

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**

---

Studijní obor: Všeobecné zemědělství

Katedra: Aplikovaných rostlinných biotechnologií

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**  
**Hydrolyza brambor**

Vedoucí diplomové práce:  
**Prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc.**

Autor:  
**Andrea Kamenová**

---

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Hydrolyza brambor“ vypracovala samostatně a na základě vlastních zjištění a materiálů uvedených v seznamu literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b) zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

.....

V Českých Budějovicích 16. 3. 2010

Ráda bych tímto poděkovala Prof. Ing. Stanislavu Kuželovi, CSc. za odborné vedení, cenné rady a pomoc při vypracování diplomové práce. Zároveň patří mé poděkování Ing. Josefu Marouškovi, Ph. D. a paní Hřebečkové za pomoc při laboratorních analýzách, poskytnutí podkladových materiálů a informací.

**Abstract:**

This work compares acid, alkaline and enzymatic hydrolysis of potato starch with simultaneous application of various pressures (0MPa, 0,3MPa and 1MPa). Acid hydrolysis was made by sulphuric acid of intensity 3, 6, 9 and 12 %, alkaline *hydrolysis* was made by sodium hydroxide of intensity 3, 6, 9 and 12 % and four enzymatic preparations for starch hydrolysis were used for enzymatic hydrolysis. Hydrolysis effect was measured via GE and added by alcohol yield. There was positive influence of increased pressure 0,3MPa and 1MPa on hydrolysis process visible in this experiment.

KEYWORDS: Hydrolysis; Potato; Starch; Bioetanol; Enzymes

**Souhrn:**

Práce se zabývá srovnáním působení kyselé, zásadité a enzymatické hydrolyzy na bramborový škrob při současném působení různých tlaků (0 MPa, 0,3 MPa a 1MPa). Kyselá hydrolyza byla prováděna kyselinou sírovou o koncentracích 3, 6, 9 a 12 %, zásaditá hydrolyza hydroxidem sodným o koncentracích 3, 6, 9 a 12% a k enzymatické hydrolyze byly použity čtyři enzymatické přípravky k hydrolyze škrobu. Efekt hydrolyzy byl poměřován pomocí GE a doplněn byl výtěžností alkoholu. V pokusu je patrný pozitivní vliv zvýšeného tlaku 0,3MPa a 1MPa na průběh hydrolyzy.

KLÍČOVÁ SLOVA: Hydrolyza; Brambory; Škrob; Bioetanol; Enzymy

**Seznam zkratk**

BS =  $\alpha$ -amyláza z *Bacillus subtilis*

AO =  $\alpha$ -amyláza z *Aspergillus oryzae*

ASD =  $\alpha$ -amyláza z *Bacillus licheniformis*

SLAD = sladové mléko

SEA = starch enzyme activity ; mg škrobu, které za sekundu hydrolyzuje 1 gram enzymu; S(mg)/t(s)/E(g)

GE = glucose equivalent; celkové množství redukujících cukrů obsažených ve škrobovém hydrolyzátu; g/kg

## Obsah

1. ÚVOD.....	8
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED .....	11
2.1 Brambor hlíznatý ( <i>Solanum tuberosum</i> L.), původ, chemické složení, vybrané ekonomické ukazatele pěstování průmyslových brambor .....	11
2.1.1 Původ bramboru hlíznatého ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) .....	11
2.1.2 Chemické složení bramborové hlízy .....	11
2.1.3 Průmyslové brambory.....	12
2.1.4 Vývoj produkčních ploch, průměrný výnos, škrobnatost, výnos škrobu a cena brambor na výrobu škrobu v letech 2002-2009.....	14
2.2 Škrob a jeho složení .....	17
2.2.1 Amylóza.....	18
2.2.2 Amylopektin .....	19
2.2.3 Tvorba škrobu .....	20
2.2.4 Historie používání, charakteristika a složení škrobu.....	20
2.2.5 Výroba bramborového škrobu .....	21
2.2.6 Kvóty bramborového škrobu pro ČR .....	21
2.3 Typy hydrolýzy škrobu .....	22
2.3.1 Kyselá hydrolýza .....	22
2.3.2 Zásaditá hydrolýza .....	22
2.3.3 Enzymatická hydrolýza.....	22
2.4 Enzymy .....	23
2.4.1 Obecné vlastnosti enzymů .....	24
2.4.2 Vliv podmínek prostředí na aktivitu enzymů .....	24
2.4.3 Kofaktory enzymů.....	27
2.4.4 Mechanismus účinku enzymů .....	27
2.4.5 Hydrolázy .....	28
2.4.6 Komerčně dostupné enzymatické preparáty .....	29
2.5 Bioetanol.....	29
2.5.1 Výroba bioetanolu v České republice .....	29
2.5.2 Vliv bioetanolu na motory .....	31
2.5.3 Dotační politika .....	32
2.6 Zhodnocení ekonomiky výroby bioetanolu z brambor.....	33
2.6.1 Kalkulace nákladů na výrobu bioetanolu .....	33
2.6.2 Výnosy a rentabilita .....	34
3. CÍL PRÁCE .....	35

4. METODIKA A POUŽITÉ MATERIÁLY .....	36
4.1 Bramborová zápara .....	36
4.2 Sladové mléko (Hřebečková).....	36
4.4 Zásaditá hydrolýza (Maroušek).....	37
4.5 Enzymatická hydrolýza (Maroušek) .....	37
4.6 SEA (Maroušek) .....	38
4.7 Obsah GE (Maroušek).....	39
4.8 Objem zkvasitelných látek .....	39
5. VÝSLEDKY .....	41
5.1 Kyselá hydrolýza brambor .....	41
5.2 Zásaditá hydrolýza brambor .....	42
5.3 Enzymatická hydrolýza brambor.....	43
5.4 Vzájemné porovnání maximálních výtěžností.....	47
6. DISKUZE .....	48
7. ZÁVĚR .....	50
8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	52
9. PŘÍLOHY .....	56

## 1. ÚVOD

Celý svět se v posledních 15 letech shledává s pesimistickými předpověďmi vědců a badatelů ohledně ztenčujících se zásob neobnovitelných energetických surovin, jako je ropa, zemní plyn, uhlí a uran. Existují samozřejmě i předpovědi optimistické, které poukazují na nová, ještě neobjevená ložiska, která však nebudou natolik bohatá na kvalitní suroviny, jako tomu bylo doposud, kdy měla ložiska vysokou energetickou návratnost. I na základě těchto informací se ve všech vyspělých státech světa vědci zabývají myšlenkami na zpracování obnovitelných zdrojů energie. Jedním z faktorů ovlivňujících zavedení laboratorních technik do praxe je samozřejmě i nákladnost a to jak náklady na pěstování a sklizeň zemědělské plodiny, tak i náklady na techniku a technologii výroby biopaliv.

Celosvětová produkce bioetanolu byla v roce 2006 asi 50 milionů tun a z toho bylo asi 33 milionů tun (asi 66%) použito jako pohonné hmoty pro zážehové motory. Zatím největší spotřeba je v Brazílii, téměř 20 miliard litrů za rok pohonných hmot typu E-85 a Gasohol. Výroba bioetanolu v EU činila v roce 2006 asi 1,24 milionu tun. Sledováním produkce se zabývá organizace EBFA (European Bioethanol Fuel Association) se sídlem v Bruselu (Kizlink, 2008a). V příloze je pro zajímavost uveden graf struktury spotřeby primárních energetických zdrojů v regionu střední Evropy v roce 2006 (Obrázek 1).

Výroba a využití kapalných biopaliv v EU vychází z Evropské směrnice č. 2003/30/ES. Dílčí cílová hodnota stanovená v této směrnici pro Českou republiku, tj. 5,75% biopaliv v pohonných hmotách v roce 2010, je v naší legislativě transponována především do zákona č. 86/2002 Sb., o ochraně ovzduší. Další rozvoj výroby a využití především bioetanolu v ČR je ale zatím nejistý (Konšel, 2010).

Můžeme se ale setkat i s kritikou používání biopaliv. Mezi argumenty patří například likvidace deštných pralesů a ostatních důležitých oblastí, které se podílejí na správném fungování klimatu planety a regulaci jak ozonové vrstvy, tak množství skleníkových plynů, a s tím spojená produkce oxidu uhličitého a oxidů dusíku v množstvích větších, než je tomu při současném používání ropných produktů a zemního plynu.

Dále je to výroba biopaliv na úkor potravin pro lidstvo (především chudých obyvatel třetích zemí světa) a ztráta biodiverzity v důsledku používání minerálních hnojiv a pesticidů. Na druhou stranu ale pěstování plodin na orné půdě pozitivně ovlivňuje její vlastnosti, tím se myslí především ochrana proti erozi půdy, dále je to využití půdy při potlačení nadprodukce potravin a tím udržení její úrodnosti, popřípadě i zvýšení půdní úrodnosti při použití zlepšujících plodin.

Důležité jsou také vedlejší produkty, které vznikají při výrobě biopaliv, jako jsou šroty a pokrutiny z řepky olejné, které se využívají jako bílkovinné krmivo pro hospodářská zvířata a stejně tak i výpalky, které se používají ke krmení skotu, ke hnojení popřípadě jsou. Současně je pěstování energetických plodin také jednou z možných variant dalšího příjmu farmářů, zvyšování zaměstnanosti především ve venkovských oblastech, má vliv na rozvoj nových technologií, snižování dovozů ropy a tím zlepšování energetické bezpečnosti státu a samozřejmě i zvýšení HDP.

V současné době je několik účinných metod, které jsou vhodné pro získávání energetických surovin z fytomasy. Patří mezi ně mechanická dezintegrace fytomasy, silná termotlaková extruze, hydrolýza, metanolýza, ozonolýza, etanolýza, exploze oxidem uhličitým nebo čpavkem, tepelné šoky nebo vystavení fytomasy silnému elektromagnetickému vlnění (Maroušek, 2009).

V klimatických podmínkách střední Evropy se mezi hlavní obnovitelné surovinové zdroje pro výrobu palivového bioetanolu počítají obiloviny, kukuřice, cukrovka a brambory a mimo tyto hlavní suroviny je používán i čirok, čekanka a topinambur. Zpracováváno je i ovoce, ale jen v případech velkých sklizní nebo znehodnocení surovin například při dopravní havárii. Látky obsažené v těchto surovinách jsou škrob, sacharosa a další sacharidy a dají se dobře zpracovat na bioetanol. Ve světě je bioetanol používán výhradně jako motorové palivo, a to většinou ve formě nízkopodílové složky benzínové směsi. Spaliny bioetanolu neobsahují popel a síru a mají oproti benzínu nižší podíl oxidu uhličitého a oxidů dusíku. Výchozí surovinou pro výrobu bioetanolu jsou škrobnaté či cukernaté zemědělské plodiny, které se lihovarnickými postupy zpracovávají na finální produkt. Ten je pak ve směsi s benzínem distribuován do spotřební sítě. Tento systém využití bioetanolu funguje v mnoha zemích světa, kde je podporován státem (dotacemi či daňovými úlevami) jako součást politiky využívání domácích zdrojů (Kunteová, 1998).

Za bioetanol je považován etanol produkovaný z biomasy. Bioetanol patří mezi pohonné hmoty a je nejvíce rozšířen v Brazílii a USA. Zájem o bioetanol, jako náhradu za benzín, se začal projevovat v Brazílii a USA od 80. let 20. století a v současnosti je používán v dopravě díky vládním dotacím, které se na něj vztahují. Jsou tři důležité cesty výroby etanolu: ze škrobu nebo cukrů obilí, dále se provádí enzymatická hydrolýza celulózy nebo chemická hydrolýza celulózy (kyselá nebo zásaditá). V současné době je cena produkce u těchto tří metod srovnatelná. Nicméně komerční výroba je založena jen na zpracování škrobu a cukrů obilí (Anonym1).

Přídavky etanolu a bioetanolu do pohonných hmot snižují motorové emise znečišťujících látek, které jsou škodlivé pro životní prostředí a to proto, že mají vyšší oktanové číslo (111) než benzín (80-100).



Dále přidavek bioetanolu v pohonných hmotách zvětšuje tlak par, čímž zvyšuje optimální vzplanutí a účinnost palivové směsi. Výhody u benzínů s nižším obsahem bioetanolu (do 15%, jako u E-15) jsou zejména v lepším startování motoru v chladu až mrazu, zabezpečují lepší spalování pohonných hmot ve válcích vlivem vysokého obsahu energeticky vázaného kyslíku a emise oxidů síry jsou zde téměř zanedbatelné (Kizlink, 2008b).

Nevýhodou je hlavně zvýšená spotřeba pohonných hmot a problémy při jízdě v horkém letním počasí, kdy vyšší odpařivost bioetanolu může mít za následek i vznik bublinek v palivovém systému a také možnost přitahování vody bioetanolem do pohonných hmot, které se může projevit zvýšením korozivosti kovových částí motoru. Při vyšším podílu bioetanolu už může docházet k separaci vrstev pohonných hmot a to hlavně vlivem vody. Proto je nutné přidávat i kosolventy, které jsou i toxické a do České republiky se musí v současné době dovážet. Použití bioetanolu do pohonných hmot v množství do 5 objemových procent se negativně téměř neprojevuje a do 10% je riziko opotřebení motoru tak nízké, že ani není potřeba úpravy motoru (Kizlink, 2008b).

Palivo Ethanol E95 je s úspěchem používáno především ve Švédsku v rámci nahrazování fosilních paliv alternativními palivy z obnovitelných zdrojů. Například ve Stockholmu již více než 18 let přepravují cestující v hromadné dopravě autobusy Scania na etanolový pohon (Trnavský, 2008).

V této práci jsou zkoumány účinky různých druhů hydrolýz na nízkotlakově extrudované i neextrudované škrobnaté fytomase, konkrétně na bramborové zápaře.

## 2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1 Brambor hlíznatý (*Solanum tuberosum* L.), původ, chemické složení, vybrané ekonomické ukazatele pěstování průmyslových brambor

#### 2.1.1 Původ bramboru hlíznatého (*Solanum tuberosum* L.)

Brambory jsou vedle kukuřice a tabáku jedna z nejdůležitějších plodin dovezených do Evropy z Ameriky, kde byly pěstovány již ve 2. století n. l. V literatuře jsou uváděna 2 centra, ze kterých se pěstování brambor šířilo: první bylo v horských údolích peruánských a bolivijských And, druhé se nacházelo ve střední Chile. Dnešní kulturní brambory (*Solanum tuberosum* L.) se do Evropy dostaly koncem 16. století. Hospodářský význam získaly brambory prvně v Irsku, kde se v 17. století staly základní potravinou. Na území Čech se brambory dostaly v letech 1628-1630 a dokonce 17. století se pěstovali jen jako okrasná rostlina. Jejich pěstování se rozšířilo po poznání, že jsou lepším živinným zdrojem pro rostoucí počet obyvatel než obiloviny. Především se tak stalo po roce 1772, kdy byla v Evropě velká neúroda obilí a francouzský osvícenec Antoine-Augustin Parmentier dokázal, že brambory jsou nejen výživné, ale i chutné. Vzestup produkce brambor znamenal konec hladu, moru a jiných epidemií obvyklých při neúrodách obilnin. Největší rozmach v pěstování byl zaznamenán v první polovině 19. století, zejména zvýšením poptávky po průmyslových bramborách (Pelikán, Sáková, 2001).

#### 2.1.2 Chemické složení bramborové hlízy

Literatura o chemickém složení a obsahu látek v bramborové hlíze je velmi bohatá a proto je velmi obtížné získat správný obraz o celkovém složení bramborové hlízy. To je zapříčiněno především tím, že obsah jednotlivých složek není stálý, ale mění se především v závislosti na odrůdě, hnojení, pěstební agrotechnice, půdně klimatických poměrech, stupni zralosti při sklizni, podmínkách skladování a na dalších kombinacích faktorů (Pelikán, Sáková, 2001).

V následující tabulce (Tabulka 1) jsou uvedeny základní látky bramborové hlízy podle Krönera a Völksena, cit. Adlerem, 1971.

Tabulka 1: Složení bramborové hlízy.

Název základní látky	Průměrný obsah v %
Voda	76,3
Sušina	23,7
Škrob	17,5
N-látky	2,0
Cukry celkem	0,5
Vláknina	0,7
Tuk	0,1
Minerální látky	1,1

zdroj: Pelikán, Sáková, 2001

Kromě látek uvedených v tabulce obsahují bramborové hlízy také vitaminy, organické kyseliny, glykoalkaloidy, pigmenty a fenoly.

Výše obsahu škrobu je nejvíce svázána s vlivem odrůdy (je odhadován na 66%). Povětrnostní vlivy ročníku se významně podílejí jak na tvorbě sušiny, tak ještě větší podíl mají na tvorbě škrobu v hlízách, neboť ta je úzce spjata s fotosyntézou, která intenzivně probíhá při dostatečném slunečním záření a teplotě (Prugar a kol., 2008).

### 2.1.3 Průmyslové brambory

Průmyslové brambory jsou do jisté míry odlišným produktem v porovnání s bramborami určenými k přímému konzumu. Mimořádně významný jakostní znak je obsah sušiny a škrobu, v poslední době i obsah dusíkatých látek. Jako doplňující znak je to i kvalita škrobu, vyjádřená především velikostí škrobových zrn. Konečný efekt produkce sušiny i škrobu je ovlivněn celým průběhem pěstování a jeho podmínkami (Minx a kol., 1994).

Průmyslovými bramborami se podle ČSN 46 2200-5 (Brambory - část 5 Průmyslové brambory) rozumí brambory určené k průmyslovému zpracování ve škrobárnách, v lihovarech a v sušárnách.

K minimálním požadavkům patří dobrý zdravotní stav hlíz (bez napadení hnilobami a poškození mrazem). Hlízy mají být čisté, s dobře vyvinutou slupkou, bez nadměrné povrchové vlhkosti a bez cizího zápachu. Příčný průměr hlíz průmyslových brambor by měl dosahovat nejméně velikosti 30mm. Nejdůležitějším parametrem je z hlediska užitkového směru obsah škrobu. Ten by měl u průmyslových brambor dosahovat podle výše uvedené normy nejméně 15%, nicméně škrobárenské provozy již v současné době požadují obsah škrobu alespoň 18% (Žižka, 2006).

Závažným problémem z hlediska obsahu škrobu je délka vegetační doby. S kratší vegetační dobou škrobnatost klesá, to znamená, že rané a polorané odrůdy s požadovanou škrobnatostí nad 15% a odpovídajícími hospodářskými vlastnostmi se získávají jen ojediněle (Minx a kol., 1994).

Počasí je tvořeno kombinací trvání slunečního záření, intenzitou světla, zásobením vodou, množstvím a rozdělením srážek a teplotou. Obecně platí, že vysokého obsahu škrobu lze docílit v oblastech a v letech s dlouhým a na slunce bohatým létem a podzimem. V oblastech s vlhkým, studeným počasím a na slunce chudých, zůstává obsah škrobu nízký. Každé zkrácení růstu (nemoci listů, brzké mrazíky) obsah škrobu snižuje. Z hlediska produkce škrobu, zejména u pozdních odrůd, by povětrnostní podmínky měly zabezpečovat délku vegetační doby nad 155 dnů, s průměrnou teplotou ve vegetačním období nad 13°C a 220mm srážek v období červen-září (Minx a kol., 1994).

Z agrotechnických opatření má největší vliv organizace založení porostu. V případě sponu 750mm x 300mm (44 444 rostlin na 1 ha a méně) je dosahováno průkazně vyšších hodnot obsahu sušiny než při hustém sponu 750 mm x 250 mm (53 333 rostlin na 1 ha a více) (Žižka, 2006).

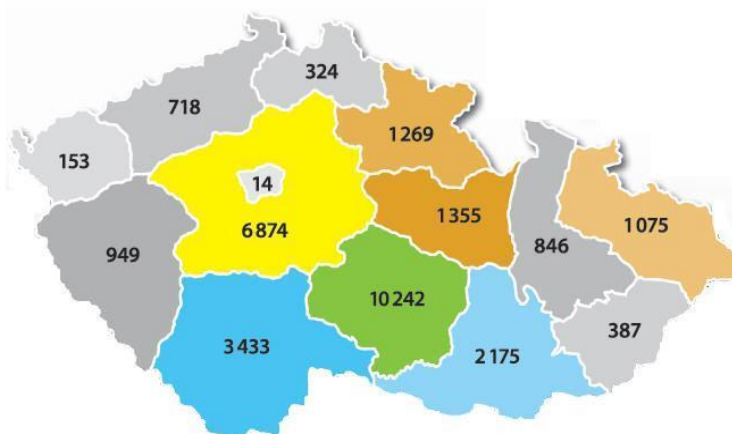
Při pěstování průmyslových brambor lze využít zejména půdy písčitohlinité až hlinité, se svažitostí do 8°, biologicky činné. Hlinité půdy, především v sušších polohách, podporují zvýšenou tvorbu škrobu v hlízách, oproti půdám písčitém. U průmyslových brambor pěstovaných ve velmi těžkých a vlhkých půdách byl obsah škrobu nižší. Malé provzdušnění půdy omezuje tvorbu škrobu (Minx a kol., 1994).

U průmyslových brambor má prvořadý význam hektarový výnos škrobu. Podstatnější zvyšování výnosů hlíz je ve většině případů doprovázeno snížením škrobnatosti. Na výtěžnost a kvalitu škrobu má naopak příznivý vliv fosfor a vápník a také podzimní zaorávka organických hnojiv s fosforečnými a draselnými hnojivy (Minx a kol., 1994).

#### 2.1.4 Vývoj produkčních ploch, průměrný výnos, škrobnatost, výnos škrobu a cena brambor na výrobu škrobu v letech 2002-2009

Brambory patří vedle obilovin, ozimé řepky a dalších tržních plodin (mák, kmín, hrách, hořčice, trávy na semeno apod.) u zemědělských podniků, které se jejich pěstováním zabývají, k hlavním a tradičním tržním plodinám. Na výsledku výroby brambor obvykle závisí nejen úspěšnost rostlinné výroby, ale i zemědělského podniku jako celku. Výměra brambor se u specializovaných podniků pohybuje kolem 10% orné půdy a z Obrázku 1 vyplývá, že hlavní oblastí jejich pěstování zůstává i nadále oblast Českomoravské vrchoviny (34,4%), druhou největší plochu vykazuje Středočeský kraj (23,0%), což svědčí o postupném přesunu pěstitelských ploch do ranobramborářských oblastí (Čížek, 2009).

Obrázek 1: Osázená plocha brambor v ČR v roce 2008 dle krajů v hektarech (dle ČSÚ, celkem 29 788ha).



zdroj: Čížek, 2009

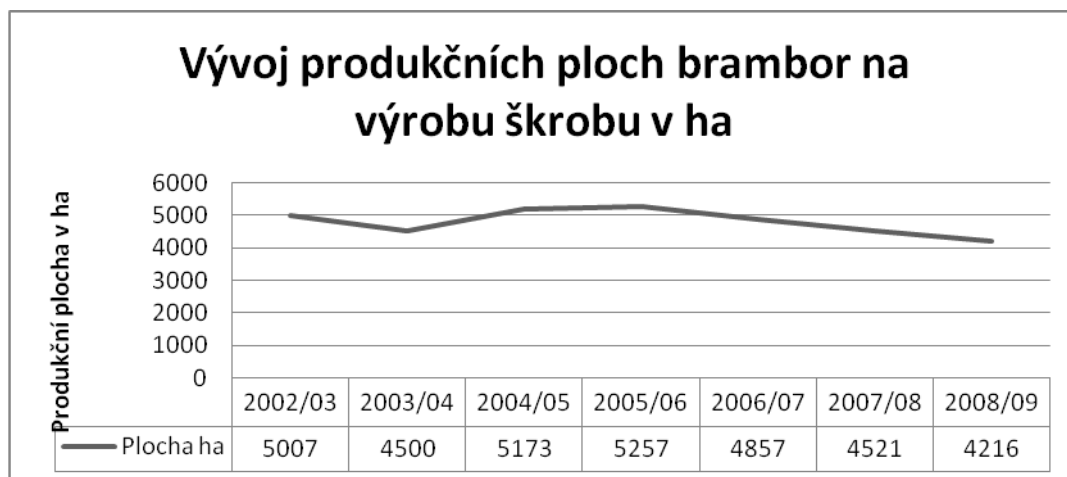
Ekonomiku pěstování brambor je nezbytné hodnotit v delším časovém období, protože každý rok je situace jiná, ať už s ohledem na průběh povětrnosti, na situaci na trhu s bramborami a výrobky z brambor v ČR a v EU, na bilanci dovozu a vývozu brambor a výrobků z brambor a podobně. Stejně tak delší časová řada je důležitá k posouzení trendů vývoje nákladů, tržních výkonů, rentability výroby apod. (Čížek, 2009).

Brambory jsou v praxi hodnoceny jako celek (tzn. veškerá produkce v zemědělském podniku), protože je velmi obtížné přesně kalkulovat tržní výkony a náklady na konzumní, sadbové či průmyslové brambory. Navíc dnes žádný producent brambor nevyrábí pouze brambory jednoho užitkového směru (konzumní, sadbové, k výrobě škrobu), ale hledá uplatnění své produkce na trhu a tak mnohdy prodává brambory jako surovinu pro producenty výrobků z brambor a koneckonců i odpadní (krmné) brambory mají svou hodnotu (Čížek, 2009).

V roce 2008 bylo v ČR podle údajů ČSÚ sklizeno celkem 37 816 ha brambor, z toho v tržním zemědělském sektoru 29 788 ha a v rámci samozásobení domácností 8 028 ha. Celková produkce brambor dosáhla 945,2 tisíc tun. V tržním zemědělském sektoru bylo sklizeno 769,6 tisíc tun a v sektoru domácnosti 175,6 tisíc t brambor. Proti sklizni v roce 2007 se jednalo o meziroční pokles o 5,3 %, konkrétně o 52,5 tisíc tun. Celkovou nižší sklizeň brambor ovlivnilo především snížení osázených ploch brambor, proti minulému roku o 2 428 ha, tj. pokles o 6,1 %. Průměrný hektarový výnos byl v roce 2008 25,00 t/ha, v roce 2007 to bylo 24,79 t/ha (Žižka, 2009).

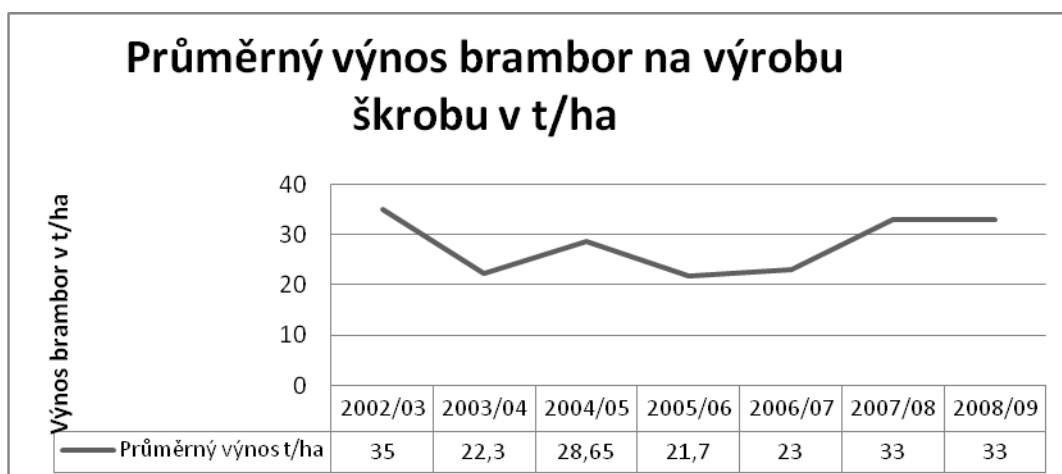
Sklizeň brambor pro výrobu bramborového škrobu byla v roce 2008 z hlediska výnosů brambor a dosažené škrobnatosti spíše průměrná. Výrobci škrobu naplnili národní výrobní kvótu jen na necelých 90 %. Příčinou nenaplnění výrobní kvóty bylo v některých regionech sucho v průběhu vegetace brambor, ale také nižší osázená plocha bramborami oproti předchozím rokům. Průměrný výnos škrobu z 1 ha se nepatrně zvýšil a dosáhl 7,5 t/ha. Uvedený výnos je jedním z nejvyšších za několik posledních let. Na výrobu 30 105 t bramborového škrobu bylo zpracováno 136 177 tun brambor o průměrné škrobnatosti 19,18 % (Žižka, 2009).

Graf 1: Vývoj produkčních ploch brambor na výrobu škrobu v letech 2003 - 2009.



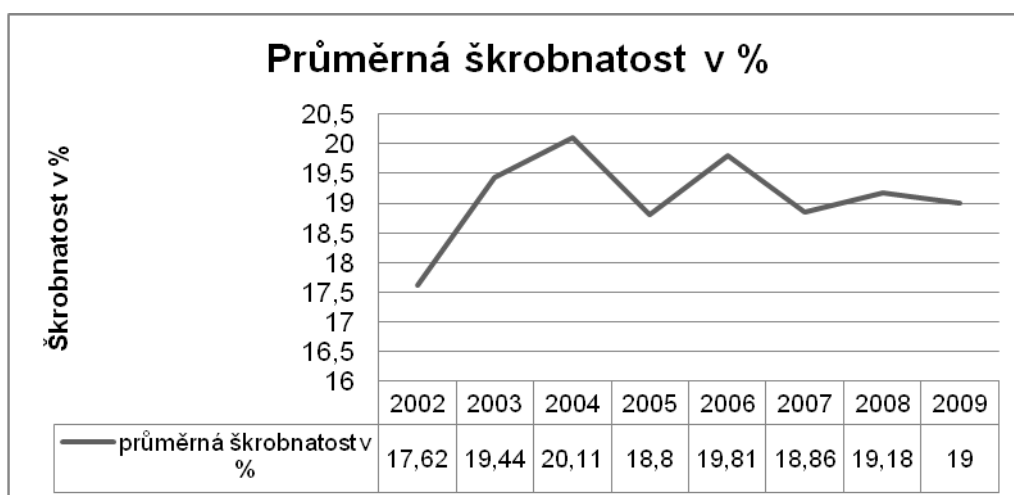
zdroj: Žižka, 2009

Graf 2: Průměrný výnos brambor na výrobu škrobu 2003 - 2009.



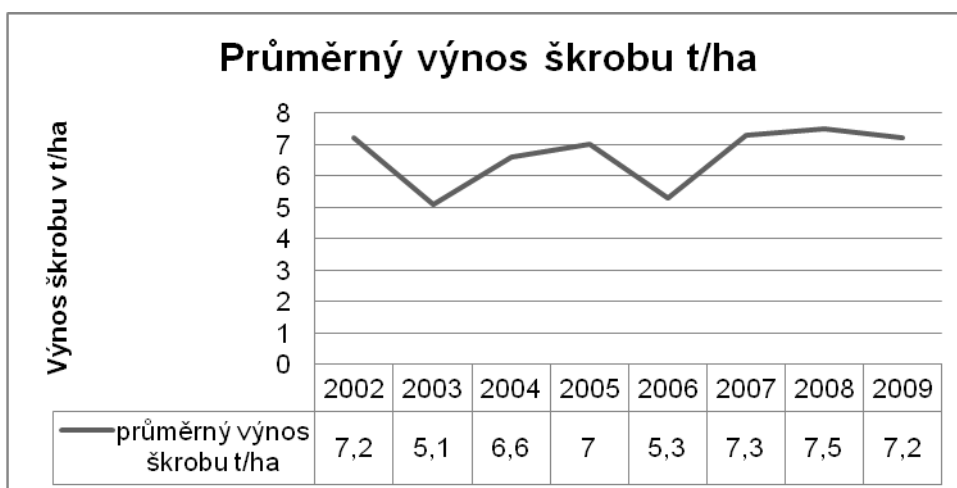
zdroj: Žižka, 2009

Graf 3: Průměrná škrobnatost průmyslových brambor v letech 2002-2009.



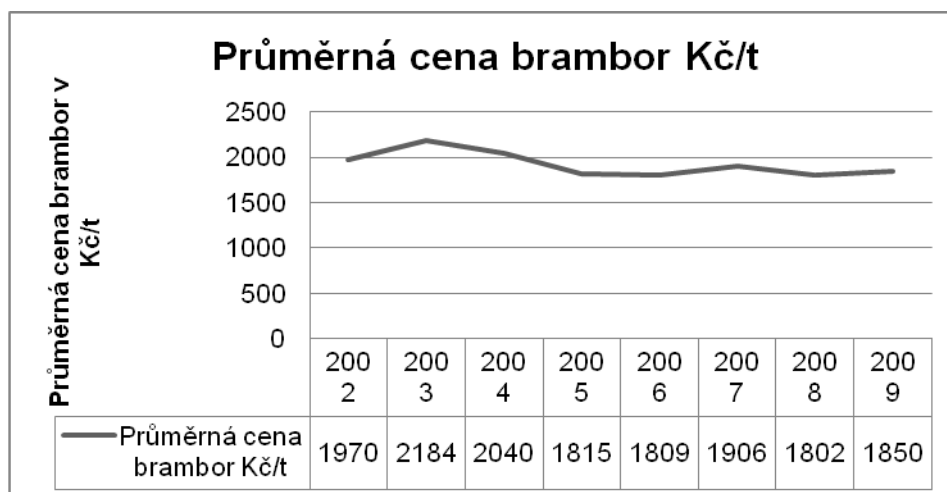
zdroj: Žižka, 2009

Graf 4: Průměrný výnos škrobu průmyslových brambor v letech 2002-2009.



zdroj: Žižka, 2009

Graf 5: Průměrná cena průmyslových brambor v letech 2002 - 2009.



zdroj: Žižka, 2009

## 2.2 Škrob a jeho složení

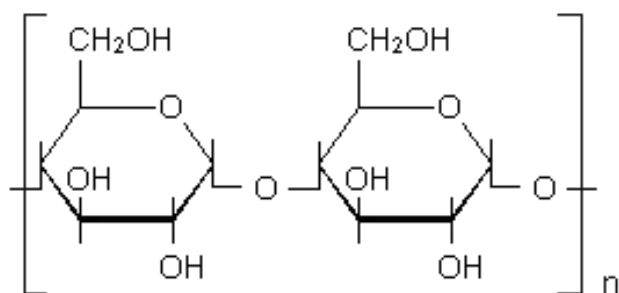
Škrob je látka, která patří do skupiny polysacharidů a je tvořen z několika tisíc až desetitisíc molekul glukózy. Z biochemického hlediska je vysokomolekulárním polymerem D-glukózy, v němž jsou monomerní jednotky spojeny  $\alpha(1 \rightarrow 4)$  glykosidickými vazbami (lineární řetězce) a větvení je zajištěno  $\alpha(1 \rightarrow 6)$  glykosidickými vazbami. Dvěma hlavními složkami škrobu jsou bohatě větvený amylopektin a amyulóza, jejíž molekuly jsou uspořádané do lineární šroubovice (Kodíček, 2004). Podle poměru těchto dvou složek jsou odvozeny odlišné chemické, fyzikálně chemické a koloidně chemické vlastnosti.



### 2.2.1 Amylóza

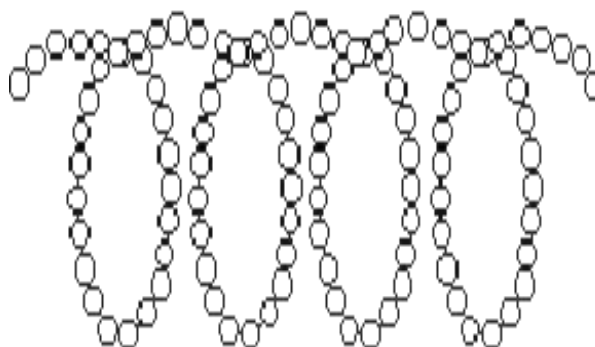
Amylóza má rovný řetězec tvořený molekulami glukózy, které jsou pospojované 1, 4  $\alpha$ -glykosidickými vazbami a mají tvar šroubovice. Ve vodě je rozpustná a reaguje s jódem, kdy vzniká modré zbarvení (Ganajová, 2000).

Obrázek 2: Část molekuly amyλόzy.



zdroj: Ganajová, 2000

Obrázek 3: Uspořádání molekuly amyλόzy.



zdroj: Ganajová, 2000

Tabulka 2: Výnos amyλόzy u některých plodin.

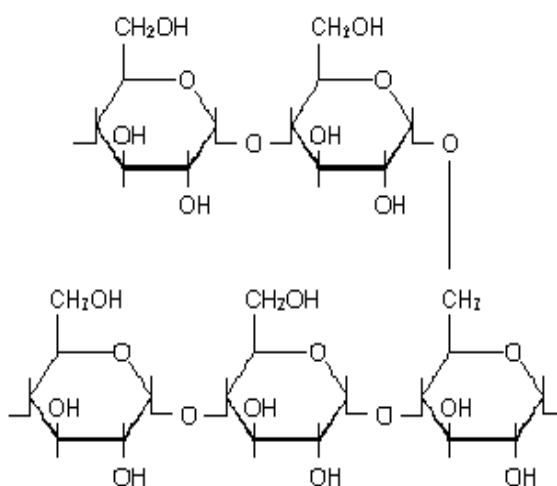
Plodina	Výnos (t/ha)	Amyλόza ve škrobu (%)	Výnos amyλόzy (t/ha)
Pšenice	5-7	25	0,75-1,05
Kukuřice	5-7	25	0,83-1,13
Brambory	30-40	25	1,35-1,18
Hrách	4-6	50-80	1,00-2,20

zdroj: Ganajová, 2000

### 2.2.2 Amylopektin

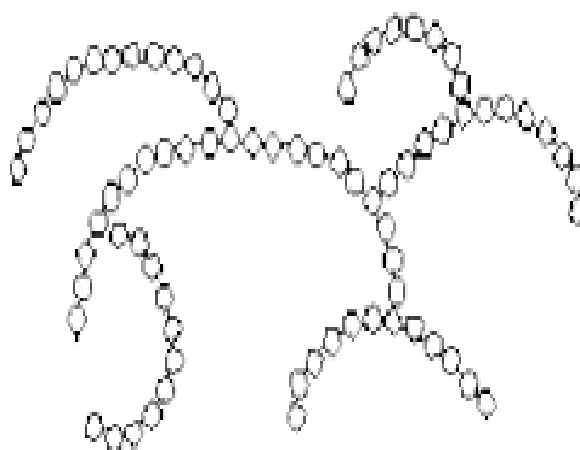
Amylopektin je tvořený řetězcem molekul glukózy, které jsou pospojované 1, 4  $\alpha$ -glykosidickou vazbou a průměrně na každou desátou až dvanáctou jednotku se připojuje vazbou (1  $\rightarrow$  6) další řetězec a je tak vytvářena rozvětvená struktura (Ganajová, 2000).

Obrázek 4: Část molekuly amylopektinu



zdroj: Ganajová, 2000

Obrázek 4: Uspořádání molekuly amylopektinu



zdroj: Ganajová, 2000

### 2.2.3 Tvorba škrobu

Škrob vzniká jako hlavní metabolický produkt v chloroplastech listů zelených rostlin, poté bývá degradován na rozpustné sacharidy, z nichž je v jiných částech rostlin, jako jsou kořeny, oddenky, plody a semena, syntetizován zásobní škrob, který se ukládá v podobě škrobových zrn ve zvláštních organelách-amyloplastech a je tak energetickou rezervou (Kodíček, 2004).

Podle počtu iniciálních krystalizačních jader se tvoří buď jen jednoduchá škrobová zrna (jedno krystalizační jádro), nebo složená škrobová zrna (několik krystalizačních jader). U složených škrobových zrn počet elementárních zrn, které je tvoří, značně kolísá v rozpětí řádů jednotek až tisíců.

U některých škrobových zrn můžeme pozorovat jednotlivé vrstvy, z nichž je škrobové zrno složeno – tato vrstevnost je dána kolísajícím obsahem vody. Podle pozice původního krystalizačního centra pak můžeme rozeznat zrna koncentricky vrstevnatá a excentricky vrstevnatá. Škrobová zrna mají často pro daný rostlinný druh charakteristický tvar (Baláž, 2001).

Má zrnitou strukturu a bílá škrobová zrna mají různou velikost a tvar. Pod mikroskopem je možné rozlišit jednotlivé druhy škrobů. Ve vodě je škrob téměř nerozpustný a v horké vodě se rozpouští jen jeho část, amyulóza, která tvoří u obilnin a brambor asi 24%, u dřeňových hrachů asi 84% veškerého škrobu v zrnech. Amylopektin je ve vodě nerozpustný. Povařením škrobu ve vodě vzniká škrobový maz (Fabini, 1997).

### 2. 2. 4 Historie používání, charakteristika a složení škrobu

Škrob je významná surovina, která se uplatňuje zejména v potravinářském, chemickém, textilním a papírenském průmyslu. Významnými průmyslovými plodinami, ze kterých se škrob získává, jsou brambory, pšenice, kukuřice, rýže, triticales a hrách.

Historie využívání škrobu je velmi bohatá a datuje se už od roku 3 500 př. n. l., kdy byly nalezeny zbytky stop lepidel na papýrech připravených z pšeničného škrobu. Také v Číně byly objeveny písemnosti dochované na materiálech vyrobených pomocí škrobu. V Evropě se škrob používal po dlouhou dobu jako základní surovina pro výrobu pudrů, zásypů a úpravu textilií. Rozvoj škrobárenského odvětví nastal po objevu technologie kyselé hydrolýzy škrobu počátkem 19. století a rovněž po objevu výroby technických dextrinů (Pelikán, Sáková, 2001).

V České republice převažovala výroba škrobu z brambor, který byl velmi kvalitní. Ještě v 80. letech byl podíl bramborového škrobu na trhu přes 80% a zbytek byl škrob pšeničný. V 90. letech výroba především bramborového škrobu výrazně poklesla, zvýšila se cena brambor, ekologické problémy s odpadními vodami (kampaňové provozy), řada škrobáren byla zrušena a některé škrobárny přešly na výrobu škrobu z pšenice.

V současné době se v České republice ročně vyrábí asi 17 000 tun bramborového škrobu a 16 000 tun škrobu pšeničného (Pelikán, Sáková, 2001).

Tabulka 3: Složení a charakteristika škrobů různých plodin.

	Kukuřice	Vosková kukuřice	Pšenice	Brambory
Obsah škrobu (%)	86-75		62-70	17
Velikost zrn (μm)	3-26	3-26	2-45	5-100
Průměr zrn (μm)	15	15	12	33
Obsah amyλόzy (% sušina)	21		24	22

zdroj: Součková a kol., 2004-2005

### 2.2.5 Výroba bramborového škrobu

Výroba bramborového škrobu spočívá v izolaci škrobových zrn od ostatních látek obsažených v bramborové hlíze. Provádí se vypíráním škrobu z otevřených bramborových buněk vodou a jeho rafinací, tj. čištěním od nerozpustných a rozpustných neškrobů a konečná fáze výroby finálního produktu v nejvyšší čistotě (Pelikán, Sáková, 2001).

### 2.2.6 Kvóty bramborového škrobu pro ČR

Problematika výroby bramborového škrobu podléhá v ČR po jejím vstupu do EU společné organizaci trhu (SOT). V praxi to znamená, že výroba bramborového škrobu v ČR je omezena přidělenou národní kvótou a správou produkčních kvót bramborového škrobu je v ČR pověřen Státní zemědělský intervenční fond (SZIF), který na základě žádostí a výrobních přepočtů přiděluje jednotlivým producentům bramborového škrobu individuální výrobní kvótu. Při překročení této výrobní kvóty o více než 5% je povinností výrobce škrobu vyvézt nadprodukcí mimo EU, a to bez nároku na vývozní subvenci. Pro pěstitele brambor na škrob a výrobce škrobu z brambor je důležitý systém plateb za dodané brambory do škrobárny. Výrobce škrobu je povinen pěstiteli brambor platit za dodané brambory tzv. minimální cenu, která je závislá na obsahu škrobu v hlízách (Žižka, 2006).

Výše národní kvóty, která byla předělena ČR pro hospodářské roky 2009/2010, 2010/2011 a 2011/2012 činí 33 660 t bramborového škrobu. Pro tyto roky nebyla stanovena rezerva, proto byla celá tato kvóta rozdělena mezi výrobce škrobu, kteří v řádném termínu podali na SZIF Žádost o stanovení subkvóty bramborového škrobu (Anonym 2).

## 2.3 Typy hydrolýzy škrobu

### 2.3.1 Kyselá hydrolýza

Při kyselé hydrolýze se škrob odbourává až na molekuly glukózy. Nejlépe se zcukřuje škrob žitný a bramborový, pak pšeničný a potom škroby ostatní. Kyselá hydrolýza se provádí pomocí minerálních kyselin (chlorovodíkové a sírové) nebo solí (chloridu sodného) za mírně zvýšených teplot 35 - 52°C, nebo při teplotách 100 - 150°C a pod tlakem, po dobu 2 – 10 hodin. Cílem je hydrolýza škrobu, která je spojena se sníženým stupněm amylozy a amylopektinu škrobových zrn. Za horka poskytují nízkoviskózní vodné roztoky, také při vyšších koncentracích, které po ochlazení vytváří pevný gel.

Na začátku kyselé hydrolýzy převládají dextryny, pak jejich množství klesá a přibývá glukózy (Pelikán, Sáková, 2001).

### 2.3.2 Zásaditá hydrolýza

K zásadité hydrolýze lze použít NaOH, KOH, LiOH nebo tetrametylamonium-hydroxid (TMAH) v různých směsích. V praxi se samotná zásaditá hydrolýza nepoužívá a to kvůli pracnosti, vysokým finančním nákladům a nízké výtěžnosti. Používá se však v různých kombinacích s kyselou a enzymatickou hydrolýzou při různých koncentracích hydrolytických činidel a za současného působení různých tlaků.

### 2.3.3 Enzymatická hydrolýza

Při enzymatickém rozkladu amylázami se škrob štěpí na kratší řetězce stejné hmotnosti přes dextryny na disacharid maltózu (Pelikán, Sáková, 2001).

Enzymatická hydrolýza se provádí se škrobem v hydratovaném (zmazovatěném) stavu, na který působí  $\alpha$ -amylázy při optimální teplotě a pH (70 - 80°C, pH 6,7 – 7,5). Po inaktivaci enzymu, následné rafinaci provedené odstředěním a usušením v sušárně se získá mírně hydrolyzovaný škrob nazývaný maltodextryny, který je s glukózovým ekvivalentem GE (celkové množství redukcujících cukrů, obsažených ve škrobovém hydrolyzátu, vyjádřené jako obsah glukózy v % sušiny) menším než 20 a molekulární hmotností větší než 10. Maltodextryny jsou za normální teploty rozpustné ve vodě.

Podle schopnosti a způsobu štěpení jednotlivých glykosidických vazeb se mohou dělit:

**$\alpha$ -amylázy**, které štěpí jen vazbu  $\alpha$ -D-(1-4) a vzniká směs oligosacharidů (maltosa), na rozvětveném amylopektinu isomaltóza. Pomalu stoupá obsah redukujících látek a rychle klesá viskozita. Proto se enzym nazývá „ztekucující“.

**$\beta$ -amylázy**, které štěpí jen vazbu  $\alpha$ -D-(1-4) a odštěpují se maltózové jednotky od neredukujícího řetězce. Vznikají tzv. „hraniční dextriny“, které v amylopektinu zastaví štěpení na rozvětvení s  $\alpha$ -D-(1-6) vazbou. Rychle stoupá obsah redukujících látek a pomalu klesá viskozita, tento enzym je proto označován jako „zcukřující“.

**Amyloglukosidáza** hydrolyzuje vazby  $\alpha$ -D-(1-4) a  $\alpha$ -D-(1-6). Hydrolýza probíhá od neredukujícího konce řetězce po jedné glukózové jednotce, která je konečným produktem hydrolýzy.

**Isomaltóza** štěpí vazby  $\alpha$ -D-(1-6) v amylopektinu, po skončení hydrolýzy jsou v roztoku jen lineární řetězce amylozy (Blažková, 2007).

### 2.3.3.1 Průběh hydrolýzy

Upravená škrobová suspenze se přečerpá do hydrolytického reaktoru, který je vyhříván párou. Do reaktoru se přidává enzym. Připravený systém (škrob a enzym) se zahřívá, od teploty 52°C stoupá viskozita systému a stoupání končí kolem 65 - 70°C. V okamžiku přerušeni hydrolýzy se dávkuje do reaktoru kyselina (chlorovodíková nebo octová) a to tak, aby došlo k poklesu pH na 4,5. Směs se zahřeje na teplotu varu a hydrolýza je ukončena (Blažková, 2007).

## 2.4 Enzymy

Před sto lety bylo známo jen několik enzymů, katalyzujících většinou hydrolýzu kovalentních vazeb. Tyto katalytické bílkoviny byly pojmenovány přidáním přípony -áza (-asa) ke jménu hydrolyzované substance nebo substrátu: lipázy tedy hydrolyzovaly tuk (lipos), amylázy škrob (amylon) a proteinázy proteiny. Tato terminologie přetrvává částečně dodnes, ukázala se však nevyhovující po objevu enzymů katalyzujících odlišné reakce. V současných názvech enzymů sice zůstává zachována přípona -áza, název však přihlíží též k typu katalyzované reakce (Valenta, 2009).

S objevu dalších enzymů se však v názvosloví nevyhnutelně objevovaly dvojznačnosti a často nebylo jasné, o který enzym se jedná. K odstranění tohoto nedostatku přijala Mezinárodní biochemická unie (International Union of Biochemistry, IUB) komplexní, ale jednoznačný systém nomenklatury enzymů, založený na reakčním mechanismu. Každý enzym má své kódové číslo (E, C), sestávající ze čtyř čísel oddělených tečkami. První číslo zařazuje reakci podle typu do příslušné třídy, druhé a třetí do příslušné podtřídy, respektive podpodtřídy. Čtvrté číslo pak označuje specifický enzym (Valášek).

### 2.4.1 Obecné vlastnosti enzymů

Enzymy jsou bílkovinné katalyzátory urychlující při teplotách kolem 37°C chemické reakce  $10^{12}$  až  $10^{20}$ krát ve srovnání s reakcemi nekatalyzovanými. V této souvislosti je nutné zdůraznit, že chemicky katalyzované reakce jsou podstatně pomalejší. Příkladem je redukce peroxidu vodíku katalasou, která je asi  $10^7$ krát rychlejší než stejná reakce katalyzovaná koloidní platinou při téže teplotě, tj. při 37°C (Valášek).

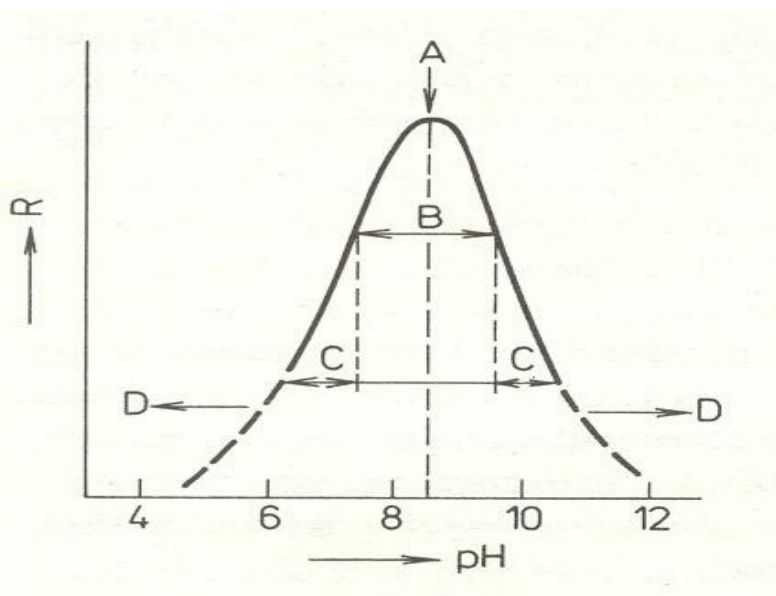
### 2.4.2 Vliv podmínek prostředí na aktivitu enzymů

Podmínky prostředí lze z technologického hlediska relativně snadno upravovat, mohou podstatným způsobem ovlivňovat kinetiku enzymových reakcí. Nejdůležitější roli hraje pH prostředí, teplota, obsah vody, iontová síla, případně některé další faktory, jako ionizující záření, tlak a mezipovrchové jevy (Valášek).

#### 2.4.2.1 Vliv pH prostředí

Každý enzym vykazuje optimální aktivitu při určitých hodnotách pH prostředí. Tyto hodnoty se u většiny enzymů pohybují v rozmezí pH 4,5 až 8,0, přičemž maximum účinnosti je charakterizováno ve většině případů úzkým rozmezím pH. Při extrémních hodnotách pH jsou enzymy inaktivovány. I zde jsou určité výjimky, např. pepsin vykazuje maximální aktivitu při pH 1,8 naproti tomu arginasa při pH 10. Závislost aktivity enzymu na pH prostředí vystihuje pro většinu enzymů Obrázek 5. Při extrémních hodnotách pH může docházet již k ireverzibilní denaturaci proteinové složky enzymu (Valášek).

Obrázek 5: Vliv pH na aktivitu enzymů



R - počáteční rychlost reakce; pH - hodnota pH prostředí na počátku reakce; A - optimální pH; B - oblast stability enzymu; C - oblast reverzibilní inaktivace; D - oblast okamžité inaktivace

zdroj: Valášek

Z technologického hlediska lze vlivu pH na aktivitu enzymu v některých případech využívat k podpoře enzymové činnosti nebo k její inhibici. K podpoře enzymové činnosti je vliv pH používán při žádaném technologickém procesu řízeným enzymovými reakcemi (celý kvasný průmysl). Jako opačný proces je uváděna snaha o zabránění enzymového hnědnutí ovoce při zpracování snížením pH pod 3,0 a to přidávkem kyselin (Valášek).

#### 2.4.2.2 Vliv teploty

Se zvyšováním teploty při enzymové reakci roste její rychlost, ale současně může vzrůstat i rychlost rozkladu komplexu enzymu a substrátu, měnit se afinita enzymu k aktivátorům i inhibitorům, v prostředí může klesat koncentrace kyslíku, který může být substrátem této reakce, a současně dochází i k denaturaci enzymu teplem.

Proto při určité teplotě dosáhne reakce maximální rychlosti, avšak dalším zvyšováním teploty již reakční rychlost klesá. V praxi je proto potřeba volit teplotní režimy u žádoucích enzymových reakcí tak, aby reakční rychlost byla co největší, a tedy rozklad enzymu co nejmenší. U nežádoucích reakcí se volí podmínky opačně (Valášek).

V enzymologii se k vyjádření vlivu teploty na rychlost reakce používá tzv. teplotní koeficient  $Q_{10}$ :

$$Q_{10} = \frac{\text{reakční rychlost při teplotě } (t + 10)}{\text{reakční rychlost při teplotě } t}$$

Tento koeficient je v běžných podmínkách u většiny enzymů roven číslu 2, což znamená, že se reakční rychlost při zvýšení teploty o 10°C zdvojnásobí. Většina enzymových reakcí má teplotní optimum při 30°C až 40°C, nad 45°C již obvykle probíhá ireverzibilní denaturace bílkovin. Při teplotách pod bodem mrazu některé enzymy denaturují, většina z nich však zůstává aktivní, a to nejen po rozmrazení, ale i při zmrazení a skladování při nižších teplotách. Dokonce při poklesu teploty z 0°C na -10°C se může reakční rychlost nejen snížit, ale i zvýšit a to v závislosti na druhu enzymu a prostředí, ve kterém se vyskytuje. Pokles teploty pod -10°C znamená vždy snížení reakční rychlosti a jako nejdůležitější faktory se při těchto změnách uplatňují složení prostředí, rychlost a stupeň zmrazení, koncentrační účinek při zmrazování, viskozita prostředí a stav zmrazovaného substrátu. Za nejdůležitější faktor změn aktivity enzymů při nízkých teplotách je považováno zvyšování koncentrace soli v dosud nezmrzlé vodě. Zvýšená koncentrace elektrolytů, s níž velmi často souvisí změny pH, má na aktivitu enzymu největší vliv. Aktivita enzymů může být podle druhu a konkrétních podmínek ovlivněna v obou směrech.



Významný vliv má i rychlost zmrazování, která působí na velikost krystalů vznikajícího ledu, a tím nepřímo i na koncentraci soli v nezmrzlé části vzorku. Ve zmrazeném vzorku je rovněž vysoká viskozita prostředí, což má za následek snížení difúze enzymu a substrátu, které v mnohých případech limituje rychlost enzymové reakce. Obecně lze tedy říci, že rychlé zmrazování a rozmrazování způsobuje menší poškození enzymu než pomalé. Je nutné vzít v úvahu, že během zmrazování a rozmrazování se poškozují buněčné a subcelulární blány a následkem toho se po rozmrazení uvolňují enzymy. Po rozmrazení se tedy mohou urychlovat enzymové reakce, a tím snižovat skladovatelnost opakovaně zmrazovaného materiálu (Valášek).

#### *2.4.2.3 Vliv aktivity vody*

Některé enzymy vykazují určitou účinnost i za velmi nízké koncentrace vody, kdy již nedochází k mikrobiologickým změnám. Z hlediska enzymové aktivity není rozhodující absolutní množství vody ve vzorku, ale spíše volná voda, respektive její aktivita nebo relativní vlhkost vzorku. Při nižší aktivitě vody ve vzorku je enzymové reakci zpřístupněna jen malá část substrátu a jakmile se tento substrát vyčerpá, další reakce se zastaví. Další podíl substrátu se rozpustí až s novým zvýšením relativní vlhkosti. Za nízkého obsahu vody jsou však enzymy termostabilnější (Valášek).

#### *2.4.2.4 Vliv elektrolytů a iontové síly*

Některé enzymy potřebují pro svou činnost přítomnost některých iontů. Naproti tomu některé ionty, především těžkých kovů, jsou enzymovými jedy, přičemž tentýž prvek může být pro jeden enzym jedem, zatímco pro druhý aktivátorem. Anionty působí nespecificky, kdežto kationty se uplatňují velmi specificky podle druhu enzymu. U některých enzymů byl zjištěn i antagonistický účinek mezi kationty (u ATPázy,  $\text{Ca}^{(2+)}$  a  $\text{Mg}^{(2+)}$ ). Prvky mohou aktivovat enzym různými způsoby: např. se mohou stát součástí aktivního centra, tvořit spojovací článek mezi enzymem a substrátem, měnit rovnovážnou konstantu enzymové reakce, měnit náboj povrchu enzymu, eliminovat inhibitor v prostředí, nahrazovat neúčinný ion z aktivního centra enzymu nebo posunovat rovnováhu mezi aktivnější a méně aktivní konformací enzymů. Velká množství elektrolytů vedou k vysolení enzymu i ostatních proteinů a tohoto se využívá při izolaci enzymů z biologických substrátů (Valášek).

#### *2.4.2.5 Ostatní vlivy (tlak, ionizující záření, fázové rozhraní)*

Z dalších vlivů působících na aktivitu enzymů má větší význam pouze ionizující záření, které bylo použito k pasteraci nebo sterilaci substrátu. Dále může docházet k inaktivaci enzymů tlakem a inaktivaci na fázovém rozhraní.

Stupeň inaktivace enzymu je závislý nejen na druhu enzymu, ale i na jiných podmínkách, především obsahu vody. Při obsahu 20 až 30% vody probíhá nejintenzivnější inaktivace enzymů ionizačním zářením. Relativně malý vliv ionizujícího záření na enzymy byl zjištěn při jejich ozařování ve zmrazeném stavu, pravděpodobně proto, že za těchto podmínek se imobilizují volné radikály (Valášek).

### 2.4.3 Kofaktory enzymů

Enzymy mají jako biologické katalyzátory vysoce selektivní účinek. Řada enzymů katalyzujících přenos skupin či jiné reakce vyžaduje kromě příslušného substrátu další organickou molekulu zvanou koenzym. Bez její přítomnosti je enzym neaktivní. Kofaktory, které je třeba odlišit od enzymů samotných, jsou definovány jako nízkomolekulární neaminokyselinové organické sloučeniny nezbytné pro aktivitu enzymů.

Mnohé z nich jsou deriváty adenosinmonofosfátu (AMP) či vitaminů skupiny B. Hovoříme pak o koenzymech. Většina kofaktorů je na enzymy vázána nekovalentními vazbami, ty, které jsou vázány kovalentně, se nazývají prostetické skupiny. Koenzymy nejsou nutné při lytických reakcích, včetně hydrolytických reakcí katalyzovaných enzymy (Valenta, 2009).

### 2.4.4 Mechanismus účinku enzymů

Způsob účinku různých enzymů je rozdílný a závisí na druhu katalyzované reakce. Při všech reakcích katalyzovaných enzymy se tvoří komplexy enzym-substrát (ES), ve kterých je substrát, respektive substráty v mimořádně reaktivní formě. Tvorbou těchto komplexů se snižuje aktivační energie potřebná na přeměnu substrátu, přičemž se vytváří komplex enzym-produkt (EP), který se rozpadá na enzym a produkt (resp. produkty). Přeměna komplexu ES na komplex EP se uskutečňuje velkou rychlostí. Zmíněné přeměny jsou při mnohých enzymových reakcích vratné. Podle počtu substrátů zúčastněných na reakci rozlišujeme:

a) jednosubstrátové reakce - patří k nim reakce katalyzované izomerázami a hydrolázami

např.: glukóza-6-fosfatáza (D-glukóza-6-fosfát-fosfohydroláza, E.C. 2.7.1.1) katalyzuje reakci:  $D\text{-glukóza-6-fosfát} + H_2O \rightarrow D\text{-glukóza} + P_i$  (monofosfát)

b) dvousubstrátové reakce - patří k nim reakce katalyzované oxidoreduktázami, transferázami a lipázami

např.: hexokináza (ATP: D-hexóza-6-fosfotransferáza, E.C. 2.7.1.1) katalyzuje reakci:  $ATP$  (adenosintrifosfát + D-hexóza  $\rightarrow$  ADP + (adenosindifosfát) + D-hexóza-6-fosfát (Valenta, 2009).

### 2.4.5 Hydrolázy

K enzymatické hydrolýze se používají enzymy zvané hydrolázy. Katalyzují štěpení chemických vazeb (zejména C-C, C-O a C-N) za účasti vody. Hydrolázy jsou po chemické stránce jednoduché proteiny (bez kofaktorů) a podílejí se na hydrolytickém rozkladu živin. Velmi často se enzymy z této třídy připravují uměle pro různé průmyslové využití. Příkladem může být výroba plísňové amylázy štěpící škrob. Na jednotlivé podtřídy se dělí podle typu štěpených vazeb za přítomnosti vody. Hydrolázy, které katalyzují hydrolýzu esterů, amidů a peptidů, se vyznačují zpravidla určitou funkční charakteristikou nebo vlastností charakteristickou pro jejich působení (Valášek). Rozeznáváme podle toho:

- a) peptidové a karboxylové esterázy s aktivním serinovým zbytkem;
- b) peptidové a karboxylové hydrolázy s aktivním cysteinovým zbytkem;
- c) hydrolázy závislé na určitých kovových iontech;
- d) peptidové hydrolázy s působením při nízkém pH (Valášek).

Reakční mechanismus je založen na přenosu radikálu z hydrolyzovaného substrátu na vodu. Lytické enzymy tedy působí na specifické chemické vazby, např. pepsin a trypsin na peptidové vazby. Mohou působit na mnoho různých peptidových substrátů, čímž se zmenšuje počet potřebných trávicích enzymů. Proteinázy mohou katalyzovat též hydrolýzu esterů, což má jen omezený fyziologický význam. Použití esterů jako syntetických substrátů však významně přispělo právě ke studiu působení proteináz.

Některé lytické enzymy jsou velmi specifické. Chymotrypsin hydrolyzuje peptidové vazby, v nichž přísluší karboxylová skupina aromatickým aminokyselinám (fenylalanin, tyrosin, tryptofan). Karboxypeptidázy odbourávají aminokyseliny z karboxylového, zatímco aminopeptidázy z aminového konce polypeptidového řetězce (Valenta, 2009).

#### 2.4.5.1 Dělení hydroláz podle jejich funkční charakteristiky

Hydrolázy, které katalyzují hydrolýzu esterů, amidů a peptidů, se vyznačují zpravidla určitou funkční charakteristikou nebo vlastností charakteristickou pro jejich působení. Rozeznáváme podle toho:

- a) peptidové a karboxylové esterázy s aktivním seriovým zbytkem,
- b) peptidové a karboxylové hydrolázy s aktivním cysteinovým zbytkem,
- c) hydrolázy závislé na určitých kovových iontech,
- d) peptidové hydrolázy s působením při nízkém pH (Valenta, 2009).

#### 2.4.6 Komerčně dostupné enzymatické preparáty

Průmyslově vyráběné enzymatické preparáty se významně uplatňují v potravinářství, při zpracování textilu a kůží, při výrobě detergentů a krmiv a v poslední době i v energetickém průmyslu. Enzymatické přípravky často nahrazují tradiční chemické nebo přídatné (aditivní) látky a přispívají k úsporám vody a energie v různých výrobních procesech. Získávají se nejčastěji jako enzymy produkované mikroorganismy, lze je izolovat také z rostlin a orgánů živočichů. Jsou dodávány ve formě pevné látky, roztoku nebo prášku, případně lyofilizovaného prášku (Valenta, 2009).

### 2.5 Bioetanol

Za bioetanol je považován etanol produkovaný z biomasy mikroorganismy. Bioetanol patří mezi pohonné hmoty a je nejvíce rozšířen v Brazílii a USA. Zájem o bioetanol, jako náhradu za benzín, se začal projevovat v Brazílii a USA od 80. let 20. století a v současnosti je používán v dopravě díky vládním dotacím, které se na něj vztahují. Jsou tři důležité cesty výroby etanolu: ze škrobu nebo cukrů obilí, dále se provádí enzymatická hydrolýza celulózy nebo chemická hydrolýza celulózy (kyselá nebo zásaditá). V současné době je cena produkce u těchto tří metod srovnatelná. Nicméně komerční výroba je založena jen na zpracování škrobu a cukrů obilí.

#### 2.5.1 Výroba bioetanolu v České republice

Zemědělský sektor prostřednictvím svých zástupců již několik let usiluje o urychlené spuštění bioetanolového programu, který by účelným způsobem zajistil smysluplné využití části produkce obilí. Již ze sklizně v roce 2008 se hledal odbyt produkce zrnin, která toho roku byla v České republice větší než 2 miliony tun. Během posledních tří let bylo v ČR proinvestováno několik miliard korun do nových kapacit na výrobu bioetanolu, takže již nyní plně kryjí jeho současnou potřebu v České republice ve výši 1,2 milionů hektolitrů.

Skutečnost je ale taková, že výroba bioetanolu z obilí v loňském roce byla jen asi 600 tisíc hektolitrů a bylo na ni spotřebováno pouze 180 tisíc tun obilí. Asituace se v podobném měřítku může opakovat i v roce 2010 (Konšel, 2010).

Zřejmě největší překážkou efektivního přimíchávání bioetanolu do benzínu je jeho cena, která je určována nejen trhem s motorovými palivy, ale také rozpočtovými pravidly státu. Ta jsou ale závislá na politické vůli vládnoucí reprezentace. Povinnost přimíchávání biopaliv na území ČR je dosud v oblasti zavádění biopaliv ze strany státu jediným aktem a chybí jakákoliv další ekonomická podpora. Přimíchávání biopaliv bez ekonomické podpory ale způsobuje producentům motorových paliv finanční újmu, neboť zvyšuje jejich výrobní náklady a zhoršuje konkurenceschopnost.

Za této situace čeští výrobci motorových paliv hledají levnější zdroj bioetanolu, což je především dovážený líh z Brazílie a Pákistánu. V těchto státech jsou podmínky pro jeho výrobu i distribuci výhodnější, a to zejména díky mnohaletým vládním intervencím a především nesrovnatelným podmínkám environmentálním a sociálním. Potřeba biolíhu v ČR je tedy z většiny pokryta dovozy a domácí kapacity vybudované v dobré snaze zabezpečit rozvoj tohoto odvětví jsou buď nevyužity, nebo dále utlumovány. Jistým znevýhodněním domácích producentů bioetanolu je i povinnost denaturovat vyrobený líh. Tento požadavek stanovený zákonem v ČR je v rámci Evropské unie zcela ojedinělý, uplatňuje jej ještě pouze Irsko a Belgie. Všechny ostatní členské země zavedly používání nedenaturovaného lihu do směsí pohonných hmot, čímž se částečně chrání proti nadměrným dovozům ze zemí, jako je Brazílie a Pákistán. Dovošní cla ze třetích zemí na území Evropské unie jsou pro nedenaturovaný bioetanol vyšší o 9€/hl. Dopad pro české producenty při povinném dovozu denaturovaného lihu je v důsledku nižšího celního zatížení asi 2,50 Kč/l. Tuzemští výrobci musí ještě vynakládat vícenáklady na denuraci 0,30-0,40 Kč/l. V důsledku těchto skutečností jsou čeští výrobci ve své produkci dražší téměř o 3 Kč/l produkovaného lihu v porovnání s dováženým bioetanolem (Konšel, 2010).

Ostatní členské země Evropské unie zavádějí praktická opatření ochrany vlastních vnitřních trhů pro stabilizaci a uplatnění produkce nově se rozvíjejícího bioetanolového sektoru na svých územích. Jde například o slevy spotřební daně, investiční programy, kodexy udržitelnosti pro biopaliva při dovozech a obchodních kontraktech a specifické požadavky na kvalitu. Systém aktivních podpor pro využívání biopaliv v dopravě je zaveden i ve všech okolních státech. Vesměs se přitom zajišťují preferenční výhody pro domácí výrobce biopaliv a jejich produkční finanční stabilizaci jako faktoru skutečné a účelné podpory vlastní zemědělské prvovýroby. Například v Polsku je ochrana domácího trhu stanovena zákonnou povinností, že nejméně 75% biokomponent v tekutých palivech musí mít surovinový původ v některém ze států EU. Obdobným způsobem postupuje i Maďarsko a Rakousko, kde dosud existuje dobrovolná dohoda mezi ÖMV a rakouskými výrobci lihu o preferování domácí produkce a připravuje se v nejbližší době přijetí nových opatření proti dovozu bioetanolu z třetích zemí (Konšel, 2010).

Je zde také prakticky neexistující podpora produkce bioetanolu na rozdíl od stávajících podpor u ostatních obnovitelných zdrojů energií (vodní elektrárny, solární zařízení, zařízení na výrobu a energetické využití bioplynu). Případné podpory by měli zajistit stimulační a dlouhodobě stabilní podmínky pro podnikatelské rozhodování. Navíc je v dopravě uplatněn program státní podpory pro alternativní využívání zemního plynu, jakožto neobnovitelného fosilního paliva. Konkurenceschopnost domácích producentů bioetanolu je snižována neúměrným finančním zatížením požadovaným v Evropské unii systémem kontrol výroby a zvláště přepravy bioetanolu (Konšel, 2010).

Při shrnutí všech negativně působících faktorů pro domácí producenty bioetanolu nelze očekávat stabilizaci ani rozvoj bioetanolového průmyslu v České republice. Program užití biopaliv sice bude plněn, ale na jeho plnění a efektech se budou podílet především zahraniční producenti. Je tedy nutné plně využít potenciál a strukturu agrárního sektoru Evropské unie i České republiky pro výrobu bioetanolu a tím snížit dovozy ze třetích zemí a zároveň snížit neúměrné finanční zatížení domácích producentů na úroveň ostatních států Evropské unie (Konšel, 2010).

### 2.5.2 Vliv bioetanolu na motory

Bioetanol má mnohem vyšší výparné skupenské teplo (855MJ/kg) než benzín (293kJ/kg) (Anonym 1). Výsledkem je, že palivová směs s etanolem vstupující do válců motoru má mnohem nižší teplotu a hustotu. Etanol a bioetanol mají vyšší oktanové číslo (111) než benzín (80-100), a proto jejich přísada do pohonných hmot snižuje motorové emise znečišťujících látek, které jsou škodlivé pro životní prostředí. Dále přídavek bioetanolu v pohonných hmotách zvětšuje tlak par, čímž zvyšuje optimální vzplanutí a účinnost palivové směsi (Kizlink, 2008b).

Výhody u benzínů s nižším obsahem bioetanolu (do 15%, jako u E-15) jsou zejména v lepším startování motoru v chladu až mrazu, při vyšším obsahu (až do 85%, jako E-15) to už není pravidlem a jsou na to různé názory. Přísada bioetanolu zabezpečuje lepší spalování pohonných hmot ve válcích vlivem vysokého obsahu energeticky vázaného kyslíku. Emise oxidů síry jsou zde téměř zanedbatelné a také se snižuje závislost na dovozu ropy z politicky nestabilních oblastí (Kizlink, 2008b).

Nevýhodou je hlavně zvýšená spotřeba pohonných hmot a problémy při jízdě v horkém letním počasí, kdy vyšší odpařivost bioetanolu může mít za následek i vznik bublinek v palivovém systému a také možnost přitahování vody bioetanolem do pohonných hmot, které se může projevit zvýšením korozivnosti kovových částí motoru. To je ale problémem spíše u starších motorů s karburátorem než motorem se vstřikováním nebo dvoutaktním motorům. Při vyšším podílu bioetanolu už může docházet k separaci vrstev pohonných hmot a to hlavně vlivem vody. Proto je nutné přidávat i kosolventy, což jsou obvykle rozvětvené vyšší alkoholy (butanoly), nebo organické metylestery, lépe ale cyklické étery /dioxan, tetrahydrofuran), které jsou i toxické a do České republiky se musí v současné době dovážet (Kizlink, 2008b).

Použití bioetanolu do pohonných hmot v množství do 5 objemových procent se negativně téměř neprojevuje a do 10% je riziko opotřebení motoru tak nízké, že ani není potřeba úpravy motoru. Vyšší korozivnost směsi pohonných hmot je možné potlačit přidáváním antikorodantů, jinak se projevuje až po projetí 30 až 50 tisíc kilometrů.

Při vyšším obsahu bioetanolu (E-85) se už úprava motoru vyžaduje a nová vozidla jsou na to již konstruována a obvykle určena na trhy v zemích, kde jsou tyto pohonné hmoty běžně dostupné na čerpacích stanicích v Brazílii, Mexiku a dalších zemích. Zde je nutné zvýšit kompresní poměr až na 15 a někdy také nutné použít i jiné alkoholuvzdorné těsnění pro palivový systém. Pro starší motory je ale třeba nadále používat přísadu jako náhradu za vyřazené tetraetylolovo (pro mazivost a ochranu sedel ventilů). Úprava motorů na bioetanolový provoz je poměrně jednoduchá, levná a neklade zvláštní nároky ani na uživatele. Vůz pak může jezdit jak na benzín, tak na směs benzínu s etanolem. Při dalších testech projely vozy během jednoho roku asi 1000km na pohonné hmoty s obsahem 5 - 20 objemových procent s dobrými výsledky v kvalitě jízdy a složení emisí (Kizlink, 2008b).

Problémem se ovšem zdá být vliv pohonné směsi s vyšším obsahem bioetanolu (E-85) na materiál motoru. Alkoholy se vzdušným kyslíkem za tepla zčásti oxidují na aldehydy a ty zase zčásti na karboxylové kyseliny, z metanolu vzniká kyselina mravenčí a z etanolu kyselina octová a obě tyto kyseliny působí korozivně na materiál ve spalovacím a výfukovém prostoru.

Zatím nebylo přesně vyhodnoceno, jaký vliv budou mít po ujetí 50, 100 a více kilometrů, ale jejich působení je možné zmírnit přísadou inhibitorů jako antikorodantů do pohonných hmot (Kizlink, 2008b).

### **2.5.3 Dotační politika**

Od roku 2010 je přímá podpora pěstování energetické biomasy ukončena. Jednalo se o jedinou přímou podporu v celé Evropě, tzv. „Uhlíkový kredit“ (nebo též „C - Kredit“). Poskytovaná podpora byla ve výši 45€/ha/rok a poskytovala se na plochy oseté energetickými plodinami do maximální garantované plochy 2 miliony ha v rámci celé EU (eAGRI, 2009-2010).

## 2.6 Zhodnocení ekonomiky výroby bioetanolu z brambor

### 2.6.1 Kalkulace nákladů na výrobu bioetanolu

Tabulka 4: Kalkulace nákladů na výrobu bioetanolu provedená na základě dat Ministerstva zemědělství České republiky pro lihovar s roční kapacitou produkce bioetanolu 600 tis. hl.

	<b>Brambory</b>	<b>Pšenice</b>
<b>Tržní cena suroviny (CZK/t) *</b>	1250	2950
Využitelné sacharidy (%)	18,8	60
Využitelný sacharid	škrob	škrob
Teoretická výtěžnost etanolu (hl/t sacharidu)	715,4	715,4
ČR-Potřeba suroviny na 1 hl (kg)	880	280
Svět-Potřeba suroviny na 1 hl (kg)	850	260
Cena suroviny (ČR) na 1 hl (CZK/hl)	1100,0	826,0
Cena suroviny (Svět) na 1 hl (CZK/hl)	1062,5	767,0
Další pomocné látky (CZK/hl)	100	100
<b>Cena surovinových vstupů-ČR (CZK/hl)</b>	<b>1200,0</b>	<b>926,0</b>
Cena surovinových vstupů-Svět (CZK/hl)	1162,5	867,0
<b>Energetické náklady (CZK/hl)</b>	<b>316,3</b>	<b>286,3</b>
El. energie na výrobu 1 hle (kWh/hl)	47,5	47,5
Tržní cena elektrické energie (CZK/kWh)	2,5	2,5
Množství páry na výrobu 1 hle (t/hl)	0,575	0,475
Tržní cena páry (CZK/t)	300	300
Ostatní energetické náklady	25	25
<b>Náklady na personál (CZK/hl)</b>	<b>41,3</b>	<b>41,3</b>
<b>Finanční náklady (splátka úvěru) (CZK/hl)</b>	<b>391,7</b>	<b>391,7</b>
z toho odpisy** (CZK/hl)	342	342
<b>Celkové náklady na výrobu bioetanolu (CZK/hl)</b>	<b>1949,2</b>	<b>1645,2</b>

zdroj: Šebor, Pospíšil, Žákovec, 2006



### Poznámky:

\*) aby průmyslové brambory byly konkurence schopné s obilovinami, musela by se jejich tržní cena pohybovat kolem 950 Kč/t

\*\*) roční odpisy strojního zařízení (odpisová doba 5 let) a stavebních částí ((odpisová doba 20 let), předpokládaný poměr kapitálových prostředků mezi technologickými zařízeními a stavebními částmi je odhadován na 70:30

Hlavním vedlejším produktem doprovázejícím výrobu bioetanolu jsou lihovarské výpalky, řada moderních technologií se snaží jejich množství redukovat a výpalky nebo jejich určitou frakci recyklovat jako náhradu procesní vody.

Z Tabulky 4 Kalkulací nákladů na výrobu je patrné, že tržní cena brambor je o 58% nižší, než tržní cena pšenice.

Podíl materiálových nákladů z celkových nákladů je u brambor 64% a u pšenice 56,3%. Tento rozdíl je dán především vyšším množstvím využitelného sacharidu u pšenice, který je o 70% větší v porovnání s bramborami.

Rozdíl v nákladech na energii je u brambor o 10% vyšší. Pracovní náklady tvoří při zpracování brambor asi 2% z celkových nákladů a při zpracování pšenice 2,5% z celkových nákladů. Finanční náklady tvoří u brambor 20% z celkových nákladů a u pšenice tvoří 24% z celkových nákladů.

### 2.6.2 Výnosy a rentabilita

Výše výnosů je ovlivňována realizační cenou produktu.

Tabulka 5: Porovnání nákladů, výnosů a míry rentability u brambor a pšenice.

<b>Ukazatel</b>	<b>Brambory</b>	<b>Pšenice</b>
Celkové náklady na výrobu bioetanolu (CZK/hl)	1949,2	1645,2
Zisk (5 %)	82,3	82,3
Výsledná cena bioetanolu*** (CZK/hl)	2031,5	1727,5
<b>Míra rentability %</b>	<b>4,2</b>	<b>5</b>

Z Tabulky 5 lze vyčíst, že výroba bioetanolu je z obou plodin zisková a to i přes to, že od letošního roku je přímá podpora pěstování energetické biomasy ukončena. Vyšší míra rentability je při výrobě bioetanolu z pšenice a to o 0,8%. To je zapříčiněno především vyšším množstvím využitelného sacharidu u pšenice a to o 70% větším v porovnání s bramborami.

Pro větší rentabilitu brambor hraje roli hlavně tržní cena suroviny, která je o 58% nižší v porovnání s pšenicí. Tato skutečnost je však závislá na vývoji cen surovin na trhu s komoditami, které mohou v průběhu roku značně kolísat.

Pro zajímavost je uvedena Tabulka 6, která ukazuje závislost efektivity lihovaru na jeho výrobní kapacitě.

Tabulka 6: Efektivita lihovaru v závislosti na jeho výrobní kapacitě.

Klasifikace výroby bioetanolu	Kapacita lihovaru (hl/den)
Mez rentability	>1 500
Efektivní	>3 500
Optimální	>10 000

zdroj: Šebor, Pospíšil, Žákovec, 2006

### 3. CÍL PRÁCE

Cílem práce je porovnání výtěžnosti GE a alkoholu z brambor při užití kyselé, zásadité a enzymatické hydrolýzy za současného působení různých tlaků 0MPa, 0,3MPa a 1MPa.

## 4. METODIKA A POUŽITÉ MATERIÁLY

V praktické části byl porovnáván vliv různých stupňů extruze na škrobnatý materiál v kombinaci s různými metodami hydrolýzy. Měřítkem pro srovnání hloubky hydrolýzy byl obsah GE a výtěžek alkoholu. Hydrolýzy probíhali podle metodik 4.3, 4.4, 4.5 a pro vytvoření tlaku 0,3MPa byl použit sterilizátor Chirana HS 62A užitím silnostěnné tlakové nádoby, která byla opatřena tlakoměrem. Pro práce při tlaku 1MPa byl využit externí zdroj.

### 4.1 Bramborová zápara

Zkoumaným materiálem byla 5% bramborová zápara získaná mechanickým rozmělněním brambor a zpřístupněním zrn škrobu beztlakovým způsobem.

- 1) brambory se rozmělní na částice odpovídající velikosti 0,4 - 2,0 mm
- 2) dílo se vyhřívá na 65 °C a následně se na něm provádí hydrolýza dle níže uvedených metodik

### 4.2 Sladové mléko (Hřebečková)

Nejlépe se pracuje se zadním ječmenem, není-li k dispozici, tak s krmným ječmenem, který byl dobře hnojen dusíkem.

1) ječmen se dá do hlubší nádoby a zalije značným přebytkem 20 až 25°C teplé vody. Promíchá se a každou hodinu se voda vymění. Tento proces se musí opakovat nejméně třikrát. Po třetím máčení se ječmen zalije studenou vodou o teplotě 10 až 15°C a máčí se tak dlouho, až je máčení ukončeno, což se projeví takto:

- a) zrno se musí nechat ohnout přes nehet, aniž by se zlomilo
- b) zmáčkne-li se zrno mezi palcem a ukazováčkem, nesmí píchat
- c) při silnějším stisknutí u ucha musí být slyšet slabé prasknutí, jak se oddělila plucha od zrna
- d) střed rozříznutého zrna má být bílý a škrtně-li se řezem po dřevě, zanechá bílou čáru („zrno píše“). Dobře namočený ječmen má obsahovat 45 až 50% vody.

2) Namočený ječmen se dá do 5 až 8cm silné vrstvy a každé 2 až 3 hodiny se po následující 3 dny přesypává, aby se co nejvíce provzdušnil. Optimální teplota je 16 až 20°C, nejpozději za 3 dny by měl ječmen klíčit (na konci zrna se objeví malý bílý bod, příští kořínek, sládcí říkají tomuto ječmenu „pukovka“).

Zrno se stále větrá přehazováním ve 3 hodinových intervalech (na noc se dává do 1cm silné vrstvy, aby nepřeschlo). Později se větrá přehazováním jen jedenkrát denně. Teplota by měla být maximálně 18°C.

3) Když z každého zrna vyrazí 3 až 4 pokroucené kořínky, což bývá obvykle v následujících 4 dnech, začne ječmen vonět po oloupaných okurkách. Říká se mu „mladík“. Nyní by se měla teplota pohybovat kolem 15°C a „mladík“ se dvakrát denně větrá přehozením. Po 4 až 5 dnech má už mladík pod pluchou „pírko“ velikosti 1/3 až 1/2 zrna.

4) Po 7 až 8 dnech zmizí okurková vůně, slad se nazývá „zelený“. Pírko (zárodek listu) se nechá vyrůst na 3/4 až celou délku zrna, kořínky na 1 až 1,5 délky zrna, nyní se slad nazývá „dlouhý“. Je dobře, když slad „vrabčí“ (kořínky se spletou dohromady a celek zplstnatí).

5) Tento dlouhý slad se v mixéru rozšrotuje s vodou (1:5) na „sladové mléko“.

#### **4.3 Kyselá hydrolýza (Maroušek)**

1) 50g sušiny fytomasy se máčí v 1 litru vody. Přidá se požadovaná koncentrace H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (3, 6, 9, 12%)

2) v případě prováděné extruze je směs v co nejkratší době vyhřáta do požadovaného tlaku, kde je držena po dobu 30 minut

3) prudká dekomprese

#### **4.4 Zásaditá hydrolýza (Maroušek)**

1) 50g sušiny fytomasy se máčí v 1 litru vody. Přidá se požadovaná koncentrace NaOH (3, 6, 9, 12%)

2) v případě prováděné extruze je směs v co nejkratší době vyhřáta do požadovaného tlaku, kde je držena po dobu 30 minut

3) prudká dekomprese

#### **4.5 Enzymatická hydrolýza (Maroušek)**

1) 50g sušiny fytomasy se máčí v 1 litru vody.

2) v případě prováděné extruze je směs v co nejkratší době vyhřáta do požadovaného tlaku, kde je držena po dobu 30 minut

3) prudká dekomprese

4) provede se zoptimalizování pH a teploty pro vybraný enzym

5) aplikuje se 50, nebo 100 jednotek SEA dle zvoleného enzymového preparátu

6) 6 hodin stálého míchání, kontroly pH a teploty

#### 4.6 SEA (Maroušek)

Enzymy rozkládající škrob jsou dávkovány v starch enzyme activity (mg škrobu, které jsou za jednu sekundu zhydrolyzovány 1 gram enzymu, S(mg)/t(s)/E(g), dále jen SEA):

- 1) Do zkumavek se naváží po 1,000g škrobu ( $(C_6H_{10}O_5)_n$ )
- 2) Přidá se po 0,1g testovaného enzymu (0,1g = 2 kapky); (v případě slepých vzorků se tento krok vynechá)
- 3) Vstříkne se 10g destilované  $H_2O$  tak, aby smyla případné zachycené zbytky na stěnách zkumavky a promísila enzym se škrobem
- 4) Dle charakteristiky enzymu se pH upraví pufrům (Sýkora, 1976)
- 5) Zkumavky se temperují při optimální teplotě dle charakteristiky enzymu po 30 minut
- 6) Obsah zkumavek se přelije do 200ml Erlenmayerových baněk
- 7) Přidá se 15ml destilované  $H_2O$  a 10ml měďnatého roztoku (na 1000ml měďnatého roztoku: 388g krystalického = 143 g bezvodého  $Na_2CO_3$  ve 350ml destilované  $H_2O$  + 50g  $C_6H_8O_7$  ve 100ml destilované  $H_2O$  + 25g krystalického  $CuSO_4$ . Doplní se destilovanou  $H_2O$  do 1000ml a vyčká se na rozpuštění (za studena 24h)).
- 8) 10minut varu, následně rychlé ochlazení
- 9) přidá se 5ml 30% roztoku KJ (na 200 ml 30% roztoku KJ: 60 g KJ + kapka 10 % NaOH (na 100ml 10% NaOH: 10 g NaOH + destilovanou  $H_2O$  doplnit do 200ml) destilovanou  $H_2O$  doplnit do 200ml) a 5ml 25%  $H_2SO_4$  (na 1000 ml 25%  $H_2SO_4$ : 250 ml 96%  $H_2SO_4$  + 750ml destilované  $H_2O$ )).  
Při použití bezvodého  $Na_2CO_3$  v měďnatém roztoku stačí přidat jen 2,5 ml 25%  $H_2SO_4$
- 10) K titracím se připraví zásoba 0,05 M  $Na_2S_2O_3 \cdot 5 H_2O$  (dále jen sirnatan), (na 2000ml sirnatanu: 25 g  $Na_2S_2O_3 \cdot 5 H_2O$  + 2000ml destilované  $H_2O$ )).
- 11) titrem „X“ (kde  $X \geq 0,02g \leq 0,03g$ )  $KIO_3$  + 1,5 g KJ v 50 ml 0,1 M HCl (na 1000 ml 0,1 M HCl: 8,8 ml HCl + 991,2 ml destilované  $H_2O$ ), se na titrátoru (pro DL 50 metodou J-titr) stanoví faktor přesnosti 0,05 M sirnatanu (dále jen „Y“)
- 12) Rozdíl mezi průměrnou hodnotou spotřeby sirnatanu a slepým vzorkem se násobí koeficientem „Y“ a konstantou 1,745. Tato hodnota je jednotkou škrob–enzymatické aktivity (SEA) a uvádí, kolik mg GE je za optimálních podmínek schopen daný enzym (m = 0,1g) rozštěpit z 1g škrobu za 30 minut.

#### 4.7 Obsah GE (Maroušek)

Metoda je založena na principu, kdy redukující látky za varu v alkalickém prostředí redukuje měďnatou sůl na  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Nezreagovaný přebytek Cu-soli se stanoví jodometricky ( $2\text{Cu}^{2+} + 4\text{J}^- \rightarrow 2\text{CuJ} + \text{J}_2$ ). Uvolněný jód se titruje sirnatanem ( $\text{J}_2 + 2\text{S}_2\text{O}_3^{2-} \rightarrow 2\text{J}^- + \text{S}_4\text{O}_6^{2-}$ ).

1) Do 200ml Erlenmayerových baněk se naváží po 1g hydrolyzátu

2) Vstříkne se 24g destilované  $\text{H}_2\text{O}$  a 10ml měďnatého roztoku (na 1000ml měďnatého roztoku: 388g krystalického = 143 g bezvodého  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ve 350ml destilované  $\text{H}_2\text{O}$  + 50g  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$  ve 100ml destilované  $\text{H}_2\text{O}$  + 25g krystalického  $\text{CuSO}_4$ . Destilovaná  $\text{H}_2\text{O}$  se doplní do 1000ml a vyčká se na rozpuštění (za studena 24h)).

3) 10minut varu, následně se rychle ochladí.

4) přidá se 5ml 30% roztoku KJ (na 200 ml 30% roztoku KJ: 60 g KJ + kapka 10 % NaOH (na 100ml 10% NaOH: 10 g NaOH + destilovanou  $\text{H}_2\text{O}$  doplnit do 200ml) destilovanou  $\text{H}_2\text{O}$  doplnit do 200ml) a 5ml 25%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (na 1000 ml 25%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ : 250 ml 96%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  + 750ml destilované  $\text{H}_2\text{O}$ ). Při použití bezvodého  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  v měďnatém roztoku stačí přidat jen 2,5 ml 25%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ).

5) K titracím se připraví zásoba 0,05 M  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$  (dále jen sirnatan), (na 2000ml sirnatanu: 25 g  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$  + 2000ml destilované  $\text{H}_2\text{O}$ ).

6) titrem „X“ (kde  $X \geq 0,02\text{g} \leq 0,03\text{g}$ )  $\text{KIO}_3$  + 1,5 g KJ v 50 ml 0,1 M HCl (na 1000 ml 0,1 M HCl: 8,8 ml HCl + 991,2 ml destilované  $\text{H}_2\text{O}$ ), se na titrátoru (pro DL 50 metodou J-titr) stanoví koeficient přesnosti 0,05 M sirnatanu (dále jen „Y“).

7) Rozdíl mezi průměrnou hodnotou spotřeby sirnatanu a slepým vzorkem se násobí koeficientem „Y“ a konstantou 1,745, čímž se získají mg GE / g sušiny materiálu.

#### 4.8 Objem zkvasitelných látek

Objem zkvasitelných látek lze stanovit testem alkoholové výtěžnosti.

1) Stanovení sušiny fytohydrolyzátu

2) Do 3 baněk se odváží po 100g fytohydrolyzátu

a) varianta A se nechá původní

b) varianta B se ředí vodou 1:1

c) varianta C se ředí vodou 1:5

3) 1 balíček droždí (40g) se rozdrobí a rozmíchá se s 90ml vody na řídkou kašičku. Do každé z variant se přidá 1/3 objemu kašičky.

4) Při 29 až 30°C po dobu 72 hodin

5) Po zkvašení se opatrně neutralizuje roztokem 0,1M NaOH na fenolftalein do slabě růžova.

6) Destiluje se do 200, či 250ml odměrky daný objem (tj. zhruba 190 či 240ml).

7) Vytemperuje se na 20°C a doplní se destilovanou vodou po značku.

8) Alkoholometrem se zjistí obsah alkoholu. Za výsledek se bere ta varianta, jejíž ředění je optimální,

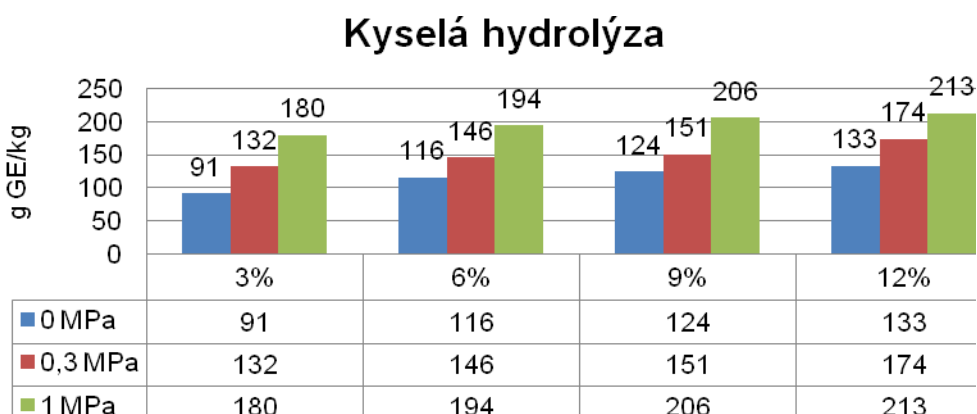
tj. výtěžek alkoholu je po přepočtu největší.

## 5. VÝSLEDKY

### 5.1 Kyselá hydrolyza brambor

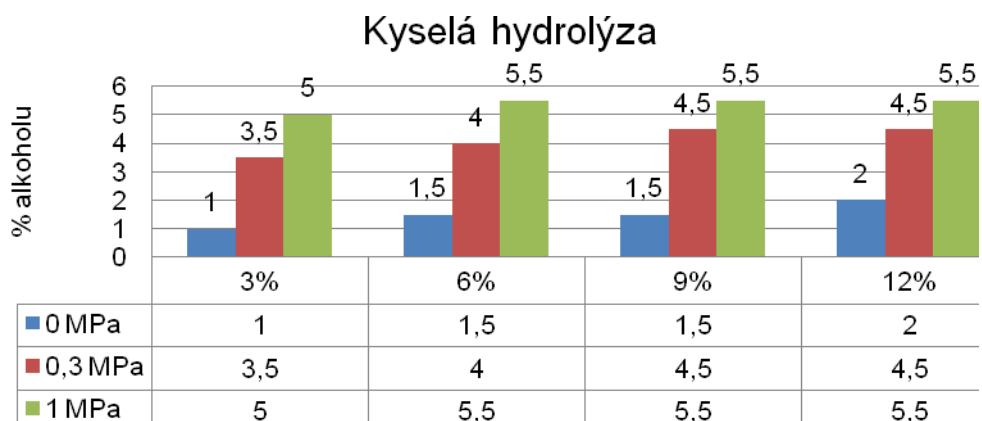
Při kyselé hydrolyze bylo dosaženo největšího výtěžku GE (213 g GE/kg) při extruzi tlakem 1 MPa ve spojení s 12% kyselinou sírovou. Srovnatelný je výtěžek GE (133 g GE/kg) je při tlaku 0 MPa a koncentraci 12% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> s výtěžkem (132 g GE/kg) při tlaku 0,3 MPa a koncentraci 3% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Při použití 3% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> v kombinaci se zvýšeným tlakem 1 MPa je výtěžek 180 g GE/kg, což je při použití kyseliny o stejné koncentraci v kombinaci s tlakem 0 MPa o 100% větší výtěžnost.

Graf 6: Výtěžnost g GE/kg sušiny.



Výtěžnost % alkoholu byla při kyselé hydrolyze nejvyšší (5,5%) při tlaku 1 MPa a koncentracích 6, 9 a 12%. Tato naměřená výtěžnost alkoholu byla vůbec nejvyšší v celé práci. To znamená, že při zvýšeném tlaku 1 MPa a koncentraci H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> od 6% již nezáleží na zvyšování koncentrace H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Graf 7: Výtěžnost % alkoholu.

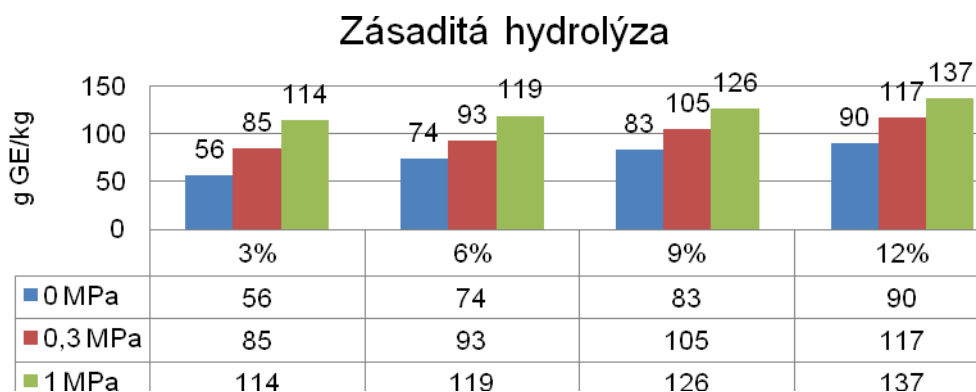




## 5.2 Zásaditá hydrolýza brambor

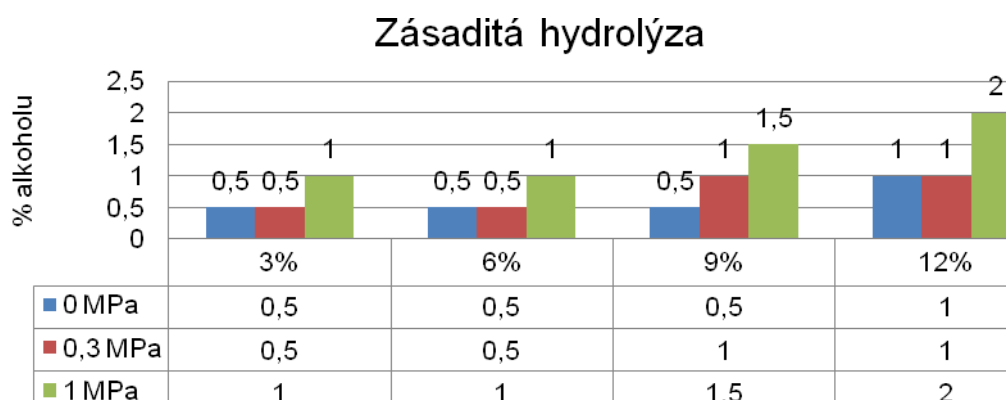
Při zásadité hydrolýze byl výtěžek GE (137 g GE/kg sušiny) nejvyšší při působení zvýšeného tlaku 1 MPa a koncentraci NaOH 12%.

Graf 8: Výtěžnost g GE/kg sušiny.



Při zásadité hydrolýze bylo dosaženo nejvyšší výtěžnosti alkoholu (2%) při kombinaci tlaku 1 MPa a koncentraci NaOH 12 %. Při tlaku 0 MPa v kombinacích s koncentracemi NaOH 3, 6 a 9% a při zvýšeném tlaku 0,3 MPa a koncentracích 3 a 6% je výtěžnost alkoholu stejná, tedy 0,5%. Stejná výtěžnost 1% je při kombinaci tlaku 0 MPa a 12% NaOH, při kombinaci tlaku 0,3 MPa a koncentracích NaOH 9 a 12% a při kombinaci tlaku 1 MPa a koncentracích NaOH 3 a 6%. Z toho vyplývá, že použití zvýšeného tlaku při zásadité hydrolýze má na výtěžek alkoholu zanedbatelný vliv.

Graf 9: Výtěžnost % alkoholu.



### 5.3 Enzymatická hydrolýza brambor

Nejvyšší výtěžnost GE (167 g GE/kg) při enzymatické hydrolýze byla při použití enzymatického preparátu ASD při kombinaci tlaku 1 MPa a 100 SEA preparátu ASD. Při použití stejného preparátu, tlaku ale polovičního množství preparátu byla výtěžnost 163 g GE/kg, což je o 4 g GE/kg méně, než byla maximální výtěžnost GE. Velice malé rozdíly v množství výtěžnosti GE se prokázaly při použití preparátu AO, kde jsou rozdíly ve výtěžnosti při použití stejného tlaku a dvojnásobné dávky preparátu velice malé. Tento trend se objevil i u enzymatického preparátu SLAD při tlaku 0 MPa.

Tabulka 7: Výtěžnost g GE/kg sušiny.

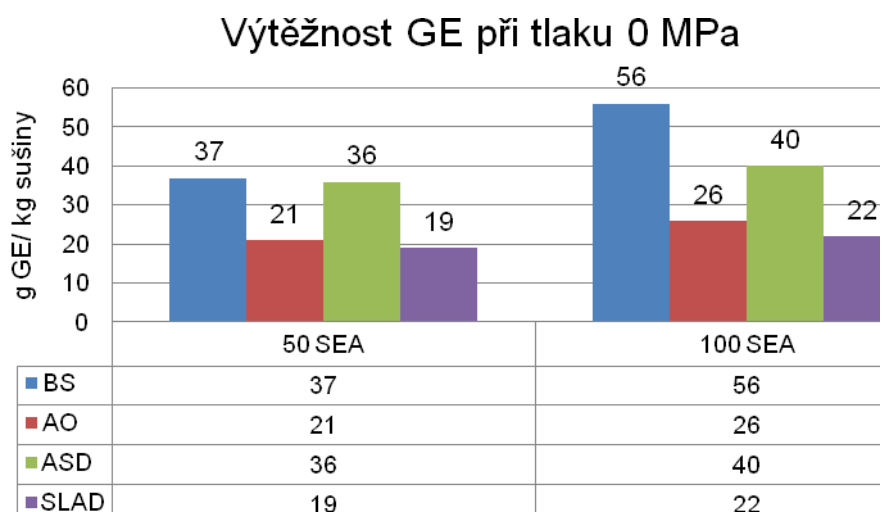
tlak \ SEA BS	50	100
efekt extruze 0 MPa	37	56
efekt extruze 0,3 MPa	119	137
efekt extruze 1 MPa	144	153

tlak \ SEA AO	50	100
efekt extruze 0 MPa	21	26
efekt extruze 0,3 MPa	46	65
efekt extruze 1 MPa	66	87

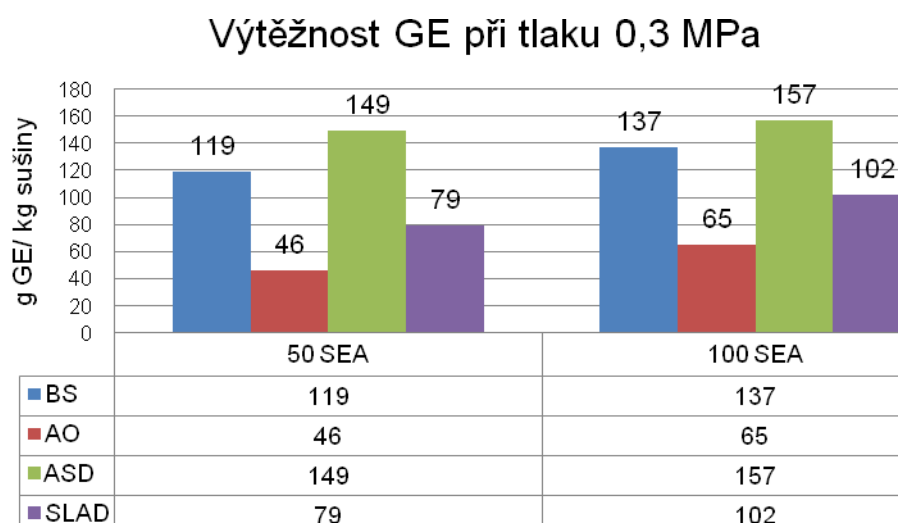
tlak \ SEA ASD	50	100
efekt extruze 0 MPa	36	40
efekt extruze 0,3 MPa	149	157
efekt extruze 1 MPa	163	167

tlak \ SEA SLAD	50	100
efekt extruze 0 MPa	19	22
efekt extruze 0,3 MPa	79	102
efekt extruze 1 MPa	86	121

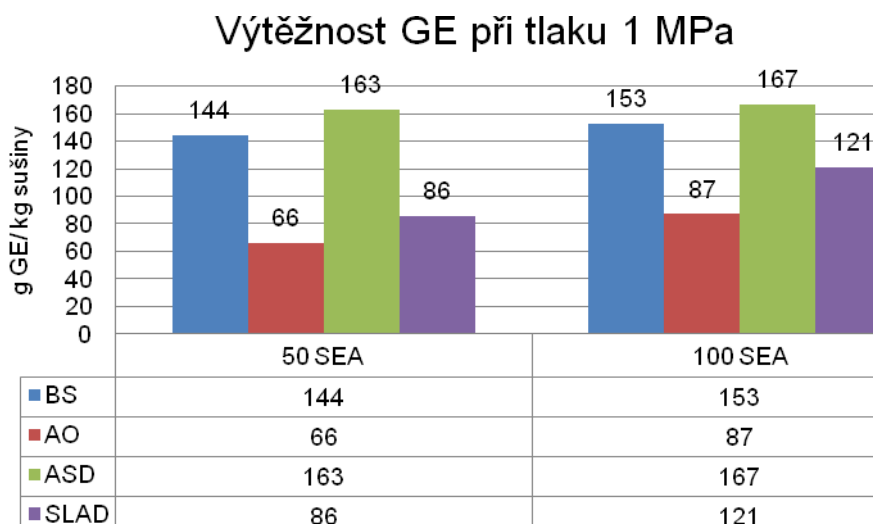
Graf 10: Výtěžnost g GE/kg sušiny při tlaku 0 MPa.



Graf 11: Výtěžnost g GE/kg sušiny při tlaku 0,3 MPa.



Graf 12: Výtěžnost g GE/kg sušiny při tlaku 1 MPa.



Nejvyšší výtěžnosti (5%) alkoholu bylo dosaženo při použití enzymatického preparátu ASD při kombinaci zvýšeného tlaku 1 MPa a dávce enzymatického preparátu 50 SEA a stejné výtěžnosti bylo dosaženo i při stejném tlaku (1 MPa) a dávce enzymatického preparátu 100 SEA. Při porovnání výtěžnosti preparátu ASD a BS (působení tlaku 1 MPa a dávka preparátu 100 SEA) byl výtěžek poloviční, a to 2,5 SEA, než byl maximální výtěžek enzymatické hydrolýzy. Velice nízkých výsledků bylo dosaženo při použití preparátů AO a SLAD, při kombinaci tlaku 0 MPa a dávky 50 SEA a 100 SEA bylo u preparátu AO a SLAD shodně dosaženo nulové výtěžnosti alkoholu.

Tabulka 8: Výtěžnost % alkoholu.

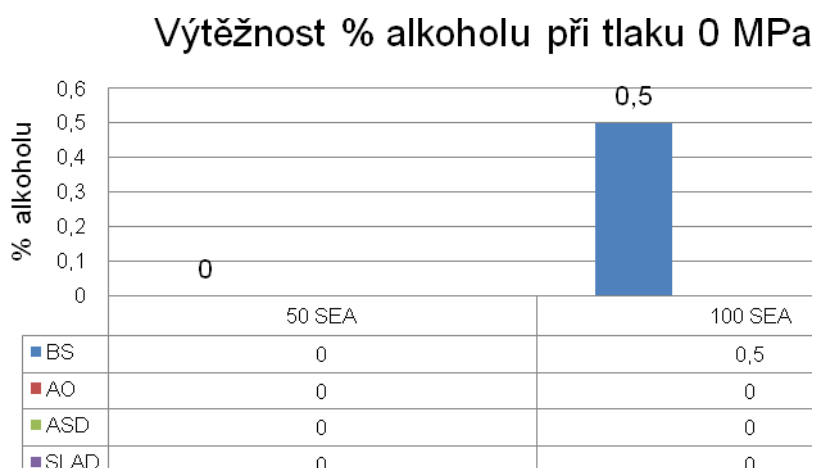
tlak \ SEA BS	50	100
efekt extruze 0 MPa	0	0,5
efekt extruze 0,3 MPa	1	1
efekt extruze 1 MPa	2	2,5

tlak \ SEA AO	50	100
efekt extruze 0 MPa	0	0
efekt extruze 0,3 MPa	0	0,5
efekt extruze 1 MPa	0,5	0,5

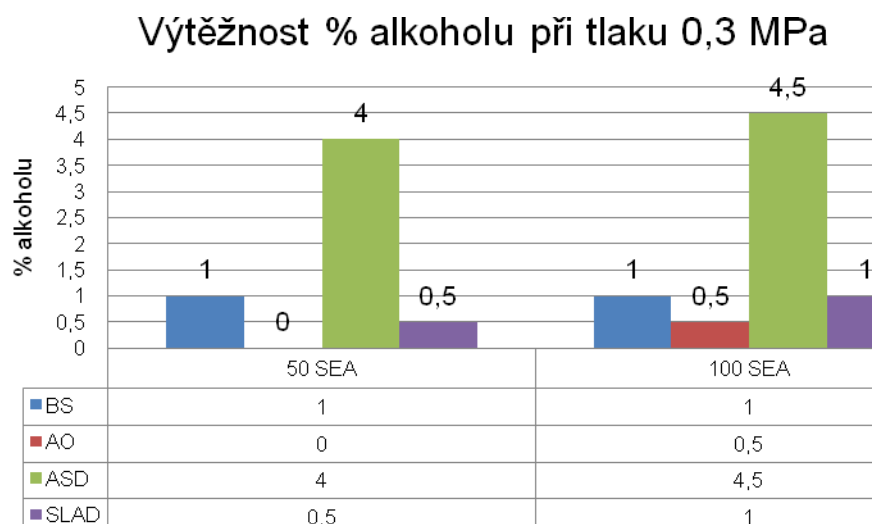
tlak \ SEA ASD	50	100
efekt extruze 0 MPa	0	0
efekt extruze 0,3 MPa	4	4,5
efekt extruze 1 MPa	5	5

tlak \ SEA SLAD	50	100
efekt extruze 0 MPa	0	0
efekt extruze 0,3 MPa	0,5	1
efekt extruze 1 MPa	0,5	1

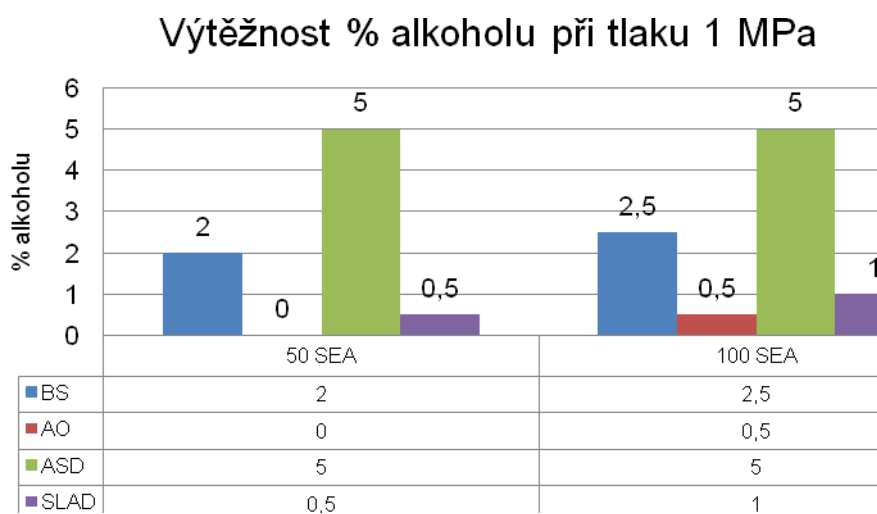
Graf 13: Výtěžnost % alkoholu při tlaku 0 MPa.



Graf 14: Výtěžnost % alkoholu při tlaku 0,3 MPa.



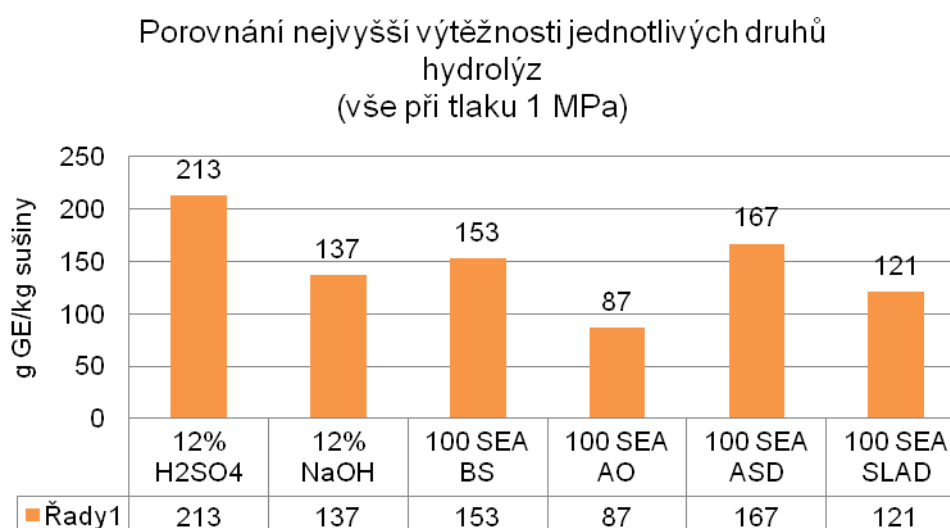
Graf 15: Výtěžnost % alkoholu při tlaku 1 MPa.



## 5.4 Vzájemné porovnání maximálních výtěžností

Jak je patrné z Grafu 16, nejvyšší výtěžnosti (213 GE/kg sušiny) bylo dosaženo při tlaku 1MPa a použití nejvyšší koncentrace kyseliny sírové, tedy 12%. Všechny maximální množství GE bylo dosaženo při použití tlaku 1MPa a maximálních koncentrací používaných v této práci. Zásaditou hydrolyzu ve výtěžnosti překonaly hned dva enzymatické preparáty a to enzymatický preparát ASD (167 GE/kg sušiny) a BS (153 GE/kg sušiny).

Graf 16: Vzájemné porovnání maximálních výtěžností g GE/kg sušiny jednotlivých hydrolyz.



## 6. DISKUZE

Hydrolyzou fytomasy se zabývá řada autorů, ze kterých například Kim a kol. (2008) uvádí, že: „*Amylolytická hydrolyza škrobových zrn se řídí jejich povrchem a nikoli jejich koncentrací*“. Dohányos (2008) toto potvrzuje: „*Zmenšením velikosti částic mechanickou nebo jinou dezintegrací dochází k podstatnému zvětšení povrchu a tím i k větší dostupnosti enzymovému rozkladu*“. S tímto poznatkem souhlasí i všichni výše citovaní autoři a je to obecně uznávaný fakt v praxi, kdy se před samotnou hydrolyzou, ať už kyselou, zásaditou, enzymatickou nebo kombinací tří předešlých typů, provádí dezintegrace materiálu.

O'Brien a Wang (2008) porovnávají ve své práci žíhané a nativní škroby a uvádí, že: „*Žíhání umožňuje větší dostupnost obou enzymů do amorfní i krystalické stavby a poté dochází k významným změnám ve vlastnostech mazovatění při enzymatické hydrolyze*“. Dále uvádí, že: „*Zjevný obsah amylozy se, jak u nativních, tak u žíhaných škrobů, snížil během použití  $\alpha$ -amylázy pro všechny škroby, ale zvýšil se při použití glukoamylózy u Hylonu V a VII a bramborového škrobu*“. Tato informace dává nový rozměr laboratorním pracím, kdy by bylo možné bramborový škrob před enzymatickou hydrolyzou upravit žíháním a zvýšit tak obsah amylozy a tedy i výtěžnosti alkoholu.

Některé studie se zabývají vlivem odrůdy a hmotnosti brambor na různou rychlost a hloubku hydrolyzy škrobu, která je vyjádřena indexem hydrolyzy (IH). Leeman, Barstrom a Bjorck (2005) ve své studii zjistili: „*Nebyla nalezena žádná korelace mezi průměrnou hmotností bramborových hlíz a IH. Navíc nebyl zjištěn žádný rozdíl v IH mezi bramborami skladovanými 1-3 a 8-10 měsíců a ani mezi odrůdami nových brambor a zimními bramborami. IH se ale významně snížil s teplotou při snižování amylopektinu (6°C, 48 hodin) ve srovnání s působením teploty 6°C po dobu 24 hodin a následným zvýšením teploty na 70°C po dobu 24 hodin*“. Tuto studii do jisté míry potvrzuje i Tasic a kol. (2009): „*Snížení koncentrace cukru v hydrolyzátech je závislé na typu a koncentraci kyseliny a poměru rostlinného materiálu v roztoku kyseliny, ale nikoli na druhu brambor*“.

Sominska a kol. (1998) provedla studii s použitím membránového bioreaktoru pro nepřetržité enzymatické zcukřování škrobu při použití různých poměrů enzymů glukoamylázy a pullunázy, na různých substrátech roztoku bramborového škrobu, použita byla i různá propustnost membrán, různé transmembránové tlaky a reakční doba. Výsledkem studie bylo, že největší výnos škrobu a nejvyšší reakční rychlost byly naměřeny při poměru 50 substrát:enzymu. Téměř čistá glukóza byla vyrobena v membránovém reaktoru 3kDa, kdy reakce probíhala po dobu 3-4 hodiny a nepřetržitý proces hydrolyzy a ultrafiltrace byl umožněn díky transmembránovému tlaku 42kPa. Tento tlak je tedy vhodný pro kontinuální hydrolyzu, která v předkládané práci sledována nebyla.

Karakatsanis a Liakopoulou-Kyriakides (1998) porovnávali ve své studii vliv enzymatické hydrolýzy na obsah glukózy: *„Produkce glukózy z bramborového škrobu byla velmi nízká při 30°C, pouze kukuřičný a rýžový, škrob dávaly vyšší koncentraci glukózy při stejné teplotě. S výjimkou kukuřičného škrobu, u všech ostatních škrobů docházelo se zvyšováním teploty na 70°C i ke zvyšování produkce glukózy. Při 70°C byla nejvyšší produkce glukózy ze škrobu bramborového a nejnižší z kukuřičného škrobu“*. V závěru také uvedli, že: *„zmazovatění škrobu před hydrolýzou dává vyšší výnosy glukózy než použití škrobu, který nebyl zmazovatělý“*.

Jako nejvhodnější metoda pro zpracování biomasy na bioetanol se do budoucna jeví používání enzymatických preparátů, které jsou stále ve fázi výzkumu a vývoje a pro lepší poznání enzymové hydrolýzy je potřebné znát i strukturu a vlastnosti enzymových preparátů. Struktura se zkoumá pomocí paprsků X - krystalografií a stále jsou vyvíjeny nové preparáty, které jsou tolerantnější k extrémně vysokému nebo naopak velice nízkému pH, tlakům, teplotám a koncentracím inhibičních látek, které vznikají při hydrolýze materiálů.



## 7. ZÁVĚR

Z provedených laboratorních pokusů uvedených v této práci vyplývá, že při hydrolýze bylo dosaženo maximálně 213g GE/kg sušiny, což odpovídá asi 5,5% alkoholu. Tohoto výsledku bylo dosaženo při kombinaci zvýšeného tlaku 1 MPa a koncentraci 12% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Při zásadité hydrolýze bylo dosaženo maximálního výtěžku 137 g GE/kg při 1 MPa a koncentraci NaOH 12%. Zásadité hydrolýzy se v praxi příliš nepoužívá, jedním z důvodů jsou vysoké náklady na technologii a nízká výtěžnost.

Při enzymatické hydrolýze bylo získáno největšího množství GE díky enzymatickému preparátu ASD, kdy byla výtěžnost 167 g GE/kg při kombinaci tlaku 1MPa a dávce enzymu 100 SEA. Druhého nejvyššího množství při enzymatické hydrolýze bylo dosaženo preparátem BS a to 153 g GE/kg při kombinaci tlaku 1 MPa a 100 SEA.

Maximální výtěžnosti alkoholu bylo dosaženo při kombinaci zvýšeného tlaku 1 MPa a kyselé hydrolýze H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a to při koncentracích 6, 9 a 12%, kdy byl u všech třech koncentrací stejný výsledek a to 5,5 % alkoholu. K podobným výsledkům jsme došli i při enzymatické hydrolýze s preparátem AO, při použití tlaku 0,3 MPa a množství enzymatického preparátu 100 SEA a současně při tlaku 1 MPa a množství enzymatického preparátu AO jak 50 SEA, tak i 100 SEA (0,5% alkoholu). Z toho vyplývá, že na zkoumaný materiál neměl od tlaku

0,3 MPa a množství enzymatického preparátu 100 SEA vliv ani zvyšující se tlak, ani množství enzymatického preparátu. Podobná je situace i u preparátu SLAD (výtěžnost 1% alkoholu při tlaku 0,3 MPa a 100 SEA enzymatického preparátu a tlaku 1 MPa a 100 SEA enzymatického preparátu).

Test výtěžnosti alkoholu držel u testovaných vzorků stejný trend jako obsah GE, ale jeho vypovídací hodnota je velmi malá, stejně jako naměřené hodnoty a přesnost alkoholometru. Aby ho bylo možno k testování hloubky hydrolýzy doporučit, muselo by se jednat minimálně o poloprovozní kontinuální jednotku.

Závěrem lze tedy konstatovat, že maximální výtěžnosti GE u všech druhů probíhajících hydrolýz bylo dosaženo při zvýšeném tlaku 1 MPa a maximální koncentraci kyseliny (12%), hydroxidu (12%) a maximálním množství enzymatického preparátu (100 SEA). V současné době stále probíhá vývoj nových enzymatických preparátů, které jsou vhodnější pro hydrolýzu fytomasy a to především díky jejich technologickým vlastnostem pro použití v provozních podmínkách.

Zásobování energií je strategickým problémem trvale udržitelného života a to zejména v souvislosti s redukcí skleníkových plynů, jejichž množství v atmosféře je spojováno se spotřebou fosilních paliv, která se při celosvětovém pohledu od roku 1970 do roku 1998 téměř zdvojnásobila.

Je nutné hledat řešení stávající situace a to především využitím obnovitelných zdrojů energií, kde je biomasa jedním z nejvýznamnějších východisek. Při vytváření technologií pro využívání biomasy je nutné přemýšlet nad efektivitou a propracovaností projektů a to jak z pohledu energetické náročnosti spojené jak s produkcí, transportem a přípravou základní suroviny, tak z pohledu samotného produktu-biopaliva.

Fytoenergetika se stává součástí zemědělské a energetické politiky většiny zemí, které nemají vlastní zdroje fosilních paliv, především ropy a zemního plynu, na úrovni samozásobení. Do budoucna by měla být podporována spolu s ostatními technologiemi, které využívají zdroje obnovitelné energie a to jak v odborných kruzích, tak v podnikatelské sféře.

## 8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ANONYM 1: Molecular and Plant Biotechnology. (cit. 19. 3. 2010)

Dostupné z www:

<http://www.molecular-plant-biotechnology.info/fuel-biotechnology/bioethanol.htm>

ANONYM 2 : Státní zemědělský intervenční fond. (cit. 15. 3. 2010)

Dostupné z www:

[http://www.szif.cz/irj/portal/anonymous/CmDocument?rid=%2Fapa\\_ano n%2Fcs%2Fdokumenty\\_ke\\_stazeni%2Fkomodity%2Frv%2F02%2F01%2Fhl avni\\_dokument%2F1251463962671.pdf](http://www.szif.cz/irj/portal/anonymous/CmDocument?rid=%2Fapa_ano n%2Fcs%2Fdokumenty_ke_stazeni%2Fkomodity%2Frv%2F02%2F01%2Fhl avni_dokument%2F1251463962671.pdf)

BALÁŽ, M. (2001): Cvičení z cytologie a anatomie rostlin. Masarykova univerzita, Brno, (cit. 16. 3. 2010)

Dostupné z www:

[http://www.sci.muni.cz/~anatomy/cytology/html/intro\\_2.htm](http://www.sci.muni.cz/~anatomy/cytology/html/intro_2.htm)

BLAŽKOVÁ, A. (2007): Modifikované škroby a jejich využití v potravinářském průmyslu [Bakalářská práce]. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Zlín, 45 s.

ČÍŽEK, M. (2009): Ekonomika Pěstování brambor. VÚB, Havlíčkův Brod, 16 s., ISBN 978-80-86940-21-2 (cit. 16. 3. 2010)

Dostupné na www:

[http://www.vubhb.cz/\\_t.asp?f=publikace/26ekonomikapb/default.htm](http://www.vubhb.cz/_t.asp?f=publikace/26ekonomikapb/default.htm)

eAGRI (2009-2010): Dotace; Energetické plodiny. MZe ČR, (cit. 10. 4. 2010)

Dostupné na www:

<http://eagri.cz/public/eagri/dotace/dobihajici-a-ukoncene-dotace/energeticke-plodiny/>

FABINI, J. (1977): Organická chemie. SPN Praha, 192 s.

GANAJOVÁ, M. (2000): Školský informační servis. UPJŠ, Košice, (cit. 16. 3. 2010)

Dostupné z www:

[http://kekule.science.upjs.sk/chemia/vllab/HTML/zemiaky\\_podstata.htm](http://kekule.science.upjs.sk/chemia/vllab/HTML/zemiaky_podstata.htm)

KARAKATSANIS, A., LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M. (1998):

Comparative study of hydrolysis of various starches by alpha-amylase and glucoamylase in PEG-dextran and PEG-substrate aqueous two phase systems. Starch, vol. 50, no. 8, 349-353 s.

KIM, J. C., KONG, B. W., KIM, M. J., LEE, S. H. (2008): Amylolytic hydrolysis of native starch granules affected by granule surface area. *Journal of Food Science*, vol. 73, no. 9, 621-624 s.

KIZLINK, J. (2008a): Biopaliva pro motorová vozidla: produkce, cena, legislativa. *Energie 21*, vol. 4, no. 1, 28-29 s.

KIZLINK, J. (2008b): Vliv biopaliv na motory. *Energie 21*, vol. 6, no. 1, 24 s.

KODÍČEK, M. (2004): Biochemické pojmy - výkladový slovník. Vysoká škola chemicko-technologická, Praha, ISBN 80-7080-551-X (cit. 16. 3. 2010)  
Dostupné z www:

[http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_es-002\\_v1/hesla/skrob.html](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-002_v1/hesla/skrob.html)

KONŠEL, L. (2010): Výroba bioetanolu v naší republice má problémy. *Energie 21*, vol. 1, no. 3, 22-23 s.

KUNTEOVÁ, L. (1998): Bioetanol. *Biom* (cit. 16. 3. 2010)

Dostupné na www:

[http://stary.biom.cz/sb,orniky/sb98PrPetr/sb98PrPetr\\_kunt.html](http://stary.biom.cz/sb,orniky/sb98PrPetr/sb98PrPetr_kunt.html)

LEEMAN, A. M., KARLSSON, M. E., ELIASSON, A. C., BJORCK, I. M. E. (2006): Resistant starch formation in temperature treated potato starches varying in amylose/amylopectin ratio. *Carbohydrate Polymers*. vol. 65, no. 3, 306-313 s.

MAROUŠEK, J. (2009): Srovnání vybraných druhů fytomasy při termotlakové přípravě surovin [Disertační práce]. České Budějovice, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 106 s.

MINX, L., DIVIŠ, J., ŠROLLER, J., PULKRÁBEK, J., KRAUSKO, A., RASOCHA, V., VOTOUPAL, B., VOKÁL, B., RASOCHOVÁ, M., JŮZL, M., RYBÁŘ, R. (1994): Rostlinná výroba-III (Okopaniny), Agronomická fakulta VŠZ v Praze, Praha, 153 s., ISBN 80-213-0154-6

O'BRIEN, S., WANG, Y. J. (2008): Susceptibility of annealed starches to hydrolysis by alpha -amylase and glucoamylase. *Carbohydrate Polymers*, vol. 72, no. 4, 597-607 s.

PELIKÁN, M., SÁKOVÁ, L. (2001): Jakost a zpracování rostlinných produktů. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, České Budějovice, 233 s., ISBN 80-7040-502-3

PRUGAR, J., a kol. (2008): Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí. Praha, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský a. s., Okopaniny, 336 s., ISBN 978-80-86576-28-2

SOMINSKA, L., GRAJEK, W., GRZESKOWIAK, A., GOCAEK, M. (1998): Enzymatic starch saccharification in an ultrafiltration membrane reactor. Starch, vol. 50, no. 9, 390-396 s.

SÝKORA, Václav (1976): Chemickoanalytické tabulky. 282 s. ISBN 04-609-76

TASIC, M. B., KONSTANTINOVIC, B. V., LAZIC, M. L., VELJKOVIC, V. B. (2008): The acid hydrolysis of potato tuber mash in bioethanol production. Biochemical Engineering Journal, vol. 43, no. 2, 208-211 s.

TRNAVSKÝ, J. (2009): Argumenty pro výrobu a využití biopaliv v dopravě. Energie 21, vol. 6, no. 2, 30-31 s.

VALÁŠEK, P.: Enzymy. (549-552 s.) (cit. 15. 3. 2010)

Dostupné z www:

<http://www.ft.utb.cz/czech/upich/vyuka/chap/prednasky/enzymy.pdf>

VALENTA T. (2009): Enzymatická hydrolyza sacharidů a proteinů [Bakalářská práce]. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Zlín, 65 s.

ŽIŽKA, J. (2006): Situační a výhledová zpráva - Brambory. MZe ČR, Praha, 45 s., ISBN 80-7084-530-9

ŽIŽKA, J. (2009): Situační a výhledová zpráva - Brambory. MZe ČR, Praha, 49 s., ISBN 978-80-7084-820-3

Dostupné na www:

[http://eagri.cz/public/eagri/file/2839/SVZ\\_brambory\\_\\_duben\\_2009.pdf](http://eagri.cz/public/eagri/file/2839/SVZ_brambory__duben_2009.pdf)

#### obrázky

ČÍŽEK, M. (2009): Ekonomika Pěstování brambor. VÚB, Havlíčkův Brod, ISBN 978-80-86940-21-2 (cit. 16. 3. 2010)

Dostupné na www:

[http://www.vubhb.cz/\\_t.asp?f=publikace/26ekonomikapb/default.htm](http://www.vubhb.cz/_t.asp?f=publikace/26ekonomikapb/default.htm)

GANAJOVÁ, M. (2000): Školský informační servis. UPJŠ, Košice (cit. 16. 3. 2010)

Dostupné z www:

[http://kekule.science.upjs.sk/chemia/vllab/HTML/zemiaky\\_podstata.htm](http://kekule.science.upjs.sk/chemia/vllab/HTML/zemiaky_podstata.htm)

KNÁPEK, J., HAAS, R., KRANZL, L., KALT, G. (2010): Vývoj perspektiva využití biomasy ve střední Evropě - 1. Energie 21, vol. 6, no. 3, 8-11 s.

VALÁŠEK, P.: Enzymy. (549-552 s.) (cit. 15. 3. 2010)

Dostupné z www:

<http://www.ft.utb.cz/czech/upich/vyuka/chap/prednasky/enzymy.pdf>

### tabulky

GANAJOVÁ, M. (2000): Školský informační servis. UPJŠ, Košice (cit. 16. 3. 2010)

Dostupné z www:

[http://kekule.science.upjs.sk/chemia/vllab/HTML/zemiaky\\_podstata.htm](http://kekule.science.upjs.sk/chemia/vllab/HTML/zemiaky_podstata.htm)

PELIKÁN, M., SÁKOVÁ, L. (2001): Jakost a zpracování rostlinných produktů. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, České Budějovice, 233 s., ISBN 80-7040-502-3

SOUČKOVÁ H., MOUDRÝ, J., KALINOVÁ J., HAVLÍČKOVÁ K., PECH, J. (2004-2005): Databáze využití nepotravinářské zemědělské produkce, projekt NAZV QF 4142 Vyšší využití nepotravinářské zemědělské produkce v průmyslu, (cit. 16. 3. 2010)

Dostupné na www:

<http://www2.zf.jcu.cz/~moudry/databaze/Skrob.htm>

ŠEBOR, G., POSPÍŠIL, M., ŽÁKOVEC, J. (2006): Technicko – ekonomická analýza vhodných alternativních paliv v dopravě 2. část. VŠCHT, Praha, 190 s. (cit. 28. 3. 2010)

Dostupné na www:

[http://www.mdcr.cz/NR/rdonlyres/EC931276-ACFB-4C02-B4B0-6CBBD103381D/0/Technickoeconomicka\\_analyza\\_vhodnych\\_alternativnich\\_paliv\\_v\\_dopravecast\\_2.pdf](http://www.mdcr.cz/NR/rdonlyres/EC931276-ACFB-4C02-B4B0-6CBBD103381D/0/Technickoeconomicka_analyza_vhodnych_alternativnich_paliv_v_dopravecast_2.pdf)

### grafy

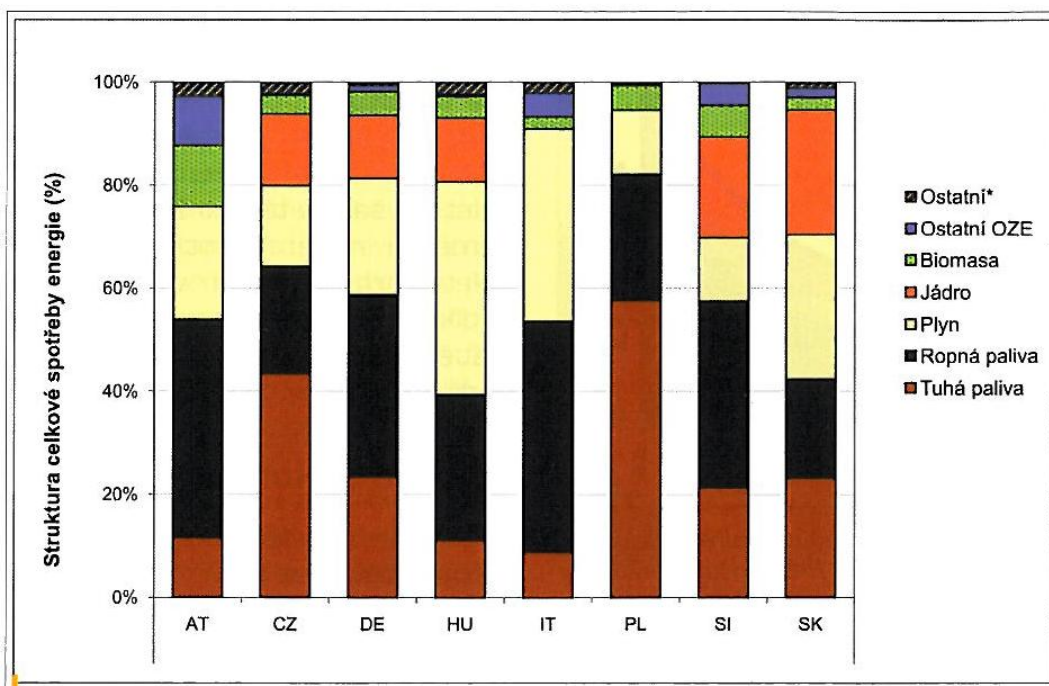
ŽIŽKA, J. (2009): Situační a výhledová zpráva Brambory. Mze, Praha, 49 s., ISBN 978-80-7084-820-3 (cit. 5. 4. 2010)

Dostupné na www:

[http://eagri.cz/public/eagri/file/2839/SVZ\\_brambory\\_\\_duben\\_2009.pdf](http://eagri.cz/public/eagri/file/2839/SVZ_brambory__duben_2009.pdf)

## 9. PŘÍLOHY

Obrázek 1: Struktury spotřeby primárních energetických zdrojů v regionu střední Evropy v roce 2006 (Ostatní - zahrnuje elektrickou energii a průmyslový odpad).



zdroj: Knápek a kol., 2010