ФИЗИОЛОГИЯ И ЭКОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ, МИКОЛОГИЯ
PHYSIOLOGY AND ECOLOGY OF THE PLANT, MYCOLOGY

УДК 582.284: 577.151.52 DOI: 10.5281/zenodo.15010867 EDN: ZDUYWY

©О. В. Чемерис

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ СОЛОМЫ ПШЕНИЦЫ И ЯЧМЕНЯ ПРЕПАРАТОМ ЦЕЛЛЮЛАЗ ГРИБА *IRPEX LACTEUS* (FR.) FR.

ФГБОУ ВО «Донецкий государственный университет»
Россия, 283050, ДНР, г. Донецк, ул. Щорса, 46

Чемерис О. В. **Ферментативный гидролиз соломы пшеницы и ячменя препаратом целлюлаз гриба *Irpex lacteus* (Fr.) Fr.** – В лабораторных условиях показана возможность осуществления ферментативного гидролиза пшеничной и ячменной соломы препаратом целлюлаз штамма *Irpex lacteus* (Fr.) Fr. 2434. Определены оптимальные условия ферментативного гидролиза как пшеничной, так и ячменной соломы. Показана эффективность применения ферментного препарата грибных целлюлаз в дозировке 10 мг/г субстрата.

Ключевые слова: ферментный препарат целлюлаз, пшеничная солома, ячменная солома, *Irpex lacteus.*

Введение

Биоконверсия предусматривает превращение отходов растениеводства в биотопливо [17], кормовые и пищевые продукты [4], полупродукты для химической и микробиологической промышленности [6, 11, 8]. В качестве потенциального сырья для производства моно- и полисахаридов и этанола можно рассматривать широкий круг лигноцеллюлоз, включая растительные отходы агропромышленного комплекса.

Перспективным методом переработки растительной биомассы является ферментативный гидролиз, проводимый при более мягких условиях, что позволяет получить достаточно высокий выход сбраживаемых сахаров [7]. Однако эффективность данного процесса ограничивается наличием в целлюлозосодержащем сырье таких биополимеров как лигнин, гемицеллюлоза, пектины. Для увеличения реакционной способности субстрата используют различные методы предварительной обработки – высокотемпературный и кислотный гидролиз [3, 13], озонирование [1], СВЧ-энергию [5]. Применение высоких температур и кислот может привести к накоплению побочных продуктов, ингибирующих реакции ферментативного гидролиза. Кроме того, применение высоких температур экономически невыгодно из-за высокого удельного расхода электроэнергии, а применение кислот сопряжено с затратами на их нейтрализацию. Поэтому использование комплексных ферментных препаратов для гидролиза целлюлозы является экологически безопасным и экономически обоснованным.

Солома злаковых культур – крупнотоннажный, доступный и перспективный вторичный лигноцеллюлозный ресурс сельскохозяйственного производства [14]. Одно из первых мест по объему переработки в гидролизной промышленности занимает пшеничная солома. При высокотемпературном гидролизе соломы с минеральными кислотами получают гидролизаты с высоким содержанием моно-, олиго- и полисахаридов [13]. Однако под воздействием кислот и температуры возможны необратимые процессы деструкции углеводов и инактивация некоторых биокатализаторов. Ферментативный гидролиз соломы позволяет в более мягких условиях по сравнению с химическим процессом получить высокий выход глюкозы [7]. Процесс ферментативного гидролиза растительной биомассы высокочувствителен к режимным параметрам – температуре, pH среды и концентрации фермента [12]. В связи с чем поиск низкозатратных и эффективных методов предварительной обработки растительного сырья является актуальной задачей биотехнологии.

Целью данной работы являлось исследование особенностей ферментативного гидролиза соломы пшеницы и ячменя целлюлазами штамма *Irpex lacteus* (Fr.) Fr. 2434.

Материал и методы исследования

Исследование ферментативного гидролиза соломы злаковых культур проводили с использованием препарата внеклеточных целлюлаз штамма *I. lacteus* 2434, который проявляет эндоглюканазную (117,16 Ед./мг белка) и целлобиазную (5,37 Ед./мг белка) активность [15, 16]. Пшеничную и ячменную солому предварительно высушивали и измельчали с помощью бытовой кофемолки и просеивали через сито с размером частиц менее 1 мм.

Гидролиз растительного сырья проводили при 45 °С и pH цитратно-фосфатного буфера от 4,0 до 5,5 с шагом pH 0,5. Реакционная смесь состояла из 150 мг растительного материала, 1,5 мл 0,1 М цитратно-фосфатного буфера, 0,5 мл раствора ферментного препарата (5 мг и 10 мг белка на 1 г субстрата) и 10 мг тетрациклина для предупреждения микробной контаминации. Отборы проб осуществляли через 24 и 48 ч и определяли содержание восстанавливающих сахаров (ВС) в гидролизатах в перерасчете на глюкозу методом Шомодьи-Нельсона [2, 10, 18], а содержание глюкозы – глюкозооксидазным методом с использованием наборов реагентов для определения глюкозы в биологических жидкостях («Агат», Россия).

Исследования проводили в трехкратной повторности. Статистическую обработку полученных данных осуществляли методом дисперсионного анализа, а сравнение средних арифметических величин – методом Дункана [9].

Результаты и обсуждение

С целью подбора оптимальных условий ферментативного гидролиза соломы злаковых культур проведены исследования динамики образования ВС и глюкозы. На рис. 1 представлены исследования содержания ВС и глюкозы при гидролизе пшеничной соломы ферментным препаратом (ФП) целлюлаз *I. lacteus* 2434. Установлено достоверно высокое содержание ВС и глюкозы при pH 4,0 по сравнению с содержанием сахаров в гидролизате при pH среды 5,0 и 5,5 через 24 ч гидролиза пшеничной соломы исследуемым препаратом целлюлаз ($С_{ФП}$ = 5 мг/г субстрата). Через 48 ч ферментативного гидролиза соломы наблюдалось незначительное повышение содержания сахаров в гидролизатах (рис. 1, Б).

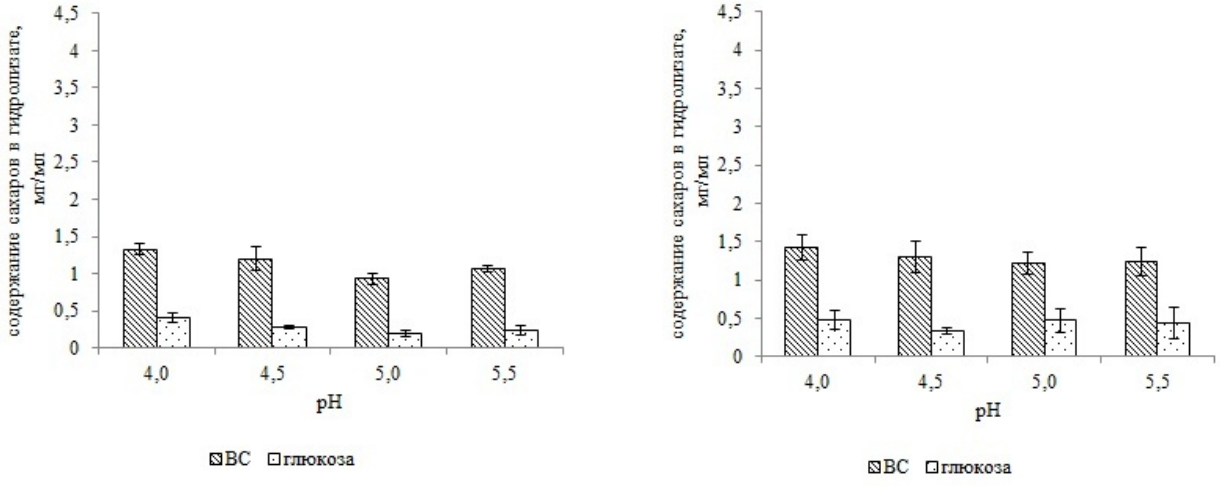
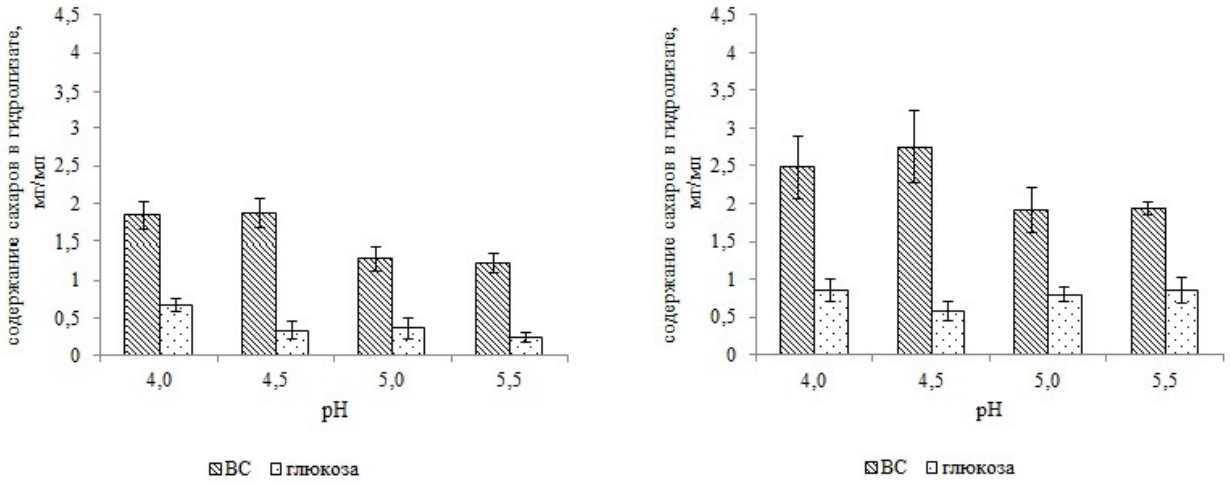


Рис. 1. Содержание восстанавливающих сахаров (ВС) и глюкозы при ферментативном гидролизе пшеничной соломы препаратом целлюлаз *Irpex lacteus (Fr.) Fr.* 2434 (5 мг/г субстрата): А – 24 ч, Б – 48 ч

При повышении расхода ферментного препарата до 10 мг/г субстрата отмечено достоверно высокое содержание ВС в гидролизатах с pH 4,0 и 4,5 (рис. 2, А). Причем при

использовании данного ферментного препарата в большей концентрации содержание ВС и глюкозы было выше, чем при обработке растительного материала целлюлазами в количестве 5 мг/г субстрата.

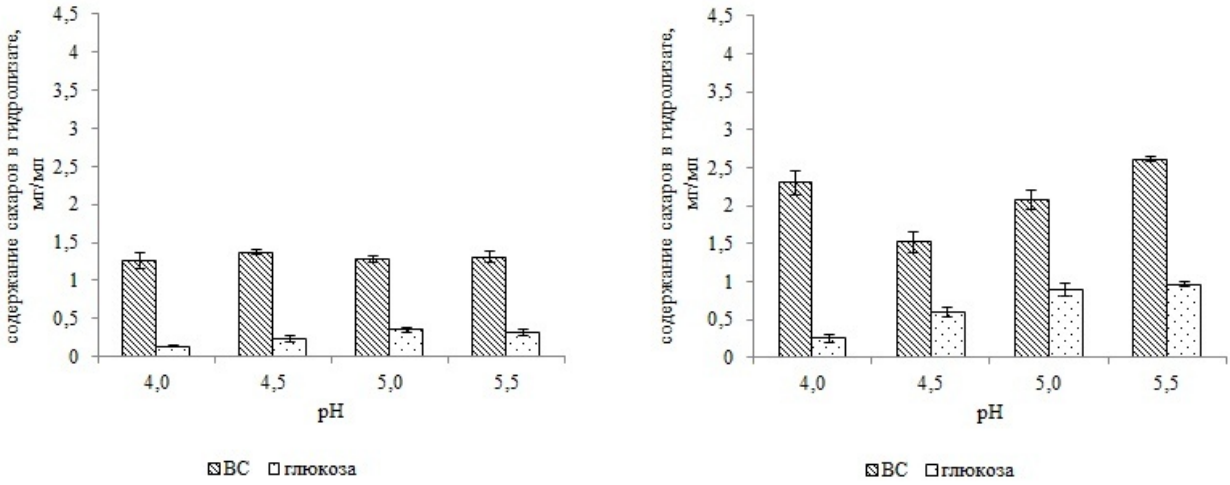


А Б

Рис. 2. Содержание восстанавливающих сахаров (ВС) и глюкозы при ферментативном гидролизе пшеничной соломы препаратом целлюлаз *Irpex lacteus (Fr.) Fr.* 2434 (10 мг/г субстрата): А – 24 ч, Б – 48 ч

Через 48 ч ферментативного гидролиза пшеничной соломы содержание ВС достоверно увеличилось на 25 %. Также отмечено достоверное повышение содержания глюкозы в ферментолизатах от 30 % при кислотности среды 4,0 ед. pH до 250 % при pH 5,5 (рис. 2, Б).

При обработке ячменной соломы ФП целлюлаз *I. lacteus* 2434 ($С_{ФП}$ = 5 мг/г субстрата) в течение 24 ч содержание ВС в гидролизатах находилось примерно на одном уровне независимо от pH среды и составляло ~1,4 мг/мл (рис. 3, А). Наибольшее содержание глюкозы в ферментолизате отмечено при pH 5,0 и 5,5.



А Б

Рис. 3. Содержание восстанавливающих сахаров (ВС) и глюкозы при ферментативном гидролизе ячменной соломы препаратом целлюлаз *Irpex lacteus (Fr.) Fr.* 2434 (5 мг/г субстрата): А – 24 ч, Б – 48 ч

При увеличении продолжительности гидролиза ФП целлюлаз *I. lacteus* 2434 содержание сахаров в гидролизатах ячменной соломы достоверно повышалось. При pH 4,0 и 5,0 отмечено повышение содержания ВС на 35 %, а при pH 5,5 – ~на 50 %. Повышение содержания глюкозы более чем на 50 % отмечено для всех вариантов pH среды.

Увеличение концентрации ФП целлюлаз *I. lacteus* 2434 до 10 мг/г субстрата привело к повышению содержания ВС в 24-часовых гидролизатах при pH 4,0 и 5,5 (рис. 4, А). При этом

содержание глюкозы было достаточно низким. Через 48 ч отмечено повышение содержания ВС и глюкозы более чем в 3 раза в гидролизатах при pH 4,5–5,5. При pH 4,0 отмечено незначительное повышение содержания ВС – на 25 %, а содержание глюкозы в гидролизате соломы увеличилось в 5 раз.

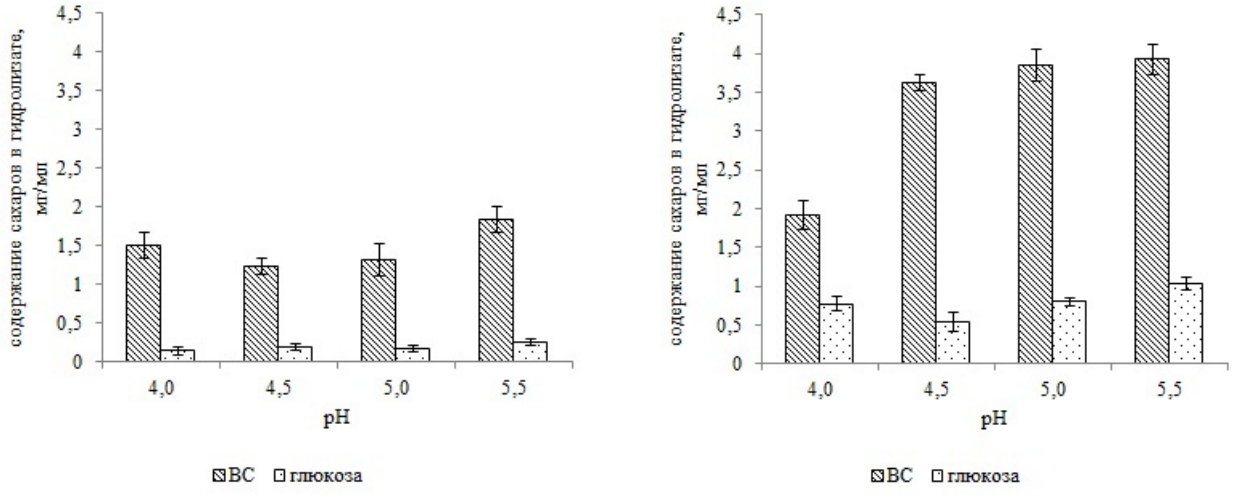


Рис. 4. Содержание восстанавливающих сахаров (ВС) и глюкозы при ферментативном гидролизе ячменной соломы препаратом целлюлаз *Irpex lacteus (Fr.) Fr.* 2434 (10 мг/г субстрата): А – 24 ч, Б – 48 ч

Выводы

В результате проведенных исследований установлены оптимальные условия ферментативного гидролиза целлюлазами *Irpex lacteus (Fr.) Fr.* 2434 растительного сырья: температура – +45 ºС, дозировка ферментного препарата – 10 мг/г субстрата, pH 4,0–4,5 – для пшеничной соломы, pH 4,5–5,5 – для ячменной соломы.

Исследование проведено в рамках выполнения государственного задания по теме «Биологические способы переработки растительных отходов агропромышленного комплекса» (№ госрегистрации 124012400346-5).

Список литературы

1. *Бенько Е. М., Чухчин Д. Г., Лунин В. В.* Предобработка озоном и ферментативный гидролиз пшеничной соломы // Журнал физической химии. 2017. Т. 91, № 11. С. 1851–1857. DOI: 10.7868/S0044453717110036. EDN: ZIETSP.

2. *Билай В. И.* Методы экспериментальной микологии. К.: Наук. думка, 1973. 243 с.

3. *Болотникова О. И., Михайлова Н. П., Гинак А. И.* Кислотный и энзиматический гидролиз непищевых источников растительной биомассы: перспективы промышленной реализации // Известия Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета). 2017. № 39(65). С. 89–95. EDN: ZDOXOP.

4. *Болтовский В. С.* Биоконверсия полисахаридов растительного сырья в белок: альтернативы промышленной реализации // Труды БГТУ. Серия 2: Химические технологии, биотехнология, геоэкология. 2020. № 2(235). С. 28–33. EDN: AJIICS.

5. *Болтовский В. С.* Использование СВЧ-энергии для гидролитической и биотехнологической переработки растительного сырья: возможности, состояние и перспективы // Труды БГТУ. Серия 2: Химические технологии, биотехнология, геоэкология. 2020. № 1 (229). С. 82–92. EDN: WXKICZ.

6. *Ваземдинова А. А., Харина М. В., Логинова И. В., Клещевников Л. И.* Ферментолиз целлюлозосодержащих остатков производства фурфурола из отходов растительного сырья // Башкирский химический журнал. 2017. Т. 24, № 1. С. 27–31. EDN: YNVSJT.

7. *Зиновьева М. Е., Волкова Т. С., Шафигуллина Н. Ф.* Особенности ферментативного

гидролиза целлюлозосодержащего сырья ферментным препаратом «Целлолюкс-А» // Вестник технологического университета. 2018. Т. 21, № 3. С. 56–58. EDN: XMJWNV.

8. *Кручина-Богданов И. В., Якубов Е. Р., Канарский А. В., Канарская З. А.* Утилизация сахаров из ферментолизатов соломы пшеничной психрофильными дрожжами в анаэробных условиях // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: Процессы и аппараты пищевых производств. 2019. № 2. С. 3–10. DOI: 10.17586/2310-1164-2019-12-2-3-10. EDN: JFJOLP.

9. *Приседський Ю. Г.* Статистична обробка результатів біологічних експериментів: навчальний посібник. Донецьк: ТОВ «Норд Компьютер», 1999. 210 с.

10. *Синицын А. П., Черноглазов В. М., Гусаков А. В.* Методы изучения и свойства целлюлозолитических ферментов // Итоги науки и техники. Сер. Биотехнология. 1993. Т. 25. 152 с.

11. *Тарабанько В. Е., Коропачинская Н. В., Кудряшев А. В.* [и др.] Исследование процесса переработки пшеничной соломы в ароматические альдегиды и левулиновую кислоту // Химия растительного сырья. 1998. № 3. С. 59–64. EDN: HYSSHP.

12. *Харина М. В., Валеева Р. Т., Мухачев С. Г., Емельянов В. М.* Исследование кинетики и оптимизация условий проведения процесса гидролиза соломы ферментным комплексом NS50012 // Вестник Казанского технологического университета. 2012. Т. 15, № 13. С. 210–212. EDN: PCAEPD.

13. *Харина М. В., Емельянов В. М., Аблаев А. Р.* [и др.] Динамика выхода углеводов при высокотемпературном гидролизе пшеничной соломы сернистой кислотой // Химия растительного сырья. 2014. № 1. С. 53–59. EDN: SNNCNF.

14. *Харина М. В., Терехова Л. М., Емельянов В. М.* Состав, структура и перспективы энергоресурсосберегающей переработки соломы злаковых культур // Вестник Казанского технологического университета. 2014. Т. 17, № 24. С. 168–174. EDN: THHJKR.

15. *Чемерис О. В.* Оценка возможности применения ферментного препарата целлюлаз *Irpex lacteus* для осахаривания растительных отходов // Современная микология в России: Материалы международ. микологического форума. Т. 10. М.: Национальная академия микологии, 2024. С. 324–326.

16. *Чемерис О. В.* Получение ферментного препарата целлюлаз базидиомицета *Irpex lacteus* (Fr.) Fr. и исследование его свойств // Вестник ДонНУ. Серия А: Естественные науки. 2024. № 4. С. 114 – 118. DOI: 10.5281/zenodo.14227685. EDN: SDVXZS.

17. *Mohanty B., Abdullahi I. I.* Bioethanol Production from Lignocellulosic Waste – A Review // Biosci Biotech Res Asia. 2016. Vol. 13 (2). DOI: dx.doi.org/10.13005/bbra/2146.

18. *Nelson N.* A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of sugars // J. Biol. Chem. 1944. Vol. 153, No 2. P. 375–379.

Поступила в редакцию 13.01.2025 г.

Chemeris O. V. **Enzymatic hydrolysis of wheat and barley straw with the preparation of cellulases of the fungus *Irpex lacteus* (Fr.) Fr. –** In laboratory conditions, the possibility of enzymatic hydrolysis of wheat and barley straw with the preparation of cellulases of the strain *Irpex lacteus* (Fr.) Fr. 2434 has been shown. Optimal conditions for enzymatic hydrolysis of both wheat and barley straw have been determined. The effectiveness of using an enzyme preparation of fungal cellulases at a dosage of 10 mg/g of substrate has been shown.

Key words: enzyme preparation cellulase, wheat straw, barley straw, *Irpex lacteus*.

Чемерис Оксана Вячеславовна
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник НИЧ
ФГБОУ ВО «Донецкий государственный университет», г. Донецк, ДНР, РФ.
E-mail: *chemeris07@rambler.ru*
ORCID: 0000-0002-2446-4710
AuthorID: 869557

Chemeris Oksana Viacheslavovna
Candidate of Biological Sciences;
Senior Researcher of the Research Department,
Donetsk State University,
Donetsk, DPR, Russian Federation.