

УДК 664.162.036.4:577.15

## Результаты ферментации целлюлозы мискантуса в ацетатном буфере и водной среде

Е. И. МАКАРОВА

Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения РАН,  
ул. Социалистическая, 1, Бийск 659322 (Россия)

E-mail: ipcet@mail.ru

(Поступила 21.08.12; после доработки 29.01.13)

### Аннотация

Исследован ферментативный гидролиз технической целлюлозы мискантуса в ацетатном буфере ферментным препаратом BrewZyme BGX. Установлена линейная зависимость конечной концентрации редуцирующих веществ от начальной концентрации субстрата. Исследован ферментативный гидролиз целлюлозы в водной среде с последовательным добавлением ферментных препаратов BrewZyme BGX, Celluxil, “Целлолюкс-А”. Результаты сбраживания полученных в водной среде гидролизатов технической целлюлозы мискантуса свидетельствуют об доброкачественности, благодаря чему данные гидролизаты можно использовать для конверсии в этанол, гель-пленку бактериальной целлюлозы и другие продукты микробиологической трансформации.

**Ключевые слова:** ферментативный гидролиз, редуцирующие вещества, техническая целлюлоза мискантуса, BrewZyme BGX, сбраживание в этанол, биоконверсия в бактериальную целлюлозу

### ВВЕДЕНИЕ

Переработка недревесного лигноцеллюлозного сырья в топливный этанол и другие полезные продукты стала важным направлением современной промышленной биотехнологии и предметом многочисленных исследований. Так, в работах [1, 2] приведено описание ферментативного гидролиза в качестве альтернативы кислотному при переработке недревесного сырья; в работе [3] изложены результаты исследования механической активации ферментативного гидролиза лигноцеллюлозы. Авторы [4] исследовали процесс подготовки лигноцеллюлозного материала для ферментативного гидролиза [4], а в работе [5] приведены примеры биотехнологической переработки отходов сельского хозяйства. Изложенные данные указывают на актуальность данной проблемы.

Глубокое развитие данное направление получило за рубежом, о чем свидетельствуют

обзоры российских исследователей [6, 7] и работы зарубежных ученых, посвященные разным видам недревесного сырья [8–16]. Большая часть материала зарубежных статей связана с переработкой мискантуса.

Мискантус – типичный представитель энергетических культур. С одного посева этого растения можно собирать урожай на протяжении 30 лет в количестве до 30 т/га, а расходы на выращивание культуры меньше стоимости энергоносителей из традиционных источников. Проведенные исследования ферментативного гидролиза продуктов предобработки мискантуса за рубежом показали перспективность использования этого вида недревесного целлюлозосодержащего сырья для достижения биотехнологических и химических целей в интересах устойчивого развития [17–20].

Для получения субстрата использовался мискантус урожая 2008 г., полученный на плантациях Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирская обл.). Работы по его

выращиванию, предобработке и ферментации проводятся в течение последних пяти лет [21–24].

Исследования ферментативного гидролиза чистой целлюлозы или продуктов с содержанием целлюлозы более 90 % носят фундаментальный характер и в последнее время вновь становятся актуальными [2, 25].

Цель данной работы – исследование ферментации целлюлозы мискантуса в ацетатной среде и водной среде.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве субстрата нами использована техническая целлюлоза мискантуса китайского (*Miscanthus sinensis*), полученная на опытно-промышленном производстве азотнокислым способом. Азотнокислую варку мискантуса проводили в реакторе вместимостью 250 л с турбинной мешалкой. В реакторе готовили 4 %-й раствор азотной кислоты, загружали предварительно измельченное на соломорезке сырье, нагревали до температуры 90–95 °С и перемешивали при этой температуре в течение 20 ч. После охлаждения суспензию фильтровали под вакуумом, дважды промывали водой. Полученный таким образом лигноцеллюлозный материал вновь загружали в реактор, содержащий 2 %-й раствор гидроксида натрия, нагревали до 60 °С и перемешивали при этой температуре 2 ч. Далее фильтровали суспензию целлюлозы под вакуумом, промывали 1 %-м раствором едкого натра, затем дважды – водой. После сушки получили техническую целлюлозу с выходом 38,4 %.

Химический состав субстрата (в пересчете на абсолютно сухое вещество) представлен преимущественно гидролизуемой частью –  $\alpha$ -целлюлозой (90,3 %) и пентозанами (1,5 %), остальное – негидролизуемые примеси: остаточный лигнин (3,6 %) и зола (4,2 %). Влажность субстрата составляла 2,7 %, степень полимеризации – 660 ед.

В качестве источника целлюлазы в работе использовался ферментный препарат (ФП) BrewZyme BGX (Польша), который представляет собой жидкий препарат целлюлазы, гемицеллюлазы и ксиланазы и катализирует распад целлюлозы на глюкозу, целлобиозу и более высокомолекулярные редуцирующие

вещества. Препарат BrewZyme BGX характеризуется следующими активностями: ксиланазной (6500 + 5% ед. КС/см<sup>3</sup>);  $\beta$ -глюкоказной (1700 + 5 % ед.  $\beta$ -ГКС/см<sup>3</sup>) и целлюлазной (1500 ед. + 5 % ед. КМЦ/см<sup>3</sup>).

Определение основных характеристик субстратов (массовой доли)  $\alpha$ -целлюлозы, остаточного (кислотонерастворимого) лигнина, золы и пентозанов проводили по стандартным методикам, описанным в работе [26]. Влажность определяли с помощью анализатора влагосодержания Ohaus MB 23/MB 25 (США). Степень полимеризации целлюлоз определяли по вязкости растворов в кадоксене на вискозиметре ВПЖ-3 с диаметром капилляра 0,92 мм по методике, описанной в работе [27].

На первом этапе методика исследования ферментативного гидролиза заключалась в следующем: в колбу Эрленмейера вместимостью 500 мл помещали навеску субстрата, 150 мл ацетатного буфера (рН 4,7) и ФП BrewZyme BGX при температуре (50±2) °С в течение 72 ч, при постоянном перемешивании [24]. Перемешивание реакционной массы осуществляли на горизонтальной платформе ПЭ-6410М (Россия) с частотой колебания 150 мин<sup>-1</sup>. Через каждые 8 ч отбирали пробу суспензии (2 мл), определяли концентрацию редуцирующих веществ (РВ) в пересчете на глюкозу [28] спектрофотометрическим способом на UNICO UV-2804 (США) с использованием реактива на основе 3,5-динитросалициловой кислоты (Panreac, Испания). Данный метод выгодно отличается простотой выполнения анализа и малым расходом реагентов. Его относительная погрешность составляет 3,45 % [29].

Предварительно построены калибровочные графики зависимости оптической плотности от концентрации растворов глюкозы, ксиланазы и смеси глюкозы и ксиланазы в соотношении 1 : 1 (рис. 1). Видно, что калибровочные графики практически идентичны друг другу. Следовательно, при определении концентрации РВ в пересчете на глюкозу в растворе, где помимо гексоз содержатся и пентозы, отклонение от истинного значения концентрации будет незначительным.

На втором этапе исследований ферментации в круглодонную колбу вместимостью 4 л вносили навеску субстрата, добавляли дистиллированную воду, подкисленную разбав-

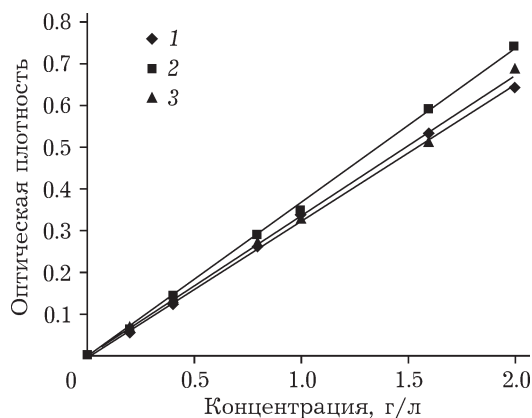


Рис. 1. Зависимость оптической плотности от концентрации раствора: 1 – глюкоза, 2 – ксилоза, 3 – глюкоза + ксилоза.

ленной ортофосфорной кислотой до pH 4.7 (иономер лабораторный И-160МИ, Россия), и ФП BrewZyme BGX. Гидролиз проводили по описанной выше методике с использованием вертикального перемешивающего устройства Velp (Италия) при непрерывном режиме процесса (круглосуточно) с целью исключить влияние перепада температур на действие ФП. Нагрев содержимого колбы проводили с помощью колбонагревателя LTHS 4000 (Чехия). На протяжении всего процесса ферментации измеряли величину pH [30, 31].

По окончании процесса суспензию отфильтровывали под вакуумом, взвешивали, определяли влажность и далее рассчитывали убыль массы. В полученном осадке определили степень полимеризации [27]. Осадок во влажном состоянии повторно ферментировали, последовательно добавляя ФП: BrewZyme BGX, затем Celluxil (ФРГ) и “Целлюлюкс-А” (ПО “Сиббиофарм”, г. Бердск, Новосибирская обл.).

Водный гидролизат сбраживали культурой дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (штамм Y-1693) (ФГУП “ГосНИИГенетика”, Москва).

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Ранее в работах, посвященных ферментативному гидролизу целлюлозосодержащего сырья, описывалась ферментация предобработанного сырья с концентрацией субстрата до 30 г/л [21]. Очевидно, что по окончании ферментации концентрация РВ в гидролизате даже чистой целлюлозы в таких случаях

не может превышать 30 г/л. В этой связи нами исследован гидролиз технической целлюлозы с различными исходными концентрациями субстрата, г/л: 15, 30, 60, 90, 120.

Результаты исследования ферментативного гидролиза представлены на рис. 2.

Видно, что при увеличении исходной концентрации субстрата конечная концентрация РВ в гидролизате возрастает. Это также свидетельствует о том, что высокая концентрация РВ – продуктов гидролиза – не подавляет гидролитического действия ФП BrewZyme BGX.

В опытах с низкими концентрациями субстрата (15 и 30 г/л) конечная концентрация РВ после 72 ч не превышает 10 г/л, а при концентрации субстрата в 60 г/л она достигает 21 г/л. Однако в случае концентраций субстратов 90 и 120 г/л уже через 16 ч концентрации РВ составили 20 г/л.

В соответствии с полученными результатами можно предположить, что ферментации технических целлюлоз с концентрациями субстрата 90 и 120 г/л обеспечивают получение гидролизатов с высокими концентрациями РВ (35–52 г/л) в водной среде. Кроме того, можно получать гидролизаты с заданной концентрацией РВ путем выбора начальной концентрации субстрата.

На рис. 3 показана зависимость выхода РВ (к начальной массе субстрата) от продолжительности ферментации для опытов с различной исходной концентрацией субстрата. Выход РВ (отношение массы РВ к массе суб-

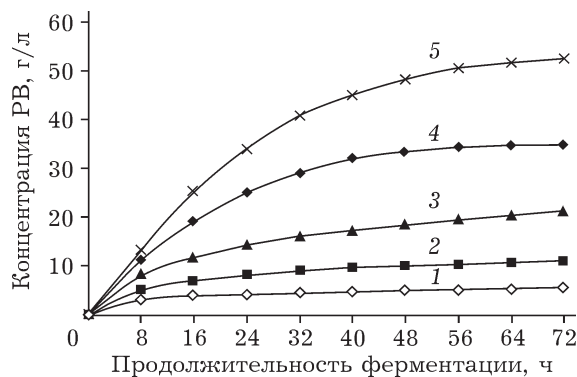


Рис. 2. Зависимость концентрации РВ в пересчете на глюкозу от продолжительности ферментации для опытов с различной исходной концентрацией субстрата, г/л: 15 (1), 30 (2), 60 (3), 90 (4), 120 (5).

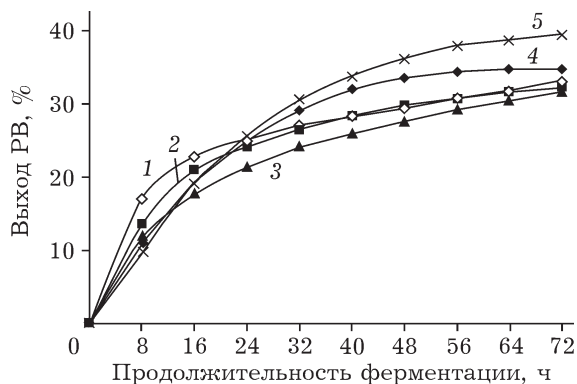


Рис. 3. Зависимость выхода РВ в пересчете на глюкозу от продолжительности ферментации для опытов с различной исходной концентрацией субстрата, г/л: 15 (1), 30 (2), 60 (3), 90 (4), 120 (5).

страта) рассчитан с учетом коэффициента, связанного с присоединением молекулы воды к ангидроглюкозным остаткам соответствующих мономерных звеньев в результате ферментативного гидролиза.

Зависимости выхода РВ от продолжительности ферментации для образцов с различной исходной концентрацией субстрата имеют разный характер: первые две зависимости (кривые 1, 2) характеризуются высокими начальными скоростями гидролиза (2.4 и 1.9 %/ч соответственно). В опытах с концентрацией субстрата 90 и 120 г/л (кривые 4, 5 соответственно) при низкой начальной скорости гидролиза (1.5 и 1.4 %/ч) достигаются максимальные значения выхода в 35 и 39 % соответственно через 72 ч. При этом на плато выходит только кривая 4, что свидетельствует об окончании гидролиза доступной части субстрата. Следует отметить, что даже для самых низких исходных концентраций степень конверсии субстрата не превышает 32–33 %. Это явление можно объяснить как низкой реакционной способностью субстрата, так и недостаточной активностью ФП.

Следует отметить, что характер полученной зависимости концентрации РВ от продолжительности ферментации (высокая начальная скорость гидролиза и ее существенное снижение со временем) соответствуют общим представлениям о прохождении ферментации в реакторе периодического действия с перемешиванием [32].

На рис. 4 представлена зависимость выхода РВ (к начальной массе субстрата) от ис-

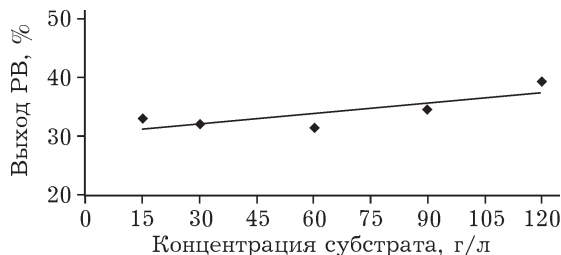


Рис. 4. Зависимость выхода РВ в пересчете на глюкозу через 72 ч гидролиза от исходной концентрации целлюлозы.

ходной концентрации субстрата. Видно, что для диапазона исследуемых концентраций (от 15 до 120 г/л) выхода РВ через 72 ч гидролиза составляет 32–39 %.

Наличие ацетатов в гидролизатах после ферментации в ацетатном буфере не позволяет использовать их в процессах биоконверсии (этанол и др.), поэтому нами исследован ферментативный гидролиз целлюлозы в дистиллированной воде. В качестве оптимальной выбрана концентрация субстрата 90 г/л, так как она обеспечивает высокий выход РВ уже при малой продолжительности ферментации и не требует дальнейшей обработки гидролизата для концентрирования растворов РВ.

Гидролиз проводили по описанной выше методике с использованием вертикального перемешивающего устройства круглосуточно, для исключения влияния перепада температур на действие ФП.

Результаты исследования ферментативного гидролиза в дистиллированной воде представлены на рис. 5.

Сравнение данных рис. 2 и 5 показывает, что зависимости концентрации РВ от продолжительности ферментации в ацетатном буфере и водной среде для опыта с концентрацией субстрата 90 г/л носят одинаковый характер: близкие начальные скорости гидролиза и выход на плато через 56 ч ферментации.

Убыль по массе составила 31 %, конечная концентрация РВ – 30 г/л, что соответствует выходу 30 %. Степень полимеризации субстрата в результате ферментативного гидролиза уменьшилась с 660 до 560 ед.

Для всех экспериментов, проведенных как в периодическом, так и в непрерывном режимах, очевидно прекращение ферментации через 72 ч. Возможно, это связано с отсут-

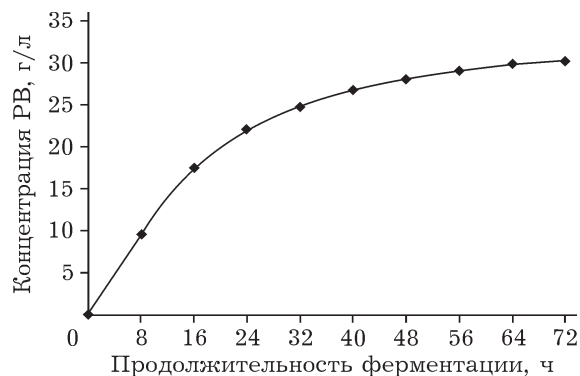


Рис. 5. Зависимость концентрации РВ в пересчете на глюкозу от продолжительности ферментации технической целлюлозы мискантуса с исходной концентрацией субстрата 90 г/л в водной среде.

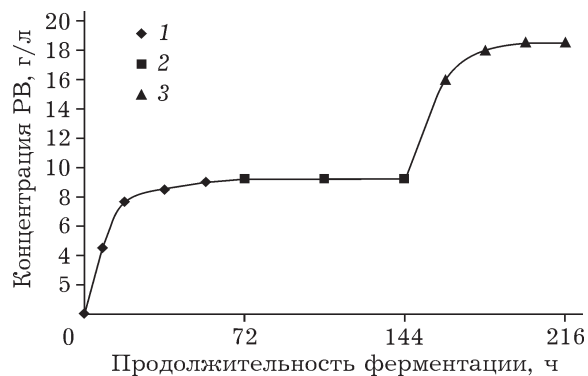


Рис. 6. Зависимость концентрации РВ в пересчете на глюкозу от продолжительности ферментации при последовательном добавлении ФП (исходная концентрация 44 г/л, водная среда): 1 – BrewZyme BGX, 2 – Celluxil, 3 – “Целлюлокс-А”.

ствием доступной для гидролиза ФП BrewZyme BGX части субстрата.

Для проверки этого предположения полученный после фильтрования в предыдущем опыте остаток субстрата во влажном состоянии использовали для повторной ферментации аналогично вышеописанному (ФП BrewZyme BGX), причем исходная концентрация субстрата составила 44 г/л. На рис. 6 (участок 1) показана зависимость концентрации РВ от продолжительности ферментации за 72 ч. Наблюдаемое увеличение концентрации РВ опровергает наше предположение о том, что в растворе нет доступной для гидролиза части субстрата. Получен гидролизат с концентрацией РВ 9,25 г/л, что соответствует выходу РВ 19 % от исходной массы субстрата в пересчете на абсолютно сухое сырье.

Далее без отделения гидролизата в реакционную массу добавляли целлюлолитический ФП Celluxil, действие которого не привело к приросту РВ (продолжительность ферментации 72–144 ч), о чем свидетельствует плато (см. рис. 6, участок 2). Этот факт можно объяснить отсутствием в составе ФП Celluxil ферментов, способных гидролизовать часть субстрата после двойного действия ФП BrewZyme BGX.

Затем в реакционную массу добавляли ФП “Целлюлокс-А”, что вызвало увеличение концентрации РВ до 18,5 г/л (см. рис. 6, участок 3). Выход РВ увеличился на 19 %, т. е. составил в целом 38 % за 216 ч.

Таким образом, по истечении первых 72 ч ферментации целлюлозы в системе остается

некоторая часть субстрата, доступная для гидролиза. Только удаление из системы РВ и последовательное добавление ФП BrewZyme BGX и “Целлюлокс-А” позволило увеличить выход до 38 %, что в целом составило 68 % за 288 ч гидролиза.

Следует отметить, что в литературе отсутствует описание ферментативного гидролиза целлюлозы мискантуса с последовательным добавлением ФП. Наши результаты можно сопоставить с данными ферментации делигнифицированного мискантуса, полученного щелочной делигнификацией с пероксидной отбелкой сырья, дополнительно измельченного в шаровой мельнице и разфракционированного [19]. Авторам [19] удалось достичь 90 %-й степени конверсии глюкозы из гексозной составляющей, ксилозы – из пентозной составляющей при добавлении к субстрату двух ФП – Celluclast 1.5 L и Novozyme 188 (Sigma, USA). Необходимо подчеркнуть, что химический состав субстрата включал 51 % гексозной составляющей, 38 % пентозной составляющей, 9 % лигнина и 2 % других компонентов. Кроме того, дополнительное измельчение субстрата в шаровой мельнице сопровождалось снижением степени кристалличности от 56 % до 46 % в зависимости от фракции. Выход РВ в данном случае [19] составил 80 % в пересчете на навеску субстрата, что превосходит полученные нами результаты. Это легко объяснить различием в химическом составе субстратов: в отличие от работы [19], массовая доля легкогидролизуе-

мого компонента (пентозанов) в технической целлюлозе составляет всего 1.5 %. Нельзя пренебрегать и исходной концентрацией субстрата при ферментации: у авторов статьи [19] она равна 20 г/л, в нашем случае – 15–120 г/л.

Нами впервые проведен ферментативный гидролиз целлюлозы, полученной азотнокислым способом из мискантуса, с последовательным использованием ФП BrewZyme BGX, Celluxil и “Целлолюкс-А”.

Полученный гидролизат с концентрацией РВ в пересчете на глюкозу 30 г/л сброжен культурой дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (штамм Y-1693). Концентрация спирта в сброженном гидролизате составила 1.3 об. %, что соответствует выходу спирта 75 % от теоретического. Примененная культура дрожжей предназначена для сбраживания только глюкозной части РВ, которая в полученном гидролизате составляет 95 % [33]. Данный факт свидетельствует о доброкачественности водного гидролизата, а следовательно, о перспективности его использования для конверсии в гель-пленку бактериальной целлюлозы в медицинских целях и другие продукты микробиологической трансформации [34].

## ВЫВОДЫ

1. Исследован ферментативный гидролиз технической целлюлозы мискантуса в ацетатном буфере и установлено, что конечная концентрация глюкозы в гидролизате линейно увеличивается с ростом начальной концентрации субстрата. Выявлено, что при исходной концентрации целлюлозы 90–120 г/л наблюдается максимальное накопление РВ в гидролизате.

2. Исследована ферментация технической целлюлозы в дистиллированной воде, получен гидролизат с концентрацией РВ 30 г/л; результаты сбраживания РВ культурой дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (штамм Y-1693) указывают на доброкачественность гидролизата.

3. Установлено, что продолжение ферментации целлюлозы мискантуса через 72 ч гидролиза возможно при выводе РВ из гидролизата и повторном добавлении фермента. Совместное последовательное использование препаратов BrewZyme BGX и “Целлолюкс-А”

позволяет повысить конечный выход РВ от 30 до 68 %.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Рабинович М. Л. // Прикл. биохимия и микробиология. 2006. № 1. С. 5–32.
- 2 Карпов С. А. // Хим. технология. 2007. № 6. С. 257–262.
- 3 Голязимова О. В., Политов А. А., Ломовский О. И. // Химия раст. сырья. 2009. № 2. С. 59–64.
- 4 Постникова М. В., Могрицкая Е. В., Виноградова А. В., Павлова А. П. // Вестн. Пермск. нац. иссл. политехн. ун-та. Хим. технология и биотехнология. 2011. № 12. С. 186–197.
- 5 Шамцян М. М., Колесников Б. А., Клепиков А. А., Касьян О. В. // Рос. хим. журн. 2011. № 1. С. 17–25.
- 6 Харина М. В., Григорьева О. Н. // Вестн. Казан. техн. ун-та. 2011. № 16. С. 158–166.
- 7 Григорьева О. Н., Харина М. В. // Вестн. Казан. техн. ун-та. 2011. № 18. С. 130–133.
- 8 Knappert D., Grethlein H., Converse A. // Biotechnol. Bioeng. 1980. P. 1449–1463.
- 9 Zheng Y., Lin H., Wen J., Tsao G. T. // Biotechnol. Lett. 1995. Vol. 17, No. 8. P. 845–850.
- 10 Koegel R. G., Sreenath H. K., Straub R. J. // Proc. of Amer. Soc. of Agricul. Eng. Symp. Saint Joseph, MI. 1997. P. 25–27.
- 11 Zaldivar J., Nielsen J., Olsson L. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2001. Vol. 56, No. 1–2. P. 17–34.
- 12 Saha B. C., Cotta M. A. // Biotechnol. Prog. 2006. Vol. 22, Issue 2. P. 449–453.
- 13 Kurakake M., Kisaka W., Ouchi K., Komaki T. // Appl. Biochem. Biotechnol. 2001. Vol. 90, No. 3. P. 251–259.
- 14 Silverstein R., Chen Y., Sharma-Shivappa R., Boyette M., Osborne J. // Biore. Technol. 2007. Vol. 98. P. 3000–3011.
- 15 Lin J. H., Chang Y. H., Hsu Y. H. // Food Hydrocolloids. 2009. Vol. 23. P. 1548–1553.
- 16 Pourali O., Asghari F. S., Yoshida H. // Food Chem. 2009. Vol. 115. P. 1–7.
- 17 Miscanthus: For Energy and Fibre. By Michael B. Jones, Mary Walsh. Published by Earthscan, 2001. 192 p.
- 18 Vrije T., Haas G. G., Tan G. B., Keijsers E. R., Claassen P. A. // Int. J. Hydrogen Energy. 2002. Vol. 27. P. 1381–1390.
- 19 Yoshida M., Liu Y., Uchida S., Kawarada K., Ukagami Y., Ichinose H., Kaneko S., Fukuda K. // Biosci. Biotechnol. Biochem. 2008. Vol. 72. P. 805–810.
- 20 Brosse N., Sannigrahi P., Ragauskas A. // Ind. Eng. Chem. Res. 2009. Vol. 48. P. 8328–8334.
- 21 Бурцева Е. А., Гора А. А., Будаева В. В. // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: Материалы IV Всерос. конф., Барнаул, 21–23 апреля, 2009: в 2 кн. / Под ред. Н. Г. Базарновой, В. И. Маркина. Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2009. Кн. 1. С. 148–151.
- 22 Shumny V. K., Veprev S. G., Nechiporenko N. N., Goryachkovskaya T. N., Slynko N. M., Kolchanov N. A., Peltek S. E. // Adv. Biosci. Biotechnol. 2010. Vol. 1. P. 167–170.
- 23 Шумный В. К., Колчанов Н. А., Сакович Г. В., Пармон В. Н., Вепрев С. Г., Нечипоренко Н. Н., Горячковская Т. Н., Брянская А. В., Будаева В. В., Железнов А. В., Железнова Н. Б., Золотухин В. Н., Митрофанов Р. Ю., Розанов А. С., Сорокина К. Н., Слынько Н. М., Яковлев В. А., Пельтек С. Е. // Вестн. ВОГиС. 2010. № 3. С. 569–578.
- 24 Макарова Е. И., Будаева В. В., Митрофанов Р. Ю. // Ползуновский вестн. 2010. № 4. С. 192–198.

- 25 Yu Z., Jameel H., Chang H., Philips R., Park S. // *Biotechnol. Bioeng.* 2012. Vol. 5. P. 1449–1463.
- 26 Оболенская А. В., Ельницкая З. П., Леонович А. А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. М.: Экология, 1991. 320 с.
- 27 ГОСТ 25438–82. Целлюлоза для химической переработки. Методы определения характеристической вязкости. Издание официальное. М.: Изд-во стандартов, 1982. 20 с.
- 28 Герасименко В. Л. Лабораторные методы определения глюкозы: Методические рекомендации. Ижевск: Экспертиза, 2002. 6 с.
- 29 Макарова Е. И., Будаева В. В. // Технология и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности: материалы 3-й Всерос. науч.-практ. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых с междунар. участием (28–30 апреля 2010 г., Бийск). В 2 ч. Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2010. Ч. 1. С. 215–218.
- 30 Макарова Е. И., Будаева В. В. // Альтернативные источники сырья и топлива: тез. докл. III Междунар. науч.-техн. конф. “АИСТ – 2011”, Минск, 24–26 мая 2011 г. / Под ред. В. Е. Агабекова, И. И. Лиштван. Минск: Изд-во Ин-та химии новых материалов НАН Беларуси, 2011. С. 50.
- 31 Вешняков В. А., Хабаров Ю. Г., Камакина Н. Д. // *Химия раст. сырья.* 2008. № 4. С. 47–50.
- 32 Синицын А. П., Гусаков А. В., Черноглазов В. М. Биоконверсия лигноцеллюлозных материалов. М.: Изд-во МГУ, 1995. 224 с.
- 33 Скиба Е. А., Орлов С. Е., Будаева В. В. // *Вестн. Том. гос. ун-та. Биология.* 2012. № 2. С. 66–73.
- 34 Митрофанов Р. Ю., Будаева В. В., Сакович Г. В. // *Химия уст. разв.* 2010. Т. 18, № 5. С. 587–592.