



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(51) МПК

C10L 1/02 (2006.01)

C10G 3/00 (2006.01)

C07C 67/02 (2006.01)

C11C 3/10 (2006.01)

B01D 17/00 (2006.01)

C12P 7/20 (2006.01)

C12P 7/64 (2006.01)

C12N 11/08 (2006.01)

C12M 1/40 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

C10L 1/02 (2006.01); C10G 3/00 (2006.01); C07C 67/02 (2006.01); C11C 3/10 (2006.01); B01D 17/00 (2006.01); C12P 7/20 (2006.01); C12P 7/64 (2006.01); C12N 11/08 (2006.01); C12M 1/40 (2006.01)

(21)(22) Заявка: 2016152705, 30.12.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
30.12.2016

Дата регистрации:
27.08.2018

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 30.12.2016

(43) Дата публикации заявки: 03.07.2018 Бюл. №
19

(45) Опубликовано: 27.08.2018 Бюл. № 24

Адрес для переписки:

119991, Москва, Ленинский просп., 65, корп. 1,
РГУ нефти и газа (НИУ) имени И.М. Губкина,
отдел защиты интеллектуальной
собственности

(72) Автор(ы):

Альмяшева Наиля Рафиковна (RU),
Жигалова Лариса Викторовна (RU),
Савельева Елена Викторовна (RU),
Копицын Дмитрий Сергеевич (RU),
Котелев Михаил Сергеевич (RU),
Новиков Андрей Александрович (RU),
Гущин Павел Александрович (RU),
Иванов Евгений Владимирович (RU),
Винокуров Владимир Арнольдович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Российский государственный
университет нефти и газа (национальный
исследовательский университет) имени И.М.
Губкина" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2573929 C9, 10.06.2016. DE 10
2007 019 379 A1, 30.10.2008. CN 101265413 A,
17.09.2008. CN 101235351 A, 06.08.2008. N.R.
Almyasheva et al. Methanolysis of sunflower
oil using immobilized fungal cells as biocatalyst.
Chemistry and Technology of Fuels and Oils,
vol.50, no.6, 2015, p.449-542. CN 101255347 A,
03.09.2008. US 2006/0014974 A1, (см. прод.)

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ БИОДИЗЕЛЬНОГО ТОПЛИВА

(57) Реферат:

Изобретение относится к получению топлив
из возобновляемого сырья. Способ получения
биодизельного топлива заключается в том, что
масло смешивают с низшим спиртом с
получением смеси, затем проводят процесс
переэтерификации с использованием воды и
каталитически активной мембраны, состоящей
из диффузионного слоя, выполненного на базе

полимера, проницаемого по отношению к низшим
спиртам и глицерину, соединительного слоя,
выполненного из пористого полимера, и
каталитически активного слоя, образованного
липолитическим микроорганизмом, при этом
пористый полимер выбран из тканых или
нетканых материалов из волокон полиэтилена,
полипропилена, политетрафторэтилена,

полиамида, при этом указанную смесь приводят в контакт с каталитически активным слоем мембраны, а воду - с диффузионным слоем мембраны, после чего продукт контактирования указанной смеси с каталитически активным слоем подвергают упариванию для удаления непрореагировавшего спирта с получением целевого биодизельного топлива, а продукт контактирования воды с диффузионным слоем

разделяют на воду и глицерин. Технический результат – усовершенствование технологии получения биодизельного топлива, что обеспечивается липолитическим микроорганизмом, находящимся в активном состоянии в течение всего времени контактирования, при этом продукт получают с достаточно высоким выходом. 5 пр.

(56) (продолжение):

19.01.2006. WO 2010/005391 A1, 14.01.2010. Альмяшева Н.Р., Копицын Д.С., Жигалова Л.В. Получение биодизельного топлива с использованием клеток грибов в качестве катализаторов. Материалы Международного молодежного научного форума "ЛОМОНОСОВ-2015", М., МАКС Пресс, 2015. Шарипова Д.А. и др. Базидиальные грибы-перспективные продуценты липидного сырья для производства биодизельного топлива. Материалы Международного молодежного научного форума "ЛОМОНОСОВ-2015", М., МАКС Пресс, 2015.

R U 2 6 6 5 0 4 1 C 2

R U 2 6 6 5 0 4 1 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

C10L 1/02 (2006.01)*C10G 3/00* (2006.01)*C07C 67/02* (2006.01)*C11C 3/10* (2006.01)*B01D 17/00* (2006.01)*C12P 7/20* (2006.01)*C12P 7/64* (2006.01)*C12N 11/08* (2006.01)*C12M 1/40* (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

C10L 1/02 (2006.01); *C10G 3/00* (2006.01); *C07C 67/02* (2006.01); *C11C 3/10* (2006.01); *B01D 17/00* (2006.01); *C12P 7/20* (2006.01); *C12P 7/64* (2006.01); *C12N 11/08* (2006.01); *C12M 1/40* (2006.01)

(21)(22) Application: **2016152705**, 30.12.2016

(24) Effective date for property rights:
30.12.2016

Registration date:
27.08.2018

Priority:

(22) Date of filing: **30.12.2016**(43) Application published: **03.07.2018** Bull. № 19(45) Date of publication: **27.08.2018** Bull. № 24

Mail address:

119991, Moskva, Leninskij prosp., 65, korp. 1, RGU
nefti i gaza (NIU) imeni I.M. Gubkina, otdel
zashchity intellektualnoj sobstvennosti

(72) Inventor(s):

**Almyasheva Nailya Rafikovna (RU),
Zhigalova Larisa Viktorovna (RU),
Saveleva Elena Viktorovna (RU),
Kopitsyn Dmitrij Sergeevich (RU),
Kotelev Mikhail Sergeevich (RU),
Novikov Andrej Aleksandrovich (RU),
Gushchin Pavel Aleksandrovich (RU),
Ivanov Evgenij Vladimirovich (RU),
Vinokurov Vladimir Arnoldovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "Rossijskij gosudarstvennyj
universitet nefti i gaza (natsionalnyj
issledovatel'skij universitet) imeni I.M. Gubkina"
(RU)**

(54) METHOD FOR OBTAINING BIODIESEL FUEL

(57) Abstract:

FIELD: technological processes.

SUBSTANCE: invention relates to the production of fuels from renewable raw materials. This method for producing biodiesel fuel lies in the fact that oil is mixed with a low alcohol to obtain a mixture, then the transesterification process is carried out using water and a catalytically active membrane consisting of a diffusion layer made on the basis of a polymer that is permeable to low alcohols and glycerol, as well as a connecting layer made of a porous polymer and a catalytically active layer formed by a lipolytic microorganism, wherein the porous polymer is selected from woven or non-woven materials of polyethylene fibers, polypropylene, polytetrafluoroethylene, polyamide, wherein said mixture is brought into contact

with the catalytically active membrane layer and the water is brought into contact with the diffusion layer of the membrane, after which the product of the contact of said mixture with the catalytically active layer is subjected to evaporation to remove unreacted alcohol to obtain the desired biodiesel fuel, and the product of the contact of water with the diffusion layer is separated into water and glycerin.

EFFECT: improvement of the technology for obtaining biodiesel fuel, which is provided by the lipolytic microorganism, which is in active state during the entire contact time, and the product is obtained in a sufficiently high yield.

1 cl, 5 ex

Изобретение относится к области получения топлив из возобновляемого сырья, в частности, к области получения биодизельного топлива из растительных масел.

Под биодизельным топливом понимают смеси сложных эфиров жирных кислот, в особенности метиловых и этиловых эфиров жирных кислот.

5 Известны способы получения биодизельного топлива с использованием неорганического катализатора - кислоты или щелочи (US 6211390, 2001, WO 2005/093015, 2005; US 5713965, 1998; US 5525126, 1996). Общим и существенным недостатком данных решений является необходимость очистки продуктов от неорганического катализатора путем промывки водой с последующей нейтрализацией. Кроме того, к недостаткам
10 можно отнести образование большого количества щелочных или кислых стоков, что отрицательно сказывается на экологических показателях процесса в целом.

Также описаны методы получения биодизельного топлива с использованием биокатализаторов: ферментов или нативных клеток различных липолитических микроорганизмов. Данные методы позволяют избежать присутствия неорганических
15 примесей в продуктах, однако такие показатели как выход и конверсия исходного сырья для описанных способов не велики, поскольку при использовании биокатализатора невозможно использовать большой избыток спирта в исходной смеси. Кроме того, биокатализатор теряет свою активность в ходе реакции за счет образования глицерина.

20 Так, известен способ получения биодизельного топлива, проводимый с помощью биореактора, содержащего полупроницаемую мембрану из регенерированной целлюлозы и иммобилизированной на носителе липазы *Candida antarctica* lipase B (KR 101143313, 2012).

Недостатками данного способа являются необходимость использования
25 дорогостоящей выделенной липазы, а также необходимость иммобилизации липазы, которая приводит к частичной потере каталитической активности.

Наиболее близким к изобретению является способ получения биодизельного топлива (CN 101265413, 2008) с использованием липазы, иммобилизированной на пористой мембране. Мембрана, при этом, выполнена в виде пустотелого волокна, находящегося
30 внутри реактора. Смесь масла и спирта циркулирует в объеме реактора, вода - в полости волокна. Образующийся в качестве продукта глицерин проникает сквозь мембрану и выводится из реакционной среды, обеспечивая смещение равновесие в реакции переэтерификации. Кроме того, вода, циркулирующая через полость волокна мембраны, частично проникая в реакционный объем, обеспечивает высокую активность
35 иммобилизированной липазы.

Недостатками данного способа являются необходимость использования дорогостоящей липазы, а также сложность проведения процесса иммобилизации последней.

40 Техническая проблема заключается в упрощении технологии получения биодизельного топлива и снижении затрат на его производство.

Поставленная проблема решается описываемым способом получения биодизельного топлива, заключающийся в том, что смешивают масло с низшим спиртом с получением смеси и проводят процесс переэтерификации с использованием воды и каталитически активной мембраны, состоящей из диффузионного слоя, выполненного на базе полимера,
45 проницаемого по отношению к низшим спиртам и глицерину, соединительного слоя, выполненного из пористого полимера, и каталитически активного слоя, образованного липолитическим микроорганизмом, при этом указанную смесь приводят в контакт с каталитически активным слоем мембраны, а воду - с диффузионным слоем мембраны,

после чего продукт контактирования указанной смеси с каталитически активным слоем подвергают упариванию для удаления непрореагировавшего спирта с получением целевого биодизельного топлива, а продукт контактирования воды с диффузионным слоем разделяют на воду и глицерин.

5 Технический результат заключается в повышении площади поверхности контактирования смеси масла со спиртом с каталитически активным слоем за счет использования липолитического микроорганизма, находящегося в активном состоянии в течение всего времени контактирования.

Способ получения биодизельного топлива проводят следующим образом.

10 Смешивают масло с низшим спиртом с получением смеси и проводят процесс переэтерификации с использованием воды и каталитически активной мембраны, состоящей из диффузионного слоя, выполненного на базе полимера, проницаемого по отношению к низшим спиртам и глицерину, соединительного слоя, выполненного из пористого полимера, и каталитически активного слоя, образованного липолитическим

15 микрорганом.
Диффузионный слой мембраны представляет собой слой полимерного материала, проницаемого по отношению к низшим спиртам, в том числе по отношению к многоатомным спиртам, в частности, к глицерину. В качестве полимера возможно использовать любые полимерные материалы, совместимые с водными растворами

20 спиртов, например, ацетат целлюлозы, поликарбонат, политетрафторэтилен.
Соединительный слой выполнен из пористого полимера, инертного по отношению к используемым в способе реагентам и липолитическим микроорганизмам. В качестве указанного пористого полимера возможно, например, использовать вспененные полимеры, в частности, пенополиуретан, а также тканые и нетканые материалы из

25 полимерных волокон, например, тканые или нетканые материалы из волокон полиэтилена, полипропилена, политетрафторэтилена, полиамидных волокон (нейлона, капрона), целлюлозных волокон.

Каталитически активный слой мембраны образован липолитическим микрорганом.

30 Используемую в описываемом способе каталитически активную мембрану получают следующим образом.

Предварительно готовят питательную среду для культивирования липолитических микрорганом.

35 Состав питательной среды подбирают в соответствии с видовой принадлежностью используемого липолитического микроорганизма. Предпочтительно используют загущенную питательную среду, содержащую необходимые для роста микроорганизма минеральные соли, источник углерода, источник азота и полисахарид для загущения среды. Минеральные соли выбирают в соответствии с видовой принадлежностью используемого липолитического микроорганизма. Так, в случае использования в

40 качестве липолитического микроорганизма грибов вида *Aspergillus niger* или дрожжей вида *Yarrowia lipolytica* возможно использовать для приготовления питательной среды в качестве источника минеральных солей водопроводную воду.

Источник углерода выбирают из ряда: масло подсолнечника, рапсовое масло, глюкоза, фруктоза, глюкозо-фруктозный сироп, меласса, солодовый экстракт.

45 Источник азота выбирают из ряда: соевая мука, дрожжевой экстракт, пептон, триптон, мочевины.

Полисахарид для загущения среды выбирают из ряда: агар, альгинат натрия, карбоксиметилцеллюлоза.

Полученную загущенную питательную среду распределяют по поверхности соединительного слоя мембраны, состоящей из двух слоев - диффузионного слоя, выполненного на базе полимера, проницаемого по отношению к низшим спиртам и глицерину и соединительного слоя, выполненного из пористого полимера.

5 При этом споры или клетки липолитических микроорганизмов возможно импрегнировать в загущенную питательную среду перед или после ее распределения по поверхности соединительного слоя данной мембраны.

Затем мембрану с распределенной по поверхности соединительного слоя загущенной питательной средой выдерживают в присутствии воздуха при термостатировании при 10 температуре, подходящей для роста выбранного липолитического микроорганизма, в течение 20-200 часов. Предпочтительно проводят термостатирование при температуре, оптимальной для роста выбранного липолитического микроорганизма.

Таким образом, достигают равномерного зарастания поверхности исходной мембраны липолитическим микроорганизмом с получением каталитически активной 15 мембраны, состоящей из трех слоев - диффузионного слоя, выполненного на базе полимера, проницаемого по отношению к низшим спиртам и глицерину, соединительного слоя, выполненного из пористого полимера, и каталитически активного слоя, образованного липолитическим микроорганизмом.

Полученная мембрана может быть выполнена в виде пустотелого волокна (трубок) 20 или в виде полимерной пленки.

При этом в качестве липолитического микроорганизма возможно использовать любой микроорганизм, характеризующийся тем, что он синтезирует липазы - ферменты, катализирующие реакции гидролиза, этерификации и переэтерификации липидов, в том числе триглицеридов жирных кислот, свободных жирных кислот и их сложных эфиров. 25 К числу таких микроорганизмов могут относиться, например, бактерии, археи и эукариоты, в том числе одноклеточные грибы (дрожжи) и мицелиальные грибы. Возможно также использование генно-модифицированных микроорганизмов. Предпочтительно в качестве липолитического микроорганизма используют мицелиальные грибы, характеризующиеся тем, что они синтезируют липазы. Наиболее 30 предпочтительно использовать грибы вида *Aspergillus niger* и дрожжи вида *Yarrowia lipolytica*.

В качестве масла возможно использовать растительные масла (например, масло подсолнечника, рапсовое масло, пальмовое масло, масло рыжика и другие), а также смеси растительных масел с животными жирами, в том числе, с высоким содержанием 35 свободных жирных кислот.

В качестве спирта возможно использовать различные низшие спирты, предпочтительно, используют метиловый и этиловый спирты.

Наиболее предпочтительно (в случае использования в качестве липолитического микроорганизма грибов вида *Aspergillus niger*) в качестве питательной среды используют 40 загущенную агаром среду следующего состава: дрожжевой экстракт - 6,2 г/л, соевую муку - 7,4 г/л, масло подсолнечника - 13,2 г/л, агар бактериологический - 15 г/л. Указанную среду готовят на основе водопроводной воды.

Далее смесь масла с низшим спиртом, предпочтительно в массовом соотношении от 3:1 до 20:1, приводят в контакт с каталитически активным слоем мембраны, 45 образованным липолитическим микроорганизмом, а воду - с диффузионным слоем мембраны. Процесс проводят в периодическом или непрерывном режиме. При проведении указанного контактирования продукт контактирования подвергают рециркуляции с добавлением низшего спирта, предпочтительно из расчета от 1:3 до 1:

20 в массовых долях по отношению к массе масла на каждый цикл рециркуляции. После проведения достаточного числа циклов рециркуляции продукт контактирования смеси масла с низшим спиртом с каталитически активным слоем мембраны подвергают упариванию для удаления непрореагировавшего спирта с получением целевого биодизельного топлива. Число циклов рециркуляции определяют исходя из суммарного расхода низшего спирта, который предпочтительно составляет от 1:2 до 1:5 по отношению к массе масла. Продукт контактирования воды с диффузионным слоем разделяют на воду и глицерин. При этом отделенную воду возможно направлять на рециркуляцию, а глицерин использовать в качестве товарного продукта.

Реализацию описываемого способа возможно осуществлять с использованием любых известных аппаратов, предпочтительно реакторов, например, мембранных реакторов.

Ниже приведены примеры, иллюстрирующие описываемый способ, но не ограничивающие его.

Пример 1.

Предварительно готовят питательную среду следующего состава: дрожжевой экстракт - 6,2 г, соевая мука - 7,4 г, масло подсолнечника - 13,2 г, агар бактериологический - 15 г; водопроводная вода - до объема 1 л. Растворяют агар бактериологический при постоянном нагреве и перемешивании, затем среду в стеклянном сосуде помещают в автоклав и стерилизуют при избыточном давлении. После окончания стерилизации охлаждают жидкую среду до температуры 50-60°C. Затем в стерильных условиях полученную загущенную питательную среду распределяют по поверхности соединительного слоя мембраны, состоящей из двух слоев - диффузионного слоя, выполненного на базе полимера, проницаемого по отношению к низшим спиртам и глицерину - ацетата целлюлозы и соединительного слоя, выполненного из пористого полимера - полипропилена и выдерживают при комнатной температуре до затвердевания.

Полученную мембрану помещают в мембранный биореактор. Объемы биореактора со стороны соединительного слоя мембраны с затвердевшей загущенной питательной средой и со стороны диффузионного слоя заполняют стерилизованной водопроводной водой. Объем биореактора со стороны соединительного слоя засевают спорами гриба *Aspergillus niger*, туда же подают воздух и термостатируют в течение 20 часов при температуре 30°C. Во время термостатирования мицелий гриба равномерно покрывает мембрану, образуя каталитически активный слой.

Таким образом, после проведения термостатирования получают каталитически активную мембрану, состоящую из трех слоев - диффузионного слоя, выполненного на базе полимера, проницаемого по отношению к низшим спиртам и глицерину - ацетата целлюлозы, соединительного слоя, выполненного из пористого полимера полипропилена, и каталитически активного слоя, образованного липолитическим микроорганизмом - грибом *Aspergillus niger*.

Затем смесь масла с низшим спиртом приводят в контакт с каталитически активным слоем полученной мембраны, а воду - с диффузионным слоем данной мембраны следующим образом.

В реакционный объем биореактора (со стороны каталитически активного слоя мембраны) подают смесь рапсового масла и метанола, взятых в массовом соотношении 10:1. В объем биореактора со стороны диффузионного слоя подают дистиллированную воду и одновременно отводят из него воду, обогащенную глицерином.

Процесс переэтерификации ведут при температуре 20-22°C при рециркуляции смеси внутри реакционного объема. Рециркуляцию смеси проводят с добавлением метанола

из расчета 1:10 в массовых долях по отношению к массе масла на каждый цикл рециркуляции до достижения суммарного расхода метанола, равного 1:3 по отношению к массе масла. После окончания процесса переэтерификации продукт контактирования указанной смеси с каталитически активным слоем мембраны замещают на новую порцию смеси масла и спирта и повторяют процесс.

Продукт контактирования смеси с каталитически активным слоем мембраны подвергают упариванию, а именно, нагреванию под вакуумом для удаления непрореагировавшего спирта. Полученный после упаривания продукт представляет собой биодизельное топливо. Продукт контактирования воды с диффузионным слоем разделяют на воду и глицерин. При этом отделенную воду возможно направлять на рециркуляцию, а глицерин использовать в качестве товарного продукта.

Выход биодизельного топлива составляет 68% от массы исходного рапсового масла.

Пример 2.

Предварительно готовят питательную среду состава по примеру 1. Растворяют агар бактериологический при постоянном нагреве и перемешивании, затем среду в стеклянном сосуде помещают в автоклав и стерилизуют при избыточном давлении. После окончания стерилизации охлаждают питательную среду до температуры 50-60°C и вносят в нее при перемешивании споры гриба *Aspergillus niger*. Затем в стерильных условиях полученную загущенную питательную среду равномерно распределяют по поверхности мембраны, состоящей из диффузионного слоя (поликарбонат) и соединительного слоя (полиэтилен), со стороны соединительного слоя и выдерживают при комнатной температуре до затвердевания. Полученную мембрану помещают в мембранный биореактор. Объемы биореактора со стороны питательного слоя и со стороны диффузионного слоя заполняют стерилизованной водопроводной водой. В объем биореактора со стороны питательного слоя подают воздух и термостатируют в течение 50 часов при температуре 25°C. Во время термостатирования мицелий гриба равномерно покрывает мембрану, образуя каталитически активный слой.

Таким образом, после проведения термостатирования получают каталитически активную мембрану, состоящую из трех слоев - диффузионного слоя, выполненного на базе полимера, проницаемого по отношению к низшим спиртам и глицерину - поликарбоната, соединительного слоя, выполненного из пористого полимера - полиэтилена, и каталитически активного слоя, образованного липолитическим микроорганизмом - грибом *Aspergillus niger*.

Затем смесь масла с низшим спиртом приводят в контакт с каталитически активным слоем полученной мембраны, а воду - с диффузионным слоем данной мембраны следующим образом.

В реакционный объем биореактора (со стороны каталитически активного слоя мембраны) подают смесь масла подсолнечника и этанола, взятых в массовом соотношении 5:1. В объем биореактора со стороны диффузионного слоя подают дистиллированную воду и одновременно отводят из него воду, обогащенную глицерином.

Процесс переэтерификации ведут в непрерывном режиме при температуре 20-22°C, при рециркуляции смеси в реакционном объеме с добавлением этанола из расчета 1:5 в массовых долях по отношению к массе масла на каждый цикл рециркуляции. При этом рециркуляцию проводят до достижения суммарного расхода этанола, равного 1:2 по отношению к массе масла. После окончания процесса переэтерификации продукт контактирования указанной смеси с каталитически активным слоем мембраны замещают на новую порцию смеси масла и спирта и повторяют процесс.

Продукт контактирования смеси с каталитически активным слоем мембраны подвергают упариванию, а именно, нагреванию под вакуумом для удаления непрореагировавшего спирта. Полученный после упаривания продукт представляет собой биодизельное топливо. Продукт контактирования воды с диффузионным слоем разделяют на воду и глицерин. При этом отделенную воду возможно направлять на рециркуляцию, а глицерин использовать в качестве товарного продукта.

Выход биодизельного топлива составляет 66% от массы исходного масла подсолнечника.

Пример 3

Предварительно готовят питательную среду состава по примеру 1. Растворяют агар бактериологический при постоянном нагреве и перемешивании, затем среду в стеклянном сосуде помещают в автоклав и стерилизуют при избыточном давлении. После окончания стерилизации охлаждают жидкую среду до температуры 50-60°C. Затем в стерильных условиях питательную среду равномерно распределяют по поверхности соединительного слоя мембраны, состоящей из диффузионного слоя (ацетат целлюлозы) и соединительного слоя (полипропилен) и формованной в виде трубки таким образом, что диффузионный слой образует внутреннюю поверхность трубки, а соединительный слой - внешнюю поверхность трубки, и выдерживают при комнатной температуре до затвердевания. Полученную мембрану в виде трубки, помещают в мембранный биореактор. Внешний по отношению к мембранным трубкам объем биореактора, а также внутренний объем мембранных трубок заполняют стерилизованной водопроводной водой. Внешний объем биореактора засевают спорами гриба *Aspergillus niger*, туда же подают воздух и термостатируют в течение 96 часов при температуре 25°C. Во время термостатирования мицелий гриба равномерно покрывает поверхность соединительного слоя мембраны, образуя каталитически активный слой.

Таким образом, после проведения термостатирования получают каталитически активную мембрану, состоящую из трех слоев - диффузионного слоя, выполненного на базе полимера, проницаемого по отношению к низшим спиртам и глицерину - поликарбоната, соединительного слоя, выполненного из пористого полимера - полиэтилена, и каталитически активного слоя, образованного липолитическим микроорганизмом - грибом *Aspergillus niger*.

Затем смесь масла с низшим спиртом приводят в контакт с каталитически активным слоем полученной мембраны, а воду - с диффузионным слоем данной мембраны следующим образом.

В реакционный объем биореактора (со стороны каталитически активного слоя мембраны) подают смесь масла рыжика и этанола, взятых в массовом соотношении 15:1.

Процесс переэтерификации ведут при температуре 20-22°C при рециркуляции указанной смеси, проводимой с добавлением этанола из расчета 1:15 в массовых долях по отношению к массе масла на каждый цикл рециркуляции. При этом рециркуляцию проводят до достижения суммарного расхода этанола, равного 1:2 по отношению к массе масла. Во внутренний объем мембранных трубок непрерывно подают дистиллированную воду и одновременно отводят воду, обогащенную глицерином.

После окончания процесса переэтерификации прореагировавшую массу в объеме биореактора замещают на новую порцию смеси масла и спирта и повторяют процесс.

Продукт контактирования смеси с каталитически активным слоем мембраны подвергают упариванию, а именно, нагреванию под вакуумом для удаления непрореагировавшего спирта. Полученный после упаривания продукт представляет

собой биодизельное топливо. Продукт контактирования воды с диффузионным слоем разделяют на воду и глицерин. При этом отделенную воду возможно направлять на рециркуляцию, а глицерин использовать в качестве товарного продукта.

Выход биодизельного топлива составляет 62% от массы исходного масла рыжика.

5 Пример 4.

Предварительно готовят питательную среду состава по примеру 1. Растворяют агар бактериологический при постоянном нагреве и перемешивании, затем среду в стеклянном сосуде помещают в автоклав и стерилизуют при избыточном давлении. После окончания стерилизации охлаждают жидкую среду до температуры 30-40°C и
10 вносят в нее при перемешивании клетки дрожжей *Yarrowia lipolytica*. Затем в стерильных условиях питательную среду равномерно распределяют по поверхности соединительного слоя мембраны, состоящей из диффузионного слоя (политетрафторэтилен) и соединительного слоя (волоконистый политетрафторэтилен) и формованной в виде трубки таким образом, что диффузионный слой образует внутреннюю поверхность
15 трубки, а соединительный слой - внешнюю поверхность трубки, и выдерживают при комнатной температуре до затвердевания. Полученную мембрану в виде трубки помещают в мембранный биореактор. Внешний по отношению к мембранным трубкам объем биореактора, а также внутренний объем мембранных трубок заполняют стерилизованной водопроводной водой. Во внешний объем биореактора подают воздух
20 и термостатируют в течение 150 часов при температуре 30°C. Во время термостатирования дрожжи равномерно покрывают поверхность соединительного слоя мембраны, образуя каталитически активный слой.

Таким образом, после проведения термостатирования получают каталитически активную мембрану, состоящую из трех слоев - диффузионного слоя, выполненного
25 на базе полимера, проницаемого по отношению к низшим спиртам и глицерину - поликарбоната, соединительного слоя, выполненного из пористого полимера - полиэтилена, и каталитически активного слоя, образованного липолитическим микроорганизмом - клетками дрожжей *Yarrowia lipolytica*.

Затем смесь масла с низшим спиртом приводят в контакт с каталитически активным
30 слоем полученной трехслойной мембраны, а воду - с диффузионным слоем данной мембраны следующим образом.

В реакционный объем биореактора (со стороны каталитически активного слоя мембраны) подают смесь масла рыжика и метанола, взятых в массовом соотношении 5:1.

Процесс переэтерификации ведут в непрерывном режиме при температуре 30-32°C при рециркуляции указанной смеси с добавлением метанола из расчета 1:5 в массовых долях по отношению к массе масла на каждый цикл рециркуляции. Рециркуляцию проводят до достижения суммарного расхода метанола, равного 1:3 по отношению к массе масла. Во внутренний объем мембранных трубок непрерывно подают
40 дистиллированную воду и одновременно отводят воду, обогащенную глицерином.

После окончания процесса переэтерификации продукт контактирования замещают на новую порцию смеси масла и спирта и повторяют процесс.

Продукт контактирования смеси с каталитически активным слоем мембраны подвергают упариванию, а именно, нагреванию под вакуумом для удаления
45 непрореагировавшего спирта. Полученный после упаривания продукт представляет собой биодизельное топливо. Продукт контактирования воды с диффузионным слоем разделяют на воду и глицерин. При этом отделенную воду возможно направлять на рециркуляцию, а глицерин использовать в качестве товарного продукта.

Выход биодизельного топлива составляет 55% от массы исходного масла рыжика.

Пример 5.

Предварительно готовят питательную среду состава по примеру 1. Растворяют агар бактериологический при постоянном нагреве и перемешивании, затем среду в
5 стеклянном сосуде помещают в автоклав и стерилизуют при избыточном давлении. После окончания стерилизации охлаждают жидкую среду до температуры 50-60°C. Затем в стерильных условиях питательную среду равномерно распределяют по поверхности соединительного слоя мембраны, состоящей из диффузионного слоя (ацетат целлюлозы) и соединительного слоя (нейлон) и формованной в виде трубки
10 таким образом, что диффузионный слой образует внутреннюю поверхность трубки, а соединительный слой - внешнюю поверхность трубки, и выдерживают при комнатной температуре до затвердевания. Полученную мембрану в виде трубки помещают в мембранный биореактор. Внешний по отношению к мембранным трубкам объем биореактора, а также внутренний объем мембранных трубок заполняют
15 стерилизованной водопроводной водой. Во внешний объем биореактора вносят посевную культуру дрожжей *Yarrowia lipolytica*, туда же подают воздух и термостатируют в течение 200 часов при температуре 30°C. Во время термостатирования дрожжи равномерно покрывают поверхность соединительного слоя мембраны, образуя каталитически активный слой.

Таким образом, после проведения термостатирования получают каталитически активную мембрану, состоящую из трех слоев - диффузионного слоя, выполненного на базе полимера, проницаемого по отношению к низшим спиртам и глицерину - ацетата целлюлозы, соединительного слоя, выполненного из пористого полимера - нейлона, и каталитически активного слоя, образованного липолитическим микроорганизмом -
20 клетками дрожжей *Yarrowia lipolytica*.

Затем смесь масла с низшим спиртом приводят в контакт с каталитически активным слоем полученной трехслойной мембраны, а воду - с диффузионным слоем данной мембраны следующим образом.

В реакционный объем биореактора (со стороны каталитически активного слоя
30 мембраны) подают смесь масла рыжика и этанола, взятых в массовом соотношении 20:1.

Процесс переэтерификации ведут при температуре 30-32°C, в непрерывном режиме, при рециркуляции смеси во внешнем объеме биореактора с добавлением этанола из расчета 1:20 в массовых долях по отношению к массе масла на каждый цикл
35 рециркуляции. Указанную рециркуляцию проводят до достижения суммарного расхода этанола, равного 1:2 по отношению к массе масла. Во внутренний объем мембранных трубок непрерывно подают дистиллированную воду и одновременно отводят воду, обогащенную глицерином.

После окончания процесса переэтерификации прореагировавшую массу - продукт контактирования в объеме биореактора замещают на новую порцию смеси масла и
40 спирта и повторяют процесс.

Полученный продукт контактирования смеси с каталитически активным слоем мембраны подвергают упариванию, а именно, нагреванию под вакуумом для удаления непрореагировавшего спирта. Полученный после упаривания продукт представляет
45 собой биодизельное топливо. Продукт контактирования воды с диффузионным слоем разделяют на воду и глицерин. При этом отделенную воду возможно направлять на рециркуляцию, а глицерин использовать в качестве товарного продукта.

Выход биодизельного топлива составляет 70% от массы исходного масла рыжика.

Проведение способа получения биодизельного топлива с использованием иных липолитических микроорганизмов, иного исходного сырья приводит к аналогичным результатам.

Таким образом, способ согласно изобретению позволяет упростить процесс получения биодизельного топлива и позволяет снизить затраты на его производство за счет исключения использования дорогостоящих препаратов очищенных липолитических ферментов при высоком выходе целевого продукта.

(57) Формула изобретения

Способ получения биодизельного топлива, заключающийся в том, что смешивают масло с низшим спиртом с получением смеси, затем проводят процесс переэтерификации с использованием воды и каталитически активной мембраны, состоящей из диффузионного слоя, выполненного на базе полимера, проницаемого по отношению к низшим спиртам и глицерину, соединительного слоя, выполненного из пористого полимера, и каталитически активного слоя, образованного липолитическим микроорганизмом, при этом пористый полимер выбран из тканых или нетканых материалов из волокон полиэтилена, полипропилена, политетрафторэтилена, полиамида, при этом указанную смесь приводят в контакт с каталитически активным слоем мембраны, а воду - с диффузионным слоем мембраны, после чего продукт контактирования указанной смеси с каталитически активным слоем подвергают упариванию для удаления непрореагировавшего спирта с получением целевого биодизельного топлива, а продукт контактирования воды с диффузионным слоем разделяют на воду и глицерин.