

# VÝROBA BIOETHANOLU – VLIV RECYKLACE KAPALNÉ FÁZE NA SLOŽENÍ A KRMNOU HODNOTU SUŠENÝCH VÝPALKŮ

## BIOETHANOL PRODUCTION – THE EFFECT OF LIQUID PHASE RECYCLING ON THE COMPOSITION AND FEED VALUE OF DRIED DISTILLER'S STILLAGE

PAVLA CHOTĚBORSKÁ<sup>1</sup>, KAREL MELZUCH<sup>1</sup>, JIŘINA PROCHÁZKOVÁ<sup>2</sup>,  
PAVEL ŠIMŮNEK<sup>3</sup>, LADISLAV ZEMAN<sup>2</sup>, MOJMÍR RYCHTERA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha, Technická 5, Praha 6

<sup>2</sup> Ústav výživy a krmení hospodářských zvířat, MZLU Brno, Zemědělská 1, Brno

<sup>3</sup> Ústav technologie potravin, MZLU Brno, Zemědělská 1, Brno

Kontakt: Mojmir.Rychtera@vscht.cz

**Chotěborská, P. – Melzoch, K. – Procházková, J. – Šimůnek, P. – Zeman, L. – Rychtera, M.: Výroba bioethanolu – vliv recyklace kapalné fáze na složení a krmnou hodnotu sušených výpalků.** Kvasny Prum. 50, 2004, č. 9, s. 262–266.

Výroba bioethanolu ve velkých objemech pro potřeby palivářského průmyslu s sebou přináší otázku zvýšení efektivity fermentace s důrazem na využití výpalků. Práce popisuje výrobu výpalků z pšenice a tritikale v laboratorních podmínkách včetně několikafázové recyklace těchto výpalků. Výsledky rozborů základních surovin a hotových výpalků jsou doplněny o výstupy z krmného pokusu prováděného na potkaních, kde byly výpalky podávány zvířatům ve formě suchých krmných směsí. Získané rozborové údaje ukázaly, že při recyklaci tekuté fáze docházelo k mírnému snížení obsahu dusíkatých látek, ke kumulaci K, Na a v případě tritikale i ke kumulaci fosforu. Při recyklaci docházelo k poklesu Ca, přičemž koncentrace Mg se příliš neměnila. S počtem cyklů klesala krmná hodnota výpalků. Při porovnání krmné hodnoty výpalků z pšenice a tritikale byly lépe hodnoceny výpalky z pšenice.

**Chotěborská, P. – Melzoch, K. – Procházková, J. – Šimůnek, P. – Zeman, L. – Rychtera, M.: Bioethanol production – the effect of liquid phase recycling on the composition and feed value of dried distiller's stillage.** Kvasny Prum. 50, 2004, No. 9, p. 262–266.

The production of bioethanol in high volumes for the needs of fuel industry brings about a question of fermentation efficiency increase with the stress laid on slops utilization. The work describes the production of slops from wheat and triticale under laboratory conditions including a multi-phase recycling of the slops. The analysis results of raw materials and finished slops were completed with results of a feed trial made on brown rats, during which the animals were fed with the slops in a dry mash form. The analysis results received showed that during the recycling of the liquid phase, a slight decrease in nitrogenous compounds content, the accumulation of potassium and sodium and, in case of triticale also the accumulation of phosphorus were observed. During recycling, the content of calcium decreased, while the content of magnesium did not change too much. The feed value of the slops was decreasing with the number of recycling cycles. When comparing the feed values of the slops from wheat and triticale, better results were obtained from wheat slops.

**Chotěborská, P. – Melzoch, K. – Procházková, J. – Šimůnek, P. – Zeman, L. – Rychtera, M.: Die Bioethanolherstellung – Der Einfluss des Flüssigphasenrecyclings auf die Zusammensetzung und Futterwert von getrockneten Schlempen.** Kvasny Prum. 50, 2004, Nr. 9, S. 262–266.

In den grossen Volumen der Bioethanolherstellung für die Brennstoffindustrie bringt auch eine Frage einer Erhöhung der Fermentationseffektivität mit Betonung auch die Schlempe weiter auszunutzen. Der Artikel beschreibt die Herstellung unter Laborverhältnissen von Weizen- und Triticale-Schlempen einschließlich ihres Mehrphasigenrecyclings. Die Ergebnisse der Analyse von Grundrohstoffen und von fertigen Schlempen werden durch Resultate von Futterversuchen von Ratten ergänzt, das Futter wurde in der Form eines Trockenfuttermixes den Tieren vorgeworfen. Die Analysen von Schlempen haben es jedoch gezeigt, das während des Flüssigphasenrecyclings ist eine leichte Senkung von stickstoffhaltigen Stoffen eingetreten worden, in Falle des Triticale konnte auch eine Phosphorkumulation festgestellt werden. Bei dem Recycling wurde der Kalziumsinhalt reduziert, die Magnesiumkonzentration wurde fast gleich bleibend. Mit der steigenden Recyclingszahl nimmt jedoch der Futterwert von Schlempen ab. Bei dem Futterwertvergleich von Weizen- und Triticale-Schlempen wurde als besser die Weizenschlempen ausgewertet.

**Хотоборска, П. – Мелзох, К. – Прохазкова, Й. – Шимунек, П. – Земан, Л. – Рыхтера, М.: Производство биоэтилового спирта – влияние рециклиции жидкой фазы на состав и кормовое качество сушеной барды.** Kvasny Prum. 50, 2004, No. 9, стр. 262–266.

Производство биоэтилового спирта в большом объеме для топливной промышленности влечет за собой вопрос повышения эффективности брожения, прежде всего использование зерновой барды. В работе описано производство барды из пшеницы и тритикалы в лабораторных условиях, включая многофазовую рециркуляцию этой барды. Результаты анализов исходного сырья и готовой барды дополняют результаты кормового опыта, проводимого на крысах-пасюках. Барда была употреблена в сухой кормовой смеси. Анализ барды показал, что при рециркуляции жидкой фазы появились незначительное понижение содержания азотных веществ, кумуляция K, Na и в случае тритикалы кумуляция фосфора. В течение рециркуляции появилось понижение Ca, изменения концентрации Mg были незначительными. С количеством фаз рециркуляции снижалось качество кормовой барды. Сравнивая кормовое качество барды из пшеницы и тритикалы, оказалась барда из пшеницы более качественной.

**Klíčová slova:** bioethanol, lihovarské výpalky, zpracování výpalků, recyklace výpalků, krmiva  
**Keywords:** bioethanol, distiller's stillage, slops treatment, slops recycling, feedstock

### 1 ÚVOD

Snahy EU o využití biopaliv vyvrcholily přijetím směrnice Evropského parlamentu 2003/30/EC ze dne 8.5.2003, která ukládá členským státům zavést legislativu a učinit opatření k zajištění požadavku, aby od roku 2005 minimální podíl biopaliv vyrobených jako pohonné hmoty na území státu činil 2 %. Dále pak tento podíl biopaliv zvyšovat tak, že roku 2010 dosáhne 5,75 %. Česká republika podporuje využití biopaliv v rámci podpůrných programů, které garantují příslušná ministerstva. Ministerstvo zemědělství uvažuje pro rok 2006 s výrobou 3,5 milionů hektolitrů bioethanolu pro tyto účely. Zdrojem suroviny mají být té-

měř výhradně obiloviny pěstované na ploše 240 tisíc ha v objemu 1 500 tis. tun. [1].

Vedlejším „odpadním“ produktem výroby bioethanolu jsou lihovarské řídké výpalky, kterých se tvoří více než desetinásobné množství k produkovanému bioethanolu. Svými fyzikálně-chemickými vlastnostmi představují lihovarské výpalky potenciální nebezpečí pro životní prostředí, ale zároveň mohou znamenat značné zvýšení rentability výroby zemědělského lihu. Z těchto důvodů byla řešena otázka jejich dalšího využití a konečného zpracování.

Pro zlepšení možnosti zahuštění se u výpalků provádí separace pevné fáze. Pevný podíl, obsahující od 15 do 30 % sušiny, se dobře

suší, kdežto kapalná fáze s obsahem od 5 do 7 % sušiny je pro další zpracování dosti problematickým materiálem. Jednou z možností je recyklace kapalné fáze řídkých výpalků [2]. I když se dá předpokládat negativní účinek recyklace na průběh fermentace a výtěžnost ethanolu, lze při použití osmotolerantních kvasinek a optimalizaci množství recyklovaných výpalků dosáhnout dobrých výsledků [3, 4]. Některé lihovarské technologie, které obsahovaly recyklaci výpalků, byly již dříve představeny v poloprovozním [5] a provozním měřítku.

Pozitivní vliv obilných výpalků na výkrm zvířat je všeobecně přijímán [6]. Zavádění beztlakového způsobu a použití termotolerantních hydrolytických (především amyloly-

tických) enzymů při konverzi škrobu, sušení výpalků a snaha minimalizovat množství odpadních vod recyklací odseparované tekuté fáze výpalků může vést ke změnám v jejich krmné hodnotě. Tomu nasvědčují i některé závěry krmivářských pokusů, které porovnávají krmnou hodnotu řídící a sušených výpalků [7, 8]. Použití potkanů jako modelových pokusných monogastričních zvířat umožňuje dosažené výsledky vztáhnout na hospodářská zvířata s podobným metabolismem (prasata, drůbež), kde je pak kvalita výpalků nejčastěji hodnocena spotřebou krmiva, přírůstkem hmotnosti testovaných zvířat a stravitelností krmiva.

Dílčí část úkolu NAZV č. 6668/96 zahrnovala následující cíle:

1. Posoudit možnost snížení objemu produkováných výpalků a spotřeby vody pomocí recyklace kapalné fáze výpalků do dalších fermentací. *Pozn. Tato část bude náplní samostatné publikace.*
2. Stanovit fyzikálně-chemické složení výpalků.
3. Z připravených výpalků připravit krmné směsi, provést testování na potkanech a posoudit vliv recyklace výpalků u dvou typů obilovin (pšenice, tritikale) na krmnou hodnotu výpalků.

## 2 MATERIÁL A METODY

Fermentační zkoušky byly prováděny v Ústavu kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha, následující krmné pokusy pak v Ústavu výživy a krmení hospodářských zvířat, MZLU Brno.

### 2.1 Experimentální materiál

Pro výrobu zápar byla použita pšenice (odrůda Astella ze školního statku Měšice u Táboru) a tritikale (odrůda Kolor z Výzkumného ústavu zemědělského Kroměříž, s.r.o.).

### 2.2 Analytické metody

**Sušina výpalků** – zjišťována vázkovou metodou [9]. Výsledné vzorky suchých výpalků byly zajištěny usušením odpovídajících podílů kapalné a pevné fáze. Nejprve byl usušen pevný podíl a pak byl k němu přidáván zahuštěný kapalný podíl. Směs byla dobře promíchána a dosušena. Teplota v sušárně s recirkulací vzduchu byla udržována v rozmezí 50–55 °C.

**Dusíkaté látky** – stanoveny podle [10] na automatickém analyzátoru (Kjeltec 1030, Tecator, Sweden) a přepočteny na bílkoviny ( $f = 6,25$ ).  
**Tuk** – přímou extrakční metodou podle Hennebergera-Stohmanna [10].

**Vláknina** – stanovena přímou extrakční metodou podle Hennebergera-Stohmanna [10].  
**Bezdušikáté látky výtažkové** (BNLV) – výpočtem jako zbytek sušiny po odečtení dusíkatých látek, tuku, vlákniny a popele [11].

**Kationty** jednotlivých prvků byly stanoveny: Ca – manganometricky [10], P – fotometricky po mineralizaci (ČSN 467092, 1985), Na, Mg, Zn, Mn – metodou atomové absorpční spektrometrie (AAS) [10].

**Aminokyseliny** – po hydrolyze vzorku kyselinou chlorovodíkovou ( $C_{HCl} = 6 \text{ mol/l}$ ) na analyzátoru aminokyselin (Laboratorní přístroje Praha, katex Ostion LG ANB, eluce v gradientu pH 3,5–9,5).

**Sacharidy** – metoda HPLC (Laboratorní přístroje Praha, katex OSTION LG KS 0800, kolona: 250 x 8 mm, mobilní fáze: roztok kyseliny sírové ( $c = 0,005 \text{ mol/l}$ ), teplota: 60 °C,

detekce: průtokový refraktometr RIDK 101).

**Škrob** – metodou podle Ewerse [9].

### 2.3 Příprava fermentačního média

**Předúprava vzorku.** K zajištění vyšší čistoty vzorků a maximálních výtěžků byly vzorky obilovin propláchnuty na drátěném síti technologickou vodou a následně sterilizovány v autoklávu po dobu 30 minut. Tímto způsobem jsme se vyhnuli nestejně hladině kontaminace u obou vzorků, i když na druhé straně jde o operaci, která se v praxi neprovádí. Postup je žádoucí zejména pokud se nepoužívá vyšší teplota (90 °C a vyšší) a termostabilní enzym.

Pro mletí obilovin byl použit laboratorní mlýnek (UltraTurax T50, IKA Labortechnik, Německo). Mletí surovin bylo prováděno za mokra, při frekvenci otáčení rotoru 10 000 min<sup>-1</sup>, vždy po dobu 5 minut, což podle předchozích experimentů plně postačuje pro dezintegraci zrn na částice menší než 0,5 mm.

Schéma přípravy zápar je uvedeno v tab. 1. Zápar, které neobsahovaly výpalky, byly připraveny z obilí a technologické vody v poměru hmotností obilí:voda = 1:3, kde hmotnost obilí činila 6 kg a hmotnost vody 18 kg. U části zápar doplňovaných kapalným podílem výpalků (recykl), bylo složení zápar 6 kg obilí, 10,8 kg technologické vody a 7,2 kg recyklovaného podílu. Bylo tak nahrazeno vždy 40 % potřebného množství vody. Počet recyklů u vzorku pšenice byl pouze 2, kdežto u tritikale 4. Důvodem byl nedostatek pšenice stejné odrůdy pro provedení většího počtu recyklů.

U zápar, které se nepřipravovaly s přidávkou výpalků, se pH pohybovalo v rozmezí 6,0–6,2, a proto jeho úprava vzhledem k optimální hodnotě pH enzymů používaných k hydrolyze nebyla nutná. Při použití recyklu kapalného podílu výpalků došlo u těchto zápar ke značnému okyselení (pH 3,8–4,2), a proto bylo nutno pH zápar upravit 10% roztokem NaOH na doporučenou hodnotu. Fermentační média nebyla přizhívána.

**Ztekucení a zcukření škrobu** v suspenzi namletého obilí probíhalo za stálého míchání reakční směsí. Pro ztekucení zápar byl použit enzymový preparát BAN 240L (Novozymes, Dánsko) v dávce 0,4 ml/kg obilí. Teplota zápar byla z 20 °C plynule zvyšována na úroveň 65–70 °C, při této teplotě byla zápara ztekucována 1 hodinu. Poté byla zápara zchlazena na 50 °C, pH upraveno na 5,2–5,4 a do zápar byl pak vmíchán zcukřující enzym SAN Super 240L (Novozymes, Dánsko) v dávce 0,6 ml/kg obilí. Po dostatečném rozmíchání zcukřujícího enzymu plynule pokračovalo zchlazování až na kvasnou teplotu 30 °C.

Tab. 1 Bilance při přípravě zápar

Zápara	Obilí	Obilí recykl
hmotnost obilí [kg]	6	6
hmotnost H <sub>2</sub> O [kg]	18	10,8
hmotnost recykl. podílu [kg]	0	7,2
BAN 240 L [ml]	3,00	
pH / teplota [°C] / výdrž [h]	6,00–6,20 / 65–70 / 1,00	
SAN Super 240 L [ml]	4,20	
pH / teplota [°C] / výdrž [h]	5,2–5,4 / pod 50 / 0,00	
Zákvas [g/l]	0,15	
doba fermentace [h]	72,00	

**Zákvas a fermentace.** Připravené množství zápar bylo zakvašeno kulturou suchých aktivních kvasinek SIHA DF 639 (E. Begerow, SRN) v dávce 0,15 g na litr zápar. Před přidáním nebyly kvasinky reaktivovány. Fermentace probíhala v plastových barelech o objemu 30 l při teplotě 30 °C po dobu 72 hodin. Víka barelů byla opatřena kvasnými zátkami.

**Odstředění prokvašených zápar.** Pro nízkou kapacitu destilačního zařízení, ale zejména aby se zabránilo připalování výpalků v destilační baňce, byla prokvašená zápara předem odstředěna. Odstředění zápar bylo provedeno v technologické hale Mikrobiologického ústavu AV ČR na sedimentační vertikální odstředivce Sharples Model MV 35P, Pennwalt Ltd., U.K, maximální náplň sedimentu 3,5 kg, frekvence otáčení 15 000 min<sup>-1</sup>.

**Odestilování ethanolu, sušení „pevné fáze“ a zahuštění kapalného podílu.** K odseparování ethanolu a k částečnému zahuštění kapalného fáze byla použita vakuová filmová odparka (Armfield Ltd., Velká Británie). Odpaření (destilace) proběhlo při teplotě 45–50 °C. Je nutno upozornit, že při použití odparky se získá zbytek, ve kterém koncentrace jednotlivých komponent bude vyšší než při použití destilace. Pevný podíl výpalků byl usušen a kapalný podíl byl podle varianty buď recyklován jako náhrada technologické vody pro další fermentace, nebo ihned přimíchán k pevnému podílu výpalků určenému k usušení. Takto vzniklá směs byla dosušena na sušinu kolem 95 %.

### 2.4 Krmné zkoušky

Pro krmné pokusy byly vybrány 4 druhy výpalků: pšeničné a tritikalové bez recyklace, pšeničné po dvou recyklacích a tritikalové po čtyřech recyklacích. Recyklace byla provedena u vzorku pšenice v rámci jednoho vzorku dvakrát, u tritikale pak čtyřikrát. Z technických důvodů byly připraveny suché vzorky u vzorků bez recyklace výpalků a potom při poslední recyklaci.

### 2.5 Modelový růstový a bilanční pokus s potkany

Do pokusu byli zařazeni samci laboratorního potkana po odstavu ve věku 23–25 dnů kmene Wistar monitorovaného chovu firmy Anlab s.r.o. Samci byli rozděleni do 5 skupin po 8 kusech, přičemž celý pokus probíhal ve standardních podmínkách určených pro tento druh zvířat. Každé týdenní období bylo ukončeno vážením zvířat. Krmná směs se podávala vlhčená v ad libidním množství a její spotřeba byla sledována skupinově. Bílkovinný

produkční poměr (PER) byl zjištěn metodou podle Osborna [11].

Složení krmných směsí pro růstový pokus bylo provedeno tak, aby se přibližně shodovaly v obsahu metabolizovatelné energie a nebyly významně deficitní v žádné živině. Pro hodnocení účinnosti výpalků byly zvoleny dvě kontrolní směsi.

Procentické složení krmných směsí a obsah živin uvádí *tabulky 2 a 3*.

### 3. VÝSLEDKY A DISKUSE

#### 3.1 Analýza surovin a výpalků

Z analýzy uvedené v *tab. 4* není vidět podstatný rozdíl mezi vzorkem pšenice a tritikale s výjimkou obsahu vlákniny. Ze stanovovaných prvků je nejvíce obsažen draslík. Analýzy jsou uvedeny ve vzorcích po sterilaci, což v obsahu vlákniny znamenalo snížení hodnot.

**Obsah dusíku a hrubých bílkovin** (*tab. 5*) je důležitým kritériem krmiv. U pšenice cel-

Tab. 2 Procentické složení krmných směsí

Komponenta	Kontrola 1 bílkovinná [% hm.]	Kontrola 2 škrobová [% hm.]	Druh použitých výpalků [% hm.]			
			z pšenice nerecy- klované	z tritikale nerecy- klované	z pšenice 2x recy- klované	z tritikale 4x recy- klované
Pšenice zrno 12 % NL	38,5	26	26	26	26	26
Ječmen zrno 11 % NL	39	30	30	30	30	30
Pšeničný škrob	10	38	16	16	16	16
Hrách	–	2	2	2	2	2
Rybí moučka II. j.	3	–	–	–	–	–
Sójový extr. šrot 43 % NL	5,5	–	–	–	–	–
MKP Plus	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
DBA2 Plus 1000	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Výpalky	–	–	22	22	22	22

**Složení minerální směsi MKP Plus [g/kg minerální přísady]:** Ca mletý (36,5 % Ca), DCF (21 % Ca, 20 % P) 228, NaCl 74, Magnovit 33, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 2,75, ZnO 1,05, Mn<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (72 % Mn) 0,4, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0,68, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 0,01, kyselina boritá 0,08, mořský písek 1,45, cukr 399,6.

**Složení vitamínové směsi DBA2 Plus 1000:** vitamín A: 900 000 mj/kg, vitamín D3: 115 000 mj/kg, vitamín E: 1700 mj/kg, vitamín K<sub>3</sub>: 200 mg/kg, vitamín B<sub>1</sub>: 240 mg/kg, vitamín B<sub>2</sub>: 600 mg/kg, vitamín B<sub>6</sub>: 340 mg/kg, vitamín B<sub>12</sub>: 3 mg/kg, biotin: 20 mg/kg, niacin: 1800 mg/kg, kyselina listová: 40 mg/kg, pantothenan vápenatý: 1800 mg/kg, cholin: 13 000 mg/kg, L-lysin hydrochlorid: 370 000 mg/kg, L-threonin: 150 000 mg/kg

Tab. 3 Obsah živin v krmných směsích

Komponenta		Kontrola 1 bílkovinná	Kontrola 2 škrobová	Druh použitých výpalků			
				pšenice nerecy- klované	tritikale nerecy- klované	pšenice 2x recy- klované	tritikale 4x recy- klované
Sušina	[% hm.]	100	100	100	100	100	100
N – látky	[% hm.]	16,40	8,47	16,78	15,30	14,90	11,93
Tuk	[% hm.]	1,64	0,82	2,56	2,34	1,97	1,42
Vláknina	[% hm.]	3,17	2,02	3,62	3,64	5,39	3,15
Popel	[% hm.]	5,36	3,95	4,75	4,67	6,10	5,42
BNLV	[% hm.]	73,43	84,74	72,29	74,05	71,64	78,08
pH	–	6,20	6,41	5,32	5,21	5,53	5,53
Ca	[g] <sup>1)</sup>	9,52	7,88	7,62	8,21	8,88	7,33
P	[g] <sup>1)</sup>	6,51	4,89	6,23	5,09	6,76	5,70
Na	[g] <sup>1)</sup>	2,34	2,13	2,00	2,11	5,0	3,54
Mg	[g] <sup>1)</sup>	2,12	1,66	2,09	2,07	2,34	1,99
Zn	[mg] <sup>2)</sup>	180,8	264,4	177,7	255,6	163,3	184,9
Mn	[mg] <sup>2)</sup>	85,8	69,25	86,0	86,5	89,6	74,9
Mep	[MJ]	14,65	14,39	14,83	14,69	13,93	14,26

Mep (metabolizovatelná energie) vypočítána odhadem podle [12]

<sup>1)</sup> uvedeno v gramech na 100 g

<sup>2)</sup> uvedeno v miligramech na 100 g

Tab. 4 Základní složení obilí použitého ke zkouškám

Vzorek	Sušina [%]	Množství v sušině												
		N [%]	Škrob [%]	Lipidy [%]	Vláknina [%]	pH výluhu	Popel [%]	Ca [g/kg]	P [g/kg]	Mg [g/kg]	Mn [g/kg]	Zn [g/kg]	Na [g/kg]	K [g/kg]
Pšenice	93,35	1,98	67,06	2,01	6,5	6,87	1,58	0,55	3,59	1,20	0,04	0,02	0,02	4,46
Tritikale	92,65	1,80	69,49	1,55	12,5	6,93	1,77	0,58	4,14	1,37	0,04	0,05	0,02	5,23

Tab. 5 Konečná analýza sušiny vzorků výpalků

Výpalky	Škrob [% hm.]	N-látky [% hm.]	Lipidy [% hm.]	Vláknina [% hm.]	Popel [% hm.]	BNLV [% hm.]	Výluh pH	Ca [g/kg]	P [g/kg]	Na [g/kg]	Mg [g/kg]	Zn [g/kg]	Mn [g/kg]	K [g/kg]
Pšenice nerecykl.	0,92	31,9	5,36	39,2	3,66	44,37	3,7	1,56	8,23	0,61	3,21	0,05	0,11	11,2
Tritikale nerecykl.	4,31	23,3	3,79	41,5	4,30	35,78	3,74	1,70	8,10	0,30	3,40	0,12	0,14	12,6
Pšenice recykl 2x	3,70	27,6	2,89	36,9	4,94	56,01	4,57	1,34	8,30	0,9	12,94	0,04	0,09	13,4
Tritikale recykl 4x	3,54	23,20	0,74	20,2	5,60	51,76	4,24	1,54	10,9	0,80	3,40	0,10	0,08	17,0

kový obsah N-látek mírně klesá. Především jde o pokles v kapalně fázi, jejíž část se právě recirkuluje. U pevného podílu dochází naopak ke zvýšení, což je dáno separací kvasinek z kapalně fáze do pevného podílu. Pevný podíl se přidal do konečného vzorku výpalků jen z odpovídajícího posledního stupně. Změny však nejsou velké. Průměrný obsah N-látek v sušině fermentačního média se pohybuje kolem 25 % hm., v kapalně podílu kolem 15 % hm. a v pevně fázi 37,5 % hm. Z celkové bilance vyplývá, že při recyklaci dochází ke zvyšování množství dusíkatých látek, a to jak v kapalně, tak i pevně fázi. Tyto změny se však příliš neprojeví v přepočtu na sušinu jednotlivých podílů. V sušině prokvašené zářary tritikale (pro všechny případy) je průměrně obsaženo kolem 23 % N-látek (hrubá bílkovina), v sušině pevného podílu kolem 30 % N-látek a v sušině kapalně podílu je kolem 20 % N-látek. Výpalky z tritikale obsahují méně N-látek než výpalky z pšenice.

**Obsah aminokyselin** (*tab. 6*). Prvním důležitým poznatkem je zvýšení celkového obsahu aminokyselin v sušině výpalků ve srovnání s obsahem v sušině obilí. Toto zvýšení je však



Tab. 6 Obsah aminokyselin v sušině testovaných vzorků výpalků (v mg/g sušiny)

Aminokyselina	Výpalky pšenice	Výpalky recykl pšenice (2)	Výpalky tritikale	Výpalky recykl tritikale (4)	Pšenice	Tritikale
ASP	17,7	17,8	16,8	7,3	5,9	5,9
THR	18,3	13,3	12,5	7,5	3,2	3,4
SER	15,3	11,6	12,7	5,9	4,7	4,0
GLU	76,8	52,9	52,6	30,9	32,3	22,4
PRO	35,3	21,7	20,2	13,6	11,0	9,5
GLY	11,2	8,5	9,9	5,0	4,0	3,6
α-ALA	10,3	8,3	9,5	4,8	3,5	4,2
VAL	12,9	9,9	10,8	5,3	4,3	4,4
ILE	11,0	8,0	8,2	4,2	3,4	3,2
LEU	19,2	14,5	15,2	7,3	3,0	6,2
TYR	8,9	6,2	5,9	0,4	2,6	2,4
PHE	14,5	10,2	10,0	6,3	4,6	4,6
HIS	7,4	5,6	6,3	4,4	2,7	2,2
LYS	8,7	5,8	7,8	2,9	2,9	3,2
ARG	13,7	11,8	28,4	5,1	4,8	5,5
Celkem	285,8	206,2	229,2	110,9	97,6	84,4

Pozn.: Obsah aminokyselin methioninu a cysteinu není uváděn, protože analýza nebyla provedena s paralelní úpravou vzorku pro oxidační hydrolyzu, a proto by výsledky byly nepřesné.

relativní a je dáno využitím škrobu (resp. zkvasitelných sacharidů) na tvorbu ethanolu. Přesně vzato dochází však k malému úbytku aminokyselin, které jsou využity kvasinkami. Jde asi o 10 % z celkového množství aminokyselin. U pšeničných výpalků dochází ke zřetelnému snížení obsahu aminokyselin v sušině výpalků po 2. recyklaci. Toto snížení činí 28 %. Nejméně se to týká asparagové kyseliny. U tritikale je důležité zjištění, že u 4. recirkulace došlo ke snížení celkového obsahu aminokyselin o více než 50 %. Nejmenší rozdíl je u α-alaninu. Snížení je z velké části způsobeno odstraněním kvasinek s pevnou fází u 1. recyklu, resp. u 1.–3. recyklu v případě tritikale. Proto je snížení obsahu aminokyselin v konečném vzorku výpalků z tritikale větší. U konečného vzorku výpalků, tj. po čtvrtém recyklu, se po zahuštění kapalně fáze přidala i pevná fáze a tento materiál byl vysušen na konečný vzorek. Vzhledem k této skutečnosti však nedošlo ani k zásadní změně poměru jednotlivých aminokyselin ve srovnání s původním materiálem. Pouze obsah argininu je trochu vyšší, než by odpovídalo stupni zkoncentrování. Tento pokles by nenastal při realizaci v průmyslovém měřítku.

**Obsah škrobu** v sušině výpalků se u pšenice podstatně zvýšil (z 0,92 % hm. v suš. na 3,7 % v suš.), u tritikale s počtem recirkulací mírně snižuje (od 4,31 do 3,54 % hm.).

**Obsah vlákniny v sušině** konečného vzorku u pšenice se mírně snížil (z 39 % hm. v suš. na 36 % hm. v suš.), kdežto u tritikale je snížení u konečného vzorku téměř poloviční (ze 41,5 % na 20,2 % hm.). Hlavní důvod spatřujeme v tom, že větší část vlákniny se odstraňuje s pevnou frakcí a nedostane se do konečného produktu (kromě posledního recyklu).

**Obsah lipidů v sušině** konečného vzorku se s recirkulací snižuje: u pšenice z 5,4 % hm. v suš. na 2,9 % hm. v suš. a u tritikale ze 3,8 % hm. na 0,74 % hm.

**Zastoupení popele a jednotlivých minerálních složek v průběhu recirkulace výpalků.** Koncentrace popele v sušině konečného média mírně vzrůstá (u pšenice z 3,4

na 4,8 % hm. v suš. a u tritikale od 4,3 % do 5,6 % hm.). Podobně vzrůstá i jeho obsah v sušině kapalně (u pšenice ze 3,7 % na 5,5 % hm. a u tritikale od 6 % hm. do 7,2 % hm.) a pevné frakce (pšenice: z 3,1 na 3,8 % hm. a u tritikale: od 2,8 % hm. do 3,5 % hm.).

**Obsah vápníku** se v sušině prokvašeného média mírně snižuje: u pšenice z 1,4 na 1,3 % hm. v suš. a u tritikale od 1,7 g/kg do 1,6 g/kg. V sušině pevné frakce se obsah vápníku prakticky nemění (u pšenice kolem 1,8 % hm. v suš., u tritikale se mírně zvyšuje: od 1,5 g/kg do 1,7 g/kg) a v sušině kapalně fáze dochází k mírnému poklesu (pšenice: od 1,0 do 0,9 % hm., tritikale: od 1,9 g/kg do 1,5 g/kg).

Dalším významným kationtem je **hořčík**. V sušině fermentačního média se jeho obsah příliš nemění při zvyšujícím se stupni recirkulace (u pšenice kolísá kolem 3 g/kg suš. a u tritikale kolem 3,5 g/kg), v sušině kapalně fáze dochází u pšenice ke snížení (z 2,3 na 1,7 g/kg), kdežto u tritikale ke vzrůstu jeho koncentrace (od 3,7 g/kg do 4,8 g/kg), v sušině pevné frakce jeho obsah vzrůstá u pšenice (ze 3,9 g/kg na 4,6 g/kg) a klesá u tritikale (ze 3,2 g/kg na 2,0 g/kg).

**Obsah draslíku** v sušině fermentačního média vzrůstá s recirkulačním stupněm (od 12,6 g/kg do 17 g/kg) a stejně tak vzrůstá v sušině pevné (od 4,2 do 7,1 g/kg) a kapalně (od 22 do 25 g/kg) frakce.

**Obsah fosforu** v sušině média klesá u pšenice (z 8,6 g/kg na 7,5 g/kg) a vzrůstá u tritikale (od 9 do 11,5 g/kg). V kapalně podílu vykazuje mírně vzrůstající trend u pšenice (ze 3,2 na 3,6 g/kg) i tritikale (z 10 na 13 g/kg). V pevně podílu klesá mírně obsah fosforu u pšenice (z 14,6 na 13,0 g/kg), u tritikale dochází k mírnému vzrůstu (od 8 do 9 g/kg).

**Obsah Mn a Zn** je prakticky o jeden řád nižší než Ca a Mg a nedochází k jeho velkému změně při recyklaci.

**Obsah sodíku** v sušině fermentačního média se zvyšuje s recirkulačním stupněm (od 0,5 do 0,6 g/kg u pšenice a od 0,4 do 0,8 g/kg u tritikale), jeho obsah v sušině pevné podílu se příliš nemění (obsah kolem 0,7 g/kg u pšenice a kolem 0,2 g/kg u tritikale), kdežto

obsah v kapalně fázi vzrůstá (u pšenice z 0,4 na 0,5 g/kg a u tritikale z 0,6 na 1,22 g/kg).

### 3.2 Modelový růstový a bilanční pokus

Jak bylo uvedeno v metodické části, testování bylo provedeno na potkanech. Pro srovnání kvality výpalků byly vytvořeny dvě směsi. Z hlediska posouzení krmené hodnoty bílkovin byly do směsi K1 záměrně zařazeny standardní zdroje bílkovin (sójový šrot, rybí moučka) a při vyjadřování účinnosti výpalků byla tato kontrola položena rovna 100 % (viz. 1. část tab. 7). Z tab. 7 je patrné, že skupiny krmené jak pšeničnými, tak i tritikalovými výpalky nedosáhly přírůstu ani spotřeby krmiva zjištěných u kontrolní krmené směsi K1. Nejvíce se hodnotě kontrolní směsi svou kvalitou přiblížily výpalky z pšenice nerecyklované, kde zvířata dosáhla 93% přírůstu kontroly a 99% spotřeby krmiva. Tritikalové výpalky nedosáhly účinnosti pšeničných výpalků. Nejnižšího přírůstu bylo dosaženo u skupiny krmené 4x recyklovanými výpalky tritikale (50 % kontroly K1), ačkoliv zvířata této skupiny měla poměrně vysokou spotřebu krmiva (95 % kontroly K1). Na celkově nižší účinnost tritikalových výpalků mohl mít vliv nižší obsah dusíku oproti pšenici. Výpalky z tritikale v porovnání s pšeničnými výpalky měly nižší obsah všech analyzovaných aminokyselin, což se projevilo v celkovém součtu – výpalky pšeničné 285,8 mg/g suš., výpalky tritikalové 229,2 mg/g suš. (tab. 6). V pokusech uváděných autory [13], kdy prasata byla krmena ječnými výpalky, zvýšil přídavek lysinu přírůstek, příjem a konverzi krmiva. U prasat krmených krmivem obsahujícím výpalky obohacené přídavkem lysinu docházelo oproti prasatům krmeným výpalky bez lysinu ke snížení vylučování dusíkatých látek v exkrementech, a tím i k vyšší zadrži dusíkatých látek v organismu. Přídavek lysinu rovněž zvýšil využití dusíkatých látek v krmných dávkách, které byly doplněny výpalky na úroveň využití dusíkatých látek v krmných dávkách obsahujících namísto výpalků sójový šrot.

V případě, že výpalky jsou brány jako koncentrované krmivo, bylo nutno vyjádřit jejich vliv vzhledem k dietě obsahující minimální množství bílkovin. Pro tento účel byla vytvořena kontrola K2 obsahující zvýšený podíl škrobu. Z výsledků 2. části tab. 7, kde kontrola K2 byla pro názornost postavena rovna hodnotě 100 %, vyplývá, že přídavek výpalků do krmiva zvyšuje přírůstek až na 260 % (skupina – výpalky pšenice nerecyklované). Tato hodnota se blíží bílkovinné kontrole K1 (278 %). V tomto porovnání je dobře patrný poměrně nízký přírůstek při krmení výpalky tritikalovými 4x recyklovanými (140 %).

V růstovém pokusu byl dále sledován bílkovinný produkční poměr (PER), který je podílem hodnoty hmotnostního přírůstu a množství příjmu dusíkatých látek. Z tab. 8 vyplývá, že srovnáváme-li výsledky PER dosažené u jednotlivých druhů výpalků, není již porovnání mezi pokusnými skupinami tak jednoznačné, jako bylo relativní porovnání přírůstu a spotřeby. U skupin bílkovinná kontrola K1, výpalky pšenice nerecyklované, výpalky tritikalové nerecyklované, výpalky pšenice 2x recyklované dosáhl PER hodnot 2,76; 2,69; 2,71; 2,63. Vysokou hodnotu PER dosaženou u škrobové kontroly K2 a u výpalků tritikale 4x recyklované, tj. 3,35 a 3,70, je třeba posuzovat v souvislosti s celkově nízkým přírůstkem dosaženým v těchto skupinách, jak je patrné z obr. 1. Jinými slovy, zvířata ve

Tab. 7 Relativní přírůstek a spotřeba krmiva

	Kontrola		Druh výpalků			
	K1 bílkovinná kontrola	K2 škrobová kontrola	z pšenice, nerecyklo- vané	z tritikale, nerecyklo- vané	z pšenice 2x recyklo- vané	z tritikale 4x recyklo- vané
<b>kontrola K1 = 100 %</b>						
Přírůstek	1	0,36	0,93	0,89	0,76	0,50
Spotřeba	1	0,62	0,99	0,91	0,86	0,95
<b>kontrola K2 = 100 %</b>						
Přírůstek	2,78	1	2,60	2,46	2,11	1,40
Spotřeba	1,70	1	1,60	1,46	1,38	1,52

Pozn.: Obsah aminokyselin methioninu a cysteinu není uváděn, protože analýza nebyla provedena s paralelní úpravou vzorku pro oxidační hydrolyzu, a proto by výsledky byly nepřesné.

zmíněných dvou skupinách byla vzhledem nízkému obsahu dusíkatých látek v krmné dávce nebo k jejich nízké dostupnosti nucena metabolizovat veškeré dostupné dusíkaté látky s co největší efektivitou. Vzhledem k tomu zjištění byl prováděn další krmný pokus za účelem zjištění biologické hodnoty jednotlivých druhů výpalků, jehož výsledky budou uveřejněny v samostatné publikaci.

Ze získaných výsledků vyplývá, že sušené obilné výpalky bez recyklace mohou s velkou účinností nahrazovat standardní zdroje bílkovin, avšak při jejich recyklaci je třeba počítat se snižující se krmnou hodnotou. Do jaké míry by bylo možno nahradit například sójový šrot sušenými výpalky bez snížení přírůstku bylo posuzováno v krmném pokusu prováděném na prasatech [14]. V tomto pokusu byla krmná dávka založená na sójovém šrotu doplňována různým podílem tekutých výpalků. Bylo zjištěno, že při náhradě 33 % z podávaného množství sójového šrotu výpalky nedošlo ke snížení konverzního poměru krmiva a přírůstku. Při zvětšeném podílu výpalků v krmné dávce se pak konverzní faktor i přírůstek snižovaly lineárně. Vyšší podíl výpalků v krmné dávce by bylo pravděpodobně nutno doplnit o některou z limitujících složek, především

pak lysin, který podle publikovaných prací [13, 15] zvyšuje využití dusíkatých látek přítomných ve výpalcích.

#### 4 ZÁVĚR

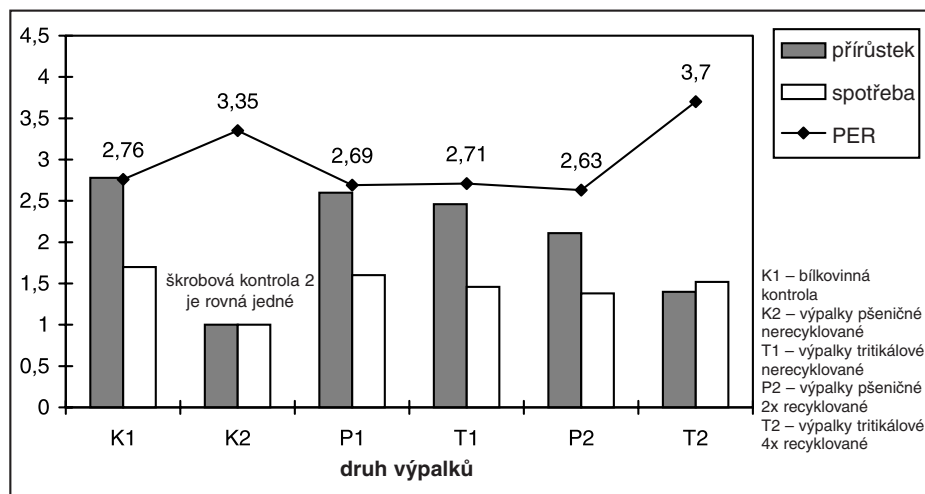
Při recyklaci tekuté fáze docházelo k mírnému snižování obsahu dusíkatých látek ve výpalcích, což bylo způsobeno vyražením pevných podílů, které obsahují důležitý zdroj bílkovin – kvasinky. Pouze poslední podíl pevné fáze byl přidán k zahuštěnému kapalnému podílu a společně usušen. Z minerálních látek dochází k akumulaci draslíku, sodíku a u tritikale i fosforu. K poklesu dochází u vápníku. Obsah hořčíku se příliš nemění.

Výpalky je možné zkrmovat, avšak jejich relativní krmná hodnota je nižší než u standardně používaných zdrojů bílkovin. S počtem recyklů klesá kvalita výpalků. Při porovnání krmné hodnoty výpalků z pšenice a tritikale byly lépe hodnoceny výpalky z pšenice. Z výsledků lze usuzovat, že použitím pouze jedné recyklace nebo nižšího recyklačního poměru by bylo možno dosáhnout výsledků srovnatelných s výpalky nerecyklovanými. Výsledky by bylo třeba pro tento případ ověřit novými krmnými zkouškami.

Tab. 8 Bílkovinný produkční poměr (PER) u jednotlivých druhů výpalků

	Kontrola		Výpalky z			
	K1 bílkovinná kontrola	K2 škrobová kontrola	pšenice nerecyklo- vané	tritikale nerecyklo- vané	pšenice 2x recyklované	tritikale 4x recyklované
PER	2,76	3,35	2,69	2,71	2,63	3,70

Obr. 1 Poměrné srovnání přírůstků hmotnosti a spotřeb krmiv u testovaných zvířat s hodnotami PER



#### Poděkování

Práce publikovaná v tomto článku byla finančně podporována z grantu NAZV MZe ČR č. EPO 96098668. Autoři dále děkují paní RNDr. Haně Hájkové ze společnosti EKOZYM s.r.o. za poskytnutí vzorků enzymů a Ing. Jiřímu Uhrovi za pomoc při organizaci laboratorních experimentů.

#### Literatura

- [1] Agroweb (www.agroweb.cz): Biolih dostal zelenou. Agroweb – zemědělský internetový portál, sekce zpravodajství, 25. 8. 2003.
- [2] Jascques, K., Lyons, P. T., Kelsall R. D.: The Alcohol Textbook. Nottingham University Press, 1999, s. 386.
- [3] Chin, P. M., Ingledew, W. M.: Effect of Recycled Laboratory Backset on Fermentation of Wheat Mash. Journal of Agricultural and Food Chemistry **41**, 1993, s. 1158–1163.
- [4] Kim, J. S., Kim, B. G. and Lee, C. H.: Distillery Waste Recycle Through Membrane Filtration in Batch Alcohol Fermentation. Biotechnology Letters **21**, 1999, s. 401–405.
- [5] Pieper, H. J., Senn, T., Jung, O.: Ethanol Production from Potatoes with the Hohenheimer-dispersing Mash Process with Stillage Recycling. Food Biotechnology **4**, 1990, s. 286–291.
- [6] Kreipe, H.: Getreide- und Kartoffel-Brennerei. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 1981, s. 358.
- [7] Ham, G. A., Stock, R. A., Klopfenstein, T. J., Larson, E. M., Shain, D. H., Huffman, R. P.: Wet Corn Distillers Byproducts Compared with Dried Corn Distillers Grains with Solubles as a Source of Protein and Energy for Ruminants. Journal of Animal Science **72**, 1994, s. 3246–3257.
- [8] Klopfenstein, T., Blair, R.: Distillers Grains as an Energy Source and Effect of Drying on Protein Availability. Animal Feed Science and Technology **60**, 1996, s. 201–207.
- [9] Davídek J., Hrdlička J., Karvánek M., Pokorný J., Seifert J., Velíšek J.: Laboratorní příručka analýzy potravin. SNTL, Praha, 1977, s. 254, 255.
- [10] ČSN 467092: Laboratorní metody pro rozbor krmiv. Úřad pro normalizaci a měření, Praha, 1985.
- [11] Kacerovský, O.: Zkoušení a posuzování krmiv. SZN, Praha, 1990, s. 216.
- [12] Šimeček, K., Zeman, L., Heger, J.: Potřeba živin a tabulky výživné hodnoty krmiv pro prasata. VÚVZ, Pohořelice, 1993, s. 78.
- [13] Valaja, J., Nasi, M.: Digestibility and Utilization of Diets Composed of Wet Distillers Solids or Soyabean Meal and Supplemented with Liquid Lysine Product for Growing Pigs. Animal Feed Science and Technology **57**, 1996, s. 267–279.
- [14] Valaja, J., Alaviuhkola, T., Siljander Rasi, H.: Wet Barley Distillers Solids as a Protein Source for Growing Pigs. Animal Feed Science and Technology **51**, 1995, s. 193–202.
- [15] Nasi, M. and Aimonen, E.: Evaluation of Undehydrated Barley Feed Fractions and Dried Oat Feed Fractions from Integrated Starch-ethanol Process in Diets of Growing Pigs. Agricultural Science in Finland **1**, 1992, p. 291–301.