

УДК 579.66 + 663.18

ПРЕИМУЩЕСТВА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СПОСОБОВ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО СЫРЬЯ В ЦЕННЫЕ ПРОДУКТЫ

Н.В. Лакина, А.И. Петрова, В.Г. Матвеева, И.П. Шкилева

Тверской государственный технический университет, г. Тверь

Рассмотрены биотехнологические способы преобразования лигноцеллюлозного сырья, а также применение этих способов для получения биологически ценных веществ. Описаны преимущества и недостатки ферментативного гидролиза с помощью ферментов, выделенных из специфических микроорганизмов торфа.

Ключевые слова: ферментативный гидролиз, лигноцеллюлозное сырье, биотрансформация, ферменты.

Актуальным направлением биотехнологии является изучение способов экономически выгодного способа биотрансформации лигноцеллюлозного сырья с целью получения ценных продуктов, например биотоплива. Необходимым сырьем для биотоплива является глюкоза. В настоящее время большинство научных исследований направлено на получение глюкозы из возобновляемых источников сырья: торфа, древесных опилок. Поэтому актуальным является проблема предобработки такого сырья для получения целлюлозы, способной гидролизоваться до глюкозы. Целлюлоза гидролизуется до глюкозы двумя основными способами: химическим и ферментативным. Основу химического гидролиза составляет реакция, изображенная на схеме (рис. 1).

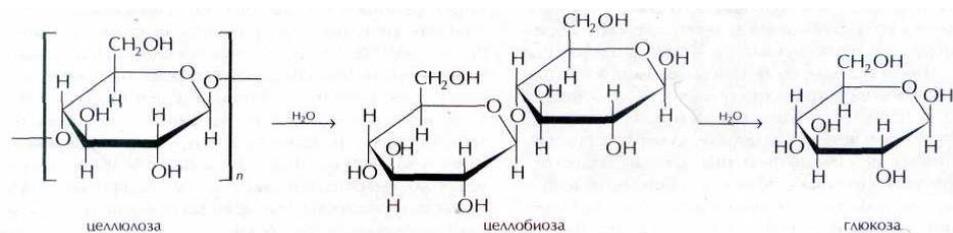


Рис 1. Схема химического гидролиза целлюлозы

При кислотном гидролизе катализатором служит протон (H^+). Чем больше концентрация протонов, тем быстрее идет процесс гидролиза, поэтому в качестве катализаторов применяют сильные минеральные кислоты, чаще всего серную (H_2SO_4) или соляную (HCl).

Данная реакция протекает под действием кислот, поэтому остро стоит проблема, связанная с утилизацией отходов [1]. При использовании ферментативного гидролиза лигноцеллюлозного сырья нужно добиться получения высокоактивных ферментных препаратов, активировать исходные субстраты, а также выбрать оптимальные параметры процесса ферментации. Наиболее эффективен метод ферментативного гидролиза. Его преимущество основывается на использовании экологически чистых технологий, включающих в себя природные процессы и механизмы преобразования веществ ферментами микробного происхождения. Механизм ферментативного гидролиза чуть-чуть сложнее химического, но в отличие от химического гидролиза дает возможность селективно проводить гидролиз и препятствует образованию большого количества побочных веществ и отходов.

Ферментативное разложение целлюлозы на составные ее компоненты происходит под действием не отдельных ферментов, а полиферментных систем (схема 2). Ферменты, которые входят в состав этих систем, имеют определенную специализацию: некоторые эффективно гидролизуют «внутренние» гликозидные связи между моносахаридными остатками, которые удалены от концов полисахарида (их называют эндоферменты); другие предпочитают разрушать «внешние» гликозидные связи, которые находятся на концах полисахаридной молекулы (экзоферменты). Глюкозидазы проводят гидролиз гликозидных связей ди- и олигосахаридов (Рис. 2).

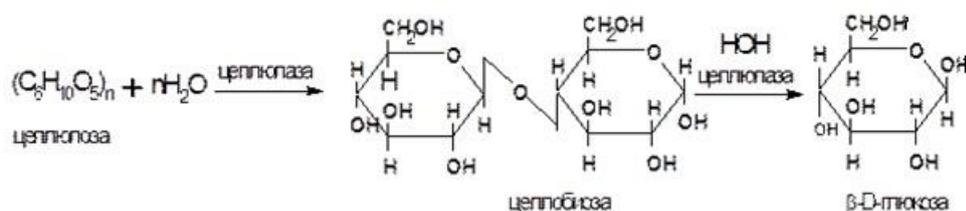


Рис. 2. Схема ферментативного гидролиза целлюлозы

Целлюлозный комплекс состоит в основном из четырех типов ферментов: эндо-1,4-β-глюканазы, экзо-1,4-β-глюкозидазы, экзо-1,4-β-глюканазы (экзоцеллобиогидролазы) и целлобиазы (β-глюкозидазы). Глубокий гидролиз целлюлозы происходит под действием полиферментной системы (полиферментного целлюлозного комплекса), которая состоит из эндо-и экзополимераз и β-глюкозидаз.

Первыми в процесс разрушения структуры целлюлозы вступают эндоглюконазы. Это приводит к разрыву полимерной цепи и соответствующему образованию двух новых концов в укороченной молекуле целлюлозы, которые в свою очередь могут атаковаться экзоферментами. Экзоферменты, действующие на частично

расщепленную целлюлозу, представлены в целлюлозных комплексах двумя видами: одни отщепляют от концов сразу конечный продукт (глюкозу), а другие – целлобиозу (димер глюкозы). Первый тип экзофермента называется экзоглюкозидазой, второй – экзоцеллобиогидролазой. Затем целлобиоза расщепляется пополам, образуя две молекулы глюкозы под действием последнего фермента целлюлозного комплекса – целлобиазы.

Большое число микроорганизмов продуцируют ферменты, гидролизующие β -связанные глюканы. К этим ферментам относятся эндоглюканызы, целлобиогидролазы и β -глюкозидазы. Эндоглюканызы расщепляют целлюлозный полимер в случайных положениях, делая его доступным для воздействия целлобиогидролаз. Целлобиогидролазы последовательно высвобождают молекулы целлобиозы с концов целлюлозного полимера. Целлобиоза представляет собой водорстворимый димер глюкозных остатков, связанных β -1,4-связью; β -глюкозидазы гидролизуют целлобиозу до глюкозы. Глубокий гидролиз целлюлозы осуществляется в результате согласованного действия полиферментной системы [2; 3]. В работах [4–6] изучены возможности улучшения гидролитической способности секреторного ферментного комплекса *Penicillium verruculosum* с помощью добавления к нему методики генетической инженерии гомологичных и гетерологичных целлюлаз в различных комбинациях и соотношениях: эндоглюканызы IV (EGIV) *Trichoderma reesei*, эндоглюканызы II (EGII) и целлобиогидролазы I (CBHI) *P. verruculosum*, а также бета-глюкозидазы (β -GLU). Определено оптимальное соотношение компонентов и, таким образом, достигнуто увеличение каталитической активности новых ферментных комплексов-биокатализаторов до двух раз. В работах [7–8] проведено исследование эффективности применения биокатализатора в процессе гидролиза лигноцеллюлозного сырья на основе рекомбинантных ферментных препаратов, полученных с использованием гриба *Penicillium verruculosum*. В исследовании [9] оценено влияние обработки целлюлазным комплексом на структурно-морфологические характеристики и состояние поверхности целлюлозных волокон. Показано, что целлюлоза после биокаталитического воздействия обладает улучшенной способностью к размолу и связеобразованию в листе бумаги, имеет более высокие показатели прочности по сравнению с исходной целлюлозой. Применение ферментативной модификации целлюлозы при реализации биотехнологических процессов в бумажной промышленности позволит решить ряд задач энерго- и ресурсосбережения [10–12].

Гидролитическая трансформация биомассы чаще всего производится при помощи микроорганизмов, таких, как *Trichoderma viride*, *Aspergillus terreus* при температуре 35–45 °С, при этом процесс может проводиться на протяжении 3–30 дней, а степень гидролиза

сырья составляет 75–80 % [13]. Благодаря ферментативному расщеплению целлюлозы получается гидролизат, большую часть которого составляет глюкоза. В зависимости от степени очистки этот гидролизат может применяться для пищевых, медицинских целей. Также раствор с глюкозой может быть использован в качестве субстрата для различных микроорганизмов-продуцентов биологически активных веществ, в том числе для микроорганизмов, осуществляющих сбраживание глюкозы в этанол.

Список литературы

1. Будаева В.В., Митрофанов Р.Ю., Золотухин В.Н. и др. // Ползуновский вестник. 2008. № 3. С. 322–327.
2. Пат. 2432368 РФ МПК C12P7/10, A23K1/06. Способ превращения целлюлозного материала в этанол/ Хольм Кристенсен Берге, Герлах Лена Хольм. № 2008106242/05; заявл. 27.08.2009; опубл. 27.10.2011, Бюл. № 30. 33 с.
3. Пат. 2518305 РФ МПК C12P19/00, C12P7/10, C12N9/14, C12N9/42, C13K1/02.Способ обработки лигноцеллюлозного материала/ Ю Ксуефен, Ли Жихон, Ю Минхуа, Яо Жуань, Ли У Дайву, Лей Жинчен, Ли Жижун № 2012118496/10; заявл. 10.11.2013; опубл. 10.06.2014, Бюл. № 16. 12 с.
4. Alonso D.M., Wettstein S.G., Dumesic J.A. // Chem. Soc. Rev. 2012. Т. 41, № 24. P. 8075–8098.
5. Achmetzjanov A.M., Gavrilov V.I. // Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol. 2009. V. 52, № 11. P. 119–122.
6. Gubina S.M., Stokosenko V.G. // Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol. 2008. V. 51, № 5. P. 75–77.
7. Синицын А.П., Короткова О.Г., Синицына О.А. и др. // Катализ в промышленности. 2015. Т. 15, № 6. С. 78–83.
8. Скиба Е.А., Будаева В.В., Байбакова О.В. и др. // Катализ в промышленности. 2015. Т. 15, № 6. С. 70–77.
9. Синицын А.П., Рожкова А.М., Синицына О.А. и др. // Катализ в промышленности. 2015. Т. 15, № 5. С. 84–89.
10. Синицын А.П., Скомаровский А.А., Чекушина А.В. и др. // Катализ в промышленности. 2015. Т. 15, № 5. С. 74–77.
11. Будаева В.В., Скиба Е.А., Байбакова О.В. и др. // Катализ в промышленности. 2015. Т. 15, № 5. С. 60–66.
12. Новожилов Е.В., Синельников И.Г., Аксенов А.С. и др. // Катализ в промышленности. 2015. Т. 15, № 5. С. 78–83.
13. Проскурина О.В., Короткова О.Г., Рожкова А.М.и др. // Катализ в промышленности. 2013. № 6. С. 73–80.

ADVANTAGES OF BIOTECHNOLOGICAL METHODS FOR CONVERSION OF LIGNOCELLULOSIC MATERIALS TO VALUABLE PRODUCTS

N.V. Lakina, A.I. Petrova, V.G. Matveeva, I.P. Shkileva

Tver State Technical University, Tver

The article deals with biotechnological methods of converting lignocellulosic raw materials, as well as the use of these methods for the production of biologically valuable substances. The advantages and disadvantages of the enzymatic hydrolysis with enzymes different microorganisms.

Keywords: *enzymatic hydrolysis, lignocellulosic materials, biotransformation, enzymes.*

Об авторах:

ЛАКИНА Наталия Валерьевна – кандидат химических наук, доцент кафедры биотехнологии и химии, Тверской государственной технической университет (ТГТУ), e-mail: lakina@yandex.ru

ПЕТРОВА Алена Игоревна – магистрант кафедры биотехнологии и химии, ТГТУ, e-mail: alenkapet08@rambler.ru

МАТВЕЕВА Валентина Геннадьевна – доктор химических наук, профессор кафедры биотехнологии и химии, ТГТУ, e-mail: matveeva@yandex.ru

ШКИЛЕВА Ирина Павловна – кандидат химических наук, доцент кафедры биотехнологии и химии, ТГТУ, e-mail: shkileva@yandex.ru