

Научная статья

УДК 663.15

DOI: 10.37482/0536-1036-2024-2-166-177

Перспективы глубокой переработки бумажного шлама с применением ферментов, микроводорослей и дрожжей

Д.В. Тарабукин[✉], канд. биол. наук; ResearcherID: P-9578-2015,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8572-4902>

Е.Н. Патова, канд. биол. наук; ResearcherID: O-1154-2015,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9418-1601>

И.В. Новаковская, канд. биол. наук; ResearcherID: P-9590-2015,


ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5056-9965>

Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, ул. Коммунистическая, д. 28, г. Сыктывкар, Россия, 167982; dim1822@yandex.ru[✉], patova@ib.komisc.ru, novakovskaya@ib.komisc.ru

Поступила в редакцию 21.08.23 / Одобрена после рецензирования 23.11.23 / Принята к печати 25.11.23

Аннотация. Представлены сведения о валоризации отходов, которые образуются в процессе производства санитарно-гигиенической бумаги. Оценена возможность био-конверсии полисахаридной части бумажного шлама в простые сахара. Рассмотрены варианты обработки бумажного шлама перед ферментативным гидролизом для достижения максимального выхода моносахаридов. Выявлено, что предобработка кислотами является ключевой стадией перед биокаталитическим расщеплением полисахаридов отхода. Дополнительный выход продуктов ферментативного гидролиза после предобработки кислотами был получен за счет предварительной экстракции бумажного шлама спиртом или ацетоном. Установлено, что наиболее интенсивно ферментативный гидролиз легкодоступных фракций бумажного шлама проходит за первые 10–12 ч. Далее процесс замедляется, вероятно, ввиду действия оставшихся компонентов наполнителей, а также увеличения доли трудногидролизующей полисахаридной части. Во всех вариантах доля абсолютно сухого непрогидролизованного остатка составила около 43±2 % от сухого вещества бумажного шлама. Основными продуктами ферментативного гидролиза были глюкоза и ксилоза. Полученные сахара использованы для миксотрофного культивирования водорослей *Tetradesmus obliquus* и *Chlorella vulgaris*. Среда, приготовленная на гидролизате бумажного шлама, обеспечивала максимальный выход биомассы микроводорослей. Подобраны штаммы дрожжей для конверсии моносахаридов из бумажного шлама. В серии экспериментов по нестерильному выращиванию дрожжей наиболее продуктивными (в пределах 2,10±0,14 г воздушно-сухой массы дрожжей/дм³ за 24 ч) оказались культуры *Candida utilis* PAL D и *Debaryomyces hansenii* SWING R. Степень конверсии сахаров гидролизата составила 70±2 %. Большая часть из оставшихся (около 80 %) сахаров представлена ксилозой. Полная утилизация сахаров происходила на 2-е сутки при добавлении в среду дополнительного источника азота. С другой стороны, отработанная питательная среда после отделения дрожжей была пригодна для миксотрофного культивирования микроводорослей. Выявлено, что экономические затраты на предварительную обработку бумажного шлама азотной кислотой можно нивелировать, применив полученные соли в качестве источника азота для культивирования дрожжей. При этом выход биомассы дрожжей увеличивается почти в 2 раза.

© Тарабукин Д.В., Патова Е.Н., Новаковская И.В., 2024

 Статья опубликована в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии CC BY 4.0

Ключевые слова: ферментативный гидролиз, глубокая переработка отходов, микробная конверсия, микроводоросли, дрожжи, отходы бумажного производства, бумажный шлам
Благодарности: Работа выполнена в рамках госзаданий № 122040600019-1 и 122040600026-9.

Для цитирования: Тарабукин Д.В., Патова Е.Н., Новаковская И.В. Перспективы глубокой переработки бумажного шлама с применением ферментов, микроводорослей и дрожжей // Изв. вузов. Лесн. журн. 2024. № 2. С. 166–177. <https://doi.org/10.37482/0536-1036-2024-2-166-177>

Original article

The Prospects for Advanced Processing of Paper Sludge Using Enzymes, Microalgae and Yeast

Dmytriy V. Tarabukin[✉], Candidate of Biology; ResearcherID: [P-9578-2015](https://orcid.org/0000-0001-8572-4902),

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8572-4902>

Elena N. Patova, Candidate of Biology; ResearcherID: [O-1154-2015](https://orcid.org/0000-0002-9418-1601),

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9418-1601>

Irina V. Novakovskaya, Candidate of Biology; ResearcherID: [P-9590-2015](https://orcid.org/0000-0001-5056-9965),

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5056-9965>

Institute of Biology of Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, ul. Kommunisticheskaya, 28, Syktyvkar, 167982, Russian Federation; dim1822@yandex.ru[✉], patova@ib.komisc.ru, novakovskaya@ib.komisc.ru

Received on August 21, 2023 / Approved after reviewing on November 23, 2023 / Accepted on November 25, 2023

Abstract. This article presents the information on the valorization of waste generated during the production of tissue paper. The possibility of bioconversion of the polysaccharide part of paper sludge into simple sugars has been evaluated. The options for processing the paper sludge before enzymic hydrolysis to achieve the maximum yield of monosaccharides have been considered. Pretreatment with acids has been found to be a key step before the biocatalytic cleavage of waste polysaccharides. An additional yield of enzymic hydrolysis products after pretreatment with acids has been obtained by pre-extraction of the paper sludge with spirit or acetone. It has been established that the most intense enzymic hydrolysis of readily available fractions of the paper sludge takes place in the first 10–12 hours. Further, the process slows down, probably due to the action of the remaining components of the fillers, as well as an increase in the proportion of the difficult-to-hydrolyze polysaccharide part. In all cases, the proportion of absolutely dry non-hydrolyzed residue has been about 43±2 % of the dry matter of the paper sludge. The main products of enzymic hydrolysis have been glucose and xylose. The resulting sugars have been used for mixotrophic cultivation of the *Tetrademus obliquus* and *Chlorella vulgaris* algae. Yeast strains have been selected for the conversion of monosaccharides from the paper sludge. In a series of experiments on non-sterile yeast cultivation, the *Candida utilis* PAL D and *Debaryomyces hansenii* SWING R cultures have turned out to be the most productive (within 2.10±0.14 g of air-dry yeast weight/dm³ per 24 hours). The degree of conversion of hydrolysate sugars has been 70±2 %. Most of the remaining sugars (about 80 %) have been represented by xylose. Complete utilization of the sugars has taken place on the 2nd day when having added an extra nitrogen source to the medium. On the other hand, the spent nutrient medium after yeast

separation has been suitable for mixotrophic cultivation of microalgae. It has been revealed that the economic costs of pre-treatment of the paper sludge with nitric acid can be leveled by using the resulting salts as a nitrogen source for cultivating yeast. In doing so, the yield of yeast biomass increases by almost 2 times.

Keywords: enzymic hydrolysis, advanced waste processing, microbial conversion, microalgae, yeast, paper production waste, paper sludge

Acknowledgements: The work was carried out as part of the state assignments no. 122040600019-1 and no. 122040600026-9.

For citation: Tarabukin D.V., Patova E.N., Novakovskaya I.V. The Prospects for Advanced Processing of Paper Sludge Using Enzymes, Microalgae and Yeast. *Lesnoy Zhurnal* = Russian Forestry Journal, 2024, no. 2, pp. 166–177. (In Russ.). <https://doi.org/10.37482/0536-1036-2024-2-166-177>

Введение

Промышленное производство микробной биомассы на основе микроводорослей или дрожжей как источников белка, липидов и других ценных продуктов предполагает использование дешевых ресурсов макро- и микроэлементов в составе питательных сред. В качестве источника углерода могут быть взяты углеводы, полученные гидролизом целлюлозосодержащих отходов с помощью специализированных ферментов [14, 16]. Вовлечение различных типов целлюлозосодержащих отходов может быть рациональным решением при организации сырьевой базы. Так, к примеру, в мире ежегодно образуются миллионы тонн макулатуры. Часть отходов бумаги возвращают на вторичную переработку для производства технических бумаг более низкого качества. Однако некоторые типы бумаг не находят применения и в лучшем случае утилизируются на мусорных полигонах [1]. Кроме макулатуры образуется значительное количество бумажного шлама, который практически не используется.

Применение биотехнологических методов получения моносахаров из целлюлозосодержащего сырья дает перспективу создания малоотходных экологически чистых технологий. Биопрепараты целлюлаз на основе селекционных штаммов грибов, включающие эндо-, экзогликоканазы и целлобиазы, способны гидролизовать делигнифицированную целлюлозу с образованием глюкозы и целлобиозы без побочных продуктов [3]. Также наравне с целлюлазами в препаратах, как правило, присутствуют гликозидазы, способные разрушать остаточные гемицеллюлозы. Ферментативная переработка макулатуры или бумажного шлама сопряжена с рядом трудностей из-за наличия различных загрязнений, а также наполнителей, которые необходимо удалять для более полной биоконверсии целлюлозной составляющей. Выявлено [15], что основным ингибитором целлюлаз является карбонат кальция, блокирующий активные центры ферментов. Авторам удалось частично решить эту проблему за счет применения неионогенных поверхностно-активных веществ, уменьшающих непродуктивное связывание биокатализаторов с солями кальция. Обработка макулатуры офисной бумаги серной кислотой также обеспечивала снижение ингибирующего действия карбоната кальция при ферментативном гидролизе [20]. Смолы, краски, остаточный лигнин и прочие наполнители бумаги являются еще одним фактором, препятствующим переработке отходов. Для уменьшения их ингибирующего действия была предложена обработка озоном [13], механическая активация [2], промывка щелочами и кислотами [5]. Таким обра-

зом, при наличии доступного целлюлозосодержащего субстрата и оптимальной предобработки возможно получение ценных продуктов с помощью микробной конверсии [8, 10].

Цель – разработка подходов к глубокой переработке бумажного шлама с помощью биокатализа, оценка применимости продуктов ферментативного гидролиза как питательной среды для культивирования микроводорослей и дрожжей.

Объекты и методы исследования

В качестве объекта исследования был использован отход производства санитарно-гигиенической бумаги «Тиссю Групп» (г. Сыктывкар, Республика Коми) – бумажный шлам. Бумажный шлам представляет собой смеси: наполнителей и пигментов, мелкого волокна и минеральных компонентов, печатных красок и наполнителей. Доля целлюлозной фракции достигает 38 ± 3 %. Среднесуточная масса образующегося на заводе шлама составляет 70–90 т по влажному весу, ее утилизируют методом захоронения на полигоне.

Биотестирование бумажного шлама по методикам ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.12-06 и ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.10-04 не выявило острой токсичности по отношению к *Daphnia magna* Straus и *Chlorella vulgaris* Beijer. Согласно результатам исследования, бумажный шлам относится к 5-му классу опасности. Некоторые химические параметры данного типа отходов:

Водородный показатель pH.....	7,7±0,1
Зольность, %.....	35,0±3,5
Содержание, мг/кг:	
кремний.....	22530±6760
алюминий.....	2,3±0,8
калий.....	35,4
натрий.....	276±41
кальций.....	281±14
магний.....	198±10
хром.....	15,1±4,5
медь.....	15,0±0,7
кадмий.....	<0,01
свинец.....	4,1±0,9
цинк.....	7,6±3,7
железо.....	175±26
никель.....	10±1
марганец.....	30±10
хлорид ион.....	133±13
нитрит ион.....	0,68±0,27
сульфат ион.....	1210±181
формальдегид.....	7,17±1,72
сумма предельных углеводов.....	<0,2

Были оценены различные режимы обработки шлама перед ферментативным получением восстанавливающих сахаров (ВС), определяемых методом Шо-моди–Нельсона [3]:

без предварительной обработки;

обработка в течение 30 мин раствором уксусной кислоты из расчета 5 см³ ледяной кислоты на 25 г бумажного шлама, суспензированного в 100 см³ воды, промывка водой на нетканом фильтре (условное обозначение режима – УК);

экстракция спиртом 25 г бумажного шлама в течение 2 ч в аппарате Сокслета на водяной бане, промывка водой на нетканом фильтре (ЭС);

обработка в течение 30 мин раствором минеральной (соляной или азотной) кислоты из расчета 5 см³ концентрированной кислоты на 25 г бумажного шлама, суспензированного в 100 см³ воды, промывка водой на нетканом фильтре (МК).

Ферментативный гидролиз навесок бумажного шлама массой 25 г (23,0±1,2 % сухого вещества) проводили в 0,05 М калий-цитратно-фосфатном буферном растворе (100 см³, рН – 4,7) при 50 °С. Перемешивание осуществляли с помощью верхнеприводной мешалки. В качестве источника целлюлаз использовали ферментный препарат Sunson (Китай). Активность составляла: общая целлюлазная – 90 000 ед./г, ксиланазная – 200 000 ед./г, β-глюкозидазная – 60 000 ед./г. За единицу активности принимали такое количество ферментного препарата, которое образует 1 мкмоль ВС в пересчете на глюкозу за 1 ч из фильтровальной бумаги для целлюлазной, из ксилана – для ксиланазной и из пара-нитрофенил-β-D-глюкопиранозиды – для β-глюкозидазной. Дозировка препарата – 0,1 г. Дополнительно в реакционную среду вводили 10 мг лаурилглюкозида. Фотографии образцов целлюлозного волокна из шлама были получены с помощью микроскопа Mikmed 2 (версия 11) в проходящем свете, с камерой RisingCam E3 Sony IMX226 12 MP; программное обеспечение – RisingView. Использовали объектив с увеличением в 10 раз. Определение углеводного состава гидролизатов проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе Kanuer с рефрактометрическим детектором Smartline 2300, сорбент – Sepaharon SGH NH₂ 7 мкм, элюент – ацетонитрил/вода в соотношении 80:20, скорость подачи элюента – 1 см³/мин.

Сравнительная оценка накопления биомассы микроводорослей проведена при различных режимах культивирования. Для этого выбраны две наиболее часто используемые в биотестировании водоросли: *Tetrademus obliquus* (Turpin) M.J. Wynne (SYKOA Ch-055-12) и *C. vulgaris* (SYKOA Ch-011-10) из коллекции живых штаммов микроводорослей Института биологии Коми научного центра УрО РАН. Накопительные культуры этих микроорганизмов наращивали в течение 2 недель на жидкой питательной среде Болда для зеленых водорослей [6] с рН = 6 при освещении 45 мкмоль·м⁻²·с⁻¹ фотосинтетически активной радиации (фитолампа – Uniel ULI-P11-35W/SPFR IP40 WHITE, Китай) и температуре 22–25 °С. Соотношение периодов день/ночь – 12/12 ч.

В ходе эксперимента было использовано три варианта сред: Bristol [6], Bristol + глюкоза, гидролизат бумажного шлама с добавлением NaNO₃. В шесть флаконов вносили по 30 см³ стерильной среды Bristol. В три из них добавляли по 1 см³ накопительной культуры *T. obliquus*, в три – по 1 см³ накопительной культуры *C. vulgaris*. В другие шесть флаконов вносили по 30 см³ стерильной среды Bristol, которая содержала глюкозу в концентрации 5 мг/см³, и в них добавляли водоросли, как указано выше. Отдельно готовили стерильную среду на основе гидролизата бумажного шлама (с добавлением 50 мг NaNO₃ на 100 см³ гидролизата) с концентрацией ВС 4,5 мг/см³, затем разливали ее по 30 см³ в шесть флаконов и повторяли процедуру с внесением

микроводорослей. Культивирование проводили на орбитальном шейкере при 120 об./мин и температуре 25 °С. В качестве источника освещения выступала светодиодная лампа мощностью 24 Вт. Оценку накопления биомассы микроводорослей выполняли с помощью измерения оптической плотности при 680 нм на спектрофотометре UV-1700 (Shimadzu, Япония) с кюветой 10 мм.

Гидролизаты бумажного шлама использовали для аэробного нестерильного культивирования коммерчески доступных дрожжей, применяемых в сыроделии: *Candida utilis* PAL D, *Debaryomyces hansenii* SWING LAF-3, *D. hansenii* SWING R, *D. hansenii* SWING F, *Kluyveromyces marxianus* SWING LAF-5 (Дания). Питательная среда для выращивания дрожжей представляла собой 100 см³ гидролизата бумажного шлама с концентрацией ВС 13,0±1,5 мг/см³, в которую вносили 30 мг лиофильно высушенной культуры дрожжей. Также в среду было добавлено 600 мг NH₄NO₃, 10 мг MgSO₄, 50 мг NaCl и 200 мг KH₂PO₄. Начальное значение pH среды составляло 4,8. Накопление биомассы проводили на орбитальном шейкере при 170 об./мин и температуре 32 °С. Продолжительность выращивания – 24 ч. Накопление биомассы дрожжей оценивали фильтрованием на микропористой мембране (0,2 мкм) с последующей сушкой и взвешиванием. Все эксперименты осуществляли в 3-кратной повторности.

Результаты исследования и их обсуждение

Бумажный шлам, несмотря на значительную долю делигнифицированной целлюлозы, является достаточно сложным субстратом для ферментативного гидролиза без предварительной обработки (см. таблицу). Главным образом это связано с тем, что карбонаты кальция и прочих металлов вызывают переход pH среды в щелочную область, что приводит к снижению ферментативной активности. В связи с этим были изучены различные варианты предобработки с помощью уксусной, соляной и азотной кислот и затем проведена отмывка целлюлозосодержащего субстрата от солей.

Влияние способа предобработки бумажного шлама на выход ВС в результате ферментативного гидролиза

The influence of the paper sludge pretreatment method on the yield of reducing sugars as a result of enzymic hydrolysis

Варианты предобработки	Продолжительность гидролиза, ч	Выход ВС от массы абсолютно сухого бумажного шлама, %
МК	8	Гидролиз не идет, pH смещается в щелочную среду
УК	24	18±1,5
ЭС, УК	8	19±1,2
	14	20±1,3
	24	24±0,4
	36	25±0,2
ЭС, МК	24	29±1,5
ЭС, УК. Вместо ферментного препарата внесен непрогидролизванный остаток бумажного препарата	24	16±1,4

Выявлено, что предобработка бумажного шлама минеральными кислотами увеличивала выход сахаров на 10–15 % по сравнению с обработкой уксусной кислотой. Дополнительный выход ВС при ферментативном гидролизе после предобработки кислотами был достигнут за счет предварительной экстракции бумажного шлама спиртом или ацетоном, которые обеспечили извлечение красящих и других органических веществ. Установлено, что около 80 % от суммарного количества ВС образуется за первые 10–12 ч. После 24 ч ферментативный гидролиз практически прекращается. Во всех вариантах доля абсолютно сухого непрогидролизованного остатка составила порядка 43 ± 2 % от сухого вещества бумажного шлама. Основными продуктами гидролиза являлись ксилоза и глюкоза, причем доля последней была примерно 80 %. Следовательно, ферментный препарат обеспечивал полную конверсию доступной фракции целлюлозы и остаточного ксилана, что немаловажно для последующего культивирования микроорганизмов, т. к. в стандартных средах используются, как правило, моносахариды.

Снижение расхода ферментов можно рассматривать как ключевой элемент экономики ферментативного гидролиза целлюлозосодержащих материалов [7, 18]. Смешивание непрогидролизованного остатка со свежей порцией бумажного шлама способствовало повторному применению ранее введенных целлюлаз (см. таблицу). В ходе эксперимента удавалось провести 2 цикла ферментативного гидролиза с вовлечением непрогидролизованных остатков с предыдущих стадий. В дальнейшем повторение циклов было нецелесообразно из-за слишком высокой концентрации субстрата.

Непрогидролизованный остаток можно рассматривать как готовый носитель с иммобилизованными ферментами, пригодный для осахаривания сельскохозяйственных отходов [4, 12]. С технической точки зрения переработанный бумажный шлам представляет собой смесь порошковой целлюлозы, имеющей размеры волокон до 200 мкм (рис. 1), с другими высокомолекулярными компонентами, на основе которых возможно изготовление материалов, устойчивых к биодеструкции.

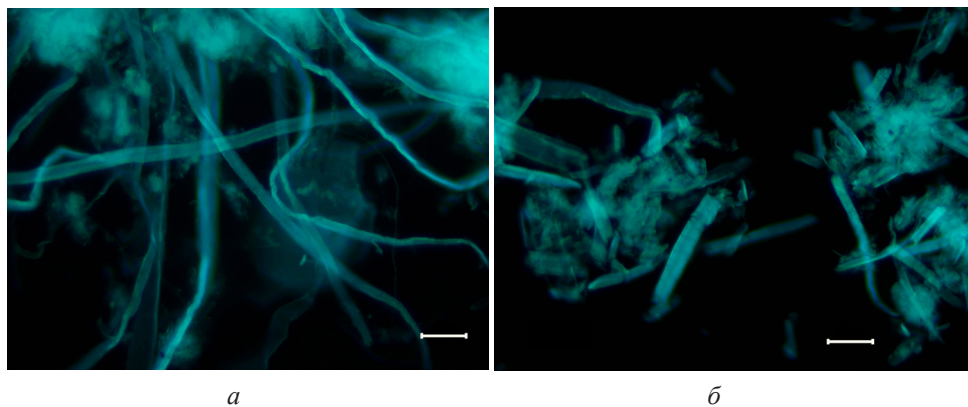


Рис. 1. Целлюлозные волокна бумажного шлама до (а) и после (б) ферментативного гидролиза. Масштабная линейка – 100 мкм

Fig. 1. The cellulose fibers of the paper sludge before (a) and after (b) enzymic hydrolysis. The scale rule – 100 μm

Таким образом, основные ингибиторы ферментативного гидролиза бумажного шлама – это карбонаты, а также красящие вещества. Предобработка

кислотами является ключевой стадией ферментативного получения ВС. Большую часть красителей можно извлечь экстракцией шлама такими растворителями, как спирт или ацетон.

Применение углеводов из непищевого сырья в составе питательных сред может снизить себестоимость получения целевых продуктов из микроводорослей за счет увеличения выхода биомассы [11, 17, 19]. Как видно из рис. 2, штаммы микроводорослей в зависимости от условий культивирования показали различную динамику роста. Введение дополнительного источника углерода – глюкозы или смеси моносахаридов из гидролизата бумажного шлама способствовало большему выходу биомассы микроводорослей по сравнению с фотоавтотрофным культивированием. При этом для культуры *T. obliquus* разница была более выражена. Среда, приготовленная на гидролизате бумажного шлама, оказалась самой благоприятной для роста клеток, что может быть связано с наличием в ней остатков перечисленных выше микроэлементов после обработки кислотами. В связи с этим при составлении питательных сред для последующего культивирования микроорганизмов необходимо учитывать присутствие микроэлементов в отходе.

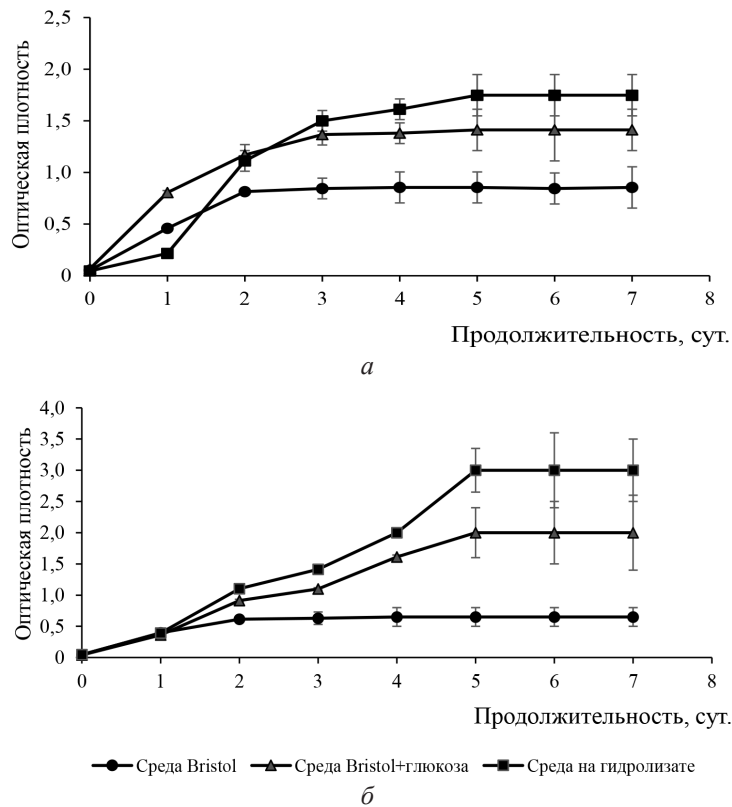


Рис. 2. Динамика роста *Chlorella vulgaris* (а) и *Tetradesmus obliquus* (б) при различных режимах культивирования. Максимальное значение оптической плотности соответствует показателям биомассы: а – 3,5 г/л; б – 5,5 г/л (сырой вес)

Fig. 2. The growth dynamics of *Chlorella vulgaris* (a) and *Tetradesmus obliquus* (b) in different culture conditions. The maximum optical density value corresponds to the biomass indicators: a – 3.5 g/l; b – 5.5 g/l (wet weight)

Следовательно, существенно увеличить скорость накопления биомассы микроводорослей можно за счет утилизации ВС после ферментативного гидролиза бумажного шлама. В то же время разработка технологии конверсии гидролизатов бумажного шлама с помощью микроводорослей требует соблюдения достаточно строгих стерильных условий, т. к. во всех экспериментах отмечена тенденция к бактериальному заражению на 4–5-е сутки культивирования. Эта проблема частично решалась введением в среду антибиотиков. Однако роль бактерий-спутников микроводорослей [9] при организации крупнотоннажного гетеро- или миксотрофного культивирования является предметом отдельных исследований.

В серии экспериментов по нестерильному выращиванию дрожжей (рис. 3) наиболее продуктивными (в пределах $2,10 \pm 0,14$ г воздушно-сухой массы дрожжей/дм³) оказались культуры *C. utilis* PAL D и *D. hansenii* SWING R. Степень конверсии ВС для них составила 70 ± 2 %. Большая часть из оставшихся сахаров (около 80 %) – это ксилоза. Полная утилизация сахаров происходила на 2-е сутки при добавлении в среду дополнительного источника азота.

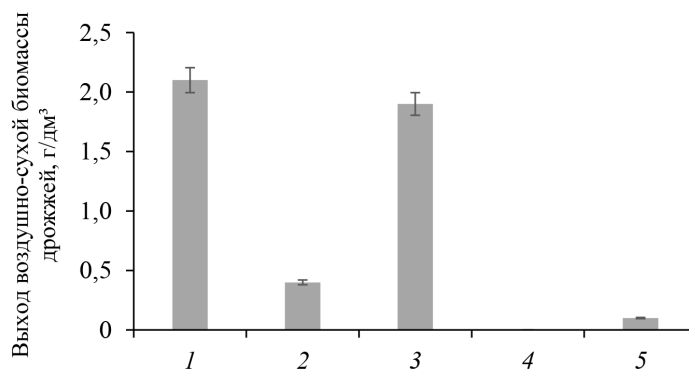


Рис. 3. Результаты выращивания дрожжей на гидролизате бумажного шлама: 1 – *Candida utilis* PAL D; 2 – *Debaryomyces hansenii* SWING LAF-3; 3 – *D. hansenii* SWING R; 4 – *D. hansenii* SWING F; 5 – *Kluyveromyces marxianus* SWING LAF-5

Fig. 3. The results of yeast cultivation on the paper sludge hydrolysate: 1 – *Candida utilis* PAL D; 2 – *Debaryomyces hansenii* SWING LAF-3; 3 – *D. hansenii* SWING R; 4 – *D. hansenii* SWING F; 5 – *Kluyveromyces marxianus* SWING LAF-5

В эксперименте без добавления микро- и макроэлементов полная утилизация ВС была достигнута за счет использования отработанной питательной среды после отделения дрожжей для миксотрофного культивирования микроводорослей (рис. 4). Культуры *D. hansenii* SWING F, *D. hansenii* SWING LAF-3 и *K. marxianus* SWING LAF-5 оказались не способны расти в заданных условиях, а при их культивировании более 1 сут. на среде отмечали бактериальное заражение.

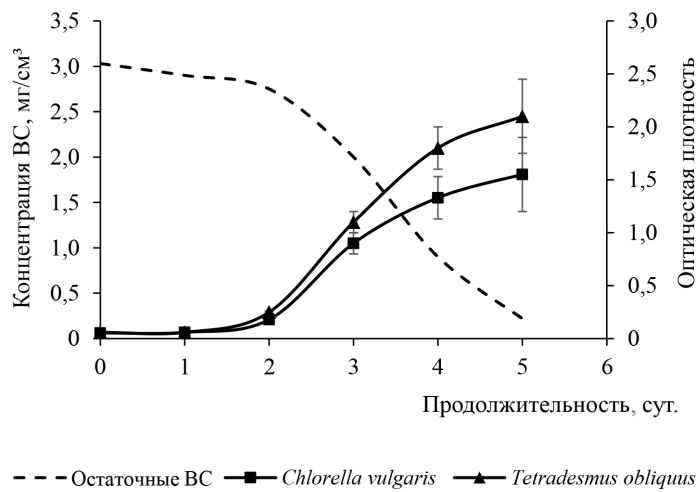


Рис. 4. Утилизация остаточных ВС микроводорослями после отделения дрожжевой биомассы

Fig. 4. Utilization of the residual reducing sugars by microalgae after the separation of yeast biomass

Как указано выше, кислотная предобработка бумажного шлама является ключевой стадией перед последующей биоконверсией полисахаридной составляющей. При этом формируется источник вторичного загрязнения – раствор солей. Использование на стадии предобработки азотной кислоты позволяет вводить нитратные соли в качестве источника азота.

Для оценки этой возможности $5,8 \pm 0,5$ г нитратных солей (образовывались после обработки 25 г бумажного шлама) добавляли в гидролизат с последующим культивированием *C. utilis* PAL D или *D. hansenii* SWING R. В результате выход воздушно-сухой биомассы дрожжей составил $3,9 \pm 0,2$ г/дм³. Следовательно, продукты предварительной обработки бумажного шлама азотной кислотой не содержали токсичных веществ и могли выступать как минеральная основа питательной среды. При этом дрожжи оказались устойчивы к повышенной концентрации солей.

Заключение

Применение химических и биотехнологических подходов позволяет перевести в полезные продукты часть сухого вещества бумажного шлама. Однако полная утилизация отхода предполагает получение продуктов для достаточно удаленных сфер использования. Для предприятия, ориентированного на сбор, переработку и получение готовой продукции из макулатуры, организация процесса глубокой переработки бумажного шлама будет актуальна только при значительном увеличении затрат на традиционное захоронение на полигонах или сжигание. Получение особо чистых ВС из гидролизата в экономическом плане представляет довольно затратную процедуру. В связи с этим целесообразно применять полученные сахара для микробиологической конверсии. Выявлено,

что ВС гидролизатов бумажного шлама являются благоприятной средой для миксотрофного культивирования микроводорослей. Подобраны штаммы дрожжей, которые обеспечивают приемлемый выход биомассы при нестерильном выращивании на гидролизатах бумажного шлама, но при этом в среду необходимо добавлять дополнительный источник азота. Экономические затраты на предварительную обработку бумажного шлама азотной кислотой можно нивелировать последующим использованием полученных солей в качестве источника азота для культивирования дрожжей. За счет этого выход биомассы дрожжей увеличивается почти в 2 раза. Таким образом, ВС из бумажного шлама могут служить хорошей альтернативой углеводам из пищевого сырья для микробиологических производств.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Болотова К.С., Травина О.В., Аксенов А.С., Емельянова М.В., Рудакова В.А., Канарский А.В. Биоконверсия целлюлозосодержащих материалов в условиях Арктического региона // Изв. вузов. Лесн. журн. 2019. № 4. С. 179–186.
Bolotova K.S., Travina O.V., Aksenov A.S., Emelyanova M.V., Rudakova V.A., Kanarskiy A.V. Bioconversion of Cellulose-Containing Materials in the Arctic Region Conditions. *Lesnoy Zhurnal* = Russian Forestry Journal, 2019, no. 4, pp. 179–186. (In Russ.). <https://doi.org/10.17238/issn0536-1036.2019.4.179>
2. Голязимова О.В., Политов А.А., Ломовский О.И. Механическая активация ферментативного гидролиза лигноцеллюлозы // Химия растит. сырья. 2009. № 2. С. 59–63.
Golyazimova O.V., Politov A.A., Lomovskiy O.I. Mechanical Activation of Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulose. *Khimija rastitel'nogo syr'ya*, 2009, no. 2, pp. 59–63. (In Russ.).
3. Польшалина Г.В., Чередниченко В.С., Римарева Л.В. Определение активности ферментов: справочник. М.: ДеЛи принт, 2003. 375 с.
Polygalina G.V., Cherednichenko V.S., Rimareva L.V. *Determination of Enzyme Activity: Handbook*. Moscow, DeLi print Publ., 2003. 375 p. (In Russ.).
4. Aarti C., Khusro A., Agastian P. Saccharification of Alkali Pre-Treated Aquatic Weeds Biomass Using Partially Purified Cellulase Immobilized on Different Matrices. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2022, vol. 39, art. no. 102283. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102283>
5. Aghmashhadi O.Y., Asadpour G., Garmaroodi E.R., Zabihzadeh M., Rocha-Meneses L., Kikas T. The Effect of Deinking Process on Bioethanol Production from Waste Banknote Paper. *Processes*, 2020, vol. 8, iss. 12, art. no. 1563. <https://doi.org/10.3390/pr8121563>
6. *Algal Culturing Techniques*. Ed. by R.A. Andersen. Burlington, San Diego, London, Elsevier Academic Press, 2005. 578 p.
7. Arthur W., Diedericks D., Coetzee G., Rensburg Van E., Görgens J.F. Kinetic Modelling of Cellulase Recycling in Paper Sludge to Ethanol Fermentation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2021, vol. 9, iss. 5, art. no. 105981. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jece.2021.105981>
8. Campano C., Miranda R., Merayo N., Negro C., Blanco A. Direct Production of Cellulose Nanocrystals from Old Newspapers and Recycled Newsprint. *Carbohydrate Polymers*, 2017, vol. 173, pp. 489–496. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.05.073>
9. Cooper M.B., Smith A.G. Exploring Mutualistic Interactions between Microalgae and Bacteria in the Omics Age. *Current Opinion in Plant Biology*, 2015, vol. 26, pp. 147–153. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.07.003>
10. Fidio Di N., Dragoni F., Antonetti C., Bari De I., Raspolli Galletti A.M., Ragolini G. From Paper Mill Waste to Single Cell Oil: Enzymatic Hydrolysis to Sugars and Their

Fermentation into Microbial Oil by the Yeast *Lipomyces starkeyi*. *Bioresource Technology*, 2020, vol. 315, art. no. 123790. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123790>

11. Karnaouri A., Chalima A., Kalogiannis K.G., Varamogianni-Mamatsi D., Lappas A., Topakas E. Utilization of Lignocellulosic Biomass towards the Production of Omega-3 Fatty Acids by the Heterotrophic Marine Microalga *Cryptocodinium cohnii*. *Bioresource Technology*, 2020, vol. 303, art. no. 122899. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122899>

12. Kim J.K., Yang J., Park S.Y., Yu J.-H., Kim K.H. Cellulase Recycling in High-Solids Enzymatic Hydrolysis of Pretreated Empty Fruit Bunches. *Biotechnology for Biofuels*, 2019, vol. 12, art. no. 138. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1476-x>

13. Kojima Y., Yoon S.-L. Improved Enzymatic Hydrolysis of Waste Paper by Ozone Pretreatment. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, 2008, vol. 10, pp. 134–139. <https://doi.org/10.1007/s10163-007-0198-5>

14. Min B.C., Bhayani B.V., Jampana V.S., Ramarao B.V. Enhancement of the Enzymatic Hydrolysis of Fines from Recycled Paper Mill Waste Rejects. *Bioresources and Bioprocessing*, 2015, vol. 2, art. no. 40. <http://dx.doi.org/10.1186/s40643-015-0068-2>

15. Min B.C., Ramarao B.V. Mechanisms of the Inhibition of Enzymatic Hydrolysis of Waste Pulp Fibers by Calcium Carbonate and the Influence of Nonionic Surfactant for Mitigation. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2017, vol. 40, pp. 799–806. <https://doi.org/10.1007/s00449-017-1745-7>

16. Naicker J.E., Govinden R., Lekha P., Sithole B. Transformation of Pulp and Paper Mill Sludge (PPMS) into a Glucose-Rich Hydrolysate Using Green Chemistry: Assessing Pretreatment Methods for Enhanced Hydrolysis. *Journal of Environmental Management*, 2020, vol. 270, art. no. 110914. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110914>

17. Pandey A., Gupta A., Sunny A., Kumar S., Srivastava S. Multi-Objective Optimization of Media Components for Improved Algae Biomass, Fatty Acid and Starch Biosynthesis from *Scenedesmus* sp. ASK22 Using Desirability Function Approach. *Renewable Energy*, 2020, vol. 150, pp. 476–486. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.12.095>

18. Rodrigues Reis C.E., Libardi Junior N., Bento H.B.S., Carvalho de A.K.F., Souza Vandenberghe de L.P., Soccol C.R., Aminabhavi T.M., Chandel A.K. Process Strategies to Reduce Cellulase Enzyme Loading for Renewable Sugar Production in Biorefineries. *Chemical Engineering Journal*, 2023, vol. 451, part 2, art. no. 138690. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.138690>

19. Tian-Yuan Z., Yin-Hu W., Jing-Han W., Xiao-Xiong W., Deantes-Espinosa V.M., Guo-Hua D., Xin T., Hong-Ying H. Heterotrophic Cultivation of Microalgae in Straw Lignocellulose Hydrolysate for Production of High-Value Biomass Rich in Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA). *Chemical Engineering Journal*, 2019, vol. 367, pp. 37–44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2019.02.049>

20. Wang X., Song A., Li L., Li X., Zhang R., Bao J. Effect of Calcium Carbonate in Waste Office Paper on Enzymatic Hydrolysis Efficiency and Enhancement Procedures. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 2011, vol. 28, pp. 550–556. <http://dx.doi.org/10.1007/s11814-010-0365-6>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest

Вклад авторов: Все авторы в равной доле участвовали в написании статьи

Authors' Contribution: All authors contributed equally to the writing of the article