

БИОКОНВЕРСИЯ КОРЫ ХВОЙНЫХ ГРИБАМИ РОДА *TRICHODERMA*

O.O. Mamaeva, E.V. Isaeva, V.S. Fedorov

Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М. Ф. Решетнева, Красноярск, Россия

В данной работе представлены результаты изучения влияния способов предварительной подготовки коры хвойных пород на степень биоконверсии. В качестве биодеструкторов использовали микроскопические грибы рода *Trichoderma*. Предподготовку проводили с помощью экстракцииmonoэтаноламином и гидродинамической активации.

Ключевые слова: биоконверсия, кора, субстрат, экстракция, гидродинамическая активация, *Trichoderma*, компонентный состав

BIOCONVERSION OF CONIFEROUS BARK BY FUNGI OF THE GENUS *TRICHODERMA*

O.O. Mamaeva, E.V. Isaeva, V.S. Fedorov

Reshetnev Siberian State University of Science and Technology, Krasnoyarsk, Russian Federation

The results of this work present methods for pre-preparing the bark of double rocks at the level of bioconversion. Microscopic fungi of the genus *Trichoderma* are used as biodestructors. Pre-preparation of technology using extraction with monoethanolamine and hydrodynamic activation.

Keywords: bioconversion, bark, substrate, extraction, hydrodynamic activation, *Trichoderma*, component composition.

Кора является крупнотоннажным отходом деревоперерабатывающих производств (10-14 % от общего поступившего объема чистой древесины, что более 100 тысяч м³ в год) [1, 2]. Следовательно, кора – это важный компонент вторичного сырья и может использоваться в разных областях народного хозяйства. В коре содержится значительное количество органических веществ, что делает ее ценным удобрением для сельского хозяйства и садоводства [3]. Данный вид отхода используют в качестве природного материала для мульчирования почвы, что помогает сохранить влагу, предотвращает рост сорняков и защищает растения от перепадов температур. Также кору используют в производстве биотоплива и других энергетических ресурсов. Кора может быть переработана и использована, например, для производства древесно-полимерных композитов или других строительных материалов [4, 5].

На сегодняшний день показана растущая популярность не только химической обработки коры и получения из нее различных соединений, но и микробиологической переработки, что указывает на перспективность ее применения как уникального природного материала и возобновляемого ресурса [4, 6-8].

Важными компонентами коры являются экстрактивные вещества, содержание которых достигает 20 %, в частности дубильные вещества. Основными компонентами дубильных веществ являются танииды. Кроме того, в составе коры различных древесных пород обнаружены терпеноиды, эфиры терпеноидов, тритерпеновые спирты, эфирные масла, стерины, терпены, сесквитерпены, флавоноиды, сложные эфиры жирных кислот, липиды, фенолы, углеводы, сапонины, гидроксикумарины, стильтеноиды, нецеллюлозные моносахариды (арabinоза, ксилоза, манноза) и многие другие вещества [4]. Поэтому для более глубокой переработки коры методом биоконверсии целесообразно проводить предподготовку, с помощью которой удаляют

экстрактивные вещества (имеющие самостоятельное применение), тем самым повышают реакционную способность коры, степень утилизации сырья и выход целевого продукта [9].

Целью данной работы было изучение влияния способов предподготовки коры на степень биоконверсии грибами рода *Trichoderma*.

Сырьем для биоконверсии служили отходы деревоперерабатывающего завода г. Торжка (смесь коры хвойных пород). Размер фракций исходной коры составлял 7-10 мм.

В работе использовали следующие субстраты на основе коры:

- без предварительной подготовки (субстрат 1);
- после экстракции 1 %-м раствором моноэтаноламина (МЭА) в течение 5 ч с целью извлечения веществ, обладающих дубящими свойствами (субстрат 2);

- после гидродинамической активации в течение 30 мин в водной среде на кавитационном гидроударном диспергаторе (радиус ротора 277 мм, частота вращения 3000 об/мин, производительность 25 м³/ч, содержание сухих веществ в суспензии – до 10 % по массе) (субстрат 3);

- после последовательной экстрагировании 1 %-м МЭА в течение 5 ч и гидродинамической активации в водной среде в течение 30 мин (субстрат 4) [9].

Для обогащения субстратов биогенными элементами вводили соли (NH₄)₂SO₄ (1,0 г/л) и Na₂HPO₄ (0,5 г/л). Влажность сырья составляла 65-70 %. Далее сырье подвергали глубокой стерилизации при 0,1 МПа несколько раз с интервалом в 24 ч.

В качестве биодеструктора использовали штамм K6-15 *Trichoderma* spp. В последнее время появилась тенденция применения микроскопических грибов рода *Trichoderma* spp. в качестве основы биопрепаратов для эффективной трансформации содержащих лигноцеллюлозу растительных полимеров в компоненты гумуса [10].

Засев субстратов осуществляли споровой суспензией гриба с титром 1·10⁶ спор/г абсолютно сухой массы сырья. Посевы инкубировали в термостате при (28±2) °C в течение 19 сут. Расчеты титра спор и убыли массы описаны в работе [9]. Компонентный состав исходной и биодеструктированной коры определяли по методикам, принятым в химии растительного сырья [11]. Экстрактивные вещества выделяли с помощью последовательной 3-часовой экстракции горячей водой (жидкостный модуль 1:50) и этиловым спиртом (жидкостный модуль 1:20).

О степени конвертируемости субстрата можно судить по результатам, представленным в таблице 1.

Таблица 1
Компонентный состав субстратов до и после биоконверсии (БК)

Компонент	Содержание, % а.с.с.							
	субстрат 1		субстрат 2		субстрат 3		субстрат 4	
	до БК	после БК	до БК	после БК	до БК	после БК	до БК	после БК
Вещества, экстрагируемые горячей водой	9,84	<u>5,10</u> 4,71	6,25	<u>3,71</u> 2,41	3,73	<u>4,32</u> 4,07	2,34	<u>3,44</u> 3,00
Вещества, экстрагируемые этиловым спиртом	6,56	<u>8,33</u> 7,69	3,42	<u>6,28</u> 4,08	4,91	<u>3,76</u> 3,54	7,91	<u>4,74</u> 4,14
Легкогидролизуемые полисахариды	15,15	<u>11,69</u> 10,79	15,44	<u>11,59</u> 7,53	16,98	<u>12,05</u> 11,34	17,73	<u>10,44</u> 9,11
Трудногидролизуемые полисахариды	21,99	<u>17,01</u> 15,70	26,29	<u>16,88</u> 10,97	23,15	<u>21,23</u> 19,98	25,19	<u>18,02</u> 15,73
Лигниновые вещества	25,18	<u>31,79</u> 29,34	24,94	<u>36,69</u> 23,85	27,45	<u>32,61</u> 30,69	29,09	<u>31,03</u> 27,09

Примечание. В числителе данные без учета убыли массы, в знаменателе указаны данные с учетом убыли массы; относительная стандартная ошибка опыта не превышает 5 %.

Для сравнения химического состава исходных субстратов производили пересчет полученных данных с учетом коэффициента убыли массы для каждого образца в процессе культивирования гриба. Количество каждого компонента, входящего в состав субстрата, рассчитано на единицу абсолютно сухого остатка. Установлено, что максимальную субстратразрушающую активность гриб проявил на субстратах 2 и 4, при этом убыль массы составила 25 и 14 % соответственно. Для субстратов 1 и 3 убыль массы составляет порядка 7 % [9].

Полученные данные в ходе изучения компонентного состава субстратов до и после биоконверсии свидетельствуют о том, что культивирование K6-15 *Trichoderma* spp. приводит к изменению содержания всех компонентов субстратов. На рис. 1 наглядно показана степень утилизации суммы экстрактивных веществ, полисахаридов и лигниновых веществ.

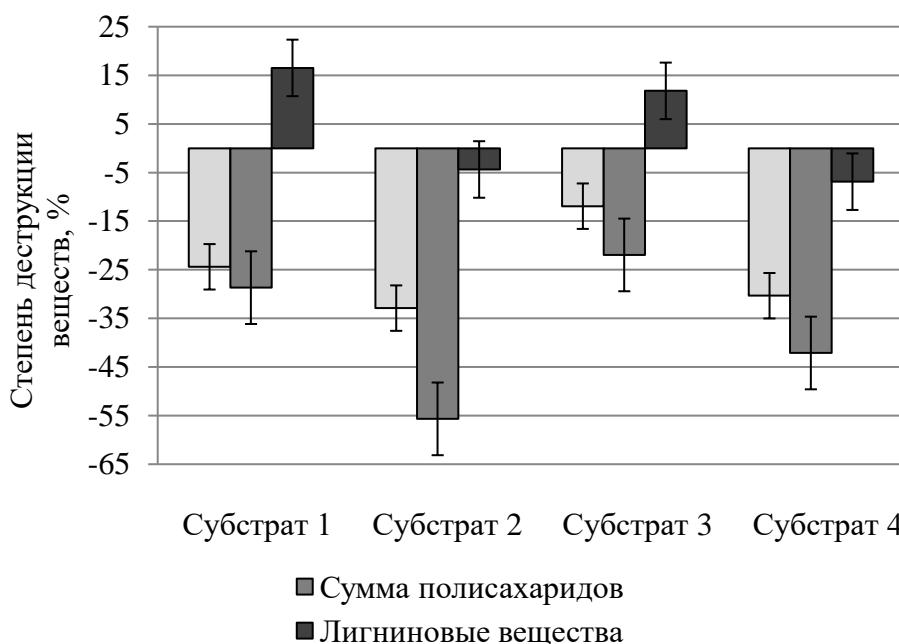


Рис. 1. Степень деструкции основных групп веществ компонентного состава коры

Установлено, что в процессе биоконверсии происходит снижение большей части суммы полисахаридов (от 22 до 56 %) за счет способности грибов рода *Trichoderma* образовывать целлюлолитические ферменты. Более глубокая их трансформация зафиксирована на субстрате 2 (кора после экстракции МЭА), причем утилизация как легко-, так и трудногидролизуемых полисахаридов происходит с одинаковой степенью (на 52-58 %). Следует отметить, что на данном субстрате зафиксировано максимальное спорообразование ($1,35 \cdot 10^9$ спор/г на 19 сут культивирования). На коре после экстракции МЭА и гидродинамической активации (субстрат 4) сумма полисахаридов уменьшилась на 42 % (легкогидролизуемые – на 49 %, трудногидролизуемые – на 38 %). При этом титр спор составляет порядка $0,7 \cdot 10^9$ спор/г. Наименьшее снижение полисахаридов (на 22 %) отмечено на субстрате 3 (кора после гидродинамической активации) в основном за счет деструкции легкогидролизуемой части (до 33 %). Конверсия целлюлозы не превысила 14 %.

Известно, что грибы рода *Trichoderma* являются продуцентами лигнолитических ферментов [12]. Установлено, что в процессе биоконверсии на субстратах 2 и 4 содержание этой группы веществ снизилось на 4 и 7 % соответственно. На других субстратах отмечено увеличение доли лигниновых веществ вследствие перераспределения компонентного состава.

Следует отметить, что в результате биоконверсии происходит также утилизация наиболее доступной для грибов группы экстрактивных веществ. Результаты показали, что в процессе биотрансформации субстратов происходит снижение содержания экстрактивных веществ на 12-33 %. Причем на субстратах 1 и 2 это вызвано уменьшением доли водорастворимых веществ. Максимальное их снижение зафиксировано на субстрате 2 (до 61 %) по сравнению с исходным

субстратом. При использовании в качестве предподготовки гидродинамической активации (субстрат 3), а также последовательной экстракции 1 %-м раствором МЭА и гидродинамической активации (субстрат 4) снижение содержания этой группы веществ происходит за счет спирторастворимых соединений (на 28 и 48 % соответственно, в сравнении с исходным субстратом).

Таким образом, можно сделать вывод о том, что кора, обработанная 1 %-м раствором моноэтаноламина в течение 5 ч, является наиболее благоприятным субстратом для развития К6-15 *Trichoderma* spp. Биоконверсия (микробиологическая утилизация) данного субстрата происходит на 25 % (что в 2-4 раза выше, чем при использовании других методов предподготовки). Конверсия происходит за счет деструкции основных групп экстрактивных веществ (до 33 %) и лигноуглеводного комплекса (до 36 %).

Библиографический список

1. Переработка и использование древесной коры / ЛеспромИнформ. URL: <https://lesprominform.ru/jarticles.html?id=2640> (дата обращения: 22.05.2024).
2. Fedorov V.S., Ryazanova T.V. Bark of Siberian Conifers: Composition, Use, and Processing to Extract Tannin. *Forests* 2021, 12, 1043. <https://doi.org/10.3390/f12081043>.
3. Изотов Д. В. Биоактивные компоненты из древесной коры и торфа, специальные химические реагенты и лекарственные средства: от инновации к применению // Инновации и технологии в лесном хозяйстве: материалы междунар. науч.-практ. конф. Санкт-Петербург: Федеральное бюджетное учреждение «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт лесного хозяйства», 2011. С. 45-47.
4. Пастори З., Горбачева Г. А., Санаев В. Г. и др. Состояние и перспективы использования древесной коры. *Лесной вестник. Forestry Bulletin*, 2020. Т. 24, № 5. С. 74-88. DOI 10.18698/2542-1468-2020-5-74-88.
5. Колосова, А. С., Пикалов Е. С. Современные эффективные теплоизоляционные материалы на основе древесного сырья // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований, 2021. № 3. С. 66-77.
6. Исаева Е. В., Харченко А. И., Мамаева О. О. и др. Конверсия коры хвойных грибами *Pleurotus pulmonaris* // Решетневские чтения : материалы XXVII Междунар. науч.-практ. конф., посвященной памяти генерального конструктора ракетно-космических систем академика М.Ф. Решетнева. Красноярск: Сибирский государственный университет науки и технологий им. акад. М.Ф. Решетнева, 2023. С. 808-810.
7. Федоров, В. С., Рязанова Т. В., Мамаева О. О. Биоконверсия как способ утилизации древесных отходов сосны обыкновенной *Pinus Sylvestris* // Решетневские чтения: материалы XXVI Междунар. науч.-практич. конф., посвященной памяти генерального конструктора ракетно-космических систем академика М. Ф. Решетнева. Красноярск: Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М.Ф. Решетнева, 2022. С. 850-852.
8. Рязанова, Т. В., Чупрова Н. А., Лунева Т. А. Воздействие гриба рода *Trichoderma* на лигнин коры древесных пород // Катализ в промышленности, 2014. № 6. С. 64-70.
9. Мамаева, О. О., Исаева Е. В. Влияние предподготовки коры хвойных на спорообразование грибов рода *Trichoderma* // Леса России: политика, промышленность, наука, образование: материалы VIII Всерос. науч.-техн. конф. Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет имени С.М. Кирова, 2023. С. 475-477.
10. Zhang F., Huo Y., Cobb A.B. et al. *Trichoderma* biofertilizer links to altered soil chemistry, altered microbial communities, and improved grassland biomass // *Frontiers in Microbiology*. 2018 V. 9 P. 1–11. doi:10.3389/fmicb.2018.00848/
11. Рязанова Т.В., Чупрова Н.А., Исаева Е.В. Химия древесины. Красноярск: СибГТУ, 2012. 358 с.
12. Кочерова, А. В. Скрининг микромицетов – продуцентов лигнинолитических продуцентов ферментов // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: сб. ст. всерос. науч.-практ. конф. Красноярск: СибГТУ, 2013. Т. 2. С. 49-50.