



Р. В. Михайлова

**МАЦЕРИРУЮЩИЕ
ФЕРМЕНТЫ
МИЦЕЛИАЛЬНЫХ
ГРИБОВ
В БИОТЕХНОЛОГИИ**



УДК [577.15+579.2]:606

Михайлова, Р. В. Мацерирующие ферменты мицелиальных грибов в биотехнологии / Р. В. Михайлова. — Минск: Беларус. наука, 2007. — 407 с. — ISBN 978-985-08-0853-0.

В монографии обобщены и проанализированы литературные и экспериментальные данные, касающиеся проблемы мацерации растительного сырья ферментами микроорганизмов. Приводятся сведения о составе, свойствах и распространении растительных полисахаридов. Дается детальная характеристика микробных ферментных систем, осуществляющих деструкцию растительной ткани, рассматриваются вопросы синтеза мацерирующих ферментов микроорганизмами и анализируется их роль в мацерации растительных полимеров в природе. Особое внимание уделяется использованию мацерирующих ферментов в технологических процессах переработки растительного сырья.

Предназначена для микробиологов, биохимиков, инженерно-технических работников микробиологической, пищевой и легкой промышленности.

Ил. 41. Табл. 30. Библиогр.: 1562 назв.

Р е ц е н з е н т ы:

доктор биологических наук, профессор,
член-корреспондент НАН Беларуси А. И. Зинченко;
доктор биологических наук В. Г. Бабицкая

ISBN 978-985-08-0853-0

© Михайлова Р. В., 2007
© Оформление. РУП «Издательский дом
«Белорусская наука», 2007

ВВЕДЕНИЕ

Ферменты — уникальные по чувствительности и специфичности биокатализаторы белковой природы, отвечающие за все реакции, происходящие в живых организмах. Ферменты применяются в технологических процессах пищевой, фармацевтической, текстильной, деревообрабатывающей и других отраслях промышленности, в медицине и сельском хозяйстве. Сфера практического использования ферментативного катализа постоянно расширяется.

Производство ферментных препаратов занимает одно из ведущих мест в современной биотехнологии, а основными используемыми в промышленности продуцентами ферментов являются мицелиальные грибы.

Грибы — промышленные рабочие традиционных ферментаций и новейших технологий. Они представляют собой обширнейшую группу организмов, число видов которых достигает 1,5 миллиона (Хоуксворт, 1992; Феофилова, 2001). Грибы являются продуцентами не только ферментов, но также спиртов, органических кислот, антибиотиков и других практически значимых соединений. Сегодня микотехнология выделена как отдельная отрасль биотехнологии (Bennet, 1998).

Мицелиальные грибы занимают особое место среди микроорганизмов, играющих важную роль в природе и хозяйственной деятельности человека. Это — гетерогенная группа эукариотных гетеротрофов с разнообразными физиологическими потребностями и высоким адаптационным потенциалом. Грибы обладают рядом особенностей, которые обеспечивают их широкое распростра-

нение в биогеоценозах. Наиболее важные из них — мицелиальная структура таллома; значительные скорости роста и размножения; высокая активность метаболизма, проявляющаяся в широком интервале действия экологических факторов — температуры, влажности, света, кислотности среды и т. п., а также большая генетическая и биохимическая изменчивость, позволяющая грибам адаптироваться к меняющимся условиям обитания и новым питательным субстратам (Великанов, Успенская, 1980; Великанов, Сидорова, 1983; Мирчинк, Бабьева, 1981; Фефилова, 1981).

Грибы вместе с другими организмами входят в биогеоценозы как компоненты гетеротрофного блока, занимая в них уровень редуцентов или деструкторов органического вещества, в основном растительного происхождения. Им принадлежит главная роль в разложении и минерализации органического вещества растительных остатков. Деструкция растительных остатков в природе осуществляется грибами в лесной подстилке, почве, водных источниках и представляет собой необходимый этап почвообразования и биогенной очистки водоемов. Специфика ферментных систем грибов способствует широкому ареалу их распространения и освоения новых экологических ниш.

Для грибов-деструкторов растительных полимеров большое значение имеют внеклеточные полисахаридазы, такие, как пектиназы, целлюлазы, гемицеллюлазы. Эти ферменты важны в сапрофитной колонизации субстратов грибами и являются одним из факторов фитопатогенеза и биохимической адаптации (Билай, 1986; Дьяков, 1989; Жданова, Василевская, 1982; Звягинцев, 1988; Хочачка, Самерс, 1988).

Грибные полисахаридазы — сложные полиферментные системы, осуществляющие ферментную мацерацию растительной ткани в природе и широко используемые в различных технологических процессах, основанных на переработке растительного сырья.

ХАРАКТЕРИСТИКА РАСТИТЕЛЬНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ

Главным фактором, определяющим развитие различных отраслей промышленности, является устойчивая сырьевая база. Наземные и водные растения в результате процессов фотосинтеза образуют до 400 млрд т в год сухой биомассы, аккумулируя в тканях значительное количество углерода. Растительное углеродсодержащее сырье — важнейший возобновляемый компонент сырьевых ресурсов биосферы. Мир растений характеризуется огромным многообразием видов, объединяемых единством строения — наличием растительной клетки.

Растительные клетки отличаются от клеток животных полужесткой клеточной стенкой, пластидным аппаратом и развитой системой вакуолей (Dey, Brinson, 1983). Клеточная стенка придает тканям прочность, участвует в ионном обмене и поглощении различных веществ, защищает протоплазму от внешних воздействий и выполняет ряд других функций (Альберсхейм, 1968; Фрей-Вислинг, Мюллеталер, 1968; Keegstra et al., 1973; Carpita, Gibeaut, 1993; Carpita, 1996).

Клетки паренхимы листьев большинства видов растений ограничены только одной оболочкой. Другие клетки после достижения окончательных размеров формируют вторичную клеточную стенку за счет отложения дополнительных слоев на внутренней поверхности первичной. Иногда выделяют также третичную стенку — тонкий внутренний выстилающий слой клеточной стенки (Бейнарт, Ведерников, 1972; McNeil et al., 1984).

Компоненты, входящие в состав первичной клеточной стенки, можно условно разделить на 4 группы: 1) струк-

турные (целлюлоза, лигнин и ксилан); 2) матрикса (целлюлоза, пектин, белки, липиды); 3) инкрустирующие клеточную стенку (лигнин и суберин); 4) адкрустирующие клеточную стенку (кутин и воска). Кроме того, клеточные стенки могут содержать значительные количества минеральных веществ — силикатов и карбонатов кальция (Саламатова, 1983).

Первичная клеточная стенка формируется в процессе роста клеток, обеспечивая поддержание клеточного тургора и увеличение растущей клетки в длину. Изучение структуры первичной растительной клеточной стенки было начато в XX в. Необходимо отметить наиболее важные пионерские работы Норткоута и Лампорта, выполненные в 1950—1970-х годах (Northcote, 1972; Lamport, 1965, 1969). Норткоут представлял растительную клеточную стенку как растущую, постоянно изменяющуюся сложную структуру, содержащую дисперсную фазу микрофибрилл внутри комплексного матрикса. Изучая химические и физические свойства растительных полимеров, он определял их роль в клеточной стенке. В процессе роста клетки, согласно Норткоуту, полимеры клеточной стенки взаимодействуют и изменяются, вследствие чего изменяются свойства и функции стенки. Изменения свойств клеточной стенки происходят также в ответ на изменения в окружении растущей клетки (газообразном и водном). При этом в основных полимерах клеточной стенки происходят изменения в ориентации микрофибрилл, в химическом составе матрикса, а также во взаимодействиях фибриллярных и матриксных компонентов.

По представлению Лампорта первичная растительная клеточная стенка является единой макромолекулой, имеющей когерентную структуру с различными типами связей как между клеточным белком экстенсином и полисахаридами клеточной стенки, так и между индивидуальными полисахаридами клеточной стенки.

В дальнейшем изучение структуры растительной клеточной стенки было продолжено с использованием в качестве объектов исследования клеточной стенки гипокотила бобов (Selvendran, 1975), гипокотила люпина (Mongu, Bailey, 1976), колеоптиля овса (Labavitch, Ray, 1978).

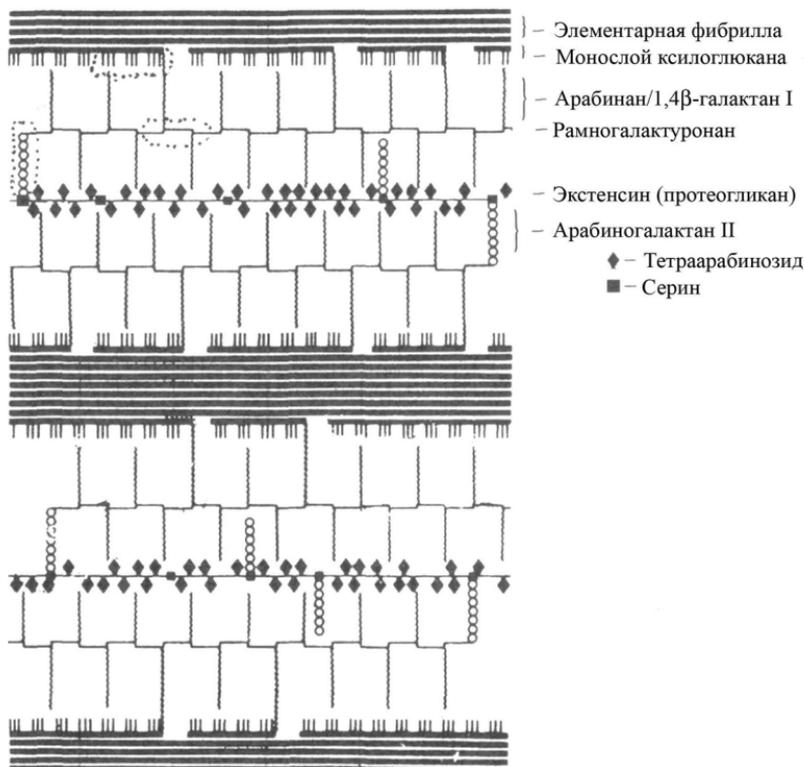


Рис. 1.1. Модель строения первичной клеточной стенки *Acer pseudoplatanus* (Keegstra et al., 1973)

Особо следует выделить серию работ группы Альбершейма, проводивших исследования строения растительной клеточной стенки, используя ряд суспензионно культивируемых клеток, таких, как клетки явора, пшеницы, риса, овса, сахарного тростника и др. (Albersheim et al., 1966; Bauer et al., 1973; Talmadge et al., 1973; McNeil et al., 1980; 1984; Thomas et al., 1987). Альбершейм с соавторами проанализировали структуру основных компонентов первичной клеточной стенки — ксилоглюкана, рамногалактуронана, арабиногалактана, типы связей, соединяющих указанные структурные компоненты, и предложили первую модель строения первичной растительной клеточной стенки (Keegstra et al., 1973) (рис. 1.1).

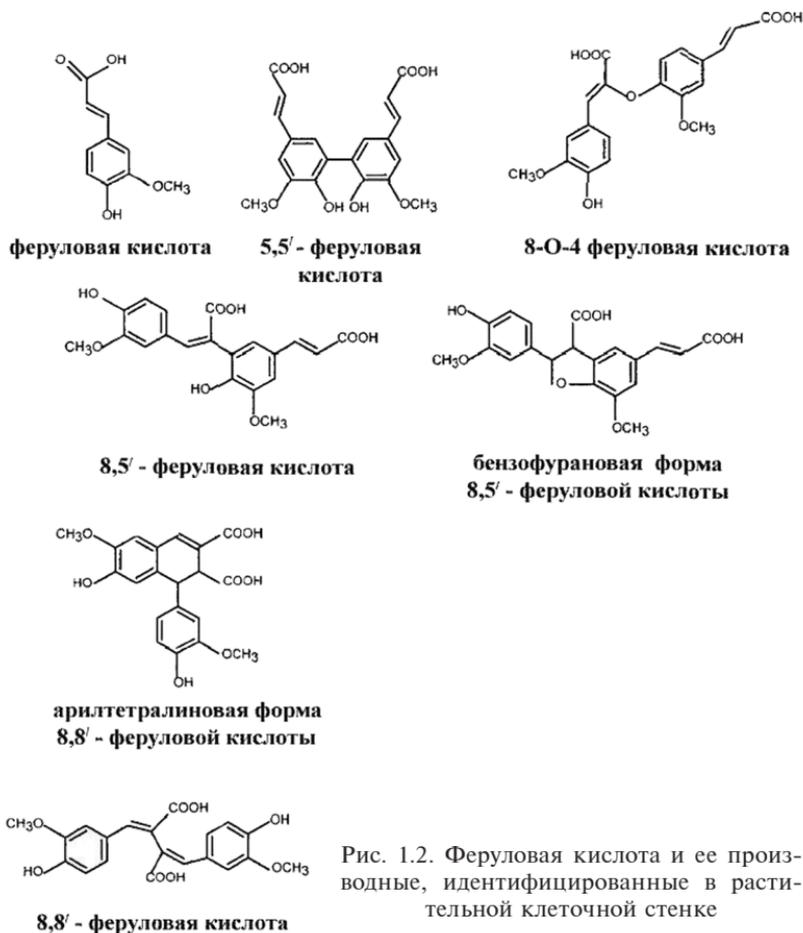


Рис. 1.2. Феруловая кислота и ее производные, идентифицированные в растительной клеточной стенке

Согласно этой модели, первичная клеточная стенка состоит в основном из полисахаридов и является двухфазной системой, в которой дисперсная фаза микрофибрилл целлюлозы погружена в аморфный матрикс (Эльберсгейм, Дарвилл, 1985; Dey, Brinson, 1983). Матрикс, как правило, включает не менее 8 полисахаридов, 6 из которых были идентифицированы. Это — гомогалактуранан, рамногалактуранан I и рамногалактуранан II, ксиллоглюкан, арабиноглюкан и глюкуроноарабиноксилан. Полисахариды матрикса значительно сложнее по струк-

туре, чем целлюлоза, так как они образованы различными моносахаридами, соединенными гликозидными связями различных типов. Сложность структуры полисахаридов клеточной стенки еще более увеличивается в результате присоединения неуглеводных компонентов и образования эфирных связей с метильными группами и сложноэфирных — с метильными и ацильными группами. Исследователи предполагали наличие ковалентной гликозидной связи между ксилоглюканом и галактаном или арабинаном в составе пектина. В модели Альбершейма наличие прочной ковалентной связи в матриксе определяет особо значимую роль ксилоглюкана как компонента, связывающего целлюлозу и матрикс.

В структуре и функциях растительной клеточной стенки важную роль играют ароматические соединения (рис. 1.2), в частности феруловая кислота и ее производные, которые могут связываться с гемицеллюлозами (Smith, Hartley, 1983) и пектином (Rombouts, Thibault, 1983).

Обнаружение Фрей (Fry, 1983; 1986) в клеточной стенке ферулоилированных пектинов, содержащих сложные эфиры феруловой кислоты, доказывает, что соединение молекул нецеллюлозного матрикса возможно не только через гликозидные связи, но и через диферулатные мостики.

Модель строения первичной клеточной стенки, принципиально отличающаяся от модели Альбершейма с соавторами, предложил Лампорт (Lamport, 1986). В этой модели центральным звеном является не ксилоглюкан, а ковалентно сшитый экстенсин. Лампорт представляет первичную клеточную стенку в виде трехмерной пряжи, в которой основой служит сетка из целлюлозных микрофибрилл, а через нее проходят сшитые между собой молекулы экстенсина. Растяжение первичной стенки в процессе роста происходит благодаря тому, что целлюлозные цепи способны скользить в сетке, которую образует переплетенный с нею и сшитый экстенсин. Связанный с целлюлозой пектин либо фиксирует положение обоих компонентов друг относительно друга, либо допускает свободное скольжение (рис. 1.3).

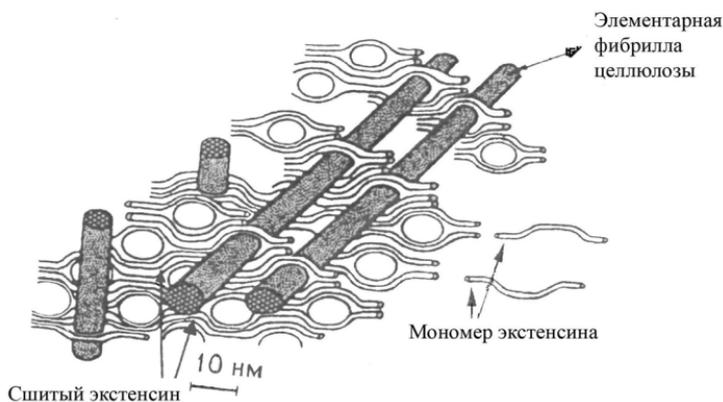


Рис. 1.3. Модель строения первичной клеточной стенки (Lampert, 1986)

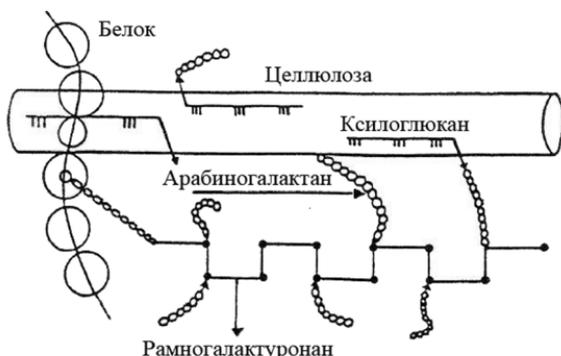


Рис. 1.4. Модель строения первичной клеточной стенки (Adler-Nissen, 1987; цит. по: Sakai et al., 1993)

В конце 1980-х годов были представлены схематические модели строения первичной растительной клеточной стенки и других исследователей (рис. 1.4 и 1.5), основанные на различных вариантах комбинаций основных компонентов — целлюлозы, гемицеллюлоз и пектина.

Гомогалактуронан — один из наиболее известных и распространенных пектиновых полисахаридов клеточной стенки (рис. 1.6, А). Способность гомогалактуронана образовывать гели, по всей вероятности, определяет некоторые функции пектина в клеточной стенке (Voragen et

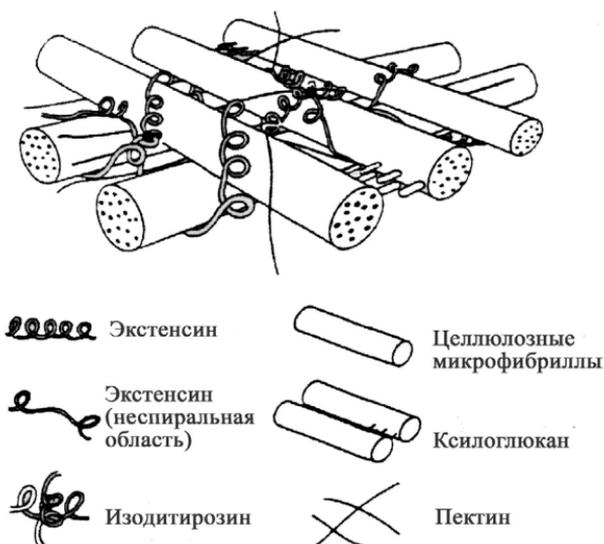
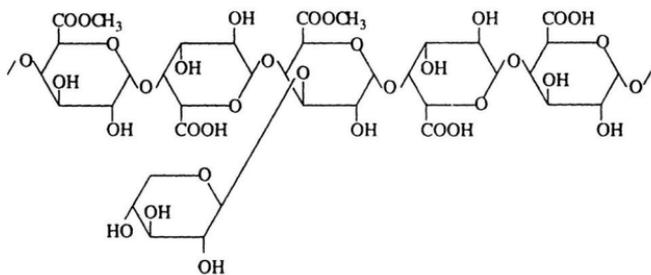


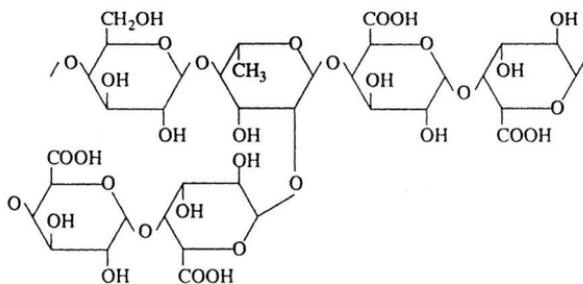
Рис. 1.5. Модель строения первичной клеточной стенки (Wilson, Fry, 1986)

al., 1995). Общей его модификацией является метилэтерификация карбоксильных групп. Для гомогалактуронана не характерно наличие большого количества ацетильных групп, однако в таких растениях, как картофель, бамбук, сахарная свекла, обнаруживается ацетилированный полисахарид. Срединная пластинка содержит преимущественно низкоэтерифицированный пектин. Отсутствие боковых цепей в гомогалактуронане позволяет отнести его к так называемой гладкой области пектина.

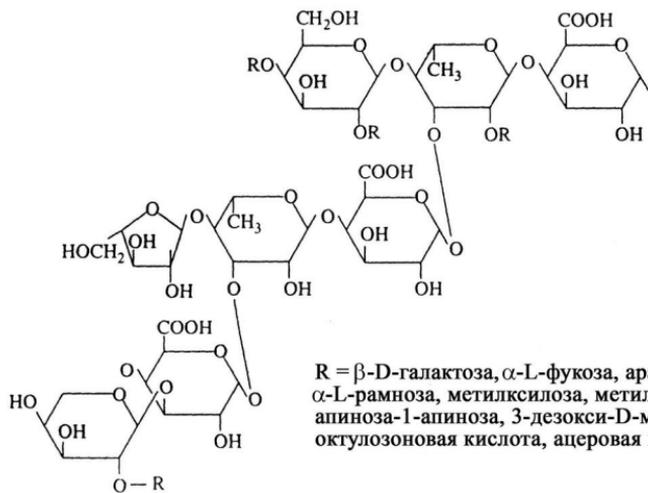
Второй тип пектиновых полисахаридов — рамногалактуронан (рис. 1.6, Б). Он содержит много боковых цепей и относится к «волосистой» (разветвленной) области пектина. Из суспензионной культуры клеток различных растений был выделен рамногалактуронан-I (O'Neil et al., 1990). В основе его молекулы лежит повторяющийся дисахарид [(1,2)- α -L-рамнозил-(1,4)- α -D-галактозилуроно-вая кислота-(1)]. Боковые цепи, богатые остатками арабинозы и галактозы, прикреплены к C-4 L-рамнопиранозным единицам. Соотношение L-рамнопиранозных остатков и боковых цепей варьирует от 20 до 80%, в зави-



A



Б



В

Рис. 1.6. Структура пектиновых полисахаридов клеточной стенки: А — гомогалактуронан, Б — рамногалактуронан I (McNeil et al., 1980), В — рамногалактуронан II (Darvill et al., 1978)

симости от источника полисахарида (Albersheim et al., 1966). Арабинаны, галактаны и 2 формы арабиногалактанов (тип I и тип II) могут рассматриваться как 3 пектин-ассоциированных полимера. Эти полисахариды обычно ковалентно связаны с рамногалактуронанами, которые, как правило, высокоацетилированы в позиции С-2 и С-3 α -D-галактозилуроновой кислоты (Schols, Voragen, 1994).

Третий тип комплексных пектиновых полисахаридов клеточной стенки — это рамногалактуронан-II (рис. 1.6, В). Впервые выделенный из суспензионной культуры платана, он характеризуется низкой молекулярной массой 5—10 кДа (Darvill et al., 1978). В настоящее время рамногалактуронан-II обнаружен у растений 24 видов; он составляет 1—5% клеточных стенок двудольных и незлаковых однодольных растений (Matoh et al., 1996). Хотя название данного полисахарида предполагает наличие рамногалактуронановой основы, рамногалактуронан-II содержит в основе гомогалактуронан, а именно: 8 или 9 α -1,4-D-галактуронозных остатка, несущих 4 олигосахаридные боковые цепи. Степень полимеризации рамногалактуронана-II около 30; в полисахариде обнаружено 12 различных сахаров, включая необычные моносахара, такие, как апиоза, 2-O-метил-L-фукоза, 2-O-метил-D-ксилоза, 3-дезоксид-D-манно-октулозоновая кислота, 3-дезоксид-D-ликсо-гептулозаровая кислота и ацеровая кислота. В зависимости от растения, из которого полисахарид выделен, он имеет минорные различия по длине гомогалактуронановой основы и по природе нередуцирующих терминальных остатков боковых цепей. Показано, что рамногалактуронан-II представлен в клеточной стенке как димер, ковалентно-связанный бордиоловым эфиром (O'Neil et al., 1996; Vincken et al., 2003). Он играет главную роль в формировании пектинового матрикса.

Рамногалактуронан-II — это один из наиболее привлекательных из идентифицированных сегодня природных полисахаридов. Он представляет большой интерес для исследователей благодаря значимости в процессах роста растений и способности селективно связывать ионы тяжелых металлов. На рис. 1.7 представлена гипотетичес-

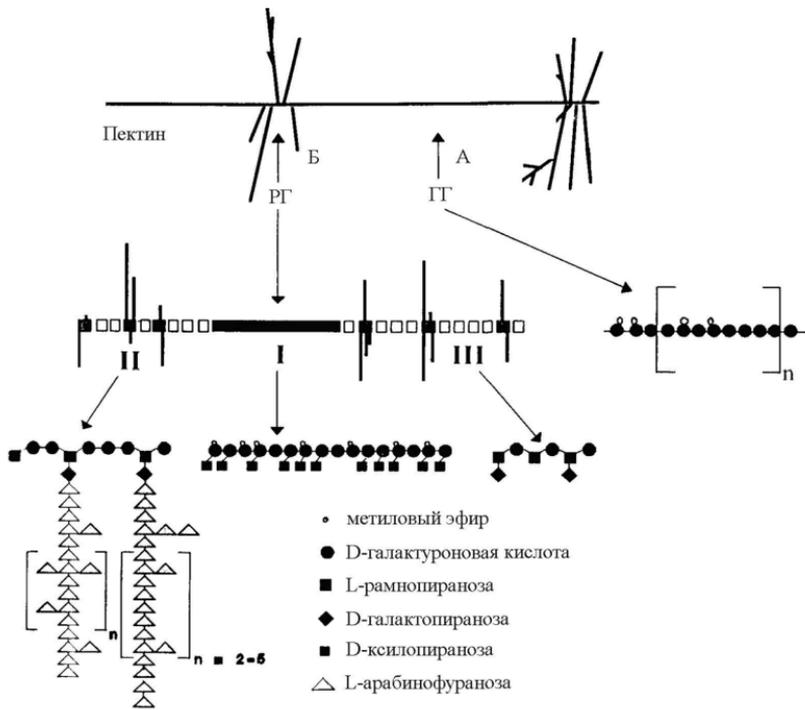


Рис. 1.7. Структура яблочного пектина (Schols, Voragen, 1996): А — гладкая область пектина; Б — разветвленная область пектина; ГГ — гомогалактуронан; РГ — рамногалактуронан; I, II, III — субъединицы

кая структура яблочного пектина, включающая «гладкую» (А), «волосистую» (разветвленную) (Б) области пектина и 3 субъединицы. Субъединица I идентифицирована как ксилогалактуронан со степенью замещения остатков D-галактопиранозурановой кислоты на D-ксилопиранозу — 0,7 (Schols et al., 1995). Субъединица II характеризуется наличием большого количества D-галактопиранозурановой кислоты по сравнению с L-рамнопиранозой и доминирующей длинной арабинановой боковой цепью. Субъединица III — это строго перемежающаяся рамногалактуронановая цепь с D-галактопиранозной ветвью, прикрепленной к L-рамнопиранозе.

Анализ структуры растительной клеточной стенки традиционно проводится путем разрушения растительной

ткани и выделения специфических полимеров, установления их строения, связей и т. д. Использование специальных физико-химических методов, таких, как гель-фильтрация, ионообменная хроматография, ядерномагнитнорезонансная спектроскопия и др., а также различных полисахаридрасщепляющих ферментов обеспечило более детальное исследование архитектуры растительной клеточной стенки.

Растительная клеточная стенка — это мозаичная структура, построенная соединением разнообразных полисахаридных и белковых полимеров, а также фенольных соединений. Основные структурные различия в архитектуре клеточной стенки можно обнаружить как у клеток

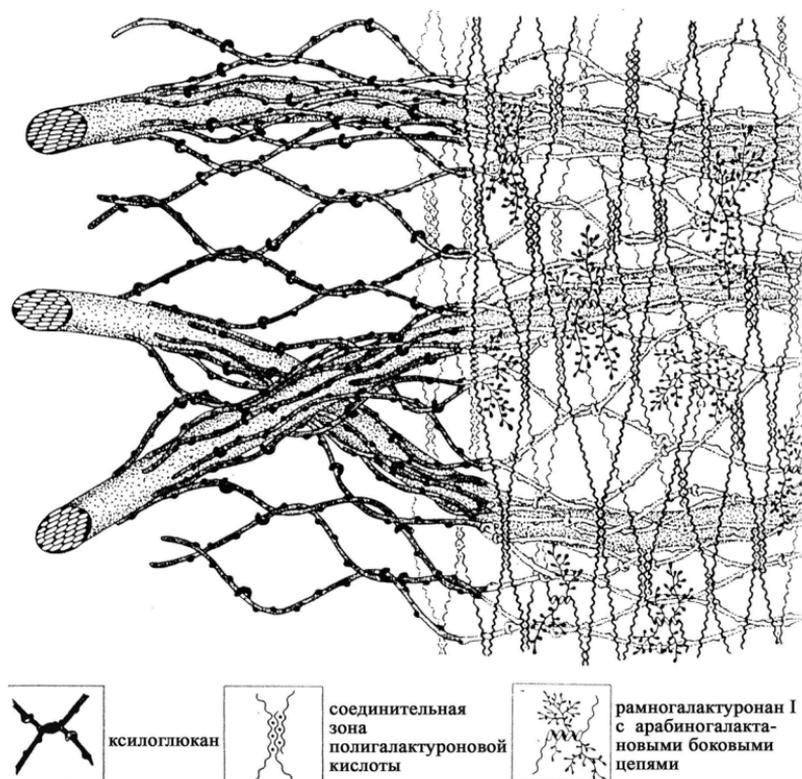


Рис. 1.8. Строение первичной клеточной стенки (тип I) цветущих растений (Carpita, Gibeau, 1993)

различных растительных видов, так и у клеток различных растительных тканей.

Согласно работам ряда авторов (McCann, Roberts, 1994; Talbott, Ray, 1992; Carpita, Gibeaut, 1993), в высших растениях имеется 2 типа первичной клеточной стенки. Первый тип строения характерен для большинства видов однодольных и двудольных растений, а второй — только для злаковых растений и близкородственных им форм. Исследователи выделяют 3 главные области в клеточной стенке: целлюлозо-ксилоглюкановый каркас, на долю которого приходится около 50% всей массы, пектиновые полисахариды и структурные белки как 3 независимые, но интегрирующие области. Модель первого типа первичной клеточной стенки большинства цветущих растений представлена на рис 1.8.

Из рис. 1.8 видно, что устойчивый к растяжению, несущий нагрузку целлюлозо-ксилоглюкановый каркас внедрен в устойчивый к сдавливанию пектиновый матрикс. Синтез и сборка каждой из этих областей происходят независимо; компоненты областей могут изменяться независимо друг от друга, но в зависимости от стадии развития растения или в ответ на особые виды стресса.

Микрофибриллы целлюлозы перекрестно связаны ксилоглюканами, которые, прочно прикрепляясь к поверхности целлюлозных микрофибрилл, соединяют две или больше микрофибрилл и формируют взаимосвязанную цепь. Спиральные цепи полигалактуроновых кислот могут конденсироваться, соединяясь с ионами кальция, и формировать соединительные зоны. Кроме того, пектины могут с помощью эфирных связей соединяться с дигидроксициннамовыми кислотами, такими, как диферуловая кислота, и формировать ковалентное прикрепление к другим полимерам.

Стенка второго типа также имеет каркас целлюлозных микрофибрилл, но вместо ксилоглюкана полимером, который соединяет микрофибриллы, является глюкуроноарабиноксилан. В делящихся и элонгирующих клетках преобладает очень высокоразветвленный глюкуроноарабиноксилан. В клеточных стенках злаковых полигалакту-

роновые кислоты и рамногалактуронан прочно связаны с высокоразветвленным глюкуроноарабиноксиланом.

Кроме полисахаридов растительная клеточная стенка содержит значительное количество белка (Carpita et al., 1996; Reiter, 1998). Белки клеточной стенки растений традиционно классифицируют как глицин-, пролин-, арабиногалактансодержащие полимеры. Некоторые из белков включаются в процесс модификации растительной стенки, происходящий при росте растений, созревании плодов или при опадании органов. Другие белки клеточной стенки играют структурную роль. Функции многих белков в архитектуре клеточной стенки в настоящее время не установлены. Охарактеризованы структурные (гликопротеины и экстенсин) и функциональные (окислительные, гидролитические ферменты и экспансин) белки (McQueen-Mason, Cosgrove, 1995; Cassab, 1998). Наиболее изучен структурный белок экстенсин (Шербухина, 1978; Dey, Brinson, 1983; Carpita et al., 1996; Reiter, 1998). Это — гликопротеин, белковая часть которого содержит более 20% L-оксипролина, а углеводная часть представлена тетрасахаридами арабинозы.

Вторичная клеточная стенка, основным компонентом которой является целлюлоза, состоит из множества концентрических слоев с параллельным расположением целлюлозных микрофибрилл, а третичная клеточная стенка характеризуется значительным содержанием лигнина. Микрофибриллы целлюлозы расположены в них под углом друг к другу в виде пучков (Бейнарт, Ведерников, 1972).

При изучении строения полисахаридов клеточной стенки широко используются микробные полисахаридазы. Так, с помощью эндо-(1—4)- β -D-глюканазы *Trichoderma viride* установлено строение ксилоглюканов (Hayashi, 1989), а применение эндоксиланазы и эндоглюканазы *Bacillus subtilis* позволило расшифровать строение основных структурных единиц глюкуроноарабиноксилана (Nishitani, Nevins, 1989).

Основным инкрустирующим веществом растительной клеточной стенки является лигнин, а адкрустирующим — кутин. Лигнин — это гетерополимер фенилпропановых

производных, состоящий из ароматических и алифатических компонентов. В состав кутина входят оксигирные кислоты и их соли (Джункер, Джеффри, 1986; Саламатова, 1983). Пленка кутина может быть смешана с восками — сложными эфирами жирных кислот и высокомолекулярных одноатомных спиртов.

В процессе онтогенеза клеточная стенка подвергается физическим и химическим изменениям, при этом может происходить лигнификация, кутиназация, минерализация (Бардинская, 1964). Предполагается, например, что после клеточной элонгации заменяются целые пектиновые цепи: вновь синтезированный высокоэтерифицированный пектин откладывается в стенке, замещая «старый», неэтерифицированный полимер, который может передвигаться в срединную пластинку. Этерификация может изменять реологические свойства пектиновых цепей, может облегчать доступ полисахаридрасщепляющим ферментам к целлюлозо-ксилоглюкановым цепям (McCann, Roberts, 1994).

Отдельные клетки растительной ткани соединены между собой с помощью межклеточного вещества, называемого срединной пластинкой. Она формируется в процессе клеточного деления и является результатом синтетической и выделительной активности протопласта клетки. Срединная пластинка состоит в основном из гемицеллюлоз и пектиновых веществ (Aspinal, 1981).

Т а б л и ц а 1.1. Полисахариды клеточной стенки высших растений

Полисахариды	Структурная классификация
Целлюлоза	β -D-глюкан (связь в положении 4)
Пектиновые вещества	Галактуронаны и рамногалактуронаны, арабаны, галактаны и арабиногалактаны
Гемицеллюлозы	Ксиланы (включая арабиноксиланы и 4-O-метилглюкуроноксиланы) Галактоманнаны и глюкоманнаны β -D-глюканы (связь в положении 3 и 4) β -D-глюкан-каллоза (связь в положении 3) Ксилоглюканы (связь в положении 4) β -D-глюканы с боковыми цепями

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	3
Глава 1. Характеристика растительных полисахаридов	5
Глава 2. Ферменты мицелиальных грибов, катализирующие расщепление растительных полисахаридов	27
Глава 3. Мацерация растительной ткани в природе ..	49
Глава 4. Образование полисахаридаз грибами	72
4.1. Биосинтез ферментов микроорганизмами	72
4.2. Биосинтез целлюлаз и гемицеллюлаз грибами, регуляция образования ферментов	82
4.3. Биосинтез пектиндеполимераз грибами	103
4.3.1. Влияние основных источников питания и условий культивирования грибов на образование пектиндеполимераза	103
4.3.2. Характеристика процессов роста грибов и образования пектингидролаз	123
4.3.3. Регуляция образования пектингидролаз	129
4.3.4. Образование грибами пектинлиаз и регуляция синтеза ферментов	134
Глава 5. Основные физико-химические свойства мацерирующих ферментов	148
5.1. Свойства целлюлаз и гемицеллюлаз грибов	148
5.2. Свойства грибных пектиндеполимераз	158
Глава 6. Мацерирующие ферменты в биотехнологических процессах	177
6.1. Использование мацерирующих ферментов в технологических процессах пищевой промышленности ...	177

6.1.1. Мацерирующие ферменты в технологических процессах производства соков и мацератов из фруктово-ягодного и овощного сырья	177
6.1.2. Мацерирующие ферменты в виноделии	191
6.1.3. Мацерирующие ферменты в технологии производства чая и кофе	195
6.1.4. Энзиматический пиллинг фруктов и овощей	199
6.2. Ферментные методы получения биологически активных веществ из растительного сырья	203
6.2.1. Получение пектиновых веществ	203
6.2.2. Получение экстрактов, эфирных масел, каротиноидов и других биологически активных соединений	212
6.3. Применение мацерирующих ферментов в текстильной, деревообрабатывающей и бумажной промышленности	226
6.4. Использование мацерирующих ферментов в производстве биоэтанола из целлюлозосодержащего сырья и конверсии растительных отходов различных производств	258
6.4.1. Использование мацерирующих ферментов для производства биоэтанола	258
6.4.2. Использование мацерирующих ферментов для переработки отходов различных производств	267
6.5. Применение мацерирующих ферментов в кормопроизводстве	270
6.6. Ферментные методы получения растительных протопластов	276
6.7. Перспективные направления применения мацерирующих ферментов	284
Заключение	300
Литература	304