






## Оптимизация процесса осахаривания разваренной массы в производстве этанола

Татьяна С. Ковалева	<sup>1</sup>	<a href="mailto:tanyakova2501@gmail.com">tanyakova2501@gmail.com</a>	 0000-0002-3531-3811
Алексей Н. Яковлев	<sup>1</sup>	<a href="mailto:vip.alex2702@mail.ru">vip.alex2702@mail.ru</a>	 0000-0002-3246-6628
Светлана Ф. Яковлева	<sup>1</sup>	<a href="mailto:svetlana.yakovleva.68@mail.ru">svetlana.yakovleva.68@mail.ru</a>	 0000-0003-3686-9966
Татьяна Н. Тертычная	<sup>2</sup>	<a href="mailto:tertychnaya777@ya.ru">tertychnaya777@ya.ru</a>	 0000-0001-8185-3424
Александр С. Муравьев	<sup>1</sup>	<a href="mailto:huntrun@mail.ru">huntrun@mail.ru</a>	 0000-0002-5989-0752






<sup>1</sup> Воронежский государственный университет инженерных технологий, пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394036, Россия

<sup>2</sup> Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I, ул. Мичурина, 1, г. Воронеж, 394087, Россия

**Аннотация.** Стадия осахаривания в производстве этанола является одной из основных. От правильности проведения данного процесса зависит полнота выбраживания декстринов и крахмала, учитываемая в бродильном отделении, а, следовательно, количество производственных потерь, качество и выход конечного продукта. Оптимизацию процесса осахаривания разваренной массы проводили методом полного факторного эксперимента с применением центрального композиционного ротационного униформпланирования эксперимента. В качестве управляемых факторов были выбраны: дозировка ферментного препарата Биозим 800Л; температура; pH и продолжительность гидролиза. Наибольшее влияние на процесс осахаривания оказывает дозировка ферментного препарата Биозим 800Л и продолжительность процесса. Значимость коэффициентов регрессии определяли с помощью критерия Стьюдента, адекватность уравнения регрессии – с помощью критерия Фишера при уровне значимости 5%, сходимость параллельных определений – с помощью критерия Кохнера. Установлено, что применение ферментного препарата Биозим 800Л на 40,5% по сравнению с контролем увеличивает накопление глюкозы. Для определения оптимального режима осахаривания был использован метод неопределенных множителей Лагранжа. Установлено, что максимальное накопление глюкозы в сусле составляет 12 г/100 мл достигается при следующих режимах: дозировка ферментного препарата Биозим 800Л 4,8 ед ГЛС/г крахмала; температура 60,2 °C; pH 4,55 ед; продолжительность осахаривания 2,05 ч.

**Ключевые слова:** осахаривание, ферменты, оптимизация, этанол, Биозим

## Optimization of the process of saccharification in ethanol production

Tatyana S. Kovaleva	<sup>1</sup>	<a href="mailto:tanyakova2501@gmail.com">tanyakova2501@gmail.com</a>	 0000-0002-3531-3811
Aleksey N. Yakovlev	<sup>1</sup>	<a href="mailto:vip.alex2702@mail.ru">vip.alex2702@mail.ru</a>	 0000-0002-3246-6628
Svetlana F. Yakovleva	<sup>1</sup>	<a href="mailto:svetlana.yakovleva.68@mail.ru">svetlana.yakovleva.68@mail.ru</a>	 0000-0003-3686-9966
Tatiana N. Terlychnaya	<sup>2</sup>	<a href="mailto:tertychnaya777@ya.ru">tertychnaya777@ya.ru</a>	 0000-0001-8185-3424
Aleksandr S. Muravev	<sup>1</sup>	<a href="mailto:huntrun@mail.ru">huntrun@mail.ru</a>	 0000-0002-5989-0752

<sup>1</sup> Voronezh State University of Engineering Technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394036, Russia

<sup>2</sup> Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, Michurina str., 1, Voronezh, 394087, Russia

**Abstract.** The saccharification stage in ethanol production is one of the main ones. Completeness of dextrins and starch ejection considered in the fermentation compartment and, consequently, quantity of production losses, quality and yield of the final product depends on the correctness of this process. Optimization of the process of saccharification of digested mass was carried out by the method of complete factor experiment with the use of the central composite rotatable uniform planning experiment. The following factors were selected as controllable: dosage of the enzyme preparation Biozim 800L; temperature; pH and duration of hydrolysis. The dosage of the enzyme preparation Biozim 800L and the duration of the process have the greatest influence on the process of saccharification. The significance of the regression coefficients was determined by Student's test, the adequacy of the regression equation - by Fisher's test at a significance level of 5%, the convergence of parallel determinations - by Kochner's test. It was found that the use of the enzyme preparation Biozim 800L increased the accumulation of glucose by 40.5% compared with the control. To determine the optimal mode of saccharification the Lagrange multiplier method was used. It was found that the maximum accumulation of glucose in the wort of 12 g/100 ml was achieved at the following regimes: the dosage of the enzyme preparation Biozim 800L 4.8 units GLS/g starch; temperature 60.2 °C; pH 4.55 units; duration of saccharification 2.05 h.

**Keywords:** saccharification, enzymes, optimization, ethanol, Biozim

Для цитирования

Ковалева Т.С., Яковлев А.Н., Яковлева С.Ф., Тертычная Т.Н., Муравьев А.С. Оптимизация процесса осахаривания разваренной массы в производстве этанола // Вестник ВГУИТ. 2021. Т. 83. № 1. С. 211–218. doi:10.20914/2310-1202-2021-1-211-218

For citation

Kovaleva T.S., Yakovlev A.N., Yakovleva S.F., Terlychnaya T.N., Muravev A.S. Optimization of the process of saccharification in ethanol production. *Vestnik VGUIT* [Proceedings of VSUET]. 2021. vol. 83. no. 1. pp. 211–218. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2021-1-211-218

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License

### Введение

Стадия осахаривания в производстве этанола является одной из основных. От правильности проведения данного процесса зависит полнота выбраживания декстринов и крахмала, учитываемая в броидильном отделении, а, следовательно, количество производственных потерь, качество и выход конечного продукта.

Осахаривание основано на гидролизе крахмала разваренной массы под действием ферментов осахаривающих материалов [1–5].

Крахмалосодержащие сырье необходимо осахаривать, т. к. основные производственные расы спиртовых дрожжей не синтезируют амилолитических ферментов и не способны использовать непосредственно крахмал, а усваивают только моно- и дисахариды. Основной целью осахаривания является получение сусла с высоким содержанием сбраживаемых углеводов [6–8].

### Материалы и методы

Разваренную ячменную массу осахаривали ферментным препаратом глюкоамилазы Биозим 800Л из расчета 6,0 ед. ГлС на г крахмала. В контрольном образце использовали разваренную массу, полученную с использованием только ферментного препарата Альфаферм 3500Л с дозировкой 1,0 ед. АС на г крахмала, в опытном образце использовали разваренную массу, полученную с использованием Альфаферм 3500 Л – 0,6 ед. АС/г крахмала, ВискоСтар

150Л – 0,025 ед  $\beta$  – ГКС/г крахмала, Пролайв ВS Ликвид – 0,25 ед. ПС/г крахмала. При температурах 50–65 °С и рН 4,0–5,5 в течение 120 мин проводили осахаривание. Внесением в разваренную массу серной кислоты регулировали ее рН.

При разработке технологического режима осахаривания важным моментом является определение рациональной температуры, рН, дозировки глюкоамилазы и продолжительности осахаривания, так как от этих факторов зависят технологические и технико-экономические показатели данного процесса [9–20].

Оптимизацию процесса осахаривания разваренной массы проводили методом полного факторного эксперимента  $2^4$  с применением центрального композиционного ротатбельного униформпланирования эксперимента.

В качестве управляемых факторов были выбраны:  $X_1$  – дозировка ферментного препарата Биозим 800Л;  $X_2$  – температура, °С;  $X_3$  – рН;  $X_4$  – продолжительность гидролиза, ч.

Интервал варьирования факторов выбран с таким расчетом, чтобы изменение фактора на один уровень давало изменение контролируемого параметра на величину, большую ошибки измерения. Пределы изменения исследуемых факторов приведены в таблице 1.

Критерием оценки влияния различных факторов на процесс осахаривания разваренной массы выбрана массовая доля глюкозы (Y) в фильтрате сусла после осахаривания. Программа исследования была заложена в матрицу планирования эксперимента (таблица 2).

Таблица 1.

Изменение исследуемых факторов

Table 1.

Varying of factors

Условия планирования Conditions	Пределы изменения исследуемых факторов Limits of factors			
	$X_1$ , ед. ГлС/г крахмала	$X_2$ , °С	$X_3$ , ед.	$X_4$ , ч
Основной уровень Basic level	4,5	60,0	4,5	1,5
Верхний уровень Upper level	0,5	5,0	0,5	0,5
Нижний уровень Lower level	5,0	65	5,0	2,0
Верхняя звездная точка Upper stellar point	4,0	55	4,0	1,0
Нижняя звездная точка Lower stellar point	5,5	70	5,5	2,5
Основной уровень Basic level	3,5	50	3,5	0,5

Таблица 2.

Матрица планирования и результаты эксперимента

Table 2.

Planning matrix and experimental results

№ опыта Exp number	Кодированные значения факторов Factor Coded Values				Y, %
	X <sub>1</sub> , ед. ГЛС/г крахмала	X <sub>2</sub> , °C	X <sub>3</sub> , ед.	X <sub>4</sub> , ч	
1	–	–	–	–	6,6
2	–	+	–	–	6,4
3	+	–	–	–	8,5
4	+	+	–	–	8,4
5	–	–	+	–	7,1
6	–	+	+	–	6,8
7	+	–	+	–	8,4
8	+	+	+	–	9,3
9	–	–	–	+	8,1
10	–	+	–	+	8,0
11	+	–	–	+	10,5
12	+	+	–	+	9,7
13	–	–	+	+	8,8
14	–	+	+	+	9,9
15	+	–	+	+	9,8
16	+	+	+	+	10,5
17	–2,0	0	0	0	8,7
18	+2,0	0	0	0	11,3
19	0	–2,0	0	0	9,4
20	0	+2,0	0	0	9,6
21	0	0	–2,0	0	9,2
22	0	0	+2,0	0	10,0
23	0	0	0	–2,0	8,8
24	0	0	0	+2,0	11,0
25	0	0	0	0	9,6
26	0	0	0	0	9,4
27	0	0	0	0	9,5
28	0	0	0	0	9,3
29	0	0	0	0	9,3
30	0	0	0	0	9,6
31	0	0	0	0	9,6
32	0	0	0	0	9,4

### Результаты и обсуждение

В результате статистической обработки экспериментальных данных в программе STATISTICA 6.0, получено следующее уравнение регрессии, адекватно описывающее изменение массовой доли глюкозы в сусле под влиянием исследуемых факторов:

$$Y = 9.4 + 0.75X_1 + 0.12X_2 + 0.25X_3 + 0.86X_4 - 0.18X_2^2 - 0.14X_3^2 - 0.15X_1X_4 + 0.12X_2X_3 + 0.13X_1X_2X_3 - 0.12X_1X_3X_4 \quad (1)$$

Анализ уравнения регрессии позволяет выделить факторы, влияющие в большей степени на рассматриваемый процесс. Знаки «+» перед линейными членами уравнения свидетельствуют о том, что при увеличении исследуемых факторов повышаются выходные параметры. Наибольшее влияние на процесс осахаривания оказывает дозировка ферментного препарата Биозим 800Л и продолжительность процесса. Значимость коэффициентов регрессии определяли с помощью критерия Стьюдента, адекватность уравнения регрессии – с помощью критерия Фишера при уровне значимости 5%, сходимость параллельных определений – с помощью критерия Кохнера. Таким образом, получены данные о влиянии различных факторов на накопление глюкозы и построена математическая модель процесса, позволяющая рассчитать их массовую долю в сусле в выбранных интервалах варьирования. На рисунках 1–6 показаны кривые равных значений массовой доли глюкозы в сусле и поверхности уровней отклика для межфакторного взаимодействия. Для построения поверхностей отклика уравнение регрессии приводилось к двум факторам, путем последовательного приравнивания к нулевому уровню двух других факторов. Полученные поверхности имеют форму «выпуклости». Кривые поверхностей отклика несут смысл номограмм и представляют практический интерес. Зная величину параметров и используя полученные коэффициенты, можно рассчитать количество глюкозы в сусле до окончания процесса осахаривания.

Оптимизация процесса осахаривания ячменного замеса заключается в подборе таких условий (дозировка глюкоамилазы, температура, pH и продолжительности процесса), при которых количество глюкозы в сусле будет максимальной.

Задачу оптимизации решали в три этапа.

Первый этап. Для поиска оптимальных параметров  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$  и  $X_4$  задачу оптимизации сформулировали так: необходимо найти значения переменных  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$  и  $X_4$ , обеспечивающие условный экстремум (максимум) функции отклика  $y_1 = fI(X_1, X_2, X_3, X_4)$ .

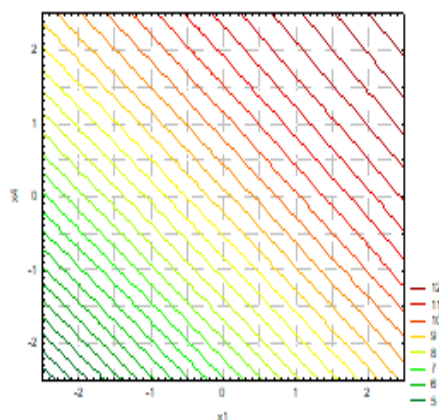


Рисунок 1. Кривые уравнений равных значений поверхностей отклика:  $X_1$  – дозировка ферментного препарата Биозим 800Л, ед. ГЛС / г крахмала,  $X_4$  – продолжительность осахаривания, ч,  $Y$  – глюкоза г/100 см<sup>3</sup>

Figure 1. Response surfaces:  $X_1$  – dosage of enzyme preparation Biozim 800L, units GLS/g starch,  $X_4$  – duration of saccharification, h,  $Y$  – glucose g/100 cm<sup>3</sup>

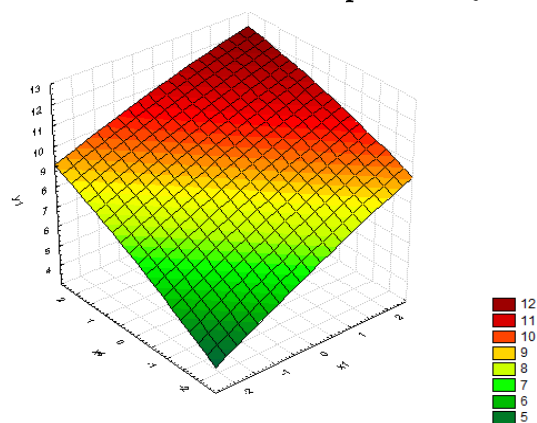


Рисунок 2. Поверхность уровней отклика для межфакторного взаимодействия

Figure 2. Response Surface for interfactor interaction

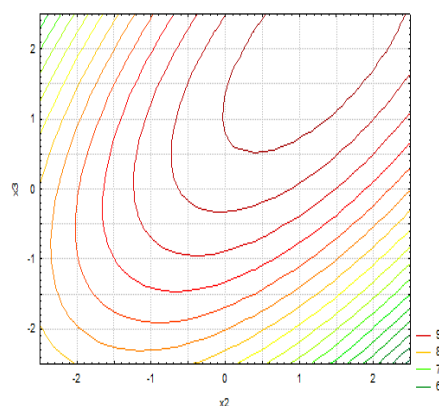


Рисунок 3. Кривые уравнений равных значений поверхностей отклика:  $X_2$  – температура, °C,  $X_3$  – pH, ед.,  $Y$  – глюкоза, г/100 см<sup>3</sup>

Figure 3. Response surfaces:  $X_2$  – temperature, °C,  $X_3$  – pH, e.d.,  $Y$  – glucose, g/100 cm<sup>3</sup>

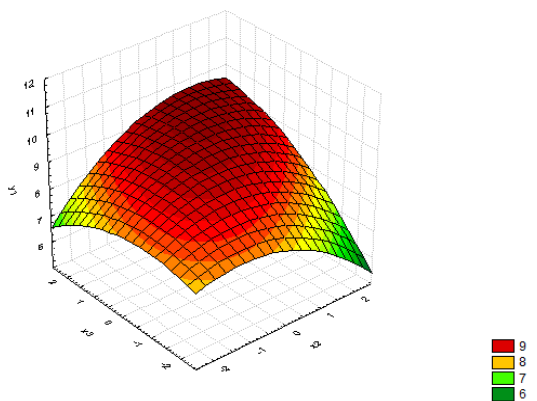


Рисунок 4. Поверхность уровней отклика для межфакторного взаимодействия

Figure 4. Response Surface for interfactor interaction

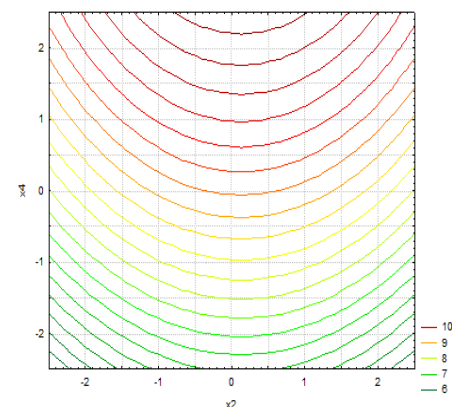


Рисунок 5. Кривые уравнений равных значений поверхностей отклика:  $X_2$  – температура, °C,  $X_4$  – продолжительность осахаривания, ч;  $Y$  – глюкоза, г/100 см<sup>3</sup>

Figure 5. Response surfaces:  $X_2$  – temperature, °C,  $X_4$  – duration of saccharification, h;  $Y$  – glucose, g/100 cm<sup>3</sup>

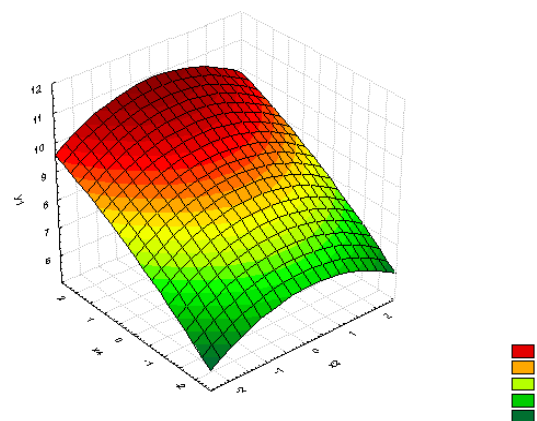


Рисунок 6. Поверхность уровней отклика для межфакторного взаимодействия

Figure 6. Response Surface for interfactor interaction

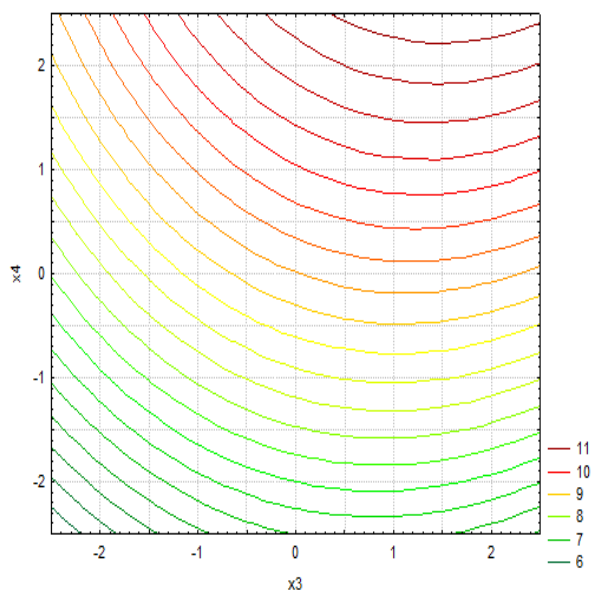


Рисунок 7. Кривые уравнений равных значений поверхностей отклика  $X_3$  – pH, ед.,  $X_4$  – продолжительность осахаривания, ч,  $Y$  – глюкоза, г/100 см<sup>3</sup>

Figure 7. Response surfaces:  $X_3$  – pH;  $X_4$  – duration of saccharification, h;  $Y$  – glucose, g/100 cm<sup>3</sup>

Значения независимых переменных  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$  и  $X_4$  при этом не должны выходить за область эксперимента, границы которой определяются значениями факторов в звездных точках.

Указанное ограничение аналитически может быть записано в виде выражения:

$$\varphi(X_1, X_2, X_3, X_4) = X_1^2 + X_2^2 + X_3^2 + X_4^2 = \rho^2, \quad (2)$$

что в факторном пространстве (для случая двух независимых переменных) представляет собой сферу с центром в центре эксперимента и радиусом  $\rho$ .

Таким образом, постановка задачи оптимизации аналитически записывается как

$$\begin{cases} Y = 9,4 + 0,75X_1 + 0,12X_2 + \\ + 0,25X_3 + 0,86X_4 - 0,18X_2^2 - \\ - 0,14X_3^2 - 0,15X_1X_4 + 0,12X_2X_3 + \\ + 0,13X_1X_2X_3 - 0,12X_1X_3X_4 \rightarrow \max \\ X_1^2 + X_2^2 + X_3^2 + X_4^2 = \rho^2 \end{cases} \quad (3)$$

Поставленную задачу решали, используя метод неопределенных множителей Лангранжа. Для этого составили функцию вида

$$F(X_1, X_2, X_3, X_4, \lambda) = Y(X_1, X_2, X_3, X_4) + \lambda \varphi(X_1, X_2, X_3, X_4), \quad (4)$$

где  $\lambda$  – неопределенный множитель Лангранжа.

С учетом уравнений (1) и (2) получили целевую функцию:

$$\begin{aligned} F(X_1^2, X_2^2, X_3^2, X_4^2, \lambda) = & 9,4 + 0,75X_1 + \\ & + 0,12X_2 + 0,25X_3 + 0,86X_4 - 0,18X_2^2 - \\ & - 0,14X_3^2 - 0,15X_1X_4 + 0,12X_2X_3 + \\ & + 0,13X_1X_2X_3 - 0,12X_1X_3X_4 + \\ & + \lambda^2(X_1^2 + X_2^2 + X_3^2 + X_4^2 - \rho^2) \end{aligned} \quad (5)$$

Составили систему уравнений:

$$\begin{cases} \frac{dF(X_1, X_2, X_3, X_4, \lambda)}{dX_1} = 0,75 - 0,15X_4 + \\ + 0,13X_2X_3 - 0,12X_3X_4 + 2\lambda X_1 = 0 \\ \frac{dF(X_1, X_2, X_3, X_4, \lambda)}{dX_2} = 0,12 - 0,18X_2 + \\ + 0,12X_3 + 0,13X_1X_3 + 2\lambda X_2 = 0 \\ \frac{dF(X_1, X_2, X_3, X_4, \lambda)}{dX_3} = 0,25 - 0,14X_3 + \\ + 0,12X_2 + 0,13X_1X_2 + 2\lambda X_3 = 0 \\ \frac{dF(X_1, X_2, X_3, X_4, \lambda)}{dX_4} = 0,86 - 0,15X_1 - \\ - 0,12X_1X_3 + 2\lambda X_4 = 0 \\ \frac{dF(X_1, X_2, X_3, X_4, \lambda)}{d\lambda} = X_1^2 + X_2^2 + X_3^2 + \\ + X_4^2 - \rho^2 = 0 \end{cases} \quad (6)$$

Для решения уравнения (6) с последующим вычислением значения функции отклика (1) пользовались интегрированным пакетом MAPLE. Расчет проводили при изменении радиуса сферы в диапазоне от  $-2$  до  $2$  с интервалом  $0,1$ . Выбор диапазона  $1,4 \leq \rho \leq 2,0$  обусловлен тем, что  $Y \rightarrow \max$  при  $X_1^2, X_2^2, X_3^2, X_4^2 \rightarrow \max$

Результаты оптимизации по глюкозе получены в программе MAPLE и представлены в таблице 3.

Таблица 3. Параметры оптимизации

Table 3. Optimization parameters

шаг step	$\rho_1$	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	$\lambda_1$	$y_1$
1	1,4	-0,944	-0,133	-0,181	-1,003	0,479	7,748
2	1,5	-1,082	-0,217	-0,164	-1,147	0,454	7,477
3	1,6	-1,223	-0,263	-0,130	-1,291	0,429	7,129
4	1,7	-1,255	-0,274	-0,118	-1,326	0,390	7,058
5	1,8	0,854	0,137	0,212	0,895	-0,101	11,882
6	1,9	0,870	0,145	0,222	0,925	-0,206	11,982
7	2,0	-0,135	0,121	0,135	-0,221	0,257	8,552

При выборе оптимальных параметров для накопления глюкозы в сусле в процессе осахаривания, необходимо исходить из максимально допустимых значений. К таким значениям относятся:  $X_1 = 0,870$ ,  $X_2 = 0,145$ ,  $X_3 = 0,222$ ,

$X_4 = 0,925$  или, переходя от кодированных значений к натуральным, получим: дозировка ферментного препарата Биозим 800Л –  $X_1 = 4,8$  ед ГЛС/г крахмала; температура –  $X_2 = 60,2$  °С; pH –  $X_3 = 4,55$  ед; продолжительность осахаривания –  $X_4 = 2,05$  ч.

Показатели ячменного сусла, полученного в оптимальных условиях осахаривания разваренной массы, представлены в таблице 4.

Таблица 4.

Показатели ячменного сусла

Table 4.

Barley wort indicators

Показатели   Indicators	Контроль	Опыт
Массовая доля сухих веществ, % Mass fraction of dry substances, %	16,5	17,0
Содержание редуцирующих в-в, г/100 см <sup>3</sup> Content of reducing substances, g/100cm <sup>3</sup>	13,9	14,5
Содержание глюкозы, г/100 см <sup>3</sup> Glucose content, g/100 cm <sup>3</sup>	8,5	12,0
Содержание аминного азота, мг/100 см <sup>3</sup> Amine nitrogen content, mg/100cm <sup>3</sup>	29,5	48,0
Доброкачественность по ПВ, % Quality, %	84,3	86,5
Кислотность, град   Acidity, deg	0,30	0,30
Вязкость, Па×с   Viscosity, Pa×s	1,8	1,3

## Литература

- 1 Ковалева Т.С., Агафонов Г.В., Яковлев А.Н., Яковлева С.Ф. Влияние протеазы и фитазы на физиологическое состояние спиртовых дрожжей при культивировании // Вестник ВГУИТ. 2019. № 4. Т 81. С. 98–102. doi: 10.20914/2310-1202-2019-4-98-102
- 2 Байбакова О.В. Исследование одновременного процесса осахаривания-сбраживания для получения биоэтанола на примере мискантуса и плодовых оболочек овса // Фундаментальные исследования. 2016. №. 6-1. С. 14.
- 3 Яковлев А.Н., Агафонов Г.В., Яковлева С.Ф., Алексеева Н.И. и др. Влияние мультиэнзимной композиции на процесс брожения ржаного сусла // Производство спирта и ликероводочных изделий. 2013. № 3. С. 26–28.
- 4 Пат. № 2653432, RU, C12P 7/06. Способ получения этилового спирта / Агафонов Г.В., Яковлев А.Н., Яковлева С.Ф., Ковалева Т.С. № 2017114134; Заявл. 24.04.2017; Оpubл. 08.05.2018, Бюл. № 13.
- 5 Хоконова М.Б., Цагоева О.К. Исследование процесса осахаривания с применением грибной культуры и солода // Современная биотехнология: актуальные вопросы, инновации и достижения. 2020. С. 174-176.
- 6 Хоконова М.Б., Цагоева О.К. Теоретические основы механико-ферментативной обработки крахмалистого сырья // Сборник избранных статей по материалам научных конференций ГНИИ «Нацразвитие». 2019. С. 178-181.
- 7 Хоконова М.Б. Технология переработки крахмалистого сырья с получением белково-углеводных продуктов // Научное обеспечение инновационного развития агропромышленного комплекса регионов РФ. 2018. С. 681-684.
- 8 Сергеенко Л.А. Осахаривание крахмал-и целлюлозосодержащего сырья комплексом термостабильных ферментных препаратов // Технология органических веществ. 2020. С. 26-29.
- 9 Qin L. et al. Process analysis and optimization of simultaneous saccharification and co-fermentation of ethylenediamine-pretreated corn stover for ethanol production // Biotechnology for biofuels. 2018. V. 11. №. 1. P. 1-10. doi: 10.1186/s13068-018-1118-8
- 10 Scarpa J.C.P. et al. Saccharification of pretreated sugarcane bagasse using enzymes solution from *Pycnoporus sanguineus* MCA 16 and cellulosic ethanol production // Industrial Crops and Products. 2019. V. 141. P. 111795. doi: 10.1016/j.indcrop.2019.111795
- 11 Hoşgün E.Z. et al. Ethanol production from hazelnut shells through enzymatic saccharification and fermentation by low-temperature alkali pretreatment // Fuel. 2017. V. 196. P. 280-287. doi: 10.1016/j.fuel.2017.01.114
- 12 Qiu J. et al. Pretreating wheat straw by phosphoric acid plus hydrogen peroxide for enzymatic saccharification and ethanol production at high solid loading // Bioresource technology. 2017. V. 238. P. 174-181. doi: 10.1016/j.biortech.2017.04.040
- 13 Bader A.N. et al. Efficient saccharification of microalgal biomass by *Trichoderma harzianum* enzymes for the production of ethanol // Algal Research. 2020. V. 48. P. 101926. doi: 10.1016/j.algal.2020.101926
- 14 Sharma V., Nargotra P., Bajaj B.K. Ultrasound and surfactant assisted ionic liquid pretreatment of sugarcane bagasse for enhancing saccharification using enzymes from an ionic liquid tolerant *Aspergillus assiutensis* VS34 // Bioresource technology. 2019. V. 285. P. 121319. doi: 10.1016/j.biortech.2019.121319
- 15 Geddes C.C., Nieves I.U., Ingram L.O. Advances in ethanol production // Current opinion in biotechnology. 2011. V. 22. №. 3. P. 312-319. doi: 10.1016/j.copbio.2011.04.012

- 16 Liu C.G. et al. Cellulosic ethanol production: progress, challenges and strategies for solutions // *Biotechnology advances*. 2019. V. 37. № 3. P. 491-504. doi: 10.1016/j.biotechadv.2019.03.002
- 17 Gupta A., Verma J.P. Sustainable bio-ethanol production from agro-residues: a review // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2015. V. 41. P. 550-567. doi: 10.1016/j.rser.2014.08.032
- 18 Dias M.O.S., Junqueira T.L., Jesus C.D., Rossell C.E. et al. Improving second generation ethanol production through optimization of first generation production process from sugarcane // *Energy*. 2012. V. 43. № 1. P. 246-252. doi: 10.1016/j.energy.2012.04.034
- 19 Gao D. M., Kobayashi T., Adachi S. Production of rare sugars from common sugars in subcritical aqueous ethanol // *Food chemistry*. 2015. V. 175. P. 465-470. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.11.144
- 20 Moodley P., Kana E.B.G. Comparative study of three optimized acid-based pretreatments for sugar recovery from sugarcane leaf waste: a sustainable feedstock for biohydrogen production // *Engineering science and technology, an international journal*. 2018. V. 21. № 1. P. 107-116. doi: 10.1016/j.jestch.2017.11.010


## References

- 1 Kovaleva T.S., Agafonov G.V., Yakovlev A.N., Yakovleva S.F. The effect of protease and phytase on the physiological state of alcoholic yeast during cultivation. *Proceedings of VSUET*. 2019. no. 4. vol. 81. pp. 98–102. doi: 10.20914/2310-1202-2019-4-98-102 (in Russian).
- 2 Baybakova O.V. Investigation of the simultaneous process of saccharification-fermentation to obtain bioethanol on the example of miscanthus and oat fruit shells. *Fundamental Research*. 2016. no. 6-1. pp. 14. (in Russian).
- 3 Yakovlev A.N., Agafonov G.V., Yakovleva S.F., Alekseeva N.I. et al. Influence of multi-enzyme composition on the fermentation process of rye wort. *Production of alcohol and alcoholic beverages*. 2013. no. 3. pp. 26–28. (in Russian).
- 4 Agafonov G.V., Yakovlev A.N., Yakovleva S.F., Kovaleva T.S. Method of obtaining ethyl alcohol. Patent RF. no. 2653432, 2018.
- 5 Khokonova M.B., Tsagoeva O.K. Investigation of the saccharification process using mushroom culture and malt. *Modern biotechnology: topical issues, innovations and achievements*. 2020. pp. 174-176. (in Russian).
- 6 Khokonova M.B., Tsagoeva O.K. Theoretical foundations of mechanic-enzymatic processing of starchy raw materials. *Collection of selected articles based on the materials of scientific conferences of the State Research Institute of National Development*. 2019. pp. 178-181. (in Russian).
- 7 Khokonova M.B. Technology of processing starchy raw materials with obtaining protein-carbohydrate products. *Scientific support of innovative development of the agro-industrial complex of the regions of the Russian Federation*. 2018. pp. 681-684. (in Russian).
- 8 Sergeenko L.A. Saccharification of starch and cellulose-containing raw materials with a complex of thermostable enzyme preparations. *Technology of organic substances*. 2020. pp. 26-29. (in Russian).
- 9 Qin L. et al. Process analysis and optimization of simultaneous saccharification and co-fermentation of ethylenediamine-pretreated corn stover for ethanol production. *Biotechnology for biofuels*. 2018. vol. 11. no. 1. pp. 1-10. doi: 10.1186/s13068-018-1118-8
- 10 Scarpa J.C.P. et al. Saccharification of pretreated sugarcane bagasse using enzymes solution from *Pycnoporus sanguineus* MCA 16 and cellulosic ethanol production. *Industrial Crops and Products*. 2019. vol. 141. pp. 111795. doi: 10.1016/j.indcrop.2019.111795
- 11 Hoşgün E.Z. et al. Ethanol production from hazelnut shells through enzymatic saccharification and fermentation by low-temperature alkali pretreatment. *Fuel*. 2017. vol. 196. pp. 280-287. doi: 10.1016/j.fuel.2017.01.114
- 12 Qiu J. et al. Pretreating wheat straw by phosphoric acid plus hydrogen peroxide for enzymatic saccharification and ethanol production at high solid loading. *Bioresource technology*. 2017. vol. 238. pp. 174-181. doi: 10.1016/j.biortech.2017.04.040
- 13 Bader A.N. et al. Efficient saccharification of microalgal biomass by *Trichoderma harzianum* enzymes for the production of ethanol. *Algal Research*. 2020. vol. 48. pp. 101926. doi: 10.1016/j.algal.2020.101926
- 14 Sharma V., Nargotra P., Bajaj B.K. Ultrasound and surfactant assisted ionic liquid pretreatment of sugarcane bagasse for enhancing saccharification using enzymes from an ionic liquid tolerant *Aspergillus assiutensis* VS34. *Bioresource technology*. 2019. vol. 285. pp. 121319. doi: 10.1016/j.biortech.2019.121319
- 15 Geddes C.C., Nieves I.U., Ingram L.O. Advances in ethanol production. *Current opinion in biotechnology*. 2011. vol. 22. no. 3. pp. 312-319. doi: 10.1016/j.copbio.2011.04.012
- 16 Liu C.G. et al. Cellulosic ethanol production: progress, challenges and strategies for solutions. *Biotechnology advances*. 2019. vol. 37. no. 3. pp. 491-504. doi: 10.1016/j.biotechadv.2019.03.002
- 17 Gupta A., Verma J.P. Sustainable bio-ethanol production from agro-residues: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2015. vol. 41. pp. 550-567. doi: 10.1016/j.rser.2014.08.032
- 18 Dias M.O.S., Junqueira T.L., Jesus C.D., Rossell C.E. et al. Improving second generation ethanol production through optimization of first generation production process from sugarcane. *Energy*. 2012. vol. 43. no. 1. pp. 246-252. doi: 10.1016/j.energy.2012.04.034
- 19 Gao D. M., Kobayashi T., Adachi S. Production of rare sugars from common sugars in subcritical aqueous ethanol. *Food chemistry*. 2015. vol. 175. pp. 465-470. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.11.144
- 20 Moodley P., Kana E.B.G. Comparative study of three optimized acid-based pretreatments for sugar recovery from sugarcane leaf waste: a sustainable feedstock for biohydrogen production. *Engineering science and technology, an international journal*. 2018. vol. 21. no. 1. pp. 107-116. doi: 10.1016/j.jestch.2017.11.010



## Сведения об авторах


**Татьяна С. Ковалева** к.т.н., кафедра биохимии и биотехнологии, Воронежский государственный университет инженерных технологий, пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394036, Россия, tanyakova2501@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-3531-3811>


**Алексей Н. Яковлев** к.т.н., кафедра технологии броидильных и сахаристых производств, Воронежский государственный университет инженерных технологий, пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394036, Россия, vip.alex2702@mail.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-3246-6628>


**Светлана Ф. Яковлева** к.т.н., кафедра биохимии и биотехнологии, Воронежский государственный университет инженерных технологий, пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394036, Россия, svetlana.yakovleva.68@mail.ru

 <https://orcid.org/0000-0003-3686-9966>

**Татьяна Н. Тертычная** д.с.-х.н., кафедра технологии хранения и переработки сельскохозяйственной продукции, Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I, ул. Мичурина, 1, г. Воронеж, 394087, Россия, tertychnaya777@ya.ru

 <https://orcid.org/0000-0001-8185-3424>

**Александр С. Муравьев** к.т.н., отдел СМ, Воронежский государственный университет инженерных технологий, пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394036, Россия, hntrun@mail.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-5989-0752>

## Вклад авторов


Все авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут ответственность за плагиат

## Конфликт интересов


Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Information about authors


**Tatyana S. Kovaleva** Cand. Sci. (Engin.), biochemical department, Voronezh State University of Engineering Technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394036, Russia, tanyakova2501@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-3531-3811>


**Aleksey N. Yakovlev** Cand. Sci. (Engin.), fermentation and sugar production technologies department, Voronezh State University of Engineering Technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394036, Russia, vip.alex2702@mail.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-3246-6628>


**Svetlana F. Yakovleva** Cand. Sci. (Engin.), biochemical department, Voronezh State University of Engineering Technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394036, Russia, svetlana.yakovleva.68@mail.ru

 <https://orcid.org/0000-0003-3686-9966>

**Tatiana N. Tertychnaya** Dr. Sci. (Agric.), technology for storage and processing of agricultural products department, Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, Michurina str., 1, Voronezh, 394087, Russia, tertychnaya777@ya.ru

 <https://orcid.org/0000-0001-8185-3424>

**Aleksandr S. Muravev** Cand. Sci. (Engin.), SM department, Voronezh State University of Engineering Technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394036, Russia, hntrun@mail.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-5989-0752>

## Contribution

All authors are equally involved in the writing of the manuscript and are responsible for plagiarism

## Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

<b>Поступила</b> 15/01/2021	<b>После редакции</b> 10/02/2021	<b>Принята в печать</b> 01/03/2021
<b>Received</b> 15/01/2021	<b>Accepted in revised</b> 10/02/2021	<b>Accepted</b> 01/03/2021