

## ИММОБИЛИЗАЦИЯ ЦЕЛЛЮЛАЗЫ НА НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫЕ НОСИТЕЛИ ДЛЯ ПЕРЕРАБОТКИ ОТХОДОВ БИОМАССЫ

*А.М. Сульман, О.В. Гребенникова, В.Г. Матвеева*

*Тверской Государственный Технический Университет, Тверь, Россия*

Ежегодно только российский агропромышленный комплекс производит около 773 млн т отходов (260 млн т по сухому веществу). Из них 220 млн т (150 млн т по сухому веществу) приходится на растениеводство и 30 млн т (14 млн т по сухому веществу) – на отходы перерабатывающей промышленности. Отходы сельского хозяйства составляют 100–150 % объемов урожаев полевых культур, таких как сахарная свекла, помидоры, картофель, соя, пшеница, рис и другие зерновые культуры.

Самым большим препятствием для производства биотоплива из биотоплива второго поколения являются этапы предварительной обработки, которые необходимы для расщепления сложных полисахаридов, прежде чем они могут быть переработаны в биотопливо [1–2]. Большая часть целлюлозосодержащей биомассы, которая используется для производства биотоплива, состоит из сложных полисахаридов, таких как лигнин, целлюлоза и гемицеллюлоза. Лигноцеллюлозная биомасса подвергается биологическим, химическим или физическим методам расщепления исходной биомассы на более простые и короткие цепочки полисахаридов. Во многих случаях делигнификация также является основной целью первого этапа обработки. После того как целлюлоза и гемицеллюлоза разделены путем предварительной обработки, следующей важной задачей является ферментативный гидролиз этих полимеров. Этот метод второго цикла обработки для расщепления целлюлозы или полисахаридные цепи гемицеллюлозы с использованием многофункциональных ферментов также называется ферментативное осахаривание. Ферменты, такие как целлюлазы, используются для расщепления более коротких цепей полисахарида целлюлозы с образованием глюкозы. Затем эта глюкоза может быть подвергнута брожению с образованием биотоплива, такого как биоэтанол.

Одним из важнейших факторов при выборе непищевых культур для производства биотоплива является содержание в них целлюлозы. Различные культуры, которые специально выращиваются для производства биоэнергии, отбираются на основе высокого содержания целлюлозы. Биоэтанол получают из культур с низким содержанием лигнина и более высоким содержанием целлюлозы. Экологически благоприятным способом переработки биомассы является использование ферментов, которые разлагают целлюлозу до глюкозы. Три основных фермента («ферменты целлюлолитического комплекса») разлагающих целлюлозу, в совокупности известны как целлюлаза (CEL). Основная функция целлюлазы включают гидролиз полимерной целлюлозы до мономера глюкозы. Полная деградация молекулы целлюлозы будет достигнута за счет действия всех трех ферментов. Первым ферментом, участвующим в разложении целлюлозы, является эндоглюканаза (EG) (1,4-β-D-глюкан-4-глюканогидролазы; КФ 3.2.1.74), который случайным образом воздействует на гликозидные связи внутри молекулы целлюлозы. Восстанавливающие или не восстанавливающие концы целлюлозы затем дополнительно разлагаются экзоглюканазой (КФ 3.2.1.91 и КФ 3.2.1.74) с образованием либо целлобиозы, либо глюкозы. Полный процесс гидролиза не происходил без фермента β-глюкозидазы (BGL) (КФ 3.2.1.21), который действует на целлодекстрины и целлобиозу, полученные в результате предшествующих действий ферментов, и преобразуется в глюкозу.

Однако низкая термическая стабильность ферментов и стабильность при хранении, а также наличие примесей, утечка ферментов и проблема повторного использования являются основными недостатками использования свободных ферментов. Эти недостатки могут быть сведены к минимуму или даже устранены путем иммобилизации ферментов на различных носителях. Роль вспомогательных материалов заключается в сохранении вторичной структуры фермента, а также в создании благоприятных взаимодействий с ферментом. Выбор подходящего носителя также определяется типами фермента и процесса [3–5].

Мы считаем, что совместная иммобилизация множества ферментов (рисунок 1) на различных носителях является наиболее многообещающим направлением для будущей разработки нанобиокатализаторов.

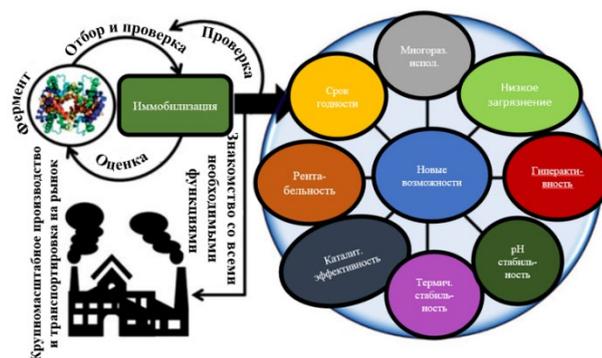


Рисунок 1 – Схематический путь скрининга ферментов к иммобилизации с новыми функциями для масштабирования до промышленного уровня

Это могло бы значительно улучшить результат осахаривания целлюлозы до сахаров или биоэтанола за счет эффективного гидролиза лигнина, крахмала и т. д., которые сопровождают целлюлозу в отходах биомассы и являются вредными для гидролиза целлюлозы. Кроме того, использование магнитно разделяемых подложек делает биокатализатор более надежным и облегчает биокаталитические процессы за счет извлечения магнитного нанобиокатализатора. Наконец, пути оптимизации контакта между иммобилизованной целлюлозой и целлюлозной биомассой с помощью реагирующих на стимулы материалов кажутся благоприятными для дальнейшей разработки нанобиокатализаторов для переработки целлюлозой биомассы.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант 24-79-10042).*

### Литература

- [1] Giannakopoulou, A.; Patila, M.; Spyrou, K.; Chalmes, N.; Zarafeta, D.; Skretas, G.; Gournis, D.; Stamatis, H. Development of a four-enzyme magnetic nanobiocatalyst for multi-step cascade reactions. *Catalysts* 2019, 9, 995, doi : 10.3390/catal9120995.
- [2] Wang, Y.; Chen, D.; Wang, G.; Zhao, C.; Ma, Y.; Yang, W. Immobilization of cellulase on styrene/maleic anhydride copolymer nanoparticles with improved stability against pH changes. *Chem. Eng. J. (Amsterdam, Neth.)* 2018, 336, 152–159, doi : 10.1016/j.cej.2017.11.030.
- [3] Lu, L.; Zhang, L.; Yuan, L.; Zhu, T.; Chen, W.; Wang, G.; Wang, Q. Artificial Cellulosome Complex from the Self-Assembly of Ni-NTA-Functionalized Polymeric Micelles and Cellulases. *ChemBioChem* 2019, 20, 1394–1399, doi : 10.1002/cbic.201900061.
- [4] Saha, K.; Verma, P.; Sikder, J.; Chakraborty, S.; Curcio, S. Synthesis of chitosan-cellulase nano hybrid and immobilization on alginate beads for hydrolysis of ionic liquid pretreated sugarcane bagasse. *Renewable Energy* 2019, 133, 66–76, doi : 10.1016/j.renene.2018.10.014.
- [5] Sulman, A.M.; Matveeva, V.G.; Bronstein, L.M. Cellulase Immobilization on Nanostructured Supports for Biomass Waste Processing. *Nanomaterials* 2022, 12, 3796, doi : 10.3390/nano12213796.