

УДК 661.97:663.52

**ФЕРМЕНТАТИВНИЙ ГІДРОЛІЗ КРОХМАЛЕ-
І ЦЕЛЮЛОЗОВІСНОЇ СИРОВИНИ ДО ЗБРОДЖУВАНИХ
ЦУКРІВ У ВИРОБНИЦТВІ БІОЕТАНОЛУ****Олійнічук С. Т., д.т.н., с.н.с.***з.н.с. відділу технології продуктів бродіння*

Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ, Україна

ORCID ID: 0000-0002-2885-6754

Данілова К. О., к.т.н., с.н.с.,*заст. завідувача відділу технології продуктів бродіння*

Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ, Україна

ORCID ID: 0000-0001-6204-9975

Коваль О. О., н.с.*відділу технології продуктів бродіння*

Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ, Україна

ORCID ID: 0000-0003-1035-5895

<https://doi.org/10.31073/foodresources2019-13-12>

Використання сировини з високим вмістом крохмалю та цукру на виробництво біопалива, зменшує її витрати на харчові продукти і лімітується підвищенням її вартості, що негативно впливає на собівартість та прибутковість біоетанолу. Зважаючи на незначну вартість та велику кількість целюлозовмісної сировини, залучення її для виробництва біоетанолу є актуальною проблемою. Мета роботи – розробка наукових основ технологічного процесу виробництва біоетанолу з суміші крохмале- і целюлозовмісної сировини. Досліджували промислові відходи переробки кукурудзи в якості джерела крохмалю та післязбиральні відходи злакових культур (солома пшениці, стебло кукурудзи та цукрового сорго) як джерело целюлози. Дослідження проводили з використанням класичних методів контролю хімічного і біохімічного каталізу рослинних полісахаридів, існуючого в спиртовій галузі та прийнятого в міжнародній практиці. Вихід моноцукрів з післязбиральних відходів цукрового сорго та кукурудзи після делігніфікації та ферментативного гідролізу був вищим в середньому на 27 % у порівнянні з соломою пшениці. Тривалість ферментативного гідролізу крохмалецелюлозного субстрату кукурудзи складала 20 годин, вихід спирту при цьому був на 1,2 дал вищим ніж в контролі. Запропоновано здійснювати ферментативний гідроліз крохмале- і целюлозовмісної сировини за окремими стадіями, а зброджування проводити спільно. Розроблено технологічну схему отримання біоетанолу з крохмалевмісної сировини і лігніноцелюлозної біомаси.

Ключові слова: крохмаль, целюлоза, лігнін, делігніфікація, гідроліз, біоетанол

ENZYMATIC HYDROLYSIS OF STARCH- AND CELLULOSE-CONTAINING RAW MATERIALS TO FERMENTABLE SUGARS IN BIOETHANOL PRODUCTION

Oliynichuk Serhii, D-r of Sscience, Technique, Senior Researcher,
Chief Researcher of Department of Fermentation Product Technology
Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine
ORCID ID: 0000-0002-2885-6754

Danilova Kateryna, Ph.D., Senior Researcher,
Deputy Head of Department of Fermentation Product Technology
Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine
ORCID ID: 0000-0001-6204-9975

Koval Olga, Researcher
of Department Fermentation Product Technology
Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine
ORCID ID: 0000-0003-1035-5895

<https://doi.org/10.31073/foodresources2019-13-12>

The use of raw material with high maintenance of starch and sugar on the biofuel production, reduces its costs on food products and limited the increase of its value. These factors adversely effect on a prime price and profitability of bioethanol. The attraction of cellulosecontaining raw material for the bioethanol production is an issue of the day because of its insignificant cost and plenty. A purpose of work is development of scientific bases of technological process of bioethanol production from mixture of starch- and cellulosecontaining raw material. Industrial wastes of corn processing as a source of starch and post-harvest wastes of cereal cultures (wheat straw, corn stalk and sugar sorghum) as a source of cellulose were investigated. Researches with the use of classic control methods of chemical and biochemical catalysis of plant polysaccharides, existing in alcohol industry and accepted in international practice, were conducted. Monosugars yield from post-harvest wastes of sugar sorghum and corn after a delignification and enzymatic hydrolysis was higher on the average on 27 % in comparing to the wheat straw. Duration of enzymatic hydrolysis starch-cellulose corn substrate was 20 hours, the alcohol yield was on 1,2 decaliter higher, than in control. It is proposed to carry out enzymatic hydrolysis of starch- and cellulosecontaining raw material on the separate stages, and fermentation to conduct together. The flow diagram of bioethanol production from starchcontaining raw material and ligninecellulose biomass is developed.

Key words: starch, cellulose, lignin, delignification, hydrolysis, bioethanol

Постановка проблеми. На сучасному етапі розвитку біологічні види палива займають одне з пріоритетних місць у загальній структурі відновлюваних енергоносіїв і розглядаються в світовій енергетиці як важливий ресурс для здійснення диверсифікації джерел енергії та забезпечення енергетичної безпеки.

Найбільш поширеним видом біологічного палива є біоетанол – спирт етиловий зневоднений, виготовлений з крохмалевмісної та цукровмісної сировини, яке належить до сировини першого покоління. Використання сировини з високим вмістом крохмалю та цукру на біоетанол зменшує її витрати на харчові продукти і лімітується підвищенням її вартості, що негативно впливає на собівартість та прибутковість біоетанолу. Тому світова спільнота працює над розробленням технологій біоетанолу другого покоління, що базуються на використанні нехарчових залишків рослин, органічних відходів виробництва [1,2]. Щорічно в нашій країні накопичується до 200 млн. т злакової соломи, яка містить до 30% целюлози. Вона мало використовується, гниє або спалюється. В сільськогосподарських районах, де вирощується кукурудза, відходом є кукурудзяне

стебло, запаси якого вимірюються сотнями тисяч тон на рік. Наразі надлишок соломи та стебел сільськогосподарських культур складає близько 21,1 млн. т, проте в біоенергетичному відношенні вони майже не використовуються. Однією з основних причин, що стримують використання потужного потенціалу сировинної бази є відсутність в Україні розроблених технологій її переробки для виробництва біоенергії в цілому і біоетанолу зокрема [3,4].

Целюлозовмісна сировина складається з декількох полімерів: целюлози, геміцелюлози та лігніну, які в сукупності утворюють композиційний матеріал, більш стійкий до дії фізичних і хімічних факторів, ніж окремі компоненти [5]. В основі отримання біоетанолу з целюлозовмісної сировини лежить розщеплення композитної матриці шляхом її деструкції до мономерів: целюлози до глюкози, геміцелюлози до мономерних пентоз і гексоз. Перешкодою для здійснення цього процесу є наявність лігніну, який зшиває целюлозні і геміцелюлозні компоненти клітин в міцну структуру і надає їм твердість і механічну стійкість [6]. Лігнін є природним полімером, основними мономерами якого служать п-кумаровий, коніферилловий і синаповий спирти. Для підвищення доступу целюлози і геміцелюлози клітинна структура біомаси має бути зруйнована з розривом їх зв'язків з лігніном [7].

Відомий широкий спектр методів делігніфікації целюлозовмісної сировини, які за характером впливу можна розділити на чотири типи: фізичні, механічні, хімічні та біологічні. Кожен з наведених вище методів має переваги і недоліки. Основним їх плюсом є значне збільшення реакційної здатності целюлозовмісної сировини. Основним мінусом – досить висока вартість в силу їх матеріало- і енергоємності, необхідність використовувати спеціальні конструкційні матеріали, нейтралізувати і регенерувати реагенти та ін. Багато процесів делігніфікації (різні види подрібнення, обробка розчинниками, лугами та кислотами, пульпування) вимагають витратити більше 20% енергії, яку потенційно можна отримати з вихідної сировини [8].

Зважаючи на незначну вартість та велику кількість целюлозовмісної сировини, залучення (використання) її для виробництва біоетанолу є актуальною проблемою.

Мета роботи – розробка наукових основ технологічного процесу виробництва біоетанолу з суміші крохмале- і целюлозовмісної сировини.

Матеріали та методи досліджень.

Об'єктом досліджень була стадія ферментолізу делігніфікованої целюлози в суміші з крохмалевмісною сировиною.

Основною крохмалевмісною сировиною для виробництва спирту технічного призначення (біоетанолу) використовували промислові відходи переробки кукурудзи. Целюлозовмісною сировиною для виробництва біоетанолу були післязбиральні відходи злакових культур, а саме солома пшениці, стебло кукурудзи та цукрового сорго. Фізико-хімічні показники використовуваної сировини наведено в таблиці 1.

Схема проведення досліджень.

Оцукрювання некрохмальних полісахаридів зерна здійснювали одночасно з оцукрюванням крохмалю.

До наважки 80 г помелу крохмалевмісної сировини додавали 70 см³ декантату лігніноцелюлозної сировини, отриманого після її делігніфікації, і 130 см³ води питної до об'єму 250 см³. В отриману суміш вносили фермент – α -амілазу в кількості дві одиниці активності на 1 грам крохмалю, витримували за температури 90°C упродовж трьох годин, після чого суміш охолоджували до 50°C і вносили глюकोамілазу в кількості 6 одиниць активності на 1 грам крохмалю. Суміш оцукрювали упродовж 1 години. Одночасно з гідролізом крохмалевмісної сировини окремо здійснювали делігніфікацію лігніноцелюлозної біомаси, для чого 20 г подрібненої біомаси змішували з післяспиртовою бардою у співвідношенні 1:1,5, добавляли 100 см³ 96 %-ого етилового

спирту, 2 см³ сірчаної кислоти і здійснювали розчинення лігніну за температури 145°C упродовж 1 години.

В результаті делігніфікації отримали розчин лігніну в кількості 1,7 г і целюлози 9,6 г. Отриману суміш розділяли шляхом перегонки з видаленням спирту. Лігнін при цьому утворював осад. Кубовий залишок після перегонки фільтрували. Фільтрат з вмістом цукрів 0,35 г/100 см³ в повному об'ємі використовували замість води на стадії приготування замісу з крохмалевмісної сировини, а делігніфіковану целюлозу оцукрювали целюлітичними ферментами за температури 55°C упродовж 20 годин і направляли на стадію бродіння крохмалевмісної сировини.

Таблиця 1

Фізико-хімічні показники крохмале- і целюлозовмісної сировини

Показник	Сировина		
Крохмалевмісна сировина - Відходи переробки кукурудзи			
Вміст вологи, %	11,6-11,9		
Некрохмальна домішка, %	3,0-3,5		
Крохмаль, %	57,9-63,0		
Целюлозовмісна сировина			
	Солома пшениці	Стебло кукурудзи	Стебло сорго
Целюлоза, %	30,0-34,0	28,0-30,0	23,0-25,0
Геміцелюлоза, %	21,0-23,0	30,0-32,0	33,0-35,0
Лігнін, %	25,0-27,0	24,0-28,0	16,0-18,0
Пентозани, %	11,0-12,0	11,0-12,0	10,0-11,0
Зола, %	5,9-6,9	2,0-3,0	1,0-2,9

Зброджування гідролізатів після ферментолізу проводили за температури 30-36°C протягом 24 годин штамом дріжджів Termosacc® Dry виробництва Lallemand Inc. (Австрія). Даний штам придатний для зброджування суслу високої концентрації, є термо- та осмо-толерантним [9].

Дослідження проводились з використанням класичних методів контролю хімічного і біохімічного каталізу рослинних полісахаридів, існуючого в спиртовій галузі та прийнятого в міжнародній практиці. Кількість редукуючих речовин визначали за методом Макена-Шоорля [10]. Як критерій ферментолізу целюлози використовували відношення редукуючих речовин до маси наважки, взятої на ферментативний гідроліз, у перерахунку на абсолютно суху речовину. Гідролізат зброджували дріжджами за методом «бродильної проби», що є арбітражним для визначення виходу спирту у спиртовій галузі [11].

Результати і обговорення.

Деструкція лігніноцелюлозної біомаси проводиться хімічним або ферментативним гідролізом. Ферментативний гідроліз лігніноцелюлози, на відміну від хімічного, виключає утворення токсичних напівпродуктів, а також гарантує високий вихід зброджуваних цукрів. Результати визначення вмісту редукуючих речовин (моноцукрів) після делігніфікації та ферментативного гідролізу наведено в таблиці 2.

Як видно з даних таблиці 2, вихід моноцукрів з післязбиральних відходів цукрового сорго та кукурудзи після делігніфікації та ферментативного гідролізу був вищим в середньому на 27 % у порівнянні з соломою пшениці. Це пояснюється більшим індексом кристалічності целюлози соломи пшениці, вмістом золи та співвідношенням целюлоза: геміцелюлоза в сировині. Виходячи з цих результатів (табл.2) можна зробити висновок про схожість будови макромолекул целюлози стебла кукурудзи і цукрового сорго щодо співвідношення кристалічної целюлози до аморфної. Однак, за рахунок значно нижчого

вмісту початкового лігніну, багаса цукрового сорго виявилась більш доступною для дії як комбінованого розчинника, так і целюлолітичного ферментного препарату.

Таблиця 2

**Вихід редукуючих речовин і моноцукрів
після ферментативного гідролізу лігніно-целюлозної біомаси**

Показник	Вид сировини		
	Солома пшениці	Стебла кукурудзи	Цукрове сорго
Вихід твердого залишку після делігніфікації, % до а.с.р. наважки	56,1	41,7	38,6
Вміст редукуючих речовин у фільтраті після делігніфікації, % до а.с.р. наважки	17,7	25,3	30,8
Вміст редукуючих речовин у гідролізаті після обробки ФП, % до а.с.р. твердого залишку	19,1	32,3	37,3
Загальний вихід редукуючих речовин, % від вмісту целюлоз і геміцелюлоз в сировині	45,4	65,9	74,5

Дані, що характеризують процес одночасного гідролізу крохмале-целюлозного субстрату кукурудзи системами амілаз і целюлази наведено в таблиці 3. Контрольний гідроліз здійснювали класичним способом ферментативного оцукрювання субстрату кукурудзи комплексом амілолітичних і целюлолітичного ферментів. В подальших дослідях проводили оцукрювання субстрату з подальшою витримкою протягом 4 і 20 годин.

Таблиця 3

**Вплив тривалості ферментативного гідролізу
крохмале-целюлозного субстрату кукурудзи**

Показник	Тривалість оцукрювання з целюлазою, год		
	Контроль	Витримка з целюлазою 4 год	Витримка з целюлазою 20 год
рН середовища на період внесення целюлази	4,5	5,0	5,0
Вміст спирту, % об.	10,4	10,45	10,6
Загальні вуглеводи, г/100 см ³	0,476	0,443	0,359
Водорозчинні вуглеводи, г/100 см ³	0,293	0,341	0,276
Нерозчинений крохмаль, г/100 см ³	0,16	0,09	0,07
Спирторозчинні вуглеводи, г/100 см ³	0,278	0,221	0,233
Декстрини, г/100 см ³	0,01	0,108	0,039
Вміст гліцерину в бражці, г/100 см ³	0,94	1,05	0,91
Вихід спирту, дал з тонни сировини	66,5	66,8	67,7

З наведених даних видно, що при внесенні целюлази в заміс за тривалості гідролізу в межах, необхідних для оцукрювання крохмалю, не відбувається гідроліз некрохмальних полісахаридів, що, можливо, пояснюється конкурентним і прямим інгібуванням целюлазної системи. За збільшення тривалості процесу одночасного оцукрювання до чотирьох годин ефективність гідролізу некрохмальних полісахаридів була незначною, а вихід спирту з тонни сировини збільшився лише на 0,3 дал, за тривалості оцукрювання до 20 годин цей показник становив 1,2 дал.

Фізико-хімічні показники дозрілої бражки, отриманої при одночасному гідролізі і оцукрюванні полісахаридів відходів переробки кукурудзи наведено в таблиці 4. Як видно з даних таблиці, кількість загальних незброджених вуглеводів в бражці, одержаної способом сумісного оцукрювання і бродіння була вищою при витримці з целюлазою, ніж в контролі. Згідно теоретичних концепцій [11] про кінетику гідролізу крохмале-целюлозного субстрату, можна зробити висновок про те, що такий багатоступеневий процес не співпадає з процесом бродіння утворених цукрів в часі. Таким чином, здійснення амілолізу та целюлолізу крохмале-целюлозного комплексу в одному реакторі менш ефективно в порівнянні з окремими стадіями.

Тому в подальших дослідженнях ферментативний гідроліз крохмале- і целюлозовмісної сировини проводили за окремими стадіями оцукрювання амілолітичними і целюлолітичними ферментами, потім сусло змішувалось і зброджувалось в одному апараті дріжджами-сахароміцетами.

Таблиця 4

**Фізико-хімічні показники дозрілої бражки,
одержаної способом сумісного оцукрювання і бродіння**

Показник	Процес оцукрення	
	Суміщений з бродінням (контроль)	Тривалий із застосуванням целюлази
pH дозрілої бражки	4,20	3,76
Кількість виділеного CO ₂ , г	24,18	24,72
Вміст спирту, % об.	12,00	12,05
Загальні незброджені вуглеводи, г/100см ³	0,397	0,451
Водорозчинні незброджені вуглеводи, г/100см ³	0,374	0,355
Нерозчинений крохмаль, г/100 см ³	0,02	0,09
Спирторозчинні незброджені вуглеводи, г/100 см ³	0,117	0,255
Декстрини, г/100 см ³	0,09	0,23
Вміст гліцерину в бражці, г/100 см ³	0,72	0,69

В таблиці 5 наведено показники дозрілої бражки, одержаної після спільного зброджування сусла, одержаного з крохмалевмісної і целюлозовмісної сировини. Одночасно проводили процес бродіння сусла з крохмалевмісної сировини за класичною технологією.

Таблиця 5

Фізико-хімічні показники дозрілої бражки

Найменування показника	Бражка, одержана за класичною технологією	Бражка після спільного ферментолізу
Видима густина, % СР	0,0–(-1,5)	0,0–(-1,5)
Кислотність, см ³ 1 н NaOH на 20 см ³ , не більше	0,5	0,5
Загальні незброджені вуглеводи, г/100 см ³ , не більше	0,53–0,59	0,36–0,38
Водорозчинні незброджені вуглеводи, г/100 см ³ , не більше	0,43–0,48	0,26–0,29
Спирторозчинні незброджені вуглеводи, г/100 см ³ , не більше	0,15–0,16	0,17–0,19
Вміст спирту, % об., не менше	12,0–12,3	12,5–12,9

На основі проведених досліджень запропоновано технологічну схему отримання біоетанолу з крохмалевмісної сировини і лігніноцелюлозної біомаси (рис.1), що базується на ферментативному гідролізі крохмалевмісної сировини, делігніфікації целюлозовмісної сировини органічним розчинником, ферментативному гідролізі целюлози і зброджуванні низькомолекулярних вуглеводів, які утворюються в процесі оцукрення.

Технологія включає такі стадії:

- очищення і підготовка сировини;
- теплова і термоферментативна обробка крохмалевмісної сировини;
- розрідження замісу;
- оцукрювання розрідженого замісу;
- приготування помелу і теплова обробка целюлозовмісної сировини;
- екстракційне вилучення лігніну і гідроліз геміцелюлози органічним розчинником;
- ферментативний гідроліз целюлози;
- зброджування суслу дріжджами-сахароміцетами.

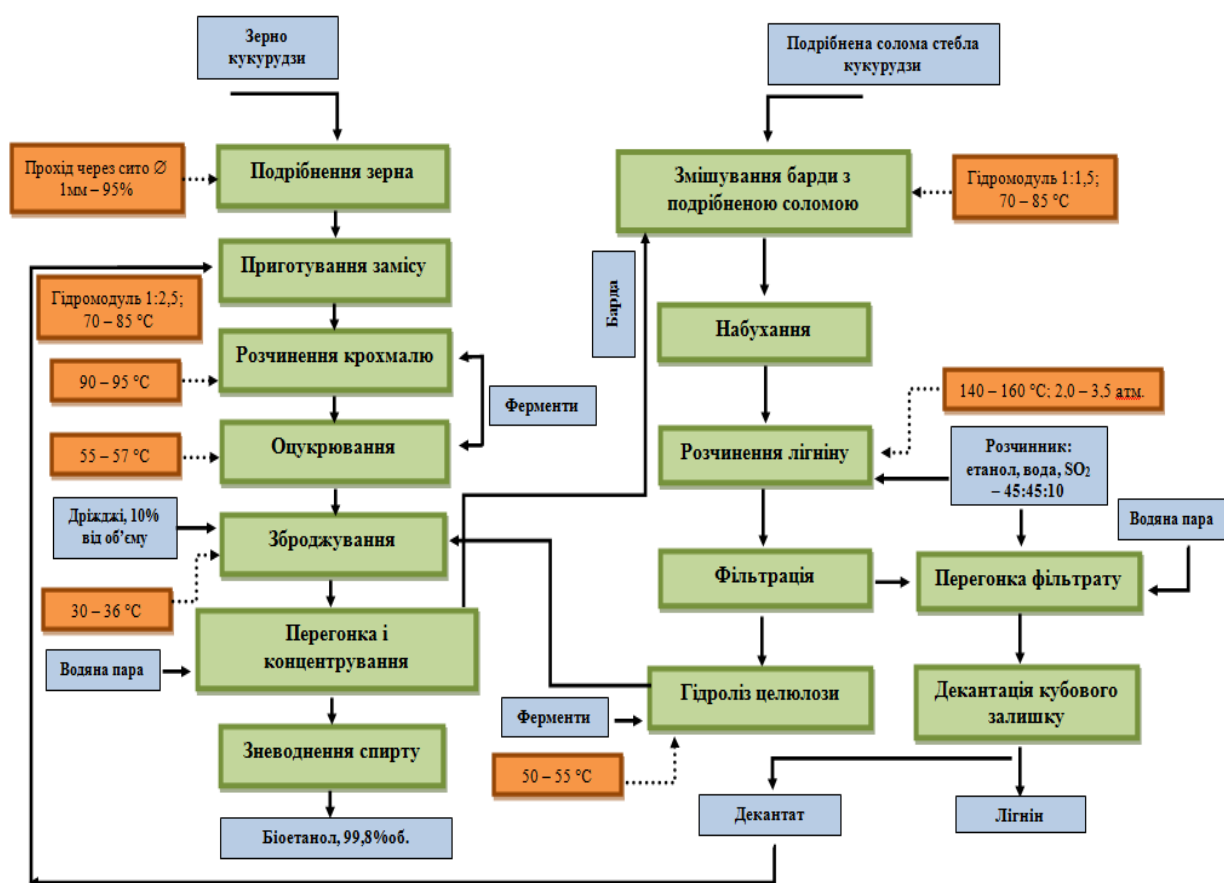


Рис.1. Технологічна схема виробництва біоетанолу з крохмалевмісної та целюлозовмісної сировини

Попередня обробка крохмалевмісної сировини включає її подрібнення, змішування помелу зерна з декантатом, одержаним після перегонки рідкої фракції, утвореної після гідролізу целюлозовмісної сировини у співвідношенні 1:2,5 за температури 70-85°C. Заміс крохмалевмісної сировини підігрівається вторинною парою до температури 90-95°C і подається на розрідження, де під дією ферменту α -амілаза відбувається розчинення крохмалю. Утворене сусло охолоджується до температури 55°C і оцукрюється до декстринів та моноцукрів комплексом глікоамілолітичних та целюлолітичних

ферментних препаратів. Оцукрене сусло подається на зброджування за температури 30-36°C з додаванням дріжджів-сахароміцетів.

Целюлозовмісна сировина подрібнюється, змішується з після-спиртовою бардою після перегонної колони за температури 70-85°C, обробляється розчинником лігніну, що складається з етилового спирту, води і сірчистого ангідриду у співвідношенні 45:45:10 за температури 140-160°C та надлишкового тиску 2,0-3,5 атм. За таких умов лігнін оксисульфується у водорозчинну форму лігніносальфонатів і переходить в розчин, а геміцелюлоза гідролізується до мономерів і разом з целюлозою залишаються в осаді. Потім проводили фільтрацію з розділенням на тверду і рідку фракції. Тверда фракція, що містить целюлозу, гідролізується до глюкози ферментними препаратами целюлолітичної дії за температури 50°C та pH – 5,0 і направляється на стадію зброджування цукрів.

Рідка фракція, що містить переважно розчинник, лігнін і геміцелюлози, переганяється за температури 100°C, виділяється парова фаза і кубовий залишок. Парова фаза, що складається з водно-спиртового розчину і сірчистого ангідриду SO₂, як розчинник використовувалась повторно для розчинення лігніну. Кубовий залишок, що містив лігнін, піддавали декантації, лігнін випадав в осад, а декантат використовували для приготування замісу крохмалевмісної сировини.

Технологічні показники, що підтверджують перевагу запропонованої технології у порівнянні з класичним способом наведені в таблиці 6.

Таблиця 6

Показники ефективності технології оцукрювання крохмалевмісної і целюлозовмісної сировини і спільного зброджування одержаного сусла

Показник	Класична технологія	Запропонована технологія
Кількість цукрів введено на бродіння, г	50	51,7
Кількість утвореного спирту, см ³	33,2	35,0
Вміст незбродженого цукру, г/100 см ³	0,57	0,37
Вихід спирту з однієї тонни крохмалю, дал	66,5	67,7

Як видно з таблиці 6, за спільним способом зброджування крохмале- і целюлозовмісної сировини утворюється на 1,8 см³ більше етилового спирту, вміст незбродженого цукру в бражці менший на 0,2 г, ніж у бражці, одержаної за класичною технологією. Таким чином, вихід спирту з однієї тонни крохмалю буде більшим на 1,2 дал у порівнянні з класичною технологією.

Висновки

На основі результатів теоретичних та експериментальних досліджень розроблено технологію сумісної переробки крохмалевмісної та целюлозовмісної сировини злакових культур з одержанням біоетанолу.

Показано, що ферментоліз некрохмальних полісахаридів зерна кукурудзи та целюлозовмісної сировини за розробленою схемою забезпечує збільшення виходу спирту на 1,2 дал з тонни сировини.

Технологія є ресурсозберігаючою за рахунок заміни технологічної води на декантат і післяспиртову барду при приготуванні замісів крохмалевмісної і целюлозовмісної сировини і вирішує нагальну екологічну проблему – утилізацію відходів біоетанольного виробництва при забезпеченні усіх нормативних показників.

Бібліографія

1. Харина М. В., Григорьева О. Н. Предварительная обработка лигнино-целлюлозного сырья с целью повышения эффективности производства этанола. Биохимия и биотехнология. 2011. №16. С. 158-166
2. Патент № 2159816 РФ. Способ производства этанола из целлюлозосодержащих отходов (варианты) и способ получения глюкозы из целлюлозосодержащих отходов. Р. Чиффэло, Дж. Лайтсей. № 96115272/13; заявл. 16.12.1994; опубл. 27.11.2000, Бюл. №34. 12 с.
3. Патент №2405838 РФ Способ осахаривания лигниноцеллюлозного сырья. Е. Р. Давидов (и др.). №2009116796/10; заявл. 05.05.2009; опубл. 10.12.2010, Бюл. №34. 7 с.
4. Zhoulian, H., Ragauskas, A.J. Hydrothermal pretreatment of switchgrass. Industrial and Engineering Chemistry Research. 2011. № 50. P.4225-4230.
5. Глепп Р. Е., Ганг Л. Дж., Брауэр Р. Дж. Фракционирование целлюлозы. Целлюлоза и ее производные. М. 1974. Т. 1. С. 382-412.
6. Елинов И. П. Химия микробных полисахаридов. М. 1984. 162 с.
7. Колвин Дж. Р. Структура и образование целлюлозных микрофибрилл. Целлюлоза и ее производные. Ред. Н. Байклз, Л. Сегал. М. 1974. Т. 2. С. 20-46.
8. Никитин В. М., Оболенская А. В., Щеглов В. П. Химия древесины и целлюлозы. М. 1978. 363 с.
9. Thermosacc® dry. Lallemand biofuels & distilled spirits. URL: <http://www.lallemandbds.com/products/thermosacc-dry>.
10. Оболенская А. В., Ельницкая З. П., Леонович А. А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. Учеб. пособие для вузов. М.: Экология, 1991. 320 с.
11. ГСТУ 46.045.2003 Зерно. Методи визначення умовної крохмалистості. Введено 01.01.2004. К.: Мінагрополітики України, 2003. 14 с.

References

1. Harina, M., Grigor`eva, O. (2011). Predvaritelnaya obrabotka ligninoceliyloznogo syr`ya s celiy povyicheniya effektivnosti proizvodstva etanola. [Preliminary processing lignin-cellulose raw material in order to increase efficiency ethanol production]. Biohimiya i biotehnologiya [Biochemistre and Biotechnology]. 16. P. 158-166 [in Russian].
2. Chiffelo, R. Litsei, J. Patent № 2159816 RF. Spособ proizvodstva etanola iz celliylozosoderjachih othodov (variantyi) i spособ polucheniya glykozyi iz celliylozosoderjachih othodov [Method of ethanol production from cellulose-containing wastes (variants) and method of obtaining a glucose from cellulose-containing wastes] № 96115272/13; stated. 16.12.1994; Publ. 27.11.2000. № 34. 12 p. [in Russian].
3. Davidov, E. Patent № 2405838 RF. Spособ osaharivaniya ligninoceliyloznogo syr`ya [Method of saccharification of lignin-cellulose raw material] №2009116796/10; stated 05.05.2009; Publ. 10.12.2010, Bul. № 34. 7 c. [in Russian].
4. Zhoulian, H., Ragauskas, A.J. Hydrothermal pretreatment of switchgrass. Industrial and Engineering Chemistry Research. 2011. № 50. P.4225-4230.
5. Glegg, R., Gang, L., Brawer, R. (1974). Frakcionirovanie celliylozyi. Celliyloza i ee proizvodnyie [Cellulose fractionation. Cellulose and its derivatives]. Moscow, 1, P. 382-412 [in Russian].
6. Elinov, I. (1984). Himiya mikrobnih polisaharidov [Chemistry of microbial polysaccharides]. Moscow, 162 p. [in Russian].
7. Kolvin, J. (1974). Struktura i obrazovanie celliyloznyih mikrofibrill. Celliyloza i ee proizvodnyie [Structure and formation cellulose microfibrils. Cellulose and its derivatives]. Moscow, 2, P. 20-46 [in Russian].

8. Nikitin, V., Obolenskaya, A., Cheglov, V. (1978). Himiya drevesinyi i celliylozyi [Chemistry of wood and cellulose]. Moscow, 363 p. [in Russian].
9. Thermosacc® dry. Lallemand biofuels & distilled spirits. URL: <http://www.lallemantbds.com/products/thermosacc-dry>.
10. Obolenskaya, A., Elnitskaya, Z., Leonovich, A. (1991). Laboratornyie raboty po himii drevesinyi i celliylozyi. [Laboratory research on wood and cellulose chemistry]. Ekologiya [Ecology]. Moscow, 320 p. [in Russian].
12. **GSTU 46.045 (2003) Zerno.** Metodyi vyiznachennya umovnoi krohmalistosti [Grain. Method of determination conditional starch]. Minagropolityiky Ukrainyi. Kyiv: 14 p. [in Ukrainian].