

УДК 612.015.161

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОСИНТЕЗА ЭТАНОЛА ИЗ МИСКАНТУСА

© 2014 г. О.В. Байбакова, Е.А. Скиба

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт проблем химико-энергетических технологий
Сибирского отделения Российской академии наук, Бийск, Россия,
e-mail: ipcet@mail.ru, olka_baibakova@mail.ru

Поступила в редакцию 11 марта 2014 г. Принята к публикации 13 августа 2014 г.

В данной работе показано, что дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ Y-1693 устойчивы к ферментативному водному гидролизату мискантуса, их хорошее морфофизиологическое состояние указывает на отсутствие в средах вредных примесей, характерных для кислотных химических гидролизатов. Установлено, что для биосинтеза этанола на среде ферментативного гидролизата целлюлозы мискантуса оптимальной является нативная активная кислотность гидролизата – 4,5–4,7 ед. рН; показано, что добавление 1 %-го дрожжевого экстракта позволяет сделать среду ферментативного водного гидролизата целлюлозы мискантуса полноценной. При этом в условиях периодического брожения достаточно вносить 10 % засевных дрожжей, находящихся в экспоненциальной фазе развития; методом газожидкостной хроматографии установлено, что ферментативный способ гидролиза целлюлозы мискантуса позволяет получать этанол с низким содержанием эфиров и сивушных масел. Метанол в биоэтаноле из мискантуса отсутствует.

Ключевые слова: мискантус сорта Сорановский, ферментативный гидролиз, техническая целлюлоза, *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693, штамм, биоэтанол.

ВВЕДЕНИЕ

В связи с развитием биоэнергетики в настоящее время биомасса считается одним из ключевых возобновляемых энергетических ресурсов будущего. По ориентировочным оценкам, мировые разведанные запасы нефтепродуктов примерно равны запасам древесины на нашей планете, однако ресурсы углеводородов быстро истощаются, в то время как в результате естественного прироста запасы биомассы растений восстанавливаются. В недалеком будущем ожидается переход от нефтехимического производства к биохимической и химической переработке древесины и других видов растительного сырья (Аблаев, 2011).

В настоящее время в связи с бережливым отношением к лесным ресурсам наиболее актуальными являются задачи по поиску альтернативных древесине возобновляемых источников энергии с одновременным решением экологических

проблем и развитием энергосберегающих технологий.

Значительное внимание в мире уделяется проблеме переработки биомассы с целью получения биотоплива. Комплексная переработка лигноцеллюлозной биомассы химическими и/или биотехнологическими методами в спектр конкурентоспособных продуктов и энергию (biorefinery) (Кузнецова, 2013) является современным и фундаментальным направлением промышленной биотехнологии, которое развивается в индустриальных странах. Так, в странах Евросоюза около 3 % (65 млн т условного топлива) всех энергетических потребностей покрывается за счет биомассы, в отдельных странах этот показатель достигает 23 % (Финляндия), 18 % (Швеция) и 12 % (Австрия) (Булаткин и др., 2013). Биомасса в энергетике может быть использована непосредственно путем сжигания или может быть трансформирована химическими и биотехнологическими

методами в дизельное топливо, этанол или газ. Источником энергетического сырья могут быть побочные продукты растительного происхождения (солома, подсолнечная лузга, стебли кукурузы и др.), ежегодные отходы которых составляют до 50 млн т в России. В агропромышленном производстве одним из источников для производства биомассы как целлюлозосодержащего сырья является культура из семейства злаковых (Poaceae) мискантус китайский, или веерник (*Miscanthus sinensis* Andersson) (Шумный и др., 2010). В Институте цитологии и генетики СО РАН в 2006 г. выведена авторская форма мискантуса – сорт Сорановский, она рассматривается как альтернативное древесине легковозобновляемое сырье для производства биотоплива – этанола.

Производство биоэтанола второго поколения – биоэтанола из целлюлозосодержащего сырья – с экономической точки зрения является дорогостоящим, так как предобработка биомассы включает и физические, и химические и термобарические воздействия, цель которых максимизировать воздействие на химические связи биомассы. Целлюлозосодержащее сырье представляет собой прочную матрицу, образованную целлюлозой и гемицеллюлозой и скрепленную лигнином; взаимосвязь этих компонентов обуславливает устойчивость матрицы ко всем внешним воздействиям, поэтому для ее деструкции применяют комбинаторные способы. Предобработка необходима для повышения доступности целлюлозы и гемицеллюлозы к действию гидролитических ферментов и получения высокой степени конверсии данных полимеров в сахара.

Ферментативные превращения растительной биомассы в раствор сахаров, проводимые после химической предобработки сырья, и последующее биохимическое превращение сахаров в этанол активно изучаются во всем мире (Brosse *et al.*, 2009; Somerville *et al.*, 2010; Jordan *et al.*, 2012). Наибольшее количество исследований посвящено именно стадии химической предобработки. Достаточно большая серия работ проводится с целью оптимизации стадии ферментативного гидролиза (создание как новых ферментных комплексов, так и технологических условий ферментализации). Недостатками таких опытов являются низкие

концентрации субстратов (следовательно, получение разбавленных растворов сахаров – 30 г/л), а также использование ацетатного буфера для проведения ферментализации (следовательно, получение питательной среды, изначально непригодной для метаболизма дрожжей и биосинтеза этанола). Видимо, этим можно объяснить сравнительно небольшое число публикаций, посвященных получению биоэтанола, при этом авторы избегают детального указания технологических режимов производства. В России получение биоэтанола из мискантуса не описано, несмотря на то что такая возможность рассматривалась.

В ИПХЭТ СО РАН биоконверсия биомассы мискантуса в топливо осуществляется по следующей схеме, приведенной на рис. 1.

Стадии химической предобработки и ферментативного гидролиза были детально описаны и описаны нами ранее. В данной работе эти стадии изучены и представлены в оптимальных режимах, позволяющих получить высокий выход целевых полупродуктов (технической целлюлозы (ТЦ) мискантуса, ферментативного водного гидролизата ТЦ мискантуса). Целью работы являлось изучение некоторых биотехнологических аспектов превращения редуцирующих сахаров ферментативных гидролизатов мискантуса в биоэтанол.



Рис. 1. Принципиальная технологическая схема получения биоэтанола из биомассы мискантуса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Полный эксперимент по получению спирта (ферментативный гидролиз, сбраживание полученных гидролизатов) был проведен в трех повторностях, средние значения которых приведены в данной работе.

В качестве сырья для получения биоэтанола использовался мискантус *Miscanthus sinensis* Andersson, веерник китайский сорта Сорановский (возраст плантации – 9 лет), выращенный ИЦиГ СО РАН в Новосибирской области и предоставленный в ИПХЭТ СО РАН для исследований по междисциплинарному проекту № 73. Техническая целлюлоза из мискантуса была получена на опытном производстве ИПХЭТ СО РАН азотнокислым способом (АС), который заключается в варке сырья в разбавленном растворе азотной кислоты при атмосферном давлении с последующей обработкой разбавленным раствором гидроксида натрия (Будаева и др., 2013; Гисматулина и др., 2013).

Ферментативный гидролиз влажной ТЦ проводился в реакторе общим объемом 11 л (Павлов, 2014) мультиэнзимной композицией, состоящей из доступных на рынке ферментных препаратов: «Брюзайм ВГХ», «Целлолюкс-А» и «Рапидаза ЦР» в количестве 0,04 г/г субстрата. Особенностью процесса является проведение его не в ацетатном буфере, а в водной среде (Скиба и др., 2012).

Ферментативный гидролизат представлял собой коричнево-желтую мутноватую жидкость с характерным кисловатым запахом мискантуса. Полученный после ферментализации гидролизат отфильтровывался, дополнительно в него вносился сульфат аммония в количестве 10 г/л, гидролизат пастеризовался при температуре 100 °С, без выдержки, охлаждался и направлялся на сбраживание с помощью штамма *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ У-1693 (ФГУП «ГосНИИГенетика», г. Москва). Штамм был выделен из ферментера Котласского целлюлозно-бумажного комбината и использовался для производства этанола на гидролизатах древесины. Особенностью штамма является его устойчивость к вредным примесям гидролизатов. Брожение осуществлялось в анаэробных условиях при температуре 28 °С периодическим способом.

Концентрацию редуцирующих веществ (РВ) определяли спектрофотометрически с помощью реактива 3,5-динитросалициловой кислоты (спектрофотометр «UNICO» UV-2804, США) в пересчете на глюкозу. Активная кислотность измерялась потенциометрически (рН-метр Cheset-1). Объемную долю спирта в бражке определяли ареометром в дистилляте, полученном перегонкой спирта из бражки (ГОСТ Р 51135-98-2003, 2003). Этанол из бражки был сконцентрирован методом простой перегонки, и дополнительной очистки не проводилось.

Теоретическая концентрация этанола рассчитана по стехиометрическому уравнению брожения, а выход этанола – как отношение экспериментальной концентрации этанола к теоретической. Экономический коэффициент брожения $Y_{P/S (PB)}$ представляет собой отношение концентрации продукта (этанола) к концентрации РВ в ферментативном гидролизате.

Анализ этанола выполнен методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) (ГОСТ Р 51786-2001, 2001) на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором «Кристалл 2000М» фирмы «СКБ Хроматэк» (г. Йошкар-Ола, Россия). Условия эксперимента: колонка газохроматографическая капиллярная ZB-FFAP (США) 50 м × 0,32 мм × 0,52 мкм, температура детектора 220 °С, температура испарителя 190 °С, выдержка пробы при температуре 77 °С длительностью 6 мин 30 с, затем – нагрев со скоростью 10 °С/мин до температуры 210 °С, выдержка 15 мин, коэффициент деления потока 40 : 1, газ-носитель – азот сжатый, давление газа-носителя (азота) – 77 кПа, соотношение воздух – водород равно 250 : 25; построение калибровочного графика по градуировочным смесям – государственным стандартным образцам; расход газа (сброс) – 30 мл/мин, расход газа (поддув в ПИД) – 30 мл/мин, расход газа (водород в ПИД) – 20 мл/мин, расход газа (воздух ПИД) – 200 мл/мин, объем пробы – 1 мкл.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе рассматриваются некоторые аспекты стадии спиртового брожения на среде ферментативного гидролизата мискантуса.

Известно, что гидролизные среды целлюлозо-зосодержащего сырья не являются полноценной

средой для культивирования дрожжей, так как в них недостаточное содержание азотных и фосфорных соединений, отсутствуют витамины и стимуляторы роста и могут содержаться вредные примеси, снижающие биологическую доброкачественность сред. Однако ферментативные гидролизаты получают в мягких условиях, поэтому в них ниже концентрация либо отсутствуют некоторые вредные примеси (фурфурол, метанол, формальдегид, терпены, оксиметилфурфурол, летучие кислоты).

Устойчивость штамма Y-1693 определялась длительным культивированием на среде ферментативного гидролизата мискантуса в течение трех месяцев. Гидролизная среда стерилизовалась при 0,5 атм в течение 30 мин, и после проверки стерильности в нее вносилось 5 масс. % засевных дрожжей, находящихся в экспоненциальной фазе развития и имеющих следующие характеристики: общее количество – 158,5 КОЕ/мл; из них 19 % почкующихся, 70 % упитанных и 1 % мертвых. После внесения дрожжей среды были стерильно разлиты в стеклянные химические пробирки по 10 мл в каждую и закрыты ватно-марлевыми пробками. С целью исключения возможности инфицирования для проведения текущих анализов каждый раз отбиралась одна пробирка.

При культивировании штамма в течение 80 суток снижения общего количества дрожжевых клеток не наблюдалось (рис. 2), затем их численность медленно снижалась.

Можно сделать вывод, что дрожжи достаточно устойчивы к гидролизным средам, что указывает на высокое качество ферментативного водного гидролизата ТЦ мискантуса. Хорошее

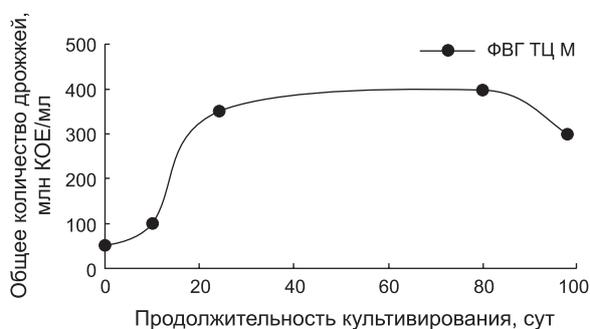


Рис. 2. Зависимость общего количества дрожжей от продолжительности культивирования на ферментативном водном гидролизате (ФВГ).

морфофизиологическое состояние дрожжей косвенно говорит об отсутствии в среде вредных примесей, характерных для химических гидролизатов.

Нативная активная кислотность ферментативного гидролизата ТЦ составляет 4,5–4,7 ед. рН, это же значение рекомендовано для получения этанола из зернокартофельного сырья (Яровенко и др., 1999). Для жизнедеятельности дрожжей максимально комфортным является рН 5,5 (Яровенко и др., 1999). Для получения гидролизного спирта из недревесного сырья рекомендован рН 3,9 (Шарков и др., 1973). Данные трех вариантов были изучены на ферментативном водном гидролизате ТЦ мискантуса с концентрацией редуцирующих веществ 51 г/л. Доза засевных дрожжей в данных экспериментах составила 5 %.

Во всех вариантах процесс брожения закончился через трое суток, о чем свидетельствуют и убыль РВ (глюкозы), и прирост объемной доли этанола (рис. 3). В варианте с рН 3,9 получен минимальный выход этанола (33 %), что можно связать с изначально неблагоприятной для жизнедеятельности дрожжей активной кислотностью. При рН ферментативного гидролизата 4,5–5,5 численность популяции возросла в три раза (с 13 до 36–39 млн КОЕ/мл) и не изменялась до конца опыта.

Активная кислотность среды 4,5 ед. рН позволяет получить максимальный выход этанола – 1,7 об. %, или 51,5 % от теоретического. Низкий выход этанола может быть связан с несбалансированным составом питательной среды либо с нецелевым использованием сахаров среды на рост популяции дрожжей или на эндогенный метаболизм.

Для исключения версии о нецелевом использовании сахаров в следующем опыте варьировали дозировку инокулята: 5, 10, 15 и 20 %. Использован гидролизат с концентрацией РВ 58 г/л, в который дополнительно вносился сульфат аммония в количестве 10 г/л. С повышением дозировки инокулята процесс брожения ускоряется: при дозировке 20 % брожение проходит за 24 ч, при 15 % и 20 % – через 3 суток, при 5 % половина РВ остаются несброженными (рис. 4). Численность клеток в процессе брожения не изменялась и соответствовала количеству дрожжей, внесенных с инокулятом –

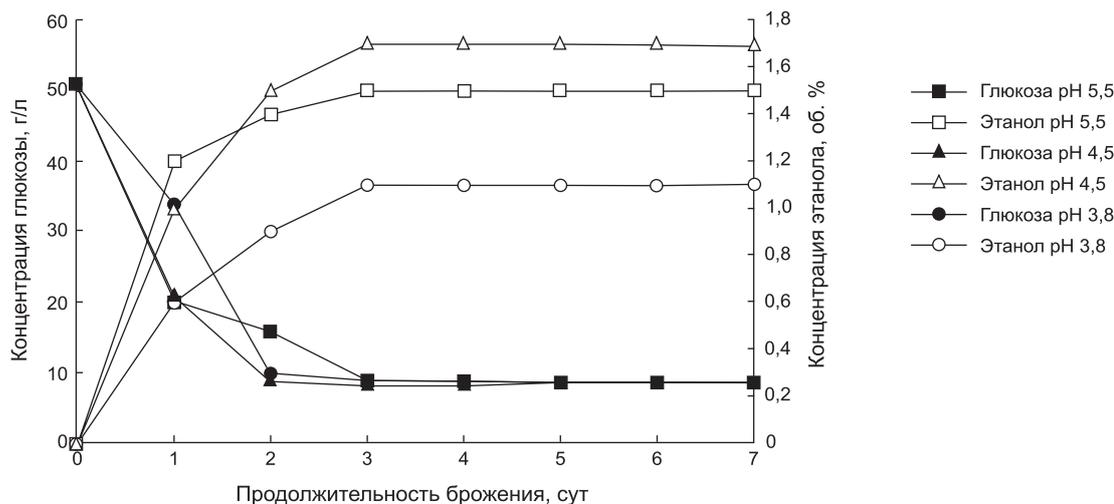


Рис. 3. Зависимость концентрации РВ и объемной доли этанола от продолжительности брожения при различной активной кислотности сред.

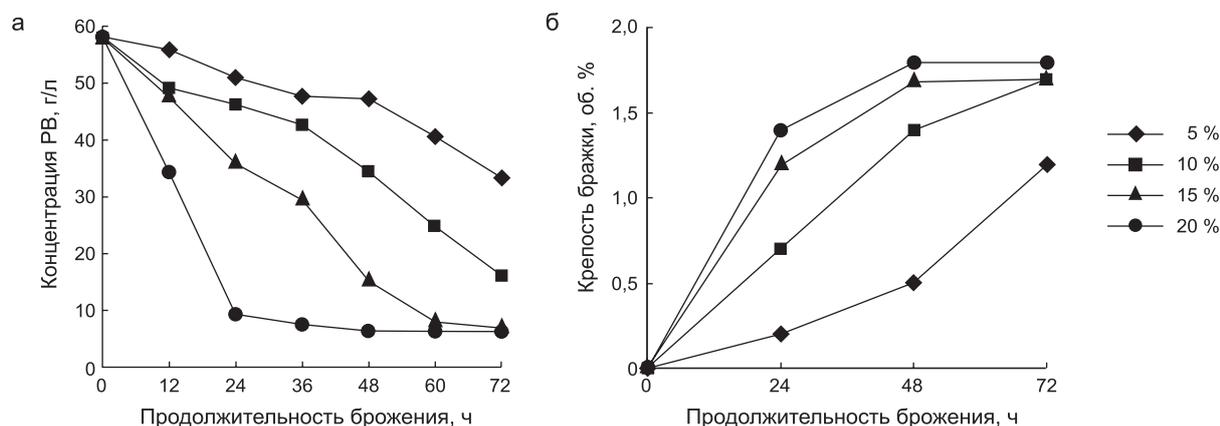


Рис. 4. Зависимость концентрации РВ (а) и объемной доли этанола (б) от продолжительности брожения при различной дозировке инокулята.

14 млн КОЕ/мл для дозировки инокулята 5 %; 28 млн КОЕ/мл – для дозировки 10 % и т. д. Это свидетельствует о недостатке в среде витаминов и аминокислот.

Таким образом, повышение дозировки инокулята приводит к повышению выхода этанола за счет использования ресурсов жизнеспособных клеток. Но при этом клетки не размножаются, а выход этанола низкий: 33, 46, 46 и 49 % в четырех вариантах соответственно, что также говорит о несбалансированности питательной среды.

Далее был проведен опыт с добавлением в среду 1 %-го сухого дрожжевого экстракта в качестве источника аминокислот и витаминов. Это позволило сократить продолжительность брожения до 24 ч при дозировке инокулята 5

и 10 % и до 12 ч – при дозировке 15 и 20 %. В процессе брожения численность дрожжей увеличивается приблизительно в два раза, а концентрация этанола в бражке повышается до 2,3 об. %, что соответствует 63 % от теоретического. Экономический эффект брожения составил 0,406. При сравнении показателей брожения на средах без добавления факторов роста (дрожжевого экстракта) и средах с их добавлением можно увидеть, что с внесением факторов роста выход этанола повышается на 14–33 % и уже не зависит от дозировки инокулята.

Таким образом, можно сделать вывод, что среда ферментативного водного гидролизата мискантуса не содержит технологически вредных примесей для жизнедеятельности дрож-

жей и спиртового брожения и не нуждается в дополнительных обработках для их удаления (перегонка под вакуумом для освобождения от фурфурола, фильтрование с углем и т. п.). Однако среда не является полноценной для метаболизма дрожжей, что можно исправить добавлением 1 % дрожжевого экстракта, при этом в условиях периодического брожения достаточно вносить 10 % засевных дрожжей, находящихся в экспоненциальной фазе развития.

Усредненные результаты анализа опытных образцов этанола, выполненного методом газожидкостной хроматографии, представлены в таблице в сравнении с нормативами на этиловый спирт-сырец из пищевого сырья (ГОСТ Р 52193-2003, 2003) и спирт этиловый технический (ГОСТ 17299-78, 1978).

В опытном образце объемная доля метанола крайне мала и составляет 0,0007–0,02 %, что меньше порога в 0,13 об. %, регламентированного для спирта-сырца из всех видов пищевого сырья (за исключением мелассы). Такие результаты можно объяснить исходным химическим составом сырья, так как в ТЦ мискантуса не было пентозанов, которые в процессе метабо-

лизма дрожжей могут синтезировать метиловый спирт.

Массовая концентрация сивушного масла в опытных образцах значительно ниже, чем в спирте-сырце из пищевого сырья (1602 мг/дм³ против 5000 мг/дм³), что можно объяснить отсутствием белков и пептидов в опытных гидролизатах ТЦ.

В опытном образце довольно высокая концентрация альдегидной фракции, а также в следовых количествах обнаружены ацетон, 2-бутанон, идентифицирующие этанол как непивной (ГОСТ Р 51786-2001, 2001). Концентрация эфиров в опытном образце достаточно низка – соответствует требованиям спирта-сырца из мелассы. Так как очистка опытных образцов не производилась, то косвенно низкая концентрация эфиров может указывать на чистоту культуры дрожжей при брожении и благоприятные условия для биосинтеза этанола.

Приведенные в таблице результаты анализа примесей опытных образцов биоэтанола их мискантуса дают основания предположить, что после ректификации будет получен спирт высокого качества. Таким образом, ферментативный

Таблица

Содержание примесей в этиловом спирте из непивной сырья и опытном образце биоэтанола из мискантуса

Образцы		Показатель			
		Массовая концентрация альдегидов в пересчете на безводный спирт, мг/дм ³	Массовая концентрация сивушного масла в пересчете на безводный спирт, мг/дм ³	Массовая концентрация эфиров в пересчете на безводный спирт, мг/дм ³	Содержание метанола в пересчете на безводный спирт, об. %
Этиловый спирт-сырец из пищевого сырья	Спирт-сырец из всех видов сырья (за исключением мелассы) или их смеси	< 300	< 5000	< 500	0,13
	Спирт-сырец из мелассы	< 500	< 5000	< 700	–
Спирт этиловый технический	марки А ОКП 91 8213 1100	< 200	< 500	< 80	< 0,1
	марки Б ОКП 91 8213 1200	< 350	< 1000	< 180	< 0,1
Опытный образец биоэтанола из мискантуса	Этанол из ТЦ АС	700–1000	1600–2600	300–1100	0,0007–0,02

гидролиз целлюлозосодержащего сырья позволяет получать этанол с принципиально лучшими характеристиками, чем кислотный гидролиз.

По результатам представленной работы можно сделать следующие выводы:

1) дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* штамма ВКПМ У-1693 устойчивы к среде ферментативного водного гидролизата мискантуса, их хорошее морфологическое состояние указывает на отсутствие в средах вредных примесей, характерных для кислотных химических гидролизатов;

2) для биосинтеза этанола на среде ферментативного гидролизата ТЦ мискантуса оптимальной является нативная активная кислотность гидролизата – 4,5–4,7 ед. рН;

3) добавление 1 % дрожжевого экстракта позволяет сделать среду ферментативного водного гидролизата ТЦ мискантуса полноценной, при этом в условиях периодического брожения достаточно вносить 10 % засеваемых дрожжей, находящихся в экспоненциальной фазе развития;

4) ферментативный способ гидролиза ТЦ мискантуса позволяет получать биоэтанол с низким содержанием эфиров и сивушных масел (установлено методом ГЖХ). Метанол в биоэтаноле из мискантуса отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

Аблаев А.Р. Большая нефть и биотопливо // Биотехнология. 2011. № 3. С. 8–14.

Агеев Л.М., Корольков С.И. Химико-технический контроль и учет гидролизного и сульфитно-спиртового производства. М.; Л.: Гослесбумиздат, 1953. 403 с.

Будаева В.В., Гисматулина Ю.А., Золотухин В.Н., Сакович Г.В., Вепрев С.Г., Шумный В.К. Показатели качества целлюлозы, полученной азотнокислым способом в лабораторных и опытно-промышленных условиях из мискантуса // Ползунов. вестник. 2013. № 3. С. 162–168.

Булаткин Г.А., Митенко Г.В. Перспективная энергетическая культура – мискантус китайский // Экол. вестн. России. 2013. № 7. С. 31–36.

Гисматулина Ю.А., Будаева В.В. Химический состав российского мискантуса и качество целлюлозы, полученной из него // Химия в интересах устойчивого развития. 2013. Т. 21. № 5. С. 539–544.

ГОСТ Р 51135-98-2003. Изделия ликероводочные. Правила приемки и методы анализа. Технические требования. Введ. 1998-03-02. М.: ИУС, 2003. 116 с.

ГОСТ Р 51786-2001. Водка и спирт этиловый из пищевого сырья. Газохроматографический метод определения подлинности. М.: Изд-во стандартов, 2001. 8 с.

ГОСТ Р 52193-98-2003. Спирт этиловый-сырец из пищевого сырья. Технические условия. М.: Изд-во стандартов, 2005. 4 с.

ГОСТ 17299-78. Спирт этиловый технический. Технические условия. М.: Изд-во стандартов, 1978. 4 с.

Кузнецова О.Ю. Современные аспекты развития бионано- и/или нанобиотехнологии // Вестн. Казан. технол. ун-та. 2013. Т. 16. № 3. С. 156–163.

Павлов И.Н. Установка для исследования биокаталитического превращения продуктов переработки недревесного сырья // Катализ в промышленности. 2014. № 1. С. 66–72.

Скиба Е.А., Будаева В.В., Павлов И.Н., Макарова Е.И., Золотухин В.Н., Сакович Г.В. Получение ферментативных гидролизатов технических целлюлоз мискантуса и их спиртовое брожение // Биотехнология. 2012. № 6. С. 42–52.

Шарков В.И., Сапотницкий С.А., Дмитриева О.А. Технология гидролизных производств. М.: Лесн. пром-сть, 1973. 408 с.

Шумный В.К., Колчанов Н.А., Сакович Г.В., Пармон В.Н., Вепрев С.Г., Нечипоренко Н.Н., Горячковская Т.Н., Брянская А.В., Будаева В.В., Железнов А.В., Железнова Н.Б., Золотухин В.Н., Митрофанов Р.Ю., Розанов А.С., Сорокина К.Н., Слынько Н.М., Яковлев В.А., Пельтек С.Е. Поиск возобновляемых источников целлюлозы для многоцелевого использования // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2010. Т. 14. № 3. С. 569–578.

Яровенко В.Л., Маринченко В.А., Смирнов В.А. Технология спирта. М.: Колос, 1999. 464 с.

Brosse N., Sannigrahi P., Ragauskas A. Pretreatment of *Miscanthus × giganteus* using the ethanol organosolv process for ethanol production // Ind. Eng. Chem. Res. 2009. V. 48. P. 8328–8334.

Jordan D.B., Bowman M.J., Braker J.D., Dien B.S., Hector R.E., Lee C.C., Mertens J.A., Wagschal K. Plant cell walls to ethanol // Biochem. J. 2012. No. 442. P. 241–252. DOI:10.1042/BJ20111922.

Somerville C., Youngs H., Taylor C., Davis S.C., Long S.P. Feedstocks for lignocellulosic biofuels // Science. 2010. V. 329. P. 790–792.

BIOTECHNOLOGICAL VIEW OF ETHANOL BIOSYNTHESIS FROM MISCANTHUS

O.V. Baibakova, E.A. Skiba

Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies,
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Biysk, Russia,
e-mail: ipcet@mail.ru, olka_baibakova@mail.ru

Summary

It is demonstrated that *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693 yeast (RNCIM) is recalcitrant to aqueous enzymatic *Miscanthus* hydrolysate. Its good condition indicates that the media have no detrimental impurities characteristic of acid chemical hydrolyzates. Ethanol biosynthesis from enzymatic *Miscanthus* cellulose hydrolysate occurs best at native active pH 4,5–4,7 pH. Addition of 1 % yeast extract makes the medium of aqueous enzymatic hydrolyzate of *Miscanthus* cellulose complete. Moreover, in batch fermentation it is sufficient to introduce 10 % yeast inoculum in the log phase of growth. As shown by gas-liquid chromatography, enzymatic digestion of *Miscanthus* cellulose yields ethanol with low contents of esters and fusel oils. *Miscanthus* bioethanol is free of methanol.

Key words: *Miscanthus*, Soranovskii variety, enzymatic digestion, cellulose, *Saccharomyces cerevisiae* Y-1693, strain, bioethanol.