

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2383>
<https://elibrary.ru/VLWIRO>

Обзорная статья
<https://fptt.ru>

Анализ возможностей извлечения органических соединений пивной дробины различными способами



И. Н. Грибкова*^{ORCID}, Л. Н. Харламова^{ORCID}, Е. М. Севостьянова^{ORCID},
И. В. Лазарева^{ORCID}, М. А. Захаров^{ORCID}, О. А. Борисенко^{ORCID}

Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной
и винодельческой промышленности – филиал «ФНЦ пищевых систем
им. В. М. Горбатова» РАН^{FOR}, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 18.03.2022
Принята после рецензирования: 12.04.2022
Принята к публикации: 04.05.2022

*И. Н. Грибкова: institut-beer@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-4373-5387>
Л. Н. Харламова: <https://orcid.org/0000-0002-5184-5842>
Е. М. Севостьянова: <https://orcid.org/0000-0001-8307-8329>
И. В. Лазарева: <https://orcid.org/0000-0002-9167-7441>
М. А. Захаров: <https://orcid.org/0000-0002-4569-3088>
О. А. Борисенко: <https://orcid.org/0000-0001-7430-4400>

© И. Н. Грибкова, Л. Н. Харламова, Е. М. Севостьянова,
И. В. Лазарева, М. А. Захаров, О. А. Борисенко, 2022



Аннотация.

Пивная дробина является отходом пивоваренного производства и содержит в себе ценные биологически активные вещества, извлечение которых затруднено из-за присутствия различных полимеров, осложняющих экстракцию. Проведен анализ возможности извлечения полезных органических соединений инновационными способами глубокой переработки, в том числе экологичными, разрушающими внутренние структуры матрицы растительного сырья. Целью работы являлось исследование аналитических источников в отношении переработки пивной дробины как источника вторичных сырьевых ресурсов для получения органических соединений растительной матрицы различными методами в условиях развивающихся научных подходов, что решает актуальные вопросы экологизации пивоваренной промышленности. Изучалась зарубежная и отечественная аналитическая база научно-технической литературы за последние 5–10 лет (Scopus, Web of Science, RSCI и ВАР) по изучению структуры дробины и методов извлечения органических соединений различной природы с применением методов анализа и обобщения данных.

Наряду с классическими способами переработки дробины (кислотная, щелочная и ферментативная) были приведены физические и механические способы переработки, направленные на извлечение биогенных пептидов, фенольных соединений и жирных кислот. Показано, что характер обработки зависит от вида извлекаемого соединения. Для извлечения редуцирующих соединений, предназначенных для сорбции, наиболее эффективно воздействие высоких температур (выше 150 °С). Комбинированная обработка кислотами или щелочами целлюлозо-лигнинного комплекса позволяет добиться выхода 76,2 % гемицеллюлоз. Кислотный гидролиз арабиноксиланов эффективен при температурах 120–160 °С. Щелочной совместно с физической обработкой позволяет достичь 60 % арабиноксиланов в смеси с фенольными соединениями. При извлечении азотосодержащих, фенольных и липидных соединений наибольшее значение имеет степень измельчения биоматериала и органический растворитель, позволяющие добиться сохранения пространственной структуры и высокого выхода (до 86 %) полезного органического соединения. Показано применение ультрафильтрации, которая позволяет сконцентрировать выделяемое биогенное соединение с сохранением его активности с выходом до 95 %. Проведенный анализ позволил сделать заключение о перспективности переработки пивной дробины экологичными способами, позволяющими достичь высокой степени выхода и чистоты получаемых органических соединений, что актуально для получения биоактивных соединений (пептиды, фенольные соединения, жирные кислоты).

Ключевые слова. Зерновая дробина, экологизация, биогенные пептиды, фенольные соединения, целлюлоза, гемицеллюлоза, физико-химические методы, инновационные технологии

Финансирование. Работа выполнена на базе Всероссийского научно-исследовательского института пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности (ВНИИПБиВП)^{FOR}.

Для цитирования: Анализ возможностей извлечения органических соединений пивной дробины различными способами / И. Н. Грибкова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52. № 3. С. 469–489. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2383>

Extracting Organic Compounds from Brewer's Spent Grain by Various Methods

 **Irina N. Gribkova***, **Larisa N. Kharlamova**, **Elena M. Sevostianova**,
Irina V. Lazareva, **Maxim A. Zakharov**, **Olga A. Borisenko**

All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry –
Branch of V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS , Moscow, Russia

Received: 18.03.2022
Revised: 12.01.2022
Accepted: 04.05.2022

*Irina N. Gribkova: institut-beer@mail.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-4373-5387>
Larisa N. Kharlamova: <https://orcid.org/0000-0002-5184-5842>
Elena M. Sevostianova: <https://orcid.org/0000-0001-8307-8329>
Irina V. Lazareva: <https://orcid.org/0000-0002-9167-7441>
Maxim A. Zakharov: <https://orcid.org/0000-0002-4569-3088>
Olga A. Borisenko: <https://orcid.org/0000-0001-7430-4400>

© I.N. Gribkova, L.N. Kharlamova, E.M. Sevostianova,
I.V. Lazareva, M.A. Zakharov, O.A. Borisenko, 2022



Abstract.

Brewer's spent grain is a brewing industry waste product that contains various valuable biologically active substances. However, polymers can complicate their extraction. This article focuses on innovative extraction methods, including sustainable deep processing that destroys the internal structures of plant matrix. The research objective was to review publications on the sustainable brewer's spent grain processing as a source of secondary raw materials and plant matrix organic compounds. The study featured the last 5–10 years of foreign and domestic analytical and technical publications on grain structure and extraction methods.

Unlike the traditional acidic, alkaline, and enzymatic methods of grain processing, physical and mechanical methods aim at extracting biogenic peptides, phenolic compounds, and fatty acids. The nature of the processing depends on the type of the extracted compound. Thus, for the extraction of reducing compounds intended for sorption, exposure to high temperatures ($\geq 150^{\circ}\text{C}$) is the most effective method. A combined treatment with acids or alkalis of the cellulose-lignin complex makes it possible to achieve a 76.2% yield of hemicelluloses. Acid hydrolysis of arabinoxylans is effective at $120\text{--}160^{\circ}\text{C}$. Alkaline hydrolysis combined with physical treatment makes it possible to reach 60% of arabinoxylans in a mix with phenolic compounds. When extracting nitrogen-containing, phenolic, and lipid compounds, the degree of grinding of the biomaterial and the organic solvent is of great importance. The optimal degree makes it possible to preserve the spatial structure while maintaining a high yield (86%) of organic compounds. Ultrafiltration concentrates the isolated biogenic compound and preserves its activity with a high yield of up to 95%.

The analysis proved that the brewer's spent grain processing can be both feasible and environmentally friendly. It produces a high yield of pure organic compounds, e.g., peptides, phenolic compounds, fatty acids, etc.

Keywords. Spent grain, greening, biogenic peptides, phenolic compounds, celluloses, hemicelluloses, physical and chemical methods, innovative technologies

Funding. The research was performed within the contract All-Russian Research Institute of Brewing, Non-alcoholic and Wine Industry (VNIIPBiVP) .

For citation: Gribkova IN, Kharlamova LN, Sevostianova EM, Lazareva IV, Zakharov MA, Borisenko OA. Extracting Organic Compounds from Brewer's Spent Grain by Various Methods. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(3):469–489. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-3-2383>

Введение

Зерновая дробина является отходом пивоваренного производства. Трудности ее сохранения для дальнейшей переработки состоят в том, что она содержит 85 % влаги, быстро портится и имеет огра-

ниченную транспортабельную способность. Сухие вещества отработанного зернового сырья (около 15 %) включают нерастворимые ткани-оболочки, представляющие собой 35–60 % целлюлозо-лигнинных комплексов, и азотистые соединения, содержащие

до 15–26 % белковых молекул [1]. Вес белковых молекул составляет от 5 до 30 кДа [2]. Функция углеводно-белкового комплекса состоит в обеспечении каркасной безопасности эндосперма зерна при созревании на колосе и при дальнейшей биохимической переработке [3]. На рисунке 1 представлены фотографии структур пивной дробины [4].

Высокомолекулярные целлюлозы ассоциированы с азотистыми (пептидами, аминокислотами), фенольными (фенольными кислотами, флаван-3-олами) и прочими классами соединений, представляющими интерес из-за своей высокой биологической ценности. В таблице 1 представлен состав пивной дробины в аспекте перспективных с точки зрения извлечения органических соединений (табл. 1).

Согласно данным таблицы 1 большинство органических соединений дробины находятся в связанной форме. Поэтому ее подвергают глубокой переработке.

Целью данной работы являлось исследование аналитических источников относительно ресурсосберегающих технологий по глубокой переработке пивной дробины для экологизации пивоваренной промышленности для получения органических соединений растительной матрицы различными методами в условиях развивающихся научных подходов.

Объекты и методы исследования

Материалами для исследования послужили научные и аналитические данные зарубежных и отечественных источников информации (Scopus и Web of Science, RSCI и ВАК). В качестве методов исследования применялись мониторинг и анализ источников информации, а также их систематизация и обобщение для подведения итогов исследовательской работы.

Результаты и их обсуждение

Производство сорбентов. Дробину как потенциальный биосорбент стали рассматривать недавно. Сорбционной активностью, например, в случае металлов, обладают гидроксильные, карбонильные и карбоксильные функциональные группы [17]. В работе О. С. Izinyon и др. для повышения сорбционной способности дробины применялся щелочной гидролиз (обработка 0,5 М NaOH), позволяющий разорвать ковалентные и эфирные связи между лигнинами, гемицеллюлозами и прочими сложными углеводами, отсоединить фенольные молекулы и создать большее количество функциональных групп для сорбирования [18]. Кроме того, для увеличения карбоксильных групп целлюлозосодержащих биоматериалов применялись оксиды азота, перманганаты и пероксиды, а также стабильные и нестойкие нитроксильные радикалы [19–21]. Существуют исследования, направленные на модификацию целлюлозы в составе дробины с получением сополимерного материала полиакриловой кислотой и полиакриламидом для сорбции ионов хрома [22]. Однако подобная активация дробины пригодна для непищевых систем из-за применения опасных химических соединений.

Для увеличения сорбционной способности дробины применяли прием химической этерификации и функционализации тиоловых групп в составе азотсодержащих соединений [23, 24]. Применяли гидротермальные принципы обработки дробины при температуре 150 °С [25]. Авторы отметили, что, помимо образования кислородсодержащих функциональных групп, образуются азотсодержащие группы, которые также вовлекаются в процесс адсорбции [25]. Применение температуры обработки дробины более 800 °С, приводящее к пиролизу, позволило получить активированный уголь с

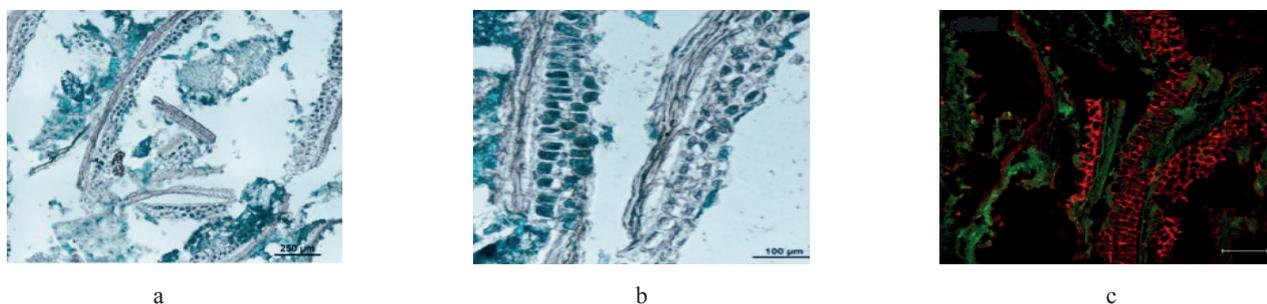


Рисунок 1. Микрофотографии сырой пивной дробины разрешением 250 (а) и 100 мкм (б) – белки окрашены в зеленый цвет, а соединения целлюлозно-лигнинного комплекса – в коричневый; микрофотографии с разрешением 25 мкм (с) – арабиноксиланы окрашены красным, морфологическая структура дробины окрашена флуорисцирующим зеленым

Figure 1. Micrographs of raw brewer's spent grain with a resolution of 250 (a) and 100 µm (b): green – proteins, brown – cellulose-lignin complex; micrographs with a resolution of 25 µm (c): red – arabinoxylans, fluorescent green – morphological structure

Таблица 1. Профиль органических соединений пивной дробины

Table 1. Organic compound profile of brewer's spent grain

Класс органического соединения	Связанные с ним соединения	Структурная единица основной цепи	Ссылка
Гемицеллюлозы (арабиноксилан)	Целлюлоза, азотистые соединения, лигнин, монофенолы	β -(1,4)-связанные остатки ксилозы	[5–9]
Целлюлоза	(1–3,1–4)- β -D-глюкан и крахмал	β -(1,4)-связанные остатки глюкозы	
Лигнин	–	Разветвленная цепь спиртов-производных из <i>p</i> -кумаровой, конифериловой и синаповой кислот	
Азотистые соединения (5–20 кДа)	Арабиноксиланы	Пептиды гордеинов, глютелинов, глобулинов и альбуминов	[10]
Биогенные пептиды	Азотистые соединения	Лизинсодержащие соединения	
Аминокислоты: заменимые (гистидин, глутаминовая и аспартамовая кислоты, валин, аргинин, серин, тирозин, глицин, аспарагин, глютамин) и незаменимые (лизин, лейцин, фенилаланин, изолейцин, треонин, триптофан, метионин)	Азотистые соединения	Аминокислоты	[3, 11]
Фенолы: монофенольные связанные формы (5,7-дигидроксихромон, ванильная, кофейная, <i>p</i> -кумаровая, <i>o</i> -кумаровая, феруловая, изоферуловая и синаповая кислоты) и связанные формы димеров фенолов (кверцетин, рутин, катехин, эпикатехин)	Азотистые соединения, лигнины	Связь со структурой лигнина	[4, 12]
Свободные монофенолы: феруловая, <i>p</i> -кумаровая, дигидроферуловая и дигидрокофейная кислоты			
Уроновые кислоты	Арабиноксилан	Углеводородная цепь с карбонильными группами	[13]
Липиды (моно- и полиненасыщенные жирные кислоты, длинноцепочечные насыщенные жирные кислоты, капроновая, каприловая, каприновая, лауриновая, миристиновая, пентадекановая, пальметиновая, гексадекановая, пальмитолеиновая, маргариновая, гептадеценная, стеариновая, олеиновая, васценовая, линоленовая, линоэлаидная, α -линоленовая, арахидоновая, 11-эукозеновая, эуказиленовая, генеэукозановая, бегеновая, эруковая, трикозановая, лигноцериновая, нервоновая и азелаиновая кислоты)	Арабиноксилан, целлюлоза, азотистые соединения	Эфиры глицеролов и жирных кислот или свободные формы	[13–15]
Минеральные соединения (кремний, фосфор, кальций, кобальт, медь, магний, железо, калий, селен, натрий, сера)	Азотистые соединения, β -глюканы	–	[16]
Витамины (биотин, ниацин, холин, рибофлавин и тиамин, фолиевая и пантотеновая кислоты, пироксидин)	Минеральные и азотистые соединения	–	[16]

повышенным содержанием азота для адсорбции фенолов [26].

В таблице 2 приведены методы повышения сорбционной способности дробины и эффективность сорбентов.

Температурная обработка структуры пивной дробины дает более устойчивые продукты, чем

химическая, поскольку позволяет глубоко влиять на преобразование органических соединений растительной матрицы. Химическая обработка структуры дробины с целью получения сорбента влечет за собой потерю эффективности функциональных групп в процессе применения в результате

Таблица 2. Характеристики сорбционной активности пивной дробины

Table 2. Sorption activity of brewer's spent grain

Сорбируемое соединение/ элемент	Применяемые реагенты/ воздействие	Соединения-мишени	Условия обработки	Сорбционная емкость продукта	Ссылки
Химические методы					
Ионы Fe ³⁺	0,5 М NaOH	Целлюлоза, гемицеллюлоза, лигнин	120 мин, pH 8,0, 1,0 г/50 см ³	500–720 мг/г	[18]
Ионы Cr ³⁺	Пероксид бензоила, акриловая кислота, акриламид	Образование бензоилпероксид радикала с одновременным образованием абстрагированного водорода из аллильных центров дробины	90 мин, 25–125 мг/дм ³	15,6 мг/г	[22]
Физические методы					
Ионы UO ₂ ²⁺	Температура	Целлюлоза, гемицеллюлоза и лигнин, азотистые соединения	150 °С, 16 ч pH 4,7	221,0 мг/г	[25]
Фенолы	Температура	Целлюлоза, гемицеллюлоза, лигнин	800 °С, 5–6 ч, pH 8,0	50,3–111,3 мг/г	[26]
Ионы Pb ²⁺	H ₃ PO ₄ , KOH, меламина, оксалат и гексагидрат Fe ³⁺ , температура	Целлюлоза, гемицеллюлоза, лигнин	500 °С, 30 мин	0,4 см ³ /г	[27]

циклов сорбции/десорбции из-за блокирования или химического разложения [28].

Извлечение углеводов различной молекулярной массы. Поскольку пивная дробина представляет из себя матрицу органических соединений, связанных между собой химическими связями, то ее переработка является комплексной. Полисахаридные материалы (гемицеллюлоза, ассоциированная с лигнином) с жесткой структурой являются причиной, которая вызывает трудности переработки. Это связано с тем, что они могут снижать эффективность извлечения тех или иных соединений [3]. Подтверждением тому служит работа Р. Forssell и др., в которой исследовались четыре коммерческие смеси целлюлазы и гемицеллюлазы с различными профилями активности для солюбилизации углеводов дробины [13]. Ферментативная обработка ксиланазой при 50 °С дала как растворенную фракцию (до 28 % углеводов и до 34 % арабиноксиланов в виде моносахаридов и феруловой кислоты), так и негидролизированный остаток (смеси феруловой кислоты, связанной с олигосахаридами, лигнин и связанные с ним белки и липиды) [13, 29].

Получение биоэтанола как способа переработки дробины также включало в себя ферментативную стадию. В исследовании J. S. White и др. дробина предварительно обрабатывалась 0,16 нННО₃ при 120 °С, затем осуществлялся гидролиз целлюлазными и гемицеллюлазными препаратами при температуре 37 °С [30]. При концентрации дробины 20 % за 18 ч ферментации культурами *Pichia stipitis* и *Kluyveromyces marxianus* было получено 27 г/дм³ глюкозы, 16,7 г/дм³ ксилозы и 11,9 г/дм³ арабинозы, которые затем сбраживали с получением этанола.

Эффективность использования субстрата из растительного источника (зерновой дробины) была ниже, по сравнению со смесями глюкозы/ксилозы из синтетических сред, поскольку в сбраживаемой среде из растительного сырья присутствуют вещества-ингибиторы дрожжей.

Конверсия целлюлозы дробины осуществлялась с применением термообработки при мгновенном перепаде давления в диапазоне 2–7 бар с последующей биомодификацией препаратом целлюкласт. Это позволило повысить выход гидролизата до 100 % [31]. В качестве физической предобработки структуры дробины применялся ультразвук с дискретными частотами от 25 до 130 кГц и мощностью 550–950 Вт с последующей ферментацией гемицеллюлазами [32]. Максимальный выход моносахаров был получен при низкочастотной ультразвуковой обработке с мощностью 550 Вт.

Дробина может использоваться в качестве субстрата для производства ферментов эндоглюканазы, целлобиогидролазы, β-глюкозидазы и ксиланазы, а также редуцирующих сахаров с использованием *Penicillium* sp. NC1 методом погруженной ферментации BSG в количестве 1–5 % и двух источников азота (дрожжевой экстракт и сульфат аммония) при длительности эксперимента от 6 до 12 дней [33]. Наибольшая активность фермента была получена через 10 дней с использованием 3 % измельченной дробины и сульфата аммония в виде источника азотного питания: активность ксиланазы составила 25 тыс. Ед/дм³, β-глюкозидазы и целлобиогидролазы – 3 и 103 тыс. Ед/дм³ соответственно.

В качестве предобработки целлюлозы в структуре дробины отмечается преимущество кислотного

гидролиза при температурах выше 120 °С, которое предшествует биокатализу (ксилोलитические и целлюлолитические ферменты в составе культур микроорганизмов), относительно выхода ксилозы и арабинозы [34]. В этом случае следует учитывать, что кислотные гидролизаты из-за высокой термической нагрузки могут содержать как продукты деградации сахара (фурфурол, гидроксиметилфурфурол, муравьиную, уксусную и левулиновую кислоты), так и простые фенольные соединения (кумаровую кислоту, сирингальдегид и гидроксibenзальдегид), которые ингибируют биоферментацию сахаров [35].

Благодаря особенностям строения целлюлозно-лигнинного комплекса дробины большей ферментативной доступностью обладают связи, соединяющие арабинозные звенья в молекуле [6]. Соответственно, арабинозу извлекали с более высокой эффективностью, чем ксилозу: из 76,2 % гемицеллюлоз было извлечено 67 % ксилозы и 97,8 % арабинозы [6].

Целью извлечения являются растворимые углеводы. Поэтому необходимо применять комбинированные физические, термические и ферментативные способы обработки. D. Macheineg и др. был исследован способ воздействия микроволнового излучения при температуре ~160 °С при кислотном (0,1 М HCl) гидролизе с последующим целлюлолитическим растворением [36]. Однако полного гидролиза сложных углеводов кислотным, ферментативным и физическим способами добиться не удалось [6, 34, 36].

Была изучена физиологическая способность некоторых микроорганизмов (например, нитчатых грибов) перерабатывать сложные лигнины и арабиноксиланы, несмотря на их структурную сложность [37, 38]. В комплекс ферментов ксиланаз входят эндо- β -1,4-ксиланаза, β -D-ксилозидаза, α -L-арабинофуранозидаза и β -глюкуронидаза, которые способны отщеплять субъединицы от основной цепи ксилана [38]. Их индукция происходит из-за присутствия неферментирующей 1/AMP-активированной протеинкиназы сахарозы (SNF1/AMPK), которая является центральным

регулятором метаболизма углерода и выработки энергии у эукариотических микроорганизмов [39].

99 % растворимого арабиноксилана было получено из дробины с комплексным применением культуры *Lactobacillus plantarum* F10 и цитолитических ферментов методом твердофазной ферментации [40]. Это позволило отказаться от предварительной обработки дробины из-за особенности штамма эукариот.

Существуют способы более мягкого температурного воздействия на структуру дробины или автогидролиз: выделяемая из боковых ацетильных групп арабиноксилана уксусная кислота приводит к деполимеризации ксилана [41]. Результаты воздействия условий автогидролиза на целлюлозно-лигнинный комплекс дробины представлены в таблице 3 [42].

Данные таблицы 3 показывают, что высокие температуры обработки приводят к снижению доли гемицеллюлозы и увеличению доли лигнина. Причем растворимый в кислоте лигнин снижает свое содержание, а нерастворимый, наоборот, количественно увеличивается. Это свидетельствует о необходимости селективного подхода к извлечению соединений целлюлозного комплекса в зависимости от целей обработки дробины.

Условия автогидролиза при микроволновом воздействии позволяют достичь деполимеризации, разветвления и деэтерификации арабиноксилана с образованием коричневых продуктов при температуре выше 150 °С за 2 мин. Поэтапное изменение температуры воздействия (140 и 180 °С) в присутствии 0,1 М KOH позволяет добиться извлечения 62 % арабиноксиланов дробины со степенью полимеризации от 7 до 24 остатков ксилозы и степенью этерификации фенольных кислот от 5 до 21 % [43].

Обработка дробины щелочными реагентами способствует извлечению целлюлозы при растворении затрудняющих доступ гемицеллюлоз и лигнина. Только щелочная или комбинированная с микроволновой обработка в течение 3 мин при

Таблица 3. Состав экстрактов пивной дробины после предобработки при различных температурах

Table 3. Composition of brewer's spent grain extracts at various thermal pretreatment modes

Органические соединения	Содержание при условиях обработки, %			
	98 °С/36 ч	121 °С/24 ч	140 °С/4 ч	180 °С/30 мин
Целлюлоза	24,9	26,4	25,3	28,3
Гемицеллюлозы, в сумме	25,9	23,1	22,5	18,3
Ксилан	16,9	15,9	17,1	14,4
Галактан	1,7	1,4	1,3	1,3
Арабинан	7,3	5,8	4,1	2,6
Лигнин, в сумме	24,2	32,9	34,2	36,5
Нерастворимый в кислоте лигнин	14,2	26,0	26,0	28,4
Растворимый в кислоте лигнин	10,0	6,9	8,2	8,0

мощности аппарата 850 Вт позволила добиться выхода доступных сахаров для роста микроорганизмов [44]. В совокупности с щелочными условиями извлечения применялись солевые реагенты (хлорид кальция и бисульфит натрия) для производства наночастиц целлюлозы из лигнинсодержащих структур дробины [45]. Извлечение арабиноксилана дробины может проводиться щелочью в зависимости от концентрации и щелочности неметалла в растворе. Экстракция арабиноксиланов в присутствии CaO способствует выходу 6,5 % при 100 °С и 3,5 % при 25 °С [46]. Слабые щелочные условия привели к растворению арабиноксилана с высокой молекулярной массой.

S. F. Reis и др. был оптимизирован способ извлечения арабиноксиланов дробины путем применения экстракции с помощью ультразвука (20 кГц, 750 кВт) в сочетании со щелочной экстракцией (2 М КОН) [47]. Это позволило сократить время экстракции (до 25 мин), снизить энергоёмкость процесса и получить до 60 % выхода целевого продукта без примесей крахмала благодаря этанольной экстракции и ультрафильтрации на сите с отсечкой 12 кДа. Исследован способ обработки дробины в пищевых целях, при котором арабиноксилановые гидролизаты освобождали от белка путем применения щелочной (0,5 М КОН и NaOH) экстракции азотистых соединений при температуре 25 °С в течение 24 ч с выделением белков при pH 3 лимонной кислотой [48]. Далее арабиноксиланы извлекались этанолом с выходом азотистых соединений 82–85 % и арабиноксиланов 66–73 % от общего количества соединений. Выделение арабинозы связано с особенностями строения арабиноксилана: количество терминально связанных остатков арабинозы не соответствует количеству точек ветвления ксилозы в молекуле арабиноксилана дробины. Данный факт, с одной стороны, объясняется присутствием О-ацетила, гексозы, гексурановой кислоты и метилированных остатков уроновой кислоты, а с другой – нелинейным замещением феруловой кислоты [49, 50]. Поэтому слабые щелочи могут воздействовать на точки ветвления ксилозы, т. е. связи, соединяющие феруловую кислоту и участки арабиноксилана посредством этерификации, приводя к высвобождению высокомолекулярного арабиноксилана [46]. Кроме феруловых кислот, лигнин может сшивать арабиноксилан и на его связи также будут воздействовать слабые щелочи [50]. Поэтому уместно при ферментативном гидролизе осуществлять ступенчатую предобработку щелочами различной ионной силы для увеличения биодоступности органических соединений. Данный принцип применялся для производства лигнинсодержащих носителей дрожжевых клеток [51]. Ферментативный биокатализ органических соединений дробины промышленными ферментами

или микроорганизмами распространён, поскольку позволяет добиться хорошего выхода целевого продукта.

Для обработки дробины изучалось применение импульсного электрического поля при мощности 2,8 кВт/см³ в условиях 3000 импульсов шириной 20 мкс [52]. Такая обработка позволила добиться выхода свободной d-глюкозы и суммы свободных аминокислот – 18,5–33,3 и 21–25 мг/г соответственно. Эффект воздействия импульсного поля основан на явлении совпадения мощности потока электронов и расположения ионов в молекуле, когда в условиях электрического поля происходит ионизация в молекулярной структуре (фазозависимая анизотропия в распределении H⁺ фрагментов). Это приводит к локализации электронного облака и асимметричному разрушению молекулярных связей [53]. К физическим способам обработки углеводного комплекса дробины можно отнести воздействие субкритической воды, с помощью которой удалось получить сахара C-5 из дробины [54]. Способ состоял из нескольких стадий. На первой стадии осуществлялась обработка субкритической водой (140–210 °С при скорости ее потока 10–20 см³/мин). Затем следовал щелочной гидролиз раствором 0,01–1 М NaOH и ферментативный гидролиз (протеаза, протеиназа из *Bacillus subtilis*, ксиланаза, смесь эндо-1,4 и эндо-1,3 β-ксиланаз из *Trichoderma longibrachiatum* и целлюлазы, 1,4-(1,3:1,4)-β-d-глюкан 4-глюканогидролазы из *Aspergillus niger*). Анализ данных показал, что общий выход углеводов зависел от температуры гидролиза, а основными продуктами были арабиноза и ксилоза. Отмечалось образование автокаталитических кислот в нерастворившемся остатке гемицеллюлоз в виде карбонильных и карбонизированных частиц.

Извлечение азотистых веществ различной молекулярной массы. Способ извлечения азотсодержащих соединений из дробины зависит от конечного соединения. Для извлечения аминокислот применялся метод экстракции. В таблице 4 приведен количественный состав аминокислот при использовании различных растворителей [55].

Природа растворителя имеет большое значение. Наиболее часто применяются полярные растворители, такие как метанол, этанол, ацетон, гексан, этилацетат или их водно-спиртовые смеси, для извлечения целого комплекса соединений дробины (общих фенолов, флавоноидов, белков и редуцирующих сахаров) [56]. Данные растворители обладают большей, по сравнению с водой, степенью диффузии в растительную матрицу. Это позволяет им эффективнее извлекать необходимые органические соединения. С другой стороны, биологически активные вещества имеют сродство к поверхностно-активным экстрагентам [57]. Сами растворители имеют разную полярность, которая характеризует образование

Таблица 4. Содержание азотистых соединений в экстрактах дробины

Table 4. Content of nitrogenous compounds in brewer's spent grain extracts

Название аминокислоты	Содержание соединений в экстрактах, мг/дм ³			
	H ₂ O	0,01 % раствор мирамистина	70 об.% раствор этанола	70 об.% раствор пропиленгликоля
Сумма аминокислот, включая незаменимые	53,70	45,00	122,8	96,70
	21,50	16,90	56,10	40,60
Аспарагиновая кислота	4,88	5,07	5,72	5,76
Глутаминовая кислота	3,84	2,28	6,63	6,01
Аспарагин	2,98	3,11	5,22	5,75
Гистидин	1,38	1,43	2,74	2,42
Серин	3,87	3,69	5,09	5,51
Глютамин	4,64	4,92	8,30	8,77
Аргинин	0,90	0,60	1,45	1,42
Глицин	3,33	3,29	7,45	7,57
Треонин	2,90	1,72	5,14	4,84
Аланин	5,39	2,77	11,46	11,87
Тирозин	2,31	2,36	3,36	3,44
Валин	3,17	2,37	6,42	6,05
Метионин	1,44	1,42	2,49	2,55
Триптофан	2,80	2,54	5,83	5,43
Изолейцин	1,38	1,40	3,75	3,32
Фенилаланин	2,82	1,99	6,68	6,30
Лейцин	2,62	1,86	6,78	6,20
Лизин	2,09	1,26	2,73	2,49

мицелл вокруг экстрагируемого вещества. Возрастание коэффициента полярности происходит от меньшего к большему в следующем ряду: гексан, этиловый эфир, этилацетат, бутанол и водно-спиртовые смеси [58]. Использование определенных полярных растворителей основано на ассоциации в жидкой среде с образованием ди-, три- и тетрамеров молекул растворитель – экстрагируемое вещество. Это приводит к образованию мицеллярных соединений с внешними полярными группами. Мицеллярные группы способствуют сольubilизации органических соединений матрицы [59]. Количество гидроксильных функциональных групп в растворителе имеет значение: при их росте увеличивается сольватационная активность, что приводит к повышению скорости мицеллообразования [60].

Исследовалось влияние катионного поверхностно-активного вещества – мирамистина – на эффективность извлечения различных органических соединений дробины, в том числе аминокислот. Результаты показали, что в отношении аспарагиновой кислоты, аспарагина, гистидина, глютамина и валина данное катионное поверхностно-активное вещество чуть эффективнее водного раствора [55].

Применялась экстракция 90 мас.% NaAcO: мочевины (молярное соотношение 1:2) или эвтектический растворитель на основе карбоксилатных солей, позволившая добиться выхода азотистых соединений до 79 % из дробины [61].

Азотистые соединения дробины представлены высокомолекулярными белками – гордеинами В (вес от 30 до 50 кДа) и С (от 55 до 80 кДа) [62]. Их извлечение требует применения более глубоких принципов переработки растительной матрицы. Щелочная экстракция применима для направленного извлечения белковых соединений в сочетании с ультразвуковой обработкой. Показано, что комплексная обработка 110 мМ раствором NaOH и звуковой обработкой дробины мощностью 250 Вт в течение 20 мин повышали выход азотистых соединений до 86,16 % по сравнению с традиционной экстракцией без ультразвука (45,71 %) [63]. Исследователи отмечали как структурные изменения белковых молекул дробины под действием ультразвука, так и изменение их пространственной структуры (разворачивание). Тот же эффект наблюдался при комплексной переработке дробины ферментами гриба *Rhizopus oligosporus* с последующей этанольно-щелочной экстракцией с выделением 61–66 % белка [64]. Это позволило констатировать эмульгирующую способность экстрактов, пенообразующие свойства и восстанавливающую способность.

Принципы щелочной экстракции применялись на основе использования раствора 0,1 М NaOH при температуре 60 °С в течение 60 мин с проведением дальнейшего высаливания азотистых соединений

при сдвиге изоэлектрической точки до pH 4,0 2,0 М раствором лимонной кислоты при выходе белка 60 % [65].

Прочие соединения с щелочными свойствами (KOH и Na₂CO₃, Na₂HPO₄, CH₃(CH₂)₁₁OSO₃Na) рассматривались применительно к извлечению азотистых соединений дробины, но гидроксид натрия был наиболее эффективен [66].

Белковая растворимость зависит от отрицательного поверхностного заряда. Снижение заряда поверхности сильно коррелирует с увеличением растворимости белка и может быть связано с агрегацией воды кислыми аминокислотами, что приводит к солюбилизации белковых молекул [67]. Это свойство белков лежит в основе действия препаратов-осадителей, которые снижают отрицательный заряд молекулы белка (сульфат аммония и пр.), что, наряду с другими техниками, применяется при выделении белков из многокомпонентной смеси.

Известны способы извлечения белковых соединений комбинированной щелочно-кислотной и ферментативной обработкой. В качестве кислоты применялась разбавленная серная кислота с температурой среды 120 °С, в качестве щелочного реагента – раствор NaOH. Это позволило добиться 95 % выхода азотистых соединений [68]. В отличие от органической обработки гидротермальная предварительная обработка (60 °С) привела к снижению выхода азотистых соединений до 64–66 %. Отрицательным моментом применяемой технологии является получение белка с присутствием лигниноподобных соединений. Однако существует еще одна проблема при применении высокотемпературной технологии – образование побочных соединений, снижающих выход конечного соединения (продукты разложения и окисления), и дополнительные расходы на электроэнергию.

Применение ферментализации матрицы дробины для переработки с получением азотистых соединений кажется наиболее подходящим вариантом. Однако применение препаратов пептидаз в целях солюбилизации белкового азота говорит об отсутствии корреляции с дозировкой препарата и выходом белковых соединений [65, 69]. Бактериальная протеиназа способствовала выходу белков дробины (до 77 % общего белка). В отличие от действия других пептидаз в смеси азотистых соединений присутствовали пептиды средней молекулярной массы, аминокислоты пролин и глютамин. Отмечалась эффективность комплексной обработки дробины целлюлолитическими ферментами. Это обеспечило полный доступ биокатализаторов протеолитического действия к растительному субстрату. Важен также уровень pH: более щелочная pH (около 8,0) способствовала оптимальной солюбилизации белковых молекул по сравнению с pH 6,8.

Протеолиз дробины осуществлялся различными расами микроорганизмов: *A. niger*, *Saccharomyces cerevisiae* и *Streptomyces* sp. [70]. Результаты исследования показали, что в присутствии клеток микроорганизмов некоторые аминокислоты (лизин, гистидин, аспарагин, треонин, пролин, глицин, аланин, валин, метионин, изолейцин, лейцин, триптофан и фенилаланин) снижают свое содержание, а концентрация аргинина, серина, глюцина и цистеина увеличивалась по мере прохождения ферментации. Данный эффект объясним биологической потребностью различных штаммов микроорганизмов в азотном питании [71].

Заслуживает внимания способ получения гидролизата биогенных пептидов из пивной дробины [72]. Суспендированную дробину в аппарате обратного осмоса с водой гомогенизировали и затем подвергали поэтапному гидролизу грибной ксиланазой и комплексом целлюлолитических ферментов (в том числе β-глюкканазой), затем бактериальной ксиланазой и грибной аминокислотазой. Температура процесса ферментализации на каждой стадии составляла 50 °С с pH среды 5,0. В полученной смеси были определены 11 биогенных белков, обладающих ингибирующей активностью в отношении к дипептидилпептидазе IV, участвующей в процессе инкретинового гормона как показателя роли в регуляции гликемического [73]. Биогенные пептиды обладали ингибиторной активностью по отношению к ангиотензинпревращающему ферменту – важному компоненту ренин-ангиотензиновой системы, которая превращает ангиотензин I в ангиотензин II и гидролизует брадикинин, т. е. помогает в борьбе с сердечно-сосудистыми заболеваниями [74]. Таким образом, полученные гидролизаты биогенных белков дробины обладали потенциалом для диетических пищевых продуктов, потребляемых при заболеваниях диабетом 2 типа и гипертонией.

Исследовались вспомогательные способы концентрации изолятов белков посредством ультрафильтрации [75]. Показано, что более 92 % азотистых соединений удерживалось мембранами с размером ячеек до 5 и 30 кДа. Это позволило повысить концентрацию белка в экстракте до 20,10 % на мембране 5 кДа и до 16,0 % на мембране 30 кДа, по сравнению с выпариванием на ротационном испарителе, где выход экстракта достигал 4,9 % [72]. К методам концентрирования относится применение химических соединений. Например, мочевины, 1-пропанол и пр. [48, 61, 64, 76].

Изучались физические методы экстракции белковых соединений из дробины.

В работе D.-S. Tang и др. проводилась ультразвуковая обработка белковых компонентов дробины в водной среде, которая позволила установить оптимальные параметры экстракции: продолжительность 80 мин, мощность ультразвука

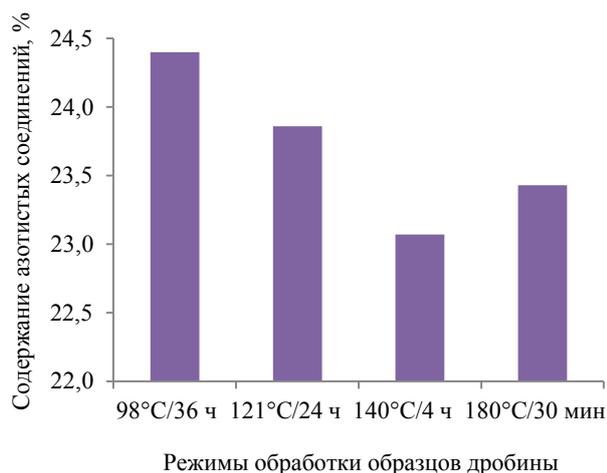


Рисунок 2. Содержание азотистых соединений при различных условиях (температура, продолжительность) гидротермальной обработки

Figure 2. Content of nitrogenous compounds at various temperature and time modes of hydrothermal treatment

88,2 Вт/100 см³ экстрагента, гидромодуль 1:50 при выходе азотистых соединений 104,2 мг/г дробины [77]. При замене водной среды на щелочную отмечался выход азотистых соединений 86 % с высоким уровнем очистки азотистой фракции (до 57,8 %) [63].

Обработка гидротермальной водой при температуре 98–180 °С, длительности 0,5–48,0 ч и гидромодуле 1:4 позволила извлечь азотистые соединения в объеме, представленном на рисунке 2 [42].

Наибольшая концентрация белка наблюдалась при 180 °С (рис. 2) и соответствовала солиubilизации 48,68 % от содержания белка в исходной дробине [42]. Скорость солиubilизации органических соединений дробины, в том числе азотистых, в условиях повышения температур увеличивалась пропорционально концентрации соединений в жидкой фракции: максимальная концентрация азотистых соединений при 98 °С составляла 10,50 г/дм³, при 121 и 140 °С – 21,09 и 21,88 г/дм³ соответственно. При экстрагировании азотистых соединений важно правильно подобрать гидромодуль или соотношение твердая фаза:жидкая фаза, поскольку увеличение объема жидкой фазы и температуры извлечения способствовало повышению потерь белковых соединений за счет термодеструкции и реакций Майяра и снижению катализа под действием высвобождающейся в меньшей степени из матрицы дробины уксусной кислоты [68].

Извлечение фенольных соединений различной молекулярной массы. Получение фенольных соединений из дробины, кроме немногочисленных свободных форм, затруднено из-за их прочной связи с лигнином и азотистыми молекулами [78].

Свободные фенольные кислоты обычно экстрагируют полярными растворителями при температуре 20–55 °С, поскольку температура экстракции выше 55 °С влечет за собой структурные изменения фенолов [11, 55].

Сравнивались способы простой экстракции полярными смесями ацетон – вода и этанол – вода. Наибольшая эффективность наблюдалась при концентрации растворителя в смеси 60 %, а применение ацетона в смеси с водой обеспечивало более высокие выходы фенолов [79].

В таблице 5 представлены выходы растворимых фенолов при экстракции в разных условиях.

Данные таблицы 5 подтверждают тот факт, что полярность экстрагента сильно влияет на выход монофенольных кислот. Влияние на экстракцию более сложных фенольных соединений (антоцианогены или флаван-3-олы) подтвердить сложно из-за отсутствия данных. Т. Bonifácio-Lopes и др. заявляют, что этанольные экстракты обладают биогенными свойствами за счет присутствия в них катехинов [82].

Еще одним традиционным способом экстракции фенольных соединений является щелочная экстракция [4, 81]. Щелочь гидролизует участки нерастворимого лигнина, действует на целлюлозу и высвобождает белковые и фенольные соединения [44–46, 66]. Однако щелочной гидролиз необходимо проводить с осторожностью, поскольку щелочь разрушает структуру фенольных соединений.

В исследовании К. Lemańska и др. показано, что антиоксидантная активность фенольных представителей тесно связана с их реакционной способностью по отношению к активным формам кислорода, которая повышается в щелочных условиях [83]. Поэтому такая степень реакционной способности обуславливает легкую лабильность при щелочных обработках, что приводит к необратимому превращению фенолов в другие соединения. В исследовании S. Honda и др. показано, что из наиболее характерных для дробины представителей фенольных соединений кверцетин и галловая кислота были наиболее лабильны [84].

М. Friedman и др. в своей работе показали, что в условиях pH от 7 до 11 кофейная, хлорогеновая и галловая кислоты не стабильны [85]. В отношении хлорогеновой, феруловой и транс-коричной кислот, а также рутина была показана устойчивость в условиях изменения pH при нагревании и хранении. Имеет значение не только pH, но и температура, а также длительность извлечения фенольных соединений. L. Zeng и др. показали, что при pH выше 6 и температуре более 80 °С экстракты с полифенолами становились темнее, а содержание катехинов снижалось [86]. Более того, отдельные формы катехинов подвергались эимеризации (более 95 %).

Таблица 5. Профиль фенольных соединений при простой экстракции дробины

Table 5. Phenolic profile after a simple brewer's spent grain extraction

Фенольные соединения	Содержание полифенолов при условиях экстракции, мкг/г					
	30 °С, 2 ч, 1:10 (дробина:вода) [80]	50 °С, 2 ч, 1:10 (дробина:экстрагент) [11]				60° С, 0,5 ч, 1:20 (дробина:ацетон) [81]
		H ₂ O	0,01 % раствор мирамистина	70 об.% раствор этанола	70 об.% раствор пропиленгликоля	
Галловая кислота	83,3	50,0	63,0	66,0	58,0	нс
Ванильная кислота	1,1	нс	44,4	18,4	11,7	нс
Кофейная кислота	1,7	нс	нс	нс	нс	0,2
Сиреневая кислота	2,5	нс	3,0	12,0	3,0	33,9
Кумаровая кислота	0,3	нс	нс	нс	нс	686,6
Феруловая кислота	0,9	нс	нс	нс	нс	1809,5
Синаповая кислота	7,2	2,0	0,5	21,0	15,0	14,6
Антоцианогены, сумма	нс	41,0	1,0	17,0	48,0	нс
Рутин	нс	нс	нс	1500,0	855,0	нс

*нс – не сообщается.

* нс – not reported.

Таблица 6. Щелочной метод экстракции полифенолов дробины

Table 6. Alkaline method of extracting polyphenols from brewer's spent grain

Условия щелочной экстракции	Содержание феруловой кислоты	Содержание р-кумаровой кислоты	Содержание всех полифенолов	Ссылки
2 М NaOH, 20 °С, 16 ч, с N ₂	1860–1948 мкг/г	565–58 мкг/г	нс	[88]
1 М NaOH, 20 °С, 16 ч, с N ₂	0,20–0,24 %	0,068–0,121 %	нс	[89]
0,5 М KOH, 25 °С, 2 ч	1,78–0,50 мкг/мг	1,97 мкг/мг	нс	[90]
0,5 М NaOH, 120 °С, 1,5 ч	9,65 мг/г сл**	9,22 мг/г сл	нс	[91]
4 М NaOH, 25 °С, 24 ч, с N ₂	51,0 %	27,7%	нс	[92]
1 М NaOH, 25 °С, 16 ч	27,3 мг/см ³	нс	0,73 мг GAE/см ³	[93]
4 М NaOH, 25 °С, 17 ч	нс*	нс	1,8 г GAE/кг	[94]
0,2 М NaOH, 50 °С, 1 ч	нс	нс	0,67 г/дм ³	[11]
1 М NaOH, 50 °С, 1 ч	нс	нс	1,1 г/дм ³	[11]
0,15 М NaOH, 20 °С, 24 ч	15,4	4,5	нс	[95]
0,5 М NaOH, 120 °С, 1,5 ч	нс	нс	101,0 г GAE/кг	[96]

*нс – не сообщается; **сл – солюбилизированный лигнин.

* нс – not reported; ** сл – solubilized lignin.

Фенольные спирты (например, эвгенол) могут влиять на стабильность фенольных соединений в нестабильных условиях [87]. Была показана интенсификация автоокисления полифенолов при щелочном pH. Наблюдался взаимный эффект снижения окислительной активности, зависящий от молекулярной массы фенола: антиокислительная активность смешанного раствора флавоноидов (катехина и эпикатехина) была выше, чем у монофенольных кислот при различных способах воздействия.

Варианты щелочного гидролиза представлены в таблице 6.

Представленные в таблице 6 характеристики извлеченных полифенолов не говорят о более ценных

формах соединений, хотя К. V. Kobelev и др. заявляют о присутствии рутина и кверцетина (43,40 и 6,71 мг/дм³ соответственно) в составе щелочных экстрактов дробины [11].

Известен способ переработки растительной матрицы дробины в условиях ферментативного гидролиза. В таблице 7 представлены некоторые результаты применения культур микроорганизмов для биопереработки матрицы дробины.

Применяются и ферментные препараты (Econase, Spezyme, Ultraflo L и т. д.), позволяющие извлечь фенольные соединения в небольших объемах (до 1,3 %). Это говорит о несбалансированном составе гидролизующих целлюлолитических

Таблица 7. Ферментативные методы обработки дробины

Table 7. Enzymatic methods of brewer's spent grain processing

Применяемые культуры микроорганизмов и ферментные препараты	Высвобождаемые фенольные соединения		Ссылки
	Всего монофенольных кислот	Всего фенольных соединений	
<i>Lactobacillus plantarum</i> + ксиланаза, 30 °С, 24 ч	1864,4 мг/кг (связанные формы) 479,68 мг/кг (свободные формы)	2358,8 мг/кг	[4]
<i>Trametes versicolor</i> TV-6, 27 °С, 14 дней	нс*	8,7 мг/г	[97]
<i>Aspergillus niger</i> , 25 °С, 7 дней	нс	1,86 мг САЕ/г	[98]
<i>Bacillus subtilis</i> , 37 °С, 2 дня	нс	6,94 мкг/г	[99]
<i>Aspergillus oryzae</i> , 37 °С, 3 дня	25 %	8,2 мг САЕ/г	[100]

*нс – не сообщается.

* нс – not reported.

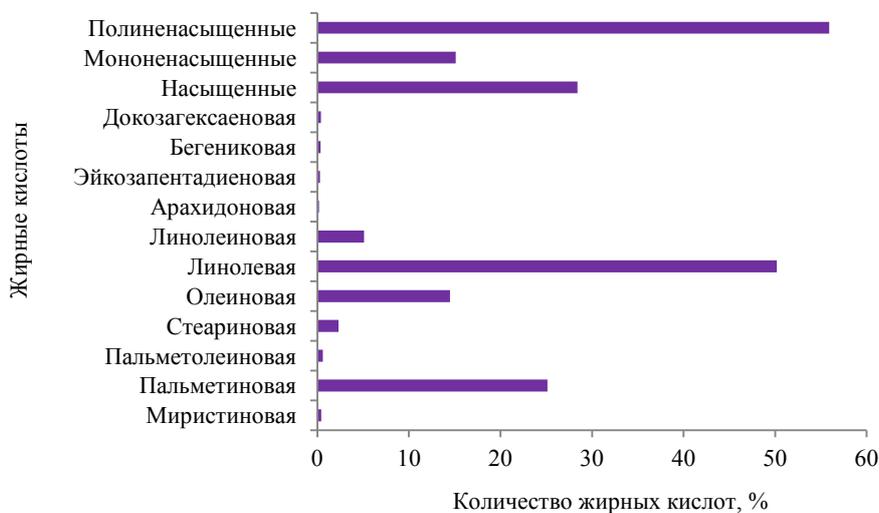


Рисунок 3. Профиль жирных кислот дробины

Figure 3. Fatty acid profile of brewer's spent grain

ферментов либо о неудачных условиях проведения извлечения [101, 102].

В отношении коммерческих ферментов необходимо сочетание в составе эндо-(1,3-(4))- β -глюканазы, целлюлазы, α -амилазы, ксиланазы, арабиноксидазы, пентозаназы, арабиназы и гемицеллюлазы, чтобы полноценно высвободить связанные формы фенольных соединений [4, 11].

В условиях минимизации загрязняющих технологий в отношении полифенолов и прочих соединений, к которым предъявляются высокие требования по сохранению пространственной структуры, активности и применения с целью решения проблемы повышениянутрицевтической ценности пищевых продуктов, используются экологичные высокотехнологичные способы выделения фенольных соединений из дробины. Данные приведены в таблице 8.

Преимуществами способов, представленных в таблице 8, являются экологичность и возможность применения в пищевых областях промышленности.

Извлечение соединений липидной природы.

Пивная дробина содержит жирные кислоты (пальмитиновую, линолевую, олеиновую и стеариновую) и токоτριенолы [98].

Среднее содержание токоτριенолов и жиров дробины (зерновой шелухи) выше по сравнению с цельным зерном [118]. Высвобождение липидных фракций связано со способом разрушения эфирных связей с прочими соединениями дробины (белками, фенолами и пр.), поэтому носит комплексный характер. Однако предпринимались попытки провести простую экстракцию 20 об.% раствором спирта при комнатной температуре в течение 24 ч. Были обнаружены пальмитиновая, стеариновая, олеиновая, линолевая и линоленовая кислоты [75].

Таблица 8. Экологичные способы экстракции полифенолов дробины

Table 8. Sustainable methods of extracting polyphenols from brewer's spent grain

Название метода экстракции	Принцип метода	Условия экстракции	Общее содержание полифенолов	Ссылки
Обработка ультразвуком	Воздействие механических волн при изменении температуры и давления в системе, что разрушает матрицу дробины и высвобождает сопутствующие соединения	8 мин, 1:20, 20 об.% этанол, 47 °С, 75кГц	2,8 мгGAE/г	[103]
		30 мин, 1:20, 0,2 М NaOH, 30 °С, 25кГц	4,2 мг GAE/г	[81]
		22 мин, 1:10, 60 об.% метанол, 70 °С, 45 кГц	1,42 мг GAE/г	[104]
Жидкостная под давлением	Воздействие давления и температуры выше температуры кипения с участием органических растворителей	2 см ³ /мин, 1:2, этанол:вода, 120 °С, 10 МПа	9944,0 мкМоль ТЕ/100г	[105]
		10 мин, 90 °С, 14,2 МПа	541,0 мкг/100 г	[107]
		60 °С, 60 % ацетон, 200 Бар	1346 мкг/г	[107]
Механохимическая	Сушка и измельчение сырья до крупности 0,5–2 мм с последующим применением щелочных средств и экстракцией водой	10,0 г + 1 г NaHCO ₃ , шаровая мельница, 300 об/мин, 20 мин, 50 °С, 30 мин	1,82 г/100г	[108]
Высокое гидростатическое давление	Измельчение и просеивание материала через сита 40 или 60 Меш, экстракция с растворителем в сосуде высокого давления, фильтрация	16,0 см ³ /г, 295 МПа, 13 мин под давлением, 70 об.% этанол	40 мМоль Тгоlox/дм ³	[109]
		80 об.% метанол, 500 МПа, 10 мин	129,1 мг GAE/100 г	[110]
Суперкритическая жидкостная	Извлечение сверхкритическим CO ₂ и подбор соотношения размера частиц сырья	15–35 МПа, 50 °С, 30 об.% этанол	0,57 мг/г	[111]
		30 МПа, 50 °С, 8 об.% этанол	28,3 мг GAE/г	[112]
Микроволновая	Воздействие микроволн, повышающих температуру внутри растительного сырья с размером частиц 60 мкм – 70 мм	Холин хлорид:глицерин	2,3 мг GA/г	[113]
		15 мин, 100 °С, 20 см ³ экстрагента	13,1 г/кг	[114]
Пульсирующее поле	Воздействие электрического потенциала на ионные связи в молекулах дробины при рабочем напряжении 140–220 В и выше	14,5 имп/с, 2,5 кВт/см ³ , 50 Гц	Увеличение содержания фенолов в 2,7 раз	[115]
		0,61–9,98 кДж/кг, 1 Гц, вода: метанол, 35 °С, 10 ч	83,3 мг GAE/100г	[116]
		10 Гц, 30 имп/мкс, 1,1 кВт/см ³ , 0,36 кДж/кг, 1,0 г/кг, NaCl, 40 °С, 12,5 мин	0,3 г GAE/100 г	[117]
Обработка электрохимически-активированной водой	Воздействие структури-рованной воды, нарушающее распределение электрического заряда молекул, ведущее к их высвобождению	Католит pH 9,6, 50 °С, 24 ч	0,12 мг/г	[11]

Экстракция смесью хлороформ:метанол (2:1) тонкоизмельченной дробины в условиях высокоскоростного гомогенизатора в течение 30 с применялась для извлечения липидной фракции [119]. На рисунке 3 приведен жирнокислотный состав полученного экстракта.

Как видно из рисунка 3, дробина может быть источником полиненасыщенных жирных кислот (эйкозапентаеновая, докозагексаеновая и арахидоновая), которые могут быть превращены при усвоении в биоактивные липидные медиаторы, участвующие в подавлении роста раковых тканей и оказывающие кардиопротекторные и когнитивные функции [120]. В работе J. C. del Río и др. показано, что дробина имеет в своем составе разные формы

липидоподобных соединений, извлекаемых при последовательных процессах лиофилизации, измельчения и экстракции раствором ацетона в аппарате Сокслета в течение 8 ч с последующим – выпариванием растворителя – фитостерины – и его производными (кампестерол, стигмастерол, ситостерол, D5-авенастерол, 24-метиленициклоартанол, кампестерил-3b-D-глюкопиранозид, стигмастерил 3b-D-глюкопиранозид, ситостерил 3b-D-глюкопиранозид, кампестерилпальмитат, ситостерилпальмитат, ситостериллинолеат), а также моноглицериды [121]. Для извлечения нутцевтических фракций липидов щелочной гидролиз, традиционно используемый для экстракции, не применим в связи с деструкцией в условиях сильных

Таблица 9. Профиль жирных кислот дробины

Table 9. Fatty acid profile of brewer's spent grain

Жирные кислоты	Тип дробины	
	Неферментированная	Ферментированная
Пальметиновая	1,80	1,52
Линоленовая	0,44	0,73
Олеиновая	0,04	2,37
Стеариновая	5,59	1,03

щелочей [65]. Поэтому большое значение приобретает степень измельчения биоматериала, что показали С. Bohnsack и др. [122]. Исследователи измельчали и просеивали дробину с применением размера сит от 500 до 1000 мкм. Если фракция превышала 500 мкм, то выход липидной фракции составлял 6,60–12,67 % от массы образца спиртовой экстракции 96 % этанолом, менее 500 мкм – увеличивался до 18,0 % [122].

Известен и ферментативный способ получения фракции липидов из дробины [99]. Образец дробины ферментировался культурой *B. subtilis* 2 дня при 37 °С. Содержание жирных кислот приведено в таблице 9.

Данные таблицы 9 показывают, что разница между количеством выделенных при ферментации жирных кислот и экстрагируемых без ферментации зависит от типа извлекаемой кислоты (количество пальметиновой и линоленовой кислот не зависит от биокаталитической обработки, а олеиновой и стеариновой зависит).

Липидная фракция дробины извлекалась методом суперкритической жидкостной экстракцией. G. Ferrentino и др. измельчали образец до следующего фракционного состава: 9 % частиц имели диаметр более 1 мм, 25 % – от 1 мм до 500 мкм, 44 % – от 500 до 250 мкм, 21 % – от 250 до 100 мкм [112]. Расход CO₂ составлял 3,6 дм³/ч в течение 1 ч при температуре 40 °С и уровнях давлениях 20 и 30 МПа. Было отмечено, что степень измельчения растительного материала имеет более весомое значение по сравнению с другими параметрами экстракции [112].

Прочие технологии на основе переработки пивной дробины. В обзоре представлены методы обработки дробины в зависимости от получаемого органического соединения. Они рассмотрены с точки зрения применения в пищевой промышленности для повышения нутрициологической ценности продуктов питания.

Качество пищевой продукции зависит от упаковочных материалов, применяемых для длительных сроков хранения. Наиболее распространенной в мире считается пластиковая упаковка. Загрязнение, связанное с неправильной утилизацией данной упаковки, приняло глобальную форму экологической проблемы.

По оценкам экспертов, утилизация упаковочного материала от продуктов питания и напитков вызывает экологическое загрязнение окружающей среды [123]. Упаковка пищевой продукции должна быть инертна и устойчива к органическим составляющим матрицы продукта и окружающей среды (факторам воздействия), а также соответствовать гигиеническим требованиям, предъявляемым к качеству и безопасности упаковочных материалов. Поэтому предпосылки к созданию биоутилизируемой упаковки, т. е. разлагаемой, назрели давно. Дробина как отход пищевого производства является хорошим сырьем для решения данной проблемы. В исследовании С. Moreira и др. сообщается о переработке дробины на упаковочные материалы [124]. Основополагающими органическими соединениями, обладающими каркасными свойствами, являются нанокompозитные пленки на основе арабиноксиланов. Их получают методом литья из нановолокнистой целлюлозы (5–75 % в составе) с термостойкостью до 230 °С и хорошими механическими свойствами (выдерживают давление до 7,5 ГПа). Это важно для условий термообработки продукции с целью увеличения сроков годности. Авторы учли проблему воздействия ультрафиолета на матрицу продуктов (особенно при производстве напитков). Они встраивали в пленки феруловую кислоту или выделяли из дробины фрагменты, обогащенные арабиноксиланами, связанными с феруловой кислотой [124]. Как фенольное антиоксидантное соединение феруловая кислота в составе упаковочного материала позволяла повысить UV–Vis барьерные свойства и способствовала защите от автоокисления и биотрансформации микроорганизмами.

А. М. Ferreira и др. предложили технологию производства альтернативы пластиковым лоткам для упаковки продуктов из дробины и картофеля, обогащенные хитозаном, которые имели хорошие параметры прочности и выдерживали нагрузку 3,75 МПа. Это соответствовало характеристикам используемой пластиковой упаковки [125].

Выводы

Строение растительной матрицы зерновой природы возобновляемых отходов пищевого

производства обуславливает комплексные методы переработки для получения органических соединений и продуктов на их основе. Необходимо учитывать направление применения выделенных соединений относительно методов извлечения, безопасности экстрагентов, затрат на переработку и очищение.

Актуальными способами переработки становятся экологичные, основанные на фракционировании измельченного растительного материала или его физической обработке, позволяющие достичь высокой степени выхода и чистоты получаемого органического соединения. Это важно при переработке дробины для получения биоактивных соединений (пептиды, фенольные соединения, жирные кислоты). Необходимо продолжать вести исследования в этом направлении, поскольку до конца не ясны ключевые механизмы воздействия на высвобождение органических соединений из матрицы зерновой дробины.

Критерии авторства

И. Н. Грибкова осуществляла руководство научной работой. Л. Н. Харламова и Е. М. Севостьянова согласовывали макет исследования. И. Н. Грибкова, И. В. Лазарева, М. А. Захаров и О. А. Борисенко осуществляли сбор информации и анализ аналитических данных.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

I.N. Gribkova supervised the research L.N. Kharlamova and E.M. Sevostianova designed the study plan. I.N. Gribkova, I.V. Lazareva, M.A. Zakharov, and O.A. Borisenko collected and analyzed data.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Shen Y, Abeynayake R, Sun X, Ran T, Li J, Chen L, *et al.* Feed nutritional value of brewers' spent grain residue resulting from protease aided protein removal. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2019;10(1). <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0382-1>
2. Tang D-S, Yin G-M, He Y-Z, Hu S-Q, Li B, Li L, *et al.* Recovery of protein from brewer's spent grain by ultrafiltration. *Biochemical Engineering Journal*. 2009;48(1):1–5. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.05.019>
3. Lynch KM, Steffen EJ, Arendt EK. Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. *Journal of the Institute of Brewing*. 2016;122(4):553–568. <https://doi.org/10.1002/jib.363>
4. Verni M, Pontonio E, Krona A, Jacob S, Pinto D, Rinaldi F, *et al.* Bioprocessing of brewers' spent grain enhances its antioxidant activity: Characterization of phenolic compounds and bioactive peptides. *Frontiers in Microbiology*. 2020;11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01831>
5. Santos M, Jiménez JJ, Bartolomé B, Gómez-Cordovés C, Del Nozal MJ. Variability of brewer's spent grain within a brewery. *Food Chemistry*. 2003;80(1):17–21. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00229-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00229-7)
6. Mussatto SI, Roberto IC. Chemical characterization and liberation of pentose sugars from brewer's spent grain. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 2006;81(3):268–274. <https://doi.org/10.1002/jctb.1374>
7. Waters DM, Jacob F, Titze J, Arendt EK, Zannini E. Fibre, protein and mineral fortification of wheat bread through milled and fermented brewer's spent grain enrichment. *European Food Research and Technology*. 2012;235(5):767–778. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1805-9>
8. Kanauchi O, Mitsuyama K, Araki Y. Development of a functional germinated barley foodstuff from brewer's spent grain for the treatment of ulcerative colitis. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 2001;59(2):59–62.
9. Carvalheiro F, Esteves MP, Parajó JC, Pereira H, Gírio FM. Production of oligosaccharides by autohydrolysis of brewery's spent grain. *Bioresource Technology*. 2004;91(1):93–100. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(03\)00148-2](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00148-2)
10. Verni M, Verardo V, Rizzello CG. How fermentation affects the antioxidant properties of cereals and legumes. *Foods*. 2019;8(9). <https://doi.org/10.3390/foods8090362>
11. Kobelev KV, Gernet MV, Gribkova IN. Innovative method for obtaining biologically active compounds from brewery mash. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2021;51(1):113–124. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-113-124>
12. Faulds CB, Collins S, Robertson JA, Treimo J, Eijsink VGH, Hinz SWA, *et al.* Protease-induced solubilisation of carbohydrates from brewers' spent grain. *Journal of Cereal Science*. 2009;50(3):332–336. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2009.01.004>
13. Forssell P, Kontkanen H, Schols HA, Hinz S, Eijsink VGH, Treimo J, *et al.* Hydrolysis of brewers' spent grain by carbohydrate degrading enzymes. *Journal of the Institute of Brewing*. 2008;114(4):306–314. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2008.tb00774.x>

14. Almeida AD, Geraldo MRF, Ribeiro LF, Silva MV, Maciel MVOB, Haminiuk CWI. Bioactive compounds from brewer's spent grain: Phenolic compounds, fatty acids and in vitro antioxidant capacity. *Acta Scientiarum – Technology*. 2008;39(3):269–277.
15. Farcas AC, Socaci SA, Dulf FV, Tofană M, Mudura E, Diaconeasa Z. Volatile profile, fatty acids composition and total phenolics content of brewers' spent grain by-product with potential use in the development of new functional foods. *Journal of Cereal Science*. 2015;64:34–42. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.04.003>
16. McCarthy AL, O'Callaghan YC, Piggott CO, FitzGerald RJ, O'Brien NM. Brewers' spent grain; bioactivity of phenolic component, its role in animal nutrition and potential for incorporation in functional foods: A review. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2013;72(1):117–125. <https://doi.org/10.1017/S0029665112002820>
17. Reddy DHK, Lee S-M, Seshaiiah K. Biosorption of toxic heavy metal ions from water environment using honeycomb biomass – An industrial waste material. *Water, Air, and Soil Pollution*. 2011;223(9):5967–5982. <https://doi.org/10.1007/s11270-012-1332-0>
18. Izinyon OC, Nwosu OE, Akhigbe LO, Ilaboya IR. Performance evaluation of Fe (III) adsorption onto brewers' spent grain. *Nigerian Journal of Technology*. 2016;35(4):970–978. <https://doi.org/10.4314/njt.v35i4.36>
19. Coseri S, Biliuta G, Simionescu BC, Stana-Kleinschek K, Ribitsch V, Harabagiu V. Oxidized cellulose – Survey of the most recent achievements. *Carbohydrate Polymers*. 2013;93(1):207–215. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.03.086>
20. Ma H, Hsiao BS, Chu B. Ultrafine cellulose nanofibers as efficient adsorbents for removal of UO_2^{2+} in water. *ACS Macro Letters*. 2012;1(1):213–216. <https://doi.org/10.1021/mz200047q>
21. Su Y, Wenzel M, Paasch S, Seifert M, Böhm W, Doert T, et al. Recycling of brewer's spent grain as a biosorbent by nitro-oxidation for uranyl ion removal from wastewater. *ACS Omega*. 2021;6(30):19364–19377. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c00589>
22. Samuel AE, Nwankwo IC, Ezebor F, Ojuolape AA. Adsorption of chromium by brewers spent grain -g-poly (acrylic acid-co-acryl amide) from electroplating effluent. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. 2019;13(5):64–71. <https://doi.org/10.5897/AJPAC2017.0734>
23. Li Q, Chai L, Qin W. Cadmium(II) adsorption on esterified spent grain: Equilibrium modeling and possible mechanisms. *Chemical Engineering Journal*. 2012;197:173–180. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.04.102>
24. Chai L, Li Q, Zhu Y, Zhang Z, Wang Q, Wang Y, et al. Synthesis of thiol-functionalized spent grain as a novel adsorbent for divalent metal ions. *Bioresource Technology*. 2010;101(15):6269–6272. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.03.009>
25. Su Y, Böhm W, Wenzel M, Paasch S, Acker M, Doert T, et al. Mild hydrothermally treated brewer's spent grain for efficient removal of uranyl and rare earth metal ions. *RSC Advances*. 2020;10(73):45116–45129. <https://doi.org/10.1039/D0RA08164G>
26. Vanreppelen K, Vanderheyden S, Kuppens T, Schreurs S, Yperman J, Carleer R. Activated carbon from pyrolysis of brewer's spent grain: Production and adsorption properties. *Waste Management and Research*. 2014;32(7):634–645. <https://doi.org/10.1177/0734242X14538306>
27. Osman AI, O'Connor E, McSpadden G, Abu-Dahrieh JK, Farrell C, Al-Muhtaseb AH, et al. Upcycling brewer's spent grain waste into activated carbon and carbon nanotubes via two-stage activation for energy and other applications. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 2020;95(1):183–195. <https://doi.org/10.1002/jctb.6220>
28. Wierzba S, Kłos A. Heavy metal sorption in biosorbents – Using spent grain from the brewing industry. *Journal of Cleaner Production*. 2019;225:112–120. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.03.286>
29. Forssell P, Treimo J, Eijssink VGH, Faulds CB, Collins S, Schols HA, et al. Enzyme-aided fractionation of brewer's spent grains in pilot scale. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 2011;69(2):91–99. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2011-0408-01>
30. White JS, Yohannan BK, Walker GM. Bioconversion of brewer's spent grains to bioethanol. *FEMS Yeast Research*. 2008;8(7):1175–1184. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2008.00390.x>
31. Maache-Rezzoug Z, Maugard T, Goude R, Nouviaire A, Sannier F, Rezzoug S-A. A thermomechanical process for improving enzymatic hydrolysis of brewer's spent grain. 18th International Congress of Chemical and Process Engineering – CHISA' 2008; 2008; Prague. Prague; 2008.
32. Hassan SS, Tiwari BK, Williams GA, Jaiswal AK. Bioprocessing of brewers' spent grain for production of xylanopectinolytic enzymes by *Mucor* sp. *Bioresource Technology Reports*. 2020;9. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100371>
33. Bernal-Ruiz M, Correa-Lozano A, Gomez-Sánchez L, Quevedo-Hidalgo B, Rojas-Pérez LC, García-Castillo C, et al. Brewer's spent grain as substrate for enzyme and reducing sugar production using *Penicillium* sp. HC1. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. 2021;45(176):850–863.
34. Duarte LC, Carvalheiro F, Lopes S, Marques S, Parajó JC, Girio FM. Comparison of two posthydrolysis processes of Brewery's spent grain autohydrolysis liquor to produce a pentose-containing culture medium. *Applied Biochemistry and Biotechnology – Part A Enzyme Engineering and Biotechnology*. 2004;115(1–3):1041–1058. <https://doi.org/10.1385/ABAB:115:1-3:1041>

35. Abdel-Rahman MA, Hassan SE-D, Fouda A, Radwan AA, Barghoth MG, Desouky SG. Evaluating the effect of lignocellulose-derived microbial inhibitors on the growth and lactic acid production by *Bacillus coagulans* Azu-10. *Fermentation*. 2021;7(1). <https://doi.org/10.3390/fermentation7010017>
36. Macheiner D, Adamitsch BF, Karner F, Hampel WA. Pretreatment and hydrolysis of brewer's spent grains. *Engineering in Life Sciences*. 2003;3(10):401–405. <https://doi.org/10.1002/elsc.200301831>
37. Knob A, Terrasan CRF, Carmona EC. β -Xylosidases from filamentous fungi: An overview. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2010;26(3):389–407. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0190-4>
38. Gusmão RO, Solidade LS, Ferreira LFAA, de Assis FGDV, Da Cruz AR, Leal PL. Filamentous fungi producing enzymes under fermentation in cassava liquid waste. *Acta Scientiarum – Biological Sciences*. 2018;40(1). <https://doi.org/10.4025/actasciobiolsci.v40i1.41512>
39. Li Y, Yan P, Lu X, Qiu Y, Liang S, Liu G, *et al.* Involvement of *PaSNF1* in Fungal Development, Sterigmatocystin Biosynthesis, and Lignocellulosic Degradation in the Filamentous Fungus *Podospora anserina*. *Frontiers in Microbiology*. 2020;11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01038>
40. Lynch KM, Strain CR, Johnson C, Patangia D, Stanton C, Koc F, *et al.* Extraction and characterisation of arabinoxylan from brewers spent grain and investigation of microbiome modulation potential. *European Journal of Nutrition*. 2021;60(8):4393–4411. <https://doi.org/10.1007/s00394-021-02570-8>
41. Reis SF, Coelho E, Coimbra MA, Abu-Ghannam N. Improved efficiency of brewer's spent grain arabinoxylans by ultrasound-assisted extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2015;24:155–164. <https://doi.org/10.1016/j.ulsonch.2014.10.010>
42. Parchami M, Ferreira JA, Taherzadeh MJ. Starch and protein recovery from brewer's spent grain using hydrothermal pretreatment and their conversion to edible filamentous fungi – A brewery biorefinery concept. *Bioresource Technology*. 2021;337. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125409>
43. Coelho E, Rocha MAM, Saraiva JA, Coimbra MA. Microwave superheated water and dilute alkali extraction of brewers' spent grain arabinoxylans and arabinoxylo-oligosaccharides. *Carbohydrate Polymers*. 2014;99:415–422. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.003>
44. Mendez DA, Marti E, Puyuelo B, Colon J, Ponsa S. Evaluation of pre-treatments of brewery's spent grain for growing bacteria in the production of polyhydroxyalkanoates. *Chemical Engineering Transactions*. 2018;65:403–408. <https://doi.org/10.3303/CET1865068>
45. Mishra PK, Gregor T, Wimmer R. Utilising brewer's spent grain as a source of cellulose nanofibres following separation of protein-based biomass. *BioResources*. 2017;12(1):107–116.
46. Martínez-Encinas EG, Carvajal-Millán E, Calderón de la Barca AM, Rascón-Chu A, Martínez-Porchas M, Márquez-Escalante JA, *et al.* Extraction and characterization of arabinoxylans obtained from nixtamalized brewers' spent grains. *Food Science and Technology International*. 2021;9. <https://doi.org/10.1177/10820132211060609>
47. Reis SF, Coelho E, Coimbra MA, Abu-Ghannam N. Improved efficiency of brewer's spent grain arabinoxylans by ultrasound-assisted extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2015;24:155–164. <https://doi.org/10.1016/j.ulsonch.2014.10.010>
48. Vieira E, Rocha MAM, Coelho E, Pinho O, Saraiva JA, Ferreira IMPLVO, *et al.* Valuation of brewer's spent grain using a fully recyclable integrated process for extraction of proteins and arabinoxylans. *Industrial Crops and Products*. 2014;52:136–143. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.10.012>
49. Coelho E, Rocha MAM, Moreira ASP, Domingues MRM, Coimbra MA. Revisiting the structural features of arabinoxylans from brewers' spent grain. *Carbohydrate Polymers*. 2016;139:167–176. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.12.006>
50. Abdi R, Joye IJ. Prebiotic potential of cereal components. *Foods*. 2021;10(10). <https://doi.org/10.3390/foods10102338>
51. Pires EJ, Ruiz HA, Teixeira JA, Vicente AA. A new approach on brewer's spent grains treatment and potential use as lignocellulosic yeast cells carriers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012;60(23):5994–5999. <https://doi.org/10.1021/jf300299m>
52. Kumari B, Tiwari BK, Walsh D, Griffin TP, Islam N, Lyng JG, *et al.* Impact of pulsed electric field pre-treatment on nutritional and polyphenolic contents and bioactivities of light and dark brewer's spent grains. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2019;54:200–210. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.04.012>
53. Wu J, Magrakvelidze M, Schmidt LPH, Kunitski M, Pfeifer T, Schöffler M, *et al.* Understanding the role of phase in chemical bond breaking with coincidence angular streaking. *Nature Communications*. 2013;4. <https://doi.org/10.1038/ncomms3177>
54. Torres-Mayanga PC, Azambuja SPH, Tyufekchiev M, Tompsett GA, Timko MT, Goldbeck R, *et al.* Subcritical water hydrolysis of brewer's spent grains: Selective production of hemicellulosic sugars (C-5 sugars). *Journal of Supercritical Fluids*. 2019;145:19–30. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.11.019>
55. Gernet MV, Zakharov MA, Gribkova IN. The antioxidant compounds determination of various brewer's spent grain extracts. *Scientific Study and Research: Chemistry and Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*. 2020;21(2):263–270.

56. Meneses NGT, Martins S, Teixeira JA, Mussatto SI. Influence of extraction solvents on the recovery of antioxidant phenolic compounds from brewer's spent grains. *Separation and Purification Technology*. 2013;108:152–158. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.02.015>
57. Apaeva AV, Yamansarova ET, Kukovinets OS. Studing of extraction of flavonoids from buckwheat husks. *Bulletin of Bashkir University*. 2015;20(4):1223–1226. (In Russ.). [Апаева А. В., Ямансарова Э. Т., Куковинец О. С. Исследование экстракции флавоноидов из плодовых оболочек гречихи в различных условиях // Вестник Башкирского университета. 2015. Т. 20. № 4. С. 1223–1226.]
58. Kochetova MV, Semenistaya EN, Larionov OG, Revina AA. The biologically active phenols and polyphenols determination in various objects by chromatography methods. *Russian Chemical Reviews*. 2007;76(1):79–90. <https://doi.org/10.1070/RC2007v076n01ABEH003632>
59. Tukhtaev HR, Zaripov RSh, Yodgorov MF. Quantitative assessment of the quality of dry sage extract, obtained in the presence of surfactants. *Farmatsevtika journali*. 2017;(2):112–116. (In Russ.). [Тухтаев Х. Р., Зарипова Р. Ш., Ёдгоров М. Ф. Количественная оценка качества сухого экстракта шалфея, полученного в присутствии поверхностно-активных веществ // Farmatsevtika journali. 2017. № 2. С. 112–116.]
60. Perevertkina IV, Volkov AD, Bolotov VM. The effect of glycerin on the extraction of anthocyanin pigments from plant materials. *Chemistry of Plant Raw Material*. 2011;(2):187–188. (In Russ.). [Переверткина И. В., Волков А. Д., Болотов В. М. Влияние глицерина на экстрагирование антоциановых пигментов из растительного сырья // Химия растительного сырья. 2011. № 2. С. 187–188.]
61. Wahlström R, Rommi K, Willberg-Keyriläinen P, Ercili-Cura D, Holopainen-Mantila U, Hiltunen J, et al. High yield protein extraction from brewer's spent grain with novel carboxylate salt – urea aqueous deep eutectic solvents. *ChemistrySelect*. 2017;2(29):9355–9363. <https://doi.org/10.1002/slct.201701492>
62. Ikram S, Huang LY, Zhang H, Wang J, Yin M. Composition and nutrient value proposition of brewers spent grain. *Journal of Food Science*. 2017;82(10):2232–2242. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13794>
63. Li W, Yang H, Coldea TE, Zhao H. Modification of structural and functional characteristics of brewer's spent grain protein by ultrasound assisted extraction. *LWT*. 2021;139. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110582>
64. Chin YL, Chai KF, Chen WN. Upcycling of brewers' spent grains via solid-state fermentation for the production of protein hydrolysates with antioxidant and techno-functional properties. *Food Chemistry: X*. 2021;13. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2021.100184>
65. Celus I, Brijis K, Delcour JA. Enzymatic hydrolysis of Brewers' spent grain proteins and technofunctional properties of the resulting hydrolysates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007;55(21):8703–8710. <https://doi.org/10.1021/jf071793c>
66. Connolly A, Piggott CO, Fitzgerald RJ. Characterization of protein-rich isolates and antioxidant phenolic extracts from pale and black spent grain brewers. *International Journal of Food Science and Technology*. 2013;48(8):1670–1681.
67. Kramer RM, Shende VR, Motl N, Pace CN, Scholtz JM. Toward a molecular understanding of protein solubility: increased negative surface charge correlates with increased solubility. *Biophysical Journal*. 2012;102(8):1907–1915. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2012.01.060>
68. Qin F, Johansen AZ, Mussatto SI. Evaluation of different pretreatment strategies for protein extraction from brewer's spent grains. *Industrial Crops and Products*. 2018;125:443–453. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.017>
69. Treimo J, Aspomo SI, Eijnsink VGH, Horn SJ. Enzymatic solubilization of proteins in Brewer's spent grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008;56(12):5359–5365. <https://doi.org/10.1021/jf073317s>
70. Essien JP, Udotong IR. Amino acid profile of biodegraded brewers spent grains (BSG). *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*. 2008;12(1):109–111. <https://doi.org/10.4314/jasem.v12i1.55582>
71. Barbosa C, García-Martínez J, Pérez-Ortín JE, Mendes-Ferreira A. Comparative transcriptomic analysis reveals similarities and dissimilarities in *Saccharomyces cerevisiae* wine strains response to nitrogen availability. *PLoS ONE*. 2015;10(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122709>
72. Cermeño M, Connolly A, O'Keeffe MB, Flynn C, Alashi AM, Aluko RE, et al. Identification of bioactive peptides from brewers' spent grain and contribution of Leu/Ile to bioactive potency. *Journal of Functional Foods*. 2019;60. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103455>
73. Nongonierma AB, FitzGerald RJ. Features of dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory peptides from dietary proteins. *Journal of Food Biochemistry*. 2019;43(1). <https://doi.org/10.1111/jfbc.12451>
74. Ma F-F, Wang H, Wei C-K, Thakur K, Wei Z-J, Jiang L. Three novel ACE inhibitory peptides isolated from *Ginkgo biloba* seeds: Purification, inhibitory kinetic and mechanism. *Frontiers in Pharmacology*. 2019;9. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01579>
75. Tang D-S, Yin G-M, He Y-Z, Hu S-Q, Li B, Li L, et al. Recovery of protein from brewer's spent grain by ultrafiltration. *Biochemical Engineering Journal*. 2009;48(1):1–5. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.05.019>
76. Jaeger A, Zannini E, Sahin AW, Arendt EK. Barley protein properties, extraction and applications, with a focus on brewers' spent grain protein. *Foods*. 2021;10(6). <https://doi.org/10.3390/foods10061389>

77. Tang D-S, Tian Y-J, He Y-Z, Li L, Hu S-Q, Li B. Optimisation of ultrasonic-assisted protein extraction from brewer's spent grain. *Czech Journal of Food Sciences*. 2010;28(1):9–17. <https://doi.org/10.17221/178/2009-cjfs>
78. Macias-Garbett R, Serna-Hernández SO, Sosa-Hernández JE, Parra-Saldívar R. Phenolic compounds from brewer's spent grains: toward green recovery methods and applications in the cosmetic industry. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2021;5. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.681684>
79. Zuorro A, Iannone A, Lavecchia R. Water-organic solvent extraction of phenolic antioxidants from brewers' spent grain. *Processes*. 2019;7(3). <https://doi.org/10.3390/pr7030126>
80. Andres AI, Petron MJ, Lopez AM, Timon ML. Optimization of extraction conditions to improve phenolic content and *in vitro* antioxidant activity in craft brewers' spent grain using Response Surface Methodology (RSM). *Foods*. 2020;9(10). <https://doi.org/10.3390/foods9101398>
81. Birsan RI, Wilde P, Waldron KW, Rai DK. Recovery of polyphenols from brewer's spent grains. *Antioxidants*. 2019;8(9). <https://doi.org/10.3390/antiox8090380>
82. Bonifácio-Lopes T, Vilas Boas AA, Coscueta ER, Costa EM, Silva S, Campos D, *et al.* Bioactive extracts from brewer's spent grain. *Food and Function*. 2020;11(10):8963–8977. <https://doi.org/10.1039/D0FO01426E>
83. Lemańska K, Szymusiak H, Tyrakowska B, Zieliński R, Soffers AEMF, Rietjens IMCM. The influence of pH on antioxidant properties and the mechanism of antioxidant action of hydroxyflavones. *Free Radical Biology and Medicine*. 2001;31(7):869–881. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(01\)00638-4](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00638-4)
84. Honda S, Ishida R, Hidaka K, Masuda T. Stability of polyphenols under alkaline conditions and the formation of a xanthine oxidase inhibitor from gallic acid in a solution at pH 7.4. *Food Science and Technology Research*. 2019;25(1):123–129. <https://doi.org/10.3136/fstr.25.123>
85. Friedman M, Jürgens HS. Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000;48(6):2101–2110. <https://doi.org/10.1021/jf990489>
86. Zeng L, Ma M, Li C, Luo L. Stability of tea polyphenols solution with different pH at different temperatures. *International Journal of Food Properties*. 2017;20(1):1–18. <https://doi.org/10.1080/10942912.2014.983605>
87. Zhou X, Iqbal A, Li J, Liu C, Murtaza A, Xu X, *et al.* Changes in browning degree and reducibility of polyphenols during autoxidation and enzymatic oxidation. *Antioxidants*. 2021;10(11). <https://doi.org/10.3390/antiox10111809>
88. Hernanz D, Nuñez V, Sancho AI, Faulds CB, Williamson G, Bartolomé B, *et al.* Hydroxycinnamic acids and ferulic acid dehydrodimers in barley and processed barley. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001;49(10):4884–4888. <https://doi.org/10.1021/jf010530u>
89. Bartolomé B, Santos M, Jiméñez JJ, Del Nozal MJ, Gomez-Cordoveés C. Pentoses and hydroxycinnamic acids in brewer's spent grain. *Journal of Cereal Science*. 2002;36(1):51–58. <https://doi.org/10.1006/jcsc.2002.0442>
90. Mandalari G, Faulds C, Sancho AI, Saija A, Bisignano G, Locurto R, *et al.* Fractionation and characterisation of arabinoxylans from brewers' spent grain and wheat bran. *Journal of Cereal Science*. 2005;42(2):205–212. <https://doi.org/10.1016/j.jcsc.2005.03.001>
91. Mussatto SI, Dragone G, Roberto IC. Ferulic and *p*-coumaric acids extraction by alkaline hydrolysis of brewer's spent grain. *Industrial Crops and Products*. 2007;25(2):231–237. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2006.11.001>
92. Jay AJ, Parker ML, Faulks R, Husband F, Wilde P, Smith AC, *et al.* A systematic micro-dissection of brewers' spent grain. *Journal of Cereal Science*. 2008;47(2):357–364. <https://doi.org/10.1016/j.jcsc.2007.05.006>
93. McCarthy AL, O'Callaghan YC, Connolly A, Piggott CO, Fitzgerald RJ, O'Brien NM. Phenolic extracts of brewers' spent grain (BSG) as functional ingredients – Assessment of their DNA protective effect against oxidant-induced DNA single strand breaks in U937 cells. *Food Chemistry*. 2012;134(2):641–646. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.133>
94. Reis SF, Abu-Ghannam N. Antioxidant capacity, arabinoxylans content and *in vitro* glycaemic index of cereal-based snacks incorporated with brewer's spent grain. *LWT – Food Science and Technology*. 2014;55(1):269–277. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.004>
95. Stefanello FS, dos Santos CO, Bochi VC, Fruet APB, Soquetta MB, Dörr AC, *et al.* Analysis of polyphenols in brewer's spent grain and its comparison with corn silage and cereal brans commonly used for animal nutrition. *Food Chemistry*. 2018;239:385–401. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.130>
96. Ideia P, Sousa-Ferreira I, Castilho PC. A novel and simpler alkaline hydrolysis methodology for extraction of ferulic acid from brewer's spent grain and its (partial) purification through adsorption in a synthetic resin. *Foods*. 2020;9(5). <https://doi.org/10.3390/foods9050600>
97. Tišma M, Jurić A, Bucić-Kojić A, Panjičko M, Planinić M. Biovalorization of brewers' spent grain for the production of laccase and polyphenols. *Journal of the Institute of Brewing*. 2018;124(2):182–186. <https://doi.org/10.1002/jib.479>
98. Leite P, Silva C, Salgado JM, Belo I. Simultaneous production of lignocellulolytic enzymes and extraction of antioxidant compounds by solid-state fermentation of agro-industrial wastes. *Industrial Crops and Products*. 2019;137:315–322. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.044>

99. Tan YX, Mok WK, Lee J, Kim J, Chen WN. Solid state fermentation of Brewers' spent grains for improved nutritional profile using *Bacillus subtilis* WX-17. Fermentation. 2019;5(3). <https://doi.org/10.3390/fermentation5030052>
100. da Costa Maia I, Thomaz dos Santos D'Almeida C, Guimarães Freire DM, d'Avila Costa Cavalcanti E, Cameron LC, Furtado Dias F, et al. Effect of solid-state fermentation over the release of phenolic compounds from brewer's spent grain revealed by UPLC-MS^E. LWT. 2020;133. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110136>
101. Forssell P, Kontkanen H, Schols HA, Hinz S, Eijssink VGH, Treimo J, et al. Hydrolysis of brewers' spent grain by carobhydrate degrading enzymes. Journal of the Institute of Brewing. 2008;114(4):306–314. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2008.tb00774.x>
102. Szwajgier D, Targoński Z. Release of free ferulic acid and feruloylated arabinoxylans from brewery's spent grain by commercial enzyme preparations. EJPAU. 2006;9(1).
103. Alonso-Riaño P, Diez MTS, Blanco B, Beltrán S, Trigueros E, Benito-Román O. Water ultrasound-assisted extraction of polyphenol compounds from brewer's spent grain: Kinetic study, extract characterization, and concentration. Antioxidants. 2020;9(3). <https://doi.org/10.3390/antiox9030265>
104. Chettrariu A, Dabija A. Spent grain from malt whisky: Assessment of the phenolic compounds. Molecules. 2021;26(11). <https://doi.org/10.3390/molecules26113236>
105. Herbst G, Hamerski F, Errico M, Corazza ML. Pressurized liquid extraction of brewer's spent grain: Kinetics and crude extracts characterization. Journal of Industrial and Engineering Chemistry. 2021;102:370–383. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2021.07.020>
106. Smeds AI, Eklund PC, Sjöholm RE, Willför SM, Nishibe S, Deyama T, et al. Quantification of a broad spectrum of lignans in cereals, oilseeds, and nuts. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2007;55(4):1337–1346. <https://doi.org/10.1021/jf0629134>
107. Holtekjølén AK, Kinitz C, Knutsen SH. Flavanol and bound phenolic acid contents in different barley varieties. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2006;54(6):2253–2260. <https://doi.org/10.1021/jf052394p>
108. He R, Wu K, Zhang A, Xie Z, Sun P. Mechanochemical-assisted extraction and pharmacological study of triterpenoids from *Antrodia camphorata*. Applied Sciences. 2019;9(20). <https://doi.org/10.3390/app9204281>
109. de Oliveira AA, Torres AG, Perrone D, Monteiro M. Effect of high hydrostatic pressure processing on the anthocyanins content, antioxidant activity, sensorial acceptance and stability of jussara (*Euterpe edulis*) juice. Foods. 2021;10(10). <https://doi.org/10.3390/foods10102246>
110. Uribe E, Delgadillo A, Giovagnoli-Vicunã C, Quispe-Fuentes I, Zura-Bravo L. Extraction techniques for bioactive compounds and antioxidant capacity determination of chilean papaya (*Vasconcellea pubescens*) fruit. Journal of Chemistry. 2015;2015. <https://doi.org/10.1155/2015/347532>
111. Spinelli S, Conte A, Lecce L, Padalino L, Del Nobile MA. Supercritical carbon dioxide extraction of brewer's spent grain. Journal of Supercritical Fluids. 2015;107:69–74. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.08.017>
112. Ferrentino G, Ndayishimiye J, Haman N, Scampicchio M. Functional activity of oils from brewer's spent grain extracted by supercritical carbon dioxide. Food and Bioprocess Technology. 2019;12(5):789–798. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02249-3>
113. López-Linares JC, Campillo V, Coca M, Lucas S, García-Cubero MT, et al. Microwave-assisted deep eutectic solvent extraction of phenolic compounds from brewer's spent grain. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. 2021;96(2):481–490. <https://doi.org/10.1002/jctb.6565>
114. Moreira MM, Morais S, Barros AA, Delerue-Matos C, Guido LF. A novel application of microwave-assisted extraction of polyphenols from brewer's spent grain with HPLC-DAD-MS analysis. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2012;403(4):1019–1029. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5703-y>
115. Martín-García B, Tylewicz U, Verardo V, Pasini F, Gómez-Caravaca AM, Caboni MF, et al. Pulsed electric field (PEF) as pre-treatment to improve the phenolic compounds recovery from brewers' spent grains. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2020;64. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102402>
116. Redondo D, Venturini ME, Luengo E, Raso J, Arias E. Pulsed electric fields as a green technology for the extraction of bioactive compounds from thinned peach by-products. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2018;45:335–343. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.12.004>
117. Tzima K, Brunton NP, Lyng JG, Frontuto D, Rai DK. The effect of Pulsed Electric Field as a pre-treatment step in Ultrasound Assisted Extraction of phenolic compounds from fresh rosemary and thyme by-products. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2021;69. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102644>
118. Eder R, Mappala H. The role of tocotrienols in the treatment of non-alcoholic steatohepatitis- a meta-analysis. Gut. 2019;68:A144. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-IDDFabstracts.280>

119. Thavasiappan V, Nanjappan K, Ezakial Napoleon R, Visha P, Selvaraj P, Doraisamy KA. Fatty acid profile of wet brewer's spent grain. *International Journal of Science, Environment and Technology*. 2016;5(4): 2516–2521.
120. Zárate R, el Jaber-Vazdekis N, Tejera N, Pérez JA, Rodríguez C. Significance of long chain polyunsaturated fatty acids in human health. *Clinical and Translational Medicine*. 2017;6(1). <https://doi.org/10.1186/s40169-017-0153-6>
121. del Río JC, Prinsen P, Gutiérrez A. Chemical composition of lipids in brewer's spent grain: A promising source of valuable phytochemicals. *Journal of Cereal Science*. 2013;58(2):248–254. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.07.001>
122. Bohnsack C, Ternes W, Büsing A, Drotleff AM. Tocotrienol levels in sieving fraction extracts of brewer's spent grain. *European Food Research and Technology*. 2011;232(4):563–573. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1419-z>
123. Phelan A, Meissner K, Humphrey J, Ross H. Plastic pollution and packaging: Corporate commitments and actions from the food and beverage sector. *Journal of Cleaner Production*. 2022;331. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.129827>
124. Moreirinha C, Vilela C, Silva NHCS, Pinto RJB, Almeida A, Rocha MAM, *et al.* Antioxidant and antimicrobial films based on brewers spent grain arabinoxylans, nanocellulose and feruloylated compounds for active packaging. *Food Hydrocolloids*. 2020;108. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105836>
125. Ferreira AM, Martins J, Carvalho LH, Magalhães FD. Biosourced disposable trays made of brewer's spent grain and potato starch. *Polymers*. 2019;11(5). <https://doi.org/10.3390/polym11050923>