

Z výzkumu a praxe

STANOVENÍ VÝTĚŽKU ALKOHOLU U TRITIKALE

Ing. PAVEL ŠIMŮNEK, Doc. Ing. MILOŠ PELIKÁN, Ing. MARIE STAŇKOVÁ, Ústav technologie potravin, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 613 00 Brno, Česká republika

Klíčová slova: tritikale, amylolytické enzymy, výroba alkoholu, kvasné zkoušky

1. ÚVOD

Řešení problematiky výroby lihu, z které vychází tento příspěvek, se dostává do zájmu odborné veřejnosti ve spojitosti s usnesením vlády ČR č. 125 ze dne 14. 2. 1996. Toto usnesení hodnotí a doporučuje přimíchávání kvasného lihu do pohonných látek. Hovoří se o tzv. bioethanolu, kde zdrojem lihu je vlastně rostlinný materiál, který je obnovitelnou surovinou v rámci procesu fotosyntézy. Bezvodý lih lze přidávat do benzínu v koncentraci 5%, nebo ho použít k výrobě tzv. ETBE (ethyltercibutylester) jako náhrady za současně používaný MTBE (methyltercibutylester). Výhledově by měla být polovina potřebného množství lihu produkována zemědělským lihovarstvím. V konečné fázi by to znamenalo pěstování převážně obilnin pro lihovarské účely na ploše 500 tis. hektarů. Vedle tradičního použití kvasného lihu, tj. v potravinářském, farmaceutickém a chemickém průmyslu, by jistě zvýšený roční objem výroby bioethanolu přispěl k oživení kvasného průmyslu v ČR. Velkým přínosem pro zemědělství i stát by byla možnost zpracování zemědělských přebytků a snížení produkčních ploch ležících v současnosti ladem. Podobné bioethanolové programy jsou již zavedeny například v Brazílii a Francii [1]. Při realizaci tohoto záměru vyvstává pro výzkum v oblasti kvasné výroby lihu ještě mnoho otázek. Tato práce je součástí řešení grantového projektu Ministerstva zemědělství ČR, na kterém se podílí jako jeden ze spoluřešitelů Ústav technologie potravin Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně.

Technologie produkce lihu v zemědělském lihovarnictví doznaly značných změn, zejména ve vedení celého procesu výroby lihu, a dále pak ve skladbě surovin na lih zpracovávaných. Ačkoliv termín „zemědělské lihovarství“ není v České republice pevně zákonně ohraničen, jak je tomu například v Německu, jedná se o provozy zpracovávající především škrobnaté suroviny, spjaté se zemědělskou prvovýrobou produkci výpalků a umístěné povětšinou na venkově.

Za účelem získání lihu probíhal dříve používaný postup ve fázích:

- zmazování a ztekucení škrobu pomocí tlaku a páry,
- zcukřování po přimíchání adekvátního podílu sladu,
- fermentace,
- destilace.

Tento postup, ačkoliv ve své době byl v Československu na velmi vysoké technické úrovni, má z dnešního pohledu některé nevýhody, a to například příliš vysokou spotřebu tepla v podobě páry, vysokou spotřebu technologické a chladicí vody a je náročný na používání tlakovzdušných zařízení.

Hlavní surovinou pro výrobu lihu byly brambory, dále pak žito, v některých případech méně jakostní, případně havarované obilí a rovněž drobnozrnný škrob ze škrobáren.

Nové změny v technologii výroby zemědělského lihu se týkají zejména prvních dvou fází. Navíc, celý postup bývá doplněn o tzv. fázi předpřípravy materiálu, kdy je surovina mechanicky narušena tak, aby došlo k zpřístupnění co největšího počtu škrobových zrn reakcím v dalších částech procesu. K tomuto účelu se používá tzv. suché, nebo mokré mletí. Fyzikální působení tlaku a páry bylo nahrazeno působením enzymů, produkovaných mikroorganismy a dodávaných v podobě obchodních enzymových preparátů. Ke zmazování a ztekucení škrobu postačuje již teplota pod 100 °C a normální atmosférický tlak. Zároveň enzymové preparáty nahradily působení přirozených enzymů sladu na zcukření ztekuceného díla. Konečným výsledkem těchto změn je značné snížení nákladů na výrobu lihu a usnadnění vedení procesu jeho výroby.

Ve výběru surovin pro zemědělské lihovary nastal posun k využívání obilnin. Cenové a ekologické důvody v posledních letech omezily použití brambor jako suroviny pro lihovarství. Zpracováváno je především žito, pšenice, v menší míře pak tritikale a ječmen. Vhodnost jednotlivých druhů obilnin předznamenávají jejich botanické vlastnosti, ale obecně lze říci, že pšenice je ceněna pro vysoký obsah škrobu a bezpluchou skladbu obilky. Žito má podobné vlastnosti, navíc obsahuje vlastní aktivní amylolytické enzymy a snadno se zcukřuje. V určité fázi

žitné záparsy trpí vysokou viskozitou, což může být nevýhodou. Nedostatkem ječmene je pluchatá obilka, která je problémem, zejména pak při kvašení a destilaci zápar. Některé z nadějných vlastností tritikale jsou pak blíže popsány v této práci. V tabulce 1 jsou shrnuty údaje zajímavé z lihovarského pohledu na tyto plodiny.

Nové technologické postupy v zemědělském lihovarnictví, kdy již není nutné používat vysokého tlaku pro zmazování škrobu a sladu k jeho zcukření, je možno simulovat v laboratorních podmínkách. Výsledky zkoušek v laboratorním měřítu mohou přispět k lepší kontrole provozu, a zejména doporučit vhodné suroviny pro zpracování v lihovaru.

Vyloučení použití tlaku a snížení pracovních teplot pod 95 °C umožňuje mechanická předpříprava materiálu a nasazení amylolytických enzymů. Enzymy používané v lihovarnictví pro odbourání škrobu jsou produkty bakteriálních a plísňových mikroorganismů. Jedná se zejména o α -amylasy a amyloglukosidasy patřící do skupiny hydrolas. V současné době je na trhu více obchodních preparátů těchto enzymů známých výrobců jako je např. Novo-Nordisk, Rhone-Poulenc, Biocon apod.

Optimální podmínky aktivity těchto enzymů při rozkladu škrobu jsou zároveň doporučovanými údaji pro vedení procesu lihovarského díla. Tyto údaje se týkají především délky působení enzymu, teploty, pH a koncentrace Ca^{2+} iontů.

Výběr suroviny pro výrobu lihu je stěžejním faktorem ovlivňujícím ekonomiku lihovaru. Ve více pracích zabývajících se problematikou využití obilnin pro lihovarské účely bylo prokázáno, že existují rozdíly ve výtěžcích alkoholu i mezi odrudami v rámci obilního druhu [5]. K dalším rozdílům dochází zejména vlivem vnějších faktorů během pěstování. V menším měřítku byl za-

Tabulka 1. Některé vlastnosti citovaných druhů obilnin [2], [3], [4]

Vlastnost	Druh			
	pšenice	žito	tritikale	ječmen
Objemová hmotnost g	720–850	670–780	650–720	640–720
Obsah škrobu % v suš.	58–76	58–63	62–70	56–66
Obsah N-látek % v suš.	11,8–15,5	8,5–13,5	10,1–14,5	8,8–11,2
Obsah vlákniny % v suš.	1,9–3,2	1,9–3,2	1,9–3,2	4,7
Tepl. mazování škrobu °C	80	60	–	70
Ø výnos v ČR 1994 t/ha	4,58	3,51	–	3,80

znamenán i vliv agrotechniky a způsobu skladování. Dosud uveřejněné výsledky postihovaly tři druhy obilnin, tj. pšenici, žito a tritikale, které jsou pro výrobu lihu používány zejména v kontinentální Evropě. Ovšem v poslední době jsou ve Skandinávii a v Anglii povolovány odrůdy ječmene, u kterých je 40 % veškerého škrobu tvořeno snadno zcukřitelnou amylosou.

V oblasti výroby lihu z obilnin stoupá význam tritikale, tj. křížence žita a pšenice. Tato obilnina se vyznačuje výnosem zrna srovnatelným s pšenicí, značnou odolností k půdně klimatickým podmínkám a menší náročností na výživu [6]. Škrobové zrna tritikale je lépe přístupné působení enzymových preparátů [7], navíc je tritikale charakteristické vysokou aktivitou vlastních amylolytických enzymů, které právě při beztlakovém způsobu vedení procesu napomáhají štěpení škrobu [8].

Cílem předkládané práce bylo zjistit, zda existují rozdíly ve výtěžcích alkoholu u vybraných odrůd tritikale za pomoci laboratorních kvasných pokusů, kdy byly přesně simulovány podmínky nutné pro maximální odbourání škrobu na zkvasitelné cukry a následné zkvašení tohoto díla.

2. MATERIÁL A METODY

Suroviny

K provedení pokusů byly použity vzorky zrna tritikale ze sklizně 1995, a to z polního pokusu ve Skleném nad Oslavou získány odrůdy Ring, Presto, UGO-3 (ozimé tritikale) a ze stanoviště Nové Město na Moravě použito novošlechtění UH-64 a V-1 (jarní tritikale). Obě stanoviště se nacházejí v bramborářské výrobní oblasti, úroveň hnojení u sledovaných odrůd a novošlechtění byla střední (60 kg N/ha), agrotechnika tradiční. Sklizeň zrna byla až počátkem září, za deštivého počasí, proto vzorky zrna byly dosušeny v laboratorních podmínkách.

Laboratorní rozbory vzorků zrna byly provedeny v ústavu technologie potravin, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně a jejich základní charakteristika je uvedena v tab. 2. Polní pokusy jsou součástí grantového projektu GA ČR [9].

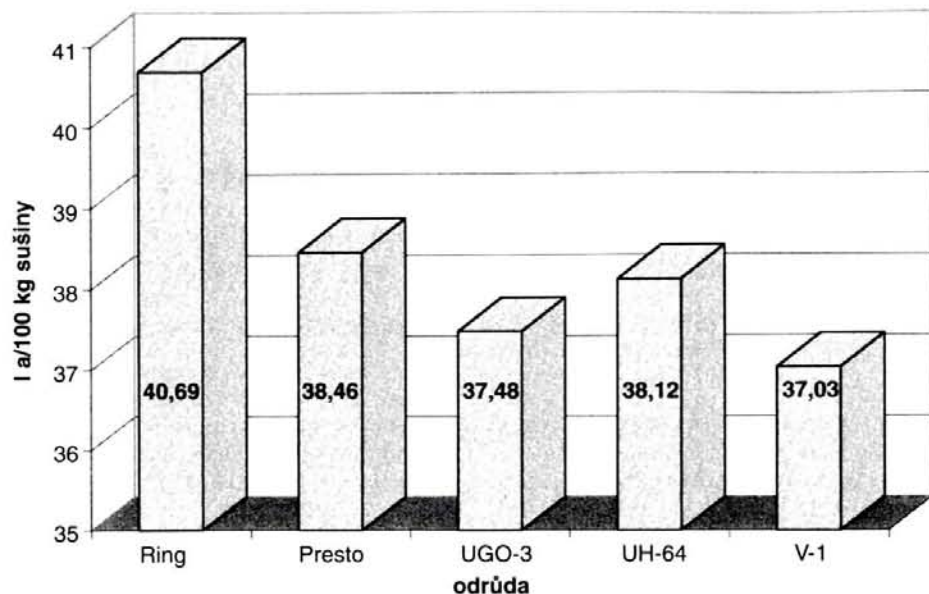
Enzymy

Pro práci byly použity enzymy firmy Novo-Nordisk, dodávané pod následujícími obchodními názvy:

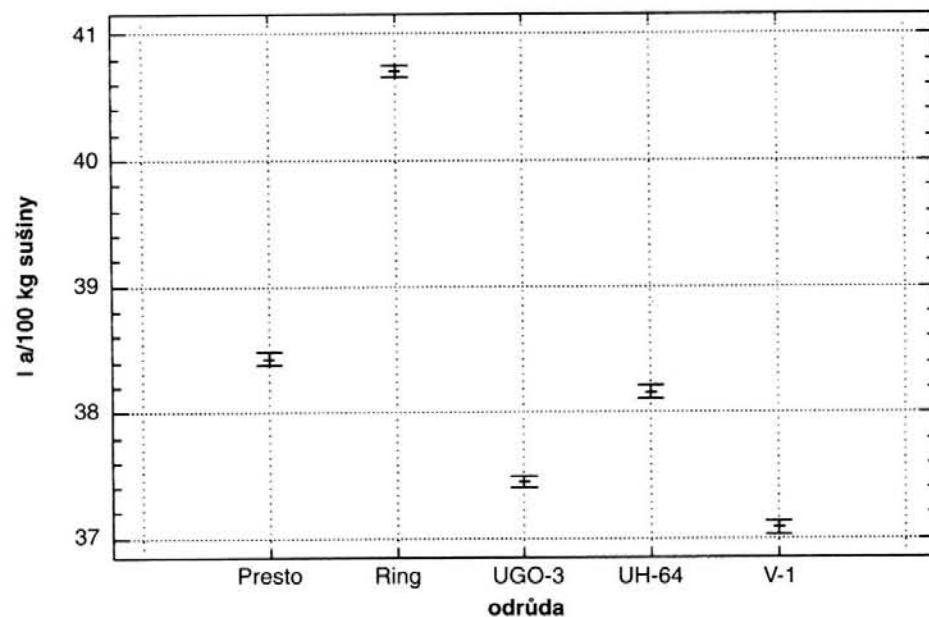
BAN 240 L – je α -amylasa produkovaná submerzní fermentací a selekcí z kmene *Bacillus amyloliquefaciens*.

Systematický název je 1,4 α -D-glukan glukanohydrolasa. Tento enzym hydrolyzuje náhodně 1,4- α -glukosidické vazby amylosy a amylopektinu, což vede ke snížení viskozity a gelatizaci škrobu. Škrob je štěpen na dextriny s rozdílnou délkou řetězce a oligosacharidy.

AMG 300 L – je amyloglukosidasa produkovaná kmenem *Aspergillus niger*. Systematický název je 1,4- α -D-glukan glukohydrolasa. Během hydrolyzy jsou postupně odštěpovány jednotky z neredukujícího



Obr. 1 Výtěžky lihu u vybraných odrůd a novošlechtění tritikale



Obr. 2 Výtěžnost lihu – konfidenční intervaly (hladina významnosti 95%)

konce molekuly substrátu. Vazby 1,4- α jsou lépe hydrolyzovány než vazby 1,6- α .

Vzorky enzymů byly získány od firmy Ekozym, s. r. o., Vizovice. Bližší informace o dávkování, podmínkách aktivity a stability obchodních preparátů enzymů byly čerpány z provozních doporučení výrobců.

Doporučená dávka enzymů na 1 tunu škrobu byla přepočtena na hmotnost škrobu ve vzorcích.

Enzym	Dávka ml na 1 t škrobu	Dávka μ l na 80 g vzorku	pH	Teplota $^{\circ}$ C
BAN 240L	200–400	20	6,0	65
AMG 300L	800–1000	50	4,5	60

Kvasinky

K zakvašení laboratorních pokusů byly použity sušené aktivní lihovarské kvasnice kmene *Saccharomyces cerevisiae*, dodávané

Tabulka 2. Charakteristika použitých odrůd a novošlechtění tritikale

Odrůda	Objemová hmotnost (g)	N-látky (% suš)	Podíl nad 2,5 mm (%)	Škrob (%)	Číslo poklesu(s)	Výnos zrna (t/ha)
Ring	682	10,92	78,5	67,0	106	4,5
Presto	705	11,96	71,8	65,7	116	4,3
UGO-3	654	12,42	85,5	68,2	79	5,1
UH-164	676	13,12	89,2	66,2	61	4,7
V-1	675	13,02	82,5	66,6	61	5,2

pod označením Uvaferm, firmou Uvaferm GesmbH., Krems/Donau, Rakousko. Kvasnice byly poskytnuty v 500 g balení. Sušená forma umožňuje snadnou manipulaci, snižuje riziko kontaminace a kvasnice jsou skladovatelné. Při použití těchto kvasnic lze u každého zakvašení vždy udržet co možná nejstejněměrnější počet násadních buněk se stejnými vlastnostmi.

Pracovní postup

Příprava vzorku

Vzorky tritikale byly pomlety na laboratorním mlýnku (typ Labor Mill 120) od fy Perten Instr. na jemný šrot propadající sítem 0,8 mm. Ze šrotu byl stanoven obsah N-látek, obsah škrobu a číslo poklesu (Falling Number) a tento škrob byl rovněž použit na kvasné zkoušky.

Stanovení výtěžku (kvasná zkouška)

Do nádoby pro vedení pokusu bylo odváženo 80 g meliva, které bylo rozmícháno s 300 ml vody (20 °C) a suspenze byla následně doplněna na celkový obsah 400 ml. Nádoba byla vložena do ultratermostatu a za stálého promíchávání se teplota suspenze zvyšovala rychlostí 1–2 °C za minutu až na 65 °C. Při teplotě 40 °C bylo pH upraveno na hodnotu 6. Ihned po dosažení 65 °C byl přidán ztekucovací enzym BAN 240L (dávka 20 µl) a teplota 65 °C byla udržována 1 hodinu. Obsah byl zchlazen na 60 °C a pH upraveno na 4,5. Do díla byl přidán ztekucující enzym AMG 300L (dávka 50 µl) a ponechán působit přesně 30 minut.

Obsah nádoby byl zchlazen na zákvasnou teplotu 30 °C, převeden do 1 l Erlenmeyerovy baňky a zakvašen 1 kg sušených aktivních kvasnic. Zápara kvasila 72 hodin při 30 °C. Podmínky a doba fermentace byly převzaty z metody používané v práci, kterou publikoval AUFHAMMER et al. [5]. Po prokvašení byla zápara zdestilována a alkohol byl stanoven pyknometricky.

Kvasná zkouška byla prováděna 3× u každého vzorku. Analýza variace výsledků byla provedena pomocí programu Statgraphics a vyjádřena konfidenčními intervaly, viz *obr. 2*.

3. VÝSLEDKY A DISKUSE

Dosažené výtěžky lihu jsou znázorněny

na *obr. 1*, na který navazuje statistické vyhodnocení rozdílů, *obr. 2*. Pro posouzení výsledků kvasné zkoušky jsou taktéž zajímavé některé hodnoty uvedené v *tabulce 2*. Výtěžky jsou přepočteny na litry 100% alkoholu, který by bylo možno získat ze 100 kg sušiny daného vzorku. Dále je používáno zkratky la.

Nejvyšší výtěžek alkoholu poskytla odrůda Ring (40,69 la/100 kg suš.), ačkoliv obsah škrobu byl u této odrůdy nižší než u odrůdy UGO-3, jež ve výtěžku alkoholu byla druhá v pořadí. Nejnižší výtěžek byl zaznamenán u odrůdy V-1 (37,03 la/100 kg suš.), ovšem ani v tomto případě obsah škrobu nebyl směrodatný. Zde je nutné podotknout, že ne všechny zkvasitelné látky jsou výsledkem rozkladu škrobu. Zrno kromě škrobu obsahuje až 3 % cukrů v sušině a další látky dextrinové povahy [10]. Ačkoliv snahou bylo dodržet stejnoměrné množství a aktivitu kvasinek, nemusí jednotná doba 72 hodin znamenat úplné prokvašení média. Příčinou by mohla být přítomnost inhibitorů kvašení, nebo nezkvasitelných sacharidů. Při další aplikaci kvasné zkoušky by bylo vhodné sledovat rozdíly hmotností zápary v baňce, a tím stanovit konec kvašení.

Číslo poklesu, které u jednotlivých vzorků charakterizuje aktivitu vlastní α -amylasy v zrnu, se vyznačovalo nízkými hodnotami, což znamenalo vysoký stupeň aktivity α -amylasy. Číslo poklesu (Falling Number) je mezinárodně standardizovaná metoda (ISO 3093) pro obilí, mouku a ostatní produkty obsahující škrob. Metoda je založena na rychlé gelatizaci mouky nebo šrotu ve vroucí vodní lázni a následném měření času potřebného ke ztekucení škrobu v daném vzorku. Extrémně nízkých hodnot čísla poklesu bylo dosaženo u jarních odrůd, tj. UH-164, V-1 a ozimé odrůdy UGO-3. Nižší číslo poklesu je u obilnin pro lihovarské využití považováno za výhodu, protože enzymy vlastního zrna se mohou podílet na ztekucení škrobu, a tím napomoci účinnosti obchodních preparátů. Je nutné podotknout, že k zvýšení aktivity α -amylasy hlavně u jarních odrůd došlo zejména v důsledku sklizně zrna s vysokou vlhkostí, s počínajícím prorůstáním, jež bylo zastaveno snížením vlhkosti.

Z výsledků je patrný statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými odrůdami, viz *obr. 2*. Jak je vidět již na *obr. 1*, hodnota rozdílu mezi odrůdou s nejvyšší výtěžností a odrůdou s nejmenší výtěžností činila 3,66 la/100 kg suš. Tento rozdíl se jeví poměrně vysoký ve srovnání s výsledky kvasných zkoušek prováděných s odrůdami ozimého tritikale v Baden-Württembersku [5]. Zde činil maximální rozdíl mezi třemi odrůdami 1,9 la/100 kg sušiny.

Tato práce poukázala na skutečnost, že existují rozdíly ve výtěžcích lihu mezi odrůdami tritikale při zachování uniformity faktorů působících na danou plodinu, jakou jsou například stanoviště, hnojení a agrotechnika. Úměrné zvýšení výtěžku o 1 la/100 kg sušiny obilí znamená při průměrném výnosu 5 tun na hektar 50 litrů lihu, což není zanedbatelný ekonomický přínos. Kvasná zkouška se na základě zjištěných výsledků jeví jako vhodný parametr pro posuzování jednotlivých odrůd zpracovávaných pro lihovarské využití. Na druhé straně nemůže být zkouškou jedinou a je třeba ji standardizovat. Případnou standardizaci této metody je nutné doplnit o testování většího souboru vzorků z více stanovišť a ročníků sklizní.

Autoři děkují Dr. H. Hájkové z EKO-ZYM, s. r. o., Vizovice za poskytnutí enzymů a K. Burgrovi z UVAFERM GesmbH Krems/Donau za dodání kvasnic, které posloužily při této práci.

LITERATURA

- [1] AUFHAMMER, W., PIEPER, J. H., SCHÄFER, V.: Bodenkultur, **44**, 1993, s. 183.
- [2] PETR, J., et al.: Tritikale, VŠZ Praha, 1991.
- [3] WESENBERG, J.: Brandweinwirtschaft, **2**, 1990, s. 162.
- [4] MADL, L. R., TSEN, C. C.: Cereal Chemistry, **50**, 1973, s. 215.
- [5] PELIKÁN, M., HRUBÝ, J., PROKEŠ, J.: Dílčí zpráva GA ČR projektu č. 509/95/1285 za rok 1995.
- [6] HENRY, R. J.: J. Sci. Food Agric., **36**, 1985, s. 1243.

Lektoroval prof. Ing. M. Rychtera, CSc.
Do redakce došlo 2. 10. 1996