, что все природные штаммы микроорганизмов, кроме нитрилгидратазы, содержат также амидазу. Технология получения смеси мономеров аналогична получению акриламида, и для их выпуска

можно использовать одно и то же оборудование. Главным препятствием является отсутствие штаммов микроорганизмов со стабильным фиксированным соотношением нитрилгидратазы и амидазы. Наиболее близко к решению данной проблемы подошли сотрудники ГосНИИгенетики. Созданный новый штамм *Rhodococcus rhodochrous* M20 обладает высокой активностью двух ферментов – нитрилгидратазы и амидазы. Благодаря такой особенности, биокатализатор M20 способен превращать акрилонитрил в акриламид под действием нитрилгидратазы, а затем часть образующегося акриламида превращать в акрилат аммония под действием амидазы. Конечным продуктом трансформации акрилонитрила с участием биокатализатора M20 служат смешанные растворы акриламида и акрилата аммония с разной концентрацией и соотношением мономеров. Еще одним важным преимуществом биокатализатора M20 является его близкое родство с биокатализатором M33, используемым в промышленности для получения акриламида. Оба фермента созданы на основе разных мутантов одного родительского штамма *R.rhodochrous* M8. Близкое родство M33 и M20 позволяет использовать сходную схему ферментации для наработки обоих штаммов, и таким образом снизить цену биокатализатора M20.

Не менее перспективными являются работы по созданию биотехнологических процессов получения высококонцентрированных (25–50%) растворов акрилата аммония с использованием иммобилизованного биокатализатора. Это позволит не только снизить стоимость акрилата натрия, но и получать безводную акриловую кислоту.

Дальнейшее совершенствование биокатализаторов для получения акриловых мономеров включает работы по скринингу новых штаммов с уникальными свойствами ферментов, конструированию улучшенных вариантов штаммов с помощью методов направленной эволюции и рационального дизайна и иммобилизации микроорганизмов на углеродные сорбенты. Иммобилизация клеток ведет к по-

вышению активности и стабильности биокатализатора, возможности создания непрерывных и полунепрерывных автоматизированных процессов, снижению затрат на очистку получаемых растворов мономеров.

Для создания биотехнологии получения молочной кислоты кроме получения высокоэффективного иммобилизованного биокатализатора необходимо также решить задачу очистки получаемых после синтеза растворов от побочных продуктов.

Большой интерес для промышленности представляют ферменты группы эстераз и липаз, катализирующие реакции гидролиза сложных эфиров. Показано, что в органической фазе возможна обратная реакция. Значительная устойчивость этих ферментов в некоторых органических растворителях позволяет осуществлять реакции этерификации и переэтерификации. Например, при катализе липазами из этиленгликоля и дикарбоновых кислот образуются олигомерные эфиры. Литературные данные и ряд экспериментальных работ показывают возможность получения олигоэфиракрилатов на основе

полиэтиленгликолей и акриловой кислоты, ряда бифункциональных акриловых мономеров (диэфиры акриловой кислоты на основе этиленгликоля, бутандиола, диэтиленгликоля и др.) и сложных эфиров с использованием биотехнологических процессов. В этом случае появляется перспектива замены существующих энергоемких и экологически «грязных» технологий получения акриловых олигомеров и мономеров малоотходными и малоэнергоемкими биокаталитическими технологиями.

Созданные реальные производства акриловых мономеров с использованием биотехнологических процессов позволяют констатировать значительные их преимущества перед традиционными химическими технологиями. С учетом достигнутых результатов и новых перспективных направлений можно утверждать, что биокаталитические технологии раскрывают неограниченные перспективы создания высокоэффективных производств синтеза различных мономеров, позволяющих значительно повысить не только качество, но и разнообразие полимерных материалов.

#### Библиографический список

1. Дебабов В.Г. Селекция микроорганизмов на заре XXI века / В.Г. Дебабов // Биотехнология. – 2005. – № 4. – С. 3–19.
2. Иммобилизованные нерастущие клетки *Rhodococcus ruber* как гетерогенные биокатализаторы для процесса гидратации акрилонитрила в акриламид / Ю.Г. Максимова, Е.А. Коваленко, А.Ю. Максимов и др. // Катализ в промышленности. – 2008. – №1. – С.44–50.
3. Кузьмина Н.А. Основы биотехнологии / Н.А. Кузьмина [электронный ресурс]. – Доступ: <http://www.biotechnolog.ru/>.
4. Обезвреживание и утилизация отходов биотехнологического производства акриламида / В.Н. Аликин, В.И. Будников, А.Л. Каменщиков и др. // Экология и промышленность России. – 2005. – № 12. – С. 14–16.
5. Применение биотехнологического процесса для получения полиакриламида высокой чистоты / В.Н.Аликин, В.И.Будников, В.В.Синкин, В.Н.Стрельников // Химическая технология. – 2006. – № 7. – С. 37–39.
6. Разработка и внедрение биокаталитического способа получения акриловой кислоты. I. Выделение штамма *Alcaligenes denitrificans*, трансформирующего акрилонитрил в акрилат аммония. Оптимизация среды культивирования. / С.В. Полтавская, Т.Н. Козулина, И.Н. Сингирицев и др. // Биотехнология. – 2004. – № 1. – С. 62–70.
7. Халгаш Я. Биокатализаторы в органическом синтезе / Я.Залгаш. – М.: Мир, 1991. – 204 с.
8. Яненко А.С. Биосинтез мономеров для полимерной химии / А.С. Яненко // В мире науки. – 2006. – №8. – С. 12–14.
9. Kobayashi M. Enzymatic synthesis of acrylamide: a success story not yet over. / M.Kobayashi, T. Nagasava, H.Yamada // Trends Biotechnol. – 1992. – Vol. 10. – P. 402–408.