

ISSN 1561-8331 (Print)
ISSN 2524-2342 (Online)

УДК 630.863

<https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-4-502-512>

Поступила в редакцию 25.05.2021

Received 25.05.2021

В. С. Болтовский

Белорусский государственный технологический университет, Минск, Беларусь

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ: СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Аннотация. Растительное сырье является практически неисчерпаемым, возобновляемым в процессе фотосинтеза растений природным ресурсом, что обуславливает перспективы его использования для промышленной переработки различными способами, в том числе гидролитическим. Основными по количественному содержанию биополимерными компонентами растительной биомассы являются полисахариды, гидролитическая переработка которых методами кислотного или ферментативного гидролиза приводит к образованию моносахаридов и получаемых из них разнообразных продуктов. Выполнен анализ теоретических представлений и современного состояния исследований по разработке, совершенствованию и перспективах применения процессов ферментативного гидролиза растительного сырья. Эффективность этого процесса и состав получаемых продуктов в существенной степени зависят от особенностей надмолекулярной структуры целлюлозы, содержания в сырье гемицеллюлоз и лигнина, сбалансированности и активности целлюлозного комплекса ферментов. Показано, что основными направлениями разработки и совершенствования процессов ферментативного гидролиза растительного сырья в настоящее время являются получение и применение более эффективных штаммов микроорганизмов, продуцирующих высокоактивные ферменты, направленное создание ферментов комплексного действия (гидролизующих не только целлюлозу, но и гемицеллюлозы, а также разрушающих лигнин), разработка способов предварительной обработки сырья для повышения реакционной способности целлюлозы и удаления лигнина, совершенствования процессов ферментализации.

Ключевые слова: растительное сырье, предварительная обработка, ферменты, гидролиз, биоконверсия, моносахариды

Для цитирования. Болтовский, В. С. Ферментативный гидролиз растительного сырья: состояние и перспективы / В. С. Болтовский // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2021. – Т. 57, № 4. – С. 502–512. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-4-502-512>

V. S. Boltovsky

Belarusian State Technological University, Minsk, Belarus

ENZYMATIC HYDROLYSIS OF PLANT RAW MATERIALS: STATE AND PROSPECTS

Abstract. Plant raw materials are practically an inexhaustible natural resource, since they are constantly renewed in the process of plant photosynthesis, which determines the prospects for their use for industrial processing in various ways, including hydrolytic. The main biopolymer components of plant biomass in terms of their quantitative content are polysaccharides, the hydrolytic processing of which by acidic or enzymatic hydrolysis leads to the formation of monosaccharides and various products obtained from them. This review of scientific literature analyzes theoretical concepts and the current state of research on the development, improvement and prospects for the use of enzymatic hydrolysis of plant raw materials. The efficiency of this process and the composition of the resulting products largely depend on the features of the supramolecular structure of cellulose, the content of hemicelluloses and lignin in the raw material, the balance and activity of the cellulase complex of enzymes. It is shown that the main directions of development and improvement of the processes of enzymatic hydrolysis of plant raw materials at present are the production and use of more effective strains of microorganisms that produce highly active enzymes, the directed creation of complex enzymes (hydrolyzing not only cellulose, but also hemicellulose, as well as destroying lignin), the development of methods for pretreatment of raw materials to increase the reactivity of cellulose and remove lignin and improve the processes of fermentolysis.

Keywords: vegetable raw materials, pre-treatment, enzymatic hydrolysis, bioconversion, monosaccharides

For citation. Boltovsky V. S. Enzymatic hydrolysis of plant raw materials: state and prospects. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*, 2021, vol. 57, no. 4, pp. 502–512 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-4-502-512>

Введение. Растительное сырье является практически неисчерпаемым природным ресурсом, так как постоянно возобновляется в процессе фотосинтеза растений, что обуславливает перспективы его использования для промышленной переработки различными способами, в том числе

гидролитическим. Основными по количественному содержанию биополимерными компонентами растительной биомассы являются полисахариды, гидролитическая переработка которых методами кислотного или ферментативного гидролиза приводит к образованию моносахаридов и получаемых из них разнообразных продуктов. В промышленных масштабах применяется гидролиз растительного сырья под действием кислотных катализаторов (так называемый кислотный гидролиз).

В настоящее время усилия исследователей различных стран в большей степени направлены на разработку способов ферментативного гидролиза. Сравнительный анализ основных параметров традиционного кислотного и ферментативного гидролиза вторичных непищевых источников растительной биомассы выполнен в работе [1].

Ферментативный гидролиз полисахаридов растительной биомассы, осуществляемый под действием комплекса ферментов, продуцируемых различными микроорганизмами или промышленно выпускаемыми на их основе ферментными препаратами, обладает по сравнению с кислотным существенными преимуществами: специфичностью действия (ферменты, обладающие целлюлазной, пектиназной, гемицеллюлазной активностью, обеспечивают превращение соответствующих полисахаридов – целлюлозы, пектина, гемицеллюлоз – в моносахариды), отсутствием характерных для химического гидролиза вторичных превращений моносахаридов (что обеспечивает их выход, близкий к теоретическому), возможностью проведения процесса при невысоких температурах (т. е. без значительных энергетических затрат).

Однако особенности строения и высокоупорядоченной надмолекулярной структуры целлюлозы (основного по количественному содержанию полисахарида растительной ткани) и связанная с этим трудность проникновения ферментов к ее макромолекулам, наличие лигнина, ферментативная деструкция которого осуществляется другими комплексами ферментов, обуславливают значительную продолжительность ферментативного гидролиза и необходимость предварительной обработки лигноцеллюлозных материалов для удаления лигнина и повышения реакционной способности целлюлозы.

В настоящее время, особенно в связи с разработкой способов получения так называемого биоэтанола из непищевого растительного сырья для использования в качестве автомобильного топлива или добавок к нему, а также белоксодержащих кормовых добавок его прямой биоконверсией, большое внимание уделяется исследованиям процессов ферментативного гидролиза лигноцеллюлозных материалов.

Цель данного обзора – анализ теоретических представлений и современного состояния исследований по разработке, совершенствованию процессов ферментативного гидролиза растительного сырья и перспективах его промышленного применения.

Основная часть. Ферментативный гидролиз целлюлозы и гемицеллюлоз происходит под воздействием не отдельных ферментов, а полиферментных систем, вырабатываемых грибами (например, рода *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Phanerochaete*, *Chaetomium*, *Humicola* и др.) и бактериями (*Clostridium*, *Cellulomonas*, *Thermomonospora*, *Microbiospora*, *Streptomyces* и др.) [2–4].

Гидролиз целлюлозы осуществляется под воздействием синергически действующего комплекса целлюлаз, включающего: эндо-1,4-β-глюканазу (1,4-β-глюкан-глюкангидролазу, КФ 3.2.1.4), экзо-1,4-β-глюканазу (экзоцеллобиогидролазу или 1,4-β-D-глюкан-целлобиогидролазу, КФ 3.2.1.91), экзо-1,4-β-глюкозидазу (1,4-β-D-глюкан-гидролазу, КФ 3.2.1.74) и целлобиазу (β-глюкозидазу или β-D-глюкозид-глюкогидролазу, КФ 3.2.1.21), разрушающую целлобиозу до глюкозы [5, 6].

В настоящее время проводятся исследования по получению высокоэффективных, в том числе мутантных штаммов микроорганизмов – продуцентов комплекса ферментов, обладающих высокой активностью по отношению к целлюлозе и гемицеллюлозам.

При сравнении лабораторного ферментного препарата, выделенного из гриба *Penicillium verruculosum*, и коммерческого целлюлолитического препарата CellicTec-2, полученного из грибов рода *Trichoderma*, по значениям удельной активности, pH- и температурного оптимума активности, стабильности, качественного и количественного составов, а также предельной степени конверсии при ферментативном гидролизе предобработанных паровым взрывом стеблей кукурузы и багассы, измельченной древесины сосны и осины показана [7] возможность использования препарат из *P. Verruculosum* для биоконверсии возобновляемого растительного сырья.

Получен ферментный препарат [8] на основе рекомбинантного штамма гриба *Penicillium verruculosum*, содержащий в своем составе полисахаридмонооксигеназу из *Myceliophora thermophila* с увеличенной гидролитической активностью к различным видам целлюлозосодержащего сырья (выход продуктов гидролиза из которых повышается на 40 %, а при гидролизе наиболее трудно-гидролизуемой микрокристаллической целлюлозы – на 60 %). Использование смесей мутантных форм целлюлаз *Penicillium verruculosum* позволило увеличить выход глюкозы при ферментативном гидролизе целлюлозосодержащих материалов (микрокристаллической целлюлозы и измельченной осиновой древесины) на ~ 30 % по сравнению с композициями исходных ферментов такого же состава [9].

Основы механизма ферментативного гидролиза кристаллической целлюлозы установлены Ризом [10, 11], которые впоследствии были трансформированы другими авторами [12–16]. По современным представлениям [3, 5, 17–20], ферментативный гидролиз целлюлозы осуществляется при совместном и одновременном синергическом действии комплекса целлюлолитических ферментов, что увеличивает скорость и глубину процесса гидролиза. Кроме того, важное значение при деструкции биополимеров растительного сырья (в том числе целлюлозы) имеет адсорбционное взаимодействие ферментов на поверхности субстратов [21].

Первыми атакуют целлюлозу слабосорбирующиеся эндоглюканызы (1,4-глюкозидаза и целлюлогидролаза), разрушающие ее аморфные участки, с образованием целлоолигосахаридов различной степени полимеризации (в том числе целлобиозы). Затем в образовавшихся микродефектах адсорбируются прочно сорбирующиеся эндоглюканызы и целлобиогидролазы, обеспечивающие дальнейший доступ ферментов к внутренним аморфным областям. Целлобиоза гидролизуется до глюкозы под действием целлобиазы, но может образовываться также в результате специфического воздействия экзоцеллобиогидролазы на олигосахариды или на исходный субстрат. Экзоглюкозидаза (а в некоторых случаях – целлобиогидролаза) и/или эндоглюканыза могут непосредственно превращать олигосахариды в глюкозу.

Механизм ферментативного гидролиза гемицеллюлоз, имеющих в отличие от целлюлозы разветвленную структуру, гемицеллюлазами менее изучен. Авторы [22] считают, что для их ферментативного гидролиза необходимо синергическое действие целлюлаз и высокоспецифичных эндо-1,4- β -D-ксилозидаз, экзо-1,4- β -D-ксилозидаз, эндо-1,4- β -D-маннаныаз, α -галактозидаз и других ферментов, состав которых зависит от содержания в растительном сырье соответствующих гемицеллюлоз.

Современные исследования о механизме и кинетике ферментативного гидролиза целлюлозы растительного сырья подтверждают и развивают ранее установленные закономерности. На примере ферментативного гидролиза древесных опилок и рисовой шелухи под действием ферментов Celluclast CCN 3000/85-4 b и Novozyme 188 разработана кинетическая модель процесса, который протекает в две стадии: на первой – фермент быстро адсорбируется на поверхности субстрата с образованием комплекса фермент–целлюлоза, а на второй – часть присоединенного к целлюлозе фермента выделяется в раствор с возрастанием числа неактивных и ингибирующих комплексов, что приводит к прекращению гидролиза [23].

Исследования микрофибриллярной структуры бактериальной целлюлозы при ферментативном гидролизе показали [24], что под действием очищенной целлобиогидролазы из *Trichoderma reesei* Cel7A (TRCel7A) происходит обширное фибрирование целлюлозы с образованием фибрилл размером около 3 нм, утончение наиболее устойчивых фибрилл и обеспечивается степень гидролиза целлюлозы более 80 %.

При изучении эффективности процесса гидролиза различных видов биомассы под действием высокоэффективных ферментов [25] показано, что процессы гидролиза целлобиозы под действием очищенных β -глюкозидаз из штаммов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* и *Chrisosporium* при определенных условиях сопровождаются трансгликозилированием с образованием ди-, три- и тетрасахаридов.

При исследовании ферментативного гидролиза целлюлозы с различной кристаллическостью (микрокристаллической целлюлозы и фильтровальной бумаги) под действием целлобиогидролазы и эндоглюканызы с помощью методов эксклюзионной хроматографии и многоуровневого лазерного светорассеивания установлено [26], что при гидролизе микрокристаллической целлюлозы

под действием целлюбогидролазы процесс происходит послойно (это является причиной длительности процесса), а при действии эндоглюканызы степень полимеризации фильтровальной бумаги быстро снижается уже на начальной стадии, что указывает на разрыв цепей макромолекул целлюлозы и создание концевых групп для атаки целлюбогидролазы.

Известно, что на эффективность ферментативного гидролиза целлюлозы существенно влияют физико-химические и структурные факторы (величина удельной поверхности, доступной действию целлюлаз, и степень кристалличности – с увеличением степени кристалличности целлюлозы скорость процесса снижается) [27]. Кинетические расчеты показали [28], что скорость ферментативного гидролиза целлюлозы с высокой кристалличностью определяется диффузией молекул фермента в субстрат. С уменьшением степени кристалличности целлюлозы вклад диффузии снижается, в то время как кинетический вклад в суммарную скорость процесса гидролиза возрастает.

При изучении влияния различных кристаллических форм и структурных свойств целлюлозы на процесс ферментативного гидролиза целлюлазой *Trichoderma viride* установлено [29], что при этом снижается как степень полимеризации целлюлозы, так и ее степень кристалличности, а выход сахаров зависит от конкретной полиморфной структуры целлюлозы. Показана возможность осуществления ферментативного гидролиза полисахаридов лигноцеллюлоз в присутствии ионных жидкостей [30].

Скорость ферментативного гидролиза целлюлозы лигноцеллюлозных материалов существенно зависит от площади ее поверхности, степени кристалличности, содержания и физико-химических свойств лигнина, обусловленных способом их предварительной обработки, которая является необходимой перед биоконверсией лигноцеллюлозного сырья [31].

Таким образом, теоретические представления о механизме и кинетике ферментативного гидролиза целлюлозы свидетельствует о том, что эффективность этого процесса и состав получаемых продуктов в существенной степени зависят от особенностей структуры целлюлозы, сбалансированности и активности целлюлазного комплекса ферментов.

Особенности строения и высокоупорядоченной структуры целлюлозы, наличие гемицеллюлоз и лигнина диктуют необходимость обязательной предварительной обработки лигноцеллюлозных материалов для уменьшения степени кристалличности целлюлозы и повышения ее реакционной способности. Рассмотрение этих вопросов не входит в задачи данного обзора. Различные методы химической, физической, механической, биологической и комбинированной предварительной обработки растительного сырья достаточно хорошо систематизированы и изложены в литературе [27, 32–35]. Многообразие видов лигноцеллюлозных материалов, используемых для ферментативного гидролиза и применяемых комплексов ферментов, не позволяют однозначно выбрать наиболее эффективный и в то же время экономически целесообразный способ подготовки.

В настоящее время исследования по ферментативному гидролизу растительного сырья включают, помимо получения и применения более эффективных штаммов микроорганизмов, продуцирующих высокоактивные ферменты, направленного создания ферментов комплексного действия (гидролизующих не только целлюлозу, но и гемицеллюлозы, а также разрушающих лигнин), разработку способов предварительной обработки сырья и совершенствования процессов ферментации.

Эффективность ферментативного гидролиза соломы рапса (*Brassica napus*) повышается двухстадийной предварительной обработкой для удаления лигнина и гемицеллюлоз сначала раствором NaOH (при этом растворяется 35,54 % лигнина, а содержание полисахаридов возрастает от 32,86 до 38,13 %). На второй стадии после обработки раствором серной кислоты растворяется 85,85 % лигнина и 91,56 % ксилана, маннана и галактана переходят в гидролизат. Такая обработка обеспечивает повышение эффективности ферментативного гидролиза соломы по сравнению с одностадийной кислотной обработкой на 23 %, несмотря на снижение количества фермента на 50 % [36].

Для селективного удаления лигнина из багассы (с исходным содержанием лигнина 22,8 %) использовали [37] обработку раствором хлорита натрия с уксусной кислотой в течение 4 ч, после которой содержание лигнина снизилось до 6,8 %, при этом содержание целлюлозы и гемицеллюлоз осталось без изменения. После делигнификации багассу подвергали ферментативному гидролизу под действием коммерческих целлюлаз. Показано, что багасса с низким содержанием лиг-

нина легче подвергается ферментативному гидролизу до глюкозы, а при добавлении к целлюлазе β -глюкозидазы делигнифицированная целлюлозная фракция в багассе полностью гидролизует-ся до глюкозы. При 60 %-ном удалении лигнина достигается 80 %-ная конверсия целлюлозы, а при удалении 70 % лигнина степень конверсии возрастает еще в большей степени.

Предобработка биомассы лигноцеллюлозных отходов (соломы, валежника, древесных опилок, хвой) водно-солевыми растворами, содержащими 5–20 % глицерина (температура – 121 °С, давление – 98 кПа, время – 1 ч), и последующая промывка растительных субстратов водой приводит к существенному стимулированию роста целлюлолитической культуры *Streptomyces* sp. K-7 при температуре 30 °С, увеличению выхода редуцирующих веществ и КМЦ-целлюлазной активности культуральной жидкости [38].

Установлено, что технические целлюлозы, полученные из плодовых оболочек овса обработкой комбинированным способом (предгидролиз, щелочная делигнификация, обработка раствором азотной кислоты), обладают высокой реакционной способностью к ферментации при гидролизе смесью ферментных препаратов «Брюзайм ВГХ» и «Целлолюкс-А» [39].

Применение двухстадийной технологии, включающей сульфатную варку и последующий ферментативный гидролиз под действием эндо- и экзоцеллюлаз, позволяет получать гидролизат с высоким содержанием глюкозы. Так, при ферментативном гидролизе древесной сульфатной целлюлозы из древесины тополя с относительно низким содержанием лигнина (15,4–24,2 ед. Каппа), древесной массы из древесины березы, бука и сосны (число Каппа 25,8–31,4) и целлюлозы из пшеничной соломы (число Каппа 29,5) при концентрации субстрата 1,3 % с использованием коммерческого фермента NS-22086, содержащего целлюлазы и ксиланазы, выход глюкозы при гидролизе древесной массы из тополя составил 80 % к сухой массе и 78 % при гидролизе целлюлозы из бука и пшеничной соломы [40].

Ферментативный гидролиз методом твердофазной ферментации предварительно обработанной грибами бело-красной гнили *Pleurotus florida*, *Corioliopsis caperata* RCK 2011 и *Ganoderma* sp. rckk-02 (каждой индивидуально) багассы с использованием неочищенной целлюлазы из коричнево-красной гнили *Fomitopsis* sp. RCK2010 позволил получить выход сахаров в 1,5–2,4 раза выше, чем из необработанной багассы [41].

Повышение эффективности ферментативного гидролиза стеблей кукурузы обеспечено предварительной водно-кислотной обработкой (при pH 2,3) и FeCl_3 (при концентрации 0,05 моль/л). Показано, что высокая кислотность и окисляющая способность раствора ускоряют и обеспечивают максимальный гидролиз гемицеллюлоз (93,04 %) и целлюлозы (92 % – за счет удаления основной массы гемицеллюлоз и повышения доступности и гидролизуемости целлюлозы) [42].

Для повышения гидролиза кенафа (*Hibiscus cannabinus*) при использовании комплекса ферментов проводили его предварительную обработку в 2 стадии: сначала 0,2 %-ным раствором $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (при соотношении жидкой и твердой фаз – гидромодуль – 8:1 при 50 °С в течение 1,5 ч), а на 2-й стадии – 20 %-ным раствором перуксусной кислоты (при 75 °С в течение 2 ч), что обеспечило удаление 59,25 % лигнина и сохранение 87,72 % гемицеллюлоз и 96,1 % целлюлозы [43].

Механическая активация лигноцеллюлозного сырья с содержанием лигнина 3–35 % в активаторах планетарного, роликового, вибрационного или виброцентробежного типов обеспечивает при последующем гидролизе ферментными препаратами с гидролизующей активностью по отношению к целлюлозе, гемицеллюлозам, крахмалу и белкам (при концентрации ферментных препаратов 0,5–10 % и концентрации твердой фазы 10–40 %) при температуре 50–65 °С в течение 1–6 сут) сокращение продолжительности осахаривания лигноцеллюлозных материалов без использования агрессивных, взрывопожароопасных и неэкологических реагентов [44].

Для повышения микробиологической конверсии целлюлозы при получении этанола отходы волокон механической массы из эвкалипта после щелочной пероксидной обработки предварительно обрабатывали растворами ПАВ (Твин-80) и FeCl_3 . Предварительная обработка массы раствором FeCl_3 улучшает ферментативный гидролиз волокон эвкалипта, но одновременно ингибирует активность фермента. Добавление Твин-80 в раствор FeCl_3 при предварительной обработке повышает активность фермента путем разбавления ионов $\text{Fe}(\text{III})$ на поверхности биомассы. При оптимальных условиях предварительной обработки (температура – 180 °С, гидромодуль – 8:1,

продолжительность – 30 мин, концентрация FeCl_3 и Твин-80 – 0,15 моль/л и 1 % соответственно) и начальной концентрации целлюлазы 20 ед./г субстрата выход глюкозы составил 34,8 г/100 г абсолютно сухой биомассы, а после 72 ч ферментативного гидролиза – 91,3 % [45].

Предварительная комбинированная обработка коры тополя 3 %-ным раствором H_2SO_4 с одновременным гамма-облучением (0–1000 кГр) повышает эффективность ферментативного гидролиза – выход редуцирующих сахаров при комбинированной обработке достигает 83,1 %, что объясняется изменением кристалличности целлюлозы, модификацией лигнина и удалением гемицеллюлоз [46].

Обработка паром лигноцеллюлозных наночастиц при температуре до 140 °С влияет на содержание гемицеллюлоз. При их ферментативном гидролизе целлюлазой *Acremonium* (многокомпонентный фермент, включающий гемицеллюлазы) установлено, что гемицеллюлозы локализируются вокруг микрофибрилл целлюлозы и быстро распадаются, что приводит к доступности поверхности целлюлозы после начальной стадии гидролиза, затем происходит ее основной гидролиз [47].

Показано [48], что при ферментативном гидролизе отходов переработки злаков (соломы и шелухи овса) наиболее эффективной является их последовательная обработка перед гидролизом раствором гидроксида натрия и пероксидом водорода, а ферментный препарат «Целлолюкс-А» обладает достаточно высокой активностью по отношению данным субстратам.

При гидролизе целлюлозы «Ватман № 1» и стеблей кукурузы, активированных измельчением в шаровых мельницах Spex 8 и АПФ-4, ферментным комплексным препаратом «Целлолюкс-А» (с целлюлазной активностью 2000 ед./г), установлено, что гидролизуются преимущественно аморфные участки целлюлозы, а в остатке после гидролиза происходит увеличение степени кристалличности целлюлозы [49].

Показана возможность осуществления ферментативного гидролиза лигноцеллюлозных фракций пшеничной соломы, стержней кукурузных початков, свекловичного жома и березовых опилок после отгонки из них фурфурола с использованием ферментного препарата CellicСТec 2 (температура – 45 °С, рН 5,0 при продолжительности 25–30 ч), обеспечивающего выход редуцирующих веществ 14–22 % от абсолютно сухого вещества [50].

Ферментативный гидролиз 20 %-ной суспензии багассы из гигантского тростника, предварительно обработанного паровым взрывом в присутствии кислотного катализатора или без него, ферментными препаратами CellicTMСТec 1 и CellicTMСТec 2 после 48 ч ферментации, обеспечивает концентрацию моносахаридов (глюкозы и ксилозы) в гидролизате 91 г/л [51].

Повышение эффективности ферментативного гидролиза полисахаридов древесины, обеспечивающего суммарный выход редуцирующих сахаров 11,5–18,7 %, достигается ее предварительным измельчением до образования ультрадисперсных частиц (от 2 до 200 нм) [52].

Технологически ферментативный гидролиз растительного сырья может осуществляться способами глубокой ферментации в виде суспензии нерастворимого субстрата в жидкой питательной среде и твердофазной ферментацией на поверхности и в массе субстрата. Сравнение этих способов, их достоинства и недостатки наиболее полно изложены в работах [53, 54].

Одним из существенных недостатков при осуществлении процесса глубокой ферментации является сравнительно невысокая концентрация нерастворимого субстрата в жидкой питательной среде, что требует применения аппаратов большого объема и сопровождается образованием значительного количества сточных вод. Но при этом в принципе возможно использование ферментаторов, применяемых, например, в производстве кормовых дрожжей из гидролизатов растительного сырья.

При реализации процесса твердофазной ферментации в большей степени возникают проблемы, связанные с массообменом – аэрацией всего объема субстрата и отводом физиологического тепла, что приводит к снижению эффективности процесса, увеличению его продолжительности, а также затрудняет контролирование и управление процессом [53].

Применяемые для этого аппараты (растительные камеры с горизонтально и вертикально расположенными кюветами, установки колонного и барабанного типов и др. конструкции) используются преимущественно для культивирования микроорганизмов на твердых питательных средах при получении посевного материала или малотоннажных продуктов микробиологического

синтеза и, как правило, не способны обеспечить достаточно высокую производительность по перерабатываемому сырью [53, 55].

В настоящее время разработаны различные аппараты для осуществления процесса ферментации растительного сырья, например [56–58], в том числе конструкция, обеспечивающая в процессе твердофазной ферментации увеличение производительности и эффективности ферментализации лигноцеллюлозных субстратов по сравнению с известными [58]. Однако эти решения не доведены до стадии конструкторских разработок и их применение возможно после создания соответствующей технической документации, опытных образцов технических решений и апробации в опытно-промышленных условиях.

Заключение. Наличие постоянно возобновляемых запасов углеводсодержащего растительного сырья обуславливает необходимость разработки новых способов его переработки, в том числе методами ферментативного гидролиза под действием комплекса ферментов, продуцируемых различными микроорганизмами или промышленно выпускаемыми на их основе ферментными препаратами.

Основными направлениями разработки и совершенствования процессов ферментативного гидролиза растительного сырья в настоящее время являются получение и применение более эффективных штаммов микроорганизмов, продуцирующих высокоактивные ферменты, направленное создание ферментов комплексного действия (гидролизующих не только целлюлозу, но и гемицеллюлозы, а также деструктурирующих лигнин), разработка способов предварительной обработки сырья и совершенствования процессов ферментализации.

Список использованных источников

1. Болотникова, О. И. Кислотный и энзиматический гидролиз непищевых источников растительной биомассы: перспективы промышленной реализации / О. И. Болотникова, Н. П. Михайлова, А. И. Гинак // Известия Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета). – 2017. – № 39. – С. 89–95. <https://doi.org/10.15217/issn1998984-9.2017.88>
2. Фенгел, Д. Древесина (химия, ультраструктура, реакции) / Д. Фенгел, Г. Вегенер. – М.: Лес. пром-сть, 1988. – 512 с.
3. Лобанок, А. Г. Микробный синтез на основе целлюлозы: белок и другие ценные продукты / А. Г. Лобанок, В. Г. Бабицкая, Ж. Н. Богдановская. – Минск: Наука и техника, 1988. – 261 с.
4. Cheng, H. Lignocellulose steed stock biorefinery as petrorefinery substitutes / H. Cheng, L. Wang // Biomass Now – Sustainable Growth and Use. – 2013. – P. 347–388. <https://doi.org/10.5772/51491>
5. Клесов, А. А. Кинетическая теория действия полиферментных целлюлазных систем: стационарная кинетика / А. А. Клесов, С. Ю. Григораш // Микробиология и биохимия разложения растительных материалов. – М.: Наука, 1988. – С. 109–146.
6. Рабинович, М. Л. Целлюлазы микроорганизмов / М. Л. Рабинович, М. С. Мельник, А. В. Болобова // Прикладная биохимия и микробиология. – 2002. – Т. 38, № 4. – С. 355–373.
7. Ферментные препараты *Penicillium verruculosum* для биоконверсии растительного сырья – альтернатива коммерческим препаратам, полученным с помощью грибов *Trichoderma* / А. В. Чекушина [и др.] // Биотехнология. – 2013. – № 3. – С. 69–80.
8. Чекушина, А. В. Целлюлолитические ферментные препараты на основе грибов *Trichoderma*, *Penicillium* и *Myceliophora* с увеличенной гидролитической активностью: автореф. дис. ... канд. хим. наук: 03.01.04 / А. В. Чекушина. – М., 2013. – 23 с.
9. Ферментативный гидролиз целлюлозы смесями мутантных форм целлюлаз *Penicillium verruculosum* / А. С. Доценко [и др.] // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Химия. – 2018. – Т. 59, № 2. – С. 138–143.
10. Reese, E. T. The biological degradation of soluble cellulose derivatives and its relationship to the mechanism of cellulose hydrolysis / E. T. Reese // J. Bacteriol. – 1950. – Vol. 59, N 4. – P. 485–497. <https://doi.org/10.1128/jb.59.4.485-497.1950>
11. Reese, E. T. Degradation of polymeric carbohydrates of microbial enzymes / E. T. Reese, F. Loewus, V. S. Runeckies // The structure, biosynthesis and degradation of wood. – 1977. – Vol. 11. – P. 311–367. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-8873-3_8
12. Eriksson, K. E. Extracellular enzyme system utilized by the fungus *Sporotrichum pulverulentum* (*Chrysosporium lignorum*) for the breakdown of cellulose. 3. Purification and physicochemical characterization of an exo-1,4-glucanase / K. E. Eriksson, B. Petersson // European Journal of Biochemistry. – 1975. – Vol. 51, N 1. – P. 213–218. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1975.tb03921.x>
13. Yalliwel, G. The nature and mode of action of the cellulolytic components C₁ of *Trichoderma koningii* on native cellulose / G. Yalliwel, M. Griffin // Biochemical Journal. – 1973. – Vol. 135, no. 4. – P. 587–594. <https://doi.org/10.1042/bj1350587>
14. Wood, T. M. The purification and properties of the C₁-component of *Trichoderma koningii* cellulose / T. M. Wood, S. J. McGrae // Biochem. J. – 1972. – Vol. 128, N 7. – P. 1183–1192. <https://doi.org/10.1042/bj1281183>
15. Wood, T. M. Enzymes and mechanism involved in the solubilization of native cellulose / T. M. Wood // Ciēns. biol. – 1980. – Vol. 5. – P. 27–33.
16. Wood, T. M. The isolation purification and properties of *Penicillium fungulosum* cellulose / T. M. Wood, S. J. McGrae, C. C. MacFarlane // Biochem. J. – 1980. – Vol. 189, N 1. – P. 51–65. <https://doi.org/10.1042/bj1890051>

17. Клесов, А. А. Ферментативный гидролиз целлюлозы / А. А. Клесов, М. Л. Рабинович // Биоорган. химия. – 1980. – Т. 6, № 8. – С. 1225–1242.
18. Клесов, А. А. Ферментативный гидролиз целлюлозы. III. Закономерности образования глюкозы и целлобиозы при действии полиферментных систем на нерастворимую (природную) целлюлозу / А. А. Клесов, С. Ю. Григораш // Биоорган. химия. – 1981. – Т. 7, № 10. – С. 1538–1552.
19. Клесов, А. А. Кинетическая теория действия полиферментных целлюлазных систем: нестационарная кинетика / А. А. Клесов, С. Ю. Григораш // Микробиология и биохимия разложения растительных материалов. – М.: Наука, 1988. – С. 147–180.
20. Макарова, Е. И. Биоконверсия непищевого целлюлозосодержащего сырья (Обзор). Ч. 2 / Е. И. Макарова, В. В. Будаева // Изв. вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2016. – Т. 6, № 3. – С. 26–35. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2016-6-3-26-35>
21. Рабинович, М. Л. Механизм ферментативного гидролиза целлюлозы: роль адсорбции ферментов / М. Л. Рабинович // Микробиология и биохимия разложения растительных материалов. – М.: Наука, 1988. – С. 70–108.
22. Ферментативный гидролиз продуктов гидротермобарической обработки мискаунтуса и плодовых оболочек овса / В. В. Будаева [и др.] // Катализ в промышленности. – 2013. – № 3. – С. 60–66.
23. Morteza, S. Modeling the process of enzymatic hydrolysis of cellulose waste materials to fermentable sugars in solid-liquid systems / S. Morteza, M. Kamyar // 18 International Congress of Chemical and Process Engineering, Prague, 24–28 Aug. 2008. – Prague, 2008. – P. 2114–2115.
24. Tina, J. Assessing cellulose microfibrillar structure changes due to cellulase action / J. Tina, S.-M. C. Monica, P. J. O'Dell // Carbohydrate Polymers. – 2013. – Vol. 97, N 2. – P. 581–586. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.05.027>
25. Анализ продуктов ферментативного гидролиза растительной биомассы / И. Н. Зоров [и др.] // Физикохимия растительных полимеров: Материалы 5-й Междунар. конф., Архангельск, 8–11 июля, 2013. – Архангельск, 2013. – С. 71–73.
26. Enzymatic hydrolysis of cellulose with different crystallinities studied by means of SEG-MALLS / M. Zhang [et al.] // Chin. J. Chem. Eng. – 2011. – Vol. 19, N 5. – P. 773–778. [https://doi.org/10.1016/s1004-9541\(11\)60055-4](https://doi.org/10.1016/s1004-9541(11)60055-4)
27. Синицын, А. П. Влияние физико-химических и структурных факторов целлюлозы на эффективность ее ферментативного гидролиза / А. П. Синицын // Микробиология и биохимия разложения растительных материалов. – М.: Наука, 1988. – С. 3–29.
28. Иоелович, М. Я. Изучение кинетики ферментативного гидролиза целлюлозных материалов / М. Я. Иоелович // Химия раст. сырья. – 2014. – № 1. – С. 61–64. <https://doi.org/10.14258/jcprp.1401061>
29. Abdullah, R. Hydrolysis behavior of various crystalline celluloses treated by cellulase of *Trichoderma viride* / R. Abdullah, S. Saka // Cellulose. – 2014. – Т. 21, № 6. – С. 4049–4058. <https://doi.org/10.1007/s10570-014-0410-4>
30. Wahlström, R. M. Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic polysaccharides in the presence of ionic liquids / R. M. Wahlström, A. Suurnäkki // Green Chem. – 2015. – Vol. 17, N 2. – С. 694–714. <https://doi.org/10.1039/c4gc01649a>
31. Гусаков, А. В. Структурные особенности и физико-химические параметры лигноцеллюлозных материалов, определяющие их реакционную способность при ферментативной деградации / А. В. Гусаков, А. П. Синицын // Физикохимия растительных полимеров: Материалы 5-й Междунар. конф., Архангельск, 8–11 июля, 2013. – Архангельск, 2013. – С. 56–57.
32. Калунянц, К. А. Современные способы ферментативного гидролиза целлюлозосодержащих материалов / К. А. Калунянц, Е. Ф. Шаненко, Л. В. Зайцева // Итоги науки и техники. Сер. Химия и технология пищевых продуктов. – 1988. – Т. 1. – С. 185 с.
33. Синицын, А. П. Сравнительный анализ реакционной способности целлюлозосодержащего сырья по отношению к ферментативному гидролизу / А. П. Синицын, И. Л. Леонова, Б. Надземин // Прикладная биохимия и микробиология. – 1986. – Т. 22, № 4. – С. 517–525.
34. Методы подготовки растительного сырья к биоконверсии в кормовые продукты и биоэтанол / В. И. Сушкова [и др.] // Химия раст. сырья. – 2016. – № 1. – С. 93–119. <https://doi.org/10.14258/jcprp.201601841>
35. Subhedar, P. B. Intensification of enzymatic hydrolysis of lignocellulose using ultrasound for efficient bioethanol production: a review (Review) / P. B. Subhedar, P. R. Gogate // Ind. and Eng. Chem. Res. – 2013. – Vol. 52, N 34. – P. 11816–11828. <https://doi.org/10.1021/ie401286z>
36. Improved enzyme efficiency of rapeseed straw through the two-stage fractionation process using sodium hydroxide and sulfuric acid / C. C. Ho [et al.] // Appl. Energy. – 2013. – Vol. 102. – P. 640–646. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.08.011>
37. Enhancement of cellulose hydrolysis in sugarcane bagasse by the selective removal of lignin with sodium chlorite / S. Germano [et al.] // Appl. Energy. – 2013. – Vol. 102. – P. 399–402. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.07.029>
38. Исследование влияния предобработки субстрата глицерином на гидролиз и ферментацию лигноцеллюлозных отходов с помощью *Streptomyces* sp. K-7 / Л. М. Султанова [и др.] // Башкир. хим. журн. – 2012. – Т. 19, № 3. – С. 127–129.
39. Макарова, Е. И. Ферментативный гидролиз целлюлозы из плодовых оболочек овса при различных концентрациях субстрата / Е. И. Макарова, В. В. Будаева, Е. А. Скиба // Химия раст. сырья. – 2013. – № 2. – С. 43–50. <https://doi.org/10.14258/jcprp.1302043>
40. Production of glucose-rich enzymatic hydrolysates from cellulose pulps / K. Buzala [et al.] // Cellulose. – 2015. – Vol. 22, N 1. – P. 663–674. <https://doi.org/10.1007/s10570-014-0522-x>
41. Fungal pretreatment improves amenability of lignocellulosic material for its saccharification to sugars / D. Deepa [et al.] // Carbohydr. Polym.: Scientific and Technological Aspects of Industrially Important Polysaccharides. – 2014. – Vol. 99. – P. 264–269. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.045>
42. Pretreatment of corn stover with acidic electrolyzed water and FeCl₃ leads to enhanced enzymatic hydrolysis / S. Zhaobing [et al.] // Cellulose. – 2014. – Vol. 21, N 5. – P. 3383–3394. <https://doi.org/10.1007/s10570-014-0353-9>
43. Efficient removal of lignin with the maintenance of hemicellulose from kenaf by two-stage pretreatment process / A. N. Izyan Wan [et al.] // Carbohydr. Polym.: Scientific and Technological Aspects of Industrially Important Polysaccharides. – 2014. – Vol. 99. – P. 447–453. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.043>

44. Способ ферментативного осахаривания лигноцеллюлозных материалов : пат. 2514408 РФ, МПКС13К 1/02 (2006.01) / А. Л. Бычков, О. И. Ломовский. – Оубл. 27.04.2014.
45. Chen, L. Enhanced cellulase hydrosysis of eucalyptus waste fibers from pulp mill by tween80-assisted ferric chloride pretreatment / L. Chen, S. Fu // *J. Agr. and Food Chem.* – 2013. – Vol. 61, N 13. – P. 3293–3300. <https://doi.org/10.1021/jf400062e>
46. Enhanced enzymatic hydrolysis of poplar bark by combined use of gamma ray and dilute acid for bioethanol production / C. B. Yeou [et al.] // *Radiat. Phys. and Chem.* – 2012. – Vol. 81, N 8. – P. 1003–1007. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2012.01.001>
47. Quartz crystal microbalance with dissipation monitoring of the enzymatic hydrolysis of steam-treated lignocellulosic nanofibrils / K. Akio [et al.] // *Cellulose.* – 2014. – Vol. 21, N 4. – P. 2433–2444. <https://doi.org/10.1007/s10570-014-0312-5>
48. Будаева, В. В. Исследование ферментативного гидролиза отходов переработки злаков / В. В. Будаева, Р. Ю. Минтрофанов, В. Н. Золотухин // *Ползуновский вестник.* – 2008. – № 3. – С. 322–327.
49. Голязимова, О. В. Механическая активация ферментативного гидролиза целлюлозы / О. В. Голязимова, А. А. Политов, О. И. Ломовский // *Химия раст. сырья.* – 2009. – № 2. – С. 59–63.
50. Ферментализ целлюлозосодержащих остатков производства фурфурола из отходов растительного сырья / А. А. Вазетдинова [и др.] // *Башкир. хим. журн.* – 2017. – Т. 24, № 1. – С. 27–31.
51. Hydrolysis of concentrated suspensions of steam pretreated *Arundo donax* / I. De Bari [et al.] // *Appl. Energy.* – 2013. – Vol. 102. – P. 179–189. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.05.051>
52. Эффективность ферментативного гидролиза полисахаридов ультрадисперсных частиц лигноцеллюлозного сырья в зависимости от их размера / В. В. Шутова [и др.] // *Прикладная биохимия и микробиология.* – 2012. – Т. 48, № 3. – С. 346–352.
53. Головлев, Е. Л. Твердофазная ферментация растительного сырья / Е. Л. Головлев, Л. А. Головлева // *Микробиология и биохимия разложения растительных материалов.* – М.: Наука, 1988. – С. 301–333.
54. Смирнов, К. А. Особенности твердофазной ферментации / К. А. Смирнов, Ю. Д. Алашкевич, Н. С. Решетова // *Химия раст. сырья.* – 2009. – № 3. – С. 161–164.
55. Калунянц, К. А. Оборудование микробиологических производств / К. А. Калунянц, Л. И. Голгер, В. Е. Балашов. – М.: Агропромиздат, 1987. – 398 с.
56. Твердофазный ферментер и способ твердофазного культивирования: пат.2235767С2 РФ, МПК С12М 1/06, С12М 1/14, С12М 1/16 / П. Лют, У. Айбен, Ю. Д. Кузнецов. – Оубл. 30.11.2000.
57. Enzymatische Hydrolyse von Lignocellulose im Festbettreaktor / C. Kirsch [et al.] // *Chem.-Ing.-Techn.* – 2011. – Vol. 83, N 6. – P. 867–873. <https://doi.org/10.1002/cite.201000204>
58. Опыт масштабирования ферментативного гидролиза технических целлюлоз из мискантуса и плодовых оболочек овса / Г. В. Сакович [и др.] // *Ползуновский вестник.* – 2012. – № 4. – С. 173–177.
59. Аппарат для твердофазной ферментации: пат. 16946 Респ. Беларусь, МПК С 12 М 1/00, С 12 М 1/04 / В. Н. Павлечко, В. С. Болтовский. – Оубл. 30.04.2013.

References

1. Bolotnikova O. I., Mikhailova N. P., Ginak A. I. Acid and enzymatic hydrolysis of nonfood-based biomass sources: prospects for industrial implementation. *Izvestiya Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo instituta (tekhnicheskogo universiteta) = Bulletin of the Saint Petersburg State Institute of Technology (Technical University)*, 2017, no. 39, pp. 89–95 (in Russian). <https://doi.org/10.15217/issn1998984-9.2017.88>
2. Fengel D., Wegener G. *Wood (chemistry, ultrastructure, reactions)*. Moscow, Lesnaya promyshlennost' Publ., 1988. 512 p. (in Russian).
3. Lobanok, A. G., Babitskaya V. G., Bogdanovskaya Zh. N. *Microbial synthesis based on cellulose: protein and other valuable products*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1988. 261 p. (in Russian).
4. Cheng H., Wang L. Lygnocellulose steed stock biorefinery as petrorefinery substitutes. *Biomass Now – Sustainable Growth and Use*, 2013, pp. 347–388. <https://doi.org/10.5772/51491>
5. Klesov, A. A., Grigorash S. Yu. Kinetic theory of action of polyenzyme cellulase systems: stationary kinetics. *Microbiology and biochemistry of decomposition of plant materials*. Moscow, Nauka Publ., 1988, pp. 109–146 (in Russian).
6. Rabinovich M. L., Melnik M. S., Bolobova A. V. Cellulases of microorganisms. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2002, vol. 38, no. 4, pp. 355–373. <https://doi.org/10.1023/a:1016264219885>
7. Chekushina A. V., Dotsenko G. S., Kondratieva E. G., Sinitsyn A. P. Enzyme preparations from *Penicillium verrucosum* for bioconversion of plant raw materials is an alternative to commercial preparations obtained using *Trichoderma* fungi species. *Biotechnologiya = Biotechnology*, 2013, no. 3, pp. 69–80 (in Russian).
8. Chekushina A. V. *Cellulolytic enzyme preparations based on the fungi Trichoderma, Penicillium and Myceliophora with increased hydrolytic activity*. Moscow, 2013. 23 p. (in Russian).
9. Dotsenko A. S., Gusakov A. V., Rozhkova A. M., Volkov P. V., Korotkova O. G., Sinitsyn A. P. Enzymatic hydrolysis of cellulose using mixes of mutant forms of cellulases from *Penicillium verrucosum*. *Moscow University Chemistry Bulletin*, 2018, vol. 59, no. 2, pp. 138–143. <https://doi.org/10.3103/s0027131418020037>
10. Reese E. T. The biological degradation of soluble cellulose derivatives and its relationship to the mechanism of cellulose hydrolysis. *Journal of Bacteriology*, 1950, vol. 59, no. 4, pp. 485–497. <https://doi.org/10.1128/jb.59.4.485-497.1950>
11. Reese E. T., Loewus F., Runeckies V. S. Degradation of polymeric carbohydrates of microbial enzymes. *The structure, biosynthesis and degradation of wood*. 1977, vol. 11, pp. 311–367. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-8873-3_8
12. Eriksson K. E., Petersson B. Extracellular enzyme system utilized by the fungus *Sporotrichum pulverulentum* (*Chrysosporium lignorum*) for the breakdown of cellulose. Purification and physicochemical characterization of an exo-1,4-glucanase. *European Journal of Biochemistry*, 1975, vol. 51, no. 1, pp. 213–218. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1975.tb03921.x>

13. Yalliwel G., Griffin M. The nature and mode of action of the cellulolytic components C_1 of *Trichoderma koningii* on native cellulose. *Biochemical Journal*, 1973, vol. 135, no. 4, pp. 587–594. <https://doi.org/10.1042/bj1350587>
14. Wood, T. M., McGrae S. J. The purification and properties of the C_1 -component of *Trichoderma koningii* cellulose. *Biochemical Journal*, 1972, vol. 128, no. 7, pp. 1183–1192. <https://doi.org/10.1042/bj1281183>
15. Wood, T. M. Enzymes and mechanism involved in the solubilization of native cellulose. *Ciencia biologica*, 1980, vol. 5, pp. 27–33.
16. Wood, T. M., McGrae S. J., MacFarlane C. C. The isolation purification and properties of *Penicillium fungiculosum* cellulose. *Biochemical Journal*, 1980, vol. 189, no. 1, pp. 51–65. <https://doi.org/10.1042/bj1890051>
17. Klesov A. A., Rabinovich M. L. Enzymatic hydrolysis of cellulose. *Bioorganicheskaya khimiya = Russian journal of bioorganic chemistry*, 1980, vol. 6, no. 8, pp. 1225–1242 (in Russian).
18. Klesov A. A., Grigorash S. Yu. Enzymatic hydrolysis of cellulose. III. Regularities of the formation of glucose and cellobiose under the action of polyenzyme systems on insoluble (natural) cellulose. *Bioorganicheskaya khimiya = Russian journal of bioorganic chemistry*, 1981, vol. 7, no. 10, pp. 1538–1552 (in Russian).
19. Klesov A. A., Grigorash S. Yu. Kinetic theory of action of polyenzyme cellulase systems: non-stationary kinetics. *Microbiology and biochemistry of decomposition of plant materials*. Moscow, Nauka Publ., 1988, pp. 147–180 (in Russian).
20. Makarova E. I., Budaeva V. V. Bioconversion of nonfood cellulosic biomass. Part 2. *Izvestiya vuzov. Prikladnaya khimiya i biotekhnologiya = Proceedings of universities. Applied chemistry and biotechnology*, 2016, vol. 6, no. 3, pp. 26–35 (in Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2016-6-3-26-35>
21. Rabinovich M. L. The mechanism of enzymatic hydrolysis of cellulose: the role of adsorption of enzymes. *Microbiology and biochemistry of decomposition of plant materials*. Moscow, Nauka Publ., 1988, pp. 70–108 (in Russian).
22. Budaeva V. V., Makarova E. I., Skiba E. A., Sakovich G. V. Enzymatic hydrolysis of the products of hydrothermobaric treatment of miscanthus and oat fruit shells. *Catalysis in industry*, 2013, no. 3, pp. 60–66. <https://doi.org/10.1134/s207005041304003x>
23. Morteza S., Kamyar M. Modeling the process of enzymatic hydrolysis of cellulosic waste materials to fermentable sugars in solid-liquid systems. *18 International Congress of Chemical and Process Engineering*. Prague, 24–28 Aug. 2008, pp. 2114–2115.
24. Jeoh T., Santa-Maria M. C., O'Dell P. J. Assessing cellulose microfibrillar structure changes due to cellulase action. *Carbohydrate Polymers*, 2013, vol. 97, no. 2, pp. 581–586. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.05.027>
25. Zorov I. N., Bushina E. V., Proskurina O. V., Osipov D. O., Volkov P. V., Chekushina A. V., Rozhkova A. M., Sinitsyn A. P. Analysis of the products of enzymatic hydrolysis of plant biomass. *Fizikkhimiya rastitel'nykh polimerov: Materialy 5 Mezhdunarodnoy konferentsii, Arkhangel'sk, 8–11 iyulya, 2013* [Physicochemistry of Plant Polymers: Proceedings of the 5th International Conference, Arkhangel'sk, 8–11 Jul., 2013]. Arkhangel'sk, 2013, pp. 71–73 (in Russian).
26. Zhang M., Su R., Qi W., Du R., He Z. Enzymatic hydrolysis of cellulose with different crystallinities studied by means of SEG-MALLS. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2011, vol. 19, no. 5, pp. 773–778. [https://doi.org/10.1016/s1004-9541\(11\)60055-4](https://doi.org/10.1016/s1004-9541(11)60055-4)
27. Sinitsyn A. P. Influence of physicochemical and structural factors of cellulose on the efficiency of its enzymatic hydrolysis. *Microbiology and biochemistry of decomposition of plant materials*. Moscow, Nauka Publ., 1988, pp. 3–29 (in Russian).
28. Ioelovich M. Ya. Study of the kinetics of enzymatic hydrolysis of cellulose materials. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya = Chemistry of plant raw material*, 2014, no. 1, pp. 61–64 (in Russian). <https://doi.org/10.14258/jcprm.1401061>
29. Abdullah R., Saka S. Hydrolysis behavior of various crystalline celluloses treated by cellulase of *Trichoderma viride*. *Cellulose*, 2014, vol. 21, no. 6, 4049–4058. <https://doi.org/10.1007/s10570-014-0410-4>
30. Wahlström R. M., Suurnäkki A. Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic polysaccharides in the presence of ionic liquids. *Green Chemistry*, 2015, vol. 17, no. 2, pp. 694–714. <https://doi.org/10.1039/c4gc01649a>
31. Gusakov A. V., Sinitsyn A. P. Structural features and physicochemical parameters of lignocellulosic materials that determine their reactivity during enzymatic degradation. *Fizikkhimiya rastitel'nykh polimerov: Materialy 5 Mezhdunarodnoy konferentsii, Arkhangel'sk, 8–11 iyulya, 2013* [Physicochemistry of Plant Polymers: Proceedings of the 5th International Conference, Arkhangel'sk, 8–11 Jul., 2013]. Arkhangel'sk, 2013, pp. 56–57 (in Russian).
32. Kalunyants K. A., Shandenko E. F., Zaitseva L. V. Modern methods of enzymatic hydrolysis of cellulose-containing materials. *Itogi nauki i tekhniki. Ser. Khimiya i tekhnologiya pischevykh produktov* [Results of Science and Technology. Ser. Chemistry and technology of food products], 1988, vol. 1, 185 p. (in Russian).
33. Sinitsyn A. P., Leonova I. L., Nadzhemin B. Comparative analysis of the reactivity of cellulose-containing raw materials in relation to enzymatic hydrolysis. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya = Applied Biochemistry and Microbiology*, 1986, vol. 22, no. 4, pp. 517–525 (in Russian).
34. Sushkova V. I., Ustyuzhaninova L. V., Berezina O. V., Yarotskiy S. V. Methods of preparation of plant raw materials for bioconversion into feed products and bioethanol. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya = Chemistry of plant raw material*, 2016, no. 1, pp. 93–119 (in Russian). <https://doi.org/10.14258/jcprm.201601841>
35. Subhedar P. B., Gogate P. R. Intensification of enzymatic hydrolysis of lignocellulose using ultrasound for efficient bioethanol production: a review (Review). *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2013, vol. 52, no. 34, pp. 11816–11828. <https://doi.org/10.1021/ie401286z>
36. Ho C. C., Hwan U. B., Soo K. Y., Keun O. K. Improved enzyme efficiency of rapeseed straw through the two-stage fractionation process using sodium hydroxide and sulfuric acid. *Applied Energy*, 2013, vol. 102, pp. 640–646. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.08.011>
37. Germano S., Anikó V., André F., Milagres A. M. F. Enhancement of cellulose hydrolysis in sugarcane bagasse by the selective removal of lignin with sodium chlorite. *Applied Energy*, 2013, vol. 102, pp. 399–402. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.07.029>
38. Sultanova L. M., Likhanova S. S., Petukhova N. I., Sharaeva A. A., Zorin V. V. Research of influence of substrate pre-treatment by glycerol on the hydrolysis and digestion of lignocellulosic waste by *Streptomyces* sp. K-7. *Bashkirskii khimicheskii zhurnal = Bashkir chemical journal*, 2012, vol. 19, no. 3, pp. 127–129 (in Russian).

39. Makarova E. I., Budaeva V. V., Skiba E. A. Enzymatic hydrolysis of celluloses from oat hulls at different substrate concentrations. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya = Chemistry of plant raw material*, 2013, no. 2, pp. 43–50 (in Russian). <https://doi.org/10.14258/jcprm.1302043>
40. Buzala K., Przybysz P., Rosicka-Kaczmarek J., Kalinowska H. Production of glucose-rich enzymatic hydrolysates from cellulosic pulps. *Cellulose*, 2015, vol. 22, no. 1, pp. 663–674. <https://doi.org/10.1007/s10570-014-0522-x>
41. Deepa D., Rishi G., Preeti N., Chander R. K. Fungal pretreatment improves amenability of lignocellulosic material for its saccharification to sugars. *Carbohydrate Polymers*, 2014, vol. 99, pp. 264–269. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.045>
42. Zhaobing S., Chaonan J., Haisheng P., Jiping S., Li L., Junshe S. Pretreatment of corn stover with acidic electrolyzed water and FeCl₃ leads to enhanced enzymatic hydrolysis. *Cellulose*, 2014, vol. 21, no. 5, pp. 3383–3394. <https://doi.org/10.1007/s10570-014-0353-9>
43. Izyan A. N., Wan, Jamaliah J. Md, Amir R., Munir M. A. Abdul, Diba B. F. Abu, Rosli I. Md. Efficient removal of lignin with the maintenance of hemicellulose from kenaf by two-stage pretreatment process. *Carbohydrate Polymers*, 2014, vol. 99, pp. 447–453. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.043>
44. Bychkov A. L., Lomovskiy O. I. *Method for enzymatic saccharification of lignocellulosic materials*. Patent RU no. 2514408. 2014 (in Russian).
45. Chen L., Fu S. Enhanced cellulase hydrosysis of eucalyptus waste fibers from pulp mill by tween80-assisted ferric chloride pretreatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, vol. 61, no. 13, pp. 3293–3300. <https://doi.org/10.1021/jf400062e>
46. Yeoup C. B., Taek L. J., Hyoung-Woo B., Ung-Jin K., Hyeun-Jong B., Gon W. S., Jae-Young C. Enhanced enzymatic hydrolysis of poplar bark by combined use of gamma ray and dilute acid for bioethanol production. *Radiation Physics and Chemistry*, 2012, vol. 81, no. 8, pp. 1003–1007. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2012.01.001>
47. Akio K., Shinichiro I., Seung-Hwan L., Takashi E. Quartz crystal microbalance with dissipation monitoring of the enzymatic hydrolysis of steam-treated lignocellulosic nanofibrils. *Cellulose*, 2014, vol. 21, no. 4, pp. 2433–2444. <https://doi.org/10.1007/s10570-014-0312-5>
48. Budaeva V. V., Mitrofanov R. Yu., Zolotukhin V. N. Study of enzymatic hydrolysis of cereal processing waste. *Polzunovskiy vestnik*, 2008, no. 3, pp. 322–327 (in Russian).
49. Golyazimova O. V., Politov A. A., Lomovskiy O. I. Mechanical activation of enzymatic hydrolysis of cellulose. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya = Chemistry of plant raw material*, 2009, no. 2, pp. 59–63 (in Russian).
50. Vazetdinova A. A., Kharina M. V., Loginova I. G., Kleschevnikov L. I. Enzymatic hydrolysis of cellulosic residuals of furfural production from vegetable raw materials. *Bashkirskii khimicheskii zhurnal = Bashkir chemical journal*, 2017, vol. 24, no. 1, pp. 27–31 (in Russian).
51. De Bari I., Liuzzi F., Villone A., Braccio G. Hydrolysis of concentrated suspensions of steam pretreated *Arundo donax*. *Applied Energy*, 2013, vol. 102, pp. 179–189. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.05.051>
52. Shutova V. V., Yusipovich A. I., Parshina E. Yu., Zakharkin D. O., Revin V. V. Effect of particle size on the enzymatic hydrolysis of polysaccharides from ultrafine lignocellulose particles. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya = Applied Biochemistry and Microbiology*, 2012, vol. 48, no. 3, pp. 346–352 (in Russian).
53. Golovlev E. L., Golovleva L. A. Solid-phase fermentation of plant raw materials. *Microbiology and biochemistry of decomposition of plant materials*. Moscow, Nauka Publ., 1988, pp. 301–333 (in Russian).
54. Smirnov K. A., Alashkevich Yu. D., Reshetova N. S. Features of solid phase fermentation. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya = Chemistry of plant raw material*, 2009, no. 3, pp. 161–164 (in Russian).
55. Kalunyants K. A., Golger L. I., Balashov V. E. *Equipment for microbiological production*. Moscow, Agropromizdat Publ., 1987. 398 p. (in Russian).
56. Lyut P., Ayben U., Kuznetsov Yu. D. *Solid phase fermenter and solid phase culture method*. Patent RU no. 2235767C2. 2000 (in Russian).
57. Kirsch C., Wermeyer K., Zetzel C., Smirnova I. Enzymatische Hydrolyse von Lignocellulose im Festbettreaktor. *Chemie Ingenieur Technik*, 2011, vol. 83, no. 6, pp. 867–873. <https://doi.org/10.1002/cite.201000204>
58. Sakovich G. V., Budaeva V. V., Skiba E. A., Makarova E. I., Pavlov I. N., Kortusov A. N., Zolotukhin V. N. An experience of scaling up the enzymatic hydrolysis of technical celluloses from miscanthus and oat hulls. *Polzunovskiy vestnik*, 2012, no. 4, pp. 173–177 (in Russian).
59. Pavlechko V. N., Boltovsky V. S. *Apparatus for solid-phase fermentation*. Patent RB no. 16946. 2013 (in Russian).

Информация об авторе

Болтовский Валерий Станиславович – д-р техн. наук, профессор. Белорусский государственный технологический университет (ул. Свердлова, 13а, 220006, Минск, Республика Беларусь). E-mail: v-boltovsky@rambler.ru

Information about the authors

Valeriy S. Boltovskiy – D. Sc. (Engineering), Professor. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlov str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: v-boltovsky@rambler.ru