

## ОСНОВНЫЕ АСПЕКТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛИПАЗ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОДИЗЕЛЯ (ОБЗОР)

Санкт-Петербургский государственный  
технологический институт (технический университет),  
190013, Санкт-Петербург, Московский пр., д. 26.

ОАО Гипрорыбфлот, 190000, Санкт-Петербург, ул.  
Малая Морская, д. 18-20.

*В обзоре рассмотрена проблематика получения биодизеля посредством катализа липазами. Показаны преимущества данного метода над повсеместно применяемым щелочным катализом, а также недостатки, которые мешают его широкому внедрению, и способы их преодоления. Также рассмотрены наиболее применяемые виды липаз, сырья и ацил-акцепторов, используемых для получения биодизеля, отдельное внимание уделено параметрам процесса. Обсуждаются перспективы применения катализа липазами в производстве биодизеля.*

**Ключевые слова:** биотопливо, биодизель, липазы, биокатализ, возобновляемые источники энергии.

### Введение

Практически все мировое производство биодизеля построено на щелочном катализе. Однако данный способ требует высокой степени очистки липидного сырья – так при наличии в перерабатываемом масле более 0,5% свободных жирных кислот (СЖК) образуются мыла, что резко снижает выход биодизеля и создает проблемы при его очистке. Требования по содержанию воды еще более жесткие – не более 0,05%. Кроме того, побочный продукт – глицерин загрязнен щелочью и требует дополнительной очистки. Ферментативный катализ переэтерификации позволяет, во-первых, снизить требования к чистоте сырья, а во-вторых, исключить образование опасных отходов в процессе реакции.

Преимущества липазного катализа:

- метод работает в мягких условиях (20-50 °С);
- менее жесткие требования к чистоте сырья, возможность переработки СЖК в биодизель;
- благодаря иммобилизации липазы могут быть легко подвергнуты рецикликации;
- более легкая очистка продуктов: не требуется промывок большими количествами воды;
- возможность улучшения характеристик фермента методами генетической инженерии.

Недостатки липазного катализа:

- высокая цена ферментов;
- продолжительное время реакции;
- риск инактивации липаз метанолом/этанолом и образующимся в ходе реакции глицерином.

На сегодняшний день не создано рентабельного производства биодизеля на основе липаз, тем не менее, это направление имеет перспективу, обусловленную экологической безопасностью процесса и необходимостью энерго- и ресурсосбережения в химической промышленности, одной из важнейших отраслей которой является производство биодизеля.

### Сырье

Традиционно в качестве сырья для получения биодизеля используются рапс [1-6], соя [3, 7-22] и подсолнечник [22-31]. Также применяются кукурузное [32], оливковое [22, 33, 34], солеросовое [35] масла, масло хлопчатника [36, 37], огуречника [22], микроводорослей [38] и другие [39, 40].

Выбор сырья обусловлен географическим положением производства. Например, в Индии как источник сырья преимущественно рассматривается ятрофа [30, 31, 41-44]; в Африке развивается производство на пальмовом масле [45]; в Китае в качестве сырья для получения биодизеля из дерева *Aleurites fordii* производят тунговое масло [46], а из растения *Sapium sebiferum* получают так называемое stillingia-масло [47].

Наиболее перспективно получение биодизеля из различных отходов, таких как отработанные масла для жарки [29, 32, 40, 48-51] и жировой сток [52] в пищевой индустрии, а также отходы рыболовства [53, 54]. В этом случае не происходит давления на рынок продовольствия.

В качестве модельного триглицерида в лабораторных исследованиях часто используется триолеат глицерина (триолеин) [55-59].

В отличие от других видов катализа переэтерификации триглицеридов катализ липазами позволяет решить проблему СЖК. При щелочном катализе их необходимо отделять на стадии очистки масла, при использовании липаз СЖК переводится в эфиры, и таким образом, резко увеличивается выход биодизеля. В связи с этим, экономически выгодное применение липаз видится в первую очередь в переработке кислых масел. В качестве примера стоит привести весьма интересные работы Y. Watanabe с соавторами [60] (исследователи проводили двухстадийный липазный катализ нерафинированного рапсового масла, насыщенного свободной олеиновой кислотой (77,9%)), а также L. Wang с соавторами [21], которые использовали побочный продукт рафинации соевого масла (28% СЖК).

<sup>1</sup> Гарабаджиу Александр Васильевич, д-р хим. наук, проф., проректор по научной работе, зав. каф. технологии микробиологического синтеза СПбГТИ(ТУ), e-mail: gar-54@mail.ru

<sup>2</sup> Галынкин Валерий Абрамович, д-р техн. наук, проф., зав.лаб. микробиологии ОАО Гипрорыбфлот e-mail: 7731254@mail.ru

<sup>3</sup> Карасев Максим Михайлович студент каф. технологии микробиологического синтеза, e-mail: x-flux@rambler.ru

<sup>4</sup> Козлов Григорий Владимирович, канд. биол. наук, ст. преподаватель каф. технологии микробиологического синтеза, e-mail: kozlov\_gv@mail.ru

<sup>5</sup> Лисицкая Татьяна Борисовна, канд. тех. наук, доцент каф. технологии микробиологического синтеза, e-mail: lissitskayat@rambler.ru

С точки зрения вредных для процесса веществ, содержащихся в нерафинированном сырье, следует отметить фосфолипиды. Так в работе [8] при метанолизе неочищенного соевого масла иммобилизованной липазой из *Candida antarctica* (Novozym 435) было выяснено, что именно фосфолипиды, содержащиеся в растительной смоле, значительно ингибируют реакцию. Однако дополнительной очистки можно избежать, используя вместо метанола метилацетат, о чем будет сказано ниже.

### Отходы

Как упоминалось выше подавляющее большинство производств биодизеля построено на щелочном катализе. Это экономически выгодно и технологически эффективно, однако требует очистки получаемого биодизеля от щелочи и непрореагировавшего метанола. Данные процессы трудоемки, требуют большого количества воды для промывки биодизеля и энергии для рекуперации метанола, что приводит к большому количеству отходов и высоким энергозатратам.

Использование липаз позволяет получать продукты требуемой чистоты с меньшими затратами. При липазном катализе появляется возможность создания практически безотходного экологически безупречного производства. В исследовании [28] было получено топливо, запатентованное как Escodiesel-100. Этот продукт – смесь двух частей этиловых эфиров жирных кислот (ЭЭЖК) и одной части моноглицеридов, с незначительным количеством диглицеридов. Главное преимущество технологии – не образуется побочный продукт – глицерин. Авторами была изучена перестерификация подсолнечного масла различными спиртами с использованием катализатора 1,3-региоспецифичной свиной панкреатической липазы, иммобилизованной на сепиолите. Выяснилось, что при использовании 96% этанола вместо абсолютного выход ЭЭЖК снижался с 60,7% до 35,3%, т. е. практически в два раза за счет удвоения доли моно- и диглицеридов.

### Липазы

На сегодняшний день доступно множество коммерческих препаратов липаз. Наиболее широко используются:

Novozym 435 – липаза, получаемая из *Candida antarctica*, иммобилизованная на макропористом полиметилметакрилате;

Lipozyme RM IM – липаза, получаемая из *Rhizomucor miehei*, иммобилизованная на анионите;

Lipozyme TL IM – липаза, получаемая из *Thermomyces lanuginosus*, иммобилизованная на гранулированном силикагеле.

Липазы по своим свойствам могут быть региоспецифичными или неспецифичными. Подавляющее большинство региоспецифичных липаз действуют на крайние 1,3-эфирные связи триглицерида, в то время как реакция с центральной 2-связью затруднена, что снижает выход конечного продукта на треть. Это препятствие может быть уменьшено путем использования явления ацил-миграции ацильных групп триглицеридов из положения 2 в свободные положения 1 или 3 с последующей реакцией с 1,3-региоспецифичной липазой. Ацил-миграция может быть индуцирована использованием иммобилизованных полярными ионообменными смолами липаз, например, анионитом в случае Lipozyme IM или добавлением силикагеля в реакционную среду. Выход увеличивается до 90%. В работах [4, 21] был применен метод комбинированного использования 1,3-региоспецифичной (Lipozyme TL IM) и неспецифичной (Novozym 435) липаз.

Учитывая то, что стоимость Novozym 435 намного больше стоимости Lipozyme TL IM, применение этого метода позволяет снизить себестоимость биодизеля.

Среди продуцентов липаз, используемых для перестерификации липидов доминируют грибы:

- грибы рода *Candida*: *C. antarctica* [3, 8, 17-20, 22, 23, 25-27, 30, 31, 33, 36, 37, 39, 46, 47, 49, 51-55, 59-61]

(включая коммерческие препараты Lipozyme CALB L, Lipase SP435, Novozym 435), *C. rugosa* [2, 7, 62] и *C. sp. 99-125* [9, 40, 56];

- *Rhizomucor miehei* (ранее *Mucor miehei*) [3, 16, 24, 34, 47, 55, 58, 59, 63] (включая коммерческие препараты Lipozyme IM, Lipozyme RMIM);
- *Thermomyces lanuginosus* [6, 15, 22, 29, 50, 55] (включая коммерческие препараты Lipozyme TL, Lipozyme-TL IM);
- грибы рода *Rhizopus*: *R. niveus* [7] и *R. oryzae* [7, 14];
- грибы рода *Penicillium*: *P. camembertii* [7] и *P. expansum* [32];
- *Aspergillus niger* [7];
- *Saccharomyces cerevisiae* [5].

Несколько реже в качестве продуцентов липаз выступают бактерии:

- *Burkholderia cepacia* (ранее *Pseudomonas cepacia*) [7, 10, 23, 41, 44, 45, 49, 52, 55, 59, 62] (включая коммерческие препараты Lipase PS-30);
- *Pseudomonas fluorescens* [7, 11-13, 55, 57, 62];
- *Alcaligenes sp.* [1];
- *Bacillus subtilis* [48];
- *Chromobacterium viscosum* [42];
- *Enterobacter aerogenes* [43];
- *Photobacterium lipolyticum* [33].

Из липаз животного происхождения чаще всего используется 1,3-региоспецифичная свиная панкреатическая липаза [28, 35].

### Иммобилизация

На сегодняшний день главным лимитирующим фактором применения липаз при производстве биодизеля является их цена, она составляет более 90% общей стоимости получаемых метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК) [1]. С экономической точки зрения использование свободных липаз бессмысленно, так как катализатор из-за трудности его выделения из реакционной смеси будет использоваться, как и при щелочном катализе, фактически одно-разово. Для того чтобы липазы можно было использовать повторно, максимальное число циклов, необходима их иммобилизация. При выборе носителя для иммобилизации следует руководствоваться экономическими соображениями. Относительно дешевыми используемыми носителями являются силикагель [15, 55, 64], диатомит [42, 44, 55, 65] и каолинит [57]. Следует добавить, что иммобилизованные ферменты обычно более устойчивы к температурным и химическим воздействиям, носитель (об этом говорилось выше) может играть роль индуктора ацил-миграции.

### Ацил-акцептор

В качестве ацил-акцептора обычно используются короткоцепочечные спирты, такие как метанол, этанол, пропанол и бутанол, причем выход реакции не зависит от типа используемого спирта [66]. Таким образом, выбор спирта обусловлен его экономическими и эксплуатационными характеристиками. Благодаря своей низкой стоимости наиболее часто при производстве биодизеля используется метанол, который чрезвычайно токсичен. Получение биодизеля с использованием этанола – менее опасно, однако стоимость этанола выше. Сегодня исследователи в качестве ацил-акцептора чаще всего используют метанол [1, 3-17, 19-21, 25-29, 32, 33, 35-40, 43, 45-51, 55, 56, 58-61] и несколько реже этанол [3, 10, 22, 24, 27, 28, 34, 41, 42, 44, 45, 52-54, 59].

Если сравнивать продукты, получаемые при использовании этих двух спиртов, то по физическим и химическим свойствам они сопоставимы. Метиловые и этиловые эфиры всегда имеют одинаковое теплосодержание. По рабочим характеристикам несколько отличаются. Вязкость этиловых эфиров несколько выше, а температура текучести и помутнения несколько ниже, чем у метиловых эфиров. Тесты на двигателях показали, что МЭЖК дают слегка большую мощность и крутящий момент. Преимуществом этиловых эфиров являются меньшая дымность и темпера-

тура выхлопных газов и более низкая температура текучести [67].

Другие спирты – пропанол [28, 37, 59], 2-пропанол [28, 31, 37], бутанол [28, 37, 57, 59], 2-бутанол [28, 59], , *трет*-бутанол [28], пентанол [28, 37], изопентанол [37, 59], 2-этил-1-гексанол [2] при получении биодизеля используются значительно реже, прежде всего, из экономических соображений.

Из смешанных веществ в качестве ацил-акцептора в исследовании [59] успешно протестировали сивушное масло – побочный продукт получения этанола, содержащий изоамиловый и другие короткоцепочечные спирты.

### Параметры процесса

Важными условиями при катализе липазами являются содержание воды, тип носителя, на котором иммобилизована липаза и соотношение ацил-акцептор:масло.

Вода в реакционной смеси нежелательна, поскольку способствует гидролизу триглицеридов и образованию, как следствие, СЖК, но для функционирования липазам необходимо определенное количество воды [59, 62], которое зависит от конкретного типа липазы. Хотя, например, липаза *Burkholderia cepacia* обладает высокой стойкостью к метанолу и не требует содержания воды в реакционной смеси [62].

При иммобилизации на пористом носителе содержание воды в реакционной смеси становится более важным. В работе [69] (реакция в среде гексана) был предложен механизм, при котором сначала в капиллярах, на стенках которых иммобилизованы липазы, образуется тонкий гидратный слой – необходимый для энзиматической активности, но при большем содержании воды в смеси поры затапливаются, и большая часть иммобилизованной липазы оказывается отрезанной от реакционной смеси, и, как следствие, общая активность катализатора падает. Эта модель может также частично объяснить ингибирование процессов на иммобилизованной липазе низкомолекулярными спиртами и карбоновыми кислотами.

### Проблема ингибирования и инактивации

При проведении переэтерификации логично использовать избыток ацил-акцептора для смещения равновесия реакции к образованию продуктов, однако если ацил-акцептор имеет менее трех углеродных атомов в цепи, особенно метанол, его избыток инактивирует фермент.

В целом, основной технологической проблемой липазного катализа является инактивация липазы высокими концентрациями спиртов. Однако субстрат тоже может ингибировать фермент. Так было выявлено [70], что при переэтерификации липазой *Rhizomucor miehei* в среде *n*-гексана с использованием метанола и пальмового масла лимитирующими концентрациями являлись 3 М и 1,25 М соответственно.

Для преодоления проблемы инактивации существуют следующие решения.

**Постепенное добавление спирта.** Поскольку метанолу, из применяющихся ацил-акцепторов, свойственна наибольшая ингибирующая способность, многие авторы предлагают постепенное его добавление в среду [14, 15, 19, 26, 34, 39, 48, 51, 61, 62]. Обычно применяют двух- [33, 46] и трехступенчатое добавление [9, 18, 32, 33, 56]. Таким путем можно избежать больших концентраций метанола в реакционной среде.

Например, в работе [51] был получен выход биодизеля более 90% без значительной потери активности через, по крайней мере, 54 цикла.

**Использование растворителей.** Различают липазный катализ, как в среде реагентов, так и в среде органического растворителя.

Если алкоголиз проводится без использования растворителя, растворимость спирта в масле является лимитирующим фактором, так как не растворившийся спирт, по-видимому, обволакивает поверхность липазы, тем самым инактивируя ее. Жирные спирты с длиной цепи более трех углеродных атомов полностью растворяются в масле в сте-

хиометрическом количестве, но растворимость метанола и этанола составляет приблизительно половину и две трети от стехиометрического количества соответственно [51]. Поэтому этанол ингибирует ферменты несколько менее чем метанол, но все же значительно [10]. Исходя из растворимости метанола, молекулярное соотношение метанол:масло более 1,5:1 дает заметную деактивацию большинства липаз при условии, что не используется растворитель [51].

Среди коммерческих препаратов Novozym 435 более стоек к инактивации, однако при тех же условиях Lipozyme TL IM требует меньше этанола для достижения того же выхода [22].

Стратегия использования растворителя подразумевает подбор такого растворителя, который бы одновременно растворял и спирт и масло.

Помимо преодоления инактивации липаз органические растворители подавляют гидролиз и понижают вязкость реакционной среды, что очень важно при использовании насадочных реакторов. Одна из трудностей их использования заключается в извлечении растворителя из реакционной среды, для чего необходимо выпаривание, а следовательно дополнительные затраты и потери. Кроме того, органические растворители часто не менее токсичны, чем метанол, но их использование – действенный и универсальный способ избежать деактивации ферментов и получить большой выход продукта. Промышленная реализация процессов с использованием растворителей проблематична. С экологических и технологических позиций ферментативный катализ с применением растворителей предпочтительнее щелочного (рекуперация растворителей менее сложная задача, чем утилизация щелочных стоков), но высокая цена на сами растворители не позволяет достичь приемлемых экономических показателей.

Масла очень хорошо растворяются в неполярных растворителях, среди которых наиболее часто используют *n*-гексан [1, 3, 9, 16, 31, 34, 35, 38, 49, 55, 56], реже изоктан [11, 23] и гептан [13]. Кроме того, есть данные [71], что гексан и изоктан ускоряют ацил-миграцию.

Однако растворители средней полярности имеют преимущество, поскольку способны растворять масло и спирт одновременно. Из них наиболее широко применяется *трет*-бутанол [4, 21, 36, 43, 47, 56], благодаря относительно невысокой цене.

Для примера характера оказываемого на процесс воздействия полярности растворителя можно привести исследование [56] по метанолизу триолеина (катализатор – липаза из *Candida sp. 99-125*, иммобилизованная на полиуретановой пене). Реакция проводилась в присутствии различных растворителей (ДМСО, ацетонитрил, ацетон, ТГФ, *трет*-бутанол,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , бензол,  $\text{CHCl}_3$ , толуол,  $\text{CCl}_4$ , *n*-гексан, циклогексан) и различным содержанием воды (0%, 2,5%, 5%, 7,5%, 10% по весу) при однократном и трехступенчатом введении метанола в реакционную среду. В результате при трехступенчатом введении метанола выход продукта увеличивался на порядок, лучшими растворителями оказались бензол, толуол,  $\text{CCl}_4$ , *n*-гексан и циклогексан, по крайней мере, для липазы *Candida sp. 99-125*. Причем, наблюдалась зависимость между видом растворителя, содержанием воды в реакционной смеси и выходом МЭЖК. При использовании полярных растворителей (ДМСО, ацетонитрил, ацетон, ТГФ, *трет*-бутанол) увеличение количества воды уменьшало выход, а для неполярных ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , бензол,  $\text{CHCl}_3$ , толуол,  $\text{CCl}_4$ , *n*-гексан, циклогексан) наоборот – увеличивало.

В работе [20] в качестве среды для переэтерификации соевого масла были использованы ионные жидкости как альтернатива органическим растворителям. При этом, молярное соотношение метанол:масло было доведено до 4:1 и был получен выход МЭЖК 80%, что на 15% выше, чем при реакции в среде *трет*-бутанола и в восемь раз больше, чем без растворителя. Однако хоть ионные жидкости огнебезопасны и во многом более приемлемы, чем органиче-

ские растворители, они на сегодняшний день существенно дороже.

**Использование безопасных для липаз ацил-акцепторов.** Еще одним обходом инактивации является проведение реакции переэтерификации с использованием таких ацил-акцепторов, как метилацетат [18, 23] и этилацетат [30], в качестве альтернатив метанолу и этанолу соответственно. При этом следует заметить, что при переэтерификации вместо глицерина образуется более ценный побочный продукт – триацетин.

Так в [18] использовался метилацетат для превращения соевого масла (катализатор Novozym 435). Не было обнаружено никакого ингибирующего воздействия на липазу, был получен выход 92%, и активность липаз оставалась стабильной более 100 циклов. При использовании метанола уже при молярном соотношении метанол:масло более 1:1 наблюдалось значительное ингибирование липазы, в то время как с метилацетатом без ущерба для липаз применялось соотношение 12:1. При проведении реакции с нерафинированным соевым маслом и метанолом был получен выход лишь около 30%, вследствие деактивации липаз фосфолипидами [8], которые не влияли на реакцию с метилацетатом, вероятно, из-за его большой концентрации (выход также 92%).

В работе [30] при использовании этилацетата для получения биодизеля из масла яatroфы и подсолнечника (катализатор – Novozym 435) также наблюдались аналогичные преимущества перед этанолом. При переэтерификации активность липаз сохранялась более 12 циклов реакции, тогда как при этанолизе она терялась уже за 6.

Тем не менее, стоимость этих ацил-акцепторов при переэтерификации намного выше, чем соответствующих спиртов, и, к тому же, обычно для реакции требуется большое молярное отношение ацил-акцептора к маслу. Токсичность сложных эфиров так же достаточно высока, что не способствует их широкому промышленному использованию.

**Удаление глицерина.** В некоторых работах утверждается, что липазы теряют часть активности из-за присутствия глицерина в реакционной среде, который, накапливаясь в реакторе, обволакивает поверхность ферментов. Для борьбы с этим предлагается удалять глицерин *in situ* путем диализа [26] или же вести трансэтерификацию в *трет*-бутаноле [21] или изопропаноле [19], которые растворяют глицерин.

**Предварительная обработка биокатализатора.** Среди методов уменьшения деактивации ферментов стоит также выделить их предварительную обработку эфирами жирных кислот. В работе [17] эффект ингибирования метанолом был значительно уменьшен путем выдерживания липаз в течение получаса в метилолеате, а затем еще 12 ч в соевом масле, подлежащем метанолизу.

В работе [72] показано, что предварительное выдерживание липазы Novozym 435 в 2-бутаноле или *трет*-бутаноле повышает активность фермента в 10 раз.

Достаточно перспективна недавно исследованная [41] ультразвуковая предварительная обработка липаз. Авторы работы, воздействуя ультразвуком на липазы из *Burkholderia cepacia* и *Pseudomonas fluorescens*, добились увеличения степени конверсии в реакции трансэтерификации масла яatroфы с 34% до 79%. Спектры кругового дихроизма и сканирующая электронная микроскопия позволили сделать вывод, что воздействие ультразвука производит значительные морфологические изменения ферментов с возмущением третичной структуры и некоторым изменением микроокружения ароматических аминокислот, что в конечном итоге и приводит к увеличению биокаталитической активности.

**Восстановление активности липаз.** Деактивированная липаза может быть восстановлена выдерживанием в спиртах, содержащих три и более углеродных атома, предпочтительно 2-бутанол или *трет*-бутанол [72]. В данном исследовании авторам удалось восстановить этими спиртами, соответственно, около 56% и 75% начальной

активности полностью деактивированной липазы Novozym 435.

Следует отметить уникальное преимущество ферментов относительно небологических катализаторов, состоящее в огромном потенциале их генетического совершенствования. Так недавно из штамма G63 *Burkholderia cepacia* была выделена термостойкая (после выдерживания 10 ч при 70°C сохранялись 86,1% активности) липаза, устойчивая к большим концентрациям метанола (выдерживание 48 ч в 50% метаноле – сохранение 98,3% активности). [7] Применение данной липазы для производства биодизеля несомненно весьма перспективно.

## Заключение

Липазный катализ в производстве биодизеля призван избавить его от принципиального недостатка – большого количества щелочных отходов, снизить удельные затраты воды и энергии.

В экономическом плане сегодня липазный катализ проигрывает щелочному, однако, в работе [73] показано, что при современных ценах на липазу, производство биодизеля рентабельно начиная от объемов от 200 тыс. т./год. Предположительная цена биодизеля, если не применять при его получении растворитель (в этом варианте технология нерентабельна), окажется равной 0,73–1,49 €/кг при текущей цене липазы, и 0,05–0,75 €/кг при прогнозируемой цене фермента в будущем. Стоит добавить, что цена ферментов, помимо увеличения масштабов производства, может быть снижена путем применения технологий рекомбинантных ДНК. Таким образом, ферментативный способ производства биодизеля при создании крупных производств и соответствующей экологической политике государства уже в ближайшем будущем сможет конкурировать со щелочным катализом.

В настоящее время единственной областью рентабельного применения липаз (иммобилизованных) является переработка закисленных масел с биологическими ацил-акцепторами, среди которых наиболее доступны и перспективны биоэтанол. Тогда как такой выбор субстрата объясняется тем, что закисленные масла во множестве образуются как отходы пищевых производств по всему миру и к ним нерационально применять щелочной катализ – теряются СЖК и идет перерасход катализатора на их нейтрализацию.

## Литература

1. Park E.Y., Sato M., Kojima S. // Enzyme Microb. Technol. 2006. V. 39. № 4. P. 889–896.
2. Linko Y.-Y., Liimsii M., Wu X., Uosukainen W., Sappiilli J., Linko P.J. // Biotechnol. 1998. V. 66. № 1. P. 41–50.
3. Nelson L.A., Foglia T.A., Marmor W.N. // J. Am. Oil Chem. Soc. 1996. V. 73. № 8. P. 1191–1195.
4. Li L., Du W., Liu D., Wang L., Li Z. // J. Mol. Catal. B: Enzym. 2006. V. 43. № 1–4. P. 58–62.
5. Zeng H., Liao K., Deng X., Jiang H., Zhang F. // Process Biochem. 2009. V. 44. № 8. P. 791–798.
6. Dizge N., Keskinler B. // Biomass Bioenerg. 2008. V. 32. № 12. P. 1274–1278.
7. Yang J., Guo D., Yan Y. // J. Mol. Catal. B: Enzym. 2007. V. 45. № 3–4. P. 91–96.
8. Watanabe Y., Shimada Y., Sugihara A., Tominaga Y. // J. Mol. Catal. B: Enzym. 2002. V. 17. № 3–5. P. 151–155.
9. Gao Y., Tan T.-W., Nia K.-L., Wang F. // Chin. J. Biotechnol. 2006. V. 22. № 1. P. 114–118.
10. Nouredini H., Gao X., Philkana R.S. // Bioresour. Technol. 2005. V. 96. № 7. P. 769–777.
11. Zhao X., Zahab B.E., Brosnahan R., Perry J., Wang P. // Appl. Biochem. Biotechnol. 2007. V. 143. № 3. P. 236–243.
12. Yang J., Zhang B., Yan Y. // Appl. Biochem. Biotechnol. 2009. V. 159. № 2. P. 355–365.
13. Luo Y., Zheng Y., Jiang Z., Ma Y., Wei D. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2006. V. 73. № 2. P. 349–355.
14. Kaieda M., Samukawa T., Matsumoto T., Ban K., Kondo A., Shimada Y., Noda H., et al. // J. Biosci. Bioeng. 1999. V.

88. № 6. P. 627-631.
15. *Du W., Xu Y.Y., Liu D.H., Li Z.B.* // J. Mol. Catal. B: Enzym. 2005. V. 37. № 1-6. P. 68-71.
16. *Shieh C.J., Liao H.F., Lee C.C.* // Bioresour. Technol. 2003. V. 88. № 2. P. 103-106.
17. *Samukawa T., Kaieda M., Matsumoto T., Ban K., Kondo A., Shimada Y., Noda H., Fukuda H.* // J. Biosci. Bioeng. 2000. V. 90. № 2. P. 180-183.
18. *Du W., Xu Y., Liu D., Zeng J.* // J. Mol. Catal. B: Enzym. 2004. V. 30. № 3-4. P. 125-129.
19. *Xu Y., Du W., Zeng J., Liu D.* // Biocatal. Biotransform. 2004. V. 22. № 1. P. 45-48.
20. *Ha S.H., Lan M.N., Lee S.H., Hwang S.M., Koo Y.-M.* // Enzyme Microb. Technol. 2007. V. 41. № 4. P. 480-483.
21. *Wang L., Du W., Liu D., Wang L., Li L., Dai N.* // J. Mol. Catal. B: Enzym. 2006. V. 43. № 1-4. P. 29-32.
22. *Hernández-Martín E., Otero C.* // Bioresour. Technol. 2008. V. 99. № 2. P. 277-286.
23. *Orcaire O., Buisson P., Pierre A.C.* // J. Mol. Catal. B: Enzym. 2006. V. 42. № 3-4. P. 106-113.
24. *Selmi B., Thomas D.* // J. Am. Oil Chem. Soc. 1998. V. 75. № 6. P. 691-695.
25. *Belafi-Bako K., Kovacs F., Gubicza L., Hancsok J.* // J. Biocat. Biotransf. 2002. V. 20. № 6. P. 437-439.
26. *Bako K.B., Kova F.C.S., Gubicza L., Hansco J.K.* // Biocatal. Biotransform. 2002. V. 20. № 6. P. 437-439.
27. *Mittelbach M.* // J. Am. Oil Chem. Soc. 1990. V. 67. № 3. P. 168-170.
28. *Caballero V., Bautista F.M., Campelo J.M., Luna D., Marinas J.M., Romero A.A., Hidalgo J.M., Luque R., et al.* // Process Biochem. 2009. V. 44. № 3. P. 334-342.
29. *Dizge N., Aydinler C., Imer D.Y., Bayramoglu M., Tanriseven A., Keskinler B.* // Bioresour. Technol. 2009. V. 100. № 6. P. 1983-1991.
30. *Modi M.K., Reddy J.R.C., Rao B.V.S.K., Prasad R.B.N.* // Bioresour. Technol. 2007. V. 98. № 6. P. 1260-1264.
31. *Modi M.K., Reddy J.R.C., Rao B.V.S.K., Prasad R.B.N.* // Biotechnol. Lett. 2006. V. 28. № 9. P. 637-640.
32. *Li N.-W., Zong M.-H., Wu H.* // Process Biochem. 2009. V. 44. № 6. P. 685-688.
33. *Yang K.S., Sohn J.-H., Kim H.K.* // J. Biosci. Bioeng. 2009. V. 107. № 6. P. 599-604.
34. *De Paola M.G., Ricca E., Calabria V., Curcio S., Iorio G.* // Bioresour. Technol. 2009. V. 100. № 21. P. 5126-5131.
35. *Desai P.D., Dave A.M., Devi S.* // Food Chem. 2006. V. 95. № 2. P. 193-199.
36. *Royon D., Daz M., Ellenrieder G., Locatelli S.* // Bioresour. Technol. 2007. V. 98. № 3. P. 648-653.
37. *Köse Ö., Tüter M., Aksoy H.A.* // Bioresour. Technol. 2002. V. 83. № 2. P. 125-129.
38. *Li X., Xu H., Wu Q.* // Biotechnol. Bioeng. 2007. V. 98. № 4. P. 764-771.
39. *Watanabe Y., Shimada Y., Sugihara A., Noda H., Fukuda H., Tominaga Y.* // J. Am. Oil Chem. Soc. 2000. V. 77. № 4. P. 355-360.
40. *Nie K., Xie F., Wang F., Tan T.* // J. Mol. Catal. B: Enzym. 2006. V. 43. № 1-4. P. 142-147.
41. *Shah S., Gupta M.N.* // Chem. Cent. J. 2008. V. 2. № 1.
42. *Shah S., Sharma S., Gupta M.N.* // Energy Fuels. 2004. V. 18. № 1. P. 154-159.
43. *Kumari A., Mahapatra P., Garlapati V.K., Banerjee R.* // Biotechnol. Biofuels. 2009. V. 2. № 1.
44. *Shah S., Gupta M.N.* // Process Biochem. 2007. V. 42. № 3. P. 409-414.
45. *Abigor R.D., Uaudia P.O., Foglia T.A., Haas M.J., Jones K.C., Okpefa E., Obibuzor J.U., Bafor M.E.* // Biochem. Soc. Trans. 2000. V. 28. № 6. P. 979-981.
46. *Xu G., Zhang B., Liu S., Yue J.* // Agric. Sci. China. 2006. V. 5. № 11. P. 859-864.
47. *Liu Y., Xin H., Yan Y.* // Ind. Crops Prod. 2009. V. 30. № 3. P. 431-436.
48. *Ying M., Chen G.* // Appl. Biochem. Biotechnol. 2007. V. 137. № 1. P. 793-804.
49. *Al-Zuhair S., Dowaidar A., Kamal H.* // Biochem. Eng. J. 2009. V. 44. № 2-3. P. 256-262.
50. *Yagiz F., Kazan D., Akin A.N.* // Chem. Eng. J. 2007. V. 134. № 1-3. P. 262-267.
51. *Shimada Y., Watanabe Y., Sugihara A., Tominaga Y.* // J. Mol. Catal. B: Enzym. 2002. V. 17. № 3-5. P. 133-142.
52. *Wu W.H., Foglia T.A., Marmar W.N., Phillips J.G.* // J. Am. Oil Chem. Soc. 1999. V. 76. № 4. P. 517-521.
53. *Breivik H., Haraldsson G.G., Kristinsson B.* // J. Am. Oil Chem. Soc. 1997. V. 74. № 11. P. 1425-1429.
54. *Watanabe Y., Shimada Y., Sugihara A., Tominaga Y.* // J. Biosci. Bioeng. 1999. V. 88. № 6. P. 622-626.
55. *Soumanou M.M., Bornscheuer U.T.* // Enzyme Microb. Technol. 2003. V. 33. № 1. P. 97-103.
56. *Lu J., Nie K., Wang F., Tan T.* // Bioresour. Technol. 2008. V. 99. № 14. P. 6070-6074.
57. *Iso M., Chen B., Eguchi M., Kudo T., Shrestha S.* // J. Mol. Catal. B: Enzym. 2001. V. 16. № 1. P. 53-58.
58. *Macario A., Moliner M., Corma A., Giordano G.* // Microporous Mesoporous Mater. 2009. V. 118. № 1-3. P. 334-340.
59. *Salis A., Pinna M., Monduzzi M., Solinas V.* // J. Biotechnol. 2005. V. 199. № 3. P. 291-299.
60. *Watanabe Y., Pinsiroadom P., Nagao T., Yamauchi A., Kobayashi T., Nishida Y., Takagi Y., Shimada Y.* // J. Mol. Catal. B: Enzym. 2007. V. 44. № 3-4. P. 99-105.
61. *Shimada Y., Watanabe Y., Samukawa T., Sugihara A., Noda H., Fukuda H., Tominaga Y.* // J. Am. Oil Chem. Soc. 1999. V. 76. № 7. P. 789-793.
62. *Kaieda M., Samukawa T., Kondo A., Fukuda H.* // J. Biosci. Bioeng. 2000. V. 91. № 1. P. 12-15.
63. *De B.K., Bhattacharyya D.K., Bandhu C.* // J. Am. Oil Chem. Soc. 1999. V. 76. № 4. P. 45L-453.
64. *Hsu A.F., Jones K., Foglia T.A., Marmar W.N.* // Biotechnol. Appl. Biochem. 2002. V. 36. № 3. P. 181-186.
65. *Soumanou M.M., Bornscheuer U.T.* // Eur. J. Lipid Sci. Technol. 2003. V. 105. № 11. P. 656-660.
66. *Ramadhias A.S., Jayaraj S., Muraleedharan C.* // Fuel. 2005. V. 84. № 4. P. 335-340.
67. *Bozbas K.* // Renew. Sustain. Energy. Rev. 2008. V. 12. № 2. P. 542-552.
68. *Knothe G.* // Fuel Process. Technol. 2005. V. 86. № 10. P. 1059-1070.
69. *Camacho Páez B., Robles Medina A., Camacho Rubio F., González Moreno P.A., Molina Grima E.* // Enzyme Microb. Technol. 2003. V. 33. № 6. P. 845-853.
70. *Al-Zuhair S., Ling F.W., Jun L.S.* // Process Biochem. 2007. V. 42. № 6. P. 951-960.
71. *Miltqvist Fureby A., Tian L., Adlercreutz P., Mattiasson B.* // Enzyme Microb. Technol. 1997. V. 20. № 3. P. 196-206.
72. *Chen J.W., Wu W.T.* // J. Biosci. Bioeng. 2003. V. 95. № 5. P. 466-469.
73. *Sotoft L. F., Rong B.-G., Christensen K.V., Norddahl B.* // Bioresour. Technol. 2010. V. 101(14). P. 5266-5274.