

УДК 579.222

ЛІГНОЦЕЛЮЛОЗА ЯК АЛЬТЕРНАТИВНА СИРОВИНА ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ БІОБУТАНОЛУ

С. М. ШУЛЬГА, О. О. ТІГУНОВА, Я. Б. БЛЮМ

ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки» НАН України, Київ

E-mail: Shulga5@i.ua

Отримано 21.12.2012

Енергетичні та екологічні кризи, що їх переживає світ, спонукають переглянути питання ефективності використання природних відновлюваних ресурсів, особливо органічних відходів із застосуванням екологічно чистих технологій. Мікробіологічна конверсія відновлюваних ресурсів біосфери з метою одержання корисних продуктів, зокрема біопалива, наразі є однією з нагальних проблем біотехнології. Анаеробні бактерії родини *Clostridiaceae* відомі як продуценти одного з видів біопалива — бутанолу, однак мікробіологічний синтез бутанолу під час класичного ацетон-бутанол-етанольного бродіння на сьогодні є економічно недоцільним. Для того, аби зробити ацетонобутилове бродіння рентабельним, потрібні високопродуктивні солвентогенні штами, які б використовували доступну і дешеву сировину — відходи сільського господарства або рослинну біомасу. Одним з прикладів такого субстрату може слугувати рослинна біомаса. Огляд містить опис можливостей та шляхи створення процесів перероблення лігноцелюлозних відходів для одержання біобутанолу.

Ключові слова: біопаливо, лігноцелюлоза, біобутанол, клостридії.

Бутанол (біобутанол) — нормальний бутиловий спирт (*n*-бутанол, метилолпропан), рідина без кольору з характерним сивушним запахом, лінійний чотирикарбонний аліфатичний спирт, молекулярна формула якого C_4H_9OH або $CH_3(CH_2)_3OH$. Бутанол застосовують як розчинник, сировину для хімічного синтезу або компонент біопалива [1]. Як паливо біобутанол використовують у карбюраторному та інжекторному двигунах у чистому вигляді або як компонент у сумішевому паливі [2].

Біобутанол можна отримати з біомаси, як і біоетанол, декількома шляхами: ферментацією цукро- або крохмалевмісної рослинної сировини (біобутанол 1-го покоління) та переробленням лігноцелюлозної сировини (біобутанол 2-го покоління). Біобутанол, вироблений з біомаси за допомогою клостридій у процесі ацетон-бутанол-етанольної (АБЕ) ферментації, має ідентичні характеристики з бутанолом, одержаним у результаті хімічного синтезу [3, 4].

Основним чинником, що впливає на рентабельність АБЕ-бродіння, є висока собівартість крохмальних (кукурудза, пшениця, просо тощо) та цукрових (меяса, сорго тощо) субстратів [5–9]. Саме цей факт і здатність цукролітичних клостридій використо-

вувати різні вуглеводи стимулювали дослідження щодо застосування альтернативних субстратів [10, 11].

У дослідженнях з ферментації різноманітних субстратів у виробництві ацетону та бутанолу було встановлено [12], що глюкоза, фруктоза, маноза, цукроза, лактоза, крохмаль та декстроза утилізувалися повністю. Натомість галактоза, ксилоза, арабіноза, рафіноза, мелецитоноза, інулін та маніт були використані лише частково, а трегалоза, рамноза, мелібіоза та гліцерол практично не утилізувалися. Хоча в роботах інших авторів [13] показано, що ксилоза та арабіноза утилізувалися клостридіями.

Деякі штами зброджували вуглеводи, які містилися у відходах молочної та деревообробної промисловості [14, 15]. Основним компонентом практично всієї біомаси (відходи деревообробної промисловості і недеревних рослин, зокрема трави) є лігноцелюлоза.

Лігноцелюлоза — найпоширеніший відновлюваний ресурс і практично необмежений субстрат для ферментації. Велика кількість лігноцелюлозних відходів (табл. 1), утворених у процесі життєдіяльності лісового та сільського господарств, целюлозно-паперової та деревообробної промисловості, створює екологічну проблему — значне забруднення довкілля.

Таблиця 1. Види та використання лігноцелюлозної сировини [16]

Лігноцелюлозна сировина		
Джерела та процеси одержання біопалива	Види відходів	Використання відходів
Процес збирання зернових — пшениці, рису, вівса, ячменю, кукурудзи	Солома, качани, стебла, лушпиння	Корми для тварин, компост, ґрунтове добриво, як вид палива
Процес оброблення зерна кукурудзи, пшениці, рису, сої	Стічні води, висівки	Корми для тварин
Перероблення овочів та фруктів	Насіння, шкуринки, стічні води, лушпиння, мушлі, забраковані фрукти	Корм для тварин та риби, сировина (насіння) для видобутку олії
Перероблення цукрової тростини, сорго та інших цукровмісних культур	Жом	Як вид палива
Перероблення олійних культур — сої, соняшнику, ріпаку, горіхів, бавовнику, оливи тощо	Лушпиння, оболонки, волокна, фібрили, шлам, макуха, стічні води	Корми для тварин, добрива, як вид палива
Відходи тваринництва	Гній та інші відходи	Ґрунтове добриво
Процес заготівлі деревини	Залишки дерев, кори, листя тощо	Ґрунтове добриво, як вид палива
Виробництво пиломатеріалів та фанери	Тирса, стружка, тріски	Виробництво деревостружкових плит (ДВП), деревоволокнистих плит (ДСП) та пілет
Відходи діяльності целюлозно-паперових комбінатів	Фібрилові відходи, сульфатні луги	Як вид палива
Побутові лігноцелюлозні відходи	Старі газети, папір, картон, старі дошки, занедбані меблі	Невеликий відсоток на перероблення, інші спалюють

З табл. 1 випливає, що хоча частина відходів утилізується, проте велика кількість залишкової біомаси потенційно може бути перероблена на різноманітну продукцію, включаючи біопаливо [16]. Біоконверсія лігноцелюлозних відходів — це суттєвий внесок у подолання багатьох екологічних та економічних проблем і підґрунтя для створення нових видів біопалива [17–26].

Лігноцелюлоза складається з лігніну, геміцелюлози та целюлози (рис. 1).

Відсотковий склад компонентів лігноцелюлози може змінюватися залежно від виду сировини (табл. 2).

Кожен з компонентів лігноцелюлози (геміцелюлоза, целюлоза та лігнін) можна, у разі відповідної обробки, використовувати у виробництві біопалива.

Геміцелюлози — гетерополісахариди, що найчастіше трапляються у здерев'янілих частинах рослин, соломі злаків із целюлозою [28,29]. Геміцелюлози не розчинні у воді, але розчинні у лужних розчинах і легше гідролізуються кислотами, ніж целюлоза [30]. Залежно від вмісту у складі геміцелюлоз тих чи інших моноцукрів їх називають мананами, галактанами або пентозанами

(ксилани, арабани) [28]. Найбільш важливими і поширеними у природі є пентози — арабіноза та ксилоза і, особливо, гексози — глюкоза, фруктоза, галактоза, маноза.

Бактерії виду *C. acetobutylicum* використовують усі розповсюджені цукри, які присутні в геміцелюлозах деревини та її гідролізатах [31]. У роботах [32–36] було підібрано оптимальні умови ферментації для різних цукрів і отримано підвищений вихід розчинників. Одним з основних компонентів геміцелюлози є ксилоза. Ферментацію ксилози

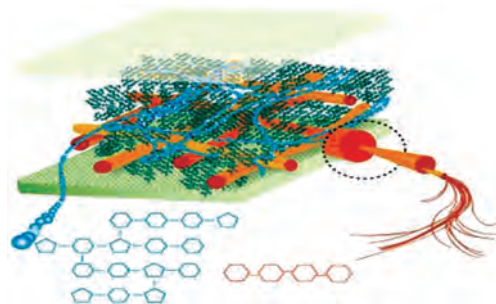


Рис. 1. Будова клітинної стінки: салатовим кольором показані клітинні мембрани, блакитним — геміцелюлоза, помаранчевим — целюлоза (макро- та мікрофібрили), синім — лігнін [27]

Таблиця 2. Компонентний склад різних лігноцелюлозних відходів [16]

Джерело лігноцелюлозних відходів			
Компоненти	Целюлоза, %	Геміцелюлоза, %	Лігнін, %
Деревина листяних порід дерев	40–55	24–40	18–25
Деревина хвойних порід дерев	45–50	25–35	25–35
Горіхи	25–30	25–30	30–40
Качани кукурудзи	45	35	15
Папір	85–99	0	0–15
Солома пшениці	30	50	15
Солома рису	32,1	24	18
Відсортовані побутові відходи	60	20	20
Листя дерев	15–20	80–85	0
Газетний папір	40–55	25–40	18–30
Целюлозно-паперові відходи	60–70	10–20	5–10
Жом свіжий	33,4	30	18,9
Відходи свиноферм	6	28	–
Гній великої рогатої худоби	1,6–4,7	1,4–3,3	2,7–5,7
Просо	45	31,4	12,0
Садова трава (середньої зрілості)	32	40	4,7
Трави (середнє значення для різнотрав'я)	25–40	25–50	10–30

C. acetobutylicum було досліджено в роботах [13, 14, 36]. Показано відносно високий (близько 28%) конверсійний вихід порівняно з глюкозою, але з меншою швидкістю ферментації та обмеженим споживанням ксилози. Наступним кроком було дослідження кінетики ферментації суміші глюкози та ксилози порівняно з окремою ферментацією ксилози та глюкози. У роботі [15] було показано, що утилізація ксилози є адаптивною та гальмується за концентрації глюкози вище 15 г/л. Як модуляційну систему альтернативного субстрату використовували відходи целюлозно-паперових комбінатів (сульфітні луги), які містили глюкозу, ксилозу та арабінозу. Видалення діоксиду сірки, лігніну та надлишку кальцію з відходів перед ферментацією сприяло високому виходу розчинників. У рідких сульфитних відходах було отримано до 96% конверсії цукрів.

Подальшим стимулом для пошуку альтернативних субстратів для збродження була потреба замінити геміцелюлози харчової сировини, яка йшла на технічні потреби, нехарчовою сировиною [37].

Найбільш перспективною і доступною заміною харчової сировини були відходи, що утворювались під час збирання та перероблення кукурудзи. Відходи містили 32–37% пентозанів і легко гідролізувались. Після дослідів з використанням чистої ксилози було також вивчено ацетобутилове

бродиння на пентозних гідролізатах кукурудзяних качанів. Показана можливість часткової або повної заміни харчової сировини нехарчовою без втрати продуктивності ферментації у процесі виробництва розчинників [38]. У разі повної заміни харчової сировини в середовище додавали протеїн, джерелом якого слугували відходи крохмального виробництва — глютені. В лабораторних умовах було досліджено різні способи використання нехарчової біомаси у виробництві розчинників. Частина лабораторних технологій реалізовано в промислових масштабах [39].

Іншим джерелом геміцелюлоз, що його також вивчали, була суха трава. Досліджували активність нових штамів клостридій на бета-глюкані та ксилані. Показано, що вони мали високу геміцелюлазну активність, яка підвищувалась зі збільшенням частки сухої трави в середовищі для ферментації [40, 41].

Целюлоза — лінійний гомополісахарид β -D-глюкопіранози у вигляді довгих ниток, з'єднаних β -1,4-глікозидними зв'язками, не розчинний у воді. Структурною одиницею його є дисахарид целобіоза із залишків β -глюкози, що може містити від 300 до 10 000 та більше залишків β -глюкози (рис. 2).

Асоціація молекул целюлози в стабільній кристалічній структурі призводила до утворення мікрофібрил з 15–45 ланцюгами. На мікроскопічному рівні саме такі мікрофібрили формували цілісну фібрилу.

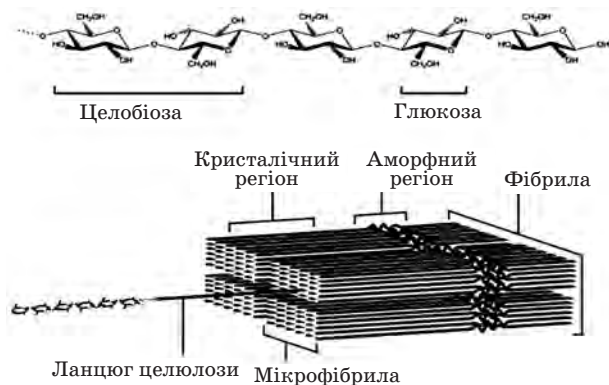


Рис. 2. Схема структури целюлози: первинної (а) та целюлозної (б) фібрили [42]

Целюлоза в паракристалічній структурі містить як аморфні, так і кристалічні регіони [42]. Ступінь полімеризації (СП) целюлози становить від 100 до 7 000 і є одним з основних чинників, що впливає на біоконверсію целюлози. Встановлено, що СП сільськогосподарських відходів, таких як жом та солома пшениці, є нижчим за СП деревини, що робить їх перспективними для подальшої переробки (табл. 3.)

Таблиця 3. Ступінь полімеризації різних видів целюлози [43]

Джерело одержання целюлози	СП
Осіка тремтяча	5 000
Бук	4 050
Червоний клен	4 450
Східний білий кедр	4 250
Східна тсуга	3 900
<i>Pinus banksiana</i>	5 000
Модрина американська	4 350
Ялина біла	4 000
Ялиця бальзамічна	4 400
Береза біла	5 500
<i>Eucalyptus regnans</i>	1 510
<i>Pinus radiata</i>	3 063
Жом	925
Солома пшениці	1 045

Целюлозу складно гідролізувати як хімічним, так і ензиматичним способом. Це пов'язано з тим, що молекулярні ланцюги целюлози, які не зв'язані мітками, майже не містять гідроксильних груп [44]. Під час кипіння у мінеральних кислотах целюлоза гідролізується і перетворюється на глюкозу [30].

У роботі [45] було вивчено використання целюлози для одержання бутанолу за допо-

могою промислових штамів. Встановлено, що виробничий штам *C. acetobutylicum* P270 мав невисоку целюлозну активність, яку можна було підвищити за допомогою мутацій або генетичних маніпуляцій. Альтернативний підхід до біоконверсії целюлозних відходів полягав у пошуку та ізолюванні нових солвентгенетичних штамів *C. acetobutylicum* [46, 47]. Автори [48, 49] провели скринінг целюлолітичної активності 20 штамів *Clostridium* spp., що продукували розчинники. Лише два штами — *C. acetobutylicum* NRRL B527 та *C. acetobutylicum* ATCC 824 показали целюлолітичну активність і здатність продукувати позаклітинні ензими. Можливість продукування розчинників із целюлозної біомаси за допомогою штаму *C. acetobutylicum* P 262 було досліджено в роботі [15]. Натомість інші автори [10] показали, що клостридіальні бактерії не утилізують целюлозу для потреб росту.

Лігнін, ще один із компонентів лігноцелюлозної біомаси, лише в останні роки викликав зацікавленість з боку вчених. Це — природний полімер, що розташований у клітинних стінках та міжклітинному просторі і скріплює целюлозні волокна. Лігнін можна виділити з рослинних тканин багатьма способами. Він розчиняється як у кислотах, так і в лугах. Протолігнін майже не розчинний в органічних розчинниках. Лігнін, виділений різними способами, відрізнявся за складом і властивостями. У хімічному сенсі лігнін — поняття загальне та умовне. У природі не існує двох однакових лігнінів. У літературі можна зустріти безліч формул лігніну [50, 51]. Структурну формулу лігніну, що її рекомендує Міжнародний інститут лігніну, наведено на рис. 3.

Молекула лігніну невизначено велика і містить багато функціональних груп. Загальною структурною одиницею всіх видів лігніну є похідні фенілпропану. Згідно із сучасними уявленнями, лігнін — це

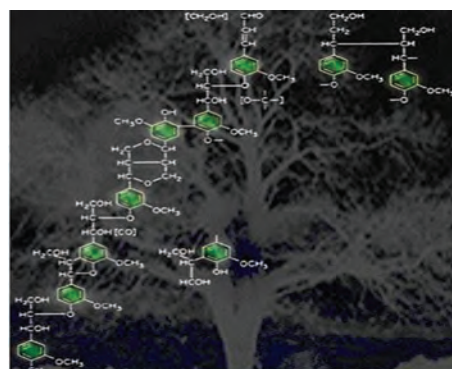


Рис. 3. Модель структури лігніну [52]

складний тривимірний полімер ароматичної природи, що утворився в результаті поліконденсації декількох монолігнолів — коричних спиртів (паракумарового, конеферилового, синапового).

Для полегшення біоконверсії лігноцелюлозної сировини її попередньо обробляють у декілька технологічних стадій. Основною для всіх видів такої сировини є стадія подрібнення [53]. Властивості помелу зумовлюють температурний режим водно-теплової обробки і ступінь втрат зброджувальних вуглеводів. Зі збільшенням ступеня диспергування сировини температура розварювання знижувалась, зменшувалися втрати цукру та підвищувався вихід розчинників. Це пояснювалось частковим розщепленням целюлози та утворенням додаткової кількості зброджуваних цукрів.

Наступною є стадія температурної обробки лігноцелюлозної біомаси для вивільнення цукрів. Вона відбувалась як за відносно низької температури (135–145 °C) протягом однієї або більше годин, так і за підвищеної температури (165–175 °C) від 2 до 5 хв, або постадійно (від вищої температури до нижчої). Стадія попередньої підготовки сировини мала багато варіацій, прикладом яких була органозольна підготовка [54, 55], з використанням лугів [56], гідроксиду натрію, розбавлених кислот [57, 58], іонних рідин [59–61], високочастотного нагрівання [62], оброблення за допомогою гострого пару [63, 64], вапна [65] або аміаку [66]. Найбільш перспективними визнано органозольну підготовку та оброблення за допомогою гострого пару. За таких обробок збільшувався вихід цукрів, зменшувалась кількість нерозчинного лігніну та підвищувався вміст легкорозщеплюваної целюлози.

Наступною стадією підготовки сировини для подальшої біоконверсії був гідроліз до пентозних або гексозних цукрів. Гідроліз відбувався із застосуванням або лугів, або кислот, або ензимів.

Для ензиматичного гідролізу використовували як, власне, ензими, так і мікроорганізми, що продукують ензими. Каталітична активність ензимів характеризувалася «числом обертів», тобто кількістю перетворених за одиницю часу молей речовини на один моль ензиму. Активність ензимів залежала від температури, концентрації водних іонів, присутності активатора та інгібітора. Детальний механізм ензиматичного гідролізу лігноцелюлози не з'ясовано дотепер. Значних успіхів було досягнуто у вивченні лігноцелюлолітичних генів мікроорганізмів,

які брали участь в ензиматичному гідролізі. Основний спектр лігноцелюлолітичних мікроорганізмів становили бактерії та гриби. На цей час відомо більше 14 000 грибів, які виявляли целюлолітичну активність, та лише деякі з них використовували в промислових технологіях. Одним з найпоширеніших мікроорганізмів для розщеплення целюлози і геміцелюлози був *Trichoderma reesei*, проте він не мав ензимів для деградації лігніну [67–69]. Головну роль у переробленні лігніну відігравали гриби базидіоміцети, що живуть як на живій, так і на мертвій деревині. Основним продуктом розщеплення лігніну в природі є гумус. Серед лігнінолітичних грибів трапляються їстівні, такі як опеньки, печериці, гливи. Значну частину протолігніну розщеплювали гриби бурі гнилі, які спричинювали гідроліз полісахаридів. Ефективними деструкторами лігніну були гриби білої гнилі, серед яких найповніше вивченим вважають *Phanerochaete chrysosporium* [70, 71]. Саме його використовують у промислових технологіях для виробництва лігніндеградуєчих ензимів, а також для безпосереднього застосування під час біоконверсії лігноцелюлози [72, 73]. Деградація полімерного лігніну відбувалась під дією позаклітинних ензимів — оксидоредуктаз, зокрема лігнінпероксидази, Mn-пероксидази та лакази. Крім того, лігнінолітичний комплекс грибів включав піранозооксидази, глюкозооксидази, гліоксальоксидази та целобіозодегідрогенази. Менш вивченими вважають *Daedalea flavida*, *Phlebia fascicularia*, *P. floridensis* та *P. radiata*, які використовують лише за необхідності відділення лігніну із сировини та селективного розщеплення лігніну [74]. Незначне розщеплення лігніну притаманне *Cellulomonas*, *Pseudomonas*, актиноміцетам *Thermomonospora* та *Microbispora*, а також бактеріям з поверхнево-з'язаним целюлозним комплексом, зокрема *Clostridium thermocellum* та *Ruminococcus* [75]. Такі організми можна застосовувати в подальшому як генофонд для генно-інженерних прийомів. Перелік мікроорганізмів з високою специфічною лігніназною активністю та необхідні умови активації наведено в табл. 4.

Геміцелюлази вважають мультидоменими протеїнами, як і більшість інших ензимів, що гідролізують полісахариди рослинних клітин (рис. 4).

Такі протеїни, як правило, складаються із структурно-дискретних каталітичних та некаталітичних модулів. Найбільш важливими з них були вуглеводзв'язувальні домени,

Таблиця 4. Перелік грибів зі специфічною активністю лігніназ [16]

Ензим	Організм-продуцент	Субстрат	Активність (мкмоль/хв·мг)	Оптимальні	
				t (°C)	pH
Мп-пероксидаза	<i>Stropharia coronilla</i>	$Mn^{2+} + H^+ + H_2O_2$	692	25	–
Лаказа	<i>Botrytis cinerea</i>	1,2,4-бензентріол + O_2 /1-нафтол + O_2 /2-нафтол + O_2 /3,5-диметроксигідрокси-бензалдазин + O_2 /4,5-диметил-о-фенілендіамін + O_2 /4-аміно-N,N-диметилаланін + O_2 /4-метилкатехол + O_2 /аскорбат + O_2 /кофеїнова кислота + O_2 /катехол + O_2 /фериціанід + O_2 /галова кислота + O_2 /гваякол + O_2	5778	55	4
Діарилпропан-пероксидаза (лігніназа)	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	1,2-біс(3,4-диметоксифеніл)пропан-1,3-діол + H_2O_2 /1-(3,4-діетоксифеніл)-1,3-дигідрокси-2-(4-метоксифеніл)пропан + O_2 + H_2O_2 /1-(4-етокси-3-метоксифеніл)-1,2-пропен + O_2 + H_2O_2 /1-(4-етокси-3-метоксифеніл)пропан + O_2 + H_2O_2 /2-кето-4-тіометилмасляна кислота + H_2O_2 /3,4-диметилоксибензильний спирт + H_2O_2	28	23–37	3–5

які полегшують розщеплення полісахаридів, міждоменні лінкери та якірна ділянка, що опосередковує зв'язування каталітичного домену [77].

Геміцелюлази можуть мати як специфічну активність (наприклад, ксиланазу), так і бути біфункціональними (розщеплювати декілька субстратів). Результатом дії цих ензимів може бути як повна утилізація сировини, так і модифікація, необхідна для подальшої ферментації. Прикладом такої підготовки слугувала дія геміцелюлазних естераз, спрямована на розщеплення зв'язків між пентозанами та кислотами [78, 79].

Ензиматично целюлозу розщеплювали два ензими: целюлаза, яка спричинювала розщеплення молекул целюлози на молекули целобіози, та целобіаза, що викликає розщеплення молекул целобіози і утворення глюкози. Целюлозні ланцюги високостабільні за рахунок міжланцюгових водневих та ван-дер-ваальсових взаємодій між піранозними кільцями, що формували криста-

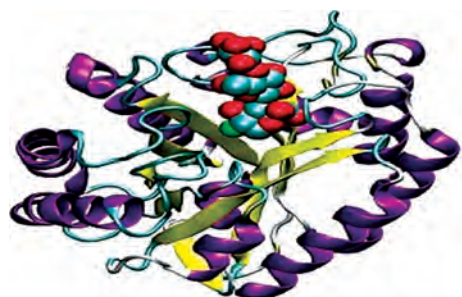


Рис. 4. Взаємодія целюлозного ензиму із субстратом: ензими показано стрічками, а субстрат — у вигляді сфер [76]

лічні регіони [44]. Кристалічні регіони целюлози перемижувалися з аморфними, які розщеплюються значно легше (рис. 5).

Целюлази, які відповідають за гідроліз целюлози, складаються з комплексу протеїнів, що мають різну специфічну активність для гідролізу глікозидних зв'язків. За активністю целюлази можна поділити на три основні класи: ендоглюканази, целобіогідролази (екзоглюканази) та β -глюкозидази. Ендоглюканази випадково розщеплюють целюлозні ланцюги в незахищених позиціях аморфного регіону і створюють нові кінці, тимчасом як екзоглюканази розщеплюють полімерний ланцюг як з відновлювального, так і з невідновлювального кінця, продукуючи основний продукт — целобіозу.



Рис. 5. Схема гідролізу целюлози за допомогою целюлаз [44]

Ендоглюканази виявляють високу специфічну активність стосовно розчинних похідних целюлози, таких як карбоксиметилцелюлоза, та низьку (або зовсім без активності) — для мікрокристалічної целюлози, порівняно з екзоглюканазами. Для ефективного розщеплення целюлози необхідна синергетична дія обох ензимів.

β -Глюкозидази гідролізують глюкозні димери, а в деяких випадках і олігосахариди до глюкози [80–82]. Мікроорганізми, як правило, мають декілька варіантів ендо- та екзоглюканаз. Різноманітні анаеробні організми, включаючи деякі види грибів та бактерій, розщеплюють целюлозу за допомогою екстрацелюлярного мультипротеїнового комплексу — целюлосоми [83]. Під час дії целюлосоми глюкозидні гідралази зв'язуються з великим неензиматичним протеїном (целюлозов'язувальний або целюлозоінтегративний протеїн), що з'єднує полімер целюлози з клітиною. Целюлосома позиціонує гідролітичні ензими в оптимальній орієнтації стосовно субстрату або ж мінімізує дифузію. Наявність ензимів з різною активністю і специфічністю до субстратів у целюлосомі дають змогу такому комплексу розщеплювати целюлозу так само, як й інші полімери, що містяться у клітинних стінках рослин. Для *C. cellulovorans* показано, що саме субстрат для вирощування впливає на склад та ензиматичну активність целюлосоми [84–86]. Гени, які кодують целюлази бактерій, можуть бути або випадково розподілені, як у *C. thermocellum*, або зібрані

у кластер на хромосомі, як у *C. cellulovorans*, *C. cellulolyticum*, *C. josui* [87–89]. Деякі солвентгенетичні клостридії також можуть виявляти екстрацелюлярну целюлозолітичну активність [90, 91]. У роботі [92] було показано присутність генів, які кодують передбачувані целюлосомальні компоненти в хромосомі *C. acetobutylicum* ATCC 824. На цей час вартість ензимів — одна з головних перешкод для комерціалізації ензиматичного гідролізу целюлози. Низька активність целюлаз, яка залежить від попередньої підготовки сировини, потребує значної кількості лігноцелюлітичних ензимів [93].

Шляхи створення економічно доцільного гідролізу сировини можна поділити на 4 групи: скринінг організмів з новими ензимами [94–100]; удосконалення існуючих промислових мікроорганізмів та техніки використання їхніх ензимів [101–103]; удосконалення операцій, пов'язаних з вибором субстрату, умов культивування, перероблення ензимів та оптимізацією процесів [104–108]; створення генетично модифікованих культур рослин з високою утилізацією лігноцелюлози [109–114]. Основні комерційні препарати та їхню целюлазну активність наведено в табл. 5.

Активність того чи іншого ензиму можна поліпшити за допомогою використання суміші ензимів за безпосереднього змішування ензимів та їх активації або з використанням генетично модифікованих організмів, які містять клоновані гени, що кодують целюлази, геміцелюлази та лігнінази.

Таблиця 5. Комерційні препарати целюлаз та їхня специфічна активність [16]

Назва препарату	Мікроорганізми-продуценти	ОФП*/мг	β -глюкозидази, О/мг**	Карбоксиметилцелюлоза, О/мг	Целобіаза, О/мг
Biocellulase TRI	<i>T. reesei</i>	0,24	0,72	5,5	0,059
Biocellulase	<i>A. niger</i>	0,01	1,40	3,6	–
Cellulast 1.5L	<i>T. reesei</i>	0,37	0,16	5,1	0,018
Cellulase TAP1	<i>T. viride</i>	0,13	5,20	14,0	–
Cellulase AP30	<i>A. niger</i>	0,03	10,00	21,0	–
Cellulase TRL	<i>T. reesei</i>	0,57	1,00	13,0	0,016
Econase CE	<i>T. reesei</i>	0,42	0,48	8,5	0,038
Multifect CL	<i>T. reesei</i>	0,42	0,20	7,1	0,015
Multifect GC	<i>T. reesei</i>	0,43	0,39	13,0	0,025
Spezyme #1	<i>T. reesei</i>	0,54	0,35	15,0	0,026
Spezyme #2	<i>T. reesei</i>	0,57	0,42	15,0	0,029
Spezyme #3	<i>T. reesei</i>	0,57	0,46	25,0	0,031
Ultra-low Microbial	<i>T. reesei</i>	0,48	0,96	–	–

* ОФП (одиниці фільтрувального паперу), 1 ОФП — вивільнення 1 мкмоль/хв глюкози;

– не визначено;

** О/мг — одиниці на міліграм.

Для зменшення витрат на виробництво можна використовувати неочищені ензимні препарати або вихідні культури бактерій чи грибів для зброджування лігноцелюлозної сировини. Отриманий глибинним культивуванням субстрат містить пентозні чи гексозні цукри (оцукрювання за допомогою грибів) або масляну кислоту (ферментація за допомогою клостридій), які зброджують ацетоно-бутиловими бактеріями.

ЛІТЕРАТУРА

1. Закон України «Про альтернативні види палива» (Стаття 1), м. Київ, 14 січня 2000 року, N 1391-XIV.
2. Online source: <http://www.cobaltbiofuels.com/advancing-biofuels/biobutanol/>.
3. Lee S. Y., Park J. H. et al. Fermentative Butanol Production by Clostridia. [Review] // *Biotechnol. Bioeng.* — 2008. — V. 101 (2). — P. 209–228.
4. Shulga S. M., Blyum Ya. B., Tkachenko A. F. Biotechnology and effective strains-producers of biobutanol // 14th European Congress on Biotechnology «Symbiosis», 13–16 September 2009, Barcelona, Spain. — P. 276.
5. Gibbs D. F. The rise and fall (... and rise?) of acetone/butanol fermentations // *Trends Biotechnol.* — 1983. — V. 1. — P. 12–15.
6. Lenz T. G., Moreira A. R. Economic evaluation of the acetone-butanol fermentation // *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.* — 1980. — V. 19. — P. 478–483.
7. Petitdemange H. J., Desborders J. Berthelin, Gay R. Conversion enzymatique du n-butanol chez *Clostridium acetobutylicum* // *C. R. Acad. Sci. Ser. D* — 1968. — V. 266. — P. 1722–1774.
8. Ross D. The acetone-butanol fermentation // *Prog. Ind. Microbiol.* — 1961. — V. 3. — P. 73–85.
9. Volesky B., Mulchandani A., Williams J. Biochemical production of industrial solvents (acetone-butanol-ethanol) from renewable resources // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 1981. — V. 369. — P. 205–218.
10. Shulga S. M., Blyum Ya. B., Tkachenko A. F. Biotechnology and effective strains-producers of biobutanol // *New Biotechnol.* — 2009. — V. 25/S. — P. 256–258
11. Mitchell W. L. Physiology of carbohydrate to solvent conversion by clostridia // *Appl. Microbiol. Physiol.* — 1998. — V. 39 — P. 31–130.
12. Robinson G. C. A study of the acetone and butyl alcohol fermentation of various carbohydrates // *J. Biol. Chem.* — 1922. — V. 52. — P. 125–155.
13. Nakhmanovich B. M., Shcheblykina N. A. Fermentation of pentoses of corn cob hydrolyzates by *Clostridium acetobutylicum* // *Microbiologiya.* — 1959. — V. 28. — P. 99–104.
14. Compere A. L., Griffith W. L. Evaluation of substrates for butanol production // *Dev. Ind. Microbiol.* — 1979. — V. 20. — P. 509–517.
15. Jones D. T., Woods D. R. Acetone-Butanol Fermentation Revisited // *Microbiol. Rev.* — 1986. — V. 50, N 4. — P. 484–524.
16. Howard R. L., Abotsi E., Jansen van Rensburg E. L., Howard S. Lignocellulose biotechnology issues of bioconversion and enzyme production // *Afr. J. Biotechnol.* — 2003. — V. 2 (12). — P. 602–619.
17. Malherbe S., Cloete T. E. Lignocellulose biodegradation: fundamentals and applications: A review // *Environ. Sci. Biotechnol.* — 2003. — V. 1. — P. 105–114.
18. Levine J. S. Biomass burning and global change. In: Levine JS (eds) Remote sensing and inventory development and biomass burning in Africa // The MIT Press, Cambridge, Massachusetts, USA. — 1996. — V. 1. — P. 35.
19. Smith J. E., Anderson J. G., Senior E. K. et al. Bioprocessing of lignocelluloses // *Phil. Trans. R. Soc. Lond. Ser. A.* — 1987. — V. 321. — P. 507–521.
20. Bhat M. K. Research review paper: Cellulases and related enzymes in biotechnology // *Biotechnol. Adv.* — 2000. — V. 18. — P. 355–383.
21. Sun Y., Cheng J. Hydrolysis of lignocellulosic material from ethanol production: A review // *Biores. Technol.* — 2002. — V. 83. — P. 1–11.
22. Wong K. K. Y., Saddler J. N. Applications of hemicellulases in the food, feed and pulp and paper industries / Coughlan P. P., Hazlewood G. P. (eds). Hemicellulose and Hemicellulases. — Portland Press, London. — 1992. — P. 127–143.
23. Beauchemin K. A., Morgavi D. P., Mcallister T. A. et al. The use of enzymes in ruminant diets / Wiseman J., Garnsworthy P. C. (eds). *Rec. Adv. Animal Nutr.* Nottingham Univ. Press. — 2001. — P. 296–322.
24. Beauchemin K. A., Colombatto D., Morgavi D. P., Yang W. Z. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve animal feed utilisation by ruminants // *J. Anim. Sci.* — 2003. — V. 81 (E. Suppl. 2). — P. 37–47.
25. Subramaniyan S., Prema P. Biotechnology of microbial xylanases: enzymology, molecular biology, and application // *Crit. Rev. Biotechnol.* — 2002. — V. 22. — P. 33–64.

26. *Beg Q. K., Kapoor M., Mahajan L., Hoondal G. S.* Microbial xylanases and their industrial applications: A review // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* — 2001. — V. 56. — P. 326–338.
27. *Online source:* <http://www.ceres.net/AboutUs/AboutUs-Biofuels-Carbo.html>.
28. *Мусієнко М. М.* Фізіологія рослин. — К.: Либідь, 2005. — 808 с.
29. *Дудкин М. С., Громов В. С. и др.* Геміцеллюлозы. — Рига: «Зинатне», 1991. — 488 с.
30. *Фертман Г. И., Шойхет М. И., Чепелева А. С.* Технология бродильных производств. — М.: Высшая школа, 1966. — 343 с.
31. *Тігунова О. О., Шульга С. М.* Нові штамподуценти біобутанолу. 1. Виділення та ідентифікація // *Biotechnol. Acta.* — 2013. — Т. 6, №1. — С. 97–105.
32. *Mes-Hartree M., Saddler J. N.* Butanol production of *Clostridium acetobutylicum* grown on sugars found in hemicellulose hydrolysates // *Biotechnol. Lett.* — 1982. — V. 4. — P. 247–252.
33. *Ounine K., Petitdemange H., Raval G., Gay R.* Acetone-butanol production from pentoses by *Clostridium acetobutylicum* // *Ibid.* — 1983. — V. 5. — P. 605–610.
34. *Yu E. K. C., Deschatelets L., Saddler J. N.* The bioconversion of wood hydrolyzates to butanol and butanediol // *Ibid.* — 1984. — V. 6. — P. 327–332.
35. *Yu E. K. C., Saddler J. N.* Enhanced acetone-butanol fermentation by *Clostridium acetobutylicum* grown on D-xylose in the presence of acetic or butyric acid // *FEMS Microbiol. Lett.* — 1983. — V. 18. — P. 103–107.
36. *Yu E. K. C., Saddler J. N.* Butanol and butanediol production from pretreated biomass. I // *Proc. Biomass Convers. Technol.* — 1984. — P. 1–10.
37. *Тігунова О. О., Ткаченко А. Ф., Бейко Н. Е., Шульга С. М.* Ліпіди мікробного походження, як сировина для біопалива // Тези доповідей V регіональної науково-практичної конференції викладачів, науковців, аспірантів, молодих вчених та студентів. Біотехнологія XXI століття. 26 квітня 2011 р. Київ. — С. 36.
38. *Нахманович Б. М.* Ацетано-бутиловое брожение на гидролизатах кукурузной кочерыжки / Вопросы пищевой и бродильной микробиологии. — К.: Изд. Академии наук Украинской ССР, 1958. — С. 150–155.
39. *Zverlov V. V., Berezina O., Velikodvorskaya G. A., Schwarz W. H.* Bacterial acetone and butanol production by industrial fermentation in the Soviet Union: use of hydrolyzed agricultural waste for biorefinery // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* — 2006. — V. 71(5). — P. 587–597.
40. *Березина О. В.* Целлюлазная и геміцеллюлазная активности сольвентогенных клостридий // Сб. статей «Біотехнологія будущего» в рамках Междунар. симпозиума «ЕС — Россия: перспективы сотрудничества в области биотехнологии в 7-й Рамочной Программе» — М.: ОАО «Авиаиздат», 2006 — С. 4–5.
41. *Berezina O. V., Sineoky S. P., Velikodvorskaya G. A. et al.* Extracellular glycosyl hydrolase activity of the *Clostridium* strains producing acetone, butanol, and ethanol // *Appl. Biochem. Microbiol.* — 2008. — V. 44, N 1. — P. 42–47.
42. *M. Desvaux.* *Clostridium cellulolyticum*: model organism of mesophilic cellulolytic clostridia // *FEMS Microbiol. Rev.* — 2005. — V. 29. — P. 741–764.
43. *Hallac B. B., Ragauskas A. J.* Analyzing cellulose degree of polymerization and its relevancy to cellulosic ethanol. Review // *Biofuels Bioprod. Bioref.* — 2011. — V. 5. — P. 215–225.
44. *Ana Maria Lopez Contreras.* Utilization of Lignocellulosic Substrates by Solvent-Producing Clostridia // PhD thesis Wageningen University, Wageningen. The Netherlands. — 2003. — P. 144.
45. *Allcock E. R., Woods D. R.* Carboxymethyl cellulase and cellobiase production by *Clostridium acetobutylicum* in an industrial fermentation medium // *Appl. Environ. Microbiol.* — 1981. — V. 41. — P. 539–541.
46. *Tigunova O., Shulga S.* Obtaining of new biobutanol producers // Abstracts of 15th European Congress on Biotechnology «New biotechnology», 23–26 September 2012, Istanbul, Turkey. — V. 29. — Issue S. — P. S43.
47. *Тігунова О. О., Шульга С. М.* Виділення та ідентифікація продуцентів біопалива // Матеріали XII конференції молодих вчених «Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів», 15–16 листопада 2012 р., Київ. — С. 313–314.
48. *Lee S. F., Forsberg C. W., Gibbins L. N.* Cellulolytic activity of *Clostridium acetobutylicum* // *Appl. Environ. Microbiol.* — 1985. — V. 50. — P. 220–228.
49. *Lee S. F., Forsberg C. W., Gibbins L. N.* Xylanolytic activity of *Clostridium acetobutylicum* // *Ibid.* — 1985. — V. 50. — P. 1068–1076.
50. *Лигнины* / Под ред. К. В. Сарканена, К. Х. Людвига. Пер. с англ. — М.: Мир, 1975. — 632 с.
51. *Физическая химия лигнина: Учебник* / Под ред. К. Г. Боголицына, В. В. Лунина. — М.: Академкнига, 2010. — 489 с.
52. *Online source:* <http://www.ili-lignin.com/>.
53. *Олійничук С. Т., Левандовський Л. В., Шевченко В. І. та ін.* Технологічний регламент виробництва етилового спирту з крохмалевмісної сировини. — К.: ТОВ «Матриця», 2000. — 142 с.
54. *Cateto C., Hu G., Ragauskas A.* Enzymatic hydrolysis of organosolv Kanlow switchgrass and its impact on cellulose crystallinity

- and degree of polymerization // Energy Environ. Sci. — 2011. — V. 4. — P. 1516–1521.
55. Sannigrahi P., Miller S. J., Ragauskas A. J. Effects of organosolv pretreatment and enzymatic hydrolysis on cellulose structure and crystallinity in Loblolly pine // Carbohydrate Research. — 2010. — V. 345. — P. 965–970.
56. Wang Z., Keshwani D. R., Redding A. P., Cheng J. J. Alkaline pretreatment of coastal bermudagrass for bioethanol production // ASABE Annual International Meeting; Rhode Island Convention Center Providence, Rhode Island 2008.
57. Sun Y., Cheng J. J. Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethanol production // Biores. Technol. — 2005. — V. 96. — P. 1599–1606.
58. Laser M., Schulman D., Allen S. G. et al. A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol // Ibid. — 2002. — V. 81. — P. 33–44.
59. Li C., Knierim B. et al. Comparison of dilute acid and ionic liquid pretreatment of switchgrass: biomass recalcitrance, delignification and enzymatic saccharification // Ibid. — 2010. — V. 101. — P. 4900–4906.
60. Arora R., Manisseri C. et al. Monitoring and Analyzing Process Streams Towards Understanding Ionic Liquid Pretreatment of Switchgrass (*Panicum virgatum* L.) // Bioenerg. Res. — 2010. — V. 3. — P. 134–145.
61. Hua Zhao, Baker G. A., Cowins J. V. Fast enzymatic saccharification of switchgrass after pretreatment with ionic liquids // Biotechnol. Prog. — 2010. — V. 26, N 1. — P. 127–133.
62. Hu Z., Wang Y., Wen Z. Alkali (NaOH) pretreatment of switchgrass by radiofrequency-based dielectric heating // Appl. Biochem. Biotechnol. — 2008. — V. 148. — P. 71–81.
63. Sassner P., Maartensson C.-G., Galbe M., Zacchi G. Steam pretreatment of H(2)SO(4)-impregnated Salix for the production of bioethanol // Biores. Technol. — 2008. — V. 99. — P. 137–145.
64. Sassner P., Galbe M., Zacchi G. Steam pretreatment of Salix with and without SO₂ impregnation for production of bioethanol // Appl. Biochem. Biotechnol. — 2005. — V. 124. — P. 1101–1117.
65. Del Rio L. F., Chandra R. P., Saddler J. N. The ease of Enzymatic hydrolysis of Organosolv-pretreated softwoods // Biores. Technol. — 2012. — V. 107. — P. 235–242.
66. Bals B., Rogers C., Jin M. et al. Evaluation of ammonia fibre expansion (AFEX) pretreatment for enzymatic hydrolysis of switchgrass harvested in different seasons and locations // Biotechnol. Biofuels. — 2010. — 3, 1.
67. Esterbauer H., Steiner W. et al. Production of *Trichoderma* cellulose in laboratory and pilot scale // Biores. Technol. — 1991. — V. 36. — P. 51–65.
68. Jorgensen H., Erriksson T. et al. Purification and characterization of five cellulases and xylanases from *Penicillium brasilianum* IBT 20888 // Enz. Microb. Technol. — 2003. — V. 32. — P. 851–861.
69. Nieves R. A., Ehrman C. I. et al. Technical communication: survey and commercial cellulose preparations suitable for biomass conversion to ethanol. World J. // Microbiol. Biotechnol. — 1998. — V. 14. — P. 301–304.
70. Akin D. E., Rigsby L. L. et al. Alterations in the structure, chemistry and biodegradation of grass lignocelluloses treated with white rot fungi *Ceriporiopsis subvermispora* and *Cyathus stercoreus* // Appl. Environ. Microbiol. — 1995. — V. 61. — P. 1591–1598.
71. Gold M. H., Alic M. Molecular biology of the lignin-degrading basidiomycetes *Phanerochaete chrysosporium* // Microbiol. Rev. — 1993. — V. 57 (3). — P. 605–622.
72. Ruggeri B., Sassi G. Experimental sensitivity analysis of a trickle bed bioreactor for lignin peroxidases production by *Phanerochaete chrysosporium* // Process Biochem. — 2003. — V. 38, N 12. — P. 1669–1676.
73. Bosco F., Ruggeri B., Sassi G. Performances of a trickle bed reactor (TBR) for exoenzyme production by *Phanerochaete chrysosporium*: influence of a superficial liquid velocity // Chem. Eng. Sci. — 1999. — V. 54. — P. 3163–3169.
74. Arora D. S., Chander M., Gill P. K. Involvement of lignin peroxidase, manganese peroxidase and laccase in the degradation and selective ligninolysis of wheat straw // Int. Biotechnol. Biodegrad. — 2002. — V. 50. — P. 115–120.
75. Miller (Jr) R. C., Gilkes N. R. et al. Similarities between bacterial and fungal cellulases systems. // Proceedings of the 6th International Conference on Biotechnology in the Pulp and Paper Industry: Advances in Applied and Fundamental Research. — 1996. — P. 531–542.
76. Online source: <http://www.scidacreview.org/0905/html/biofuel.html>.
77. Benedita F. Pinheiro, Mark R. Proctor et al. The *Clostridium cellulolyticum* Dockerin Displays a Dual Binding Mode for its Cohesin Partner // J. Biol. Chem. — 2008. — V. 283, N 26. — P. 18422–18430.
78. Saha B. C. β -L-arabinofuranosidases: biochemistry, molecular biology and application in biotechnology // Biotechnol. Adv. — 2000. — V. 18. — P. 403–423.
79. Prates J. A. M., Tarbouriech N. et al. The structure of the feruloyl esterase module of xylanases 10B from *Clostridium thermocellum* provides insight into substrate recognition // Structure. — 2001. — V. 9. — P. 1183–1190.
80. Goyal A., Ghosh B., Eveleigh D. Characterization of fungal cellulases // Biores. Technol. — 1991. — V. 36. — P. 37–50.
81. Rabinovich M. L., Melnik M. S., Bolobova A. V. Microbial cellulases: A review. // Appl. Biochem. Microbiol. — 2002. — V. 38 (4). — P. 305–321.

82. Rabinovich M. L., Melnik M. S., Bolobova A. V. The structure and mechanism of action of cellulolytic enzymes // Biochemistry (Moscow). — 2002. — V. 67 (8). — P. 850–871.
83. Beguin P., Lemaire M. The cellulosome: An extracellular, multiprotein complex specialized in cellulose degradation // Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. — 1996. — V. 31. — P. 201–236.
84. Doi R. H., Tamaru Y. The *Clostridium cellulovorans* cellulosome: an enzyme complex with plant cell wall degrading activity // Chem. Rec. — 2001. — V. 1 — P. 24–32.
85. Schwarz W. H. The cellulosome and cellulose degradation by anaerobic bacteria // Appl. Microbiol. Biotechnol. — 2001. — V. 56. — P. 634–649.
86. Gal L., S. Pages C. et al. Characterization of the cellulolytic complex (cellulosome) produced by *Clostridium cellulolyticum* // Appl. Environ. Microbiol. — 1997. — V. 63. — P. 903–909.
87. Belaich J. P., Tardif C., Belaich A., Gaudin C. The cellulolytic system of *Clostridium cellulolyticum* // J. Biotechnol. — 1997. — V. 57. — P. 3–14.
88. Kakiuchi M., Isui K. et al. Cloning and DNA sequencing of the genes encoding *Clostridium josui* scaffolding protein CipA and cellulose CelD and identification of their gene products as major components of the cellulosome // J. Bacteriol. — 1998. — V. 180. — P. 4303–4308.
89. Tamaru Y., Karita S. et al. A large gene cluster for the *Clostridium cellulovorans* cellulosome // Ibid. — 2000. — V. 182. — P. 5906–5910.
90. Qureshi N., Ezeji T. C. Butanol (a superior biofuel) production from agricultural residues (renewable biomass) // Recent progress in technology. Biofuels, Bioproducts and Biorefining. — 2008. — V. 2. — P. 319–330.
91. Lopez-Contreras A. M., Martens A. A. et al. Production by *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 of CelG, a Cellulosomal Glycoside Hydrolase Belonging to Family 9 // Appl. Environ. Microbiol. — 2003. — V. 69, N 2 — P. 869–877.
92. Nolling J., Breton G. et al. Genome sequence and comparative analysis of the solvent-producing bacterium *Clostridium acetobutylicum* // J. Bacteriol. — 2001. — V. 183. — P. 4823–4838.
93. Walker L. P., Wilson D. B. Enzymatic hydrolysis of cellulose // An Overview. Biores. Technol. — 1991. — V. 36. — P. 3–14.
94. Bruant G., Levesque M.-J. et al. Genomic Analysis of Carbone Monoxide Utilization and Butanol Production by *Clostridium carboxidivorans* Strain p7^T // Plose ONE. — 2010. — V. 5, Iss. 9. — P. 1–12.
95. Ястремская Л. С., Васильченко О. А. Селекция анаэробного целлюлолитического термофильного штамма *Clostridium thermocellum* 5СТ // БИОТЕХНОЛОГИЯ. — 2011. — Т. 4, № 2. — С. 80–85.
96. Hongoh Y., Sharma V. K. et al. Genome of an endosymbiont Coupling N₂ Fixation to Cellulolysis Within Protist Cells in Termite Gut // Science. — 2008. — V. 322. — P. 1108–1109.
97. Sadanari Jindou, Qi Xu et al. Novel architecture of family-9 glycoside hydrolases identified in cellulosomal enzymes of *Acetivibrio cellulolyticus* and *Clostridium thermocellum* // FEMS Microbiol Lett. — 2008. — V. 254. — P. 308–316.
98. Willquist K., Zeidan A. A., Ed W. J. van Niel. Physiological characteristics of the extreme thermophile *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*: an efficient hydrogen cell factory // Microbial Cell Factories. — 2010. — V. 9, N 89. — P. 1–17.
99. Online source: <http://biomassmagazine.com/articles/7273/researchers-use-bacterium-to-convert-cellulose-into-n-butanol/?ref=brm>.
100. Шульга С. М., Тигунова Е. А. Синтез бутанола штаммом *C. acetobutylicum* на альтернативных субстратах // Материалы 7-го Международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития». 19–22 марта 2013 г., Москва. — С. 272.
101. Bras J. L. A., Cartmell A. et al. Structural insights into a unique cellulose fold and mechanism of cellulose hydrolysis // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2011. — V. 108, N 13. — P. 5237–5242.
102. Jennert K. C. B., Tardif C., Young D. I., Young M. Gene transfer to *Clostridium cellulolyticum* ATCC 35319 // Microbiology. — 2000. — V. 146. — P. 3071–3080.
103. Online source: <http://himkniga.com/news/290>.
104. Shulga S., Tkachenko A., Tigunova O., Beyko N., Khomenko A. Microbial lipids as an alternative bio fuel // Abstracts of 15th European Congress on Biotechnology «New biotechnology», 23–26 September 2012, Istanbul, Turkey. — V. 29. — Issue S. — P. S44.
105. Yanpin Lu, Yi-Heng Percival Zhang, Lee R. Lynd. Enzyme-microbe synergy during cellulose hydrolysis by *Clostridium thermocellum* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2006. — V. 103, N 44. — P. 16165–16169.
106. Guedon E., Payot S., Desvaux M., Petitdemange H. Carbone and electron flow in *Clostridium cellulolyticum* grown in chemostat culture on synthetic medium // J. Bacteriol. — 1999. — V. 181, N 10. — P. 3262–3269.
107. Desvaux M., Guedon E., Petitdemange H. Cellulose catabolism by *Clostridium cellulolyticum* growing in batch culture on defined medium // Appl. Environ. Microbiol. — 2000. — V. 66, N 6. — P. 2461–2470.
108. Hibino S., Minami Z. Bacterial preparation for agricultural use. United States Patent. Patent Number 5,733,355.
109. Fu C., Mielenz J. R. et al. Genetic manipulation of lignin reduces recalcitrance and improves ethanol production from switchgrass // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2011. — V. 108, N 9. — P. 3803–3808.

110. *Молекулярные механизмы, действующие в клетках растений, помогут в разработке улучшенного биотоплива // Интернет-журнал «Коммерческая биотехнология». — 2008. Онлайн-ресурс: <http://www.cbio.ru/article.php?storyid=3131>.*
111. Онлайн-джерело: <http://www.sciencedaily.com/releases/2011/03/110329095444.html>.
112. Новые источники сырья для производства биотоплива // Интернет-журнал «Коммерческая биотехнология». — 2008. Онлайн-ресурс: <http://www.cbio.ru/article.php?storyid=3183>.
113. Онлайн-джерело: http://insciences.org/article.php?article_id=8011.
114. *Ohmiya K., Sakka K., Kimura T., Morimoto K. Application of microbial genes to recalcitrant biomass utilization and environmental conservation // J. Biosci. Bioeng. — 2003. — V. 95, N 6. — P. 549–561.*
115. *Online source: <http://www.renewableenergyworld.com/rea/news/article/2010/01/cobalt-technologies-opens-biobutanol-plant>.*
116. *Online source: <http://www.greencarcongress.com/2011/07/cathay-20110725.html>.*
117. *Online source: <http://www.clostridia.net/clostridiumXII/programme.html>.*

ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗА КАК АЛЬТЕРНАТИВНОЕ СЫРЬЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОБУТАНОЛА

*С. М. Шулга
Е. А. Тигунова
Я. Б. Блюм*

ГУ «Институт пищевой биотехнологии
и геномики» НАН Украины, Киев

E-mail: Shulga5@i.ua

Энергетические и экологические кризисы, которые переживает мир, побуждают пересмотреть вопрос эффективности использования природных возобновляемых ресурсов, особенно органических «отходов», с использованием экологически чистых технологий. Микробиологическая конверсия возобновляемых ресурсов биосферы с целью получения полезных продуктов, в том числе биотоплива, в настоящее время является актуальной биотехнологической проблемой. Анаэробные бактерии семейства *Clostridiaceae* известны как продуценты бутанола, но микробиологический синтез бутанола во время классического ацетон-бутанол-этанольного брожения в настоящее время является экономически нецелесообразным. Для того чтобы сделать ацетонобутиловое брожение рентабельным, нужны высокопродуктивные солвентогенетические штаммы, использующие доступное и дешевое сырье — отходы сельского хозяйства или растительную биомассу. Обзор содержит описание возможностей и пути создания экономических и экологических процессов переработки лигноцеллюлозных отходов для создания биобутанола.

Ключевые слова: биотопливо, лигноцеллюлоза, биобутанол, клостридии.

LIGNOCELLULOSE AS AN ALTERNATIVE SOURCE FOR OBTAINING OF BIOBUTANOL

*S. M. Shulga
O. A. Tignova
Y. B. Blume*

SO «Institute for Food Biotechnology
and Genomics» of National Academy of Sciences
of Ukraine, Kyiv

E-mail: Shulga5@i.ua

Energy and environmental crisis facing the world force us to reconsider the effectiveness or find an alternative use of renewable natural resources, especially organic «waste» by using environmentally friendly technologies. Microbial conversion of renewable resources of biosphere to produce useful products, including biofuels, currently is an actual biotech problem. Anaerobic bacteria of *Clostridiaceae* family are known as butanol producers, but unfortunately, the microbiological synthesis is currently not economical one. In order to make cost-effective acetone-butanol-ethanol fermentation, solvent-producing strains using available cheap raw materials, such as agricultural waste or plant biomass, are required. Opportunities and ways to obtain economic and ecological processing of lignocellulosic wastes for biobutanol creation are described in the review.

Key words: biofuels, lignocellulose, biobutanol, *Clostridium*.