

DOI: 10.18372/2310-5461.68.20744
УДК 663.5, 662.7

В. Л. Хомічак, аспірант

Інститут продовольчих ресурсів НААН
<https://orcid.org/0009-0002-0593-9757>
E-mail: spyrceosl@gmail.com;

І. В. Кузнєцова, д-р сільсько.-госп. наук, старш. наук. співр.

Інститут продовольчих ресурсів НААН,
<http://orcid.org/0000-0001-8530-2099>
E-mail: ingav@ukr.net;

С. Т. Олійнічук, д-р техн. наук, старш. наук. співр.

Інститут продовольчих ресурсів НААН,
<https://orcid.org/0000-0002-2885-6754>
E-mail: oliynichukst@ukr.net;

О. О. Коваль, канд. техн. наук

Інститут продовольчих ресурсів НААН,
<https://orcid.org/0000-0003-1035-5895>
E-mail: olgakoval1982@gmail.com

БІОКОНВЕРСІЯ СПОЛУК КУКУРУДЗЯНОГО ЗЕРНА ДЛЯ ОТРИМАННЯ БІОЕТАНОЛУ

Вступ

З 2016 р Сполучені Штати Америки є найбільшим виробником біоетанолу у світі, частка виробництва якого складає майже 60 % від загального світового виробництва. Згідно даних Асоціації відновлюваного палива (RFA), світове річне виробництво біоетанолу у 2023 році становило 29,5 мільйонів галонів, що підкреслює зростаючу актуальність в енергетиці та промисловості [1]. Найбільшим споживачем біоетанолу в світі є Німеччина, а другою країною за рівнем споживання – Франція [1].

Сучасна біоенергетика залежить від ефективних технологій перетворення речовин сировини, а також напряму застосування. Крім того, раціональне використання ресурсного потенціалу країни та отриманого продукту в секторах промисловості має вплив на функціонування навколишнього середовища. Зокрема, у Північній Америці використання біоетанолу, отриманого з кукурудзи, знижує рівень залежності від викопного палива [2]. У Скандинавії використання біомаси для централізованого теплопостачання знижує викиди вуглецю в атмосферу [3]. В Африці використання біопалива для автономної енергетики покращує доступ до енергії [4]; а в Південно-Східній Азії промисловість з виробництва біодизелю з пальмової олії знижує інтенсивність зміни клімату, одночасно стимулюючи економічне зростання [5].

Біоетанол, отриманий із цукро- та крохмалевмісної сировини, є комерціалізованим промисловим виробничим процесом [6]. Співвідношення використання сировини становить - крохмалевмісна (кукурудза, пшениця, маніок, цукрове сорго, картопля) : цукровмісна (цукровий буряк, цукрова тростина) як 60 % : 40 %. Отже, завдяки високому коефіцієнту конверсії і виходу [7] для отримання біоетанолу переважно застосовують крохмалевмісну сировину [8]. Для підвищення ефективності виробництва відомим [9] є поєднання в переробці двох видів сировини, наприклад, як в країнах ЄС здійснюють переробку цукрових буряків разом із зерном пшениці.

Україна, завдяки агрокліматичним умовам, є багатою на крохмалевмісну та цукровмісну сировину. Значна частка зернової сировини є некондиційною (наприклад, не кондиційне зерно кукурудзи) і не використовується на харчові цілі. Така сировина, є перспективною крохмалевмісною сировиною для переробки на біоетанол. Отже, дослідження технологічного процесу переробки зерна кукурудзи на біоетанол є актуальним завданням.

Постановка проблеми

Біоетанол – це відновлюване, екологічно чисте біопаливо, яке виробляється шляхом спиртового бродіння цукристих субстратів мікроорганізмами, зазвичай дріжджами *Saccharomyces cerevisiae*.

Встановлення оптимальних умов біоконверсії крохмалевмісної сировини є важливим завданням задля досягнення високого виходу біоетанолу, і відповідно, зростання економічної ефективності виробництва [10]. Інтенсифікація процесів дріжджогенерації, підтримка культури спиртових дріжджів в активному стані з високою щільністю дріжджів популяції дозволяє підвищити ефективність спиртового виробництва і прискорити процеси під час бродіння суслу, скоротити втрати спирту та сировини. Так, виробники ферментів розробили спеціальні продукти – глюкоамілазу та суміш глюкоамілази із протеазою, що зберігають високу активність і добре працюють за нижчих значеннях температур (близько 30 °С) для гідролізу крохмалю в присутності дріжджів і дозволяє проводити процес одночасного оцукрення та бродіння [15]. Такий підхід є одним з найперспективніших для підвищення виробництва біоетанолу.

Перспективним напрямом тривалий час, також є спрямоване застосування протеолітичних ферментних препаратів в біоконверсії крохмалевмісної сировини, які гідролізують пептидні зв'язки [17]. Це дозволяє максимально ефективно задіяти білкові полімери зернової сировини, збагатити сусло легкоасимільованими джерелами азоту, збільшити концентрацію посівних дріжджів і прискорити процес спиртового бродіння.

У даній роботі досліджено процес отримання біоетанолу шляхом біоконверсії цукристих та білкових сполук кукурудзяної сировини та визначення впливу на проведення одночасного оцукрювання та зброджування (SSF).

Аналіз останніх досліджень і публікацій

Біоконверсію крохмалю сировини проводять α -амілазою для розрідження, а потім глюкоамілазою для оцукрювання за оптимальної дії кожного ферменту температури та рН. Після чого проводять процес бродіння за нижчої температури, оптимальної для застосованого штаму дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Водночас, відоме дослідження [11] щодо проведення ферментативного гідролізу пшеничного крохмалю з одночасним розрідженням та оцукрюванням (SLS) комерційними α -амілазою та глюкоамілазою за температури 65°C та рН 4,5.

Подальша біоконверсія крохмалю може відбуватися згідно одного із технологічних режимів процесів оцукрювання та зброджування [12, 13]: одночасне (SSF), окреме (SHF), одночасне оцукрювання та коферментація (SSCF) або консолідована біообробка (CBP). Процес SSF визначений [14] як економічно ефективний. Зокрема, SSF передбачає розрідження крохмалю α -амілазою в одному резервуарі за високих температур з подальшим одночасним оцукрюванням за допомогою

глюкоамілази та зброджуванні дріжджами в біореакторі за нижчих температур. Це дозволяє повільно вивільняти цукристі речовини у середовищі завдяки дії глюкоамілази з одночасним його споживанням дріжджами [16]. SSF загалом скорочує загальний час процесу, мінімізує ризик інгібування дріжджів високою концентрацією цукру в середовищі для ферментації та забезпечує більш ефективний процес перетворення крохмалю. Метод SSF покращує біотехнологічний процес, підвищуючи продуктивність етанолу та знижуючи експлуатаційні витрати [15].

При бродінні суслу виникають технологічні проблеми: підвищення в'язкості зернових заторів, неповний гідроліз сировини, значна кількість виробничих відходів (післяспиртової барди) тощо. Над дослідженням таких проблемних питань тривалий час займалась вітчизняні вчені П. Шиян, С. Олійнічук, Л. Левандовський, В. Марінченко тощо. Одним з інноваційних рішень є використання високопродуктивних рас дріжджів з одночасним застосуванням протеолітичного ферментного препарату. Завдяки раціональному використанню білкового комплексу зернової сировини задля забезпечення процесу аміним азотом під час спиртового бродіння досягається підвищення виходу етанолу. Отже, дослідження технологічних умов застосування протеолітичного ферментного препарату для біоконверсії білкових речовин кукурудзи є одним з актуальних завдань в удосконаленні технології отримання біоетанолу.

Мета дослідження: дослідження умов використання ферментного препарату протеази в технологічному процесі отримання біоетанолу для підвищення його виходу.

Виклад основного матеріалу

Сировина

У дослідженні використовували зерно кукурудзи з наступними показниками якості:

- вміст сміттевої домішки – 0,03 %;
- вміст масової частки вологи – 14,1 %;
- вміст умовного крохмалю – 61,7 %.

Ферментні препарати та дріжджі

Гідроліз крохмалю зерна кукурудзи здійснювали ферментними препаратами:

- α -амілаза (Amylex®4T) з витратами 2,0 од. активності на 1 г крохмалю;
- глюкоамілаза (Dyazyme®SSF) з витратами 8,0 од. активності на 1 г крохмалю;
- протеаза (протеаза С) для гідролізу білка кукурудзи, активністю – 0,7 ПЗ од. акт. на 1 г крохмалю.

У табл. 1 представлено характеристики ферментних препаратів, що використовувались в дослідженні.

Таблиця 1

Характеристика ферментних препаратів

Препарат	Опис	Оптимум	
		температура, °С	pH
Протеаза С	Грибна лужна	30–70	5,0–11,0
Amylex®4Т	Термостабільна бактеріальна α -амілаза	80–95	5,5–6,5
Duazyme®SSF	Глюкоамілаза та протеаза грибного походження	55–73	3,6–5,5

Для зброджування суслу використовували сухі дріжджі *Sacharomyces cerevisiae* ТМ «Первак» (компанія «Ензим», м. Львів). Сухі дріжджі задавали у співвідношенні 1 : 3,75, що відповідає ідентичній кількості вологих дріжджів. Перед внесенням як сухі, так і вологі дріжджі активували внесенням 10–15 см³ стерильної водопровідної води.

Приготування дріжджової суспензії [18]: наважку 1 г сухих дріжджів розводили у 10 см³ води та витримували 20-25 хвилин.

Контроль показників технологічного процесу

В роботі використовували загальноприйняті в спиртовій промисловості методи досліджень [19]. Для визначення умовної крохмалистості та вміст зв'язаного крохмалю в сировині визначали за загальноприйнятим методом Еверса [20]. Глюкозний еквівалент (ГЕ) визначали за методом Вільштеттера та Шудля [21]. Кількість полісахаридів, що легко та важко гідролізуються, визначали за кількістю моносахаридів за відновлювальною здатністю, визначеною за методом Макена-Шорля [21]. Вміст спирту у зброджених дистилатах визначали ареометрично, масову концентрацію незброджених вуглеводів – колориметрично з антроновим реактивом [22]. Кількість розчинного білка у гідролізаті кукурудзяного затору визначали шляхом осаджування їх фосфорно-вольфрамовою кислотою [23].

Контроль за зміною структури часток кукурудзяного затору здійснювали на мікроскопі «МБІ-15».

Дослідження з визначення динамічної в'язкості (сПз) проводили на «Реотест 2».

Проведення експерименту

Для проведення досліджень використовували подрібнене кукурудзяне зерно, з якого готували заміс з гідромодулем 1:2,5.

Дослід 1. Досліджували умови застосування протеолітичного ферментного препарату протеаза С.

Оцінку здійснювали за кількістю утвореного амінного азоту в заторі під час нагрівання впродовж 1 години.

Проба 1 (контроль) – вода без додавання ферментних препаратів.

Проба 2 – вода з додаванням протеолітичного ферментного препарату після 45 хв розварювання затору.

Дослід 2. Подальші дослідження були спрямовані на визначення впливу протеолітичного ферментного препарату на реологічні показники кукурудзяного затору за різних умов:

- контроль – без застосування ферментного препарату;
- зразок 1 – із протеазою С;
- зразок 2 – розріджування термостабільною α -амілазою Amylex®4Т;
- зразок 3 – розріджування протеолітичним ферментним препаратом протеазою С та термостабільною α -амілазою Amylex®4Т.

Дослід 3. Досліджували вплив ферментного препарату протеази на процес біоконверсії зразків кукурудзяного затору та вихід етанолу:

- контроль: приготування замісу, розріджування термостабільною α -амілазою при температурі затору 90 °С;
- зразок 1: приготування замісу, введення ферментного препарату термостабільної α -амілази та проведення процесу розріджування при температурі 70 °С;
- зразок 2: приготування замісу, введення протеолітичного ферментного препарату та термостабільної α -амілази, проведення процесу розріджування при температурі 70 °С.

Термостабільну α -амілазу дозували у кількості 2 од. акт./г абс.сух. крохмалю. Тривалість розріджування 180 хвилин.

Проводили одночасне оцукрювання та бродіння (SSF) в отриманих зразках розрідженого кукурудзяного замісу з додаванням ферментного препарату глюкоамілази (введена кількість - 8,0 од. активності на 1 г крохмалю) та дріжджів (приготовлені способом зазначеним вище).

Результати та їх обговорення

Вплив використання протеолітичного ферментного препарату на кількість амінного азоту в кукурудзяному заторі (дослід 1).

При нагріванні з крохмалем сировини [24] відбуваються наступні зміни:

- поглинання води сировиною та набухання крохмальних зерен;

- послаблення зв'язків між складовими компонентами сировини та вилучення крохмальних зерен із сировини у розчин;

- клейстеризація крохмалю.

Результати мікроскопічного дослідження наведені на рис. 1.

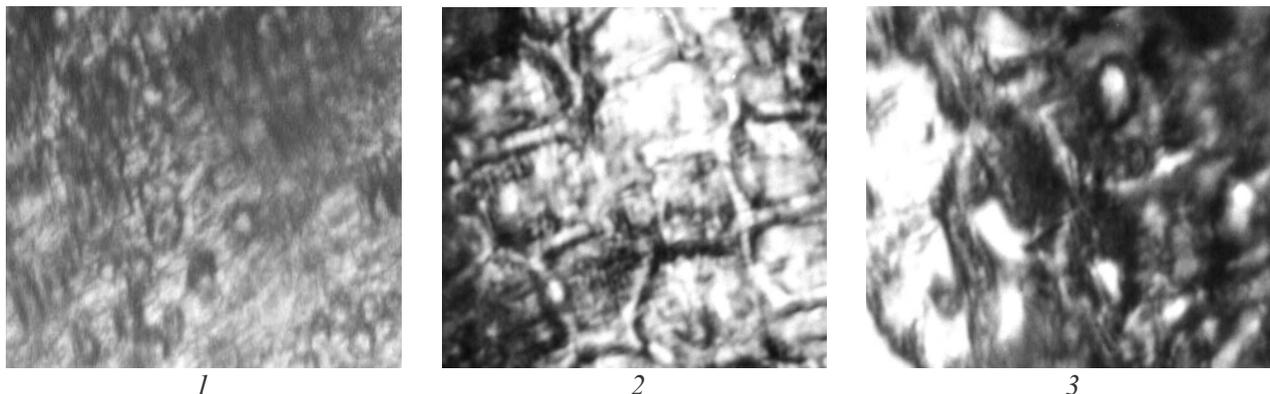


Рис. 1. Мікрофотографії кукурудзяного затору (збільшення в 144 рази):
1 – до розварювання; 2 – після розварювання; 3 – після розварювання в присутності протеолітичного ферментного препарату.

Як показують фотографії (рис. 1), при розварюванні часток кукурудзяного затору відбувається набухання крохмале-білкового конгломерату, який потім може легко руйнуватися під дією розріджуючого ферментного препарату.

Набухання крохмале-білкового конгломерату відбувається завдяки дифузії молекул розчинника у високомолекулярні речовини. Це пов'язано з тим, що аморфні зони макромолекул полісахаридів крохмалю мають порівняно не щільну структуру і внаслідок теплового руху гнучких ланцюгів між ними утворюються щілини, в які проникають молекули води. Зерна крохмалю при цьому сильно збільшуються у розмірі. Відбувається гідратация білків та клітковини. Макромолекули, зв'язок між якими вже сильно послабився, відриваються від основної маси речовини і дифундують у розчин [24]. Таким чином, як показують результати мікроскопічних досліджень, при розварюванні відбувається руйнування крохмале-білкового конгломерату (рис. 1, фото 2 і 3).

Протеаза С – ферментний препарат, що містить неспецифічну високоактивну протеїназу для гідролізу білкових речовин з отриманням пептидів, поліпептидів і амінокислот. На фотографії 3 рис. 1 видно клітини, які мають більш виражену форму оболонки з помітним частковим руйнуванням, що викликано дією протеолітичного ферментного препарату.

При нагріванні кукурудзяного затору контролювали зміну вмісту амінного азоту в гідролізаті. Результати експерименту наведені в табл. 2.

Дані табл. 2 показують що впродовж 1 год нагрівання сировини рН затору майже не змінюється в обох варіантах досліду 1, проте відбувається інтенсивний перехід амінного азоту, особливо при використанні ферменту протеази.

Таблиця 2

Зміна вмісту амінного азоту в кукурудзяному заторі під час розварювання ($n = 3, p < 5$)

№ з/п	Спосіб	Тривалість, хв.	pH	Аміний азот, %
1	Вода (контроль)	15	6,25	0,005
		30	6,25	0,009
		45	6,25	0,013
		60	6,20	0,014
2	Розчин протеази	15	6,25	0,006
		30	6,20	0,009
		45	6,15	0,018
		60	6,15	0,019

Перехід розчинних білкових речовин у гідролізат йде інтенсивно після 30 хв процесу розварювання. Найбільш інтенсивно вилучаються розчинні речовини в другій пробі після додавання протеази. Після 45 хв розварювання швидкість екстрагування розчинних білків зменшується в обох пробах.

Дослідження біоконверсії кукурудзяного затору протеолітичним та амілолітичним ферментними препаратами

Вивчення реологічних властивостей кукурудзяного затору (дослід 2). При нагріванні кукурудзяного затору проходить процес розварювання, який супроводжується підвищенням в'язкості системи. Додавання ферментного препарату α -амілази призводить до зниження в'язкості системи, що пов'язано з гідролізом полісахаридних ланцюгів крохмалю до декстринів. При цьому під час розріджування крохмальні зерна сировини втрачають здатність забарвлюватись у синій колір при додаванні йоду та збільшується відновлювальна здатність гідролізату. Вивчення впливу протеолітичного і амілолітичного комплексу на реологічну здатність зернового затору за різних значень температури процесу представлено на рис. 2.

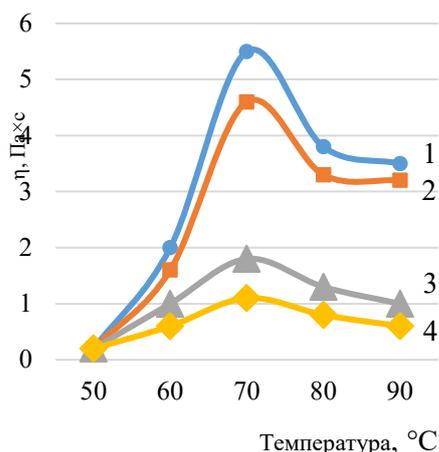


Рис. 2. Залежність реологічних показників зернового затору від використаного виду ферментного препарату: 1 – контроль (без ферментного препарату); 2 – протеаза С; 3 – Amylex®4T; 4 – протеаза С+Amylex®4T

Відмічено, що максимальну в'язкість мають всі зразки при температурі 70°C. В той же час, найнижче значення в'язкості має зразок 3 затору, в якому діють протеолітичний та амілолітичний ферментні препарати. Отже, сумісне застосування протеолітичного та амілолітичного ферментних препаратів знижує в'язкість затору на 60,4%, порівняно із затором в якому відсутній будь який ферментний препарат.

Дослідження впливу процесу розріджування кукурудзяного затору на вихід спирту (дослід 3). Проведення ефективного розріджування кукурудзяної сировини амілолітичним ферментним препаратом сприяє зменшенню втрат крохмалю із сировиною та обумовлює гарну фільтраційну здатність суслу. Дослідження кінетики розріджування кукурудзяного затору термостабільним ферментним препаратом Amylex®4T представлено на рис. 3.

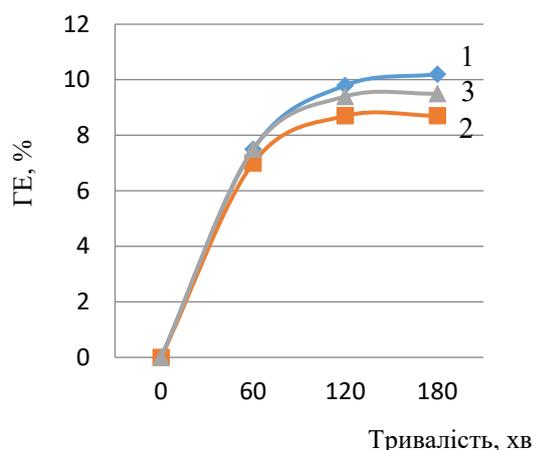


Рис. 3. Кінетика ферментативного розріджування кукурудзяного затору: 1 – Amylex®4T (при температурі затору 90°C); 2 – Amylex®4T (при температурі затору 75°C); 3 – протеаза С+Amylex®4T (при температурі затору 75°C)

Температуру процесу розріджування в даному експерименті підібрано відповідно до специфікації на ферментні препарати, і відповідно, вивчали умови при 90°C та 75°C. Як видно з рис. 3, найкращу розріджувальну здатність має затор із термостабільною α -амілазою Amylex®4T при температурі 90°C, а найменший глюкозний еквівалент гідролізату спостерігається у зразках I і II. Це пояснюється тим, що ферменти, як і всі інші білки, мають електричний заряд і їх конформаційна структура залежить від рН та температури середовища. Молекули ферментних білків мають різні заряджені радикали, які можуть по різному дисоціювати за різних значень температури, що знаходяться оптимумі дії для даного ферментного препарату. Таким чином, зміна електричного заряду білка завжди викликає зміну структури і просторового розташування. З точки зору дії ферменту вирішальне значення має не вся поверхня білкової молекули, а лише будова активного центру. Зміна рН або температури пов'язана із зміною електричного силового поля навколо активного центру, що призводить до зміни конформації, а, відповідно, і швидкості ферментативної реакції [17, 24]. Застосування протеолітичного ферментного препарату, як показали попередні дослідження, не суттєво знижує рН середовища. Водночас, дія протеолітичного ферментного препарату пом'якшує структуру крохмалебілкової матриці та в процесі нагрівання інтенсифікує її руйнування. Застосування термостабільної α -амілази за нижчої температури (75°C) знижує глюкозний еквівалент, проте у варіанті II, застосувавши додатково протеазу, глюкозний еквівалент є вищим. Таким чином, підвищується ефективність процесу розріджування завдяки кращому вилученню крохмалю із сировини.

Ферментний препарат протеаза С розщеплює білкові речовини і утворює азотні сполуки для азотного живлення дріжджів. Отже, залежність розчинності білків та їх переходу під час розріджування за різних умов розварювання кукурудзяного затору представлені на рис. 4.

Як видно з рис. 4, у перші 120 хв перехід розчинних білків у сусло відбувається інтенсивно, при чому найбільша їх кількість спостерігалась заторі із додаванням протеази під час розварювання. Наприкінці гідролізу швидкість переходу розчинного білка знижується, особливо у варіанті без додавання протеолітичного ферментного препарату. Це дає змогу стверджувати, що при розріджуванні сировини продовжується процес переходу розчинного білку в результаті більш інтенсивного пом'якшення структури сировини під дією протеази.

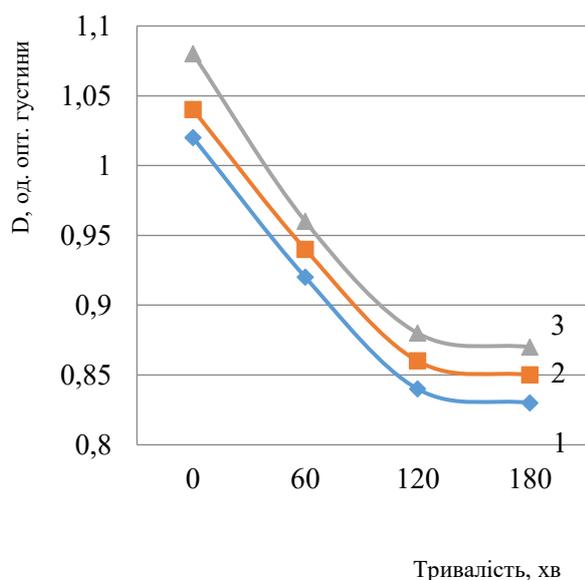


Рис. 4. Кінетика зміни оптичної густини сусла:
1 – Amylex®4T (при температурі затору 90°C);
2 – Amylex®4T (при температурі затору 75°C);
3 – протеаза C+Amylex®4T (при температурі затору 75°C).

По завершенню процесу визначили у сировині вміст зв'язаного крохмалю. У варіанті з використанням води вміст зв'язаного крохмалю був 5,4...5,6 % до СР сировини, а з використанням при розварюванні протеази трохи нижчим – 4,5 % до СР сировини. Це свідчить про краще звільнення крохмалю в цій пробі, завдяки дії ферменту протеази на крохмале-білкову матрицю.

Оцінку впливу запропонованого способу застосування протеолітичного ферментного препарату на процес спиртового бродіння проводили зброджуванням отриманих проб після розріджування. Оцукрюючий ферментний препарат містить протеолітичний фермент, який також приймає участь в утворенні азотних сполук.

Досліджували динаміку накопичення розчинних зброджуваних вуглеводів на стадії оцукрювання розвареної маси (рис. 5).

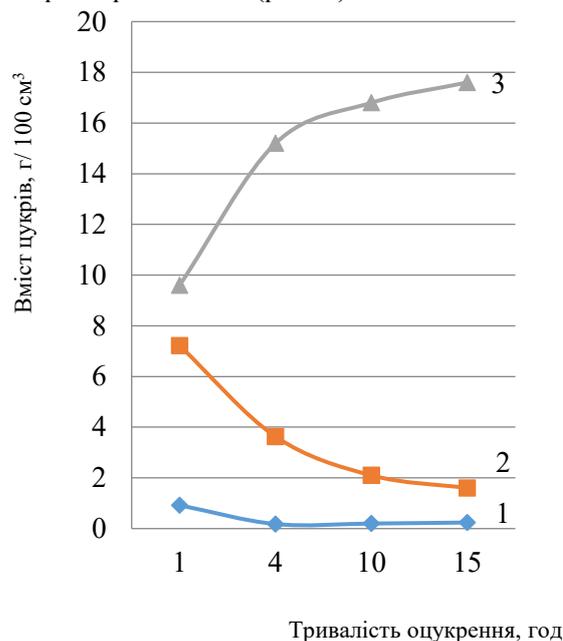


Рис. 5. Вплив протеолітичного ферментного препарату на накопичення розчинних вуглеводів у суслі:
1 – мальтодекстрини; 2 – мальтоза; 3 – глюкоза

Накопичення розчинних вуглеводів проходить більш інтенсивно при внесенні протеолітичного ферментного препарату перед розріджуванням. Більш інтенсивна швидкість зброджування вуглеводів сусла проходила в зразку з протеолітичним ферментним препаратом внесенням ще перед розріджуванням (зразок 2).

Застосування протеолізу під час оцукрення сприяло інтенсивному накопиченню цукрів, причиною чого є синергізм дії препаратів протеази та глюкоамілази. Якісні показники дозрілої бражки (табл. 3) показують ефективність застосування протеолітичного ферментного препарату під час розріджування кукурудзяного затору.

Таблиця 3

Основні показники дозрілої бражки ($n = 3, p < 5$)

Показник	Контроль	Зразок 1	Зразок 2
Вміст спирту, % об.	10,90	10,80	10,90
Вміст загальних незброджених цукрів, г/100 см ³	0,706	0,824	0,761
Вміст водорозчинних незброджених цукрів, г/100 см ³	0,643	0,645	0,655
Вміст спирторозчинних незброджених цукрів, г/100 см ³	0,340	0,316	0,355
Нерозчинений крохмаль, г/100 см ³	0,06	0,16	0,10

Ефективне використання амілолітичних ферментів на стадії оцукрювання в дослідному варі-

анті дозволяє збільшити вихід спирту (рис. 6), а також інтенсифікувати процес бродіння.

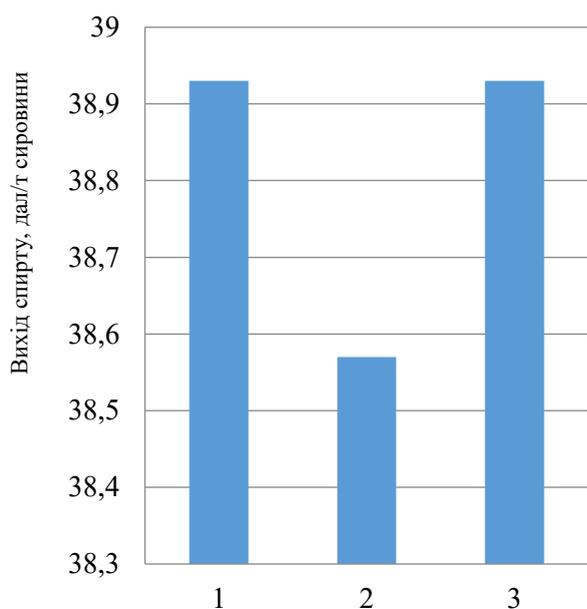


Рис. 6. Вплив умов розріджування на вихід спирту: 1 – Amylex®4T (при температурі затору 90°C); 2 – Amylex®4T (при температурі затору 75°C); 3 – протеаза C+Amylex®4T (при температурі затору 75°C)

Вихід спирту становить 38,93 дал/т сировини для обох зразків, що отримані при температурі 90°C та із протеолітичним ферментним препаратом при температурі 75°C. що пов'язано зі скороченням втрат вуглеводів на ріст і накопичення біомаси дріжджів та зниження масової концентрації нерозчиненого крохмалю.

Показник нерозчиненого крохмалю у зразку 2 є в межах регламентованої величини – 0,10, тоді як за нижчої температури розварювання без використання протеази – 0,16, що свідчить про недостатню ефективність процесу розрідження.

Висновки

Показано, що завдяки високому коефіцієнту конверсії і виходу біоетанолу для його виробництва переважно застосовують крохмалевмісну сировину. Україна, завдяки агрокліматичним умовам, є багатою на виробництво крохмалевмісної сировини. Отже, дослідження технологічного процесу переробки зерна кукурудзи на біоетанол є актуальним завданням.

Обґрунтовано ефективність використання протеази для гідролізу некрохмальних полісахаридів та білкових сполук крохмалевмісної сировини задля забезпечення процесу бродіння необхідною кількістю амінного азоту.

Показано, що під час розріджування затору застосування протеолітичного та амілолітичного ферментних препаратів впливає на в'язкість затору, знижуючи її значення на 60,4 %, порівняно

із затором в якому відсутній будь який ферментний препарат.

Доведено, що дія протеолітичного ферментного препарату пом'якшує структуру крохмалевмісної матриці та в процесі нагрівання інтенсифікує її руйнування. Застосування термостабільної α -амілази за нижчої температури (75°C) знижує показник глюкозного еквіваленту, проте із застосуванням додатково протеази, глюкозний еквівалент є вищим. Крім того, при застосуванні протеази під час розріджування вміст зв'язаного крохмалю в сировині знижується із 5,6 % до СР сировини до 4,5 % до СР сировини. Таким чином, підвищується ефективність процесу розріджування завдяки кращому вилученню крохмалю із сировини.

Визначено, що протеоліз покращує процес оцукрювання та збагачує суслу легкозасвоюваним азотним живленням процес дріжджегенерації і збільшує вихід спирту на 0,4 дал/т сировини.

Обґрунтовано, що більш інтенсивна швидкість зброджування вуглеводів суслу проходила в зразку з протеолітичним ферментним препаратом внесеним ще перед розріджуванням Встановлено, що повне оцукрення крохмалю препаратом Duazyme®SSF (99,5 %) досягається за температури 50–52 °C впродовж 4-х годин.

ЛІТЕРАТУРА

- [1] RFA (Renewable Fuels Association). Annual World Fuel Ethanol Production. 2024. Available online: <https://ethanolrfa.org/resources/annual-industry-outlook> (accessed on 25 November 2024).
- [2] Chum H., Faaij A., Moreira J., Berndes G., Dharmija P., Dong H., Gabrielle B., Eng A.G., Cerutti O.M.; et al. (2012). SRREN-Chapter 2-Bioenergy. In Bioenergy; IPCC: Geneva, Switzerland, pp. 209–332.
- [3] Johannesson A. (2017). Swedish District Heating: Reducing the Nation's CO₂ Emissions. Available online: <https://www.openaccessgovernment.org/swedish-district-heating-reducing-nations-co2-emissions/33387/> (accessed on 2 May 2017)
- [4] Igwebuike C. M., Awad S., Andrès Y. (2024). Renewable Energy Potential: Second-Generation Biomass as Feedstock for Bioethanol Production. *Molecules*. 29 (7), 1619. PP. 1–27. <https://doi.org/10.3390/molecules29071619>
- [5] Mukherjee I., Sovacool B. K. (2014). Palm Oil-Based Biofuels and Sustainability in Southeast Asia: A Review of Indonesia, Malaysia, and Thailand. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 37, pp. 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.05.001>.
- [6] Jayakumar M., Gebeyehu K. B., Abo L. D., W., Ashokkumar V., Baskar G. (2023). A comprehensive outlook on topical processing methods for biofuel production and its thermal applications: Current advances, sustainability and challenges.

- Fuel*. 349, 128690. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2023.128690>.
- [7] Assaf J. C., Mortada Z., Rezzoug S.-A., Maache-Rezzoug Z., Debs E., Louka N. (2024). Comparative Review on the Production and Purification of Bioethanol from Biomass: A Focus on Corn. Processes, 12 (5), 1001. <https://doi.org/10.3390/pr12051001>.
- [8] Friedl A. (2017). Bioethanol from Sugar and Starch. In Energy from Organic Materials (Biomass); Kaltschmitt, M., Ed.; Encyclopedia of Sustainability Science and Technology Series; Springer: New York, NY, USA. PP. 1–12. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2493-6_432-3.
- [9] Sönnichsen, N. Leading Producers of Fuel Ethanol in the EU 2021–2022. Available online: <https://www.statista.com/statistics/1295937/leading-fuel-ethanol-producers-in-the-eu/#statisticContainer> (accessed on 14 October 2022).
- [10] Vasić K., Knez Ž., Leitgeb M. (2021). Bioethanol Production by Enzymatic Hydrolysis from Different Lignocellulosic Sources. *Molecules*. 26(23), 753. <https://doi.org/10.3390/molecules26030753>
- [11] Katanski A., Vučurović V., Vučurović D., Bajić B., Šaranović Ž., Šereš Z., Dodić S. (2024). Bioethanol Production from A-Starch Milk and B-Starch Milk as Intermediates of Industrial Wet-Milling Wheat Processing. *Fermentation*. 10(3), 144. <https://doi.org/10.3390/fermentation10030144>.
- [12] García-Aparicio M. P., Oliva J. M., Manzanares P., Ballesteros M., Ballesteros I., González A., Negro M. J. (2011). Second-generation ethanol production from steam exploded barley straw by *Kluyveromyces marxianus* CECT 10875. *Fuel*. Vol. 90, Issue 4, pp. 1624–1630. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2010.10.052>.
- [13] Gabriel S. Aruwajoye, Sewsynker-Sukai Y., Gueguim Kana E. B. (2020). Valorisation of cassava peels through simultaneous saccharification and ethanol production: Effect of prehydrolysis time, kinetic assessment and preliminary scale up. *Fuel*. Vol. 278, p. 118351. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118351>.
- [14] Cao N. J., Krishnan M. S., Du J. X., Gong C. S., Ho N.W.Y. et al., (1996). Ethanol production from corn cob pretreated by the ammonia steeping process using genetically engineered yeast. *Bio-technol. Lett.*, 118: 1013–1018. <https://doi.org/10.1007/BF00129723>. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00129723>.
- [15] Cinelli B. A., Castilho L. R., Freire D.M.G., Castro A. M. (2015). A brief review on the emerging technology of ethanol production by cold hydrolysis of raw starch. *Fuel*. 150, 721–729. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.02.063>.
- [16] Strak-Graczyk E., Balcerek M., Przybylski K., Zyzelewicz D. (2020). Simultaneous saccharification and fermentation of native rye, wheat and triticale starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 100(8), pp. 4904–4912. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10425>.
- [17] Пирог Т. П., Антонюк М. М., Скроцька О. І., Кігель Н. Ф. Харчова біотехнологія. Підручник. Ліра-К. 2019. 396 с.
- [18] Данілова К. О., Олійнічук С. Т., Коваль О. О., Заварзіна О. С. Використання відходів борошномельних підприємств для виробництва етилового спирту. *Продовольчі ресурси*. 2025. Т. 13. № 24. С. 160–168. <https://doi.org/10.31073/foodresources2025-24-17>.
- [19] Sadhukhan J., Martinez-Hernandez E., Amezcua-Allieri M. A., Aburto J., Honorato J. A. (2019). Economic and environmental impact evaluation of various biomass feedstock for bioethanol production and correlations to lignocellulosic composition. *Bioresource Technology Reports*. 7, 100230. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100230>.
- [20] ДСТУ 46.045.2003 Зерно. Методи визначення умовної крохмалистості. Міністерство аграрної політики України. Київ, 2004. 23 с.
- [21] Полигаліна Г. В. Технохімічний контроль спиртового і дікоро-горілочного виробництва. Колос, 1999, 333 с.
- [22] Linskens, H. F., Tracey, M. V., Beiss, U., Bendall, F. Modern Methods of Plant Analysis. Springer-Verlag, 2013.
- [23] Бурштейн А.І. Методи дослідження харчових продуктів. К.: держхімвидавн, 1963. 643 с.
- [24] Кузнєцова І. В. Удосконалення технології рідких цукропродуктів із кукурудзяної сировини. Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук. Київ. НУХТ. 2006. 24 с.

Хомічак В. Л., Кузнєцова І. В., Олійнічук С. Т., Коваль О. О.

БІОКОНВЕРСІЯ СПОЛУК КУКУРУДЗЯНОГО ЗЕРНА ДЛЯ ОТРИМАННЯ БІОЕТАНОЛУ

У роботі показано, що крохмалевмісна сировина є однією з перспективних видів сировини для виробництва біоетанолу завдяки високому коефіцієнту конверсії і виходу біоетанолу. Нині провідні країни світу переходять на використання біоетанолу та використовують для його виробництва також нетрадиційну сировину. Україна, завдяки агрокліматичним умовам, є багатю для виробництва крохмалевмісної сировини. Значна частка зернової сировини є некондиційною (наприклад, не кондиційне зерно кукурудзи) і невикористовується на харчові цілі. Така сировина, є перспективною крохмалевмісною сировиною для переробки на біоетанол.

Інтенсифікація спиртового виробництва має ряд технологічних рішень направлених на підвищення виходу спирту, одним з яких є протеоліз. Вивченню питання протеолізу присвячено багато наукових досліджень, водночас використання сучасних комерційних ферментних препаратів потребує доопрацювання даного напрямку. У дослідженнях використовували сучасні препарати, що поширені на підприємствах спиртової галузі.

Дослідженнями показано, що дія протеолітичного ферментного препарату пом'якшує структуру крохмале-білкової матриці та в процесі нагрівання інтенсифікує її руйнування. Це дозволяє скорегувати режим розріджування затору шляхом застосування протеолітичного та амілолітичного ферментних препаратів знижує в'язкість затору, знижуючи її значення на 60,4%, порівняно із затором в якому відсутній будь який ферментний препарат. Застосування протеолізу під час оцукрення сприяло інтенсивному накопиченню цукрів, причиною чого є синергізм дії препаратів протеази та глюкоамілази. Встановлено, що якісні показники дозрілої бражки показують ефективність застосування протеолітичного ферментного препарату під час розріджування кукурудзяного затору. Крім того, корегування процесу біоконверсії кукурудзяної сировини та значно скоротити процес оцукрення. Доведено, що протеоліз покращує процес оцукрювання та збачує сусло легкозасвоюваним азотним живленням процес дріжджегенерації і збільшує вихід спирту на 0,4 дал/т сировини.

Ключові слова: біоетанол, кукурудза, ферментні препарати, протеоліз, біоконверсія, зброджування, гідроліз.

Khomichak V., Kuznietsova I., Oliynichuk S., Koval O.

BIOCONVERSION OF CORN GRAIN COMPOUNDS TO OBTAIN BIOETHANOL

The paper shows that starch-containing raw materials are one of the promising types of raw materials for bioethanol production due to the high conversion rate and yield of bioethanol. Currently, leading countries in the world are switching to the use of bioethanol and also use non-traditional raw materials for its production. Ukraine, due to agroclimatic conditions, is rich in the production of starch-containing raw materials. A significant proportion of grain raw materials is substandard (for example, substandard corn grain) and is not use for food purposes. Such raw materials are promising starch-containing raw materials for processing into bioethanol. Intensification of alcohol production has a number of technological solutions aimed at increasing the yield of alcohol, one of which is proteolysis. Many scientific studies have been devoted to the study of the issue of proteolysis, while the use of modern commercial enzyme preparations requires further development of this area. The studies used modern drugs that are common at alcohol enterprises. Studies have shown that the action of the proteolytic enzyme preparation softens the structure of the starch-protein matrix and intensifies its destruction during heating. This allows you to adjust the mash dilution mode by using proteolytic and amylolytic enzyme preparations, reduces the viscosity of the mash, reducing its value by 60.4%, compared to the mash in which there is no enzyme preparation. The use of proteolysis during saccharification contributed to the intensive accumulation of sugars, the reason for which is the synergism of the action of protease and glucoamylase preparations. It established that the quality indicators of the matured mash show the effectiveness of the use of the proteolytic enzyme preparation during the dilution of corn mash. In addition, adjusting the process of bioconversion of corn raw materials and significantly shorten the saccharification process. It has been proven that proteolysis improves the saccharification process and provides the wort with easily digestible nitrogen nutrition, the yeast generation process and increases the alcohol yield by 0.4 dal/t of raw material.

Keywords: bioethanol, corn, enzyme preparations, proteolysis, bioconversion, fermentation, hydrolysis.

Стаття надійшла до редакції 31.08.2025 р.

Прийнято до друку 10.12.2025 р.