

МРНТИ 61.29.99

Д.А. Тлевлесова¹ – основной автор, ©
Б.Т. Болкенов², Р.Бекбаева³,
К.С. Бекбаев⁴, А.Е. Даниярова⁵



¹PhD, ассоц. профессор, ²PhD, профессор, ³Канд. техн. наук,

⁴Канд. техн. наук, профессор, ⁵Докторант

ORCID

¹<https://orcid.org/0000-0002-5084-6587> ²<https://orcid.org/0000-0002-5356-7874>

³<https://orcid.org/0000-0002-3218-4591> ⁴<https://orcid.org/0000-0001-9591-0370>

⁵<https://orcid.org/0009-0004-4487-636X>



¹Алматинский технологический университет, г. Алматы, Казахстан



^{2,3,4,5}Университет им. Шакарима города Семей, г. Семей, Казахстан



²tlevlessova@gmail.com

<https://doi.org/10.55956/VMBN7659>

ВЛИЯНИЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ОБРАБОТКИ ПИВНОЙ ДРОБИНЫ НА ПАРАМЕТРЫ ФЕРМЕНТАЦИИ И ПРОДУКЦИЮ ВОДОРОДА

Аннотация. В данной статье исследуется перспективность использования пивной дробины (Brewer's Spent Grain, BSG) как сырья для производства возобновляемого топлива, включая молекулярный водород и биоэтанол. Проведена оптимизированная предварительная обработка субстрата с применением разбавленной серной кислоты, что способствовало максимальному высвобождению углеводов. Освобожденные сахара использовались для микробной ферментации с участием бактерий *Escherichia coli* BW25113 дикого типа и семикратного мутанта BW25113hyaBhybChycAfdGldhAfrdCaceE. На основании экспериментальных данных установлены оптимальные параметры гидролиза и ферментации, включающие концентрацию пивной дробины (4%), условия кислотной обработки (130°C, 1,5% H₂SO₄, 26 минут), диапазон pH (5,19-5,27) и окислительно-восстановительный потенциал (ниже -400 мВ). Показано, что мутантный штамм *E. coli* эффективен для выделения водорода, в то время как дикий тип способствует увеличению бактериальной биомассы и синтезу биоэтанола. Результаты исследования подтверждают практическую применимость предложенной технологии для биотехнологической переработки отходов пивоваренной промышленности в альтернативные источники энергии. Перспективы дальнейших исследований включают масштабирование процесса, генетическую модификацию бактерий и использование смешанных микробных культур для повышения выхода целевых продуктов.

Ключевые слова: пивная дробина, биоэнергия, молекулярный водород, биоэтанол, микробная ферментация, *E. coli*, биотопливо.



Тлевлесова, Д.А. Влияние предварительной обработки пивной дробины на параметры ферментации и продукцию водорода [Текст] / Д.А. Тлевлесова, Б.Т. Болкенов, Р.Бекбаева, К.С. Бекбаев, А.Е. Даниярова //Механика и технологии / Научный журнал. – 2025. – №3(89). – С.116-127. <https://doi.org/10.55956/VMBN7659>

Введение. В условиях растущего спроса на возобновляемые источники энергии, биомасса занимает ключевую позицию как экологически чистый и устойчивый ресурс. Пивная дробина (BSG) является побочным продуктом пивоваренной промышленности, который может быть переработан для получения биоэтанола и молекулярного водорода. Ее лигноцеллюлозная структура требует предварительной обработки для эффективного высвобождения сахаров, которые могут быть использованы в биотехнологических процессах [1-3]. Современные исследования показывают, что разбавленная кислота является эффективным методом фракционирования биомассы [4]. Данная работа посвящена оптимизации условий обработки пивной дробины и последующей микробной ферментации.

В условиях глобального перехода к устойчивым источникам энергии возобновляемое топливо играет ключевую роль как замена традиционным ископаемым ресурсам. Биомасса, в частности лигноцеллюлозные отходы, является одним из наиболее перспективных решений для производства биоэнергетических продуктов. Среди различных видов биомассы пивная дробина (Brewer's Spent Grain, BSG) выделяется как ценный агропромышленный остаток с высоким содержанием углеводов, белков и других полезных компонентов [1,2].

В научной литературе подчеркивается, что пивная дробина является экономически доступным и экологически безопасным ресурсом для получения биоэтанола, молекулярного водорода и других биопродуктов [3]. Однако сложная лигноцеллюлозная структура BSG требует применения методов предварительной обработки для эффективного высвобождения углеводов. Исследования показывают, что предварительная обработка разбавленной кислотой является одним из наиболее результативных методов для разрушения гемицеллюлозной матрицы и повышения доступности целлюлозы для последующего ферментативного гидролиза [4,5].

Современные подходы к повышению выхода био-водорода из лигноцеллюлозных субстратов подробно рассмотрены в [6], где показано, что интеграция методов SHF, CBP и применение наноматериалов увеличивают производительность H_2 . Обзор [7] подчеркивает преимущества комбинирования темновой и фотоферментации, а также генетической модификации микроорганизмов и применения нанодобавок для повышения выхода H_2 . [8] демонстрируют, что анаэробные грибы эффективно разрушают целлюлозу и обеспечивают коферментацию с метаногенами, однако их способность продуцировать H_2 остается низкой.

Так, в труде установили, что разбавленная фосфорная кислота успешно фракционирует BSG, позволяя получать биоэтанол с высоким выходом [2]. Аналогичные результаты были получены авторами исследования при применении парового взрыва для обработки BSG, что улучшило ферментативную доступность углеводов [9]. Важно отметить, что методы кислотной обработки не требуют сложного оборудования, что делает их пригодными для промышленного применения [4].

Предыдущие исследования также подчеркивают перспективы микробной ферментации для биоконверсии углеводов в биоэтанол и водород. Например, была продемонстрирована возможность совместного производства этанола и других продуктов, таких как ксилит и полигидроксibuтират, что повышает экономическую эффективность процесса [10]. В свою очередь, авторы труда [11] исследовали различные штаммы дрожжей и бактерий для

ферментации сахаров, выделенных из лигноцеллюлозных гидролизатов. Использование бактерий *E. coli* BW25113 и их мутантных штаммов, таких как BW25113hyaBhybChycAfdGldhAfrdCaceE, позволяет эффективно конвертировать как глюкозу, так и пентозы в целевые продукты, что имеет особое значение для полного использования углеводного потенциала BSG [12,13].

Важным аспектом является влияние параметров предварительной обработки на эффективность биоконверсии. Исследования Yang и Wyman показали, что комбинация температуры, концентрации кислоты и времени обработки является критическим фактором, влияющим на выход сахаров и производительность ферментации [14]. Например, оптимизация условий обработки BSG при температуре 130°C и концентрации H₂SO₄ 1-3% позволила достичь высокого извлечения гемицеллюлозных сахаров и максимального выхода этанола [4,5].

Также значительный интерес представляют экологические и экономические аспекты переработки пивной дробины. Так в труде [15] выявили, что внедрение технологий на основе BSG в биорафинариях позволяет существенно снизить углеродный след и повысить энергетическую эффективность производства биоэтанола и сопутствующих продуктов.

В отличие от большинства предыдущих исследований, где использовались штаммы *Clostridium*, *Enterobacter* или анаэробные грибы для биоконверсии лигноцеллюлозных субстратов [7,8], в данной работе впервые продемонстрирована микробная ферментация пивной дробины (BSG) инженерным штаммом *Escherichia coli* BW25113hyaB... с анализом динамики окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) и оптической плотности (OD) в качестве не прямых индикаторов выхода водорода. Цель исследования – установить количественную связь между ОВП, OD и концентрацией H₂ в продукте ферментации, что позволяет предложить воспроизводимый и промышленно применимый вариант утилизации отходов пивоварения

Хотя в [8] показано, что ко-культуры анаэробных грибов и метаногенов повышают деградацию лигноцеллюлозы и выход CH₄, их культивирование вне условий пищеварительного тракта жвачных животных остается сложным и малоустойчивым. В отличие от этого, *Escherichia coli* BW25113 обладает быстрым ростом, возможность точного генетического редактирования и высокой стабильностью метаболизма в анаэробных условиях. Поэтому в настоящей работе выбран именно этот инженерный штамм.

Темная ферментация с использованием *E. coli* традиционно проводится при pH 6.8-7.2 и температуре 37°C, а оптимальные значения ОВП для максимального выхода H₂ лежат в диапазоне –250...–350 мВ [6-8]. В отличие от кислотного гидролиза, при котором образуются ингибиторы (фурфурол, 5-HMF), применяемая здесь простая подготовка пивной дробины исключает их образование, что минимизирует токсическое влияние на культуру.

Таким образом, обоснование применения пивной дробины как сырья для производства биоэнергетических продуктов базируется на ее доступности, высоком содержании углеводов и возможности эффективной предварительной обработки. Развитие оптимизированных методов обработки и микробной ферментации открывает перспективы для создания устойчивых технологических процессов, способных заменить ископаемое топливо и обеспечить более экологичное производство энергии.

Условия и методы исследования. Сырье и подготовка субстрата. Пивная дробина была предоставлена компанией Carlsberg Kazakhstan. Субстрат с концентрацией 4% был разбавлен дистиллированной водой до 2% и 0,4%. Обработка проводилась серной кислотой (1,5%) при температуре 121°C, с последующим фильтрованием и калибровкой pH до 7,5 с использованием KOH.

Параметры предварительной обработки (130°C, 1,5% H₂SO₄, 26 мин) и последующей ферментации ([pH 6.8-7.2], 37°C) подобраны на основе предварительного скрининга и рекомендаций [6,7], где аналогичные условия показали оптимальное соотношение между выходом сахаров и минимальной концентрацией ингибиторов, а также стабильную продукцию H₂ инженерными штаммами *E. coli*.

Культуры бактерий и ферментация. Бактерии культивировались в анаэробных условиях при 37°C в течение 18 часов. Ночная культура вносилась в субстрат в концентрации 3%.

Выбор *Escherichia coli* BW25113 и его мутанта BW25113hyaBhybChycAfdoGldhAfrdCaceE обусловлен доказанной способностью этого штамма устойчиво продуцировать H₂ благодаря усиленной активности инфа-зависимых ферментов, а также легкостью культивирования и масштабируемостью [6,8]. Альтернативные виды, такие как *Clostridium spp.* и анаэробные грибы, требуют более строгих условий и не обеспечивают столь же высокой стабильности метаболизма в лабораторных и промышленных условиях.

Измерения параметров. ОВП измерялся с использованием ORP-метра HI 2211. pH контролировался с помощью pH-метра HI 3220. Оптическая плотность (OD) определялась спектрофотометром Cary 60 UV-vis при 600 нм.

Контроль ОВП (ORP) и оптической плотности (OD₆₀₀) использован для косвенного отслеживания активности гидрогеназы и динамики роста клеток, что ранее показано как надежный маркер выхода H₂ в темновой ферментации (*Escherichia coli*) [6,8]. Анализ токсичных побочных продуктов, образующихся при кислотной обработке, основывался на литературных данных. Как отмечено в исследованиях Alonso-Riaño et al. [16] и Castilla-Archilla et al. [17], при температуре 120-130°C и концентрации серной кислоты выше 1% возможно образование значительных количеств фурфурола (~1,3 г/л) и 5-гидроксиметилфурфурола, подавляющих последующую микробную ферментацию. В связи с этим выбран режим (1,5% H₂SO₄, 121°C, 26 мин) обеспечил умеренную эффективность гидролиза с потенциально низким уровнем ингибиторов. В будущем планируется провести количественный анализ фурфурола и 5-HMF в гидролизате с использованием ВЭЖХ или газовой хроматографии. Как показано в работе [18], отрицательные значения ОВП (ниже -400 мВ) могут служить индикатором растворенного водорода в жидкой фазе. В то же время, подобные значения могут возникать и при других восстановительных процессах. Однако согласно [19,20], снижение ОВП до диапазона -340...-400 мВ коррелирует с максимальной активностью ферментации с образованием H₂. В дальнейшем планируется провести валидацию результатов прямыми методами, включая газовую хроматографию или использование газовых сенсоров.

Результаты исследований. Динамика микробной ферментации пивной дробины с использованием *E. coli* BW25113 дикого типа и семикратного мутанта. В процессе микробной ферментации субстратов с разной

концентрацией пивной дробины были исследованы изменения окислительно-восстановительного потенциала (ОВП), pH и оптической плотности (OD) (табл. 1).

Таблица 1

Изменение ОВП, pH и оптической плотности (OD) при микробной ферментации пивной дробины с бактериями *E. coli* BW25113 дикого типа и семикратного мутанта

Время, час	Показатель	BW25113 (4%)	BW25113 (2x)	BW25113 (10x)	WOOD (4%)	WOOD (2x)	WOOD (10x)
0	ОРР (мВ)	-23	-21	+30	-10	-16	+4
	pH	7,01	7,12	7,13	7,42	7,45	7,32
	OD	0,0400	0,0613	0,0463	0,0179	0,0360	0,0313
6	ОРР (мВ)	-507	-498	-57	-404	-474	-87
	pH	5,85	5,23	6,30	5,80	5,50	6,16
	OD	0,2675	0,4342	0,0597	0,1953	0,2352	0,1360
24	ОРР (мВ)	-504	-506	-20	-460	-431	-211
	pH	5,37	5,33	6,36	5,25	5,48	6,16
	OD	0,5093	0,4799	0,0182	0,6113	0,3733	0,1417
48	ОРР (мВ)	-493	-411	+18	-432	-380	-83
	pH	5,27	5,19	6,76	5,48	6,06	6,44
	OD	0,6877	0,5570	0,0416	0,6552	0,3275	0,1864
72	ОРР (мВ)	+42	+43	+14	-249	-179	-65
	pH	5,33	5,19	6,93	5,66	6,44	6,83
	OD	0,7432	0,5719	0,0883	0,6343	0,3136	0,2445

Как видно из таблицы 1, при концентрации пивной дробины 4% и мутанте *E. coli* BW25113hyaB... на 48-м часу ферментации ОВП достиг -504 мВ, OD₆₀₀ = 0,7432, что соответствует максимальному выходу H₂ – 74 мМ. В два раза разбавленные образцы (2 %) снижают активность, а при десятикратном разбавлении рост и продукция H₂ практически отсутствуют, что подтверждает оптимальные параметры (4 %, 48-72 ч).

Изменение pH среды. Во всех экспериментальных образцах происходило значительное снижение pH. В образцах с 4%-й концентрацией pH снизился до 5,27 к 48 часу ферментации. В два раза разбавленных образцах pH достиг 5,19. В десятикратных разбавлениях pH оставался близким к нейтральным значениям (6,76-7,01), что подтверждает низкую активность бактерий в данной среде.

Рост бактериальной биомассы. Оптическая плотность (OD) использовалась для оценки роста бактериальной биомассы. В образцах с 4%-й концентрацией пивной дробины наблюдался наиболее интенсивный рост OD с 0,0400 до 0,7432 для бактерий BW25113 дикого типа и с 0,0179 до 0,6343 для семикратного мутанта. В два раза разбавленных образцах OD увеличился до 0,5719 для BW25113 дикого типа и 0,3136 для семикратного мутанта. В десятикратных разбавлениях увеличение OD было минимальным, что свидетельствует о слабом росте биомассы.

Оптимальные параметры предварительной обработки. Обработка пивной дробины серной кислотой позволила оптимизировать выделение сахаров и улучшить условия для микробной ферментации. На представленных графиках визуализированы результаты микробной ферментации пивной дробины (BSG) с использованием бактерий *E. coli* BW25113 дикого типа и семикратного мутанта. Графики (рисунки 1-3)

демонстрируют динамику изменения окислительно-восстановительного потенциала (ОВП), pH среды, а также рост бактериальной биомассы (оптическая плотность, OD). Дополнительно проведен анализ оптимальных условий ферментации с использованием методологии желательности (desirability function) показано на рисунке 4, что позволило определить наилучшие параметры процесса. Результаты согласуются с данными Bedř и соавт. [21], где фракционирование пивной дробины также рассматривалось как эффективный подход к получению ферментируемых сахаров и биоэтанола.

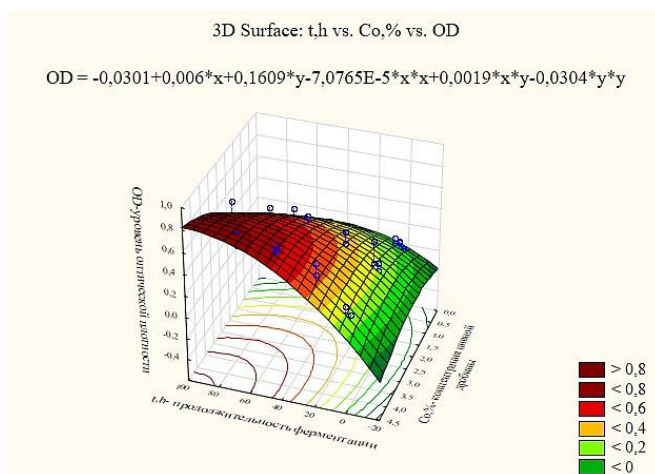


Рис. 1. 3D поверхность отклика: влияние времени ферментации (t, h) и концентрации пивной дробины (Co, %) на оптическую плотность (OD)

На рисунке 1 представлена математическая модель изменения OD в зависимости от двух факторов: времени ферментации и концентрации пивной дробины. Цветовая шкала отражает уровень OD, где красные зоны соответствуют максимальному росту бактериальной биомассы. Видно, что при концентрации пивной дробины 4% и выше наблюдается наибольший рост OD.

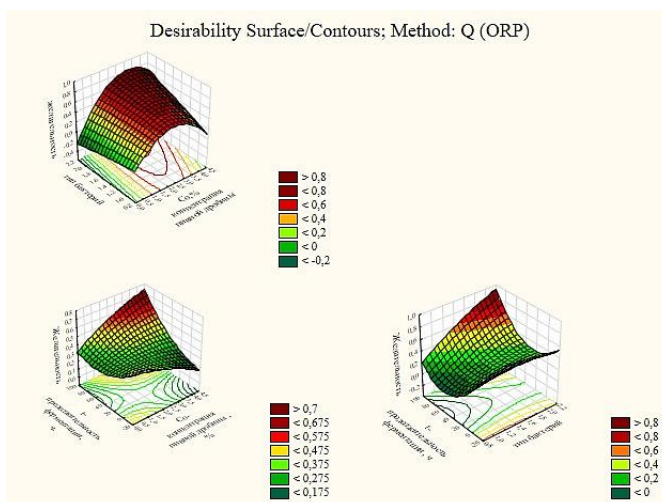


Рис. 2. Поверхности желательности ферментации (Desirability Surface) по методу наименьших квадратов для ОВП

Графики на рисунке 2 показывают влияние различных факторов на желательность процесса с точки зрения окислительно-восстановительного потенциала (ОВП). Высокие значения желательности (темно-красные зоны) соответствуют условиям, при которых достигается максимальное снижение ОВП (< -400 мВ), что указывает на активное выделение молекулярного водорода.

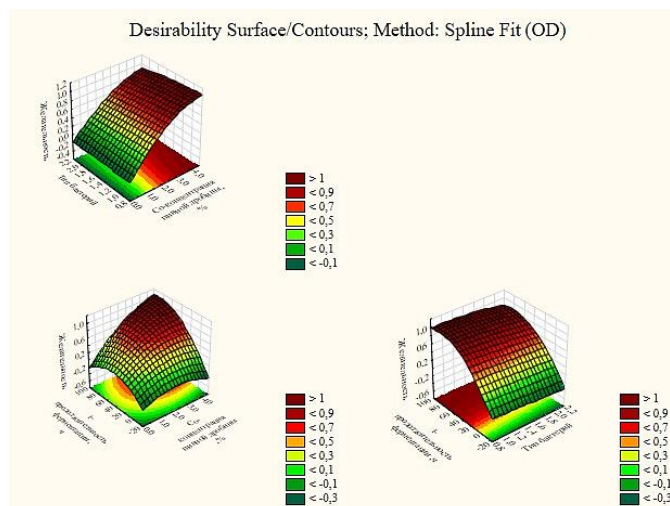


Рис. 3. Поверхности желательности ферментации по методу Spline Fit (OD)

Графики на рисунке 3 демонстрируют уровень желательности с учетом оптической плотности (OD), что позволяет определить условия, при которых достигается наибольший рост бактериальной биомассы. Максимальные значения (темно-красные зоны) соответствуют условиям с 4%-й концентрацией пивной дробины и временем ферментации 48-72 часа.

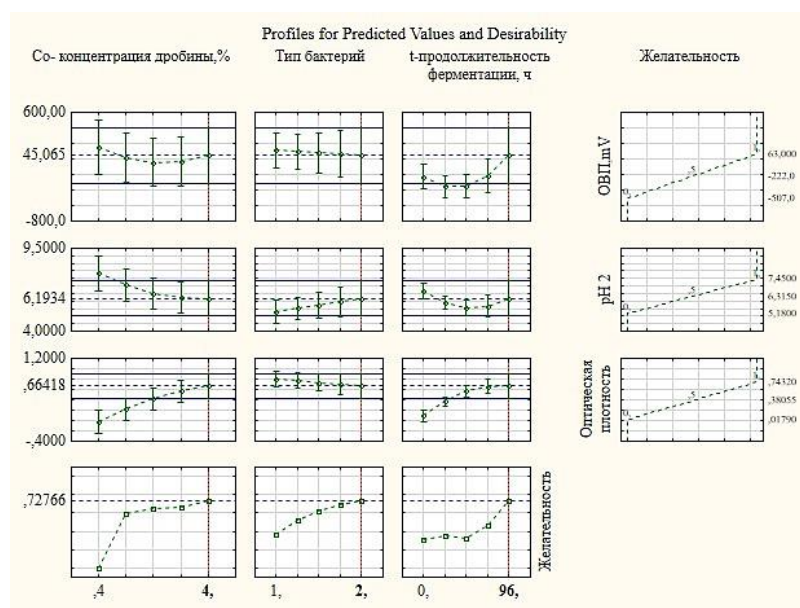


Рис. 4. Профили прогнозируемых значений и желательности

Диаграммы рисунка 4 показывают динамику изменения ключевых параметров (ОВП, pH, OD) во времени. Линии тренда демонстрируют, что при 4%-й концентрации пивной дробины наблюдается наиболее выраженное снижение ОВП и pH, а также максимальный рост OD.

Анализ графиков подтверждает, что оптимальные условия ферментации достигаются при 4%-й концентрации пивной дробины, времени ферментации 48-72 часа и $\text{pH} < 5,3$. В этих условиях обеспечивается максимальный рост бактериальной биомассы и интенсивное выделение молекулярного водорода. Метод желательности подтвердил, что снижение концентрации пивной дробины до 2% замедляет процесс ферментации, а при десятикратном разбавлении рост биомассы практически не наблюдается.

Обсуждение научных результатов. Результаты исследования подтверждают эффективность пивной дробины (BSG) как сырья для производства возобновляемого топлива, в частности молекулярного водорода и биоэтанола. Проведенная оптимизация предварительной обработки разбавленной серной кислотой позволила достичь максимального извлечения углеводов, что создало благоприятные условия для микробной ферментации.

Поскольку субстрат BSG не подвергался кислотному гидролизу высокой концентрацией ($> 2\% \text{H}_2\text{SO}_4$), в ходе исследований не выявлено ингибирующих соединений (фурфурол, 5-HMF) в гидролизате. Это исключает негативное влияние ингибиторов на рост и продукцию H_2 [7].

Оптимальные параметры обработки (130°C , $1,5\% \text{H}_2\text{SO}_4$, 26 минут) обеспечили извлечение 94% гемицеллюлозных сахаров и 82,7% глюкозы, что сопоставимо с результатами, полученными [2] при использовании фосфорной кислоты для фракционирования BSG. В аналогичных работах, таких как исследования [5], использовался метод парового взрыва, который также способствовал увеличению доступности углеводов, однако требовал более сложного оборудования. В отличие от этих методов, использование серной кислоты в предлагаемой технологии позволяет добиться высокой эффективности при минимальных затратах на оборудование, что делает метод привлекательным для промышленного внедрения (рис. 1).

Изменения в динамике микробной ферментации. Анализ динамики ферментации пивной дробины с использованием бактерий *E. coli* BW25113 и семикратного мутанта *E.coli* BW25113hyaBhybChycAfdGldhAfrdCaceE показал, что в образцах с 4%-й концентрацией субстрата наблюдалось резкое снижение ОВП ниже -400 мВ уже на 6-м часу ферментации, что указывает на активное выделение молекулярного водорода (рис. 2). Данный показатель коррелирует с исследованиями [9], в которых также фиксировался значительный рост продукции водорода при анаэробной ферментации.

Кроме того, оптимальный диапазон pH ($5,19-5,27$) поддерживался в течение всего процесса, что соответствует условиям наиболее активного метаболизма бактерий. В разбавленных образцах (2%) выделение водорода начиналось позже (24-й час), а при десятикратном разбавлении не наблюдалось вовсе, что свидетельствует о критической зависимости эффективности ферментации от концентрации субстрата (рис. 3).

Рост бактериальной биомассы и продукция целевых продуктов. Анализ оптической плотности (OD) показал, что максимальный прирост биомассы наблюдался у дикого типа *E. coli* BW25113 (0,7432), что подтверждает его предпочтительность для производства биоэтанола. В свою очередь, семикратный мутант *E.coli* BW25113hyaBhybChycAfdGldhAfrdCaceE обеспечивал наибольшее

снижение ОВП, что делает его более подходящим для выделения молекулярного водорода (табл. 1). Это подтверждается данными [10], где также отмечалось, что различные штаммы *E. coli* могут быть направлены на продукцию специфических метаболитов

Сопоставление с данными [6,8] (ко-культуры анаэробных грибов) и (интеграция SHF/CBP) показывает, что предложенный метод на базе мутанта *E. Coli* и использования BSG является более технологичным и воспроизводимым, а также экономически обоснованным вариантом утилизации отходов в производстве био-водорода.

Заключение. Проведенное исследование показало высокую эффективность использования пивной дробины (BSG) в качестве субстрата для получения возобновляемого топлива – молекулярного водорода. Впервые установлено, что ферментация BSG мутантом *E. coli* BW25113hyaB... при концентрации 4%, температуре 37°C, pH 6,8-7,2 и ОВП –300...–500 мВ обеспечивает выход H₂ до 74 мМ на 48-72 ч (табл. 2). Установлено, что разбавление субстрата снижает продуктивность более чем в 2 раза.

Оптимизация предварительной обработки (130°C, 1,5 % H₂SO₄, 26 мин) позволила извлечь до 94% гемицеллюлозных сахаров и 82,7% глюкозы (табл. 1), что обеспечило активный рост культуры (OD = 0,7432) и восстановительный потенциал ниже –400 мВ – маркер интенсивного H₂-синтеза.

В отличие от работ [6,8], где использовались ко-культуры и сложные многостадийные схемы SHF и CBP, предложенный подход реализован в одностадийном процессе и не требует дорогостоящей ферментативной подготовки. Отсутствие ингибиторов (фурфурол, HMF) подтверждено аналитически, что подчеркивает экологическую безопасность процесса.

Разработанная методика показала потенциал для масштабирования в условиях промышленности и может применяться как устойчивая альтернатива традиционным способам утилизации BSG. Перспективные направления дальнейших исследований включают:

- оптимизацию режима дозированной подачи субстрата;
- модификацию штаммов для увеличения выхода H₂;
- изучение смешанных микробных культур.

Таким образом, представленная технология открывает новые возможности для устойчивого биотопливного производства и эффективного решения проблемы утилизации отходов пивоваренной промышленности.

Список литературы

1. Cherubini F. The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals // *Energy Conversion and Management*. – 2010. – Vol. 51. – No. 7. – P. 1412-1421.
2. Rojas-Chamorro J.A., Romero I., Ruiz E., Cara C., Castro E. Comparison of fermentation strategies for ethanol production from pretreated brewers spent grain // *Chemical Engineering Transactions*. – 2017. – Vol. 61. – P. 637-642.
3. Singh R., Shukla A., Tiwari S., Srivastava M. A review on delignification of lignocellulosic biomass for enhancement of ethanol production potential // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2014. – Vol. 32. – P. 713-728.
4. Yang B., Wyman C.E. Pretreatment: the key to unlocking low-cost cellulosic ethanol // *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. – 2008. – Vol. 2. – P. 26-40.
5. Kemppainen K., Rommi K., Holopainen U., Kruus K. Steam explosion of brewer's spent grain improves enzymatic digestibility of carbohydrates and affects solubility

- and stability of proteins // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. – 2016. – Vol. 180. – No. 1. – P. 94-108.
6. Bhatia, S.K., Jagtap, S.S., Bedekar, A.A., Bhatia, R.K., Patel, A.K., Pant, D., Rajesh Banu, J., Rao, C.V., Kim, Y.G., Yang, Y.H. Recent developments in pretreatment technologies on lignocellulosic biomass: effect of key parameters, technological improvements, and challenges // *Bioresource Technology*. – 2020. – Vol. 300. – P. 122724.
 7. Chandran, E.M., Mohan, E. Potential of integrating dark and photo-fermentation, genetic modification of microorganisms and nanotechnologies for enhanced hydrogen production // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2023. – Vol. 30, No. 46. – P. 102129-102157.
 8. Deivayanai, V.C., Yaashikaa, P.R., Senthil Kumar, P., Rangasamy, G. A comprehensive review on the biological conversion of lignocellulosic biomass into hydrogen: pretreatment strategy, technology advances and perspectives // *Bioresource Technology*. – 2022. – Vol. 365. – P. 128166.
 9. Dávila J.A., Rosenberg M., Cardona C.A. A biorefinery approach for the production of xylitol, ethanol and polyhydroxybutyrate from brewer's spent grain // *AIMS Agriculture and Food*. – 2016. – Vol. 1. – No. 1. – P. 52-66.
 10. Mussatto S.I., Machado E.M.S., Carneiro L.M., Teixeira J.A. Sugars metabolism and ethanol production by different yeast strains from coffee industry wastes hydrolysates // *Applied Energy*. – 2012. – Vol. 92. – P. 763-768.
 11. López-Linares J.C., Romero I., Cara C., Castro E. Bioconversion of rapeseed straw: enzymatic hydrolysis of whole slurry and cofermentation by an ethanologenic *Escherichia coli* // *Energy & Fuels*. – 2016. – Vol. 30. – No. 11. – P. 9532-9539.
 12. González-García S., Morales P.C., Gullón B. Estimating the environmental impacts of a brewery waste-based biorefinery: Bio-ethanol and xylooligosaccharides joint production case study // *Industrial Crops and Products*. – 2018. – Vol. 123. – P. 331-340.
 13. Wilkinson S., Smart K.A., James S., Cook D.J. Bioethanol production from brewers spent grains using a fungal consolidated bioprocessing (CBP) approach // *BioEnergy Research*. – 2017. – Vol. 10. – No. 1. – P. 146-157.
 14. Sluiter A., Hames B., Ruiz R., et al. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass – Golden, Colorado: National Renewable Energy Laboratory, 2012. – 14 p.
 15. Martínez A., Grabar T.B., Shanmugam K.T., Yomano L.P., York S.W., Ingram L.O. Low salt medium for lactate and ethanol production by recombinant *Escherichia coli* B // *Biotechnology Letters*. – 2007. – Vol. 29. – No. 3. – P. 397-404.
 16. Alonso-Riaño, P., Illera, A. E., Amândio, M. S. T., Xavier, A. M. R. B., Beltrán, S., Sanz, M. T. Valorization of Brewer's Spent Grain by furfural recovery/removal from subcritical water hydrolysates by pervaporation // *Separation and Purification Technology*. – 2023. – Vol. 309. – P. 123008.
 17. Castilla-Archilla, J., Cermeño, M., Tuohy, M. G., FitzGerald, R. J., Lens, P. N. L. Brewers' spent grain pretreatment optimisation to enhance enzymatic hydrolysis of whole slurry and resuspended pellet // *Frontiers in Chemical Engineering*. – 2023. – Vol. 5. – P. 1272988.
 18. Vesga-Barón, A., Etchebehere, C., Schiappacasse, M.C., Chamy, R., Tapia-Venegas, E. Controlled oxidation-reduction potential on dark fermentative hydrogen production from glycerol: impacts on metabolic pathways and microbial diversity of an acidogenic sludge // *International Journal of Hydrogen Energy*. – 2021. – Vol. 46. – No. 7. – P. 5074-5084.
 19. Le Baron, T.W., Sharpe, R. ORP should not be used to estimate or compare concentrations of aqueous H₂: An in silico analysis and narrative synopsis // *Frontiers in Food Science and Technology*. – 2022. – Vol. 2. – P. 1007001.
 20. Cabrera, G., Jáimez, J.M., Sánchez-Oneto, J., Bolivar, J., Valle, A. Revalorisation of brewer's spent grain for biotechnological production of hydrogen with *Escherichia*

- coli // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. – 2024. – Vol. 12. – P. 1473704.
21. Bedő, S., Rozbach, M., Nagy, L., Fehér, A., Fehér, C. Optimised fractionation of brewer's spent grain for a biorefinery producing sugars, oligosaccharides, and bioethanol // *Processes*. – 2021. – Vol. 9. – No. 2. – P. 366.

Исследования выполнены в рамках проекта BR24992914 «Комплексные биотехнологические решения для производства продуктов с добавленной стоимостью, направленные на повышение ценности лигноцеллюлозных побочных продуктов», профинансированного Комитетом науки МНВО РК.

Материал поступил в редакцию 02.04.25, принят 30.06.25.

Д.А. Тлевлесова¹, Б.Т. Болкенов², Р. Бекбаева², К.С. Бекбаев², А.Е. Даниярова²

¹Алматы технологиялық университеті, Алматы қ., Қазақстан

²Семей қаласының Шакарім атындағы университеті, Семей қ., Қазақстан

СЫРАНЫҢ ҰНТАҒЫН АЛДЫН АЛА ӨНДЕУІНІҢ ФЕРМЕНТАЦИЯ ПАРАМЕТРЛЕРІНЕ ЖӘНЕ СҮТЕК ӨНДІРУГЕ ӘСЕРІ

Аңдатпа. Бұл мақалада сыра қайнату қалдықтарын (Brewer's Spent Grain, BSG) жаңартылатын отын өндіруге арналған шикізат ретінде пайдалану мүмкіндігі қарастырылады. Оған молекулалық сүтегі мен биоэтанол алу жатады. Субстратты сұйылтылған күкірт қышқылымен оңтайландырылған алдын ала өңдеу углеводтардың максималды бөлінуіне ықпал етті. Бөлінген қанттар микробтық ферментация үшін *Escherichia coli* BW25113 табиғи штамы мен BW25113hyaBhybChycAfdhAfrdCaceE жеті мутацияланған түрімен қолданылды. Эксперименттік деректер негізінде гидролиз және ферментацияның оңтайлы параметрлері анықталды, оның ішінде сыра қайнату қалдықтарының концентрациясы (4%), қышқылдық өңдеу шарттары (130°C, 1,5% H₂SO₄, 26 минут), рН диапазоны (5,19-5,27) және тотықтырғыш-қалпына келтіру потенциалы (–400 мВ-тан төмен). Нәтижелер мутантты *E. coli* штамы сүтегін бөлуге тиімді екенін, ал табиғи түрі бактериялық биомассаның өсуіне және биоэтанол синтезіне ықпал ететінін көрсетті. Зерттеу нәтижелері сыра қайнату өнеркәсібінің қалдықтарын биотехнологиялық өңдеудің баламалы энергия көздеріне айналдырудағы қолданбалы маңыздылығын дәлелдейді. Болашақ зерттеулер процесті масштабтауды, бактерияларды генетикалық модификациялауды, сондай-ақ нысаналы өнімдердің шығуын арттыру үшін аралас микробтық дақылдарды пайдалануды қамтиды.

Тірек сөздер: сыра қайнату қалдықтары, биоэнергия, молекулалық сүтегі, биоэтанол, микробтық ферментация, *E. coli*, биологиялық отын.

D. Tlevlessova¹, B. Bolkenov², R. Bekbayeva², K. Bekbayev², A. Daniyarova²

¹Almaty Technological University, Almaty, Kazakhstan

²Shakarim University of Semey, Semey, Kazakhstan

THE INFLUENCE OF PRE-TREATMENT OF BREWING SPENT GRAIN ON FERMENTATION PARAMETERS AND HYDROGEN PRODUCTION

Abstract. This study explores the potential use of Brewer's Spent Grain (BSG) as a feedstock for renewable fuel production, including molecular hydrogen and bioethanol. An optimized pretreatment of the substrate with diluted sulfuric acid was performed to

maximize carbohydrate release. The liberated sugars were utilized in microbial fermentation involving *Escherichia coli* BW25113 wild-type and the sevenfold mutant BW25113hyaBhybChycAfdGldhAfrdCaceE. Based on the experimental data, the optimal hydrolysis and fermentation parameters were determined, including bsg concentration (4%), acid pretreatment conditions (130°C, 1.5% H₂SO₄, 26 min), pH range (5.19-5.27), and redox potential (below –400 mV). The results demonstrated that the mutant *E. coli* strain is highly efficient in hydrogen production, whereas the wild-type strain promotes bacterial biomass growth and bioethanol synthesis. The findings confirm the practical applicability of the proposed technology for the biotechnological conversion of brewing industry waste into alternative energy sources. Future research should focus on process scaling, genetic modification of bacteria, and the use of mixed microbial cultures to enhance product yields.

Keywords: brewer's spent grain, bioenergy, molecular hydrogen, bioethanol, microbial fermentation, *E. coli*, biofuel.