

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОКАТАЛИТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ЛИГНИНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО ДЕЙСТВИЯ ДЛЯ КОМПЛЕКСНОЙ ПЕРЕРАБОТКИ ОТХОДОВ ЦЕЛЛЮЛОЗНО-БУМАЖНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ. ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ

Королева О.В.¹, Федорова Т.В.¹, Лукина Н.В.², Тебенкова Д.Н.², Воробьев Р.А.²

¹ФГБУН «Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН», Москва, Россия (119071, г. Москва, Ленинский проспект, 33, стр. 2), e-mail: koroleva@inbi.ras.ru, fedorova@inbi.ras.ru

²ФГБУН «Центр по проблемам экологии и продуктивности лесов РАН», Москва, Россия (117997, г. Москва, ул. Профсоюзная, 84/32), e-mail: lukina@cepl.rssi.ru, teb-dasha@yandex.ru, vorobyev88@gmail.com

В обзоре представлен анализ современного состояния использования биокаталитических процессов лигноцеллюлозного действия для переработки отходов целлюлозно-бумажного производства. В настоящее время во всем мире ведется интенсивная разработка биотехнологий на основе лигнолитических ферментов базидиальных грибов как для обработки лигноцеллюлозных материалов, так и для утилизации лигнинсодержащих отходов. Базидиальные грибы, возбудители белой гнили древесины, принадлежат к немногочисленной группе микроорганизмов, способных разрушать лигнин, и обладающих уникальной системой лигнолитических ферментов: лакказы, марганец- и лигнинпероксидазы. Известно, что некоторые виды высших базидиальных грибов, деструкторов древесины, обладают уникальными механизмами детоксикации как продуктов деградации лигнина, так и ксенобиотиков. В связи с этим базидиальные грибы нашли широкое применение в переработке техногенных отходов, включая отходы целлюлозно-бумажной промышленности. Рассмотрены возможные направления использования биотехнологий на основе лигнолитических ферментов базидиальных грибов для переработки отходов целлюлозно-бумажной промышленности.

Ключевые слова: целлюлозно-бумажная промышленность, биокаталитические процессы лигноцеллюлозного действия, базидиальные грибы.

THE USEING OF LIGNINOTSELLYULOZING BIOCATALYTIC PROCESSES FOR INTEGRATED WASTE TREATMENT OF PULP AND PAPER INDUSTRY. FUNDAMENTAL AND APPLIED ASPECTS

Koroleva O.V.¹, Fedorova T.V.¹, Lukina N.V.², Tebenkov D.N.², Vorobyev R.A.²

¹Bach Institute of Biochemistry RAS, Moscow, Russia (119071, Moscow, Leninsky prospekt, 33, build. 2), e-mail: koroleva@inbi.ras.ru, fedorova@inbi.ras.ru

²Centre for Forest Ecology and Productivity RAS, Moscow, Russia (117997, Moscow, st. Profsoyuznaya 84/32), e-mail: lukina@cepl.rssi.ru, teb-dasha@yandex.ru, vorobyev88@gmail.com

The analysis of the current state of biocatalytic processes using lignocellulosic waste processing steps for the pulp and paper industry. At present, around the world, intensive development of biotechnology-based enzymes lignolytic basidiomycetes as for the treatment of lignocellulosic materials, and for the utilization of lignin-containing waste. Basidiomycetes white-rot pathogens of wood, belong to a small group of microorganisms capable of destroying the lignin, and has a unique system of ligninolytic enzymes, laccase, lignin peroxidase and manganese. It is known that certain higher basidiomycetes destructors timber has a unique mechanism of detoxification as lignin degradation products and xenobiotics. In this regard, basidiomycetes are widely used in industrial waste processing, including waste water and soil.

Keywords: pulp and paper industry, biocatalytic processes of lignocellulosic actions basidiomycetes.

Введение. В настоящее время все более широкое применение в промышленности находят биокаталитические процессы с применением различных ферментов и ферментных препаратов. Поиск, дизайн и применение биокатализаторов для использования в различных отраслях промышленности — главные тенденции развития современной биотехнологии. Использование ферментов позволяет создавать экологически привлекательные технологии и минимизировать побочные химические реакции.

По данным статистики, объем продаж технических препаратов ферментов на мировом рынке в 2012 г. составил почти 1,1 биллиона долларов. По прогнозам специалистов, в 2016 г. их оборот составит около 1,7 биллиона долларов. Основными потребителями биокатализаторов являются пищевая промышленность, кормопроизводство, текстильная и целлюлозно-бумажная промышленности.

В целлюлозно-бумажной промышленности (ЦБП) и лесоперерабатывающей отрасли используются преимущественно ферменты лигноцеллюлозного действия.

ЦБП по своей специфике является потенциальным источником негативного воздействия на окружающую среду из-за опасных стоков в водоемы и выбросов в атмосферу, а также складирования твердых отходов на специальных площадках.

ЦБП характеризуется наличием широкого спектра всевозможных отходов: кородревесные, обезвоженный осадок сточных вод, зола, известковый шлам, полиэтиленовая и полипропиленовая упаковка, деревянные поддоны, отработанные масла и др. — в целом свыше 50 видов [2]. В России проблема переработки отходов ЦБП является весьма актуальной. По данным государственной статистики за 2012 г., объем отходов производства бумаги составляет 6,1 млн т. К тому же до сих пор для отбеливания древесных волокон большинство отечественных целлюлозно-бумажных предприятий использует хлор и его соединения.

Сегодня предложены различные варианты вторичного использования наиболее токсичных твердых отходов ЦБП – активного избыточного ила и скопа. Это анаэробное/аэробное сбраживание, паровое преобразование, влажное окисление, сжигание, компостирование, пиролиз, использование в качестве связующего вещества для получения топливных брикетов, удобрения, в строительстве, корма для животных и птиц. Но, принимая во внимание высокую стоимость, трудоемкость, энергоемкость процесса утилизации, а также порой сомнительную детоксикацию, предложенные технологии утилизации твердых отходов ЦБП не получили широкого распространения.

Способы применения биокаталитических процессов, основанных на конверсии отходов с использованием биокатализаторов лигноцеллюлозного действия и получения продуктов с добавленной стоимостью: экологически чистого биопрепарата, биосубстрата и др., являются в настоящее время наиболее экономически и экологически перспективными приемами утилизации отходов ЦБП.

В настоящее время в России нет опыта комплексной переработки отходов целлюлозно-бумажной промышленности в биологически активный продукт с помощью биокаталитического процесса направленного действия, что делает работу по изучению

научных основ биоконверсии твердых отходов ЦБП с использованием биокатализаторов лигноцеллюлозного действия весьма актуальной.

Цель обзора – анализ современного состояния использования биокаталитических процессов лигноцеллюлозного действия для переработки отходов ЦБП.

В настоящее время во всем мире ведется интенсивная разработка биотехнологий на основе лигнолитических ферментов базидиальных грибов как для обработки лигноцеллюлозных материалов, так и для утилизации лигнинсодержащих отходов. Базидиальные грибы, возбудители белой гнили древесины, принадлежат к немногочисленной группе микроорганизмов, способных разрушать лигнин и обладающих уникальной системой лигнолитических ферментов: лакказы, марганец- и лигнинпероксидазы. Известно, что некоторые виды высших базидиальных грибов, деструкторов древесины, обладают уникальными механизмами детоксикации как продуктов деградации лигнина, так и ксенобиотиков. В связи с этим базидиальные грибы нашли широкое применение в переработке техногенных отходов.

Основная экологическая функция ксилотрофных базидиомицетов в природе – разложение лигнина и целлюлозы. Грибы преобразовывают труднорасщепляемые биополимеры в формы, доступные для потребления другим организмам в экологической цепи [10; 12]. Высокий интерес к базидиальным грибам в настоящее время обусловлен, прежде всего, их способностью продуцировать экстрацеллюлярный мультиферментный комплекс, что обуславливает способность этих грибов утилизировать как труднодеградируемые природные полимеры (целлюлоза, лигнин, гуминовые вещества), так и ксенобиотики различных классов [11]. Так как согласно существующим представлениям основная роль в процессах биodeградации природных полимеров и ксенобиотиков базидиомицетами принадлежит внеклеточным ферментам [12], то все большее внимание уделяется исследованию основных ферментов, входящих в состав мультиферментного экстрацеллюлярного комплекса: лакказы, лигнинпероксидазы и Mn-пероксидазы.

На данный момент преимущественная роль в процессах деградации и модификации лигнина принадлежит лакказе и пероксидазам различных типов, а также вспомогательным ферментам, таким как арилалкогольоксидаза, глюкозоксидаза, глиоксальоксидаза и др. (рисунки 1). От эффективности их взаимодействия зависит адаптация гриба к внешним условиям и способность его к деградации древесных субстратов.

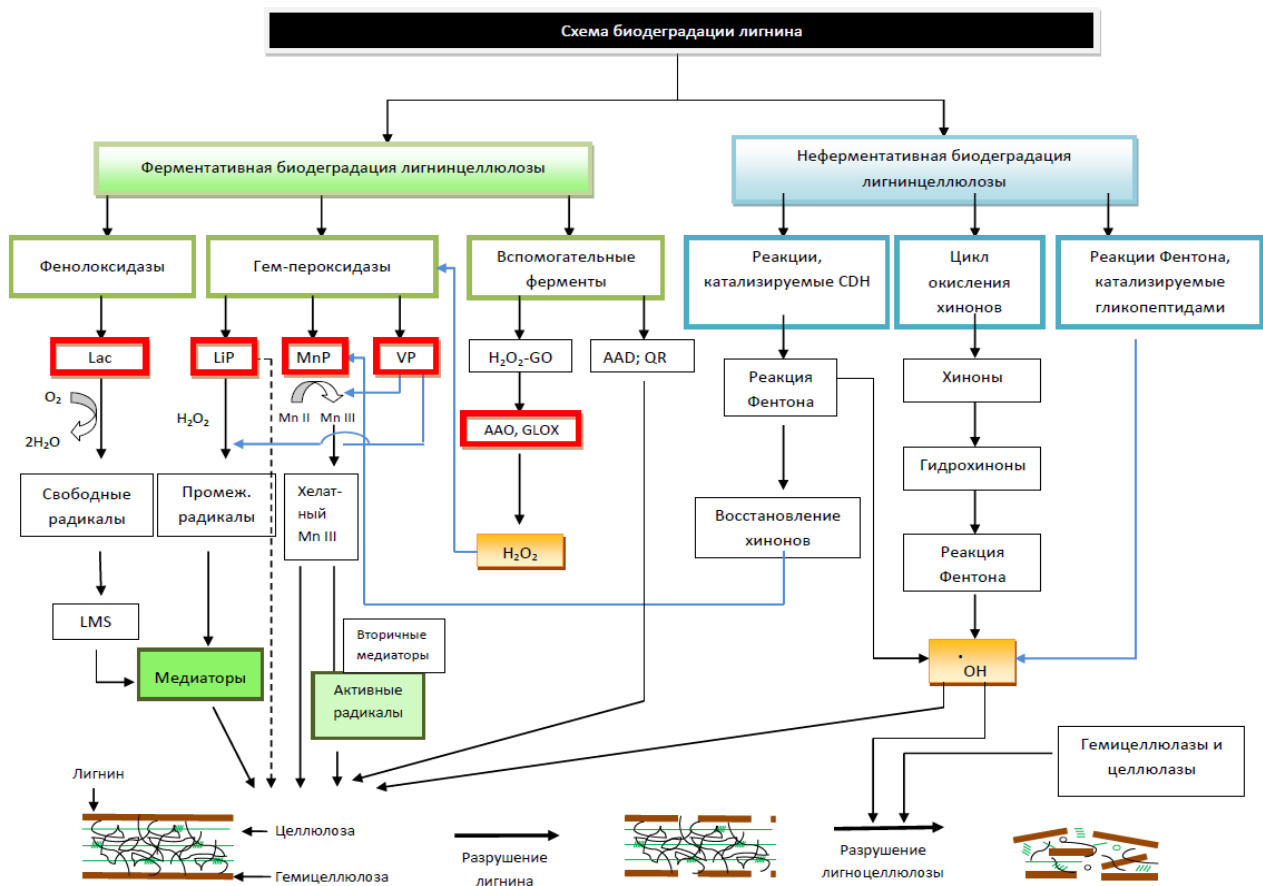


Рисунок 1 – Схема биодegradации лигнинцеллюлозы [7]

Lac – лакказы; Lip – лигнин пероксидаза; MnP – марганец пероксидаза;
 VP – версатил пероксидаза; AAO – арилалкогольоксидаза; GLOX – глиоксальоксидаза;
 GO – глюкозооксидаза; AAD – арилалкогольдегидрогеназа; QR – хинон редуктаза;
 LMS – лигнинмодифицирующие системы грибов; H_2O_2 – пероксид водорода;
 OH – гидроксид-радикал

Важным продуктом, образующимся при разложении лигнина и целлюлозы с помощью ферментов базидиальных грибов, являются гуминоподобные (ГПВ) и гуминовые вещества (ГВ), которые представляют собой основной резервуар почвенного углерода. Таким образом, уникальной особенностью функционирования базидиальных грибов в наземных экосистемах является их одновременное участие и в разложении, и в синтезе наиболее устойчивой к дегradации фракции почвенного органического вещества – ГВ.

На данный момент наиболее значимыми являются две гипотезы гумификации: теория конденсационной полимеризации, разработанная М.М. Кононовой [3], и теория образования ГВ по механизму окислительного кислотообразования, предложенная Л.Н. Александровой [3]. Следует подчеркнуть, что обе теории в качестве обязательных стадий гумификации включают в себя процессы преобразования органических веществ, приводящие к увеличению молекулярной массы (полимеризация и конденсация). Катализаторами

подобных процессов в природе в большинстве случаев выступают ферменты, выделяемые различными микроорганизмами. Данный факт стал основой для биологической теории происхождения ГВ, разработанной В.Р. Вильямсом [1]. По мнению автора, ГВ являются прямым продуктом жизнедеятельности микроорганизмов, прежде всего грибов, которые трансформируют мертвое органическое вещество в ходе получения из него питательных веществ. Было установлено, что многие высшие грибы в ходе своей жизнедеятельности синтезируют меланины – темноокрашенные пигменты, которые по структуре близки к ГВ. Несмотря на то что теория Вильямса не нашла поддержки у современных исследователей, роль грибов и выделяемых ими ферментов в процессе гумификации в настоящее время можно считать достоверно установленной. В работе [4] показано, что под действием лакказ, выделяемых грибами и лишайниками, происходит интенсивная трансформация органических веществ, поступающих из отмерших растений и животных, в ГВ.

Таким образом, роль базидиомицетов в гумификации заключается в продуцировании комплекса ферментов, под действием которых может происходить как разложение, так и синтез ГВ – наиболее устойчивой к деградации фракции почвенного органического вещества, представляющей собой основной резервуар органического углерода в наземных экосистемах.

Проведенный анализ выявил возможность использования биотехнологий на основе лигнолитических ферментов базидиальных грибов для переработки отходов целлюлозно-бумажной промышленности по следующим основным направлениям.

Базидиальные грибы могут использоваться при очистке сточных вод для разложения образующейся на целлюлозно-бумажных комбинатах (ЦБК) пульпы и различных красителей, присутствующих в сточных водах. В частности, штаммы базидиальных грибов нашли применение при обработке сточных вод ЦБК [13] и твердых отходов ЦБК, содержащих хлорорганические ароматические соединения [5].

Наибольший интерес для консервации с использованием базидиальных грибов представляют опилки, кородревесные отходы, щепа ввиду повышенного, по сравнению с другими отходами, содержания лигнина, скоп, активные избыточные илы ввиду наличия в них повышенной концентрации опасных хлорорганических соединений – диоксинов. Для этих отходов базидиомицеты являются универсальным биоконсерватором, обеспечивающим не только деградацию лигнина и целлюлозы, но и диоксинов.

При разработке технологий рекультивации загрязненных земель отходами ЦБП особый интерес к базидиальным грибам вызывается их устойчивостью к присутствию в среде тяжелых металлов, что позволяет использовать эти грибы как для очистки почв, загрязненных тяжелыми металлами, так и при комплексных загрязнениях. Согласно данным,

полученным в работе [6], базидиальный гриб *T. versicolor* обладал высокой устойчивостью к Cd, Zn, Ni, Co, Cr, Mo, Pb, Hg, Sn. Кроме того, поглощение металлов грибами может происходить не только вследствие адсорбционных процессов, как в случае бактерий, но также и благодаря активному транспорту металлов в клетки [8; 9]. Указанные особенности базидиальных грибов делают их перспективными биологическими агентами для очистки загрязненных сред, в частности отходами ЦБП.

Работа проводилась при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, государственный контракт от 19 апреля 2013 г. №14.512.11.0067, в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2013 годы».

Список литературы

1. Вильямс В.Р. Почвоведение. Земледелие с основами почвоведения. - М. : ОГИЗ – «Сельхозгиз», 1946. - 458 с.
2. Мещерякова Е.В. Мировой опыт решения экологических проблем в целлюлозно-бумажной промышленности : дис. к.э.н. – Изд. центр БГУ, 2010. – 253 с.
3. Орлов Д.С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации – М. : Изд-во МГУ, 1991. - 324 с.
4. Реконструкция возникновения палеопочв на основе современных процессов гумусообразования. Палеопочвы и индикаторы континентального выветривания в истории биосферы. Серия «Гео-биологические системы в прошлом» / А.Г. Заварзина. - М. : ПИН РАН, 2010. - С. 36-75.
5. Чхенкели В.А., Николаева Л.А. Детоксикация хлорорганических соединений продуцентом *Trametes rubescens* (Shumach.) Pilat // Тезисы международной научной конференции «Микроорганизмы и биосфера». - Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, 2007. – С. 147-149.
6. Baldrian P. Interactions of heavy metals with white-rot fungi // Enzyme and Microbial Technology. – 2003. - Vol. 32. – P. 78–91.
7. Dashtban M. Fungal biodegradation and enzymatic modification of lignin / M. Dashtban, H. Schraft, T.A. Syed, W. Qin // Int J Biochem Mol Biol. – 2010. - Vol. 1, № 1. – P. 36-50.
8. Gabriel J. Copper sorption by native and modified pellets of wood-rotting basidiomycetes / J. Gabriel, P. Baldrian, K. Hladikova, M. Hakova // Lett. Appl. Microbiol. – 2001. - Vol. 32. – P. 194–198.

9. Gutnick D.L. Engineering bacterial biopolymers for the biosorption of heavy metals; new products and novel formulations / D.L. Gutnick, H. Bach // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2000. Vol. 54. – P. 451–460.
10. Lacina C. Utilization of fungi for biotreatment of new wastewater: a review / C. Lacina, G. Germin, A. Spiros // *Afr. J Biotechnol.* – 2003. - Vol. 2. – P. 620–635.
11. Mougin C. Soil Bioremediation Strategies Based on the Use of Fungal Enzymes / C. Mougin, H. Boukcim, C. Jolivald // *New Phytol.* – 2009. - Vol. 178. – P. 167–176.
12. Sanchez C. Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi / C. Sanchez // *Biotechnology Advances* – 2009. - Vol. 27. – P. 185-194.
13. Selvam K. Decolourization and dechlorination of a pulp and paper industry effluent by *Thelephora sp* / K. Selvam, K. Swaminathan, K. Rasappan, R. Rajendran, S. Pattabhi // *Ecol Environ Conserv.* – 2006. - Vol. 12. – P. 223–226.

Рецензенты:

Аким Э.Л., д.т.н., профессор, заведующий кафедрой ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный технологический университет растительных полимеров», г.Санкт-Петербург.

Евдокимова Г.А., д.б.н. профессор, заместитель директора по научной работе ФГБУН «Институт промышленной экологии Севера Кольского научного центра РАН», г.Апатиты.